

贲门失弛缓症的内镜治疗

邵先玉, 邵良田

邵先玉, 邵良田, 泰山医学院附属医院消化内科 山东省泰安市 271000

邵先玉, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 主要从事消化内镜治疗的临床研究.

作者贡献分布: 本论文设计、文献资料收集由邵先玉完成; 本论文写作由邵良田与邵先玉完成.

通讯作者: 邵先玉, 主任医师, 教授, 271000, 山东省泰安市泰山大街706号, 泰山医学院附属医院消化内科. sxyta@163.com
电话: 0538-6237419

收稿日期: 2010-01-04 修回日期: 2010-02-15

接受日期: 2010-02-23 在线出版日期: 2010-10-18

Endoscopic treatment of achalasia

Xian-Yu Shao, Liang-Tian Shao

Xian-Yu Shao, Liang-Tian Shao, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Taishan Medical College, Taian 271000, Shandong Province, China

Correspondence to: Professor Xian-Yu Shao, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Taishan Medical College, 706 Taishan Avenue, Taian 271000, Shandong Province, China. sxyta@163.com

Received: 2010-01-04 Revised: 2010-02-15

Accepted: 2010-02-23 Published online: 2010-10-18

Abstract

Achalasia is a disease caused by neuromuscular dysfunction of the lower part of the esophagus. Its primary treatment involves relieving the functional obstruction by decreasing the lower esophageal sphincter (LES) tension. Endoscopic therapy of achalasia has been investigated in many clinical studies and has attracted wide attention. Balloon-expandable stent treatment of achalasia takes little time with fast-acting efficacy. Injection with botulinum toxin is effective, easy to operate and safe. Stent insertion has high efficacy but needs removal of stent in a short term. Small balloon dilation combined with botulinum toxin injection not only raises the efficacy but also reduces the incidence of complications. During endoscopic treatment of achalasia, a close observation of the complications and adverse effects of botulinum toxin should be made.

Key Words: Achalasia; Endoscopy; Dilation; Stent; Botulinum toxin

Shao XY, Shao LT. Endoscopic treatment of achalasia.

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2010; 18(29): 3061-3064

摘要

贲门失弛缓症是食管下段神经肌肉功能障碍所致的一种疾病, 其治疗主要是通过降低食管下段括约肌的张力, 解除功能性梗阻. 内镜治疗的临床研究较多, 越来越引起重视. 球囊扩张治疗时间短, 显效快; 肉毒素注射安全有效, 操作简便; 支架置入疗效高, 但需短期内取出支架; 小球囊扩张和肉毒素注射联合治疗, 既可提高疗效, 又能减少并发症. 内镜治疗贲门失弛缓症应密切观察, 及时处理并发症和肉毒素的不良反应.

关键词: 贲门失弛缓症; 内镜; 扩张; 支架; 肉毒素

邵先玉, 邵良田. 贲门失弛缓症的内镜治疗. 世界华人消化杂志 2010; 18(29): 3061-3064

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3061.asp>

0 引言

贲门失弛缓症(achalasia)是食管下段神经肌肉功能障碍所致的一种疾病, 其特点是食管下段括约肌(lower esophageal sphincter, LES)呈失弛缓状态, 食物不能顺利通过而滞留于食管内, 逐渐引起食管扩张、肥厚、扭曲等改变, 临床表现为吞咽困难、胸骨后疼痛、食物反流以及因食物反流误吸入气管所致咳嗽、肺部感染等症状. 贲门失弛缓症发病率较低, 有研究表明患病率约为1/10 000, 1年内的发病率为0.3/10万-1/10万^[1], 发病高峰期为30岁和70岁年龄组^[1,2]. 本病的治疗主要是通过降低LES张力, 使食管下段松弛, 从而解除功能性梗阻. 贲门失弛的治疗有药物治疗、内镜治疗、手术治疗等方法, 本文重点讨论贲门失弛的内镜治疗, 主要包括球囊扩张、肉毒素(botulinum toxin)注射、支架置入和球囊扩张联合肉毒素注射等.

1 内镜下球囊扩张

目前采用的球囊扩张器有注水球囊和注气球囊. 常采用的操作方法是: 首先插入胃镜初步了解

■背景资料

内镜治疗是贲门失弛缓症的主要治疗方法, 选择适当的内镜治疗方法和规范的操作, 密切注意和防范治疗并发症和药物的不良反应十分重要.

■同行评议者

黄恒青, 主任医师, 福建省第二人民医院消化内科

■相关报道

Zhao等研究后指出,自膨式覆膜支架(SEMS)治疗贲门失弛缓症后1年的临床缓解率可达96%,5年和10年的缓解率可达100%和83.3%。

食管贲门口的紧张度,从胃镜活检管道插入导丝,退出胃镜,然后在导丝引导下送入扩张球囊导管,再插入胃镜,检查球囊位置是否在狭窄部位中央.向球囊中注水或注气扩张,同时固定扩张球囊导管外露部分,以免球囊上下滑动.维持扩张时间为5-10 min,之后抽尽球囊内水或气,胃镜观察可见原狭窄处黏膜轻度撕裂,有少许出血.我们建议如出血较多将球囊部分注气或注水,利用球囊压迫止血,扩张完毕后胃镜连同扩张导管一并拔出;应用带引导线的导丝,插入一次胃镜就可完成扩张过程.

研究发现,利用内镜下的球囊扩张治疗贲门失弛缓症,有效率可达94%^[3],而只有40%-60%的患者在一次扩张之后的疗效的可以维持在15年以上^[4,5],影响疗效的因素包括性别、年龄、病程、球囊直径及一次扩张的时间.Rajput等^[6]认为,男性、年龄>20岁、病程超过3年,扩张球囊直径>3.0 cm者疗效较好,但随着球囊直径的增加,并发症的发生率也增加.扩张的并发症包括食管穿孔、上消化道出血、食管撕脱、食管血肿和吸入性肺炎.食管穿孔是最严重的并发症,其发生率为1%-10%^[7],可能的危险因素包括:(1)体质量减轻幅度大(穿孔组平均7 kg,未穿孔组平均0.25 kg);(2)食管收缩幅度大(穿孔组平均为52.6 cmH₂O,未穿孔组平均为33.8 cmH₂O);(3)初次扩张;(4)狭窄上方扩张度小;(5)症状持续时间长(穿孔组平均11.3年,未穿孔组平均6.3年)^[8].

球囊扩张用于治疗贲门失弛缓症已有半个世纪的历史,有可行性高,安全性较好,治疗时间短,创伤较小,显效快,痛苦较少的特点,被认为是最有效的非手术治疗贲门失弛缓症的方法^[9,10].我们应用国产哑铃型球囊具有耐压性和限容性,球囊直径选用28-32 mm,注气压力120-150 kPa,疗效和进口球囊相近,气囊易于固定,治疗费用低,适合推广应用.

2 肉毒素注射

肉毒素是厌氧杆菌-肉毒杆菌代谢产生的一种神经毒素,可以阻断神经肌肉接头处的乙酰胆碱释放,从而使肌肉松弛^[11].基本操作方法是:使用100 U肉毒素加5 mL生理盐水,通过胃镜在齿状线上1 cm左右,分4-5点注射至肌层,每点注射1 mL.

Annese等^[12]通过研究发现75%的贲门失弛缓症患者在注射肉毒素之后症状得到了缓解,疗

效与肉毒素的注射剂量无明显相关性,但是分次注射的复发率要明显小于相同剂量一次注射.注射肉毒素治疗贲门失弛缓症只在短时间内有效,所以要重复注射才能维持疗效^[13-15].内镜下肉毒素的注射治疗不良反应轻微,偶见短暂胸痛,胸骨后烧灼感,穿孔率极低^[13],并且操作简便,安全性好,是治疗贲门失弛缓症的一种安全有效的方法.

3 支架植入

治疗贲门失弛缓症的支架多选择可回收的自膨式覆膜支架(self-expanding metallic stent, SEMS).基本操作方法是:常规行胃镜检查,经胃镜活检孔插入导丝至胃腔,根据胃镜预先测好的位置,将支架植入器沿导丝插入,缓慢释放支架.再次插入胃镜,观察支架位置是否合适.若有偏移可用异物钳或支架回收器予以提拉或推移支架,将他调整到最佳位置.置入支架后可以通过食管造影或胃镜来观察支架的位置以及贲门失弛缓症的扩张情况,支架植入后的3-7 d后在胃镜的帮助下取出支架^[16-18].

过去学者通常认为,支架植入增加食管穿孔、出血、反流食管炎等并发症的发生率,并不适合治疗贲门失弛缓症等良性病变^[19-25].现在更多的人相信支架在治疗贲门失弛缓症是一种安全可靠的方法^[16,17,26,27].Zhao等^[18]研究后指出,SEMS治疗后1年的临床缓解率可达96%,5年和10年的缓解率可达100%和83.3%.并发症主要是支架的移位为5.35%,胸骨后疼痛为38.7%,胃食管反流为20%,出血为12%,穿孔为最严重的并发症,但在Zhao等^[18]的研究中,未发现患者穿孔,这是由于SEMS是在体内随着温度的升高而缓慢扩张,故其发生穿孔的可能性小,认为SEMS是治疗贲门失弛缓症的一种安全、有效的方法,而其长期有效率要高于球囊扩张术和肉毒素的注射^[4,5,13-15,18].我们认为支架植入治疗贲门失弛缓症虽然是安全有效的方法,但取出支架有时会遇到困难,在目前医疗环境下,建议慎重选用支架置入治疗贲门失弛缓症.如选用此法治疗前要做好详尽周密的医患沟通,避免医疗纠纷.

4 球囊扩张与肉毒素注射联合治疗

基本操作方法是:内镜直视下用球囊扩张治疗1 wk后,常规内镜检查,内镜直视下在距贲门齿状线上约0.3-0.5 cm间隔1 cm处的两个水平,分别于3、6、9、12四象限点用NM-22L型可调套管注射针在食管下括约肌固有肌层处(以齿状线或

紧闭的贲门口为标志)垂直进针, 每点注射肉毒毒素25 U, 8点共注射肉毒毒素100 U. 注射后镜下观察3 min, 如无异常即可退镜, 并在内镜室留观20 min, 12 h后可进半流质温凉饮食或普通饮食^[28].

球囊扩张联合注射肉毒毒素治疗技术操作简单, 安全性高, 且近期、远期疗效较高, 是兼顾病因治疗、对症治疗的有效方法^[28-30]. 我们应用球囊扩张与肉毒毒素注射贯序治疗贲门失弛缓症6、12、24 mo有效率均高于球囊扩张治疗组的有效率, 并且经定期随访观察2年, 患者耐受好, 未出现大出血、食管穿孔等严重并发症^[29]. 我们认为在目前医疗环境下应用小球囊扩张联合注射肉毒毒素是治疗贲门失弛缓症的优选方案. 肉毒毒素在医学美容的广泛应用, 取得较好疗效, 也出现一些不良反应, 建议注射肉毒毒素治疗贲门失弛缓症时应密切观察及时处理肉毒毒素的不良反应.

5 结论

内镜治疗是贲门失弛缓症的主要治疗方法和临床研究热点. 球囊扩张治疗时间短, 显效快; 肉毒毒素注射安全有效, 操作简便; 支架置入疗效高, 但需短期内取出支架; 小球囊扩张和肉毒毒素注射联合治疗, 既可提高疗效, 又能减少并发症.

6 参考文献

- 1 Mayberry JF. Epidemiology and demographics of achalasia. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2001; 11: 235-248, v
- 2 Podas T, Eaden J, Mayberry M, Mayberry J. Achalasia: a critical review of epidemiological studies. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 2345-2347
- 3 Kadakia SC, Wong RK. Graded pneumatic dilation using Rigiflex achalasia dilators in patients with primary esophageal achalasia. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 34-38
- 4 Chan KC, Wong SK, Lee DW, Mui WL, Chan AC, Ng EK, Wu JC, Sung JJ, Chung SC. Short-term and long-term results of endoscopic balloon dilation for achalasia: 12 years' experience. *Endoscopy* 2004; 36: 690-694
- 5 Karamanolis G, Sgouros S, Karatzias G, Papadopoulou E, Vasiliadis K, Stefanidis G, Mantides A. Long-term outcome of pneumatic dilation in the treatment of achalasia. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 270-274
- 6 Rajput S, Nandwani SK, Phadke AY, Bhandarkar PV, Abraham P, Tilve GH. Predictors of response to pneumatic dilatation in achalasia cardia. *Indian J Gastroenterol* 2000; 19: 126-129
- 7 Reynolds JC, Parkman HP. Achalasia. *Gastroenterol Clin North Am* 1989; 18: 223-255
- 8 Borotto E, Gaudric M, Danel B, Samama J, Quartier G, Chaussade S, Couturier D. Risk factors of oe-

- sophageal perforation during pneumatic dilatation for achalasia. *Gut* 1996; 39: 9-12
- 9 Wang L, Li YM, Li L. Meta-analysis of randomized and controlled treatment trials for achalasia. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2303-2311
- 10 Campos GM, Vittinghoff E, Rabl C, Takata M, Gadenstätter M, Lin F, Ciofica R. Endoscopic and surgical treatments for achalasia: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg* 2009; 249: 45-57
- 11 Eckardt AJ, Eckardt VF. Current clinical approach to achalasia. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3969-3975
- 12 Annese V, Bassotti G, Coccia G, Dinelli M, D'Onofrio V, Gatto G, Leandro G, Repici A, Testoni PA, Andriulli A. A multicentre randomised study of intrasphincteric botulinum toxin in patients with oesophageal achalasia. GISMAD Achalasia Study Group. *Gut* 2000; 46: 597-600
- 13 Pasricha PJ, Rai R, Ravich WJ, Hendrix TR, Kalloo AN. Botulinum toxin for achalasia: long-term outcome and predictors of response. *Gastroenterology* 1996; 110: 1410-1415
- 14 Annese V, Basciani M, Perri F, Lombardi G, Frusciante V, Simone P, Andriulli A, Vantrappen G. Controlled trial of botulinum toxin injection versus placebo and pneumatic dilation in achalasia. *Gastroenterology* 1996; 111: 1418-1424
- 15 Annese V, Basciani M, Borrelli O, Leandro G, Simone P, Andriulli A. Intrasphincteric injection of botulinum toxin is effective in long-term treatment of esophageal achalasia. *Muscle Nerve* 1998; 21: 1540-1542
- 16 Cheng YS, Li MH, Chen WX, Zhuang QX, Chen NW, Shang KZ. Follow-up evaluation for benign stricture of upper gastrointestinal tract with stent insertion. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2609-2611
- 17 Cheng YS, Li MH, Chen WX, Chen NW, Zhuang QX, Shang KZ. Temporary partially-covered metal stent insertion in benign esophageal stricture. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2359-2361
- 18 Zhao JG, Li YD, Cheng YS, Li MH, Chen NW, Chen WX, Shang KZ. Long-term safety and outcome of a temporary self-expanding metallic stent for achalasia: a prospective study with a 13-year single-center experience. *Eur Radiol* 2009; 19: 1973-1980
- 19 Repici A, Conio M, De Angelis C, Battaglia E, Musso A, Pellicano R, Goss M, Venezia G, Rizzetto M, Saracco G. Temporary placement of an expandable polyester silicone-covered stent for treatment of refractory benign esophageal strictures. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 513-519
- 20 Song HY, Jung HY, Park SI, Kim SB, Lee DH, Kang SG, Il Min Y. Covered retrievable expandable nitinol stents in patients with benign esophageal strictures: initial experience. *Radiology* 2000; 217: 551-557
- 21 De Palma GD, Iovino P, Masone S, Persico M, Persico G. Self-expanding metal stents for endoscopic treatment of esophageal achalasia unresponsive to conventional treatments. Long-term results in eight patients. *Endoscopy* 2001; 33: 1027-1030
- 22 Holm AN, de la Mora Levy JG, Gostout CJ, Topazian MD, Baron TH. Self-expanding plastic stents in treatment of benign esophageal conditions. *Gastrointest Endosc* 2008; 67: 20-25
- 23 Radecke K, Gerken G, Treichel U. Impact of a self-expanding, plastic esophageal stent on various esophageal stenoses, fistulas, and leakages: a single-center experience in 39 patients. *Gastrointest Endosc*

■应用要点

本文总结了贲门失弛缓症常用内镜治疗方法的优缺点. 小球囊扩张和肉毒毒素注射联合治疗, 既可提高疗效, 又能减少并发症. 支架植入治疗贲门失弛缓症的安全性有争论.

■同行评价

本文新颖性好,可读性强,对临床治疗贲门失弛缓症具有一定的指导意义。

- 2005; 61: 812-818
- 24 Sheikh RA, Trudeau WL. Expandable metallic stent placement in patients with benign esophageal strictures: results of long-term follow-up. *Gastrointest Endosc* 1998; 48: 227-229
- 25 Lee JG, Hsu R, Leung JW. Are self-expanding metal mesh stents useful in the treatment of benign esophageal stenoses and fistulas? An experience of four cases. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1920-1925
- 26 Cheng YS, Li MH, Chen WX, Chen NW, Zhuang QX, Shang KZ. Complications of stent placement for benign stricture of gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 284-286
- 27 Cheng YS, Li MH, Chen WX, Chen NW, Zhuang QX, Shang KZ. Selection and evaluation of three interventional procedures for achalasia based on long-term follow-up. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2370-2373
- 28 杨正武, 邵先玉, 卜令秀, 马立兴, 张丽萍. 气囊扩张与肉毒毒素注射序贯联合治疗贲门失弛缓症的临床研究. *中国内镜杂志* 2006; 12: 706-709
- 29 王运东, 韩真. 肉毒毒素注射联合球囊扩张治疗贲门失弛缓症的临床价值. *中华消化内镜杂志* 2007; 24: 106-108
- 30 汤志锋, 赵琪. 小气囊扩张术联合肉毒碱局部注射治疗贲门失弛缓症. *中国内镜杂志* 2006; 12: 76-78

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010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 (print), ISSN 2219-2859 (online), 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, 以及胃肠运动对神经的影响、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

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

放射性¹²⁵I粒子治疗食管鳞癌的安全性及疗效

吕进, 曹秀峰, 朱斌, 纪律, 肖建, 王冬冬, 陶磊, 王山, 安红银

吕进, 曹秀峰, 朱斌, 纪律, 王冬冬, 陶磊, 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤外科 江苏省南京市 210006
肖建, 复旦大学附属中山医院青浦分院 上海市 201700
王山, 安红银, 盐城市肿瘤医院胸外科 江苏省盐城市 224002
吕进, 硕士, 主治医师, 主要从事胸腹部肿瘤以手术为主的综合治疗。

作者贡献分布: 此课题由曹秀峰与吕进设计; 研究过程由吕进、朱斌、纪律、肖建、王冬冬、陶磊、王山及安红银操作完成; 研究所用试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由吕进、朱斌及纪律完成; 本论文写作由吕进完成。

通讯作者: 曹秀峰, 教授, 主任医师, 博士生导师, 210006, 江苏省南京市, 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤外科。
cxf551101@sina.com.cn

收稿日期: 2010-06-17 修回日期: 2010-08-24

接受日期: 2010-08-31 在线出版日期: 2010-10-18

¹²⁵I seed implantation brachytherapy for esophageal squamous cell carcinoma

Jin Lv, Xiu-Feng Cao, Bin Zhu, Lv Ji, Jian Xiao, Dong-Dong Wang, Lei Tao, Shan Wang, Hong-Yin An

Jin Lv, Xiu-Feng Cao, Bin Zhu, Lv Ji, Dong-Dong Wang, Lei Tao, Department of Oncological Surgery, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University; Oncology Center of Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China

Jian Xiao, Qingpu Branch of Zhongshan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 201700, China

Shan Wang, Hong-Yin An, Department of Thoracic Surgery, Yancheng Tumor Hospital, Yancheng 224002, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Professor Xiu-Feng Cao, Department of Oncological Surgery, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University; Oncology Center of Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China. cxf551101@sina.com

Received: 2010-06-17 Revised: 2010-08-24

Accepted: 2010-08-31 Published online: 2010-10-18

Abstract

AIM: To evaluate the safety and efficacy of intraoperative ¹²⁵I seed implantation for advanced esophageal squamous cell carcinoma (ESCC).

METHODS: Eca-109 cells cultured *in vitro* were divided into four groups: cells untreated (control group) and those treated with low- (0.2 mCi), medium- (0.4 mCi) and high-dose ¹²⁵I seeds (0.8 mCi). After ¹²⁵I seed implantation, the cloning efficiency, apoptotic index and cell cycle of Eca-109 cells were detected. For animal experiment, Eca-109 cells were inoculated subcutane-

ously in the right femoribus internus of nude mice. ESCC-bearing mice were then divided into five groups: mice untreated (control group), mice undergoing spurious operation (prick into the tumor without implanting seeds), and those treated with low- (0.2 mCi), medium- (0.4 mCi) and high-dose ¹²⁵I seeds (0.8 mCi). Tumor volume was then evaluated. For clinical trial, 298 patients with phase II to III ESCC were randomized into two groups: patients undergoing both surgery and intraoperative ¹²⁵I seed implantation and those undergoing surgery alone. Postoperative complications were observed. The short- and long-term efficacy of ¹²⁵I seed implantation was followed up.

RESULTS: The cloning efficiency of cells of the three treatment groups was significantly lower than that of control cells (all $P < 0.05$). The cell cloning efficiency was also significantly lower in cells treated with high- and medium-dose ¹²⁵I seeds than in those treated with low-dose ¹²⁵I seeds (both $P < 0.01$) though no significant difference was noted between the high- and medium-dose groups ($P > 0.05$). The apoptotic index (AI) of cells of the three treatment groups was significantly higher than that of control cells (all $P < 0.01$). The apoptotic index (AI) was also significantly higher in cells treated with high- and medium-dose ¹²⁵I seeds than in those treated with low-dose ¹²⁵I seeds (both $P < 0.01$) though no significant difference was noted between the high- and medium-dose groups ($P > 0.05$). The percentage of G₂/M phase cells increased with the enhancement of the ¹²⁵I seed activity ($P < 0.01$). The reduced rates of tumor growth in mice treated with ¹²⁵I seeds were statistically higher than that in control mice. There was no statistical difference in the reduced rate of tumor growth between control mice and mice undergoing spurious operation ($P > 0.05$) as well as between mice treated with high- and medium-dose ¹²⁵I seeds. In patients undergoing ¹²⁵I seed implantation, no displacement or loss of seeds occurred. The local recurrence rate was significantly lower (14.9% vs 38.7%, $P < 0.05$) and the rate of complete response (CR) plus partial response (PR) was significantly higher (78.8% vs 30.3%, $P <$

背景资料

ESCC是世界上常见的恶性肿瘤之一,居世界癌症死因第7位,居我国癌症死因第4位.复发转移仍是治疗失败的主要原因.单纯手术治疗晚期ESCC患者,其5年生存率只有10%-20%.可否在术中联合永久性植入¹²⁵I放射性粒子治疗ESCC,尚缺乏系统性研究.

同行评议者

李华, 副教授, 中山大学附属第三医院肝脏外科

■ 研发前沿

¹²⁵I粒子植入组织间近距离放疗具有高度适形放疗的特点,同时拥有微创、损伤轻微、并发症少、使用便易等优势,在治疗一些恶性实体肿瘤方面已取得了满意的疗效。然而,¹²⁵I粒子植入治疗ESCC目前仍少有报道。

0.05) in patients undergoing intraoperative ¹²⁵I seed implantation than in those undergoing surgery alone. There were no statistical differences in the incidence of complications and the 1-year survival rate (both $P > 0.05$) between the two groups of patients. However, the 3-, 5-, and 7-year survival rates were statistically higher in patients undergoing surgery alone than in those undergoing intraoperative ¹²⁵I seed implantation (64% vs 52%, 42.7% vs 34.5% and 25.1% vs 12.6%, all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Intraoperative ¹²⁵I seed implantation brachytherapy can reduce local recurrence and improve survival in patients with ESCC and therefore represents a safe, effective and simple approach for ESCC.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Brachytherapy; ¹²⁵I seed; Thoracic surgery

Lv J, Cao XF, Zhu B, Ji L, Xiao J, Wang DD, Tao L, Wang S, An HY. ¹²⁵I seed implantation brachytherapy for esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3065-3071

摘要

目的: 探讨¹²⁵I粒子在体内外对人ESCC的疗效和作用机制以及植入治疗胸段中晚期食管鳞癌(ESCC)的安全性及疗效。

方法: 细胞及动物实验:¹²⁵I粒子植入体外培养的人食管鳞癌Eca-109细胞,分A组不加粒子(对照组);B组0.2 mCi(低剂量组);C组0.4 mCi(中剂量组);D组0.8 mCi(高剂量组)。分析细胞克隆形成率、细胞凋亡指数和细胞周期分布情况;建立裸鼠皮下移植性食管癌模型后,对照组(A组,不做任何处理)、假手术组(B组,穿刺瘤体1次,但不植入粒子)、低剂量组(C组,0.2 mCi)、中剂量组(D组,0.4 mCi)和高剂量组(E组,0.8 mCi),计算各组抑瘤率。临床试验:前瞻性研究,入组时间为2000-2004年。根据ESCC术前CT分期标准,298例Ⅱ-Ⅲ期胸段ESCC患者随机分为术中联合¹²⁵I粒子植入组及单纯手术组。依据TPS所确定的剂量,A组术中直视下植入¹²⁵I粒子。选用0.5 mCi的¹²⁵I粒子20-40粒,总活度在10-30 mCi,肿瘤匹配周边剂量60-70 Gy,术后行粒子验证和质量评估。观察患者术后并发症、监测局部复发情况、评价患者疗效。

结果: 细胞克隆形成率B、C、D组均低于A组($P < 0.05$);C、D组均低于B组($P < 0.01$);C、D组无统计学差别($P > 0.05$)。细胞凋亡指数B、C、D组均高于A组($P < 0.01$);C、D组均高于B

组($P < 0.01$),C、D组无统计学差别($P > 0.05$)。随粒子剂量增加,G₂/M期细胞所占比例增高,各组之间均有统计学意义($P < 0.01$)。动物实验中,瘤体积C、D、E组明显小于A组($P < 0.05$),D、E组均小于C组($P < 0.05$),但D、E组之间无统计学意义($P > 0.05$);B、A组瘤体积相比无统计学意义($P > 0.05$)。临床试验中,术中联合¹²⁵I粒子植入组术后粒子验证无移位、脱落,质量评估满意。术中联合¹²⁵I粒子植入组与单纯手术组局部复发率分别为14.9%、38.7%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。术中联合¹²⁵I粒子植入组术后3 mo有效率(CR+PR)高于单纯手术组,差异有统计学意义(78.8% vs 30.3%, $P < 0.05$)。二组并发症比较无统计学意义($P > 0.05$)。术中联合¹²⁵I粒子植入组与单纯手术组1年生存率之间的差异无统计学意义($P > 0.05$),术中联合¹²⁵I粒子植入组3、5、7年生存率均高于单纯手术组,差异有统计学意义(64% vs 52%, 42.7% vs 34.5%, 25.1% vs 12.6%, 均 $P < 0.05$)。

结论: 术中联合¹²⁵I粒子植入治疗中晚期ESCC是简单、安全、有效的方法,可降低局部复发率,延长患者生存期。

关键词: 食管鳞癌;近距离放射疗法;¹²⁵I粒子;胸外科

吕进,曹秀峰,朱斌,纪律,肖建,王冬冬,陶磊,王山,安红银。放射性¹²⁵I粒子治疗食管鳞癌的安全性及疗效。《世界华人消化杂志》2010; 18(29): 3065-3071

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3065.asp>

0 引言

食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是世界上常见的恶性肿瘤之一,居世界癌症死因第7位^[1],居我国癌症死因第4位,复发转移仍是治疗失败的主要原因。单纯手术治疗晚期ESCC患者,其5年生存率只有10%-20%^[2,3]。可否在术中联合永久性植入¹²⁵I放射性粒子治疗ESCC,尚缺乏系统性研究。本研究将通过¹²⁵I粒子照射体外培养的人ESCC细胞和体内植入治疗裸鼠移植食管癌,探讨放射性¹²⁵I粒子组织间植入近距离放疗在体内外对人ESCC的疗效及作用机制,同时在此基础上对术中联合¹²⁵I粒子植入治疗中晚期ESCC进行前瞻性研究。

1 材料和方法

1.1 材料 人ESCC Eca-109细胞购于中国科学院上海分院细胞研究所,¹²⁵I放射性粒子中国同位素公司上海欣科医药有限公司提供,♂BABL/C裸鼠购于中国科学院上海分院实验动物中心。

2000-08/2004-08, 共958例患者均经内镜活检、病理组织学诊断为ESCC. 根据术前CT分期标准^[3], 298例II-III期患者相继入组, 随机分为术中联合¹²⁵I粒子植入组及单纯手术组. 入组前均与患者签署治疗知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 细胞及动物实验: (1)细胞培养: 人ESCC Eca-109细胞培养于高糖型DMEM培养液中, CO₂恒温培养箱培养. 当细胞生长至覆盖瓶壁80%左右时进行传代, 传至4-5代后用于实验.

(2)细胞克隆形成率及细胞凋亡和细胞周期分析: 实验细胞0.25%胰酶消化液消化, 吹打, 接种于培养皿, CO₂恒温培养箱培养, 将不同剂量¹²⁵I粒子植入后继续培养, 第1-7天观察形成的细胞团, 计克隆形成数、绝对克隆形成率(absolute colony forming efficiency, CFE)和相对克隆形成率(relative colony forming efficiency, RFE). 粒子照射1 wk后将各组细胞以0.25%胰酶消化液消化, 离心, PBS漂洗, 孵育缓冲液混匀, 室温、避光下孵育15 min, 流式细胞仪定量检测, 计算细胞凋亡指数(apoptotic index, AI). 终浓度悬浮细胞70%乙醇固定, 过夜, 离心, 0.1%的PI染液室温下避光染色30 min, 流式细胞仪进行细胞周期检测. 应用Cell Quest软件分析. (3)体内植入¹²⁵I抑瘤分析: 健康♂ SPF级BABL/C裸鼠30只, 实验裸鼠右侧大腿根部外侧注射 1×10^7 /mL Eca-109细胞悬液1 mL, 分笼饲养, 观察肿瘤体积长至1 cm × 1 cm × 1 cm左右后, 取20只随机分为不同剂量¹²⁵I粒子植入组, 分为对照组(A组, 不做任何处理)、假手术组(B组, 植入针穿刺瘤体1次, 不植入粒子)、低剂量组(C组, 瘤体中心植入 7.4×10^6 Bq ¹²⁵I粒子1枚)、中剂量组(D组, 植入 14.8×10^6 Bq ¹²⁵I粒子1枚)和高剂量组(E组, 植入 29.6×10^6 Bq ¹²⁵I粒子1枚). 30 d后处死裸鼠, 计算瘤体大小和肿瘤抑制率.

1.2.2 临床研究: (1)入组治疗资料: CT等所有检查结果的采集和评估均由肿瘤学专家执行. 应用计算机三维治疗计划系统(treatment planning system, TPS)术前或术中制定治疗计划. 依据TPS所制定的剂量, 术中直视下¹²⁵I粒子(北京原子高科提供)组织间植入. 选用0.5 mCi的¹²⁵I粒子20-40粒, 总活度在10-30 mCi, 匹配周边剂量(matched peripheral dose, MPD)60-70 Gy, 粒子间距10 mm, 距大血管、支气管、吻合口等重要部位 ≥ 5 mm. 对胸中下段食管癌于胃左动脉旁、腹腔动脉旁、隆突前后及瘤床处布源; 对胸中上段食管癌于隆突前后、后纵隔、沿奇静

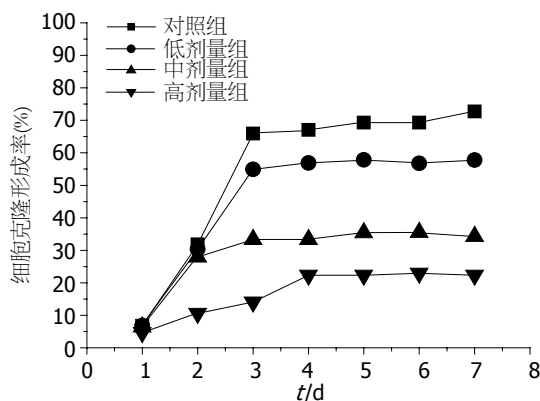


图1 植入¹²⁵I放射性粒子3 d后各组细胞克隆形成率. 各组细胞克隆形成率逐渐趋于平稳, 差距渐趋明显.

脉以及瘤床处布源. 植入后即刻超声探查, 粒子分布不均时在“冷点”区补种粒子, 术后通过影像学手段(CT、X片)行粒子验证和质量评估. 两组均根据术中情况行食管癌根治术、姑息性减瘤手术或食管胃转流术. 术后患者均采用PF方案, 即顺铂(DDP)20-30 mg, iv, d₁₋₅; 氟尿嘧啶(5-FU)1 000-1 250 mg, iv, d₁₋₅. (2)入组疗效评估: 观察患者术后并发症; 通过CT监测肿瘤影像学、局部复发情况; 近期疗效评定按WHO相关肿瘤评定标准: 肿瘤消失维持1 mo为完全缓解(complete response, CR), 体积缩小50%以上维持1 mo为部分缓解(partial response, PR), 缩小不足50%为无变化(no change, NC)或稳定(stable disease, SD), 肿瘤体积增大>25%或有新病灶出现为进展(progress of disease, PD), 有效为CR+PR. 随访所有患者术后1、3、5、7年生存率.

统计学处理 细胞及动物实验采用STATA 10.0分析统计学数据, 各组数据表示采用mean ± SD, 各组间细胞克隆形成率、细胞凋亡率与细胞周期变化率用Chi-square Test法分析, 粒子近距离照射后裸鼠移植瘤体积等各组数据行t检验, 对不同粒子剂量照射的各组裸鼠移植瘤生长抑制率进行 χ^2 检验; 临床研究采用STATA 10.0分析统计学数据, 一般资料组间差异运用 χ^2 检验比较, 绘制Kaplan-Meier生存曲线, 生存分析采用Log-rank检验. $P < 0.05$ 差异有统计学意义.

2 结果

2.1 细胞及动物实验

2.1.1 细胞克隆形成率: 对照组中克隆形成较为均匀, 各实验组中粒子周围细胞克隆形成相对较少, 远离粒子1 cm以上, 细胞克隆形成明显增多. 7 d后各实验组细胞克隆形成率均低于对照组($P < 0.05$), 中(0.4 mCi)、高(0.8 mCi)剂

■ 相关报道

¹²⁵I粒子植入组具有高度适形放疗的特点, 同时拥有微创、损伤轻微、并发症少、使用便易等优势, 在治疗一些恶性实体肿瘤方面已取得了满意的疗效.

■创新盘点

^{125}I 粒子植入治疗ESCC目前仍少有报道。本研究通过 ^{125}I 粒子照射体外培养的人ESCC细胞和体内植入治疗裸鼠移植食管癌,探讨 ^{125}I 粒子组织间植入近距离放疗在体内外对人ESCC的疗效及作用机制,同时在此基础上对术中联合 ^{125}I 粒子植入治疗中晚期ESCC进行前瞻性研究。

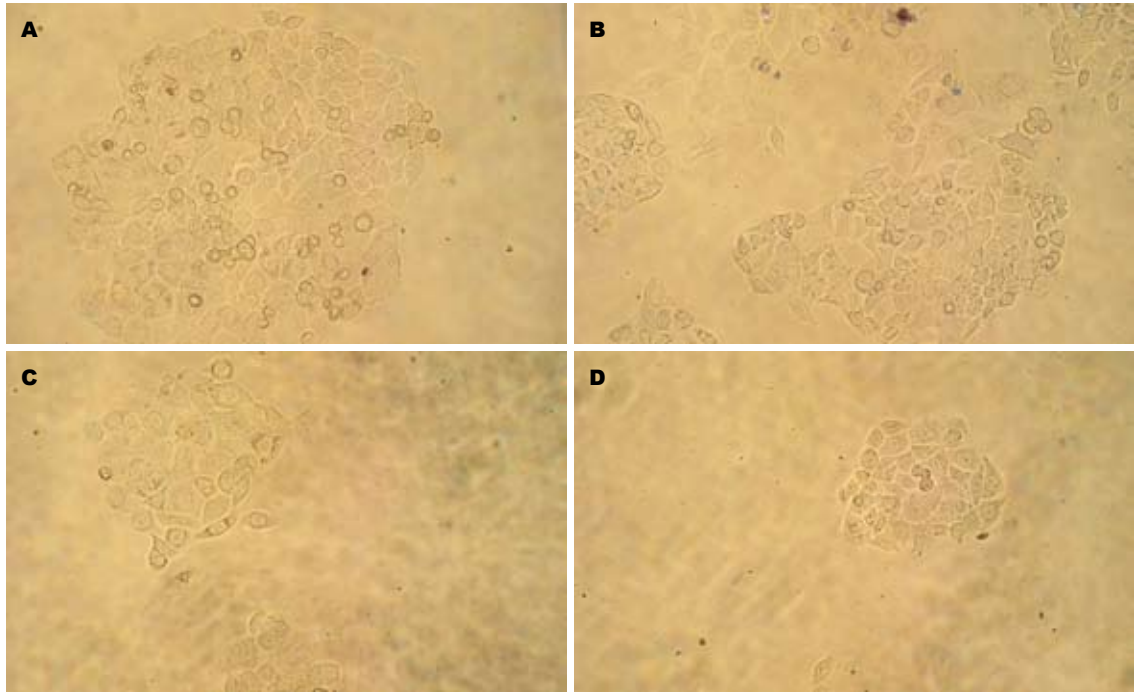


图2 Eca-109细胞克隆形成($\times 200$)。A: 未经粒子照射,细胞呈典型鳞状细胞癌表现,癌细胞异形明显,细胞团较紧密;B: 经0.2 mCi粒子照射后,可见被照射细胞有坏死表现,出现少量核碎裂;C: 经0.4 mCi粒子照射后,可见明显细胞坏死,核碎裂、核溶解、细胞模糊无结构,细胞克隆形成较松散;D: 经0.8 mCi粒子照射后,细胞坏死、核碎裂、核溶解、细胞模糊无结构,细胞克隆形成更加松散。

量组与低剂量组(0.2 mCi)比较均有统计学意义($P < 0.01$),中高剂量比较差别无统计学意义($P > 0.05$,图1,2)。

2.1.2 细胞凋亡:各实验组与对照组的AI值差异均有统计学意义($P < 0.01$),中高剂量组与低剂量组比较均有统计学意义($P = 0.000$),中高剂量组比较无统计学意义($P = 0.209$)。

2.1.3 细胞周期变化:随粒子剂量的增加, G_2/M 期比例增高,S期细胞逐渐减少,各组之间均有统计学意义($P < 0.01$);各实验组细胞 G_0 和 G_1 期百分比与对照组比较无统计学意义($P > 0.05$)。

2.1.4 抑瘤率分析:实验组瘤体1 wk左右生长趋停止,约10 d后体积开始缩小,对照组肿瘤继续生长。30 d后各实验组抑瘤率均高于对照组($P < 0.05$),中高剂量组与低剂量组相比均有统计学意义($P < 0.05$),中高剂量组之间相比无统计学意义($P = 0.150$)。空白剂量组和对照组相比无统计学意义($P = 0.255$)。

2.2 临床研究结果 术前患者资料见表1。观察时间从术后截止2008-08-31(中位随访时间42 mo,95%CI: 37-55),298例患者中290例获随访,8例失访(统计列为截尾数据),目前仍继续随访中。 ^{125}I 粒子植入组术后粒子验证无移位、脱落;MPD 60-70 Gy,100%剂量的靶体积(V_{100}) $> 90\%$,

表1 298例ESCC患者术前一般资料

	术中联合 ^{125}I 粒子植入组($n = 150$)	单纯手术组($n = 148$)	χ^2 值	P 值
男:女	81:69	82:66	0.0594	0.807
年龄(岁)			0.1100	0.991
40-	23	21		
50-	45	44		
60-	59	59		
70-	23	24		
肿瘤分段			0.9863	0.610
上胸段	27	29		
中胸段	78	69		
下胸段	45	50		
CT分期			0.0072	0.932
II	31	30		
III	119	118		

术前CT分期按照以下标准: I: 肿瘤局限于食管腔内或管壁厚度在3-5 mm; II: 管壁厚度 > 5 mm,但未侵犯纵隔,无远处转移; III: 肿瘤侵犯邻近纵隔结构; IV: 出现远处转移。

90%的靶区剂量(D_{90}) $> \text{MPD}$,提示应用剂量合理可行,质量评估满意,无需补种粒子。随访中无患者死于手术及粒子治疗,69.4%死于局部复发和远处转移,术中联合 ^{125}I 粒子植入组及单纯手术组局部复发率分别为14.9%和38.7%,比较差

表 2 食管癌术后病理分期及并发症、死因 n(%)

	术中联合 ¹²⁵ I粒子植入组(n = 150)	单纯手术组(n = 148)	n = 298	χ^2 值	P值
手术切除				0.0901	0.956
根治性	117(78.0)	115(77.7)	232(77.9)		
姑息性	25(16.7)	26(17.6)	51(17.1)		
无法切除(转流手术)	8(5.3)	7(4.7)	15(5.0)		
病理分期				0.5139	0.773
II a	9(6.0)	10(6.7)	19(6.4)		
II b	19(12.7)	15(10.1)	34(11.4)		
III	122(81.3)	123(83.1)	245(82.2)		
并发症				1.8068	0.613
反流性食管炎	26(17.3)	28(18.9)	54(18.1)		
死因				18.5837	0.000
局部复发	20(14.9)	55(38.7)	75(27.2)		
远处转移	65(48.5)	67(47.2)	132(47.8)		
后续治疗(化疗)	26(19.4)	10(7.0)	36(13.0)		
不相关原因	23(17.2)	10(7.0)	33(12.0)		

应用要点
本研究通过体内
外及临床研究显
示, 选择合适的患
者于术中联合¹²⁵I
粒子植入治疗中
晚期ESCC可降低
局部复发率, 延长
患者生存期。

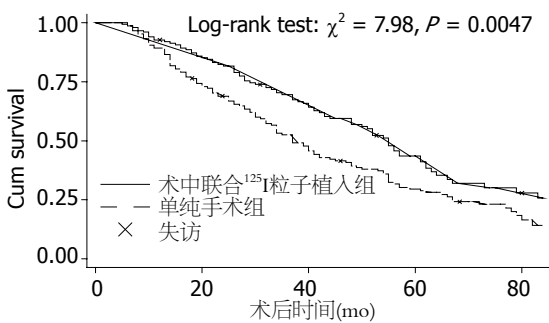


图 3 术后食管癌患者总体生存曲线。

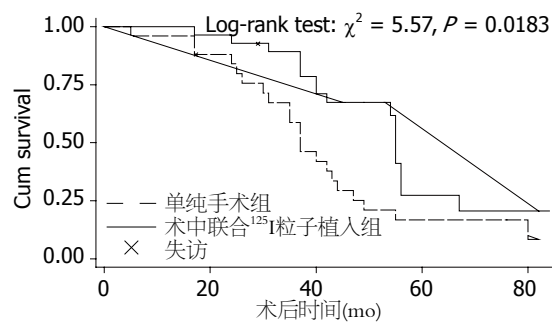


图 4 术后食管癌患者pTNM分期为II a+ II b生存曲线。

异有统计学意义($\chi^2 = 10.0719, P = 0.002$)。术中联合¹²⁵I粒子植入组手术切除率94.7%, 25例行减瘤手术, 8例行转流手术; 单纯手术组手术切除率95.3%, 26例行减瘤手术, 7例行转流手术。两组根治性切除率(78.0% vs 77.7%)、姑息性切除率(16.7% vs 17.6%)、转流手术率(5.3% vs 4.7%)比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.0901, P = 0.956$)。对于食管癌无法切除者(转流手术), 术中联合¹²⁵I粒子植入组有效率(CR+PR)78.8%(26/33), 与单纯手术组有效率30.3%(10/33)比较差异有统计学意义($\chi^2 = 15.6444, P = 0.000$); 术中联合¹²⁵I粒子植入组发生反流性食管炎26例(17.3%), 肺部感染1例(0.6%), 单纯手术组发生反流性食管炎28例(18.9%), 吻合口漏、吻合口狭窄、肺部感染各1例(0.7%), 并发症比较差异无统计学意义($\chi^2 = 1.8068, P = 0.613$)。两组间1年生存率比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.72, P = 0.3970$), 但3、5、7年生存率比较差异有统计学意义($\chi_1^2 =$

4.67, $P_1 = 0.0307$; $\chi_2^2 = 5.85, P_2 = 0.0156$; $\chi_3^2 = 10.76, P_3 = 0.0010$), 中位生存期比较差异有统计学意义(55 mo 95%CI: 48-62 vs 37 mo 95%CI: 32-45, $\chi^2 = 7.98, P = 0.004$, 图3)。亚组中pTNM分期为II期患者术中联合¹²⁵I粒子植入组和单纯手术组中位生存期比较差异有统计学意义(51 mo 95%CI: 40.6-54.7 vs 47 mo 95%CI: 37.3-54.9, $\chi^2 = 5.57, P = 0.0183$, 图4)。食管癌术后病理分期及并发症、死因见表2, 食管癌术后近期疗效评价见表3, 影像学检查(CT)见图5。

3 讨论

¹²⁵I粒子植入组织间近距离放疗具有高度适形放疗的特点, 同时拥有微创、损伤轻微、并发症少、使用便易等优势, 在治疗一些恶性实体肿瘤方面已取得满意疗效^[4-9]。然而, ¹²⁵I粒子植入治疗ESCC目前仍少有报道。本研究显示, ¹²⁵I粒子可明显抑制人ESCC Eca-109细胞克隆形成, 随

同行评价

本文选题新颖, 数据可靠, 对治疗中晚期食管鳞癌有一定的借鉴意义。

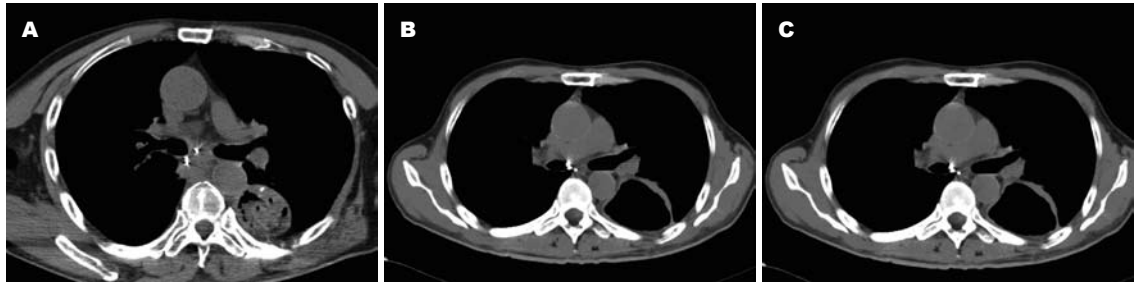


图 5 CT示某患者食管癌术后病灶的变化. A: 姑息性切除术后中植入粒子1 wk; B: 3 mo后病灶渐消失; C: 1年后病灶与前片比较基本无变化.

表 3 未行根治术的食管癌患者近期疗效评价 $n(\%)$

	术中联合 ^{125}I 粒子 植入组($n = 33$)	单纯手术组 ($n = 33$)	$n = 66$	χ^2 值	P 值
近期疗效				15.6444	0.000
CR	6(18.2)	0(0.0)	6(9.0)		
PR	20(60.6)	10(30.3)	30(45.5)		
SD	5(15.2)	1(3.0)	6(9.0)		
PD	2(6.1)	22(66.7)	24(36.4)		

CR: 全缓解; PR: 部分缓解; SD: 无变化; PD: 进展.

放射剂量的增加对细胞凋亡的诱导越明显, 随距离增加渐降低, 可使 G_2 -M期比例增高, 并与粒子剂量成正比. 体内植入可使移植瘤体积明显缩小, 抑瘤率随剂量的增加而增大. 说明 ^{125}I 粒子可有效抑制人ESCC Eca-109细胞克隆形成率, 诱导细胞凋亡, 并通过把细胞阻滞在 G_2 /M期而延迟细胞分裂, 抑制其增殖能力, 且裸鼠瘤体内植入可有效缩小肿瘤体积, 杀伤ESCC细胞. 虽中高剂量组疗效无差异, 但考虑到高剂量副作用较大, 应以中剂量为宜. 单枚 ^{125}I 粒子的推荐剂量为0.4-0.8 mCi.

同时在此基础上, 本中心对术中联合 ^{125}I 粒子植入治疗胸段中晚期ESCC患者进行了长期随访研究. 由于很少有一种积极的手术方法适用于颈段食管癌, 故并未将其纳入. 研究显示A组及B组术后并发症比较无统计学意义($P > 0.05$). 对于近期疗效的评价, 食管癌无法切除者A组及B组比较差异有统计学意义($P < 0.05$). 同时二组死亡率比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 且A组死于局部复发的患者显著降低($P < 0.05$). 本研究排除了不同手术方法对中晚期ESCC患者生存率的影响, 并排除不适合手术的IV期食管癌患者. 3、5、7年生存率分析显示A组可显著提高长期生存率, 并具有统计学意义($P < 0.05$), 两组1年生存率之间的差异无统计学意义($P > 0.05$). 同时

亚组分析发现pTNM II期患者A组中位生存期高于B组, 并具有统计学意义($P < 0.05$), 这也提示生存期的延长可能获益于粒子植入后局部复发率的降低, 显示术中联合 ^{125}I 粒子植入也适用于II a或II b患者, 扩大了相应适应证. 本研究采用 ^{125}I 粒子单粒活度0.5 mCi, MPD 60-70 Gy是合理的, 疗效及预后较佳. 相对于外放疗, 术中 ^{125}I 粒子植入治疗有以下优点: (1) ^{125}I 粒子植入与手术结合, 有望缩小手术的解剖范围, 扩大治疗范围. 术后残留部位即时得到放射治疗, 尽可能减少癌细胞的再增殖; (2)在瘤床及淋巴结转移途径布源, 可提高治疗效果, 抑制肿瘤细胞的转移, 同时可减轻手术创伤和对正常组织的干扰, 有助术后恢复. 术中行粒子植入时, 靶区完全显露在视野中, 几何丢失几率明显减少, 具有高度适形性、局部控制和持续低剂量等优点, 并减少了外放疗常见并发症的出现; (3)对患者术后恢复无影响, 可明显改善患者生活质量; (4)操作简单易行、安全、有效, 患者易接受. 因此, 手术联合 ^{125}I 粒子植入治疗中晚期ESCC简单、安全、有效.

然而, 影响其疗效的因素有多方面. 结果显示术中联合 ^{125}I 粒子植入治疗中晚期ESCC虽局部复发率降低, 但仍有大部分患者死于远处转移, 占48.5%. 因此, 合理的后续综合治疗是必须的. 关键在于如何区分哪些患者能得益于

¹²⁵I粒子植入疗法, 这仍需进一步研究.

总之, 本研究通过体外及临床研究显示, 选择合适的患者于术中联合¹²⁵I粒子植入治疗中晚期ESCC可降低局部复发率, 延长患者生存期.

4 参考文献

- 1 Fisichella PM, Patti MG. Esophageal cancer. eMedicine: Oncology, 2009-03-04; cited 2010-10-18. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/277930-overview>
- 2 Brenner B, Ilson DH, Minsky BD. Treatment of localized esophageal cancer. *Semin Oncol* 2004; 31: 554-565
- 3 Cao XF, He XT, Ji L, Xiao J, Lv J. Effects of neoadjuvant radiochemotherapy on pathological staging and prognosis for locally advanced esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2009; 22: 477-481
- 4 Ebara S, Katayama N, Tanimoto R, Edamura K, Nose H, Manabe D, Kobayashi T, Kobayashi Y, Kobuke M, Takemoto M, Saika T, Nasu Y, Kanazawa S, Kumon H. Iodine-125 seed implantation (permanent brachytherapy) for clinically localized prostate cancer. *Acta Med Okayama* 2008; 62: 9-13
- 5 Darakchiev BJ, Albright RE, Breneman JC, Warnick RE. Safety and efficacy of permanent iodine-125 seed implants and carmustine wafers in patients with recurrent glioblastoma multiforme. *J Neurosurg* 2008; 108: 236-242
- 6 Zhang J, Zhang JG, Song TL, Zhen L, Zhang Y, Zhang KH, Yang ZH, Yu GY. 125I seed implant brachytherapy-assisted surgery with preservation of the facial nerve for treatment of malignant parotid gland tumors. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2008; 37: 515-520
- 7 Martínez-Monge R, Pagola M, Vivas I, López-Picazo JM. CT-guided permanent brachytherapy for patients with medically inoperable early-stage non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2008; 61: 209-213
- 8 Jin Z, Du Y, Li Z, Jiang Y, Chen J, Liu Y. Endoscopic ultrasonography-guided interstitial implantation of iodine 125-seeds combined with chemotherapy in the treatment of unresectable pancreatic carcinoma: a prospective pilot study. *Endoscopy* 2008; 40: 314-320
- 9 Zhang FJ, Li CX, Wu PH, Li K, Huang JH, Fan WJ, Zhang L, Gu YK, Lu MJ, Wu YX, Wang JJ. [Radioactive seed 125I implantation in treating recurrence and metastasis after liver transplantation in hepatoma] *Zhonghua Yixue Zazhi* 2007; 87: 956-959

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

火绒草水溶性提取物对D-半乳糖胺致肝细胞损伤的抑制作用

宋雪英, 伍义行, 胡少青, 郝冰洁, 孟庆莉

■背景资料

对火绒草的研究主要停留在其抗炎和降血糖作用上, 其他药理活性鲜有报道, 尤其是民间用来治疗肝炎并取得显著疗效的相关药理活性国内外尚未见报道。

宋雪英, 杭州师范大学附属医院 浙江省杭州市 310015
伍义行, 胡少青, 郝冰洁, 孟庆莉, 中国计量学院生命科学院药理学系 浙江省杭州市 310018
宋雪英, 主要从事中药药理及新制剂方面的研究。
浙江省中医药科技计划基金资助项目, No. 2008CA088
杭州市卫生科技计划基金资助项目, No. 2008B0027
作者贡献分布: 本论文由伍义行设计和撰写; 研究过程具体操作由宋雪英、胡少青、郝冰洁及孟庆莉完成。
通讯作者: 伍义行, 副教授, 310018, 浙江省杭州市下沙高教园区学源街258号, 中国计量学院生命科学院药理学系。
yihangwu@126.com
电话: 0571-86835702 传真: 0571-86914449
收稿日期: 2010-07-16 修回日期: 2010-08-15
接受日期: 2010-08-24 在线出版日期: 2010-10-18

Inhibitory effect of aqueous extract of *Leontopodium leontopodioides* against D-galactosamineN-induced hepatocyte injury

Xue-Ying Song, Yi-Hang Wu, Shao-Qing Hu, Bing-Jie Hao, Qing-Li Meng

Xue-Ying Song, the Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310015, Zhejiang Province, China

Yi-Hang Wu, Shao-Qing Hu, Bing-Jie Hao, Qing-Li Meng, Department of Pharmacy, College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, Zhejiang Province, China

Supported by: the Science and Technology Project of Traditional Chinese Medicine of Zhejiang Province, No. 2008CA088; and the Medical Science and Technology Project of Hangzhou, No. 2008B0027

Correspondence to: Associate Professor Yi-Hang Wu, Department of Pharmacy, College of Life Sciences, China Jiliang University, 258 Xueyuan Avenue, Xiasha Higher Education District, Hangzhou 310018, Zhejiang Province, China. yihangwu@126.com

Received: 2010-07-16 Revised: 2010-08-15

Accepted: 2010-08-24 Published online: 2010-10-18

Abstract

AIM: To investigate the hepatoprotective effect of *Leontopodium leontopodioides* against D-galactosamineN (D-GalN)-induced hepatocyte injury *in vitro* and *in vivo*.

METHODS: The *in vitro* protective effect of the aqueous extract of *Leontopodium leontopodioides* (AELL) against D-GalN-induced hepatocyte in-

jury was studied using primary cultured neonatal rat hepatocytes and HL-7702 hepatocytes by MTT assay. The *in vivo* protective effect of AELL on D-GalN-induced liver injury was evaluated in mice by examining some parameters of hepatocyte injury, such as serum aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and histopathological alterations.

RESULTS: At concentrations of 10-100 mg/L, AELL significantly improved the viability of neonatal rat hepatocytes and HL-7702 hepatocytes (both $P < 0.01$). Compared with untreated model mice, oral administration of AELL at doses of 50 and 100 mg/kg significantly reduced serum AST and ALT levels and improved hepatocyte injury (115.28 IU/L \pm 4.86 IU/L and 112.69 IU/L \pm 3.72 IU/L vs 127.62 IU/L \pm 6.34 IU/L, both $P < 0.05$ or 0.01; 78.11 IU/L \pm 6.58 IU/L and 77.52 IU/L \pm 5.05 IU/L vs 99.55 IU/L \pm 10.26 IU/L, both $P < 0.01$).

CONCLUSION: AELL has a potent hepatoprotective effect against D-GalN-induced hepatocyte injury *in vitro* and *in vivo*.

Key Words: *Leontopodium leontopodioides*; Aqueous extract; Hepatocyte injury model; D-galactosamineN; Hepatoprotection

Song XY, Wu YH, Hu SQ, Hao BJ, Meng QL. Inhibitory effect of aqueous extract of *Leontopodium leontopodioides* against D-galactosamineN-induced hepatocyte injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3072-3077

摘要

目的: 探讨火绒草水溶性提取物(LLAE)对D-半乳糖胺诱导的肝细胞损伤的影响。

方法: 建立D-半乳糖胺诱导的新生大鼠原代肝细胞损伤模型和HL-7702肝细胞损伤模型, 采用MTT方法研究LLAE的体外抗肝细胞损伤作用。同时以AST、ALT和肝组织病理学改变为指标, 探讨LLAE对D-半乳糖胺诱导的小鼠肝损伤的影响。

■同行评议者

李康, 副教授, 广东药学院药科学院药物分析教研室

结果: LLAE在10-100 mg/L浓度下, 明显改善了D-半乳糖胺诱导的新生大鼠原代肝细胞和HL-7702肝细胞的损伤(均 $P<0.01$), 提高了细胞的生存能力. 在50 mg/kg和100 mg/kg剂量下, LLAE组较模型组能显著抑制D-半乳糖胺诱导的肝损伤小鼠血清AST和ALT的升高(115.28 IU/L \pm 4.86 IU/L, 112.69 IU/L \pm 3.72 IU/L vs 127.62 IU/L \pm 6.34 IU/L, $P<0.05$ 或0.01; 78.11 IU/L \pm 6.58 IU/L, 77.52 IU/L \pm 5.05 IU/L vs 99.55 IU/L \pm 10.26 IU/L, 均 $P<0.01$), 对肝组织病理学改变有明显的改善作用.

结论: LLAE对D-半乳糖胺诱导的体内外肝细胞损伤具有明显保护作用.

关键词: 火绒草; 水溶性提取物; 肝损伤模型; D-半乳糖胺; 保肝作用

宋雪英, 伍义行, 胡少青, 郝冰洁, 孟庆莉. 火绒草水溶性提取物对D-半乳糖胺致肝细胞损伤的抑制作用. 世界华人消化杂志 2010; 18(29): 3072-3077

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3072.asp>

0 引言

火绒草[*Leontopodium leontopodioides* (Willd.) Beauv.]系菊科火绒草属植物的一种, 属多年生草本, 在我国分布广泛^[1]. 火绒草作为一种民间常用的中草药, 也属于藏药和蒙药的范畴. 味微苦, 性寒, 具有清热解毒、凉血止血、益肾利水、消炎利尿之功效. 主治肾炎、支气管炎、流行性感、瘟病时疫等多种疾病^[2,3]. 目前从火绒草700 mL/L乙醇提取物的正丁醇部分共分得5个单体: 咖啡酸、香草酸、原儿茶醛、反式桂皮酸和一种含有酚羟基的醛类化合物; 从950 mL/L乙醇提取物的甲醇部分又分离出两种单体: 阿魏酸和 β -谷甾醇^[4]. 李礼等^[5]从火绒草正丁醇部分中分离得到了5个化合物, 分别为小檗碱、胡萝卜苷、 β -谷甾醇、香草酸和咖啡酸. 尤献民等^[6]从火绒草中分离出火绒草多糖, 并测定其含量为4.57%-8.39%. 陈行烈等^[7]从火绒草中分离出桉醇、喇叭茶醇及法呢醇等27种化合物. 此外, 火绒草中还含有乔松素、5-hydroxyobliquin和槲皮素等^[8,9].

从火绒草中分离出的咖啡酸、香草酸、原儿茶醛, 经实验证明是治疗急、慢性肾炎的主要有效成分. 火绒草水提液具有降血糖和利尿作用, 其醇提物还具有明显的镇痛、镇静作用, 并且对治疗免疫复合物性疾病有明显抑制作用^[10,11]. 此外, 火绒草水提物、醇提物及其分

离组分还具有较强的抗炎免疫作用. 目前对火绒草的研究主要停留在其抗炎和降血糖作用上, 其他药理活性鲜有报道, 尤其是民间用来治疗肝炎并取得显著疗效的相关药理活性国内外尚未见报道.

1 材料和方法

1.1 材料 水飞蓟宾(陕西森佛生物有限公司); D-氨基半乳糖(武汉祥和精细化工有限公司); 1640培养基(Invitrogen Corporation产品); 胎牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司); 胰酶, MTT(上海生工生物工程技术有限公司); 谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)试剂盒(南京建成生物工程研究所产品); 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO; 无锡海硕生物有限公司). 正常组织来源的人肝细胞株HL-7702(中国科学院上海细胞所提供). 1 d龄SD大鼠, 清洁级; ICR小鼠, δ , 清洁级, 体质量20 g \pm 2 g, 由浙江省实验动物中心提供, 动物许可证号: SCXK(浙)2008-0033.

1.2 方法

1.2.1 火绒草水溶性提取物的制备: 火绒草全草, 采自青藏高原甘南草原(甘南藏族自治州临潭县城关镇), 标本保存于中国计量学院植物化学综合实验室. 药材阴干后, 切成小段, 用950 mL/L的乙醇分别提取3次, 合并3次提取液, 静置除去沉淀, 减压回收溶剂, 获得乙醇浸膏. 每批提取500 g, 按同样的方法提取20批. 取乙醇浸膏用热水溶解后, 分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取后, 浓缩获得水溶性提取物(*Leontopodium leontopodioides* aqueous extract, LLAE)335 g, 供药理研究用.

1.2.2 新生大鼠原代肝细胞分离培养: 取1 d龄新生大鼠, 置于750 mL/L乙醇中浸泡消毒后, 打开腹腔取出肝脏, 放入预置PBS的青霉素瓶中; 加入适量PBS冲洗肝脏上的血污, 将肝脏剪成细颗粒; 转移到10 mL离心管中, 再加入PBS反复吹打后, 离心吸弃上清; 加入约5倍量0.25%胰酶液, 吹打混匀, 置37 $^{\circ}$ C培养箱消化30 min, 使细胞分离; 加1640培养液(含100 mL/L胎牛血清)至10 mL, 吹打混匀, 离心吸弃上清; 再加入1640培养液吹打混匀, 用100目钢筛过滤; 收集滤液于另一10 mL离心管, 置CO₂培养箱孵育15 min; 将细胞悬液用200目钢筛过滤, 收集滤液, 离心吸弃上清, 加入PBS洗涤3次; 末次洗涤后, 吸弃上

■ 研究前沿
肝损伤伴随肝病发展的全部过程, 是各型肝炎共同的病理基础, 治疗与纠正肝细胞损伤是肝病治疗的主要措施之一. 从传统中药中筛选安全高效的有效部位及其活性成分, 是中药现代化和抗肝炎创新药物研制的重要方向之一.

■ 相关报道

李礼等从火绒草正丁醇部分中分离得到了5种化合物,分别为小檗碱、胡萝卜苷、 β -谷甾醇、香草酸和咖啡酸。尤献民等从火绒草中分离出火绒草多糖,并测定其含量为4.57%-8.39%。

清,加入1640培养液重悬,即可得到肝细胞悬液;台盼蓝拒染法检测细胞存活率;用培养液将细胞悬液稀释调整至 5.0×10^5 个/mL浓度;将稀释的肝细胞悬液分别加入96孔板,每孔200 μ L,置37 $^{\circ}$ C下CO₂培养箱中进行原代培养。

1.2.3 人正常肝细胞株HL-7702的培养: HL-7702细胞采用含100 mL/L胎牛血清的RPMI 1640培养液,置37 $^{\circ}$ C下,含50 mL/L CO₂培养箱中进行常规培养。

1.2.4 LLAE对原代肝细胞的毒性研究: 原代肝细胞分离后,加入96孔板置37 $^{\circ}$ C下培养。待肝细胞贴壁后,弃去培养液,分别加入不同浓度的实验药液(先用少量DMSO溶解,再用培养基稀释至所需浓度)各200 μ L,每一浓度设4个复孔,同时设溶剂对照。继续培养48 h后,每孔加入20 μ L MTT(5 g/L),作用4 h,吸弃上清,加入150 μ L DMSO,振荡混匀。在620 nm波长下,用酶标仪测定A值。根据肉眼观察和A值判断样品本身对细胞的毒性,以决定实验样品的浓度。

1.2.5 LLAE对D-GalN致新生大鼠原代肝细胞损伤的影响: 原代肝细胞分离后,加入96孔板置37 $^{\circ}$ C下培养。待肝细胞贴壁后,更换培养液,加入20 mol/L的D-GalN,作用8 h。然后弃去培养液,分别加入不同浓度的实验药液各200 μ L(LLAE设5个浓度梯度,分别为1、10、25、50、100 mg/L)。每浓度设6个复孔,同时设溶剂和阳性对照水飞蓟碱(Silybin, 设5个浓度梯度,分别为1、10、25、50、100 mg/L)。

1.2.6 LLAE对HL-7702肝细胞的毒性研究: HL-7702肝细胞加入96孔板后,置37 $^{\circ}$ C下CO₂培养箱中培养至贴壁,弃去培养液,分别加入不同浓度的实验药液(先用少量DMSO溶解,再用培养基稀释至所需浓度)各200 μ L,每一浓度设4个复孔,同时设溶剂对照。继续培养48 h后,每孔加入20 μ L MTT(5 g/L),作用4 h,吸弃上清,加入150 μ L DMSO,振荡混匀;在620 nm波长下,用酶标仪测定A值。根据肉眼观察和A值判断样品本身对细胞的毒性,以决定实验样品的浓度。

1.2.7 LLAE对D-GalN致HL-7702肝细胞损伤的影响: 待96孔板中HL-7702肝细胞贴壁后,更换培养液,加入40 mmol/L的D-GalN作用8 h;然后弃去培养液,分别加入不同浓度的试验药液各200 μ L(LLAE设5个浓度梯度,即1、10、25、50、100 mg/L),每一浓度设4个复孔,同时设溶剂和阳性对照Silybin, Silybin也设5个浓度梯度,即1、10、25、50、100 mg/L。每孔200 μ L,每液

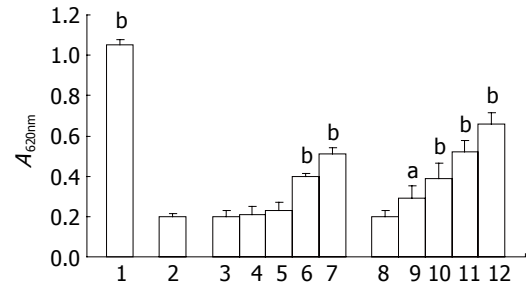


图1 LLAE对D-GalN致新生大鼠原代肝细胞损伤的影响($n = 6$)。1: 溶剂组; 2: D-GalN模型组; 3-7: Silybin 1-100 mg/L组; 8-12: LLAE 1-100 mg/L组。* $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs D-GalN模型组。

度设6个复孔;继续培养48 h后,每孔加入20 μ L MTT,作用4 h,吸弃上清,加入150 μ L DMSO,振荡混匀;在620 nm波长下,用酶标仪测定A值。

1.2.8 LLAE对D-GalN致小鼠肝损伤的影响: δ ICR小鼠60只,随机分成6个组:溶剂对照组(0.5% CMC-Na 10 mL/kg)、模型组(0.5% CMC-Na 10 mL/kg)、50 mg/kg Silybin组、25 mg/kg LLAE组、50 mg/kg LLAE组和100 mg/kg LLAE组,每组10只。分组后灌胃给药(10 mL/kg),每天1次,连续4 d。末次给药后1 h,除正常组外,均参加造模。用生理盐水将D-GalN配成10%溶液,用前振荡混匀。一次性腹腔注射1 000 mg/kg致毒。注射毒物后禁食过夜,以提高肝损伤效果。末次给药24 h后,摘眼球取血,分离血清,按试剂盒说明检测AST和ALT;同时取肝组织放入甲醛溶液中固定,用于制作病理切片。

统计学处理 统计分析采用SPSS10.0软件处理。实验数据以mean \pm SD表示,采用单因素方差分析(ANOVA)和t检验统计, $P < 0.05$ 表示差异具有显著性。

2 结果

2.1 LLAE对新生大鼠原代肝细胞的毒性作用 LLAE在1-100 mg/L浓度下对新生大鼠原代肝细胞和HL-7702肝细胞的正常生长没有影响。

2.2 LLAE对D-GalN致新生大鼠原代肝细胞损伤的保护作用 LLAE在10-100 mg/L浓度时,对D-GalN诱导的原代肝细胞损伤均有显著的保护作用($P < 0.01$ 或0.05),而阳性对照Silybin显示了相似的影响(均 $P < 0.05$,图1),说明LLAE具有较强的抗D-GalN肝损伤作用。

2.3 LLAE对D-GalN致HL-7702肝细胞损伤的保护作用 模型组与LLAE组比较具有显著性差异,LLAE在10-100 mg/L浓度时,对D-GalN致肝细胞损伤有明显的保护作用($P < 0.01$ 或0.05),阳性

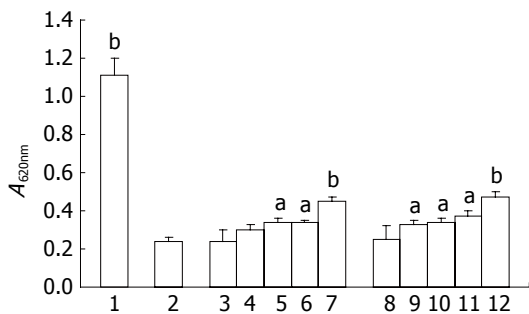


图 2 LLAE对D-GalN致HL-7702肝细胞损伤的影响(n = 6). 1: 溶剂组; 2: D-GalN模型组; 3-7: Silybin 1-100 mg/L组; 8-12: LLAE 1-100 mg/L组. ^aP<0.05, ^bP<0.01 vs D-GalN模型组.

表 1 LLAE对D-GalN致小鼠肝损伤的影响(mean ± SD, n = 10)

分组	AST(IU/L)	ALT(IU/L)
溶剂组	111.05 ± 2.86 ^b	71.28 ± 1.47 ^b
D-GalN模型组	127.62 ± 6.34	99.55 ± 10.26
50 mg/kg Silybin组	121.87 ± 4.58	86.71 ± 5.57 ^a
25 mg/kg LLAE组	119.51 ± 5.14	81.13 ± 4.76 ^a
50 mg/kg LLAE组	115.28 ± 4.86 ^a	78.11 ± 6.58 ^b
100 mg/kg LLAE组	112.69 ± 3.72 ^b	77.52 ± 5.05 ^b

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs D-GalN模型组.

■创新盘点
本研究首次采用D-GalN诱导的大鼠原代肝细胞和人源肝细胞损伤模型以及小鼠肝损伤模型, 系统地研究了火绒草水溶性提取物的保肝作用.

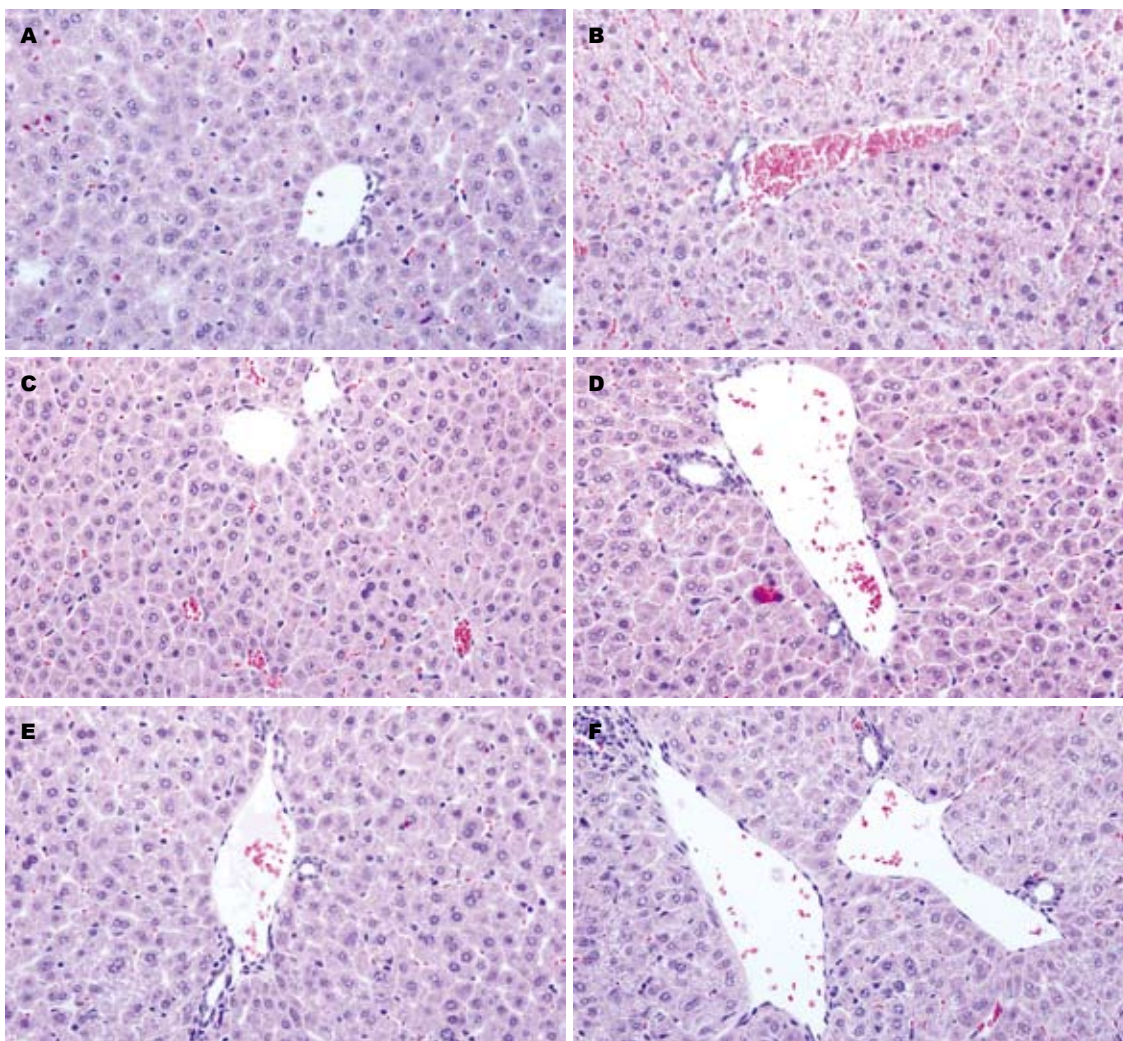


图 3 LLAE对D-GalN致小鼠肝组织病理改变的影响(HE × 40). A: 溶剂组; B: D-GalN模型组; C: 50 mg/kg Silybin组; D: 25 mg/kg LLAE组; E: 50 mg/kg LLAE组; F: 100 mg/kg LLAE组.

对照Silybin显示了相似的保护的作用(P<0.01或0.05, 图2), 说明该样品具有较强的抗D-GalN损伤作用.

2.4 LLAE对D-GalN致小鼠肝损伤的影响 LLAE在50和100 mg/kg剂量下能显著降低D-GalN急性肝损伤小鼠血清AST水平, 在25、50和100

mg/kg剂量下能显著降低D-GalN急性肝损伤小鼠血清ALT水平, 且其抗D-GalN肝损伤作用比阳性药物Silybin稍强(表1). 病理形态学主要表现为弥漫性的多发性片状坏死, 脂肪变性不甚明显, LLAE和Silybin能明显改善D-GalN导致的小鼠肝组织损伤(图3).

■应用要点

本研究为火绒草及其提取物的深入开发利用打下了基础,同时也为该植物的民间应用和中医临床用药提供了一定的科学依据。

3 讨论

肝炎是肝脏发生炎症性病变的总称,根据病因可分为病毒性、酒精性、药源性和自身免疫性肝炎等,以病毒性肝炎为多见,其中以乙型肝炎为主,丙型肝炎次之。据统计目前全世界约有3.5亿HBV携带者,而中国是HBV高感染地区,HBV携带者占总人口比例高达10%-15%,其中慢性乙肝患者约3 000万例,每年约有35万人死于慢性乙肝相关疾病^[12]。在肝炎发病机制中,肝细胞损伤是各型肝炎共同的病理基础,治疗与纠正肝细胞损伤是各型肝炎治疗的主要措施之一。在肝炎临床治疗中,一般采用综合疗法,即抗病毒药、免疫增强剂及保肝药物配合治疗,抗病毒药、免疫增强剂着重于清除体内病毒,保肝药物着重于肝脏功能的恢复。目前真正有效的抗病毒药寥寥无几,临床常用的拉米呋啶等核苷类似物和干扰素,也无法清除病毒。因此,在肝炎治疗中,抗病毒药、免疫增强剂及保肝药都十分重要,而保肝药物对减少肝细胞破坏、延缓慢性肝病的发展具有重要的意义。

D-GalN诱导的肝损伤模型是最常用的保肝药物评价模型之一。Keppler等^[13]于1968年首次应用*D*-GalN制备大鼠肝损伤模型,认为其肝脏病理和生化改变与人类病毒性肝炎极为相似,也能发展为肝性脑病,其可逆性、专一性和重复性均较好。经反复多次给药,*D*-GalN也能诱发动物产生包括纤维化过程在内的慢性肝损伤以及癌变。过去认为*D*-GalN是一种肝细胞磷酸尿嘧啶核苷干扰剂,能竞争性捕捉UTP生成二磷酸尿苷半乳糖(UTP-galactose, UTP-gal),使磷酸鸟苷耗竭,导致物质代谢严重障碍,引起肝细胞变性、花丝;解毒机制障碍更加剧了*D*-GalN的毒性作用^[14]。进一步研究认为自由基和脂质过氧化反应在*D*-GalN引起的肝损伤中起着十分重要的作用。

肝细胞内的线粒体和内质网含有代谢酶系、单胺氧化酶系、黄嘌呤氧化还原酶系等,线粒体内膜上的氧化呼吸链系统是自由基的产生部位。机体通过物质代谢的电子传递过程和对外源性物质代谢产生自由基。正常情况下体内存在自由基清除系统(如超氧化物歧化酶、谷胱甘肽超氧化物酶、过氧化氢酶等),机体产生的少量自由基不会引起肝损伤。但当自由基的产生超过机体清除能力时,主要通过改变蛋白质立体结构,直接损伤肝细胞生命必需基因,消耗自由基清除剂,启动机体脂质过氧化反应等途径,引起肝细胞损伤。脂质过氧化反应是体内

不饱和脂肪酸在自由基和某些酶类作用下,所发生的一系列过氧化反应,正常状态下肝脏中由于含有大量谷胱苷肽等抗氧化物质,限制了过氧化程度。但在病理条件下,大量自由基的产生以及自由基的清除剂过度消耗后,便可启动脂质过氧化反应,导致肝细胞损伤。

保肝药物评价除了采用体内模型外,还可采用体外模型评价。由于肝炎发生机制非常复杂,目前对其病理过程仍缺乏足够认识,尚无可靠的分子评价模型。因此,细胞模型仍是保肝药物体外评价的可靠选择。培养体系中的肝细胞尤其是原代肝细胞,可以很好的模拟体内肝脏的生理环境,在研究外源性化合物的药理活性、毒性、代谢特性等方面有良好的预测作用,与体内模型研究结果具有很好的相关性,可作为肝脏药物评价的可靠模型^[15]。原代肝细胞排除了血液、神经、体液等因素的影响,具有体内肝细胞的一些功能及特性,特别是还保留有药物代谢酶的活性,兼备体外实验和整体实验的优点。有文献报道,采用成年大鼠肝脏灌流的方法分离肝细胞进行原代培养,建立肝细胞损伤模型,考察药物对化学毒物导致的肝细胞损伤的保护作用^[16,17]。但该方法细胞成活率不高,模型不够稳定。

鉴于此,本研究分离1 d龄新生大鼠肝细胞进行原代培养,建立*D*-GalN诱导的新生大鼠原代肝细胞损伤模型,该模型细胞成活率高,重复性好。在此基础上,采用MTT方法研究LLAE对*D*-GalN诱导的新生大鼠原代肝细胞和人正常组织来源的HL-7702肝细胞损伤的保护作用。在体外实验的基础上,进一步以AST、ALT和肝组织病理学改变为指标,探讨了LLAE对*D*-GalN诱导的小鼠肝损伤的影响。研究表明,LLAE明显改善了*D*-GalN诱导的新生大鼠原代肝细胞和HL-7702肝细胞的损伤,提高了细胞的生存能力。并且还能显著抑制*D*-GalN诱导的肝损伤小鼠血清AST和ALT的升高,对肝组织病理学改变有明显改善作用。提示LLAE对*D*-GalN诱导的体内外肝细胞损伤具有较强的保护能力,其抗肝损伤机制可能与清除自由基和抑制脂质过氧化反应有关。该研究为火绒草药效机制的深入研究和临床应用提供了科学依据。

4 参考文献

- 1 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第75卷). 北京: 科学出版社, 1979: 136
- 2 伍义行, 王建国, 谢家声, 郭福存. 火绒草的研究进展. 中草药 2000; 31: 64-66
- 3 江苏新医学院. 中药大辞典(上册). 上海: 上海科学技术出版社, 1977: 136

- 术出版公司, 2009: 840
- 4 赵全成, 吕景田, 徐东铭. 老头草有效成分的研究. *中药通报* 1984; 9: 31
 - 5 李礼, 张国刚, 左甜甜, 伍实花. 中药火绒草化学成分的研究(II). *中南药学* 2008; 6: 422-423
 - 6 尤献民, 金薇, 邹桂新, 侯政, 房红. 老头草中多糖的含量测定. *时珍国药研究* 1997; 7: 30
 - 7 陈行烈, 张惠迪. 藏药火绒草挥发油化学成分的研究. *新疆大学学报(自然科学版)* 1989; 6: 61
 - 8 Dobner MJ, Ellemer EP, Schwaiger S, Batsugkh O, Narantuya S, Stütz M, Stuppner H. New lignan, benzofuran, and sesquiterpene derivatives from the roots of *Leontopodium alpinum* and *L. leontopodioides*. *Helv Chim Acta* 2003; 86: 733-738
 - 9 王文全, 田吉, 布日额. 蒙药材火绒草的薄层色谱研究. *中国民族民间医药* 2009; 21: 29-30
 - 10 焦淑萍, 陈彪, 姜虹, 张立明. 火绒草降血糖作用的初步研究. *中草药* 1997; 28: 673
 - 11 李龙云, 叶金梅, 尹航, 朱宇明, 田建明, 高峰. 火绒草对动物变态反应性炎症的影响. *中国中药杂志* 1994; 19: 174
 - 12 张顺财, 石碧坚, 王伟岸. 慢性肝病. 北京: 科学技术文献出版社, 2005: 55-88
 - 13 Keppler D, Lesch R, Reutter W, Decker K. Experimental hepatitis induced by D-galactosamine. *Exp Mol Pathol* 1968; 9: 279-290
 - 14 Decker K, Keppler D. Galactosamine induced liver injury. *Prog Liver Dis* 1972; 4: 183-199
 - 15 Vinken M, Papeleu P, Snykers S, De Rop E, Henkens T, Chipman JK, Rogiers V, Vanhaecke T. Involvement of cell junctions in hepatocyte culture functionality. *Crit Rev Toxicol* 2006; 36: 299-318
 - 16 孙燕荣, 董俊兴, 吕秋军, 吴曙光. 二咖啡酰奎宁酸对大鼠肝原代细胞保护作用的研究. *解放军药学报* 2004; 20: 81-84
 - 17 郑芹珠, 王立明, 楼宜嘉. 卡介苗联合脂多糖诱发大鼠原代培养肝细胞免疫性损伤模型的构建. *浙江大学学报(医学版)* 2002; 31: 419-423, 456

■同行评价
本文设计合理, 方法恰当, 对研究肝细胞损伤的抑制作用有一定的参考价值.

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WJC, WJGE, WJGO, WJGS, WJH, WJR 6 本期刊 被 PMC 收录

本刊讯 我们于2010-08-17收到PubMed Central(PMC)的通知, 经过美国国立医学图书馆机构咨询委员会The Literature Selection Technical Review Committee评定, 决定*WJC, WJGE, WJGO, WJGS, WJH, WJR* 6本期刊被PMC收录. PMC是一个提供生命科学期刊文献的全文数据库, 他是由隶属美国国立医学图书馆(National Library of Medicine)的国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)所创建与管理的. (常务副总编辑: 张海宁 2010-08-17)

苦参碱对肝癌细胞株SMMC-7721凋亡和自噬相关基因表达的影响

查勇, 寸英丽, 黄云超

■背景资料

肿瘤细胞凋亡功能障碍与其化学治疗敏感性差存在密切的关系, 5-氟尿嘧啶(5-FU)和阿霉素等化学药物可诱导肝癌细胞中NF-κB转录因子激活, 而NF-κB转录因子激活可促进凋亡抑制因子(IAP)和B细胞淋巴瘤/白血病-2因子(Bcl-2)等的表达, NF-κB激活与肝癌细胞的凋亡耐受存在密切的关系。

查勇, 寸英丽, 黄云超, 昆明医学院第三附属医院 云南省肿瘤医院腹部肿瘤外科 云南省昆明市 650118
查勇, 主治医师, 主要从事腹部肿瘤外科的基础和临床方面的研究。

云南省自然科学基金资助项目, No. 2009CD184

通讯作者: 黄云超, 教授, 650118, 云南省昆明市昆州路519号, 昆明医学院第三附属医院. zhayong888@sina.com
电话: 0871-8185656-2572

收稿日期: 2010-06-16 修回日期: 2010-09-16

接受日期: 2010-09-27 在线出版日期: 2010-10-18

Matrine promotes cell apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721

Yong Zha, Ying-Li Cun, Yun-Chao Huang

Yong Zha, Ying-Li Cun, Yun-Chao Huang, Department of Abdominal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650118, Yunnan Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Yunnan Province of China, No. 2009CD184

Correspondence to: Professor Yun-Chao Huang, the Third Affiliated Hospital of Kunming Medical College, 519 Kunzhou Road, Kunming 650118, Yunnan Province, China. zhayong888@sina.com

Received: 2010-06-16 Revised: 2010-09-16

Accepted: 2010-09-27 Published online: 2010-10-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of matrine on cell apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721 and to explore potential mechanisms involved.

METHODS: SMMC-7721 cells were divided into four groups: 5-fluorouracil group, matrine group, 5-FU plus matrine group, and control group. Matrine and 5-FU were administered at the half maximal inhibitory concentration. After 24 h, apoptosis was analyzed by flow cytometry. To identify genes involved in the antiapoptotic responses to 5-FU and matrine, the expression of NF-κB p65, IκB, Atg5, beclin1 and Bcl-2 was determined.

RESULTS: Increased sensitivity to 5-FU was

observed in cells in the matrine plus 5-FU group as compared with those in the 5-FU group and control group ($81.3\% \pm 2.6\%$ vs $34.6\% \pm 3.5\%$, $45.6\% \pm 2.4\%$, $5.2\% \pm 2.1\%$, all $P < 0.05$). Compared to cells treated with 5-FU alone, cells exposed to a combination of matrine and 5-FU for 24 h had a significant reduction in the levels of NF-κB p65 and Bcl-2 ($P < 0.05$) and an increase in the levels of IκB, Atg5 and beclin1 ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Matrine can enhance the sensitivity of SMMC-7721 cells to 5-FU by inducing increased expression of autophagy-related gene and decreased expression of anti-apoptotic genes.

Key Words: Matrine; Hepatocellular carcinoma; Apoptosis; Autophagy

Zha Y, Cun YL, Huang YC. Matrine promotes cell apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3078-3083

摘要

目的: 研究苦参碱对肝癌细胞株SMMC-7721凋亡的影响及其分子机制。

方法: 肝癌细胞分组为: 5-FU治疗组、苦参碱治疗组、5-FU联合苦参碱治疗组及对照组。5-FU和苦参碱的给药浓度分别为半数肝癌细胞抑制浓度。用流式细胞仪检测各组肝癌细胞凋亡率。采用RT-PCR检测苦参碱对转录因子NF-κB p65、IκB、凋亡抑制基因Bcl-2和自噬相关基因Atg5和Beclin1表达的影响。

结果: 流式细胞仪检测结果提示, 苦参碱联合5-FU组的肝癌细胞凋亡率比5-FU治疗组、苦参碱治疗组及对照组高, 组间比较存在显著差异($81.3\% \pm 2.6\%$ vs $34.6\% \pm 3.5\%$, $45.6\% \pm 2.4\%$, $5.2\% \pm 2.1\%$, 均 $P < 0.05$)。RT-PCR检测结果显示, 与5-FU组相比, 苦参碱联合5-FU治疗组中NF-κB p65、Bcl-2表达下降($P < 0.05$),

■同行评议者

丁惠国, 主任医师, 首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

I κ B、Atg5及Beclin1表达上调($P < 0.05$).

结论: 苦参碱可通过上调I κ B、Atg5及Beclin1的表达和下调NF- κ B p65、Bcl-2的表达, 促进肝癌细胞凋亡, 提高肝癌细胞的化疗敏感性.

关键词: 苦参碱; 肝癌; 凋亡; 自噬

查勇, 寸英丽, 黄云超. 苦参碱对肝癌细胞株SMMC-7721凋亡和自噬相关基因表达的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18(29): 3078-3083

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3078.asp>

0 引言

肿瘤细胞凋亡功能障碍与其化学治疗敏感性差存在密切的关系, 有研究表明^[1-3], 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)和阿霉素等化学药物可诱导肝癌细胞中NF- κ B转录因子(nuclear factor- κ B, NF- κ B)激活, 而NF- κ B转录因子激活可促进凋亡抑制因子(inhibitor of apoptosis protein, IAP)和B细胞淋巴瘤/白血病-2因子(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)等的表达, NF- κ B激活与肝癌细胞的凋亡耐受存在密切的关系^[4-6].

苦参碱是中药苦参、山豆根和苦豆子的主要成分, 经临床证实苦参碱可抑制机体的炎症反应^[7,8]. 亦有研究表明苦参碱可诱导肝癌细胞发生自噬和凋亡, 但苦参碱抗炎、抗肿瘤生长的分子机制尚未完全阐明^[9-11]. 本实验中, 我们进一步观察苦参碱对肝癌细胞凋亡和化学治疗敏感性的影响, 分析其作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 肝癌细胞株SM-7721(中科院上海细胞库), 高糖DMEM细胞培养基(Hyclone公司), 胎牛血清(Hyclone公司), 苦参碱(西安东华生物工程技术有限公司), 5-FU(上海海普药业有限公司), RNA提取试剂TRIzol(Invitrogen公司), RT-PCR引物(根据软件Oligo和Premier设计, 由上海生工生物工程公司合成, 表1), 一步法RT-PCR检测试剂盒(Invitrogen公司).

1.2 方法

1.2.1 实验分组: 按照处理因素的不同将SM-7721肝癌细胞实验分组为: 5-FU治疗组、苦参碱治疗组、5-FU联合苦参碱治疗组和对照组. 参照文献^[12,13], 本实验中我们采用选择5-FU和苦参碱的给药浓度为细胞半数抑制浓度, 分别为 4.7×10^{-3} mol/L和 5.3×10^{-6} mol/L, 用药处理

表 1 RT-PCR引物序列

基因	引物序列
β 2-GM	5'-TTAGCTCTCGCGCTACTCCTCTC-3' 5'-GTCGGATTGATGAAACCCAGACACA-3'
NF- κ B p65	5'-GGGAAGGAACGCTGTCAGAG-3' 5'-TAGCCTCAGGGTACTCCATCA-3'
I κ B	5'-GATCCGCCAGGTGAAGGG-3' 5'-GCAATTTCTGGCTGGTTGG-3'
Bcl-2	5'-GTGGAGGAGCTCTTCAGGAG-3' 5'-AGGCACCCAGGGTGATGATGCAA-3'
Beclin1	5'-ACCAGATGCGTTATGCC-3' 5'-TTGATTGTGCCAAACTGTCC-3'
Atg 5	5'-TATCATCCCACAGCCAACAG-3' 5'-TCTTCTTAGGCCAAAGGTTTC-3'

时间为48 h.

1.2.2 细胞培养: SMMC-7721细胞采用高糖DMEM培养, 培养液中含100 mL/L的胎牛血清, 置入含50 mL/L CO₂的培养箱中, 温度为37 °C.

1.2.3 流式细胞仪检测肝癌细胞的凋亡: 应用流式细胞仪, 采用TUNEL法检测肝癌细胞的凋亡, 用0.25%-0.5%的胰酶消化6孔板中各实验组细胞, 收集放入EP管中. PBS洗涤细胞, 离心收集细胞, 40 mL/L多聚甲醛固定细胞, TUNEL法标记后, 进行流式细胞分析.

1.2.4 RT-PCR检测p65 siRNA干扰后相关基因的表达: 采用TRIzol法提取各组细胞总RNA, 总RNA紫外分光光度计测A₂₆₀、A₂₈₀值, 标本的总RNA的A₂₆₀/A₂₈₀值均在1.6-1.8. 按照Invitrogen公司RT-PCR试剂盒设定反应体系, RT-PCR反应条件: NF- κ B p65的反应参数为94 °C 45 s, 55 °C 45 s, 72 °C 45 s, 32循环, 最后72 °C 10 min (扩增产物长为204 bp). I κ B的反应参数为94 °C 45 s, 55 °C 45 s, 72 °C 45 s, 32循环, 最后72 °C 10 min(扩增产物长为304 bp). β 2-GM的反应参数为94 °C 45 s, 55.5 °C 45 s, 72 °C 45 s, 32循环, 最后72 °C 10 min(扩增产物长为264 bp). Bcl-2的反应参数为94 °C 45 s, 45.5 °C 45 s, 72 °C 45 s, 32循环, 最后72 °C 10 min(扩增产物长为280 bp). Beclin1的反应参数为94 °C 45 s, 55 °C 45 s, 72 °C 45 s, 32循环, 最后72 °C 10 min(扩增产物长为320 bp). Atg5的反应参数为94 °C 45 s, 53.5 °C 45 s, 72 °C 45 s, 32循环, 最后72 °C 10 min(扩增产物长为332 bp).

RT-PCR产物电泳检测后, 紫外灯下观察, 用

■ 研究前沿

经临床证实苦参碱可抑制机体的炎症反应. 亦有研究表明苦参碱可诱导肝癌细胞发生自噬和凋亡, 但苦参碱抗炎、抗肿瘤生长的分子机制尚未完全阐明.

■相关报道

有研究表明, NF- κ B 转录因子可调节凋亡拮抗基因 Bcl-x 和 Bfl-1、肿瘤坏死因子受体相关因子 (TRAF)、IAP 等多种凋亡抑制因子的表达. NF- κ B 转录因子亦可参与肿瘤细胞自噬的调节.

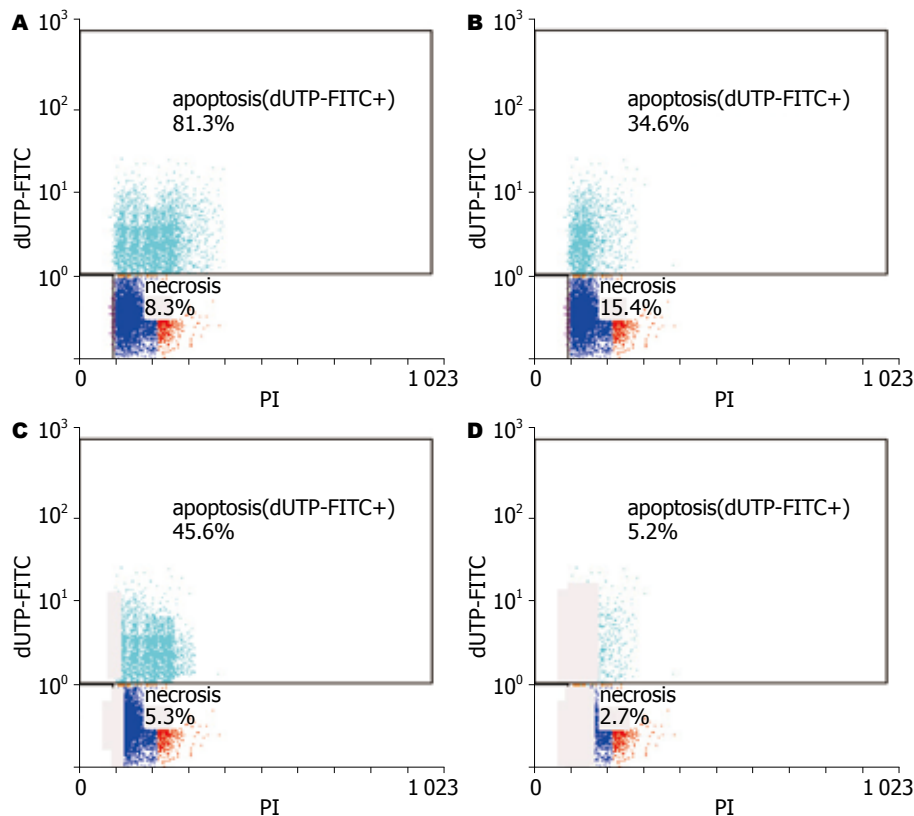


图1 流式细胞仪检测肝癌细胞SMMC-7721的凋亡率. A: 5-FU联合苦参碱组; B: 5-FU治疗组; C: 苦参碱治疗组; D: 对照组.

美国Gene-Genus凝胶电泳成像系统对DNA电泳条带进行光密度 β 扫描, 以目标基因与 β -actin的密度作为目标基因表达水平的参数.

统计学处理 采用SPSS11.0统计软件, 计量资料用mean \pm SD表示, 两样本均数比较采用成组 t 检验, 计数资料比较采用 χ^2 检验. $P < 0.05$ 认为具有统计学意义.

2 结果

2.1 流式细胞仪检测肝癌细胞凋亡率 苦参碱可促进肝癌细胞凋亡, 抑制坏死性死亡. 苦参碱联合5-FU组肝癌细胞凋亡率为81.3% \pm 2.6%, 5-FU治疗组为34.6% \pm 3.5%, 苦参碱治疗组为45.6% \pm 2.4%, 对照组为5.2% \pm 2.1%, 组间比较存在显著差异($P < 0.05$); 苦参碱联合5-FU组肝癌细胞坏死率为8.3% \pm 2.2%, 5-FU治疗组为15.4% \pm 2.5%, 苦参碱治疗组为5.3% \pm 1.8%, 对照组为2.7% \pm 1.5%(图1). 苦参碱联合5-FU治疗组与5-FU治疗组细胞坏死率比较, 组间存在显著差异($P < 0.05$); 苦参碱治疗组与对照组细胞坏死率比较, 组间存在显著差异($P < 0.05$).

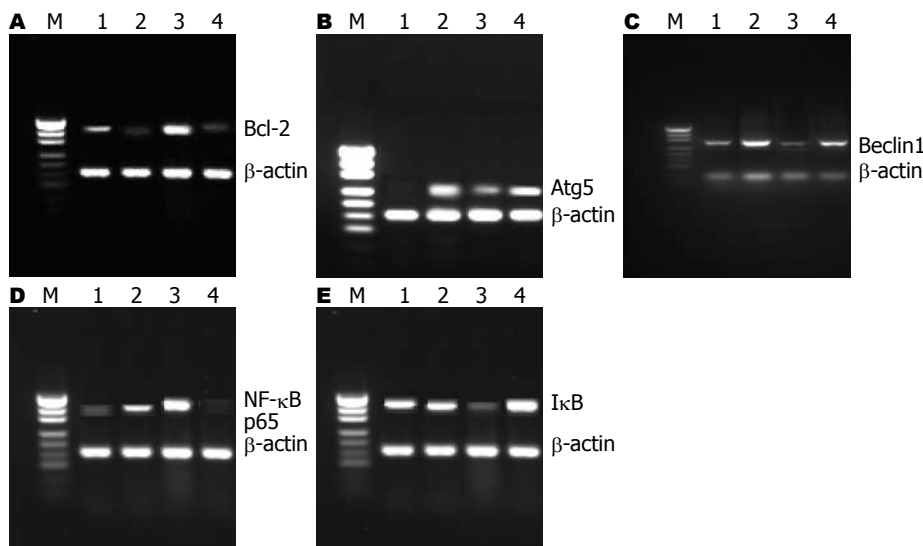
2.2 苦参碱对肝癌细胞NF- κ B p65转录因子及其抑制因子表达的影响 肝癌细胞株SMMC-7721 NF- κ B p65 mRNA高表达, I κ B低表达, 5-FU可使NF- κ B p65的表达进一步升高, 而苦参碱能有

效的降低NF- κ B p65的表达, 上调I κ B的表达. 对照组、苦参碱联合5-FU治疗组、5-FU治疗组、苦参碱治疗组肝癌细胞中NF- κ B p65 mRNA表达与 β -actin的比分别为0.30 \pm 0.04、0.82 \pm 0.06、1.50 \pm 0.08和0.15 \pm 0.03; I κ B mRNA表达与 β -actin的比分别为0.72 \pm 0.06、0.84 \pm 0.03、0.23 \pm 0.02和1.16 \pm 0.05(图2).

2.3 苦参碱对肝癌SMMC-7721细胞自噬和凋亡相关基因表达的影响 RT-PCR检测凋亡抑制基因Bcl-2和自噬相关基因Atg5、Beclin1的表达, 其结果显示, 5-FU联合苦参碱治疗组和苦参碱治疗组中, Atg5、Beclin1表达均显著的升高, Bcl-2表达下降, 与5-FU治疗组及对照组相比, 差异具有显著性($P < 0.05$, 图2, 3). 本研究结果提示, 苦参碱促进5-FU诱导的凋亡可能是通过上调NF- κ B的靶基因Atg5、Beclin1表达和下调凋亡抑制基因Bcl-2表达.

3 讨论

一些研究表明苦参碱具有抑制肿瘤细胞增生、降低肝脏局部炎症反应的作用^[7,8]. 在本实验中, 苦参碱可促进肝癌细胞凋亡, 抑制肝癌细胞坏死, 而5-FU治疗组有很大的一部分细胞通过坏死途径死亡. 苦参碱联合5-FU组肝癌细胞凋亡率为81.3% \pm 2.6%, 5-FU治疗组为34.6% \pm 3.5%,



应用要点
苦参碱可通过上调IκB、Atg5及Beclin1的表达和下调NF-κB p65、Bcl-2的表达, 促进肝癌细胞凋亡, 提高肝癌细胞的化疗敏感性。

图 2 各组细胞中自噬和凋亡相关基因的表达。A: Bcl-2; B: Atg5; C: Beclin1; D: NF-κB p65; E: IκB。M: Marker; 1: 对照组; 2: 苦参碱联合5-FU治疗组; 3: 5-FU治疗组; 4: 苦参碱治疗组。

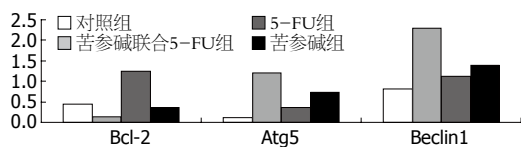


图 3 各组肿瘤细胞中Bcl-2、Atg5、Beclin1与β-actin mRNA的相对表达量。

苦参碱治疗组为45.6%±2.4%，组间比较存在显著差异($P<0.05$)；苦参碱联合5-FU组肝癌细胞坏死率为8.3%±2.2%，5-FU治疗组为15.4%±2.5%，苦参碱治疗组为5.3%±1.8%。苦参碱联合5-FU组不仅提高了肝癌细胞的凋亡率，而且降低了坏死细胞比率。肿瘤细胞坏死率降低有利于减轻肿瘤局部的炎症反应，增强其抗肿瘤效果^[14,15]。

现有研究表明NF-κB转录因子参与炎症和肿瘤增生等多种病理过程，可调节肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素6(interleukin 6, IL-6)、Bcl-2、IAP等多种细胞因子的表达，抑制肿瘤细胞凋亡，促进肿瘤细胞增生^[16-21]。NF-κB转录因子家族有5位成员，他们是RelA(p65)、RelB、C-Rel、NF-κB1(p50)和NF-κB2(P52)。NF-κB家族成员之间可形成同源和异源二聚体，最常见的二聚体是P65/P50异源二聚体^[22-24]。在静止的细胞中，NF-κB通过与细胞质内抑制蛋白NF-κB(inhibitory proteins NF-κB, IκB)结合，以P50-P65-IκB多聚体的无活性状态存在，滞留于细胞质中。当外界因素刺激时导致IκB激酶β亚单位激活，从而启动细胞内的泛素

化-蛋白酶系统，使IκB蛋白降解，活化的NF-κB进入细胞核发挥转录因子的作用，促进多种细胞因子的表达^[22,25]。现有研究表明NF-κB转录因子激活和化疗耐药有关，抑制NF-κB转录因子可促进肿瘤细胞凋亡^[1,26-28]。在本研究中，RT-PCR分析结果提示，5-FU治疗可诱导肝癌细胞NF-κB p65的表达增加，IκB表达下降。苦参碱可抑制NF-κB p65的表达，上调IκB的表达。因此，在肝癌5-FU化疗时，若联合苦参碱中药治疗，可降低NF-κB转录因子的表达，有助于逆转肝癌细胞化疗耐药，提高肝癌化学治疗的效果。

有研究表明^[29-31]，NF-κB转录因子可调节凋亡拮抗基因Bcl-x和Bfl-1、肿瘤坏死因子受体相关因子(tumor necrosis factor receptor-associated factor, TRAF)、IAP等多种凋亡抑制因子的表达。NF-κB转录因子亦可参与肿瘤细胞自噬的调节^[32]。在本研究中我们进一步分析苦参碱对凋亡抑制基因Bcl-2和自噬相关基因Atg5、Beclin1表达的影响，结果显示，苦参碱治疗组、5-FU联合苦参碱治疗组中，Bcl-2表达下降，Atg5和Beclin1 mRNA表达均显著地升高，与单5-FU治疗组相比，差异具有显著性。因此，我们推测苦参碱可能通过抑制NF-κB转录因子，下调凋亡抑制基因Bcl-2和上调自噬基因Atg5和Beclin1的表达而促进肿瘤细胞凋亡。

总之，凋亡调节与肝癌患者的化学治疗敏感性存在密切的关系。在本实验中，联合苦参碱治疗，肝癌细胞株对5-FU的化学治疗敏感性增加，凋亡率升高，同时，伴有凋亡抑制基因Bcl-2

■同行评价

本文设计合理, 方法可靠, 具有一定的实用价值。

表达下降和自噬相关基因Atg5、Beclin1的表达增加。说明苦参碱有助于提高5-FU对原发性肝癌的治疗效果, 值得我们进一步研究。

4 参考文献

- 1 Tapia MA, González-Navarrete I, Dalmases A, Bosch M, Rodríguez-Fanjul V, Rolfe M, Ross JS, Mezquita J, Mezquita C, Bachs O, Gascón P, Rojo F, Perona R, Rovira A, Albanell J. Inhibition of the canonical IKK/NF kappa B pathway sensitizes human cancer cells to doxorubicin. *Cell Cycle* 2007; 6: 2284-2292
- 2 Ueno S, Aoki D, Kubo F, Hiwatashi K, Matsushita K, Oyama T, Maruyama I, Aikou T. Roxithromycin inhibits constitutive activation of nuclear factor {kappa}B by diminishing oxidative stress in a rat model of hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5645-5650
- 3 Chung C, Park SG, Park YM, Joh JW, Jung G. Interferon-gamma sensitizes hepatitis B virus-expressing hepatocarcinoma cells to 5-fluorouracil through inhibition of hepatitis B virus-mediated nuclear factor-kappaB activation. *Cancer Sci* 2007; 98: 1758-1766
- 4 Hsiang CY, Wu SL, Chen JC, Lo HY, Li CC, Chiang SY, Wu HC, Ho TY. Acetaldehyde induces matrix metalloproteinase-9 gene expression via nuclear factor-kappaB and activator protein 1 signaling pathways in human hepatocellular carcinoma cells: Association with the invasive potential. *Toxicol Lett* 2007; 171: 78-86
- 5 Guo J, Verma UN, Gaynor RB, Frenkel EP, Becerra CR. Enhanced chemosensitivity to irinotecan by RNA interference-mediated down-regulation of the nuclear factor-kappaB p65 subunit. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3333-3341
- 6 Konishi T, Sasaki S, Watanabe T, Kitayama J, Nagawa H. Overexpression of hRFI inhibits 5-fluorouracil-induced apoptosis in colorectal cancer cells via activation of NF-kappaB and upregulation of BCL-2 and BCL-XL. *Oncogene* 2006; 25: 3160-3169
- 7 吕建芳, 范恒, 沈霖, 寿折星, 庄雄. 氧化苦参碱对实验性结肠炎大鼠肠黏膜细胞因子和核因子- κ B p65表达的影响. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2289-2294
- 8 聂红明, 陈建杰, 高月求, 金树根, 王灵台. 苦参碱与氧化苦参碱体外抗乙型肝炎的比较. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 4046-4050
- 9 司维柯, 肖桃元, 康格非. 苦参碱对人肝癌细胞HepG2的细胞形态影响和相关增殖因素的变化. *第三军医大学学报* 2000; 22: 553-556
- 10 陈坚. 苦参防治肝癌实验研究进展. *上海中医药杂志* 2006; 40: 60-61
- 11 郑炜望, 华海清. 中药诱导肝癌细胞凋亡的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2915-2918
- 12 张立明, 郑传莉. 苦参碱诱导人肝癌细胞SMMC-7721凋亡的实验研究. *西北药学杂志* 2007; 22: 128-129
- 13 孟志强, 于尔辛, 宋明志. 化疗药对人肝癌细胞SMMC-7721端粒酶活性的影响. *世界华人消化杂志* 1999; 7: 252-254
- 14 Domart MC, Esposti DD, Sebah M, Olaya N, Harper F, Pierron G, Franc B, Tanabe KK, Debuire B, Azoulay D, Brenner C, Lemoine A. Concurrent induction of necrosis, apoptosis, and autophagy in ischemic preconditioned human livers formerly treated by chemotherapy. *J Hepatol* 2009; 51: 881-889
- 15 Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, Bray K, Anderson D, Chen G, Mukherjee C, Shi Y, Gélinas C, Fan Y, Nelson DA, Jin S, White E. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. *Cancer Cell* 2006; 10: 51-64
- 16 Pikarsky E, Porat RM, Stein I, Abramovitch R, Amit S, Kasem S, Gutkovich-Pyest E, Urieli-Shoval S, Galun E, Ben-Neriah Y. NF-kappaB functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer. *Nature* 2004; 431: 461-466
- 17 Yang LQ, Fang DC, Wang RQ, Yang SM. Effect of NF-kappaB, survivin, Bcl-2 and Caspase3 on apoptosis of gastric cancer cells induced by tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 22-25
- 18 Zhou W, Jiang ZW, Tian J, Jiang J, Li N, Li JS. Role of NF-kappaB and cytokine in experimental cancer cachexia. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1567-1570
- 19 Li TJ, Jia LP, Gao XL, Huang AL. Gene therapy that inhibits NF-kappaB results in apoptosis of human hepatocarcinoma by recombinant adenovirus. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5287-5292
- 20 Saitou Y, Shiraki K, Yamanaka T, Miyashita K, Inoue T, Yamanaka Y, Yamaguchi Y, Enokimura N, Yamamoto N, Itou K, Sugimoto K, Nakano T. Augmentation of tumor necrosis factor family-induced apoptosis by E3330 in human hepatocellular carcinoma cell lines via inhibition of NF kappa B. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6258-6261
- 21 Guo LL, Xiao S, Guo Y. Activation of transcription factors NF-kappaB and AP-1 and their relations with apoptosis associated-proteins in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3860-3865
- 22 Sen R, Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism. *Cell* 1986; 47: 921-928
- 23 Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling. *Cell* 2008; 132: 344-362
- 24 Majdalawieh A, Ro HS. Regulation of IkappaBalpha function and NF-kappaB signaling: AEBP1 is a novel proinflammatory mediator in macrophages. *Mediators Inflamm* 2010; 2010: 823821
- 25 Luqman S, Pezzuto JM. NFkappaB: a promising target for natural products in cancer chemoprevention. *Phytother Res* 2010; 24: 949-963
- 26 Gyrd-Hansen M, Meier P. IAPs: from caspase inhibitors to modulators of NF-kappaB, inflammation and cancer. *Nat Rev Cancer* 2010; 10: 561-574
- 27 Kasinski AL, Slack FJ. Potential microRNA therapies targeting Ras, NFkappaB and p53 signaling. *Curr Opin Mol Ther* 2010; 12: 147-157
- 28 Sakamoto K, Maeda S. Targeting NF-kappaB for colorectal cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2010; 14: 593-601
- 29 Wang CY, Guttridge DC, Mayo MW, Baldwin AS Jr. NF-kappaB induces expression of the Bcl-2 homologue A1/Bfl-1 to preferentially suppress chemotherapy-induced apoptosis. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 5923-5929
- 30 Zheng C, Kabaleeswaran V, Wang Y, Cheng G, Wu H. Crystal structures of the TRAF2: cIAP2

- and the TRAF1: TRAF2: cIAP2 complexes: affinity, specificity, and regulation. *Mol Cell* 2010; 38: 101-113
- 31 Manna SK, Babajan B, Raghavendra PB, Raviprakash N, Sureshkumar C. Inhibiting TRAF2-mediated activation of NF-kappaB facilitates induction of AP-1. *J Biol Chem* 2010; 285: 11617-11627
- 32 Djavaheri-Mergny M, Amelotti M, Mathieu J, Besançon F, Bauvy C, Souquère S, Pierron G, Codogno P. NF-kappaB activation represses tumor necrosis factor-alpha-induced autophagy. *J Biol Chem* 2006; 281: 30373-30382

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

•消息•

2008 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	7	41	-0.99	0.043	41	-0.92
G275	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	5432	1	3.71	0.792	6	0.52
G803	肝脏	586	25	-0.49	0.594	11	0.14
G938	国际呼吸杂志	645	22	-0.44	0.294	34	-0.43
G415	国际内分泌代谢杂志	663	20	-0.43	0.379	28	-0.27
G501	临床肝胆病杂志	582	27	-0.50	0.441	22	-0.15
G658	临床荟萃	1709	8	0.48	0.356	32	-0.32
G257	临床内科杂志	875	16	-0.24	0.412	24	-0.21
G855	临床消化病杂志	314	32	-0.73	0.294	34	-0.43
G261	临床心血管病杂志	836	17	-0.28	0.371	29	-0.29
G293	临床血液学杂志	408	31	-0.65	0.329	33	-0.37
G491	岭南心血管病杂志	161	39	-0.86	0.158	40	-0.70
G662	内科急危重症杂志	308	34	-0.73	0.279	36	-0.46
G523	内科理论与实践	34	40	-0.97	0.171	39	-0.67
G746	实用肝脏病杂志	312	33	-0.73	0.562	14	0.08
G190	世界华人消化杂志	2480	6	1.15	0.547	17	0.05
G800	胃肠病学	619	23	-0.46	0.621	10	0.19
G326	胃肠病学和肝病学杂志	580	28	-0.50	0.415	23	-0.20
G083	心肺血管病杂志	246	37	-0.79	0.361	31	-0.31
G419	心血管病学进展	585	26	-0.49	0.410	25	-0.21
G260	心脏杂志	553	29	-0.52	0.406	26	-0.22
G610	胰腺病学	268	35	-0.77	0.366	30	-0.30
G234	中国动脉硬化杂志	934	15	-0.19	0.557	16	0.07
G267	中国实用内科杂志	2309	7	1.00	0.487	20	-0.06
G211	中国糖尿病杂志	1567	11	0.36	0.570	13	0.10
G380	中国心血管杂志	256	36	-0.78	0.225	37	-0.57
G203	中国心脏起搏与心电生理杂志	657	21	-0.43	0.562	14	0.08
G633	中国血液净化	680	19	-0.41	0.546	18	0.05
G119	中国循环杂志	694	18	-0.40	0.406	26	-0.22
G231	中华肝脏病杂志	3283	4	1.84	1.119	2	1.15
G235	中华高血压杂志	1168	14	0.01	0.730	8	0.40
G639	中华老年多器官疾病杂志	166	38	-0.86	0.207	38	-0.60
G876	中华老年心脑血管病杂志	588	24	-0.49	0.442	21	-0.15
G155	中华内分泌代谢杂志	1612	10	0.40	0.897	5	0.73
G156	中华内科杂志	3484	3	2.02	0.788	7	0.52
G161	中华肾脏病杂志	1643	9	0.42	1.068	3	1.05
G285	中华消化内镜杂志	1314	13	0.14	0.578	12	0.11
G168	中华消化杂志	2571	5	1.23	1.025	4	0.97
G892	中华心率失常学杂志	494	30	-0.57	0.657	9	0.26
G170	中华心血管病杂志	4186	2	2.63	1.375	1	1.64
G172	中华血液学杂志	1501	12	0.30	0.489	19	-0.06
	平均值	1154			0.520		

以上数据摘自2009年版《中国科技期刊引证报告》(核心版). 科学技术文献出版社, 177-178.

MELD与血清钠比值对肝硬化患者预后的评估

吕晓辉, 陈玉帅, 刘红波, 王炳元, 孙明军, 宋敏

■背景资料

终末期肝病模型(MELD)是2000年由美国Mayo Clinic的Malinchoc和Kamath提出的一个新的评分模型。最初是用来判断肝硬化患者经颈静脉肝内门腔吻合术(TIPS)的短期预后,但其局限性日益显露。有研究表明血清钠与肝硬化患者的死亡率有关。因此最近有学者提出MESO评分,他结合了MELD与血清钠对于肝硬化预后评估的优点,但其对肝硬化患者预后评估报道较少。

吕晓辉, 陈玉帅, 王炳元, 孙明军, 中国医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001
刘红波, 中国医科大学附属统计学教研室 辽宁省沈阳市 110001
宋敏, 中国医科大学病理教研室 辽宁省沈阳市 110001
吕晓辉, 2007年中国医科大学博士, 副教授, 主要从事重型肝炎肝衰竭发病机制及病理的研究。
国家“十五科技攻关”基金资助项目, No. 20003BA753C
作者贡献分布: 主要资料收集、数据分析和文章起草由吕晓辉完成; 病例选择及部分数据分析由陈玉帅与刘红波完成; 文章修改和审阅由王炳元、孙明军及宋敏完成。
通讯作者: 吕晓辉, 副教授, 110001, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属第一医院消化内科。lvxiaohui1122@163.com
电话: 024-83282563
收稿日期: 2010-07-01 修回日期: 2010-09-08
接受日期: 2010-09-13 在线出版日期: 2010-10-18

Validation of model for end-stage liver disease score to serum sodium ratio index as a prognostic predictor in patients with cirrhosis

Xiao-Hui Lv, Yu-Shuai Chen, Hong-Bo Liu, Bing-Yuan Wang, Ming-Jun Sun, Min Song

Xiao-Hui Lv, Yu-Shuai Chen, Bing-Yuan Wang, Ming-Jun Sun, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Hong-Bo Liu, Department of Statistics, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Min Song, Department of Pathology, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: the National Key Technology R&D Program during the 10th Five-Year Plan Period, No. 2003BA753C

Correspondence to: Associate Professor Xiao-Hui Lv, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. lvxiaohui1122@163.com

Received: 2010-07-01 Revised: 2010-09-08

Accepted: 2010-09-13 Published online: 2010-10-18

Abstract

AIM: To compare the accuracy of model for end-stage liver disease (MELD) to serum sodium (SNa) ratio (MESO) with MELD score and modified Child-Turcotte-Pugh (CTP) score for predicting the short-term survival of cirrhotic patients.

METHODS: The data for 256 patients with cirrhosis were analyzed using a cohort method.

The patients were graded based on MELD score into two groups (MELD \leq 17 and MELD $>$ 17). The area under the receiver operating characteristic curve (AUC) was used to compare the predictive accuracy of MESO index, MELD score and modified CTP score.

RESULTS: Overall, MESO index and MELD score were significantly better than CTP score in predicting the risk of mortality at 1 mo (0.866 and 0.819 vs 0.722, both $P < 0.01$) and 3 mo (0.875 and 0.820 vs 0.721, both $P < 0.01$). In the low-MELD group, the AUC of MESO index and CTP was significantly higher than that of MELD score at 1 mo and 3 mo (0.758, 0.759; 0.754, 0.732 vs 0.608, 0.611, all $P < 0.01$). However, in the high-MELD group, the AUC of MESO index and MELD score was higher than that of CTP score at 1 mo and 3 mo though there were no significant differences (0.762, 0.779; 0.737, 0.773 vs 0.710, 0.752, all $P > 0.05$).

CONCLUSION: MESO index is superior to MELD score and modified CTP score in the prediction of the short-term survival of patients with cirrhosis.

Key Words: Cirrhosis; Child-Turcotte-Pugh; Model for end-stage liver disease; Model for end-stage liver disease to serum sodium ratio

Lv XH, Chen YS, Liu HB, Wang BY, Sun MJ, Song M. Validation of model for end-stage liver disease score to serum sodium ratio index as a prognostic predictor in patients with cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3084-3088

摘要

目的: 比较终末期肝病模型(MELD)、MELD与血清钠比值(MESO)及Child-Pugh分级(CTP)对失代偿期肝硬化患者短期生存率的预测能力。

方法: 256例失代偿期肝硬化患者,按MELD模型、MESO及Child-Pugh分级评分;应用ROC曲线评价每一预测模型对于失代偿期肝硬化患者短期生存率的预测结果。

■同行评议者

郑素军, 副主任医师, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

结果: 预测患者1 mo及3 mo内的病死率, MESO及MELD明显优于CTP评分(1 mo: 0.866, 0.819 vs 0.722; 3 mo: 0.875, 0.820 vs 0.721, 均 $P<0.01$); 在低MELD组, MESO及CTP明显优于MELD评分, 差异显著(0.758, 0.759; 0.754, 0.732 vs 0.608, 0.611; $P<0.01$). 然而在高MELD组, MESO及MELD优于CTP评分, 但无显著性差异(0.762, 0.779; 0.737, 0.773 vs 0.710, 0.752, $P>0.05$).

结论: MESO评分系统, 由于同时考虑了MELD及血清钠(sNa), 其对失代偿期肝硬化患者预后评估能力优于MELD及CTP评分系统.

关键词: 肝硬化; Child-Pugh分级; 终末期肝病模型; 终末期肝病模型与血清钠比值

吕晓辉, 陈玉帅, 刘红波, 王炳元, 孙明军, 宋敏. MELD与血清钠比值对肝硬化患者预后的评估. 世界华人消化杂志 2010; 18(29): 3084-3088

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3084.asp>

0 引言

失代偿期肝硬化患者预后不佳, 已成为非肿瘤性疾病致死的重要原因之一. 如何评估失代偿期肝硬化患者的病情严重程度及预后, 众多学者提出了评价方法, 但不同方法对疾病预后的预测能力尚有争议^[1,2]. 目前大多数学者采用Child和Turcotte于1964年提出的Child-Turcotte分级及1972年Pugh对其修改而形成的Child-Pugh分级, 以评价肝硬化患者肝功能储备、手术风险以及预后. Child-Pugh分级(Child-Turcotte-Pugh, CTP)以胆红素、白蛋白、凝血酶原时间、腹水及肝性脑病作为评价指标, 但存在很多局限性. 如其评价指标肝性脑病及腹水评价的主观性强, 而且失代偿期肝硬化患者的一个重要并发症是肝肾综合征, CTP却未考虑肾功能^[3]. Malinchoc等研究也认为CTP结合肾功能检查可更准确预测肝硬化患者的短期生存率. 终末期肝病模型(model for end-stage liver disease, MELD)是在2000年Malinchoc和Kamath提出的一个新的评分模型, 最初是用来判断肝硬化患者经颈静脉肝内门腔吻合术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)的短期预后, 2002年被美国全国器官分配联合网络正式规定为筛选肝移植的标准. MELD评分系统采用血清胆红素、血肌酐、凝血酶原时间的国际化比值和病因作为参数进行量化得出分值, 不但参数客观, 而且把肾功能作为肝病患者预后

的一个独立影响因素, 有其优于CTP之处^[4,5]. 但MELD有其不足之处, 统计学分析显示肝硬化门脉高压的并发症如腹水、胃肠道出血、肝性脑病等对MELD的判断功能无明显影响, 但以上并发症都会对患者的生命造成直接威胁, 有可能使统计学分析与患者的实际预后不一致. 腹水是肝硬化的主要表现, 腹水患者常伴有低钠血症, 研究表明低钠血症与死亡率密切相关, 并作为肝硬化患者预后的独立危险因子^[6]. 同时血清钠(serum sodium, sNa)水平具有客观性强, 重复性好等优点. 最近有学者提出MESO评分(MELD与sNa比值), 用于评估肝硬化患者的预后^[6,7], 但目前研究甚少. 我们旨在比较MESO、MELD及CTP对失代偿期肝硬化患者短期预后的评估能力.

1 材料和方法

1.1 材料 收集中国医科大学附属第一医院2003-2005住院的具有完整资料的失代偿期肝硬化患者256例, 男201例, 女55例, 年龄31-72岁. 诊断标准符合肝硬化的临床表现、生化及影像学特点^[8,9]. 除外合并肝癌、慢性肾功能不全、TIPS术后及抗肿瘤治疗的患者. 患者随访至3 mo.

1.2 方法

1.2.1 指标观察: 收集患者住院后的首次检验检查指标, 包括白蛋白、总胆红素、肌酐、凝血酶原时间、凝血酶原时间国际标准化比值(international normalized ratio, INR)及sNa等.

1.2.2 MELD评分、MESO评分及CTP: MELD评分 = $3.78 \times \log_e(\text{胆红素}) + 11.2 \times \log_e(\text{INR}) + 9.57 \times \log_e(\text{肌酐}) + 6.43$ ^[10]; MESO指数 = $(\text{MELD评分} / \text{sNa}) \times 10$ ^[7]; CTP以胆红素、白蛋白、凝血酶原时间、腹水及肝性脑病作为评价指标, 将患者分为A、B、C 3级.

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件进行统计学分析. 应用ROC曲线评价CTP、MELD及MESO 3种评分方法的预测能力. 根据ROC曲线的敏感性和特异性决定3种模型对失代偿期肝硬化患者1及3 mo生存率预测的最佳临界值. 应用Pearson's相关分析对数据进行分析. $P<0.05$ 认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 患者临床特征 256例患者中, 男201例(78.5%), 女55例(21.5%), 平均年龄54.3岁. 肝硬化的病因中, 157(61.3%)为HBV感染, 39(15.2%)

■ 研发前沿

如何正确评价终末期肝病患者的预后已成为目前国际上广泛关注的热点问题. MESO及MELD是否能取代Child-Pugh分级在肝病中的作用尚需要进一步研究.

■ 相关报道

Botta等认为MELD评分是评价欧洲肝硬化患者短期和中期存活率较好的方法,但也有一部分研究则认为MELD的这种优势并不明显。

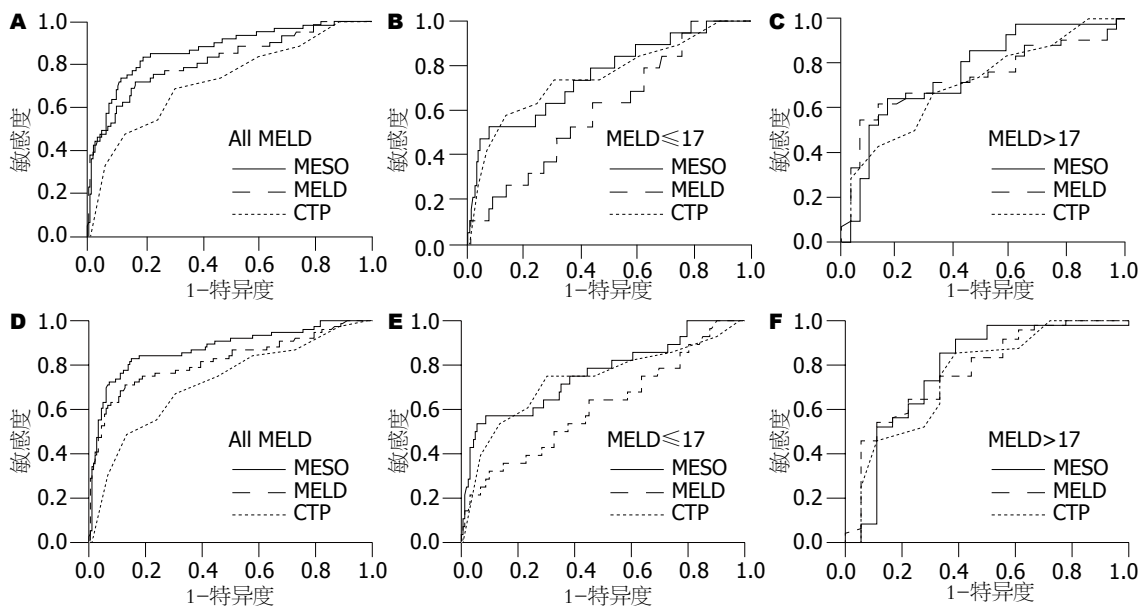


图1 MELD、MESO及CTP评价患者生存1及3 mo的ROC分析。A: 所有患者(1 mo); B: MELD \leq 17(1 mo); C: MELD $>$ 17(1 mo); D: 所有患者(3 mo); E: MELD \leq 17(3 mo); F: MELD $>$ 17(3 mo)。

为HCV感染,腹水发生率为43%,低钠血症(≤ 130 mEq/L)^[11]发生率为32%。CTP A级患者有59(23.1%),CTP B级有91(35.5%),CTP C级106(41.4%)。MELD及MESO分别为 15.1 ± 6.3 及 1.1 ± 0.5 。死亡组患者sNa值低于生存组(126.9 ± 7.2 vs 136.6 ± 7.7 , $P < 0.001$,表1)。

2.2 比较MELD, MESO及CTP对肝硬化患者1及3 mo死亡率的预测能力 应用ROC曲线分析MELD、MESO及CTP系统预测失代偿期肝硬化患者1及3 mo内的病死率(图1,表2)。可见MESO及MELD明显优于CTP分级(1 mo AUC: 0.866, 0.819 vs 0.722; 3 mo AUC: 0.875, 0.820 vs 0.721);在低MELD组, MESO及CTP明显优于MELD评分(AUC: 0.758, 0.759; 0.754, 0.732 vs 0.608, 0.611, $P < 0.001$);然而在高MELD组, MESO及MELD优于CTP分级(AUC: 0.762, 0.779; 0.737, 0.773 vs 0.710, 0.752, $P > 0.05$)。

2.3 比较高低MELD组患者的临床特征 死亡组患者MESO指数, MELD评分, CTP评分高于生存组($P < 0.01$);死亡组患者sNa低于生存组($P < 0.01$);死亡组中,低MELD患者sNa低于高MELD组(124.3 ± 5.4 vs 128.6 ± 7.2 , $P < 0.01$,表3)。

3 讨论

人们对失代偿期肝硬化患者预后评价方法的评价结果一直存在争议。尽管CTP及MELD评分系统应用于肝硬化患者预后的评估,但其局限性日益显露。有研究表明sNa与肝硬化患者的

表1 患者临床特征 ($n = 256$)

临床特征	数值
年龄(岁)	$54.3 \pm 11.5(31-72)$
男/女(n)	201/55
病因(n)	
HBV/HCV/酒精/其他	157/39/24/36
腹水(n (%))	
有/无	110/146(43/57)
CTP分级(n)	
Class A/B/C	59/91/106
INR	$1.6 \pm 0.6(1.0-5.2)$
MELD(分)	$15.1 \pm 6.3(5.8-36.6)$
MESO(分)	$1.1 \pm 0.5(0.4-3.2)$
sNa(mEq/L)	$134.3 \pm 7.8(120-149)$
死亡组	$126.9 \pm 7.2(120-145)^b$
存活组	$136.6 \pm 7.7(126-149)$

^b $P < 0.01$ vs 存活组。

死亡率有关,是独立于MELD的独立危险因素。MESO评分结合了MELD与sNa对于肝硬化预后评估的优点,但其对肝硬化患者预后评估报道较少。

本研究回顾性分析了256例失代偿期肝硬化患者1及3 mo的短期预后,应用ROC曲线比较MESO, MELD及CTP 3种评分系统对疾病预后的评估能力。结果表明, MELD明显优于CTP分级,而MESO评分进一步提高了MELD对于预后评估的AUC值。因此, MESO及MELD(尤其MESO)明显优于CTP分级。

表 2 MELD、MESO及CTP评价患者生存1及3 mo的ROC分析

预测系统	1 mo					3 mo				
	敏感性(%)	特异性(%)	最佳临界值	AUC	95%CI	敏感性(%)	特异性(%)	最佳临界值	AUC	95%CI
MESO	83.6	80.5	1.21	0.866	0.812-0.921	83.9	85.0	1.23	0.875	0.823-0.927
MELD	72.1	83.1	17.0	0.819	0.753-0.885	71.1	87.2	17.5	0.820	0.756-0.884
CTP	68.9	69.2	9.5	0.722	0.692-0.752	67.1	69.4	9.5	0.721	0.689-0.753

表 3 MELD≤17及>17组患者临床特征

临床特征	MELD≤17			MELD>17		
	死亡	生存	P值	死亡	生存	P值
人数(n)	24	159		52	21	
年龄(岁)	52.7±12.2	53.4±11.6	0.716	56.8±10.7	54.4±10.3	0.357
男/女(n)	20/4	123/36	0.359	41/11	17/4	0.558
腹水 n(%)	19(79.2)	39(24.5)	<0.001	46(88.5)	6(28.6)	<0.001
CTP A/B/C(%)	16.7/12.5/70.8	26.4/44/29.6	<0.01	11.5/23.1/65.4	33.3/28.6/38.1	0.015
MELD(分)	12.4±2.7	11.6±2.6	0.026	24.5±5.1	20.6±3.3	0.002
MESO(分)	1.1±0.3	0.9±0.2	<0.001	2.0±0.5	1.5±0.4	0.001
sNa(mEq/L)	124.3±5.4 ^b	137.2±7.3 ^c	<0.001	128.6±7.2	137.3±11.6	<0.001

^bP = 0.002, ^cP = 0.028 vs MELD>17组.

为了更准确地评估各系统, 我们把患者进一步分为低MELD(MELD≤17)及高MELD(MELD>17)。有趣的是, 我们发现在低MELD组, MESO及CTP的AUC高于MELD评分, 即这组患者MESO及CTP优于MELD。Huo等^[12]研究也表明肝硬化的并发症包括腹水, 肝性脑病及上消化道出血等, 而由于MELD并不能反映上述指标, 因此在某些患者, 应用MELD评分可能会低估患者死亡的风险。我们的研究亦表明, 尽管MELD对于失代偿期肝硬化患者预后评估的有效性, 但MELD结合sNa(MESO)明显提高对于低MELD组患者预后评估的AUC值。Biggins等^[13]认为sNa与腹水患者的死亡率密切相关, 而MELD可能会低估这些患者死亡率。Heuman等^[14]研究表明低钠血症及腹水是决定肝硬化患者预后的独立危险因素, 尤其当患者的MELD值<21。但是sNa对肝硬化患者预后评估的研究较少^[15]。

我们在研究中发现低MELD组死亡患者的sNa明显低于高MELD组, 这或许可以解释为什么对低MELD组肝硬化患者预后评估时, 应用MESO评分优于MELD评分。我们的研究表明, 应用MESO评分对肝硬化患者预后评估, 其敏感性达到83.6%, 特异性达到80.5%。

总之, 本研究表明, MESO评分系统, 由于同时考虑了MELD及sNa, 其对失代偿期肝硬化患

者预后评估能力优于MELD及CTP评分系统。

4 参考文献

- Huo TI, Lin HC, Wu JC, Lee FY, Hou MC, Lee PC, Chang FY, Lee SD. Different model for end-stage liver disease score block distributions may have a variable ability for outcome prediction. *Transplantation* 2005; 80: 1414-1418
- Hoteit MA, Ghazale AH, Bain AJ, Rosenberg ES, Easley KA, Anania FA, Rutherford RE. Model for end-stage liver disease score versus Child score in predicting the outcome of surgical procedures in patients with cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1774-1780
- Durand F, Valla D. Assessment of the prognosis of cirrhosis: Child-Pugh versus MELD. *J Hepatol* 2005; 42 Suppl: S100-S107
- Befeler AS, Palmer DE, Hoffman M, Longo W, Solomon H, Di Bisceglie AM. The safety of intra-abdominal surgery in patients with cirrhosis: model for end-stage liver disease score is superior to Child-Turcotte-Pugh classification in predicting outcome. *Arch Surg* 2005; 140: 650-654; discussion 655
- Northup PG, Wanamaker RC, Lee VD, Adams RB, Berg CL. Model for End-Stage Liver Disease (MELD) predicts nontransplant surgical mortality in patients with cirrhosis. *Ann Surg* 2005; 242: 244-251
- Kim WR, Biggins SW, Kremers WK, Wiesner RH, Kamath PS, Benson JT, Edwards E, Therneau TM. Hyponatremia and mortality among patients on the liver-transplant waiting list. *N Engl J Med* 2008; 359: 1018-1026
- Huo TI, Wang YW, Yang YY, Lin HC, Lee PC, Hou MC, Lee FY, Lee SD. Model for end-stage liver dis-

■创新盘点

本文回顾性分析了256例失代偿期肝硬化患者的临床资料, 应用ROC曲线比较了MESO、MELD评分及Child-Pugh分级评估失代偿期肝硬化患者短期预后的能力, 并充分评析了MESO优于MELD及Child-Pugh分级的原因, 具有重要的临床指导意义。

■同行评价

本文新颖性较好, 对于指导治疗、评估预后失代偿期肝硬化有重要的意义。

- ease score to serum sodium ratio index as a prognostic predictor and its correlation with portal pressure in patients with liver cirrhosis. *Liver Int* 2007; 27: 498-506
- 8 Huo TI, Wu JC, Lin HC, Lee FY, Hou MC, Lee PC, Chang FY, Lee SD. Evaluation of the increase in model for end-stage liver disease (DeltaMELD) score over time as a prognostic predictor in patients with advanced cirrhosis: risk factor analysis and comparison with initial MELD and Child-Turcotte-Pugh score. *J Hepatol* 2005; 42: 826-832
 - 9 Huo TI, Lin HC, Wu JC, Lee FY, Hou MC, Lee PC, Chang FY, Lee SD. Proposal of a modified Child-Turcotte-Pugh scoring system and comparison with the model for end-stage liver disease for outcome prediction in patients with cirrhosis. *Liver Transpl* 2006; 12: 65-71
 - 10 Wiesner R, Edwards E, Freeman R, Harper A, Kim R, Kamath P, Kremers W, Lake J, Howard T, Merion RM, Wolfe RA, Krom R. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology* 2003; 124: 91-96
 - 11 Ruf AE, Kremers WK, Chavez LL, Descalzi VI, Podesta LG, Villamil FG. Addition of serum sodium into the MELD score predicts waiting list mortality better than MELD alone. *Liver Transpl* 2005; 11: 336-343
 - 12 Huo TI, Lin HC, Wu JC, Hou MC, Lee FY, Lee PC, Chang FY, Lee SD. Limitation of the model for end-stage liver disease for outcome prediction in patients with cirrhosis-related complications. *Clin Transplant* 2006; 20: 188-194
 - 13 Biggins SW, Kim WR, Terrault NA, Saab S, Balan V, Schiano T, Benson J, Therneau T, Kremers W, Wiesner R, Kamath P, Klintmalm G. Evidence-based incorporation of serum sodium concentration into MELD. *Gastroenterology* 2006; 130: 1652-1660
 - 14 Heuman DM, Abou-Assi SG, Habib A, Williams LM, Stravitz RT, Sanyal AJ, Fisher RA, Mihas AA. Persistent ascites and low serum sodium identify patients with cirrhosis and low MELD scores who are at high risk for early death. *Hepatology* 2004; 40: 802-810
 - 15 Porcel A, Díaz F, Rendón P, Macías M, Martín-Herrera L, Girón-González JA. Dilutional hyponatremia in patients with cirrhosis and ascites. *Arch Intern Med* 2002; 162: 323-328

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》

本刊讯 《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》由中国科学评价研究中心、武汉大学图书馆和信息管理学院联合研发, 采用定量评价和定性分析相结合的方法, 对我国万种期刊大致浏览、反复比较和分析研究, 得出了65个学术期刊排行榜, 其中《世界华人消化杂志》位居396种临床医学类期刊第45位。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

SHH信号途径相关蛋白在结肠肿瘤组织中过度表达与STAT3活化的关系

刘聪, 喻志华, 李媛, 周晟

刘聪, 喻志华, 李媛, 周晟, 华中科技大学同济医学院附属同济医院病理研究所 湖北省武汉市 430030
刘聪, 主管技师, 主要从事消化系统疾病的病理免疫学及基因转录调控的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30800412

作者贡献分布: 主要实验、数据分析和文章起草由刘聪完成; 病例选择、临床资料整理、部分实验由喻志华与李媛完成; 课题设计、文章修改由周晟完成。

通讯作者: 周晟, 硕士, 主管技师, 430030, 湖北省华中科技大学同济医学院附属同济医院病理研究所. zhou71@163.com

电话: 027-83663624

收稿日期: 2010-09-23 修回日期: 2010-10-15

接受日期: 2010-10-16 在线出版日期: 2010-10-18

Overexpression of sonic hedgehog pathway molecules and STAT3 activation in colonic tumors

Cong Liu, Zhi-Hua Yu, Yuan Li, Sheng Zhou

Cong Liu, Zhi-Hua Yu, Yuan Li, Sheng Zhou, Institute of Pathology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30800412

Correspondence to: Sheng Zhou, Institute of Pathology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. zhou71@163.com

Received: 2010-09-23 Revised: 2010-10-15

Accepted: 2010-10-16 Published online: 2010-10-18

Abstract

AIM: To determine the expression pattern of sonic hedgehog (SHH) signaling pathway molecules and analyze their relationship with STAT3 activation in colonic tumors.

METHODS: Paraffin-embedded tissue sections of 20 normal colon tissue specimens, 42 colonic adenoma specimens, and 77 colonic adenoma adenocarcinoma specimens were used in the study. The expression of SHH, GLI1, PTCH1, HHIP and P-STAT3 in these specimens was detected by immunohistochemistry. The correlation of the expression of HH molecules with clinicopathological parameters and P-STAT3 expression was then evaluated.

RESULTS: All the SHH signaling pathway molecules examined were overexpressed in colonic adenomas and adenocarcinomas when compared with normal colon tissue (95.2% and 75.3% vs 0.0%, both $P < 0.05$; 66.7% and 84.4% vs 0.0%, both $P < 0.05$; 23.8% and 58.4% vs 0.0%, both $P < 0.05$; 42.9% and 36.4% vs 25.0%, both $P < 0.05$). SHH and GLI1 expression was correlated with tumor grade (both $P < 0.05$). There was a significant correlation between SHH and GLI1 expression in colonic adenomas and adenocarcinomas ($r = 0.498$, $P < 0.01$). Overexpression of activated STAT3 (P-STAT3) was significantly correlated with SHH and GLI1 expression in colonic adenocarcinomas ($r = 0.525$, $P < 0.01$; $r = 0.637$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: SHH signaling pathway may play a role in the progression of colonic tumors. The finding that SHH overexpression is correlated with STAT3 activation in colonic tumors indicates that there may be a synergetic effect between the two signaling pathways.

Key Words: Sonic hedgehog pathway; STAT3; Colonic tumor

Liu C, Yu ZH, Li Y, Zhou S. Overexpression of sonic hedgehog pathway molecules and STAT3 activation in colonic tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3089-3095

摘要

目的: 探讨SHH途径相关蛋白在结肠良恶性肿瘤中的表达情况及与STAT3活化之间的关系。

方法: 免疫组织化学检测20例正常结肠组织、42例结肠腺瘤以及77例结肠腺癌组织中SHH、GLI1、PTCH1、HHIP和磷酸化STAT3(P-STAT3)的表达, 并评价他们之间及其与临床病理因素的关系。

结果: 相比正常结肠组织, SHH、GLI1、PTCH1和HHIP在结肠腺瘤及腺癌中均过度表达(95.2%, 75.3% vs 0.0%, $P < 0.05$; 66.7%,

背景资料

Hedgehog基因于1980年果蝇中发现, 在哺乳动物中至少存在3种同源基因: SHH、IHH和DHH。目前研究表明在多种肿瘤中均存在着SHH信号通路的异常激活, SHH信号通路可通过细胞膜上Patched(PTCH)转录元件介导, 从而激活其下游基因的表达, 在肿瘤的发生发展过程中起着重要的作用。

同行评议者

王娅兰, 教授, 重庆医科大学基础医学院病理教研室; 汤华, 研究员, 重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

■ 研究前沿

STAT3在实体肿瘤细胞中的异常激活一直是癌症研究的热点,其过度激活往往导致细胞的异常增殖和凋亡障碍,促进正常细胞发生恶性转化。

84.4% vs 0.0%, $P < 0.05$; 23.8%, 58.4% vs 0.0%, $P < 0.05$; 42.9%, 36.4% vs 25.0%), 且在腺癌组织中SHH和GLI1的表达与肿瘤的病理分级有关($P < 0.05$)。SHH及GLI1之间的表达有显著相关性($r = 0.498$, $P < 0.01$), 而腺癌组织中STAT3的活化(P-STAT3的表达)与SHH及GLI1的表达关系密切($r = 0.525$, $P < 0.01$; $r = 0.637$, $P < 0.01$)。

结论: SHH信号途径与结肠肿瘤的发生及进展有一定的关系,该途径的关键信号蛋白在结肠腺癌中的过度表达可能与STAT3信号途径的活化有协同作用。

关键词: SHH信号途径; STAT3; 结肠肿瘤

刘聪, 喻志华, 李媛, 周晟. SHH信号途径相关蛋白在结肠肿瘤组织中过度表达与STAT3活化的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18(29): 3089-3095

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3089.asp>

0 引言

越来越多的证据支持了一个观点,即癌症发生可被视为器官由于异常发育并积累突变而产生具有无限增生潜能的过程, Hedgehog(HH)信号途径在哺乳动物的胚胎形成与组织分化发育中起关键作用,而且逐渐有实验显示其异常激活能导致多种肿瘤生成,如皮肤基底细胞癌、前列腺癌、非小细胞肺癌、消化系肿瘤等^[1-4]。HH基因于1980年在果蝇中被发现,编码高度保守的糖蛋白,在哺乳动物中至少发现3种同源基因: Sonic Hedgehog(SHH)、Indian Hedgehog(IHH)和Desert Hedgehog(DHH),分别编码3种相应的蛋白: SHH、IHH和DHH。SHH对哺乳动物的乳腺、前列腺、肺、毛发、消化系统和神经系统等多器官的发育起重要作用,研究发现多种肿瘤中存在着SHH信号通路的异常激活,且在肺部和消化系肿瘤中表现尤为活跃^[5-7],SHH信号通路对靶细胞的作用是通过细胞膜上Patched(PTCH)转录元件介导,PTCH是一种含12个跨膜结构域的蛋白,可与SHH结合,既是SHH的膜受体也是SHH的转录目标。当SHH蛋白和PTCH结合时可通过胞质微管上附着的HH信号复合物介导,使一种转录因子进入胞核,从而激活其下游基因的表达,该转录因子在脊椎动物中称为GLI(glioma-associated oncogene homolog)。GLI是整个信号通路中最关键的信号分子,其表达上调会引起目的基因的转录,最终导致肿瘤的发生和发展^[8]。另外,除了膜受体PTCH能够与

SHH信号肽结合外,膜蛋白HHIP(human hedgehog-interacting protein)也能与SHH肽链结合,从而竞争抑制SHH蛋白分子与PTCH结合,起到内源性抑制SHH信号通路活化的作用^[9-11]。

STAT3作为信号转导与转录激活因子家族中的重要一员,在肿瘤细胞的形成、生长、凋亡抑制等过程起重要的调控作用已被广泛及深入的研究^[12-14]。近来研究发现STAT3与EGFR、 β -catenin、NF- κ B、Akt等多个信号通道都有交叉或协同作用^[15],共同参与肿瘤的生成及进展。但STAT3与SHH信号途径有何关系还未见报道,先期我们通过构建STAT3在上皮细胞中过度表达的转基因小鼠模型,发现持续活化的STAT3可再次激活对上皮细胞增殖起重要作用的SHH基因,上调SHH信号途径相关因子的表达,因此我们推测SHH可能是STAT3直接或间接的下游靶基因。本文以结肠肿瘤为对象观察STAT3在肿瘤组织中的活化与SHH及其相关蛋白表达之间的关系,初步探索STAT3与SHH途径可能有的联系。

1 材料和方法

1.1 材料 77例结直肠癌取自同济医院外科2008-01/2009-07手术切除组织的石蜡标本,患者男46例,女31例,年龄为42-73(中位年龄57)岁,有完整的临床病理学资料。病理类型:管状腺癌56例,黏液腺癌15例,其他6例;肿瘤细胞分化程度:高分化者34例,中分化者26例,低分化者17例;临床分期采用Duke's分期:A期21例,B期27例,C期19例,D期10例;有淋巴结转移者34例,有远处转移者10例,其中有7例为肝转移,所有病例在肿瘤切除前均未进行化疗。同时选取42例同时期结肠腺癌患者的组织石蜡切片进行免疫组织化学染色,另从手术切除标本中选取20例正常结肠黏膜组织作为对照。免疫组织化学所用试剂:一抗均购自Santa Cruz biotechnology, inc. 分别是SHH(sc-9024, 克隆号: H-160); GLI1(sc-20687克隆号: H-300); PACH1(sc-6149, 克隆号: G-19); HHIP(sc-25465, 克隆号: H-280); P-STAT3(sc-135649, 克隆号: Ser 727)。二抗En-Vision™ system为丹麦DAKO公司产品。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色: 切片68 °C 2 h,脱蜡和水化后,切片浸入3% H₂O₂ 15 min,用0.01 mol/L pH6.0柠檬酸盐缓冲液进行微波抗原修复,98 °C -100 °C 20 min,室温冷却后PBS冲洗,小牛血清封闭15 min,滴加一抗室温孵育1 h后,PBS浸泡

表1 SHH、PTCH1、GLI1、HHIP和P-STAT3在正常结肠、腺瘤及腺癌组织中的表达 $n(\%)$

	正常结肠组织($n = 20$)	腺瘤组织($n = 42$)	腺癌组织($n = 77$)	P 值
SHH阳性	0(0.0)	40(95.2)	58(75.3)	<0.05
PTCH1阳性	0(0.0)	10(23.8)	45(58.4)	<0.05
GLI1阳性	0(0.0)	28(66.7)	65(84.4)	<0.05
HHIP阳性	5(25.0)	18(42.9)	28(36.4)	
P-STAT3阳性	0(0.0)	3(7.1)	62(80.5)	<0.05

■ 相关报道

Berman等在对来源于食管、胃、胆、胰腺和结肠癌的细胞系进行培养, 检测其SHH和PTCH mRNA水平, 发现97%的细胞系同时表达两者mRNA, 且部分结肠癌细胞系也高表达GLI1。

冲洗3次, 每次3 min, 滴加EnVision™, 室温孵育30 min, PBS冲洗后DAB显色, 苏木精复染。设0.01 mol/L PBS代替一抗作为阴性对照。省略一抗为空白对照。

1.2.2 结果判断: 切片以胞核或胞质中出现明显的棕黄色细颗粒为阳性判断标准, 在高倍镜下对阳性细胞进行评分: 随机选择5个视野, 总共计数200个细胞, 没有阳性细胞着色记0分, 有10%-20%细胞阳性着色记1分, 有20%-50%细胞阳性着色记2分, 超过50%细胞着色记3分。阳性染色强度按以下标准区分: 0, 没有棕黄色; 1, 微弱棕黄色; 2, 核或浆中等强度棕黄色; 3, 阳性细胞核或浆呈深棕色反应。便于统计学处理将上述两种评分之积作为评判标准, 分数为0-2分者作为阴性反应, 3分或以上作为阳性反应。

统计学处理 采用SPSS11.0统计软件进行统计分析, 计数资料与临床病理指标的关系采用 χ^2 或Fisher精确概率法检验, Spearman等级相关分析计数资料间的相关性。

2 结果

2.1 免疫组织化学染色结果 SHH阳性表达位于胞质内, 在正常结肠黏膜无SHH的表达(0/20), 但在结肠腺瘤组织中的阳性率高达95.2%(40/42), 在结肠腺癌组织中阳性率为75.3%(58/77); PTCH1在胞膜或胞质中有阳性染色, 他在正常结肠组织中无表达, 在结肠腺瘤组织中也仅10例呈阳性染色(23.8%), 而在腺癌组织中的阳性率为58.4%(45/77); GLI1阳性染色出现于胞质或者胞质和胞核共同着色, 同样在正常结肠中无表达, 在腺瘤中阳性率为66.7%(28/42), 在腺癌中阳性率为84.4%(65/77); HHIP表达多位于胞质内, 少数可见胞膜染色, 正常结肠组织出现5例表达, 阳性率25%, 腺瘤组织中有18例表达, 阳性率42.9%, 腺癌组织中有28例表达, 阳性率36.4%; P-STAT3阳性信号大多位于细胞核内, 偶见胞核胞质共同着色, 在正常结肠黏膜无阳性表达, 在

腺瘤组织中阳性率也仅7.1%(3/42), 在腺癌组织中阳性率为80.5%(62/77)(图1, 表1)。

2.2 SHH及相关蛋白的表达与患者临床病理特征之间的关系 在结肠癌组织中, SHH的表达只与肿瘤的分化程度有关($P < 0.05$), 随着分化程度的降低阳性率逐渐升高, 除此之外SHH与患者性别、年龄、肿瘤的大小、浸润深度、淋巴结转移以及Duke's分期等无显著相关性; GLI1的情况类似, 只与分化程度显著相关($P < 0.05$); 而PTCH1与HHIP与选取的这些临床病理因素之间均无显著相关性(表2)。

2.3 SHH及相关蛋白的表达与STAT3活化间的关系 在结肠癌组织中, SHH、PTCH1、GLI1和HHIP两两之间只有SHH与GLI1表达出现显著正相关($P < 0.01$), 而且也仅有SHH和GLI1与活化态的STAT3(P-STAT3)之间有显著相关性(均 $P < 0.01$)。没有观察到PTCH1和HHIP的表达与其他蛋白以及STAT3的活化有关(表3)。

3 讨论

结肠癌是消化系常见的恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率分别居所有癌症的第3位和第4位, 他的发生是由结肠黏膜的病变(非典型增长、腺瘤等)演变而来。研究表明结肠癌的形成可能需要10年, 而仅从内镜下可辨认的腺瘤发展成侵袭性癌只需要大约5年, 及时发现可治愈的癌前病变或早期癌具有相当重要的临床意义, 因此研究正常结肠黏膜到腺瘤、腺癌的演化过程以及控制该过程的分子信号调控机制对早期发现病变趋势有积极作用。SHH是控制胚胎发育的关键信号通路, 在成人体内该途径异常活化与肿瘤形成也有密切关系, Berman等^[16]在对来源于食管、胃、胆、胰腺和结肠癌的细胞系进行培养, 检测其SHH和PTCH mRNA水平, 发现97%的细胞系同时表达两者mRNA, 且部分结肠癌细胞系也高表达GLI1, 这与我们观察到的SHH及其相关蛋白在结肠腺瘤及腺癌中过度表达相一致,

■创新盘点

本文通过分析SHH、STAT3等相关基因在结肠腺癌中的表达,评价他们与临床病理因素间的关系,探讨STAT3信号途径与SHH通路之间的相互关系,为进一步深入研究SHH信号通路在肿瘤中的作用奠定了理论基础。

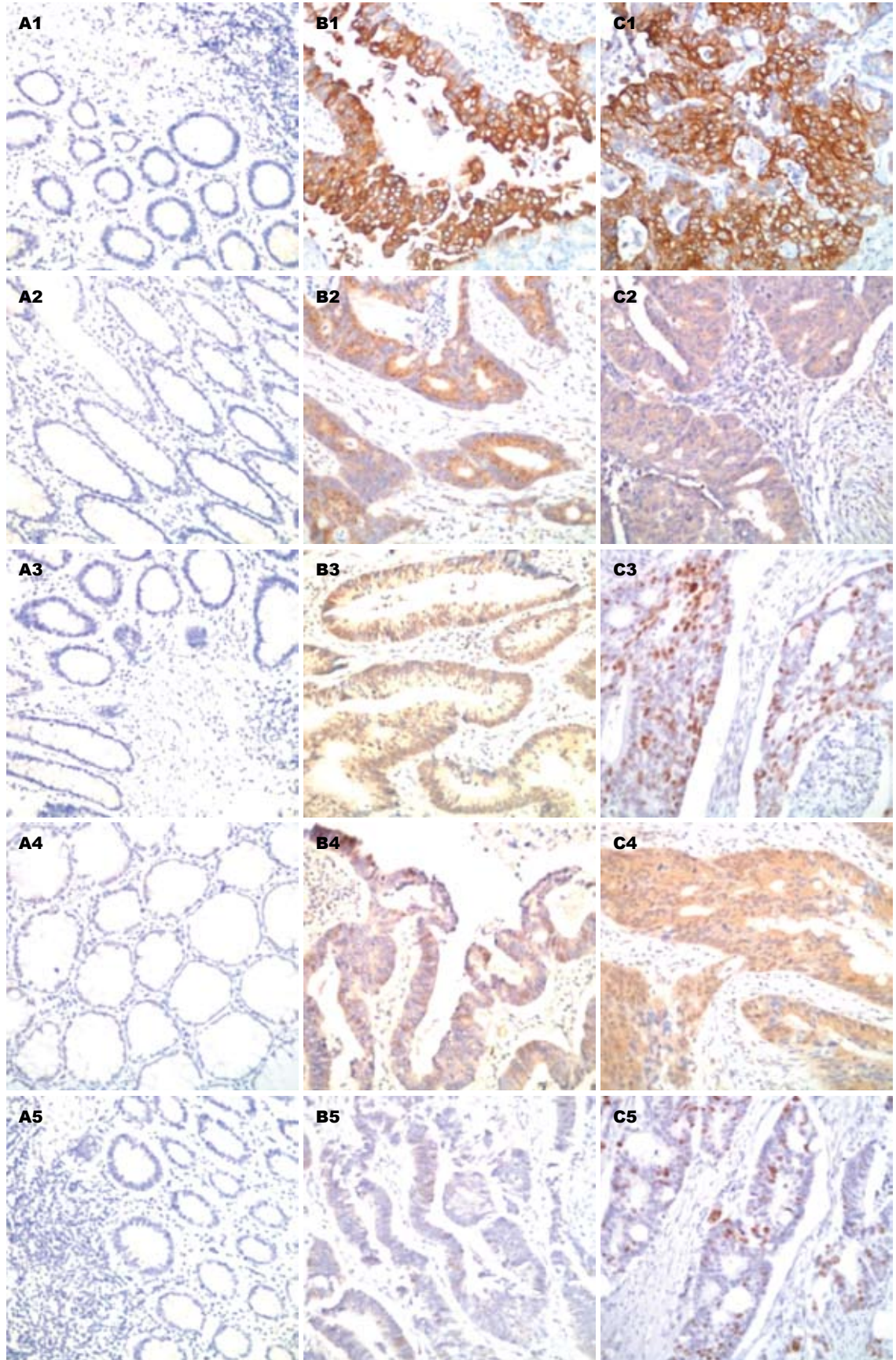


图 1 SHH、PTCH1、GLI1、HHIP及P-STAT3在正常结肠组织、结肠腺瘤和腺癌组织中的表达(免疫组织化学×100)。A: 正常结肠组织; B: 结肠腺瘤组织; C: 腺癌组织; 1: SHH; 2: PTCH1; 3: GLI1; 4: HHIP; 5: P-STAT3。

提示SHH途径在结肠肿瘤形成过程中有一定作用,而且SHH和GLI1的阳性率与肿瘤分化显著

表 2 SHH、PTCH1、GLI1和HHIP在结肠腺癌中的表达与临床病理因素间的关系 *n*(%)

临床病理因素	<i>n</i>	SHH+	<i>P</i> 值	PTCH1+	<i>P</i> 值	GLI1+	<i>P</i> 值	HHIP+	<i>P</i> 值
性别									
男	46	35(76.1)	0.81	28(60.9)	0.66	38(82.6)	0.71	18(39.1)	0.52
女	31	23(74.2)		17(54.8)		27(87.1)		10(32.3)	
年龄(岁)									
≥57	52	38(69.2)	0.12	31(59.6)	0.77	45(86.5)	0.62	20(38.5)	0.59
<57	25	20(80.0)		14(56.0)		20(80.0)		8(32.0)	
肿瘤直径(cm)									
≥4	32	26(81.3)	0.13	20(62.5)	0.53	28(87.5)	0.71	13(40.6)	0.69
<4	45	32(71.1)		25(55.6)		37(82.2)		15(33.3)	
组织学类型									
管状腺癌	56	44(78.6)	0.28	32(57.1)	0.57	48(85.7)	0.09	20(35.7)	0.34
黏液腺癌	15	10(66.7)		9(60.0)		14(93.3)		5(33.3)	
其他	6	4(66.7)		4(66.7)		3(50.0)		3(50.0)	
肿瘤分化程度									
高分化	34	21(61.8)	0.02	18(52.9)	0.19	24(70.6)	0.03	11(32.4)	0.14
中分化	26	21(80.8)		16(61.5)		24(92.3)		9(34.6)	
低分化	17	16(94.1)		11(64.7)		17(100.0)		8(47.1)	
肿瘤浸润深度									
未及浆膜	50	36(72.0)	0.15	29(58.0)	0.75	40(80.0)	0.11	17(34.0)	0.59
浆膜以外	27	22(81.5)		16(59.3)		25(92.6)		11(40.1)	
Duke's分期									
A+B	48	33(68.8)	0.07	26(54.2)	0.12	39(81.3)	0.17	16(33.3)	0.66
C+D	29	25(86.2)		19(65.2)		26(89.7)		12(41.4)	
淋巴结转移									
无	43	30(69.8)	0.09	24(55.8)	0.61	34(79.1)	0.11	15(34.9)	0.63
有	34	28(82.4)		21(61.8)		31(91.2)		13(38.2)	

应用要点
 通过研究STAT3和SHH这两条信号通路之间的相互作用机制,了解他们之间的调控方式,可为将来控制SHH信号通路的基因表达及与其他信号途径的功能状态提供一定的理论基础。

表 3 SHH、PTCH1、GLI1和HHIP在结肠腺癌中表达的单因素相关分析

Spearman相关	SHH	PTCH1	GLI1	HHIP	P-STAT3
SHH					
相关系数	1.00	0.09	0.43	0.11	0.26
<i>P</i> 值(双侧)		0.11	<0.01	0.13	<0.01
PTCH1					
相关系数	0.09	1.00	0.03	0.05	-0.11
<i>P</i> 值(双侧)	0.11		0.65	0.43	0.07
GLI1					
相关系数	0.43	0.03	1.00	-0.03	0.31
<i>P</i> 值(双侧)	<0.01	0.65		0.62	<0.01
HHIP					
相关系数	0.11	0.05	-0.03	1.00	0.07
<i>P</i> 值(双侧)	0.13	0.43	0.62		0.17
P-STAT3					
相关系数	0.26	-0.11	0.31	0.07	1.00
<i>P</i> 值(双侧)	<0.01	0.07	<0.01	0.17	

相关,能在某种程度上反映结肠腺癌细胞的增殖水平和分化程度,也说明SHH和GLI1作为肿瘤标志物有一定可行性.此外,观察到在结肠癌

组织中有较高表达的GLI1可定位于胞核和胞质中,已证实GLI1是一个核浆穿梭蛋白,活化后从胞质向核内移位^[17,18].本实验发现在高分化腺癌

同行评价

本文选题新颖, 有一定的学术指导意义。

中GLI1多出现在胞质中, 而核表达在低分化腺癌中常见, 提示GLI1的活化和肿瘤恶性进展有一定关系。最近也有研究^[2]表明SHH信号通路在结肠黏膜隐窝干细胞的分化过程中起重要的调节作用, 阻断该通路可导致干细胞分化障碍, 不能形成正常隐窝结构, 而结肠癌起源于异常分化增殖的黏膜干细胞, 那么SHH号通路的活化在结肠癌分化中所起的作用及其调控机制是值得期待的研究方向。

STAT3在实体肿瘤细胞中的异常激活一直是癌症研究的热点, 其过度激活往往导致细胞的异常增殖和凋亡障碍, 促进正常细胞发生恶性转化, 已有较多STAT3在结直肠癌组织中过度表达和活化与肿瘤分化、淋巴结转移、Duke's分期、预后有关的报道^[19,20], 我们在实验中也发现STAT3在正常结肠黏膜内无激活, 在腺瘤组织中也极少发生, 但在腺癌细胞活化是常态事件, 而这与SHH信号途径某些关键蛋白的表达在一定程度上出现同向关系。曾经有研究报道了淋巴瘤中SHH、Wnt、Hox、Notch和STAT3各途径之间的关系, 发现SHH在肿瘤细胞中的激活依赖STAT3的活化^[21-24], 本实验也反应了这一趋势, 因此我们猜想STAT3信号途径是否会和SHH通路之间有交叉或者协同作用? 从而导致这种现象的发生。基于上述已有的证据和提出的假设, 我们有兴趣进一步研究这两个通路相互作用的机制, 了解他们之间的调控方式, 并为将来控制SHH信号通路的基因表达及与其他信号途径的功能状态提供理论基础。

4 参考文献

- Toftgård R. Hedgehog signalling in cancer. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57: 1720-1731
- Katoh Y, Katoh M. Hedgehog signaling pathway and gastrointestinal stem cell signaling network (review). *Int J Mol Med* 2006; 18: 1019-1023
- Bian YH, Huang SH, Yang L, Ma XL, Xie JW, Zhang HW. Sonic hedgehog-Gli1 pathway in colorectal adenocarcinomas. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1659-1665
- Daya-Grosjean L, Couvé-Privat S. Sonic hedgehog signaling in basal cell carcinomas. *Cancer Lett* 2005; 225: 181-192
- Ma XL, Sun HJ, Wang YS, Huang SH, Xie JW, Zhang HW. Study of Sonic hedgehog signaling pathway related molecules in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3965-3969
- Chari NS, McDonnell TJ. The sonic hedgehog signaling network in development and neoplasia. *Adv Anat Pathol* 2007; 14: 344-352
- Monzo M, Moreno I, Artells R, Ibeas R, Navarro A, Moreno J, Hernandez R, Granell M, Pie J. Sonic hedgehog mRNA expression by real-time quantitative PCR in normal and tumor tissues from colorectal cancer patients. *Cancer Lett* 2006; 233: 117-123
- Mori Y, Okumura T, Tsunoda S, Sakai Y, Shimada Y. Gli-1 expression is associated with lymph node metastasis and tumor progression in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology* 2006; 70: 378-389
- Bosanac I, Maun HR, Scales SJ, Wen X, Lingel A, Bazan JF, de Sauvage FJ, Hymowitz SG, Lazarus RA. The structure of SHH in complex with HHIP reveals a recognition role for the Shh pseudo active site in signaling. *Nat Struct Mol Biol* 2009; 16: 691-697
- Bishop B, Aricescu AR, Harlos K, O'Callaghan CA, Jones EY, Siebold C. Structural insights into hedgehog ligand sequestration by the human hedgehog-interacting protein HHIP. *Nat Struct Mol Biol* 2009; 16: 698-703
- Shida T, Furuya M, Nikaido T, Hasegawa M, Koda K, Oda K, Miyazaki M, Kishimoto T, Nakatani Y, Ishikura H. Sonic Hedgehog-Gli1 signaling pathway might become an effective therapeutic target in gastrointestinal neuroendocrine carcinomas. *Cancer Biol Ther* 2006; 5: 1530-1538
- Lau GK, Ye D. STAT3 implicated in the development of colon cancer: a step closer for targeted therapy? *Gastroenterology* 2010; 139: 353-355
- Pectasides E, Egloff AM, Sasaki C, Kountourakis P, Burtneess B, Fountzilias G, Dafni U, Zaramboukas T, Rampias T, Rimm D, Grandis J, Psyrri A. Nuclear localization of signal transducer and activator of transcription 3 in head and neck squamous cell carcinoma is associated with a better prognosis. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 2427-2434
- Devarajan E, Huang S. STAT3 as a central regulator of tumor metastases. *Curr Mol Med* 2009; 9: 626-633
- Grivennikov SI, Karin M. Dangerous liaisons: STAT3 and NF-kappaB collaboration and crosstalk in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21: 11-19
- Berman DM, Karhadkar SS, Maitra A, Montes De Oca R, Gerstenblith MR, Briggs K, Parker AR, Shimada Y, Eshleman JR, Watkins DN, Beachy PA. Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours. *Nature* 2003; 425: 846-851
- Neill GW, Ghali LR, Green JL, Ikram MS, Philpott MP, Quinn AG. Loss of protein kinase Calpha expression may enhance the tumorigenic potential of Gli1 in basal cell carcinoma. *Cancer Res* 2003; 63: 4692-4697
- Fendrich V, Waldmann J, Esni F, Ramaswamy A, Mullendore M, Buchholz M, Maitra A, Feldmann G. Snail and Sonic Hedgehog activation in neuroendocrine tumors of the ileum. *Endocr Relat Cancer* 2007; 14: 865-874
- Ma XT, Wang S, Ye YJ, Du RY, Cui ZR, Somsouk M. Constitutive activation of Stat3 signaling pathway in human colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1569-1573
- Kusaba T, Nakayama T, Yamazumi K, Yakata Y, Yoshizaki A, Inoue K, Nagayasu T, Sekine I. Activation of STAT3 is a marker of poor prognosis in human colorectal cancer. *Oncol Rep* 2006; 15: 1445-1451
- Nakashima H, Nakamura M, Yamaguchi H, Yamanaka N, Akiyoshi T, Koga K, Yamaguchi K, Tsuneyoshi M, Tanaka M, Katano M. Nuclear factor-kappaB contributes to hedgehog signaling path-

- way activation through sonic hedgehog induction in pancreatic cancer. *Cancer Res* 2006; 66: 7041-7049
- 22 Schneider FT, Schänzer A, Czupalla CJ, Thom S, Engels K, Schmidt MH, Plate KH, Liebner S. Sonic hedgehog acts as a negative regulator of {beta}-catenin signaling in the adult tongue epithelium. *Am J Pathol* 2010; 177: 404-414
- 23 Seto M, Ohta M, Asaoka Y, Ikenoue T, Tada M, Miyabayashi K, Mohri D, Tanaka Y, Ijichi H, Tateishi K, Kanai F, Kawabe T, Omata M. Regulation of the hedgehog signaling by the mitogen-activated protein kinase cascade in gastric cancer. *Mol Carcinog* 2009; 48: 703-712
- 24 Sengupta A, Banerjee D, Chandra S, Banerji SK, Ghosh R, Roy R, Banerjee S. Deregulation and cross talk among Sonic hedgehog, Wnt, Hox and Notch signaling in chronic myeloid leukemia progression. *Leukemia* 2007; 21: 949-955

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回的, 作重新投稿处理.

3 版权

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

肠上皮细胞在炎症性肠病患者中的异型增生、癌变及其临床检测

黄志刚, 刘占举

黄志刚, 刘占举, 同济大学附属第十人民医院胃肠内科 上海市 200072
国家自然科学基金资助项目, No. 30770988; No. 30971358
作者贡献分布: 此课题由黄志刚与刘占举设计; 论文写作由黄志刚与刘占举完成。
通讯作者: 刘占举, 教授, 200072, 上海市延长中路301号, 同济大学附属第十人民医院胃肠内科. zhanjuli@yaho.com
电话: 021-66301164
收稿日期: 2010-03-11 修回日期: 2010-09-10
接受日期: 2010-10-17 在线出版日期: 2010-10-18

Intestinal epithelial dysplasia and cancerization in inflammatory bowel disease

Zhi-Gang Huang, Zhan-Ju Liu

Zhi-Gang Huang, Zhan-Ju Liu, Department of Gastroenterology, the 10th People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 30770988 and 30971358
Correspondence to: Professor Zhan-Ju Liu, Department of Gastroenterology, the 10th People's Hospital of Tongji University, 301 Middle Yanchang Road, Shanghai 200072, China. zhanjuli@yaho.com
Received: 2010-03-11 Revised: 2010-09-10
Accepted: 2010-10-17 Published online: 2010-10-18

Abstract

Patients with inflammatory bowel disease (IBD) have an increased risk of developing intestinal epithelial dysplasia and colorectal cancer (CRC). The risk of CRC in patients with ulcerative colitis is equivalent to that in patients with Crohn's disease. Risk factors for the carcinogenesis of CRC among IBD patients include the extent and duration of disease, increased severity of inflammation, and coexisting primary sclerosing cholangitis (PSC). The neoplastic transformation in IBD is thought to occur in the inflammation-dysplasia-carcinoma sequence. Colonoscopic surveillance with random biopsies remains the major way to detect early dysplasia. When dysplasia is found, proctocolectomy should be considered for these patients. After 8-10 years of the disease, patients should begin to undergo surveillance colonoscopy to detect dysplasia and CRC. New endoscopic and molecular screen-

ing approaches may further facilitate dysplasia surveillance and provide deep understanding of IBD-associated neoplastic transformation.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Dysplasia; Cancerization; Colonoscopic surveillance

Huang ZG, Liu ZJ. Intestinal epithelial dysplasia and cancerization in inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3097-3100

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者并发肠上皮细胞异型增生和结直肠癌的危险性增高。溃疡性结肠炎发生结直肠癌危险与克罗恩病相当。IBD患者癌变的易患因素包括病程、病情、炎症严重程度及是否合并原发性硬化性胆管炎等。IBD癌变的模式为炎症-异型增生-癌。结肠镜监测筛查并随机活检仍是最主要的检测早期异型增生的手段。一旦发现异型增生,多数要考虑全结肠切除术。病程超过8-10年的IBD患者应该接受结肠镜筛查监测。新的内镜技术和分子学方法可使异型增生监测更为方便并加深对IBD癌变的理解。

关键词: 炎症性肠病; 异型增生; 癌变; 内镜检测

黄志刚, 刘占举. 肠上皮细胞在炎症性肠病患者中的异型增生、癌变及其临床检测. *世界华人消化杂志* 2010; 18(29): 3097-3100
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3097.asp>

0 引言

众多文献报道有1%的炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者可能发生结直肠癌变, IBD患者已列入结直肠癌的高危人群。结直肠癌一直是IBD患者最为担忧的远期并发症。异型增生作为癌前病变在IBD癌变过程中意义重大, 是IBD肠镜筛查监测中的重要观察指标, 也是IBD手术治疗的适应证。近年随着IBD在国内发病率的增加, IBD癌变的监测及治疗也逐步受到重视。本文将对IBD异型增生和癌变的流行病学、发

■背景资料

IBD包括UC和CD, 均有发生癌变的危险性, 主要通过异型增生发展到CRC。病程8-10年以上的IBD患者通过结肠镜监测筛查异型增生有重要临床意义。对于IBD合并异型增生者, 多数需要手术治疗。

■同行评议者

江学良, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

■ 研发前沿

目前存在的主要问题是提高IBD结肠镜监测筛查中异型增生和CRC的检出率。新的内镜技术如窄带成像技术、荧光染色等可能有助于提高结肠异型增生和早期CRC的诊断率。

病机制、防治策略相关进展作一下分析。

1 IBD患者发生CRC的几率

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者发生结肠癌(colorectal carcinoma, CRC)的危险增高已经得到共识,但癌变的危险程度多数文献报道差异很大。有报道认为病程40年以上的UC发生癌变的累积发生率高达60%^[1],但亦有相反报道认为UC癌变危险与普通人群相当^[2]。这种差异可能与研究设计标准不一致、地理环境差异、文献报道单位偏差有关。2001年Eaden等^[3]在了一项Meta分析中对116项临床研究(共计54 478例UC, 1 698例CRC)分析显示UC患者CRC总发生率为3.7%,其中病程10年以上UC的CRC累积发生率为2%,病程20年以上为8%,30年以上达18%。同年Bernstein等^[4]一项基于大样本人群的对照研究结果显示UC患者CRC危险较普通人群高2.75倍,这一结果与Eaden等的研究相比,UC患者CRC危险将近减少一半。近年UC患者癌变率文献报道呈下降趋势,这可能与愈来愈广泛使用结肠镜、色素内镜筛查监测、外科手术积极手术治疗、环境/饮食因素改变有关。

尽管UC与CRC之间的关系已明确,但克罗恩病(Crohn's disease, CD)与CRC的相关性直到最近才得到足够重视,2001年Bernstein等的大样本对照研究同时还发现CD患者发生CRC危险显著增高(RR = 2.64),与UC发生CRC的危险相当。2006年Canavan等^[5]的一项Meta分析结果也显示CD患者CRC总的相对危险增加2.5倍,结肠型CD患者CRC危险更高达4.5倍。CD患者病程10年以上患CRC的相对危险增加2.9%(1.5%-5.3%),但近30年危险度亦呈下降趋势。

2 影响IBD癌变的危险因素

UC患者的病程和病变范围已经是公认的癌变危险因素。病程超过10年以上、病变广泛患者患CRC危险最高,美国克罗恩病及结肠炎基金会(Crohn's & colitis Foundation of America, CCA)共识意见推荐自UC发病起8-10年应开始结肠镜监测筛查异型增生和结肠癌。结肠炎的病变部位及范围也是IBD癌变的重要临床危险因素,溃疡性结肠炎患者CRC危险并不增高,左半结肠或更近端部位病变者较普通人群患CRC危险更高。Rutter等^[6]报道内镜及组织学病变活动程度与异型增生密切相关,但尚待进一步证实。其他危险因素如发病年龄、CRC家族史等与CRC关系尚不明确。对于CD患者,病变仅累及

小肠者CRC危险与普通人群相似,对CD累及结肠者CRC危险与UC相似。

原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)患者常合并UC或CD,而PSC为CRC易患危险因素,因此对于PSC患者应常规结肠镜检查,甚至对貌似正常的黏膜进行活检,这些黏膜在显微镜下往往存在结肠炎表现^[7]。对于IBD合并PSC者,应该在PSC发现时即开始结肠镜监测筛查。

3 IBD异型增生和癌变的病理机制

相比较散发性结直肠癌发病模式:腺瘤→癌变,IBD癌变模式可归纳为:炎症→异型增生→癌变^[8]。IBD相关的CRC几乎总是发生在既往或当前存在慢性炎症的部位,一般90%以上癌变同时存在异型增生^[9]。异型增生常见于癌变邻近部位,但也可远离癌变部位,多发性常见,可发生于结肠任何部位^[10]。内镜下异型增生可分为平坦型和隆起型,后者也称为“异型增生相关的病变或肿块(dysplasia associated lesion or mass, DALM)”。1983年IBD异型增生形态学研究组将之分为3种异型增生阴性(正常黏膜或黏膜伴再生改变)、异型增生不确定型和异性增生阳性型(低或高度),这种分类迄今仍有临床指导价值。

愈来愈多的证据表明IBD癌变与散发性结直肠癌在分子病理学机制上相似,都与染色体不稳定(chromosomal instability, CIN)和微粒体不稳定(microsatellite instability, MSI)有关,但存在基因表达时间顺序和频度差异^[11]。UC相关的异型增生P53和P16基因表达异常属于早期事件,可能与慢性炎症导致细胞周期相关蛋白P53和P16表达受抑有关,从而引起结肠上皮细胞增生^[11]。散发性结直肠癌中P53异常为晚期事件, P16异常较为罕见。在散发性结直肠癌中APC基因异常为常见早期事件,但在IBD癌变中很少发生且往往发生较晚。基因甲基化异常可能在IBD癌变中起重要作用,UC患者多个基因CpG岛甲基化可能与异型增生有关。

4 IBD异型增生的临床处理

腺瘤样DALM恶性程度低,可以内镜下治疗后随访监测,临床处理的关键问题是能否内镜下安全切除^[12]。Odze等^[13]对腺瘤样DALM行内镜下切除术长期随访,平均随访时间82.1 mo,结果显示腺瘤样DALM内镜下切除后再发息肉率与UC合并腺瘤者无显著差异。非腺瘤样DALM同时伴有恶性肿瘤的危险性高,需要进行手术切除治

疗^[14]. IBD患者中大多数息肉样病变为炎性息肉, 这些息肉并没有显著的恶变潜能, 不需要内镜切除. 但多发炎性息肉可作为CRC危险的预测指标, 提示既往有过严重的结肠炎性损伤, 同时这些息肉也增加了内镜监测筛查的难度.

对于平坦型高度异型增生(high grade dysplasia, HGD)患者, 有系统综述显示42%的HGD患者在手术时发现合并CRC, 还有部分为异时性CRC^[15]. 因此对这部分患者应该首选结肠切除手术治疗. 对于平坦型低度异型增生(low grade dysplasia, LGD), Ullman等^[16]随访46例伴平坦LGD的UC患者, 11例在半年内结肠切除, 其中27%患者发现CRC和HGD. 2006年Rutter等^[6]报道20% LGD患者手术发现同时合并CRC, 39.1%的LGD患者随访均进展为HGD或CRC. 但也有部分研究认为LGD进展为CRC或HGD的几率非常低. 有鉴于此, 2005年CCFA共识建议与每位LGD患者讨论可能的危险, 对于多灶性平坦LGD或多次LGD阳性者强烈建议预防性全结肠切除术; 对于单灶性平坦LGD也推荐手术治疗, 如选择非手术治疗者, 应密集内镜随访(≤ 6 mo). 2007年一项Meta分析^[17]结果显示LGD患者相对于无异型增生者患癌危险增加9倍, 一旦出现LGD进展为HGD或CRC的危险增加12倍. 因此, 近年来更加支持无论多灶性或单灶性LGD均应行结肠切除术.

对于不确定型异型增生, 往往伴随活动性炎症, 与真正的异型增生很难鉴别. Ullman等^[16]报道不确定型异型增生发展为HGD或CRC的5年进展率为9.0%, CCFA推荐每年1次内镜随访. 对于CD伴异型增生者, 2005年CCFA共识意见认为与UC合并异型增生处理原则相同.

5 IBD异型增生和癌变的监测筛查

CCFA推荐UC病程超过8-10年者应进行结肠镜监测筛查, 对于结肠大部受累(超过1/3结肠)CD, 病程超过8-10年者也应同样结肠镜检查^[18].

对于第1次结肠镜筛查阴性的广泛性结肠炎或左半结肠炎者应每隔1-2年随访监测1次. 如果连续2次检查阴性者可1-3年1次内镜监测, 直到UC病程超过20年, 以后仍应每隔1-2年监测1次. 合并PSC应每年内镜随访1次. 直肠乙状结肠炎患者与普通人群患CRC危险相当, 可按标准CRC预防指南处理. 对于CD患者累及结肠者内镜随访原则与UC相同.

对于UC合并狭窄者应进行结肠切除术, 因

为狭窄段癌变危险相当高. 如果儿童肠镜可通过狭窄部位, 应多块活检或刷检, 即便这些检查阴性, 也应该在3-4 mo内内镜随访. CD合并狭窄者, 如果能通过狭窄段则1年内复查内镜, 对于儿童肠镜仍不能通过者, 应行钡剂灌肠或CT检查排除近端结肠病变可能. 如果病程超过20年, 内镜无法通过狭窄者应考虑外科手术治疗.

6 结论

IBD包括UC和CD, 均有发生癌变的危险性, 可能与长期慢性炎症相关, 其发生癌变的病理机制与散发性大肠癌有一定差别, 主要通过异型增生发展到CRC, 在病程8-10年以上的IBD患者中通过结肠镜监测筛查异型增生对于防治CRC有非常重要的意义. 对于IBD合并异型增生者, 除腺瘤样DALM可内镜下治疗后随访外, 多数需要手术治疗. 目前存在的主要问题是如何提高IBD结肠镜监测筛查中异型增生和CRC的检出率, 尤其在多发炎性息肉的背景下. 相信新内镜技术如窄带成像技术、荧光染色等有助于提高结肠异型增生和早期CRC的诊断率, 随着对IBD合并CRC分子病理机制的阐明, 可能开发全新的粪便筛查芯片, 也将有利于提高IBD随访的效率.

7 参考文献

- Devroede GJ, Taylor WF, Sauer WG, Jackman RJ, Stickler GB. Cancer risk and life expectancy of children with ulcerative colitis. *N Engl J Med* 1971; 285: 17-21
- Winther KV, Jess T, Langholz E, Munkholm P, Binder V. Long-term risk of cancer in ulcerative colitis: a population-based cohort study from Copenhagen County. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 1088-1095
- Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut* 2001; 48: 526-535
- Bernstein CN, Blanchard JF, Kliever E, Wajda A. Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study. *Cancer* 2001; 91: 854-862
- Canavan C, Abrams KR, Mayberry J. Meta-analysis: colorectal and small bowel cancer risk in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1097-1104
- Rutter MD, Saunders BP, Wilkinson KH, Rumbles S, Schofield G, Kamm MA, Williams CB, Price AB, Talbot IC, Forbes A. Thirty-year analysis of a colonoscopic surveillance program for neoplasia in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2006; 130: 1030-1038
- Jayaram H, Satsangi J, Chapman RW. Increased colorectal neoplasia in chronic ulcerative colitis complicated by primary sclerosing cholangitis: fact or fiction? *Gut* 2001; 48: 430-434
- Itzkowitz SH, Harpaz N. Diagnosis and manage-

■ 相关报道

Odze等对腺瘤样DALM行内镜下切除术长期随访, 平均随访时间82.1 mo, 结果显示腺瘤样DALM内镜下切除后再发息肉率与UC合并腺瘤者无显著差异.

■同行评价

本文选题较好,思路清晰,对临床应用有一定的参考价值。

- ment of dysplasia in patients with inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2004; 126: 1634-1648
- 9 Friedman S, Rubin PH, Bodian C, Goldstein E, Harpaz N, Present DH. Screening and surveillance colonoscopy in chronic Crohn's colitis. *Gastroenterology* 2001; 120: 820-826
- 10 Ullman T, Odze R, Farraye FA. Diagnosis and management of dysplasia in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease of the colon. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 630-638
- 11 Urbanski SJ, Fogt F. Dysplasia in Chronic Ulcerative Colitis: A Molecular Approach to Its Differential Diagnosis. *Int J Surg Pathol* 2000; 8: 11-16
- 12 Friedman S, Rubin PH, Bodian C, Harpaz N, Present DH. Screening and surveillance colonoscopy in chronic Crohn's colitis: results of a surveillance program spanning 25 years. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 993-998; quiz 953-954
- 13 Odze RD. Pathology of dysplasia and cancer in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2006; 35: 533-552
- 14 Xie J, Itzkowitz SH. Cancer in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 378-389
- 15 Bernstein CN, Shanahan F, Weinstein WM. Are we telling patients the truth about surveillance colonoscopy in ulcerative colitis? *Lancet* 1994; 343: 71-74
- 16 Ullman T, Croog V, Harpaz N, Sachar D, Itzkowitz S. Progression of flat low-grade dysplasia to advanced neoplasia in patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2003; 125: 1311-1319
- 17 Thomas T, Abrams KA, Robinson RJ, Mayberry JF. Meta-analysis: cancer risk of low-grade dysplasia in chronic ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 657-668
- 18 Itzkowitz SH, Present DH. Consensus conference: Colorectal cancer screening and surveillance in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 314-321

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

防御素在炎症性肠病中的作用机制

杨玉荣, 刘占举, 梁宏德

杨玉荣, 梁宏德, 河南农业大学牧医工程学院动物病理教研室 河南省郑州市 450002
刘占举, 同济大学附属第十人民医院胃肠内科 上海市 200072
国家自然科学基金资助项目, No. 30800812
作者贡献分布: 此课题由杨玉荣设计; 论文写作由杨玉荣、刘占举及梁宏德完成。
通讯作者: 杨玉荣, 450002, 河南省郑州市, 河南农业大学牧医工程学院. yangyu7712@sina.com
收稿日期: 2010-03-11 修回日期: 2010-07-28
接受日期: 2010-10-17 在线出版日期: 2010-10-18

Role of defensins in the pathogenesis of inflammatory bowel disease

Yu-Rong Yang, Zhan-Ju Liu, Hong-De Liang

Yu-Rong Yang, Hong-De Liang, Department of Animal Pathology, College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, Henan Province, China
Zhan-Ju Liu, Department of Gastroenterology, the 10th People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30800812
Correspondence to: Yu-Rong Yang, Department of Animal Pathology, College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, Henan Province, China. yangyu7712@sina.com
Received: 2010-03-11 Revised: 2010-07-28
Accepted: 2010-10-17 Published online: 2010-10-18

Abstract

The abnormal expression of defensins seems to be a critical factor for the pathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD). In addition to directly eradicating or killing pathogenic microorganisms, defensins can modulate or amplify adaptive immune responses under biological stress. The abnormal expression of defensins disturbs the initiation of adaptive immunity, amplifies intestinal inflammation and thereby accelerates the development of IBD. In this paper, we review the role of defensins in the pathogenesis of IBD.

Key Words: Defensin; Inflammatory bowel disease; Innate immunity; Paneth cell; Animal model

Yang YR, Liu ZJ, Liang HD. Role of defensins in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Shijie Hua-*

ren Xiaohua Zazhi 2010; 18(29): 3101-3106

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者或IBD动物模型肠道的防御素表达紊乱可能与IBD的发生和迁延不愈有关。防御素除了具有直接杀灭或抑制病原微生物的作用,在生物应激时还具有调节或扩大获得性免疫反应的作用。防御素表达紊乱后可能干扰了获得性免疫的启动,又扩大了肠道局部的炎症反应,加快IBD的进程。本文主要论述防御素在IBD的作用机制,并对防御素的应用前景作一展望。

关键词: 防御素; 炎症性肠病; 先天免疫; 潘氏细胞; 动物模型

杨玉荣, 刘占举, 梁宏德. 防御素在炎症性肠病中的作用机制. 世界华人消化杂志 2010; 18(29): 3101-3106
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3101.asp>

0 引言

防御素是抗菌肽的一种,是生物界广泛存在的一类富含半胱氨酸的小分子阳离子多肽。1983年Selsted等^[1]首次从兔肺巨噬细胞中分离出来,并命名之。防御素是生物体内天然防御系统的重要组成部分,作为天然免疫和获得性免疫反应的桥梁,能够迅速动员免疫系统,对机体抵抗外界生物逆境起关键作用^[2-5]。防御素在调节消化系菌群的数量和位置,保护宿主免受致病菌入侵方面也发挥重要作用^[6]。炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类病因和发病机制尚不十分清楚的疾病,关于其发病机制方面的研究主要集中在遗传易感性、免疫异常和肠道微生态改变。随着对IBD发病机制研究的深入,发现IBD患者及其小鼠模型的肠道防御素表达异常,诱导障碍或功能缺陷^[6,7],从而引起肠道微生态菌群紊乱,因此肠道防御素表达紊乱在IBD发病机制中具有极其重要作用。本文主要就防御素在IBD患者和小鼠模型中的作用机制进行深入地分析。

■背景资料

防御素是抗菌肽的一种,是生物界广泛存在的一类富含半胱氨酸的小分子阳离子多肽,具有抗菌作用,广泛分布在皮肤、呼吸道、消化系、泌尿生殖道,是生物体内天然防御机制的重要组成部分,能够迅速动员免疫系统,对机体抵抗外界各种生物逆境起关键作用。

■同行评议者

黄晓东, 主任医师, 武汉市中心医院消化内科

■ 研发前沿

炎症性肠病(IBD)是一类病因和发病机制尚不清楚的疾病,关于其发病机制方面的研究主要集中在遗传易感性、免疫异常和肠道微生态改变。

表 1 人、小鼠肠道主要防御素

防御素	来源	相对分子质量(Da)	主要表达的部位	调节刺激物
HNP 1-4	人	3 500-4 500	多形核白细胞内的嗜天青颗粒、嗜中性粒细胞	未知
HD-5、HD-6	人	3 500-4 500	小肠潘氏细胞、小肠上皮细胞、化生的潘氏细胞	持续表达无活性的前体
HBD-1	人	3 500-4 500	结肠上皮细胞、胃	未知,持续表达
HBD 2-4	人	3 500-4 500	结肠上皮细胞、浆细胞、胃	细菌或炎症诱导
Cryp-4	小鼠	5 100	潘氏细胞	未知

1 人和小鼠肠道防御素的种类

防御素分子内包含6个保守的半胱氨酸形成的3个二硫键,根据半胱氨酸的位置和连接方式的差异分为 α -防御素、 β -防御素、 θ -防御素、植物防御素和无脊椎动物防御素^[4],人和小鼠体内主要是 α -防御素和 β -防御素。

α -防御素根据外显子的差异,包括髓源 α -防御素和肠源 α -防御素两种。人类的髓源 α -防御素主要由中性粒细胞产生(表1),有4种人中性粒细胞肽,分别是人中性粒细胞肽1-4(human neutrophil peptides, HNP 1-4);人类的肠源 α -防御素主要由潘氏细胞产生,有2种 α -防御素,分别是人防御素5(human defensin-5, HD-5)和HD-6。小鼠与人类不同,小鼠的中性粒细胞缺少 α -防御素,但其潘氏细胞产生19种 α -防御素,也称隐窝素(cryptdins, Cryp)和7种隐窝素相关肽(cryptdin-related peptides, CRS),其中Cryp 1-6的含量较多,Cryp 7-19远低于Cryp 1-6,CRS是Cryp的共价二聚体^[8],他们在肠腔内可能作为信号分子诱导获得性免疫反应。

人类 α -防御素抗菌谱较广,如HD-5对单核细胞增生利斯特菌、大肠杆菌、沙门菌和白色念珠菌有抑制作用^[9,10],但HD-6的体外抑菌活性很弱^[11]。Cryp对多种细菌有抑制作用,如大肠杆菌,金黄色葡萄球菌,肠炎沙门菌亚属等,体外抑菌实验发现Cryp 1-3, 5-6对大肠杆菌的抑制能力接近(约为10 mg/L),但Cryp-4的抑菌能力最强,是他们的30倍^[12]。因此,目前对小鼠Cryp的研究多集中在Cryp-4。人类和小鼠的肠道黏膜上皮还表达丰富的 β -防御素,如人 β -防御素1(human β -defensin-1, HBD-1)、HBD-2、HBD-3、HBD-4和小鼠的 β -防御素1(mouse β -defensin-1, mBD-1)、mBD-2、mBD-3。与 α -防御素比较, β -防御素的抗菌作用更具有特异性,如HBD-2体外对铜绿假单胞菌,大肠杆菌,白色念珠菌,金黄色葡萄球菌有抑制作用^[13,14],但HBD1抑菌活

性很弱^[15]。体外实验发现 α -防御素如Cryp-3、Cryp-4、HNP-1、HD-5可促进单核细胞分泌IL-1 β ,HBD和小鼠前Cryp对IL-1 β 的合成和释放无影响,可能 α -防御素通过调控IL-1 β 产生在维持肠道内环境稳态发挥重要作用^[16]。 α -防御素和 β -防御素均对pH和盐离子浓度敏感,因此肠腔环境影响其作用效果。

2 防御素的免疫调节功能

2.1 防御素具有趋化功能 防御素在宿主防御系统中除了能直接杀死病原菌外,还对免疫细胞有趋化作用。 α -防御素和 β -防御素均能趋化T淋巴细胞、单核细胞和树突状细胞(dendritic cells, DC),使他们能快速聚集于炎症反应部位,从而在细胞免疫反应中发挥作用^[4,17]。有报道,HNP-1可以通过G-蛋白偶联受体(G-protein-coupled receptor, GPCR)选择性的趋化单核细胞、幼稚T淋巴细胞和不成熟的DC(imature dendritic cells, iDC)^[18,19]。HBD-2可以通过CCR6(CC家族趋化因子受体)选择性的趋化记忆性T淋巴细胞和iDC^[17]。具有趋化能力的防御素浓度低于有杀菌作用的浓度^[20]。抗菌肽的趋化作用有利于炎症效应细胞及效应分子向感染部位的流动,使机体能更有效的杀灭病原微生物,为天然免疫应答和获得性免疫应答提供桥梁^[2],但是具体是如何发挥作用还不清楚。趋化性细胞因子超家族可以分为CXC和CC两个主要亚家族(C为半胱氨酸,X为任意氨基酸),防御素的趋化作用是否与其具有CC的结构特点还需进一步验证。

2.2 防御素调节并扩大获得性免疫反应 防御素除了发挥趋化作用以外,还可以通过微生物的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)直接作用于免疫细胞调节免疫反应,不同防御素的免疫调节功能有一定的差异。如mBD-2可与iDC的TLR4结合,上调共刺激分子的表达,促进DC成熟^[21]。AvBD13(Avian beta-

defensin 13)可通过TLR4-NF- κ B促进小鼠单核细胞活化^[22]. 防御素参与调节前炎症细胞因子的产生, 如Cryp-3诱导人肠道上皮细胞分泌IL-8, 并呈现剂量依赖性, 受NF- κ B和p38调节, 呈现钙依赖性^[23]. HNP-1, HD-5, Cryp-3和Cryp-4可抑制脂多糖激活的人单核细胞分泌IL-1^[16], 但LL-37(human cathelicidin-derived antimicrobial peptide)可通过P2X7受体调节人单核细胞分泌IL-1^[24]. 因此认为防御素除具有广谱的抗微生物活性, 在生物体内更为重要的意义是作为一种信号分子, 其作用相当于“警报”^[2], 能够迅速动员免疫系统, 并且激活固有免疫和获得性免疫反应抵抗生物逆境. 从另一方面来讲, 防御素也是获得性免疫反应中效应细胞的重要活性介质, 例如B淋巴细胞合成的防御素对入侵的病原微生物起直接杀菌作用. 机体天然免疫与获得性免疫是相辅相成的, 共同在抵御外来病原微生物的入侵发挥重要作用.

3 防御素的生物合成

防御素的前体为前防御素, 从氮端到碳端分别是信号肽、前片段和成熟肽. 前防御素的前片段对于防御素在正常细胞间运输很重要, 还可以在防御素合成和发挥功能过程中抑制防御素对宿主细胞的毒性^[25-27].

3.1 α -防御素 不同动物及不同部位来源的 α -防御素, 其合成和分泌 α -防御素过程均不同, 具有一定的种属特异性. 骨髓来源的 α -防御素(如HNPs)的mRNA仅存在骨髓细胞中, 其中早幼粒细胞(前髓细胞)含量较高, HNPs蛋白在骨髓细胞水解为成熟肽, 虽然中性粒细胞含有较多的 α -防御素蛋白, 但在中性粒细胞无HNPs的mRNA, 中性粒细胞在分化过程中其 α -防御素的mRNA被降解^[28].

肠源的 α -防御素(如HD-5、HD-6)的转录在潘氏细胞内进行, 其蛋白储存在潘氏细胞的囊泡内^[29,30], 除消化系统外, 其基因在生殖系统、口咽黏膜也有分布. 小鼠具有19种肠源的 α -防御素异型体, 但与Cryp 1-6 mRNAs比较, Cryp7-19 mRNAs的含量非常低. Cryp mRNA在小肠各段均有表达, 在结肠中则没有表达^[31]. 据报道, HD-5储存量可达90-450 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 肠道黏膜表面积, 足够杀灭肠腔的微生物^[10]. 潘氏细胞的囊泡内无活性的前防御素加工为成熟防御素的机制, 在小鼠和人之间存在很大的不同. 鼠Cryp前体存在潘氏细胞的囊泡内, 通过表达的基质金

属酶基质溶解因子(matrix metalloproteinase-7, MMP-7)将前Cryp加工为成熟的有活性Cryp, 无菌小鼠和不孕小鼠肠道Cryp的浓度是一致的, 说明这个过程不需要细菌刺激^[32,33]. MMP-7敲出的小鼠不能产生成熟有活性Cryp, 并且不易清除治病性大肠杆菌, 易感染沙门氏菌^[34]. 与鼠的不同, 人类的潘氏细胞内贮存的无活性防御素前HD-5需经胰蛋白酶处理, 胰蛋白酶以无活性的胰蛋白酶原形式储存在潘氏细胞, 释放进入肠腔后方可激活, 前HD-5释放入肠腔, 在肠腔经胰蛋白酶剪切前防御素为成熟防御素^[10]. Wnt信号转导通路在调节潘氏细胞的分化、成熟及稳定肠道干细胞过程中发挥重要作用, T淋巴细胞因子/淋巴细胞强化因子(T-cell factor/lymphocyte potentiating factor, Tcf/Lef)在Wnt下游信号转导中发挥作用, 参与潘氏细胞分化和 α -防御素的表达, 自噬相关16样1(autophagy-related 16-like 1, ATG16L1)参与小鼠潘氏细胞脱颗粒. 回肠性CD患者Tcf-4(Tcf7-L2)mRNA减少, 但结肠性CD和UC患者的Tcf-4 mRNA均不减少, Tcf-4基因敲出小鼠肠道 α -防御素表达减少, 易感染细菌^[35,36], 这些都证明了潘氏细胞 α -防御素的异常是IBD发病环节中重要的一个环节. 人类回肠末端和结肠化生的潘氏细胞表面有丰富的NOD基因, NOD主要参与潘氏细胞 α -防御素的表达, 而Tcf-4的Wnt传导通路和潘氏细胞防御素的关联变化与NOD的基因型变异无关^[37].

3.2 β -防御素 目前还没有提取出前 β -防御素, 转染 β -防御素cDNA的昆虫细胞可直接表达有活性的成熟 β -防御素, 表明 β -防御素以成熟肽储存^[38]. 与潘氏细胞内的 α -防御素表现形式不同, 黏膜上皮细胞内的 β -防御素没有可见的小囊泡. HBD-1及其mRNA持续的表达在小肠和结肠黏膜上皮细胞内, 不受炎症和细菌感染影响, 发挥着基础防御的功能. 正常结肠黏膜上皮细胞缺少HBD-2和HBD-3, 但炎症时可诱导表达, 如UC的结肠, 幽门螺杆菌胃炎. 封闭NF- κ B后抑制了HBD-2的诱导表达反应, 说明诱导HBD-2依赖NF- κ B途径^[39]. 这些都说明不同的 β -防御素功能有差异, 关于 β -防御素的储存和释放过程目前还不清楚.

4 IBD时防御素的变化

4.1 潘氏细胞化生 潘氏细胞主要分布在小肠肠腺, 从十二指肠、空肠到回肠呈递增分布, 大肠肠腺少见潘氏细胞, 但潘氏细胞分泌的防御素

■ 相关报道

多篇文献报道IBD患者及IBD小鼠模型的肠道防御素表达异常, 诱导障碍或功能缺陷, 从而引起肠道微生物菌群紊乱, 推测防御素表达紊乱在IBD发病机制中具有极其重要的作用.

应用要点

目前防御素的研究尚处初始阶段, 随着对防御素的进一步了解及纯化大量有效敏感的防御素, 将为IBD的治疗带来新的思路。

表 2 小鼠防御素在UC、回肠性CD及结肠性CD患者中的表达情况

防御素	UC	回肠性CD	结肠性CD
HNP 1-4	上调(感染性)	未知	未知
HD-5、HD-6	上调, 潘氏细胞化生	下调, NOD2变异患者更明显	上调, 潘氏细胞化生
HBD-1	下调	下调	下调
HBD 2-3	上调(感染性)	无明显变化	无明显变化
HBD-4	上调	无明显变化	无明显变化
mBD-2	上调	未知	未知
Cryp-4	未知	未知	下调

可随小肠内容物进入结肠, 参与结肠的防御功能^[40]。正常时, 成年小鼠空回肠大约有75%的隐窝有潘氏细胞, 十二指肠大约有50%的隐窝有潘氏细胞, 结肠隐窝基本没有潘氏细胞^[41]。但在IBD的再生阶段, 潘氏细胞出现异位分布, 即潘氏细胞化生, 结肠的潘氏细胞数量增加, 化生的潘氏细胞也表达HD-5, 推测肠黏膜的完整性破坏后, 潘氏细胞分泌防御素来抵抗有害因子入侵。近端结肠化生的潘氏细胞比远端的多, 已证明具有修复和愈合功能^[42]。潘氏细胞化生的数量与结肠炎的持续时间和程度有一定的相关性, 但溃疡周围或隐窝脓肿未见潘氏细胞存在^[43]。潘氏细胞化生可能是肠腔内环境变化的一种反应, 具有加强黏膜天然免疫的功能, 推测潘氏细胞化生可能不是结肠炎症或再生的原因, 而仅是一种表现形式^[44]。

4.2 NOD2变异 NOD2分布在潘氏细胞的细胞质内, 紧邻含有防御素的小囊泡, 推测NOD2参与防御素的分泌^[45]。虽然NOD2可能是调节潘氏细胞脱颗粒的受体之一, 但还没有实验证明NOD2变异的患者潘氏细胞脱颗粒受到影响。NOD2基因变异与回肠CD相关, 但还未发现与结肠CD相关的基因。NOD2变异可影响IBD患者防御素的抗菌活性^[46], 转染NOD2质粒的CaCo-2细胞不易感染沙门氏菌病^[47]。CD患者回肠HD-5和HD-6的mRNA及蛋白表达减少^[48], NOD2变异的患者减少的更明显^[7]。然而, 关于NOD2调节潘氏细胞基因表达的直接证据还未见报道。

4.3 β -防御素的变化 人类肠道的几种 β -防御素, 目前仅发现HBD1表达在正常的结肠黏膜上皮细胞内^[49], 不受炎症和细菌感染影响, 起基础防御的作用。IBD患者结肠HBD1 mRNA减少^[50,51], 这种降低可能减弱了结肠黏膜屏障的抗菌能力, 从而导致细菌入侵机体继发炎症应答, 促进了IBD的发生。UC炎症极大诱导了HBD-2、HBD-3、HBD-4表达, 而CD患者HBD-2、

HBD-3、HBD-4均不提高^[39,51-53], 这些表现的原因还不清楚, 有报道称防御素缺陷可能导致CD结肠炎的发生^[54]。因此推测肠道 α -防御素和 β -防御素的减少不仅削弱天然免疫, 更重要的是防御素缺陷改变了获得性免疫的启动或调节。

4.4 防御素在IBD小鼠模型的研究进展 TNBS诱导的小鼠结肠炎, 回肠的Cryp-4 mRNA在炎症初期表达量上调, 随炎症的加剧其表达量下调^[55]。Oxazolone诱导的小鼠结肠炎结肠黏膜中mBD-2表达量增高^[56]。关于IBD小鼠模型的肠道, 是否有化生的潘氏细胞, 还未见报道。NOD2基因敲出小鼠肠道无明显病理变化, 但更易被DSS诱导结肠炎, NOD2基因敲出使小鼠肠道Cryp表达减少, 更易感染消化系细菌, 推测NOD2与 α -防御素表达量少有关, 进一步减弱肠黏膜屏障功能, 这些结果表明NOD2在上皮细胞抗菌方面发挥重要作用^[57]。无菌小鼠表达正常量的潘氏细胞防御素^[32], 说明NOD2调节潘氏细胞 α -防御素的表达不需要细菌诱导。小鼠表达CD相关的NOD2变异体, 能合成和分泌更多的IL-1 β , 使用IL-1受体拮抗物可以减轻DSS诱导的结肠炎而引起的体质量减少和肠道炎症^[58]。但NOD2调节IL-1 β 合成和分泌的机制还不清楚(表2)。

5 结论

防御素主要通过两条机制调节肠道免疫内稳态, 分别是天然抗菌因子和调节免疫细胞功能。防御素功能缺陷使肠道易受微生物感染并加剧炎症反应。在IBD发生过程中, 防御素扮演着促进炎症发生, 还是抑制炎症的角色, 回肠CD患者肠道防御素减少, 能否采用抗原刺激促进防御素的分泌等, 这些问题有待进一步探索, 未来关于防御素的基础研究将对防治IBD有重要意义。

6 参考文献

- Selsted ME, Brown DM, DeLange RJ, Lehrer RI. Primary structures of MCP-1 and MCP-2, natural

- peptide antibiotics of rabbit lung macrophages. *J Biol Chem* 1983; 258: 14485-14489
- 2 Oppenheim JJ, Yang D. Alarmins: chemotactic activators of immune responses. *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 359-365
 - 3 Boman HG. Peptide antibiotics and their role in innate immunity. *Annu Rev Immunol* 1995; 13: 61-92
 - 4 Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 710-720
 - 5 Yurong Y, Yibao J, Ruiping S, Qingqiang Y, Kaisong P, Huihui B, Decheng W, Tianlong L, Xuemei Z. Effects of chicken intestinal antimicrobial peptides on humoral immunity of chickens and antibody titres after vaccination with infectious bursal disease virus vaccine in chicken. *Arch Anim Nutr* 2006; 60: 427-435
 - 6 Salzman NH, Underwood MA, Bevins CL. Paneth cells, defensins, and the commensal microbiota: a hypothesis on intimate interplay at the intestinal mucosa. *Semin Immunol* 2007; 19: 70-83
 - 7 Wehkamp J, Salzman NH, Porter E, Nuding S, Weichenthal M, Petras RE, Shen B, Schaeffeler E, Schwab M, Linzmeier R, Feathers RW, Chu H, Lima H Jr, Fellermann K, Ganz T, Stange EF, Bevins CL. Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 18129-18134
 - 8 Hornef MW, Pütsep K, Karlsson J, Refai E, Andersson M. Increased diversity of intestinal antimicrobial peptides by covalent dimer formation. *Nat Immunol* 2004; 5: 836-843
 - 9 Porter EM, van Dam E, Valore EV, Ganz T. Broad-spectrum antimicrobial activity of human intestinal defensin 5. *Infect Immun* 1997; 65: 2396-2401
 - 10 Ghosh D, Porter E, Shen B, Lee SK, Wilk D, Drazba J, Yadav SP, Crabb JW, Ganz T, Bevins CL. Paneth cell trypsin is the processing enzyme for human defensin-5. *Nat Immunol* 2002; 3: 583-590
 - 11 Ericksen B, Wu Z, Lu W, Lehrer RI. Antibacterial activity and specificity of the six human {alpha}-defensins. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 269-275
 - 12 Ouellette AJ, Hsieh MM, Nosek MT, Cano-Gauci DF, Huttner KM, Buick RN, Selsted ME. Mouse Paneth cell defensins: primary structures and antibacterial activities of numerous cryptdin isoforms. *Infect Immun* 1994; 62: 5040-5047
 - 13 Europe ambivalent on biotechnology. Biotechnology and the European Public Concerted Action group. *Nature* 1997; 387: 845-847
 - 14 Harder J, Meyer-Hoffert U, Teran LM, Schwichtenberg L, Bartels J, Maune S, Schröder JM. Mucoid *Pseudomonas aeruginosa*, TNF-alpha, and IL-1beta, but not IL-6, induce human beta-defensin-2 in respiratory epithelia. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 22: 714-721
 - 15 Valore EV, Park CH, Quayle AJ, Wiles KR, McCray PB Jr, Ganz T. Human beta-defensin-1: an antimicrobial peptide of urogenital tissues. *J Clin Invest* 1998; 101: 1633-1642
 - 16 Shi J, Aono S, Lu W, Ouellette AJ, Hu X, Ji Y, Wang L, Lenz S, van Ginkel FW, Liles M, Dykstra C, Morrison EE, Elson CO. A novel role for defensins in intestinal homeostasis: regulation of IL-1beta secretion. *J Immunol* 2007; 179: 1245-1253
 - 17 Yang D, Chertov O, Bykovskaia SN, Chen Q, Buffo MJ, Shogan J, Anderson M, Schröder JM, Wang JM, Howard OM, Oppenheim JJ. Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science* 1999; 286: 525-528
 - 18 Territo MC, Ganz T, Selsted ME, Lehrer R. Monocyte-chemotactic activity of defensins from human neutrophils. *J Clin Invest* 1989; 84: 2017-2020
 - 19 Yang D, Chen Q, Chertov O, Oppenheim JJ. Human neutrophil defensins selectively chemoattract naive T and immature dendritic cells. *J Leukoc Biol* 2000; 68: 9-14
 - 20 Yang D, Chertov O, Oppenheim JJ. The role of mammalian antimicrobial peptides and proteins in awakening of innate host defenses and adaptive immunity. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58: 978-989
 - 21 Biragyn A, Ruffini PA, Leifer CA, Klyushnenkova E, Shakhov A, Chertov O, Shirakawa AK, Farber JM, Segal DM, Oppenheim JJ, Kwak LW. Toll-like receptor 4-dependent activation of dendritic cells by beta-defensin 2. *Science* 2002; 298: 1025-1029
 - 22 Yang Y, Jiang Y, Yin Q, Liang H, She R. Chicken intestine defensins activated murine peripheral blood mononuclear cells through the TLR4-NF-kappaB pathway. *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 133: 59-65
 - 23 Lin PW, Simon PO Jr, Gewirtz AT, Neish AS, Ouellette AJ, Madara JL, Lencer WI. Paneth cell cryptidins act in vitro as apical paracrine regulators of the innate inflammatory response. *J Biol Chem* 2004; 279: 19902-19907
 - 24 Elssner A, Duncan M, Gavrilin M, Wewers MD. A novel P2X7 receptor activator, the human cathelicidin-derived peptide LL37, induces IL-1 beta processing and release. *J Immunol* 2004; 172: 4987-4994
 - 25 Liu L, Ganz T. The pro region of human neutrophil defensin contains a motif that is essential for normal subcellular sorting. *Blood* 1995; 85: 1095-1103
 - 26 Valore EV, Martin E, Harwig SS, Ganz T. Intramolecular inhibition of human defensin HNP-1 by its propeptide. *J Clin Invest* 1996; 97: 1624-1629
 - 27 Figueredo SM, Ouellette AJ. Inhibition of bactericidal activity is maintained in a mouse alpha-defensin precursor with proregion truncations. *Peptides* 2010; 31: 9-15
 - 28 Ouellette AJ. Paneth cell alpha-defensin synthesis and function. *Curr Top Microbiol Immunol* 2006; 306: 1-25
 - 29 Selsted ME, Miller SI, Henschen AH, Ouellette AJ. Enteric defensins: antibiotic peptide components of intestinal host defense. *J Cell Biol* 1992; 118: 929-936
 - 30 Porter EM, Liu L, Oren A, Anton PA, Ganz T. Localization of human intestinal defensin 5 in Paneth cell granules. *Infect Immun* 1997; 65: 2389-2395
 - 31 俞瑜, 周联, 王培训. 小鼠隐窝素基因在肠粘膜表达的位置特异性. *上海免疫学杂志* 2003; 23: 130-135
 - 32 Ayabe T, Satchell DP, Pesendorfer P, Tanabe H, Wilson CL, Hagen SJ, Ouellette AJ. Activation of Paneth cell alpha-defensins in mouse small intestine. *J Biol Chem* 2002; 277: 5219-5228
 - 33 Ayabe T, Satchell DP, Wilson CL, Parks WC, Selsted ME, Ouellette AJ. Secretion of microbicidal alpha-defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria. *Nat Immunol* 2000; 1: 113-118
 - 34 Wilson CL, Ouellette AJ, Satchell DP, Ayabe T, López-Boado YS, Stratman JL, Hultgren SJ, Matrisian LM, Parks WC. Regulation of intestinal alpha-defensin activation by the metalloproteinase matrilysin in innate host defense. *Science* 1999; 286:

■同行评价

本文新颖性好, 可读性强, 其研究内容具有重要的临床意义。

- 113-117
- 35 Wehkamp J, Wang G, Kübler I, Nuding S, Gregoriuff A, Schnabel A, Kays RJ, Fellermann K, Burk O, Schwab M, Clevers H, Bevins CL, Stange EF. The Paneth cell alpha-defensin deficiency of ileal Crohn's disease is linked to Wnt/Tcf-4. *J Immunol* 2007; 179: 3109-3118
- 36 Koslowski MJ, Beisner J, Stange EF, Wehkamp J. Innate antimicrobial host defense in small intestinal Crohn's disease. *Int J Med Microbiol* 2010; 300: 34-40
- 37 Shi J. Defensins and Paneth cells in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1284-1292
- 38 Aono S, Li C, Zhang G, Kempainen RJ, Gard J, Lu W, Hu X, Schwartz DD, Morrison EE, Dykstra C, Shi J. Molecular and functional characterization of bovine beta-defensin-1. *Vet Immunol Immunopathol* 2006; 113: 181-190
- 39 O'Neil DA, Porter EM, Elewaut D, Anderson GM, Eckmann L, Ganz T, Kagnoff MF. Expression and regulation of the human beta-defensins hBD-1 and hBD-2 in intestinal epithelium. *J Immunol* 1999; 163: 6718-6724
- 40 Mastroianni JR, Ouellette AJ. Alpha-defensins in enteric innate immunity: functional Paneth cell alpha-defensins in mouse colonic lumen. *J Biol Chem* 2009; 284: 27848-27856
- 41 Lewin K. The Paneth cell in health and disease. *Ann R Coll Surg Engl* 1969; 44: 23-37
- 42 Cunliffe RN, Rose FR, Keyte J, Abberley L, Chan WC, Mahida YR. Human defensin 5 is stored in precursor form in normal Paneth cells and is expressed by some villous epithelial cells and by metaplastic Paneth cells in the colon in inflammatory bowel disease. *Gut* 2001; 48: 176-185
- 43 Sommers SC. Mast cells and paneth cells in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1966; 51: 841-850
- 44 Ramasundara M, Leach ST, Lemberg DA, Day AS. Defensins and inflammation: the role of defensins in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 202-208
- 45 Ogura Y, Lala S, Xin W, Smith E, Dowds TA, Chen FF, Zimmermann E, Tretiakova M, Cho JH, Hart J, Greenson JK, Keshav S, Nuñez G. Expression of NOD2 in Paneth cells: a possible link to Crohn's ileitis. *Gut* 2003; 52: 1591-1597
- 46 Jobin C. Intestinal epithelial cells and innate immunity in the intestine: is CARD15/Nod2 another player? *Gastroenterology* 2003; 124: 1145-1149
- 47 Hisamatsu T, Suzuki M, Reinecker HC, Nadeau WJ, McCormick BA, Podolsky DK. CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2003; 124: 993-1000
- 48 Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, Schwab M, Schäffeler E, Schlee M, Herrlinger KR, Stallmach A, Noack F, Fritz P, Schröder JM, Bevins CL, Fellermann K, Stange EF. NOD2 (CARD15) mutations in Crohn's disease are associated with diminished mucosal alpha-defensin expression. *Gut* 2004; 53: 1658-1664
- 49 Zhao C, Wang I, Lehrer RI. Widespread expression of beta-defensin hBD-1 in human secretory glands and epithelial cells. *FEBS Lett* 1996; 396: 319-322
- 50 Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, Mueller O, Herrlinger KR, Fellermann K, Schroeder JM, Stange EF. Inducible and constitutive beta-defensins are differentially expressed in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2003; 9: 215-223
- 51 Fahlgren A, Hammarström S, Danielsson A, Hammarström ML. Increased expression of antimicrobial peptides and lysozyme in colonic epithelial cells of patients with ulcerative colitis. *Clin Exp Immunol* 2003; 131: 90-101
- 52 Wehkamp J, Fellermann K, Herrlinger KR, Baxmann S, Schmidt K, Schwind B, Duchrow M, Wohlschläger C, Feller AC, Stange EF. Human beta-defensin 2 but not beta-defensin 1 is expressed preferentially in colonic mucosa of inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 745-752
- 53 Fahlgren A, Hammarstrom S, Danielsson A, Hammarstrom ML. beta-Defensin-3 and -4 in intestinal epithelial cells display increased mRNA expression in ulcerative colitis. *Clin Exp Immunol* 2004; 137: 379-385
- 54 Fellermann K, Wehkamp J, Herrlinger KR, Stange EF. Crohn's disease: a defensin deficiency syndrome? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 627-634
- 55 宋斯伟. 鼠防御素cryptdin 4在小鼠内脏分布及其肠炎模型中表达规律. 吉林大学 2007: 1-71
- 56 常玉英, 欧阳钦, 强鸥. 益生菌VSL#3对Oxazolone/小鼠结肠炎结肠黏膜中β防御素-2表达的影响. 西部医学 2007; 19: 1015-1018
- 57 Kobayashi KS, Chamailard M, Ogura Y, Henegariu O, Inohara N, Nuñez G, Flavell RA. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science* 2005; 307: 731-734
- 58 Maeda S, Hsu LC, Liu H, Bankston LA, Iimura M, Kagnoff MF, Eckmann L, Karin M. Nod2 mutation in Crohn's disease potentiates NF-kappaB activity and IL-1beta processing. *Science* 2005; 307: 734-738

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

TLR/IL-1信号通路的负性调控因子在炎症性肠病中的作用

谢勇, 陈彦霞

谢勇, 陈彦霞, 南昌大学第一附属医院消化科 江西省消化系病研究重点实验室 江西省南昌市 330006
国家自然科学基金资助项目, No. 30860109
作者贡献分布: 此课题由谢勇设计; 论文写作由谢勇与陈彦霞完成.
通讯作者: 谢勇, 教授, 330006, 江西省南昌市, 南昌大学第一附属医院消化科, 江西省消化系病研究重点实验室.
xieyong_med@163.com
收稿日期: 2010-03-11 修回日期: 2010-08-25
接受日期: 2010-10-17 在线出版日期: 2010-10-18

Role of negative regulators of TLR/IL-1 signaling in the pathogenesis of inflammatory bowel disease

Yong Xie, Yan-Xia Chen

Yong Xie, Yan-Xia Chen, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University; Jiangxi Provincial Key Laboratory for Digestive Disease, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30860109
Correspondence to: Professor Yong Xie, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University; Jiangxi Provincial Key Laboratory for Digestive Diseases, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. xieyong_med@163.com
Received: 2010-03-11 Revised: 2010-08-25
Accepted: 2010-10-17 Published online: 2010-10-18

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is an autoimmune-like disorder characterized by chronic, idiopathic inflammation of the intestinal mucosa. Ulcerative colitis and Crohn's disease are known as the two forms of IBD. Although the etiology of IBD is still unclear, many experimental and clinical observations suggest the involvement of environmental, hereditary and immunological factors in the pathogenesis of IBD. Recent studies have showed that IBD is associated with immunologic dysfunction. Toll-like receptors (TLR) are pathogen pattern recognition receptors expressed by immune and nonimmune cells in the intestinal mucosa that play a central role in the initiation of innate immune responses and subsequent adaptive immune responses to microbial pathogens. In recent years there has been rapid progress in our understanding of the role of positive regulation of TLR signaling in the

pathogenesis of IBD. However, the role of negative regulators of TLR signaling in this process remains unclear and will therefore be summarized in this paper.

Key Words: Toll-like receptor; Negative regulation; Inflammatory bowel disease

Xie Y, Chen YX. Role of negative regulators of TLR/IL-1 signaling in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3107-3113

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种病因未明的肠道非特异性慢性炎症,包括溃疡性结肠炎和克罗恩病.其病因及发病机制仍未完全明确,目前认为是环境、遗传、免疫等因素共同作用所致,其中免疫功能紊乱被认为是重要因素之一. Toll样受体(TLR)是一种重要的病原模式识别受体,在启动固有免疫中发挥重要作用,并是连接固有免疫及获得性免疫的桥梁,被认为是炎症反应的闸门.近年来TLR信号在IBD肠道炎症中的正性作用已被广泛研究,但是TLR信号转导的负性调节因子在IBD发病中作用的研究少有报道.本文就TLR家族及其配体、传导通路及负性调节因子在IBD中的作用作一综述.

关键词: Toll样受体; 负性调节; 炎症性肠病

谢勇, 陈彦霞. TLR/IL-1信号通路的负性调控因子在炎症性肠病中的作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18(29): 3107-3113
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3107.asp>

0 引言

近年来Toll样受体(Toll like receptor, TLR)信号在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)肠道炎症中的正性作用已被广泛研究,但是TLR信号转导的负性调节因子在IBD发病中作用的研究少有报道.本文就TLR家族及其配体、传导通路及负性调节因子在IBD中的作用作一综述.

1 Toll样受体

TLR是首先在果蝇中发现的一种古老的病原模

■背景资料

炎症性肠病(IBD)的病因和发病机制目前尚不清楚,已确认TLR/IL-1信号通路过度激活导致异常的免疫炎症反应在其中起重要作用,然而TLR/IL-1信号通路过度激活的具体机制目前不明.正常情况下,免疫细胞内存在多层次的不同靶点的TLR负性分子,可以对TLR所介导的信号通路的开启和传导进行精确的负向调控,适时终止TLR信号,避免过强的免疫反应.

■同行评议者

张筱茵, 副教授, 中国人民解放军第四军医大学西京医院消化疾病研究所

■ 研发前沿

TLR/IL-1信号过度激活在IBD的发病中起重要作用,而抑制途径的受损在其中扮演着重要角色.近年来TLR/IL-1信号通路的负性调节越来越受到重视,但是对于其负性调节的许多机制仍不清楚.明确TLR/IL-1信号通路的负性调节机制将为IBD的治疗提供更多的特异性治疗靶点,为阐明IBD的发病机制及临床治疗带来希望.

式识别受体(pathogen pattern recognition receptors, PRR),目前已经发现13种,是一种I型跨膜蛋白,细胞外为富含亮氨酸重复序列的结构域,主要行使识别配体的功能,胞内区为Toll/IL-1R(TIR)结构域,行使细胞内信号转导的功能.

1.1 TLR的配体及分布 TLR的分布及所识别的配体分布广泛,其中TLR1表达较为广泛,且表达比其他受体的水平高;TLR2主要分布于肺、心、脑、肌肉中,其配体分布广泛,包括脂蛋白、脂多肽、脂壁酸、酵母多糖、阿糖甘聚糖脂等;TLR3在胎盘和胰腺高表达,主要识别病毒分子中的dsRNA;TLR4主要存在于心肌细胞、外周血白细胞及脾脏中,在内皮细胞中TLR4呈高表达,其配体主要是脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)中的类脂A,抗肿瘤药物泰素、内源性配体热休克蛋白60等;TLR5存在于外周血白细胞及卵巢中,主要识别细菌鞭毛蛋白;TLR6主要位于5号染色体上,主要分布于脾、胸腺、卵巢及肺中,可与TLR2协同作用识别肽聚糖(peptidoglycan, PGN)分子和酵母多糖;TLR7和TLR8识别病毒分子中ssRNAs;TLR9可识别细菌和病毒DNA中的CpG基序或人工合成的CpG寡核苷酸(CpG oligodeoxy-nucleotides, CpG ODN);TLR11为TLR家族新成员,主要表达于泌尿系统.

1.2 TLR介导的信号转导 TLR识别病原相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)后,启动一系列胞内级联信号活化,诱导目的基因活化表达,但每个TLR又因选择性结合相对特异的接头蛋白而具有各自的信号转导特性.根据接头分子的不同,TLR信号转导主要分为两条途径,即骨髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)依赖和MyD88非依赖途径,其中TLR1、2、4、5、6、7、8、9为MyD88依赖信号通路,而TLR3为MyD88非依赖信号通路,TLR4则是目前已知唯一的能够激活MyD88依赖和非依赖两条信号通路的受体.MyD88依赖性途径主要是MyD88通过其TIR结构域与TLR受体的TIR结构域结合,通过其死亡结构域(death domain, DD)募集白细胞介素1受体相关激酶I(IL-1 receptor-associated kinase, IRAK)结合成为信号转导复合物.该复合物继续募集并活化下游的肿瘤坏死因子受体相关因子6(tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6),活化的TRAF6能够引起两条不同途径的信号转导:一条是包括p38、c-Jun氨基端激酶

(c-jun N-terminal kinase, JNK)、细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)的促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路;另一条是Rel家族的NF- κ B信号通路,最终引起一系列的免疫和炎症反应^[1,2]. MyD88样接头蛋白分子(MyD88-adaptor-like, MAL),也称为包含连接蛋白的Toll-白介素1受体域(TIR domain-containing adaptor protein, TIRAP),C端含TIR功能区,与MyD88不同,其N端较短且无死亡结构域.MAL曾一度被认为是MyD88非依赖性信号通路的接头蛋白,直至Yamamoto等^[3]研究证实MAL在MyD88依赖性信号通路中起重要作用,而并非MyD88非依赖途径的接头分子.新近研究表明MAL与TRAF6相互作用可介导NF- κ B亚单位p65的丝氨酸磷酸化,从而引起转录激活而非NF- κ B的核转位^[4]. MyD88非依赖性途径主要为TIR领域包含适配器导致干扰素 β (TIR domain-containing adaptor-inducing IFN- β , TRIF)依赖性途径,通过TANK结合激酶1(TANK-binding kinase-1, TBK)、干扰素调节因子(interferon regulatory factor, IRF)等引起NF- κ B及MAPK信号通路的激活^[1].不同的病原微生物可通过不同的接头分子引起多条信号通路的激活,从而保证了天然免疫对病原体的快速应答.

2 TLR/IL-1信号通路的负调控

TLR信号通路的激活可诱导很强的免疫应答,有利于机体抗病原微生物感染或组织损伤,但是过强的免疫反应也会带来不利影响,如产生内毒素休克、自身免疫性疾病等.因此,TLR/IL-1信号通路的活化必须受到严密的控制.正常情况下,免疫细胞内存在多层次的不同靶点的TLR负性分子,可以对TLR所介导的信号通路的开启和传导进行精确的负向调控,适时终止TLR信号,避免过强的免疫反应.其调控机制根据作用部位大致可分为:膜受体调控,细胞质内信号转导调控,以及核内转录调节.膜受体的负性调控主要是通过诱骗受体(如SIGIRR、ST2L和RP105),可溶受体(如sTLR2、sTLR4、sCD14和sST2),细胞因子和配体调控(如TLR配体和Th2细胞因子)来实现.胞质和胞核的调控是通过不同的抑制因子影响多个步骤完成的.他们包括单个免疫球蛋白IL-1相关受体(single immunoglobulin IL-1-related receptor, GIRR)、亮氨酸重复序列(leucine-rich repeats, LRR)、核苷酸

结合和寡聚化结构域2(nucleotide-binding oligomerization domain, NOD2)、IL-1受体相关激酶(IL-1 receptor-associated kinase, IRAK)、细胞因子信号抑制物(suppressor of cytokine signaling, SOCS)、TGF- β -活化的激酶1(TGF- β -activated kinase 1, TAK1)、TIRAP、TRAF6、包含诱导IFN- β 接合体的Toll/IL-1受体域(Toll/IL-1 receptor domain-containing adaptor inducing IFN- β , TRIF)等^[5,6]。

3 TLR/IL-1信号通路负性调节因子与IBD

肠上皮内TLR/IL-1信号通路在防御肠道病原体的入侵和维持肠上皮免疫系统稳态及其与肠腔共生菌的平衡中起重要作用^[7]。肠道上皮与腔内大量的共生菌和高浓度的细菌LPS持续接触, 正常人对共生菌群和其LPS耐受。这种耐受形成的机制尚不清楚, 目前认为与TLR/IL-1信号通路的调控有关^[5]。然而, TLR/IL-1信号通路过度活化或者活化异常将打破这一平衡, 对肠道正常菌群失去耐受, 从而触发肠道炎症并使其持续存在, 导致IBD的发生。由此可见, TLR/IL-1信号通路过度激活是IBD发病的重要机制^[8,9]。因此, TLR/IL-1信号通路的活化必须受到严密的控制, 近年来, 关于TLR/IL-1信号通路的负向调节越来越受到人们的关注, 他们的异常与IBD的发病密切相关。

3.1 NOD2与IBD NOD2也称为CARD15(caspase recruitment domain-containing protein 15), 是一种胞质蛋白, NOD2基因位于16q12, 由C端的LRR区域、N端的2个CARD区及中间的1个核苷酸结合区(nucleotide binding domain, NBD)组成。NOD2可负性调节TLR信号通路。NOD2经其配体胞壁酰二肽(muramyl dipeptide, MDP)刺激后, 通过干扰NF- κ B亚基c-Rel的生成来抑制NF- κ B的活化, 从而下调TLR2诱导的TH1免疫反应^[10]。相反, 当NOD2缺失情况下, 肽聚糖或脂多糖导致NF- κ B活化失控, 继而导致细胞因子产生失衡, 最终导致克罗恩病(Crohn's disease, CD)^[11,12]。近年的研究表明, NOD2基因多态性影响CD的易感性。Watanabe等^[12]通过对CARD15-/-小鼠研究发现, NOD2信号能够抑制TLR2介导的NF- κ B的活化, 尤其是NF- κ B的Rel-c亚基的活化。而且, NOD2缺陷或类CD的CARD15突变可增加了TLR2介导的NF- κ B-c-Rel的活化及TH1免疫反应。Strober等^[13]在研究NOD2突变与CD易感的机制时发现NOD2被其配体MDP激活后下调对TLR刺激

的反应, 而当NOD2缺乏时就会增强对TLR刺激的反应, 在NOD2转基因小鼠由于NOD2功能增强, 呈现出对TLR刺激的低反应和对实验性结肠炎的耐受性。他们的研究还发现用NOD2配体预刺激细胞可通过促进TLR信号抑制因子IRF4的产生, 导致细胞对TLR刺激无反应, NOD2配体MDP可刺激正常小鼠产生IRF4并预防实验性结肠炎。因此, NOD2基因多态性与CD的易感性是由于NOD2的突变降低了正常肠道对TLR反应的负性调节作用, 从而导致了正常菌群的不耐受, 引起过度的免疫炎症反应。R702W、G908R和1007fsinsC为NOD2的3个常见的突变体, 占NOD2全部突变的83%。其中两个为单核苷酸改变, 即R702W/G908R氨基酸互换, 另一个在3020核苷酸的11外显子处插入1个胞嘧啶(3020insC), 使1007密码子第2个核苷酸移码突变, 第10个LRR区发生Leu1007Pro氨基酸替换, 终止密码子提前, 使其蛋白质丢失最后33个氨基酸, 导致NF- κ B活性降低, 宿主对肠道细菌产物的固有免疫反应减弱, 获得性免疫反应过度激活, 导致CD发生。当机体携带1个NOD2基因突变型时, CD发病的危险性增加2倍, 当同时携带2个NOD2基因突变型时, CD发病的危险性将增加20-40倍。虽然上述现象在西方国家人群中得到验证^[14-16], 但在我国人群中未能发现^[17-19]。智发朝等^[20]研究发现NOD2基因的P268S单核苷酸多态性可能与中国人CD相关, 并且与CD的临床特征有一定关联性, 含有P268S的患者共同特征为发病年龄<20岁、病情较重、病变部位在回肠, 且均因并发肠腔狭窄导致肠梗阻而需手术治疗, 提示NOD2基因突变可能决定CD的临床特征。

3.2 IRAK-M与IBD IRAK家族是TLR信号通路中重要的信号分子。目前, 已发现4个IRAK家族成员, 其中IRAK-1和IRAK-4有激酶活性, IRAK-2和IRAK-M无激酶活性, 新近研究发现IRAK-M参与负性调控TLR信号通路。与其他IRAK家族成员一样, IRAK-M含有1个氨基端的死亡结构域、1个中心的激酶样区域和1个羧基端独特的氨基酸伸展区域。与其他成员不同的是, IRAK-M仅在单核/巨噬细胞表达。IRAK-M主要是通过抑制磷酸化的IRAK-1或IRAK-4与MyD88解离, 阻碍IRAK1-TRAF6复合物的形成, 抑制下游区NF- κ B的活化, 从而对TLRs信号起负性调节作用^[21]。Deng等^[22]发现, 在IRAK-M基因缺乏小鼠中炎症反应显著增强, TNF- α 等炎症

■ 相关报道
智发朝等研究发现NOD2基因的P268S单核苷酸多态性可能与中国人CD相关, 并且与CD的临床特征有一定关联性。

■应用要点

阐明TLR/IL-1信号通路的负性调控因子在炎症性肠病中的作用,有望为IBD的治疗提供新的治疗靶点,并开发新的药物。

细胞因子大量表达, NF- κ B和MAPK激活增加,提示IRAK-M的缺乏与炎症反应增强和TLR信号通路激活有关,也说明了IRAK-M对TLR信号通路的负性调节作用。Takebayashi等^[23]在无特异性病原体(specific pathogen free, SPF)小鼠细菌耐受模型中发现,输注淋巴细胞后SPF小鼠T淋巴细胞在小肠的黏附明显高于无菌小鼠,提示肠腔内细菌的存在促进T淋巴细胞迁移,若事先经十二指肠给予LPS, SPF小鼠T淋巴细胞在小肠的黏附与无菌小鼠无差别,并伴随着IRAK-M和TGF- β 的表达上调,提示在T淋巴细胞的募集过程中,经肠腔给予LPS诱导的细菌耐受可能与IRAK-M和TGF- β 有关,IRAK-M的缺乏将会对肠道菌群失去耐受,产生炎症反应。IRAK-M缺陷小鼠给予沙门氏菌攻击后, Peyer's集合淋巴结显著增大且其数量增加,组织学呈现更严重的炎症改变,表现为多形核细胞浸润和出血,表明IRAK-M在调节肠道炎症中起着一定的作用^[5]。Weersma等^[24]的研究还显示在UC患者NOD2和IRAK-M相互影响,在NOD2突变患者,IRAK-M的产生受损,二者共同作用,更加加剧肠道的炎症的损伤。

3.3 SOCS与IBD SOCS是一类由细胞因子诱导产生并对JAK(janus tyrosine kinases)/转录活化因子(signal transducers and activators of the transcription, STAT)信号通路起负性调节作用的因子^[25]。研究发现LPS或CpGDNA可通过激活TLR信号通路上的MAPK通路和STAT通路来诱导SOCS表达^[26], SOCS又可反过来抑制TLR信号通路。SOCS可以通过以下途径抑制TLR信号通路^[26-29]:(1)SOCS1可以结合NF- κ B的p65亚单位,并通过泛素化途径降解p65,从而抑制TLR4/NF- κ B信号转导;(2)通过结合凋亡信号调节激酶1(apoptosis signal-regulating kinase 1, ASK1)反馈抑制MAPK信号;(3)抑制IFN- β 诱导的JAK/STAT1途径;(4)抑制JAK2/STAT5途径;(5)SOCS-1的SH-2区可与IRAK结合起到抑制TLRs信号传导通路的作用。(6)SOCS3可以抑制TRAF3、TRAF6和TAK1(TGF- β activated kinase 1)的激活,而对TLR信号转导起负调控的作用。

TLR信号通路在IBD发病过程中起着重要的作用,SOCS作为TLR信号通路的负性调控因子,在IBD的发病过程中也起重要作用,目前研究较多的是SOCS1、SOCS3。STAT1和STAT3的活化在IBD的发病中起重要作用,SOCS1和SOCS3抑制STAT1和STAT3的磷酸化,从而抑

制其活化^[30]。Suzuki等^[31]研究表明F59D-JAB突变小鼠(SOCS1和SOCS3相同的JAK结合区域KIR发生了点突变后的产物,该突变体丧失了SOCS1和SOCS3的正常功能)经硫酸葡聚糖钠(dextran sodium sulphate, DSS)诱导结肠炎后,其体质量减轻及肠黏膜损害情况较未突变小鼠更为严重,说明F59D-JAB解除了SOCS1和SOCS3对JAK/STAT途径的抑制作用,从而引起了更加严重的结肠炎。Horino等^[32]研究显示SOCS-1^{+/+}杂合子小鼠和SOCS-1基因敲除小鼠经DSS诱导的结肠炎症比野生型小鼠严重,同时CD4⁺IFN- γ ⁺T淋巴细胞数和血清IFN- γ 含量均高于野生型小鼠,而Foxp3⁺调节性T淋巴细胞数低于野生型小鼠,提示:SOCS-1可能通过抑制IFN- γ 和促进Treg来预防DSS诱导的结肠炎发生发展;Okada等^[33]研究显示益生菌通过抑制I κ B- α 磷酸化和刺激SOCS信号来抑制LPS刺激的巨噬细胞产生促炎因子,从而对IBD起治疗作用。以上研究表明SOCS对TLR信号的负性调控可减轻IBD炎症反应和损伤,可能成为IBD治疗的新靶点。

3.4 Tollip与IBD MyD88和Toll相互作用蛋白(Toll interacting protein, Tollip)抑制IL-1受体和NF- κ B的激活^[34],在小鼠和人体肠上皮细胞中广泛表达^[35]。Tollip可以与TLR超家族的几个成员相互作用,包括TLR2和TLR4,他可直接与TLR2和TLR4的TIR区结合,通过抑制自身磷酸化和IRAK激酶活性来抑制TLR信号转导。在静息状态下, Tollip与IRAK-1形成复合物并抑制其磷酸化,从而抑制NF- κ B的活化。与相应配体结合后, Tollip-IRAK-1复合物被招募至TLR上。随后,IRAK-1快速自身磷酸化并与受体解离。活化的IRAK-1又可磷酸化Tollip并促进Tollip从IRAK-1上解离并被泛素化降解。游离的IRAK-1可结合TRAF6并继续向下游传递信号,在此过程中IRAK-1又会从TRAF6上解离下来并被泛素化降解。Otte等^[36]用LPS和脂磷壁酸刺激原代肠上皮细胞,在短期内可引起促炎细胞因子大量释放和IRAK和MAPK的磷酸化,而延长作用时间肠上皮细胞对LPS和脂磷壁酸刺激呈低反应状态,这些低反应状态肠上皮细胞内Tollip mRNA和蛋白的表达增加,TLR表面表达和IRAK磷酸化增加,并且Tollip的过度表达的肠上皮细胞促炎细胞因子产生显著降低,因此Tollip和IRAK的磷酸化和去磷酸化在TLR4和TLR2介导的TLR信号转导通路中起着开关的作用。当肠上皮细胞

中Tollip表达下降, 导致对共生菌持非耐受状态, 最终将诱导IBD的发生。

3.5 SIGIRR与IBD 免疫球蛋白单体IL-1受体相关分子(single immunoglobulin interleukin-1 receptor-related molecule, SIGIRR)为含TIR域超家族中的一员, 亦称TIR8, 其胞外为免疫球蛋白域, 胞内为高度保守TIR域, 但与IL-1R相比缺少两个信号传导必需氨基酸Ser447和Tyr536, 不引起NF- κ B的活化^[37]。SIGIRR过度表达能抑制IL-1、IL-18和LPS诱导激活NF- κ B。SIGIRR缺失小鼠炎症反应加重, 对IL-1和LPS超敏, 提示SIGIRR为IL-1和LPS信号传导途径的负性调节因子。有研究发现转染了SIGIRR的巨噬细胞在给予LPS刺激时促炎细胞因子的产生显著下降^[38]。SIGIRR的配体目前尚不清楚, 因此他是一个“孤儿受体”, 他负性调节TLR的具体机制尚不清楚。有研究表明, SIGIRR能与TLR信号通路中的几个关键因子IL-1R、IRAK-1和TRAF6结合, 另外还能与TLR4结合, 提示SIGIRR可能通过与这些因子作用抑制TLR信号传导^[39]。还有研究发现, SIGIRR可能通过阻止TLR信号传导过程中的必需分子招募到受体上, 从而抑制TLR信号传导^[40]。

SIGIRR对TLR致炎信号通路具有“刹车”作用^[41,42]。在生理状态下肠道TLR的负向调节因子控制对肠腔内共生菌过度的炎症反应, 因此人们设想这些因子的表达低下导致了IBD的发生。Garlanda等^[43,44]研究发现, SIGIRR缺乏小鼠对DSS诱发的肠道炎症更为敏感, 黏膜的炎症程度和局部的促炎因子和化学趋化因子水平均显著增加。Xiao等^[45]研究也发现SIGIRR缺陷小鼠经DSS处理后肠上皮的炎症反应加重, 局部的NF- κ B活性和促炎因子(IL-12、IFN- γ 、IL-17、IL-6、IL-1 β)也显著增加。为了进一步证实SIGIRR缺陷型小鼠对DSS刺激的超敏反应是否依赖于共生菌的存在, 他们用抗生素处理的SIGIRR缺陷型小鼠和野生型小鼠同时用3%的DSS处理, 结果两者表现出相似的炎症反应, 表明抗生素处理能够降低SIGIRR缺陷型小鼠对DSS诱导IBD的易感性, 在DSS诱导的结肠炎中SIGIRR的调节作用是依赖于共生菌的, 也许是由共生菌直接或间接引起他在TLR/IL-1介导的信号通路中的负性调节作用。Naito等^[46]用寡核苷酸探针检测了4例CD和正常人外周血单核细胞在LPS刺激前后多种基因mRNA的表达, 发现在CD患者SIGIRR表达在LPS刺激前后均低于正常人, 并且在LPS刺激后显著低于刺激前。提

示在CD患者外周血单核细胞中SIGIRR表达受抑制, 而LSP刺激后更加剧了他的抑制。这进一步证实了SIGIRR可能参与了IBD的致病。因此, SIGIRR可能是IBD治疗的潜在靶点。

4 结论

TLRs这一进化保守的PRR能够广泛识别侵入人体的病原微生物, 其免疫途径的过度激活在IBD的发病中起重要作用, 而抑制途径的受损在其中扮演着重要角色。近年来TLR/IL-1信号通路的负性调节越来越受到重视, 但是对于其负性调节的许多机制仍不清楚。随着对TLRs研究的不断深入, 相信TLR/IL-1信号转导通路将不断明朗, 会有更多的负性调节因子出现, 为IBD的治疗提供更多的特异性的治疗靶点, 为阐明IBD的发病机制及临床治疗带来希望。

5 参考文献

- O'Neill LA. The interleukin-1 receptor/Toll-like receptor superfamily: 10 years of progress. *Immunol Rev* 2008; 226: 10-18
- Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 499-511
- Yamamoto M, Sato S, Hemmi H, Sanjo H, Uematsu S, Kaisho T, Hoshino K, Takeuchi O, Kobayashi M, Fujita T, Takeda K, Akira S. Essential role for TIRAP in activation of the signalling cascade shared by TLR2 and TLR4. *Nature* 2002; 420: 324-329
- Verstak B, Nagpal K, Bottomley SP, Golenbock DT, Hertzog PJ, Mansell A. MyD88 adapter-like (Mal)/TIRAP interaction with TRAF6 is critical for TLR2- and TLR4-mediated NF-kappaB proinflammatory responses. *J Biol Chem* 2009; 284: 24192-24203
- Shibolet O, Podolsky DK. TLRs in the Gut. IV. Negative regulation of Toll-like receptors and intestinal homeostasis: addition by subtraction. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G1469-G1473
- Wang J, Hu Y, Deng WW, Sun B. Negative regulation of Toll-like receptor signaling pathway. *Microbes Infect* 2009; 11: 321-327
- Michelsen KS, Arditi M. Toll-like receptors and innate immunity in gut homeostasis and pathology. *Curr Opin Hematol* 2007; 14: 48-54
- Abreu MT. Immunologic regulation of toll-like receptors in gut epithelium. *Curr Opin Gastroenterol* 2003; 19: 559-564
- Cobrin GM, Abreu MT. Defects in mucosal immunity leading to Crohn's disease. *Immunol Rev* 2005; 206: 277-295
- Ray P, Jallo GI, Kim RY, Kim BS, Wilson S, Kothbauer K, Abbott R. Endoscopic third ventriculostomy for tumor-related hydrocephalus in a pediatric population. *Neurosurg Focus* 2005; 19: E8
- Netea MG, Kullberg BJ, de Jong DJ, Franke B, Sprong T, Naber TH, Drenth JP, Van der Meer JW. NOD2 mediates anti-inflammatory signals induced by TLR2 ligands: implications for Crohn's disease. *Eur J Immunol* 2004; 34: 2052-2059
- Watanabe T, Kitani A, Murray PJ, Strober W. NOD2 is a negative regulator of Toll-like receptor 2-medi-

■同行评价
本文选题较好, 科学价值较高, 具有一定的研究意义。

- ated T helper type 1 responses. *Nat Immunol* 2004; 5: 800-808
- 13 Strober W, Kitani A, Fuss I, Asano N, Watanabe T. The molecular basis of NOD2 susceptibility mutations in Crohn's disease. *Mucosal Immunol* 2008; 1 Suppl 1: S5-S9
 - 14 Hradsky O, Lenicek M, Dusatkova P, Bronsky J, Nevoral J, Valtrova V, Kotalova R, Szitanyi P, Petro R, Starzykova V, Bortlik M, Vitek L, Lukas M, Cinek O. Variants of CARD15, TNFA and PTPN22 and susceptibility to Crohn's disease in the Czech population: high frequency of the CARD15 1007fs. *Tissue Antigens* 2008; 71: 538-547
 - 15 Derakhshan F, Naderi N, Farnood A, Firouzi F, Habibi M, Rezvany MR, Javeri A, Bahari A, Balahi H, Rad MG, Aghazadeh R, Zali MR. Frequency of three common mutations of CARD15/NOD2 gene in Iranian IBD patients. *Indian J Gastroenterol* 2008; 27: 8-11
 - 16 van Steensel MA, Badeloe S, Winnepeninckx V, Vreeburg M, Steijlen PM, van Geel M. Granulomatous rosacea and Crohn's disease in a patient homozygous for the Crohn-associated NOD2/CARD15 polymorphism R702W. *Exp Dermatol* 2008; 17: 1057-1058
 - 17 Li M, Gao X, Guo CC, Wu KC, Zhang X, Hu PJ. OCTN and CARD15 gene polymorphism in Chinese patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4923-4927
 - 18 Gao M, Cao Q, Luo LH, Wu ML, Hu WL, Si JM. [NOD2/CARD15 gene polymorphisms and susceptibility to Crohn's disease in Chinese Han population] *Zhonghua Neike Zazhi* 2005; 44: 210-212
 - 19 Leong RW, Armuzzi A, Ahmad T, Wong ML, Tse P, Jewell DP, Sung JJ. NOD2/CARD15 gene polymorphisms and Crohn's disease in the Chinese population. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 1465-1470
 - 20 张以洋, 智发朝, 周殿元, 姜泊, 赖卓胜, 张迎春, 钟长青, 龙靖华, 徐迪辉, 张奕. 克罗恩病NOD2/CARD15基因突变的研究. *中华消化杂志* 2006; 26: 456-459
 - 21 Kobayashi K, Hernandez LD, Galán JE, Janeway CA Jr, Medzhitov R, Flavell RA. IRAK-M is a negative regulator of Toll-like receptor signaling. *Cell* 2002; 110: 191-202
 - 22 Deng JC, Cheng G, Newstead MW, Zeng X, Kobayashi K, Flavell RA, Standiford TJ. Sepsis-induced suppression of lung innate immunity is mediated by IRAK-M. *J Clin Invest* 2006; 116: 2532-2542
 - 23 Takebayashi K, Hokari R, Kurihara C, Okada Y, Okudaira K, Matsunaga H, Komoto S, Watanabe C, Kawaguchi A, Nagao S, Tsuzuki Y, Miura S. Oral tolerance induced by enterobacteria altered the process of lymphocyte recruitment to intestinal microvessels: roles of endothelial cell adhesion molecules, TGF-beta and negative regulators of TLR signaling. *Microcirculation* 2009; 16: 251-264
 - 24 Weersma RK, Oostenbrug LE, Nolte IM, Van Der Steege G, Oosterom E, Van Dullemen HM, Kleibeuker JH, Dijkstra G. Association of interleukin-1 receptor-associated kinase M (IRAK-M) and inflammatory bowel diseases. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 827-833
 - 25 Okugawa S, Yanagimoto S, Tsukada K, Kitazawa T, Koike K, Kimura S, Nagase H, Hirai K, Ota Y. Bacterial flagellin inhibits T cell receptor-mediated activation of T cells by inducing suppressor of cytokine signalling-1 (SOCS-1). *Cell Microbiol* 2006; 8: 1571-1580
 - 26 Dalpke A, Heeg K, Bartz H, Baetz A. Regulation of innate immunity by suppressor of cytokine signaling (SOCS) proteins. *Immunobiology* 2008; 213: 225-235
 - 27 Mansell A, Smith R, Doyle SL, Gray P, Fenner JE, Crack PJ, Nicholson SE, Hilton DJ, O'Neill LA, Hertzog PJ. Suppressor of cytokine signaling 1 negatively regulates Toll-like receptor signaling by mediating Mal degradation. *Nat Immunol* 2006; 7: 148-155
 - 28 Baetz A, Frey M, Heeg K, Dalpke AH. Suppressor of cytokine signaling (SOCS) proteins indirectly regulate toll-like receptor signaling in innate immune cells. *J Biol Chem* 2004; 279: 54708-54715
 - 29 Yoshimura A, Ohishi HM, Aki D, Hanada T. Regulation of TLR signaling and inflammation by SOCS family proteins. *J Leukoc Biol* 2004; 75: 422-427
 - 30 Schreiber S, Rosenstiel P, Hampe J, Nikolaus S, Groessner B, Schottelius A, Kühbacher T, Hämling J, Fölsch UR, Seeger D. Activation of signal transducer and activator of transcription (STAT) 1 in human chronic inflammatory bowel disease. *Gut* 2002; 51: 379-385
 - 31 Suzuki A, Hanada T, Mitsuyama K, Yoshida T, Kamizono S, Hoshino T, Kubo M, Yamashita A, Okabe M, Takeda K, Akira S, Matsumoto S, Toyonaga A, Sata M, Yoshimura A. CIS3/SOCS3/SSI3 plays a negative regulatory role in STAT3 activation and intestinal inflammation. *J Exp Med* 2001; 193: 471-481
 - 32 Horino J, Fujimoto M, Terabe F, Serada S, Takahashi T, Soma Y, Tanaka K, Chinen T, Yoshimura A, Nomura S, Kawase I, Hayashi N, Kishimoto T, Naka T. Suppressor of cytokine signaling-1 ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Int Immunol* 2008; 20: 753-762
 - 33 Okada Y, Tsuzuki Y, Hokari R, Komoto S, Kurihara C, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Anti-inflammatory effects of the genus *Bifidobacterium* on macrophages by modification of phospho-I kappaB and SOCS gene expression. *Int J Exp Pathol* 2009; 90: 131-140
 - 34 Didierlaurent A, Brissoni B, Velin D, Aebi N, Tardivel A, Käslin E, Sirard JC, Angelov G, Tschopp J, Burns K. Tollip regulates proinflammatory responses to interleukin-1 and lipopolysaccharide. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 735-742
 - 35 Melmed G, Thomas LS, Lee N, Tesfay SY, Lukasek K, Michelsen KS, Zhou Y, Hu B, Arditi M, Abreu MT. Human intestinal epithelial cells are broadly unresponsive to Toll-like receptor 2-dependent bacterial ligands: implications for host-microbial interactions in the gut. *J Immunol* 2003; 170: 1406-1415
 - 36 Otte JM, Cario E, Podolsky DK. Mechanisms of cross hyporesponsiveness to Toll-like receptor bacterial ligands in intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2004; 126: 1054-1070
 - 37 Li X, Qin J. Modulation of Toll-interleukin 1 receptor mediated signaling. *J Mol Med* 2005; 83: 258-266
 - 38 Huang X, Hazlett LD, Du W, Barrett RP. SIGIRR promotes resistance against *Pseudomonas aeruginosa* keratitis by down-regulating type-1 immunity and IL-1R1 and TLR4 signaling. *J Immunol* 2006; 177: 548-556
 - 39 Wald D, Qin J, Zhao Z, Qian Y, Naramura M, Tian L, Towne J, Sims JE, Stark GR, Li X. SIGIRR, a nega-

- tive regulator of Toll-like receptor-interleukin 1 receptor signaling. *Nat Immunol* 2003; 4: 920-927
- 40 Qin J, Qian Y, Yao J, Grace C, Li X. SIGIRR inhibits interleukin-1 receptor- and toll-like receptor 4-mediated signaling through different mechanisms. *J Biol Chem* 2005; 280: 25233-25241
- 41 Gong J, Wei T, Stark RW, Jamitzky F, Heckl WM, Anders HJ, Lech M, Rössle SC. Inhibition of Toll-like receptors TLR4 and 7 signaling pathways by SIGIRR: a computational approach. *J Struct Biol* 2010; 169: 323-330
- 42 O'Neill LA. SIGIRR puts the brakes on Toll-like receptors. *Nat Immunol* 2003; 4: 823-824
- 43 Garlanda C, Riva F, Polentarutti N, Buracchi C, Sironi M, De Bortoli M, Muzio M, Bergottini R, Scanziani E, Vecchi A, Hirsch E, Mantovani A. Intestinal inflammation in mice deficient in Tir8, an inhibitory member of the IL-1 receptor family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 3522-3526
- 44 Garlanda C, Riva F, Veliz T, Polentarutti N, Pasqualini F, Radaelli E, Sironi M, Nebuloni M, Zorini EO, Scanziani E, Mantovani A. Increased susceptibility to colitis-associated cancer of mice lacking TIR8, an inhibitory member of the interleukin-1 receptor family. *Cancer Res* 2007; 67: 6017-6021
- 45 Xiao H, Gulen MF, Qin J, Yao J, Bulek K, Kish D, Altuntas CZ, Wald D, Ma C, Zhou H, Tuohy VK, Fairchild RL, de la Motte C, Cua D, Vallance BA, Li X. The Toll-interleukin-1 receptor member SIGIRR regulates colonic epithelial homeostasis, inflammation, and tumorigenesis. *Immunity* 2007; 26: 461-475
- 46 Naito Y, Takagi T, Mizushima K, Ueta M, Kinoshita S, Handa O, Kokura S, Ichikawa H, Yoshida N, Yoshikawa T. Gene expression clusters of a lipopolysaccharide-stimulated pathway in peripheral blood monocytes of Japanese patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24 (Suppl 4): 256-265

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)发布
《世界华人消化杂志》2008年影响因子 0.547

本刊讯 中国科学技术信息研究所发布2008年《世界华人消化杂志》的总被引频次为2 480, 位居1 868种中国科技论文统计源期刊的第100位, 41种内科学类期刊的第6位. 2008年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.547, 41种内科学类期刊的第17位. 大家最为关注的是《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)中新增一个综合评价指标, 即综合评价总分, 该指标根据科学计量学原理, 系统性地综合考虑被评价期刊的各影响力指标(总被引频次、影响因子、他引率、基金论文比、引文率等)在其所在学科中的相对位置, 并按照一定的权重系数将这些指标进行综合集成, 对期刊进行综合评价. 《世界华人消化杂志》总分为49.5, 在41种内科学类期刊中排名第8位, 在1 868种中国科技期刊排名第341位. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

β-arrestin信号转导通路在炎症性肠病发生过程中的作用机制

范恒, 廖奕, 唐庆, 梁丽, 陈小艳

■背景资料

目前认为异常的免疫反应可能是炎症性肠病(IBD)核心发病因素,但其确切的发病机制尚不明确,研究发现β-arrestins可能与免疫反应有关,但目前β-arrestins在IBD的确切机制不甚清楚,需进一步讨论。

范恒, 廖奕, 唐庆, 梁丽, 陈小艳, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022
国家自然科学基金面上资助项目, No. 30772878
通讯作者: 范恒, 教授, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. fanheng009@yahoo.com.cn
电话: 027-85726395
收稿日期: 2010-03-11 修回日期: 2010-07-30
接受日期: 2010-10-17 在线出版日期: 2010-10-18

Role of β-arrestins in the pathogenesis of inflammatory bowel disease

Heng Fan, Yi Liao, Qing Tang, Li Liang, Xiao-Yan Chen

Heng Fan, Yi Liao, Qing Tang, Li Liang, Xiao-Yan Chen, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30772878

Correspondence to: Professor Heng Fan, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. fanheng009@yahoo.com.cn
Received: 2010-03-11 Revised: 2010-07-30
Accepted: 2010-10-17 Published online: 2010-10-18

Abstract

β-arrestins, as adaptor proteins involved in G protein-coupled receptor (GPCR)-related signaling, have diverse biological functions and can regulate cell proliferation, survival, apoptosis, motility and gene transcription. β-arrestins regulate several aspects of inflammatory and immune reactions. First, they limit the basal activity of pro-inflammatory transcription factor NF-κB and regulate activation of NF-κB via the Toll-like receptors (TLR)/NF-κB signal pathway. Second, they facilitate T cell activation, suppress the apoptosis of CD4⁺ T cells, inhibit NK cell-mediated cytotoxicity, and constrain factor-independent survival of macrophages. Finally, β-arrestins influence chemotaxis of immune cells and neutrophil degranulation by regulating desensitization, internalization and signal transduction of various chemokine receptors.

■同行评议者

程爱国, 教授, 华北煤炭医学院临床医学系

The pathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD) may be attributed to various genetic abnormalities that result in excessive immune response against the normal intestinal microbe flora. Abnormal immune response is considered to play a pivotal role in the development of IBD. The role of β-arrestins in regulating immune response involved in intestinal mucosal inflammation in IBD implies that they may participate in the pathogenesis of IBD.

Key Words: β-arrestin; G protein-coupled receptor; Signal transduction; Nuclear factor-κB; Chemokine receptor; Immunocyte; Inflammatory bowel disease

Fan H, Liao Y, Tang Q, Liang L, Chen XY. Role of β-arrestins in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3114-3120

摘要

β-arrestin作为衔接蛋白参与G蛋白偶联受体(GPCR)相关信号通路, β-arrestin生物功能多样,能调节细胞的增殖、生存、凋亡及运动功能和基因转录过程. β-arrestin参与调节机体的炎症和免疫反应过程,抑制促炎转录因子NF-κB的基础活性,调节TLR/NF-κB信号转导通路对NF-κB的活化;参与T淋巴细胞活化,抑制CD4⁺T淋巴细胞凋亡,抑制NK细胞的细胞毒性作用,调节巨噬细胞的生存和功能;β-arrestin还通过调节多种趋化因子受体的脱敏、内化和信号转导过程,影响免疫细胞的趋化运动和促进中性粒细胞脱颗粒.炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的病因可能是多种遗传基因异常导致的机体对肠道正常菌群的过度免疫反应而形成,这种异常免疫反应被认为是IBD发生的核心因素,而β-arrestin可能通过多种途径调节其免疫反应,参与IBD肠道黏膜的炎症反应过程.因此对β-arrestin的研究必将进一步揭示IBD的发病机制,也为IBD的治疗提供了新的思路。

关键词: β-arrestin; G蛋白偶联受体; 信号转导; 核

因子 κ B; 趋化因子受体; 免疫细胞; 炎症性肠病

范恒, 廖奕, 唐庆, 梁丽, 陈小艳. β -arrestin信号转导通路在炎症性肠病发生过程中的作用机制. 世界华人消化杂志 2010; 18(29): 3114-3120

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3114.asp>

0 引言

β -arrestin广泛存在于几乎所有的组织细胞中, 具有多样的生物学功能. β -arrestin调节G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR)信号, 使GPCR与下游的G蛋白解偶联, 并结合网格蛋白参与GPCR的内化、脱敏、复敏和降解过程. 在受体内吞过程中, β -arrestin作为支架蛋白与GPCR和非受体酪氨酸激酶c-Src共同激活MAPK信号转导通路^[1]. β -arrestin能通过多种机制参与机体炎症和免疫反应过程: β -arrestin调节促炎转录因子NF- κ B的活化, 既可以通过与I κ B α 和I κ B激酶(I κ B kinase, IKK)的直接相互作用抑制NF- κ B的基础活性, 也可以通过调节NF- κ B活化调节Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)/NF- κ B信号转导通路中的上游信号事件影响NF- κ B的活化. β -arrestin参与调节T淋巴细胞、自然杀伤(natural killer, NK)细胞、巨噬细胞和粒细胞等多种免疫细胞的生存、凋亡、活化、趋化、细胞毒性作用和粒细胞的脱颗粒功能, 并通过调节多种趋化因子受体的脱敏、内化过程和趋化因子受体的信号转导而影响免疫细胞的趋化功能和免疫细胞介导的免疫反应. 通过上述机制 β -arrestin可能参与调节炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)中的肠道黏膜免疫反应失调和炎症反应的病理过程.

1 β -arrestin的结构

β -arrestin属于arrestin家族, 包括 β -arrestin1(arrestin2)和 β -arrestin2(arrestin3)两个成员. β -arrestin为非视觉arrestin, 在几乎所有组织中都有表达并具有多样的生物学功能. β -arrestin是20世纪80年代末在提纯牛脑组织G蛋白偶联受体激酶2(GPCR kinase 2, GRK2)的过程中发现的, 随着GRK2的纯化, GRK2使 β 2AR脱敏的能力也减弱, 提示在提纯过程中一种与视觉arrestin结构功能类似的蛋白质丢失, 这种能增强GRK2失活 β 2AR信号的蛋白质就是 β -arrestin^[2]. β -arrestin的编码基因可能来源于早期脊椎动物原型arrestin基因(如Ci-arr)的两次重叠突变^[3], 与视觉arrestin(V-arrestin)结构相似. β -arrestin的晶

体结构中包含通过铰链区连接的两个凹面分叶状的结构域, 分别称为C端结构域和N端结构域, 二者都由折叠成两层的反向平行 β 片层结构构成, 在N端结构域的凸面还包含一段短 α 螺旋结构. C端结构域和N端结构域通过一个由带电荷残基所形成的盐桥网络构成的极化核心联系起来, 并通过他保持正确的相对空间位置^[4,5]. 非活化 β -arrestin的极化核心位于N端结构域和C端结构域结合处, β -arrestin的羧基末段C尾结构接近两个结构域的结合区, β -arrestin活化后极化核心被破坏释放出C尾结构, 暴露与网格蛋白和衔接蛋白AP2结合的区域^[6,7]. β -arrestin的受体结合区位于分子一侧, 可通过其分子中的“鞍”区结构与磷酸化的GPCR结合, 而且 β -arrestin与其他细胞内信号分子结合的支架区不与其受体结合区重叠, β -arrestin富含脯氨酸的N端结构域中的PXXP基序能与酪氨酸激酶Src的SH3同源结构域结合^[7].

2 β -arrestin的生物功能

2.1 β -arrestin调节细胞的信号转导 β -arrestin作为衔接蛋白调节GPCR的信号转导过程, 是GPCR信号转导通路的负调节者, 在GPCR信号转导过程中, 激动剂与GPCR结合, 使GRK磷酸化成为GPCR, 通过使GPCR胞内第3段环结构和羧基末端内氨基酸残基磷酸化形成与 β -arrestin具有高的亲和力的结合位点. β -arrestin向细胞膜转移与磷酸化的GPCR结合, 在空间结构上阻止GPCR与G蛋白结合并募集磷酸二酯酶4D(phosphodiesterase 4D, PDE4D)和二乙酰激酶(diacylglycerol kinase, DGK)降解G蛋白信号转导第二信使cAMP和DAG, 终止GPCR信号下游G蛋白信号的传导^[8]. 与GPCR结合的 β -arrestin可以作为衔接蛋白结合网格蛋白和 β 2衔接蛋白(AP2)形成网格蛋白包被的内吞小窝, 动力蛋白Dynamine使内吞小窝从细胞膜上解离下来形成胞吞囊泡, 促进GPCR的内化和脱敏, 内化的GPCR可以降解或再循环到细胞膜(复敏). 非受体酪氨酸Src磷酸化网格蛋白和Dynamine参与 β -arrestin介导的GPCR内化过程^[9].

β -arrestin作为支架蛋白联系GPCR与激酶介导的信号转导通路, 参与GPCR激活的ERK、JNK3和p38信号转导通路^[2,10,11,12]. β -arrestin还可以与转录因子的调节因子结合间接影响细胞基因的转录过程. 活化的 κ 和 δ 阿片受体使 β -arrestin1向细胞核内转移, 胞核内 β -arrestin在p27kip1和c-fos基因的启动子序列区域募集转录

■ 研发前沿

β -arrestins参与G蛋白偶联受体(GPCR)信号通路, 改变其下游多种信号通路、免疫细胞及细胞因子生物学功能, 从而调节机体免疫反应. β -arrestins通过以上途径参与IBD发病机制. β -arrestins与GPCR相互作用后调节其下游TLR/NF- κ B信号通路、趋化因子及免疫细胞, 成为目前的研究热点, 值得进一步探讨.

■相关报道

诸多学者对β-arrestins做了相关研究:β-arrestins是GPCR负调节者;参与调节T淋巴细胞的活化和凋亡过程;通过多种机制抑制NF-κB的活化,可以介导多种趋化因子受体的脱敏和內化;调节趋化因子受体的信号转导和免疫细胞的趋化功能;并能够调节细胞因子的表达。

辅助因子p300或cAMP反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB),增加组蛋白H4的乙酰化使染色体重组,促进*p27kip1*和*c-fos*基因的转录^[13].细胞核内的β-arrestin1与STAT1和酪氨酸激酶TC45结合,使IFN-γ活化的STAT1去磷酸化而失活^[14,15].

2.2 β-arrestin对免疫细胞功能的调节 免疫细胞包括参加固有免疫的单核/巨噬细胞、粒细胞、NK细胞、固有免疫样淋巴细胞和树突状细胞(dendritic cell, DC),以及参与适应性免疫的T、B淋巴细胞.β-arrestin能通过多种机制调节多种免疫细胞的功能,包括免疫细胞的生存、凋亡、活化、趋化和脱颗粒等,调节固有和适应性免疫反应。

β-arrestin参与调节T淋巴细胞的活化和凋亡过程。T淋巴细胞受体(T cell receptor, TCR)信号提高了的T淋巴细胞免疫突触结构中的cAMP的水平,通过cAMP-PKA-Csk抑制性信号通路抑制T淋巴细胞的活化过程,使T淋巴细胞不能完全活化,而TCR/CD28受体复合物共刺激信号能募集PDE4/β-arrestin复合物到T淋巴细胞免疫突触结构中导致cAMP的降解,下调抑制T淋巴细胞活化的抑制性信号使T淋巴细胞能完全活化^[16,17].β-arrestin1参与调节CD4⁺T淋巴细胞的生存和凋亡.T淋巴细胞生存和凋亡的严格调控是维持免疫稳态的重要前提,CD4⁺T淋巴细胞凋亡缺陷打破了T淋巴细胞生存和凋亡稳态平衡,导致自身免疫疾病的发生.活化的δ阿片受体信号能诱导细胞质内的β-arrestin1向细胞核内转移,进入细胞核内的β-arrestin1募集组蛋白乙酰化酶p300到*p27*,*c-fos*和*bcl-2*编码基因的启动子序列,导致启动子序列区域组蛋白H4乙酰化和*bcl-2*基因转录,促进抗凋亡蛋白Bcl-2的表达,Arrb1^{-/-}CD4⁺T淋巴细胞与野生型CD4⁺T淋巴细胞相比*bcl-2*mRNA水平明显降低,Bcl-2通过阻断细胞的线粒体凋亡途径中细胞色素C的释放和半胱天冬酶的活化过程抑制CD4⁺T淋巴细胞凋亡,β-arrestin1是CD4⁺T淋巴细胞生存和凋亡的关键调节者^[18,19,20].

β-arrestin2可以抑制NK细胞的细胞毒性作用.缺乏β-arrestin2表达的NK细胞的细胞毒性比普通小鼠强,而不易感染小鼠巨细胞病毒(murine cytomegalovirus, MCMV)^[21,22].β-arrestin2调节巨噬细胞的生存和功能.与其他组织细胞相比,在巨噬细胞中β-arrestin2表达水平较高.β-arrestin2能通过限制JNK/ERK活化促进TLR诱导的巨噬细胞表达补体C1q和减弱TLR激动剂对巨噬细

胞的促生存效应.β-arrestin2既能增强巨噬细胞C1q的表达,也是巨噬细胞生存的负性调节者^[23].此外,TLR2和TLR4能下调巨噬细胞β-arrestin1的表达,TLR可能通过β-arrestin1调节GPCR的脱敏和GPCR信号转导通路,TLR与GPCR信号转导通路通过β-arrestin1存在交叉对话^[24].巨噬细胞β-arrestin表达水平的变化能调节固有免疫反应中TLR和GPCR介导的信号转导通路。

2.3 β-arrestin对NF-κB转录活性和TLR/NF-κB信号通路的调节 NF-κB是NF-κB/Rel家族成员,通常以二聚化形式存在,通过其氨基端约300个氨基酸残基构成的Rel同源结构域内的DNA结合位点和抑制蛋白IκB结合位点与DNA和IκB结合.NF-κB是细胞内重要的转录因子,抑制蛋白IκB与NF-κB形成复合物并掩盖NF-κB结构中的核定位信号序列,使其保留在细胞质中.在上游刺激信号的作用下IKK使IκB降解,暴露NF-κB的核定位信号序列并活化NF-κB.活化的NF-κB进入细胞核内,通过与细胞核内多种基因的增强子和启动子序列结合促进特定基因的转录和表达,广泛参与细胞增殖和应激反应的调节.NF-κB被认为是炎症反应中的关键调节因子^[25].β-arrestin通过多种机制抑制NF-κB的活化^[26],β-arrestin通过与IκBα和IKK(IκBα激酶复合物)的相互作用稳定IκBα,而减弱NF-κB的活化.IκBα羧基端的PEST结构域是酪氨酸激酶2(casein kinase 2, CK2)和IKK磷酸化IκBα的部位,也是IκBα结合β-arrestin2氨基端1-60氨基酸残基构成的IκBα结合区的关键结构.β-arrestin2与IκBα的结合使CK2和IKK不能与IκBα的PEST结构域结合,抑制CK2和IKK对IκBα的磷酸化,稳定了抑制蛋白IκBα,继而减弱NF-κB p65的活化和核转位^[27,28].β-arrestin2与IκBα的结合同时受到CK2磷酸化β-arrestin2的调节,β-arrestin2的磷酸化阻止了β-arrestin2与IκBα的相互作用,β-arrestin2的磷酸化减弱了β-arrestin2对NF-κB活化的抑制作用^[29,30].β-arrestin1和β-arrestin2还可以通过肿瘤坏死因子相关蛋白6(TNF receptor-associated factor 6, TRAF6)调节NF-κB的活化.β-arrestin与TRAF6的相互作用依赖TLR/IL-1R活化信号的调节,而β-arrestin则是固有免疫反应中TLR/IL-1R信号通路的负调节者^[30].

β-arrestin可以抑制多种信号通路诱导的NF-κB活化过程:β-arrestin1和β-arrestin2能有效的抑制脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的NF-κB的活化^[31].LPS激活的TLR4信号通路下调RAW264细胞中β2AR和β-arrestin2的表达,表

明TLR4信号通路可抑制 β 2AR和 β -arrestin2的表达, 增强NF- κ B的活化, 而转染 β 2AR表达载体的RAWar细胞稳定的表达 β 2AR, 通过 β -arrestin2减弱TLR4诱导的I κ B α 降解和NF- κ B活化, 显著降低LPS激活的TLR4信号通路诱导的一氧化氮合成酶的表达^[32]. LPS激活TLR4信号通路以依赖TRIF的方式下调 β 2AR和 β -arrestin2的表达. 在LPS激活的TLR4信号晚期时相通过TRIF下调 β 2AR和 β -arrestin2的表达诱导晚期NF- κ B的持续活化, 而在TLR4信号通路的早期时相 β 2AR/ β -arrestin2信号通路减弱TLR4信号通路对NF- κ B的活化, β 2AR和 β -arrestin2参与调节TLR4活化的NF- κ B信号通路, 是TLR信号通路介导的固有免疫反应过程的负调节者, 神经系统可以通过 β 2AR/ β -arrestin2信号通路调节免疫系统功能^[33]. 此外, 研究表明 β -arrestin1还通过G蛋白相关信号通路活化NF- κ B. PI3K-Akt通路是G β γ 下游的重要信号通路, Akt通过活化NF- κ B抑制细胞凋亡^[34]. β -arrestin对NF- κ B活化的双向调节说明, 在不同的信号系统中 β -arrestin通过不同的机制参与调节NF- κ B的活化.

2.4 β -arrestin对趋化因子受体信号转导通路和细胞趋化功能的调节 趋化因子属于细胞因子家族, 是具有趋化作用的细胞因子, 调节吞噬细胞和淋巴细胞的游走和活化. 趋化因子受体属于GPCR家族, 包括CXC、CC、C和CX3C 4个亚族, 趋化因子通过相应的趋化因子受体参与炎症反应并在其中起核心作用. β -arrestin可以介导多种趋化因子受体的脱敏和内化, 调节趋化因子受体的信号转导和免疫细胞的趋化功能. β -arrestin还参与调节细胞因子的表达.

CXCR1和CXCR2是IL-8的受体, β -arrestin参与IL-8诱导的CXCR1和CXCR2内化过程^[35], β -arrestin与CXCR1和CXCR2的结合依赖CXCR1和CXCR2的胞内羧基末端C尾结构的磷酸化^[35]. β -arrestin2通过调节CXCR2介导的细胞信号转导过程, 下调CXCR2介导的中性粒细胞活化, 使中性粒细胞活性下降, 降低CXCR2介导的粒细胞趋化作用^[36], β -arrestin是趋化因子诱导的粒细胞脱颗粒过程关键调节因子, IL-8激活其受体CXCR1后, β -arrestin和Hck可快速形成 β -arrestin/Hck复合物并使Hck活化, β -arrestin/Hck复合物迁移到细胞内的颗粒聚集区, 继而促进细胞内颗粒的融合与释放^[37], 发挥粒细胞的细胞毒效应.

β -arrestin可以与CXCR4胞内第3段祥环结

构和羧基末端的结合, 调节CXCR4的内化和信号转导^[38]. β -arrestin2能减弱CXCR4介导的G蛋白活化和促进CXCR4的内化, β -arrestin2还增强CXCL12活化的CXCR4介导的ERK和p38MAPK活化, 并通过ASK1/p38MAPK信号通路增强细胞因子CXCL12(SDF-1 α , 基质细胞衍生因子)活化CXCR4诱导的细胞趋化效应^[39]. 已证明 β -arrestin2缺乏的小鼠, T、B淋巴细胞趋化功能有缺陷, 低表达 β -arrestin2的淋巴细胞与高表达 β -arrestin2的淋巴细胞相比, CXCL12活化的CXCR4受体信号对G蛋白的活化增强, 而其诱导的趋化作用则减弱^[40]. β -arrestin1还参与依赖E3泛素连接酶AIP4(atrophen-interacting protein 4)的CXCR4降解过程^[41].

CCR5是调节白细胞趋化功能的重要趋化因子受体, β -arrestin作为衔接蛋白调节GRK磷酸化的CCR5的内化, 脱敏和CCR5受体再循环^[42,43]. MIP-1 β 或RANTES与巨噬细胞CCR5结合后通过G α 或不通过G α 诱导 β -arrestin、PI3K和Pyk2向细胞膜转位并联合Lyn与ERK形成多激酶信号复合物, 促进巨噬细胞的趋化^[44]. β -arrestin可以调节细胞因子信号通路和细胞因子的表达. β -arrestin1/2能通过促进LPS诱导的ERK1/2活化增强IL-8的表达, β -arrestin2通过促进LPS诱导的ERK1/2活化增强IL-6的表达^[31].

3 β -arrestin信号转导通路在IBD发生过程中的作用机制

3.1 IBD的病因 IBD包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC), 属于特发性肠道炎症, 其共同的临床表现为反复发作的特发性慢性肠道炎症, IBD的确切病因尚未明了, 但其发病可能与环境因素、免疫因素和遗传因素有关. 目前认为IBD的基础病因可能是多种遗传学异常导致的机体对肠道正常菌群的过度免疫反应, 多种基因改变导致肠道黏膜屏障和机体免疫调节功能缺陷, 在此基础上某些环境因素可致肠道菌群失调和破坏肠道黏膜屏障, 由此触发了由T淋巴细胞介导的机体对肠道正常菌群和自身组织抗原的过度免疫反应, 为免疫异常性疾病^[45-47].

3.2 β -arrestin可能通过调节免疫细胞功能参与肠道黏膜炎症的病理过程 T淋巴细胞介导的异常免疫反应被认为是IBD发生的核心因素, T淋巴细胞在黏膜免疫反应中发挥着重要的作用. 肠道持续暴露在大量微生物抗原中, 肠黏膜M细胞

■ 创新盘点

本文对 β -arrestins调节TLR/NF- κ B信号通路、免疫细胞及趋化因子的调节途径作了精确全面的叙述, 深入探讨 β -arrestins可能通过以上途径参与IBD发病过程, 并且可能成为IBD过程中诸多异常免疫反应的上游信号分子.

■应用要点

本文对 β -arrestins生物学功能作了全面的综述,便于读者了解 β -arrestins的研究进展及其在IBD发病过程中的作用,为IBD的临床治疗奠定了新的分子理论基础。 β -arrestins将成为治疗炎症性肠病的新型有效靶分子。

和DC摄取肠腔内的外来抗原后呈递给肠道相关淋巴组织(gut-associated lymphoid tissue, GALT)中的初始T淋巴细胞。在抗原刺激下未分化的初始T淋巴细胞分化为效应性T淋巴细胞(Th1, Th2和Th17)和调节性T淋巴细胞(Th3和Tr1),效应性T淋巴细胞和调节性T淋巴细胞之间的功能失衡导致肠道炎症的发生^[48]。

黏膜T淋巴细胞的功能和凋亡缺陷被认为在IBD免疫缺陷的发生过程中起着中枢性的作用。CD4⁺ T淋巴细胞凋亡缺陷是IBD发生的重要原因,促炎细胞因子TNF- α 、IL-6和IL-12可以抑制慢性肠道炎症黏膜T淋巴细胞的凋亡,使用抗IL-6和IL-12的抗体诱导T淋巴细胞的凋亡而抑制慢性肠道炎症。IL-12主要通过抑制依赖死亡受体Fas的T淋巴细胞凋亡,IL-6则可诱导IBD患者结肠黏膜T淋巴细胞内转录因子STAT3的活化,通过STAT3诱导抗凋亡基因Bcl-2和Bcl-xL的表达,抑制T淋巴细胞凋亡^[49,50]。CD患者肠黏膜组织抗凋亡蛋白Bcl-2和促凋亡蛋白Bax的比率Bcl-2/Bax升高,肠道黏膜T淋巴细胞对凋亡信号的抵抗增强^[51]。 β -arrestin可以诱导抗凋亡蛋白Bcl-2表达而抑制CD4⁺ T淋巴细胞的凋亡,促进刺激性TCR信号对T淋巴细胞功能的完全活化,提示 β -arrestin可能通过抑制效应性T淋巴细胞的凋亡导致其在病变肠道局部的聚集和促进效应性T淋巴细胞的过度活化参与肠道慢性炎症的发生。

NK细胞和巨噬细胞等固有免疫细胞也参与IBD的病理过程。NK细胞分泌促炎细胞因子IL-13,并通过细胞毒性作用导致直接的肠道组织损伤。效应性T淋巴细胞分泌的促炎细胞因子刺激巨噬细胞分泌TNF- α 、IL-1和IL-6等促炎细胞因子,病变部位的白细胞也通过分泌趋化因子募集更多的炎症细胞到病变部位,募集的炎症细胞通过释放更多的炎症介质进一步增强炎症反应和组织损害^[46]。 β -arrestin2抑制NK细胞的细胞毒性作用,促进巨噬细胞表达补体C1q和降低巨噬细胞的生存能力,说明 β -arrestin2可以通过调节固有免疫细胞的功能影响上述过程而参与IBD的病理过程。

此外,发生IBD时肠道黏膜肥大细胞脱颗粒释放胰蛋白酶裂解结肠细胞膜基侧部PAR2受体,结肠细胞 β -arrestin募集ERK1/2到包含PAR2的内体并保留在细胞质中使PAR2活化ERK1/2,活化的ERK1/2进而影响结肠细胞紧密连接蛋白和F肌动蛋白的分布,削弱了结肠细胞间的连接,

增加了细胞间的通透性,提高了肠黏膜的通透性^[52]。

3.3 β -arrestin可能通过调节NF- κ B的活化参与IBD的发病过程。NF- κ B在IBD的病理机制中扮演着重要的角色,IBD患者病变的结肠组织中NF- κ B表达增高,NF- κ B促进多种促炎细胞因子的表达,参与IBD的病理过程,阻断NF- κ B的活性是治疗IBD的重要途径之一^[53]。TLR信号是固有免疫中NF- κ B活化的重要途径,在正常机体中TLR/NF- κ B信号通路处于适当的调节之下,调节机制的破坏可以导致肠道炎症的发生,TLR/NF- κ B信号通路参与IBD的发病机制^[54,55], β -arrestin通过与I κ B α 和TRAF6相互作用限制NF- κ B的活化,并通过 β 2AR/ β -arrestin2信号通路与TLR/NF- κ B信号通路的交叉对话等机制调节TLR活化的NF- κ B活性^[56]。 β -arrestin可以通过调节NF- κ B的活化而影响多种炎症相关基因的表达,参与IBD的炎症反应和免疫调节过程。

3.4 β -arrestin调节趋化因子受体的功能参与IBD的病理过程。趋化因子及趋化因子受体在黏膜免疫反应中具有重要作用,是维持黏膜免疫稳态的关键调节者之一,参与IBD的肠道黏膜炎症反应过程^[57]。阻断趋化因子受体信号可以缓解实验性IBD模型的组织病变和临床症状,IL-8(CXCL8)是重要促炎细胞因子,也是与IBD密切相关的趋化因子,IL-8的受体CXCR2与IBD的发生密切相关,在DSS诱导的UC模型中,CXCR2^{-/-}小鼠的症状和组织病变均比野生型小鼠轻^[58],选择性的CXCR2拮抗剂SB225002可以明显缓解三硝基苯磺酸诱导的小鼠结肠炎^[59]。在DSS诱导的小鼠结肠炎模型中趋化因子CXCL12在小鼠结肠组织中的表达升高,其受体CXCR4在小鼠外周血T淋巴细胞的表达增加,用CXCR4拮抗剂TF14016阻断CXCL12/CXCR4信号轴可以抑制白细胞迁移和趋化,降低促炎细胞因子的表达,缓解DSS诱导的小鼠结肠炎病变^[60]。而细胞因子受体非肽类拮抗剂TAK-779同时阻断CCR2、CCR5和CXCR3,可以缓解DSS诱导的小鼠结肠炎^[61]。 β -arrestin参与CXCR2、CXCR4和CCR5等多种趋化因子受体的脱敏、内化和信号传导过程。 β -arrestin通过调节趋化因子受体的功能参与IBD的免疫细胞的趋化功能和粒细胞的脱颗粒过程,可以影响IBD中的肠道黏膜炎症反应过程,参与IBD的发病。

4 结论

β -arrestin调节GPCR相关信号转导通路,终止G

蛋白信号, 与Src一起激活MAPK信号转导通路, 具有广泛的生物学功能, 参与免疫炎症反应过程. β -arrestin与IKK、 $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ 和TRAF6直接作用抑制NF- κB 的基础活性; 通过 $\beta\text{2AR}/\beta$ -arrestin2信号通路与TLR/NF- κB 信号通路交叉对话, 参与神经免疫调节, 抑制固有免疫炎症反应. β -arrestin抑制T淋巴细胞凋亡和促进T淋巴细胞活化, 抑制NK细胞的细胞毒性作用, 增强巨噬细胞C1q的表达, 限制巨噬细胞的“因子非依赖性生存”, 参与肠道炎症过程中肥大细胞对肠黏膜通透性的调节, 并通过调节趋化因子受体CXCR2、CXCR4、CCR5的内化、脱敏和信号转导功能, 调节免疫细胞的趋化和中性粒细胞的脱颗粒过程. β -arrestin通过这些机制调节免疫炎症反应, 而在IBD的病理过程中也涉及同样的免疫调节的紊乱, 说明 β -arrestin可能参与IBD肠道黏膜的炎症反应过程. β -arrestin广泛参与黏膜炎症反应和多样的生物功能使其成为研究IBD病理机制的可能目标, 所以对 β -arrestin的深入研究必将进一步揭示IBD的发病机制, 也为IBD的治疗提供了新的思路.

5 参考文献

- Pierce KL, Lefkowitz RJ. Classical and new roles of beta-arrestins in the regulation of G-protein-coupled receptors. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 727-733
- DeWire SM, Ahn S, Lefkowitz RJ, Shenoy SK. Beta-arrestins and cell signaling. *Annu Rev Physiol* 2007; 69: 483-510
- Nakagawa M, Orii H, Yoshida N, Jojima E, Horie T, Yoshida R, Haga T, Tsuda M. Ascidian arrestin (Ciarr), the origin of the visual and nonvisual arrestins of vertebrate. *Eur J Biochem* 2002; 269: 5112-5118
- Modzelewska A, Filipek S, Palczewski K, Park PS. Arrestin interaction with rhodopsin: conceptual models. *Cell Biochem Biophys* 2006; 46: 1-15
- Han M, Gurevich VV, Vishnivetskiy SA, Sigler PB, Schubert C. Crystal structure of beta-arrestin at 1.9 Å: possible mechanism of receptor binding and membrane translocation. *Structure* 2001; 9: 869-880
- Xiao K, Shenoy SK, Nobles K, Lefkowitz RJ. Activation-dependent conformational changes in {beta}-arrestin 2. *J Biol Chem* 2004; 279: 55744-55753
- Milano SK, Pace HC, Kim YM, Brenner C, Benovic JL. Scaffolding functions of arrestin-2 revealed by crystal structure and mutagenesis. *Biochemistry* 2002; 41: 3321-3328
- Barki-Harrington L, Rockman HA. Beta-arrestins: multifunctional cellular mediators. *Physiology* (Bethesda) 2008; 23: 17-22
- Luttrell LM, Lefkowitz RJ. The role of beta-arrestins in the termination and transduction of G-protein-coupled receptor signals. *J Cell Sci* 2002; 115: 455-465
- Brown MD, Sacks DB. Protein scaffolds in MAP kinase signalling. *Cell Signal* 2009; 21: 462-469
- Kendall RT, Luttrell LM. Diversity in arrestin function. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66: 2953-2973
- Miller WE, Lefkowitz RJ. Expanding roles for beta-arrestins as scaffolds and adapters in GPCR signaling and trafficking. *Curr Opin Cell Biol* 2001; 13: 139-145
- Beaulieu JM, Caron MG. Beta-arrestin goes nuclear. *Cell* 2005; 123: 755-757
- Mo W, Zhang L, Yang G, Zhai J, Hu Z, Chen Y, Chen X, Hui L, Huang R, Hu G. Nuclear beta-arrestin1 functions as a scaffold for the dephosphorylation of STAT1 and moderates the antiviral activity of IFN-gamma. *Mol Cell* 2008; 31: 695-707
- Lohse MJ, Klenk C. Blocking them all: beta-arrestins inhibit cellular signaling. *Mol Cell* 2008; 31: 619-621
- Taskén K, Stokka AJ. The molecular machinery for cAMP-dependent immunomodulation in T-cells. *Biochem Soc Trans* 2006; 34: 476-479
- Abrahamsen H, Baillie G, Ngai J, Vang T, Nika K, Ruppelt A, Mustelin T, Zaccolo M, Houslay M, Taskén K. TCR- and CD28-mediated recruitment of phosphodiesterase 4 to lipid rafts potentiates TCR signaling. *J Immunol* 2004; 173: 4847-4858
- Shi Y, Feng Y, Kang J, Liu C, Li Z, Li D, Cao W, Qiu J, Guo Z, Bi E, Zang L, Lu C, Zhang JZ, Pei G. Critical regulation of CD4+ T cell survival and autoimmunity by beta-arrestin 1. *Nat Immunol* 2007; 8: 817-824
- Kang J, Shi Y, Xiang B, Qu B, Su W, Zhu M, Zhang M, Bao G, Wang F, Zhang X, Yang R, Fan F, Chen X, Pei G, Ma L. A nuclear function of beta-arrestin1 in GPCR signaling: regulation of histone acetylation and gene transcription. *Cell* 2005; 123: 833-847
- Frederick TJ, Miller SD. Arresting autoimmunity by blocking beta-arrestin 1. *Nat Immunol* 2007; 8: 791-792
- Yu MC, Su LL, Zou L, Liu Y, Wu N, Kong L, Zhuang ZH, Sun L, Liu HP, Hu JH, Li D, Strominger JL, Zang JW, Pei G, Ge BX. An essential function for beta-arrestin 2 in the inhibitory signaling of natural killer cells. *Nat Immunol* 2008; 9: 898-907
- Bryceson YT, Ljunggren HG. Arrestin NK cell cytotoxicity. *Nat Immunol* 2008; 9: 835-836
- Lattin JE, Greenwood KP, Daly NL, Kelly G, Zidar DA, Clark RJ, Thomas WG, Kellie S, Craik DJ, Hume DA, Sweet MJ. Beta-arrestin 2 is required for complement C1q expression in macrophages and constrains factor-independent survival. *Mol Immunol* 2009; 47: 340-347
- Loniewski K, Shi Y, Pestka J, Parameswaran N. Toll-like receptors differentially regulate GPCR kinases and arrestins in primary macrophages. *Mol Immunol* 2008; 45: 2312-2322
- Karin M, Yamamoto Y, Wang QM. The IKK NF-kappa B system: a treasure trove for drug development. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3: 17-26
- Chen F. Arresting NF-kappaB by beta-arrestin2. *Cell Death Differ* 2004; 11: 1155-1156
- Wetherow DS, Garrison TR, Miller WE, Lefkowitz RJ. beta-Arrestin inhibits NF-kappaB activity by means of its interaction with the NF-kappaB inhibitor IkappaBalpha. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 8603-8607
- Gao H, Sun Y, Wu Y, Luan B, Wang Y, Qu B, Pei G. Identification of beta-arrestin2 as a G protein-coupled receptor-stimulated regulator of NF-kappaB pathways. *Mol Cell* 2004; 14: 303-317
- Luan B, Zhang Z, Wu Y, Kang J, Pei G. Beta-arrestin2 functions as a phosphorylation-regulated suppressor of UV-induced NF-kappaB activation. *EMBO J* 2005; 24: 4237-4246
- Wang Y, Tang Y, Teng L, Wu Y, Zhao X, Pei G. Association of beta-arrestin and TRAF6 negatively regulates Toll-like receptor-interleukin 1 receptor

同行评价

本文结构合理清晰, 内容新颖前沿, 具有重要的参考价值 and 指导意义.

- signaling. *Nat Immunol* 2006; 7: 139-147
- 31 Fan H, Luttrell LM, Tempel GE, Senn JJ, Halushka PV, Cook JA. Beta-arrestins 1 and 2 differentially regulate LPS-induced signaling and pro-inflammatory gene expression. *Mol Immunol* 2007; 44: 3092-3099
 - 32 Kizaki T, Izawa T, Sakurai T, Haga S, Taniguchi N, Tajiri H, Watanabe K, Day NK, Toba K, Ohno H. Beta2-adrenergic receptor regulates Toll-like receptor-4-induced nuclear factor-kappaB activation through beta-arrestin 2. *Immunology* 2008; 124: 348-356
 - 33 Kizaki T, Shirato K, Sakurai T, Ogasawara JE, Ohishi S, Matsuoka T, Izawa T, Imaizumi K, Haga S, Ohno H. Beta2-adrenergic receptor regulate Toll-like receptor 4-induced late-phase NF-kappaB activation. *Mol Immunol* 2009; 46: 1195-1203
 - 34 Yang M, He RL, Benovic JL, Ye RD. beta-Arrestin1 interacts with the G-protein subunits beta1gamma2 and promotes beta1gamma2-dependent Akt signaling for NF-kappaB activation. *Biochem J* 2009; 417: 287-296
 - 35 Richardson RM, Marjoram RJ, Barak LS, Snyderman R. Role of the cytoplasmic tails of CXCR1 and CXCR2 in mediating leukocyte migration, activation, and regulation. *J Immunol* 2003; 170: 2904-2911
 - 36 Su Y, Raghuvanshi SK, Yu Y, Nanney LB, Richardson RM, Richmond A. Altered CXCR2 signaling in beta-arrestin-2-deficient mouse models. *J Immunol* 2005; 175: 5396-5402
 - 37 Barlic J, Andrews JD, Kelvin AA, Bosinger SE, DeVries ME, Xu L, Dobransky T, Feldman RD, Ferguson SS, Kelvin DJ. Regulation of tyrosine kinase activation and granule release through beta-arrestin by CXCR1. *Nat Immunol* 2000; 1: 227-233
 - 38 Cheng ZJ, Zhao J, Sun Y, Hu W, Wu YL, Cen B, Wu GX, Pei G. beta-arrestin differentially regulates the chemokine receptor CXCR4-mediated signaling and receptor internalization, and this implicates multiple interaction sites between beta-arrestin and CXCR4. *J Biol Chem* 2000; 275: 2479-2485
 - 39 Sun Y, Cheng Z, Ma L, Pei G. Beta-arrestin2 is critically involved in CXCR4-mediated chemotaxis, and this is mediated by its enhancement of p38 MAPK activation. *J Biol Chem* 2002; 277: 49212-49219
 - 40 Fong AM, Premont RT, Richardson RM, Yu YR, Lefkowitz RJ, Patel DD. Defective lymphocyte chemotaxis in beta-arrestin2- and GRK6-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 7478-7483
 - 41 Bhandari D, Trejo J, Benovic JL, Marchese A. Arrestin-2 interacts with the ubiquitin-protein isopeptide ligase atrophin-interacting protein 4 and mediates endosomal sorting of the chemokine receptor CXCR4. *J Biol Chem* 2007; 282: 36971-36979
 - 42 Aramori I, Ferguson SS, Bieniasz PD, Zhang J, Cullen B, Cullen MG. Molecular mechanism of desensitization of the chemokine receptor CCR-5: receptor signaling and internalization are dissociable from its role as an HIV-1 co-receptor. *EMBO J* 1997; 16: 4606-4616
 - 43 Mueller A, Kelly E, Strange PG. Pathways for internalization and recycling of the chemokine receptor CCR5. *Blood* 2002; 99: 785-791
 - 44 Cheung R, Malik M, Ravyn V, Tomkowicz B, Ptasznik A, Collman RG. An arrestin-dependent multi-kinase signaling complex mediates MIP-1beta/CCL4 signaling and chemotaxis of primary human macrophages. *J Leukoc Biol* 2009; 86: 833-845
 - 45 Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006; 3: 390-407
 - 46 Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 2007; 369: 1627-1640
 - 47 Wen Z, Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: autoimmune or immune-mediated pathogenesis? *Clin Dev Immunol* 2004; 11: 195-204
 - 48 Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 521-533
 - 49 Mudter J, Neurath MF. Apoptosis of T cells and the control of inflammatory bowel disease: therapeutic implications. *Gut* 2007; 56: 293-303
 - 50 Neurath MF, Finotto S, Fuss I, Boirivant M, Galle PR, Strober W. Regulation of T-cell apoptosis in inflammatory bowel disease: to die or not to die, that is the mucosal question. *Trends Immunol* 2001; 22: 21-26
 - 51 Itoh J, de La Motte C, Strong SA, Levine AD, Fiocchi C. Decreased Bax expression by mucosal T cells favours resistance to apoptosis in Crohn's disease. *Gut* 2001; 49: 35-41
 - 52 Jacob C, Yang PC, Darmoul D, Amadesi S, Saito T, Cottrell GS, Coelho AM, Singh P, Grady EF, Perdue M, Bunnett NW. Mast cell tryptase controls paracellular permeability of the intestine. Role of protease-activated receptor 2 and beta-arrestins. *J Biol Chem* 2005; 280: 31936-31948
 - 53 Fan H, Shen L, Tang Q, Xiong P, Shou Z, Liao Y, Liang L, Chen X. Effect of Wumeiwan on cytokines TNF-alpha, IL-6, IL-8, IL-10 and expression of NF-kappaBp65 in rats with ulcerative colitis. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2009; 29: 650-654
 - 54 Tak PP, Firestein GS. NF-kappaB: a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest* 2001; 107: 7-11
 - 55 Karrasch T, Jobin C. NF-kappaB and the intestine: friend or foe? *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 114-124
 - 56 梁丽, 范恒, 段雪云, 陈小艳, 张丽娟, 唐庆, 廖奕, 刘星星, 钟敏. 溃疡性结肠炎大鼠β2AR、β-arrestin2、NF-κB p65的表达及乌梅丸的干预作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1650-1655
 - 57 Zimmerman NP, Vongsa RA, Wendt MK, Dwinell MB. Chemokines and chemokine receptors in mucosal homeostasis at the intestinal epithelial barrier in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1000-1011
 - 58 Buanne P, Di Carlo E, Caputi L, Brandolini L, Mosca M, Cattani F, Pellegrini L, Biordi L, Coletti G, Sorrentino C, Fedele G, Colotta F, Melillo G, Bertini R. Crucial pathophysiological role of CXCR2 in experimental ulcerative colitis in mice. *J Leukoc Biol* 2007; 82: 1239-1246
 - 59 Bento AF, Leite DF, Claudino RF, Hara DB, Leal PC, Calixto JB. The selective nonpeptide CXCR2 antagonist SB225002 ameliorates acute experimental colitis in mice. *J Leukoc Biol* 2008; 84: 1213-1221
 - 60 Mikami S, Nakase H, Yamamoto S, Takeda Y, Yoshino T, Kasahara K, Ueno S, Uza N, Oishi S, Fujii N, Nagasawa T, Chiba T. Blockade of CXCL12/CXCR4 axis ameliorates murine experimental colitis. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 327: 383-392
 - 61 Tokuyama H, Ueha S, Kurachi M, Matsushima K, Moriyasu F, Blumberg RS, Kakimi K. The simultaneous blockade of chemokine receptors CCR2, CCR5 and CXCR3 by a non-peptide chemokine receptor antagonist protects mice from dextran sodium sulfate-mediated colitis. *Int Immunol* 2005; 17: 1023-1034

克罗恩病的外科治疗策略

兰平, 何小文

兰平, 何小文, 中山大学附属第六医院结直肠肛门外科 广东省广州市 510655
国家自然科学基金资助项目, No. 30872461
广东省自然科学基金资助项目, No. 8151008901000107
作者贡献分布: 兰平为本文的主要撰写者; 何小文负责相关文献的检索与收集整理。
通讯作者: 兰平, 教授, 510655, 广东省广州市天河区员村二横路26号, 中山大学附属第六医院结直肠肛门外科. lpzm@yahoo.com
电话: 020-38254052
收稿日期: 2010-03-11 修回日期: 2010-09-19
接受日期: 2010-10-17 在线出版日期: 2010-10-18

Surgical strategies for Crohn's disease

Ping Lan, Xiao-Wen He

Ping Lan, Xiao-Wen He, Department of Colorectal & Anal Surgery, the Sixth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510655, Guangdong Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30872461; and the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 8151008901000107
Correspondence to: Professor Ping Lan, Department of Colorectal & Anal Surgery, the Sixth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, 26 Yuanchun Erheng Road, Guangzhou 510655, Guangdong Province, China. lpzm@yahoo.com
Received: 2010-03-11 Revised: 2010-09-19
Accepted: 2010-10-17 Published online: 2010-10-18

Abstract

Crohn's disease (CD) is a chronic relapsing inflammatory disease of the intestine that may affect the entire digestive tract and present with various types of manifestations, including obstruction, internal or external fistula, abdominal abscess, bleeding, and perforation. Currently, neither medical therapy nor surgery can cure this chronic disease. Optimum management of CD patients requires an interactive partnership among gastroenterologist, surgeon and patient. It is estimated that approximately 80% of CD patients will require surgery at some point during their lifetime. This article reviews the surgical management strategies for CD, including indications for surgery and choice of procedures.

Key Words: Crohn's disease; Surgery; Therapy; Indication

Lan P, He XW. Surgical strategies for Crohn's disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3121-3124

摘要

克罗恩病是一种慢性复发肠道炎性疾病, 可累及全消化系, 其临床表现多样, 包括梗阻、内/外瘘、腹腔脓肿、出血、穿孔等。目前, 无论药物还是手术治疗均难以治愈这类疾病, 通常需要胃肠病专家、外科医生及患者来共同参与制定最佳的治疗方案。约80%的患者在病程中至少接受1次手术治疗。本文系统地阐述了克罗恩病的外科治疗策略, 包括手术指征及术式选择。

关键词: 克罗恩病; 外科; 治疗; 适应证

兰平, 何小文. 克罗恩病的外科治疗策略. *世界华人消化杂志* 2010; 18(29): 3121-3124
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3121.asp>

0 引言

克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种病因尚不十分明确的消化系慢性炎性肉芽肿性疾病, 由纽约Mount Sinai医院的Burrill和Crohn于1932年首次报告, 与溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)同为炎症性肠病。CD多见于美国、西欧、北欧和东欧, 我国等亚洲国家相对少见, 但近年来有逐渐增多的趋势, 日本目前的发病率已经接近欧美, 可以预见其将成为我国消化系统较常见疾病之一。

CD可发生于从口腔至肛门的消化系任何部位, 其中以回盲部最多见, 呈透壁性、节段性、非对称性分布, 易发生瘘管及脓肿。多数患者病情呈长期反复发作, 且患者多为青壮年, 严重影响个人生活质量甚至危及患者生命。CD在一定程度上被认为是一种难以治愈的终身性疾病, 通常需要胃肠病专家、外科医生及患者共同参与来制定最佳的治疗方案。Fazio等^[1]总结CD的三大特征为: 大多数患者在某时需手术治疗; 永远有再次手术的可能; 始发病变的类型不同时, 其预后和复发也不同。据文献报道约80%的患者在病程中需至少接受1次手术治疗。通过外科干预, 常可缓解症状、改善病情、提高患者的生活质量, 但术后有较高的复发率及再手术率。外

■背景资料

克罗恩病(CD)是一种病因尚不十分明确的消化系慢性炎性肉芽肿性疾病, 由纽约Mount Sinai医院的Burrill和Crohn于1932年首次报告, 与溃疡性结肠炎(UC)同为炎症性肠病。

■同行评议者

杨柏霖, 副主任医师, 南京中医药大学附属医院结直肠外科

■相关报道

Gutierrez等对66例非手术治疗的并发腹腔脓肿的CD患者进行了1年随访,发现约1/3患者最终需要外科干预。

科医生应与消化科等多学科的医生展开协助,在充分了解患者病情的情况下,准确掌握手术适应证并选择应用合理有效的手术方式。

1 手术适应证

CD虽以药物治疗为主,但常涉及外科治疗。手术时机和适应证的准确把握是关键,亦是难点,外科医生在诊治过程中,应与内科医生紧密合作,并充分考虑到患者本人的意愿。根据相关文献^[2,3]及我们的实践经验,我们认为出现以下情况应考虑手术干预:(1)药物治疗失败:药物治疗难以控制或病情继续进展、不能耐受药物治疗的副作用、不能坚持服药;(2)严重并发症:肠梗阻、腹腔脓肿、肠痿、游离性肠穿孔、大出血、癌肿形成、中毒性巨结肠、药物治疗无效的肛周疾病;(3)其他:儿童生长发育迟缓及严重的肠外表现(药物治疗不能缓解)等。外科治疗的目的多是解决并发症给患者带来的症状,提高生活质量,这些并发症都是在患病后一段时间发生、患者的全身情况常处于较差的状态,因此充分的术前准备是必要的,如感染控制、营养支持,除伴有大量出血外,一般不宜施行急诊手术。

2 手术方式

应根据CD病变部位(小肠或结肠)、严重程度、内科治疗情况、患者全身状况及患者意愿,来选择相应的手术方式,主要包括:病变肠段切除术、狭窄成形术和肠旁路手术等。

2.1 病变肠段切除术 病变小肠肠段切除术是CD手术治疗的传统术式之一,由于其效果较肯定而被大多数外科医生所接受。传统观点认为,为减少术后复发,切除肠管两端应距肉眼病变10 cm以上。然而CD有累及全消化系的特性,且术后复发率高,常需要再次手术,容易导致短肠综合征。90年代后很少学者坚持传统“扩大切除”的观点,目前主张较保守的切除范围。Fazio等^[4]将131例拟行小肠肠段切除治疗的CD患者随机分成两组,其中肠管切除范围限于肉眼病变肠管两侧2 cm组75例、切除范围达肉眼病变肠管两侧12 cm组56例,对这两组患者进行随访,结果发现虽然“扩大切除”组的术后复发率稍低,但其差异并无统计学意义(25% vs 18%)。也有学者提出,为减少术后复发,应采取术中快速冰冻切片确定切除范围,但是,Fazio等^[4]的研究结果同样证实了,术中快速冰冻切片检查对术后复发率和再手术率并无影响。因此,我们在手

术切除CD小肠病变时应遵循“节省肠管”的原则,建议根据肉眼下判断的病变范围切除肠管。

对于结肠CD患者,根据病变为局限性或弥漫性,可相应采用单纯回肠造口、结肠节段切除、次全结肠切除加回肠造口、全结肠切除加回直肠吻合以及结直肠切除加回肠造口。对结肠节段性病变的手术切除范围,意见尚未统一。Tekkis等^[5]进行的一项Meta分析认为,结肠节段性切除术(segmental colectomy, SC)与全结肠切除回肠直肠吻合术(ileorectal anastomosis, IRA)两种术式的术后复发率及并发症发生率并无差异,但行IRA者术后复发的平均时间较前者推迟约4.4年。亦有研究表明,SC和IRA这两种术式的术后复发率相似,但行SC者术后功能优于IRA者。我们认为,节段结肠切除可保留结肠长度,适用于结肠病变局限者;若CD患者有2段或更多节段的结肠受累,则可行全结肠切除回肠直肠吻合术;而对于弥漫性结直肠炎的患者,可考虑行全结直肠切除、回肠造口术。

2.2 狭窄成形术 对小肠CD施行再次手术或广泛切除的危险之一是发生短肠综合征,采用狭窄成形术通过松解和扩大狭窄部位,避免了肠切除,已成为确定性手术方法。该术式可治疗梗阻性CD,特别是多处较短纤维化狭窄、多次空肠回肠狭窄以及已行广泛多次手术有短肠综合征危险的患者。其手术禁忌为:(1)伴有痿、穿孔、出血等并发症者;(2)较短肠管(<20 cm)内多处狭窄;(3)临近肠切除吻合口处的狭窄。同时对于初次手术者,也不建议行狭窄成形术。对于7 cm以内的狭窄,可行Heineke-Mikulicz狭窄成形术;7-10 cm之间的狭窄,宜用Finney狭窄成形术;狭窄段>15 cm或一段肠管多处狭窄其长度达到30 cm,宜行Michelassi等^[6]设计的顺蠕动肠侧侧吻合狭窄成形术,可预防憩室形成。实际工作中,我们应根据狭窄的数目及特点,做1个或多个狭窄成形术,也可在肠切除的同时行狭窄成形术。对于孤立、短段的轻至中度狭窄病变,在内镜能到达的情况下,亦可考虑内镜下扩张治疗^[7]。

Cleveland临床中心完成了一项大宗病例研究,他们对162例患者施行了698次狭窄成形术,与肠切除后再手术率相似,报道的狭窄成形术后5年累计再手术率约为28%,其中因原位再狭窄而需要手术的仅为5%^[8]。Fearnhead等^[9]对100例患者共479次狭窄成形术进行随访,平均随访时间是85 mo,总的并发症发生率是22.6%,其中感染综合征(吻合口漏、脓肿、痿)发生率

为11.3%, 出血发生率3.8%, 梗阻复发率4.4%, 围手术期死亡率为0.6%。最近, 一项荟萃分析系统回顾了1975-2005年发表的CD狭窄成形术及效果的相关文献, 其结果显示: 共1 112例患者接受狭窄成形术3 259次(Heineke-Mikulicz术占81%, Finney术占10%, isoperistaltic侧侧吻合术占5%); 狭窄成形术部位为空肠或回肠(94%)、以前的吻合口部位(4%)、十二指肠(1%)、结肠(1%); 空肠回肠狭窄成形术(包括回肠结肠狭窄成形术)术后感染并发症(瘘、脓肿)发生率4%, 总的手术复发率23%; 采用荟萃分析, 狭窄成形术后5年复发率为28%, 其中, 90%患者在非狭窄成形部位复发, 2例患者在之前行空肠回肠狭窄成形部位发生腺癌, 而十二指肠和结肠狭窄成形术则经验有限^[10]。可见, 对于选择性的CD病例, 狭窄成形术是一种安全、有效的手术方式, 需要注意的是在行狭窄成形术之前, 应行快速冰冻切片检查, 以排出恶变可能。

2.3 肠旁路手术 通过分流肠内容物, 使病变肠段得到“休息”, 从而使病变处于静止状态, 但该术式不能使病变痊愈且有发生盲襻综合征及局部癌变的可能, 目前应用较少, 主要适于药物难治性的胃/十二指肠病变(胃空肠吻合/十二指肠空肠吻合术), 或用于暂时性缓解梗阻。

2.4 回肠储袋肛管吻合术 CD患者行回肠储袋肛管吻合术的主要原因是术前诊断不明确或被误诊为UC。由于CD患者术后发生储袋失败、储袋切除、大便失禁及储袋炎等并发症的比例远较UC为高, CD患者一般不推荐行回肠储袋肛管吻合术。当然, 如果CD患者无小肠、肛管、肛周病变, 且患者又可以接受其并发症及一期吻合失败的可能, 行回肠储袋肛管吻合术替代全结肠直肠切除加回肠末段造口亦是可行的^[11,12]。

3 肛周病变的处理

肛周病变在欧美国家发生率高, 我国较低。主要表现为肛周脓肿、肛瘘、肛门狭窄及肛管直肠阴道瘘等。一般认为, 若病变未累及结肠, 可通过药物或局部手术治疗, 无需永久性造口。单纯性肛周脓肿宜早期切开引流, 且切口尽量靠近肛缘, 减少肛瘘发生。低位肛瘘通过切开或切除术可获得良好的疗效; 高位肛瘘应行挂线治疗, 以保护括约肌的功能。对于直肠内病变严重的复杂瘘、肛门失禁及肛门明显狭窄等, 在药物治疗和局部处理失败后, 应及时行直肠切除、永久性结肠造口或小肠造口, 以解除患者的痛

苦, 提高患者的生活质量。

4 CD并发症的处理

4.1 出血 CD患者便血的发生率约为31%, 合并大出血少见, 另外有13%的患者大便潜血阳性, 以结肠病变者为多。合并大出血时, 若保守治疗不能奏效, 应积极进行手术。手术前应行血管造影检查, 如考虑为结肠病变出血, 可行纤维结肠镜检查, 明确出血部位、病变严重程度。

4.2 穿孔 游离穿孔合并弥漫性腹膜炎约占CD患者的1%-2%。90%发生在末端回肠, 最常见于系膜对侧缘; 10%发生在空肠。CD游离穿孔较少发生气腹, 一旦确诊, 必须急症切除病变肠段, 近端外置作回肠造口。亦有行病变肠段切除一期吻合的报道, 主要是根据患者的全身情况、腹腔污染情况以及病变的程度和范围而定。穿孔单纯修补术的病死率和并发症发生率高, 不宜施行。

4.3 腹腔脓肿 CD患者腹腔脓肿的发生率约为25%。对于较小的腹腔脓肿可采取保守治疗或行腹腔脓肿引流术, 如B超或CT引导下的经皮穿刺置管引流等; 如治疗失败或脓肿中含有肠内容物则需要剖腹探查行病变肠段切除术。Gutierrez等^[13]对66例非手术治疗的并发腹腔脓肿的CD患者进行了1年随访, 发现约1/3患者最终需要外科干预。

4.4 肠瘘 肠瘘合并腹腔脓肿或者梗阻是CD患者的手术指征。内瘘是最常见的形式, 发生率约为30%-40%, 为CD向邻近的小肠、结肠、膀胱等器官穿透形成。由于CD并不向穿透的组织扩散和侵袭, 因此手术只需切除病变肠段, 而被穿透无病变的组织器官清创单纯修补即可。需要注意的是, 回肠乙状结肠瘘单纯将乙状结肠清创缝合会有较高的吻合口瘘发生率, 故需要部分切除乙状结肠。外瘘的发生率较低, 但是其对机体的影响较大, 一旦发生, 早期积极引流和抗感染治疗。待病情稳定、局部炎症消退、CD非活动期时可行病变肠段切除术吻合、皮肤窦道切除术。若腹壁缺损不大可直接缝合, 如果腹壁缺损较大则可选用适当的材料进行修补。

5 腹腔镜的应用

施行腹腔镜手术亦是CD患者的选择之一, 腹腔镜不仅可以帮助确定诊断CD, 还可以同时进行治疗, 且认为是安全和有效的^[14]。腹腔镜手术具有伤口美观、住院时间短、术后疼痛轻、肠道

■应用要点

本文系统地阐述了克罗恩病的外科治疗策略, 包括手术指征及术式选择。

■同行评价

本文科学性和可读性较好,对指导临床工作有较为重要的意义。

功能恢复快等优点;另外,CD患者可能需要多次手术,对同一个患者坚持腹腔镜手术有两个好处:其一,再次腹腔镜手术具有等同第1次腹腔镜手术的优点,如伤口美观、肠道功能早期恢复等。其二,腹腔镜手术减少粘连,从而减少术后梗阻症状的出现,第1次手术时只要情况允许就选择腹腔镜路径,这对患者有长期的益处。值得注意的是,由于出血、炎性包块、瘘等难以处理的原因,部分腹腔镜手术需中转开腹。

6 结论

术后易复发以及须再次手术是CD的一个重要特性,CD患者一生之中可能需要多次手术,在接受第1次手术后的10年内约有50%的复发者需要再次手术^[15]。外科医生必须认识到,与UC不同,CD手术只是针对其并发症而施行,而不能达到治愈,过度的切除性手术治疗可能导致短肠综合征等灾难性的后果。手术时应遵循“节省肠管”的保守原则,全面探查肠管,了解病变范围,需要手术处理的只是那些有明显并发症的部位。同时,为取得满意的治疗效果,外科医生在术前、术后应与内科医生及患者密切配合,制定合理有效的治疗方案,包括坚持内科药物治疗、鼓励患者戒烟等,以保证患者能够获得最佳的生活质量。

7 参考文献

- 1 Fazio VW, Wu JS. Surgical therapy for Crohn's disease of the colon and rectum. *Surg Clin North Am* 1997; 77: 197-210
- 2 Alós R, Hinojosa J. Timing of surgery in Crohn's disease: a key issue in the management. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5532-5539
- 3 Hyman NH. Crohn's disease: drug therapy or surgery? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2007; 1: 187-192
- 4 Fazio VW, Marchetti F, Church M, Goldblum JR,

- Lavery C, Hull TL, Milsom JW, Strong SA, Oakley JR, Secic M. Effect of resection margins on the recurrence of Crohn's disease in the small bowel. A randomized controlled trial. *Ann Surg* 1996; 224: 563-571; discussion 571-573
- 5 Tekkis PP, Purkayastha S, Lanitis S, Athanasiou T, Heriot AG, Orchard TR, Nicholls RJ, Darzi AW. A comparison of segmental vs subtotal/total colectomy for colonic Crohn's disease: a meta-analysis. *Colorectal Dis* 2006; 8: 82-90
- 6 Michelassi F, Upadhyay GA. Side-to-side isoperistaltic stricturoplasty in the treatment of extensive Crohn's disease. *J Surg Res* 2004; 117: 71-78
- 7 Ferlitsch A, Reinisch W, Püspök A, Dejaco C, Schilling M, Schöfl R, Pötzi R, Gangl A, Vogelsang H. Safety and efficacy of endoscopic balloon dilation for treatment of Crohn's disease strictures. *Endoscopy* 2006; 38: 483-487
- 8 Ozuner G, Fazio VW, Lavery IC, Church JM, Hull TL. How safe is stricturoplasty in the management of Crohn's disease? *Am J Surg* 1996; 171: 57-60; discussion 60-61
- 9 Fearnhead NS, Chowdhury R, Box B, George BD, Jewell DP, Mortensen NJ. Long-term follow-up of stricturoplasty for Crohn's disease. *Br J Surg* 2006; 93: 475-482
- 10 Yamamoto T, Fazio VW, Tekkis PP. Safety and efficacy of stricturoplasty for Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Dis Colon Rectum* 2007; 50: 1968-1986
- 11 兰平, 何晓生. 克罗恩病的外科治疗. *医学新知杂志* 2007; 17: 3-5
- 12 Joyce MR, Fazio VW. Can ileal pouch anal anastomosis be used in Crohn's disease? *Adv Surg* 2009; 43: 111-137
- 13 Gutierrez A, Lee H, Sands BE. Outcome of surgical versus percutaneous drainage of abdominal and pelvic abscesses in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2283-2289
- 14 Fichera A, Peng SL, Elisseou NM, Rubin MA, Hurst RD. Laparoscopy or conventional open surgery for patients with ileocolonic Crohn's disease? A prospective study. *Surgery* 2007; 142: 566-571; discussion 571.e1
- 15 Bernell O, Lapidus A, Hellers G. Risk factors for surgery and recurrence in 907 patients with primary ileocaecal Crohn's disease. *Br J Surg* 2000; 87: 1697-1701

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

溃疡性结肠炎的外科治疗

卢列盛, 丁卫星

卢列盛, 丁卫星, 同济大学附属第十人民医院胃肠外科 上海市 200072

作者贡献分布: 本文由卢列盛与丁卫星共同撰写。

通讯作者: 丁卫星, 教授, 200072, 上海市延长中路301号, 同济大学附属第十人民医院胃肠外科. dwxing@medmail.com.cn

电话: 021-66307379 传真: 021-66307379

收稿日期: 2010-03-11 修回日期: 2010-08-10

接受日期: 2010-10-17 在线出版日期: 2010-10-18

Surgical treatment of ulcerative colitis

Lie-Sheng Lu, Wei-Xing Ding

Lie-Sheng Lu, Wei-Xing Ding, Department of Gastrointestinal Surgery, the 10th People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China

Correspondence to: Professor Wei-Xing Ding, Department of Gastrointestinal Surgery, the 10th People's Hospital of Tongji University, 301 Middle Yanchang Road, Shanghai 200072, China. dwxing@medmail.com.cn

Received: 2010-03-11 Revised: 2010-08-10

Accepted: 2010-10-17 Published online: 2010-10-18

Abstract

Ulcerative colitis (UC) is an inflammatory disease of the colon. Medicinal treatment is the standard therapy for UC. However, almost 20%-30% of UC patients fail to respond to medicinal treatment and need to receive surgical treatment. Nowadays, the extensive use of laparoscopic surgery and double stapling technique has greatly decreased the incidence of trauma and complications associated with surgical treatment of UC. Surgical treatment of UC has attracted more and more attention of clinicians.

Key Words: Ulcerative colitis; Surgical treatment; Laparoscopic surgery

Lu LS, Ding WX. Surgical treatment of ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3125-3128

摘要

溃疡性结肠炎是以内科治疗为主的疾病,但是对于20%-30%内科治疗失败的患者,外科手术治疗仍然是较好的选择。近年来随着腹腔镜微创外科和双吻合技术的成熟,使得外科手术的创伤及并发症大大降低,溃疡性结肠炎的外科

治疗越来越受到临床医生的重视。

关键词: 溃疡性结肠炎; 外科治疗; 腹腔镜手术

卢列盛, 丁卫星. 溃疡性结肠炎的外科治疗. *世界华人消化杂志* 2010; 18(29): 3125-3128

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3125.asp>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)^[1]是一种以下腹部隐痛不适、大便次数增多伴黏液便、血便为主要临床表现的一种结直肠黏膜的弥漫炎症性疾病,发病高峰为青壮年,男性略多于女性,男女比为1:0.8。有关该病的外科治疗,2005年美国结直肠外科医师协会已经制定了一个基于循证医学的详细的指南^[2],我们在这一指南的基础上,结合自身的临床经验和体会,在此就UC的外科治疗作一总结。

1 外科手术指征

1.1 急诊手术适应症

1.1.1 重症急性UC: 研究表明5%-15%的UC患者可发生重症急性UC^[3]。重症急性UC包括中毒性巨结肠等,其中20%-30%的中毒性巨结肠患者需要手术治疗。

1.1.2 穿孔或怀疑穿孔: 中毒性巨结肠UC患者发生穿孔死亡率很高(27%-57%)^[4],并且死亡率与炎症局限或扩散无关,而与穿孔至手术的间隔时间及手术时间长短有关。穿孔前手术者的预后明显比穿孔后手术者好。临床的难题是很少有明显的征象提示中毒性巨结肠患者即将发生急性穿孔。有些患者发生穿孔时结肠并不扩张,而且这些患者常无典型的腹膜炎体征^[5]。我们亦认为持续进行性的结肠扩张和积气,局限性腹膜炎的加重,出现多脏器功能衰竭,是即将穿孔或已穿孔的征象。局限性腹膜炎仅反映局部炎症,但也可能是即将穿孔的征象。因此,对于中毒性巨结肠的手术指征掌握较难,需要一定的临床经验及对病情的严密观察。在麻醉护理等各方面条件较好的医院,出现较难判断的情况

■背景资料

溃疡性结肠炎是炎性肠病的一种。近年来其发病率有逐年上升的趋势,根据国内文献报道,近5年的病例数是20世纪90年代同期的近8倍。虽然溃疡性结肠炎是以内科治疗为主,但是对于一部分内科治疗失败的患者,外科治疗仍然是较好的选择,特别是随着腹腔镜技术的发展和成熟,目前微创外科手术的创伤及并发症的发生率均大大地降低,使得溃疡性结肠炎的外科治疗越来越受到外科医生的重视。

■同行评议者

杨柏霖, 副主任医师, 南京中医药大学附属医院结直肠外科

■ 相关报道

Sjoerdsma等比较了结肠开放手术和腹腔镜手术, 结果发现腹腔镜手术和开放手术相比有较大的优势, 在良性疾病的治疗上尤为明显。

可以选择积极手术。

1.1.3 大出血是急诊手术的绝对指征: UC合并有出血, 如经内科保守治疗不能止血或者出血量大的患者是急诊手术的绝对指征。

1.2 药物治疗时病情恶化或药物治疗无效的UC UC患者在药物治疗期间病情继续恶化, 或经过初期的稳定后无好转, 提示药物治疗无效。对于这一类患者可考虑行手术治疗。我们认为持续的结肠扩张是对药物治疗不敏感的特征性改变, 患者发生中毒性巨结肠的危险增加。同时, 延长这些患者的观察时间会因患者的体质下降而失去最佳的手术时机^[6]。

药物治疗失败包括: (1) 尽管使用了积极的药物治疗方案, 但是患者症状仍无法控制, 不能达到可接受的生活质量; (2) 长期药物治疗, 特别是使用皮质激素, 患者无法耐受药物的毒副作用; (3) 药物治疗依从性差。指南认为结肠切除后UC患者的生活质量可提高, 对于难治性UC的儿童患者, 即使给予积极的营养支持和药物治疗, 当发生生长发育障碍时仍需要考虑手术治疗^[7]。郑方阁等^[8]对内科治疗无效的18例UC患者, 采取结肠直肠切除术, 术后追踪1年, 疗效满意。其中16例患者术后懊悔没有及早接受手术, 忍受了多年的痛苦。我们认为, 目前随着腹腔镜微创外科技术的进步, 手术的创伤明显减轻, 适当放宽手术指征能给患者带来好处。

1.3 怀疑或证实癌变 目前已证实长期的UC患者发生结直肠癌的风险升高, 但是风险大小很难评估^[9]。虽然缺乏明确的证据, 但是通过结肠镜随访检查, 可在肿瘤的早期阶段即被发现, 因而这些患者预后较好。指南中建议结肠脾曲近侧、病变广泛的UC患者在疾病症状出现8年后, 每1-2年行结肠镜筛查。左侧结肠(脾曲至直肠)病变患者, 建议在疾病症状出现15年后也应行相同的监测。特别注意任何狭窄或隆起型病灶的活检, 以免遗漏任何可疑的假性息肉。潜在的异型增生息肉可行息肉切除^[10], 相邻的平整黏膜也应活检以排除异型增生。通过结肠镜检查、组织活检和传统的组织病理学评估异型增生, 仍然是辨别UC发生结肠癌高危风险的“金标准”^[11]。

1.4 出现结肠狭窄或梗阻 研究表明大约5%-10%的UC患者可发生结肠狭窄, 其中高达25%的为恶性病变致狭窄, 其余的狭窄多为良性病变所致。大部分的结肠狭窄合并肠梗阻, 这是UC患者出现梗阻的绝对手术指征^[12]。

2 手术方式的选择和评价

2.1 急诊手术方式选择 UC最恰当的急诊手术方式是全结肠或结肠次全切除及回肠末端造瘘术。急诊处理的术式选择应以最可靠和风险最小的方式尽快恢复患者的健康, 同时还要考虑到患者手术恢复后的肠道重建。结肠次全切除和末端回肠造口术以及远端结肠闭合的Hartmann手术等都是安全有效的术式。与腹膜内的直肠残端闭合比较, 通过腹膜外隧道将直肠和乙状结肠残端放置于腹膜外隧道中, 较少引起盆腔的感染, 也使二期手术的盆腔解剖更加容易。另外, 经肛门置管引流直肠残端, 可大大降低盆腔感染的发生^[13]。

在处理中毒性巨结肠的UC患者中, 虽然回肠造口加结肠腹壁造口减压可使手术简化、缩短手术时间。但我们的体会是要将扩张很薄的结肠壁分层缝到腹壁上造口是件困难的事, 而行全结肠切除保留直肠的手术并不会增加病死率^[14], 术中还应防止结肠穿孔而污染腹腔。据报道中毒性巨结肠急诊手术死亡率一般为8.1%, 其中全结肠切除为6.1%, 全结肠和直肠切除为14.7%^[14]。这表明在急诊情况下, 手术应相对保守并且最好保留直肠, 等二期手术时再行直肠切除、回肠肛管吻合术。在急诊情况下, 患者一般情况较差, 不建议行腹腔镜手术。

2.2 择期手术方式选择

2.2.1 全结直肠切除、回肠造口术: 全结直肠切除、回肠造口术是UC患者的传统手术方式。虽然在过去的20年里, 结直肠切除加回肠贮袋肛管吻合术有上升普及的趋势, 但全结直肠切除、回肠造口术仍然被认为是那些不能行贮袋肛管吻合的全结直肠切除手术患者的首选术式^[15], 但是这类患者造瘘口相关的并发症发生率较高, 如造口脱垂、造口旁疝等, 而其他并发症与任何腹部和盆腔手术相当, 包括小肠梗阻, 感染, 瘘, 持续性疼痛, 会阴创口不愈合, 性功能和膀胱功能障碍, 不孕等。

UC患者多较年轻, 造口对其的心理影响不能忽视。一项国外的研究显示^[16], 美国的年轻患者更倾向于行直接吻合的手术。因此, 我们认为在患者选择手术方式时要充分考虑到患者对于造口的心理承受能力, 在手术风险和生活质量之间权衡利弊, 选出最佳的治疗方案。

2.2.2 全结直肠切除、回肠贮袋肛管吻合术: 全结直肠切除、回肠贮袋肛管吻合术(ileal pouch-anal anastomosis, IPAA)目前已成为UC患者

最常用的手术方式^[17]. 该术式相对安全, 具有可接受的并发症发生率(19%-27%), 死亡率低(0.2%-0.4%), 生活质量接近正常人群. 手术风险主要来自解剖盆腔, 如功能障碍、不孕和贮袋特有并发症如贮袋炎^[18]. 目前认为IPAA用于治疗无远处转移的结肠癌变和上段直肠癌变仍有争论^[19], 一种保守的处理方法是先行全结肠切除(直肠远端封闭)、回肠造口术, 观察12 mo以上, 确定无复发或进展后再行贮袋和肛管吻合手术. 对于肿瘤已有转移的患者, 我们建议施行节段性结肠切除或全结肠切除术, 以使他们能更早出院, 尽量减少并发症, 提高生活质量. 直肠中下段癌患者如果强烈要求行IPAA术, 可在术前行辅助放射治疗. 术后放射治疗会导致贮袋失败率升高, 并且常出现放射性小肠炎、贮袋功能差等^[9].

目前双吻合技术的成熟和普及, 使IPAA术式的适用范围明显扩大. 双吻合技术潜在的优点是在于避免了黏膜切除和会阴部的手术更加容易操作. 我们认为采用双吻合技术, 吻合口张力较小, 血供良好, 有可能改善肠道功能, 并可使括约肌的损伤程度减到最小, 过渡区丰富的感觉神经末梢得以保留. 但是, 局部短期的炎症和吻合区域可能残存的癌变仍需要关注. 关于贮袋形状的选择基于各手术者的习惯.

2.2.3 全结肠切除、回肠直肠吻合术: 全结肠切除、回肠直肠吻合术需要有正常的直肠来做安全的吻合. 严重的直肠炎症、黏膜异型增生或癌变、直肠顺应性下降或原本肛门括约肌功能不良者是禁忌证. 与IPAA相比, 全结肠切除回肠直肠吻合术的优点是手术相对简单, 缺点是担心以后直肠癌变. 研究表明^[9], 虽然癌变发生率(长期随访0%-6%), 应当向患者解释和选择术式时, 需要考虑残余直肠癌变的可能. 因此, 全结肠切除回肠直肠吻合术后的患者一定要愿意接受每年的内镜检查. 另外, 回肠直肠吻合的另一大问题是手术后大便次数多. 我们认为要恢复比较理想的肠道功能需要大约1年左右的时间, 患者应有承受大便次数多、甚至大便失禁的思想准备. 对于一般情况差的体弱患者、或长期使用免疫抑制剂者, 为减少并发症, 建议分期手术或行预防性造口.

近年来随着微创技术的不断进步, 腹腔镜下行全结肠或次全结肠切除已经比较成熟. Sjoerdsma等^[20]比较了结肠开放手术和腹腔镜手术, 结果发现腹腔镜手术和开放手术相比有较大的优势,

在良性疾病的治疗上尤为明显. 丁卫星等认为和开腹手术相比, 腹腔镜全结肠切除术具有腹壁切口小、创伤小、疼痛轻、住院时间短和恢复快等优点, 在腹腔镜操作技术成熟后, 这一手术是安全、有效的, 并有助于降低术后粘连性肠梗阻和切口并发症的发生率^[21,22]. 我们从事腹腔镜胃肠手术10年, 在腹腔镜全结肠切除及腹腔镜结直肠手术方面积累了一定的经验. UC患者在分离结肠时应尽量靠近肠壁血管边缘弓处, 用超声刀可以直接切割止血, 遇到较大的血管分支可上血管夹或钛夹处理.

3 术后并发症

UC患者术后最常见的早期并发症是继发感染(吻合口瘘和造口坏死所致)和肠梗阻. 粘连性肠梗阻在开腹全结肠切除术后发生率达17%, 总的再手术率为12%^[23], 可能与手术范围大、疾病本身等因素有关. 腹腔镜全结肠切除术后并发症的发生率尚无确切资料. 腹泻和肛门失禁的发生率约20%^[24,25], 发生原因包括全结肠切除导致吸收面积显著减少、切除回盲瓣失去其控制肠内容物进入结直肠的作用等. 术后近期患者均有不同程度大便次数增多, 排稀便每天数次至20余次, 有时夜间不能自控, 可口服洛哌丁胺(易蒙停).

4 结论

UC的外科治疗是以安全有效为前提, 选择的手术方式最好能保证患者术后良好的生活质量.

5 参考文献

- 1 Hanauer SB. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 1996; 334: 841-848
- 2 梁毅超, 卿三华. 溃疡性结肠炎的外科治疗指南. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2130-2131
- 3 Katz JA. Medical and surgical management of severe colitis. *Semin Gastrointest Dis* 2000; 11: 18-32
- 4 Heppell J, Farkouh E, Dubé S, Péloquin A, Morgan S, Bernard D. Toxic megacolon. An analysis of 70 cases. *Dis Colon Rectum* 1986; 29: 789-792
- 5 Present DH. Toxic megacolon. *Med Clin North Am* 1993; 77: 1129-1148
- 6 Shibolet O, Regushevskaya E, Brezis M, Soares-Weiser K. Cyclosporine A for induction of remission in severe ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2005: CD004277
- 7 Latella G, Vernia P, Viscido A, Frieri G, Cadau G, Cocco A, Cossu A, Tomei E, Caprilli R. GI distension in severe ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1169-1175
- 8 郑方阁, 何爱琴, 朱小红. 溃疡性结肠炎的外科治疗. 实用诊断与治疗杂志 2005; 19: 304-307
- 9 Cohen JL, Strong SA, Hyman NH, Buie WD, Dunn GD, Ko CY, Fleshner PR, Stahl TJ, Kim DG,

■同行评价
本文选题恰当, 内容重要, 有一定的临床实用价值.

- Bastawrous AL, Perry WB, Cataldo PA, Rafferty JF, Ellis CN, Rakinic J, Gregorcyk S, Shellito PC, Kilkenny JW 3rd, Ternent CA, Koltun W, Tjandra JJ, Orsay CP, Whiteford MH, Penzer JR. Practice parameters for the surgical treatment of ulcerative colitis. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 1997-2009
- 10 Rutter MD, Saunders BP, Schofield G, Forbes A, Price AB, Talbot IC. Pancolonic indigo carmine dye spraying for the detection of dysplasia in ulcerative colitis. *Gut* 2004; 53: 256-260
- 11 Sada M, Igarashi M, Yoshizawa S, Kobayashi K, Katsumata T, Saigenji K, Otani Y, Okayasu I, Mitomi H. Dye spraying and magnifying endoscopy for dysplasia and cancer surveillance in ulcerative colitis. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 1816-1823
- 12 Gumaste V, Sachar DB, Greenstein AJ. Benign and malignant colorectal strictures in ulcerative colitis. *Gut* 1992; 33: 938-941
- 13 Hyman NH, Cataldo P, Osler T. Urgent subtotal colectomy for severe inflammatory bowel disease. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 70-73
- 14 孟荣贵, 张卫. 溃疡性结肠炎外科治疗的术式选择与评价. *中国实用外科杂志* 2001; 21: 750-753
- 15 高枫. 溃疡性结肠炎的外科治疗进展. *中国现代手术学杂志* 2006; 10: 87-91
- 16 Gooding IR, Springall R, Talbot IC, Silk DB. Idiopathic small-intestinal inflammation after colectomy for ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 707-709
- 17 Muir AJ, Edwards LJ, Sanders LL, Bollinger RR, Koruda MJ, Bachwich DR, Provenzale D. A prospective evaluation of health-related quality of life after ileal pouch anal anastomosis for ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1480-1485
- 18 Carmon E, Keidar A, Ravid A, Goldman G, Rabau M. The correlation between quality of life and functional outcome in ulcerative colitis patients after proctocolectomy ileal pouch anal anastomosis. *Colorectal Dis* 2003; 5: 228-232
- 19 Gorfine SR, Harris MT, Bub DS, Bauer JJ. Restorative proctocolectomy for ulcerative colitis complicated by colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 1377-1385
- 20 Sjoerdsma W, Meijer DW, Jansen A, den Boer KT, Grimbergen CA. Comparison of efficiencies of three techniques for colon surgery. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2000; 10: 47-53
- 21 张连阳. 腹腔镜全结肠切除术的临床应用. *中国微创外科杂志* 2005; 5: 515-518
- 22 丁卫星, 程龙庆, 杨平. 腹腔镜下全结肠切除治疗多原发结肠癌3例. *腹腔镜外科杂志* 2005; 10: 81-83
- 23 Nylund G, Oresland T, Fasth S, Nordgren S. Long-term outcome after colectomy in severe idiopathic constipation. *Colorectal Dis* 2001; 3: 253-258
- 24 Lim JF, Ho YH. Total colectomy with ileorectal anastomosis leads to appreciable loss in quality of life irrespective of primary diagnosis. *Tech Coloproctol* 2001; 5: 79-83
- 25 FitzHarris GP, Garcia-Aguilar J, Parker SC, Bullard KM, Madoff RD, Goldberg SM, Lowry A. Quality of life after subtotal colectomy for slow-transit constipation: both quality and quantity count. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 433-440

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

汤姆森-路透公布 2009 年 *WJG* 影响因子 2.092

本刊讯 根据2010-06-18汤姆森-路透发布的2009年度期刊引证报告, *World Journal of Gastroenterology(WJG)*(中文刊名《世界胃肠病学杂志》)影响因子为2.092, 论文总被引次数12 740次, 特征因子0.05832, 分别位于65种国际胃肠肝病学期刊的第33位, 8位和5位。

与2008年的影响因子(2.081), 总被引次数(10 822次), 特征因子(0.05006)相比, *WJG*在2009年国际胃肠肝病学期刊中的排名分别增加了7个百分点, 4个百分点和3个百分点。(*WJG*编辑部主任: 程剑侠 2010-06-18)

骨髓间充质干细胞在小肠黏膜损伤小鼠体内的定植

吴巍芸, 陈其奎

吴巍芸, 南方医科大学珠江医院消化内科 广东省广州市 510282

陈其奎, 中山大学附属第二医院消化内科 广东省广州市 510120

国家自然科学基金资助项目, No. 30670950

作者贡献分布: 吴巍芸为此课题的主要设计者, 完成实验标本的收集及数据分析; 陈其奎指导课题的实验过程及分析结果; 本论文写作由吴巍芸完成; 陈其奎审校。

通讯作者: 陈其奎, 教授, 主任医师, 510120, 广东省广州市, 中山大学附属第二医院消化内科. qkchen@21cn.com

收稿日期: 2010-06-14 修回日期: 2010-08-10

接受日期: 2010-08-17 在线出版日期: 2010-10-18

Mesenchymal stem cells engraftment in the injured intestine of mice

Wei-Yun Wu, Qi-Kui Chen

Wei-Yun Wu, Department of Gastroenterology, Zhujiang Hospital Affiliated to Southern Medicine University, Guangzhou 510282, Guangdong Province, China

Qi-Kui Chen, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30670950

Correspondence to: Professor Qi-Kui Chen, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China. qkchen@21cn.com

Received: 2010-06-14 Revised: 2010-08-10

Accepted: 2010-08-17 Published online: 2010-10-18

Abstract

AIM: To investigate the engraftment of murine bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) in the irradiated intestine of mice to provide some clues about the mechanism of intestine epithelium healing and lay an experimental foundation for treatment of intestine diseases by intravenous transplantation of MSCs.

METHODS: MSCs from male mice were isolated, expanded, identified, suspended in sterile normal saline (1×10^6 cells/mL), and slowly infused into irradiated female mice via the tail vein. Meanwhile, a group of irradiated female mice receiving an equal volume of sterile normal saline were used as controls. For tracing male MSC residence in the intestine after intravenous transplantation, *in situ* hybridization (ISH) was

used to detect the Sry gene on the Y chromosome.

RESULTS: In the transplantation group, ISH analysis revealed the presence of male donor MSCs in the submucosa of the intestine of female mice, but not in the mucosal epithelium. At week 1 after cell transplantation, Sry-positive cells were scattered around the crypt, with a percentage of $19.48\% \pm 5.01\%$. At week 2, this percentage rose to $30.86\% \pm 12.14\%$, significantly higher than that at week 1 ($P < 0.05$). However, there was no significant difference in the percentage of Sry-positive cells between at week 2 and week 4 (week 4: $35.95\% \pm 11.98\%$, $P > 0.05$). In the control group, no Sry-positive cells were found.

CONCLUSION: After MSCs were transplanted into mice, they were attracted to and retained in the irradiated intestine and colonized in the intestinal submucosa.

Key Words: Mesenchymal stem cells; Engraftment; Intestinal submucosa

Wu WY, Chen QK. Mesenchymal stem cells engraftment in the injured intestine of mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3129-3133

摘要

目的: 探讨小鼠骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)移植于小肠放射性损伤的小鼠体内后的定植情况。

方法: 体外培养扩增昆明小鼠MSCs, 然后采用性别交叉移植的方法, 即移植组: 经尾静脉注射雄性小鼠MSCs进入小肠放射性损伤的雌性小鼠体内; 对照组: 注射等量无菌生理盐水。分别于第1、2、4周通过原位杂交检测Y染色体观察MSCs的定植情况。

结果: 移植组小鼠于移植后第1周即可检出Y染色体阳性荧光细胞的存在, 呈零星散在分布, 且多位于隐窝周围的黏膜下层, 阳性率为 $19.48\% \pm 5.01\%$; 第2周荧光细胞明显增多, 阳

背景资料

小肠是人体重要的消化吸收器官, 各种疾病可致小肠组织结构损伤并导致严重的功能障碍, 但小肠黏膜损伤修复的机制未明, 故目前在治疗上未能取得满意的效果。

同行评议者

郁卫东, 副研究员, 北京大学人民医院临床分子生物学研究所/中心实验室

■相关报道

Komori等在实验性炎症性肠病的大肠黏膜损伤部位见到外源的骨髓细胞定植。

性率为30.86%±12.14%，差异显著($P<0.05$)；第4周阳性率为35.92%±11.98%，差异不显著($P>0.05$)。

结论：MSCs移植于小肠放射性损伤的小鼠体内后可以在小肠定植，且主要定植于黏膜下层。

关键词：骨髓间充质干细胞；体内定植；小肠黏膜下层

吴巍芸, 陈其奎. 骨髓间充质干细胞在小肠黏膜损伤小鼠体内的定植. 世界华人消化杂志 2010; 18(29): 3129-3133
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3129.asp>

0 引言

小肠是人体重要的消化吸收器官, 各种疾病可致小肠组织结构损伤并使功能严重障碍, 但小肠黏膜损伤修复的机制未明, 故目前在治疗上未能取得满意的效果. 新近的研究发现, 小肠黏膜损伤后, 除了小肠本身具有强大的自我更新及损伤修复能力外, 一些肠外来源的细胞如骨髓的细胞等也参与了其中的调节. 国外一些研究报道, 将骨髓细胞移植入器官损伤的动物体内, 可见损伤的器官内有外源的细胞定植, 参与损伤的修复. Komori等^[1]在实验性炎症性肠病的大肠黏膜损伤部位见到外源的骨髓细胞定植. 但骨髓里具体主要是哪种细胞定植及定植的部位目前尚不清楚^[2]. 本实验把小鼠骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)经过体外扩增后移植入小肠放射性损伤小鼠体内, 探讨MSCs在小肠的定植情况, 为MSCs移植治疗小肠损伤提供实验基础.

1 材料和方法

1.1 材料 DMEM/F12基础培养基(Gibco, USA), 胎牛血清(Hyclone, USA), 胰酶(Gibco, USA), 流式单抗小鼠Anti-CD29-FITC, 小鼠Anti-CD44-FITC, 小鼠Anti-CD34-FITC(Biolegend, USA), 小鼠抗小鼠 α 平滑肌肌动蛋白(α smooth muscle actin, α -SMA)单克隆抗体、小鼠抗小鼠结蛋白(desmin)单克隆抗体及其免疫组织化学试剂盒(武汉博士德生物公司), 大鼠抗小鼠波形蛋白(vimentin)(Chemicon, USA)单克隆抗体, 小鼠Sry原位杂交染色试剂盒(天津灏洋生物有限公司). 实验动物: 昆明小鼠, δ , 3-4 wk龄, SPF级, 体质量17 g左右, 作为供体培养扩增MSCs. 昆明小鼠, η , 6 wk龄, SPF级, 体质量27 g左右, 作为受体动物. 均购自广东省医学实验动物中心.

1.2 方法

1.2.1 小鼠MSCs的体外分离培养和鉴定^[3]: 取3-4 wk龄 δ 昆明小鼠, 冲出股骨及胫骨骨髓腔内细胞, 反复吹打形成单细胞悬液, 离心收集细胞后, 再用含100 mL/L胎牛血清的完全培养基重新悬浮细胞, 将其接种25 cm²的培养瓶中, 37 °C, 50 mL/L CO₂细胞培养箱培养. 3 d后首次更换培养液, 弃去未贴壁细胞, 随后每3 d换液1次, 至原代(P0)长至约90%融合时, 胰酶常温消化, 轻轻吹打使细胞脱落, 消化不下来的贴壁牢固的细胞弃去. 离心后弃上清, 完全培养基重悬细胞, 1:2传代, 37 °C, 50 mL/L CO₂细胞培养箱继续培养, 此为P1代. 再传代则为P2代, 如此类推. 应用荧光标记的抗CD29、CD44、CD34抗体, 流式细胞仪进行检测鉴定. 选取生长良好的第5代至第8代的细胞进行移植.

1.2.2 小鼠小肠放射性损伤的制作: 6 wk龄 η 昆明小鼠用1%戊巴比妥钠(40 mg/kg体质量)腹腔注射麻醉后, 固定, 用6 Mev电子线进行一次性腹部照射, 剂量率为300 mV/min, 总放射剂量18 Gy, 放射源至动物表皮距离为1 m. 照射部位为剑突下0.2 cm至髂棘上缘之间, 深度1 cm, 身体其余部位用5 cm厚的铅块屏蔽.

1.2.3 小鼠MSCs的性别交叉移植及取材: 移植组: 取第5代至第8代生长旺盛的雄性小鼠MSCs, 调整细胞密度为1×10⁶个/mL, 经尾静脉缓慢注射0.6 mL的细胞悬液, 推注顺利、无外渗者为移植成功. 对照组: 注射无细胞的等量无菌生理盐水. 细胞移植后的第1、2、4周分别处死10只移植组小鼠及10只对照组小鼠, 每只小鼠各取2段小肠, 分别是空肠(Treiz韧带下端10 cm)和回肠(回盲部上端10 cm), 40 g/L多聚甲醛固定, 石蜡包埋、切片, 用于下一步检测.

1.2.4 移植细胞的定位和分化鉴定: 本实验通过Y染色体荧光原位杂交检测Y染色体上的 δ 决定基因Sry以鉴定外源MSCs的定位. 切片的组织置打孔液中, 室温放置10 min, 给细胞打孔以改变组织细胞的通透性使探针快速顺利的穿透细胞膜. 90 °C硫氰酸钠溶液孵育10 min后立刻投入冰水混合物中5 min. 滴加复合消化工作液, 覆盖组织表面, 37 °C 15 min. 甘氨酸溶液终止消化. 40 g/L多聚甲醛固定10 min, 梯度乙醇脱水, 空气干燥, 预杂交工作液覆盖组织37 °C湿盒孵育1 h, 之后滴加含有Y染色体探针(FAM标记)的杂交工作液覆盖组织37 °C湿盒避光孵育过夜. 探针的浓度为6 mg/L. 孵育后50%甲酰胺、

2×SSC、0.2×SSC、0.1 mol TBS洗涤. 荧光显微镜下以490 nm激发光观察. 并以荧光染料Hoechst33342复染细胞核, 在330 nm紫外激发光下观察, 以计算背景细胞数.

统计学处理 在Nikon荧光显微镜观察组织切片并照相记录, 每张切片随机选取5个视野, 统计阳性细胞占间质细胞的百分率, 以mean±SD表示, 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析, 计量资料正态分布者组间比较用方差分析与 t 检验, 非正态分布者用秩和检验, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 小鼠MSCs体外扩增培养 接种后24 h, 有少量细胞贴壁, 3 d后首次换液, 大部分悬浮的血细胞被清除, 余下的贴壁细胞形态不一, 呈现多角形、梭形、纺锤形等, 经3次换液后悬浮细胞基本清除, 第7天贴壁细胞增多, 第10天逐步形成细胞克隆. 16-18 d后细胞融合成单层, 达80%-90%, 排列有方向性. 传代后的细胞较原代贴壁、生长快速, 24 h后大部分细胞贴壁, 9 d即铺满瓶底. 随代数增加, 细胞形态趋向均一, 呈梭形为主, 细胞克隆漩涡状, 细胞逐渐得到纯化(图1). 流式细胞仪检测结果显示细胞均一性好, CD29、CD44及CD34的阳性率分别为99.30%、92.84%和11.86%.

2.2 小肠黏膜损伤的结果 腹部放射后第1周, 肉眼可见部分肠段水肿、充血, 镜下见肠黏膜充血, 水肿, 可见局部糜烂、坏死, 绒毛排列不整齐或破坏, 黏膜下层及固有层炎症细胞浸润. 第4周绒毛再生, 黏膜修复(图2).

2.3 MSCs移植后在小肠小肠的定位 本实验发现移植组移植的MSCs特异地定位于小肠间质, 在上皮中未见外源细胞的存在. 移植组小鼠于移植后第1周在小肠即可检出Y染色体阳性细胞的存在, 零星散在分布, 且多位于隐窝周围的黏膜下层, 阳性率为 $19.48\% \pm 5.01\%$; 第2周荧光细胞阳性率为 $30.86\% \pm 12.14\%$, 较第1周明显增多, 差异有统计学意义($P<0.05$), 并在绒毛周围间质也出现; 第4周阳性率为 $35.95\% \pm 11.98\%$, 较第2周有增多, 但差异无统计学意义($P>0.05$, 图3).

3 讨论

MSCs能在体外分离和扩增, 还易于外源基因的转入和表达, 在人类医学上被认为是一种理想的治疗性细胞和基因治疗中的靶细胞^[4]. MSCs

具有2个重要的特性, 即长期的自我更新和多系分化潜能, 近年来发现MSCs还能向神经元^[5]、心肌细胞^[6]、肝、小肠和肾上皮细胞分化^[7]; 同时, 多项研究发现在人体和动物模型上MSCs能逃避同种异体的免疫排斥. 主要是通过3个机制: (1)MSCs本身是低免疫原性的, 不表达MHC-II和辅助刺激因子; (2)MSCs通过调节树突状细胞间接抑制T淋巴细胞的应答或直接阻断NK细胞和CD4⁺及CD8⁺的T淋巴细胞的功能; (3)MSCs通过产生前列腺素和白介素10还有分泌吡啶胺2, 3-双加氧酶破坏局部的色氨酸, 从而形成一个免疫抑制的微环境. 实际应用上又无伦理学问题, 故使其成为一些疾病的细胞治疗及基因治疗的理想的种子细胞^[8].

骨髓中MSCs含量很低, 一般为0.001%-0.01%, 一次穿刺骨髓所获得的MSCs细胞数往往不能满足实际工作的需要. 必须通过体外分离培养、扩增、纯化, 以产生足够数量的细胞供使用. 本实验采取全骨髓培养法, 根据MSCs贴壁生长的特性和通过多次换液分离去除悬浮生长的血细胞; 由于MSCs易于消化, 在消化传代时, 将容易消化下来的细胞继续接种培养, 而将难以消化的杂细胞弃去, 可逐渐得到形态均一细胞.

目前国内外未见制作小肠黏膜损伤的成熟方法的报道, 小肠处于消化系的中段, 而且迂回曲折, 无论采用经胃插管或灌肠的方法都较难达到目的. 临床上接受盆腔或腹腔放疗的患者不少, 急性或慢性放射性肠炎发生率较高. 故本实验采用了腹部放射. 对于放射的剂量各家报道不一, 且多为全身照射, 少有局部照射. 我们经过预实验摸索, 发现18 Gy的剂量即可引起小肠黏膜损伤, 但尚未见损伤致死^[9,10]. Chapel等^[11]分别采用2种放射损伤: 全身照射及单纯全腹部照射的非肥胖糖尿病/联合免疫缺陷(non-obese diabetic/sever combined immunodeficiency, NOD/SCID)的小鼠, 把人MSCs移植入照射后的NOD/SCID小鼠体内, 发现在腹部照射的小鼠的肾、胃、肝、脾、小肠人MSCs的定植数较全身照射的小鼠显著增多. François等^[12]也发现放射损伤明显促进MSCs在受损的部位定植. 放射性损伤后组织充血水肿, 释放出多种炎症因子, 吸引MSCs的聚集、定位及分化. Brittan等^[2]在实验中发现, 在结肠炎时, 骨髓细胞能分化成肠道的多种细胞, 在组织再生和血管形成中有重要作用. 有研究发现, 放射性损伤后的小鼠给予MSCs移植至受损小肠壁, 观察发现移植组比非移植组

■应用要点

本文研究结果表明, MSCs移植于小肠放射性损伤的小鼠体内后可以在小肠定位, 支持损伤小肠黏膜的修复, 可能是小肠间质的再生途径之一.

同行评价

本文创新性一般,但可读性较好,具有一定的临床参考价值.

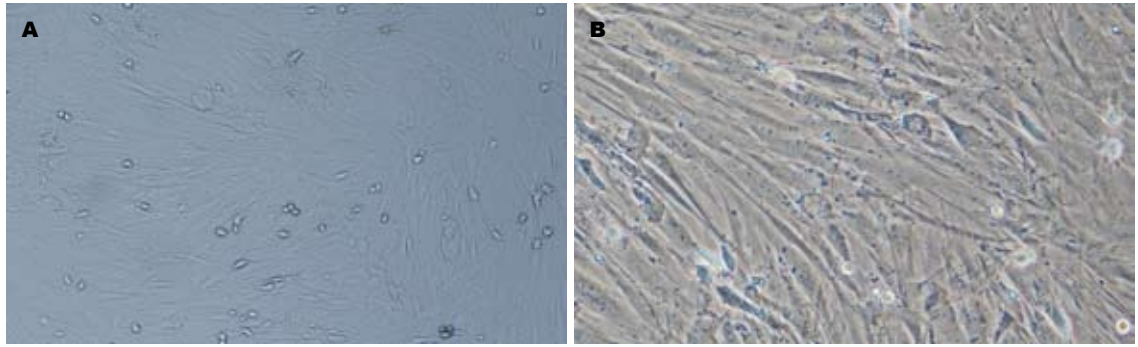


图 1 小鼠MSCs体外培养第6代. A: $\times 200$; B: 相差显微镜($\times 200$).

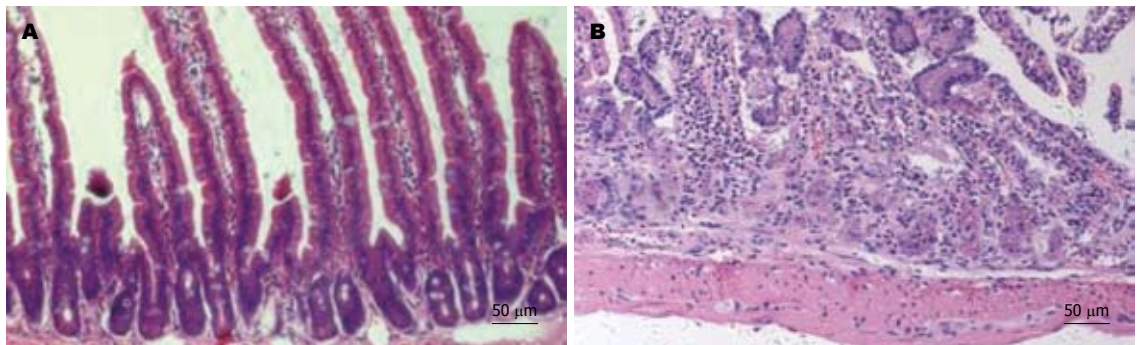


图 2 小肠黏膜损伤($\times 200$). A: 正常小肠黏膜; B: 腹部放射1 wk.

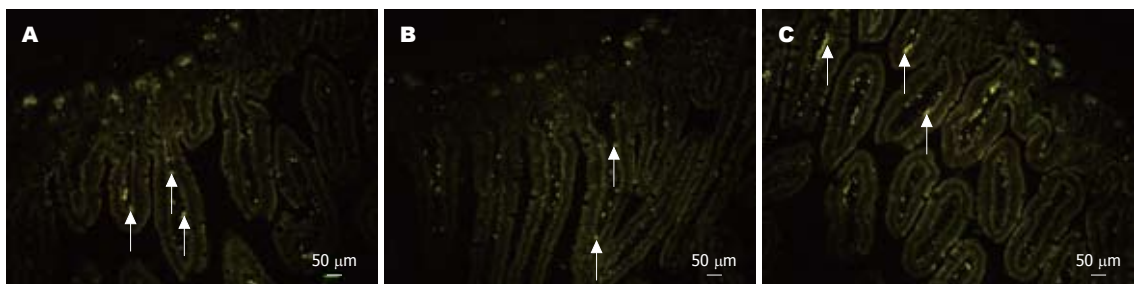


图 3 Y染色体阳性的细胞定植于小肠间质($\times 200$). A: 第1周; B: 第2周; C: 第4周.

体质量增加,生存率增高,溃疡的范围减小^[13].

小肠隐窝处存在着小肠上皮干细胞,他可以分化为吸收细胞、杯状细胞、肠内分泌细胞、潘氏细胞等小肠上皮细胞,在上皮细胞正常的衰老死亡和病理损伤后,干细胞增殖、分化,在上皮修复过程中发挥主导作用^[14].而小肠上皮干细胞的增殖、分化行为受细胞基因及干细胞所处的微环境双重因素影响,生长因子、细胞因子和细胞基质分子形成的微环境提供了干细胞增殖与分化的必要的物质基础.黏膜下层为小肠上皮提供支持网络,调节上皮细胞的功能.这层结构包含多种类型的细胞,如纤维母细胞、纤维细胞、血管内皮细胞和平滑肌细胞等.本实验先制作小肠放射损伤模型,可见放

射损伤后的小肠组织充血、水肿,偶见局部糜烂、坏死,绒毛排列不整齐或破坏,黏膜下层及固有层见大量炎症细胞浸润.然后用性别交叉移植的方法设计,以Y染色体的存在作为标识,观察移植的MSCs在受体小肠的定植.本实验发现移植的MSCs只定位于小肠黏膜下,在上皮未见外源细胞的存在.实验中细胞移植后第1周已能在小肠黏膜下层定位,第2、4周明显增多.因此我们从形态学观察及标记物的检测结果分析推测外源的MSCs能在受损的小肠定位,参与损伤的小肠上皮细胞周围微环境的重建,促进黏膜的修复.与国外研究的结果相近,但MSCs只定位于小肠黏膜下.MSCs的分化机制和诱导条件目前尚未阐明.Sémont等^[15]发现把人MSCs

移植入有放射性肠道损伤的小鼠体内, 加快小肠结构和功能的恢复, 主要机制是增加内源性的增殖过程进而减少凋亡. 多数观点认为其与MSCs所处的微环境密切相关. 在损伤条件下, 可能是微环境中所含的各种因子促成了MSCs向该环境所需要的细胞或组织分化. 促使MSCs定植在小肠可能与损伤的小肠上皮分泌的一些细胞因子和炎症趋化因子的作用有关^[2].

本文研究结果表明MSCs移植于小肠放射性损伤的小鼠体内后可以在小肠定位, 支持损伤小肠黏膜的修复, 可能是小肠间质的再生途径之一, 有很好的研究前景.

4 参考文献

- Komori M, Tsuji S, Tsujii M, Murata H, Iijima H, Yasumaru M, Nishida T, Irie T, Kawano S, Hori M. Involvement of bone marrow-derived cells in healing of experimental colitis in rats. *Wound Repair Regen* 2005; 13: 109-118
- Brittan M, Chance V, Elia G, Poulosom R, Alison MR, MacDonald TT, Wright NA. A regenerative role for bone marrow following experimental colitis: contribution to neovasculogenesis and myofibroblasts. *Gastroenterology* 2005; 128: 1984-1995
- 司徒镇强, 吴军正. 细胞培养. 西安: 世界图书出版公司, 2004: 176-179
- Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41-49
- Sugaya K. Potential use of stem cells in neuroreplacement therapies for neurodegenerative diseases. *Int Rev Cytol* 2003; 228: 1-30
- McKaig BC, McWilliams D, Watson SA, Mahida YR. Expression and regulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinases by intestinal myofibroblasts in inflammatory bowel disease. *Am J Pathol* 2003; 162: 1355-1360
- Chapel A, Bertho JM, Bensidhoum M, Fouillard L, Young RG, Frick J, Demarquay C, Cuvelier F, Mathieu E, Trompier F, Dudoignon N, Germain C, Mazurier C, Aigueperse J, Borneman J, Gorin NC, Gourmelon P, Thierry D. Mesenchymal stem cells home to injured tissues when co-infused with hematopoietic cells to treat a radiation-induced multi-organ failure syndrome. *J Gene Med* 2003; 5: 1028-1038
- Ryan JM, Barry FP, Murphy JM, Mahon BP. Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. *J Inflamm (Lond)* 2005; 2: 8
- Zhang B, Su YP, Ai GP, Liu XH, Wang FC, Cheng TM. Differentially expressed proteins of gamma-ray irradiated mouse intestinal epithelial cells by two-dimensional elec trophoresis and MALDI-TOF mass spectrometry. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2726-2731
- Murmu N, Jung J, Mukhopadhyay D, Houchen CW, Riehl TE, Stenson WF, Morrison AR, Arumugam T, Dieckgraefe BK, Anant S. Dynamic antagonism between RNA-binding protein CUGBP2 and cyclooxygenase-2-mediated prostaglandin E2 in radiation damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 13873-13878
- Chapel A, Semont A, Francois S, Mouiseddine M, Thierry D. Human Mesenchymal Stem Cells (MSC) Home at Injured Sites after Local Irradiation and Contribute To Reduce Radiation-Induced Intestinal Lesion. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2005; 106: Abstract 1691
- François S, Bensidhoum M, Mouiseddine M, Mazurier C, Allenet B, Semont A, Frick J, Saché A, Bouchet S, Thierry D, Gourmelon P, Gorin NC, Chapel A. Local irradiation not only induces homing of human mesenchymal stem cells at exposed sites but promotes their widespread engraftment to multiple organs: a study of their quantitative distribution after irradiation damage. *Stem Cells* 2006; 24: 1020-1029
- Kudo K, Liu Y, Takahashi K, Tarusawa K, Osanai M, Hu DL, Kashiwakura I, Kijima H, Nakane A. Transplantation of mesenchymal stem cells to prevent radiation-induced intestinal injury in mice. *J Radiat Res (Tokyo)* 2010; 51: 73-79
- Brittan M, Wright NA. Gastrointestinal stem cells. *J Pathol* 2002; 197: 492-509
- Sémont A, Mouiseddine M, François A, Demarquay C, Mathieu N, Chapel A, Saché A, Thierry D, Laloi P, Gourmelon P. Mesenchymal stem cells improve small intestinal integrity through regulation of endogenous epithelial cell homeostasis. *Cell Death Differ* 2010; 17: 952-961

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010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.

RASSF1A在食管鳞癌组织中的表达、甲基化状态及其与预后之间的关系

郑秋青, 凌志强, 李沛, 程蕾, 毛伟敏

■背景资料

RASSF1A基因是位于3p21.3上的一种新型的候选抑癌基因,与多种人类肿瘤有关。已有研究表明,RASSF1A基因是继P16基因以来所发现的在肿瘤中甲基化程度最高、最广泛的基因之一,该基因的转录表达缺失与其启动子区域5'-CpG岛高甲基化有着广泛的肿瘤谱。

郑秋青, 凌志强, 毛伟敏, 浙江省肿瘤医院浙江省肿瘤研究所 浙江省杭州市 310022
李沛, 郑州大学医学院病理生理教研室 河南省郑州市 450052
程蕾, 浙江中医药大学 浙江省杭州市 310053
浙江省自然科学基金资助项目, No. Y2080749
浙江省人事部留学人员科技活动项目择优基金资助项目, No. 2008004
浙江省科技计划基金资助项目, No. 2009C33143
作者贡献分布: 文献检索、实验操作、结果分析及论文撰写由郑秋青完成; 凌志强选题、指导及浙江肿瘤标本病理诊断; 毛伟敏审校; 河南标本采集及部分实验由李沛完成; 临床病例随访资料、部分实验、数据分析研究所用的新试剂及分析工具由程蕾协助完成。
通讯作者: 凌志强, 310022, 浙江省杭州市半山桥区广济路38号, 浙江省肿瘤医院浙江省肿瘤研究所, lingzq@hotmail.com
电话: 0571-88122423 传真: 0571-88122413
收稿日期: 2010-05-06 修回日期: 2010-08-18
接受日期: 2010-08-24 在线出版日期: 2010-10-18

Prognostic significance of RASSF1A expression and methylation status in esophageal squamous cell carcinoma

Qiu-Qing Zheng, Zhi-Qiang Ling, Pei Li, Lei Cheng, Wei-Min Mao

Qiu-Qing Zheng, Zhi-Qiang Ling, Lei Cheng, Wei-Min Mao, Zhejiang Cancer Research Institute, Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310022, Zhejiang Province, China
Pei Li, Department of Pathophysiology, Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Lei Cheng, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang Province, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Zhejiang Province, No. Y2080749; the Science and Technology Foundation for Selected Overseas Chinese Scholars, Ministry of Personnel of China, No. Y2080749; and the Science and Technology Program of Zhejiang Province, No. 2009C33143
Correspondence to: Zhi-Qiang Ling, Zhejiang Cancer Research Institute, Zhejiang Cancer Hospital, 38 Guangji Road, Banshanqiao District, Hangzhou 310022, Zhejiang Province, China. lingzq@hotmail.com
Received: 2010-05-06 Revised: 2010-08-18
Accepted: 2010-08-24 Published online: 2010-10-18

■同行评议者

吕宾, 教授, 浙江中医学院附属医院消化科

Abstract

AIM: To investigate the expression and methylation status of the RASSF1A gene in esophageal

squamous cell carcinoma (ESCC) and to analyze their prognostic significance.

METHODS: The mRNA expression and DNA methylation of the promoter region of the RASSF1A gene in normal esophageal tissue samples and ESCC tissue samples taken from 49 ESCC patients were detected by real-time RT-PCR and real-time methylation-specific PCR (qMSP), respectively.

RESULTS: RASSF1A mRNA expression was down-regulated in 53.06% (26/49) of ESCC tissue samples. The level of RASSF1A mRNA expression in ESCC was significantly lower than that in adjacent normal tissue ($P < 0.05$). Down-regulation of RASSF1A mRNA expression was correlated with TNM stage, lymph node metastasis and poor prognosis in ESCC patients (all $P < 0.05$). Hypermethylation of the RASSF1A gene promoter region was detected in 77.60% (38/49) of ESCC patients. RASSF1A gene promoter hypermethylation was correlated with TNM stage, lymph node metastasis and poor prognosis in ESCC patients (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: RASSF1A gene promoter hypermethylation is a very common molecular event in ESCC and may be responsible for the down-regulation of RASSF1A mRNA expression. Down-regulation of RASSF1A mRNA expression and hypermethylation of RASSF1A gene promoter region were significantly correlated with lymph node metastasis, TNM stage and poor prognosis in ESCC patients.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; RASSF1A; CpG island methylation; Tumor suppressor gene; Prognosis

Zheng QQ, Ling ZQ, Li P, Cheng L, Mao WM. Prognostic significance of RASSF1A expression and methylation status in esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3134-3139

摘要

目的: 探讨RASSF1A基因的异常表达与食

管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)发生发展的关系。

方法:应用实时RT-PCR方法及实时荧光甲基化特异性聚合酶链反应技术, 分别检测49例ESCC患者癌组织及癌旁正常组织中RASSF1A基因的转录表达情况和启动子区域5'-CpG岛的甲基化状态. 分析RASSF1A基因在ESCC中的转录表达情况、甲基化状态及与临床病理因素、预后之间的关系。

结果:在49例ESCC标本中, 有26(53.06%)例RASSF1A mRNA表达下调, RASSF1A mRNA在食管鳞癌组织及相应的癌旁正常组织中的表达存在显著统计学差异($P<0.05$), RASSF1A mRNA的表达缺失与ESCC患者的淋巴结转移、临床TNM分期及不良预后均存在显著相关性(均 $P<0.05$); 有38(77.60%)例RASSF1A基因启动子区域5'-CpG岛高甲基化, 与之相对应的癌旁正常组织中仅有3(6.10%)例, 两者差异有统计学意义($P<0.05$), RASSF1A基因的高甲基化状态与淋巴结转移、临床TNM分期及不良预后均存在显著相关性(均 $P<0.05$); 在26例RASSF1A基因转录表达缺失的ESCC组织中有24例发生了启动子区域5'-CpG岛的高甲基化, RASSF1A基因在ESCC中的转录表达缺失与其启动子5'-CpG岛高甲基化显著相关($P<0.05$)。

结论:RASSF1A基因启动子5'-CpG岛高甲基化在ESCC是一高频分子事件, 与该基因的转录表达缺失显著相关, 是其转录表达缺失的主要机制之一。

关键词:食管鳞癌; RASSF1A; CpG岛甲基化; 抑癌基因; 预后

郑秋青, 凌志强, 李沛, 程蕾, 毛伟敏. RASSF1A在食管鳞癌组织中的表达、甲基化状态及其与预后之间的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18(29): 3134-3139
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3134.asp>

0 引言

食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)的形成与其他恶性肿瘤的发生相似, 是多因素作用、多基因变化和多阶段发展的过程. 近年来随着分子生物学技术的发展, ESCC的基础及临床研究取得了长足的进步, 然而术后5年生存率仍然很低, 表明其发生发展的机制仍有待进一步研究和探讨. RASSF1A基因是位于3p21.3上的一种新型的候选抑癌基因, 与多种人

类肿瘤有关. 已有研究表明, RASSF1A基因是继P16基因以来所发现的在肿瘤中甲基化程度最高、最广泛的基因之一, 该基因的转录表达缺失与其启动子区域5'-CpG岛高甲基化有着广泛的肿瘤谱^[1-5]. 我们应用real-time RT-PCR方法及实时甲基化特异性PCR(real-time methylation-specific PCR, qMSP)技术, 分别检测49例ESCC患者肿瘤组织及癌旁正常组织中RASSF1A基因的转录表达情况和启动子区域5'-CpG岛的甲基化状态, 以探讨RASSF1A基因在ESCC发生发展中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 49例ESCC及相应癌旁正常组织中, 34例来源于2008-09/2009-02浙江省肿瘤医院ESCC手术后组织标本, 另外15例2003-01/2004-06由河南省郑州大学医学院附属医院提供. 癌旁正常组织取自肿瘤边缘5 cm外区域, 为肉眼下正常组织, 上述组织切除后, 其中一半的组织固定于40 g/L甲醛中作病理诊断及DNA提取用, 另一半则快速用液氮冷冻并储存在-80 °C冰箱中用作RNA提取. 全部肿瘤组织均经病理诊断为鳞状细胞癌, 肿瘤分级、TNM分期分别按照标准世界卫生组织(world health organization, WHO)和国际抗癌联盟(international union against cancer, UICC)的标准: 其中高分化1例、中分化13例、低分化35例; I期7例、II期16例、III期23例、IV期3例. 所有肿瘤患者中, 男41例, 女8例; 年龄39-76(中位年龄62, 平均年龄60.3)岁. 术前均未接受化疗或放疗. 对本试验中49例ESCC患者进行术后随访, 随访时间截至2010-04-25. RNA提取试剂盒MiRNeasy Mini Kit购于Qiagen公司, 反转录试剂盒PrimeScript™ RT reagent Kit和real time RT-PCR试剂盒SYBR Premix Taq Ex Taq kit购于TaKaRa公司, 甲基化试剂氢醌和亚硫酸氢钠均购于Sigma公司. 基因引物由上海Invitrogen公司合成. real time RT-PCR引物序列: GAPDH: 5'-GAAGGTGAAGTCCGAGTC-3'(forward), 5'-GAAGATGGTGATGGGATTTTC-3'(reverse); NAMA: 5'-CCCGTCTTCTTTTGTATGACC-3'(forward), 5'-TGGGATGGCTGACTTGTGTA-3'(reverse). qMSP引物序列: 甲基化引物序列RASSF1A(M): 5'-GTGTTAACGCGTTGCGTATC-3'(forward), 5'-AACCCCGCGAACTA-AAAACGA-3'(reverse); 非甲基化引物序列RASSF1A(U): 5'-TTTGGTTGGAGTGTGTTA-ATGTG-3'(forward), 5'-CAAACCCACAAAC-

■研发前沿
RASSF1A基因是2000年从肺癌患者肿瘤组织中克隆出来的一个新型候选抑癌基因, 其抑制肿瘤发生发展的确切机制还不十分清楚。

■创新盘点

本研究结果更直接地证实了RASSF1A基因是ESCC的一个预后不良因素。

TAAAAACAA-3'(reverse).

1.2 方法

1.2.1 总RNA提取: 按照MiRNeasy Mini Kit试剂盒说明书提取肿瘤组织及对应的正常组织的总RNA, 紫外分光光度计测量, 判定所提取总RNA的浓度和纯度, 要求光密度值 $A_{260}/A_{280} > 1.8$. 取1 μ L RNA溶液于2%的变性琼脂糖凝胶中进行电泳, 测定总RNA的完整性。

1.2.2 逆转录: 取1 μ g总RNA使用PrimeScript™ RT reagent Kit试剂盒进行cDNA的合成, 具体操作参照使用说明。

1.2.3 DNA提取: 按经典苯酚-氯仿方法提取肿瘤组织及对应的正常组织的基因组DNA, 紫外分光光度计测定DNA浓度和纯度。

1.2.4 DNA亚硫酸氢盐修饰: 10 μ g基因组DNA内加入5 μ L浓度为3 mol/L的NaOH裂解液, 37 $^{\circ}$ C变性20 min后加入2 mol/L亚硫酸氢钠(pH5.0)520 μ L和0.2 mol/L的氢醌30 μ L, 50 $^{\circ}$ C水浴16-18 h, 于1 mL DNA纯化树脂中加入DNA样品及8%异丙醇2 mL滤析, 3 mol/L的醋酸钠与100%乙醇沉淀, 离心弃上清, 自然干燥, 加20 μ L TE溶液溶解, -20 $^{\circ}$ C保存。

1.2.5 PCR扩增: real time RT-PCR及qMSP方法的PCR扩增及熔解曲线分析均使用ABI 7500 PCR仪(Applied Biosystems), 采用20 μ L的反应体系, 具体操作参照SYBR Premix Taq Ex Taq kit的说明书. 反应过程具体为: 50 $^{\circ}$ C激活聚合酶2 min, 95 $^{\circ}$ C预变性10 min; 95 $^{\circ}$ C变性15 s, 60 $^{\circ}$ C退火和延伸1 min, 扩增40个循环. 结束后通过95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 85 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 15 s制作熔解曲线。

统计学处理 应用SPSS16.0统计学软件, 各组间率的差异统计学意义比较采用 χ^2 检验、似然比 χ^2 检验或Fisher's确切概率法, 生存曲线绘制用乘积极限法(Kaplan-Meier)进行单因素生存分析, 对数秩检验(Log-Rank test)进行生存曲线比较, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 RASSF1A基因在ESCC组织中的转录表达在49例ESCC标本中有26(53.06%)例出现了相对于正常食管组织的RASSF1A mRNA表达下调, 5(10.20%)例表达上调, 18(36.73%)例无明显差异, RASSF1A mRNA在ESCC与癌旁正常食管上皮组织中的表达具有显著性差异($P = 0.000$). RASSF1A的转录表达缺失与淋巴结转移及临床TNM分期相关, 无淋巴结转移的ESCC组织中RASSF1A mRNA表达缺失率为18.2%, 有淋巴

表1 RASSF1A在ESCC中的转录表达与临床病理参数的关系 (%)

临床病理参数	<i>n</i>	表达正常 或上调	表达下调	<i>P</i> 值
性别				0.448
男	41	18	23	
女	8	5	3	
肿块位置				0.980
食管中上段	15	7	8	
食管下段	24	16	8	
分化程度				0.319
G ₁ -G ₂	14	5	9	
G ₃	35	18	17	
浸润深度				0.128
T ₁ -T ₂	20	12	8	
T ₃ -T ₄	29	11	18	
淋巴结转移情况				0.000
N ₀	19	15	4	
N ₁	30	8	22	
远处转移情况				0.237
M ₀	46	23	23	
M ₁	3	0	3	
分期				0.000
I/II期	23	18	5	
III/IV期	26	5	21	

结转移者的ESCC组织中RASSF1A mRNA表达缺失率为81.5%, 两者比较存在显著统计学差异($P = 0.000$); 早期(I/II期)ESCC组织中RASSF1A mRNA的表达缺失率为23.8%, 晚期(III/IV期)ESCC组织中RASSF1A mRNA的表达缺失率为80.8%, 两者相比存在显著统计学差异($P = 0.000$); 而与性别、肿瘤位置、分化程度、浸润深度、远处转移情况等均无显著相关($P > 0.05$, 表1)。

2.2 RASSF1A基因启动子区域在ESCC组织中的甲基化状态 在49例ESCC标本中, RASSF1A基因启动子区域5'-CpG岛异常甲基化的有38(77.6.0%)例, 与之相对应的癌旁正常食管组织中仅有3(6.1%)例, 两者差异有统计学意义($P < 0.05$). RASSF1A基因启动子区域5'-CpG岛高甲基化与淋巴结转移及临床TNM分期相关, 无淋巴结转移的ESCC组织中RASSF1A基因启动子高甲基化发生率为36.4%, 有淋巴结转移的ESCC组织其发生率为83.3%, 两者之间的差异有统计学意义($P = 0.000$); TNM分期中早期(I/II期)ESCC组织中RASSF1A基因启动子完全甲基化发生率为41.7%, 晚期(III/IV期)的发生率为82.6%, 两者之间有显著的差异($P = 0.001$); 而与

表 2 RASSF1A基因甲基化与临床病理特征的关系 (n)

临床病理特征	RASSF1A			P值
	U(非甲基化)	U/M	M(甲基化)	
性别				0.345
男	10	10	21	
女	1	4	3	
肿块位置				0.352
食管中上段	6	2	17	
食管下段	5	12	7	
分化程度				0.911
G ₁ -G ₂	5	0	9	
G ₃	6	14	15	
浸润深度				0.256
T ₁ -T ₂	6	7	7	
T ₃ -T ₄	5	7	17	
淋巴结转移情况				0.000
无	7	11	4	
有	4	3	20	
远处转移情况				0.106
无	11	14	21	
有	0	0	3	
分期				0.001
I/II期	7	11	5	
III/IV期	4	3	19	

性别、肿瘤位置、分化程度、浸润深度、远处转移情况等均无显著相关($P>0.05$)。其中远处转移组织只有3例,可能存在标本例数太少影响统计分析结果(表2)。

2.3 RASSF1A基因在ESCC组织中的转录表达情况及甲基化状态与预后之间的关系 RASSF1A基因转录表达缺失的ESCC患者的中位生存时间为22.253 mo,而与之相对应的RASSF1A mRNA无表达缺失的ESCC患者的中位生存时间为41.667 mo,二者之间有显著统计学差异($\chi^2 = 18.460, P = 0.000$, 图1); RASSF1A基因高甲基化状态的ESCC患者的中位生存时间为21.933 mo,而与之相对应的RASSF1A基因非甲基化的ESCC患者的中位生存时间为32.333 mo,二者之间有显著统计学差异($\chi^2 = 7.518, P = 0.006$, 图2)。

2.4 ESCC组织RASSF1A基因转录表达缺失与启动子甲基化状态的关系 在26例RASSF1A基因转录表达缺失的ESCC组织中有24例发生了启动子区域的高甲基化,23例没有RASSF1A mRNA表达缺失的ESCC组织中未发现有RASSF1A基因启动子区域5'-CpG岛高甲基化的情况, RASSF1A基因转录表达缺失与启动子高甲基化显著相关($P = 0.000$)。

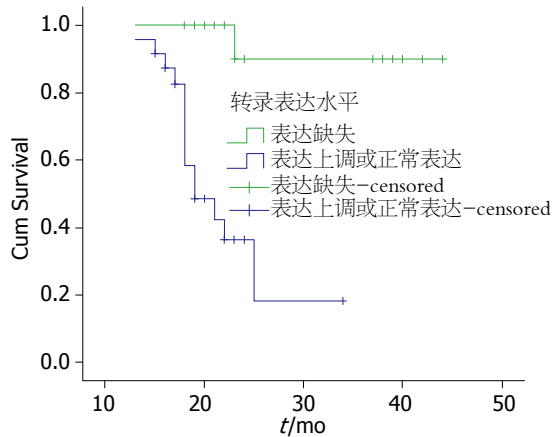


图 1 不同RASSF1A转录表达水平的ESCC患者的术后生存率。

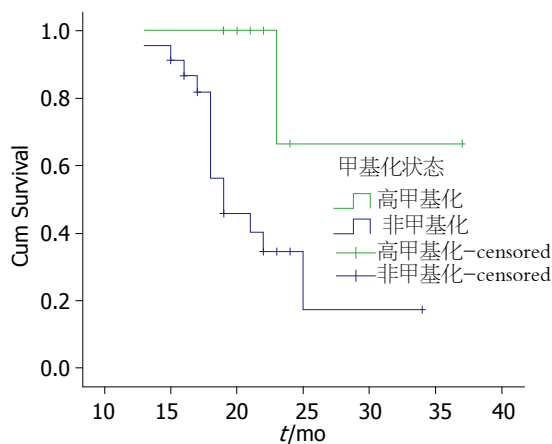


图 2 RASSF1A高甲基化与非甲基化状态的ESCC患者的术后生存率。

应用要点
RASSF1A基因启动子5'-CpG岛高甲基化在ESCC是一高频分子事件,与该基因的转录表达缺失显著相关,是其转录表达缺失的主要机制之一。

3 讨论

RASSF1A基因是2000年从肺癌患者肿瘤组织中克隆出来的一个新型候选抑癌基因^[6],其抑制肿瘤发生发展的确切机制还不十分清楚,目前很多学者认为主要通过以下机制发挥作用:(1)参与细胞凋亡^[7]:与Ras效应蛋白Norel通过非同源的氮末端片段相互形成异二聚体,共同影响Ras相关的凋亡信号通路;(2)影响有丝分裂过程^[8]:与微管结合而改变微管的稳定性,从而调节有丝分裂的进展;(3)调节细胞周期^[9]:抑制细胞周期蛋白D1(cyclin D1)的积聚而控制细胞周期G₁期向S期转变,使细胞周期停滞在G₁/S期,阻止细胞周期进展而抑制肿瘤生长。故RASSF1A基因的表达缺失将会引起细胞恶变,导致肿瘤形成。RASSF1A基因几乎在所有的正常组织中表达,而在肺癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌等人类多种恶性肿瘤组织中表达缺失^[3-5,10-11]。因此,被认为是一个广谱的抑癌基因。

本研究采用real time RT-PCR方法检测了

■同行评价

本文设计合理, 方法可靠, 结果可信, 对于进一步探明RASSF1A基因在食管癌发生发展中的作用和机制有重要的意义。

49例原发ESCC组织及相应的癌旁正常食管组织中RASSF1A基因的转录表达水平。结果发现, 相对于正常食管组织, 在49例ESCC标本中有26(53.06%)例出现了RASSF1A基因的转录表达下调, RASSF1A mRNA在ESCC组织及其对应的癌旁正常组织中的表达存在显著统计学差异($P < 0.05$)。在与临床病理等参数关系的统计学分析中发现, 有淋巴结有转移的ESCC标本中RASSF1A mRNA的表达缺失率明显高于无淋巴结转移组, 差异有统计学意义(81.5% vs 18.2%, $P < 0.05$); RASSF1A基因转录水平的表达缺失与ESCC患者的临床TNM分期也密切相关, 分期越晚, 表达缺失率越高, I / II期与III/IV期比较存在显著统计学差异($P < 0.05$)。该研究结果与之前其他学者的研究结果相仿^[6,12-14], 再次证实了RASSF1A基因可能是ESCC的一个候选抑癌基因、预后相关的潜在因子。

对于ESCC中RASSF1A基因转录表达缺失的机制已有了一些初步的研究, 目前普遍认为与该基因启动子区域5'-CpG岛的高甲基化相关^[12,15,16]。体外实验研究发现^[6], 对RASSF1A mRNA不表达、RASSF1A启动子区域5'-CpG岛的高甲基化的细胞给予药物(5'-氮-2'-脱氧胞苷)处理后可观察到RASSF1A的去甲基化及RASSF1A mRNA的重新表达。因此, 在本研究中, 我们采用qMSP方法对49例ESCC患者的肿瘤组织及对应的癌旁正常食管组织进行甲基化状态观察。结果显示, 在49例ESCC组织标本中RASSF1A基因启动子区域5'-CpG岛异常甲基化的发生率为77.6%, 高于其他学者的研究结果, 可能跟我们所采用的qMSP方法具有更高的灵敏性有关。与临床病理等参数关系的统计学分析结果显示, 有淋巴结转移的、晚期(III/IV期)的ESCC患者RASSF1A基因启动子区域5'-CpG岛高甲基化的发生率更高。结合ESCC组织中RASSF1A基因转录表达情况和甲基化状态研究结果发现, RASSF1A基因转录表达缺失与启动子高甲基化显著相关($P = 0.000$)。该结果提示, RASSF1A基因启动子区域5'-CpG岛高甲基化导致该基因转录表达缺失, 并且可能与ESCC的不良预后相关。

在预后的相关性方面, 之前的研究都是通过RASSF1A基因的转录表达缺失或异常甲基化与病理参数的相关性分析结果来推测RASSF1A基因与预后的关系^[6,13-16], 而直接做患者术后生存情况随访进行RASSF1A基因与ESCC患者预后情况关系的分析的研究还不多。我们采用Ka-

plan-Meier法绘制生存曲线、对数秩检验(Log-rank test)进行生存曲线比较, 分析RASSF1A基因的转录表达缺失和启动子区域5'-CpG岛高甲基化状态与ESCC患者预后之间的关系。结果显示, RASSF1A基因转录表达缺失、启动子区域5'-CpG岛高甲基化的ESCC患者的术后生存时间均明显比对照组短。因此, 本研究结果更直接的证实了RASSF1A基因是ESCC的一个预后不良因素。

总之, RASSF1A基因启动子5'-CpG岛高甲基化在ESCC中是一高频分子事件, 与该基因的转录表达缺失显著相关, 是RASSF1A基因转录表达缺失的主要机制之一。RASSF1A基因的转录表达缺失及其启动子区域5'-CpG岛的高甲基化与ESCC患者的淋巴结转移、TNM分期及预后不良显著相关, 提示RASSF1A基因可作为ESCC预后的预测因子之一。相信随着RASSF1A基因在ESCC中的研究, 尤其是机制方面研究地进一步深入, 将会为ESCC预后评估及临床个性化治疗提供更加客观的理论依据。

4 参考文献

- 1 Qin YR, Wang LD, Fan ZM, Kwong D, Guan XY. Comparative genomic hybridization analysis of genetic aberrations associated with development of esophageal squamous cell carcinoma in Henan, China. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1828-1835
- 2 De Jong WK, Verpooten GF, Kramer H, Louwagie J, Groen HJ. Promoter methylation primarily occurs in tumor cells of patients with non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 2009; 29: 363-369
- 3 Kioulafa M, Kaklamanis L, Mavroudis D, Georgoulas V, Lianidou ES. Prognostic significance of RASSF1A promoter methylation in operable breast cancer. *Clin Biochem* 2009; 42: 970-975
- 4 Benbrahim-Tallaa L, Waterland RA, Dill AL, Weber MM, Waalkes MP. Tumor suppressor gene inactivation during cadmium-induced malignant transformation of human prostate cells correlates with overexpression of de novo DNA methyltransferase. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 1454-1459
- 5 Serth J, Tezval H, Peters I, Atschekzei F, Rehmet K, Jurk S, Albrecht K, Kuczyk MA, Merseburger AS. [Methylation of the RASSF1A tumor suppressor gene promoter. Risk factor for carcinogenesis of urological tumors] *Urologe A* 2008; 47: 1117-1118, 1120-1121
- 6 Dammann R, Li C, Yoon JH, Chin PL, Bates S, Pfeifer GP. Epigenetic inactivation of a RAS association domain family protein from the lung tumour suppressor locus 3p21.3. *Nat Genet* 2000; 25: 315-319
- 7 Agathangelou A, Cooper WN, Latif F. Role of the Ras-association domain family 1 tumor suppressor gene in human cancers. *Cancer Res* 2005; 65: 3497-3508
- 8 Shivakumar L, Minna J, Sakamaki T, Pestell R, White MA. The RASSF1A tumor suppressor blocks cell cycle progression and inhibits cyclin D1 accu-

- mulation. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 4309-4318
- 9 Baksh S, Tommasi S, Fenton S, Yu VC, Martins LM, Pfeifer GP, Latif F, Downward J, Neel BG. The tumor suppressor RASSF1A and MAP-1 link death receptor signaling to Bax conformational change and cell death. *Mol Cell* 2005; 18: 637-650
- 10 Donninger H, Vos MD, Clark GJ. The RASSF1A tumor suppressor. *J Cell Sci* 2007; 120: 3163-3172
- 11 Newell P, Toffanin S, Villanueva A, Chiang DY, Minguez B, Cabellos L, Savic R, Hoshida Y, Lim KH, Melgar-Lesmes P, Yea S, Peix J, Deniz K, Fiel MI, Thung S, Alsinet C, Tovar V, Mazzaferro V, Bruix J, Roayaie S, Schwartz M, Friedman SL, Llovet JM. Ras pathway activation in hepatocellular carcinoma and anti-tumoral effect of combined sorafenib and rapamycin in vivo. *J Hepatol* 2009; 51: 725-733
- 12 Yamaguchi S, Kato H, Miyazaki T, Sohda M, Kimura H, Ide M, Asao T, Kuwano H. RASSF1A gene promoter methylation in esophageal cancer specimens. *Dis Esophagus* 2005; 18: 253-256
- 13 Guo C, Tommasi S, Liu L, Yee JK, Dammann R, Pfeifer GP. RASSF1A is part of a complex similar to the Drosophila Hippo/Salvador/Lats tumor-suppressor network. *Curr Biol* 2007; 17: 700-705
- 14 Cong DG, Wang SF, Zhang TW. [mRNA expression of RASSF1A in esophageal squamous cell carcinoma and clinical significance thereof] *Zhonghua Yixue Zazhi* 2006; 86: 1624-1627
- 15 Kuroki T, Trapasso F, Yendamuri S, Matsuyama A, Alder H, Mori M, Croce CM. Promoter hypermethylation of RASSF1A in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1441-1445
- 16 Lo PH, Xie D, Chan KC, Xu FP, Kuzmin I, Lerman MI, Law S, Chua D, Sham J, Lung ML. Reduced expression of RASSF1A in esophageal and nasopharyngeal carcinomas significantly correlates with tumor stage. *Cancer Lett* 2007; 257: 199-205

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WJG 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, WJG*)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> (WJG编辑部主任:程剑侠 2009-03-26)

经皮内镜下胃造瘘术后的肠内营养62例

卢杰夫, 黎波, 彭卓崙, 梁雪

■背景资料

经皮内镜下胃造瘘术(PEG)于1980年应用于临床, 优点是操作简便, 并发症少。近30年来, PEG的临床应用范围不断扩展, 作为一种微创胃肠造瘘手术, 目前已被广泛接受使用, 并越来越受到重视, 相当程度上取代了传统的外科胃手术造瘘。他是新的肠内营养输入途径, 不同于以往以鼻胃管为主的肠内营养。

卢杰夫, 黎波, 彭卓崙, 梁雪, 广西中医学院第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530022

作者贡献分布: 此课题由卢杰夫设计; 研究过程由卢杰夫、黎波、彭卓崙及梁雪操作完成; 数据分析由卢杰夫与黎波完成; 本文文写作由卢杰夫与黎波完成。

通讯作者: 卢杰夫, 530022, 广西壮族自治区南宁市, 广西中医学院第一附属医院消化内科, jfl183@yahoo.com.cn
电话: 0771-5848705

收稿日期: 2010-07-11 修回日期: 2010-08-20

接受日期: 2010-08-31 在线出版日期: 2010-10-18

Efficacy of enteral nutrition by percutaneous endoscopic gastrostomy: an analysis of 62 cases

Jie-Fu Lu, Bo Li, Zhuo-Yu Peng, Xue Liang

Jie-Fu Lu, Bo Li, Zhuo-Yu Peng, Xue Liang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530022, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Jie-Fu Lu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530022, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. jfl183@yahoo.com.cn

Received: 2010-07-11 Revised: 2010-08-20

Accepted: 2010-08-31 Published online: 2010-10-18

Abstract

AIM: To evaluate the clinical effect of enteral nutrition by percutaneous endoscopic gastrostomy (PEG).

METHODS: Sixty-two patients undergoing PEG were followed up at 1, 3 and 6 mo after feeding tube placement to determine the changes in body mass index (BMI) and serum albumin. The occurrence of complications such as pneumonia and reflux esophagitis was also recorded.

RESULTS: PEG was successful in all the 62 patients. Nutritional status was significantly improved and weight loss was controlled after PEG. At 1, 3 and 6 mo after enteral nutrition, BMI and serum albumin levels were significantly improved when compared with the values before enteral nutrition ($19.78 \text{ kg/m}^2 \pm 1.76 \text{ kg/m}^2$, $19.84 \text{ kg/m}^2 \pm 1.65 \text{ kg/m}^2$ and $19.98 \text{ kg/m}^2 \pm 1.78 \text{ kg/m}^2$ vs $19.46 \text{ kg/m}^2 \pm 1.84 \text{ kg/m}^2$; $34.9 \text{ g/L} \pm 1.9 \text{ g/L}$, $35.4 \pm 2.0 \text{ g/L}$, $34.8 \text{ g/L} \pm 1.3 \text{ g/L}$ vs $34.5 \text{ g/L} \pm 2.2 \text{ g/L}$, all $P < 0.05$). The incidence of pulmonary infection and reflux esophagitis was significantly reduced after PEG compared with preoperative values (14.0% vs 69.3%, $\chi^2 = 5.76$, $P < 0.05$; 5.3% vs 25.8%, $\chi^2 = 4.52$, $P < 0.05$).

■同行评议者

张国梁, 主任医师, 天津市第一中心医院消化内科

1.9 g/L, $35.4 \pm 2.0 \text{ g/L}$ and $34.8 \text{ g/L} \pm 1.3 \text{ g/L}$ vs $34.5 \text{ g/L} \pm 2.2 \text{ g/L}$, all $P < 0.05$). The incidence of pulmonary infection and reflux esophagitis was significantly reduced after PEG compared with preoperative values (14.0% vs 69.3%, $\chi^2 = 5.76$, $P < 0.05$; 5.3% vs 25.8%, $\chi^2 = 4.52$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Enteral nutrition by PEG can significantly improve the nutritional status, BMI and serum albumin levels, reduce the occurrence of reflux esophagitis and pulmonary infection, and therefore represents an ideal means of providing enteral nutrition.

Key Words: Gastroscopy; Gastrostomy; Enteral nutrition

Lu JF, Li B, Peng ZY, Liang X. Efficacy of enteral nutrition by percutaneous endoscopic gastrostomy: an analysis of 62 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3140-3143

摘要

目的: 评价经皮内镜下胃造瘘术(percutaneous endoscopic gastrostomy, PEG)后肠内营养的临床效果。

方法: 对62例行PEG患者进行随访, 观察患者PEG置管前、置管后1、3及6 mo的体质指数及血清白蛋白的变化。同时记录置管前后患者并发肺炎、反流性食管炎的情况。

结果: 62例患者共成功做了96次PEG, 术后患者营养状况明显改善, 体质量的减轻得到控制, 肠内营养1、3及6 mo后, 体质指数及血清白蛋白水平明显改善, 置管前、后组内比较差异有统计学意义($19.78 \text{ kg/m}^2 \pm 1.76 \text{ kg/m}^2$, $19.84 \text{ kg/m}^2 \pm 1.65 \text{ kg/m}^2$, $19.98 \text{ kg/m}^2 \pm 1.78 \text{ kg/m}^2$ vs $19.46 \text{ kg/m}^2 \pm 1.84 \text{ kg/m}^2$; $34.9 \text{ g/L} \pm 1.9 \text{ g/L}$, $35.4 \pm 2.0 \text{ g/L}$, $34.8 \text{ g/L} \pm 1.3 \text{ g/L}$ vs $34.5 \text{ g/L} \pm 2.2 \text{ g/L}$, 均 $P < 0.05$)。PEG术前肺部感染的发生率为69.3%(43/62), 术后降低至14.0%(8/57)($\chi^2 = 5.76$, $P < 0.05$); PEG术前反流性食管炎发生率为25.8%(16/62), 术后降至5.3%(3/57)($\chi^2 = 4.52$, $P < 0.05$)。

结论: PEG术后患者营养状况改善明显, 体质

量指数增加, 血清白蛋白明显改善. 同时PEG可减少因留置鼻胃管引起的反流性食管炎及肺部感染的发生率, 患者耐受性好, 是较理想的肠内营养途径.

关键词: 胃镜; 胃造瘘术; 肠内营养

卢杰夫, 黎波, 彭卓翥, 梁雪. 经皮内镜下胃造瘘术后的肠内营养62例. 世界华人消化杂志 2010; 18(29): 3140-3143
http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3140.asp

0 引言

因各种疾病导致不能经口进食而胃肠道功能尚未完全丧失的患者, 全胃肠内营养(total enteral nutrition, TEN)更安全、经济, 有利于维护患者肠道功能. 建立TEN通道传统的方法是放置鼻饲管鼻饲及开腹行胃造瘘术, 随着内镜治疗技术的发展, 通过胃镜介导放置胃造瘘管, 即经皮内镜下胃造瘘术(percutaneous endoscopic gastrostomy, PEG)进行肠内营养目前已被广泛接受应用, 可以避免外科手术造瘘. 广西中医学院第一附属医院2001-03/2010-03使用美国Wilson-Cook公司生产的PEG-24-Pull型一次性胃造瘘包为62例患者进行共96次PEG治疗, 取得较满意的效果. 现总结分析如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本组患者62例, 男45例, 女17例, 年龄20-87(平均64)岁. 其中高血压性脑出血25例, 脑梗死12例, 动脉硬化性脑病6例, 食管气管瘘4例, 重症颅脑外伤昏迷行气管切开6例, 鼻咽癌放疗后2例, 食管癌7例. 所有患者行PEG前均曾放置鼻饲管鼻饲, 鼻饲管鼻饲时间15 d至11年不等. 其中43例患者伴有吸入性肺炎. 16例胃镜提示反流性食管炎.

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 常规检查出凝血时间、心电图, 停止鼻饲8 h. 张口困难的患者应用开口器辅助放入牙垫. 常规心电监护, 脉搏、氧饱和度、血压监测, 开放静脉通道, 以保持操作过程安全顺利. 患者取仰卧位, 头偏左侧, 对部分不配合的患者, 在心电监护下给予丙泊酚静脉注射, 使患者处于麻醉状态. 胃造瘘部位定位于左锁骨中线, 剑突至脐上1/3水平交界处. 胃镜插入胃腔后充气使胃充分膨胀, 确定胃壁及腹壁紧密接触后, 通过腹壁观察胃镜灯光, 将胃镜灯光调整至拟造瘘部位后, 选择血管较少的区域为穿刺点, 皮肤消毒, 局部浸润麻醉, 直至局麻注射针进入

胃腔, 退出注射针, 于穿刺部位皮肤作约0.8 cm切口, 用套管针经腹壁穿刺入胃腔, 置入导丝进入胃腔, 通过胃镜活检孔放入圈套器, 抓住导丝连同胃镜一同拔出. 将导丝与胃造瘘管连接后, 从腹壁牵引导丝使胃造瘘管经口腔、食管进入胃腔. 再次插入胃镜至胃内观察造瘘管情况, 使胃造瘘管蘑菇头与胃壁紧密接触后, 固定胃造瘘管, 并使造瘘管盘片与腹壁保持轻度紧张状态.

1.2.2 PEG术后处理: (1)PEG术后当天输液支持治疗, 3 d内应用抗生素并适当应用止血药; (2)注意观察术后并发症如出血、感染及管周漏液等, 术后10 d每天瘘孔周围清洁消毒; (3)术后次日注入10%葡萄糖250 mL左右, 观察有无异常. 如无异常, 第3天即可“进食”; (4)每天进食前后用温开水冲洗导管. 使患者处于半卧位或坐位状态30-60 min, 以减少胃食管反流的发生.

1.2.3 观察指标: 计算患者PEG置管前、置管后1、3及6 mo的体质指数(body mass index, BMI)及血清白蛋白水平. 同时记录置管前后患者并发肺炎、反流性食管炎的情况.

统计学处理 采用SPSS11.5软件, 对营养状况行 t 检验, 并发症行 χ^2 检验.

2 结果

62例患者共成功做了96次PEG. 平均操作时间为15-25 min. 所有患者进行跟踪随访, 其中2例重症颅脑外伤昏迷患者行PEG术后第2个月死于原发疾病加重, 1例食管癌患者PEG术后第5个月死于癌转移, 2例失去随访, 6 mo总计完成观察指标为57例. 6-24 mo更换造瘘管. 62例中有25例进行了造瘘管置换术, 其中1例脑出血患者自2001年第1次PEG后每1-2年置换胃造瘘管1次, 至2010年已换管6次. 术后患者营养状况有所改善, 体质量的减轻得到控制, 肠内营养1、3及6 mo后, BMI及血清白蛋白水平有明显改善, 置管前、后组内比较差异有统计学意义($P < 0.05$, 表1). 62例中, 5例患者恢复经口进食而拔除瘘管. PEG术前肺部感染的发生率为69.3%(43/62), 术后降低至14.0%(8/57); 术前术后比较差异有统计学意义($\chi^2 = 5.76, P < 0.05$); PEG术前反流性食管炎的发生率为25.8%(16/62), 术后降至5.3%(3/57). 术前术后比较差异有统计学意义($\chi^2 = 4.52, P < 0.05$). 术后出现低热3例, 造瘘口周围皮肤局部红肿渗液6例、局部疼痛3例、气腹3例、喂食后呕吐5例、腹泻7例、便秘4例及吸入性肺炎9例, 6例患者无意识拔出造瘘管导致瘘口少量渗血. 经对症处理后症状均得到缓解. 本

■ 相关报道
钟名荣等在对15例患者进行PEG及空肠造瘘术操作中未发生与手术相关的死亡和消化系瘘或穿孔等严重并发症.

应用要点

PEG术后患者营养状况改善明显,可减少因留置鼻胃管引起的反流性食管炎及肺部感染的发生率,患者耐受性好,是较理想的肠内营养途径。

表 1 PEG患者的BMI及血清白蛋白水平变化

	术前	术后(mo)		
		1	3	6
<i>n</i>	62	62	59	57
BMI(kg/m ²)	19.46 ± 1.84	19.78 ± 1.76	19.84 ± 1.65	19.98 ± 1.78
血清白蛋白(g/L)	34.50 ± 2.20	34.90 ± 1.90	35.40 ± 2.00	34.80 ± 1.30

BMI: 体质质量指数。

组所有病例均未出现胃结肠瘘、腹膜炎及造瘘管蘑菇头嵌顿等严重并发症,无营养管堵塞现象。

3 讨论

不能经口进食的患者,通常替代经口营养的方式是放置鼻胃管及深静脉全肠外营养(total parenteral nutrition, TPN),盲视下置管对一般消化系结构正常者是容易的,其缺点为导管插入深度和位置只能凭插管的深度和插管后抽吸试验确定是否到胃,对于要求定位置管或消化系结构发生改变,特别是一些情况下如食管狭窄、穿孔、食管瘘以及术后吻合口瘘要求准确定位置管,盲目插管不可能达到满意的效果。需要长期非经口营养,通过深静脉是一种有效的人工营养供给途径。然而,此法存在置管技术、营养进入体内后代谢不良以及置管后合并感染及发生败血症等,而且特殊的营养液价格昂贵,患者需要住院,处于医护人员的严密监护之下,难以作为常规治疗方法广泛应用。

Gauderer等^[1]首先报道了PEG,经过30年临床应用,作为一种微创胃肠造瘘手术,目前已被广泛接受和使用^[2-4],他是新的肠内营养输入途径,不同于以往以鼻胃管为主的肠内营养。对于需要长期肠内营养供给的患者,从方法学上看,与传统的外科胃肠造瘘相比,内镜法具有以下优点:(1)操作简便、快速(15-30 min)、安全,不需切开腹壁和打开胃腔,术后并发症少。据文献^[5]报道,手术胃肠造瘘术并发症发生率及死亡率分别为6%-75%和5%-37%,而PEG及空肠造瘘术仅5%-17.5%和9%-15%。钟名荣等^[6]在对15例患者进行PEG及空肠造瘘术操作中未发生与手术相关的死亡和消化系瘘或穿孔等严重并发症;(2)不需特殊麻醉,只需少量局部麻醉即可进行操作,术后并发症低;(3)不需特殊的施行场所,既可以在胃镜室进行,也可以在病房进行;(4)术后早期即可投与营养流质饮食;(5)术后易于护理,患者可以回家,自己控制使用,长期置放,同时较大管腔的PEG胃管可以保证患者“食

入”多种稀糊状或液体饮食,患者易于接受,痛苦少。有研究表明PEG可保证肠内营养,提高细胞免疫功能^[7,8]。从营养供给上看,与TPN供给相比,内镜造瘘进行肠内营养,具有易于为人体正常消化系吸收,肠内营养不仅为患者提供能量来源,而且给胃肠道以机械刺激诱导肠黏膜代谢增强,保持和增加肠道和肝脏的血流量,避免肠道黏膜萎缩,保持黏膜屏障和网状内皮细胞正常功能,防止肠道内细菌和内毒素移位,因而可以较好保持肠道及机体免疫功能,减少肠源性感染发生。这类患者的肠内营养支持是其康复的重要前提。而且营养物美价廉,易于广泛使用。因此PEG已成为需长期肠内营养供给患者的首选方法。Onishi等^[9]报道了家庭病床施行PEG术的可行性和有效性,PEG置管后1年生存率为64.0%,2年生存率为55.5%。他认为家庭病床中施行PEG后可改善患者的生活质量,延长患者的寿命,减轻家庭护理的负担,患者及其家属非常乐意接受。李俊峰等^[10]将70例吞咽障碍的患者分成鼻饲管鼻饲及PEG管进食两组进行研究,发现经PEG管进食组明显优于鼻饲组。他认为对那些需要经肠道营养且没有胃肠梗阻的患者行PEG术是适合的。

本研究发现PEG方法肠内营养6 mo,患者营养状况改善明显,BMI增加,PEG前后差异有统计学意义;血清白蛋白明显改善,差异有统计学意义。同时PEG肠内营养可减少因长期留置鼻胃管而引起的反流性食管炎及肺部感染的发生率,与许乐等^[11,12]的研究结果相符。且患者耐受性好,他是较理想的肠内营养途径。

4 参考文献

- Gauderer MW, Ponsky JL. A simplified technique for constructing a tube feeding gastrostomy. *Surg Gynecol Obstet* 1981; 152: 83-85
- 沈小娜, 王启仪. 内镜经皮胃造瘘术. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 18
- 潘小红, 黄晓峰, 周建波. 高龄患者内镜下经皮胃造瘘术. *现代实用杂志* 2002; 14: 137
- Gutt CN, Held S, Paolucci V, Encke A. Experiences

- with percutaneous endoscopic gastrostomy. *World J Surg* 1996; 20: 1006-1008; discussion 1108-1109
- 5 许国铭, 李兆申. 上消化道内镜学. 上海: 上海科学技术出版社, 2003: 564-570
 - 6 钟名荣, 索标, 张永红, 杨晓华, 黄晖晖, 骆芸. 经皮穿刺内镜下胃造瘘术和空肠造瘘术的临床应用. *中国内镜杂志* 2010; 16: 389-391
 - 7 张瑛华, 曾志刚, 李友佳. 老年人经皮内镜下胃造瘘和小肠造瘘术后长期肠内营养支持的应用. *中华老年医学杂志* 2007; 26: 507-509
 - 8 Wu Y, Kudsk KA, DeWitt RC, Tolley EA, Li J. Route and type of nutrition influence IgA-mediating intestinal cytokines. *Ann Surg* 1999; 229: 662-667; discussion 667-668
 - 9 Onishi J, Masuda Y, Kuzuya M, Ichikawa M, Hashizume M, Iguchi A. [Long-term prognosis and satisfaction after percutaneous endoscopic gastrostomy in a general hospital] *Nippon Ronen Igakkai Zasshi* 2002; 39: 639-642
 - 10 李俊峰, 汤绍辉, 杨见权, 钟健, 杨冬华, 李兆申. 经皮内镜下胃造瘘患者营养状况及耐受性临床研究. *中华消化杂志* 2007; 27: 633-634
 - 11 许乐, 罗庆锋. 内镜下经皮胃造瘘对老年患者生活质量的影响. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 294-297
 - 12 许乐. 胃镜下经皮胃造瘘的临床应用. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3377-3380

■同行评价

本文选题较好, 设计合理, 统计方法得当, 结果可靠, 对临床医师有一定的指导作用.

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), CN 14-1260/R]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

第一步 作者提交稿件: 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至submission@wjgnet.com咨询, 编务将在1个工作日内回复.

第二步 审稿: 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

第三步 编辑、修改稿件: 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

第四步 录用稿件: 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行核对, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

第六步 组版: 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

第七步 印刷、发行: 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原创文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章从投稿到刊出4 mo内完成. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-18)

纵轴超声内镜指导胃黏膜下间质瘤套扎126例

钟慧闽, 宋健, 董文珠, 杨杰, 王群英, 姚萍

■背景资料

胃黏膜下小间质瘤既往诊治困难, 肿瘤体积小, 待间质瘤长大至明确诊断时只能剖腹手术切除。自开展超声内镜检查以来, 胃黏膜下小间质瘤诊断日益清楚, 可在其微小病变时即能发现, 其内镜下治疗也逐渐增多。

钟慧闽, 宋健, 董文珠, 杨杰, 王群英, 姚萍, 中国人民解放军青岛第401医院消化内科 山东省青岛市 266071

作者贡献分布: 此课题由钟慧闽设计引用; 研究操作过程由钟慧闽、宋健、董文珠、杨杰、王群英及姚萍完成; 数据分析由钟慧闽与宋健完成; 本论文由钟慧闽与宋健写作完成。

通讯作者: 宋健, 副主任医师, 266071, 山东省青岛市, 中国人民解放军青岛第401医院消化内科. healthsong@gmail.com
电话: 0532-83970047

收稿日期: 2010-07-11 修回日期: 2010-08-22

接受日期: 2010-08-31 在线出版日期: 2010-10-18

Longitudinal endoscopic ultrasonography-guided endoscopic band ligation of gastric stromal tumors: an analysis of 126 cases

Hui-Min Zhong, Jian Song, Wen-Zhu Dong, Jie Yang, Qun-Ying Wang, Ping Yao

Hui-Min Zhong, Jian Song, Wen-Zhu Dong, Jie Yang, Qun-Ying Wang, Ping Yao, Department of Gastroenterology, the 401st Hospital of Chinese PLA, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Correspondence to: Jian Song, Department of Gastroenterology, the 401st Hospital of Chinese PLA, Qingdao 266071, Shandong Province, China. healthsong@gmail.com

Received: 2010-07-11 Revised: 2010-08-22

Accepted: 2010-08-31 Published online: 2010-10-18

Abstract

AIM: To evaluate the feasibility of longitudinal endoscopic ultrasonography (EUS)-guided endoscopic band ligation of gastric submucosal stromal tumors (GISTs).

METHODS: One hundred and twenty-six patients with GISTs underwent EUS-guided endoscopic band ligation. Tumors were located in the cardia in 8 patients, in the fundus in 45 patients, in the corpus in 39 patients, and in the antrum in 34 patients. The follow-up was performed on day 1, at 1, 2, 6 and 12 mo after band ligation and every year thereafter.

RESULTS: The diagnosis of GISTs was confirmed by EUS-guided fine needle biopsy in several patients. The success rate of endoscopic band ligation was 98.4% (124/126). Tumor eradication was found in 125 patients (99.2%)

during follow-up. During 1-5 years of follow-up, the ligation site became flat in 86 patients, and formed white strip scar in 11 patients. No residual or recurrent tumors were found, and the recovery rate was 99.2%.

CONCLUSION: EUS-guided endoscopic band ligation is a safe, effective and simple approach for treatment of GISTs.

Key Words: Endoscopic ultrasonography; Gastric submucosal stromal tumor; Ligation

Zhong HM, Song J, Dong WZ, Yang J, Wang QY, Yao P. Longitudinal endoscopic ultrasonography-guided endoscopic band ligation of gastric stromal tumors: an analysis of 126 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3144-3146

摘要

目的: 评价纵轴超声内镜指导胃黏膜下间质瘤的套扎和随访。

方法: 经纵轴超声内镜检查诊断筛选胃黏膜下小间质瘤126例, 胃贲门8例, 胃底45例, 胃体39例, 胃窦34例, 行内镜下黏膜套扎术治疗, 于术后、术后1-2 mo, 半年, 每一年随访观察。

结果: 部分细针穿刺组织, 病理符合率为100%, 进行胃黏膜下间质瘤的套扎术, 成功124例, 成功率98.4%, 超声内镜随访间质瘤消除125例, 随访清除率99.2%。有86例患者经1-5年随访, 套扎瘤局部平滑, 11例可见条状白瘢, 其余患者局部黏膜未见不同, 未发现残留、复发等, 治愈率99.2%。

结论: 在超声内镜检查指导下对胃黏膜下间质瘤定性、定位、定体积, 选择内镜下套扎治疗, 随访观察治愈率高。该方法安全、有效、简便, 值得进一步规范推广。

关键词: 超声内镜; 黏膜下间质瘤; 套扎术

钟慧闽, 宋健, 董文珠, 杨杰, 王群英, 姚萍. 纵轴超声内镜指导胃黏膜下间质瘤套扎126例. *世界华人消化杂志* 2010; 18(29): 3144-3146

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3144.asp>

■同行评议者

张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院消化内科

0 引言

胃黏膜下小间质瘤既往诊治困难, 肿瘤体积小, 待间质瘤长大至明确诊断时只能剖腹手术切除^[1]. 自开展超声内镜检查以来, 胃黏膜下小间质瘤诊断日益清楚, 可在其微小病变时即能发现, 其内镜下治疗也逐渐增多. 中国人民解放军青岛第401医院自2004年以来开展纵轴超声内镜指导下胃黏膜下间质瘤的套扎治疗和随访观察, 旨在进一步探讨治疗胃黏膜下小间质瘤的最佳方法.

1 材料和方法

1.1 材料 2004-07/2010-04在中国人民解放军青岛第401医院行超声内镜检查被诊断为胃黏膜下间质瘤患者186例, 选择胃黏膜下良性小间质瘤126例, 体积0.5-1.3 cm, 男75例, 女51例, 年龄28-79(平均53.8)岁.

1.2 方法 器械采用日本PENTAX EPM-3500型超声内镜, 探头频率5-7.5 MHz, 纵轴电子线阵扇扫. 日本HITACHI EUB-525型超声诊断仪. 日本住友空气驱动式套扎器, 结扎器内径11 mm. 食管静脉曲张套扎器, 套扎器内径13 mm, 长10 mm. 患者在普通内镜检查发现胃黏膜下隆起性病变后, 退出胃镜, 随后或择期进行超声内镜检查. 超声内镜检查扫描时采用水充盈+水囊法, 先确定间质瘤的大小和形态, 其中7例细针穿刺病理证实, 其余超声形态排除恶性病变, 选择瘤体直径0.5-1.3 cm, 瘤体体积不超过1.5 cm的病例, 行间质瘤的套扎术^[2,3], 术后有疑虑未套扎住瘤体者, 即当行超声内镜检查, 以确定间质瘤完全位于套扎圈内. 如果内镜下发现未能将瘤体完全套扎, 应将皮圈解开重新套扎. 术后给予止酸药和保护胃黏膜药物口服, 随访, 1-2 mo后开始复查胃镜或超声内镜, 观察套扎瘤脱落, 溃疡形态和溃疡愈合的过程, 直至局部创面愈合、平坦. 黏膜下间质瘤消失, 以后每1年内镜随访观察病变预后.

2 结果

选择胃黏膜下良性小间质瘤126例, 均起源于胃固有肌层; 胃贲门8例, 胃底45例, 胃体39例, 胃窦34例. 间质瘤超声形态, 间质瘤常发生的部位在胃壁超声4层, 低回声或无回声, 回声较均匀, 周围边界清晰, 间质瘤潜在恶性, 如回声明显不均, 边缘不规则, 液性暗区, >5 cm、淋巴结转移等. 本文7例细针穿刺病理, 病理符合率为100%.

黏膜套扎术成功124例, 成功率98.499.2%. 胃镜和超声内镜随访1例间质瘤术后复查, 发现未套扎住, 重复套扎成功, 1例复查因结扎不完全, 仍有0.3 mm残余瘤组织, 该平滑肌瘤原直径在13 mm×2 mm. 现正在随访中. 胃镜和超声内镜随访肿瘤消除的125例, 清除率99.2%. 有86例患者经1-5年随访, 套扎瘤局部平滑, 11例可见条状白痕, 其余患者局部黏膜未见不同, 未发现残留、复发等, 治愈率99.2%. 创面观察, 结扎瘤脱落后局部形成溃疡, 愈合时间1.7-6.4 wk, 平均愈合时间4.1 wk±0.5 wk, 1例患者溃疡愈合期时局部明显增高, 表面粗糙, 活检为轻度不典型增生. 2-5 mo后修复平坦. 活检为正常组织. 该例患者为多发间质瘤, 曾行2次套扎. 术后症状观察, 胃平滑肌瘤结扎术后少数患者1 wk内有轻度的上腹隐痛. 全部患者无1例发生出血、穿孔.

3 讨论

胃的小间质瘤是常见的一种消化系黏膜下病变, 多为良性^[2]. 因其具有生长性, 将影响胃功能, 引起临床症状, 加重患者心理负担, 并潜在恶变, 复发和转移^[3]. 近年来, 一致认为医生应早期干预^[4]. 所以, 目前有很多方法正在探讨治疗该病, 如有内镜下黏膜注射术, 套扎术, 电圈套术、电烧术、切除术(endoscopic membrane resection, EMR)、剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)和结扎后剥离术(endoscopic submucosal dissection with ligation, ESD-L)、腹腔镜等^[1,2,5-10]. 我们也采取过多种方法, 其中, 套扎术应用最多.

胃间质瘤的套扎术的操作与其他技术相比, 非常简便, 胃间质瘤动度比较好, 周围边界清晰, 胃内手术视野宽敞, 食管静脉曲张的套扎器比较大, 弹性好, 可以完全吸入直径13 mm左右的胃间质瘤, 特别是对于做过食管静脉曲张套扎术的医生, 操作更是简便易行.

胃间质瘤的套扎术的操作与其他技术相比, 非常安全, 胃黏膜切除术、剥离术可以切除该病, 并能获取活组织做病理, 但是手术比内镜下套扎创伤大, 且需要娴熟高超的内镜手术技术, 耗费较多贵重的器材, 并且承担较大的风险^[6,9]. 我们于2004年参照孙思予的方法^[8,9], 结合食管静脉曲张的套扎器和套扎方法, 开始应用黏膜下套扎术治疗胃的小间质瘤^[11], 将包含小间质瘤在内的全部消化系壁吸进内径约10 mm×10 mm的结扎器内, 释放橡皮圈将小间质瘤及其周围组织结扎后形成套扎瘤, 这样由于被结扎的

■研发前沿

胃的小间质瘤是常见的上消化系黏膜下病变, 可生长, 潜在恶变, 复发和转移. 应早期干预. 探讨其治疗方法是目前的研究热点, 但尚无定论.

■相关报道

孙思予等报道即便较小的黏膜下间质瘤电切也可能发生出血、穿孔, 利用套扎术治疗, 安全有效.

■创新盘点

通过本文的手术研究和长时间的随访,较详细地探讨了提高套扎成功率的方法,并提出了一些新方法,如必须根据超声内镜指导下进行,选择病灶大小套扎,吸引力度,不足之处的弥补事项及胃溃疡的复查等。

间质瘤组织缺血、坏死、脱落形成溃疡,溃疡底部的肉芽组织生长,修复溃疡,而与此同时结扎环外侧的浆膜(外膜)组织由于局部炎症发生粘连,预防了穿孔,皮圈脱落的过程比较缓慢(一般术后7-10 d),可有效地彻底地消除了小间质瘤,又避免了消化系急性穿孔的危险。

胃间质瘤的套扎术的操作与其他技术相比,非常彻底,应用更广泛,以前,多用内镜下高频电圈套器方法切除胃隆起性病变,新近又采用EMR和ESD,但是通过超声内镜的检查发现胃间质瘤多起源于胃壁的4层,即胃固有肌层,贴近浆膜层,少数起源于黏膜肌层^[11]。胃镜下电圈套器切除、EMR和ESD切除固有肌层病变,往往切除不彻底或造成穿孔,需金属夹治疗气腹等。所以,资料报道EMR和ESD应慎用于起源于固有肌层者的病变^[6,12,13]。而本文资料和多数资料报道,套扎术后无1例穿孔^[14],随访数年未见复发,治愈率高。

套扎术有许多优点,但应该注意以下事项:(1)套扎术前后必须以超声内镜检查诊断和随访,超声内镜对胃黏膜下间质瘤的诊断、治疗方案的选择和随访具有决定性的意义^[15];(2)严格选择合适病例范围的套扎,是成功的关键,确定5-13 mm的范围,根据透明帽的大小,考虑5 mm以下的病变,该法吸引时可能将过多的正常组织套扎住,创伤较大,所以较小病变不宜套扎,可以继续观察,13 mm以上的病变不易完全套扎住,治疗不彻底,可采取黏膜剥脱术、腹腔镜等方法;(3)套扎术不易取得瘤体病理,术前一定要先排除恶性病变,并严格随访,在行结扎治疗前,应用内镜超声和内镜超声引导下穿刺细胞学检查非常必要,肿瘤切除后,需要长时间随访;(4)根据间质瘤的大小掌握吸引的力度,大的间质瘤吸引的力度的要大些,让组织充满套扎器的透明帽,小的间质瘤吸引的力度轻一些,防止吸引过多的组织;(5)胃溃疡的问题,由于胃壁较食管壁和十二指肠壁厚,而且胃内的酸性环境和消化液也使胃部的创面愈合时间相对较长,因而胃瘤的结扎后溃疡较深大,愈合时间较长,需要胃溃疡的正规治疗疗程。胃溃疡是癌前期状况,胃间质瘤的套扎术后愈合的过程中会经历胃溃疡的病变,能否引发胃溃疡恶变? 尚未见类

似研究报道,本文资料中有1例患者,出现较长时间的胃溃疡及增生,虽然随访2年病变正常。但这例患者患多发(3个)间质瘤,分2次套扎,我们认为多发间质瘤和较大间质瘤的套扎可能会造成深大溃疡,应该非常谨慎,本资料其余患者长达1-5年随访病变部位光滑平整,均未发生癌变和癌前期病变。

在超声内镜指导下,采用内镜下套扎治疗胃黏膜下小间质瘤是一项简单、有效、方便、快速、经济、安全的治疗手段。值得进一步规范 and 推广应用。

4 参考文献

- 1 彭贵勇, 房殿春, 唐郡, 孙永刚, 李向红. 超声内镜指导下内镜治疗胃黏膜下肿瘤. 第三军医大学学报 2006; 28: 260-262
- 2 刘宏斌, 李文惠, 韩晓鹏, 苏琳, 赵宏伟. 胃间质瘤的诊断及外科治疗. 现代肿瘤医学 2009; 17: 1120-1121
- 3 薛静, 聂占国, 祁向军, 张伟平, 游云. 内镜超声对胃间质瘤诊断及治疗的临床应用价值. 中国内镜杂志 2009; 15: 636-638
- 4 陈丰霖, 蔡东霞, 王小众, 郑兰, 王南珍, 李岚, 甘爱华. 超声内镜辅助下应用圈套结扎法治疗上消化道壁肌层小肿瘤. 中国消化内镜 2009; 3: 8-12
- 5 Sun S, Ge N, Wang C, Wang M, Lü Q. Endoscopic band ligation of small gastric stromal tumors and follow-up by endoscopic ultrasonography. *Surg Endosc* 2007; 21: 574-578
- 6 马丽黎, 陈世耀. 内镜黏膜下剥离术治疗上消化道病变. 胃肠病学 2008; 13: 495-498
- 7 余福兵, 何夕昆, 郝玲, 盛娟, 左赞. 应用结扎术进行内镜黏膜下剥离术治疗胃固有肌层小肿瘤. 中国内镜杂志 2009; 15: 12-14
- 8 Sun S, Jin Y, Chang G, Wang C, Li X, Wang Z. Endoscopic band ligation without electrosurgery: a new technique for excision of small upper-GI leiomyoma. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 218-222
- 9 孙思予, 王占辉, 夏玉亭, 金洽. 内镜下圈套结扎在治疗上消化道小平滑肌瘤中的应用. 中华消化内镜杂志 2003; 20: 88-90
- 10 田忠, 勾健, 赵海鹰, 杨福全, 乔麟, 刘源, 孙思予, 王孟春, 刘金钢. 腹腔镜微创外科治疗胃间质瘤17例报告. 中国实用外科杂志 2006; 26: 131-132
- 11 钟慧闻, 杨杰, 姚萍, 曲小静. 284例内镜超声检查与治疗分析. 中国内镜杂志 2008; 14: 511-513
- 12 俞江平, 孙爱武, 张奕荫, 刘永军, 陶亚利, 阮荣蔚. 超声内镜指导下上消化道黏膜下肿瘤的黏膜切除术. 中外健康文摘(临床医师版) 2008; 5: 153-154
- 13 丁向萍, 张锦华, 张剑波. 超声内镜下诊治上消化道良性隆起型病变118例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2208-2211
- 14 刘明. 消化内镜套扎器的发展与套扎术的应用进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1078-1085
- 15 金震东. 超声内镜在消化系疾病诊治中的应用进展. 胃肠病学和肝病学杂志 2009; 18: 5-9

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

■同行评价

本文选题较好,设计合理,有很好的临床参考意义。

DNA含量及细胞动力学在不同胃黏膜病变中的变化

党小红, 郭俊芝, 黄会芳, 李建红, 刘近春, 霍丽娟

党小红, 郭俊芝, 黄会芳, 李建红, 刘近春, 霍丽娟, 山西医科大学第一医院消化内科 山西省太原市 030001

作者贡献分布: 此课题由党小红设计; 研究过程由党小红、郭俊芝、黄会芳、李建红、刘近春及霍丽娟操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由党小红提供; 数据分析由党小红与郭俊芝完成; 本论文写作由党小红、郭俊芝、黄会芳及李建红完成。

通讯作者: 党小红, 副主任医师, 030001, 山西省太原市, 山西医科大学第一医院消化内科. xh.dang@163.com

收稿日期: 2010-06-02 修回日期: 2010-08-10

接受日期: 2010-08-17 在线出版日期: 2010-10-18

Alterations in DNA content and cell kinetics in different gastric mucosal lesions

Xiao-Hong Dang, Jun-Zhi Guo, Hui-Fang Huang, Jian-Hong Li, Jin-Chun Liu, Li-Juan Huo

Xiao-Hong Dang, Jun-Zhi Guo, Hui-Fang Huang, Jian-Hong Li, Jin-Chun Liu, Li-Juan Huo, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Correspondence to: Li-Juan Huo, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. xh.dang@163.com

Received: 2010-06-02 Revised: 2010-08-10

Accepted: 2010-08-17 Published online: 2010-10-18

Abstract

AIM: To investigate the changes in DNA content and cell kinetics in different gastric mucosal lesions.

METHODS: The DNA content and cell kinetics were investigated by flow cytometry in 25 superficial gastritis specimens and equal number of specimens of type N-IIb intestinal metaplasia, foveolar hyperplasia, type IIb intestinal metaplasia, and dysplasia taken from patients with chronic atrophic gastritis or gastric cancer.

RESULTS: DNA histogram analysis revealed that proliferative index (PI), S phase fraction (SPF) and G₂M fraction were highest in dysplasia, followed by type IIb intestinal metaplasia, foveolar hyperplasia, type N-IIb intestinal metaplasia and superficial gastritis.

CONCLUSION: Quantitative cytokinetic analysis can be used to evaluate the risk of malignant transformation of gastric lesions.

Key Words: Gastric mucosal lesion; Cell kinetics; DNA content; Flow cytometry

Dang XH, Guo JZ, Huang HF, Li JH, Liu JC, Huo LJ. Alterations in DNA content and cell kinetics in different gastric mucosal lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3147-3150

摘要

目的: 观察慢性浅表性胃炎、N-IIb型肠化、小凹上皮增生、IIb型肠化及异型增生胃黏膜细胞核内DNA含量以及细胞动力学的变化。

方法: 用FCM研究25例浅表性胃炎DNA含量及细胞动力学变化, 并与萎缩性胃炎及癌旁组织中出现的N-IIb型肠化, 小凹上皮增生、IIb型肠化及异型增生相比较。

结果: 有关细胞动力学参数提示由浅表性胃炎-萎缩性胃炎-癌旁组织, SPF, PI, G₂M期分数逐渐增高($P<0.05$)。由浅表性胃炎-N-IIb型肠化-小凹上皮增生-IIb型肠化-异型增生, PI, SPF, G₂M期分数逐渐增高($P<0.05$)。

结论: 潜在的癌变危险性可以用量化的细胞动力学分析, 从观察细胞增殖运动状态可以推断其病变危险性。

关键词: 胃黏膜病变; 细胞动力学; DNA含量; 流式细胞仪

党小红, 郭俊芝, 黄会芳, 李建红, 刘近春, 霍丽娟. DNA含量及细胞动力学在不同胃黏膜病变中的变化. *世界华人消化杂志* 2010; 18(29): 3147-3150

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3147.asp>

0 引言

目前对早期胃癌^[1,2]的诊断主要是通过胃镜活检确诊, 然而早期胃癌的诊断率低, 多数胃癌一经确诊已到了不可逆的形态学变化阶段。如能在癌前病变^[3,4]可逆阶段评估其癌变危险性, 不但可提高早癌检出率, 而且能实现早期预防, 逆转癌前病变, 减低癌变率。本研究着重探讨各类胃黏膜病变中细胞增殖, 分化状态并以此评价组

■背景资料

目前对早期胃癌的诊断主要靠胃镜活检诊断, 放大内镜与NBI的使用提高了早期胃癌的检出率。但是这些发现都已是组织学上的癌变, 如果能发现更早阶段的癌前病变, 不但能提高早期胃癌检出率, 而且能实现早预防, 逆转癌前病变, 减少癌变率。

■同行评议者

邹小明, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外二科

■创新盘点

本研究用黏液组织化学的方法区分肠上皮化生类型,并对不同类型的胃黏膜病变进行DNA含量测定和细胞动力学分析,得到了有意义的结果,目前还未见相关报道。

胞动力学在癌前病变早诊中的临床应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料 预试验中在20例患者胃窦同一部位取活检6块分2组行病理检查,组织学吻合度95%。所有研究对象均为2005-02/2008-11出现上消化系统症状或萎缩性胃炎复查,就诊于山西医科大学第一医院门诊的患者。组织学经胃镜观察和组织病理学确诊分为5组:1组,单纯浅表性胃炎标本25例;萎缩性胃炎197例按组织学检查及黏液组织化学分析继续分组:2组,主要含N-II b型肠化病变的标本25例;3组,主要含小凹上皮增生标本25例;4组,主要含II b型肠化标本25例;5组,主要含异型增生标本25例。

1.2 方法

1.2.1 内镜及病理检查:所有患者均行胃镜检查(Olympus GIF-XQ240型)。浅表性胃炎组患者均在胃窦部大弯侧取材,每处取6块。萎缩性胃炎在病变明显处及黏膜形态异常处取材,每处取6块。胃癌组织旁取材6块,镜下剔除有癌组织的标本,保留含有上述病理改变的标本。其中3块行FCM检测,其余送病检。

1.2.2 黏液组织化学染色:组织化学试剂AB(pH2.5)、PAS及AF染液由福建三强生化所提供, PB-KOH-PAS染色液参照colling法配制。AB(pH2.5)-PAS及AF-PAS套染严格按说明书进行, PB-KOH-PAS据colling法。

1.2.3 DNA含量及细胞动力学:使用流式细胞仪(FCM美国B.D公司产)检测DNA含量。将新鲜活检标本置于PBS液中,经0.25%胰蛋白酶,0.25%胶原酶消化20 min,300目尼龙网过滤制成单细胞悬液,加入RNA酶水解RNA后用溴化乙啶荧光染料插入DNA中使之定量染色,单细胞顺序通过检测仪,分析每个细胞内DNA含量与细胞周期。染色前调整细胞浓度加入荧光微球做内参标准校对仪器使CV值稳定在5%以内。每份样品检测10 000个以上细胞。

1.2.4 细胞动力学参数的计算:以DNA指数(DNA index, DI)表示细胞核相对DNA含量: $DI = \text{样品细胞}G_{01}\text{峰均值}/\text{正常对照}G_{01}\text{峰均值}$ 。据实验灵敏度及CV值规定: $DI = 1 \pm 0.1$ 时为二倍体,其余均为异倍体。细胞动力学参数: $PI = (S+G_2/M)/(S+G_0/G_1+G_2/M) \times 100\%$, S期分数 = $S/(S+G_0/G_1+G_2/M) \times 100\%$, G_2M 期分数 = $G_2M/(S+G_0/G_1+G_2/M) \times 100\%$ 。

统计学处理 多组间均数比较经方差分析

表1 各组细胞动力学变化 ($n = 25$)

分组	PI	SPF	G_2M
癌旁组织	26.767	26.923	16.859
萎缩性胃炎	17.062 ^a	11.440 ^a	5.680 ^a
浅表性胃炎	10.635 ^a	6.838 ^a	3.226 ^a

^a $P < 0.05$ vs 癌旁组织组。

表2 不同病变的细胞动力学变化 ($n = 25$)

分组	PI	SPF	G_2M
浅表性胃炎	10.425 ^{ac}	6.985 ^{ac}	3.503 ^{ac}
N-II b型肠化	23.609 ^c	17.646	6.035 ^c
小凹上皮增生	23.899	17.895	6.038
II b型肠化	26.889 ^a	19.925	6.953 ^a
异型增生	27.514 ^{ab}	20.326 ^b	7.175 ^{ab}

^a $P < 0.05$ vs 小凹上皮增生组; ^b $P < 0.05$ vs 异型增生组; ^c $P < 0.05$ vs N-II b型肠化组。

后用Duncan's multiple Range检验法行均数间两两比较。多组间率的比较经 $R \times 2$ 表的 χ^2 检验或Fisher's确切概率法后用 χ^2 分割进行多组间率的两两比较。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

浅表性胃炎组中仅发现2例N-II b型肠化生(7.69%),未检出II b型肠化生,检出率显著低于萎缩性胃炎及癌旁组织(图1)。

FCM获得的DNA组方图CV值控制在5%以内。异倍体的检出率在癌旁组织、萎缩性胃炎、浅表性胃炎分别为26.1%、8.3%、3.9%。经Fisher确切概率法以及 $R \times 2$ 表 χ^2 检验, DNA异倍体在癌旁组织发生率显著增高。有关细胞动力学参数提示由浅表性胃炎-萎缩性胃炎-癌旁组织SPF, PI逐渐增高($P < 0.05$)。由浅表性胃炎-萎缩性胃炎-癌旁组织 G_2M 期分数逐渐增高($P < 0.05$, 表1)。

进一步探讨浅表性胃炎, N-II b型化生, 胃小凹上皮增生, II b型肠上皮化生及异型增生5种病变间细胞动力学变化特点发现, 由浅表性胃炎-N-II b型肠化(图1A)-小凹上皮增生-II b型肠化(图1B, C)-异型增生, SPF, PI, G_2M 期分数逐渐增高($P < 0.05$)。由浅表性胃炎-N-II b型肠化-小凹上皮增生-II b型肠化-异型增生, SPF逐渐增高($P < 0.05$, 表2)。

3 讨论

将癌细胞与相应的正常细胞的生物学特性进行

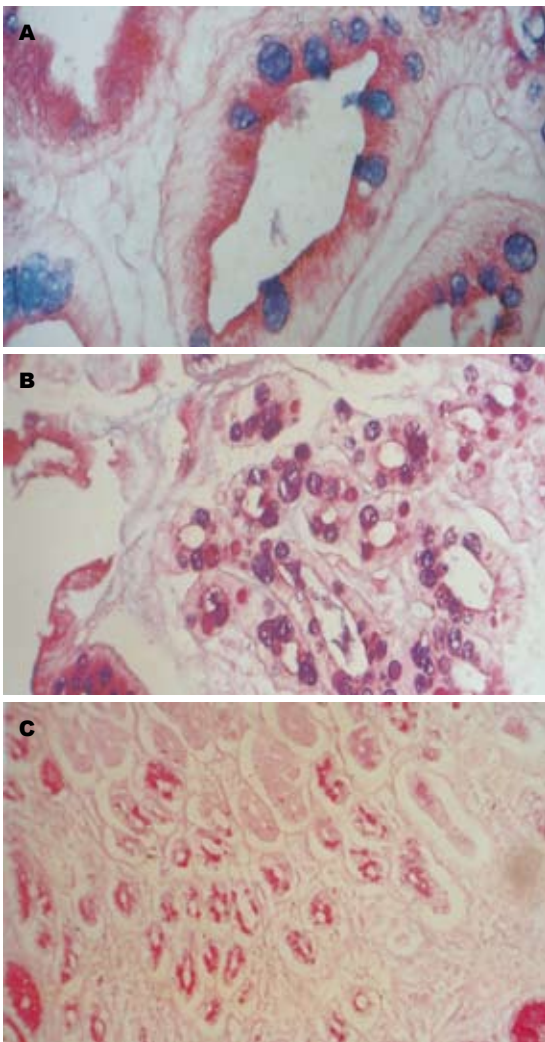


图 1 组织化学示 II b型肠化组织. A: AB(+)/PAS(-)(× 400); B: AF(+)/PAS(+)(× 200); C: KOH/PB/PAS(+)(× 100).

比较发现, 癌细胞在增殖和分化两个生物学过程中的协调和控制机制发生了异常, 使癌细胞能不断地生长分裂而不发生功能的分化^[5-7]. 组织化学染色可以从黏液分泌功能方面观察细胞的分化程度^[8]. 癌前细胞(precancerous cell)DNA已突变但表型正常. 在一种或多种促癌物质的不断作用下表型发生了改变, 细胞的各种恶性性状得以表达^[9]. 由于增殖细胞在开始有丝分裂之前都必须倍增其DNA, 随着细胞周期的运动细胞核中DNA含量有所不同, 因此检测DNA的合成及其含量的变化就能明确这一细胞群的增殖特点和DNA分子的异型性.

细胞增殖加速是细胞癌变的普遍机制, 有丝分裂细胞较静止期细胞更易于受致癌物的损伤而发生癌变. S期细胞增加可能意味着癌变过程已经开始^[10]. 细胞动力学研究表明由浅表性胃炎-N- II b肠化, 小凹上皮增生- II b型肠化-异

型增生PI, SPF G₂M期分数逐渐增高. 这提示随着细胞分化程度的降低, 细胞分裂能力逐渐增高, 高度分化的细胞往往不再发生分裂, 而低分化的细胞则存在分裂, 分化能力, 细胞有丝分裂指数(G₂M期分数)往往与细胞分化成反比. 随着分化程度的提高, 细胞对环境因子的反应能力也逐渐下降. 目前多数学者认为 II b型肠化属癌前病变, 是不完全肠化发生中的不成熟期, 细胞功能不稳定^[8,9]. Falck认为 II b型肠化与不典型增生之间有内在联系, 应作为癌前病变对待予以重视^[7,8]. 该研究中 II b型肠化组织在细胞动力学上的G₂M期分数及PI增高相一致. 揭示由正常胃黏膜-癌, 决不是一蹴而就的一次性突变, 而是有逐渐量变的演变过程. 细胞动力学的变化先于组织学变化. 研究发现由浅表性胃炎-N- II b型肠化, 小凹上皮增生- II b型肠化-非典型增生细胞动力学指标逐渐增高, 这意味着潜在的癌变危险性可以用量化的细胞动力学分析, 从观察细胞增殖运动状态可以推断其病变危险性^[10,11]. 倘若能进一步找到增生程度或 II b型肠化程度与细胞动力学量变的依赖关系, 可能会使癌前病变的诊断从依据组织形态学变化提早到细胞水平, 甚至DNA分子水平功能结构的变化.

以往多用体内氚标记的胸腺嘧啶核苷检测胃上皮细胞标记指数(labeling index, LI)来判定增殖状态^[11]. 但费时长; 使用放射性同位素, 限制了临床应用. 近来多用体外溴脱氧尿嘧啶核苷标记的免疫组织化学技术检测LI^[12], 也因存在需组织培养; 切片要求高, 必须满足纵切到完整长度的胃小凹及附属腺体; 细胞计数量多, 临床不易推广. 本研究利用FCM可以灵敏地分析经定量染色的单个细胞DNA含量及细胞周期, 得到细胞群的动力学特点, 并检测有无异倍体. 以此推断分化程度, 增殖能力. 研究认为用FCM检测DNA倍性和细胞动力学参数早期, 敏感, 定量反映细胞增殖状态. 不但可以在细胞水平了解胃黏膜病变的演化趋向, 而且可以辅助鉴别交界性病变^[13,14]. 在临床上可能提高胃癌早诊效率. 尤其当病变尚处于可逆性改变时, 检测DNA含量和细胞动力学变化与组织病理学检查综合分析, 可作为筛选随访者的指标之一, 并改善预后.

■应用要点
用FCM检测胃黏膜上皮细胞DNA倍性和细胞动力学参数, 可以早期、敏感、定量反映细胞的增殖、分化状态, 早期预测胃黏膜病变的演化趋向, 辅助鉴别交界性病变.

4 参考文献

- Espejo Romero H, Navarrete Siancas J. [Gastric Cancer in Early Stage: study of 371 lesions in 340 patients in the E. Rebagliati National, Lima-Peru] *Rev Gastroenterol Peru* 2005; 25: 48-75
- Ho SB. Premalignant lesions of the stomach. *Semin*

■同行评价

本文选题新颖,设计合理,对于治疗各类胃黏膜病变患者有一定的临床应用价值。

- Gastrointest Dis* 1996; 7: 61-73
- 3 Kapadia CR. Gastric atrophy, metaplasia, and dysplasia: a clinical perspective. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36: S29-S36; discussion S61-S62
 - 4 Malhotra V, Tatke M, Gondal R, Kumar N, Broor SL. Intestinal metaplasia--its association with gastric cancer. *Trop Gastroenterol* 1995; 16: 22-26
 - 5 林晓钢, 潘英俊, 郭永彩. 癌细胞细胞周期自体荧光光谱特征. *光学学报* 2009; 29: 1328-1331
 - 6 钟芷芬, 曾西池, 余水成, 刘林勇. 胃肠道腺癌细胞DNA定量分析的临床意义. *临床肿瘤杂志* 2002; 7: 5411-5412
 - 7 张文范, 张荫昌. 胃癌. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 1987: 24-26
 - 8 金行藻. 胃粘膜肠上皮化生的类型与早期胃癌的关系. *临床与实验病理学杂志* 1985; 1: 19
 - 9 张弘, 迟景宏, 王瑛, 张志琴, 刘淑仙, 徐艳春. 胃癌前状态906例随访观察. *中华消化内镜杂志* 1997; 14: 246-247
 - 10 汤钊猷. 现代肿瘤学. 第1版. 上海: 上海医科大学出版社, 1993: 89-103
 - 11 Wright PA, Williams GT. Molecular biology and gastric carcinoma. *Gut* 1993; 34: 145-147
 - 12 Fukuzawa K, Noguchi Y, Matsumoto A. Alterations in DNA proliferation in gastric stump mucosa with special reference to topography. *Surgery* 1996; 119: 191-197
 - 13 杜祥, 沈铭昌. 流式细胞技术在胃镜活检组织诊断中的应用价值. *肿瘤* 1994; 14: 145-147
 - 14 党小红, 闫柱. 残胃黏膜DNA增生及细胞动力学变化. *中华消化杂志* 2003; 23: 186-187

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2009年《世界华人消化杂志》编委审稿总结

本刊讯 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology, WCJD*)编辑委员会共计400人,全部为副教授及副主任医师以上。*WCJD*编委会审稿费结算工作于次年01-05开始。本次统计为2008-01-01/2009-12-31编委审稿费费用,共计40 850元,数据以稿件审回日期为准。*WCJD*共计审稿1 418篇,其中送审专家377位,共计送审次数2 094次,成功审回次数1 634,成功率78.03%。其中审稿次数排前三位的为:西安交通大学医学院第二附属医院感染科党双锁教授和福建医科大学附属协和医院消化内科王小众教授并列第一位,各17篇;南京医科大学附属南京第一医院肿瘤中心曹秀峰教授第二位,16篇;中国医科大学附属第一医院消化内科王炳元教授和苏州大学附属第一医院消化科陈卫昌教授并列第三位,各15篇。

*WCJD*编辑部感谢各位编委2009年对*WCJD*工作的支持,同时希望各位编委更加积极主动的配合我们今后的工作。审稿费已经通过邮局汇款,如有审稿费未收到或者审稿稿件有误差,请各位编委与编辑部联系,联系电话:010-85381892,联系人:李军亮。(编辑部主任:李军亮 2010-04-20)

水飞蓟宾胶囊治疗代谢综合征相关脂肪性肝病30例

阮建文, 杨京

阮建文, 杨京, 贵阳医学院附属医院感染科 贵州省贵阳市 550004

卫生部科技发展中心基金资助项目, No. W200801006

通讯作者: 杨京, 教授, 550004, 贵州省贵阳市, 贵阳医学院附属医院感染科. yangjing-107@126.com

收稿日期: 2010-06-29 修回日期: 2010-08-17

接受日期: 2010-08-24 在线出版日期: 2010-10-18

Efficacy of Silibin capsules in the treatment of metabolism syndrome-related fatty liver disease: an analysis of 30 cases

Jian-Wen Ruan, Jing Yang

Jian-Wen Ruan, Jing Yang, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Supported by: the Foundation of Development Center for Medical Science and Technology of Ministry of Health, No. W200801006

Correspondence to: Professor Jing Yang, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. yangjing-107@126.com

Received: 2010-06-29 Revised: 2010-08-17

Accepted: 2010-08-24 Published online: 2010-10-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy of Silibin capsules in the treatment of metabolism syndrome (MS)-related fatty liver disease (FLD).

METHODS: An open, randomized, controlled clinical study was carried out. A total of 60 patients were divided into two groups: control group and trial group. The life style of every subject was intervened to exercise for 40 min every day for 5 d every week. In addition, the subjects of the trial group were treated with Silibin capsules at a dose of 70 mg three times daily. The therapeutic effects were evaluated by examining serum enzymes, body mass index, waist circumference, and sonographic grade of fatty liver.

RESULTS: A significant improvement in serum enzymes, body mass index, waist circumference was achieved in the two groups at 12 and 24 weeks after exercise intervention compared with baseline values ($P < 0.01$). However, the improvement in serum enzymes was more significant in the trial

group than in the control group. Although the degree of fatty liver was improved obviously in both two groups, a more significant improvement was noted in the trial group than in the control group.

CONCLUSION: Silibin capsules exert significant effects against FLD by improving liver function.

Key Words: Metabolism syndrome; Fatty liver disease; Silibin; Treatment

Ruan JW, Yang J. Efficacy of Silibin capsules in the treatment of metabolism syndrome-related fatty liver disease: an analysis of 30 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3151-3154

摘要

目的: 探讨水飞蓟宾胶囊治疗代谢综合征相关脂肪肝的疗效。

方法: 采用开放、随机、对照试验将60例代谢综合征相关脂肪肝患者随机分为试验组30例和对照组30例; 试验组进行生活方式干预(健康教育+饮食+运动)、口服水飞蓟宾胶囊70 mg, 每日3次, 对照组进行生活方式干预(健康教育+饮食+运动); 根据治疗前、治疗12 wk和治疗24 wk时的血清酶学(ALT、AST)、人体质量指数(BMI)、腰围、肝脏B超的影像变化, 评估水飞蓟宾胶囊的疗效。

结果: 试验组和对照组治疗12 wk、24 wk时的血清酶学(ALT、AST)、腰围及BMI均较治疗前明显下降($P < 0.01$); 治疗12 wk、24 wk时血清酶学(ALT、AST)试验组下降较对照组明显。治疗前与治疗24 wk时肝脏B超影像检查结果比较表明, 试验组和对照组治疗24 wk时脂肪肝的程度均较治疗前有明显的改善, 但试验组较对照组更加明显。

结论: 水飞蓟宾胶囊治疗代谢综合征相关脂肪肝有良好的疗效, 使血清酶学(ALT、AST)下降, 改善肝内脂肪沉积。

关键词: 代谢综合征; 脂肪肝; 水飞蓟宾; 治疗

阮建文, 杨京. 水飞蓟宾胶囊治疗代谢综合征相关脂肪性肝病30例. *世界华人消化杂志* 2010; 18(29): 3151-3154

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3151.asp>

背景资料

随着肥胖和代谢综合征全球化, 非酒精性脂肪性肝病已成为全球关注的公共健康问题, 代谢综合征相关脂肪肝病患病数也不断增加。

同行评议者

陈国凤, 主任医师, 中国人民解放军第302医院感染科七科

■ 研发前沿

目前,很多学者认为NAFLD的发病与胰岛素抵抗密切相关,甚至有学者认为NAFLD是在胰岛素抵抗的基础上产生,怎样改善胰岛素抵抗,怎样改善肝脏脂肪沉积,是一个亟待解决的课题。

0 引言

随着肥胖和代谢综合征全球化的流行趋势,非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)已成为全球关注的公共健康问题。研究表明,NAFLD的发病与胰岛素抵抗及遗传易感性有密切联系^[1]。代谢综合征是以胰岛素抵抗和代偿性高胰岛素血症为基础的临床综合征;其临床疾病谱为:动脉粥样硬化性心血管疾病、高血压、多囊卵巢综合征和NAFLD,目前认为该疾病谱仍在进一步扩大^[2]。代谢综合征相关脂肪肝是在胰岛素抵抗和代偿性高胰岛素血症的基础上形成,是NAFLD的主要组成成分。随着肥胖和代谢综合征患病率的升高,代谢综合征相关脂肪肝患者数也不断增加。

1 材料和方法

1.1 材料 2008-04/2009-10贵阳医学院附属医院门诊和住院代谢综合征相关脂肪肝患者60例,其中男48例、女12例,年龄22-78岁,体质指数(body mass index, BMI)26.2 kg/m²±2.6 kg/m²。随机分成试验组30例和对照组30例,试验组男23例,女7例,年龄43.9岁±21.4岁;对照组男25例,女5例,年龄43.3±26.4岁。水飞蓟宾胶囊(商品名:水林佳)由天津天士力制药股份有限公司生产。入选标准:(1)无饮酒史或饮酒折合乙醇量每周男性<140 g(女性<70 g);(2)除外病毒性肝炎、药物性肝病、全胃肠外营养、肝豆状核变性等可导致脂肪肝的特定疾病;(3)存在代谢综合征(改良的美国国家胆固醇教育计划成人治疗组第3次指南(NCEP-ATPIII)标准^[3]);(4)谷丙转氨酶>40 U/L;(5)影像学表现符合弥漫性脂肪肝诊断标准。排除标准:(1)有其他导致肝功能异常原因;(2)肝硬化患者;(3)先天、溶血、梗阻性黄疸患者;(4)严重肝肾功能不良者。

1.2 方法 试验组进行生活方式干预(健康教育+饮食+运动):每天锻炼40 min,每周至少5 d,运动类型为有氧运动(慢跑、快走、体操、游泳、跳舞等),要求运动强度达到最大耗氧量的50%-70%;饮食结构要均衡,减少高热量、高脂肪摄入;口服水飞蓟宾胶囊24 wk,每次70 mg,每天3次。对照组进行生活方式干预(健康教育+饮食+运动)。试验组与对照组在试验开始前测身高、体重、腰围、血压、ALT、AST、GGT、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、TG、高密度胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、肝脏B超并询问疾病史,告知药物使用方法,饮食运动治疗要求;以后患者每2 wk就诊1次,询问饮食、运动治疗情况;每4 wk测ALT、

■ 创新盘点

本文避开NAFLD的发病与胰岛素抵抗关系的争论,研究的是代谢综合征相关脂肪肝患者;观察水飞蓟宾胶囊治疗代谢综合征相关脂肪肝的酶学、BMI、腰围、肝脏脂肪沉积的变化;观察饮食运动治疗代谢综合征相关脂肪肝的酶学、BMI、腰围、肝脏脂肪沉积的变化;推断水飞蓟宾胶囊对胰岛素抵抗的影响,饮食运动对胰岛素抵抗的影响。

表 1 试验组和对照组在治疗前、后血清ALT的变化 ($n = 30$, U/L, mean ± SD)

分组	治疗前	治疗12 wk	治疗24 wk
试验组	92.07 ± 30.12	57.08 ± 25.56 ^b	36.82 ± 10.73 ^b
对照组	85.18 ± 26.62	73.56 ± 23.45 ^b	58.48 ± 15.65 ^b
<i>t</i> 值	0.860	2.671	7.267
<i>P</i> 值	0.397	0.012	0.000

^b $P < 0.01$ vs 同组治疗前。

表 2 试验组和对照组在治疗前、后血清AST的变化 ($n = 30$, U/L, mean ± SD)

分组	治疗前	治疗12 wk	治疗24 wk
试验组	59.26 ± 19.12	38.96 ± 10.19 ^b	33.12 ± 7.54 ^b
对照组	56.76 ± 26.33	48.74 ± 16.91 ^b	41.75 ± 14.23 ^b
<i>t</i> 值	0.377	2.642	2.883
<i>P</i> 值	0.709	0.013	0.007

^b $P < 0.01$ vs 同组治疗前。

AST、GGT 1次;每12 wk测FPG、TG、HDL-C、肝脏B超、体质量、腰围1次。入选病例均在知情同意下进行临床观察。按脂肪肝B超声像图分级标准^[4],下降1级及以上为好转。

统计学处理 计量资料参数以mean±SD表示,采用*t*检验;计数资料采用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 有统计学意义。用SPSS17.0软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 试验组和对照组在治疗前、治疗12、24 wk时肝功能指标的变化 试验组和对照组治疗12、24 wk与治疗前相比较,血清ALT与AST下降水平差异均有统计学意义($P < 0.01$);组间分析发现,治疗12、24 wk时血清ALT与AST水平,在试验组与对照组间相比较,差异也有统计学意义,其中12、24 wk时差异显著($P < 0.01$,表1,2)。

2.2 试验组和对照组治疗前与治疗24 wk B超影像学变化 试验组治疗24 wk时肝脏B超影像学显示的脂肪变性好转率为56.7%,而对照组仅30.0%,脂肪变性好转率在试验组与对照组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。试验组与对照组在24 wk观察过程中,均未出现脂肪变性加重的病例(表3,4)。

2.3 试验组和对照组治疗前与治疗24 wk BMI和腰围变化 试验组和对照组经过治疗24 wk时BMI、腰围均有所下降,且治疗前、后比较差异有统计学意义($P < 0.01$),但两组间比较差异无统

表3 试验组和对照组在治疗前、后肝脏B超影像学变化 ($n=30$)

分组	治疗前			治疗24 wk			
	轻	中	重	轻	中	重	未见
试验组	9	17	4	17	8	1	4
对照组	7	22	1	13	16	0	1

表4 试验组和对照组在治疗24 wk时B超影像学变化 $n(\%)$

分组	好转	无变化	恶化
试验组	17(56.7)	13(43.3)	0(0.00)
对照组	9(30.0)	21(70.0)	0(0.00)
t 值	4.344		
P 值	0.034		

计学意义($P>0.05$, 表5, 6).

3 讨论

NAFLD是指除酒精和其他明确的损肝因素所引起的, 以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征临床病理综合征, 包括单纯性脂肪肝以及由其演变的脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)和肝硬化, 胰岛素抵抗和遗传易感性与其发病关系密切。目前, NAFLD病因分为胰岛素抵抗、药物、脂质紊乱、毒物中毒、减重、特发性。代谢综合征相关脂肪肝是NAFLD的一部分, 胰岛素抵抗是代谢综合征相关脂肪肝脂肪沉积的病理生理基础。遗传、肥胖、缺乏运动是胰岛素抵抗形成基本原因。

水飞蓟宾是从菊科药用植物水飞蓟种子中提取出来的黄酮类化合物。水飞蓟宾胶囊是水飞蓟宾与磷脂酰胆碱的复合物制剂。与磷脂酰胆碱络合后, 水飞蓟宾的体内吸收与生物利用度显著提高, 并与磷脂酰胆碱在抗脂质过氧化、保护肝细胞膜、维持细胞膜的流动性方面起协同作用。

本研究试验组和对照组治疗后比较, 试验组ALT、AST的下降作用更明显。水飞蓟宾是良好的抗氧化剂, 他可以抑制活性氧簇的产生, 清除次氯酸、保护肝细胞^[5-9]; 体外细胞培养试验表明, 水飞蓟宾可以抑制小鼠库普弗细胞合成(O_2^-)、NO、白细胞三烯 B_4 合成^[10]。活性氧簇、次氯酸是细胞内的强氧化剂, 是组织损伤、炎症、细胞凋亡的起始环节之一, 参与清除异物、微生物。水飞蓟宾胶囊通过减少细胞内活性氧簇、次氯酸, 从而具有良好的抗氧化、保护肝细胞、抑制炎症的作用。必需磷脂(essential phos-

表5 试验组和对照组在治疗前、后BMI的变化 ($n=30$, kg/m^2 , mean \pm SD)

分组	治疗前	治疗24 wk
试验组	26.214 \pm 2.594	25.066 \pm 2.426 ^b
对照组	27.086 \pm 2.329	26.104 \pm 2.161 ^b
t 值	1.362	1.708
P 值	0.184	0.098

^b $P<0.01$ vs 同组治疗前。

表6 试验组和对照组在治疗前、后腰围的变化 ($n=30$, cm, mean \pm SD)

分组	治疗前	治疗24 wk
试验组	93.093 \pm 8.689	91.482 \pm 8.608 ^b
对照组	95.389 \pm 8.802	93.630 \pm 7.791 ^b
t 值	0.897	0.904
P 值	0.378	0.374

^b $P<0.01$ vs 同组治疗前。

pholipids, EPL)是人体细胞和组织膜系统的基本成分。细胞膜的损伤是细胞损伤的中心环节, EPL是细胞膜的基本成分, 水飞蓟宾胶囊中的EPL及时补充肝细胞膜氧化、丢失的磷脂, 起着稳定肝细胞膜的作用, 阻断了肝细胞损伤中心环节, 增强了水飞蓟宾胶囊的保肝作用。我们研究中试验组ALT、AST的下降明显, 也进一步证实了水飞蓟宾胶囊对代谢综合征相关脂肪肝有良好的保肝、抗炎作用。

本研究中对照组ALT、AST在饮食控制、运动治疗前后也有明显好转, 对照组治疗12、24 wk与治疗前比较差异均有统计学意义。代谢综合征相关脂肪肝的中心环节为胰岛素抵抗, 胰岛素抵抗是在遗传基础上, 生活习惯和特定环境下诱发形成。肥胖是不良生活习惯和/或特定的环境下产生。肥胖本身是慢性炎症过程, 这种慢性炎症过程加重胰岛素抵抗^[11], 所以减轻体质量是改善胰岛素抵抗的关键环节。减轻体质量与运动、饮食有着密切的关系。通过控制饮食、体育锻炼可以减轻胰岛素抵抗。本试验对照组ALT、AST在饮食、运动治疗后, ALT、AST均有明显下降。说明通过饮食控制、运动减轻了体质量, 改善了胰岛素抵抗, 减轻了肝脏脂肪沉积, 也就减轻了肝脏的炎症损伤。ALT、AST、GGT的水平升高与胰岛素抵抗具有相关性在其他研究得到进一步证明^[12,13]。

通过B超观察肝脏脂肪的变化, 治疗24 wk

■应用要点

本文初步探讨了水飞蓟宾胶囊治疗代谢综合征相关脂肪肝的酶学、BMI、腰围、肝脏脂肪沉积的变化, 可以用水飞蓟宾胶囊治疗相关患者。

■同行评价

本文学术价值较好,设计合理,结果可靠,有一定的实践指导意义。

试验组与对照组的好转率相比较,差异有统计学意义。有试验表明水飞蓟宾抑制胆固醇调节元件结合蛋白-1C(sterol receptor binding protein 1 -c, SREBP-1c)基因表达,还可以抑制脂肪合成相关的酶的基因表达^[14]。过度表达SREBP-1c的转基因小鼠会增加体内脂肪生成和肝脏脂肪沉积^[15]。而胰岛素可以通过SREBP-1c激活脂肪合成相关酶^[16]。总的来说,NAFLD肝脏脂肪沉积来源于饮食中的脂质或肝细胞从头合成或脂肪细胞的脂肪分解,任何途径的代谢异常会导致肝脏的脂肪沉积^[17];水飞蓟宾可能可以通过抑制SREBP-1c和脂肪合成的相关酶的基因表达,干扰肝脏内的脂质代谢,减轻肝脏脂肪沉积。通过B超观察肝脏脂肪沉积,试验组治疗后17例肝脏脂肪沉积下降了1个等级及以上,而对照组只有9例;试验组较对照组肝脏脂肪沉积有明显改善。证实了水飞蓟宾有干扰肝脏脂质代谢作用,可以减轻肝脏脂肪沉积^[18]。相类似的结果也在其他研究中得到证实^[19-21]。

治疗前和治疗24 wk时试验组与对照组BMI、腰围差异无统计学意义,而各组治疗前与治疗24 wk时相比较BMI、腰围差异均有统计学意义,表明水飞蓟宾对身高、体质量本身无影响,但是运动、饮食、纠正不良生活习性后,体质量减轻,胰岛素抵抗改善,所以BMI、腰围也就下降了。尽管中心性肥胖与胰岛素抵抗较BMI更加密切相关,但是不同种族的中心型肥胖的标准差异较大,而且腰围的测量误差较大,所以腰围的临床应用不如BMI准确。

本研究是针对代谢综合征合并脂肪肝的相关研究,受试者的饮食控制、运动是在我们指导下完成的,肝脏B超主观性强,与操作者有较大关联,研究中均为高年资医生操作。进一步研究可以用CT或MR观察肝脏脂肪变化,还可以用胰岛素敏感性评估稳态模式评估公式-HOMA IR(空腹血糖×空腹胰岛素/225)和胰岛素抵抗综合估测组织处置血糖能力用高胰岛素正糖钳夹技术,评价水飞蓟宾治疗与胰岛素抵抗的关系。

4 参考文献

- 1 中华医学会肝病学会分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版). 中华肝病杂志 2010; 18: 163-166
- 2 American Colleges of Endocrinology. ACE position statement: Insulin resistance syndrome. *Endocr Pract* 2003; 9: 240-252
- 3 范建高, 蔡晓波. 亚太地区非酒精性脂肪性肝病诊断与治疗共识简介. *药品评价* 2007; 4: 80-81
- 4 姚宗歌. 非酒精性脂肪性肝病超声诊断. *中国医师进修杂志* 2010; 33: 4-6
- 5 Detaille D, Sanchez C, Sanz N, Lopez-Novoa JM,

- Leverve X, El-Mir MY. Interrelation between the inhibition of glycolytic flux by silibinin and the lowering of mitochondrial ROS production in perfused rat hepatocytes. *Life Sci* 2008; 82: 1070-1076
- 6 Dehmlow C, Murawski N, de Groot H. Scavenging of reactive oxygen species and inhibition of arachidonic acid metabolism by silibinin in human cells. *Life Sci* 1996; 58: 1591-1600
- 7 Mira L, Silva M, Manso CF. Scavenging of reactive oxygen species by silibinin dihemisuccinate. *Biochem Pharmacol* 1994; 48: 753-759
- 8 Lettéron P, Labbe G, Degott C, Berson A, Fromenty B, Delaforge M, Larrey D, Pessayre D. Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice. Evidence that silymarin acts both as an inhibitor of metabolic activation and as a chain-breaking antioxidant. *Biochem Pharmacol* 1990; 39: 2027-2034
- 9 Saller R, Meier R, Brignoli R. The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs* 2001; 61: 2035-2063
- 10 Dehmlow C, Erhard J, de Groot H. Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. *Hepatology* 1996; 23: 749-754
- 11 苏磊, 修玲玲, 肖海鹏. 炎症反应-肥胖和胰岛素抵抗的重要特征. *国际内分泌代谢杂志* 2008; 28: 410-412
- 12 Hanley AJ, Wagenknecht LE, Festa A, D'Agostino RB Jr, Haffner SM. Alanine aminotransferase and directly measured insulin sensitivity in a multiethnic cohort: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care* 2007; 30: 1819-1827
- 13 Wallace TM, Utzschneider KM, Tong J, Carr DB, Zraika S, Bankson DD, Knopp RH, Kahn SE. Relationship of liver enzymes to insulin sensitivity and intra-abdominal fat. *Diabetes Care* 2007; 30: 2673-2678
- 14 Ka SO, Kim KA, Kwon KB, Park JW, Park BH. Silibinin attenuates adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes through a potential upregulation of the insig pathway. *Int J Mol Med* 2009; 23: 633-637
- 15 Shimano H, Horton JD, Shimomura I, Hammer RE, Brown MS, Goldstein JL. Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells. *J Clin Invest* 1997; 99: 846-854
- 16 Tamura S, Shimomura I. Contribution of adipose tissue and de novo lipogenesis to nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* 2005; 115: 1139-1142
- 17 Utzschneider KM, Kahn SE. Review: The role of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 4753-4761
- 18 Wellington K, Jarvis B. Silymarin: a review of its clinical properties in the management of hepatic disorders. *BioDrugs* 2001; 15: 465-489
- 19 鲁晓岚, 董蕾, 张宽学, 王进海, 龚均, 张军, 延安. 水飞蓟宾治疗脂肪肝的疗效观察. *实用肝病杂志* 2008; 11: 398-400
- 20 段钟平, 朱跃科, 陈煜, 单晶, 刘芳, 周莉, 谢贤春, 王宝恩, 王融冰, 陈红, 辛绍杰. 水飞蓟宾磷脂复合物防治脂肪肝的动物试验与临床观察. *实用肝病杂志* 2008; 11: 218-222
- 21 王宝恩, 谢贤春, 段钟平, 崔振宇, 王融冰, 辛绍杰, 朱跃科, 武志明, 刘芳, 赵军, 颜迎春, 陈红. 水飞蓟宾磷脂复合物治疗脂肪肝临床对照研究. *药品评价* 2007; 4: 68-70

十二指肠镜治疗胆总管复发结石440例

钱东, 秦鸣放, 王庆, 李宁, 勾承月

钱东, 秦鸣放, 王庆, 李宁, 勾承月, 天津市南开医院第三外科 天津市 300100

作者贡献分布: 钱东与秦鸣放对本文的贡献均等; 此研究由钱东与秦鸣放设计; 研究过程由钱东、秦鸣放、王庆、李宁及勾承月操作完成; 数据分析由钱东完成; 本论文写作由秦鸣放与钱东完成。

通讯作者: 钱东, 主治医师, 300100, 天津市, 天津市南开医院第三外科, nkyywc@126.com

电话: 022-27435268

收稿日期: 2010-03-22 修回日期: 2010-07-25

接受日期: 2010-08-03 在线出版日期: 2010-10-18

Duodenoscopic treatment of recurrent common bile duct stones: an analysis of 440 cases

Dong Qian, Ming-Fang Qin, Qing Wang, Ning Li, Cheng-Yue Gou

Dong Qian, Ming-Fang Qin, Qing Wang, Ning Li, Cheng-Yue Gou, Department of Surgery (Division III), Nankai Hospital, Tianjin 300010, China

Correspondence to: Dong Qian, Department of Surgery (Division III), Nankai Hospital, Tianjin 300010, China. nkyywc@126.com

Received: 2010-03-22 Revised: 2010-07-25

Accepted: 2010-08-03 Published online: 2010-10-18

Abstract

AIM: To analyze the indications and contraindications for duodenoscopy in the treatment of recurrent common bile duct stones.

METHODS: A total of 449 patients with recurrent common bile duct stones diagnosed by type-B ultrasound, magnetic resonance cholangiopancreatography, endoscopic retrograde cholangiopancreatography were analyzed in this study. Based on the presence of bile duct stricture and intrahepatic bile duct stones or not, the size and number of recurrent stones, and past treatment history, the possibility of success of duodenoscopic treatment was evaluated to select appropriate minimally invasive procedures.

RESULTS: Of 449 patients included, 440 underwent duodenoscopic treatment, and of them 335 patients received duodenoscopic stone removal. The success rate of stone removal was 96.7% (324/335). The average length of hospital stay

for patients undergoing duodenoscopic stone removal was 5.43 d \pm 1.86 d, and the incidence of complications was 6.6% (22/335). Postoperative evaluation of the biliary tract showed that 317 patients were in good condition.

CONCLUSION: Duodenoscopy has the advantages of minimal invasiveness and short hospital stay in the treatment of recurrent bile duct stones. Etiological treatment can help reduce the recurrence rate of bile duct stones.

Key Words: Duodenoscopy; Recurrent common bile duct stones; Minimal invasiveness

Qian D, Qin MF, Wang Q, Li N, Gou CY. Duodenoscopic treatment of recurrent common bile duct stones: an analysis of 440 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3155-3158

摘要

目的: 明确十二指肠镜治疗复发性胆总管结石的适应证、禁忌证及治疗程序。

方法: 选择449例复发结石患者, 依据B-us、MRCP、ERCP检查结果, 按照是否合并胆管狭窄, 合并肝内胆管结石, 复发结石大小、多少以及以往治疗情况进行分组, 综合判定十二指肠镜治疗成功的可能性, 从而选择相应的微创治疗方案。

结果: 449例患者中, 440例选择十二指肠镜治疗, 335例选择经十二指肠镜取石治疗, 324例经十二指肠镜取石成功, 取石总成功率为96.7%(324/335)。十二指肠镜取石成功者平均住院时间为5.43 d \pm 1.86 d, 并发症发生率为6.6%(22/335)。324例内镜取石成功者中, 治疗后胆道评估良好317例。

结论: 十二指肠镜的应用具有创伤小、住院时间短的优点, 同时也为研究胆管复发结石原因提供了条件, 在治疗上做到对因治疗, 有助于降低胆管结石的复发率。

关键词: 十二指肠镜; 胆总管复发结石; 微创

钱东, 秦鸣放, 王庆, 李宁, 勾承月. 十二指肠镜治疗胆总管复发

背景资料

自1974年Classen等和Kawai等首次采用内镜下乳头括约肌切开术治疗胆总管结石以来, 十二指肠镜逐渐成为国际外科界公认的治疗胆总管原发、继发、复发结石的首选方法。

同行评议者

陈进宏, 副主任医师, 复旦大学附属华山医院外科

■相关报道

有文献报道,直径>2.0 cm的多发结石也可尝试碎石、多次取石,但风险较大。

结石440例. 世界华人消化杂志 2010; 18(29): 3155-3158
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3155.asp>

0 引言

在1970年代中期以前,国内外治疗胆管复发性结石一般多采用开腹胆总管探查术或胆管空肠Roux-en-Y吻合术,但因为再次开腹手术创伤大、风险高、并发症多,因而大多数患者不愿接受,外科医生对此类手术多持非常谨慎的态度. 自1974年Classen等^[1]和Kawai等^[2]首次采用内镜下乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)治疗胆总管结石以来,十二指肠镜逐渐成为国际外科界公认的治疗胆总管原发、继发、复发结石的首选方法. 30年来,随着内镜器械设备的不断改进,内镜医师操作技术的不断提高和经验的积累,许多较为复杂的复发性胆总管结石已能通过内镜得到治愈. 而且通过十二指肠镜,临床医师对胆总管结石复发的原因有了进一步的了解,有助于预防结石的复发^[3]. 自1978年以来,天津市微创外科中心已完成了内镜诊断和治疗胆总管原发、继发和复发结石35 677例,取得了满意的临床效果. 本研究选择2004-04/2009-11收治的复发性胆总管结石449例,依据B型超声(B ultrasound, B-us)、磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)、经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)^[4],检查结果及以往治疗情况选择相应的治疗方案,对选择十二指肠镜治疗胆总管复发性结石的相关资料进行分析探讨.

1 材料和方法

1.1 材料 2004-04/2009-11我们收治复发性胆总管结石患者449例,除5例因急性重症胆管炎(acute cholangitis of severe type, ACST)急症行腹腔镜胆总管探查术(laparoscopic common bile duct exploration, LCBDE)+T型管引流术^[5], 4例因胆管远端狭窄段>1.5 cm实施开腹胆管切开取石+胆肠吻合术治疗外^[6],其余440例符合采用十二指肠镜治疗的入组标准. 440例患者中男161例,女279例,年龄33-88(平均年龄66.0)岁,经门诊入院237例(53.9%, 237/440),急诊入院203例(46.1%, 203/440). 440例患者中,294例(66.8%, 294/440)既往单纯行经EST后取石治疗. 146例(33.2%, 146/440)既往有胆道手术史,其中17例(3.9%, 17/440)即行开腹手术又经EST取石治疗.

表 1 440例患者既往治疗情况 n(%)

治疗方式	门诊入院 (n = 237)	急诊入院 (n = 203)
单纯经EST后取石	159(67.1)	135(66.5)
单纯行胆道手术取石	65(27.4)	64(31.5)
手术+EST取石	13(5.5)	4(2.0)

1.2 方法 评估440例患者是否存在十二指肠镜治疗禁忌,其中335例无十二指肠镜治疗禁忌患者,首选十二指肠镜治疗,不成功者可行腹腔镜联合胆道镜、十二指肠镜手术治疗;另105例存在十二指肠镜治疗禁忌患者,先试行十二指肠镜检查,再行手术治疗.

2 结果

440例患者既往治疗情况见表1. 449例患者中,4例因胆道远端狭窄(长度>1.5 cm, 年龄>40岁)选择开腹胆管切开取石+胆肠吻合术治疗,5例ACST患者急症行腹腔镜联合胆道镜治疗,其余440例患者选择十二指肠镜检查(表2),其中首选十二指肠镜取石治疗335例,324例取石成功,成功率为96.7%(324/335). 5例取石失败行腹腔镜联合十二指肠镜、胆道镜治疗,6例EST失败行腹腔镜联合胆道镜治疗. 105例十二指肠镜取石禁忌或相对禁忌的患者(表3),先行十二指肠镜检查,ERCP成功87例(急症36例),失败18例. ERCP成功者实施ENBD治疗. 十二指肠镜取石成功者平均住院时间5.43 d±1.86 d,并发症发生率6.6%(22/335),其中胰酶血症56例,均48 h内淀粉酶恢复正常;轻型胰腺炎17例,均出现于行EST的患者,1 wk后临床症状及体征消失,腹部CT提示胰腺实质及胰腺周围无器质性改变;EST后出血4例,给予胃肠减压及对症治疗;胆管炎1例,对症治疗后治愈;无肠道穿孔及其他并发症.

432例患者治疗后进行再评估. 324例内镜取石成功者中,治疗后胆道评估良好317例,胆道功能恢复不良7例. 108例腹腔镜治疗者中(包括中转开腹病例),治疗后胆道评估良好99例,胆道功能恢复不良2例,合并胆道远端相对狭窄、排空延迟7例. 16例存在胆道功能恢复不良或合并胆道远端相对狭窄、排空延迟者,行经内镜塑料支架治疗,支架治疗率为3.7%(16/432).

3 讨论

应用十二指肠镜治疗复发性胆总管结石,已经逐渐成为临床治疗的首选方案^[7]. 但是由于复发

表 2 440例患者诊断结果与治疗方案选择 (n)

	n	内镜取石治疗	腹腔镜、内镜联合治疗
胆总管远端狭窄(n = 11)			
狭窄段>1.0 cm、≤1.5 cm	10		
狭窄段>1.5 cm, 年龄≤40岁	1		
胆总管远端无狭窄(n = 429)			
结石直径≤2 cm, 数量>2枚	28	28	
结石直径≤2 cm, 数量≤2枚	307	307	
结石直径>2 cm, 数量>2枚	57		57
合并肝内胆管结石	6		6
充满型结石	15		15
EST高危	9		9
合并胆囊疾患	7		7
合计	440	335	105

■应用要点

十二指肠镜的应用具有创伤小、住院时间短的优点, 同时也为研究胆管复发结石原因提供了条件, 在治疗上做到对症下药, 有助于降低胆管结石的复发率。

表 3 105例取石禁忌或相对禁忌患者经内镜鼻胆管引流情况 (n)

	n	急诊入院	
		成功	失败
内镜取石禁忌			
胆总管远端狭窄段>1.5 cm	1		
胆总管远端狭窄段>1.0 cm、≤1.5 cm	10	7	3
内镜取石相对禁忌			
合并肝内胆管结石	6		6
充满型结石	15	12	3
EST高危	9	4	5
合并胆囊疾患	7	7	
合计	105	87	18

结石患者胆道情况的复杂性, 并非所有患者都适宜进行十二指肠镜取石治疗, 而且目前临床缺乏明确规范的内镜治疗胆总管复发结石适应证和禁忌证, 使得内镜治疗胆总管复发结石缺少统一的标准^[8]。因此我们根据我们多年的经验提出十二指肠镜治疗胆总管复发结石的适应证和禁忌证及治疗程序, 供大家交流。

十二指肠镜取石治疗胆总管复发结石适应证: 无内镜治疗禁忌; 胆总管远端无狭窄者或胆总管远端狭窄长度≤1.0 cm者; 胆总管复发结石直径<1.5 cm; 结石数量少, 可一次取净; EST后切口足够大。十二指肠镜取石治疗胆总管复发结石禁忌证: 胆总管远端狭窄长度>1.0 cm; 合并肝内胆管结石; 胆总管充满型结石; EST高危患者。对于存在内镜取石相对禁忌的患者, 不应一味追求内镜取石的成功率, 而增加内镜治疗的风险, 必要时改行内镜腹腔镜联合治疗。

微创治疗胆总管复发结石流程: 第1步, 患者取左侧卧位, 口含牙垫, 当十二指肠镜进入十二指肠降段后寻找十二指肠乳头, 观察十二指肠降段有无憩室, 观察乳头开口形状及乳头与十二指肠憩室的关系^[9]; 第2步, 患者插管成功后, 先行ERCP检查, 进一步判断内镜取石的可能性, 如果发现为正常乳头或既往行EST、结石<2 cm、结石数量较少、胆管远端无狭窄者, 选择经十二指肠镜取石治疗, 若胆总管远端无狭窄或狭窄长度≤1.0 cm者, 但存在内镜下取石相对禁忌者(充满型结石; 结石>2 cm, >2枚; 合并肝内胆管结石; EST高危; 合并胆囊疾患; 急性化脓性胆管炎)先行ENBD引流。当然自激光碎石技术出现后, 直径>2 cm的大结石经碎石处理后, 有相当一部分是可以被取出的, 但是激光碎石技术同样会增加出血、穿孔、胆道损伤等并发症, 所以对于导致激光碎石并发症增加的危险因素有待进一步分析, 分级的必要^[10], 此外, 对于胆总管远端狭窄长度>1 cm, 因内镜下取石禁忌, 先行ENBD引流; 第3步, 对于适宜内镜取石治疗的患者中, 既往行EST, 但存在胆管远端狭窄的可应用柱状气囊扩张法扩张乳头括约肌; 既往未行EST的患者根据乳头的类型采取不同的EST方法, 目前常用的方法有: 退刀切开法、推进切开法、沿导管旁进刀切开法及电针开窗法; 最后, 行EST或气囊扩张后, 根据EST后切口的大小、结石的软硬性质、大小、数量采取适宜的取石方法, 取出结石, 完成治疗。

常用的取石方法有: 第一, 气囊导管取石法: 主要适用于较小孤立的胆固醇样结石; 第二, 网篮取石法: 临床最为常用。复发胆总管结石无明显

■同行评价

本文选题较好,有一定的临床指导意义。

显棱角、大小在0.5-1.5 cm, 结石与胆管壁之间有一定空隙能让取石网篮张开者一般都能完成内镜治疗。取石成功后, 经造影导管插入导丝, 沿导丝置入鼻胆引流管, 完成ENBD^[11]; 第三, 碎石法: 介于1.5-2.0 cm较大的色素样或混合性结石, 直接由网篮取出将会损伤乳头括约肌, 引起出血、远期瘢痕狭窄, 因此需应用网篮机械碎石将结石粉碎后再进行取石^[12]。另有文献报道, 直径>2.0 cm的多发结石也可尝试碎石、多次取石, 但风险较大^[13]。需要注意的是结石被碎成小结石后网篮不能保证取净, 追加气囊导管取石后结石残渣仍有可能嵌顿于胆管黏膜内, ERCP难以发现, 形成残余结石或结石再次复发的核心。碎石造成结石残渣嵌顿于胆管黏膜内, 导致取石不完全, 因此不要力求一次碎完取净。碎石时禁用气囊取石, 碎石后应行ENBD引流冲洗(冲洗液加用激素), 待胆道黏膜水肿消退后再行取石治疗。但对于结石巨大(直径>2 cm)碎石, 网篮难以张开以及结石较硬不易粉碎者则不宜行网篮碎石, 否则极易损伤胆管黏膜, 严重的则引起胆道出血^[14]。对于多次碎石病史的患者在碎石后可常规行ERBD内引流, 预防胆管远端狭窄^[8]。

在对临床440例胆总管复发结石患者行十二指肠镜、腹腔镜等治疗过程中, 我们体会胆总管复发结石患者多伴有胆道手术史, 再次手术难度大。十二指肠镜取石治疗可以避免再次手术的创伤, 治疗成功率高, 住院时间短, 创伤小, 恢复快, 对高龄、有手术禁忌证的患者, 更具可行性和优越性。但是对于十二指肠镜治疗复发性胆总管结石的适应证、禁忌证尚存在争议, 应完善相关的实验室研究及多中心数据统计, 最终确定统一的治疗适应证及禁忌证。

4 参考文献

- 1 Classen M, Demling L. [Endoscopic sphincterotomy of the papilla of Vater and extraction of stones from the choledochal duct (author's transl)] *Dtsch Med Wochenschr* 1974; 99: 496-497
- 2 Kawai K, Akasaka Y, Murakami K, Tada M, Koli Y. Endoscopic sphincterotomy of the ampulla of Vater. *Gastrointest Endosc* 1974; 20: 148-151
- 3 Kullman E, Borch K, Liedberg G. Long-term follow-

up after endoscopic management of retained and recurrent common duct stones. *Acta Chir Scand* 1989; 155: 395-399

- 4 Zhi FC, Liu XM, Liu ZQ, Lin Y, Chen SJ. Treatment of severe Clonorchiasis sinensis by endoscopic nasobiliary drainage and oral praziquantel. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2150-2152
- 5 Liyanage CA, Sadakari Y, Lenaga J, Tanabe R, Takahata S, Tanaka M. Endoscopic management of a difficult common bile duct stone. *Ceylon Med J* 2008; 53: 105-106
- 6 Yachimski P, Poulouse BK. ERCP vs laparoscopic common bile duct exploration for common bile duct stones: are the 2 techniques truly equivalent? *Arch Surg* 2010; 145: 795; author reply 795-796
- 7 Beilstein MC, Ahmad NA, Kochman ML, Long WB, Shah JN, Ginsberg GG. Initial evaluation of a duodenoscope modified to allow guidewire fixation during ERCP. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 284-287
- 8 Kats J, Kraai M, Dijkstra AJ, Koster K, Ter Borg F, Hazenberg HJ, Eeftinck Schattenkerk M, des Plantes BG, Eddes EH. Magnetic resonance cholangiopancreatography as a diagnostic tool for common bile duct stones: a comparison with ERCP and clinical follow-up. *Dig Surg* 2003; 20: 32-37
- 9 Sakai Y, Tsuyuguchi T, Yukisawa S, Tsuchiya S, Sugiyama H, Miyakawa K, Ohara T, Ebara M, Miyazaki M, Yokosuka O. Diagnostic value of magnetic resonance cholangiopancreatography for clinically suspicious spontaneous passage of bile duct stones. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 736-740
- 10 Miura F, Takada T, Kawarada Y, Nimura Y, Wada K, Hirota M, Nagino M, Tsuyuguchi T, Mayumi T, Yoshida M, Strasberg SM, Pitt HA, Belghiti J, de Santibanes E, Gadacz TR, Gouma DJ, Fan ST, Chen MF, Padbury RT, Bornman PC, Kim SW, Liau KH, Belli G, Derveniz C. Flowcharts for the diagnosis and treatment of acute cholangitis and cholecystitis: Tokyo Guidelines. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007; 14: 27-34
- 11 Moon JH, Cho YD, Cha SW, Cheon YK, Ahn HC, Kim YS, Kim YS, Lee JS, Lee MS, Lee HK, Shim CS, Kim BS. The detection of bile duct stones in suspected biliary pancreatitis: comparison of MRCP, ERCP, and intraductal US. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1051-1057
- 12 Larkin CJ, Workman A, Wright RE, Tham TC. Radiation doses to patients during ERCP. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 161-164
- 13 Stiris MG, Tennøe B, Aadland E, Lunde OC. MR cholangiopancreatography and endoscopic retrograde cholangiopancreatography in patients with suspected common bile duct stones. *Acta Radiol* 2000; 41: 269-272
- 14 Lomas DJ, Bearcroft PW, Gimson AE. MR cholangiopancreatography: prospective comparison of a breath-hold 2D projection technique with diagnostic ERCP. *Eur Radiol* 1999; 9: 1411-1417

编辑 李军亮 电编 何基才

STAT4基因启动子区域单核苷酸多态性与中国汉族人群中克罗恩病的相关性

庞智, 曹锴, 魏文祥, 皇甫照, 周春立, 沈必武

庞智, 周春立, 沈必武, 江苏省苏州市立医院北区消化内科
江苏省苏州市 215008

庞智, 皇甫照, 苏州市消化系统疾病与营养研究中心 江苏省
苏州市 215008

曹锴, 魏文祥, 苏州大学医学部细胞生物学系 江苏省苏州市
215123

作者贡献分布: 此课题由庞智和魏文祥设计; 病例收集由庞智、
周春立及沈必武完成; 研究所用试剂与分析工具由庞智与魏文
祥提供; 研究过程由曹锴与皇甫照操作完成; 本论文写作由庞智
完成。

通讯作者: 庞智, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 215008, 江苏省
苏州市金阊区广济路242号, 江苏省苏州市立医院北区消化内
科. pangzhi0273@sina.com

电话: 0512-62363008 传真: 0512-65332028

收稿日期: 2010-06-13 修回日期: 2010-08-10

接受日期: 2010-08-23 在线出版日期: 2010-10-18

Association of single nucleotide polymorphism in the STAT4 gene promoter region with risk of Crohn's disease in the Chinese Han population

Zhi Pang, Kai Cao, Wen-Xiang Wei, Zhao Huangfu,
Chun-Li Zhou, Bi-Wu Shen

Zhi Pang, Chun-Li Zhou, Bi-Wu Shen, Department of
Gastroenterology, Suzhou Municipal Hospital (North Cam-
pus), Suzhou 215008, Jiangsu Province, China

Zhi Pang, Zhao Huangfu, Digestive Disease & Nutrition
Research Center of Suzhou, Suzhou 215008, Jiangsu Pro-
vince, China

Kai Cao, Wen-Xiang Wei, Department of Cellular & Mo-
lecular Biology, Medical College of Soochow University,
Suzhou 215123, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Zhi Pang, Department of Gastroen-
terology, Suzhou Municipal Hospital (North Campus), 242
Guangji Road, Jinchang District, Suzhou 215008, Jiangsu
Province, China. pangzhi0273@sina.com

Received: 2010-06-13 Revised: 2010-08-10

Accepted: 2010-08-23 Published online: 2010-10-18

Abstract

AIM: To investigate the association of a single nucleotide polymorphism (SNP) in the promoter region (rs16833431 A > G) of the signal transducer and activator of transcription 4 (STAT4) with the risk of Crohn's disease in the Chinese Han population.

METHODS: Genomic DNA from 132 indi-

viduals of Chinese Han origin [including 66 patients with Crohn's disease (CD) and 66 healthy controls] was prepared for analysis of the rs16833431 A > G SNP. SNP genotypes were analyzed by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). A Chi-square test was used to determine the association of the rs16833431 A > G SNP with the risk of Crohn's disease.

RESULTS: The frequencies of genotypes AA, AG and GG were 0.545, 0.303 and 0.152 in Crohn's disease patients, and 0.576, 0.273 and 0.152 in healthy controls, respectively. The frequencies of A and G allele was 0.697 and 0.303 in Crohn's disease patients, and 0.712 and 0.288 in healthy controls, respectively.

CONCLUSION: These findings suggest that there is no significant association between the rs16833431 A > G SNP and the risk of Crohn's disease.

Key Words: Signal transducer and activator of transcription 4; Crohn's disease; Single nucleotide polymorphism; Chinese Han population

Pang Z, Cao K, Wei WX, Huangfu Z, Zhou CL, Shen BW. Association of single nucleotide polymorphism in the STAT4 gene promoter region with risk of Crohn's disease in the Chinese Han population. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(29): 3159-3163

摘要

目的: 分析信号转导子及转录激活因子4(STAT4)基因启动子区域单核苷酸多态性(SNP)位点rs16833431 A>G的多态性与中国汉族人群克罗恩病发生的相关性。

方法: 选取汉族克罗恩病患者66例与健康对照者66名作为研究对象, 抽提基因组DNA, 采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法检测其STAT4基因启动子区域多态位点rs16833431 A>G的基因型, 计算基因型与基因频率, 采用 χ^2 检验进行组间比较。

背景资料

自2001年Hugot等确定第1个CD易感基因CARD15/NOD2以来, 已相继发现了多个与IBD发病相关的易感基因和易感单核苷酸多态性(SNP)位点, 有关基因型与临床表型的关系也有报道。可以明确的是IBD是一种复杂的多基因疾病, 其易感性涉及多个基因位点, 且有着显著的种族差异性。迄今为止还没有找到与我国乃至亚洲IBD人群明显相关的基因和SNP位点。

同行评议者
李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

■相关报道

Wurster等报道,在STAT4基因缺陷的小鼠中不能产生Th1细胞,说明Th1细胞的产生需要STAT4参与,但是STAT4在Th1细胞分化过程中的具体作用仍不十分清楚.

结果: STAT4基因rs16833431多态位点AA、AG和GG基因型频率在病例组中分别为0.545, 0.303和0.152, 在对照组中分别为0.576, 0.273和0.152, A和G等位基因的频率在病例组分别为0.697和0.303, 在对照组分别为0.712和0.288. 该位点基因型和等位基因分布在病例组与对照组均无统计学差异($P>0.05$).

结论: STAT4基因启动子区域rs16833431 A>G位点单核苷酸多态性与中国汉族人群克罗恩病发生无明显相关性.

关键词: 信号转导及转录激活因子4; 克罗恩病; 单核苷酸多态性; 汉族人群

庞智, 曹锴, 魏文祥, 皇甫照, 周春立, 沈必武. STAT4基因启动子区域单核苷酸多态性与中国汉族人群中克罗恩病的相关性. 世界华人消化杂志 2010; 18(29): 3159-3163
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3159.asp>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是慢性非特异性胃肠道炎症性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)^[1,2]. 过去欧洲和北美人群中IBD发病率较高, 亚洲人群发病率较低, 然而近20年来IBD在亚洲人群中的发病呈现明显增高趋势. IBD的病因和发病机制尚未完全明确, 目前认为IBD的发病是由环境、遗传、感染和免疫等多种因素相互作用所致. 同卵双生子共患病率高, IBD的家族聚集现象和IBD发病的种族差异性提示遗传因素是IBD发病过程中的一个重要因素. 全基因组关联研究与传统方法相结合用以探索基因变异与发病风险的关系已使人们对于IBD的发生发展的认识有了很大提高. 自2001年Hugot等^[3]确定第1个CD易感基因CARD15/NOD2以来, 已相继发现了多个与IBD发病相关的易感基因和易感单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点, 有关基因型与临床表型的关系也有报道. 可以明确的是IBD是一种复杂的多基因疾病, 其易感性涉及多个基因位点, 且有着显著的种族差异性. 迄今为止还没有找到与我国乃至亚洲IBD人群明显相关的基因和SNP位点, 因此有必要在亚洲人群中展开大规模的易感基因及易感突变位点的筛查. 信号转导子及转录激活因子4(signal transducer and activator of transcription 4, STAT4)是Th细胞分化通路上的一个关键因子, 位于染色体2q32.2-2q32.3, 介导IL-12的免疫反应与调节T淋

巴细胞的分化. 最近的研究揭示STAT4基因的突变与系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)和类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)明显相关, 表明多种自身免疫性疾病具有共同的易感基因^[4-7]. STAT4基因存在多种SNP, 其中启动子区域SNP可能通过影响基因表达而发挥作用. 为在汉族人群中研究STAT4基因与克罗恩病的相互作用, 我们在国内首次对STAT4基因启动子区域一个SNP位点与中国汉族人群CD的相关性进行了分析.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2007-2010年在苏州市立医院北区消化科门诊就诊或住院的临床诊断资料完整(所有患者均有肠镜、病理组织学和小肠钡剂造影或小肠CT重建检查结果)、彼此无血缘关系的CD患者66例(诊断标准依据中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组制定的《中国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见》)^[8], 其中男32例, 女34例, 平均年龄36.26岁±11.82岁; 所有患者均除外合并其他自身免疫性疾病, 近1 mo未使用皮质激素治疗, 近3 mo未使用过免疫抑制剂, 无近期明确感染病史, 无严重心、肺和神经、精神疾病, 并除外糖尿病及其他内分泌疾病, 肝、肾功能损害者, 服用避孕药的女性育龄患者以及创伤者等. 健康对照组66名, 均为门诊体检健康者, 其中男33例, 女33例, 平均年龄35.42岁±13.14岁; 两组间年龄和性别没有显著性差异(均 $P>0.05$).

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA提取: 采集EDTA抗凝静脉血2 mL, 按DNA抽提试剂盒(SK1342, 上海生工)操作步骤从白细胞提取基因组DNA, 溶解于TE缓冲液, 定量后-20 °C保存.

1.2.2 STAT4基因启动子区域rs16833431 A>G位点多态性分析: 按照GenBank中提供的基因组序列(NC-000002.10)自行设计一对引物: F: 5'TCAACAAGCAGTGGGGACCA3'; R: 5'ACACCTGTAATCCTAGCACTT3', 扩增包括rs16833431 A>G位点在内的片段, PCR产物全长432 bp. 包含G等位基因的片段可以被限制性内切酶Msp I切为292和140 bp, 包含A等位基因的片段不能被切开.

PCR扩增反应体系20 μL, 内含基因组200 ng, dNTP各200 μmol/L, MgCl₂ 21.5 mmol/L, 5×PCR缓冲液4 μL, Taq酶2 U, 上、下游引物各10

表 1 STAT4基因启动子区域SNP位点的基因型、等位基因频率 (n = 66)

分组	基因型频率			基因频率		P值
	A/A	A/G	G/G	A	G	
CD组	36(0.545)	20(0.303)	10(0.152)	0.697	0.303	>0.05
健康对照组	38(0.576)	18(0.273)	10(0.152)	0.712	0.288	>0.05

pmol, 灭菌三蒸水补至20 μL. PCR扩增反应条件: 94 °C预变性5 min, 94 °C变性40 s, 55 °C退火40 s, 72 °C 50 s, 36个循环, 最后72 °C充分延伸10 min. 以上反应在PE480基因扩增仪进行. 限制性内切酶切体系20 μL, 其中PCR产物10 μL, 10×酶切缓冲液2 μL, 限制性内切酶Msp I (购自NEB公司)2 U, 三蒸水补至20 μL, 混匀后37 °C水浴3 h. 取酶切产物15 μL, 1.5%琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色, 凝胶成像仪显像观察电泳图确定基因型.

1.2.3 PCR产物胶回收及测序: 按UNIQ-10柱式DNA胶回收试剂盒(SK1131, 上海生工)操作步骤回收PCR产物, 回收后的PCR产物送到上海生工生物工程技术服务有限公司测序, 测序由上海生工协助完成.

1.2.4 基因频率与基因型频率的计算: 用哈迪-温伯格定律(genetic equilibrium law), 设定A%、a%分别表示基因A和a的频率, AA、Aa、aa分别表示AA、Aa、aa 3种基因型频率(个数). 根据遗传平衡定律, 则有: $A\% = (2 \times AA + Aa) / [2 \times (AA + Aa + aa)] \times 100\%$; $a\% = (2 \times aa + Aa) / [2 \times (AA + Aa + aa)] \times 100\%$.

统计学处理 采用统计学软件进行分析(SPSS15.0 for Windows, Chicago, IL), 根据所测位点各种基因型的分布计算基因型以及等位基因频率, 并进行Hardy-Weinberg遗传平衡检验, 各基因型以及等位基因频率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般临床资料特点的比较 CD组和健康对照组的性别构成比、年龄差异无显著性差异(均 $P > 0.05$). CD组患者疾病活动指数(CD activity index, CDAI)为 179.25 ± 62.45 , 病史 $7.24 \text{年} \pm 3.68 \text{年}$, 疾病分类(维也纳分类)^[9]: A1、A2分别为48、18例; L1、L2、L3、L4分别为11、15、32、8例; B1、B2、B3分别为36、20、10例.

2.2 STAT4基因启动子区域SNP位点基因型电泳结果 采用PCR-RFLP法分析该位点在人群中的

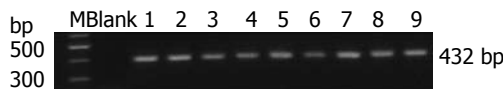


图 1 PCR检测STAT4基因启动子区域rs16833431. M: 100 bp DNA Marker; Blank: 空白对照; 1-5: CD组; 6-9: 健康对照组.

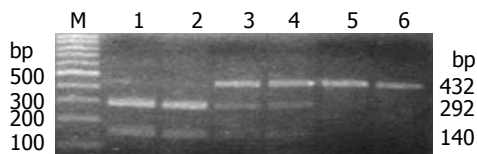


图 2 PCR-RFLP检测STAT4基因启动子区域rs16833431. M: 100 bp DNA Marker; 1, 2: GG基因型; 3, 4: AG基因型; 5, 6: AA基因型.

基因型, AA基因型仅可见432 bp 1条带, AG基因型同时可见432、292、140 bp 3条带, GG基因型可见292、140 bp 2条带(图1, 2).

2.3 STAT4基因启动子区域SNP位点的基因型、等位基因频率分析 根据电泳结果和测序统计结果判断并记录个体的基因型(表1), χ^2 检验病例组与对照组在该位点基因型及等位基因频率分布, 均符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律($P > 0.05$). 该位点的基因型以及等位基因频率在病例组与对照组间无统计学差异($P > 0.05$).

3 讨论

近年来许多临床和动物实验研究表明, 遗传因素与CD的发生密切相关. 目前CD易感基因的研究受到重视, 自2001年发现的第1个明确的CD易感基因NOD2/CARD15之后^[10-12], 国外文献又报道发现IL23R、ATG16L1、IRGM、NKX2-3、PTPN2和STAT4基因多态性与CD均有相关^[13-16], 由此可见CD是复杂的多基因共同作用的疾病. 单基因病与多基因病的不同在于, 前者是通过改变蛋白质编码区导致病变, 后者是由一些分布在基因表达调控区域(比如启动子区域)的突变所致, 这些小效应突变可以改变基因的表达水平而影响基因的功能, STAT4基因突变可能会改变其转录水平而影响Th1与Th2细胞的分化平

■创新盘点

本研究首次对中国汉族人群STAT4基因启动子区域的SNP位点rs16833431 A>G进行了多态性分析, 检测了该位点在CD组与健康对照组中的基因型以及等位基因频率的分布.

同行评价

本文选题新颖, 科学性较强, 有一定的临床参考意义。

衡, 从而在CD的发生中发挥作用. 该基因多态位点是否与CD相关, 以及相关位点在CD发生的具体作用需明确.

业已明确, CD是一种免疫失衡性疾病, Th1型免疫增强伴随Th2型免疫减弱, 故Th1型细胞因子的分泌, 会诱导各种病理变化, 从而诱导CD的发生, 调节Th1与Th2细胞的分化平衡对CD的预防与治疗有积极的意义. 由于二者分化相互拮抗, 抑制其中一种类型细胞因子的产生可以减弱同种类型的分化, 从而影响Th1与Th2细胞的分化平衡, 例如, 当IL-4受抑制时, Th1细胞的分化将占优势. Th1与Th2细胞的分化受多种因素制约, 包括抗原呈递部位、免疫原物理形式、佐剂类型、抗原种类、浓度和微环境中细胞因子等. 某些特异的基因序列也会影响Th1与Th2细胞的分化, 例如STAT4、T-bet是Th1细胞分化的转录因子^[17].

作为Th1细胞分化过程中的关键因子, STAT4依赖于IL-12, 在Th1细胞中特异表达. Wurster等^[18]报道, 在STAT4基因缺陷的小鼠中不能产生Th1细胞, 说明Th1细胞的产生需要STAT4参与, 但是STAT4在Th1细胞分化过程中的具体作用仍不十分清楚. 在抗原刺激下, IFN- γ 可诱导幼稚T淋巴细胞分化并激活STAT4, 进一步促进T-bet的产生, 从而激活Th1分化过程中的一系列反应. T-bet随IFN- γ 表达升高而升高, 而且仅在Th1细胞中特异性表达. 但STAT4与T-bet之间的关系尚需进一步研究. STAT4基因在Th1细胞分化中是一个关键点, 在CD的预防与治疗中也将是一个潜在的靶点.

Glas等^[16]分析了白种人群中STAT4基因中的7个常见多态位点, 发现位于STAT4 SNP rs7574865多态位点与CD相关($P = 0.047$). 而Diaz-Gallo等^[19]在西班牙人群中并没有发现该STAT4基因多态位点与CD相关, 但认为与UC的遗传易感性显著相关($P = 0.012$). 这表明STAT4基因与IBD的相关性在不同种族中存在变异. 在其他种族和人群中, 对于STAT4基因SNP位点与CD的相关性文献报道甚少, 位于STAT4基因启动子区域的rs16833431 A>G位点与CD的相关性分析尚未见报道. 本研究首次对中国汉族人群STAT4基因启动子区域的SNP位点rs16833431 A>G进行了多态性分析, 检测了该位点在CD病例组与健康对照组中的基因型以及等位基因频率的分布, 组间比较显示: CD患者该位点基因型频率及等位基因频率与正常人群基因型频率和

等位基因频率差异无统计学意义, 提示STAT4基因启动子区域rs16833431 A>G位点与中国汉族IBD患者发病易感性可能无明显相关. 本试验结果也进一步佐证了IBD易感基因多态性改变存在地域及种族的差异.

由于本研究病例数及地域较局限, 故仍需行多中心大样本的队列研究, 才能最终明确STAT4基因多态性与中国汉族IBD发病的相关性, 为进一步筛选中国人IBD的易感基因以及未来发展基因诊断和治疗提供依据.

4 参考文献

- 1 Cho JH. The genetics and immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 458-466
- 2 Comalada M, Peppelenbosch MP. Impaired innate immunity in Crohn's disease. *Trends Mol Med* 2006; 12: 397-399
- 3 Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599-603
- 4 Korman BD, Kastner DL, Gregersen PK, Remmers EF. STAT4: genetics, mechanisms, and implications for autoimmunity. *Curr Allergy Asthma Rep* 2008; 8: 398-403
- 5 Remmers EF, Plenge RM, Lee AT, Graham RR, Hom G, Behrens TW, de Bakker PI, Le JM, Lee HS, Batliwalla F, Li W, Masters SL, Booty MG, Carulli JP, Padyukov L, Alfredsson L, Klareskog L, Chen WV, Amos CI, Criswell LA, Seldin MF, Kastner DL, Gregersen PK. STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2007; 357: 977-986
- 6 Orozco G, Alizadeh BZ, Delgado-Vega AM, González-Gay MA, Balsa A, Pascual-Salcedo D, Fernández-Gutierrez B, González-Escribano MF, Petersson IF, van Riel PL, Barrera P, Coenen MJ, Radstake TR, van Leeuwen MA, Wijmenga C, Koeleman BP, Alarcón-Riquelme M, Martín J. Association of STAT4 with rheumatoid arthritis: a replication study in three European populations. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 1974-1980
- 7 Ji JD, Lee WJ, Kong KA, Woo JH, Choi SJ, Lee YH, Song GG. Association of STAT4 polymorphism with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2010; 37: 141-147
- 8 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 中国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *中华内科杂志* 2008; 47: 73-79
- 9 Gasche C, Scholmerich J, Brynskov J, D'Haens G, Hanauer SB, Irvine EJ, Jewell DP, Rachmilewitz D, Sachar DB, Sandborn WJ, Sutherland LR. A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis* 2000; 6: 8-15
- 10 Buhner S, Buning C, Genschel J, Kling K, Herrmann

- D, Dignass A, Kuechler I, Krueger S, Schmidt HH, Lochs H. Genetic basis for increased intestinal permeability in families with Crohn's disease: role of CARD15 3020insC mutation? *Gut* 2006; 55: 342-347
- 11 Hisamatsu T, Suzuki M, Reinecker HC, Nadeau WJ, McCormick BA, Podolsky DK. CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2003; 124: 993-1000
- 12 Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, Schwab M, Schäffeler E, Schlee M, Herrlinger KR, Stallmach A, Noack F, Fritz P, Schröder JM, Bevins CL, Fellermann K, Stange EF. NOD2 (CARD15) mutations in Crohn's disease are associated with diminished mucosal alpha-defensin expression. *Gut* 2004; 53: 1658-1664
- 13 Massey DC, Parkes M. Genome-wide association scanning highlights two autophagy genes, ATG16L1 and IRGM, as being significantly associated with Crohn's disease. *Autophagy* 2007; 3: 649-651
- 14 Cummings JR, Cooney R, Pathan S, Anderson CA, Barrett JC, Beckly J, Geremia A, Hancock L, Guo C, Ahmad T, Cardon LR, Jewell DP. Confirmation of the role of ATG16L1 as a Crohn's disease susceptibility gene. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 941-946
- 15 Parkes M, Barrett JC, Prescott NJ, Tremelling M, Anderson CA, Fisher SA, Roberts RG, Nimmo ER, Cummings FR, Soars D, Drummond H, Lees CW, Khawaja SA, Bagnall R, Burke DA, Todhunter CE, Ahmad T, Onnie CM, McArdle W, Strachan D, Bethel G, Bryan C, Lewis CM, Deloukas P, Forbes A, Sanderson J, Jewell DP, Satsangi J, Mansfield JC, Cardon L, Mathew CG. Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nat Genet* 2007; 39: 830-832
- 16 Glas J, Seiderer J, Nagy M, Fries C, Beigel F, Weidinger M, Pfennig S, Klein W, Eppel JT, Lohse P, Folwaczny M, Göke B, Ochsenkühn T, Diegelmann J, Müller-Myhsok B, Roeske D, Brand S. Evidence for STAT4 as a common autoimmune gene: rs7574865 is associated with colonic Crohn's disease and early disease onset. *PLoS One* 2010; 5: e10373
- 17 Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell* 2000; 100: 655-669
- 18 Wurster AL, Tanaka T, Grusby MJ. The biology of Stat4 and Stat6. *Oncogene* 2000; 19: 2577-2584
- 19 Diaz-Gallo LM, Palomino-Morales RJ, Gómez-García M, Cardeña C, Rodrigo L, Nieto A, Alcain G, Cueto I, López-Nevot MA, Martín J. STAT4 gene influences genetic predisposition to ulcerative colitis but not Crohn's disease in the Spanish population: a replication study. *Hum Immunol* 2010; 71: 515-519

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010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32 400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12 400余种. 本版还加大了专家评审力度, 5 500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1 980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). (编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)