

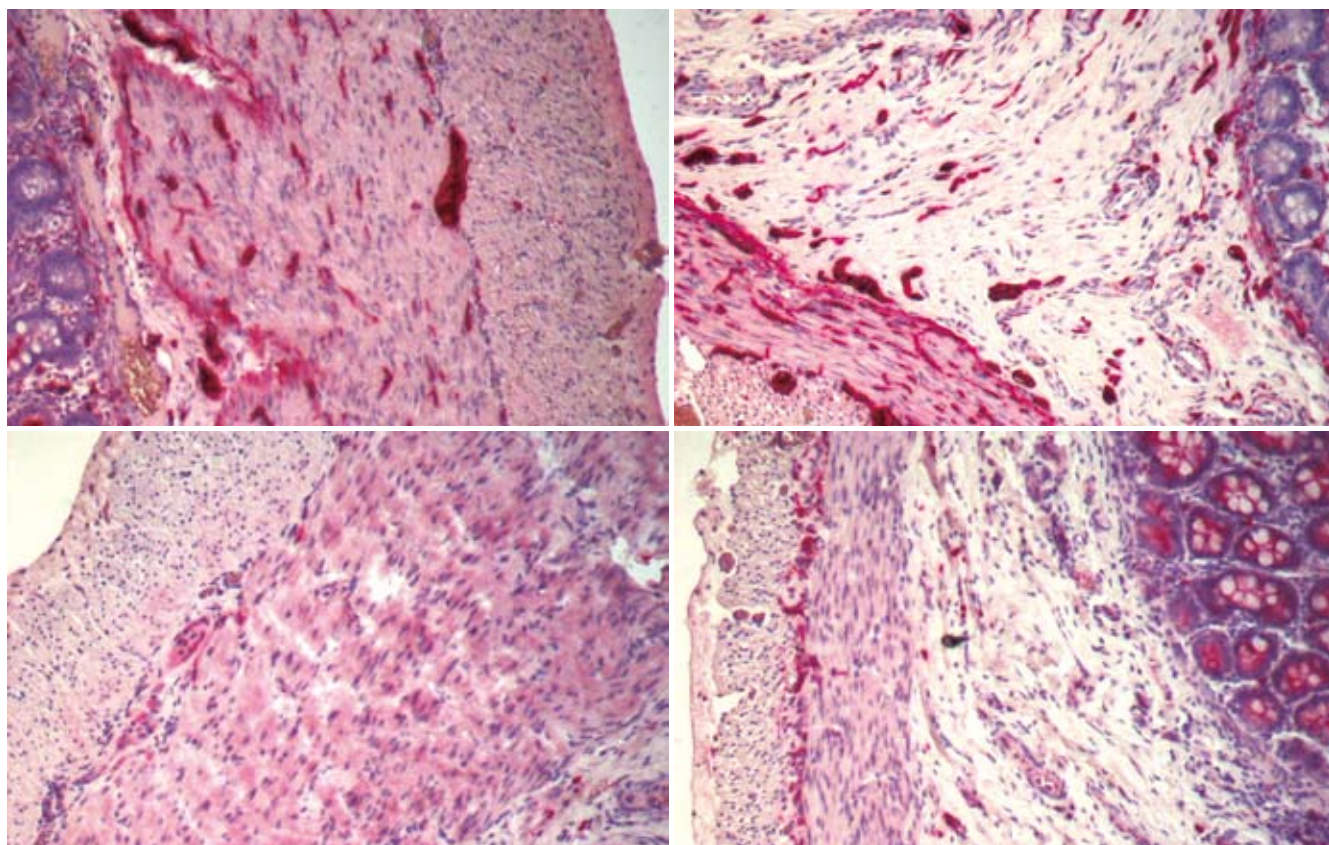
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)  
CN 14-1260/R

# 世界华人消化杂志®

## WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2010 年 12 月 18 日 第 18 卷 第 35 期 (Volume 18 Number 35)



## 35/2010

ISSN 1009-3079



名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》，荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录。

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2009-01-01/2011-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

### 总顾问

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

### 名誉总编辑

潘伯荣教授

### 社长/总编辑

马连生教授

### 副总编辑

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

### 常务编委

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

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
栾新明教授  
陈国忠副主任医师  
陈洪副教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授

崔立红副教授  
邓长生教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊晓明主任医师  
房静远教授  
冯志杰主任医师  
傅春彬主任医师  
高峰副教授  
戈之铮教授  
关玉盘教授  
关晓辉主任医师  
郭晓钟教授  
郝建宇教授  
何松教授  
洪天配教授  
侯晓华教授  
胡伏莲教授  
胡和平主任医师  
黄培林教授  
黄晓东主任医师  
黄颖秋教授  
黄缘教授  
霍丽娟教授  
季国忠教授  
江米足主任医师  
姜春萌教授  
姜慧卿教授  
金瑞教授  
蓝宇教授  
李定国教授  
李淑德教授  
李瑜元教授  
李玉民教授  
李玉明教授  
廖家智副主任医师  
林志辉教授  
刘冰熔教授  
刘凤斌教授  
刘改芳主任医师  
刘海峰主任医师  
刘海林主任医师  
刘铁夫教授  
刘莹副主任医师  
刘占举教授  
陆伦根教授  
吕志武教授  
马红主任医师  
马欣主任医师

毛高平教授  
孟庆华教授  
倪润洲教授  
欧希龙副教授  
潘秀珍教授  
朴云峰教授  
秦成勇教授  
任粉玉副教授  
任建林教授  
邵先玉教授  
沈琳主任医师  
沈守荣教授  
沈薇教授  
施瑞华教授  
宋军副教授  
宋于刚教授  
唐世刚教授  
田宇彬教授  
王邦茂教授  
王炳元教授  
王承党教授  
王江滨教授  
王晓艳副教授  
闻勤生教授  
夏冰教授  
夏时海副教授  
徐可树教授  
许乐主任医师  
杨建民教授  
姚树坤教授  
叶红军主任医师  
张春清教授  
张国梁主任医师  
张军教授  
张小晋主任医师  
张晓岚教授  
张筱茵副教授  
张志坚教授  
郑培永副教授  
郑鹏远教授  
郑素军副主任医师  
周国雄主任医师  
周晓东副教授  
周宇教授  
朱春兰主任医师  
邹晓平主任医师  
诸琦教授

#### 消化外科学

白雪巍副主任医师  
蔡开琳副教授

蔡三军主任医师  
曹杰主任医师  
陈光教授  
陈海龙教授  
陈积圣教授  
陈进宏副主任医师  
陈力教授  
陈立波教授  
陈凜教授  
陈强谱教授  
陈汝福教授  
陈亚军主任医师  
陈钟教授  
程爱国教授  
程爱群主任医师  
程树群副教授  
崔云甫教授  
戴朝六教授  
戴冬秋教授  
丁义涛教授  
董明教授  
杜成友教授  
杜顺达副主任医师  
房林副教授  
傅红副教授  
傅华群教授  
傅志仁主任医师  
高成新教授  
葛海燕教授  
巩鹏副教授  
谷俊朝主任医师  
顾国利副主任医师  
顾岩教授  
韩天权教授  
郝纯毅主任医师  
郝立强副教授  
何超教授  
何晓顺教授  
何裕隆教授  
黄志勇教授  
季加孚教授  
姜卫东教授  
姜波健教授  
蒋龙元副教授  
金山副教授  
黎乐群教授  
李革副教授  
李国威教授  
李华副教授  
李华山主任医师  
李杰教授

李奇林教授  
李胜研究员  
李涛副主任医师  
李文岗教授  
李小荣教授  
李旭副教授  
李永翔主任医师  
李志霞教授  
李宗芳教授  
梁力建教授  
刘宝林教授  
刘超副教授  
刘建教授  
刘颖斌主任医师  
卢实春教授  
陆才德教授  
陆云飞教授  
禄韶英副主任医师  
吕明德教授  
吕云福教授  
彭吉润主任医师  
彭心宇教授  
齐清会教授  
秦春宏副主任医师  
秦华东教授  
秦环龙教授  
秦建民副主任医师  
邱宝安主任医师  
邱双健副教授  
邱伟华副主任医师  
仇毓东副教授  
裘正军教授  
单云峰副主任医师  
沈柏用副教授  
沈世强教授  
施宝民教授  
施诚仁教授  
施晓雷副主任医师  
石毓君副研究员  
宋振顺教授  
孙诚谊教授  
孙学英教授  
孙延平副主任医师  
邵升副教授  
谭晓冬教授  
汤朝晖副主任医师  
汤恢焕教授  
汤绍涛教授  
唐南洪教授  
田晓峰教授  
汪波副主任医师



# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

汪根树副教授  
王春友教授  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王广义教授  
王健生教授  
王鲁副教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王要军教授  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴河水教授  
吴健雄教授  
吴金术教授  
吴泰璜教授  
吴志勇教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
谢晓华副教授  
邢光明教授  
徐大华主任医师  
徐迅迪副主任医师  
徐泱副主任医师  
许戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
严律南教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨维良教授  
杨银学教授  
杨尹默教授  
伊力亚尔·夏合丁教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
于则利教授  
禹正杨副教授  
郁宝铭教授  
元云飞教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张群华教授  
张水军教授

张宗明教授  
赵刚副教授  
智绪亭教授  
周伟平教授  
邹小明教授

### 消化感染病学

陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈仕珠主任医师  
陈志辉副主任医师  
党双锁教授  
丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
高润平教授  
高泽立副教授  
高志良主任医师  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郝春秋副教授  
何生松教授  
胡国信副主任医师  
靳雪源副主任医师

林菊生教授  
刘正稳教授  
宁琴教授  
牛俊奇教授  
钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
唐霓副研究员  
唐晓鹏教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
魏来教授  
吴建国教授  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨华副主任医师  
杨林副研究员  
姚鹏副教授  
张继明教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵连三教授  
赵秀英副教授  
周霞秋教授  
朱传武主任医师

庄林主任医师

### 消化中医学

蔡淦教授  
陈治水主任医师  
杜群副研究员  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘平教授  
刘绍能主任医师  
龙致贤教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
沈洪教授  
司富春教授  
唐志鹏研究员  
王富春教授  
王新月教授  
邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲副教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
陈公琰主任医师  
陈克能教授  
代智副研究员  
华海清教授  
李璦教授  
刘宝瑞教授  
刘彬彬副研究员  
刘云鹏教授  
秦叔逵教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
谢丹教授  
熊斌教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
陈克敏教授  
官泳松教授

韩新巍教授  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师  
倪才方教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐爱民副教授  
徐辉雄教授  
徐克教授  
严惟力副教授  
杨业发教授  
杨建勇教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

丁佑铭教授  
郝俊鸣副主任医师  
茅爱武教授  
潘林娜教授  
孙明军教授  
万军教授  
吴硕东教授  
袁友红副教授

### 消化中西医结合学

唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
张春虎副教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
曹师承教授  
陈志龙教授  
樊红教授  
高春芳研究员  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄园教授  
李东辉教授  
李刚教授  
李杰副教授  
李君文研究员  
李永哲副研究员  
李增山副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授

梅林教授  
钱其军研究员  
钱睿哲教授  
任超世研究员  
任浩副教授  
任晓峰副教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授  
田文静副教授  
田颖刚副研究员  
汪思应教授  
王钦红教授  
吴道澄教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
姚登福教授  
阴赅宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬副教授  
张青云研究员  
张学教授  
赵平副教授  
周南进研究员  
周士胜教授  
周素芳教授  
周晓东研究员  
周晓武副主任医师  
朱进霞教授

### 消化病理学

杜祥教授  
季菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
吕宁主任医师  
马大烈教授  
门秀丽教授  
潘兴华副主任医师  
孙伟副研究员  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
赵景民教授  
朱亮副教授

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2010 年 12 月 18 日 第 18 卷 第 35 期 (总第331期)

## 述 评

3721 肝切除术中肝脏功能的影响因素及其评估

许戈良, 莫卫东

## 基 础 研 究

3724 Survivin在活化的肝星状细胞中的表达及反义寡核苷酸对其凋亡的影响

彭安邦, 张秀梅, 丁由

3732 双歧杆菌及乳酸杆菌在肥胖大鼠肠道中的动力学

史力群, 卢放根, 崔熠, 谢宁, 姚婷新

## 临 床 研 究

3740 食管癌三维适形常规分割与后程加速超分割放疗的随机对照

王建华, 卢绪菁, 周健, 王峰

3745 血清蛋白指纹图与大肠癌预后诊断

王专, 李小琼, 王开正, 邓明明, 徐亮

## 文 献 综 述

3752 食管癌相关癌基因的研究进展

柏文霞, 刘伟, 施瑞华

3756 肝炎病毒感染相关microRNA调控作用的研究进展

鲍春阳, 李军锋, 周育森

3761 重症肝炎与肠黏膜屏障

邓芝云, 单体栋, 张方信

3767 缺血性肠炎的临床特点

姜春燕, 谭漫红, 李敏

3772 干细胞移植在炎症性肠病中的治疗

瞿勇, 缪应雷

## 研 究 快 报

3778 改良胃旁路术对GK大鼠的降糖作用及其机制

翁山耕, 张斌, 刘赵琪, 石铮

3782 附子理中丸对脾阳虚证大鼠肝脏能荷的下调机制

张文通, 唐汉庆, 卢阿娜, 赵欣, 李国璋, 蒋玉凤, 蔡大勇

3787 氨培养对大鼠脑星形胶质细胞凋亡及坏死的影响

胥莹, 陈学平, 杨晋辉, 张渊智, 徐智媛, 唐映梅

## 临 床 经 验

3791 食管曲张静脉套扎和硬化治疗疗效与安全性的前瞻性评估

李盼, 孔德润, 谢惠君, 孙斌, 许建明

3796 原发性胃恶性淋巴瘤的内镜诊断和临床病理特点

李姝, 王邦茂, 方维丽, 姜葵, 刘文天

3800 胃镜在腹腔镜治疗上消化道良性疾病中的应用

赵作成, 秦鸣放

3804 肝小静脉闭塞病介入治疗21例

褚建国, 黄鹤, 孙鹏, 孙晓丽, 张小明, 冷希圣

3809 幽门螺杆菌在原发性胆总管结石患者胆汁和胆石中的表达

宋敏, 吴杰, 王萍, 黄晓东, 张姮, 孙圣斌, 范彦, 廖宇圣, 李晖

	<p>3813 快速通道外科对结直肠癌患者血清CRP、IL-6及胰岛素抵抗的影响 张宏, 崔明明, 刘鼎盛, 冯勇, 陈春生</p> <p>3818 肠易激综合征国内实验研究现状的调查 吴晓亮, 孙建华</p>
附 录	<p>3824 《世界华人消化杂志》投稿须知</p> <p>3829 2010-2011年国内国际会议预告</p>
志 谢	3830 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	<p>3731 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标</p> <p>3739 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.625</p> <p>3744 《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》</p> <p>3751 <i>WJC, WJGE, WJGO, WJGS, WJH, WJR</i> 6本期刊被PMC收录</p> <p>3755 《世界华人消化杂志》出版流程</p> <p>3766 汤姆森-路透公布2009年<i>WJG</i>影响因子2.092</p> <p>3771 《世界华人消化杂志》栏目设置</p> <p>3781 《世界华人消化杂志》正文要求</p> <p>3786 《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆2008年版《中文核心期刊要目总览》</p> <p>3790 《世界华人消化杂志》参考文献要求</p> <p>3799 《世界华人消化杂志》外文字符标准</p> <p>3803 2009年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序</p> <p>3808 2009年《世界华人消化杂志》编委审稿总结</p> <p>3812 <i>WJG</i>成功通过评审被PMC收录</p> <p>3823 《世界华人消化杂志》修回稿须知</p>
封面故事	<p>Gfroerer S, Metzger R, Fiegel H, Ramachandran P, Rolle U. Differential changes in intrinsic innervation and interstitial cells of Cajal in small bowel atresia in newborns. <i>World J Gastroenterol</i> 2010; 16(45): 5716-5721 <a href="http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v16/i45/5716.htm">http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v16/i45/5716.htm</a></p>
本期责任人	<p>编务 刘晓芳; 送审编辑 李军亮; 组版编辑 何基才; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 李薇; 审核编辑 李军亮; 形式规范 马连生</p>

<p><b>世界华人消化杂志</b></p> <p><b>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</b></p> <p>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (旬刊)</p> <p>创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2010-12-18 原刊名 新消化病学杂志</p> <p>名誉总编辑 潘伯荣 总 编 辑 马连生 编辑部主任 李军亮 期 刊 名 称 世界华人消化杂志 主 管 单 位 山西省科学技术厅 主 办 单 位 太原消化病研治中心</p>	<p><b>编辑</b> 世界华人消化杂志编辑委员会 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a></p> <p><b>出版</b> 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a></p> <p><b>印刷</b> 北京科信印刷厂</p> <p><b>发行</b> 国内: 北京报刊发行局 国外: 中国国际图书贸易总公司 (100044, 北京市399信箱)</p> <p><b>订购</b> 全国各地邮电局</p> <p><b>邮购</b> 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a></p>	<p>世界华人消化杂志是一份同行评议性的旬刊, 是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录.</p> <p>世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(<a href="http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx">http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx</a>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流.</p> <p><b>特别声明</b> 本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.</p> <p>2010年版权归世界华人消化杂志所有</p>
---	---	---

# World Chinese Journal of Digestology

## December 2010 Contents in Brief Volume 18 Number 35

<b>EDITORIAL</b>	3721 Perioperative liver function in hepatectomy: evaluation and influencing factors <i>Xu GL, Jia WD</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	3724 Expression of survivin in activated hepatic stellate cells and effect of transfection of antisense oligonucleotide targeting the survivin gene on apoptosis of HSC-T6 cells <i>Peng AB, Zhang XM, Ding Y</i> 3732 Dynamics of <i>Bifidobacterium</i> and <i>Lactobacillus</i> bacteria in the intestine of obese rats <i>Shi LQ, Lu FG, Cui Y, Xie N, Yao TX</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	3740 Conventional fractionated versus late course accelerated hyperfractionated three-dimensional conformal radiotherapy for esophageal cancer: a randomized controlled trial <i>Wang JH, Lu XJ, Zhou J, Wang F</i> 3745 Serum protein fingerprinting for diagnosis and prognosis evaluation of colorectal cancer <i>Wang Z, Li XQ, Wang KZ, Deng MM, Xu L</i>
<b>REVIEW</b>	3752 Advances in research of esophageal carcinoma-related oncogenes <i>Bai WX, Liu W, Shi RH</i> 3756 Advances in understanding the roles of microRNA in hepatitis virus infection <i>Bao CY, Li JF, Zhou YS</i> 3761 Severe hepatitis and intestinal mucosal barrier <i>Deng ZY, Shan TD, Zhang FX</i> 3767 Clinical features of ischemic colitis <i>Jiang CY, Tan MH, Li M</i> 3772 Stem cell transplantation for the treatment of inflammatory bowel disease <i>Qu Y, Miao YL</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	3778 Improved gastric bypass surgery decreases blood glucose levels in Goto-Kakizaki rats <i>Weng SG, Zhang B, Liu ZQ, Shi Z</i> 3782 Treatment with Aconitum Lizhong Pill down-regulates liver energy charge in rats with Spleen Yang Deficiency syndrome <i>Zhang WT, Tang HQ, Lu AN, Zhao X, Li GZ, Jiang YF, Cai DY</i> 3787 Treatment with ammonia induces apoptosis and necrosis of rat astrocytes <i>in vitro</i> <i>Xu Y, Chen XP, Yang JH, Zhang YZ, Xu ZY, Tang YM</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	3791 Efficacy and safety of endoscopic variceal ligation and endoscopic injection sclerotherapy in patients with cirrhosis and esophageal varices: a prospective study <i>Li P, Kong DR, Xie HJ, Sun B, Xu JM</i> 3796 Primary gastric malignant lymphoma: endoscopic diagnosis and clinicopathologic features <i>Li S, Wang BM, Fang WL, Jiang K, Liu WT</i> 3800 Application of gastroscopy in laparoscopic treatment of benign diseases of the upper gastrointestinal tract <i>Zhao ZC, Qin MF</i> 3804 Interventional therapy of hepatic veno-occlusive disease: an analysis of 21 cases

	<p><i>Chu JG, Huang H, Sun P, Sun XL, Zhang XM, Leng XS</i></p> <p>3809 Detection of <i>Helicobacter pylori</i> DNA in bile and gallstone of patients with primary choledocholithiasis</p> <p><i>Song M, Wu J, Wang P, Huang XD, Zhang H, Sun SB, Fan Y, Liao YS, Li H</i></p> <p>3813 Effect of fast track surgery on serum levels of CRP, IL-6 and insulin resistance in patients with colorectal cancer</p> <p><i>Zhang H, Cui MM, Liu DS, Feng Y, Chen CS</i></p> <p>3818 Irritable bowel syndrome: current state of experimental research in China</p> <p><i>Wu XL, Sun JH</i></p>
<b>APPENDIX</b>	<p>3824 Instructions to authors of World Chinese Journal of Digestology</p> <p>3829 Meeting events calendar in 2010-2011</p>
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	3830 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology
<b>COVER</b>	<p><i>Gfroerer S, Metzger R, Fiegel H, Ramachandran P, Rolle U.</i> Differential changes in intrinsic innervation and interstitial cells of Cajal in small bowel atresia in newborns.</p> <p><i>World J Gastroenterol</i> 2010; 16(45): 5716-5721</p> <p><a href="http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v16/i45/5716.htm">http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v16/i45/5716.htm</a></p>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	<p>Assistant Editor: <i>Xiao-Fang Liu</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Electronic Page Editor: <i>Ji-Cai He</i></p> <p>English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Wei Li</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i></p> <p>Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i></p>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993  
**Renamed** on January 25, 1998  
**Publication date** December 18, 2010

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### RESPONSIBLE INSTITUTION

Department of Science and Technology  
of Shanxi Province

### SPONSOR

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

### EDITING

Editorial Board of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China  
Telephone: +86-351-4078656  
E-mail: [wjgd@wjgnet.com](mailto:wjgd@wjgnet.com)

### PRINTING

Beijing Kexin Printing House

### PUBLISHING

Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China  
Telephone: +86-351-4078656  
E-mail: [wjgd@wjgnet.com](mailto:wjgd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

### OVERSEAS DISTRIBUTOR

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

### HONORARY EDITOR-IN-CHIEF

Bo-Rong Pan

### EDITOR-IN-CHIEF

Lian-Sheng Ma

### SCIENCE EDITORS

Director: Jun-Liang Li

### SUBSCRIPTION

RMB 56 Yuan for each issue  
RMB 2016 Yuan for one year

### CSSN

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

### COPYRIGHT

© 2010 Published by *WCJD*. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without the prior permission of *WCJD*. Authors are required to grant *WCJD* an exclusive licence to publish.

### SPECIAL STATEMENT

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

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

**Copyright** © 2010 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

# 肝切除术中肝脏功能的影响因素及其评估

许戈良, 英卫东

许戈良, 英卫东, 安徽医科大学附属医院肝胆外科 安徽省合肥市 230001

许戈良, 教授, 博士生导师, 主要从事肝癌和门脉高压等临床研究. 安徽省“115”产业创新团队-肝细胞癌转移复发研究团队项目

安徽省卫生厅医学科研重点项目, No. 2010A006

安徽省卫生厅临床应用技术项目, No. 2008A014

安徽省卫生厅临床医学重点学科新技术引进项目, No. 2008N004

作者贡献分布: 本文由许戈良与英卫东共同完成; 许戈良审校.

通讯作者: 许戈良, 教授, 博士生导师, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽医科大学附属医院肝胆外科.

xugeliang2007@163.com

电话: 0551-2283916 传真: 0551-2282121

收稿日期: 2010-10-21 修回日期: 2010-12-09

接受日期: 2010-12-11 在线出版日期: 2010-12-18

## Perioperative liver function in hepatectomy: evaluation and influencing factors

Ge-Liang Xu, Wei-Dong Jia

Ge-Liang Xu, Wei-Dong Jia, Department of Hepatic Surgery, Anhui Provincial People's Hospital, Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China

Supported by: the Project of 115 Industrial Innovation Group of Anhui Province; the Clinical Medicine Key Subject of the Health Department of Anhui Provincial, No. 2010A006; the Clinical Medicine Applications Technology Project of the Health Department of Anhui Provincial, No. 2008A014; and the Clinical Medicine Key Subject New Technology Importing Project of the Health Department of Anhui Provincial, No. 2008N004

Correspondence to: Professor Ge-Liang Xu, Department of General Surgery, Anhui Provincial People's Hospital, Anhui Medical University, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. xugeliang2007@163.com

Received: 2010-10-21 Revised: 2010-12-09

Accepted: 2010-12-11 Published online: 2010-12-18

## Abstract

Hepatectomy is currently still the major treatment for hepatocellular carcinoma. Although hepatectomy has become safer because of progress made in surgical techniques, it is still frequently associated with the development of postoperative liver insufficiency. Therefore, investigation of factors influencing perioperative liver function in hepatectomy and intraoperative evaluation of residual liver function can help surgeons predict post-hepatectomy outcome and select appropriate postoperative rehabilitation treatment.

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; Hepatectomy; Liver insufficiency

Xu GL, Jia WD. Perioperative liver function in hepatectomy: evaluation and influencing factors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3721-3723

## 摘要

肝切除仍然是目前治疗肝细胞癌的主要手段. 外科手术技术的进步, 明显提高了肝切除的安全性, 但术后肝脏功能不全依然常见. 因此, 研究肝切除术中肝脏功能变化的影响因素, 术中准确评估残余肝脏功能预测术后功能恢复情况, 有助于临床医生有选择和针对性的进行术后支持及快速康复治疗.

**关键词:** 肝细胞癌; 肝切除术; 肝功能不全

许戈良, 英卫东. 肝切除术中肝脏功能的影响因素及其评估. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3721-3723

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3721.asp>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)居世界癌症死亡原因的第3位<sup>[1]</sup>, 我国癌症死亡原因的第2位<sup>[2]</sup>, 手术切除仍然是目前最主要的治疗手段之一. 近20年来, 随着肝脏外科手术技术和麻醉技术的提高以及术前肝脏储备功能评估方法的进步, 肝切除术后死亡率已<5%, 甚至达到零死亡率<sup>[3]</sup>. 然而在我国, 大多数HCC患者合并乙型肝炎后肝硬化, 肝脏储备功能受损, 术中不同状态下的打击, 会使术前的评估彰显出一定的局限性. 因此, 研究肝切除术中肝脏功能的影响因素, 减少对于残留肝脏功能的损伤性操作, 术中准确地评估肝脏储备功能, 对于降低围手术期病死率和并发症、改善肝切除预后具有极其重要的临床意义.

## 1 肝切除术中肝脏功能的影响因素

1.1 残留肝脏体积 肝切除术后残留肝脏的质量与肝细胞的数量被认为是影响肝切除术后残留肝脏功能的最主要因素. 正常情况下, 人体肝脏

## ■背景资料

在我国由于大多数肝癌患者合并肝硬化, 肝脏储备功能受损, 术中不同状态下的打击, 会使术前的评估彰显出一定的局限性. 因此, 研究肝切除术中肝脏功能的影响因素对于降低围手术期病死率和并发症、改善肝切除预后具有重要的临床意义.

## ■同行评议者

宋振顺, 教授, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科



### ■相关报道

Ohwada等首次将ICG排泄试验应用到肝切除手术中,在阻断预切除肝段的入肝血流数分钟后行ICG排泄试验,由于阻断了预切除肝脏的入肝血流,这时注射入血的ICG完全由剩余肝脏所代谢,所得到的ICGR15结果实际上反映的是体内模拟肝脏切除后剩余肝脏功能。

有强大的代偿功能,切除70%的肝组织仍可维持正常的肝脏生理功能。Shoup等<sup>[4]</sup>利用三维体积CT在术前测量患者的全肝体积以及肿瘤体积进而得到残肝体积,并将残肝体积与术后结果进行相关性分析后,发现约90%的术后残肝体积<25%全肝体积的患者都发生了肝功能不全。

在我国约85%的HCC合并有不同程度的乙型肝炎后肝硬化,由于肝脏储备功能的严重受损,限制了肝脏切除范围。陈熙等<sup>[5]</sup>利用术前通过CT三维重建测量HCC合并乙型肝炎后肝硬化患者的全肝体积,通过虚拟切除精确地估计切除体积和残肝体积,从而计算出患者术后标准残肝体积,若标准残肝体积<416 mL/m<sup>2</sup>,则患者术后发生肝功能中、重度代偿不全的风险较大。因此,残留肝脏体积对预测患者术后发生肝功能损害的程度及避免患者术后发生肝功能衰竭有重要的临床指导作用。

**1.2 肝门阻断及缺血再灌注损伤** 在肝脏外科手术中,常常采用肝血流阻断技术控制和减少肝切除术中出血。目前临床上最为常用的肝血流阻断技术依然是Pringle法。这种阻断方法虽有效的控制肝切除术中的出血量,然而一旦肝脏恢复血供后,不可避免地会发生缺血再灌注损伤。肝脏缺血再灌注损伤的发生机制可能与钙离子的失衡有关,亦可能与氧自由基的大量产生相关<sup>[6]</sup>。

常温下Pringle法肝门阻断的安全时间是一个长期以来存在争议的问题。文献报道正常肝脏阻断时间在30 min之内(少数亦有阻断长达60 min以上的报道)一般不会造成肝功能的不可逆性损伤<sup>[7]</sup>。然而合并肝硬化患者则对缺血再灌注损伤敏感的多,有学者研究发现,合并肝硬化患者阻断时间>20 min就会对术后肝功能产生明显影响<sup>[8]</sup>。

因此,对合并肝硬化患者目前常采用解剖性肝脏区域血流阻断法或间断Pringle法。解剖性肝脏区域血流阻断法是在肝切除中预先游离出欲切除肝段及肝叶的血管进而阻断的方法,由于保留了残留肝脏的正常血供,因而对术后残肝的功能几乎没有影响。间断Pringle法是指在阻断第一肝门15-20 min后放开阻断,使血流恢复5 min的血流阻断方法。研究发现间断Pringle法控制出血的效果与连续Pringle法类似,但却可以明显减轻肝脏的缺血再灌注损伤。因此特别适用于原发性肝癌合并有肝硬变的患者。

**1.3 肝切除术中出血** 肝切除术中的出血主要来

源于肝切面的血管分支,当第一肝门阻断时则主要来自于肝静脉出血。肝切除术中的出血可能导致血液携氧能力降低进而导致肝脏组织的低氧损伤。国内外众多研究发现,手术中的出血量是影响手术后死亡率及肝脏功能的一个重要因素。Fan等<sup>[9]</sup>研究发现,当肝脏切除术中的出血量>4 000 mL时,术后死于肝脏功能衰竭的发生率将明显增加。而Johnson等<sup>[10]</sup>研究发现,肝切除术中出血量过多而接受输血治疗的患者,术后的生存率明显低于未接受输血者。

输血可以明显改善术中出血导致的低氧损伤,然而输血亦可能引发免疫抑制、肿瘤复发等一系列问题。因此我们倡导采用精细肝脏外科技技术,术中仔细操作、解剖结构清晰以及采取适当的肝血流阻断技术减少肝切除手术中出血<sup>[11]</sup>。

**1.4 肝脏转位、挤压与肝脏断面** 在肝切除手术中需要不同程度的游离和搬动肝脏。从解剖学的角度上来说,术中大角度的搬动肝脏必然导致第一肝门及第二肝门的扭转,从而导致了肝脏血流的紊乱。有研究发现,术中肝脏转位的角度和持续时间与术后血清转氨酶水平呈明显的正相关性<sup>[12]</sup>。而在游离肝脏过程中对于肝脏实质的挤压,目前证实不仅会增加肿瘤细胞的播散亦不利于术后肝脏功能的恢复。有学者发现肝切除断面的大小与术后短期血清转氨酶水平亦有相关,可能与肝脏断面的坏死组织吸收有关。

我们在国际上首次提出了“肝癌的非接触分离技术”的概念<sup>[13]</sup>,即术中在B超引导下,在肝脏表面按照B超提示的预切线进行肝脏实质离断,保留肝脏实质内预留的血管而不过分游离和搬动肝脏,故又称为逆行肝切除。通过这种手术路径,不仅可以减少肿瘤播散的可能,亦可减少肝脏实质的转位、挤压,有利于术后肝脏功能的恢复。

## 2 肝切除术中肝脏功能的评估

术后肝脏功能的代偿与恢复能力取决于两大因素,一方面是残留肝脏的体积,另一方面是残留肝脏的质量。诸多因素均可影响残余肝脏的功能,如术前肝硬化程度、术中正常肝组织损失量、手术创伤对于残留肝脏的打击等。因此,近年来有国外学者开始在肝切除术中对残留肝脏的功能进行测评,以期预测残留肝脏功能的转归,为术后的治疗方案提供依据。

吲哚青绿(indocyanine green clearance, ICG)是一种深蓝色人工合成的红外感光染料,无毒,注射入血后完全与血浆蛋白结合,并且完全分布

在血清中, 无血管外分布, 通过肝脏代谢后通过胆汁排泄出体外并且没有肝肠循环. 由于其代谢特点, ICG排泄试验被认为可以敏感的反应肝脏储备功能, 并被广泛应用于肝切除领域<sup>[8,9]</sup>. 而近年来研发的ICG分光脉动检测仪使得该排泄实验更加便捷、准确、即时<sup>[14]</sup>, 甚至在肝切除手术中检测患者ICGR15的变化成为可能. Ohwada等<sup>[15]</sup>首次将ICG排泄试验应用到肝切除手术中, 行解剖性肝切除时, 先分离预切除肝段的肝蒂, 阻断预切除肝段的入肝血流数分钟后, 再行ICG排泄试验, 由于阻断了预切除肝脏的入肝血流, 这时注射入血ICG完全由剩余肝脏所代谢, 所得到的ICGR15结果实际上反映的是体内模拟肝脏切除后剩余肝脏功能.

我们近期在国内率先开展了肝切除术中行ICG排泄试验预测术后肝功能不全的临床研究. 如果患者未行肝门阻断, 则在肝实质离断后立即行ICG排泄试验; 如果患者接受连续Pringle法肝门阻断, 则在肝实质完全离断, 肝门阻断开放60 min后实施ICG排泄试验. 在术中实施ICG排泄试验过程中, 严密监测血压、心率以及中心静脉压, 并维持稳定以避免因有效血容量及入肝血流的改变影响ICG排泄试验的结果. 31例患者中7例(22.5%)术后出现了肝功能不全, Logistic回归发现术中ICGR15是术后肝功能不全的唯一影响因素. ROC曲线发现术中ICGR15预测术后肝功能不全的截断值为17.15%, 预测的敏感性为100%, 特异性为66.7%. 肝门阻断时间、术中出血量以及正常肝脏损失量与ICGR15肝切除术中升高的幅度有明显的相关性. 研究结果表明, 肝切除术中ICGR15水平是残留肝脏功能的反应, 可以用于预测肝切除术后肝功能不全的发生.

### 3 结论

随着术前肝脏储备功能评估的进步与完善, 精准肝切除技术的提高和临床应用, 肝切除术后的死亡率已大大降低, 但肝切除术后肝功能不全依然常见. 其发生原因除了与肝硬化导致的肝脏储备功能下降有关, 同时也与肝切除术后残留肝脏体积, 手术时间、术中出血、肝脏过度转位、肝脏切除创面过大、肝脏缺血再灌注损伤等因素对于残留肝脏功能的打击有关. 由于术中ICG排泄试验是在肝脏组织离断、肝脏血流动力学改变、肝脏缺血再灌注等因素对残留肝脏功能打击之后进行的, 因此术中ICGR15

水平可以视为是综合上述所有影响因素后残余肝脏功能的即时反映. 术中行ICG排泄试验评估残余肝脏功能预测术后功能恢复情况, 对帮助临床医生有选择和针对性的进行术后支持及快速康复治疗具有重要的临床意义.

### 4 参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- 2 Tang ZY. Hepatocellular carcinoma surgery--review of the past and prospects for the 21st century. *J Surg Oncol* 2005; 91: 95-96
- 3 Poon RT, Fan ST. Assessment of hepatic reserve for indication of hepatic resection: how I do it. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005; 12: 31-37
- 4 Shoup M, Gonen M, D'Angelica M, Jarnagin WR, DeMatteo RP, Schwartz LH, Tuorto S, Blumgart LH, Fong Y. Volumetric analysis predicts hepatic dysfunction in patients undergoing major liver resection. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 325-330
- 5 陈熙, 杜正贵, 李波, 魏永刚, 严律南, 文天夫. 标准残肝体积对肝脏储备功能的评价. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1829-1833
- 6 Kessler F, Bennardini F, Bachs O, Serratosa J, James P, Caride AJ, Gazzotti P, Penniston JT, Carafoli E. Partial purification and characterization of the Ca2(+)-pumping ATPase of the liver plasma membrane. *J Biol Chem* 1990; 265: 16012-16019
- 7 Chen XP, Qiu FZ, Wu ZD, Zhang BX. Chinese experience with hepatectomy for huge hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 2004; 91: 322-326
- 8 Benzon E, Lorenzin D, Baccarani U, Adani GL, Favero A, Cojutti A, Bresadola F, Uzzau A. Resective surgery for liver tumor: a multivariate analysis of causes and risk factors linked to postoperative complications. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2006; 5: 526-533
- 9 Fan ST, Lo CM, Liu CL, Lam CM, Yuen WK, Yeung C, Wong J. Hepatectomy for hepatocellular carcinoma: toward zero hospital deaths. *Ann Surg* 1999; 229: 322-330
- 10 Johnson M, Mannar R, Wu AV. Correlation between blood loss and inferior vena caval pressure during liver resection. *Br J Surg* 1998; 85: 188-190
- 11 许戈良, 姜卫东, 李建生, 马金良, 刘文斌, 葛勇胜, 余继海, 王伟. 应用精细肝脏外科理念治疗原发性肝癌53例. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1824-1828
- 12 郑树森. 肝切除技术现况和进展. *中国实用外科杂志* 2005; 25: 65-67
- 13 许戈良. 肝癌手术的非接触分离技术研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 425-427
- 14 Akita H, Sasaki Y, Yamada T, Gotoh K, Ohigashi H, Eguchi H, Yano M, Ishikawa O, Imaoka S. Real-time intraoperative assessment of residual liver functional reserve using pulse dye densitometry. *World J Surg* 2008; 32: 2668-2674
- 15 Ohwada S, Kawate S, Hamada K, Yamada T, Sunose Y, Tsutsumi H, Tago K, Okabe T. Perioperative real-time monitoring of indocyanine green clearance by pulse spectrophotometry predicts remnant liver functional reserve in resection of hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 2006; 93: 339-346

### ■同行评价

本文可读性好, 对临床医师有很好的指导作用.

编辑 李军亮 电编 何基才

# Survivin在活化的肝星状细胞中的表达及反义寡核苷酸对其凋亡的影响

彭安邦, 张秀梅, 丁由

## ■背景资料

肝星状细胞(HSC)是导致肝纤维化的主要细胞,是产生细胞外基质的主要来源,HSC的激活是形成肝纤维化的中心环节,抑制HSC增殖与诱导其凋亡是治疗肝纤维化的关键所在。survivin是凋亡抑制蛋白家族作用最强的一个新成员,最近研究发现激活增殖的HSC,survivin蛋白表达明显增加,设计合成高特异性的survivin反义寡核苷酸序列,抑制survivin表达,诱导HSC凋亡,抑制细胞增殖,从而达到治疗目的。

彭安邦, 张秀梅, 丁由, 南华大学第一附属医院消化内科 湖南省衡阳市 421001

彭安邦, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事肝纤维化方面的研究。

湖南省科技厅课题基金资助项目, No. 2007FJ3044

作者贡献分布: 本课题由彭安邦设计, 中标湖南省科技厅课题; 实验操作由彭安邦指导, 张秀梅与丁由完成; 试剂由彭安邦提供; 检验设备由本院临床研究所提供; 数据分析与论文撰写由张秀梅与丁由进行; 彭安邦审阅修改完成。

通讯作者: 彭安邦, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 421001, 湖南省衡阳市船山路67号, 南华大学第一附属医院消化内科。

penganbang@tom.com

电话: 0374-8279064

收稿日期: 2010-07-21 修回日期: 2010-11-16

接受日期: 2010-11-23 在线出版日期: 2010-12-18

## Expression of survivin in activated hepatic stellate cells and effect of transfection of antisense oligonucleotide targeting the survivin gene on apoptosis of HSC-T6 cells

An-Bang Peng, Xiu-Mei Zhang, You Ding

An-Bang Peng, Xiu-Mei Zhang, You Ding, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province, China  
Supported by: the Foundation of Hunan Provincial Department of Science and Technology, No. 2007FJ3044

Correspondence to: Professor An-Bang Peng, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of University of South China, 67 Chuanshan Road, Hengyang 421001, Hunan Province, China. penganbang@tom.com

Received: 2010-07-21 Revised: 2010-11-16

Accepted: 2010-11-23 Published online: 2010-12-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of survivin in activated hepatic stellate cell (HSC) and the effect of transfection of antisense oligonucleotide (ASODN) targeting the survivin gene on apoptosis of HSC-T6 cells.

**METHODS:** The experiment set the control group which not added liposome and oligonucleotide (ODN), liposome group which only added liposome, sense oligonucleotide (SODN) group (1 000 nmol/L) and 400, 800, 1 000 nmol/L ASODN group. The expression of survivin protein in acti-

vated HSC, hepatic carcinoma cells, and normal liver cells was detected by immunofluorescence. ASODN targeting the survivin gene was transfected into HSC-T6 cells with Lipofectamine™ 2000, and transfection efficiency was detected by fluorescence microscopy. Forty-eight hours after transfection, the changes in survivin mRNA and protein expression were assessed by RT-PCR and Western blot, respectively, and cell apoptosis was measured by PI staining and flow cytometry.

**RESULTS:** The positive rate of survivin expression in activated HSC was significantly higher than that in normal liver cells ( $66.07\% \pm 8.55\%$  vs  $9.74\% \pm 2.68\%$ ,  $P < 0.05$ ). The positive rate of survivin expression was highest in hepatic carcinoma cells among the three groups of cells ( $69.41\% \pm 9.10\%$ ). Strong green fluorescence was observed by fluorescence microscopy in cells transfected with different concentrations of ASODN, and the transfection efficiency reached 80%. Compared with blank control cells and cells transfected with empty lipofectamine™ 2000 or control oligonucleotide, the expression levels of survivin mRNA ( $0.94 \pm 0.03$ ,  $0.95 \pm 0.04$  and  $0.92 \pm 0.04$  vs  $0.64 \pm 0.02$ ,  $0.54 \pm 0.02$  and  $0.26 \pm 0.01$ ) and protein ( $0.84 \pm 0.02$ ,  $0.82 \pm 0.03$  and  $0.81 \pm 0.02$  vs  $0.53 \pm 0.02$ ,  $0.38 \pm 0.01$  and  $0.20 \pm 0.01$ ) were significantly decreased (all  $P < 0.01$ ), and the apoptosis rate ( $19.00\% \pm 0.53\%$ ,  $29.80\% \pm 1.54\%$  and  $48.70\% \pm 2.00\%$ , respectively) significantly increased (all  $P < 0.01$ ) in cells transfected with different concentrations of ASODN.

**CONCLUSION:** Survivin is highly expressed in activated HSC-T6 cells. Down-regulation of survivin expression by transfection of ASODN targeting the survivin gene can induce apoptosis of HSC-T6 cells.

**Key Words:** Survivin; Hepatic stellate cell; Antisense oligonucleotide; Apoptosis

Peng AB, Zhang XM, Ding Y. Expression of survivin in activated hepatic stellate cells and effect of transfection of antisense oligonucleotide targeting the survivin gene on apoptosis of HSC-T6 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3724-3731

## ■同行评议者

黄晓东, 主任医师, 武汉市中心医院消化内科

## 摘要

**目的:** 研究survivin在活化的肝星状细胞(HSC)中的表达及反义寡核苷酸(ASODN)对HSC-T6细胞株凋亡的影响。

**方法:** 实验设置空白对照组(脂质体和寡核苷酸均不加), 空脂质体组(只加脂质体不加寡核苷酸), 正义链转染对照组(SODN 1 000 nmol/L)和不同浓度的反义链转染组(ASODN分为400、800和1 000 nmol/L组), 共6组。用细胞免疫荧光检测survivin在活化的HSC中的表达, 并以肝癌细胞和肝细胞为对照。脂质体介导survivin寡核苷酸(ODN)转染HSC-T6细胞6 h后, 倒置荧光显微镜下观察转染效率。survivin的ODN转染HSC-T6细胞48 h后, 通过RT-PCR, Western blot检测survivin基因表达的改变, PI单染流式细胞仪测定细胞凋亡率。

**结果:** 细胞免疫荧光显示survivin在活化的HSC中高表达, 其阳性率明显高于肝细胞, 两者比较有显著性差异( $66.07\% \pm 8.55\%$  vs  $9.74\% \pm 2.68\%$ ,  $P < 0.05$ )。在肝癌细胞中表达率最高, 阳性率可达 $69.41\% \pm 9.10\%$ 。倒置荧光显微镜下观察可见, ASODN各浓度组细胞内均可见到清晰的绿色荧光, 转染效率均达到80%。RT-PCR及Western blot结果显示: 与空白组、空脂质体组、SODN组比较, ASODN各浓度组survivin mRNA(分别为 $0.94 \pm 0.03$ ,  $0.95 \pm 0.04$ ,  $0.92 \pm 0.04$ ,  $0.64 \pm 0.02$ ,  $0.54 \pm 0.02$ 和 $0.26 \pm 0.01$ )及蛋白表达(分别为 $0.84 \pm 0.02$ ,  $0.82 \pm 0.03$ ,  $0.81 \pm 0.02$ ,  $0.53 \pm 0.02$ ,  $0.38 \pm 0.01$ 和 $0.20 \pm 0.01$ )均低于各对照组, 且差异有显著性(均 $P < 0.01$ ); PI单染流式细胞仪检测显示: 与空白组、脂质体组、SODN组比较, ASODN各浓度组的细胞凋亡率明显提高( $19.00\% \pm 0.53\%$ ,  $29.80\% \pm 1.54\%$ ,  $48.70\% \pm 2.00\%$  vs  $5.21\% \pm 0.41\%$ ,  $5.24\% \pm 2.23\%$ ,  $6.35\% \pm 1.95\%$ ; 均 $P < 0.01$ ), 以上检测指标呈剂量依赖性。且空白对照组、空脂质体组、SODN组(1 000 nmol/L)之间比较无统计学差异(均 $P > 0.05$ )。

**结论:** survivin在活化的HSC中有明显表达, 可能与活化的HSC中抑凋亡基因survivin过度表达有关。因此, 抑制survivin表达就能抑制激活的HSC增殖、促进其凋亡。survivin ASODN能下调HSC-T6细胞中survivin基因的表达, 从而诱导HSC-T6细胞的凋亡。

**关键词:** 生存素; 肝星状细胞; 反义寡核苷酸; 凋亡

18(35): 3724-3731

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3724.asp>

## 0 引言

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是各种慢性肝病向肝硬变发展的必经阶段, 能否将病变终止于HF阶段或者逆转正常是治疗慢性肝病的关键<sup>[1-3]</sup>。HF发生最终共同途径是肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的激活, HSC活化是HF形成的中心环节<sup>[4,5]</sup>。在各种治疗HF的方法中, 以HSC为靶点成为目前的研究热点<sup>[6-14]</sup>。但目前尚未在HSC上找到任何完全特异的基因和受体分子, 仍无有效与特异性治疗。

最近有研究报道survivin在激活的HSC中有表达<sup>[15]</sup>。为探讨survivin表达是否与激活的HSC凋亡相关, 本研究以大鼠HSC细胞株HSC-T6为对象, 设计并合成靶向survivin的反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, ASODN), 转染HSC-T6细胞, 检测survivin的ASODN对survivin基因表达的影响, 及其对HSC-T6细胞增殖及凋亡的影响, 期望为HF的基因治疗提供实验依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** HSC细胞株HSC-T6, 由上海中医药大学徐列明教授提供, 系SV40转染的大鼠HSC, 具有活化HSC的表型。使用含100 mL/L胎牛血清的高糖DMEM培养基, 37 °C, 33 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中静置培养, 取对数生长期细胞进行实验。人肝癌细胞株(human hepatoma cells)HepG2由中南大学湘雅细胞库提供, 大鼠肝细胞(buffalo rat liver, BRL)细胞株购自中科院上海细胞库。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** HSC-T6、HepG2与BRL接种在含100 mL/L胎牛血清的高糖DMEM培养液中, 置37 °C 33 mL/L CO<sub>2</sub>孵育箱中培养, 每2-3 d更换培养液, 待细胞生长至贴满培养瓶壁时, 用0.25%胰酶消化传代, 传代后冻存。细胞密度: 细胞密度(个/mL) = (细胞计数总和/4) × 10<sup>4</sup>。

**1.2.2 分组:** 本实验设置空白对照组(脂质体和寡核苷酸均不加), 空脂质体组(只加脂质体不加寡核苷酸), 正义链转染对照组(sense oligonucleotide, SODN 1 000 nmol/L)和不同浓度的反义链转染组(ASODN分为400、800和1 000 nmol/L组), 共6组。

**1.2.3 免疫荧光法检测survivin蛋白:** 将状态良好的HSC-T6、HepG2与BRL细胞处理后按试剂盒

## ■研究前沿

HSC活化是HF形成的中心环节。在各种治疗HF的方法中, 以HSC为靶点成为目前的研究热点。但目前尚未在HSC上找到任何完全特异的基因和受体分子, 仍无有效与特异性治疗方法。

彭安邦, 张秀梅, 丁由. Survivin在活化的肝星状细胞中的表达及反义寡核苷酸对其凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2010;



## ■相关报道

Grossman等将survivin ASODN转染角质形成细胞株Halat细胞,导致内源性survivin水平下降.

说明书逐步进行.在荧光显微镜下观察结果,在绿光激发下发红光为有表达,各组细胞均随机取10个不同的高倍镜视野,计算阳性细胞百分率.

1.2.4 脂质体转染试剂与survivin寡核苷酸复合物的制备及转染:倒置显微镜下观察细胞生长情况,取对数生长期的HSC-T6细胞进行转染.取 $1 \times 10^9$ /L单细胞混悬液以1 mL每孔加入6孔板中,置于37 °C、浓度为33 mL/L的CO<sub>2</sub>培养箱培养,待细胞达到70%-80%聚集密度时,准备转染.按照Lipofectamine™ 2000转染试剂盒说明书进行转染.清洗板中细胞2次,每孔分别加入800 μL不含青、链霉素的无血清DMEM培养基,然后将各不同实验组200 μL溶液C分别轻铺于6个孔,每组设3个复孔,并标记.37 °C, 33 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中静置培养6 h后,各组换有血清培养基培养致48 h.

1.2.5 survivin ASODN转染效率的检测:于转染作用后6 h去掉培养基,用PBS冲洗2次,1.44 mol/L甲醛固定20 min,再用冷D-PBS液洗3次,然后在荧光显微镜检测转染效率.每孔随机取5个视野( $\times 400$ ),在可见光下计数视野内细胞总数,在紫外光下计数被转染细胞数,取平均值,按计算转染效率:转染效率 = 被转染细胞数/细胞总数 $\times 100\%$ .各实验组均设3个复孔,实验重复3次.

1.2.6 总RNA提取:总RNA提取按Omega公司试剂盒说明书逐步进行.用紫外分光光度计测量260 nm和280 nm的吸光值.若所提取样品 $A_{260}/A_{280} = 1.8-2.0$ ,则提取成功,根据公式( $40 \text{ mg/L} \times A_{260\text{nm}} \times \text{稀释倍数}$ )计算样品RNA浓度.

1.2.7 逆转录cDNA第一链的合成:逆转录cDNA第一链的合成按Omega公司逆转录-多聚酶链反应试剂盒说明书逐步进行.

1.2.8 PCR:依据文献[16]寡核苷酸序列如下:ASODN: 5'-CCCAGCCTTCCAGCTCCTTG-3'; SODN: 5'-CAAGGAGCTGGAAGGCTGGG-3';由上海生工生物有限公司合成,2组寡核苷酸均采用全程硫代修饰,部分ASODN经5'-FITC标记.依据文献[17],PCR序列如下:survivin上游: 5'-CAACCTGGACCTGAGTGACAT-3';下游: 5'-CCACCCATAGATCCTGTCAGA-3',扩增片段长度为260 bp. GAPDH上游: 5'-CCATCACCATCTTCCAGGAG-3';下游: 5'-CCTGCTCACACCTTCTTG-3',扩增片段长度为575 bp. PCR引物序列由上海生工生物有限公司合成.配置的25 μL体积PCR扩增体系: 2 $\times$ PCR Master, 12.5 μL; RNase-free ddH<sub>2</sub>O 9.5 μL; cDNA 1 μL; sur-

vivin或GAPDH上下游引物各1 μL,轻轻混匀并1 000 r/min离心10 s使溶液沉积在离心管底. PCR扩增: 94 °C预变性4 min后进入PCR循环, survivin和GAPDH, 94 °C变性30 s, 57 °C复性30 s, 72 °C延伸30 s,共35个循环,即得PCR扩增产物.

1.2.9 电泳检测:制备琼脂糖凝胶,检测PCR产物,透射紫外灯下观察电泳带,再置入凝胶成像分析系统Total Lab软件测定条带平均灰度值并拍照留底,计算mRNA灰度比值: mRNA灰度比值 = 产物电泳条带密度/GAPDH产物条带密度 $\times 100\%$ .

1.2.10 Western blot检测各组细胞survivin蛋白表达:提取细胞的总蛋白,用酶标仪进行蛋白定量. SDS-PAGE电泳,暗室中用蛋白荧光检测试剂盒显示结果于X光片,凝胶图像分析.

1.2.11 流式细胞仪(FCM)检测细胞凋亡率:处理48 h后,收集6孔板各组细胞,用PBS吹打细胞成单细胞悬液,各组取 $1 \times 10^6$ 细胞,1 000 r/min离心5 min,弃上清,冷PBS 3 mL洗2遍,4 °C 13.1 mol/L冷乙醇固定1-2 h.离心弃固定液,3 mL PBS重悬5 min.加1 g/L 20 μL RNaseA 37 °C水浴30 min.用100 mg/L 1 mL PI染液染色,4 °C避光30 min.上机检测细胞凋亡情况,重复3次,取平均数.

**统计学处理** 所有实验结果采用mean $\pm$ SD表示,组间比较用单向方差分析,用软件SPSS13.0进行统计, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义.

## 2 结果

2.1 免疫荧光 在HSC中可见survivin蛋白明显表达明显,其荧光强度显著强于BRL细胞,而稍弱于肝癌细胞. HSC、HepG2、BRL的survivin免疫荧光阳性表达率分别为66.07% $\pm$ 8.55%、69.41% $\pm$ 9.10%和9.74% $\pm$ 2.68%. HSC的阳性表达率明显高于BRL,两者比较有显著性差异( $P < 0.05$ ). HSC与HepG2之间比较无统计学意义( $P > 0.05$ ,图1).

2.2 survivin ASODN转染HSC-T6细胞 FITC标记的ASODN各浓度组转染作用后6 h,于倒置荧光显微镜下均可见到细胞内清晰的绿色荧光,转染效率均达到80%(图2).

2.3 survivin ASODN诱导HSC-T6细胞形态学的改变 survivin ASODN转染作用HSC-T6细胞48 h后,倒置显微镜下观察:各对照组细胞形态基本正常,贴壁性良好,生长旺盛(图3A); ASODN组细胞体积减小,形态不整或鼓泡、细胞周围有透明

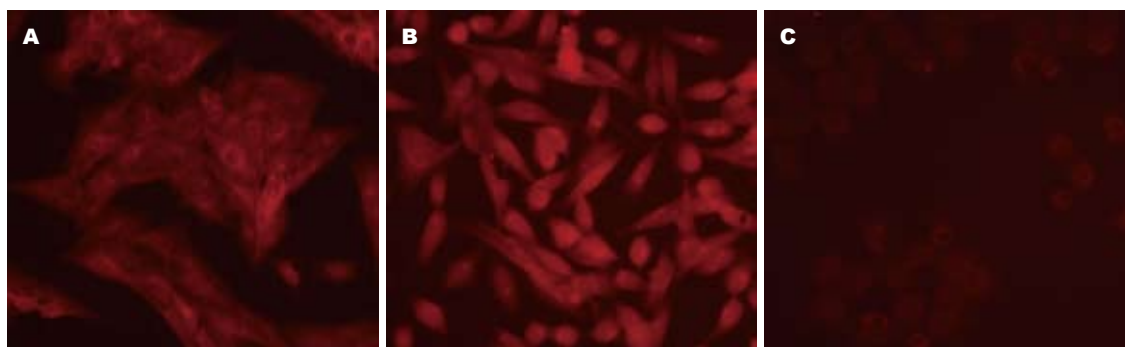


图1 survivin在3类细胞中的表达. A: 活化的HSC; B: 人肝癌细胞株; C: 大鼠肝细胞.

#### ■创新盘点

本文采用细胞荧光免疫、细胞转染、RT-PCR及Western blot等技术联合检测转染survivin反义寡核苷酸抑制肝星状细胞中survivin蛋白的表达, 流式细胞仪检测survivin反义寡核苷酸转染后细胞凋亡.

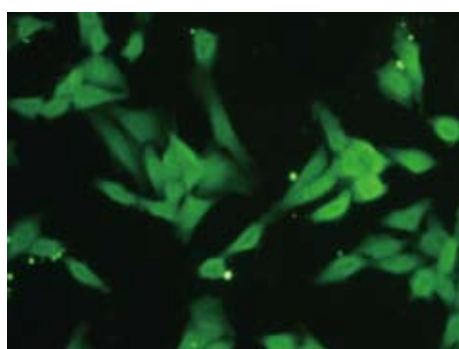


图2 survivin ASODN(1 000 nmol/L)转染HSC-T6细胞(绿色荧光×400).

圈, 一些细胞变圆、皱缩, 细胞数量减少, 间隙增大, 脱壁悬浮细胞增多, 细胞生长缓慢(图3B).

#### 2.4 survivin ASODN对HSC-T6细胞survivin mRNA表达的影响

2.4.1 总RNA的鉴定: 经1.0%琼脂糖凝胶电泳, 紫外投射仪下可见2条清晰的条带, 由上到下分别为28S、18S, 且 $28S/18S > 1.5$ , 提示RNA无明显降解(图4).

2.4.2 survivin ASODN对HSC-T6细胞survivin mRNA表达的影响: RT-PCR产物电泳结果显示, 在576 bp处各组均可见到均匀一致的GAPDH基因的条带; 在260 bp处各组细胞均出现不同程度的特异性survivin基因条带. 用图像分析仪对扩增产物进行分析. 结果显示, ASODN 400、800和1 000 nmol/L转染组、SODN 1 000 nmol/L转染组、空脂质体组及空白对照组survivin/GAPDH吸光度比值分别为:  $0.94 \pm 0.03$ ,  $0.95 \pm 0.04$ ,  $0.92 \pm 0.04$ ,  $0.64 \pm 0.02$ ,  $0.54 \pm 0.02$ 和 $0.26 \pm 0.01$ . 各ASODN组survivin mRNA表达量均低于各对照组survivin mRNA表达量且差异有显著性( $P < 0.01$ ), 并且随着ASODN转染浓度的增大, survivin mRNA表达量逐渐降低, 呈现剂量依赖性. 空白对照组、空脂质体组及正义对照组中HSC-T6细胞survivin mRNA表达量差异无显著

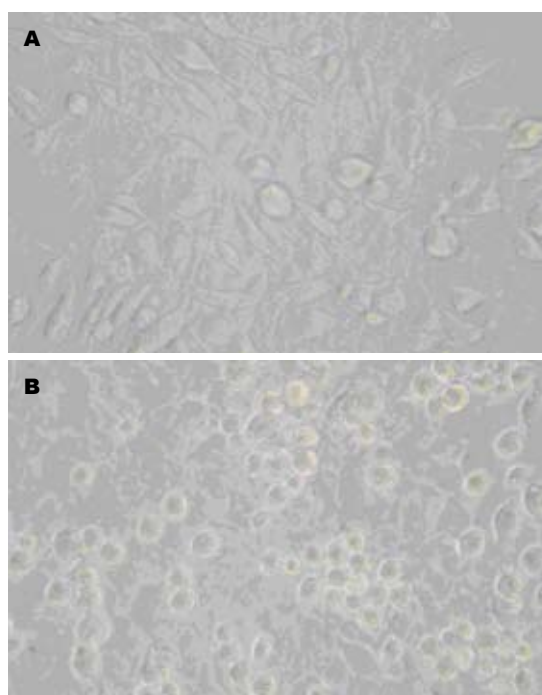


图3 survivin ASODN诱导HSC-T6细胞形态学的改变(×400). A: 正常对照组; B: ASODN(1 000 nmol/L).

性( $P > 0.05$ , 图5).

2.5 survivin ASODN对HSC-T6细胞survivin蛋白表达影响 Western blot结果显示, ASODN 400、800和1 000 nmol/L转染组、SODN 1 000 nmol/L转染组、空脂质体组及空白对照组survivin/GAPDH灰度值比值分别为:  $0.84 \pm 0.02$ ,  $0.82 \pm 0.03$ ,  $0.81 \pm 0.02$ ,  $0.53 \pm 0.02$ ,  $0.38 \pm 0.01$ 和 $0.20 \pm 0.01$ . 各ASODN组survivin蛋白表达量均低于各对照组survivin蛋白表达量且差异有显著性( $P < 0.01$ ), 并且随着ASODN转染浓度的增大, survivin蛋白表达量逐渐降低, 呈现剂量依赖性. 空白对照组、空脂质体组及正义对照组中HSC-T6细胞survivin蛋白表达量差异无显著性( $P > 0.05$ , 图6).

#### 2.6 ASODN对HSC-T6细胞凋亡状态的影响 细

### ■应用要点

抑制survivin表达就能抑制激活的HSC增殖、促进其凋亡. survivin ASODN能下调HSC-T6细胞中survivin基因的表达,从而诱导HSC-T6细胞的凋亡.

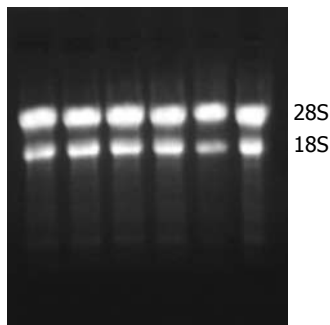


图4 总RNA电泳的鉴定.

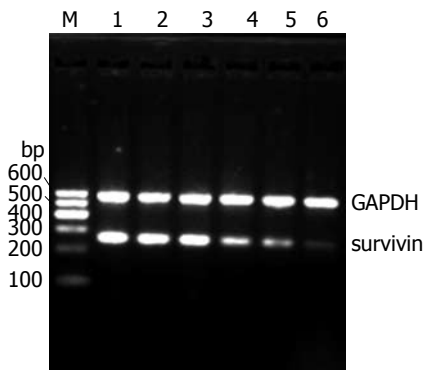


图5 ASODN对HSC-T6细胞survivin mRNA表达的影响. M: DAN Marker; 1: 空白对照组; 2: 脂质体组; 3: SODN 1 000 nmol/L组; 4: ASODN 400 nmol/L组; 5: ASODN 800 nmol/L组; 6: ASODN 1 000 nmol/L组.

胞凋亡时, FCM检测细胞DNA含量可在2倍体峰( $G_1$ 峰)左侧呈现亚二倍体核型峰(Ap峰)特征. 在空白对照组和SODN组未见明显Ap峰型; 而ASODN组细胞, 可见明显Ap峰出现, 并且随着ASODN较染浓度增加而增加, 呈现剂量依赖性(表1, 图7).

### 3 讨论

HF是肝脏对各种原因所致肝损伤的创伤愈合反应, 表现为肝内结缔组织增生与沉积, 是各种慢性肝病向肝硬化发展的必经阶段. 各种不同病因引起肝脏慢性损伤的病理过程不同, 但HF发生最终共同途径是HSC的激活, 活化的HSC可以合成大量的胶原(除V型胶原)、透明质酸、层粘连蛋白、纤维连接蛋白等, 并参与胶原酶及其抑制物的合成及调节<sup>[18-20]</sup>. HSC合成胶原的量是肝细胞的10多倍, 是窦状隙内皮细胞的20余倍. HSC还可通过分泌金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs)<sup>[21]</sup>、转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )<sup>[22]</sup>等阻碍细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解及进一步激活静止的HSC, 形成恶性循环, 很难逆转. 随着HSC活化机制的阐明, 以HSC为靶点成为治疗HF的

表1 各组细胞凋亡率(mean  $\pm$  SD, %)

分组	凋亡率
空白对照组	5.21 $\pm$ 0.41
脂质体组	5.24 $\pm$ 2.23
SODN组(1 000 nmol/L)	6.35 $\pm$ 1.95
ASODN组(400 nmol/L)	19.0 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup>
ASODN组(800 nmol/L)	29.8 $\pm$ 1.54 <sup>b</sup>
ASODN组(1 000 nmol/L)	48.7 $\pm$ 2.00 <sup>b</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 空白对照组, 脂质体组, SODN组.

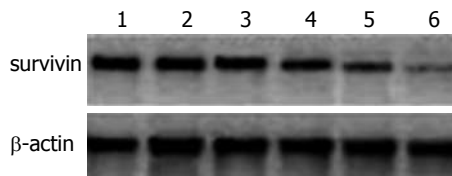
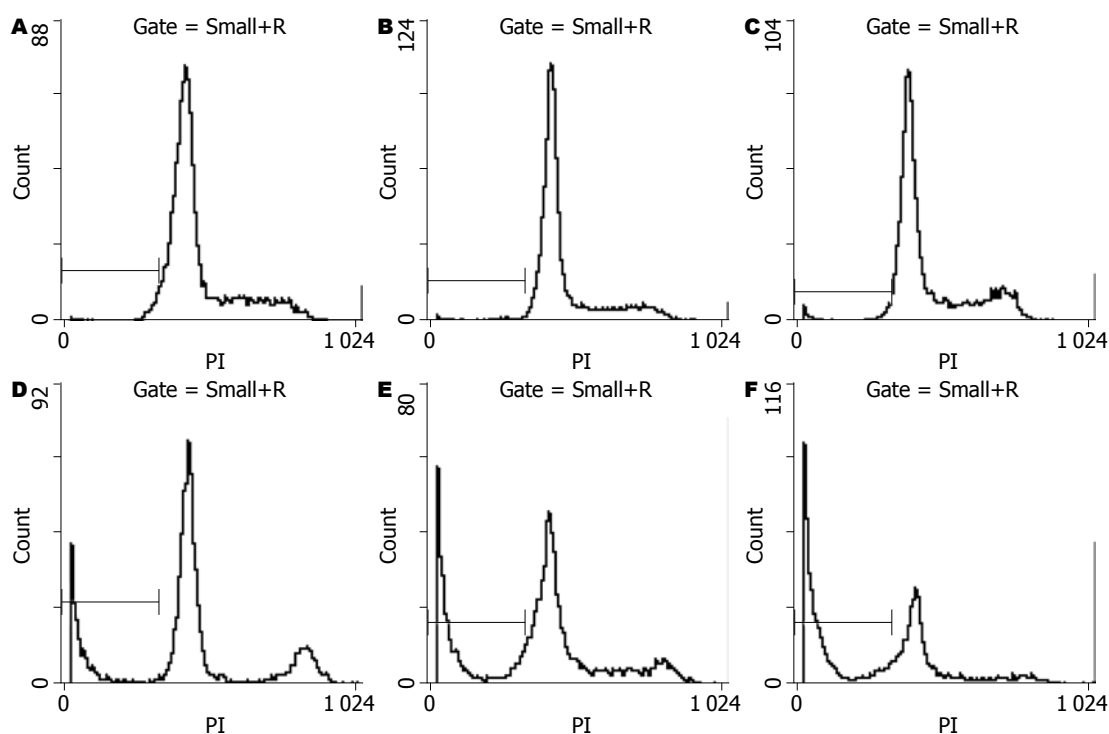


图6 ASODN对HSC-T6细胞survivin蛋白表达的影响. 1: 空白对照组; 2: 脂质体组; 3: 1 000 nmol/L SODN组; 4: 400 nmol/L ASODN组; 5: 800 nmol/L ASODN组; 6: 1 000 nmol/L ASODN组.

重要策略<sup>[23-26]</sup>, 寻找HSC特异的基因或受体分子, 可有望成为HF治疗突破口.

近年研究发现凋亡蛋白抑制因子(inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族在细胞凋亡的基因调控中发挥着重要作用. IAP家族是一类进化中高度保守的凋亡抑制蛋白, 在体外能够直接抑制细胞凋亡. survivin基因表达有明显的组织选择性, 在胚胎组织及恶性肿瘤中普遍高表达, 如胃癌、结直肠癌、乳腺癌、肺癌等<sup>[27-36]</sup>, 但在分化成熟的组织(除胎盘、增殖期子宫内膜、分泌期子宫内膜有微量表达外)及癌旁正常组织中无表达. 目前, 众多学者认为, survivin是作用最强的凋亡抑制因子, 主要通过直接抑制caspase级联反应下游的终末子caspase-3和7的活性, 阻止由caspase激活剂或凋亡诱导剂诱导的细胞DEVD cleaving自杀酶的累积, 从而发挥抗凋亡作用. 由此可见survivin是活性很强的凋亡抑制蛋白, 加上其特异的组织选择性, 将survivin作为肿瘤治疗靶点备受关注.

现已知HF可以逆转<sup>[3]</sup>, 在HF恢复期, 激活状态的HSC减少主要通过凋亡机制而不是表型的转化, 凋亡的细胞可以在数小时内被周围的细胞所吞噬, 很少引起微环境的炎症损伤, 是一种理想清除增值的HSC<sup>[37]</sup>, 活化的HSC凋亡是HF逆转的关键<sup>[38]</sup>. 本课题探讨HSC中survivin的表达, 是否与HSC凋亡有关.



■同行评价  
本文新颖性较好,  
具有一定的临床  
参考意义。

图7 FCM检测各组HSC-T6细胞的凋亡。A: 空白对照组; B: 脂质体组; C: SODN 1 000 nmol/L组; D: ASODN 400 nmol/L组; E: ASODN 800 nmol/L组; F: ASODN 1 000 nmol/L组。

最近研究报道活化的HSC中survivin蛋白表达明显高于静止的HCS<sup>[13]</sup>。我们在实验中用免疫荧光染色技术,证实了活化的HSC-T6细胞中survivin基因有较高的表达,明显高于肝细胞,略弱于肝癌细胞。本实验用人工合成的特定survivin ASODN分子,通过脂质体为载体转染HSC-T6细胞,抑制HSC-T6细胞中survivin基因表达。实验结果表明利用Oligofectamine<sup>TM</sup> Reagent脂质体法转染的ASODN,于转染6 h后荧光倒置显微镜下观察发现,ASODN各浓度组细胞内均可见到清晰的绿色荧光,转染效率均达到80%。

survivin ASODN转染作用HSC-T6细胞48 h后,本实验用RT-PCR及Western blot检测survivin基因表达的变化,结果显示:与对照组相比,随着ASODN转染浓度的增加,survivin mRNA和蛋白表达量呈递减趋势( $P<0.01$ ),而各对照组之间相互比较,survivin mRNA表达量差异无显著性( $P>0.05$ )。Grossman等<sup>[39]</sup>将survivin ASODN转染角质形成细胞株HaCat细胞,导致内源性survivin水平下降。我们得出的结果与该文献报道相符。

本实验转染作用48 h后于倒置显微镜下观察了细胞形态变化,发现各对照组细胞形态基本正常,贴壁性良好,生长旺盛;ASODN组细胞体积减小,形态不整或鼓泡、细胞周围有透明圈,一些细胞变圆、皱缩,细胞数量减少,间隙

增大,脱壁悬浮细胞增多,细胞生长缓慢。

为了进一步研究survivin ASODN抑制survivin基因的表达,是否能诱导HSC-T6细胞的凋亡,在survivin ASODN作用HSC-T6细胞48 h后,本实验还对HSC-T6细胞凋亡进行了检测。流式结果表明:与各对照组比较,各ASODN浓度组凋亡率明显增高,差异存在统计学意义( $P<0.01$ )。以上结果与Ambrosini等<sup>[40]</sup>、Mesri等<sup>[41]</sup>研究反义survivin诱导Hela细胞及内皮细胞凋亡结果相似。

总之,本实验研究结果表明抑凋亡基因survivin在活化的HSC-T6细胞中有较高的表达,明显高于肝细胞,略弱于肝癌细胞。激活HSC中为什么会有survivin表达呢?是否与甲状腺、胸腺及生殖腺细胞一样在正常生理情况下也有survivin表达?或者是HSC激活后,某种机制作用于survivin基因而大量表达,使其增殖和凋亡特性发生变化,活跃程度介于一般生理细胞与肿瘤细胞之间,要回答这些问题还有待进一步深入研究。survivin ASODN能下调HSC survivin基因表达,并诱导HSC的凋亡,为HF基因治疗可能提供了新的方法。

#### 4 参考文献

- 1 Albanis E, Friedman SL. Hepatic fibrosis. Pathogenesis and principles of therapy. *Clin Liver Dis* 2001; 5: 315-334, v-vi
- 2 Kisseleva T, Brenner DA. Role of hepatic stellate



- cells in fibrogenesis and the reversal of fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22 Suppl 1: S73-S78
- 3 Ramachandran P, Iredale JP. Reversibility of liver fibrosis. *Ann Hepatol* 2009; 8: 283-291
  - 4 Kisseleva T, Brenner DA. Hepatic stellate cells and the reversal of fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21 Suppl 3: S84-S87
  - 5 Elsharkawy AM, Oakley F, Mann DA. The role and regulation of hepatic stellate cell apoptosis in reversal of liver fibrosis. *Apoptosis* 2005; 10: 927-939
  - 6 Eng FJ, Friedman SL. Fibrogenesis I. New insights into hepatic stellate cell activation: the simple becomes complex. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G7-G11
  - 7 Mòdol T, Natal C, Pérez de Obanos MP, Domingo de Miguel E, Iraburu MJ, López-Zabalza MJ. Apoptosis of hepatic stellate cells mediated by specific protein nitration. *Biochem Pharmacol* 2010 Nov 4. [Epub ahead of print]
  - 8 Qian J, Zhang JS, Wang XQ, Ji JL, Mei S. Fenretinide stimulates the apoptosis of hepatic stellate cells and ameliorates hepatic fibrosis in mice. *Hepatol Res* 2009; 39: 1229-1247
  - 9 Tang X, Yang J, Li J. Sensitization of human hepatic stellate cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis by leflunomide. *Biol Pharm Bull* 2009; 32: 963-967
  - 10 Shu JC, He YJ, Lv X, Ye GR, Wang LX. Curcumin prevents liver fibrosis by inducing apoptosis and suppressing activation of hepatic stellate cells. *J Nat Med* 2009; 63: 415-420
  - 11 Moreno M, Gonzalo T, Kok RJ, Sancho-Bru P, van Beuge M, Swart J, Prakash J, Temming K, Fondevila C, Beljaars L, Lacombe M, van der Hoeven P, Arroyo V, Poelstra K, Brenner DA, Ginès P, Bataller R. Reduction of advanced liver fibrosis by short-term targeted delivery of an angiotensin receptor blocker to hepatic stellate cells in rats. *Hepatology* 2010; 51: 942-952
  - 12 Shu JC, He YJ, Lv X, Zhao JR, Zhao J, Shen Y, Ye GR, Wang LX. Effect of curcumin on the proliferation and apoptosis of hepatic stellate cells. *Braz J Med Biol Res* 2009; 42: 1173-1178
  - 13 Hao LS, Zhang XL, An JY, Yao DM, Karlin J, Fang SM, Jiang HQ, Bai WY, Chen S. Adenoviral transduction of PTEN induces apoptosis of cultured hepatic stellate cells. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122: 2907-2911
  - 14 Greupink R, Bakker HJ, Bouma W, Reker-Smit C, Meijer DK, Beljaars L, Poelstra K. The antiproliferative drug doxorubicin inhibits liver fibrosis in bile duct-ligated rats and can be selectively delivered to hepatic stellate cells in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 317: 514-521
  - 15 De Minicis S, Seki E, Uchinami H, Kluwe J, Zhang Y, Brenner DA, Schwabe RF. Gene expression profiles during hepatic stellate cell activation in culture and in vivo. *Gastroenterology* 2007; 132: 1937-1946
  - 16 Xu YG, Zhou SH, Li YG, Zheng CH, Li XP, Liu QM, Xu DM, Chen S. The mechanism underlying vascular smooth muscle cell apoptosis induced by atorvastatin may be mainly associated with down-regulation of survivin expression. *Cardiovasc Drugs Ther* 2007; 21: 145-153
  - 17 Hu Z, Sayeed MM. Activation of PI3-kinase/PKB contributes to delay in neutrophil apoptosis after thermal injury. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 288: C1171-C1178
  - 18 Blomhoff R, Wake K. Perisinusoidal stellate cells of the liver: important roles in retinoid metabolism and fibrosis. *FASEB J* 1991; 5: 271-277
  - 19 Gressner AM. Transdifferentiation of hepatic stellate cells (Ito cells) to myofibroblasts: a key event in hepatic fibrogenesis. *Kidney Int Suppl* 1996; 54: S39-S45
  - 20 Li D, Friedman SL. Liver fibrogenesis and the role of hepatic stellate cells: new insights and prospects for therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 618-633
  - 21 Suzuki A, Ito T, Kawano H, Hayashida M, Haya-saki Y, Tsutomi Y, Akahane K, Nakano T, Miura M, Shiraki K. Survivin initiates procaspase 3/p21 complex formation as a result of interaction with Cdk4 to resist Fas-mediated cell death. *Oncogene* 2000; 19: 1346-1353
  - 22 Reed JC. The Survivin saga goes in vivo. *J Clin Invest* 2001; 108: 965-969
  - 23 Paik YH, Kim JK, Lee JI, Kang SH, Kim DY, An SH, Lee SJ, Lee DK, Han KH, Chon CY, Lee SI, Lee KS, Brenner DA. Celecoxib induces hepatic stellate cell apoptosis through inhibition of Akt activation and suppresses hepatic fibrosis in rats. *Gut* 2009; 58: 1517-1527
  - 24 Park SJ, Sohn HY, Yoon J, Park SI. Down-regulation of FoxO-dependent c-FLIP expression mediates TRAIL-induced apoptosis in activated hepatic stellate cells. *Cell Signal* 2009; 21: 1495-1503
  - 25 Chen X, Wang YZ, Xiu HM, Jiang HQ. [The effects of nerve growth factor-induced apoptosis on hepatic stellate cells of fibrotic rat liver]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2006; 86: 1985-1988
  - 26 He YJ, Shu JC, Lü X, Fang L, Sheng Y. [Prophylactic effect of curcumin on hepatic fibrosis and its relationship with activated hepatic stellate cells]. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2006; 14: 337-340
  - 27 林辉, 何自力, 钟德珩. 肝细胞癌survivin表达与临床相关性. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1676-1681
  - 28 倪金良, 陈晓星, 张国新, 郝波, 施瑞华, 王学浩. 胰腺癌组织Survivin的表达与细胞凋亡、增殖的关系. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1425-1429
  - 29 Yang Y, Zhu J, Gou H, Cao D, Jiang M, Hou M. Clinical significance of Cox-2, Survivin and Bcl-2 expression in hepatocellular carcinoma (HCC). *Med Oncol* 2010 Apr 17. [Epub ahead of print]
  - 30 Ranade KJ, Nerurkar AV, Phulpagar MD, Shirsat NV. Expression of survivin and p53 proteins and their correlation with hormone receptor status in Indian breast cancer patients. *Indian J Med Sci* 2009; 63: 481-490
  - 31 Kato J, Kuwabara Y, Mitani M, Shinoda N, Sato A, Toyama T, Mitsui A, Nishiwaki T, Moriyama S, Kudo J, Fujii Y. Expression of survivin in esophageal cancer: correlation with the prognosis and response to chemotherapy. *Int J Cancer* 2001; 95: 92-95
  - 32 Chakravarti A, Noll E, Black PM, Finkelstein DF, Finkelstein DM, Dyson NJ, Loeffler JS. Quantitatively determined survivin expression levels are of prognostic value in human gliomas. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1063-1068
  - 33 Tamm I, Wang Y, Sausville E, Scudiero DA, Vigna N, Oltersdorf T, Reed JC. IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. *Cancer Res* 1998; 58: 5315-5320
  - 34 Takeno S, Yamashita S, Takahashi Y, Ono K, Kamei

- M, Moroga T, Kawahara K. Survivin expression in oesophageal squamous cell carcinoma: its prognostic impact and splice variant expression. *Eur J Cardiothorac Surg* 2010; 37: 440-445
- 35 程平, 秦蓉, 张红, 吴继锋, 王道斌. 凋亡抑制因子Survivin和Livin在胃癌中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 850-855
- 36 Atlasi Y, Mowla SJ, Ziaee SA. Differential expression of survivin and its splice variants, survivin-DeltaEx3 and survivin-2B, in bladder cancer. *Cancer Detect Prev* 2009; 32: 308-313
- 37 Fowell AJ, Iredale JP. Emerging therapies for liver fibrosis. *Dig Dis* 2006; 24: 174-183
- 38 Friedman SL, Bansal MB. Reversal of hepatic fibrosis -- fact or fantasy? *Hepatology* 2006; 43: S82-S88
- 39 Grossman D, McNiff JM, Li F, Altieri DC. Expression of the apoptosis inhibitor, survivin, in non-melanoma skin cancer and gene targeting in a keratinocyte cell line. *Lab Invest* 1999; 79: 1121-1126
- 40 Ambrosini G, Adida C, Sirugo G, Altieri DC. Induction of apoptosis and inhibition of cell proliferation by survivin gene targeting. *J Biol Chem* 1998; 273: 11177-11182
- 41 Mesri M, Morales-Ruiz M, Ackermann EJ, Bennett CF, Pober JS, Sessa WC, Altieri DC. Suppression of vascular endothelial growth factor-mediated endothelial cell protection by survivin targeting. *Am J Pathol* 2001; 158: 1757-1765

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 •

### 《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, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医学、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。

# 双歧杆菌及乳酸杆菌在肥胖大鼠肠道中的动力学

史力群, 卢放根, 崔熠, 谢宁, 姚婷新

## ■背景资料

随着益生菌开发研究的深入, 益生菌在医学各个领域广泛应用. 益生菌能有效在肠道定植或长时间存留是发挥其生理功能的前提, 而益生菌的肠道动力学亦是其最根本的生物学特性, 明确益生菌肠道动力学, 将为益生菌的生物学作用提供新的依据和方向.

史力群, 卢放根, 崔熠, 谢宁, 姚婷新, 中南大学湘雅二医院消化内科 湖南省长沙市 410011

史力群, 硕士, 主要从事胃肠道疾病方面的研究.

作者贡献分布: 此课题由卢放根与史力群共同设计; 卢放根指导; 研究过程由史力群操作完成; 试剂和实验菌株由谢宁与姚婷新提供; 分析工具由崔熠提供; 数据分析由史力群、崔熠、谢宁及姚婷新共同完成; 本论文写作由史力群完成.

通讯作者: 卢放根, 主任医师, 410011, 湖南省长沙市, 中南大学湘雅二医院消化内科. lufanggenyao@163.com

电话: 0731-82235856

收稿日期: 2010-10-08 修回日期: 2010-11-03

接受日期: 2010-11-10 在线出版日期: 2010-12-18

## Dynamics of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* bacteria in the intestine of obese rats

Li-Qun Shi, Fang-Gen Lu, Yi Cui, Ning Xie, Ting-Xin Yao

Li-Qun Shi, Fang-Gen Lu, Yi Cui, Ning Xie, Ting-Xin Yao, Department of Gastroenterology, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China

Correspondence to: Fang-Gen Lu, Department of Gastroenterology, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China. lufanggenyao@163.com

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

Accepted: 2010-11-10 Published online: 2010-12-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the dynamics of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* bacteria in the intestine of obese rats.

**METHODS:** Eighty SD ♂ rats were randomly divided into normal control group and obese group. The rats ( $n = 40$ ) in control group were fed with normal forage, and the rats ( $n = 40$ ) in obese group were fed with high fat forage. The obese rats model was constructed on week eight. Both *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* bacteria were labeled with carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester (CFDA-SE) and fed to obese rats or normal control rats at  $4 \text{ mL} \times 10^9 \text{ CFU/mL}$ . Rat faecal samples were collected at 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, and 96 h after orogastric administration. Rats were sacrificed at 2, 4, 8, 12, and 24 h to take samples from the duodenum, jejunum, ileum,

and colon. The number of fluorescence-positive bacteria was counted under a fluorescence microscope.

**RESULTS:** The numbers of *Bifidobacterium* ( $19.60 \pm 3.85$  vs  $346.00 \pm 45.61$ ,  $130.00 \pm 24.49$  vs  $196.00 \pm 36.47$ ,  $16.8 \pm 8.32$  vs  $382.00 \pm 40.87$ , all  $P < 0.05$ ) and *Lactobacillus* bacteria ( $14.80 \pm 3.70$  vs  $80.00 \pm 14.14$ ;  $247.40 \pm 28.44$  vs  $326.00 \pm 27.93$ ;  $7.40 \pm 3.85$  vs  $492.00 \pm 17.89$ , all  $P < 0.05$ ) in faeces at 2, 4, and 24 h were significantly less in obese rats than in control ones. The numbers of *Bifidobacterium* bacteria in normal controls at 2, 4, 8, and 24 h were significantly different from those of *Lactobacillus* bacteria (all  $P < 0.05$ ). In obese rats, significant differences were noted in the numbers of *Bifidobacterium* bacteria in the duodenum at 2 and 12 h (all  $P < 0.05$ ), jejunum at 2 and 8 h (all  $P < 0.05$ ), ileum at 2, 4, 8, and 12 h (all  $P < 0.05$ ), and colon at 2, 4, 12, and 24 h (all  $P < 0.05$ ), and in the numbers of *Lactobacillus* bacteria in the jejunum at 2 h ( $P < 0.05$ ), ileum at 8, 12, and 24 h (all  $P < 0.05$ ), and colon at 2, 12, and 24 h (all  $P < 0.05$ ). *Bifidobacterium* were concentrated in terminal ileum and colon of control group in 2 h, they were obvious decrease in colon in 8 h, but rolled up in 24 h; while in the obese group, they were centralized in far-end small intestine in 2 h, increased in colon in 8 h, only little in 24 h. *Lactobacillus* were focused in far-end small intestine in 2 h, distinctly rised in colon in 24 h; while in the obese group, they were concentrated in ileum in 2 h, only little in colon in 24 h.

**CONCLUSION:** The dynamics of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* bacteria is different in the intestine of rats. Obesity can influence the dynamics of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* bacteria in the intestine of rats.

**Key Words:** *Bifidobacterium*; *Lactobacillus*; Obesity; Dynamics; Distribution; Colonization

Shi LQ, Lu FG, Cui Y, Xie N, Yao TX. Dynamics of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* bacteria in the intestine of obese rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3732-3739

## ■同行评议者

吴军, 研究员, 军事医学科学院生物工程研究所

## 摘要

**目的:** 探讨双歧杆菌与乳酸杆菌在大鼠肠道的动力学及肥胖对其的影响。

**方法:** 将80只清洁级♂SD大鼠随机分为肥胖组和普饲组。普饲组40只, 喂饲普通饲料, 肥胖组40只, 喂饲高脂饲料, 第8周肥胖组大鼠肥胖模型成模。利用5-(6-)羧基荧光素二乙酸琥珀酰亚胺酯(CFDA-SE)分子探针标记双歧杆菌、乳酸杆菌, 以每只4 mL×10<sup>9</sup> CFU/mL灌喂肥胖及普饲组SD大鼠, 分别于灌喂后0、2、4、8、12、24、48、72、96 h取大便, 灌喂后2、4、8、12、24 h取十二指肠、空肠、回肠、结肠等肠段, 在荧光镜下观察标记菌数量。

**结果:** 双歧杆菌肥胖组2、4、24 h细菌排出量较普饲组低(19.60±3.85, 130.00±24.49, 16.80±8.32 vs 346.00±45.61, 196.00±36.47, 382.00±40.87, 均 $P<0.05$ ), 乳酸杆菌肥胖组2、8、24 h细菌排出量较普饲组低(14.80±3.70, 247.40±28.44, 7.40±3.85 vs 80.00±14.14, 326.00±27.93, 492.00±17.89, 均 $P<0.05$ ); 双歧杆菌在普饲组2、4、8、24 h细菌排出量与乳酸杆菌不同(346.00±45.61, 196.00±36.47, 82.20±13.16, 382.00±40.87 vs 80.00±14.14, 36.00±7.71, 326.00±27.93, 492.00±17.89,  $P<0.05$ ); 肥胖组双歧杆菌在十二指肠肠内和肠壁在2、12 h, 空肠在2、8 h, 回肠在2、4、8、12 h, 结肠在2、4、12、24 h细菌的分布与对照组不同(均 $P<0.05$ ); 乳酸杆菌空肠在2 h, 回肠在8、12、24 h, 结肠在2、12、24 h与对照组不同(均 $P<0.05$ )。双歧杆菌: 2 h在普饲大鼠肠道主要集中在回肠末端及结肠, 8 h结肠内细菌明显减少, 24 h结肠内细菌大量增多; 而2 h在肥胖大鼠肠道主要集中在小肠远端, 后随肠道运动不断推移进入结肠, 8 h后细菌主要集中在结肠, 24 h结肠仅存少许细菌。乳酸杆菌: 2 h在普饲大鼠肠道主要集中在小肠远端, 24 h结肠内细菌大量增多; 2 h在肥胖大鼠肠道主要集中在回肠, 24 h结肠仅少许细菌存留。

**结论:** 双歧杆菌、乳酸杆菌肠道动力不同, 肥胖对双歧杆菌、乳酸杆菌肠道动力有一定的影响。

**关键词:** 双歧杆菌; 乳酸杆菌; 肥胖; 肠道动力; 分布; 定植

史力群, 卢放根, 崔熠, 谢宁, 姚婷新. 双歧杆菌及乳酸杆菌在肥胖大鼠肠道中的动力学. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3732-3739

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3732.asp>

## 0 引言

随着益生菌开发、研究的深入, 益生菌的应用日益广泛。其调节肠道微生态平衡<sup>[1,2]</sup>、抑制病原菌作用<sup>[3,4]</sup>在治疗急慢性腹泻、肝硬化菌群失调及物质代谢等方面的优势日益凸显。益生菌能有效地在肠道定植或长时间存留是发挥上述生理功能的前提<sup>[5,6]</sup>, 而益生菌的肠道动力学是其最根本的生物学特性, 亦是其作用的核心环节之一。明确益生菌肠道动力学, 将为益生菌的生物学作用提供新的依据和方向, 对其应用产生积极而深远的影响。

肥胖及相关的代谢性疾病近年来已经成为威胁全球的公共健康问题<sup>[7-9]</sup>。应用益生菌治疗肥胖早已成为研究的一大热点。大量的实验研究表明, 益生菌能有效改善脂类代谢, 降低血脂和胆固醇<sup>[10,11]</sup>。亦有不少研究表明, 益生菌改善脂类代谢, 降低血脂及胆固醇的作用尚有待进一步研究。Hashimoto等<sup>[12]</sup>发现含有干酪乳酸杆菌的食物可升高血液的高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)含量, Keim等<sup>[13]</sup>和Rossouw等<sup>[14]</sup>的研究却表明, 食用乳杆菌后人体内和猪体内的HDL-C不升反而有所降低。此外, Fukushima等<sup>[15]</sup>报道对鼠予以乳酸杆菌和链球菌干预高脂动物模型对HDL-C作用不明显。益生菌在肥胖研究中的矛盾差异, 是益生菌菌株的生物学特性, 还是与益生菌在肠道的分布及有效停留时间相关? 益生菌是否只在结肠密集, 特别是益生菌在肥胖肠道的分布及定植情况, 目前研究尚不清楚。

为此, 本实验择取了两株广泛应用的益生菌, 青春型双歧杆菌和发酵乳酸杆菌, 用5-(6-)羧基荧光素二乙酸琥珀酰亚胺酯(carboxyl fluorescein diacetate succinimidyl ester, CFDA-SE)分子探针标记<sup>[16,17]</sup>, 研究其在肥胖大鼠肠道动力学情况。以期明确益生菌在肠道分布、定植有无规律, 其分布与定植是益生菌固有的特性还是与肥胖等环境因素相关。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 清洁级♂SD大鼠80只, 周龄3-4 wk, 质量60-70 g, 购于湖南农业大学东创实验动物科技公司, 24℃恒温恒湿, 12 h光照和12 h暗室清洁级动物饲养环境, 大鼠饮水经煮沸消毒, 饲料

## ■研究前沿

肥胖及相关的代谢性疾病近年来已经成为威胁全球的公共健康问题。应用益生菌治疗肥胖早已成为研究的一大热点。



## ■相关报道

Hashimoto等发现含有干酪乳酸杆菌的食物可升高血液的高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量, Keim等和Ros-souw等的研究却表明, 食用乳杆菌后人体内和猪体内的HDL-C不升反而有所降低。

经60℃照射消毒。肥胖饮食及基础饲料配方根据文献[18]自行配置, 由湖南东创实验动物有限公司制造。青春型双歧杆菌丽珠肠乐, 国药准字S10960040号(96)卫药准字(珠)S-01号; 发酵乳酸杆菌M7-5<sup>[19]</sup>, 康哲有限公司分离保存; CFDA-SE, 编号c1031, 购于长沙相宇生物有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 分组及干预: SD大鼠适应性喂养1 wk后随机分为甲、乙组, 每组40只, 分组如下: 甲组(普饲组): 40只, 喂饲普通饲料, 乙组(肥胖组): 40只, 喂饲高脂饲料。第8周末, 将甲组SD大鼠随机分为A、B两组, 乙组SD大鼠随机分为D、E两组, 每组20只。A组: 20只, 喂饲普通饲料, 第8周末灌喂标记的丽珠肠乐生态制剂1次。B组: 20只, 喂饲普通饲料, 第8周末灌喂标记的乳杆菌M7-5 1次。D组: 20只, 喂饲高脂饲料, 第8周末灌喂标记的丽珠肠乐生态制剂1次。E组: 20只, 喂饲高脂饲料, 第8周末灌喂标记的乳杆菌M7-5 1次。

1.2.2 动物喂养与造模: 所有大鼠专业人员清洁房内单笼饲养, 12 h光照, 12 h黑暗。分组后, 甲组喂饲普通饲料, 乙组喂以高脂饲料。每天下午喂食, 食量每鼠每天20 g, 自由饮水。观察8 wk, 第8周乙组大鼠肥胖模型成模( $248.77 \pm 13.03$  vs  $282.24 \pm 14.89$ ,  $P < 0.05$ )。

1.2.3 细菌的培养及荧光标记: 发酵乳杆菌M7-5菌株于37℃ CO<sub>2</sub>培养箱培养箱复苏30 min后, 按3%接种于MAS液体培养基中, 37℃ CO<sub>2</sub>培养箱培养24 h, 3 000 g, 4℃条件下10 min离心收集菌体, 沉淀用灭菌的PBS缓冲液洗2次, 比浊法调整菌悬液终浓度至  $10^{13}$  CFU/L备用。双歧杆菌丽珠肠乐, 粉剂, 直接溶于灭菌PBS中, 3 000 g, 4℃条件下10 min离心收集菌体, 沉淀用灭菌的PBS缓冲液洗2次, 比浊法调整菌悬液终浓度至  $10^{13}$  CFU/L备用。CFDA-SE是一种酯化荧光素衍生物制备的分子探针, 能与细胞中脂肪氨基键合, 从而可以使荧光的消失率降低, 在细胞体内均匀分布, 且非常稳定, 不染色其他细胞, 不影响细胞活性。目前已广泛应用于细胞分裂和细菌定植<sup>[20]</sup>。按照试剂盒使用说明书取出试剂1管, 室温融化, 加入90 μL DMSO溶解, 取10 μL稀释至100 μL备用。将制备好的荧光探针与菌体细胞等体积混合, 避光37℃温浴20 min; 离心终止荧光标记, 并用PBS缓冲液洗涤菌体两次以除去未与菌体结合的荧光染料, 菌体沉淀重悬于PBS缓冲液中, 调整菌悬液终浓

度为  $10^{12}$  CFU/L。经流式细胞仪检测, 显示99%细菌成功标记。

1.2.4 细菌灌喂: 第8周末的最后1 d, 4组大鼠禁食12 h, 灌喂给药1次, A、D组灌喂标记的双歧杆菌丽珠肠乐生态制剂菌悬液, 每只大鼠  $10^{12}$  CFU/L  $\times$  4 mL, B、E组灌喂标记的乳酸杆菌M7-5悬液, 每只大鼠  $10^{12}$  CFU/L  $\times$  4 mL。

1.2.5 大便排出情况: 灌喂后各组大鼠均喂饲普通饲料, 自由饮水。从4组大鼠中各随机取出5只, 作为观察细菌大便情况。0 h起, 于0, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96 h, 甩尾各组大鼠, 主动取新鲜大便, 无菌称质量, 取0.1 g溶于1 mL灭菌PBS液中, 研磨制成悬浮液, 覆0.75%甲醛液, 避光保存。取5 μL悬液于标准计数板上, 荧光镜下计数, 每次检3个视野, 重复3次, 取其平均值。

1.2.6 细菌肠道分布与定值: 4组各剩余的15只大鼠, 作为观察细菌在肠道分布与定值情况。灌喂后各组大鼠喂饲普通饲料, 自由饮水, 2 h起, 于2, 4, 8, 12, 24 h, 每组大鼠脱颈处死3只, 无菌取出肠道, 按解剖位取十二指肠, 空肠, 回肠, 结肠, 剪开肠壁, 用无菌棉签轻轻刮取内容物, 无菌称质量, 取0.1 g溶于1 mL灭菌PBS液中, 研磨制成悬浮液, 覆0.75%甲醛液, 避光保存。无菌镊子剥取肠壁, 0.1 g溶于1 mL灭菌PBS液中, 研磨制成悬浮液, 覆0.75%甲醛液, 避光保存。取5 μL悬液于标准计数板上, 荧光镜下计数, 每次检3个视野, 重复3次, 取其平均值。

**统计学处理** 用SPSS15.0统计软件包进行统计学分析, 数据测定值采用mean  $\pm$  SD表示。各组间的差异比较采用方差分析, 两两比较采用最小显著差法, 参数相关分析采用Pearson相关检验, 取  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 细菌在大便中的排出情况

2.1.1 双歧杆菌在普饲与肥胖大鼠中细菌排出情况: 双歧杆菌在普饲与肥胖大鼠大便排出结果显示, 双歧杆菌在普饲大鼠中排出迅速, 存在两个细菌排出高峰, 分别为2和24 h, 两个高峰细菌排出量相当, 两者相比无统计学差异。肥胖组细菌排出较慢, 呈逐渐上升趋势, 存在一个细菌排出高峰, 为12 h。两组细菌在排出量及高峰时间均有统计学差异(表1, 图1)。

2.1.2 乳酸杆菌在普饲与肥胖大鼠中大便排出情况: 乳酸杆菌在普饲与肥胖大鼠中大便排出结

表 1 双歧、乳酸杆菌在普饲及肥胖大鼠大便中的排出情况 (mean  $\pm$  SD,  $n = 5$ , 个/HP)

时间	双歧杆菌		乳酸杆菌	
	普饲组	肥胖组	普饲组	肥胖组
0 h	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
2 h	346.00 $\pm$ 45.61 <sup>a</sup>	19.60 $\pm$ 3.85 <sup>c</sup>	80.00 $\pm$ 14.14 <sup>a</sup>	14.80 $\pm$ 3.70 <sup>c</sup>
4 h	196.00 $\pm$ 36.47 <sup>a</sup>	130.00 $\pm$ 24.49 <sup>ac</sup>	36.00 $\pm$ 7.71 <sup>a</sup>	58.20 $\pm$ 8.01 <sup>ac</sup>
8 h	83.20 $\pm$ 13.16 <sup>a</sup>	259.60 $\pm$ 39.00 <sup>bc</sup>	326.00 $\pm$ 27.93 <sup>a</sup>	247.40 $\pm$ 28.44 <sup>ac</sup>
12 h	125.20 $\pm$ 23.90 <sup>a</sup>	312.00 $\pm$ 27.25 <sup>ac</sup>	104.00 $\pm$ 11.40 <sup>a</sup>	314.00 $\pm$ 21.91 <sup>ac</sup>
24 h	382.00 $\pm$ 40.87 <sup>a</sup>	16.80 $\pm$ 8.32 <sup>c</sup>	492.00 $\pm$ 17.89 <sup>a</sup>	7.40 $\pm$ 3.85 <sup>c</sup>
48 h	19.00 $\pm$ 7.07	2.00 $\pm$ 1.00	3.60 $\pm$ 2.07	0.20 $\pm$ 0.45
72 h	6.00 $\pm$ 3.32	0.40 $\pm$ 0.55	1.60 $\pm$ 1.14	0.20 $\pm$ 0.45
96 h	0.40 $\pm$ 0.55 <sup>a</sup>	0.00 $\pm$ 0.00	0.20 $\pm$ 0.45	0.00 $\pm$ 0.00

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 组内各亚组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 普饲组.

果显示, 乳酸杆菌在普饲大鼠中排出较快, 存在1个小高峰1个大高峰, 分别为8、24 h. 第2高峰细菌排出量明显较第1高峰多, 两者有统计学意义. 肥胖组细菌排出较慢, 呈逐步上升趋势, 存在1个排出高峰, 为12 h. 两组细菌在排出量与高峰时间均不同, 有统计学差异(表1, 图1).

2.1.3 双歧杆菌与乳酸杆菌在普饲大鼠大便排出情况: 双歧杆菌与乳酸杆菌在普饲大鼠中大便排出结果显示, 双歧杆菌较乳杆菌排出更为迅速, 虽同样存在2个细菌排出高峰, 双歧杆菌波峰较乳酸杆菌前, 细菌排出峰呈“M”型, 乳酸杆菌则为1大1小两个高峰. 两者在细菌排出高峰的时段及同时段排出量均不同, 有统计学意义(表1, 图1).

2.1.4 双歧杆菌与乳酸杆菌在肥胖大鼠大便排出情况: 双歧杆菌与乳酸杆菌在肥胖大鼠中的大便排出结果显示, 双歧杆菌、乳酸杆菌排出较慢, 均呈逐渐上升趋势, 仅一个细菌排出高峰, 为12 h, 且两者高峰无明显差异, 但双歧杆菌在4 h排出较乳酸杆菌多, 两者比较有统计学差异(表1, 图1).

2.2 同一时间段不同部位及同一部位不同时段细菌在肠道的分布与定植情况

2.2.1 双歧杆菌在普饲大鼠体内的分布情况: 双歧杆菌在普饲大鼠肠道分布结果显示, 双歧杆菌2 h主要集中在回肠末端及结肠, 以内容物为主, 4 h高度集中在结肠, 结肠内与肠壁分布大致相同. 随着细菌大量排出, 8 h结肠内细菌明显减少, 较前比较有统计学意义, 肠壁仍大量细菌, 较前无明显变化. 12 h时空肠、回肠内细菌较前增多, 24 h小肠极少细菌残留, 结肠内细菌大量

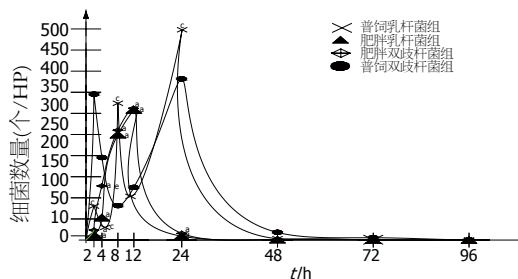


图 1 双歧、乳酸杆菌在大鼠大便排出情况. <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 普饲乳杆菌组; <sup>b</sup> $P < 0.05$  vs 普饲双歧杆菌组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 乳酸杆菌组.

增多, 结肠壁细菌较前明显减少, 较前均有统计学意义(表2).

2.2.2 双歧杆菌在肥胖大鼠肠道中的分布情况: 双歧杆菌在肥胖大鼠肠道的分布结果显示, 双歧杆菌2 h主要集中在小肠远端, 后随肠道运动不断推移进入结肠, 8 h后细菌主要集中在结肠, 小肠极少细菌. 12 h小肠段出现少许细菌, 结肠内细菌较前增多, 而肠壁细菌明显减少, 较前比较均有统计学差异; 24 h小肠段极少细菌残留, 结肠仅存少许细菌(表2).

2.2.3 乳酸杆菌在普饲大鼠肠道分布情况: 乳酸杆菌在普饲大鼠肠道的分布结果显示, 乳酸杆菌2 h主要集中在小肠远端, 随肠道运动细菌不断推进, 8 h主要集中在结肠, 以肠内容物为主, 后细菌大量排出肠道内细菌大量减少, 肠壁细菌无明显变化. 24 h结肠内细菌大量增多, 但肠壁细菌减少明显, 两者较前均有统计学意义(表3).

2.2.4 乳酸杆菌在肥胖大鼠肠道分布情况: 乳酸杆菌在肥胖大鼠肠道的分布结果显示, 乳酸杆菌2 h主要集中在回肠, 4 h细菌仍大部分集中在回肠, 结肠细菌较前增多, 以肠内容物为主, 较前有统计学差异. 随着肠道运动, 12 h肠道细菌

## 应用要点

本实验显示, 不同益生菌肠道动力不同, 益生菌的分布、定植与其生理功能密切相关, 治疗不同的疾病应选择最恰当的益生菌, 应用益生菌治疗疾病时, 同剂量给药, 肥胖人群可能每天2次才能维持肠道细菌较高浓度水平, 而普通人群可能每天1次即可维持高浓度水平. 双歧杆菌更易达肠道高浓度水平, 应注意单次给药浓度.

## ■同行评价

本文科学性较好, 为益生菌的研究工作奠定了实验基础。

表 2 双歧杆菌在普饲及肥胖大鼠肠道中的分布情况 (mean  $\pm$  SD,  $n = 5$ , 个/HP)

部位	普饲组					肥胖组				
	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h
十二指肠内	0.00 $\pm$	0.20 $\pm$	0.00 $\pm$	0.60 $\pm$	0.00 $\pm$	8.80 $\pm$	3.20 $\pm$	0.00 $\pm$	13.60 $\pm$	0.20 $\pm$
	0.00	0.45	0.00	0.55	0.00	2.39 <sup>cf</sup>	1.30 <sup>c</sup>	0.00	1.95 <sup>cf</sup>	0.45
十二指肠壁	0.00 $\pm$	0.00 $\pm$	0.60 $\pm$	9.20 $\pm$	0.80 $\pm$	4.80 $\pm$	2.40 $\pm$	0.60 $\pm$	4.20 $\pm$	0.00 $\pm$
	0.00	0.00	0.55	2.59 <sup>c</sup>	0.84	1.10 <sup>cf</sup>	0.89 <sup>c</sup>	0.55	1.10 <sup>cf</sup>	0.00
空肠内	0.80 $\pm$	8.80 $\pm$	0.20 $\pm$	20.40 $\pm$	0.20 $\pm$	100.00 $\pm$	13.80 $\pm$	0.00 $\pm$	19.60 $\pm$	0.40 $\pm$
	0.84	1.64 <sup>c</sup>	0.45	1.52 <sup>c</sup>	0.45	11.86 <sup>acf</sup>	7.26 <sup>c</sup>	0.00	4.10 <sup>c</sup>	0.55
空肠壁	0.40 $\pm$	0.60 $\pm$	0.20 $\pm$	1.00 $\pm$	0.20 $\pm$	100.00 $\pm$	4.80 $\pm$	1.60 $\pm$	24.00 $\pm$	0.60 $\pm$
	0.55	0.55	0.45	0.82	0.45	13.52 <sup>acf</sup>	1.64	1.52	9.46 <sup>c</sup>	0.55
回肠内	67.60 $\pm$	7.80 $\pm$	14.80 $\pm$	25.67 $\pm$	0.60 $\pm$	400.00 $\pm$	332.00 $\pm$	8.40 $\pm$	88.00 $\pm$	1.80 $\pm$
	4.51 <sup>ac</sup>	4.02	3.83	19.24 <sup>ac</sup>	0.55	26.85 <sup>acf</sup>	43.82 <sup>acf</sup>	4.39	10.95 <sup>acf</sup>	1.48
回肠壁	13.60 $\pm$	11.60 $\pm$	7.20 $\pm$	3.80 $\pm$	0.40 $\pm$	62.80 $\pm$	154.00 $\pm$	52.00 $\pm$	27.80 $\pm$	1.20 $\pm$
	2.88 <sup>c</sup>	2.30 <sup>c</sup>	1.92 <sup>a</sup>	1.30	0.55	10.13 <sup>acf</sup>	5.48 <sup>acf</sup>	6.67 <sup>ac</sup>	6.65 <sup>cf</sup>	1.10 <sup>c</sup>
结肠内	370.00 $\pm$	264.00 $\pm$	82.00 $\pm$	122.00 $\pm$	400.00 $\pm$	25.80 $\pm$	140.00 $\pm$	238.00 $\pm$	396.00 $\pm$	26.00 $\pm$
	24.49 <sup>ac</sup>	16.73 <sup>ac</sup>	9.38 <sup>ac</sup>	24.90 <sup>ac</sup>	17.89 <sup>ac</sup>	2.49 <sup>af</sup>	14.14 <sup>acf</sup>	89.55 <sup>ac</sup>	8.94 <sup>acf</sup>	6.48 <sup>af</sup>
结肠壁	113.00 $\pm$	250.00 $\pm$	220.00 $\pm$	150.00 $\pm$	76.00 $\pm$	7.60 $\pm$	94.00 $\pm$	206.00 $\pm$	100.00 $\pm$	20.60 $\pm$
	18.08 <sup>ac</sup>	18.71 <sup>ac</sup>	27.39 <sup>ac</sup>	14.14 <sup>ac</sup>	6.75 <sup>ac</sup>	1.95 <sup>f</sup>	16.73 <sup>acf</sup>	26.08 <sup>ac</sup>	9.82 <sup>acf</sup>	0.89 <sup>af</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 组内同时间不同肠段; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 组内同肠段不同时间; <sup>f</sup> $P < 0.05$  vs 普饲组。

表 3 乳酸杆菌在普饲及肥胖大鼠肠道中的分布情况 (mean  $\pm$  SD,  $n = 5$ , 个/HP)

部位	普饲组					肥胖组				
	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h
十二指肠内	0.00 $\pm$	22.20 $\pm$	0.00 $\pm$	0.60 $\pm$	0.00 $\pm$	23.60 $\pm$	12.20 $\pm$	0.40 $\pm$	0.00 $\pm$	0.00 $\pm$
	0.00	2.79 <sup>c</sup>	0.00	0.89	0.00	4.16 <sup>c</sup>	4.38 <sup>c</sup>	0.55	0.00	0.00
十二指肠壁	0.00 $\pm$	60.20 $\pm$	0.00 $\pm$	0.20 $\pm$	0.00 $\pm$	0.80 $\pm$	59.00 $\pm$	0.00 $\pm$	0.40 $\pm$	0.00 $\pm$
	0.00	2.17 <sup>ac</sup>	0.00	0.45	0.00	0.84	2.65 <sup>ac</sup>	0.00	0.55	0.00
空肠内	27.60 $\pm$	48.20 $\pm$	1.20 $\pm$	4.20 $\pm$	0.00 $\pm$	54.20 $\pm$	11.20 $\pm$	26.00 $\pm$	1.00 $\pm$	0.00 $\pm$
	4.34 <sup>ac</sup>	2.49 <sup>ac</sup>	0.84	7.73	0.00	3.77 <sup>acf</sup>	2.39	3.81 <sup>ac</sup>	1.41	0.00
空肠壁	21.80 $\pm$	9.00 $\pm$	8.40 $\pm$	0.00 $\pm$	0.60 $\pm$	10.20 $\pm$	5.60 $\pm$	11.40 $\pm$	0.40 $\pm$	0.00 $\pm$
	2.49 <sup>ac</sup>	1.58 <sup>c</sup>	2.70 <sup>c</sup>	0.00	0.55	0.84 <sup>cf</sup>	0.89	1.95 <sup>ac</sup>	0.55	0.00
回肠内	362.00 $\pm$	304.00 $\pm$	112.00 $\pm$	7.00 $\pm$	42.60 $\pm$	400.00 $\pm$	308.00 $\pm$	89.20 $\pm$	0.20 $\pm$	0.40 $\pm$
	16.43 <sup>ac</sup>	16.73 <sup>ac</sup>	10.95 <sup>ac</sup>	3.79	7.50 <sup>ac</sup>	14.14 <sup>ac</sup>	10.95 <sup>ac</sup>	10.16 <sup>acf</sup>	0.45 <sup>f</sup>	0.55 <sup>f</sup>
回肠壁	200.00 $\pm$	94.00 $\pm$	57.20 $\pm$	58.00 $\pm$	7.00 $\pm$	200.00 $\pm$	152.00 $\pm$	17.00 $\pm$	10.20 $\pm$	0.60 $\pm$
	16.74 <sup>ac</sup>	8.94 <sup>ac</sup>	3.70 <sup>ac</sup>	4.42 <sup>ac</sup>	1.58	12.36 <sup>ac</sup>	4.47 <sup>ac</sup>	4.24 <sup>af</sup>	2.77 <sup>f</sup>	0.55 <sup>f</sup>
结肠内	96.00 $\pm$	82.80 $\pm$	328.00 $\pm$	132.00 $\pm$	504.00 $\pm$	54.00 $\pm$	108.00 $\pm$	296.00 $\pm$	348.00 $\pm$	21.20 $\pm$
	8.94 <sup>ac</sup>	8.32 <sup>ac</sup>	22.80 <sup>ac</sup>	16.43 <sup>ac</sup>	16.73 <sup>ac</sup>	4.24 <sup>ac</sup>	10.95 <sup>ac</sup>	8.94 <sup>ac</sup>	16.43 <sup>acf</sup>	1.30 <sup>af</sup>
结肠壁	74.00 $\pm$	54.40 $\pm$	212.00 $\pm$	208.00 $\pm$	26.40 $\pm$	12.00 $\pm$	57.40 $\pm$	208.00 $\pm$	21.00 $\pm$	3.20 $\pm$
	37.15 <sup>ac</sup>	5.18 <sup>c</sup>	10.95 <sup>ac</sup>	10.95 <sup>ac</sup>	3.85 <sup>a</sup>	2.83	4.88 <sup>acf</sup>	10.95 <sup>ac</sup>	2.00 <sup>af</sup>	2.39 <sup>af</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 组内同时间不同肠段; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 组内同肠段不同时间; <sup>f</sup> $P < 0.05$  vs 普饲组。

高度集中在结肠, 以内容物为主, 肠壁细菌较前大量减少, 24 h结肠仅少许细菌存留, 肠壁极少细菌可见, 较前比较均有统计学差异(表3)。

### 3 讨论

为明确益生菌在肠道的分布、定植及排出情况, 以及肥胖等环境因素是否对益生菌的肠道动力产生影响, 本实验研究了双歧、乳酸杆菌在大

鼠大便排出及其在大鼠肠道分布、定植特点。

双歧、乳酸杆菌在大鼠大便排出实验表明: 在普饲条件下, 双歧、乳酸杆菌排出虽均呈双峰状, 然双歧杆菌较乳酸杆菌排出更快, 排出高峰较前, 且双歧杆菌排出两高峰呈“M”型, 两者排出情况明显不同; 而在肥胖组中, 两组细菌仅1个排出高峰, 细菌排出较慢, 排出量少。目前国内关于细菌排出的研究较少, 本实验细菌

排出其时间间隔较大, 样本量较少, 肥胖与普饲组细菌排出高峰及排出曲线是否完全如此, 尚有待大样本, 密时段实验进一步验证. 就本实验所取时间段结果说明, 细菌排出有一定的特性, 不同的益生菌其排出规律不同; 肥胖可影响细菌的代谢, 使其排出延迟, 高峰推后, 细菌排出量减少, 其影响机制目前尚不清楚, 将于下一步实验继续探讨.

双歧、乳酸杆菌在大鼠肠道分布、定植实验表明, 双歧、乳酸杆菌在肠道的分布、定植情况各不相同, 双歧杆菌主要密集在结肠, 乳酸杆菌则能长时间停留在回肠及结肠. 双歧杆菌和乳酸杆菌是人体肠道最重要的生理性细菌, 被看做微生态学研究的核心, 对宿主发挥调节微生态平衡、抗病、改善人体代谢等多种生理作用, 两者的作用虽有相似点却不竟然相同. Bernet等<sup>[21]</sup>, 郑跃杰等<sup>[22]</sup>的研究表明, 双歧杆菌在肠壁的黏附素是种糖蛋白, 各种糖类对双歧杆菌的黏附均有抑制作用, 因而双歧杆菌主要在结肠密集. 任邦哲<sup>[23]</sup>、王正根等<sup>[19]</sup>乳酸杆菌降胆固醇作用主要在回肠及近端结肠, 均与本研究结果相似. 可见益生菌的分布与定植是其固有的生物学特性, 不同的益生菌在肠道分布、定植情况不同, 其在肠道的分布、定植可能与其生理功能密切相关.

观察发现, 双歧、乳酸杆菌在肥胖组肠道分布、定植情况与普饲组明显不同. 肥胖组中, 双歧、乳酸杆菌在小肠内长时间停留, 同时段结肠壁细菌量较普饲组明显减少. 说明肥胖等环境因素对益生菌的分布、定植有一定的影响, 且肥胖对双歧杆菌的影响较乳酸杆菌明显. 其产生的机制可能为多方面的. 一方面, 肥胖个体的肠内细菌过度生长可能性较高. 肠道菌群可以产生和代谢乙醇<sup>[24,25]</sup>. 一方面, 肥胖改变了肠的运动性, 比如肥胖患者易患肠易激综合征和假性结肠梗阻<sup>[26,27]</sup>. 另一方面, 肥胖会改变肠道菌群结构和组成<sup>[28,29]</sup>, 肥胖肠道黏膜不利于益生菌的黏附与定植. Vizoso Pinto等<sup>[30]</sup>对益生菌的分布、定植与其环境有关的研究结果与本实验结论相似.

以上说明, 不同的益生菌在肠道分布、定植及排出不同, 益生菌在肠道的分布、定植是其固有特性, 与其生理功能密切相关; 同菌株在不同的肠道环境分布、定植及排出不同, 肥胖对细菌肠道动力有明显的影响. 这提示, 使用益

生菌改善肠道黏膜屏障<sup>[31]</sup>、调节物质代谢和治疗各种急慢性腹泻时<sup>[32]</sup>, 选择恰当的益生菌株, 作用更精准, 效果更明显, 并有可能避免益生菌的滥用及可能引发细菌不良反应的发生; 同剂量给药, 肥胖人群可能每天2次才能维持肠道细菌较高浓度水平, 而普通人群可能每天1次即可维持高浓度水平.

还可以看出, 细菌的排出情况与其在肠道的分布、定植密切相关. 双歧、乳酸杆菌在普饲大鼠中, 主要集中在结肠, 细菌排出快; 肥胖组细菌则较长时间停留在小肠, 随肠道运动逐渐进入结肠, 细菌排出亦慢, 呈逐渐上升趋势. 观察发现, 结肠内细菌浓度与细菌排出量关系密切, 肠壁细菌浓度则与细菌排出持续时间及峰型更为相关. 结肠内细菌浓度越高, 细菌排出量越大, 肠壁细菌黏附越多其排出持续时间越长. 这是因为, 普饲组肠道运动性过快, 外来益生菌尚未能“抢占”空间, 有效黏附肠壁, 而肠道内细菌“超级大家族”<sup>[33]</sup>已达到饱和状态, 细菌便随肠内容迅速排出体外. 若环境允许, 时间足够, 益生菌则与肠道细胞发生作用, 黏附于肠壁<sup>[34]</sup>. 肥胖组肠道因运动性慢, 细菌过度生长, 肥胖所致肠道菌群及组成的变化, 不利于益生菌的黏附、复制与繁殖, 因而同时段肠壁细菌黏附较普通组少, 在体内增殖的量也少, 排出持续时间也就短. 这也解释了前面大鼠细菌排出, 普饲组排出快, 呈双峰状, 而肥胖组排出慢, 仅一个细菌排出高峰的结果. 也提示, 在使用益生菌改善脂类代谢、治疗其他疾病时, 长时间持续给药, 肠道才能保持较高的细菌浓度, 才可能有效地定植于肠道, 从而发挥其生理功能. 观察还发现, 同剂量活菌单次灌喂, 双歧杆菌较乳酸杆菌在肠道更易达高浓度水平, 提示在使用益生菌时, 双歧杆菌更应注意单次给药的剂量, 以防过高浓度易引发不良反应的发生.

研究发现, 双歧杆菌在大鼠体内12 h小肠上端意外出现少许细菌, 其原因目前不清, 可能为小鼠肠道细菌分布个体差异, 或细菌在食管、胃内黏附、定植, 后随食物消化, 肠道运动排入, 然乳酸杆菌却未有相同情况发生, 其具体机制, 尚有待进一步研究. 这也在另一方面再次证实, 不同的细菌其肠道分布、定植情况不同.

总之, 益生菌在肠道的动力学是其固有的特性, 不同的益生菌其肠道动力学不同, 双歧



杆菌只在结肠密集, 乳酸杆菌则能长时间在结肠及回肠存留, 益生菌的分布、定植与其生理功能密切相关; 肥胖等环境因素对益生菌的分布、定植及排出有一定的影响, 其对不同的益生菌影响的大小不同, 对双歧杆菌的影响较乳酸杆菌明显; 普通人群较肥胖人群肠道环境可能更有利于益生菌的黏附与定植, 益生菌在普通人群更能有效发挥其生物学功能。

#### 4 参考文献

- O'Toole PW, Cooney JC. Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microbiota. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2008; 2008: 175285
- Alander M, De Smet I, Nollet L, Verstraete W, von Wright A, Mattila-Sandholm T. The effect of probiotic strains on the microbiota of the Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME). *Int J Food Microbiol* 1999; 46: 71-79
- Britton RA, Versalovic J. Probiotics and gastrointestinal infections. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2008; 2008: 290769
- Ooi LG, Liong MT. Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: a review of in vivo and in vitro findings. *Int J Mol Sci* 2010; 11: 2499-2522
- Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 15718-15723
- Towle HC. Glucose and cAMP: adversaries in the regulation of hepatic gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 13476-13478
- Fagot-Campagna A, Saaddine JB, Flegal KM, Beckles GL. Diabetes, impaired fasting glucose, and elevated HbA1c in U.S. adolescents: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care* 2001; 24: 834-837
- Pan WH, Flegal KM, Chang HY, Yeh WT, Yeh CJ, Lee WC. Body mass index and obesity-related metabolic disorders in Taiwanese and US whites and blacks: implications for definitions of overweight and obesity for Asians. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 31-39
- Flegal KM, Williamson DF, Pamuk ER, Rosenberg HM. Estimating deaths attributable to obesity in the United States. *Am J Public Health* 2004; 94: 1486-1489
- Akalin AS, Gönc S, Düzel S. Influence of yogurt and acidophilus yogurt on serum cholesterol levels in mice. *J Dairy Sci* 1997; 80: 2721-2725
- Xiao JZ, Kondo S, Takahashi N, Miyaji K, Oshida K, Hiramatsu A, Iwatsuki K, Kokubo S, Hosono A. Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers. *J Dairy Sci* 2003; 86: 2452-2461
- Hashimoto H, Yamazaid K, He F, Kawase M, Hosoda M, Hosono A. Hypocholesterolemic effects of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* TMC 0409 strain observed in rats fed cholesterol contained diets. *Anim Sci* 1999; 72: 90-97
- Keim NL, Marlett JA, Amundson CH. The cholesterol effect of skim milk in young men consuming controlled diets. *Nutr Res* 1981; 1: 422-429
- Rossouw JE, Burger EM, Van der Vyver P, Ferreira JJ. The effect of skim milk, yoghurt, and full cream milk on human serum lipids. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 351-356
- Fukushima M, Nakano M. Effects of a mixture of organisms, *Lactobacillus acidophilus* or *Streptococcus faecalis* on cholesterol metabolism in rats fed on a fat- and cholesterol-enriched diet. *Br J Nutr* 1996; 76: 857-867
- 葛凤燕, 闫喜龙, 潘惠英. 荧光素类探针在生物分析中的研究进展. *分析化学* 2005; 33: 1194-1204
- Lee YK, Ho PS, Low CS, Arvilommi H, Salminen S. Permanent colonization by *Lactobacillus casei* is hindered by the low rate of cell division in mouse gut. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70: 670-674
- 徐叔云, 卞如瀛, 陈修. 药理实验方法学. 第3版. 北京: 人卫出版社, 2003: 189-190
- 王正根. 两株乳杆菌体内外降胆固醇的筛选及相关机制的研究. 中南大学 2010: 1-99
- Hoefel D, Grooby WL, Monis PT, Andrews S, Saint CP. A comparative study of carboxyfluorescein diacetate and carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester as indicators of bacterial activity. *J Microbiol Methods* 2003; 52: 379-388
- Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, Servin AL. Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. *Appl Environ Microbiol* 1993; 59: 4121-4128
- 郑跃杰, 潘令嘉, 王立生, 周殿元, 郭立安, 闫哲. 双歧杆菌粘附素的提纯. *中华微生物学和免疫学杂志* 1999; 19: 196
- 任邦哲. 生物化学与临床医学. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1992: 202-206
- Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980; 55: 434-438
- Nosova T, Jokelainen K, Kaihovaara P, Jousimies-Somer H, Siitonen A, Heine R, Salaspuro M. Aldehyde dehydrogenase activity and acetate production by aerobic bacteria representing the normal flora of human large intestine. *Alcohol Alcohol* 1996; 31: 555-564
- Crowell MD, Cheskin LJ, Musial F. Prevalence of gastrointestinal symptoms in obese and normal weight binge eaters. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 387-391
- O'Malley KJ, Flechner SM, Kapoor A, Rhodes RA, Modlin CS, Goldfarb DA, Novick AC. Acute colonic pseudo-obstruction (Ogilvie's syndrome) after renal transplantation. *Am J Surg* 1999; 177: 492-496
- Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 11070-11075
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with

- obesity. *Nature* 2006; 444: 1022-1023
- 30 Vizoso Pinto MG, Schuster T, Briviba K, Watzl B, Holzapfel WH, Franz CM. Adhesive and chemokine stimulatory properties of potentially probiotic *Lactobacillus* strains. *J Food Prot* 2007; 70: 125-134
- 31 范妮, 田宇彬, 孔心涓, 赵清喜, 魏良洲. 益生菌对肝硬化患者肠黏膜通透性的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3745-3748
- 32 杨明, 韩真. 益生菌对炎症性肠病的治疗作用和机制. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1634-1638
- 33 张晨虹, 赵立平. 肠道菌群在肥胖及相关的代谢性疾病发生发展中的地位和作用. *前沿科学* 2007; 3: 75-80
- 34 王伟岸, 胡品津. 益生菌和肠易激综合征. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 172-176

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 •

### 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.625

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果11月26日由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2009年《世界华人消化杂志》总被引频次3 009次, 影响因子0.625, 综合评价总分49.4分, 分别位居内科学类48种期刊的第6位、第9位、第6位, 分别位居1 946种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第87位、第378位、第351位; 其他指标: 即年指标0.112, 他引率0.79, 引用刊数473种, 扩散因子15.72, 权威因子1 170.03, 被引半衰期4.0, 来源文献量752, 文献选出率0.93, 地区分布数30, 机构分布数30, 基金论文比0.39, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐, 《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)。(编辑部主任: 李军亮 2010-11-28)

# 食管癌三维适形常规分割与后程加速超分割放疗的随机对照

王建华, 卢绪菁, 周健, 王峰

## ■背景资料

随着食管癌发病率的逐年增高, 患者大部分就诊时已属中晚期, 放射治疗为食管癌的主要治疗方法, 近年来疗效未得到明显提高。

王建华, 卢绪菁, 周健, 王峰, 苏州大学附属常州肿瘤医院放疗科 江苏省常州市 213002

王建华, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事胸部恶性肿瘤放射治疗临床与基础研究。

作者贡献分布: 王建华与卢绪菁对此文所作贡献均等; 此研究由王建华与卢绪菁共同设计; 研究过程由王建华、卢绪菁、周健及王峰完成; 数据分析由王建华与卢绪菁完成; 本论文写作由王建华、卢绪菁、周健及王峰完成。

通讯作者: 王建华, 主任医师, 213002, 江苏省常州市, 苏州大学附属常州肿瘤医院放疗科。luxujing@cscsco.org.cn

电话: 0519-86868236

收稿日期: 2010-10-19 修回日期: 2010-12-07

接受日期: 2010-12-15 在线出版日期: 2010-12-18

## Conventional fractionated versus late course accelerated hyperfractionated three-dimensional conformal radiotherapy for esophageal cancer: a randomized controlled trial

Jian-Hua Wang, Xu-Jing Lu, Jian Zhou, Feng Wang

Jian-Hua Wang, Xu-Jing Lu, Jian Zhou, Feng Wang, Department of Radiation Oncology, Changzhou Tumor Hospital, Soochow University, Changzhou 213002, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Jian-Hua Wang, Department of Radiation Oncology, Changzhou Tumor Hospital, Soochow University, Changzhou 213001, Jiangsu Province, China. luxujing@cscsco.org.cn

Received: 2010-10-19 Revised: 2010-12-07

Accepted: 2010-12-15 Published online: 2010-12-18

## Abstract

**AIM:** To compare the efficacy and safety of conventional fractionated (CF) versus late course accelerated hyperfractionated (LCAF) three-dimensional conformal radiotherapy (3D-CRT) for esophageal cancer.

**METHODS:** Ninety-eight patients with esophageal carcinoma were divided into two groups: 55 treated by CF-3D-CRT (a total dose of 60-68 Gy, 2 Gy/F, 5 fractions a week) and 48 by LCAF-3D-CRT (a total dose of 61-67 Gy, first by CF-3D-CRT to a dose of 40 Gy, followed by LCAF-3D-CRT: 1.5 Gy/F, 2 fractions a day, 21-27 Gy).

**RESULTS:** The 1-, 2-, and 3-year survival rates were 79.2%, 56.3% and 43.8% in the LCAF group, and 74%, 54% and 36% in the CF group, respectively. The 1-, 2-, and 3-year local control rates were 81.3%, 62.5% and 50% in the LCAF group, and 78%, 58% and 42% in the CF group, respectively. The incidence of radiation-induced esophagitis was significantly lower in the CF group than in the LCAF group (72% vs 93.8%,  $P = 0.008$ ). However, the rate of radiation-induced pneumonitis showed no significant difference between the two groups (10% vs 6.25%,  $P = 0.498$ ).

**CONCLUSION:** The 1-, 2- and 3-year local control rates and survival rates of patients with esophageal carcinoma treated by LCAF-3D-CRT are superior to those treated by CF-3D-CRT though the incidence of radiation-induced esophagitis is higher in the LCAF group than in the CF group.

**Key Words:** Esophageal cancer; Radiotherapy; Conformal radiotherapy; Late course accelerated hyperfractionated; Prognosis

Wang JH, Lu XJ, Zhou J, Wang F. Conventional fractionated versus late course accelerated hyperfractionated three-dimensional conformal radiotherapy for esophageal cancer: a randomized controlled trial. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3740-3744

## 摘要

**目的:** 比较三维适形放疗常规分割和后程加速超分割治疗食管癌患者的疗效和不良反应。

**方法:** 98例符合入组条件的食管癌患者随机分成两组: 常规分割(CF)组50例, 照射剂量60-68 Gy, 每次2 Gy, 每周5次, 中位剂量64 Gy/32 F/6.4 wk; 后程加速超分割(LCAF)组48例, 前程为传统常规分割放疗, 照射剂量40 Gy/20 F/4 wk, 后程改为加速超分割放疗, 每次1.5 Gy, 每天2次, 照射剂量21-27 Gy, 总剂量61-67 Gy, 中位剂量64 Gy/36 F/5.6 wk。

**结果:** CF组和LCAF组1、2、3年生存率分别

## ■同行评议者

程英升, 教授, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心; 茅爱武, 主任医师, 上海同仁医院介入诊疗中心; 肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

为74%、54%、36%和79.2%、56.3%、43.8%、1、2、3年局部控制率分别为78%、58%、42%和81.3%、62.5%、50%，生存率和局部控制率差异均无统计学意义；CF组放射性食管炎发生率较LCAF组低，差异有统计学意义(72% vs 93.8%,  $P = 0.008$ )，放射性肺损伤发生率分别为10%和6.25%( $P = 0.498$ )。

**结论：**食管癌后程加速超分割适形放射治疗的局部控制率和近期生存率稍优于常规适形放射治疗，但其放射性食管炎发生率较高。

**关键词：**食管肿瘤；放射疗法；适形放疗；后程加速超分割；预后

王建华, 卢绪菁, 周健, 王峰. 食管癌三维适形常规分割与后程加速超分割放疗的随机对照. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3740-3744

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3740.asp>

## 0 引言

食管癌是一种常见的恶性肿瘤，放射治疗作为食管癌的主要治疗方法，但效果不佳。近年来，适形放疗技术迅速发展，可以提高照射剂量，那么能否采用后程加速超分割三维适形放疗(late course accelerated hyperfraction 3-dimensional conformal radiotherapy, LCAF)治疗食管癌，以便取得更好的疗效呢？为此，2004-07/2007-06苏州大学附属肿瘤医院对98例食管癌患者进行了常规三维适形放疗(conventional fraction 3-dimensional conformal radiotherapy, CF)和LCAF的随机分组研究，比较2组近期疗效、局部控制率、近期生存率和放疗不良反应，现将结果报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2004-07/2007-06苏州大学附属肿瘤医院收治的经病理学证实的食管鳞癌患者98例，卡氏(karnofsky, KPS)评分 $\geq 70$ 分；能进半流食或流食，放疗前食管钡餐造影检查食管病变长度 $\leq 8$  cm，无出血或穿孔征象；临床检查无锁骨上淋巴结转移和远处转移，既往无恶性肿瘤病史或可能影响治疗完成的内科疾病。其中男63例，女35例；中位年龄65(55-74)岁；肿瘤部位：胸上段32例，胸中段53例，胸下段13例。放疗前食管钡餐造影显示肿瘤长度3-8(中位长度4.9) cm。髓质型63例，溃疡型15例，蕈伞型17例，缩窄型3例。CT扫描显示肿瘤长度4-10(中位长度5.4) cm。采用信封法将98例患者随机分为CF组(50例)和LCAF组(48例)并取得患者的知情同意。两组患

者性别、年龄、KPS评分及体质量下降等临床资料具有可比性。

### 1.2 方法

**1.2.1 三维适形放疗技术：**采用热塑体模技术固定体位，Simens sensation 40 CT增强扫描模拟定位，扫描层厚5 mm。图像传入三维适形放疗计划系统(CMS Xio4.3.1)，由副主任医师以上的2名医生根据食管钡餐造影和纤维食管镜显示病变长度以及CT显示的外侵深度范围共同勾画靶区，肿瘤靶区(gross tumor volume, GTV)包括食管病变和纵隔内肿大淋巴结，GTV前后左右方向各外放0.5-0.8 cm，上下方向各外放3.0 cm为临床靶区(clinical target volume, CTV)；CTV再均匀外放0.5 cm为计划靶区(planning target volume, PTV)。通过剂量-体积直方图(dose-volume histogram, DVH)与平面二维等剂量曲线图选择最佳治疗计划方案，全部计划均经组织非均匀性校正。以90%等剂量线包括PTV，并以此剂量线作为处方剂量，处方剂量60-68(中位处方剂量64) Gy，要求全肺V20 $\leq 25\%$ -30%，V30 $\leq 18\%$ ，心脏平均剂量Dmean $< 30$  Gy，脊髓最大剂量 $< 45$  Gy。治疗计划经副主任医师以上医师审核及验证后开始治疗，全部患者均顺利完成治疗。

**1.2.2 剂量分割模式：**全部患者均全程三维适形放射治疗并采用信封法随机分组为CF组和LCAF组，其中50例全程常规分割治疗，处方剂量60-68 Gy，每次2 Gy，每周5次，中位剂量64 Gy；48例为LCAF组，前程为常规分割放疗，处方剂量40 Gy，每次2 Gy，每天1次，每周5次，后程改为加速超分割放疗，处方剂量21-27 Gy，每次1.5 Gy，每天2次，间隔6 h以上，每周10次，总剂量61-67(中位剂量64) Gy。均采用西门子Primus-H 6MV-X线直线加速器实施治疗。所有患者均没有接受化疗。

**1.2.3 评价标准：**近期疗效评价采用1989年万钧食管癌放射治疗后近期疗效评价标准；急性不良反应按照世界卫生组织(WHO)和美国肿瘤放射治疗协作组(RTOG)急性放射损伤分级标准评价，分为0-4级。

**1.2.4 随访：**两组98例患者均顺利地完成了放射治疗，全部随访均达3年，截至2010-06，随访36-58(中位随访45) mo，随访率100%。

**统计学处理** 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析，采用Kaplan-Meier法计算总生存率和局部控制率，Log-rank法检验差异显著性。构成比采用 $\chi^2$ 检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

**■ 研发前沿**  
提高肿瘤局部控制率的同时降低远处转移率从而提高生存率，将是今后的研究方向之一。

## ■相关报道

李任等通过对120例食管癌患者的非随机研究显示食管癌常规三维适形放疗治疗食管癌的局控率、近期生存率稍优于后程加速超分割放疗;并且其不良反应较LCAF组轻。

表 1 两组患者临床资料比较

特征	CF组	LCAF组	$\chi^2$ 值	P值
性别			1.45	0.293
男	35	28		
女	15	20		
年龄(岁)			1.063	0.900
范围	55-74	55-74		
中位值	66	63		
KPS评分			0.17	0.682
70	3	2		
80-100	47	46		
体质量下降			0.113	0.737
有	4	3		
无	46	45		
病变部位			2.553	0.279
胸上段	18	14		
胸中段	28	25		
胸下端	4	9		
病变类型			1.683	0.641
髓质型	32	30		
蕈伞型	8	9		
溃疡型	9	6		
缩窄型	1	3		
病变长度(cm)			3.488	0.480
范围	3-8	3-7		
中位值	5.2	4.9		

## 2 结果

两组患者临床资料见表1。

2.1 近期疗效 放疗结束及结束后1-3 mo, 根据食管造影片评价近期疗效, 结果显示两组患者治疗后总有效率之间的差异无统计学意义( $P = 0.845$ , 表2)。

2.2 局部控制率及生存率 CF组和LCAF组1、2、3年生存率分别为74%、54%、36%和79.2%、56.3%、43.8%, 两组患者1、2、3年生存率的差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.507$ ,  $P = 0.476$ , 图1A); 1、2、3年局部控制率分别为78%、58%、42%和81.3%、62.5%、50%, 两组患者1、2、3年局部控制率差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.562$ ,  $P = 0.454$ , 图1B)。

2.3 放疗反应 两组患者均顺利完成治疗计划, 治疗中的急性不良反应主要表现为急性放射性食管炎、气管炎及骨髓抑制等, 未发现食管穿孔、出血等严重并发症及 $\geq 4$ 级放疗反应。LCAF组放射性食管发生率明显高于常规放疗治疗组( $P = 0.008$ ), 需要注意的是接受后程加速超分割的患者在放疗结束后, 部分患者出现的急性放射性食管反应持续的时间长于常规放

表 2 两组患者近期疗效比较  $n(\%)$ 

分组	<i>n</i>	完全缓解	部分缓解	未缓解	有效率
CF组	50	36(72.0)	12(24.0)	2(4.0)	48(96.0)
LCAF组	48	36(75.0)	11(22.9)	1(2.1)	47(97.9)

$\chi^2 = 0.336$ .

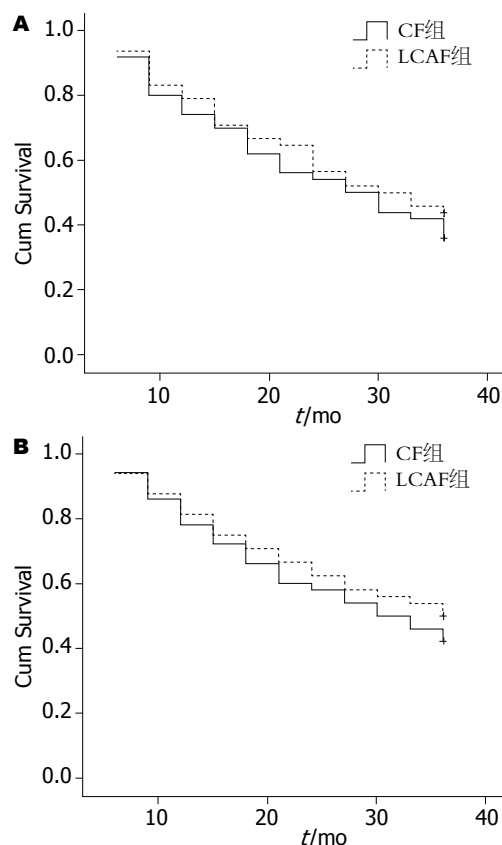


图 1 两组患者1、2、3年生存率、局部控制率曲线比较。A: 生存率; B: 局部控制率。

射治疗的患者, 需要积极的支持对症处理(表3)。

2.4 失败原因 98例患者均随访超过3年, 共死亡59例, 两组治疗失败的主要原因仍是局部复发或未控, CF组死亡32例, 其中1例死于非癌相关疾病, 9例死于远处转移, 其他22例均和局部复发有关; LCAF组死亡27例, 其中2例死于非癌相关疾病, 8例死于远处转移外, 其他17例均和局部复发有关(表4)。

## 3 讨论

食管癌二维常规分割放疗治疗的疗效多年来无明显提高, 5年生存率约10%<sup>[1]</sup>, 放疗失败的主要原因为肿瘤局部复发和未控, 高达60%-70%。近年来国内外大量研究表明, 肿瘤干细胞放疗后出现加速再增殖是一些肿瘤放疗失败的主要因



表 3 两组患者放疗反应比较 *n*

	CF组	LCAF组	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
急性气管炎			4.191	0.123
1、2级	24	20		
3、4级	8	16		
急性食管炎			9.724	0.008
1、2级	30	32		
3、4级	6	13		
食管狭窄			0.286	0.867
2级	3	2		
3级	6	7		
肺纤维化			0.459	0.498
2级	5	3		
骨髓毒性			0.488	0.783
1级	3	4		
2级	2	3		

素, 克服肿瘤干细胞的加速再增殖就有希望提高局部控制率和生存率, 研究结果提示大部分肿瘤细胞的加速再增殖时间可能开始于放疗后 3-4 wk, 这为食管癌后程加速超分割治疗提供了理论依据. 自1988年来, 许多报道显示后程加速超分割放射治疗的疗效优于常规分割放射治疗<sup>[2-6]</sup>, 5年生存率可达30%左右, 5年局部控制率高达70%, 但是后程加速超分割放射治疗后仍有40%-50%的患者表现为局部复发或未控制, 失败原因很多, 其中常规放疗模拟机定位可能使部分肿瘤和(或)部分转移淋巴结漏照或处于低剂量区, 这可能是肿瘤复发或未控的重要原因<sup>[7,8]</sup>, 局部控制仍是影响食管癌患者生存率的主要问题. 韩春等<sup>[9]</sup>在后程加速超分割的基础上, 试图通过增加局部照射剂量的方法来提高食管癌的局部控制率和长期生存率, 结果显示75 Gy组近期疗效与60 Gy组相当, 两组患者1、3、5年局部控制率和生存率无统计学意义, 说明单纯局部加量并不能提高食管癌的长期疗效.

三维适形放疗技术通过适形照射野技术实现高剂量区的分布与靶区在三维空间上的形状一致, 而靶区之外的剂量迅速下降, 在提高肿瘤局部照射剂量的同时能有效保护周围正常组织器官. Bedford等<sup>[10]</sup>认为三维适形放疗技术能够在不增加全肺平均剂量的前提下使食管受照剂量增加5-10 Gy, 肿瘤局部控制率提高15%-25%. 三维适形放疗技术可以避免肿瘤靶区漏照或出于低剂量区, 在脊髓和肺等正常组织射线受量无明显增加的前提下使肿瘤靶区得到较高的处方剂量及合理的剂量分布. 王澜等<sup>[11]</sup>通过对100

表 4 两组患者失败原因比较 *n*

分组	复发/未控	复发+远处转移	区域淋巴结转移	远处转移
CF组	8	9	5	9
LCAF组	5	8	4	8

例首程接受三维适形放疗的患者进行观察, 结果显示1、2、3年局部控制率分别为73.49%、55.21%、42.77%, 1、2、3年总生存率分别为73.25%、48.09%、43.39%, 中位生存期24 mo, 其1、3年生存率与后程加速超分割放疗技术相比似有提高. 国内部分报道也认为食管癌三维适形放射治疗可提高局部控制率和近期生存率, 但不增加放疗不良反应<sup>[12,13]</sup>.

将后程加速超分割技术与三维适形放疗相结合, 即LCAF, 既能避免肿瘤靶区漏照或处于低剂量区, 又能克服肿瘤干细胞的加速再增殖, 能进一步提高食管癌患者的近期疗效和远期生存率. 李任等<sup>[14]</sup>通过对120例食管癌患者的非随机研究显示三维适形放疗常规分割组和后程加速超分割组的1、2、3年局部控制率分别是88.1%、79.0%、74.4%和81.9%、62.9%、47.9%, 1、2、3年生存率分别为76.9%、53.9%、44.9%和69.1%、41.8%、31.8%. 孙新东等<sup>[15]</sup>通过对269例可手术食管癌患者进行后程加速超分割适形放射治疗与手术治疗的随机对照研究, 结果显示手术组1、3、5年总生存率分别为93.3%、61.5%和36.9%, 适形放疗组分别为88.6%、56.2%和34.7%, 两者间差异无统计学意义, 表明可手术的食管癌患者采用后程加速超分割适形放射治疗, 其疗效可与手术治疗相当. 本研究中CF组与LCAF组相比均显示出较好的疗效, 但两组患者1、2、3年局部控制率和生存率差异亦无统计学意义, 长期生存率差异是否有统计学意义, 这有赖于长期随访后证实. 本研究LCAF组放射性食管炎发生率93.8%, 明显高于CF组, 差异有统计学意义, 且较常规分割放疗的出现时间早、不良反应重并且持续时间较长. CF组和LCAF组 $\geq 2$ 级放射性肺损伤的发生率仅分别为10%和6.25% ( $P = 0.498$ ), 这与相关文献报道一致. 从两组患者治疗失败的原因看, CF组与LCAF组相似, 局部/区域未控和复发仍然是治疗失败的主要原因, 失败率分别为44%和35.4%, 死于远地转移分别为36%和33.3%, 为治疗失败的次要原因, 与以往研究结果相比. 两组患者死于

# 应用要点

食管癌后程加速超分割适形放射治疗的局部控制率和近期生存率稍优于常规适形放射治疗, 但其放射性食管炎发生率较高.

## ■同行评价

本文可读性较好, 为临床应用提出了新的研究课题即如何避免放射性食管炎.

复发和未控的比率有所下降, 分析其原因可能为采用三维适形放疗技术后, 肿瘤局部照射剂量及其均匀性均有提高, 患者的局部复发和未控风险性降低, 获得了相对较长的生存期限, 延长了观察时间, 因而出现了更多的转移个体. 三维适形放疗技术虽然解决了部分肿瘤和(或)部分转移淋巴结在二维放疗技术时漏照或处于低剂量区的问题, 仍出现较高局部复发和未控的风险, 本组所有局部复发病例均复阅原适形放疗计划, 发现复发部位均在原治疗计划90%剂量曲线内, 可以排除复发属于漏照或低剂量的原因, 应考虑食管肿瘤内在放射敏感性存在差异, 因此从分子生物学角度寻找食管肿瘤易复发和未控的原因, 探寻食管癌放射敏感性的相关因素, 以指导确定临床个体化的放疗靶区、分次剂量和总剂量, 提高肿瘤局部控制率的同时降低远处转移率从而提高生存率, 将是今后的研究方向之一.

## 4 参考文献

- 1 殷蔚伯, 于子豪, 徐国镇, 胡逸民. 肿瘤放射治疗学. 第4版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008: 555-563
- 2 韩春, 万钧, 周道安, 杨香然, 祝淑钗. 100例食管癌后程加速放疗的研究. 中华放射肿瘤学杂志 1997; 6: 16-18
- 3 施学辉, 吴根娣, 刘新伟, 马学军. 后程加速超分割放疗治疗食管癌的长期疗效. 中华放射肿瘤学杂志 1997; 6: 12-15
- 4 盛晓芳, 梅步铎, 柴明礼, 沈学明, 顾怀谷, 宋明珠. 后程加速超分割放疗中胸段食管癌临床Ⅲ期试验. 中华放射肿瘤学杂志 1998; 7: 86-89
- 5 赵快乐, 汪洋, 施学辉. 食管癌后程加速超分割放疗治疗的临床分析. 中华放射肿瘤学杂志 2001; 10: 14-16
- 6 汪洋, 施学辉, 何少琴, 姚伟强, 王颖, 郭小毛. 超分割放疗治疗食管癌的远期疗效和预后分析. 中华放射肿瘤学杂志 2003; 12: 4-8
- 7 肖泽芬, 章众, 张红志, 戴建荣, 梁军, 韩伟. 用三维治疗计划系统评估食管癌常规放疗治疗中肿瘤剂量的分布. 中华放射肿瘤学杂志 2004; 13: 273-277
- 8 王澜, 韩春, 祝淑钗, 迟子峰, 曹彦坤. 食管癌常规照射与三维适形放疗的剂量学研究. 中华放射肿瘤学杂志 2006; 5: 176-180
- 9 韩春, 杨香然, 王军, 麻国新, 肖爱勤, 张辛. 食管癌后程加速超分割照射剂量学研究. 中华放射肿瘤学杂志 2005; 14: 398-400
- 10 Bedford JL, Viviers L, Guzel Z, Childs PJ, Webb S, Tait DM. A quantitative treatment planning study evaluating the potential of dose escalation in conformal radiotherapy of the oesophagus. *Radiation Oncol* 2000; 57: 183-193
- 11 王澜, 韩春, 张辛, 王军, 肖爱勤, 麻国新. 食管癌三维适形放疗疗效观察. 中国肿瘤临床 2008; 35: 424-427
- 12 牛道立, 胡慧玲, 任春丽, 曲智锋. 三维适形放射治疗食管癌临床疗效分析. 中华放射肿瘤学杂志 2004; 13: 193-195
- 13 张宜勤, 陆进成, 翟振宇, 魏青. 三维适形放疗食管癌临床研究的初步结果. 中华放射肿瘤学杂志 2005; 14: 31-34
- 14 李任, 沈文斌, 祝淑钗, 王玉祥, 李娟, 苏景伟. 食管癌三维适形常规分割与后程加速超分割放疗120例初步分析. 临床荟萃 2008; 23: 328-330
- 15 孙新东, 于金明, 范晓丽, 任瑞美, 李明焕, 张国丽. 可手术食管癌采用手术与放射治疗的随机对照研究. 中华肿瘤杂志 2006; 28: 784-787

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》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)

# 血清蛋白指纹图与大肠癌预后诊断

王专, 李小琼, 王开正, 邓明明, 徐亮

王专, 泸州医学院附属医院脊柱外科 四川省泸州市 646000  
李小琼, 王开正, 泸州医学院附属医院检验科 四川省泸州市 646000  
邓明明, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000  
徐亮, 泸州医学院附属医院普外科 四川省泸州市 646000  
王专, 硕士, 主要从事临床诊断学数据挖掘方面的研究。  
作者贡献分布: 此课题由王专、李小琼及王开正设计; 研究过程由王专与李小琼操作完成; 研究所用试剂及分析工具由王开正提供; 病例资料主要由邓明明与徐亮提供; 数据分析由王专、李小琼及王开正完成; 本论文写作由王专与李小琼完成。  
通讯作者: 王开正, 教授, 硕士导师, 646000, 四川省泸州市, 泸州医学院附属医院检验科. kaizhengw@yahoo.com.cn  
收稿日期: 2010-08-31 修回日期: 2010-11-07  
接受日期: 2010-11-10 在线出版日期: 2010-12-18

## Serum protein fingerprinting for diagnosis and prognosis evaluation of colorectal cancer

Zhuan Wang, Xiao-Qiong Li, Kai-Zheng Wang,  
Ming-Ming Deng, Liang Xu

Zhuan Wang, Department of Spinal Surgery, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China  
Xiao-Qiong Li, Kai-Zheng Wang, Department of Laboratory Medicine, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China  
Ming-Ming Deng, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China  
Liang Xu, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China  
Correspondence to: Professor Kai-Zheng Wang, Department of Laboratory Medicine, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. kaizhengw@yahoo.com.cn  
Received: 2010-08-31 Revised: 2010-11-07  
Accepted: 2010-11-10 Published online: 2010-12-18

### Abstract

**AIM:** To identify differentially expressed proteins for diagnosis and prognosis evaluation of colorectal cancer by serum protein fingerprint in colorectal cancer patients.

**METHODS:** Serum protein fingerprinting was performed by surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (SELDI-TOF-MS) in 45 colorectal cancer patients, 14 colorectal cancer having a good prognosis (no postoperative recurrence and metastasis), 13 colorectal cancer patients having a poor prognosis

(having recurrence or metastasis), 24 patients with benign gastrointestinal disease, and 155 healthy controls. The Biomarker Wizard software was used to identify differential proteins. Two respective artificial neural network (ANN) models were developed for diagnosis and prognosis evaluation of colorectal cancer.

**RESULTS:** Seven proteins that displayed significant differential expression were identified (all  $P < 0.01$ ), and their molecular weight was 4 955 Da, 5 325 Da, 5 890 Da, 6 615 Da, 7 739 Da, 8 109 Da, and 8 575 Da, respectively. Using these seven protein markers, we developed an artificial neural network model for diagnosis of colorectal cancer. Furthermore, five proteins that had a molecular weight of 4 955 Da, 5 325 Da, 5 890 Da, 6 615 Da, and 7 739 Da were used to develop an artificial neural network model for evaluation of the prognosis of colorectal cancer. The sensitivity, specificity, negative predictive value, positive predictive value, and accuracy of the diagnostic model were 82.22%, 80.45%, 94.74%, 51.39% and 80.80%, respectively. The coincidence rate of the prognostic model for evaluation of recurrence and metastasis was 62.96%.

**CONCLUSION:** SELDI-TOF-MS serum protein fingerprinting allows identification of differentially expressed proteins in colorectal cancer to develop models for diagnosis and prognosis evaluation of the disease.

**Key Words:** Colorectal cancer; Surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; Artificial neural network; Prognosis; Proteomics

Wang Z, Li XQ, Wang KZ, Deng MM, Xu L. Serum protein fingerprinting for diagnosis and prognosis evaluation of colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3745-3751

### 摘要

**目的:** 研究从不同病程的大肠癌患者血清蛋白指纹图谱中筛选出的特征蛋白质组, 以期对大肠癌患者进行预后判断以及帮助制定个体化的医疗措施。

### ■背景资料

癌细胞在生长和代谢过程中, 必定会留下蛛丝马迹, 只是限于一般检测手段的灵敏度低而不易被发现。高通量和高灵敏度的SELDI-TOF-MS技术的应用, 是研究蛋白质的表达水平、翻译后的修饰、蛋白与蛋白的相互作用的重要工具, 由此能够获得蛋白质水平上的关于疾病发生、发展、细胞代谢等过程的整体而全面的认识。

### ■同行评议者

曹志成, 英国生物医学科学研究所院士, 香港伊利沙伯医院临床肿瘤科

## ■ 研发前沿

大肠癌细胞侵袭和转移的分子生物学机制的研究是近几年的研究热点,已发现一些癌基因、抑癌基因在大肠癌的侵袭和转移中起着重要作用。

**方法:** 用高通量高灵敏的表面增强激光解析电离飞行时间质谱技术(SELDI-TOF-MS)检测大肠癌组(45例)、术后预后良好组(术后无复发和无转移14例)、术后预后不良组(术后复发或转移13例)、肠道良性疾病组(24例)和健康人群组(155例)的血清蛋白指纹图谱,利用Biomarker Wizard软件进行差异蛋白质筛选,人工神经网络技术建立大肠癌的诊断模型和预后模型,并检验模型的诊断效率。

**结果:** 筛选出7个表达有明显差异的标志蛋白质( $P < 0.01$ ),其相对分子质量为4 955 Da、5 325 Da、5 890 Da、6 615 Da、7 739 Da、8 109 Da、8 575 Da。利用这7个标志蛋白质建立人工神经网络大肠癌的诊断模型,再利用相对分子质量为4 955 Da、5 325 Da、5 890 Da、6 615 Da、7 739 Da的5个差异蛋白建立人工神经网络大肠癌的预后模型。其中诊断模型对大肠癌的诊断灵敏度和特异度分别为82.22%和80.45%,阴性预测值94.74%,阳性预测值51.39%,准确度为80.80%。预后模型对大肠癌术后复发或转移的诊断符合率为62.96%。

**结论:** 从SELDI-TOF-MS血清蛋白指纹图谱中找到了大肠癌不同病程时期的标志蛋白质组,并建立了大肠癌的分类树模型。

**关键词:** 大肠癌; 表面增强激光解析电离飞行时间质谱技术; 人工神经网络; 预后判断; 蛋白组学

王专, 李小琼, 王开正, 邓明明, 徐亮. 血清蛋白指纹图与大肠癌预后诊断. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3745-3751  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3745.asp>

## 0 引言

大肠癌的发病率和死亡率在欧美及中国均居前列。目前大肠癌的诊断及治疗较30年前发生了很大的改进,但其发病率和死亡率并未发生根本的变化,主要原因在于缺乏高灵敏度、特异度的早期诊断方法。另外大肠癌也有年轻化的趋势,且症状隐匿,病情发展快,多数患者被诊断为大肠癌时已属中晚期。目前还没有任何一种优良的大肠癌血清肿瘤标志物可用于临床作为检测的区分标准。

癌细胞在生长和代谢过程中,必定会留下蛛丝马迹,只是限于一般检测手段的灵敏度低而不易发现。高通量和高灵敏度的表面增强激光解析电离飞行时间质谱技术(surface-enhanced laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, SELDI-TOF-MS)技术的应用,是蛋

白质的表达水平、翻译后的修饰、蛋白与蛋白的相互作用的重要工具,由此能够获得蛋白质水平上的关于疾病发生、发展、细胞代谢等过程的整体而全面的认识。

大肠癌细胞侵袭和转移的分子生物学机制的研究是近几年的研究热点,已发现一些癌基因、抑癌基因在大肠癌的侵袭和转移中起着重要作用<sup>[1]</sup>。我们应用蛋白质组学方法筛选与大肠癌复发或转移相关的蛋白质,从而筛选特异性蛋白标志物,以期对大肠癌患者个体化医疗提供帮助。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 标本为2009-07/2010-04收集的泸州医学院附属医院的门诊及住院患者共251例血清标本。分为大肠癌组、预后不良组、预后良好组、肠道良性疾病组和健康人组。大肠癌组45例: 大肠癌患者均经结肠镜病理检查确诊全部为初发大肠腺癌45例,无周围淋巴结转移,其中结肠癌10例,直肠癌35例,男27例,女18例,年龄33-76岁; 预后不良组13例: 术后1年后有复发或转移,男9例,女4例,年龄26-81岁; 预后良好组14例: 术后1年内无复发和无转移组,男10例,女4例,年龄41-71岁; 肠道良性疾病组24例(其中结肠息肉15例、慢性炎症8例、溃疡性结肠炎1例),男10例,女14例,年龄21-65岁; 正常人组155例,男80例,女75例,年龄35-65岁。其中各组在性别比例和年龄上无统计学差异。

### 1.2 方法

**1.2.1 样品的收集:** 各组血清标本均为清晨空腹采血5 mL后立即放入4℃冰箱静置2 h, 4℃、1 000 r/min离心30 min,吸取血清分装成50 μL/管,置于-80℃冰箱保存。

**1.2.2 样本的准备:** 将保存于-80℃的样品取出常温下融解,10 000 r/min离心2 min,后将分离的血清标本与10 μL PBS Buffer( $\times 10$ )按一定比例混合,混匀。吸取2倍体积的半饱和葡萄糖球菌蛋白A(staphylococcal protein A, SPA)加入样品混合管,充分混匀,静置5-10 min。吸取待测混合血清样品2 μL,于活化的金芯片(gold ship, AU)上点样,待检。

**1.2.3 芯片的预处理:** 50 μL丙酮,在层析柜中600 r/min, 5 min。50 μL盐酸,在层析柜中600 r/min, 5 min。50 μL盐酸甲醇液,在层析柜中600 r/min, 5 min。50 μL甲醇液,在层析柜中600 r/min, 5 min。拍干,下架,空气中晾干待用。



表 1 大肠癌血清差异蛋白质质谱峰强度值比较 (mean  $\pm$  SD)

分组	n	4 955 Da	5 325 Da	5 890 Da	6 615 Da	7 739 Da	8 109 Da	8 575 Da
大肠癌组	45	13.59 $\pm$ 8.98	16.14 $\pm$ 12.08	35.92 $\pm$ 23.89	13.42 $\pm$ 8.17	38.30 $\pm$ 14.96	33.00 $\pm$ 20.73	27.44 $\pm$ 17.58
良性疾病组	24	11.69 $\pm$ 9.36	18.60 $\pm$ 14.73	23.12 $\pm$ 17.87	18.37 $\pm$ 13.25	31.36 $\pm$ 11.34	30.23 $\pm$ 24.85	26.66 $\pm$ 21.17
正常人组	155	5.81 $\pm$ 7.96	6.87 $\pm$ 7.65	17.32 $\pm$ 15.76	16.56 $\pm$ 13.97	30.71 $\pm$ 17.50	11.05 $\pm$ 11.30	15.83 $\pm$ 12.95
组间 $P$ 检验		$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.001$	$P < 0.001$

1.2.4 芯片上样: 将处理好的样品2  $\mu$ L点样于芯片中央. 干后用半饱和的SPA 1  $\mu$ L, 5 min后再点1  $\mu$ L.

1.2.5 芯片检测: AU蛋白芯片, 基质峰Average Intensity为60左右的仪器参数: 相对分子质量范围: 1 000-100 000; 优化范围: 2 000-20 000; 检测激光强度为175; 检测敏感性为9; 数据收集方法: Seldi Quantitation. 仪器采用Ciphergen公司提供的all-in-one蛋白质标准分子进行校正, 设定仪器参数, 系统的质量偏差 $\leq 0.1\%$ .

1.2.6 差异蛋白质的筛选: 利用SELDI-TOF-MS技术筛选大肠癌患者组、肠道良性疾病组和正常人组共3组224例的差异蛋白, 建立人工神经网络(artificial neural network, ANN)大肠癌的诊断模型; 再利用SELDI-TOF-MS技术筛选术后预后良好组和术后预后不良组共2组27例的差异蛋白, 建立ANN大肠癌的预后模型.

1.2.7 ANN诊断模型和预后模型的建立: (1)ANN诊断模型: 用大肠癌患者组、肠道良性疾病组和正常人组共3组224例血清标本建立大肠癌的ANN诊断模型. 采用ANN技术, 将其输入层、隐含层1、输出层的节点分别设置7、2、1. 设定训练集大肠癌组的目标输出值为1, 其他2组的目标输出值为0, 训练次数为1 000, 学习率为0.01, 采用动量反向传播(back-propagation)算法, 建立并存储ANN诊断模型. (2)预后模型: 用大肠癌术后预后良好组和术后预后不良组共2组27例血清标本建立大肠癌的ANN预后模型. 采用ANN技术, 将其输入层、隐含层1、隐含层2、输出层的节点分别设置5、3、3、1. 设定训练集大肠癌术后复发或转移组的目标输出值为1, 术后预后良好组的目标输出值为0, 训练次数为1 000, 学习率为0.01, 采用动量反向传播算法, 建立并存储ANN预后模型.

1.2.8 诊断模型和预后模型的回验: (1)诊断模型: 利用双盲的方法, 将验证集中大肠癌组和其他2组血清蛋白标志物质谱数据输入模型进行模拟仿真计算, 设定cut-off值为0.5. 当输出值在

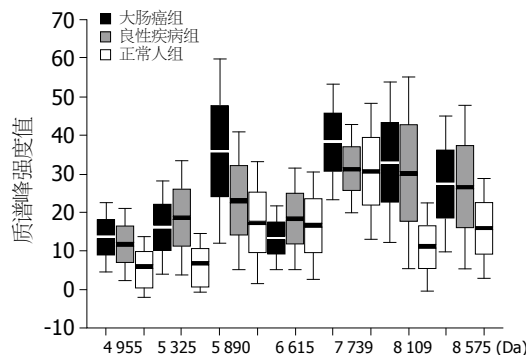


图 1 7个大肠癌血清差异蛋白质质谱峰强度值变化趋势.

0.5(含0.5)-1时, 归为大肠癌; 当输出值在0-0.5时, 归为非大肠癌. 通过模拟计算的结果, 对实验诊断模型的诊断效能进行评价. (2)预后模型: 将验证集中大肠癌术后预后良好组和术后预后不良组数据输入模型进行回验, 设定cut-off值为0.45. 当输出值在0.45(含0.45)-1时, 归为大肠癌术后复发或转移; 当输出值在0-0.45时, 归为术后预后良好. 通过模拟计算的结果, 对实验预后模型的符合率进行评价.

## 2 结果

2.1 大肠癌血清差异蛋白质 大肠癌的诊断模型中, 从大肠癌患者组、肠道良性疾病组和正常人组共3组224个样品的血清蛋白质谱指纹图中筛选出差异蛋白质316个( $P < 0.05$ ), 从中筛选出7个表达有明显差异的标志蛋白质( $P < 0.01$ ), 其相对分子质量为4 955、5 325、5 890、6 615、7 739、8 109、8 575 Da, 其质谱值见表1, 强度值变化趋势见图1, 典型样本蛋白质谱指纹图见图2.

2.2 大肠癌预后标志蛋白质 大肠癌的预后模型从大肠癌术后预后良好组和预后不良组共2组27个样品的血清蛋白指纹图谱, 得到差异蛋白质23个( $P < 0.05$ ), 从中筛选出5个表达有明显差异的标志蛋白质( $P < 0.01$ ), 其相对分子质量为4 955、5 325、5 890、6 615、7 739 Da, 其质谱峰强度值见表2, 强度值变化趋势见图3, 典型样

## ■ 相关报道

Roboz等采用SELDI-TOF-MS, 选择H4芯片分析了大肠癌患者与正常对照之间的血清蛋白图谱之间的差异, 其中大肠癌患者高表达8 942 Da蛋白, 而9 300 Da的蛋白呈低表达, 上述两种蛋白在正常对照组中的表达情况与患者组正好相反.



### ■ 创新盘点

本研究采用Au芯片分离血清蛋白并采集质谱指纹图,发现了可以快速识别经病理确诊为大肠癌患者的血清蛋白标志物。通过数据挖掘可以得到能准确鉴别大肠癌术前、术后和复发或转移的血清蛋白分类树模型,能够提高大肠癌的早期诊断水平,对大肠癌预后判别具有重要意义。

表 2 2组中的5个大肠癌预后标志差异蛋白质谱峰强度值比较 (mean  $\pm$  SD)

分组	n	4 955 Da	5 325 Da	5 890 Da	6 615 Da	7 739 Da
大肠癌术后预后良好组	14	5.37 $\pm$ 9.31	6.24 $\pm$ 9.63	18.90 $\pm$ 20.59	18.13 $\pm$ 10.11	10.88 $\pm$ 11.56
大肠癌术后预后不良组	13	23.57 $\pm$ 5.93	28.48 $\pm$ 14.76	43.71 $\pm$ 18.51	7.32 $\pm$ 8.94	36.70 $\pm$ 9.27
组间t检验		$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$

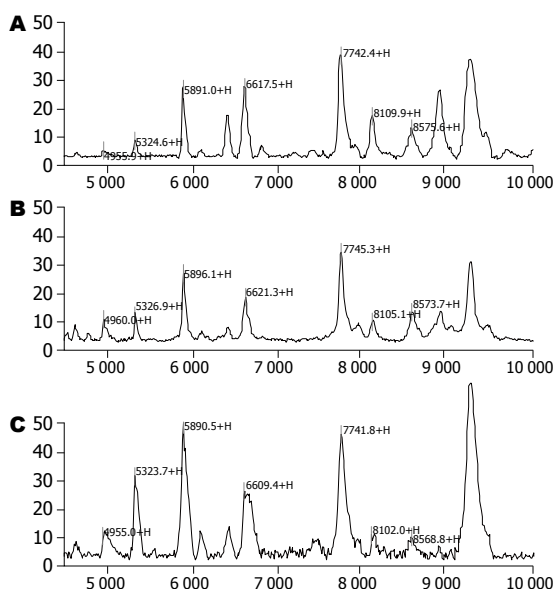


图 2 典型样本7个大肠癌血清差异蛋白质质谱指纹图。A: 正常人组; B: 肠道良性疾病组; C: 大肠癌组。

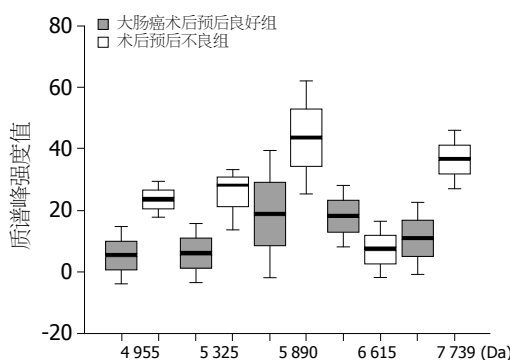


图 3 大肠癌术前与术后5个大肠癌预后标志差异蛋白质谱峰强度值变化趋势。

本蛋白质谱指纹图见图4。

2.3 大肠癌的诊断模型 用大肠癌患者术前组45例(目标输出值为1), 肠道良性疾病组24例和正常人组155例(目标输出值为0)共224例, 将7个差异蛋白质质谱峰强度作为7个输入节点, 建立大肠癌的ANN诊断模型。其ROC曲线和数据集(表3, 图5), 该模型对大肠癌的诊断灵敏度和特异度分别为82.22%和80.45%, 阴性预测值94.74%, 阳性预测值51.39%, 准确度为80.80%。大肠癌的ANN诊断模型, 其ROC曲线下面积为0.786。

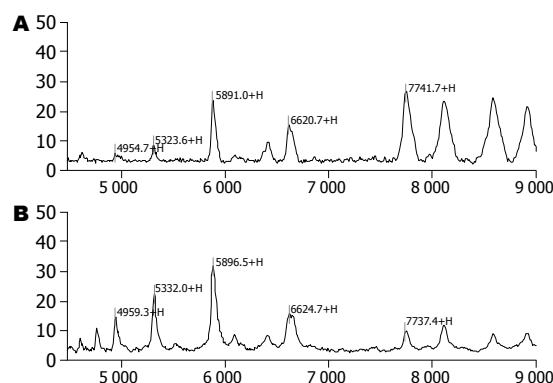


图 4 大肠癌术前与术后典型样本5个大肠癌预后标志差异蛋白质质谱指纹图。A: 大肠癌术后预后良好组; B: 大肠癌术后预后不良组。

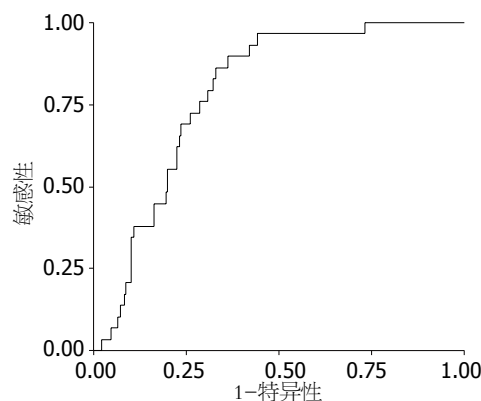


图 5 大肠癌的ANN诊断模型ROC曲线。

2.4 大肠癌的预后模型 用筛选出的大肠癌患者术后无复发和无转移组与术后复发或转移组的5个差异蛋白质组建立大肠癌术后预后模型。通过回验, 该模型的检验符合率为62.96%。

2.5 差异蛋白的初步分析 通过SELDI-TOF-MS技术得到蛋白质指纹图谱, 再搜索数据库, 鉴定出相应的蛋白质, 以达到进一步研究蛋白质的组成、结构和功能的目的, 最终阐明该蛋白质在疾病的发生、发展中的作用机制, 以期通过阻断致癌机制或加强抑癌机制而达到基因预防和基因治疗的目的。Shiwa等<sup>[2]</sup>利用疏水性(H4)芯片、SELDI-TOF-MS和数据库搜索, 鉴定与相对分子质量12 000 Da对应的蛋白质是前胸腺素- $\alpha$ (prothymosin- $\alpha$ )。本研究中筛选出的7个差

表 3 大肠癌的ANN诊断模型数据集 (%)

ANN仿真计算值	灵敏度	特异度	准确度	阴性预测值	阳性预测值
0.1	100.00	10.06	28.13	100.00	21.84
0.2	100.00	19.55	35.71	100.00	23.81
0.3	97.78	41.90	53.31	98.68	29.73
0.4	95.56	45.25	55.36	97.59	30.50
0.5	82.22	80.45	80.80	94.74	51.39
0.6	53.33	91.62	83.93	88.65	61.54

## ■应用要点

帮助诊断和筛查大肠癌患者,有助于了解大肠癌发生、进展及转移的机制,为深入进行癌细胞浸润的蛋白质组和基因组学研究提供新的有效方法。

异蛋白为4 955、5 325、5 890、6 615、7 739、8 109、8 575 Da, 经Swiss-Prot蛋白数据库检索, 其中5 325和5 890 Da分别为脱羧酶蛋白和UPF蛋白, 可能是加强了致癌基因的作用, 而使在大肠癌术后复发或转移时升高为高表达, 其详细的作用机制尚需进一步的深入研究。6 615 Da为复制时的DNA解螺旋酶。生物基因信息的表达是通过基因DNA的翻译, 即蛋白质的生物合成而完成, 蛋白质结构和功能直接影响着生命的生理或病理条件下的变化过程。在机体发生肿瘤时, 癌基因大量活化, 肿瘤蛋白大量通过翻译而生物合成从而使机体产生癌症病理变化。DNA解螺旋酶在癌基因大量活化的复制、转录和翻译的过程中起促癌作用。差异蛋白6 615 Da在大肠癌组和大肠癌术后复发或转移组中是低表达, 其作用机制可能是DNA解螺旋酶活性下降, 癌基因的活化和肿瘤蛋白的产生可能受到了抑制, 这样间接加强了抑癌因素的作用, 但其发生的精确机制尚需进一步的深入研究。

筛选出的7个差异蛋白中4 955、5 890、7 739、8 109和8 575 Da在正常人组、肠道良性疾病组和大肠癌组中是一个逐渐增高的趋势, 在大肠癌组中的表达均数是最高的。而差异蛋白6 615 Da在大肠癌组中为低表达, 而在肠道良性疾病组和正常人组为高表达, 在大肠癌术后无复发和无转移组中为高表达, 而在复发或转移时降低为低表达。

### 3 讨论

大肠癌是消化系常见的恶性肿瘤之一, 5年生存率随肿瘤分期的增高而显著降低<sup>[3-5]</sup>。因此早期诊断、及时治疗是提高结直肠癌预后的主要因素。目前大肠癌的诊断主要依赖于对高危人群进行体格检查、大便潜血试验、X线、CT、纤维结肠镜, 但是这些方法对大肠癌的诊断, 尤其是对I期的诊断较为困难。发现对大肠癌不同分期和亚型有意义的标志物对结直肠癌的预

防、诊断及治疗有重要意义<sup>[6,7]</sup>。

肿瘤是一个多因素多阶段的慢性疾病, 在疾病发生发展的过程中, 一些肿瘤细胞的蛋白质或多肽可以被分泌到循环系统中, 血液的蛋白质组学可发生相应变化, 反映出机体的疾病状态, 从而使得应用血清进行大肠癌蛋白质组学研究、发现患者的血清特异标志物成为一种可能。而血清标志物的检测具有微创、患者易于接受等优点。

大肠癌的发生是多因素、多步骤共同作用的结果。涉及多个基因事件包括癌基因激活、抑癌基因失活和这些基因相关的表达水平变化、离子通道改变等, 从而导致细胞的失控性生长, 侵袭、损害正常组织。尽管目前已经发现很多与大肠癌相关的基因<sup>[8-10]</sup>, 但大肠癌发生的精确机制仍然未知。控制细胞增殖和分化的机制似乎受多种因素影响, 如细胞表面黏附蛋白, 趋化因子, 细胞外基质蛋白, 生长因子及其受体等。蛋白质作为发挥基因功能的载体, 在疾病的发生、发展中有更直接的意义。故近年来, 蛋白质组学技术在大肠癌的发生、发展研究中显示出越来越重要的作用。

由美国Ciphergen Biosystems公司发明的SELDI-TOF-MS技术是蛋白质芯片和质谱技术的结合, 主要由蛋白质芯片、芯片阅读器和生物信息学3大部分组成, 其表面为可结合蛋白质的固体点表面, 检测的灵敏度高, 可把传统方法检测不到的蛋白和多肽检测出来, 可直接分析患者血清、淋巴液、脑脊液、尿液、细胞分泌液等样品而无需复杂的样品制备, 继Petricoinetal等<sup>[11]</sup>利用SELDI-TOF-MS技术分析了116例血清标本(其中卵巢癌50例, 正常对照66例)得出可以完全检出卵巢癌的血清蛋白质分类树模型之后, SELDI-TOF-MS广泛用于卵巢癌、前列腺癌、肝癌、食管癌、结直肠癌等多种肿瘤的研究, 已成为肿瘤蛋白质组学主要技术平台之一。在大肠癌的应用中, Roboz等<sup>[12]</sup>采用SELDI-TOF-MS, 选择H4芯片分

#### ■同行评价

本文可读性较好,对临床医师诊断和筛查大肠癌患者具有一定的指导意义。

析了大肠癌患者与正常对照之间的血清蛋白图谱之间的差异,其中大肠癌患者高表达8 942 Da蛋白,而9 300 Da的蛋白呈低表达,正常对照组上述两个蛋白的表达情况与患者组正好相反。Jungblut等<sup>[13]</sup>对15例结直肠癌和13例正常结肠上皮标本进行2DE分析,发现在相对分子质量为13 000和PI值为56处的蛋白质仅出现在癌组织蛋白质图谱上,该低相对分子质量蛋白亦表达于溃疡性肠炎和息肉性腺瘤。

与这些有关大肠癌蛋白标志物研究相比较,我们选择了IMAC-Cu<sup>2+</sup>芯片和SELDI-TOF-MS技术共分析了251例血清标本,检测了大肠癌术前组45例、术后无复发和无转移组14例、术后复发或转移组13例、肠道良性疾病组24例和健康人群组155例的蛋白质谱图,利用大肠癌术前组、肠道良性疾病组和健康人群组建立的大肠癌诊断模型筛选出7个表达有明显差异的标志蛋白质,其相对分子质量为4 955、5 325、5 890、6 615、7 739、8 109、8 575 Da,差异具有统计学意义( $P<0.01$ )。利用大肠癌术后无复发和无转移组和术后复发或转移组建立的大肠癌复发或转移模型筛选出5个表达有明显差异的标志蛋白质,其相对分子质量为4 955、5 325、5 890、6 615、7 739 Da,差异具有统计学意义( $P<0.01$ )。分别建立了大肠癌的诊断和预后的分类树模型,利用大肠癌的诊断模型进行盲法预测,得到该模型对大肠癌的诊断灵敏度和特异度分别为82.22%和80.45%,阴性预测值94.74%,阳性预测值51.39%,准确度为80.80%。利用大肠癌的预后模型进行盲法预测,通过回验,该模型的检验符合率为62.96%。

相对于CEA和CA242等诊断大肠癌的血清标志物,目前常用的血清标志物如CEA、CA19-9、CA242、CA72-4以及组织多肽抗原等对大肠癌诊断的灵敏度、特异度都较低<sup>[14]</sup>,在CEA的研究中,总体的敏感性为43%-69%;在CA19-9的大多数研究中,总体的敏感性则为18%-65%;CA-242的敏感性和特异性都只有40%左右,而在组织多肽抗原的研究中,其敏感性则在50%以下<sup>[15]</sup>,相比较SELDI-TOF-MS分析方法具有较高的诊断率和较好的诊断意义。

本研究不仅选取了健康人群和具有一定癌变趋势的良性肠道病变进行研究,还选取了大肠癌术前的患者、术后无复发和无转移的患者和术后复发或转移的患者,旨在了解肠道良性病变向大肠癌演变过程中的变化,在大肠癌和

肠道良性疾病之间存在一些蛋白质分子的表达有显著性差异,这些蛋白可能是良性病变向大肠癌发展过程中呈连续变化趋势的蛋白,并了解大肠癌术前、术后、复发或转移时的一些蛋白分子的表达的差异,以期达到对大肠癌的早期诊断和远期预后判断的目的。

我们注意到在7个差异蛋白中6 615 Da的差异蛋白,查阅结直肠癌的蛋白质库中显示为复制时的DNA解螺旋酶。差异蛋白6 615 Da在大肠癌组和大肠癌术后复发或转移组中是低表达,其作用机制可能是DNA解螺旋酶活性下降,癌基因的活化、表达和肿瘤蛋白的产生可能受到了抑制,这样间接加强了抑癌因素的作用,其发生的精确机制尚需进一步深入研究。此途径的研究明确,将对研究阐述癌症的发生机制和癌症的基因治疗方面有所帮助。

今后我们将应用蛋白质组学技术鉴定所发现的差异蛋白及分类树模型中M/Z峰对应蛋白,以便进一步提高诊断大肠癌的灵敏度和特异度,并明确这些蛋白的来源,如宿主器官、肿瘤或代谢产物,以研究肿瘤蛋白在术前、术后和复发或转移时的变化情况,用于初步判断患者的远期预后情况。

总之,我们应用SELDI-TOF-MS和IMAC-Cu<sup>2+</sup>芯片发现了可以快速识别经病理确诊为大肠癌患者的血清蛋白标志物。结果表明应用SELDI-TOF-MS和IMAC-Cu<sup>2+</sup>芯片和有效的分析软件可以得到能准确鉴别大肠癌术前、术后和复发或转移的血清分类树模型,具有较高的灵敏度、特异度,对提高大肠癌的早期诊断水平、改善大肠癌预后具有重要的潜在意义。同时对其进行鉴定也有助于了解大肠癌发生、进展及转移的机制,为深入进行肿瘤的蛋白质组研究提供新的有效方法。

#### 4 参考文献

- 1 张振书, 张亚历. 中国大肠癌研究进展. 世界华人消化杂志 2001; 9: 489-494
- 2 Shiwa M, Nishimura Y, Wakatabe R, Fukawa A, Arikuni H, Ota H, Kato Y, Yamori T. Rapid discovery and identification of a tissue-specific tumor biomarker from 39 human cancer cell lines using the SELDI ProteinChip platform. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309: 18-25
- 3 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 71-96
- 4 陈万青, 张思维, 李连弟, 鲁凤珠, 赵平, 邹小农, 陈永红. 中国部分市县1998-2002年肺癌的发病与死亡. *中国肿瘤* 2006; 15: 430-448
- 5 O'Connell JB, Maggard MA, Liu JH, Etzioni DA, Ko

- CY. Are survival rates different for young and older patients with rectal cancer? *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 2064-2069
- 6 Crawford NP, Colliver DW, Galandiuk S. Tumor markers and colorectal cancer: utility in management. *J Surg Oncol* 2003; 84: 239-248
- 7 Duffy MJ, van Dalen A, Haglund C, Hansson L, Klapdor R, Lamerz R, Nilsson O, Sturgeon C, Topolcan O. Clinical utility of biochemical markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines. *Eur J Cancer* 2003; 39: 718-727
- 8 Rajagopalan H, Nowak MA, Vogelstein B, Lengauer C. The significance of unstable chromosomes in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 695-701
- 9 Cho WC, Yip TT, Yip C, Yip V, Thulasiraman V, Ngan RK, Yip TT, Lau WH, Au JS, Law SC, Cheng WW, Ma VW, Lim CK. Identification of serum amyloid a protein as a potentially useful biomarker to monitor relapse of nasopharyngeal cancer by serum proteomic profiling. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 43-52
- 10 Hundt S, Haug U, Brenner H. Blood markers for early detection of colorectal cancer: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 1935-1953
- 11 Petricoin EF, Ardekani AM, Hitt BA, Levine PJ, Fusaro VA, Steinberg SM, Mills GB, Simone C, Fishman DA, Kohn EC, Liotta LA. Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. *Lancet* 2002; 359: 572-577
- 12 Roboz J, Ma LH, Sung M. Protein Profiles of Serum in Colon Cancer by SELDI-TOF Mass Spectrometry. Proteomics, Poster Session A AACR, 2002: 190
- 13 Jungblut PR, Zimny-Arndt U, Zeindl-Eberhart E, Stulik J, Koupilova K, Pleissner KP, Otto A, Müller EC, Sokolowska-Köhler W, Grabher G, Stöfler G. Proteomics in human disease: cancer, heart and infectious diseases. *Electrophoresis* 1999; 20: 2100-2110
- 14 Bellacosa A. Genetic hits and mutation rate in colorectal tumorigenesis: versatility of Knudson's theory and implications for cancer prevention. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 38: 382-388
- 15 马向涛, 余力伟, 王杉, 杜如昱, 崔志荣. Stat5b/Survivin信号转导通路调控结肠癌细胞凋亡的机制. *中国病理生理杂志* 2007; 23: 1049-1052

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 •

### *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)

# 食管癌相关癌基因的研究进展

柏文霞, 刘伟, 施瑞华

## ■背景资料

食管癌已被公认为一种基因性疾病, 多种癌基因和抑癌基因协同作用而导致食管癌的发生发展. 随着分子生物学的快速发展, 癌基因在食管癌中的作用一直受到人们的重视.

柏文霞, 南京医科大学附属江宁医院消化科 江苏省南京市 211100

施瑞华, 刘伟, 南京医科大学附属第一医院消化科 江苏省南京市 210029

作者贡献分布: 本文综述由柏文霞与刘伟完成; 施瑞华审核.

通讯作者: 施瑞华, 教授, 主任医师, 210029, 江苏省南京市, 南京医科大学附属第一医院消化科. ruihuashi@126.com

收稿日期: 2010-08-17 修回日期: 2010-09-17

接受日期: 2010-10-13 在线出版日期: 2010-12-18

## Advances in research of esophageal carcinoma-related oncogenes

Wen-Xia Bai, Wei Liu, Rui-Hua Shi

Wen-Xia Bai, Department of Gastroenterology, the Affiliated Jiangning Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 211100, Jiangsu Province, China

Rui-Hua Shi, Wei Liu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Professor Rui-Hua Shi, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. ruihuashi@126.com

Received: 2010-08-17 Revised: 2010-09-17

Accepted: 2010-10-13 Published online: 2010-12-18

## Abstract

The development and progression of esophageal carcinoma involve the changes in many oncogenes. In this article, we summarize the roles of some oncogenes, such as TMEM16A, CTHRC1 and integrin  $\alpha 6$  subunit, in the development of esophageal carcinoma. Elucidation of the roles of esophageal carcinoma-related oncogenes will be helpful in terms of early diagnosis, evaluation of prognosis and molecular diagnosis of esophageal carcinoma.

Key Words: Esophageal carcinoma; Oncogene; Transmembrane 16A gene; Collagen triple helix repeat containing 1 gene; Integrin  $\alpha 6$  subunit; Study

Bai WX, Liu W, Shi RH. Advances in research of esophageal carcinoma-related oncogenes. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3752-3755

## 摘要

食管癌的发生发展涉及多个癌基因改变, 本

文就几个上调基因: TMEM16A, CTHRC1, 整合素 $\alpha 6$ 亚基作简要阐述, 为食管癌的早期诊断、预后评估及基因诊治探索可行途径.

关键词: 食管癌; 相关癌基因; 跨膜蛋白16A; 胶原三股螺旋重复蛋白1; 整合素 $\alpha 6$ 亚基; 研究

柏文霞, 刘伟, 施瑞华. 食管癌相关癌基因的研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3752-3755

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3752.asp>

## 0 引言

食管癌和其他恶性肿瘤一样, 已被公认为一种基因性疾病, 多种癌基因和抑癌基因协同作用而导致食管癌的发生发展. 随着分子生物学的快速发展, 癌基因在食管癌中的作用一直受到人们的重视. 近年来食管癌基因表达谱的研究工作成为热点, 为深入阐明其发生发展的分子机制提供了强有力的依据. 虽然研究发现有些癌基因(包括cyclin D1、e-erbB-2、c-myc、c-ras等)、抑癌基因(包括p53、Rb、APC、MCC等)和凋亡基因(包括bcl-2家族、Fas和FasL、Survivin等)与食管癌的发生发展有关, 但是至今仍然没确认一个与食管癌直接有关的基因, 许多候选基因在食管癌的发生发展中的作用仍需进一步研究. 我们已采用Agilent公司研制的寡核苷酸芯片技术比较了食管鳞癌组织和癌旁组织以及正常食管组织的基因表达差异, 综合两者差异表达基因中相同的差异表达, 筛选相关基因进行RT-PCR验证, 以期鉴定与食管鳞癌发生发展相关的新基因, 为阐明疾病进展的分子机制提供依据, 并为临床治疗提供新的靶点. 本文就筛选出的几个上调基因: TMEM16A, CTHRC1, 整合素 $\alpha 6$ 亚基等作一综述.

## 1 跨膜蛋白16A基因

跨膜蛋白16A(transmembrane 16A, TMEM16A)基因, 是2003年被日本学者Katoh等<sup>[1]</sup>首先报道, 又名TAOS2<sup>[2]</sup>, DOG1<sup>[3]</sup>, FLJ10261或ORA0V2<sup>[4]</sup>, 是TMEM家族的一员<sup>[5]</sup>. Katoh等<sup>[1]</sup>描述了TMEM16A基因的特征, NM-018043.1 cDNA, 对

## ■同行评议者

李淑德, 主任医师, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科



应核苷酸DKFZp68601156cDNA的1129-4258, DKFZp68601156的50-3010是其编码区. 它具有26个外显子, 位于人11号染色体长臂1区3带的CCND1-ORAOV1-FGF19-FGF4-FGF3-TMEM1-6A-FADD-PPFIA1-CTTN(cortactin or EMS1)基因座内的FGF3和FADD基因之间, 存在两种异构体. 其mRNA表达于胃癌、头颈部肿瘤、甲状腺肿瘤、乳腺癌、前列腺癌、食管癌. 其机制尚不明确. 最近, Yang等<sup>[6]</sup>、Schroeder等<sup>[7]</sup>、Caputo等<sup>[8]</sup>分别用生物信息学, 纤维注射后分析mRNA, 利用IL-4刺激再用RNAi发现TMEM16A是个新钙激活Cl-通道蛋白. 有研究发现<sup>[9]</sup>, TMEM16A是Cajal间质细胞的胃肠道平滑肌慢波活动的基础.

在食管癌方面, Carneiro等<sup>[10]</sup>采用基于阵列的比较基因组杂交获得全基因组拷贝编码, 以辨别混乱的途径和寻找临床可应用的标志. 30个区域被发现在食管癌中有高级别扩增, 尤其是7p11(EGFR), 11q13(MYEOV, CCND1, FGF4, FGF3, PPFIA, FAD, TMEM16A, CTTS和SHANK2)和11q22(PDFG). TMEM16A被发现在该区域内. 他们利用以阵列为基础的比较基因组杂交谱, 证实了食管鳞状细胞癌发生发展具有复杂的遗传学改变, 内在地揭示了多个重要的分子通路在肿瘤发生过程中的作用并不一致. 这些异常改变能与不同的临床病理类型联系, 且能独立预测患者存活. 我们也应用免疫组织化学SP法及Western blot法检测食管鳞癌组织及相应癌旁组织的TMEM16A蛋白表达, 发现TMEM16A在食管鳞癌组织中的表达明显高于癌旁组织<sup>[11]</sup>, 表明TMEM16A可能在食管癌的发生中有一定的作用.

自TMEM16A基因发现以来, 引起了人们的广泛重视, 取得了一些进展, 但TMEM16A基因的表达调控机制、生物学功能和在肿瘤发生发展中的机制等仍不明确, 这些都有待于进一步研究和探讨.

## 2 胶原三股螺旋重复蛋白1基因

哺乳动物胶原三股螺旋重复蛋白1(collagen triple helix repeat containing 1, CTHRC1)基因最先是在正常大鼠动脉和球状损伤动脉的差异表达序列筛选中发现<sup>[12]</sup>. 最近研究报道显示, CTHRC1的异常高表达广泛存在于人类多种实体瘤(例如乳腺癌和黑素瘤等)中, 可能与癌组织的侵袭和恶性化有关<sup>[13]</sup>. CTHRC1基因包含一个N端信号肽、一段36个氨基酸的胶原三螺旋以及一个C端

球状结构域<sup>[13]</sup>. 在人和大鼠中, 该基因的氨基酸序列具有92%的同源性<sup>[13]</sup>. CTHRC1基因在大鼠动脉的损伤处、重塑动脉外膜的成纤维细胞和新生内膜的平滑肌细胞中都有短暂表达. 在大鼠成纤维细胞中该基因的高表达会促进细胞迁移并抑制I型胶原的合成<sup>[12]</sup>, 从而提示CTHRC1通过限制胶原基质沉淀和促进细胞迁移参与了血管的损伤修复. 而越来越多的证据表明, 组织的修复与肿瘤发生之间有很紧密的关联<sup>[14-16]</sup>.

CTHRC1基因与人类肿瘤的关系首先是在乳腺癌中被报道, cDNA芯片和原位杂交分析发现, 在乳腺癌的基质细胞中有该基因的mRNA表达<sup>[17,18]</sup>. 此后又有研究报道在黑素瘤中该基因也存在差异表达, 并且对癌细胞的侵袭和转移起作用<sup>[13]</sup>. 最近有报道: CTHRC1在直肠癌侵袭转移中可能起重要作用<sup>[19]</sup>. 我们已通过基因芯片研究发现CTHRC1基因在人类食管鳞癌组织中有较高表达, 但是关于CTHRC1如何发挥功能的具体分子机制仍不清楚. 有序列分析发现, 在CTHRC1的启动子区域有一个Smad的结合位点, 该位点与TGF- $\beta$ 和BMP4的调控有关<sup>[13]</sup>. 因此, CTHRC1在肿瘤细胞中的表达上调可能由TGF- $\beta$ /BMP4通路的激活引起. 另外, 由于CTHRC1是一个分泌蛋白, 他也可能是通过调节肿瘤微环境来发挥功能. 已有许多报道证实, 肿瘤微环境在肿瘤细胞的生长、侵袭和转移中有极其重要的作用<sup>[20,21]</sup>. 当CTHRC1蛋白在鼠纤维母细胞中表达上调时, 可以抑制I型胶原的合成, 因此CTHRC1可能是通过降低细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分的合成, 从而为肿瘤细胞的侵袭和转移创造合适的细胞外环境.

## 3 整合素 $\alpha 6$ 亚基

整合素 $\alpha 6$ 亚基是1991年被Hogervorst等<sup>[22]</sup>发现并克隆的癌基因. 编码人整合素 $\alpha 6$ 亚单位的基因位于第2号染色体上, cDNA全长3 450个碱基. 作为一种跨膜糖蛋白, 其膜外区为991个氨基酸残基; 中间23个氨基酸残基构成疏水性单跨膜区; 羧基端36个氨基酸残基形成短的胞内区. 整合素(integrin)属于细胞表面的黏附分子类, 他作为ECM的受体, 可以通过介导细胞与细胞、细胞与ECM间的识别与结合而影响细胞的基因表达和各种生物学行为, 与肿瘤的发生、发展和转移有着非常密切的关系<sup>[23,24]</sup>. 整合素 $\alpha 6$ 亚单位主要和 $\beta 1$ 及 $\beta 4$ 亚单位非共价结合形成异二聚体( $\alpha 6\beta 1$ 和 $\alpha 6\beta 4$ )而发挥作用, 其作用主要依赖于胞外区, 是层粘连蛋白(laminin, LN)的单特异

## ■ 研发前沿

近年来食管癌基因表达谱的研究工作成为热点, 为深入阐明其发生发展的分子机制提供了强有力的依据. 至今仍然没确认一个与食管癌直接有关的基因, 许多候选基因在食管癌的发生发展中的作用仍需进一步研究.

## ■应用要点

TMEM16A, CTHRC1, 整合素 $\alpha 6$ 亚基有望成为食管癌分子诊断、基因治疗和预后评估提供新的分子靶点。

受体。LN受体与恶性肿瘤侵袭转移有关<sup>[25]</sup>。目前,已有研究表明,多种恶性肿瘤如结肠癌、纤维肉瘤、乳腺癌、肝癌<sup>[26]</sup>、胰腺癌<sup>[27]</sup>中均显示有层粘连蛋白结合蛋白(laminin binding protein, LBP)及整合素 $\alpha 6$ 的显著增高表达,且与其侵袭能力呈正相关。我们有实验结果显示:整合素 $\alpha 6$ 在食管鳞癌组织及食管鳞癌细胞株中均有较高表达<sup>[28]</sup>。分析其与食管鳞癌临床病理参数之间的关系表明:其与患者年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤分化程度无明显相关性,但与淋巴转移显著相关<sup>[28]</sup>。因此,我们可以得出结论:整合素 $\alpha 6$ 基因在食管癌侵袭和转移中起到了关键作用。但是,关于其具体功能的实现及其与其他分子之间的相互作用还有待于进一步深入研究。

## 4 结论

食管癌的发生发展是多因素多阶段的过程,涉及多个基因的改变。癌基因在这个过程中如何作用,如何相互关联还远未清楚,还需继续进一步全面、深入地研究这些基因的结构、功能及其之间的相互关系,为食管癌的早期诊断、预后评估及基因诊治探索可行途径。TMEM16A, CTHRC1, 整合素 $\alpha 6$ 亚基有望为食管癌分子诊断、基因治疗和预后评估提供新的分子靶点。

## 5 参考文献

- Kato M, Kato M. FLJ10261 gene, located within the CCND1-EMS1 locus on human chromosome 11q13, encodes the eight-transmembrane protein homologous to C12orf3, C11orf25 and FLJ34272 gene products. *Int J Oncol* 2003; 22: 1375-1381
- Huang X, Godfrey TE, Gooding WE, McCarty KS Jr, Gollin SM. Comprehensive genome and transcriptome analysis of the 11q13 amplicon in human oral cancer and synteny to the 7F5 amplicon in murine oral carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2006; 45: 1058-1069
- Espinosa I, Lee CH, Kim MK, Rouse BT, Subramanian S, Montgomery K, Varma S, Corless CL, Heinrich MC, Smith KS, Wang Z, Rubin B, Nielsen TO, Seitz RS, Ross DT, West RB, Cleary ML, van de Rijn M. A novel monoclonal antibody against DOG1 is a sensitive and specific marker for gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 210-218
- Kato M, Kato M. Identification and characterization of TMEM16E and TMEM16F genes in silico. *Int J Oncol* 2004; 24: 1345-1349
- Kato M, Kato M. GDD1 is identical to TMEM16E, a member of the TMEM16 family. *Am J Hum Genet* 2004; 75: 927-978; author reply 928-929
- Yang YD, Cho H, Koo JY, Tak MH, Cho Y, Shim WS, Park SP, Lee J, Lee B, Kim BM, Raouf R, Shin YK, Oh U. TMEM16A confers receptor-activated calcium-dependent chloride conductance. *Nature* 2008; 455: 1210-1215
- Schroeder BC, Cheng T, Jan YN, Jan LY. Expression cloning of TMEM16A as a calcium-activated chloride channel subunit. *Cell* 2008; 134: 1019-1029
- Caputo A, Caci E, Ferrera L, Pedemonte N, Barsanti C, Sondo E, Pfeiffer U, Ravazzolo R, Zegar-Moran O, Galletta LJ. TMEM16A, a membrane protein associated with calcium-dependent chloride channel activity. *Science* 2008; 322: 590-594
- Hwang SJ, Blair PJ, Britton FC, O'Driscoll KE, Hennig G, Bayguinov YR, Rock JR, Harfe BD, Sanders KM, Ward SM. Expression of anoctamin 1/TMEM16A by interstitial cells of Cajal is fundamental for slow wave activity in gastrointestinal muscles. *J Physiol* 2009; 587: 4887-4904
- Carneiro A, Isinger A, Karlsson A, Johansson J, Jönsson G, Bendahl PO, Falkenback D, Halvarsson B, Nilbert M. Prognostic impact of array-based genomic profiles in esophageal squamous cell cancer. *BMC Cancer* 2008; 8: 98
- 柏文霞, 施瑞华, 王建宁, 郝波, 刘伟. TMEM16A在食管鳞癌中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1513-1516
- Pyagay P, Heroult M, Wang Q, Lehnert W, Belden J, Liaw L, Friesel RE, Lindner V. Collagen triple helix repeat containing 1, a novel secreted protein in injured and diseased arteries, inhibits collagen expression and promotes cell migration. *Circ Res* 2005; 96: 261-268
- Tang L, Dai DL, Su M, Martinka M, Li G, Zhou Y. Aberrant expression of collagen triple helix repeat containing 1 in human solid cancers. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3716-3722
- Ashhab Y, Alian A, Polliack A, Panet A, Ben Yehuda D. Two splicing variants of a new inhibitor of apoptosis gene with different biological properties and tissue distribution pattern. *FEBS Lett* 2001; 495: 56-60
- Lin JH, Deng G, Huang Q, Morser J. KIAP, a novel member of the inhibitor of apoptosis protein family. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 279: 820-831
- Schmollinger JC, Vonderheide RH, Hoar KM, Maecker B, Schultze JL, Hodi FS, Soiffer RJ, Jung K, Kuroda MJ, Letvin NL, Greenfield EA, Mihm M, Kutok JL, Dranoff G. Melanoma inhibitor of apoptosis protein (ML-IAP) is a target for immune-mediated tumor destruction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 3398-3403
- Yagihashi A, Asanuma K, Tsuji N, Torigoe T, Sato N, Hirata K, Watanabe N. Detection of anti-livin antibody in gastrointestinal cancer patients. *Clin Chem* 2003; 49: 1206-1208
- Crnkovic-Mertens I, Hoppe-Seyler F, Butz K. Induction of apoptosis in tumor cells by siRNA-mediated silencing of the livin/ML-IAP/KIAP gene. *Oncogene* 2003; 22: 8330-8336
- 李靖涛, 赵洪川, 高春, 姚力, 陈少轩, 姚树坤. CTHRC1和VEGF-C在直肠癌组织中的表达及相关性. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1318-1323
- Gazzaniga P, Gradilone A, Giuliani L, Gandini O, Silvestri I, Nofroni I, Saccani G, Frati L, Aglianò AM. Expression and prognostic significance of LIVIN, SURVIVIN and other apoptosis-related genes in the progression of superficial bladder cancer. *Ann Oncol* 2003; 14: 85-90
- Vucic D, Stennicke HR, Pisabarro MT, Salvesen GS, Dixit VM. ML-IAP, a novel inhibitor of apoptosis that is preferentially expressed in human melanomas. *Curr Biol* 2000; 10: 1359-1366
- Hogervorst F, Kuikman I, van Kessel AG, Sonnenberg A. Molecular cloning of the human alpha

- 6 integrin subunit. Alternative splicing of alpha 6 mRNA and chromosomal localization of the alpha 6 and beta 4 genes. *Eur J Biochem* 1991; 199: 425-433
- 23 Yano H, Mazaki Y, Kurokawa K, Hanks SK, Matsuda M, Sabe H. Roles played by a subset of integrin signaling molecules in cadherin-based cell-cell adhesion. *J Cell Biol* 2004; 166: 283-295
- 24 Tian B, Li Y, Ji XN, Chen J, Xue Q, Ye SL, Liu YK, Tang ZY. Basement membrane proteins play an active role in the invasive process of human hepatocellular carcinoma cells with high metastasis potential. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005; 131: 80-86
- 25 路艳艳, 周柔丽. 整合素 $\alpha 6\beta 1$ 增强人肝癌细胞侵袭性机制的探讨. *中华肿瘤杂志* 2000; 22: 287-289
- 26 乔世峰. 整合素 $\alpha 6$ 在肝细胞癌黏附过程中诱导PI3K及MAPK双信号传导通路. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2349-2353
- 27 何度, 张秀辉. 整合素与胰腺癌. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 151-156
- 28 刘伟, 施瑞华, 朱宏, 郝波. ITGA6、CTHRC1在食管鳞癌中的表达及临床意义. *南京医科大学学报(自然科学版)* 2009; 29: 508-511

#### ■同行评价

本文内容充实, 对阐明食管癌发生的分子机制及基因治疗有重要的指导意义。

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》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](mailto: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审核, 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)

# 肝炎病毒感染相关microRNA调控作用的研究进展

鲍春阳, 李军锋, 周育森

## ■背景资料

肝炎病毒HBV和HCV感染所致的慢性肝病严重威胁人类健康。目前, 两者的致病机制还不清楚, 临床上亦缺乏理想的治疗药物。miRNA在多种病毒的感染和致病方面都发挥了重要作用, 并极有可能成为新一代抗病毒药物的候选靶标。

鲍春阳, 李军锋, 周育森, 北京微生物流行病学研究所 病原微生物生物安全国家重点实验室 北京市 100071  
国家高技术研究发展计划资助项目(863计划), No. 2006AA02A410  
国家自然科学基金资助项目, No. 30900753  
作者贡献分布: 本文综述由鲍春阳完成; 李军锋与周育森审核。  
通讯作者: 周育森, 研究员, 100071, 北京市, 北京微生物与流行病学研究所, 病原微生物生物安全国家重点实验室。  
yszhou@nic.bmi.ac.cn  
电话: 010-63850145  
收稿日期: 2010-10-10 修回日期: 2010-11-11  
接受日期: 2010-11-17 在线出版日期: 2010-12-18

## Advances in understanding the roles of microRNA in hepatitis virus infection

Chun-Yang Bao, Jun-Feng Li, Yu-Sen Zhou

Chun-Yang Bao, Jun-Feng Li, Yu-Sen Zhou, State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology, Beijing 100071, China  
Supported by: the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program), No. 2006AA02A410; and the National Natural Science Foundation of China, No. 30900753  
Correspondence to: Yu-Sen Zhou, State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology, Beijing 100071, China. yszhou@nic.bmi.ac.cn  
Received: 2010-10-10 Revised: 2010-11-11  
Accepted: 2010-11-17 Published online: 2010-12-18

## Abstract

Hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) can cause viral hepatitis. HBV or HCV infection is the major risk factor for cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC). MicroRNAs (miRNAs) can regulate post-transcriptional gene expression and participate in the control of diverse biological processes. Recent studies have identified the important roles of miRNAs in multiple aspects of hepatitis viruses, including replication, gene expression and pathogenesis. MiRNA-based drugs may shed light on the treatment of hepatitis virus infection. In this review, we discuss the latest advances in the research of miRNAs involved in hepatitis virus infection.

Key Words: Hepatitis B virus; Hepatitis C virus; MicroRNA

Bao CY, Li JF, Zhou YS. Advances in understanding the roles of microRNAs in hepatitis virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3756-3760

## 摘要

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)是导致肝硬化和肝细胞癌的高危险因素。microRNA(miRNA)在转录后水平调控基因表达, 参与多种生物学进程的调控。近期研究表明, miRNA在肝炎病毒的复制、基因表达和致病性等方面都起到了重要的作用, 基于miRNA的药物研发为抗肝炎病毒的治疗带来新的曙光。本文对肝炎病毒相关miRNA的最新研究进展进行了综述。

关键词: 乙型肝炎病毒; 丙型肝炎病毒; MicroRNA

鲍春阳, 李军锋, 周育森. 肝炎病毒感染相关microRNA调控作用的研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18(35): 3756-3760  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3756.asp>

## 0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染所致的病毒性肝炎严重威胁着人类健康。在全世界范围内, 约4亿人为慢性HBV感染者, 约1.3亿人为慢性HCV感染者。这两种病毒的慢性感染者以后发展为肝硬化(cirrhosis)和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的风险极高。病毒性肝炎的致病机制仍未得到完全阐明。目前, 临床上广泛使用的抗肝炎病毒药物是干扰素(interferon, IFN)和核苷类似物, 但两者都存在停药后复发和副作用大的问题<sup>[1,2]</sup>。上述问题的存在需要病毒基础研究和药物开发的新思路。

微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是一类长度只有21 nt左右的内源性非编码单链RNA, 在转录后水平调控基因的表达。现已证实, miRNA不仅能够调控机体的正常生理过程<sup>[3]</sup>, 而且也能够调控病毒感染<sup>[4]</sup>和肿瘤发生发展<sup>[5]</sup>等病理过程。近年来, miRNA在肝炎病毒相关领域的研究取得了很大进展<sup>[6,7]</sup>。本综述着重论述miRNA

## ■同行评议者

任浩, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学微生物学教研室

在HBV和HCV的感染和致病过程中的作用, 以及作为抗病毒治疗手段的研究进展.

## 1 miRNA的概念

**1.1 miRNA的发现、形成及功能** miRNA是一种重要的调控因子, 其发现是近年来分子生物学领域中的一项突破性成就. miRNA最早发现于秀丽隐杆线虫(*caenorhabditis elegans*, 简称线虫)体内<sup>[8-10]</sup>. 自2001年3篇论文同时报道在不同生物中发现了为数众多的miRNA以后, miRNA才开始逐渐得到人们的重视<sup>[11-13]</sup>. miRNA广泛存在于真核生物和病毒中, 并且具有高度保守性<sup>[14,15]</sup>. 最近发布的miRNA数据库miRBase(release 16; <http://microrna.sanger.ac.uk>)中包含了15 172种已注释的miRNA, 其中含有1 048种人类的miRNA<sup>[16-18]</sup>. 随着研究的深入, 这些数字仍在持续地增长.

miRNA的形成过程和功能已得到详细阐明<sup>[3]</sup>. 简要概括如下: 位于基因组中的miRNA基因首先转录成较长的初级转录本, 初级转录本经过一系列剪切和加工后形成miRNA成熟体. 大多数情况下, miRNA成熟体可识别靶mRNA的3'非翻译区(untranslated regions, UTR), 并与之互补结合, 介导其翻译抑制, 从而实现转录后基因沉默. 在少数情况下, miRNA成熟体可以识别靶mRNA的5'UTR, 对其进行转录后调控<sup>[19,20]</sup>. 位于miRNA成熟体5'末端的7-8个核苷酸被称为种子区域(seed region), 在miRNA对靶序列的识别中的作用至关重要, 是预测miRNA靶基因的主要依据<sup>[21-25]</sup>. 单独一个miRNA能够以多个基因的mRNA转录本作为靶标, 相反地, 不同的miRNA也可以控制一个共同的靶标<sup>[26]</sup>. 因此, miRNA与靶基因构成了复杂的调控网络<sup>[21]</sup>. 生物信息学预测表明, miRNA能够靶向调控1/3的人类基因<sup>[14,26]</sup>.

**1.2 miRNA在病毒增殖中的调控作用** 病毒是一种专性寄生于动植物细胞内的病原体. 病毒能够感染宿主细胞并在其中不断繁殖, 其关键在于病毒对宿主基因表达的有效控制. 尽管病毒可以通过编码一些具有生物学功能的蛋白以维持其生存和繁殖, 但是要实现对其宿主细胞的这种控制, 其基因组的编码容量还十分有限. 因此, 长度短小且功能灵活的miRNA对于病毒来说是一种非常简便而有效的工具<sup>[27]</sup>. 病毒对miRNA的利用体现在以下两方面: (1)病毒可以利用宿主细胞内miRNA来改变宿主的细胞环境以使其有利于病毒存活; (2)病毒自身可以编码miRNA来协助其生存和繁殖. 这两种情况在肝炎病毒

与宿主相互作用的过程中都有着重要意义<sup>[28,29]</sup>.

## 2 miRNA与肝炎病毒

**2.1 miRNA与HBV** HBV属嗜肝DNA病毒科, 是一种部分环化的双链DNA病毒. HBV的感染可以引起乙型(病毒性)肝炎, 其致病的分子机制至今仍未得到完全揭示. 虽然, 抗HBV疫苗已经成功应用于临床, 但尚无治疗乙型肝炎的特效药物<sup>[1]</sup>. 近年来, 越来越多的学者开始关注miRNA, 希望通过研究与HBV相关的miRNA来进一步揭示其致病机制, 并提出抗HBV治疗的新策略.

**2.1.1 HBV复制和基因表达相关的miRNA:** 检测HBV复制相关的miRNA, 为深入探讨HBV复制的分子机制提供平台. Liu等<sup>[30]</sup>通过miRNA芯片筛选结合核酸印记(Northern blot)验证的方法, 以人肝癌细胞系HepG2及其经稳定转染HBV全基因组而衍生的能产生HBV病毒颗粒的HepG2.2.15细胞系作为研究模型, 分析HBV复制引起的肝细胞miRNA表达谱的变化. 经验证, 差异表达的miRNA共5种, 包括4种显著上调, 分别为: miR-181a、miR-181b、miR-200b和miR-146a; 1种显著下调: miR-15a. 进一步研究发现, miR-181a可能靶向抑制人类白细胞抗原A(human leucocyte antigen A, HLA-A)的表达, 推测该现象很可能与HBV建立的持续感染有关.

探讨肝脏内源性miRNA对HBV复制与基因表达的影响可以为乙型肝炎的抗病毒治疗开辟新的途径. 血红素氧合酶1(heme oxygenase 1, HO-1)是血红素降解为Fe<sup>2+</sup>、CO和胆绿素(biliverdin, BV)这一过程的关键酶, 在细胞内发挥抗氧化的作用<sup>[31]</sup>. 有报道证实, HO-1可以降低HBV核心蛋白(core)的稳定性从而抑制HBV的复制<sup>[32]</sup>. Qiu等<sup>[33]</sup>发现肝组织特异表达的miR-122可以负调控HBsAg和HBeAg的表达, 但是对HO-1有下调的作用. 因此, miR-122下调HO-1的表达也一定程度上削弱了miR-122对HBV的抑制作用. 该研究指出, 同时上调miR-122和HO-1有可能成为一种限制HBV复制的有效策略.

HBV的基因组也可以编码miRNA用来调控自身的基因表达. Jin等<sup>[34]</sup>利用计算生物学预测结合Northern blot验证的实验手段, 发现了一个由HBV基因组编码的miRNA. 该miRNA的潜在靶序列分别位于S蛋白(HBs)、聚合酶(polymerase)和X蛋白(HBx)的基因编码区, 而在人类基因组的转录本上却未发现其靶序列.

**2.1.2 miRNA调控HBV的致病性:** HBx所调控的

## ■研发前沿

目前针对HCV相关miRNA的研究正不断展开, miRNA很有可能成为新一代抗HCV药物研发的热点.



### ■相关报道

Qiu等发现肝组织特异表达的miR-122可以负调控HBsAg和HBeAg的表达,但是对HO-1有下调的作用.

信号通路在HBV相关性肝癌(HBV-HCC)中的重要作用已得到证实<sup>[35]</sup>. 最新研究表明, miRNA参与了HBx对部分癌基因的调控. Zhang等<sup>[36]</sup>发现在HBV-HCC中, HBx可以通过核转录因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B)上调miR-143的表达, 而miR-143能够通过抑制其靶基因含3B的纤维连接蛋白III型结构域(fibronectin type III domain containing 3B, FNDC3B)的表达从而推动肿瘤的侵袭和转移. Huang等<sup>[37]</sup>发现在HBV-HCC中miR-152的表达水平是下调的. 进一步研究证实, HBx可以下调miR-152的表达, 而miR-152能够抑制其靶基因DNA甲基化酶1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)的表达. 因此, HBx对miR-152的抑制导致DNA的全局甲基化水平提高, 其中包括两种抑癌基因启动子区域的甲基化水平. 这两种抑癌基因分别是谷胱甘肽S转移酶P1(glutathione S-transferase P1, GSTP1)和钙粘蛋白1(cadherin 1, CDH1).

Ura等<sup>[38]</sup>利用RT-PCR和微阵列芯片技术比较HBV-HCC和HCV-HCC两种病毒相关性肝癌患者的肝组织中miRNA表达谱的差异. 结果显示, 有6种miRNA在HBV组是下调的. 利用生物信息学手段对这些miRNA的靶基因进行通路分析, 结果发现: 在HBV-HCC中, 激活的通路有细胞死亡、DNA损伤和重组、信号转导等.

**2.1.3 基于miRNA的抗HBV策略:** 虽然miRNA和小干扰RNA(small interference RNA, siRNA)有着相似的转录后沉默功能, 但miRNA作为一类抗病毒药物有其自身优势. 首先, miRNA对靶序列的识别不需要完全的碱基互补配对, 这可以有效对病毒的突变逃逸; 其次, 单链miRNA对IFN应答不敏感, 这避免了双链的siRNA由于IFN应答而引起的凋亡和双链RNA的非特异性剪切等细胞毒作用<sup>[39]</sup>. 很多研究小组尝试用人工合成miRNA来特异地抑制HBV复制并已取得初步进展. Ely等<sup>[40]</sup>以miR-31前体作为骨架, 构建由Pol II启动子控制的可表达3种不同抗HBV-miRNA的表达系统, 在Huh7细胞中可以显著抑制HBV的复制. 另外, 在HepG2.2.15细胞中, 人工合成的靶向结合HBs基因编码区的miRNA也取得了良好的抗HBV效果<sup>[41]</sup>.

对于HBV相关miRNA的研究尚处于初级阶段, 很多miRNA所参与的致病机制尚待明确. 但是, miRNA这种调控因子已经在HBV研究领域显示出巨大的潜力, 并极有可能成为研究HBV致病机制的热门领域, 为抗HBV药物的研

发提供理论基础.

**2.2 miRNA与HCV** HCV是一种嗜肝正链RNA病毒. HCV的感染可以引起丙型(病毒性)肝炎, 丙型肝炎极易慢性化, 导致罹患肝硬化和肝细胞癌的风险提高. 目前, 既没有疫苗预防HCV的感染, 也没有效果令人满意的特异性药物治疗丙型肝炎<sup>[2]</sup>. miRNA的发现为找到有效的抗HCV治疗策略开辟了新的领域.

**2.2.1 HCV复制和基因表达相关的miRNA:** miR-122能够显著地促进HCV在宿主细胞内的复制. miR-122特异性且高丰度地表达于肝组织和肝癌细胞系Huh7(Huh7是HCV的易感性细胞系)中, 其表达情况与HCV的生命周期的维持有着密切联系<sup>[42]</sup>. miR-122对HCV的增殖有促进作用, 主要体现在HCV RNA的复制和翻译这两方面. (1)miR-122促进HCV RNA的复制: Jopling等<sup>[20,43]</sup>发现在HCV RNA的5'UTR上存在着两个miR-122的结合位点, miR-122能够同时靶向结合这两个位点以促进HCV RNA的复制, 并且这种促进作用与靶序列所在位置密切相关; (2)miR-122促进HCV RNA的翻译: 在HCV RNA翻译的起始阶段, miR-122能够靶向结合HCV RNA的5'UTR, 使该区域的空间构象由原来的“关闭”(closed)状态转换为“开放”(open)状态, 而这种“开放”的空间构象有利于HCV RNA与核糖体小亚基之间的结合, 进而促进HCV RNA的翻译<sup>[44,45]</sup>. 从以上两点可以看出, miR-122对HCV RNA的调控方式不同于大多数miRNA, 是通过作用于HCV RNA的5'UTR来实现. 那么, 这种特殊的调控方式是否具有普遍意义? 有待于进一步探索.

miR-199a\*能够负调控HCV的复制, 其靶序列位于HCV RNA的5'UTR, 在miR-122的两个结合位点的下游<sup>[46]</sup>. 这种对HCV有抑制作用的miR-199a\*在其他组织中呈中等水平表达, 而在肝组织中却呈低水平表达<sup>[47]</sup>, 这种表达模式为解释HCV的嗜肝性提供了依据.

**2.2.2 miRNA调控HCV的致病性:** Varnholt等<sup>[48]</sup>应用RT-PCR的方法检测了52例原发性肝癌患者肝组织的miRNA表达谱, 这些患者包括恶化前的肝脏发育不良结节(dysplastic nodule, DN)及HCC患者, 且都伴随HCV感染. 研究发现, 与正常肝组织相比, HCC组织中的上调的miRNA有10个, 下调的有19个. 经进一步验证发现, 在DN和HCC组织中, miR-122、miR-100和miR-10a不同程度的上调, 而miR-198和miR-145则不同

程度的下调. 如2.1.2所述, Ura等<sup>[38]</sup>对HBV-HCC和HCV-HCC中miRNA表达谱的比较发现, 13种miRNA在HCV组是下调的. 对这些miRNA的靶基因进行通路分析发现, 激活的通路有免疫应答、抗原递呈、细胞周期、蛋白酶体和脂类代谢等.

HCV的感染可以引起肝细胞的氧化应激反应, 具有抗氧化功能的HO-1与这一致病机制有密切联系. Shan等<sup>[49]</sup>用miRNA的反义抑制寡核苷酸(antagomir)在Huh7细胞内靶向抑制miR-122的表达, 结果导致HO-1的上调及其上游抑制物BTB-CNC异体同源体1(BTB and CNC homology 1, Bach1)的下调, 同时HCV RNA水平也有所减少. 综合前面的报道, 虽然miR-122可以通过HO-1对HBV和HCV发挥间接的抗病毒作用, 但是miR-122对两者的直接调控情况则有所不同. 一方面, miR-122直接下调HBV的HBsAg和HBeAg两种蛋白的表达; 另一方面, miR-122直接地增强HCV RNA的复制和翻译. 可见, 肝组织特异性表达的miR-122对肝炎病毒的调控具有一定复杂性.

2.2.3 基于miRNA的抗HCV治疗: miRNA的研究也在抗HCV的临床治疗及药物研发等方面起到了积极作用. Pedersen等<sup>[50]</sup>发现, 用IFN $\beta$ 刺激细胞可诱导近30种miRNA的表达发生改变. 其中, 8种miRNA的种子区域与HCV基因组完全互补, 提示这些miRNA可能靶向调控HCV. 进而实验证实, 这些miRNA对HCV RNA水平具有显著下调的作用. 因此证明, IFN系统可以利用细胞内的miRNA来对抗病毒的感染. Lanford等<sup>[51]</sup>以感染了HCV的黑猩猩作为研究对象, 利用锁定核酸(locked nucleic acid, LNA)修饰的反义寡核苷酸SPC3649下调其体内的miR-122. 结果发现HCV RNA水平显著下降, 病毒对此未产生抵抗力, 被处理的动物也未发现明显不良反应. 这为基于miRNA的新一代抗HCV药物研发带来了希望.

无论在研究HCV的生命周期还是其致病机制方面, miRNA都具有重要作用. 目前针对HCV相关miRNA的研究正不断展开, miRNA很有可能成为新一代抗HCV药物研发的热点.

### 3 结论

对肝炎病毒相关miRNA进行研究, 为揭示肝炎病毒的致病机制并且寻找抗病毒的有效策略提

供了新的线索. 随着人们对肝炎病毒感染过程中miRNA调控机制的不断探索, 利用miRNA来诊断并治疗病毒性肝炎会逐渐成为一种有效的手段. miRNA以其自身强大的优势为今后抗肝炎病毒的靶向药物研发开辟了新方向.

### 4 参考文献

- Lai CL, Yuen MF. Chronic hepatitis B--new goals, new treatment. *N Engl J Med* 2008; 359: 2488-2491
- Sklan EH, Charuworn P, Pang PS, Glenn JS. Mechanisms of HCV survival in the host. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 217-227
- Bushati N, Cohen SM. microRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007; 23: 175-205
- Sarnow P, Jopling CL, Norman KL, Schütz S, Wehner KA. MicroRNAs: expression, avoidance and subversion by vertebrate viruses. *Nat Rev Microbiol* 2006; 4: 651-659
- Lee YS, Dutta A. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol* 2009; 4: 199-227
- Bala S, Marcos M, Szabo G. Emerging role of microRNAs in liver diseases. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5633-5640
- Chen XM. MicroRNA signatures in liver diseases. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1665-1672
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843-854
- Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell* 1993; 75: 855-862
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000; 403: 901-906
- Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001; 294: 853-858
- Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, Bartel DP. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001; 294: 858-862
- Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001; 294: 862-864
- Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005; 120: 15-20
- Rajewsky N. microRNA target predictions in animals. *Nat Genet* 2006; 38 Suppl: S8-S13
- Griffiths-Jones S. The microRNA Registry. *Nucleic Acids Res* 2004; 32: D109-D111
- Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res* 2006; 34: D140-D144
- Griffiths-Jones S, Saini HK, van Dongen S, Enright AJ. miRBase: tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res* 2008; 36: D154-D158
- Sunkar R, Zhu JK. Novel and stress-regulated microRNAs and other small RNAs from *Arabidopsis*.

### ■应用要点

本文系统地阐述了miRNA在HBV和HCV致病中作用的基础上, 介绍了基于miRNA的抗肝炎病毒药物研发进展, 指出了一些有望成为新一代抗病毒药物发展方向的miRNA, 为致力于抗肝炎病毒药物研发的学者提供了参考.

## ■同行评价

本文学术价值较高,有助于研究人员对HBV和HCV致病机制的深入研究,同时也为两种肝炎病毒的治疗提供了新的思路。

- 20 Jopling CL, Yi M, Lancaster AM, Lemon SM, Sarnow P. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA. *Science* 2005; 309: 1577-1581
- 21 Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Burge CB. Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell* 2003; 115: 787-798
- 22 Doench JG, Sharp PA. Specificity of microRNA target selection in translational repression. *Genes Dev* 2004; 18: 504-511
- 23 Kiriakidou M, Nelson PT, Kouranov A, Fitziev P, Bouyioukos C, Mourelatos Z, Hatzigeorgiou A. A combined computational-experimental approach predicts human microRNA targets. *Genes Dev* 2004; 18: 1165-1178
- 24 Kloosterman WP, Wienholds E, Ketting RF, Plasterk RH. Substrate requirements for let-7 function in the developing zebrafish embryo. *Nucleic Acids Res* 2004; 32: 6284-6291
- 25 Brennecke J, Stark A, Russell RB, Cohen SM. Principles of microRNA-target recognition. *PLoS Biol* 2005; 3: e85
- 26 Krek A, Grün D, Poy MN, Wolf R, Rosenberg L, Epstein EJ, MacMenamin P, da Piedade I, Gunsalus KC, Stoffel M, Rajewsky N. Combinatorial microRNA target predictions. *Nat Genet* 2005; 37: 495-500
- 27 Cullen BR. Viruses and microRNAs. *Nat Genet* 2006; 38 Suppl: S25-S30
- 28 Gottwein E, Cullen BR. Viral and cellular microRNAs as determinants of viral pathogenesis and immunity. *Cell Host Microbe* 2008; 3: 375-387
- 29 Ghosh Z, Mallick B, Chakrabarti J. Cellular versus viral microRNAs in host-virus interaction. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: 1035-1048
- 30 Liu Y, Zhao JJ, Wang CM, Li MY, Han P, Wang L, Cheng YQ, Zoulim F, Ma X, Xu DP. Altered expression profiles of microRNAs in a stable hepatitis B virus-expressing cell line. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122: 10-14
- 31 Pae HO, Chung HT. Heme oxygenase-1: its therapeutic roles in inflammatory diseases. *Immune Netw* 2009; 9: 12-19
- 32 Protzer U, Seyfried S, Quasdorff M, Sass G, Svorcova M, Webb D, Bohne F, Hösel M, Schirmacher P, Tiegs G. Antiviral activity and hepatoprotection by heme oxygenase-1 in hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 2007; 133: 1156-1165
- 33 Qiu L, Fan H, Jin W, Zhao B, Wang Y, Ju Y, Chen L, Chen Y, Duan Z, Meng S. miR-122-induced down-regulation of HO-1 negatively affects miR-122-mediated suppression of HBV. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 398: 771-777
- 34 Jin WB, Wu FL, Kong D, Guo AG. HBV-encoded microRNA candidate and its target. *Comput Biol Chem* 2007; 31: 124-126
- 35 Koike K. Hepatitis B virus X gene is implicated in liver carcinogenesis. *Cancer Lett* 2009; 286: 60-68
- 36 Zhang X, Liu S, Hu T, Liu S, He Y, Sun S. Up-regulated microRNA-143 transcribed by nuclear factor kappa B enhances hepatocarcinoma metastasis by repressing fibronectin expression. *Hepatology* 2009; 50: 490-499
- 37 Huang J, Wang Y, Guo Y, Sun S. Down-regulated microRNA-152 induces aberrant DNA methylation in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma by targeting DNA methyltransferase 1. *Hepatology* 2010; 52: 60-70
- 38 Ura S, Honda M, Yamashita T, Ueda T, Takatori H, Nishino R, Sunakozaka H, Sakai Y, Horimoto K, Kaneko S. Differential microRNA expression between hepatitis B and hepatitis C leading disease progression to hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 1098-1112
- 39 Ying SY, Lin SL. Current perspectives in intronic micro RNAs (miRNAs). *J Biomed Sci* 2006; 13: 5-15
- 40 Ely A, Naidoo T, Arbuthnot P. Efficient silencing of gene expression with modular trimeric Pol II expression cassettes comprising microRNA shuttles. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: e91
- 41 Gao YF, Yu L, Wei W, Li JB, Luo QL, Shen JL. Inhibition of hepatitis B virus gene expression and replication by artificial microRNA. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4684-4689
- 42 Girard M, Jacquemin E, Munnich A, Lyonnet S, Henrion-Caude A. miR-122, a paradigm for the role of microRNAs in the liver. *J Hepatol* 2008; 48: 648-656
- 43 Jopling CL, Schütz S, Sarnow P. Position-dependent function for a tandem microRNA miR-122-binding site located in the hepatitis C virus RNA genome. *Cell Host Microbe* 2008; 4: 77-85
- 44 Henke JI, Goergen D, Zheng J, Song Y, Schüttler CG, Fehr C, Jünemann C, Niepmann M. microRNA-122 stimulates translation of hepatitis C virus RNA. *EMBO J* 2008; 27: 3300-3310
- 45 Díaz-Toledano R, Ariza-Mateos A, Birk A, Martínez-García B, Gómez J. In vitro characterization of a miR-122-sensitive double-helical switch element in the 5' region of hepatitis C virus RNA. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: 5498-5510
- 46 Murakami Y, Aly HH, Tajima A, Inoue I, Shimotohno K. Regulation of the hepatitis C virus genome replication by miR-199a. *J Hepatol* 2009; 50: 453-460
- 47 Niepmann M. Activation of hepatitis C virus translation by a liver-specific microRNA. *Cell Cycle* 2009; 8: 1473-1477
- 48 Varnholt H, Drebber U, Schulze F, Wedemeyer I, Schirmacher P, Dienes HP, Odenthal M. MicroRNA gene expression profile of hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 47: 1223-1232
- 49 Shan Y, Zheng J, Lambrecht RW, Bonkovsky HL. Reciprocal effects of micro-RNA-122 on expression of heme oxygenase-1 and hepatitis C virus genes in human hepatocytes. *Gastroenterology* 2007; 133: 1166-1174
- 50 Pedersen IM, Cheng G, Wieland S, Volinia S, Croce CM, Chisari FV, David M. Interferon modulation of cellular microRNAs as an antiviral mechanism. *Nature* 2007; 449: 919-922
- 51 Lanford RE, Hildebrandt-Eriksen ES, Petri A, Persson R, Lindow M, Munk ME, Kauppinen S, Ørum H. Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. *Science* 2010; 327: 198-201

编辑 李薇 电编 何基才

# 重症肝炎与肠黏膜屏障

邓芝云, 单体栋, 张方信

邓芝云, 单体栋, 张方信, 中国人民解放军兰州军区兰州总医院消化内科 甘肃省兰州市 730050

作者贡献分布: 本文由邓芝云综述; 张方信审校; 单体栋协助完成.  
通讯作者: 张方信, 主任医师, 730050, 甘肃省兰州市, 中国人民解放军兰州军区兰州总医院消化内科. shantidong26@163.com  
电话: 0931-8994268

收稿日期: 2010-05-06 修回日期: 2010-10-06  
接受日期: 2010-10-20 在线出版日期: 2010-12-18

## Severe hepatitis and intestinal mucosal barrier

Zhi-Yun Deng, Ti-Dong Shan, Fang-Xin Zhang

Zhi-Yun Deng, Ti-Dong Shan, Fang-Xin Zhang, Department of Gastroenterology, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Command of Chinese PLA, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Correspondence to: Fang-Xin Zhang, Department of Gastroenterology, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Command of Chinese PLA, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. shantidong26@163.com

Received: 2010-05-06 Revised: 2010-10-06

Accepted: 2010-10-20 Published online: 2010-12-18

### Abstract

Besides digestion and absorption of nutrients, another important feature of the intestine is epithelial mucosal barrier. Intestinal epithelial mucosal barrier consists of mechanical, immune, chemical, and biological barriers. Although different barriers have different structures and functions, they can interact with each other in a complicated manner. Severe hepatitis is the most serious form of hepatitis. Some studies have demonstrated that severe hepatitis is closely related to intestinal mucosal injury. Therefore, intestinal mucosal injury has become an important topic for research of severe hepatitis. In this paper, we review the relationship between severe hepatitis and intestinal mucosal barrier.

**Key Words:** Severe hepatitis; Intestinal mucosal barrier; Injury

Deng ZY, Shan TD, Zhang FX. Severe hepatitis and intestinal mucosal barrier. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3761-3766

### 摘要

肠黏膜屏障功能是肠除消化、吸收功能外的

一个重要机能, 他由机械屏障、免疫屏障、化学屏障和生物屏障组成. 这4个屏障具有不同的结构和机能, 同时又通过复杂的方式相互作用、相互影响. 重症肝炎是肝炎中最严重的病症之一. 研究认为重症肝炎和肠黏膜损伤密切相关. 因此肠黏膜的损伤是目前研究领域的一个重要课题. 本文就重症肝炎与肠黏膜关系作一综述.

**关键词:** 重症肝炎; 肠黏膜屏障; 损伤

邓芝云, 单体栋, 张方信. 重症肝炎与肠黏膜屏障. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3761-3766

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3761.asp>

### 0 引言

我国肝炎患者较多, 其中病毒性肝炎占大多数, 重症肝炎是病毒性肝炎的主要病症, 重型肝炎/肝衰竭(肝炎重症化, 2006年《肝衰竭诊疗指南》)病情重、发展快, 其病死率高达70%以上. 肠道屏障涉及到免疫屏障、化学屏障、生物屏障等. 消化系统和非消化系统的疾病常导致肠黏膜屏障障碍, 而肠屏障功能障碍又可进一步加重原发病的病情, 甚至导致全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)、多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)以及多系统器官衰竭(multiple system organ failure, MSOF), 甚至危及生命. 由肠道屏障损伤造成的细菌移位(bacterial translocation, BT)及继发的肠道内毒素血症(intestinal endotoxemia, ITEM)会引起一系列炎症, 导致肝脏的损伤及恶性并发症<sup>[1]</sup>. 同样重症肝炎也可导致肠黏膜屏障的损伤<sup>[2]</sup>. 本文就重症肝炎与肠黏膜屏障之间的关系做一综述.

### 1 重症肝炎与肠黏膜机械屏障

1.1 重症肝炎对肠黏膜机械屏障的影响 肠道的机械屏障是由肠道的运动、肠道上皮本身及其紧密连接、上皮基底膜、黏膜固有层及黏膜表面的黏液层等组成. 正常肠道黏膜的机械屏障能防止肠腔的有害物质如毒素或者细菌穿过肠

### ■背景资料

我国肝炎患者较多, 其中病毒性肝炎占大多数, 重症肝炎是病毒性肝炎的主要病症, 病情重、发展快, 其病死率70%以上. 由肠道屏障损伤造成的细菌移位及继发的肠道内毒素血症会引起一系列炎症, 导致肝脏的损伤及恶性并发症. 同样重症肝炎也可导致肠黏膜屏障的损伤.

### ■同行评议者

王炳元, 教授, 中国医科大学附属第一医院消化内科; 高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝病科

## ■ 研发前沿

胃肠道的胃酸、胆汁及各种消化酶的检测在临床检测上的应用已较为广泛,但对反映化学屏障的小分子的糖蛋白等检测尚缺乏相关报道,有可能是以后的一个研究热点。

黏膜进入体内其他组织器官和血液循环<sup>[3]</sup>。有研究发现急性肝衰竭大鼠模型的胃肠蠕动功能障碍<sup>[4]</sup>。此外, Pérez-Paramo等<sup>[5]</sup>通过大鼠的肝衰竭伴腹水的动物模型证实细菌的移位与肠蠕动减弱有关。肠上皮主要是由起机械屏障作用的吸收细胞和起免疫屏障作用的杯状细胞等组成,其中杯状细胞分泌的一种抵抗素样分子(resistin-like molecule, RELM) $\beta$ ,能诱导细菌的聚集,而敲除这种基因能减少葡聚糖诱导的结肠炎症性损伤<sup>[6]</sup>。研究发现<sup>[7]</sup>,重症肝炎肝硬化小鼠肠道黏膜上皮组织及超微结构的改变,可导致肠道细菌移位和血浆内毒素的升高。肠上皮的紧密连接是肠黏膜屏障中一个动态的、具有多种功能的复合体,主要有Claudin蛋白、occludin蛋白、连接黏附分子、Zos等结构蛋白及各类连接蛋白共同组成<sup>[8]</sup>。其中occludin蛋白和claudin蛋白是一种整体膜蛋白,是紧密连接的重要组成部分,他能抵抗肠道黏膜通透性的增强<sup>[9,10]</sup>。在暴发肝衰竭过程中,大肠上皮细胞间紧密连接蛋白occludin蛋白表达下降<sup>[11]</sup>。重症肝炎产生大量的炎性介质如TNF- $\alpha$ 、IL-17等。他们可以动态调控肠上皮的紧密连接<sup>[12]</sup>。炎症时血清中的TNF- $\alpha$ 可诱导上皮细胞凋亡和细胞间的紧密连接蛋白分解和功能的改变,从而导致肠上皮通透性增加<sup>[13]</sup>。在炎症期细胞因子和炎症介质诱导一氧化氮合酶活化,导致NO合成增加,NO的增加在分子和蛋白水平影响紧密连接蛋白occludin的表达<sup>[14]</sup>。Shapiro等<sup>[15]</sup>发现姜黄可通过降低氧化应激,抑制诱导型NO合酶的表达,减轻肝细胞损伤,提高大鼠的存活率。黏膜下固有层中含有成纤维细胞、浆细胞、巨噬细胞和淋巴细胞等,浆细胞可分泌IgA,分泌到肠腔起局部免疫的作用。巨噬细胞可吞噬穿过屏障的极少量共生菌,而不导致促炎因子的产生<sup>[16]</sup>,从而进一步保护肠道屏障。

**1.2 反映肠黏膜机械屏障常用的检测** 肠黏膜机械屏障最直接和最常用的依据就是组织形态学观察法。(1)运用光学显微镜或者电镜可直接以半定量的方式获得肠黏膜损伤变化程度,光学显微镜常用且操作简单,多以Chiu法<sup>[17]</sup>评估其损伤程度。扫描电镜和透射电镜则可观察到肠上皮微绒毛的结构和细胞内细胞器的形态。电镜下对微绒毛的长度、宽度及紧密连接的结构等指标进行观察<sup>[18]</sup>,从超微结构观察肠黏膜机械屏障的损伤;(2)分子探针检测:肠道通透性检测的探针主要有糖分子探针、同位素探针和聚乙二醇类探针。糖分子探针是目前应用最多最

有效的探针,常用的是乳果糖/甘露醇组合,尿中两者的比值升高表明肠道通透性增强<sup>[19,20]</sup>。同位素探针利用其不在体内代谢、检测敏感、准确等特点,但放射性对人体有一定的危害。聚乙二醇类探针由于其吸收易受渗透压的影响,敏感性和特异度不高,实际临床应用不大;(3)*D*-乳酸测定:*D*-乳酸是细菌发酵的代谢产物,在肠道通透性增加时他可通过肠黏膜屏障进入血液循环,所以*D*-乳酸可测定肠黏膜机械屏障的损伤和通透性<sup>[21]</sup>。Sun等<sup>[22]</sup>认为血中的*D*-乳酸水平高低有望成为肠黏膜屏障障碍的预警指标。但由于不同个体间血中*D*-乳酸浓度存在差异,需要进行大样本检测以确定正常值范围<sup>[23]</sup>。

## 2 重症肝炎与肠黏膜免疫屏障

**2.1 重症肝炎对肠黏膜免疫屏障的影响** 肠道是机体接触外界抗原物质最广泛的部位,通过细胞免疫和体液免疫来防止致病原对机体的伤害。肠道黏膜的免疫防御系统是抑制性免疫不是激活性免疫,由分泌性免疫球蛋白(secretory immunoglobulin, sIgA)和肠相关淋巴组织(gut associated lymphoid tissue, GALT)等构成。GALT包括肠上皮细胞之间及位于板层的潘氏细胞、树突状细胞(dendritic cell, DC)、滤泡细胞、Peyer's小体及肠系膜淋巴结复合物。DC在肠上皮皮下形成了大量的网络,同时通过上皮细胞间隙与肠腔内的抗原相互作用<sup>[24]</sup>。Peyer's小体的腔内面覆盖滤泡上皮,在滤泡内主要是B淋巴细胞,他能分泌IgA、IgM等多种免疫球蛋白。IgA在黏膜表面与抗原结合后形成sIgA, sIgA位于肠黏液层,是肠道分泌物中含量最丰富的免疫球蛋白,可与细菌上的特异性抗原结合,防止细菌的黏附,中和毒素和病毒,增强具有FC受体的细胞吞噬功能,并能刺激肠道黏液的分泌,加速黏液在黏膜表面的移动,从而有助于细菌和内毒素的排出<sup>[25]</sup>。创伤、感染和休克等应激状态主要是通过神经内分泌作用来影响肠黏膜的上皮细胞和免疫细胞<sup>[26]</sup>。如GALT呈现抑制状态, sIgA分泌减少,增加细菌的黏附机会进而发生移位<sup>[27]</sup>。肠黏膜IgA水平高低与肠黏膜免疫屏障损伤是否密切相关<sup>[28]</sup>,重症肝炎患者sIgA减少可导致肠道免疫屏障损伤,引起肠道免疫防御功能减弱<sup>[29,30]</sup>。另外在肠道表面还存在着防御素、蛙皮素和蛾血素等微生物抗肽,他不仅能调节结肠内的菌群,还有抵抗革兰氏阴性和阳性菌侵袭的功能。在重症肝炎肝衰竭时,防御素表达的降低则会影



响肠道的固有免疫对菌群的调控能力<sup>[31]</sup>。DeWitt等<sup>[32]</sup>研究表明蛙皮素对肠道局部免疫功能具有直接调节和增强作用。重型肝炎产生的高水平内毒素血症不仅与肝脏损伤互为因果, 而且与细胞免疫功能紊乱密切相关<sup>[33]</sup>。80%的吞噬细胞位于肝脏, 当发生急性肝衰竭时, 免疫系统常严重受损, 使得易移位的细菌不易被杀灭而扩散入体循环及其他组织, 引起严重感染。由此可见, 肠道和肝脏的免疫关系是相辅相成又相互制约的, 如何适度的发挥他们的免疫作用值得进一步研究<sup>[34,35]</sup>。

**2.2 反映肠黏膜免疫屏障常用的检测** (1)IgA表达水平的检测: 主要是通过免疫组织化学法观察黏膜下固有层IgA浆细胞表达水平来检测。可通过量化每个肠绒毛表达IgA的浆细胞数<sup>[36,37]</sup>或者检测粪便中sIgA含量来反映肠道黏膜的免疫功能; (2)IEL计数和固有层巨噬细胞表达水平: IEL是通过HE染色黏膜组织随机计数500-1 000个黏膜上皮细胞并计数其间的淋巴细胞数, 取百分比即IEL。固有层巨噬细胞水平表达主要用CD68做标记, 进行免疫组织化学观察巨噬细胞的分布<sup>[38,39]</sup>, 可直接反映肠道免疫屏障的功能。

### 3 重症肝炎与肠黏膜化学屏障

**3.1 重症肝炎对肠黏膜化学屏障的影响** 胃肠道分泌的胃酸、胆汁、各种消化酶、溶菌酶、粘多糖、糖蛋白和糖脂等化学物质组成肠黏膜的化学屏障。胃酸能够杀灭经口入侵的细菌, 胰液中的胰蛋白酶亦能杀灭细菌。溶菌酶主要作用于革兰氏阳性菌的细胞壁成分-肽聚糖, 切断连接N-乙酰葡萄糖胺和乙酰胞壁酸的聚糖链, 使细胞失去韧性, 从而使细菌在低渗状态下发生裂解。排泄到肠腔的胆汁酸盐(胆盐)能与肠腔内的内毒素结合, 形成难以吸收的去垢样复合物, 从而阻止内毒素从肠道的吸收。糖蛋白和糖脂是细菌黏附受体的类似物, 可改变细菌的结合位点, 有利于细菌的排出。肠道分泌的大量消化液可稀释毒素, 冲洗清洁肠腔, 使潜在的条件致病菌难以黏附在肠上皮上。

肠肝轴的主要功能是防止肠道内毒素的移位。在肝衰竭时, 肝脏的免疫功能受损, 内毒素刺激机体产生多种炎症因子和介质, 扩大其生物效应, 进一步导致肝损伤和全身其他组织的损伤<sup>[40]</sup>。其机制主要是通过刺激单核巨噬细胞产生以TNF为主的多种细胞因子和激活肝脏Kupffer细胞产生的大量氧自由基, 而大量氧自

由基引起的脂质过氧化可对T淋巴细胞产生直接的损伤作用, 使T淋巴细胞功能受损甚至溶解, 从而使机体的免疫功能受到影响<sup>[41]</sup>。肝功能不全的患者尤其是急性肝功能不全的患者, 常有胆汁淤积和肝胆分泌不足的情况, 从而使内毒素结合形成难以吸收的去垢样复合物受到影响, 影响到化学屏障的功能。Lorenzo-Zúñiga等<sup>[42]</sup>通过大鼠的肝硬化腹水模型发现, 给予口服胆酸盐能增加大鼠的胆汁酸分泌, 减少内毒素吸收, 增加生存率。内毒素的移位通过循环又可进一步损伤肠黏膜屏障, 加重细菌和内毒素的移位<sup>[43]</sup>, 彼此互为因果, 形成恶性循环, 造成肠源性感染、脓毒症、加重肝脏的损伤。此外, 在严重炎症应激下, 下丘脑-垂体反应增加, 使抗利尿激素和醛固酮分泌增加, 导致皮肤功能紊乱, 使副交感神经兴奋性降低, 引起消化液分泌减少<sup>[44]</sup>。这些因素都使肠黏膜的化学屏障受到损害。

**3.2 反映肠黏膜化学屏障常用的检测** 肠肝轴的主要功能是防止肠道内毒素的移位, 内毒素的检测: (1)流式细胞术, 他是利用内毒素表面抗原决定簇单克隆抗体对内毒素荧光标定后用流式细胞仪进行检测的一种方法。他在血中内毒素水平较低时仍具有正确性高的优点<sup>[45]</sup>; (2)ELISA法, 他是对内毒素刺激后炎症细胞产生的细胞因子检测, 从而确定内毒素的含量。他比传统的试剂更为灵敏和经济; (3)化学发光法, 此法可减少标本污染的可能性, 准确性较高<sup>[46]</sup>。此外, 胃肠道的胃酸、胆汁及各种消化酶的检测在临床检测上的应用已较为广泛, 但对反映化学屏障的小分子的糖蛋白等检测尚缺乏相关报道, 有可能是以后的一个研究热点。

### 4 重症肝炎与肠黏膜生物屏障

**4.1 重症肝炎对肠黏膜生物屏障的影响** 肠道作为人体最大的细菌库, 寄居着大约 $10^{13}$ - $10^{14}$ 个细菌, 肠菌中多数为厌氧菌如乳酸杆菌、双歧杆菌等, 还有较少的需氧菌与兼性厌氧菌。肠道内微生物对肠黏膜屏障功能扮演着双重角色, 一方面, 肠道微生物作为抗原对肠黏膜屏障存在着潜在危险。例如研究发现致病大肠杆菌能分泌EspF蛋白, 可黏附在肠上皮细胞上通过调节细胞骨架或使上皮细胞表面电阻抗消失, 导致紧密连接蛋白分子重新分布或增加肠上皮的通透性。另一方面, 肠道内寄生菌可为肠黏膜细胞提供某些营养成分, 维持肠道微生态系统平衡, 激活肠道免疫系统, 构成肠道屏障功能组成

#### ■相关报道

Pérez-Paramo等通过大鼠的肝衰竭伴腹水的动物模型证实细菌的移位与肠蠕动减弱有关。

## ■应用要点

本文综述了在临床上治疗重症肝炎的同时要保护好肠道屏障,同样在肠道病变时要注意肝脏功能。对肠道或/和肝脏病变诊断和治疗具有很好的指导作用。

部分。实验证明乳酸杆菌能增强肠黏膜屏障功能,特别是增强T淋巴细胞的针对抗原的免疫表达<sup>[47]</sup>,双歧杆菌可显著抑制*E.coli* O157:H7对肠Caco-2上皮细胞的黏附<sup>[48]</sup>和增加肠黏膜机械屏障中紧密连接蛋白occludin的表达<sup>[49]</sup>。因此一个广泛的和有活性的肠道免疫系统的存在依赖于共生菌群。研究显示,肝衰竭患者存在严重的肠道微生态失衡,肠道厌氧菌如双歧杆菌等显著减少,肠杆菌科细菌过度生长,肠道定植抗力下降,可能会导致肠道细菌移位<sup>[50]</sup>。Wu等<sup>[51]</sup>发现肠道细菌过度生长可能会降低非酒精性肝炎小鼠模型的肠道的蠕动,进而言之,急性肝衰竭时大鼠的肠蠕动减弱、胆汁分泌不足、低蛋白血症、内毒素血症等与肠道菌群失调有关<sup>[52]</sup>。动物实验表明,肝衰竭时发现较为明显的肠道菌群失调<sup>[53]</sup>。此外有研究发现肠道细菌过度生长<sup>[54]</sup>是细菌移位的的原因之一,而重症肝炎的病理生理改变提供了细菌移位的必须的条件<sup>[55]</sup>。因此重症肝炎后细菌移位可能会导致败血症、自发性腹膜炎和多器官功能衰竭。

4.2 反映肠黏膜生物屏障常用的检测 细菌移位检测目前多采用组织细菌培养和细菌16SrRNA基因的检测。(1)细菌培养方法对肠系膜淋巴结的细菌培养最常用。在严格无菌条件下,摘取肠系膜根部淋巴结,研磨后进行血培养,做菌落计数和菌种鉴定<sup>[56]</sup>。(2)16SrRNA基因为所有细菌共有,PCR法对细菌的DNA片段检测可提高检测速度和阳性率,有研究在肝硬化小鼠模型中通过检测血液中细菌DNA来表明细菌的移位<sup>[57]</sup>。但他是一种定性的检测,不能很好的评估肠黏膜屏障的损伤程度<sup>[58]</sup>。实时定量PCR克服了这一缺点,他可对细菌进行定量的检测,Francés等<sup>[59]</sup>利用RT-PCR对肝硬化患者的血浆进行检测,发现细菌的移位且以大肠杆菌为主。此外有研究发现,可溶性髓细胞表达触发受体是一种在中性粒细胞及巨噬细胞表达免疫球蛋白,而在无感染性组织中表达很低,可以协助诊断患者有无菌血症及预后<sup>[60]</sup>。因此,他可能会成为提示细菌和真菌感染的生物标志物<sup>[61]</sup>。

## 5 结论

肠黏膜的机械屏障、免疫屏障、化学屏障和生物屏障是相互联系、相辅相成的。而重症肝炎对肠黏膜的屏障损伤涉及微生态、免疫及分子生物学等诸多领域,是一个相当复杂的过程。随着重症肝炎肠黏膜屏障功能障碍的临床研究的

深入及检测治疗方法上的成熟,将对指导如何保护肠屏障功能,促进肠功能的恢复,减少肠道细菌和内毒素移位,防止肠源性感染提供新的理论依据,对改善患者的治疗和预后具有重要的意义。这为消化系统疾病的诊治翻开了新的一页。

## 6 参考文献

- 1 Norman K, Pirlich M. Gastrointestinal tract in liver disease: which organ is sick? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008; 11: 613-619
- 2 Song HY, Jiang CH, Yang JR, Chen QH, Huang J, Huang YH, Liang LX. [The change of intestinal mucosa barrier in chronic severe hepatitis B patients and clinical intervention] *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2009; 17: 754-758
- 3 崔红远, 韦军民, 朱明炜. 梗阻性黄疸肠黏膜屏障损伤的研究现状. *中国临床营养杂志* 2007; 15: 242-246
- 4 Liu M, Xu WH, Duan ZP, Chen Y, Zheng SJ, Liu XH, Zhang J, Zhao J, Ding M, Lü ZW. [The changes of interdigestive migrating motor complex in rats with acute liver failure]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2010; 18: 618-621
- 5 Pérez-Paramo M, Muñoz J, Albillos A, Freile I, Portero F, Santos M, Ortiz-Berrocal J. Effect of propranolol on the factors promoting bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites. *Hepatology* 2000; 31: 43-48
- 6 McVay LD, Keilbaugh SA, Wong TM, Kierstein S, Shin ME, Lehrke M, Lefterova MI, Shifflett DE, Barnes SL, Cominelli F, Cohn SM, Hecht G, Lazar MA, Haczku A, Wu GD. Absence of bacterially induced RELMβ reduces injury in the dextran sodium sulfate model of colitis. *J Clin Invest* 2006; 116: 2914-2923
- 7 李静, 程留芳, 杜斌, 丛玉文. 肝硬化大鼠模型肠壁结构及细菌移位的研究. *胃肠病学和肝病学杂志* 2010; 19: 25-27
- 8 Hewitt KJ, Agarwal R, Morin PJ. The claudin gene family: expression in normal and neoplastic tissues. *BMC Cancer* 2006; 6: 186
- 9 Hamada K, Shitara Y, Sekine S, Horie T. Zonula Occludens-1 alterations and enhanced intestinal permeability in methotrexate-treated rats. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 1031-1038
- 10 Wang N, Yu H, Ma J, Wu W, Zhao D, Shi X, Tian H, Jiang H. Evidence for tight junction protein disruption in intestinal mucosa of malignant obstructive jaundice patients. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 191-199
- 11 崔巍, 马力, 闻颖, 刘沛. 暴发性肝衰竭时肠上皮细胞间紧密连接蛋白Occludin表达下降. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 3008-3012
- 12 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434
- 13 Gitter AH, Bendfeldt K, Schulzke JD, Fromm M. Leaks in the epithelial barrier caused by spontaneous and TNF-α-induced single-cell apoptosis. *FASEB J* 2000; 14: 1749-1753
- 14 刘冬妍, 崔巍. NO体外对肠上皮细胞表达紧密连接蛋白occludin的影响. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2296-2298
- 15 Shapiro H, Ashkenazi M, Weizman N, Shahmurov

- M, Aeed H, Bruck R. Curcumin ameliorates acute thioacetamide-induced hepatotoxicity. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 358-366
- 16 Smythies LE, Sellers M, Clements RH, Mosteller-Barnum M, Meng G, Benjamin WH, Orenstein JM, Smith PD. Human intestinal macrophages display profound inflammatory anergy despite avid phagocytic and bacteriocidal activity. *J Clin Invest* 2005; 115: 66-75
- 17 Chiu CJ, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. II. The protective effect of intraluminal glucose as energy substrate. *Arch Surg* 1970; 101: 484-488
- 18 Such J, Guardiola JV, de Juan J, Casellas JA, Pascual S, Aparicio JR, Solá-Vera J, Pérez-Mateo M. Ultrastructural characteristics of distal duodenum mucosa in patients with cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 371-376
- 19 Bjarnason I, MacPherson A, Hollander D. Intestinal permeability: an overview. *Gastroenterology* 1995; 108: 1566-1581
- 20 Farhadi A, Keshavarzian A, Fields JZ, Sheikh M, Banan A. Resolution of common dietary sugars from probe sugars for test of intestinal permeability using capillary column gas chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2006; 836: 63-68
- 21 张嘉, 吕德超. 肠道屏障功能监测方法的现状及进展. *中国急救复苏与灾害医学杂志* 2007; 2: 630-633
- 22 Sun XQ, Fu XB, Zhang R, Lu Y, Deng Q, Jiang XG, Sheng ZY. Relationship between plasma D(-)-lactate and intestinal damage after severe injuries in rats. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 555-558
- 23 张妮, 朱宝权, 张庆立, 唐玉英, 卢金萍. 危重症患儿血浆D-乳酸水平和二胺氧化酶活性与胃肠功能障碍关系研究. *临床儿科杂志* 2006; 24: 974-976
- 24 Chieppa M, Rescigno M, Huang AY, Germain RN. Dynamic imaging of dendritic cell extension into the small bowel lumen in response to epithelial cell TLR engagement. *J Exp Med* 2006; 203: 2841-2852
- 25 Cunningham-Rundles C. Physiology of IgA and IgA deficiency. *J Clin Immunol* 2001; 21: 303-309
- 26 Keita AV, Söderholm JD. The intestinal barrier and its regulation by neuroimmune factors. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 718-733
- 27 Alverdy J, Aoye E. The effect of glucocorticoid administration on bacterial translocation. Evidence for an acquired mucosal immunodeficient state. *Ann Surg* 1991; 214: 719-723
- 28 Fu JL, Wang ZH, Li GZ, Wang YR, Liu P. Decreased IgA+ plasma cells and IgA expression in acute liver necrosis mice. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3827-3833
- 29 刘冬妍, 鲁学恒, 刘沛. 重症肝炎患者肠道屏障功能的变化. *中国结合临床* 2008; 24: 412-414
- 30 刘冬妍, 丁鹏, 刘沛. 急性肝坏死动物模型肠道SIgA的变化. *中国医科大学学报* 2010; 39: 613-615
- 31 Menendez A, Brett Finlay B. Defensins in the immunology of bacterial infections. *Curr Opin Immunol* 2007; 19: 385-391
- 32 DeWitt RC, Wu Y, Renegar KB, King BK, Li J, Kudsk KA. Bombesin recovers gut-associated lymphoid tissue and preserves immunity to bacterial pneumonia in mice receiving total parenteral nutrition. *Ann Surg* 2000; 231: 1-8
- 33 华静, 岳德凯, 李恩灵, 沈冠凤. 益生菌对肝硬化患者免疫功能的影响. *胃肠病学* 2007; 12: 658-661
- 34 Adams DH, Eksteen B, Curbishley SM. Immunology of the gut and liver: a love/hate relationship. *Gut* 2008; 57: 838-848
- 35 Son G, Kremer M, Hines IN. Contribution of gut bacteria to liver pathobiology. *Gastroenterol Res Pract* 2010; 2010: pii: 453563
- 36 Nilssen DE, Oktedalen O, Lygren I, Opstad PK, Brandtzaeg P. Intestinal IgA- and IgM-producing cells are not decreased in marathon runners. *Int J Sports Med* 1998; 19: 425-431
- 37 王忠堂, 姚永明, 肖光夏, 曹卫红, 盛志勇. 补充双歧杆菌可促进烫伤大鼠肠道分泌型IgA合成与分泌. *中华外科杂志* 2003; 41: 385-388
- 38 Lepidi H, Fenollar F, Gerolami R, Mege JL, Bonzi MF, Chappuis M, Sahel J, Raoult D. Whipple's disease: immunospecific and quantitative immunohistochemical study of intestinal biopsy specimens. *Hum Pathol* 2003; 34: 589-596
- 39 Rodrigues M, Zerbini MC, Barbieri D. [Immunohistochemical study of colonic mucosa macrophages in children with Crohn's disease and ulcerative colitis] *Arq Gastroenterol* 1998; 35: 283-291
- 40 李文渊, 卢明芹, 陈永平. 内毒素耐受的研究进展. *中华传染病杂志* 2010; 28: 189-192
- 41 王坤泽, 谢君. 肠源性内毒素血症对慢性乙型肝炎患者细胞免疫功能影响的研究. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)* 2008; 2: 48-51
- 42 Lorenzo-Zúñiga V, Bartoli R, Planas R, Hofmann AF, Viñado B, Hagey LR, Hernández JM, Mañé J, Alvarez MA, Ausina V, Gassull MA. Oral bile acids reduce bacterial overgrowth, bacterial translocation, and endotoxemia in cirrhotic rats. *Hepatology* 2003; 37: 551-557
- 43 Yao GX, Shen ZY, Xue XB, Yang Z. Intestinal permeability in rats with CCl4-induced portal hypertension. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 479-481
- 44 Dosek A, Ohno H, Acs Z, Taylor AW, Radak Z. High altitude and oxidative stress. *Respir Physiol Neurobiol* 2007; 158: 128-131
- 45 Takeshita S, Nakatani K, Tsujimoto H, Kawamura Y, Sekine I. Detection of circulating lipopolysaccharide-bound monocytes in children with gram-negative sepsis. *J Infect Dis* 2000; 182: 1549-1552
- 46 Romaschin AD, Harris DM, Ribeiro MB, Paice J, Foster DM, Walker PM, Marshall JC. A rapid assay of endotoxin in whole blood using autologous neutrophil dependent chemiluminescence. *J Immunol Methods* 1998; 212: 169-185
- 47 Gareau MG, Wine E, Reardon C, Sherman PM. Probiotics prevent death caused by *Citrobacter rodentium* infection in neonatal mice. *J Infect Dis* 2010; 201: 81-91
- 48 Gagnon M, Kheadr EE, Le Blay G, Fliss I. In vitro inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 by bifidobacterial strains of human origin. *Int J Food Microbiol* 2004; 92: 69-78
- 49 张文远, 姜伟伟. 肠道微生态对三硝基苯磺酸诱导大鼠结肠炎肠黏膜上皮细胞紧密连接蛋白occludin保护作用的研究. *临床消化病杂志* 2010; 22: 21-24
- 50 李兰娟. 肝衰竭的发病机制及治疗. *国际流行病学传染病学杂志* 2008; 35: 217-220
- 51 Wu WC, Zhao W, Li S. Small intestinal bacteria overgrowth decreases small intestinal motility in the NASH rats. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 313-317
- 52 Wang X, Soltesz V, Axelson J, Andersson R. Cholecystokinin increases small intestinal motility and reduces enteric bacterial overgrowth and translocation

# 同行评价

本文观点新颖, 对理解重症肝炎时肠黏膜屏障损伤发生机制具有参考价值。

- tion in rats with surgically induced acute liver failure. *Digestion* 1996; 57: 67-72
- 53 Zhang W, Gu Y, Chen Y, Deng H, Chen L, Chen S, Zhang G, Gao Z. Intestinal flora imbalance results in altered bacterial translocation and liver function in rats with experimental cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 1481-1486
- 54 Ford AC, Spiegel BM, Talley NJ, Moayyedi P. Small intestinal bacterial overgrowth in irritable bowel syndrome: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 1279-1286
- 55 Duan L, Chen X, Alexander JW. Regulatory effect of histamine on the barrier function of intestinal mucosal. *J Gastrointest Surg* 2010; 14: 1180-1185
- 56 何桂珍, 崔晓雨, 董良广, 舒红, 陈雪峰. 大鼠肠道缺血/再灌注时肠淋巴干结扎对肠道屏障的影响. *中国临床营养杂志* 2007; 15: 155-159
- 57 Guarner C, González-Navajas JM, Sánchez E, Soriano G, Francés R, Chiva M, Zapater P, Benlloch S, Muñoz C, Pascual S, Balanzó J, Pérez-Mateo M, Such J. The detection of bacterial DNA in blood of rats with CCl4-induced cirrhosis with ascites represents episodes of bacterial translocation. *Hepatology* 2006; 44: 633-639
- 58 Ono S, Tsujimoto H, Yamauchi A, Hiraki S, Takayama E, Mochizuki H. Detection of microbial DNA in the blood of surgical patients for diagnosing bacterial translocation. *World J Surg* 2005; 29: 535-539
- 59 Francés R, Benlloch S, Zapater P, González JM, Lozano B, Muñoz C, Pascual S, Casellas JA, Uceda F, Palazón JM, Carnicer F, Pérez-Mateo M, Such J. A sequential study of serum bacterial DNA in patients with advanced cirrhosis and ascites. *Hepatology* 2004; 39: 484-491
- 60 Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, Colonna M. TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature* 2001; 410: 1103-1107
- 61 Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Béné MC, Cravoisy A, Levy B, Faure GC, Bollaert PE. Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. *Ann Intern Med* 2004; 141: 9-15

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)

# 缺血性结肠炎的临床特点

姜春燕, 谭漫红, 李敏

姜春燕, 谭漫红, 李敏, 首都医科大学附属北京友谊医院医疗保健中心 北京市 100050

作者贡献分布: 本文综述由姜春燕完成; 谭漫红与李敏审校.  
通讯作者: 谭漫红, 副主任医师, 100050, 北京市宣武区永安路95号, 首都医科大学附属北京友谊医院医疗保健中心.  
lejianhe@sohu.com

收稿日期: 2010-10-06 修回日期: 2010-11-02  
接受日期: 2010-11-10 在线出版日期: 2010-12-18

## Clinical features of ischemic colitis

Chun-Yan Jiang, Man-Hong Tan, Min Li

Chun-Yan Jiang, Man-Hong Tan, Min Li, Medical and Health Center, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Correspondence to: Man-Hong Tan, Medical and Health Center, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, 95 Yong'an Road, Xuanwu District, Beijing 100050, China. lejianhe@sohu.com

Received: 2010-10-06 Revised: 2010-11-02

Accepted: 2010-11-10 Published online: 2010-12-18

## Abstract

Ischemic colitis (IC) is the most common form of ischemic injury of the gastrointestinal tract and occurs more frequently in the elderly. It presents either as an occlusive or a non-occlusive form of intestinal ischaemia. The clinical presentation of IC is variable and non-specific. Colonoscopy is the most common diagnostic method and the golden standard for confirmation of IC. Therapy and outcome depend on the severity and complications of the disease. Most cases of the non-gangrenous form show a favorable prognosis after conservative therapy, while high mortality and urgent operative intervention are the hallmarks of gangrenous IC.

Key Words: Ischemic colitis; Elderly people; Intestinal blood flow; Clinical features

Jiang CY, Tan MH, Li M. Clinical features of ischemic colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3767-3771

## 摘要

缺血性结肠炎(ischemic colitis, IC)是胃肠道最常见的缺血性损伤, 多见于老年人. 其病因为阻

塞性和非阻塞性肠道供血不足或回流受阻, 临床表现缺乏特异性且差异很大. 结肠镜检查对IC具有确诊意义. 治疗和预后取决于疾病的严重程度和并发症. 多数非坏疽型IC经保守治疗预后良好, 坏疽型IC需要手术治疗且死亡率高.

关键词: 缺血性结肠炎; 老年人; 肠道血流; 临床特点

姜春燕, 谭漫红, 李敏. 缺血性结肠炎的临床特点. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3767-3771

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3767.asp>

## ■背景资料

缺血性结肠炎是胃肠道最常见的缺血性损伤. 由于临床表现缺乏特异性, 轻型病例具有一过性的特点, 常易漏诊或误诊, 导致其发病率被明显低估. 提高临床医师对该病的认识和警惕是减少误诊、降低病死率的关键.

## 0 引言

缺血性结肠炎(ischemic colitis, IC)是由于肠道供血不足或回流受阻导致肠壁缺血性损伤所引起的急性或慢性炎症性病变. 1963年由Boley等<sup>[1]</sup>首次报道, 1966年Marston等<sup>[2]</sup>将其命名为“IC”. 引起肠道缺血的原因很多, 如动脉硬化、血管栓塞、血栓形成、各种原因引起的休克等, 以动脉硬化所致者最多见<sup>[3]</sup>, 90%以上见于60岁以上的老年人<sup>[4]</sup>. 当前, 随着社会人口老龄化及高血压、糖尿病等致动脉硬化疾病的发病率增高, 缺血性心、脑血管疾病的发病率明显增高, 已引起医学界和全社会的广泛关注, 而IC作为胃肠道最常见的缺血性损伤, 其发病率亦呈增高趋势, 但由于其临床表现缺乏特异性, 轻型病例具有一过性特点, 故常易漏诊或误诊, 导致其发病率被明显低估<sup>[4]</sup>. 国内文献报道临床误诊率高达38.9%-50%<sup>[5-7]</sup>, 致使患者的治疗延误、病死率增高, 需要引起临床医师的充分重视. 本文对IC的临床特点进行综述, 以提高临床医师对该病的认识, 加以警惕.

## 1 结肠血管解剖学特点

结肠的血供来自肠系膜上动脉和肠系膜下动脉. 肠系膜上动脉的分支即回结肠动脉、右结肠动脉和中结肠动脉供应升结肠和近段横结肠, 肠系膜下动脉的分支即左结肠动脉、乙状结肠动脉和直肠上动脉供应横结肠和左半结肠. 各动脉之间有吻合支相连形成边缘动脉, 使肠系膜

## ■同行评议者

刘占举, 教授, 同济大学附属第十人民医院胃肠内科



## ■相关报道

血管造影被认为是诊断急性肠系膜缺血的金标准。但Kirkpatrick等认为,大多数缺血性肠病患者肠系膜动脉造影很少能显示动脉闭塞现象,因此对结肠缺血的诊断作用不大。但对仅凭临床表现难以与急性肠系膜缺血相鉴别的缺血性肠炎病例或疑及急性肠系膜缺血时,可作为明确诊断的手段。

上、下动脉的各结肠支之间在结肠内缘相互吻合。由边缘动脉发出很多小动脉支垂直进入肠壁,在浆膜下形成血管网,再发出小动脉支供血于肌层,并在黏膜下形成血管网,向黏膜及黏膜下层供血。约50%-75%的肠壁供血至黏膜层,所以一旦发生缺血,病变首先累及黏膜层。结肠的血流量比其他任何肠段都低,功能运动亦较少,自主神经刺激后反应大,正是这些特点,使得结肠对缺血的敏感性大为增高<sup>[8]</sup>。

在临床上,IC病变以左半结肠最多见,尤其以结肠脾曲常见。这是由于脾曲为肠系膜上、下动脉吻合部,为两支动脉末梢供血区域的交界处,该处边缘动脉较少,是对抗缺血的最弱部位,易发生供血不全。乙状结肠直肠交界处边缘动脉也较少,是结肠血供的另一个薄弱点,也容易发生缺血性病变。而直肠由于有肠系膜下动脉分支和髂内动脉分支双重血供,很少发生缺血性损伤。

## 2 病因及发病机制

引起肠道缺血的病因很多,大致可分为血管阻塞型(如肠系膜动脉栓塞、肠系膜动脉血栓形成、肠系膜静脉血栓形成)和非血管阻塞型两大类。

**2.1 肠系膜动脉栓塞** 风湿性心脏病、冠心病、细菌性心内膜炎等疾病形成的各种栓子都有可能脱落而栓塞肠系膜动脉,导致急性肠系膜缺血<sup>[9]</sup>。栓子也可来自人工瓣膜置换术后或心脏搭桥术后。由于肠系膜上动脉与腹主动脉呈锐角相交,且分出较早,管腔较粗,故肠系膜上动脉栓塞的机会比肠系膜下动脉为多。此类患者多数起病急骤,可同时伴有其他器官如脑、肾、脾等的血管栓塞。因此,对有易感因素的患者,如出现特发剧烈腹痛同时或以往伴有其他栓塞症状者应考虑本病可能。

**2.2 肠系膜动脉血栓形成** 主要的病变基础是动脉粥样硬化,多见于老年人,常合并弥漫性动脉硬化如冠状动脉粥样硬化、外周动脉粥样硬化等。也可发生于夹层动脉瘤、系统性血管炎、血管手术或创伤、红细胞增多症、长期口服避孕药或高凝状态者。肠系膜上动脉近腹主动脉处不仅是栓塞好发部位,也是肠系膜动脉血栓容易形成之处。此型发病较动脉栓塞隐匿,病情逐渐加重。如发生过程较慢,由于侧支循环的建立,也可毫无症状<sup>[10]</sup>。

**2.3 肠系膜静脉血栓形成** 较肠系膜动脉血栓形成和肠系膜动脉血栓少见,常为继发性,可继发

于以下疾病:(1)肝硬化并发门静脉高压症;(2)腹腔脏器感染;(3)腹部手术、外伤或放射性损伤导致肠系膜静脉血流变化或血管损伤;(4)血栓性静脉炎;(5)血液高凝状态:如真性红细胞增多症、腹部恶性肿瘤、长期口服避孕药等;(6)其他原因:如充血性心力衰竭、心肌梗死和糖尿病等。原发性肠系膜静脉血栓形成主要与先天性凝血功能障碍有关。此型引起的IC起病相对缓慢,临床表现缺乏特异性,易与原发病症状重叠,腹痛症状重而体征较轻是该型的重要特点。

**2.4 非阻塞型肠系膜缺血** 多见于老年人,无明显的血管阻塞,多发生于心脏低排量或血容量过少引起的低血压或肠系膜血管痉挛,如充血性心衰、急性心肌梗死、心律失常、各种原因引起的休克、使用肾上腺素 $\alpha$ 受体兴奋剂或洋地黄等具有收缩内脏血管功能的药物等<sup>[11]</sup>。各种原因引起的肠系膜血管收缩、组织缺氧、缺血再灌注损伤,均可导致非阻塞型肠系膜缺血。此型病例常由于原发病病情危重,掩盖了本病的症状和体征而造成漏诊或误诊。

## 3 临床表现

IC的临床表现与许多因素有关,包括病因、肠系膜血管阻塞部位、程度、阻塞血管的直径、肠缺血的时间和程度、侧支循环建立的程度和代偿功能、机体的血流状态及肠腔内细菌的情况等。其临床表现缺乏特异性,且差异很大,轻者仅累及黏膜,可为一过性腹痛,重者全层肠壁受累,可出现肠坏死、穿孔、中毒性休克、全身多器官功能衰竭等并发症而危及生命<sup>[12]</sup>。1966年,Marston等<sup>[2]</sup>按缺血的程度将IC分为3型:一过型、狭窄型和坏疽型。由于一过型与狭窄型多数情况下预后较好。1986年Marston等重新将本病归纳为2型:非坏疽型与坏疽型,其中前者约占80%-85%,后者占15%-20%<sup>[13]</sup>。

**3.1 非坏疽型** 包括一过型与狭窄型,多发生于老年人,常伴有高血压、冠心病、糖尿病等动脉硬化基础疾病,有时可有便秘、感染、心律失常等诱因。典型临床表现为:突然发生腹痛,多为绞痛或中等程度疼痛,疼痛部位随疾病累及部位可有不同,以左下腹部疼痛较多见,多伴有排便紧迫感,24 h内出现鲜红色或酱色血便,出血量不大,极少需要输血。由于肠道缺血导致肠功能紊乱,可出现恶心、呕吐、嗝气、腹胀、腹泻等症状。腹部体征不明显或在病变部位有压痛。非坏疽型IC多数情况下为可逆的自限性

疾病。

**3.2 坏疽型** 此型病情较重, 病变不可逆, 亦多见于老年人。由于肠壁全层坏死, 可表现为大量血便及严重腹痛, 腹痛迅速扩散至全腹, 早期即出现休克和毒血症症状, 伴发热和白细胞计数升高, 腹腔穿刺可抽出血性腹水。有腹膜炎者, 需及时手术治疗, 预后差。

#### 4 辅助检查

**4.1 X线腹部平片** 无特异性。多数病例早期可见局限性狭窄, 随后见肠腔积气、节段性扩张、病变肠段结肠袋消失。临床主要用于诊断是否存在肠穿孔或肠梗阻, 确定有无手术指征, 同时排除其他肠道疾患。

**4.2 钡灌肠** 钡剂灌肠, 尤其是结肠气钡双重对比造影对诊断IC有重要意义。早期或轻型病例可显示正常或见有局部痉挛, 中、重度病例可特征性表现为肠壁的指压痕或点状钡龛影, 虽仅是急性缺血时的一过性表现, 通常仅存在24-72 h, 但其是IC的特征性征象<sup>[14]</sup>。肠管痉挛、脾曲锐角征早期也较多见。亚急性期出现结肠袋消失、溃疡所致不规则龛影, 有时呈锯齿样充盈缺损。少数病例进入慢性期, 局部肠管逐渐变形及狭窄, 局部结肠袋消失, 肠管短缩, 狭窄部两端呈平滑的漏斗状改变<sup>[15]</sup>。

**4.3 结肠镜** 是目前临床上诊断IC的主要手段, 不仅能确定病变的范围和阶段, 还能获取组织病理学检查, 有助于与其他炎性肠病、结肠癌等相鉴别。非坏疽型IC的内镜下特点是<sup>[16]</sup>: 一过型病变为一过性短暂缺血, 病变涉及黏膜及黏膜下层, 表现为黏膜充血、水肿、淤斑、黏膜下出血, 黏膜呈暗红色, 血管网消失, 可有部分黏膜坏死, 继之黏膜脱落、溃疡形成, 呈环形、纵形、蛇形或散在弥漫, 溃疡在亚急性期边界清楚, 可长达3-4 cm, 宽1-2 cm, 周边黏膜水肿、充血, 至发病7 d左右溃疡一般不再进展, 2 wk内结肠基本恢复正常。狭窄型可见持续性缺血黏膜, 损害较重, 病变涉及固有肌层, 形成慢性溃疡和持续性节段性结肠炎, 受损肌层被纤维组织替代, 常致结肠狭窄。坏疽型IC的肠黏膜病变为全壁坏死, 形成深大纵行溃疡、脓肿等<sup>[17,18]</sup>。

近年随着内镜窄带成像(narrow band imaging, NBI)和染色内镜技术的发展, 能够更清晰地通过内镜观察肠道黏膜的微血管结构, 有助于疾病的诊断、预后判断及治疗决策的选择<sup>[19]</sup>。NBI可广泛应用于内镜下区分异型和正常组织、估

计组织学感染程度等, 从而精确地引导活检, 提高对疾病的诊断准确率, 对IC的诊断和鉴别诊断具有重要作用, 尤其对鉴别良、恶性病变很有帮助<sup>[20-23]</sup>。

结肠镜检查对IC具有确诊意义。因此, 临床上对疑及IC的患者, 在排除腹膜炎、肠穿孔等急腹症后, 如条件允许, 应争取在48 h内行结肠镜检查, 并近期复查以动态观察病情, 协助诊断。

**4.4 血管造影** 血管造影被认为是诊断急性肠系膜缺血的金标准。能清晰显示血管的形态, 可提供病变部位、程度、输出祥及侧支循环状况, 并能同步进行血管介入治疗。但临床经验提示, 大多数IC患者肠系膜动脉造影很少能显示动脉闭塞现象, 因此对结肠缺血的诊断作用不大<sup>[24]</sup>。另外, 血管造影系侵入性检查, 对危重患者存在一定的风险, 造影剂具有一定的肾毒性, 增加了患者X线暴露时间, 且并不是每个医院都可以进行血管造影检查。因此目前尚未作为IC的常规检查方法, 但对仅凭临床表现难以与急性肠系膜缺血相鉴别的病例或疑及急性肠系膜缺血时可作为明确诊断的手段<sup>[25]</sup>。

**4.5 腹部超声** 可提示肠壁弥漫性或不规则增厚、肠管扩张、腹腔积液及病变肠段的大致部位<sup>[26]</sup>。多普勒超声或断层联合超声检查法有助于了解肠系膜及肠道血液供应状态。但由于受肠腔气体干扰较大, 且对低血流血管敏感性低影响了超声检查在IC诊断中的应用。

**4.6 腹部电子计算机断层成像及核磁共振成像** 腹部电子计算机断层成像(computer tomography, CT)及核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)是简单易行的诊断手段。CT可见节段性肠壁增厚、呈靶征样黏膜下水肿, 也可见到局部强化不明显的缺血肠管, 但这些征象无特异性。多层螺旋CT的计算机断层血管成像术(CT angiography, CTA)能提高诊断的敏感性, 可显示腹主动脉扭曲、管壁粥样斑块生成及局部肠系膜动脉小分支狭窄变细, 亦可见到肠壁内气囊肿或门静脉积气, 对于IC的诊断有重要意义<sup>[27]</sup>。MRI血管成像特异性和敏感性与CT相似, 但无放射性是其优点。

**4.7 血清标志物** 目前已报道数种可提示肠系膜缺血的血清标志物, 如乳酸、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)、肌酸磷酸激酶(creatine phosphokinase, CPK)、淀粉酶、碱性磷酸酶、肠型脂肪酸结合蛋白和 $\alpha$ -谷胱甘肽-S-转移酶等<sup>[28]</sup>, 但这些标志物主要反映在急性肠系膜缺血时,

#### ■应用要点

本文系统地综述了缺血性结肠炎的发生原因、发病机制、临床表现、辅助检查、诊断、治疗和预后等情况, 有助于提高临床医师对该病的认识和重视, 从而提高对该病的诊治水平, 有一定的临床参考价值。

## ■同行评价

本文可读性较好,对临床检查和诊断治疗缺血性肠炎有一定的参考价值。

尚未发现特异性的针对IC的标志物。在轻型IC病例,上述血清标志物完全正常,只有在病情进展、严重缺血性损伤或病程的后期才出现血清标志物的升高<sup>[29]</sup>。

## 5 诊断

从临床角度看,IC多见于老年人或有动脉硬化、高血压、冠心病、糖尿病等病史的患者,或有长期口服避孕药病史的患者。如这类患者出现突发性左下腹绞痛,24 h内出现解鲜血便或褐色血便的典型症状,而不能用常见的胃肠道疾病及胆胰疾病来解释时,应考虑本病的可能<sup>[1]</sup>。由于IC的临床表现缺乏特异性,诊断首先有赖于接诊医师对该病有足够的认识和警惕,否则极易造成误诊。诊断本病时应注意与溃疡性结肠炎、克罗恩病、肠结核、肠型白塞病、肠道恶性淋巴瘤、结肠癌等疾病鉴别,可通过仔细询问患者病史和发病的可能诱因,并结合相关的内镜和影像学检查等予以鉴别<sup>[30]</sup>。

## 6 治疗

积极治疗心血管系统疾病如心房颤动、细菌性心内膜炎、动脉粥样硬化及其他伴随疾病是预防IC的有效措施<sup>[31]</sup>。一旦确诊IC,应及早进行治疗。内科保守治疗包括控制饮食、静脉补液、降低肠道氧耗以及应用扩血管药物改善肠血液循环、促进缺血损伤恢复,如罂粟碱、山莨菪碱、硝酸甘油等。本病易合并肠道细菌感染而加重病情,研究显示应用广谱抗生素可减轻肠道损害<sup>[32]</sup>,因此多数学者建议预防性应用抗生素。有文献报道,通过肠系膜动脉造影管向病变段相应的肠系膜血管内灌注溶栓剂或血管扩张剂,可取得良好的治疗效果<sup>[33]</sup>。如经积极的内科治疗症状不缓解,或出现腹膜炎、肠穿孔或肠梗阻等情况,应及时进行手术治疗<sup>[34]</sup>。

对IC的最佳治疗方案目前尚无前瞻性的对照研究可供参考,已达成的共识是在治疗过程中要注意识别提示保守治疗效果不好的危险因素,以及时手术治疗,降低病死率<sup>[35]</sup>。

## 7 预后

IC的预后主要取决于缺血损伤的程度和有无严重的并发症。仅累及黏膜和黏膜下层的IC预后较好,85%患者病情可在1-2 wk内改善或恢复,需要手术治疗者不足5%<sup>[36,37]</sup>;而累及肠壁全层的坏疽型IC预后很差,即使接受手术治疗,死亡率仍高达60%<sup>[29]</sup>。及时诊断和密切监测病情变化

是改善预后的关键。在保守治疗过程中,如肠道的血供障碍程度加重或持续时间延长,需及时手术治疗,否则病死率会明显升高<sup>[35]</sup>。高龄、糖尿病患者、主动脉术后或低血压导致的IC预后不佳<sup>[25,38]</sup>。

## 8 结论

IC是胃肠道最常见的缺血性损伤,多见于有动脉硬化病变的老年人。由于临床漏诊和误诊率高,其发病率被明显低估。IC的临床表现缺乏特异性,且病情差异很大,及时行结肠镜检查有助于确诊。治疗和预后取决于疾病的严重程度。多数非坏疽型IC患者经内科保守治疗预后良好,坏疽型IC则需要手术治疗且病死率高。提高对该病的认识和警惕可减少误诊、降低病死率。

## 9 参考文献

- 1 Boley SJ, Schwartz S, Lash J, Sternhill V. Reversible vascular occlusion of the colon. *Surg Gynecol Obstet* 1963; 116: 53-60
- 2 Marston A, Pheils MT, Thomas ML, Morson BC. Ischaemic colitis. *Gut* 1966; 7: 1-15
- 3 Greenwald DA, Brandt LJ. Colonic ischemia. *J Clin Gastroenterol* 1998; 27: 122-128
- 4 Sreenarasimhaiah J. Diagnosis and management of intestinal ischaemic disorders. *BMJ* 2003; 326: 1372-1376
- 5 邓罡, 张瑛华. 老年人缺血性肠病36例临床分析. *中国老年学杂志* 2009; 29: 3259-3261
- 6 樊庆, 吴问汉, 冯秋实, 杨尹默, 万远廉. 缺血性肠病的临床特点及治疗. *中国现代医学杂志* 2008; 18: 1434-1440
- 7 楼国春, 杜勤, 董向毅, 李雅洁, 黄萍, 沈铿. 缺血性肠病17例临床表现及误诊分析. *中华内科杂志* 2006; 45: 49-50
- 8 Blanco-Díaz J, Rodríguez-Hermosa JI, Pujadas de Palol M, Farrés-Coll R, Codina-Cazador A. [Ischemic colitis: two forms of clinical presentation and outcome] *Cir Esp* 2006; 79: 245-249
- 9 Korotinski S, Katz A, Malnick SD. Chronic ischaemic bowel diseases in the aged--go with the flow. *Age Ageing* 2005; 34: 10-16
- 10 Higgins PD, Davis KJ, Laine L. Systematic review: the epidemiology of ischaemic colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 729-738
- 11 Sakai L, Keltner R, Kaminski D. Spontaneous and shock-associated ischemic colitis. *Am J Surg* 1980; 140: 755-760
- 12 Sreenarasimhaiah J. Diagnosis and management of ischemic colitis. *Curr Gastroenterol Rep* 2005; 7: 421-426
- 13 Walker AM, Bohn RL, Cali C, Cook SF, Ajene AN, Sands BE. Risk factors for colon ischemia. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1333-1337
- 14 Lefkowitz Z, Cappell MS, Lookstein R, Mitty HA, Gerard PS. Radiologic diagnosis and treatment of gastrointestinal hemorrhage and ischemia. *Med Clin North Am* 2002; 86: 1357-1399
- 15 MacDonald PH. Ischaemic colitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 51-61
- 16 Zuckerman GR, Prakash C, Merriman RB, Sawhney

- MS, DeSchryver-Kecskemeti K, Clouse RE. The colon single-stripe sign and its relationship to ischemic colitis. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2018-2022
- 17 Baixauli J, Kiran RP, Delaney CP. Investigation and management of ischemic colitis. *Cleve Clin J Med* 2003; 70: 920-921, 925-926, 928-930 passim
  - 18 Habu Y, Tahashi Y, Kiyota K, Matsumura K, Hirota M, Inokuchi H, Kawai K. Reevaluation of clinical features of ischemic colitis. Analysis of 68 consecutive cases diagnosed by early colonoscopy. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 881-886
  - 19 Kuznetsov K, Lambert R, Rey JF. Narrow-band imaging: potential and limitations. *Endoscopy* 2006; 38: 76-81
  - 20 Kudo T, Matsumoto T, Esaki M, Yao T, Iida M. Mucosal vascular pattern in ulcerative colitis: observations using narrow band imaging colonoscopy with special reference to histologic inflammation. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 495-501
  - 21 Matsumoto T, Kudo T, Jo Y, Esaki M, Yao T, Iida M. Magnifying colonoscopy with narrow band imaging system for the diagnosis of dysplasia in ulcerative colitis: a pilot study. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 957-965
  - 22 Kiesslich R, Hoffman A, Neurath MF. Colonoscopy, tumors, and inflammatory bowel disease - new diagnostic methods. *Endoscopy* 2006; 38: 5-10
  - 23 姜泊, 潘新颜, 张亚历, 刘思德. 内镜窄带成像与染色技术诊断大肠肿瘤的对比研究. *中华消化内镜杂志* 2006; 23: 416-420
  - 24 Kirkpatrick ID, Kroeker MA, Greenberg HM. Biphasic CT with mesenteric CT angiography in the evaluation of acute mesenteric ischemia: initial experience. *Radiology* 2003; 229: 91-98
  - 25 Stamatakis M, Douzinas E, Stefanaki C, Petropoulou C, Arampatzis H, Safioleas C, Giannopoulos G, Chatziconstantinou C, Xiromeritis C, Safioleas M. Ischemic colitis: surging waves of update. *Tohoku J Exp Med* 2009; 218: 83-92
  - 26 Ripollés T, Simó L, Martínez-Pérez MJ, Pastor MR, Igual A, López A. Sonographic findings in ischemic colitis in 58 patients. *AJR Am J Roentgenol* 2005; 184: 777-785
  - 27 Thoeni RF, Cello JP. CT imaging of colitis. *Radiology* 2006; 240: 623-638
  - 28 Kurland B, Brandt LJ, Delany HM. Diagnostic tests for intestinal ischemia. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 85-105
  - 29 Theodoropoulou A, Koutroubakis IE. Ischemic colitis: clinical practice in diagnosis and treatment. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 7302-7308
  - 30 Green BT, Tendler DA. Ischemic colitis: a clinical review. *South Med J* 2005; 98: 217-222
  - 31 Kolkman JJ, Mensink PB. Non-occlusive mesenteric ischaemia: a common disorder in gastroenterology and intensive care. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17: 457-473
  - 32 Brandt LJ, Boley SJ. Colonic ischemia. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 203-229
  - 33 Bailey JA, Jacobs DL, Bahadursingh A, Longo WE. Endovascular treatment of segmental ischemic colitis. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 774-779
  - 34 Huguier M, Barrier A, Boelle PY, Houry S, Lacaine F. Ischemic colitis. *Am J Surg* 2006; 192: 679-684
  - 35 Diaz-Nieto R, Varcada M, Ogunbiyi OA, Winslet MC. Systematic review on the treatment of ischaemic colitis. *Colorectal Dis* 2010 Mar 30. [Epub ahead of print]
  - 36 Elder K, Lashner BA, Al Solaiman F. Clinical approach to colonic ischemia. *Cleve Clin J Med* 2009; 76: 401-409
  - 37 Lozano-Maya M, Ponferrada-Díaz A, González-Asanza C, Nogales-Rincón O, Senent-Sánchez C, Pérez-de-Ayala V, Jiménez-Aleixandre P, Cos-Arregui E, Menchén-Fernández-Pacheco P. Usefulness of colonoscopy in ischemic colitis. *Rev Esp Enferm Dig* 2010; 102: 478-483
  - 38 Cubiella Fernández J, Núñez Calvo L, González Vázquez E, García García MJ, Alves Pérez MT, Martínez Silva I, Fernández Seara J. Risk factors associated with the development of ischemic colitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4564-4569

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 •

## 《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.

# 干细胞移植在炎症性肠病中的治疗

瞿勇, 缪应雷

## ■背景资料

IBD病因未明, 迄今为止还没有彻底治愈IBD的方法, 药物及手术治疗均不能获得满意疗效。

瞿勇, 缪应雷, 昆明医学院第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

作者贡献分布: 本文综述由瞿勇与缪应雷完成; 缪应雷审校。

通讯作者: 缪应雷, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医学院第一附属医院消化内科. myldu@sina.com

电话: 0871-5324888-2532

收稿日期: 2010-09-21 修回日期: 2010-11-23

接受日期: 2010-12-01 在线出版日期: 2010-12-18

hua Zazhi 2010; 18(35): 3772-3777

## Stem cell transplantation for the treatment of inflammatory bowel disease

Yong Qu, Ying-Lei Miao

Yong Qu, Ying-Lei Miao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Ying-Lei Miao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. myldu@sina.com

Received: 2010-09-21 Revised: 2010-11-23

Accepted: 2010-12-01 Published online: 2010-12-18

## Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is comprised of ulcerative colitis and Crohn's disease and characterized by chronic inflammation of the intestinal tract. The etiology of IBD is still unknown. Traditional treatment mainly controls active inflammation and regulates immunologic derangements. Commonly used drugs include 5-aminosalicylic acid, glucocorticoid and immunosuppressant. Some cases of IBD require surgical treatment eventually. Due to multiple etiologies, IBD should be managed comprehensively. The appearance of biological agents, genetically modified methods, anticoagulant therapies, and stem cell transplantation therapies has made it more likely to cure IBD. Stem cell transplantation represents a new type of treatment for IBD. In this article, we review the role of stem cell transplantation in the treatment of IBD.

**Key Words:** Inflammatory bowel disease; Stem cell transplantation; Treatment

Qu Y, Miao YL. Stem cell transplantation for the treatment of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3772-3777

## 摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组病因未明的慢性肠道炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD). IBD的病因仍不明确, 传统治疗主要是控制活动性炎症和调节免疫紊乱, 常用药物包括5-氨基水杨酸、糖皮质激素和免疫抑制剂等, 部分病例最终需手术治疗. 目前治疗IBD应针对多种发病机制, 采取综合性措施. 随着治疗研究的进一步发展出现了生物制剂、转基因方法、抗凝治疗、干细胞移植, 使治愈IBD成为可能. 其中干细胞移植是一种新兴的IBD治疗方法, 近年来成为治疗研究领域的热点之一, 本文就干细胞移植治疗IBD的研究现状及作用机制进行概述.

**关键词:** 炎症性肠病; 干细胞移植; 治疗

瞿勇, 缪应雷. 干细胞移植在炎症性肠病中的治疗. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3772-3777

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3772.asp>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)病因未明, 发病机制复杂, 患者数量呈逐年增加趋势, 发达国家发病率高于发展中国家. 据调查, 10%-20%的患者中其家庭成员至少有1人患IBD<sup>[1,2]</sup>, 患病时间超过10年者具有发生结肠癌的高风险率. 2003-2005年在一些发达国家(例如丹麦, 瑞典)的调查研究发现, 克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)每年发病率分别为8.6/10万、13.4/10万<sup>[3]</sup>, 发病高峰年龄为10-40岁人群, 年轻患者较普遍; 同时, IBD首次发作也可见于任何年龄段, 15%的患者在确诊时年龄已超过60岁<sup>[1,2,4,5]</sup>. IBD病程迁延、反复发作, 多数患者因疼痛生活质量受到严重影响<sup>[6]</sup>. 近年来随着人们生活水平的不断提高IBD在我国的发病率也渐呈上升趋势, Lok等<sup>[2]</sup>对我国UC患者人口流行病学及临床学特征进行调

## ■同行评议者

郝卫东, 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



查研究后发现, UC患者在我国正逐年增加并对年轻患者影响较大, 其中一部分呈严重暴发起病, 虽多数患者病情可为内科药物治疗所缓解, 但少数病例仍需手术治疗或者死亡. 由于IBD病因未明, 迄今为止还没有彻底治愈IBD的方法, 这使得广大学者寻求一种新的治疗途径, 其中干细胞移植给IBD的临床治疗带来了全新的思路, 干细胞移植可调节或重建患者免疫系统, 修复受损肠道黏膜并可恢复肠道黏膜正常功能, 拥有其他治疗方法无法替代的作用. 干细胞移植将有望成治愈IBD的重要方法, 本文就干细胞移植在IBD的治疗研究进展及作用机制方面作一综述.

## 1 IBD的治疗研究现状

目前, IBD的治疗主要着眼于控制活动性炎症和调节免疫紊乱, 传统药物包括5-氨基水杨酸、糖皮质激素、免疫抑制剂等. 上述药物对CD与UC的缓解率分别为70%和80%, 但临床疗效欠佳, 长期应用不良反应多, 难以维持长期缓解, 不能有效缩短IBD的自然病程, 对危重病例疗效有限, 存在停药后复发等问题. 与过去30年相比, 免疫抑制剂在IBD的治疗中使用更加频繁, 但并未有效降低CD的肠道并发症<sup>[7]</sup>, 对患者长期的生活质量并没有明显改善. Lix等<sup>[8]</sup>研究发现, 随着时间的推移CD患者较UC患者具有较高的心理压力、焦虑情绪及病痛灾难感, 这些负面情绪可加重IBD的自然病程, 进一步降低患者的生活质量. 在手术治疗方面, 该疗法主要用于内科治疗无效、合并严重并发症及结肠炎癌变患者, 最终目的是挽救生命、改善患者健康状况, 但术后存在不同程度复发, 其中CD复发率很高. 随之, 在传统药物治疗的基础上出现了生物制剂、转基因方法、抗凝治疗及干细胞移植等新的治疗方法. 在生物治疗方面, 最常使用新型生物制剂Infliximab作为IBD的治疗药物, 该药较多数传统药物起效迅速, 不良反应小, 研究表明Infliximab可有效治疗CD, 愈合瘘管提高患者生活质量<sup>[9-11]</sup>, 对IBD的治疗具有积极作用, 但其临床效果明显时间仅持续2-4 mo, 部分治疗有效的患者可能出现急性肠梗阻, 对可产生Infliximab抗体的患者疗效较差, 在长期用药过程中部分患者可能会产生严重的不良反应<sup>[12-14]</sup>. 传统IBD的治疗目标主要是控制发作、维持缓解、预防复发、防治并发症及保证生活质量. 近年出现的新型治疗目标主要是早期控制发作、长期维

持缓解、改变自然病程、使肠黏膜愈合并试图最终恢复肠道黏膜正常功能、甚至治愈疾病.

## 2 干细胞移植与IBD的关系

在诸多治疗IBD的研究中, 干细胞移植作为治疗IBD的新方法主要起源于对造血系统恶性肿瘤合并IBD患者进行干细胞移植后, 观察发现IBD病情在临床及内镜下得到了长期维持缓解, 再次启发了人们研究治疗IBD的新思路, 当前干细胞移植治疗IBD在实验动物研究和临床观察方面均取得了一定的进展.

**2.1 干细胞与肠黏膜损伤修复** 干细胞根据发育阶段不同分为胚胎干细胞和成体干细胞. 成体干细胞包括造血干细胞、间充质干细胞、肠道干细胞等. 肠道干细胞即肠道上皮干细胞, 位于肠道隐窝内, 越靠近肠隐窝底部其增殖能力越强, 越近肠腔增殖能力越弱. 肠道上皮干细胞具有持续更新与分裂增殖能力, 能修复受损肠道黏膜并恢复正常功能, 对维持肠道黏膜的更新及内环境稳定发挥着重要作用, 近两年研究报道, 肠道上皮干细胞移植后可持续生长并稳定表达基因产物<sup>[15,16]</sup>. 在结合基因技术的基础上, 肠道干细胞可望作为基因载体细胞治疗肠道疾病. 采用干细胞移植治疗IBD造成的肠道黏膜损伤中, 最佳干细胞来源为肠道上皮干细胞, 但由于其数量来源有限, 在体外不能长期培养扩增, 因此可采用造血干细胞作为移植来源. 在干细胞中, 间充质干细胞是一种无造血功能的干细胞, 他有助于组织损伤的修复, 具有较高的可塑性及可移植性, 成人的任何器官组织中均存在该细胞, 在特定条件下间充质干细胞能诱导分化为脂肪细胞、成骨细胞、软骨细胞等多种非造血组织细胞. 2007年Philippe在UC大鼠动物模型中进行骨髓间充质干细胞移植实验中, 发现这类干细胞能定居于受体的肠道上皮<sup>[17,18]</sup>. 具有正常功能的肠道组织能使炎症所导致的急性肠道损伤得以修复, 间充质干细胞在控制炎症活动、修复肠道黏膜、恢复肠壁完整中起着重要作用. 研究表明, 间充质干细胞可促进放射性损伤的肠上皮的修复<sup>[19,20]</sup>. 间充质干细胞在修复肠道损伤过程中, UC患者通常能恢复正常的肠道组织结构, 但CD患者则由于过度纤维化常导致肠腔狭窄和梗阻, 这与间充质干细胞持久增生、组织破坏和胶原纤维沉积有关. 目前, 间充质干细胞已成功应用于循环系统、骨关节病等自身免疫性疾病的治疗.

### ■研发前沿

目前, 干细胞移植治疗IBD的研究主要集中于造血干细胞和骨髓间充质干细胞移植, 在基础和临床研究方面均取得了一定的进展, 但移植后免疫重建的研究、干细胞在体内的转化过程及机制、移植适应证的选择、个体化治疗方案、如何进一步提高移植成功率等都是未来研究的关键.

## ■相关报道

研究表明干细胞移植后可迁移至受损肠道参与损伤组织修复和功能重建,并可恢复肠道正常的免疫功能,国内外仍在进行临床研究探索。

**2.2 干细胞移植的理论基础** 干细胞移植的实践与概念始于造血干细胞,并被几十年的动物实验所支持,在对患有血液系统疾病或恶性肿瘤的患者进行干细胞移植后发现他们原来患有的IBD得到了意想不到的缓解<sup>[21,22]</sup>。目前,干细胞移植在造血系统疾病方面应用较成熟,在治疗自身免疫性疾病方面也得到了进一步发展。自身免疫性疾病的治疗以提高宿主的免疫耐受性为重点,而IBD患者对肠道共生菌的免疫耐受发生障碍,这促使我们考虑从促进免疫细胞耐受性治疗入手,改变IBD的自然病程。IBD是多基因病,易感点位于第3、7、12、16号染色体上。研究表明,突变是IBD的易感因素,Hugot等<sup>[23]</sup>和Inohara等<sup>[24]</sup>在2001年报道了IBD的第1个易感基因NOD2/CARD15,该基因主要存在于单核细胞、巨噬细胞、潘氏细胞、树突状细胞、肠道上皮细胞以及T、B淋巴细胞内<sup>[25-27]</sup>,NOD2/CARD15编码的蛋白质仅在外周血单核细胞中表达,其作用是介导细胞凋亡以及诱导核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)的激活。NOD2/CARD15存在3个突变位点,突变在IBD肠黏膜的严重损伤中具有重要作用,使患者体内合成大量蛋白,其蛋白表达可能在造血干细胞内。因此,通过造血干细胞移植可重建患者免疫系统从而达到治疗目的。

在骨髓源性干细胞中含有多种干细胞组分,具有多向分化能力,可直接定居于肠道或与肠道干细胞融合并促进受损微循环的重建等多种机制修复黏膜、恢复正常的肠上皮功能,也可能其中还参与了肠道的免疫调节,研究证明骨髓干细胞移植能使IBD模型小鼠受损的肠黏膜组织微循环得以重建,最终加速受损组织的修复<sup>[28]</sup>,骨髓干细胞可能成为肠上皮再生的可替代来源。

## 3 干细胞移植治疗IBD的机制及临床试验研究

**3.1 造血干细胞移植** 在干细胞移植中造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)应用的较为普遍,HSCT指通过大剂量放、化疗或其他免疫抑制剂的预处理方法清除受体异常的造血和免疫系统,阻断其发病机制,然后将供者的造血干细胞移植入受体内,以替代原有的病理性造血干细胞,使受体质量建造血及免疫功能,最终达到治疗目的。HSCT按造血干细胞的来源分为骨髓移植、外周血造血干细胞移植、脐带血干细胞移植和纯化CD34<sup>+</sup>细胞移植等。据造血干细胞供者和受者关系及遗传

背景分为自体移植、同基因移植和异基因移植。在进行异基因HSCT时首先要经过移植前预处理,要求受者和供者具有相匹配的人类白细胞抗原(human leucocyte antigen, HLA)系统,并有一定数量的造血干细胞作为前提。IBD肠道炎症的发生、发展和转归过程与肠道黏膜免疫系统密切相关。在人体免疫调节中,T淋巴细胞是重要的免疫细胞,分为辅助性T淋巴细胞(helper T cells,Th)、细胞毒T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)和调节性T淋巴细胞,其中调节性T淋巴细胞对自身免疫调节起着重要作用<sup>[29]</sup>,主要使机体的自身免疫耐受与自身免疫反应维持平衡<sup>[6]</sup>;T淋巴细胞功能异常可导致多种疾病<sup>[30-32]</sup>,同时也是IBD发病的重要因素;IBD患者受累肠段能产生大量抗体,当T淋巴细胞产生免疫应答时:Th1为主的免疫应答发展为CD,此时促炎介质IL-2、INF- $\gamma$ 、TNF释放增加,引起炎症反应或迟发型超敏反应;Th2为主的免疫应答发展为UC,此时抗炎介质IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13释放增加,从而增强体液免疫应答。正常情况下,肠道成纤维细胞可产生基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs),其作用可降解细胞外基质阻止其大量沉积,而活化的具有正常功能的T淋巴细胞可激活成纤维细胞产生MMPs<sup>[33]</sup>,研究表明,IBD病变肠黏膜中MMPs的表达均明显高于正常的肠黏膜,MMPs在IBD的发病机制中起着重要作用<sup>[34]</sup>。IBD肠道成纤维细胞与正常肠道成纤维细胞相比具有显著的增殖和胶原分泌能力,这表明IBD患者肠道产生免疫反应时功能异常的T淋巴细胞激活成纤维细胞,使MMPs产生异常,从而导致病程的进一步发展。因此,造血干细胞移植治疗IBD的可能机制为:(1)移植后的干细胞能参与IBD患者受损肠黏膜的修复,取代肠黏膜中受损的细胞成分,还可参与调节肠道内的免疫反应;(2)调节T淋巴细胞功能使肠道正常表达MMPs;(3)移植的前提是摧毁机体病态免疫,在此基础上进行自体或异体HSCT,可恢复正常免疫,阻止了机体对自身组织的免疫攻击,使IBD的免疫发病机制根除;与此同时,在干细胞动员及预处理时应用的超常剂量免疫抑制剂对IBD的治疗具协同作用。针对IBD的发病机制采用HSCT,当IBD患者接受HSCT治疗后全身免疫系统得以恢复正常、异常的T淋巴细胞会消失,通过免疫系统重建可恢复全身正常的免疫反应,从而治愈IBD。

**3.2 骨髓间充质干细胞移植** 骨髓间充质干细胞

(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 是骨髓基质细胞的前体细胞, 是由中胚层分化而来的一种具有多向分化潜能的非造血成体干细胞, 主要存在于骨髓, 可塑性很强, 在不同诱导条件下可分化为多种细胞<sup>[35-37]</sup>, 诸如心肌细胞、肝细胞、神经细胞、血管内皮细胞等. BMSCs移植治疗IBD的可能机制为: 首先, 受损肠道对BMSCs可能有特异性趋化作用, 可释放趋化性细胞因子使BMSCs归巢, 对UC大鼠模型进行BMSCs移植后发现, 迁移至受损结肠的BMSCs高于正常结肠<sup>[38]</sup>. 在修复消化系损伤过程中, BMSCs随损伤的加重迁移率增加, 恢复期则明显下降<sup>[39]</sup>. 研究还证实, 移植后的BMSCs能在大鼠UC模型的肠道中定位<sup>[40]</sup>, 从而分化成具有一定功能的肠道上皮细胞, 可参与消化系损伤修复和功能重建<sup>[41]</sup>, 与此同时BMSCs可抑制T、B淋巴细胞增殖, 降低树突状细胞抗原呈递作用以及改变自然杀伤(natural killer, NK)细胞的功能<sup>[42,43]</sup>, 从而抑制肠道的异常免疫反应, 还可调节细胞因子IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8和TNF- $\alpha$ <sup>[44]</sup>等的分泌, 进一步调节受损肠道的炎症反应; 其次, BMSCs还可参与受损肠道微环境的重建, 促进新生血管形成<sup>[45]</sup>, 从而有利于肠道黏膜的修复过程; 最终达到治愈IBD的目的, 移植后重建的免疫系统功能替代了原有的导致肠道慢性炎症的异常的免疫系统功能. BMSCs移植后并发症少、骨髓采集安全方便、对机体损伤小, 易于分离、纯化和体外扩增, 不涉及伦理道德问题, 因此是干细胞移植治疗IBD的理想细胞.

**3.3 HSCT治疗IBD的临床试验研究** 1993年, Drakos报道了第1例淋巴瘤合并CD患者在接受同种异体HSCT后其CD病情得到了改善. 随后, 至少有22例癌症合并CD患者在接受自体造血干细胞移植(autologous hematopoietic stem cell transplantation, AHSCT)后病情得到缓解, 其中19例移植后中位随访时间7年达长期缓解, 18例在中位随访时间超过20 mo后仍达到临床缓解, 18例中有2例同时服用传统药物<sup>[46]</sup>. 这表明在不服用任何药物的情况下AHSCT也能带来长期的临床缓解疗效, 这引起了人们极大的关注, 使IBD临床治疗方法出现了全新的思路. 2003年报道, 对2例Infliximab疗效较差的CD患者进行HSCT发现CD活动指数(Crohn's disease activity index, CDAI)完全正常<sup>[47]</sup>; 同时, Burt等<sup>[48]</sup>也作了报道; 在IBD的治疗中, 有两例关于AHSCT作为CD主要治疗方法的报道, 第1例来自于芝加哥的I期

临床试验, 包括12例活动性中重度CD患者, 在使用传统治疗和抗TNF- $\alpha$ 单克隆抗体治疗无效情况下, 用环磷酰胺联合粒细胞集落刺激因子动员后采集外周血干细胞, 经CD34<sup>+</sup>纯化处理, 在移植前用环磷酰胺和抗胸腺球蛋白进行预处理, 结果发现出院时CDAI和CD症状均得到改善, 在随访7-37(中位时间为18.5) mo后发现影像学及内镜异常均逐渐改善, 其中11例获得维持缓解(CDAI $\leq$ 150)<sup>[49]</sup>; 另1例报道来自米兰的I-II临床试验, Cassinotti等<sup>[50]</sup>对4例难治性CD患者进行自体造血干细胞移植后, 撤出所有传统治疗药物, 4例患者有3例经中位随访时间16.5 mo后临床和内镜评估达到了维持缓解; 在这2例报道中进行HSCT后均无患者死亡. 目前欧洲正进行III期临床试验, 旨在调查大剂量免疫抑制剂加用AHSCT所带来的潜在临床疗效. 国外报道了1例出生后10 mo患有IBD合并CD3 $\gamma$ 缺陷的患儿, 出生后2 mo时经常发生顽固性腹泻、反复肺部感染、口腔念珠菌病, 在进行严格的移植前准备后为该患儿进行第1次异基因HSCT, 并在5 mo后进行第2次移植, 在第2次移植后的第19天患儿由IBD导致的严重腹泻、肛周病变、直肠瘘得到了显著改善<sup>[51]</sup>. 国内报道, 2004年对5例复发性CD患者进行自体AHSCT治疗, 有4例缓解, 1例术后6 mo复发<sup>[52]</sup>. 所有这些相关报道在HSCT治疗IBD的进一步研究中给人们产生了巨大鼓舞.

## 4 结论

干细胞移植治疗IBD具有广阔的应用前景, 他可从遗传和免疫方面对IBD起到治疗作用, 能够改变IBD的自然病程、达到长期维持缓解、愈合受损肠道黏膜、恢复肠道正常功能并显著提高患者生活质量. 当前干细胞移植对IBD的治疗还处于试验性阶段, 主要用于对难治性CD试验性治疗的研究, 尚缺乏大量的临床资料, 有待于更多病例研究和长期随访. 随着干细胞移植技术的迅速发展, 成纤维细胞、骨髓细胞诱导成多能干细胞相继报道, 给干细胞移植治疗IBD的研究和应用打开了新的前景. 此外, 干细胞移植在基础和临床研究方向上仍存在着有待解决的问题, 如干细胞移植治疗最佳时机的选择; 移植适应证的选择; 合理的预处理方案; 自体移植去除T淋巴细胞的利弊; 如何进行个体化治疗; 并发症的防治; 移植后激素减量的方法; 移植后免疫重建的研究; 干细胞移植后在体内的转化过

## ■创新盘点

本文就干细胞移植治疗IBD的研究进展进行综述, 并对其治疗的可能机制进行了概括总结.

# 同行评价

本文科学性较好, 综述全面, 为读者了解干细胞移植治疗炎症性肠病的研究进展奠定基础。

程及机制; 如何进一步提高移植成功率等都是未来研究的方向, 随着基础研究的深入和临床实践经验的不断积累, IBD患者有望得到彻底的治愈。我们期待着干细胞移植能在IBD的治疗中得到广泛和有效的应用。在未来的一段时间内, 随着技术的不断创新, 治疗经验的不断丰富, 会有越来越多的患者得到更好的救治, 重获健康。干细胞移植治疗在IBD中的应用将仍是消化系统疾病的研究热点, 相信不久的将来应用干细胞移植治疗IBD将会成为必然趋势。

## 参考文献

- Collins P, Rhodes J. Ulcerative colitis: diagnosis and management. *BMJ* 2006; 333: 340-343
- Lok KH, Hung HG, Ng CH, Kwong KC, Yip WM, Lau SF, Li KK, Li KF, Szeto ML. Epidemiology and clinical characteristics of ulcerative colitis in Chinese population: experience from a single center in Hong Kong. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 406-410
- Vind I, Riis L, Jess T, Knudsen E, Pedersen N, Elkjaer M, Bak Andersen I, Wewer V, Nørregaard P, Moesgaard F, Bendtsen F, Munkholm P. Increasing incidences of inflammatory bowel disease and decreasing surgery rates in Copenhagen City and County, 2003-2005: a population-based study from the Danish Crohn colitis database. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1274-1282
- Jin HY, Ye H, Wu KL, Zhu Y, Zhang JH, Liu P, Zhang TE, Ding YJ. [Indications for colonoscopy examination and its disease distribution: a report of 5690 cases]. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2006; 9: 214-216
- Jiang L, Xia B, Li J, Ye M, Deng C, Ding Y, Luo H, Ren H, Hou X, Liu H, Xu H, Cheng H, Yang H. Risk factors for ulcerative colitis in a Chinese population: an age-matched and sex-matched case-control study. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41: 280-284
- Wing K, Sakaguchi S. Regulatory T cells exert checks and balances on self tolerance and autoimmunity. *Nat Immunol* 2010; 11: 7-13
- Cosnes J, Nion-Larmurier I, Beaugier L, Afchain P, Tiret E, Gendre JP. Impact of the increasing use of immunosuppressants in Crohn's disease on the need for intestinal surgery. *Gut* 2005; 54: 237-241
- Lix LM, Graff LA, Walker JR, Clara I, Rawsthorne P, Rogala L, Miller N, Ediger J, Pretorius T, Bernstein CN. Longitudinal study of quality of life and psychological functioning for active, fluctuating, and inactive disease patterns in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1575-1584
- Miheller P, Lakatos PL, Horváth G, Molnár T, Szamosi T, Czeglédi Z, Salamon A, Czimmer J, Rumi G, Palatka K, Papp M, Jakab Z, Szabó A, Gelley A, Lakatos L, Barta Z, Balázs C, Rácz I, Zeher M, Döbrönte Z, Altorjay I, Hunyady B, Simon L, Papp J, Banai J, Nagy F, Lonovics J, Ujszászy L, Muzes G, Herszényi L, Tulassay Z. Efficacy and safety of infliximab induction therapy in Crohn's Disease in Central Europe—a Hungarian nationwide observational study. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 66
- Teshima CW, Thompson A, Dhanoa L, Dieleman LA, Fedorak RN. Long-term response rates to infliximab therapy for Crohn's disease in an outpatient cohort. *Can J Gastroenterol* 2009; 23: 348-352
- Ruemmele FM, Lachaux A, Cézard JP, Morali A, Maurage C, Giniès JL, Viola S, Goulet O, Lamireau T, Scaillon M, Breton A, Sarles J. Efficacy of infliximab in pediatric Crohn's disease: a randomized multi-center open-label trial comparing scheduled to on demand maintenance therapy. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 388-394
- Toruner M, Loftus EV Jr, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Orenstein R, Sandborn WJ, Colombel JF, Egan LJ. Risk factors for opportunistic infections in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2008; 134: 929-936
- D'Haens G. Risks and benefits of biologic therapy for inflammatory bowel diseases. *Gut* 2007; 56: 725-732
- Passarini B, Infusino SD, Barbieri E, Varotti E, Gionchetti P, Rizzello F, Morselli C, Tambasco R, Campieri M. Cutaneous manifestations in inflammatory bowel diseases: eight cases of psoriasis induced by anti-tumor-necrosis-factor antibody therapy. *Dermatology* 2007; 215: 295-300
- Spitkovsky D, Hescheler J. Adult mesenchymal stromal stem cells for therapeutic applications. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 2008; 17: 79-90
- Arthur A, Zannettino A, Gronthos S. The therapeutic applications of multipotential mesenchymal/stromal stem cells in skeletal tissue repair. *J Cell Physiol* 2009; 218: 237-245
- Okamoto R, Watanabe M. Molecular and clinical basis for the regeneration of human gastrointestinal epithelia. *J Gastroenterol* 2004; 39: 1-6
- Okamoto R, Watanabe M. Cellular and molecular mechanisms of the epithelial repair in IBD. *Dig Dis Sci* 2005; 50 Suppl 1: S34-S38
- Sémont A, François S, Mouiseddine M, François A, Saché A, Frick J, Thierry D, Chapel A. Mesenchymal stem cells increase self-renewal of small intestinal epithelium and accelerate structural recovery after radiation injury. *Adv Exp Med Biol* 2006; 585: 19-30
- 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
- Kashyap A, Forman SJ. Autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma resulting in long-term remission of coincidental Crohn's disease. *Br J Haematol* 1998; 103: 651-652
- Söderholm JD, Malm C, Juliusson G, Sjö Dahl R. Long-term endoscopic remission of crohn disease after autologous stem cell transplantation for acute myeloid leukaemia. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 613-616
- 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
- Inohara N, Ogura Y, Chen FF, Muto A, Nuñez G. Human Nod1 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharides. *J Biol Chem* 2001; 276: 2551-2554
- Gutierrez O, Pipaon C, Inohara N, Fontalba A, Ogura Y, Prosper F, Nunez G, Fernandez-Luna JL.

- Induction of Nod2 in myelomonocytic and intestinal epithelial cells via nuclear factor-kappa B activation. *J Biol Chem* 2002; 277: 41701-41705
- 26 Rosenstiel P, Fantini M, Bräutigam K, Kühbacher T, Waetzig GH, Seegert D, Schreiber S. TNF-alpha and IFN-gamma regulate the expression of the NOD2 (CARD15) gene in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2003; 124: 1001-1009
- 27 Lala S, Ogura Y, Osborne C, Hor SY, Bromfield A, Davies S, Ogunbiyi O, Nuñez G, Keshav S. Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells. *Gastroenterology* 2003; 125: 47-57
- 28 Khalil PN, Weiler V, Nelson PJ, Khalil MN, Moosmann S, Mutschler WE, Siebeck M, Huss R. Nonmyeloablative stem cell therapy enhances microcirculation and tissue regeneration in murine inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2007; 132: 944-954
- 29 Kim JM, Rasmussen JP, Rudensky AY. Regulatory T cells prevent catastrophic autoimmunity throughout the lifespan of mice. *Nat Immunol* 2007; 8: 191-197
- 30 Flores-Borja F, Jury EC, Mauri C, Ehrenstein MR. Defects in CTLA-4 are associated with abnormal regulatory T cell function in rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 19396-19401
- 31 Lindley S, Dayan CM, Bishop A, Roep BO, Peakman M, Tree TI. Defective suppressor function in CD4(+)CD25(+) T-cells from patients with type 1 diabetes. *Diabetes* 2005; 54: 92-99
- 32 Valencia X, Yarbora C, Illei G, Lipsky PE. Deficient CD4+CD25high T regulatory cell function in patients with active systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2007; 178: 2579-2588
- 33 Monteleone G, Caruso R, Fina D, Peluso I, Gioia V, Stolfi C, Fantini MC, Caprioli F, Tersigni R, Alessandrini L, MacDonald TT, Pallone F. Control of matrix metalloproteinase production in human intestinal fibroblasts by interleukin 21. *Gut* 2006; 55: 1774-1780
- 34 廖应雷, 欧阳钦, 段丽平, 李晓燕. 基质金属蛋白酶-1、基质金属蛋白酶-2和基质金属蛋白酶-3在溃疡性结肠炎患者肠黏膜的表达. *临床内科杂志* 2005; 22: 682-684
- 35 Clavin NW, Fernandez J, Schönmeier BH, Soares MA, Mehrara BJ. Fractionated doses of ionizing radiation confer protection to mesenchymal stem cell pluripotency. *Plast Reconstr Surg* 2008; 122: 739-748
- 36 Zhang G, Zhou J, Fan Q, Zheng Z, Zhang F, Liu X, Hu S. Arterial-venous endothelial cell fate is related to vascular endothelial growth factor and Notch status during human bone mesenchymal stem cell differentiation. *FEBS Lett* 2008; 582: 2957-2964
- 37 晏开力, 汪健, 李庆, 郭志伟, 徐修才, 徐静玮, 翟志敏. 成人骨髓间充质干细胞分化为血管内皮细胞的研究. *中国修复重建外科杂志* 2007; 21: 76-80
- 38 段征, 徐艳华, 陈小云, 汪维伟. 间充质干细胞移植后在溃疡性结肠炎大鼠体内的迁移. *重庆医科大学学报* 2010; 35: 1152-1154
- 39 Okamoto R, Yajima T, Yamazaki M, Kanai T, Mukai M, Okamoto S, Ikeda Y, Hibi T, Inazawa J, Watanabe M. Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nat Med* 2002; 8: 1011-1017
- 40 段进粮, 聂玉强, 李瑜元, 杜艳蕾, 沙卫红, 何慧华, 董伟华. 大鼠骨髓间充质干细胞移植后在溃疡性结肠炎模型肠道的定位. *广州医学院学报* 2006; 34: 1-4
- 41 Yabana T, Arimura Y, Tanaka H, Goto A, Hosokawa M, Nagaishi K, Yamashita K, Yamamoto H, Adachi Y, Sasaki Y, Isobe M, Fujimiya M, Imai K, Shinomura Y. Enhancing epithelial engraftment of rat mesenchymal stem cells restores epithelial barrier integrity. *J Pathol* 2009; 218: 350-359
- 42 Kim JA, Hong S, Lee B, Hong JW, Kwak JY, Cho S, Kim CC. The inhibition of T-cells proliferation by mouse mesenchymal stem cells through the induction of p16INK4A-cyclin D1/cdk4 and p21waf1, p27kip1-cyclin E/cdk2 pathways. *Cell Immunol* 2007; 245: 16-23
- 43 Prigione I, Benvenuto F, Bocca P, Battistini L, Uccelli A, Pistoia V. Reciprocal interactions between human mesenchymal stem cells and gammadelta T cells or invariant natural killer T cells. *Stem Cells* 2009; 27: 693-702
- 44 Zubov DO. [Immunoregulatory role of mesenchymal stem cells in bone repairation processes]. *Fiziol Zh* 2008; 54: 30-36
- 45 Gong Z, Niklason LE. Small-diameter human vessel wall engineered from bone marrow-derived mesenchymal stem cells (hMSCs). *FASEB J* 2008; 22: 1635-1648
- 46 Fortun PJ, Hawkey CJ. The role of stem cell transplantation in inflammatory bowel disease. *Autoimmunity* 2008; 41: 654-659
- 47 Craig RM, Traynor A, Oyama Y, Burt RK. Hematopoietic stem cell transplantation for severe Crohn's disease. *Bone Marrow Transplant* 2003; 32 Suppl 1: S57-S59
- 48 Burt RK, Traynor A, Oyama Y, Craig R. High-dose immune suppression and autologous hematopoietic stem cell transplantation in refractory Crohn disease. *Blood* 2003; 101: 2064-2066
- 49 Oyama Y, Craig RM, Traynor AE, Quigley K, Statkute L, Halverson A, Brush M, Verda L, Kowalska B, Krosnjak N, Kletzel M, Whittington PF, Burt RK. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with refractory Crohn's disease. *Gastroenterology* 2005; 128: 552-563
- 50 Cassinotti A, Annaloro C, Ardizzone S, Onida F, Della Volpe A, Clerici M, Usardi P, Greco S, Maconi G, Porro GB, Deliliers GL. Autologous haematopoietic stem cell transplantation without CD34+ cell selection in refractory Crohn's disease. *Gut* 2008; 57: 211-217
- 51 Özgür TT, Asal GT, Cetinkaya D, Orhan D, Kiliç SS, Usta Y, Ozen H, Tezcan I. Hematopoietic stem cell transplantation in a CD3 gamma-deficient infant with inflammatory bowel disease. *Pediatr Transplant* 2008; 12: 910-913
- 52 杨英, 陈隆典. 85例克罗恩病的临床研究. *胃肠病学* 2006; 11: 222-225

编辑 李薇 电编 何基才



# 改良胃旁路术对GK大鼠的降糖作用及其机制

翁山耕, 张斌, 刘赵琪, 石铮

## ■背景资料

2型糖尿病在世界范围内都是常见的疾病, 其发病机制尚不明确, 目前内科药物治疗尚无法治愈。1982年Pories等的偶然发现, 开创了外科手术治疗糖尿病的新途径, 掀起了一股研究热潮。

翁山耕, 张斌, 刘赵琪, 石铮, 福建医科大学附属第一医院肝胆胰、腔镜微创外科 福建省福州市 350004

福建省自然科学基金资助项目, No. 2010J01152

作者贡献分布: 本课题由翁山耕、张斌、刘赵琪及石铮设计并撰写; 研究过程由张斌与刘赵琪共同完成; 数据分析由刘赵琪完成; 本论文写作由翁山耕与张斌完成。

通讯作者: 翁山耕, 副教授, 350004, 福建省福州市茶中路20号, 福建医科大学附属第一医院肝胆胰、腔镜微创外科。

shangeng@sina.com

电话: 0591-87982562

收稿日期: 2010-09-30 修回日期: 2010-10-30

接受日期: 2010-11-02 在线出版日期: 2010-12-18

## Improved gastric bypass surgery decreases blood glucose levels in Goto-Kakizaki rats

Shan-Geng Weng, Bin Zhang, Zhao-Qi Liu, Zheng Shi

Shan-Geng Weng, Bin Zhang, Zhao-Qi Liu, Zheng Shi, Department of Hepatopancreatobiliary and Laparoscopic Minimally Invasive Surgery, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350004, Fujian Province, China

Supported by: the Fujian Provincial Natural Science Foundation, No. 2010J01152

Correspondence to: Associate Professor Shan-Geng Weng, Department of Hepatopancreatobiliary and Laparoscopic Minimally Invasive Surgery, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, 20 Chazhong Road, Fuzhou 350004, Fujian Province, China. shangeng@sina.com

Received: 2010-09-30 Revised: 2010-10-30

Accepted: 2010-11-02 Published online: 2010-12-18

## Abstract

**AIM:** To investigate whether improved gastric bypass (GBP) surgery decreases blood glucose levels in Goto-Kakizaki (GK) rats and to explore possible mechanisms involved.

**METHODS:** Twenty male GK rats were randomized into two groups: one undergoing improved GBP surgery (GBP surgery group) and the other undergoing a sham operation (sham operation group). Body weight, fasting plasma glucose (FPG), oral glucose tolerance (OGTT), and plasma levels of insulin and glucagon-like peptide-1 level (GLP-1) were determined at 1 week before surgery and at 8 weeks after surgery.

**RESULTS:** After the surgery, fasting plasma glu-

cose level decreased from (5.050 mmol/L  $\pm$  0.395 mmol/L) to (4.013 mmol/L  $\pm$  0.476 mmol/L), and OGTT from (22.790 mmol/L  $\pm$  3.525 mmol/L) to (12.488 mmol/L  $\pm$  1.173 mmol/L) in GK rats, while plasma insulin level increased from (674.000 ng/L  $\pm$  224.372 ng/L) to (873.630 ng/L  $\pm$  115.920 ng/L), and plasma GLP-1 level from (6 915.000 ng/L  $\pm$  1 566.860 ng/L) to (8 508.750 ng/L  $\pm$  1 247.013 ng/L). There were significant differences in the above parameters between the two groups of rats.

**CONCLUSION:** Improved GBP surgery can significantly improve carbohydrate tolerance in non-obese rats with type 2 diabetes possibly by increasing plasma GLP-1 level.

**Key Words:** Type II diabetes mellitus; Improved gastric bypass surgery; Goto-Kakizaki rat; Glucose; Glucagon-like peptide-1

Weng SG, Zhang B, Liu ZQ, Shi Z. Improved gastric bypass surgery decreases blood glucose levels in Goto-Kakizaki rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3778-3781

## 摘要

**目的:** 研究改良胃旁路术(gastric bypass, GBP)对非肥胖型2型糖尿病(Goto-Kakizaki, GK)大鼠的降糖效果及其机制。

**方法:**  $\delta$  GK大鼠20只, 随机分为手术组和对照组, 每组10只。对手术组大鼠行GBP, 对照组大鼠在十二指肠球部远端0.5 cm处切断吻合。测定各组术前1 wk及术后8 wk体质量、空腹血糖(FPG)、餐后30 min血糖、血浆胰岛素(INS)、血浆胰高血糖素样肽-1(GLP-1)水平。

**结果:** 术后8 wk, 手术组FPG和餐后30 min血糖较术前明显降低(4.013 mmol/L  $\pm$  0.476 mmol/L vs 5.050 mmol/L  $\pm$  0.395 mmol/L; 12.488 mmol/L  $\pm$  1.173 mmol/L vs 22.790 mmol/L  $\pm$  3.525 mmol/L, 均 $P < 0.05$ ), 血浆INS和GLP-1较术前明显升高(873.630 ng/L  $\pm$  115.920 ng/L vs 674.000 ng/L  $\pm$  224.372 ng/L; 8 508.750 ng/L  $\pm$  1 247.013 ng/L vs 6 915.000 ng/L  $\pm$  1 566.860

## ■同行评议者

谢敏, 主任医师, 南京大学医学院附属鼓楼医院普外科

ng/L, 均 $P<0.05$ ).

**结论:** 改良GBP能降低GK大鼠血糖, 其机制可能与术后GLP-1的升高, 从而导致胰岛素分泌增多有关.

**关键词:** 2型糖尿病; 改良胃旁路术; 非肥胖型2型糖尿病大鼠; 血糖; 血浆胰高血糖素样肽-1

翁山耕, 张斌, 刘赵琪, 石铮. 改良胃旁路术对GK大鼠的降糖作用及其机制. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3778-3781  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3778.asp>

## 0 引言

1982年, Pories等<sup>[1]</sup>在使用减肥手术治疗病态肥胖症时偶然发现, 合并有2型糖尿病的患者接受手术后, 体质量减轻的同时血糖也迅速恢复正常, 从而开创了外科手术治疗2型糖尿病的新途径. 近年来, 许多研究证实了胃旁路术(gastric bypass, GBP)可以治疗2型糖尿病, 但其机制尚不明确<sup>[2-4]</sup>. 本研究对非肥胖2型糖尿病(goto-kakizaki, GK)大鼠行改良的GBP, 观察这种术式对GK大鼠血糖、血浆胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)、血浆胰岛素(insulin, INS)水平等的影响, 并探讨其可能的机制.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 8周龄♂GK大鼠20只, 上海斯莱克实验动物有限公司提供, 实验动物证号(SCXK(沪)2007-0005). 饲养于福建医科大学实验动物中心屏障系统. 大鼠INS ELISA试剂盒(美国R&D公司, 广州合达生物有限公司分装), 大鼠GLP-1 ELISA试剂盒(美国R&D公司, 广州合达生物有限公司分装).

### 1.2 方法

**1.2.1 分组:** 动物自由进水, 喂食5%脂肪饲料, 每天20-25 g. 2 wk后, 随机分为手术组和对照组, 每组10只.

**1.2.2 手术:** 各组大鼠均在10 wk龄时行手术, 术前1 d禁食, 不禁饮. 10%水合氯醛按5 mL/kg体质量进行腹腔注射麻醉. 手术组大鼠在十二指肠球部远端0.5 cm处横断十二指肠, 远端封闭, 近端与距Treitz韧带20 cm的空肠行十二指肠空肠端侧吻合术. 对照组在十二指肠球部远端0.5 cm处横断后再吻合(图1).

**1.2.3 体质量测量:** 使用电子体质量测量仪, 测量术前1 wk及术后8 wk各组大鼠的体质量, 在清晨空腹时测量.

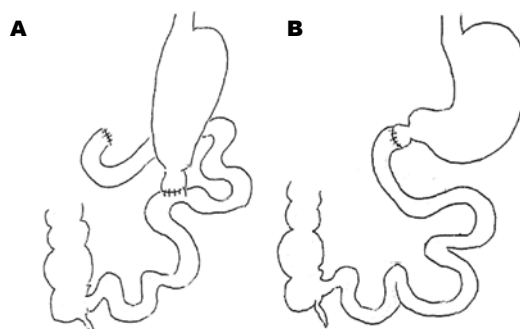


图1 手术示意图. A: 手术组; B: 对照组.

**1.2.4 血糖的测量:** 使用罗氏活力型一键式微量血糖仪. 取大鼠尾静脉血, 测量术前1 wk及术后8 wk禁食12 h后清晨空腹血糖以及给予3 g/kg 50%葡萄糖灌胃30 min后的血糖.

**1.2.5 血浆INS、GLP-1的测量:** 术前1 wk及术后8 wk, 禁食12 h后, 给予3 g/kg 50%葡萄糖灌胃. 灌胃后30 min, 眶静脉取血, 用50 mmol/L EDTA, 12 kTIU/L抑肽酶和100  $\mu$ mol/L的胰酶胃蛋白酶抑制剂处理后3 000 r/min在4  $^{\circ}$ C离心10 min, 分离后的血浆保存在-80  $^{\circ}$ C冰箱中待测量. 测量使用大鼠INS RIA试剂盒和大鼠GLP-1 ELISA试剂盒.

**统计学处理** 用SPSS13.0软件行统计学分析, 数据以mean $\pm$ SD表示.

## 2 结果

术后8 wk, 手术组大鼠死亡1只, 对照组大鼠无死亡.

**2.1 体质量** 术后8 wk, 两组大鼠体质量与术前相比, 均有增多; 手术组与对照组大鼠间体质量差别无统计学意义(表1).

**2.2 空腹血糖** 与术前相比, 手术组大鼠空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)水平显著降低, 差别具有统计学意义( $P<0.05$ ); 对照组大鼠术前术后差别无明显统计学意义(表1).

**2.3 餐后30 min血糖** 与术前相比, 手术组大鼠餐后30 min血糖水平显著降低, 差别具有统计学意义( $P<0.05$ ). 对照组大鼠术前术后差别无统计学意义(表1).

**2.4 血浆INS** 与术前相比, 手术组大鼠血浆INS水平显著上升, 差别具有统计学意义( $P<0.05$ ); 对照组大鼠术前术后差别无统计学意义(表1).

**2.5 血浆GLP-1** 与术前相比, 手术组大鼠血浆GLP-1水平显著上升, 差别具有统计学意义( $P<0.05$ ). 对照组大鼠术前术后差别无统计学意义.

### ■ 研发前沿

胃旁路术可治疗2型糖尿病的机制仍不明确. 近年来, 人们认识到肠道能够分泌多种激素, 在调节胰岛素分泌和敏感性方面起重要作用, 因此, 肠道假说也成为近年来的研究热点.

### ■ 相关报道

Clifton等指出, 糖尿病患者在接受胃旁路术后, GLP-1水平升高, 血糖、血脂等指标都得到了良好的控制. BOSE等的研究同样表明了胃旁路术后, 患者GLP-1水平升高.

## ■创新盘点

目前,多数学者还是通过实验动物研究胃旁路术治疗2型糖尿病的机制,GK大鼠作为常用的实验动物,对其行胃旁路术难度相对较大,因此本课题组提出一种新的术式,以降低在实验动物研究中的技术难度。

表 1 术前1 wk与术后8 wk各组指标的变化 (mean ± SD)

指标	手术组		对照组	
	术前1 wk	术后8 wk	术前1 wk	术后8 wk
体质量(g)	293.200 ± 12.363	321.250 ± 5.339	282.700 ± 11.285	319.000 ± 4.899
FPG(mmol/L)	5.050 ± 0.395	4.013 ± 0.476 <sup>a</sup>	5.380 ± 0.700	5.175 ± 0.838
餐后30 min血糖(mmol/L)	22.790 ± 3.525	12.488 ± 1.173 <sup>a</sup>	21.290 ± 2.285	19.088 ± 3.026
INS(ng/L)	674.000 ± 224.372	873.630 ± 115.920 <sup>a</sup>	701.000 ± 214.529	680.750 ± 115.806
GLP-1(ng/L)	6 915.000 ± 1 566.860	8 508.750 ± 1 247.013 <sup>a</sup>	7 456.000 ± 1 519.789	6 368.750 ± 1 320.438

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 术前。

义(表1)。

### 3 讨论

近年来,GBP治疗2型糖尿病的机制成为一个新的研究热点,因其机制不明,大多数学者都以大鼠为模型进行机制研究。GK大鼠作为自发的非肥胖2型糖尿病模型鼠,被广泛应用于非胰岛素依赖性2型糖尿病的研究。GBP手术在动物实验中,操作难度相对较大,因此我们设计了一个了既旷置了近端小肠又只有一个吻合口的新术式,即改良GBP。改良GBP保留幽门,并将十二指肠和近端小肠直接端侧吻合,比GBP少了一个吻合口,降低了实验动物手术的难度。Dallegrave Marchesini等<sup>[5]</sup>于2007年提出相类似的想法,但并没有后续相应的临床及基础研究报道指出其想法的可行性。

本实验通过对GK大鼠的研究结果表明,行改良GBP术后8 wk,大鼠空腹血糖较术前明显降低( $P < 0.05$ ),而对照组大鼠术后血糖与术前相比,差别无统计学意义,表明改良GBP能降低GK大鼠的血糖水平。

Buchwald等<sup>[6]</sup>在回顾性研究中指出,22 094例合并2型糖尿病的患者在接受GBP后,84%的患者血糖降低。Pacheco等<sup>[7]</sup>对GK大鼠的研究结果表明,大鼠在接受GBP后,血糖恢复正常且并没有饮食的减少以及体质量减轻。GBP能够治疗2型糖尿病,然而对于GBP治疗2型糖尿病的机制目前尚无定论,目前众多学者比较认同的是肠道假说。下段小肠假说最早由Mason<sup>[8]</sup>提出,此假说认为下段回肠存在一种L细胞,该细胞在营养素刺激下能够产生GLP-1。GLP-1是一种肠促胰岛素,能够通过增加胰岛素分泌、抑制胰高血糖素分泌、抑制胃排空、刺激β细胞增生等作用而提高糖耐量<sup>[9]</sup>。GBP改变了消化路径,使得未消化或消化不完全的食物提早进入下段小肠,

刺激L细胞分泌GLP-1, GLP-1的分泌增加,从而改善了血糖。

从我们的实验结果来看,行改良GBP术后GK大鼠的血糖明显降低,其体质量并无明显减轻,说明体质量减少并不是GBP治疗2型糖尿病的主要机制。术后8 wk,手术组大鼠的血浆GLP-1和INS均明显升高( $P < 0.05$ )。我们的实验结果与下段小肠学说的假设相吻合,与近年来的许多研究结果相一致<sup>[10-13]</sup>。因此,我们认为GBP治疗2型糖尿病的机制可能是由于手术旷置了上段小肠,使得未消化或消化不完全的食物提前进入下段小肠,引起GLP-1分泌的增加,使得胰岛素分泌增加,从而导致血糖的降低。

改良GBP操作更简单,降低了实验动物的手术难度,并且能够降低GK大鼠血糖水平,其机制可能与GLP-1分泌增加,使得胰岛素分泌增加有关,但不排除其他原因的可能,例如肠抑胃肽、血浆抵抗素等水平变化<sup>[14,15]</sup>。

### 4 参考文献

- 1 Pories WJ, Swanson MS, MacDonald KG, Long SB, Morris PG, Brown BM, Barakat HA, deRamon RA, Israel G, Dolezal JM. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Ann Surg* 1995; 222: 339-350; discussion 350-352
- 2 Wickremesekera K, Miller G, Naotunne TD, Knowles G, Stubbs RS. Loss of insulin resistance after Roux-en-Y gastric bypass surgery: a time course study. *Obes Surg* 2005; 15: 474-481
- 3 Rubino F, Marescaux J. Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. *Ann Surg* 2004; 239: 1-11
- 4 Alexandrides TK, Skroubis G, Kalfarentzos F. Resolution of diabetes mellitus and metabolic syndrome following Roux-en-Y gastric bypass and a variant of biliopancreatic diversion in patients with morbid obesity. *Obes Surg* 2007; 17: 176-184
- 5 Dallegrave Marchesini JC. End-to-side duodeno-jejunojejunostomy with half-and-half biliopancreatic limb for the treatment of type 2 diabetes: a proposal for a

- simpler technique. *Obes Surg* 2007; 17: 138-139
- 6 Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrbach K, Schoelles K. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2004; 292: 1724-1737
- 7 Pacheco D, de Luis DA, Romero A, González Sagrao M, Conde R, Izaola O, Aller R, Delgado A. The effects of duodenal-jejunal exclusion on hormonal regulation of glucose metabolism in Goto-Kakizaki rats. *Am J Surg* 2007; 194: 221-224
- 8 Mason EE. Ileal [correction of ilial] transposition and enteroglucagon/GLP-1 in obesity (and diabetic?) surgery. *Obes Surg* 1999; 9: 223-228
- 9 Drucker DJ. The role of gut hormones in glucose homeostasis. *J Clin Invest* 2007; 117: 24-32
- 10 le Roux CW, Aylwin SJ, Batterham RL, Borg CM, Coyle F, Prasad V, Shurey S, Ghatei MA, Patel AG, Bloom SR. Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. *Ann Surg* 2006; 243: 108-114
- 11 Korner J, Bessler M, Inabnet W, Taveras C, Holst JJ. Exaggerated glucagon-like peptide-1 and blunted glucose-dependent insulintropic peptide secretion are associated with Roux-en-Y gastric bypass but not adjustable gastric banding. *Surg Obes Relat Dis* 2007; 3: 597-601
- 12 Laferrère B, Heshka S, Wang K, Khan Y, McGinty J, Teixeira J, Hart AB, Olivan B. Incretin levels and effect are markedly enhanced 1 month after Roux-en-Y gastric bypass surgery in obese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30: 1709-1716
- 13 Morínigo R, Moizé V, Musri M, Lacy AM, Navarro S, Marín JL, Delgado S, Casamitjana R, Vidal J. Glucagon-like peptide-1, peptide YY, hunger, and satiety after gastric bypass surgery in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1735-1740
- 14 Flatt PR. Effective surgical treatment of obesity may be mediated by ablation of the lipogenic gut hormone gastric inhibitory polypeptide (GIP): evidence and clinical opportunity for development of new obesity-diabetes drugs? *Diab Vasc Dis Res* 2007; 4: 151-153
- 15 Whitson BA, Leslie DB, Kellogg TA, Maddaus MA, Buchwald H, Billington CJ, Ikramuddin S. Adipokine response in diabetics and nondiabetics following the Roux-en-Y gastric bypass: a preliminary study. *J Surg Res* 2007; 142: 295-300

## ■同行评价

本文新颖性较好, 提出了一种改良的胃旁路术动物模型, 对研究胃旁路术治疗2型糖尿病具有一定的参考价值。

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 ●

## 《世界华人消化杂志》正文要求

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

# 附子理中丸对脾阳虚证大鼠肝脏能荷的下调机制

张文通, 唐汉庆, 卢阿娜, 赵欣, 李国璋, 蒋玉凤, 蔡大勇

## ■背景资料

寒热是一项中医诊治患者的基本原则。既往理解表热证已取得了实质性内容; 近5年采用组学技术和系统生物学理论, 才逐步揭示了里寒证的本质规律。

张文通, 唐汉庆, 卢阿娜, 赵欣, 蔡大勇, 中国医学科学院药用植物研究所 北京市 100193

李国璋, 蒋玉凤, 北京中医药大学 北京市 100029

国家重大基础研究基金资助项目, No. G2000056905

国家自然科学基金资助项目, No. 30873464

教育部重点项目资助项目, No. 108019

作者贡献分布: 课题由蔡大勇、李国璋及张文通设计; 研究过程由张文通、唐汉庆、卢阿娜及赵欣操作完成; 指标检测由蒋玉凤负责; 数据分析和论文写作由张文通完成。

通讯作者: 蔡大勇, 教授, 研究生导师, 100193, 北京市海淀区马连洼北路151号, 中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所药理毒理中心。dycai@implad.ac.cn

电话: 010-62899771

收稿日期: 2010-04-13 修回日期: 2010-09-15

接受日期: 2010-09-25 在线出版日期: 2010-12-18

## Treatment with Aconitum Lizhong Pill down-regulates liver energy charge in rats with Spleen Yang Deficiency syndrome

Wen-Tong Zhang, Han-Qing Tang, A-Na Lu, Xin Zhao, Guo-Zhang Li, Yu-Feng Jiang, Da-Yong Cai

Wen-Tong Zhang, Han-Qing Tang, A-Na Lu, Xin Zhao, Da-Yong Cai, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China

Guo-Zhang Li, Yu-Feng Jiang, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Supported by: the State Major Basic Research Development Program of China, No. G2000056905; the National Natural Science Foundation of China, No. 30873464; and the Key Project of the Ministry of Education of the People's Republic of China, No. 108019

Correspondence to: Professor Da-Yong Cai, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, 151 North Malianwa Road, Haidian District, Beijing 100193, China. dycai@implad.ac.cn

Received: 2010-04-13 Revised: 2010-09-15

Accepted: 2010-09-25 Published online: 2010-12-18

## Abstract

**AIM:** To observe the effect of treatment with Aconitum Lizhong Pill on liver energy charge in rats with Spleen Yang Deficiency syndrome.

**METHODS:** Eighteen litters of newborn rats were used in this study. Nine littermates in each litter were randomized into nine groups. Four groups underwent thyroidectomy, and five groups did not. Thyroidectomy was carried out with <sup>131</sup>I to destroy part of the thyroid on

day 1 after birth. The interscapular brown adipose tissue was removed on day 42. Littermates were fed a high-fat diet from day 42, and then administered intragastrically with a decoction of medical herbs from day 70. The level of liver energy charge was quantified by HPLC on day 98. A t-test was used to evaluate the difference between the two groups.

**RESULTS:** Euthyroid rats: Compared with control rats, the level of liver energy charge decreased by 33.0% ( $P < 0.01$ ) in model rats. The level of liver energy charge in rats consuming a high-fat diet increased by 12.3% ( $P < 0.01$ ) compared with that in model rats. Compared with rats consuming a high-fat diet, the level of liver energy charge in rats treated with Huanglian-Jiedu Decoction and those with Aconitum Lizhong Pill decreased by 28.1% ( $P < 0.01$ ) and 44.0% ( $P < 0.01$ ), respectively. Hypothyroid rats: Compared with control rats, the level of liver energy charge increased by 40.8% ( $P < 0.01$ ) in model rats. The level of liver energy charge in rats consuming a high-fat diet decreased by 23.8% ( $P < 0.01$ ) compared with that in model rats. Compared with rats consuming a high-fat diet, the level of liver energy charge in rats treated with Huanglian-Jiedu Decoction and those with Aconitum Lizhong Pill increased by 9.2% ( $P < 0.01$ ) and decreased by 22.8% ( $P < 0.01$ ), respectively. The potency of energy charge in hypothyroid rats was lower than that in euthyroid rats (model rats: 11.7%; rats consuming a high-fat diet: 40.1%; Huanglian-Jiedu, 9.0%; Aconitum Lizhong Pill: 17.5%; all  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Treatment with Aconitum Lizhong Pill down-regulates liver energy charge in rats with Spleen Yang Deficiency syndrome and thereby exerts thermogenic effects.

**Key Words:** Aconitum Lizhong Pill; Spleen Yang Deficiency syndrome; Rat; Liver; Energy charge

Zhang WT, Tang HQ, Lu AN, Zhao X, Li GZ, Jiang YF, Cai DY. Treatment with Aconitum Lizhong Pill down-regulates liver energy charge in rats with Spleen Yang Deficiency syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3782-3786

## ■同行评议者

管冬元, 副教授, 上海中医药大学基础医学院实验中医教研室



## 摘要

**目的:** 观察附子理中丸对脾阳虚证大鼠肝脏能荷的影响。

**方法:** 18窝新生大鼠, 同窝9只匹配、体质量均衡随机分入9组; 5组不切除甲状腺为获得性脾阳虚; 4组切除甲状腺为发育性脾阳虚。第1天切除部分甲状腺, 第42天切除肩胛骨间棕色脂肪, 第56天开始高脂饲养和第70天开始用药防治。第98天取肝脏, 称质量计算肝脏系数, 高效液相色谱测量能荷。t检验比较组间效能差别。

**结果:** 获得性脾阳虚中, 模型组能荷值比正常组降低33.0% ( $P<0.01$ ), 高脂组模型组升高12.3% ( $P<0.01$ ), 凉治组和温治组比高脂组降低28.1% ( $P<0.01$ ) 和44.0% ( $P<0.01$ )。发育性脾阳虚中, 模型组能荷值比正常组降低40.8% ( $P<0.01$ ), 高脂组比模型组降低23.8% ( $P<0.01$ ), 凉治组比高脂组升高9.2% ( $P<0.01$ ), 温治组比高脂组降低22.8% ( $P<0.01$ )。与获得性脾阳虚比较, 发育性脾阳虚模型组、高脂组、凉治组和温治组分别降低11.7%、40.1%、9.0%和17.5% ( $P<0.01$ )。

**结论:** 降低肝脏能荷是附子理中丸增强发育性和获得性脾阳虚大鼠产热潜能的机制之一。

**关键词:** 附子理中丸; 脾阳虚证; 大鼠; 肝脏; 能荷

张文通, 唐汉庆, 卢阿娜, 赵欣, 李国璋, 蒋玉凤, 蔡大勇. 附子理中丸对脾阳虚证大鼠肝脏能荷的下调机制. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3782-3786  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3782.asp>

## 0 引言

附子理中丸<sup>[1]</sup>是临床中医治疗脾阳虚证<sup>[2]</sup>的常用经典复方, 其温里散寒的药理特点, 与促进适应性产热有关<sup>[3]</sup>; 机体适应性产热能力可用异丙肾上腺素诱导产热的体温峰值或曲线下面积进行量化<sup>[4]</sup>; 该量化数据与脾阳虚证中阳虚症状群<sup>[5]</sup>与脾虚症状群<sup>[6]</sup>的症状量表评分一致。依据脾主升清泌浊、阳虚生里寒和温法治寒证的中医理论, 我们提出附子理中丸增强肝脏产热的工作设想<sup>[1-6]</sup>。在已证实该复方能增强产热潜能<sup>[7]</sup>和增加产热分子含量<sup>[8]</sup>的基础上, 验证游离脂肪酸、自由基和低能磷酸腺苷可激活肝脏解偶联蛋白产热, 同时回降细胞能荷<sup>[9]</sup>, 本实验以黄连解毒汤为对照, 观察附子理中丸促进产热降低能荷

的可能性。结果发现附子理中丸显著降低发育性脾阳虚大鼠肝脏能荷的作用效能大于获得性脾阳虚的作用效能。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 出生24 h内清洁级Wistar大鼠18窝(每窝 $\geq 9$ 只), 体质量 $5.7 \text{ g} \pm 0.7 \text{ g}$ (中国医学科学院实验动物研究所, 许可证编号SCXK(京)2005-0013), 雌雄兼用。每天光照12 h, 环境温度 $28^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ (大鼠中性温度), 湿度45% $\pm 5\%$ 。标准饲料和高脂饲料(83%普通饲料, 15%三酰甘油, 2%胆固醇)购自中国医学科学院实验动物研究所。水合氯醛(批号20090518)、高氯酸(批号20090518)和氢氧化钾(批号090422)为北京化学试剂公司产品, 生理盐水注射液(每瓶500 mL, 批号20090511)为华北制药厂产品, 三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)、二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)和一磷酸腺苷(adenosine monophosphate, AMP)标准品(批号090212)为Sigma公司产品, 考马斯亮蓝蛋白检测试剂盒(批号090428)为南京建成生物科技公司产品。Na<sup>131</sup>I北京核工业物理研究所产品(中日友好医院核医学科协助使用和污物处理)。北京中医药大学中药学院制备附子理中丸和黄连解毒汤制成浸膏(生药浓度为3.0 kg/L)。瑞士Mettler公司AE160型电子分析天平, 美国安捷伦公司1100型高效液相色谱仪, 美国Thermo Labsystem公司MK3型酶标仪, 宁波新芝生物科技股份有限公司DY89-1型电动玻璃匀浆机, 江苏省金坛正基仪器有限公司TGL-16型高速离心机。

## 1.2 方法

**1.2.1 分组:** 同窝9只匹配、体质量均衡随机分入9组, 每组18只。正常组: 普通饲料喂养, 第70-98天灌胃生理盐水10 mL/(kg·d), 第98天处死动物后取大鼠左叶肝脏0.1 g, 高压液相色谱法(high pressure liquid chromatography, HPLC)测量肝脏能荷; 获得模型组: 第1-2天腹腔注射0.5 mL生理盐水, 第42天手术切除棕色脂肪, 余同正常组; 获得高脂组: 第56-98天高脂饲料喂养, 余同获得模型组; 获得凉治组: 第70-98天灌胃黄连解毒汤[含生药3.878 g/(kg·d)], 余同获得模型组; 获得温治组: 第70-98天灌胃附子理中丸[含生药4.536 g/(kg·d)], 余同获得模型组; 发育模型组: 第1天腹腔注射<sup>131</sup>I(30 mCi/kg), 余同获得模型组; 发育高脂组: 第1天腹腔注射<sup>131</sup>I(30 mCi/kg), 余同获得高脂组; 发育凉治组: 第1天腹腔注射<sup>131</sup>I(30

## ■创新盘点

本文采用效能单位定量描述里寒证产热的中医功能单位, 是基本专业概念的尝试。研究方案中, 同窝匹配均一化校正客观计量“中医功能单位”内涵的主导思路, 该措施最大程度地消除了窝遗传差别导致的实验偏差。诱导产热是里寒体质与里寒证候联系的观察手段, 可逼近“中医功能单位”的潜在特征。

## ■应用要点

本文把7种解偶联蛋白看作产热分子,与“寒热功能单位”相联系,为证候诊治的基础研究和临床实践找到了线索。

mCi/kg),余同获得凉治组;发育温治组:第1天腹腔注射 $^{131}\text{I}$ (30 mCi/kg),余同获得温治组。

1.2.2 检测肝脏系数:取材前禁食12 h麻醉后,称体质量(Wb);处死后取肝脏,清洗血迹用吸纸吸干明水后,称肝脏质量(W1),计算每100 g体质量肝的比例( $W1/Wb \times 100$ )。

1.2.3 检测肝脏能荷:采在冰浴下,称取肝块0.1 g加预冷生理盐水到1 mL匀浆,取200  $\mu\text{L}$ 肝脏匀浆液-20℃保存待测组织蛋白含量,取500  $\mu\text{L}$ 匀浆液加入500  $\mu\text{L}$  5%的高氯酸( $\text{HClO}_4$ )沉淀蛋白,4℃下3 000 r/min $\times$ 10 min,取上清液500  $\mu\text{L}$ 加入40  $\mu\text{L}$  20%的KOH沉淀20 min,高效液相仪梯度洗脱,测定ATP、ADP和AMP的含量。用大连依利特公司Lichrosorb  $\text{C}_{18}$ , 4.6 mm $\times$ 150 mm色谱柱。0.05 mol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液(pH7.0)为流动相A液,含10%甲醇A液为流动相B液。共运行18 min。流速为0.8 mL/min。检测波长为254 nm。进样体积为10  $\mu\text{L}$ 。以ATP、ADP、AMP标准品峰与样品峰的保留时间的紫外光谱为判断依据。以超纯水配制ATP、ADP和AMP标准储备液,标准稀释为200.00、100.00、50.00、25.00、12.50、6.25 mg/L,分别进样10  $\mu\text{L}$ ,以峰面积为纵坐标,标准品浓度为横坐标,绘制标准曲线,直线回归方程ATP为 $Y = 11.547X - 7.412$ ( $n = 6$ ,  $r = 0.9999$ ),ADP为 $Y = 25.877X - 1.5348$ ( $n = 6$ ,  $r = 1.0000$ ),AMP为 $Y = 40.002X + 5.7288$ ( $n = 6$ ,  $r = 1.0000$ )。按回归方程式,用峰面积计算样本ATP、ADP和AMP含量,再用蛋白质含量校正ATP、ADP和AMP含量,按 $[\text{EC} = (\text{ATP} + 0.5\text{ADP}) / (\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP})]$ 计算能荷值。

**统计学处理** 以所有平均值和各窝平均值对窝数据进行标准化处理,以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示各组标准化数据,计算组间变化比, $t$ 检验比较组间差别, $P < 0.05$ 有显著性。以标准化最小最大组均值( $M_{\min}$ ,  $M_{\max}$ )为下上限,按 $[X_i = (X_i - M_{\min}) / (M_{\max} - M_{\min})]$ 获得效能数据,再以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示各组效能, $t$ 检验比较组间差别, $P < 0.05$ 有显著性。

## 2 结果

### 2.1 肝脏系数

2.1.1 获得性脾阳虚:与正常组比较,模型组、高脂组和温治组的肝脏系数分别下降5.2%、7.4%和12.3%( $P < 0.01$ ),凉治组增加9.6%( $P < 0.01$ );与模型组比较,高脂组和温治组的肝脏系数分别下降2.4%和7.5%( $P < 0.01$ ),凉治组增加15.5%( $P < 0.01$ );与高脂组比较,凉治组增加

18.4%( $P < 0.01$ ),温治组降低5.3%( $P < 0.01$ )。温治组比凉治组降低20.0%( $P < 0.01$ )。

2.1.2 发育性脾阳虚:与正常组比较,模型组、高脂组、凉治组和温治组的肝脏系数分别下降20.6%、28.3%、15.3%和17.7%( $P < 0.01$ );与模型组比较,高脂组下降9.6%( $P < 0.01$ ),凉治组和温治组的肝脏系数分别增加6.7%和3.7%( $P < 0.01$ );与高脂组比较,治组和温治组的肝脏系数分别增加18.0%和14.7%( $P < 0.01$ );温治组比凉治组降低2.8%( $P < 0.01$ )。

2.1.3 获得发育差别:与获得性脾阳虚对应组比较,发育性脾阳虚模型组、高脂组和凉治组的肝脏系数分别降低16.3%、22.5%、22.7%和6.2%( $P < 0.01$ )。

2.1.4 效能单位比:在9组中(图1),发育高脂组肝脏系数效能最低( $0.00 \pm 0.32$ ),获得凉治组最高( $1.00 \pm 0.29$ ),正常组偏高( $0.75 \pm 0.15$ );在获得性脾阳虚中,模型组( $0.61 \pm 0.13$ )、高脂组( $0.55 \pm 0.11$ )和温治组( $0.42 \pm 0.07$ )有递进降低趋势( $P < 0.01$ ),凉治组有逆向回升趋势( $P < 0.01$ );在发育性脾阳虚中,模型组( $0.20 \pm 0.15$ )和高脂组递进下降,凉治组( $0.34 \pm 0.10$ )回升大于温治组( $0.28 \pm 0.12$ )回升( $P < 0.01$ );发育性脾阳虚各组分别低于对应的获得性各组( $P < 0.01$ )。

### 2.2 肝脏能荷

2.2.1 获得性脾阳虚:与正常组比较,模型组、高脂组、凉治组和温治组的肝脏能荷值分别下降33.0%、24.7%、45.9%和57.8%( $P < 0.01$ )。与模型组比较,高脂组上升12.3%,凉治组和温治组分别下降19.2%和37.1%( $P < 0.01$ )。与高脂组比较,凉治组和温治组分别降低28.1%和44.0%( $P < 0.01$ )。温治组比凉治组降低22.1%( $P < 0.01$ )。

2.2.2 发育性脾阳虚:与正常组比较,模型组、高脂组和凉治组的肝脏能荷值分别降低40.8%、54.9%、50.7%和65.2%( $P < 0.01$ )。与模型组比较,高脂组、凉治组和温治组分别下降23.8%、16.8%和41.2%( $P < 0.01$ );与高脂组比较,凉治组增加9.2%( $P < 0.01$ ),温治组降低22.8%( $P < 0.01$ );温治组比凉治组降低29.3%( $P < 0.01$ )。

2.2.3 获得发育差别:与获得性脾阳虚对应大鼠比较,发育模型组、发育高脂组和发育凉治组的肝脏能荷值分别降低11.7%、40.1%、9.0%和17.5%( $P < 0.01$ )。

2.2.4 效能单位比:在9组中(图2),发育温治组肝脏能荷值的效能单位最低( $0.00 \pm 0.09$ ),正常组

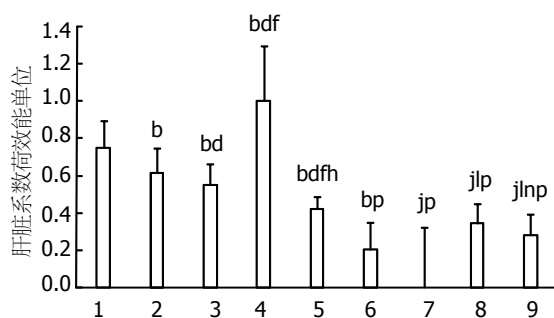


图 1 高脂、温治或凉治影响发育或获得性脾阳虚大鼠肝脏系数的效能比(mean  $\pm$  SD,  $n = 18$ ). 1: 正常组; 2: 获得模型组; 3: 获得高脂组; 4: 获得凉治组; 5: 获得温治组; 6: 发育模型组; 7: 发育高脂组; 8: 发育凉治组; 9: 发育温治组。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 获得模型组; <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs 获得高脂组; <sup>h</sup> $P < 0.01$  vs 获得凉治组; <sup>j</sup> $P < 0.01$  vs 发育模型组; <sup>l</sup> $P < 0.01$  vs 发育高脂组; <sup>p</sup> $P < 0.01$  vs 发育凉治组; <sup>n</sup> $P < 0.01$  vs 获得对应组。

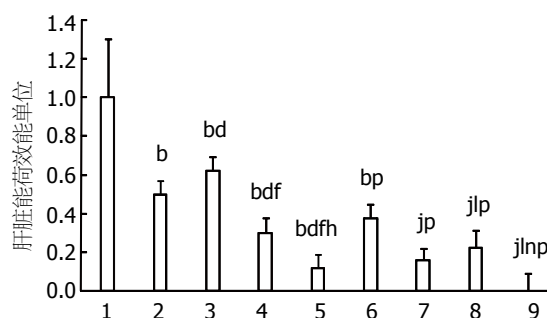


图 2 高脂、温治或凉治影响发育或获得性脾阳虚大鼠肝脏能荷值的效能比(mean  $\pm$  SD,  $n = 18$ ). 1: 正常组; 2: 获得模型组; 3: 获得高脂组; 4: 获得凉治组; 5: 获得温治组; 6: 发育模型组; 7: 发育高脂组; 8: 发育凉治组; 9: 发育温治组。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 获得模型组; <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs 获得高脂组; <sup>h</sup> $P < 0.01$  vs 获得凉治组; <sup>j</sup> $P < 0.01$  vs 发育模型组; <sup>l</sup> $P < 0.01$  vs 发育高脂组; <sup>p</sup> $P < 0.01$  vs 发育凉治组; <sup>n</sup> $P < 0.01$  vs 获得对应组。

# 名词解释

效能单位: 指观察指标转化为0-1的相对变化趋势, 以生理均值为下限(0.0), 以病理峰值为上限(1.0), 则患病个体变化在0.0-1.0; 刺激前基线为下限, 刺激所致最大变化为上限, 则任何刺激强度引起的反应在0.0-1.0区间。该数值转化模式能有效认识症状群内指标间的相关性, 导航症状群之间的效应对话, 对分析中医证候机制十分重要。

最高(1.00  $\pm$  0.30); 在获得性脾阳虚中, 模型组(0.49  $\pm$  0.07)、凉治组(0.30  $\pm$  0.08)和温治组(0.11  $\pm$  0.06)有递进降低的趋势( $P < 0.01$ ), 高脂组(0.62  $\pm$  0.07)有逆向回升的趋势( $P < 0.01$ ); 在发育性脾阳虚中, 模型组(0.37  $\pm$  0.07)、高脂组(0.16  $\pm$  0.06)和温治组有递进降低的趋势( $P < 0.01$ ), 凉治组(0.22  $\pm$  0.09)有逆转回升的趋势( $P < 0.01$ ); 发育性脾阳虚各组分别低于对应的获得性脾阳虚各组( $P < 0.01$ )。

## 3 讨论

依据辩证论治的中医原则, 与附子理中丸<sup>[1]</sup>具有确切对应关系的临床证候为脾阳虚证<sup>[2]</sup>。脾阳虚证患者存在阳虚(四肢冰凉、畏寒喜温、蜷缩消瘦等)和脾虚(胀满纳呆、腹痛喜按、便溏腹泻等)的2类症状群<sup>[2]</sup>, 附子理中丸具有温里散寒治阳虚和健脾化湿治脾虚的2类功效<sup>[1]</sup>。从临床药理机制分析, 温里散寒能提高机体低下的适应性产热<sup>[3]</sup>。这类产热潜能低下可用异丙肾上腺素诱导产热进行精确定量, 体温峰值反映产热应激速度, 体温曲线下面积反映抗寒潜能<sup>[4]</sup>。阳虚<sup>[5]</sup>和脾虚<sup>[6]</sup>的症状群量化评分与诱导产热的急性峰值和蓄积面积<sup>[4]</sup>之间存在高度相关性。依据脾主升清泌浊、阳虚生里寒和温法治寒证等中医理论, 本课题组提出附子理中丸增强肝脏产热的工作设想<sup>[1-6]</sup>。用适应性产热已验证附子理中丸增强机体产热潜能<sup>[7]</sup>, 用免疫组织化学形态计量已确认附子理中丸能增加骨骼肌原位解偶联蛋白含量<sup>[8]</sup>, 低能磷酸腺苷、自由基和游离脂肪酸可增强解偶联蛋白产热和回降细胞能荷<sup>[9]</sup>。本实验以黄连解毒汤为凉治对照, 观察附子理中丸温治通过增强解偶联蛋白2促进产

热, 降低肝细胞能荷的可能性; 为寒热辨治高胆固醇血症等重大疾病<sup>[10]</sup>奠定中医系统生物学的理论基础<sup>[11]</sup>。

本实验结果发现, 获得性脾阳虚中, 模型组肝脏能荷值比正常组降低, 高脂组比模型组升高, 凉治组和温治组比高脂组降低; 发育性脾阳虚中, 模型组肝脏能荷值比正常组降低, 高脂组比模型组降低, 凉治组比高脂组升高, 温治组比高脂组降低; 与获得性脾阳虚比较, 发育性脾阳虚模型组、高脂组、凉治组和温治组均有不同程度降低。

在获得性脾阳虚能荷变化机制中, 肝脏解偶联蛋白产热<sup>[9,13]</sup>部分代偿切除肩胛骨间棕色脂肪所消除产热<sup>[12]</sup>, 氧化磷酸化解偶联, 降低肝脏合成ATP<sup>[14]</sup>, 表现出模型组肝脏能荷值降低。由于游离脂肪酸能增加解偶联蛋白活性<sup>[12-14]</sup>, 高脂饲养消耗线粒体内膜质子势能而降低ATP合成; 由于游离脂肪酸是氧化底物, 高脂饲养形成质子势能升高ATP合成; 以此, 高脂组肝脏能荷值低于正常组而高于模型组。据此推测, 在棕色脂肪切除和游离脂肪酸双重降低ATP含量基础上, 温治组肝脏能荷的进一步下降与增强解偶联蛋白活性有关, 伴发肝脏系数降低。凉治是中医温治的对立原则, 凉治组肝脏能荷值降低与抑制底物氧化有关, 伴发肝脏系数升高。在发育性脾阳虚大鼠能荷变化机制中, 新生期<sup>131</sup>I放射切除部分甲状腺使大鼠甲状腺激素分泌减少, 下调肝脏物质氧化分解<sup>[15]</sup>, 表现为各组肝脏能荷值降低。在此基础上, 类似于获得性脾阳虚, 通过调节肝脏解偶联蛋白活性<sup>[12-14]</sup>, 高脂组肝脏能荷降低和温治组则进一步下降, 伴发肝脏系数高

## ■同行评价

本文设计独特,思路清晰,具有一定的创新性.

于高脂组提示促进了胃肠物质吸收;以下调肝脏物质氧化分解为主,凉治组肝脏能荷却逆转回升而高于高脂组,伴发肝脏系数高于高脂组提示抑制了肝脏物质的分解外运.

本实验发现附子理中丸增强解偶联蛋白活性,降低肝脏能荷,提高产热潜能,对发育性脾阳虚的作用效能大于对获得性脾阳虚的作用效能.该论点对于探索寒热辨治人类重大疾病的研究思路和具体措施具有一定的意义.

## 4 参考文献

- 1 Aconitum Lizhong Pill. *Chin J Integr Trad West Med* 2000; 6: 233-234
- 2 喻自成, 蔡大勇, 吴文龙. 中医诊断学. 武汉: 武汉大学出版社, 1997: 41-60
- 3 王勇, 李文靖, 唐炳华, 张保春, 李国彰, 蔡大勇. 胃肠负荷加剧甲状腺功能减退适应性产热不足. *航天医学与医学工程* 2008; 21: 108-111
- 4 王勇, 李国彰, 唐炳华, 张保春, 马海强, 洪秋阳, 蔡大勇. 异丙肾上腺素对大鼠的产热效应. *中国药师* 2007; 10: 758-760
- 5 杨雪, 杨文思, 王勇, 李文靖, 赵淑英, 唐炳华, 李国彰, 张保春, 蔡大勇. 脾阳虚证中阳虚症状群的实验评价. *中华中医药杂志* 2007; 23: 244-246
- 6 杨雪, 杨文思, 王勇, 李文靖, 唐炳华, 李国彰, 张保春, 蔡大勇. 脾阳虚证中脾虚症状群的实验评价. *中国中医基础医学杂志* 2008; 14: 271-272
- 7 张文通, 唐汉庆, 王勇, 卢阿娜, 赵欣, 宋梦, 徐雪雁, 李国彰, 蒋玉凤, 蔡大勇. 附子理中丸增强脾阳虚证大鼠适应性产热. *中国药师* 2010; 13: 918-921
- 8 唐汉庆, 张文通, 卢阿娜, 王勇, 王晓怡, 杨艳, 罗静, 银河, 李国彰, 蔡大勇. 附子理中丸对脾阳虚证大鼠骨骼肌能荷影响的实验研究. *中国药师* 2010; 13: 1691-1693
- 9 Lombardi A, Busiello RA, Napolitano L, Cioffi F, Moreno M, de Lange P, Silvestri E, Lanni A, Goglia F. UCP3 translocates lipid hydroperoxide and mediates lipid hydroperoxide-dependent mitochondrial uncoupling. *J Biol Chem* 2010; 285: 16599-16605
- 10 Huang X, Tang J, Zhou Q, Lu H, Wu Y, Wu W. Polysaccharide from fuzi (FPS) prevents hypercholesterolemia in rats. *Lipids Health Dis* 2010; 9: 9
- 11 Li S, Zhang ZQ, Wu LJ, Zhang XG, Li YD, Wang YY. Understanding ZHENG in traditional Chinese medicine in the context of neuro-endocrine-immune network. *IET Syst Biol* 2007; 1: 51-60
- 12 Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev* 2004; 84: 277-359
- 13 Bézaire V, Seifert EL, Harper ME. Uncoupling protein-3: clues in an ongoing mitochondrial mystery. *FASEB J* 2007; 21: 312-324
- 14 Sprague JE, Yang X, Sommers J, Gilman TL, Mills EM. Roles of norepinephrine, free Fatty acids, thyroid status, and skeletal muscle uncoupling protein 3 expression in sympathomimetic-induced thermogenesis. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 320: 274-280
- 15 Silva JE. Thermogenic mechanisms and their hormonal regulation. *Physiol Rev* 2006; 86: 435-464

编辑 曹丽鸥 电编 李薇

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32400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12400余种. 本版还加大了专家评审力度, 5500多位学科专家参加了核心期刊评审工作. 经过定量评价和定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1980余种核心期刊, 分属七大编73个学科类目. 《世界华人消化杂志》入选本版核心期刊库(见R5内科学类核心期刊表, 第66页). (编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

# 氨培养对大鼠脑星形胶质细胞凋亡及坏死的影响

胥莹, 陈学平, 杨晋辉, 张渊智, 徐智媛, 唐映梅

胥莹, 杨晋辉, 徐智媛, 唐映梅, 昆明医学院第二附属医院肝病中心 云南省昆明市 650101

陈学平, 张渊智, 昆明市第一人民医院消化内科 云南省昆明市 650011

云南省科技厅-昆明医学院应用基础研究联合专项资助项目, No. 2007C0014R

作者贡献分布: 此课题由胥莹与陈学平设计; 星形胶质细胞培养和免疫组织化学鉴定由陈学平与徐智媛完成; 流式细胞仪操作由唐映梅完成; 统计分析由张渊智与杨晋辉完成; 论文写作由胥莹与陈学平完成。

通讯作者: 陈学平, 主治医师, 650011, 云南省昆明市, 云南省昆明市第一人民医院消化内科. cxp2005235@gmail.com

电话: 0871-3188200-2551

收稿日期: 2010-08-12 修回日期: 2010-11-14

接受日期: 2010-11-23 在线出版日期: 2010-12-18

## Treatment with ammonia induces apoptosis and necrosis of rat astrocytes *in vitro*

Ying Xu, Xue-Ping Chen, Jin-Hui Yang,  
Yuan-Zhi Zhang, Zhi-Yuan Xu, Ying-Mei Tang

Ying Xu, Jin-Hui Yang, Zhi-Yuan Xu, Ying-Mei Tang, Center for Hepatology, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 50101, Yunnan Province, China

Xue-Ping Chen, Yuan-Zhi Zhang, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Kunming City, Kunming 650011, Yunnan Province, China

Supported by: the Special Applied and Basic Research Foundation of Yunnan Provincial Science and Technology Department-Kunming Medical College, No. 2007C0014R

Correspondence to: Xue-Ping Chen, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Kunming City, Kunming 650011, Yunnan Province, China. cxp2005235@gmail.com

Received: 2010-08-12 Revised: 2010-11-14

Accepted: 2010-11-23 Published online: 2010-12-18

## Abstract

**AIM:** To investigate whether treatment with ammonia induces apoptosis and necrosis of rat astrocytes *in vitro* and to analyze the pathogenesis of hepatic encephalopathy.

**METHODS:** Primary astrocytes isolated from the cerebral cortex of newborn rats were cultured *in vitro* and identified by immunocytochemistry (positive for glial fibrillary acidic protein). Cells were then randomly assigned to low-concentration ammonia group (treated with 2.5 mmol/L  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), high-concentration ammonia group (treated with 5 mmol/L  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), and control

group (untreated). After culture for 24, 48, and 72 h, cell apoptosis and necrosis were detected by flow cytometry.

**RESULTS:** Treatment with ammonia at a concentration of 2.5 mmol/L could induce astrocyte apoptosis and necrosis, and apoptosis- and necrosis-inducing activity of ammonia was concentration- and time-dependent. Compared with the control group, the apoptosis and necrosis rates of astrocytes in the high-concentration ammonia group were significantly higher (24 h:  $12.5\% \pm 4.0\%$  vs  $7.7\% \pm 1.9\%$ ,  $9.3\% \pm 1.6\%$  vs  $6.3\% \pm 0.7\%$ ; 48 h:  $17.7\% \pm 4.2\%$  vs  $8.5\% \pm 1.3\%$ ,  $10.5\% \pm 2.8\%$  vs  $7.2\% \pm 1.1\%$ ; 72 h:  $23.9\% \pm 4.1\%$  vs  $9.6\% \pm 1.9\%$ ,  $11.4\% \pm 2.5\%$  vs  $7.9\% \pm 1.5\%$ , all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Treatment with ammonia could induce astrocyte apoptosis and necrosis *in vitro* in a time- and concentration-dependent manner.

**Key Words:** Ammonia; Astrocyte; Apoptosis; Necrosis; Rat

Xu Y, Chen XP, Yang JH, Zhang YZ, Xu ZY, Tang YM. Treatment with ammonia induces apoptosis and necrosis of rat astrocytes *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3787-3790

## 摘要

**目的:** 研究氨诱导体外培养大鼠脑星形胶质细胞凋亡及坏死的作用, 探讨肝性脑病的发病机制。

**方法:** 体外原代培养大鼠脑星形胶质细胞并免疫细胞化学鉴定(神经胶质纤维酸性蛋白阳性), 随机分为氨低浓度组( $\text{NH}_4\text{Cl}$ 浓度为2.5 mmol/L), 氨高浓度组( $\text{NH}_4\text{Cl}$ 浓度为5 mmol/L)和对照组(不加处理)。分别作用24、48、72 h后, 用流式细胞仪测定星形胶质细胞坏死和凋亡的比率。

**结果:** 2.5 mmol/L浓度的 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 即可出现大鼠星形胶质细胞发生细胞凋亡及坏死, 随着 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 浓度的提高(5 mmol/L)和作用时间延长(48、72 h), 胶质细胞细胞凋亡和坏死明显增

## ■背景资料

肝性脑病是临床上各种终末期肝病最常见的死亡原因, 其发病机制尚未完全阐明, 已知是多种因素综合作用的结果。目前存在的学说除了氨中毒、假性神经递质、血浆氨基酸失衡和GABA/BZ复合受体学说外, 近年发现锰、色氨酸、内毒素及肿瘤坏死因子等也参与肝性脑病的发病。其中, 氨中毒学说研究最多。

## ■同行评议者

吴志勇, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院普外科



## ■研究前沿

脑水肿和星状胶质细胞水肿是肝性脑病的病理基础,星状胶质细胞是脑内主要的细胞成分。过去认为星形胶质细胞只是神经系统的支持细胞,近年来发现星形胶质细胞在维持神经细胞内外环境、信号转导等方面具有重要作用,与中枢神经系统疾病密切相关。目前肝性脑病发病机制中血氨升高引起星状胶质细胞形态改变是研究热点之一。

加。氨高浓度组24、48、72 h细胞凋亡率和坏死率均高于对照组( $12.5\% \pm 4.0\%$  vs  $7.7\% \pm 1.9\%$ ,  $9.3\% \pm 1.6\%$  vs  $6.3\% \pm 0.7\%$ ;  $17.7\% \pm 4.2\%$  vs  $8.5\% \pm 1.3\%$ ,  $10.5\% \pm 2.8\%$  vs  $7.2\% \pm 1.1\%$ ;  $23.9\% \pm 4.1\%$  vs  $9.6\% \pm 1.9\%$ ,  $11.4\% \pm 2.5\%$  vs  $7.9\% \pm 1.5\%$ , 均 $P < 0.05$ )。

**结论:** 氨可诱导体外培养的大鼠脑星形胶质细胞坏死和凋亡, 且与氨的浓度和作用时间相关。

**关键词:** 氨; 星形胶质细胞; 坏死; 凋亡; 大鼠

胥莹, 陈学平, 杨晋辉, 张渊智, 徐智媛, 唐映梅氨培养对大鼠脑星形胶质细胞凋亡及坏死的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3787-3790

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3787.asp>

## 0 引言

肝性脑病指由肝功能严重失调或障碍所致,以代谢紊乱为主要特征的中枢神经系统功能失调的综合征,是临床上各种终末期肝病最常见的死亡原因。目前肝性脑病的发病机制仍不清楚,人们根据肝性脑病的不同特征和表现,提出了不同的假说,其中,氨中毒学说占重要地位。过去的研究主要集中于氨对神经细胞的毒性和脑的能量代谢方面,而对氨与星形胶质细胞的功能代谢,死亡形式关系研究较少。本研究拟通过观察氨对体外培养大鼠星形胶质细胞影响,探讨肝性脑病时血氨增高与星形胶质细胞凋亡和坏死的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** SP免疫组织化学试剂盒(福州迈新生物公司); GFAP抗体(Sigma)0.01%多聚赖氨酸(Sigma); DMEM培养基(HyClone公司); 氯化铵(天津化学试剂公司); 流式细胞仪(美国Beckman公司Coulter Epics XL)。实验动物: 新生1-2 d昆明种小鼠,由昆明医学院实验动物中心提供。

### 1.2 方法

**1.2.1 原代星形胶质细胞培养:** 取新生小鼠剪下头部于盛有750 mL/L的培养皿中消毒约2 min,再移入盛有D-Hanks液的培养皿中,在掀开颅骨,暴露全脑后用在显微镜下开始从腹侧向背侧剥离脑膜,从正中矢状位向两侧掀开大脑,夹取边缘的大脑皮质。将取下大脑皮质夹成1 mm × 1 mm × 1 mm左右组织块,于离心管中,加入0.125%胰蛋白酶,置37 °C水浴消化30 min,其间

每2-3 min晃动1次,然后加入预冷的DMEM培养液终止消化,取出离心5 min后弃上清液,加入适量种植培养液,吹打混匀后取0.6-0.8份的大脑皮质加入10 mL的种植培养液[其中每1 mL培养液中含有10 ng的上表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)]接种于预先经多聚赖氨酸包被的24孔培养板中,每孔以400 μL接种后,放入50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中,每周换液1次。

**1.2.2 星形胶质细胞鉴定:** 细胞培养至第3周时进行实验,将培养的细胞用40 g/L多聚甲醛固定30 min, PBS充分漂洗,然后按SP法行神经胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)免疫细胞化学染色, DAB显色,进行阳性细胞计数,所培养的细胞90%以上为GFAP阳性细胞(图1)。

**1.2.3 分组:** 氨低浓度组(NH<sub>4</sub>Cl 2.5 mmol/L), 氨高浓度组(NH<sub>4</sub>Cl 5 mmol/L), 对照组(不加任何处理)。

**1.2.4 流式细胞仪观察各组中细胞凋亡和坏死情况:** 加药后各组细胞分别培养24、48、72 h后,弃培养基,终止氨作用。PBS冲洗2次,0.125%胰蛋白酶消化,收集细胞,1 mL PBS重悬,300目尼龙网过滤后离心,弃上清,收集细胞制成细胞悬液,调整细胞浓度至 $1 \times 10^6$ /mL。70%冰乙醇固定, PBS轻洗1次后加TdT标记液37 °C孵育1-2 h, PBS轻洗1次,避光在37 °C与100 μL的染色缓冲液孵育30 min,含0.1% TritonX-100的PBS轻洗1次,用1 mL PBS(含5 g/L PI, 0.1% RNase A)重悬。使用Coulter EPICS-XL 流式细胞仪上机检测各类细胞百分数, Cell quest软件进行计算机定量分析。

**统计学处理** 采用SPSS 11.5统计分析软件处理实验数据,所得数据以mean ± SD表示,计数资料采用 $t$ 检验。

## 2 结果

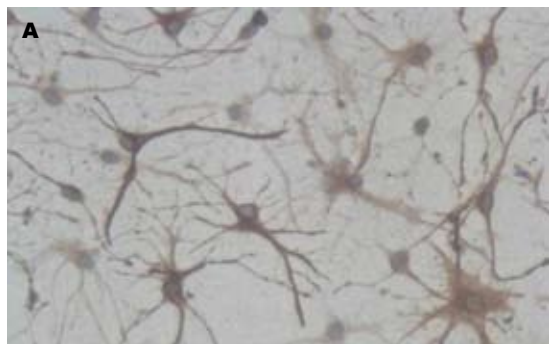
氨低浓度组大鼠星形胶质细胞发生细胞凋亡及坏死,在低氨环境24 h这种情况并不明显,与对照组相比无统计学意义( $P > 0.05$ )。随着NH<sub>4</sub>Cl浓度的提高(5 mmol/L)和作用时间延长,胶质细胞细胞凋亡和坏死明显增加,其凋亡细胞数和坏死细胞数占总体细胞数的百分率明显高于正常对照组( $P < 0.05$ ),且氨作用时间越长,浓度越高,细胞坏死也更明显(表1,图2)。

## 3 讨论

星形胶质细胞是神经组织内数量最多、分布最

表 1 氨培养星形胶质细胞凋亡及坏死结果 (mean  $\pm$  SD, %)

分组	24 h		48 h		72 h	
	凋亡	坏死	凋亡	坏死	凋亡	坏死
对照组	7.7 $\pm$ 1.9	6.3 $\pm$ 0.7	8.5 $\pm$ 1.3	7.2 $\pm$ 1.1	9.6 $\pm$ 1.9	7.9 $\pm$ 1.5
氨低浓度组	10.6 $\pm$ 4.5	7.4 $\pm$ 1.2	12.8 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	9.8 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	21.6 $\pm$ 3.5 <sup>a</sup>	8.3 $\pm$ 1.9 <sup>a</sup>
氨高浓度组	12.5 $\pm$ 4.0 <sup>a</sup>	9.3 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>	17.7 $\pm$ 4.2 <sup>ac</sup>	10.5 $\pm$ 2.8 <sup>ac</sup>	23.9 $\pm$ 4.1 <sup>ac</sup>	11.4 $\pm$ 2.5 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 低氨组.图 1 星形胶质细胞GFAP(免疫细胞化学染色  $\times 400$ ).

广的胶质细胞, 星形胶质约占脑总体积的50%. 传统的观点认为, 星形胶质细胞只是神经系统的支持细胞; 近年来越来越多的资料表明胶质细胞更多作用. 星形胶质细胞表面具有电压依赖的 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 及 $\text{Ca}^{2+}$ 通道, 分布着许多神经递质、神经肽、激素及神经营养因子受体, 并能合成及分泌多种神经活性物质, 在维持神经细胞内外环境、生存、迁移、免疫调节、信号转导、轴突生长及功能整合等方面具有重要作用, 与中枢神经系统疾病密切相关<sup>[1-3]</sup>.

氨中毒学说是肝性脑病发生的最重要发病机制. 肝功能减退时肝对氨的代谢能力降低形成高氨血症, 进入中枢的氨首先在脑星形胶质细胞内在谷氨酰胺合成酶的作用下谷氨酸结合形成谷氨酰胺解毒. 由于脑内缺乏尿素循环, 星形胶质细胞是氨在脑内唯一的解毒场所. 高氨状态下星形胶质细胞出现功能, 代谢乃至形态结构的变化. 有关氨和神经细胞凋亡的研究已有很多<sup>[4,5]</sup>. 但是由于长期以来对星形胶质细胞功能的忽视, 从而对胶质细胞是否发生凋亡和坏死了解不多. 我们的实验发现低浓度的氨即可诱导星形胶质细胞发生凋亡和坏死, 随着氨作用时间越长, 浓度越高, 细胞凋亡增多, 细胞坏死也更明显. 对氨引起星形胶质细胞的凋亡和坏死的机制目前并不是很清楚. 可能的机制

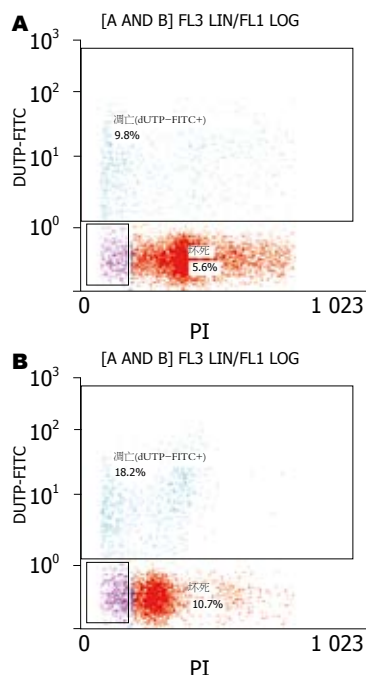


图 2 流式细胞仪观察各组中细胞凋亡和坏死情况. A: 对照组流式细胞仪检测 24 h; B: 氨高浓度组流式细胞仪检测结果 48 h.

是在高氨血症时, 星形细胞表达谷氨酸转运体 GLT-1、GLAST 的蛋白和基因显著下降. 从而使胶质细胞对谷氨酸盐的重摄取降低, 并可有星形胶质细胞源谷氨酸盐释放增加, 其结果是细胞外谷氨酸盐增高<sup>[6-9]</sup>. 胡波等<sup>[10]</sup>证实在无钙的细胞外液中, 谷氨酸仍可诱发胶质细胞内游离钙的升高, 而钙超载是细胞坏死和发生凋亡的重要机制之一. 在氨浓度升高时, 氨可能通过细胞受体、第二信使的传递, 影响基因调控蛋白, 从而细胞凋亡和坏死. 由于胶质细胞具有各种受体和其他类型的电压门控和受体门控通道, 血氨升高可使谷氨酸盐受体的NMDA亚型活化, 导致细胞内钙浓度增加, 从而启动钙依赖性NO和cGMP的合成增加, 使脑内ATP耗竭, 产生能量障碍, 导致脑水肿NMDA受体激活NMDA可引起 $\text{Ca}^{2+}$ 过度内流导致胶质细胞凋亡或坏死<sup>[11,12]</sup>.

此外, 氨导致星形胶质细胞细胞形态改变及凋亡和坏死可能与氧化应激作用, 线粒体通透性转变和谷氨酰胺渗透, 影响能量代谢, 钙内流

## ■应用要点

氨对星形胶质细胞具有直接毒性作用. 通过降低血氨浓度、抑制谷氨酸受体激活及钙内流、抗氧化、减少谷氨酰胺渗透等干预措施, 保护星形胶质细胞可成为肝性脑病治疗的新靶点.

## ■同行评价

本文选题尚可, 为肝性脑病的氨中毒学说提供了依据。

增加, 以及细胞因子共同作用等有关<sup>[13-18]</sup>。

本实验结果显示氨对原代培养星形胶质细胞具有毒性作用, 其引起病变的严重程度与氨的浓度和作用时间相关。氨引起星形胶质细胞凋亡和坏死机制尚未完全清楚, 通过降低血氨浓度、抑制谷氨酸受体激活及钙内流、抗氧化、减少谷氨酰胺渗透等干预措施保护星形胶质细胞可望成为治疗肝性脑病的新途径之一。

## 4 参考文献

- 1 张敬军. 星形胶质细胞的研究. 中国药理学通报 2006; 22: 788-791
- 2 Aschner M, Sonnewald U, Tan KH. Astrocyte modulation of neurotoxic injury. *Brain Pathol* 2002; 12: 475-481
- 3 Swanson RA, Ying W, Kauppinen TM. Astrocyte influences on ischemic neuronal death. *Curr Mol Med* 2004; 4: 193-205
- 4 刘洪艳, 王静艳, 雷薇, 闻颖, 刘沛. 氨对肝硬化大鼠模型脑神经细胞凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1865-1867
- 5 Llansola M, Boscá L, Felipo V, Hortelano S. Ammonia prevents glutamate-induced but not low K(+)-induced apoptosis in cerebellar neurons in culture. *Neuroscience* 2003; 117: 899-907
- 6 Chan H, Butterworth RF. Evidence for an astrocytic glutamate transporter deficit in hepatic encephalopathy. *Neurochem Res* 1999; 24: 1397-1401
- 7 Zhou BG, Norenberg MD. Ammonia downregulates GLAST mRNA glutamate transporter in rat astrocyte cultures. *Neurosci Lett* 1999; 276: 145-148
- 8 Chan H, Hazell AS, Desjardins P, Butterworth RF. Effects of ammonia on glutamate transporter (GLAST) protein and mRNA in cultured rat cortical astrocytes. *Neurochem Int* 2000; 37: 243-248
- 9 Jayakumar AR, Panickar KS, Murthy ChR, Norenberg MD. Oxidative stress and mitogen-activated protein kinase phosphorylation mediate ammonia-induced cell swelling and glutamate uptake inhibition in cultured astrocytes. *J Neurosci* 2006; 26: 4774-4784
- 10 胡波, 孙圣刚, 何立铭, 张春光, 童萋塘. 谷氨酸诱发培养的大鼠星形胶质细胞内钙升高的机制. 中国神经科学杂志 2004; 20: 24-28
- 11 Bai G, Rama Rao KV, Murthy CR, Panickar KS, Jayakumar AR, Norenberg MD. Ammonia induces the mitochondrial permeability transition in primary cultures of rat astrocytes. *J Neurosci Res* 2001; 66: 981-991
- 12 Fiacco TA, Agulhon C, Taves SR, Petracvic J, Casper KB, Dong X, Chen J, McCarthy KD. Selective stimulation of astrocyte calcium in situ does not affect neuronal excitatory synaptic activity. *Neuron* 2007; 54: 611-626
- 13 汪照函, 刘沛. 氨假说和细胞因子在肝性脑病发病中的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1638-1642
- 14 Häussinger D, Görg B. Interaction of oxidative stress, astrocyte swelling and cerebral ammonia toxicity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010; 13: 87-92
- 15 Jayakumar AR, Rama Rao KV, Tong XY, Norenberg MD. Calcium in the mechanism of ammonia-induced astrocyte swelling. *J Neurochem* 2009; 109 Suppl 1: 252-257
- 16 Sinke AP, Jayakumar AR, Panickar KS, Moriyama M, Reddy PV, Norenberg MD. NFκB in the mechanism of ammonia-induced astrocyte swelling in culture. *J Neurochem* 2008; 106: 2302-2311
- 17 Norenberg MD, Jayakumar AR, Rama Rao KV, Panickar KS. New concepts in the mechanism of ammonia-induced astrocyte swelling. *Metab Brain Dis* 2007; 22: 219-234
- 18 Zou J, Wang YX, Dou FF, Lü HZ, Ma ZW, Lu PH, Xu XM. Glutamine synthetase down-regulation reduces astrocyte protection against glutamate excitotoxicity to neurons. *Neurochem Int* 2010; 56: 577-584

编辑 曹丽鸥 电编 李薇

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<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献, 包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

# 食管曲张静脉套扎和硬化治疗疗效与安全性的前瞻性评估

李盼, 孔德润, 谢惠君, 孙斌, 许建明

李盼, 孔德润, 孙斌, 许建明, 安徽医科大学第一附属医院消化科 安徽省合肥市 230022

谢惠君, 安徽医科大学第一附属医院内镜室 安徽省合肥市 230022

安徽省教育厅自然科学重点研究基金资助项目, No. KJ2010 A158

安徽省卫生厅医学科研课题基金资助项目, No. 2010B018

作者贡献分布: 此课题由孔德润与许建明设计; 孔德润、谢惠君及孙斌参与临床操作治疗; 病例收集、数据分析及论文写作由李盼完成。

通讯作者: 孔德润, 副教授, 硕士生导师, 230022, 安徽省合肥市, 安徽医科大学第一附属医院消化科. kdr168@sohu.com  
电话: 0551-2922039

收稿日期: 2010-09-12 修回日期: 2010-10-22

接受日期: 2010-11-02 在线出版日期: 2010-12-18

## Efficacy and safety of endoscopic variceal ligation and endoscopic injection sclerotherapy in patients with cirrhosis and esophageal varices: a prospective study

Pan Li, De-Run Kong, Hui-Jun Xie, Bin Sun, Jian-Ming Xu

Pan Li, De-Run Kong, Bin Sun, Jian-Ming Xu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, Anhui Province, China

Hui-Jun Xie, Department of Endoscopy, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, Anhui Province, China

Supported by: the Key Research Project of Anhui Provincial Natural Science Foundation, No. KJ2010A158; and the Medical Research Project of Anhui Provincial Health Department, No. 2010B018

Correspondence to: Associate Professor De-Run Kong, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, Anhui Province, China. kdr168@sohu.com

Received: 2010-09-12 Revised: 2010-10-22

Accepted: 2010-11-02 Published online: 2010-12-18

## Abstract

**AIM:** To prospectively determine the efficacy and safety of endoscopic variceal ligation (EVL) and endoscopic injection sclerotherapy (EIS) in patients with esophageal varices.

**METHODS:** Sixty-three patients with liver cirrhosis and esophageal varices were divided into two groups: EIS group ( $n = 36$ ) and EVL group

( $n = 27$ ). To compare the rates of hemostatic success, early rebleeding, delayed rebleeding, mortality, and other complications between the two groups, a 6-month prospective follow-up study was performed in patients after endoscopic therapy.

**RESULTS:** The patients treated by EVL had a higher rate of hemostatic success than those by EIS though the difference was not significant ( $P = 0.137$ ). The EVL group had significantly lower rates of early rebleeding (44.4% vs 12%,  $P = 0.007$ ), delayed rebleeding (52.8% vs 16%,  $P = 0.004$ ), and better survival (19.4% vs 4%,  $P = 0.125$ ) than the EIS group. Furthermore, the patients treated by EVL also had a lower probability of fever (63.9% vs 25.9%,  $P = 0.003$ ), retrosternal pain (69.4% vs 40.7%,  $P = 0.023$ ), bleeding esophageal ulcer (19.4% vs 0%,  $P = 0.017$ ), and abdominal distention (47.2% vs 14.8%,  $P = 0.007$ ) than those by EIS.

**CONCLUSION:** EVL is more effective and safer than EIS in the treatment of esophageal varices because the former is associated with a lower probability of rebleeding and other complications.

**Key Words:** Liver cirrhosis; Esophageal varices; Endoscopic injection sclerotherapy; Endoscopic variceal ligation

Li P, Kong DR, Xie HJ, Sun B, Xu JM. Efficacy and safety of endoscopic variceal ligation and endoscopic injection sclerotherapy in patients with cirrhosis and esophageal varices: a prospective study. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3791-3795

## 摘要

**目的:** 探讨前瞻性研究内镜套扎疗法(endoscopic variceal ligation, EVL)和内镜硬化疗法(endoscopic injection sclerotherapy, EIS)治疗食管静脉曲张的疗效和安全性。

**方法:** 63例肝硬化食管静脉曲张患者, 分为EIS组( $n = 36$ ), EVL组( $n = 27$ )。内镜治疗后随访6 mo, 并将死亡或6 mo的疾病转归作为临

## ■背景资料

食管静脉曲张破裂出血是肝硬化门静脉高压的一个严重的并发症。内镜套扎疗法(EVL)和内镜硬化疗法(EIS)是治疗食管静脉曲张出血的重要方法, 美国肝病研究学会指南推荐首选EVL治疗急性静脉曲张出血及预防再出血, EIS由于其并发症多, 越来越少使用, 但国内EIS仍普遍使用。

## ■同行评议者

吕宾, 教授, 浙江中医学院附属医院消化科

## ■相关报道

1986年Stiegmann等人首次成功报道内镜套扎方法治疗食管静脉曲张患者。Lo等对120例急性静脉曲张出血患者以及Zargar等对成人肝外门静脉阻塞(EXPVO)导致的食管静脉曲张出血患者进行EVL和EIS治疗的比较,结果表明两者在控制急性出血效果相似,但EIS组再出血率和主要并发症显著要高。Avgerinos等人认为两组病死率相似,但Lo等则认为EIS组病死率较EVL组显著增加。

床研究终点,比较两组的止血成功率、早期再出血率、迟发性再出血率、病死率及并发症发生率。

**结果:** EVL组止血成功率高于EIS组,但差异无统计学意义( $P = 0.137$ )。EIS组早期再出血率,迟发性再出血率高于EVL组,差异有统计学意义(44.4% vs 12%,  $P = 0.007$ ; 52.8% vs 16%,  $P = 0.004$ )。EIS组病死率高于EVL组,但差异无显著性(19.4% vs 4%,  $P = 0.125$ )。EIS组发热患者(63.9% vs 25.9%,  $P = 0.003$ )、平均发热天数( $P = 0.004$ )、胸痛患者(69.4% vs 40.7%,  $P = 0.023$ )、平均胸痛天数( $P = 0.006$ )、食管溃疡出血(19.4% vs 0.0%,  $P = 0.017$ )、腹胀(47.2% vs 14.8%,  $P = 0.007$ )的发生率明显高于EVL组,差异有显著性。

**结论:** EVL治疗食管静脉曲张出血的疗效和安全性优于EIS,但仍需更多样本的严格对照研究。

**关键词:** 肝硬化; 食管静脉曲张; 内镜硬化疗法; 内镜曲张静脉套扎术

李盼, 孔德润, 谢惠君, 孙斌, 许建明. 食管曲张静脉套扎和硬化治疗疗效与安全性的前瞻性评估. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3791-3795

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3791.asp>

## 0 引言

食管静脉曲张破裂出血是肝硬化门静脉高压的一个严重的并发症。大约1/3的食管胃底静脉曲张患者会发生出血,每次出血的病死率达20%-30%,如果未经治疗,首次出血幸存的患者中约60%还会发生再出血<sup>[1,2]</sup>,1年内因出血致死的几率可达70%<sup>[1]</sup>。内镜套扎疗法和硬化疗法是防治静脉曲张出血的重要内镜下治疗措施。美国肝病研究学会指南推荐,首选内镜套扎疗法(endoscopic variceal ligation, EVL)治疗急性静脉曲张出血及预防再出血<sup>[3]</sup>;内镜硬化疗法(endoscopic injection sclerotherapy, EIS)由于其并发症多,不推荐首选,但国内EIS仍普遍使用。为了比较国内EIS和EVL两种方法的疗效及安全性,我们进行了下列研究。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2008-01/2010-02安徽医科大学第一附属医院消化内科内镜治疗的肝硬化食管静脉曲张患者共63例,分为EIS组(36例)和EVL组(27例)。肝硬化通过临床、生化、超声或CT检查来

诊断<sup>[4]</sup>。排除标准<sup>[5,6]</sup>: (1)肝细胞癌或其他恶性肿瘤; (2)2级以上肝性脑病; (3)严重肝肾功能障碍; (4)胃静脉曲张>2 cm; (5)有分流手术、颈静脉肝内门体分流术(trans-jugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)或硬化剂治疗史; (6)不愿接受内镜治疗者。出血程度参照2006年全国多中心调查分析标准<sup>[7]</sup>。食管静脉曲张分级参照中华医学会消化内镜分会2009年规范试行方案<sup>[5]</sup>。

### 1.2 方法

**1.2.1 术前准备:** 所有患者建立静脉通道,维持生命体征平稳,并监测血压、心率、脉搏,予补液、选择生长抑素或奥曲肽降低门静脉压力,签署知情同意书,备血、备三腔二囊管等。术前30 min肌肉注射654-2 10 mg,安定5-10 mg,盐酸哌替啶50 mg以消除患者紧张情绪,减轻食管蠕动对治疗的影响。

**1.2.2 治疗:** 采用日本Olympus公司GIF-XQ260电子胃镜。所有患者首先常规内镜检查,了解食管静脉曲张程度、位置,有无红色征,是否合并胃底静脉曲张,查找出血部位。EVL组: 采用美国Boston公司七连发套扎器,自齿状线上方开始选择套扎点,然后内镜顶端靠上曲张静脉并负压吸引,直至视野完全变红立即释放套圈,停留数秒钟套扎一点,以相同方法由下自上呈螺旋状套扎其他点,每次根据曲张静脉情况套扎1-7点,平均每次套扎5.59点 $\pm$ 1.60点。EIS组: 采用Olympus公司生产的23G注射针,硬化剂为5%鱼肝油酸钠(22例)或聚桂醇注射液(14例)。根据曲张静脉程度每点注射5-10 mL,每次注射2-6点,平均注射27.06 mL $\pm$ 9.06 mL。总量不超过40 mL。术后常规禁食24 h,然后逐渐过渡到流质、半流质、正常饮食,部分予生长抑素或奥曲肽降低门静脉压力,奥美拉唑抑酸等处理。监测生命体征,了解有无并发症发生。

**1.2.3 疗效评价:** 止血成功: 治疗后72 h无活动性出血证据。单次内镜止血治疗失败的指征<sup>[5]</sup>: (1)内镜治疗后2-72 h,又发生新鲜呕血; (2)没有输血情况下血红蛋白继续下降30 g/L以上。早期再出血: 出血控制后72 h-6 wk内出现活动性出血。迟发性再出血<sup>[8]</sup>: 出血控制6 wk后出现活动性出血。并发症: 内镜治疗导致的任何需要处理、补充治疗或延长住院时间的病情变化,包括发热、严重吞咽困难、食管狭窄、食管溃疡出血、持续性胸骨后疼痛等。

**统计学处理** 采用SPSS 15.0软件进行数据管理及统计学分析。计数资料的组间比较采用 $\chi^2$ 检



验或fisher确切概率检验法, 有序资料采用有序多分类资料的秩和检验. 计量资料以mean±SD表示, 两组间计量资料比较, 符合正态分布和方差齐性时采用 $t$ 检验, 否则采用非参数检验中的Mann-Whitney秩和检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

除性别外, 两组患者的年龄、病因、肝功能、曲张静脉程度经 $\chi^2$ 或 $t$ 检验, 差异无显著性( $P>0.05$ ), 因此两组资料具有可比性(表1).

随访6 mo, 63例患者失访2例, 其中EIS组1例, EVL组1例. 对2种内镜下治疗食管静脉曲张方法在止血成功率、早期再出血率、晚期再出血率、病死率及并发症发生率等方面进行比较. 2.1 疗效 止血成功率: EIS组36例患者, 32例止血成功, 4例止血失败, EVL组27例患者中25例出血患者全部止血成功. EVL组止血成功率高于EIS组, 但差异无统计学意义(88.9% vs 100%,  $P=0.137$ ). 早期再出血: EIS组16例患者发生早期再出血高于EVL组3例, 差异有统计学意义(44.4% vs 12%,  $P=0.007$ ). 迟发性再出血: EIS组19例患者发生晚期再出血高于EVL组4例, 差异有统计学意义(52.8% vs 16%,  $P=0.004$ , 图1). 病死率: EIS组7例患者发生死亡, 而EVL组只有1例. EIS组病死率高于EVL组, 但差异无统计学意义(19.4% vs 4%,  $P=0.125$ , 表2).

2.2 并发症 EIS组术后发热23例(63.9%), 胸痛或胸骨后不适25例(69.4%), 1例患者予曲马多处理, 余均不需特殊处理自行缓解; 恶心、呕吐5例(13.9%), 予胃复安处理好转; 住院期间术后出血6例(16.7%), 食管溃疡导致出血7例(19.4%), 进食哽咽感2例(5.6%), 持续1-2 mo好转; 胸膜炎5例(13.9%); 无食管狭窄、食管穿孔、脓胸等并发症. EVL组术后发热7例(25.9%), 胸痛或胸骨后不适11例(40.7%), 均不需特殊处理自行缓解; 恶心、呕吐5例(18.5%), 予胃复安处理好转; 住院期间术后出血3例(11.1%), 无其他并发症.

EIS组发热患者、平均发热天数、胸痛患者、平均胸痛天数、食管溃疡出血、腹胀发生率明显高于EVL组, 差异有显著性( $P<0.05$ ); 两组患者在恶心、呕吐、住院期间术后出血、进食哽咽感、胸膜炎、食管狭窄、食管穿孔等方面比较, 差异无显著性意义( $P>0.05$ , 表3).

## 3 讨论

食管静脉曲张破裂出血是肝硬化最常见、最严

表 1 食管静脉曲张患者一般临床资料

参数	EIS组( $n=36$ )	EVL组( $n=27$ )	$P$ 值
年龄(岁)	53.89±12.85	50.89±11.73	0.345
性别			0.010
男	15	20	
女	21	7	
病因			0.538
病毒性	23	17	
酒精性	0	1	
自身免疫性	4	3	
血吸虫性	1	2	
布加综合征	0	1	
不明原因性	8	3	
Child-Pugh评分	7.36±1.33	6.86±1.50	0.162
出血程度 $n$ (%)			0.186
无	0(0.0)	2(7.4)	
轻度	3(8.3)	5(18.5)	
中度	18(50.0)	11(41.7)	
重度	15(41.7)	9(33.3)	
曲张静脉分级:			
重度(G III)	36	27	

表 2 EIS组和EVL组的治疗结果  $n$ (%)

	EIS组( $n=36$ )	EVL组( $n=25$ )	$P$ 值
急诊治疗转归			0.137
止血成功	32(88.9)	25(100.0)	
止血失败	4(11.1)	0(0.0)	
早期再出血	16(44.4)	3(12.0)	0.007
迟发性再出血	19(52.8)	4(16.0)	0.004
死亡	7(19.4)	1(4.0)	0.125

重的并发症之一. 随着内镜技术的不断发展, 内镜下治疗已成为食管静脉曲张的主要治疗措施. 国内外对EIS和EVL治疗食管静脉曲张疗效和安全性的报道甚多. Lo等<sup>[6]</sup>对120例急性静脉曲张出血患者以及Zargar等<sup>[9]</sup>对成人肝外门静脉阻塞(extrahepatic portal venous obstruction, EXPVO)导致的食管静脉曲张出血患者, 进行了EVL和EIS治疗的比较, 结果表明两者在控制急性出血效果相似, 但EIS组再出血率和主要并发症显著要高. 一项荟萃分析<sup>[10]</sup>对13个包括1 091例患者的随机对照试验进行了比较, 发现同EIS相比, EVL预防曲张静脉再出血率更低, 并发症较少和较轻. 本研究目的是进一步比较两种治疗方法的止血率、再出血率、病死率及并发症发生率. 结果发现, 尽管两组在止血率、病死率方面没有显著性差异( $P>0.05$ ), 但在早期再出血率、迟

## ■创新盘点

本文采用前瞻性研究方法, 对EVL和EIS治疗食管静脉曲张破裂出血进行疗效和安全性的分析.

## ■应用要点

本文表明, EVL较EIS治疗食管静脉曲张破裂出血并发症更少, 再出血率及病死率低, 但仍需多样本的严格对照研究。

表 3 EIS组和EVL组治疗后的并发症

	EIS组( <i>n</i> = 36)	EVL组( <i>n</i> = 27)	<i>P</i> 值
发热 $n$ (%)	23(63.9)	7(25.9)	0.003
无	13(36.1)	20(74.1)	
<38 °C	11(30.1)	4(14.8)	
>38 °C	12(33.3)	3(11.1)	
平均发热天数(d)	3.03 ± 4.011	0.78 ± 1.528	0.004
胸痛 $n$ (%)	25(69.4)	11(40.7)	0.023
平均疼痛天数(d)	1.17 ± 1.028	0.52 ± 0.700	0.006
恶心、呕吐 $n$ (%)	5(13.9)	5(18.5)	0.881
住院期间出血 $n$ (%)	6(16.7)	3(11.1)	0.795
食管溃疡出血 $n$ (%)	7(19.4)	0(0.0)	0.017
进食哽咽感 $n$ (%)	2(5.6)	0(0.0)	0.502
胸膜炎 $n$ (%)	5(13.9)	0(0.0)	0.065
腹胀 $n$ (%)	17(47.2)	4(14.8)	0.007

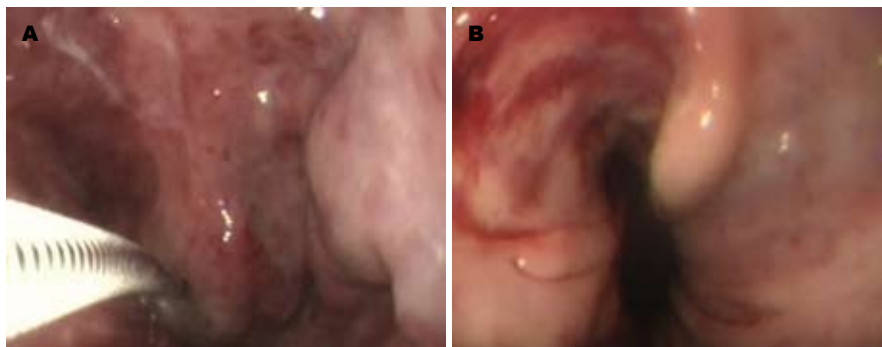


图 1 内镜示EIS治疗前后的食管. A: 治疗前; B: 治疗后1 wk食管深大溃疡。

发性再出血率方面, EIS组要比EVL组明显升高。有研究指出, 尽管在EVL和EIS后肝静脉压力梯度(hepatic venous pressure gradient, HVPG)均立刻显著增高, 在5 d的研究期间EIS组的HVPG维持在增高的水平, 而EVL组在48 h后HVPG降至基线水平<sup>[11]</sup>, 门静脉压力的增高会增加治疗失败的风险<sup>[12]</sup>, 我们的研究中未检测HVPG水平。

两种治疗方法在病死率方面研究报道不一致, Avgerinos等<sup>[13]</sup>报道两组病死率相似, Lo等<sup>[6]</sup>则认为EIS组病死率较EVL组显著增加。此外, 两项最大和设计最好的随机对照试验, 因为EIS组显著增加的病死率, 在实验结束前而终止<sup>[10]</sup>。本研究EIS组病死率高于EVL组, 但差异无统计学意义( $P = 0.122$ ), 我们将在进一步地扩大样本量及长期随访研究中进一步明确。

EIS组并发症较EVL组显著增多<sup>[6,9,14-16]</sup>。本研究中EIS组发热、胸痛、食管溃疡出血、腹胀等并发症明显高于EVL组( $P < 0.05$ ), 较国外文献报道更加细致。Lin等<sup>[17]</sup>研究显示, EIS后菌血症的发生率比常规内镜检查后发生率要高。有研究认为, 内镜硬化针治疗时破坏了黏膜屏障,

增加了感染的危险性<sup>[18]</sup>, 但未得到更多的认识。内镜治疗相关性食管溃疡是再出血的重要原因, EIS治疗导致的溃疡较EVL的更常见, 可导致狭窄或20%的患者出血<sup>[6,14]</sup>。EVL主要是通过套扎, 完全阻断血流流入被套扎的静脉, 黏膜、黏膜下层缺血坏死, 肉芽组织形成, 最后橡皮圈和坏死组织脱落, 纤维化和瘢痕组织替代曲张静脉的机械方式, 而非EIS中通过化学效应来消除曲张静脉, 可以降低EIS的并发症<sup>[15,19]</sup>。EIS导致的溃疡较深, 易出血, EVL通常累及黏膜及黏膜下层, 导致的溃疡较表浅, 消失较快, 出血不常见<sup>[14]</sup>。本研究中EIS组, 7例(19.4%)发生食管溃疡出血, 与de Franchis等<sup>[14]</sup>研究中报道的20%患者溃疡出血率接近。两组均未发现明显的食管狭窄、食管穿孔等严重的并发症。

近年来, 有学者提出联合应用EVL和EIS治疗食管静脉曲张, 但尚未发现联合治疗比EVL更有益<sup>[20,21]</sup>。美国肝病研究学会指南也不推荐联合EVL和EIS对食管静脉曲张出血进行二级预防<sup>[3]</sup>。

本研究初步表明, EVL组较EIS组再出血率更低, 并发症更少, 因而安全性也最高; 同时发

现, EVL比EIS治疗曲张静脉更为有效. 然而, 我们的病例样本量仍较少, 随访时间较短, 目前病例尚在随访中, 两组间的远期再出血率及病死率, 尚需进一步地研究.

志谢: 感谢美国Ponce Medical College唐七义教授的英文指导.

#### 4 参考文献

- 1 令狐恩强. 食管胃底静脉曲张致上消化道出血的内镜下诊治. 中国实用内科杂志 2005; 25: 200-201
- 2 De Franchis R, Bañares R, Silvain C. Emergency endoscopy strategies for improved outcomes. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1998; 226: 25-36
- 3 Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Grace ND, Carey W. Prevention and management of gastroesophageal varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *Hepatology* 2007; 46: 922-938
- 4 Villanueva C, Miñana J, Ortiz J, Gallego A, Soriano G, Torras X, Sáinz S, Boadas J, Cussó X, Guarner C, Balanzó J. Endoscopic ligation compared with combined treatment with nadolol and isosorbide mononitrate to prevent recurrent variceal bleeding. *N Engl J Med* 2001; 345: 647-655
- 5 中华医学会消化内镜学分会食管胃静脉曲张学组. 消化道静脉曲张及出血的内镜诊断和治疗规范试行方案(2009年). 中华消化内镜杂志 2010; 27: 1-4
- 6 Lo GH, Lai KH, Cheng JS, Hwu JH, Chang CF, Chen SM, Chiang HT. A prospective, randomized trial of sclerotherapy versus ligation in the management of bleeding esophageal varices. *Hepatology* 1995; 22: 466-471
- 7 胃食管静脉曲张调查协作组. 全国多中心食管静脉曲张破裂出血治疗调查分析. 中华消化杂志 2007; 27: 374-377
- 8 程留芳, 贾继东, 徐小元, 令狐恩强, 刘玉兰, 冷希圣, 王茂强. 肝硬化门静脉高压食管胃静脉曲张出血的防治共识(2008, 杭州). 中华保健医学杂志 2008; 10: 241-248
- 9 Zargar SA, Javid G, Khan BA, Shah OJ, Yattoo GN, Shah AH, Gulzar GM, Singh J, Shah NA, Shafi HM. Endoscopic ligation vs. sclerotherapy in adults with extrahepatic portal venous obstruction: a prospective randomized study. *Gastrointest Endosc* 2005; 61: 58-66
- 10 Garcia-Pagán JC, Bosch J. Endoscopic band ligation in the treatment of portal hypertension. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 526-535
- 11 Avgerinos A, Armonis A, Stefanidis G, Mathou N, Vlachogiannakos J, Kougiumtzian A, Triantos C, Papaxoinis C, Manolakopoulos S, Panani A, Raptis SA. Sustained rise of portal pressure after sclerotherapy, but not band ligation, in acute variceal bleeding in cirrhosis. *Hepatology* 2004; 39: 1623-1630
- 12 Moitinho E, Escorsell A, Bandi JC, Salmerón JM, García-Pagán JC, Rodés J, Bosch J. Prognostic value of early measurements of portal pressure in acute variceal bleeding. *Gastroenterology* 1999; 117: 626-631
- 13 Avgerinos A, Armonis A, Manolakopoulos S, Poulianos G, Rekoumis G, Sgourou A, Gouma P, Raptis S. Endoscopic sclerotherapy versus variceal ligation in the long-term management of patients with cirrhosis after variceal bleeding. A prospective randomized study. *J Hepatol* 1997; 26: 1034-1041
- 14 de Franchis R, Primignani M. Endoscopic treatments for portal hypertension. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 439-455
- 15 Schuman BM, Beckman JW, Tedesco FJ, Griffin JW Jr, Assad RT. Complications of endoscopic injection sclerotherapy: a review. *Am J Gastroenterol* 1987; 82: 823-830
- 16 孙远杰, 刘志忠, 王艳, 刘福旭, 王志军, 马伟艳, 徐丽萍. 内镜治疗食管静脉曲张方法的临床研究. 中华消化内镜杂志 2004; 21: 351-352
- 17 Lin OS, Wu SS, Chen YY, Soon MS. Bacterial peritonitis after elective endoscopic variceal ligation: a prospective study. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 214-217
- 18 王艳梅, 程留芳, 杨云生, 王志强, 令狐恩强. 食道静脉曲张硬化治疗后细菌性腹膜炎3例临床分析. 中国实用内科杂志 2004; 24: 488-489
- 19 许建明, 孔德润. 内镜治疗门静脉高压症并发上消化道出血. 肝胆外科杂志 2009; 17: 90-93
- 20 Singh P, Pooran N, Indaram A, Bank S. Combined ligation and sclerotherapy versus ligation alone for secondary prophylaxis of esophageal variceal bleeding: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 623-629
- 21 Karsan HA, Morton SC, Shekelle PG, Spiegel BM, Suttorp MJ, Edelstein MA, Gralnek IM. Combination endoscopic band ligation and sclerotherapy compared with endoscopic band ligation alone for the secondary prophylaxis of esophageal variceal hemorrhage: a meta-analysis. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 399-406

#### ■同行评价

本文设计合理, 具有较好的临床参考价值.

编辑 李薇 电编 李薇

# 原发性胃恶性淋巴瘤的内镜诊断和临床病理特点

李 姝, 王邦茂, 方维丽, 姜 葵, 刘文天

## ■背景资料

原发性胃恶性淋巴瘤(PGML)是起源于胃黏膜固有层淋巴组织的一种恶性肿瘤。临床上较少见,约占胃恶性肿瘤的2%-5%,近年来发病率呈逐渐升高的趋势。其临床表现缺乏特异性,内镜下表现与胃癌、胃溃疡相似,临床误诊率高。

李姝, 王邦茂, 方维丽, 姜葵, 刘文天, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052

作者贡献分布: 此课题由李姝与王邦茂设计; 临床胃镜检查由李姝、方维丽、姜葵及刘文天操作完成; 数据分析由李姝完成; 本文写作由李姝完成。

通讯作者: 李姝, 副主任医师, 300052, 天津市, 天津医科大学总医院消化科。lishutj@163.com

电话: 022-60363863

收稿日期: 2010-09-17 修回日期: 2010-10-20

接受日期: 2010-10-26 在线出版日期: 2010-12-18

## Primary gastric malignant lymphoma: endoscopic diagnosis and clinicopathologic features

Shu Li, Bang-Mao Wang, Wei-Li Fang, Kui Jiang, Wen-Tian Liu

Shu Li, Bang-Mao Wang, Wei-Li Fang, Kui Jiang, Wen-Tian Liu, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China  
Correspondence to: Shu Li, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China. lishutj@163.com

Received: 2010-09-17 Revised: 2010-10-20

Accepted: 2010-10-26 Published online: 2010-12-18

## Abstract

**AIM:** To summarize the gastroscopic and clinicopathologic features of primary gastric malignant lymphoma (PGML) to improve the diagnostic efficiency of the disease.

**METHODS:** The clinicopathologic, endoscopic, and immunohistologic data for 81 PGML patients were retrospectively analyzed.

**RESULTS:** Endoscopy revealed three types of tumors: ulcerative type in 44.5% of patients, infiltrating type in 29.6%, and protrusive type in 25.9%. Most lesions were found in the antrum, corpus and fundus of the stomach. Immunohistochemistry showed B-cell lymphoma in 97.5% of patients. *H. pylori* infection was detected in 84.8% of patients.

**CONCLUSION:** The clinicopathologic and endoscopic manifestations of PGML are variable. Endoscopic examination in combination with deep

and multi-site biopsy is important for avoidance of misdiagnosis in PGML patients.

**Key Words:** Primary gastric malignant lymphoma; Endoscopic diagnosis; Clinicopathologic feature

Li S, Wang BM, Fang WL, Jiang K, Liu WT. Primary gastric malignant lymphoma: endoscopic diagnosis and clinicopathologic features. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3796-3799

## 摘要

**目的:** 分析原发性胃恶性淋巴瘤(PGML)的内镜表现及其临床病理特征,以提高胃镜对该病的诊断率。

**方法:** 对81例原发性胃恶性淋巴瘤进行内镜(10例行超声内镜)检查及组织学检查,同时行免疫组织化学染色,检测幽门螺杆菌(*H. pylori*)的感染,并对临床病理特征进行分析。

**结果:** 内镜下表现为三型病变,溃疡型病变(44.5%),浸润型病变(29.6%),隆起型病变(25.9%)。病变多累及于胃窦、胃体和胃底。病理结果B细胞型非霍奇金淋巴瘤79例(97.5%),其中大B细胞性淋巴瘤2例,为高度恶性胃淋巴瘤,40例为低度恶性淋巴瘤;*H. pylori*感染率为84.8%。内镜诊断与病理诊断符合率为32.1%。

**结论:** 原发性胃恶性淋巴瘤临床表现不典型,内镜下形态具有多型性,提高对其内镜下表现的认识,结合多取及深取活检对原发性恶性胃淋巴瘤的确诊具有重要的意义。

**关键词:** 原发性胃恶性淋巴瘤; 内镜诊断; 临床病理特点

李姝, 王邦茂, 方维丽, 姜葵, 刘文天. 原发性胃恶性淋巴瘤的内镜诊断和临床病理特点. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3796-3799

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3796.asp>

## 0 引言

原发性胃恶性淋巴瘤(primary gastric malignant

## ■同行评议者

李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

lymphoma, PGML)是起源于胃黏膜固有层淋巴组织的一种恶性肿瘤,临床上较少见,约占胃恶性肿瘤的2%-5%,近年来发病率呈逐渐升高的趋势。其临床表现缺乏特异性,内镜下表现与胃癌、胃溃疡相似,临床误诊率高。PGML的预后明显优于胃的其他恶性肿瘤,因此,早诊断、早治疗是目前提高PGML生存率、延长生存期的关键。本文总结天津医科大学总医院自收治的81例经病理证实的PGML的内镜诊断和组织学特点,以便提高对PGML的深入认识。

## 1 材料和方法

1.1 材料 天津医科大学总医院自1999-01/2010-06收治的患者共81例,其中男43例,女38例,男女比例为1.13:1,年龄19-86(平均58.8)岁。所有病例经病理组织学证实,并符合PGML的诊断标准,即Dawson等<sup>[1]</sup>的诊断标准:(1)全身浅表淋巴结无肿大;(2)周血白细胞计数及分类正常;(3)X线检查,无纵隔淋巴结肿大;(4)病变仅限于胃及局部淋巴结;(5)肝脾正常,并排除非原发性可能。

1.2 方法 全部81例患者经电子胃镜,钳取病变组织活检,其中10例同时行超声内镜检查。5例二次行局部黏膜切除取活检作组织学检查,予病理组织HE染色,同时行免疫组织化学染色检测CD3、CD20、CD5和CK等标志物。病理分型参照WHO的B细胞及T细胞淋巴瘤分类标准<sup>[2]</sup>。其中46例患者,作<sup>13</sup>C/<sup>14</sup>C呼气试验或取材作快速尿素酶试验,病理组织HE染色检查找*H.pylori*。上述3项检查,有2项为阳性结果判定*H.pylori*感染。

## 2 结果

2.1 临床表现 腹胀26例,上腹痛26例,恶心呕吐11例,食欲减退10例,呕血黑便9例,反酸5例,嗝气3例,贫血3例。

2.2 病变部位 单一部位受累共50例,以胃窦部最多见,为19例(23.5%),其次胃体17例(21.0%),胃底13例(16.1%),累及十二指肠球者1例(1.2%)。累及2个部位共23例,其中胃底及胃体14例(17.3%),胃体及胃窦9例(11.1%),累及3个部位共8例,其中累及胃底胃体及胃窦三者7例(8.6%),累及食管贲门及胃底1例(1.2%)。

### 2.3 内镜下表现

2.3.1 溃疡型病变: 溃疡型病变36例,占44.5%。以溃疡为主要表现,其中21例为单发溃疡,直径约1.0-7.5 cm,呈不规则状。溃疡巨大者多较深,呈现恶性溃疡的特征。溃疡底部覆盖陈旧性血痂

或新鲜活动性出血,苔污秽,呈黄白色,边界不清。15例为多发,数目为2-4个溃疡,直径0.5-3.0 cm,溃疡,多较浅,伴糜烂,不规则形,触之易出血。

2.3.2 隆起型病变: 隆起型病变21例,占25.9%。呈不规则隆起,表现为局部黏膜隆起、增厚、粗大,表面可见大小不一的息肉样或结节状隆起,伴糜烂,周边黏膜尚光滑。

2.3.3 浸润型病变: 浸润型病变24例,占29.6%。其中19例为局限性浸润,表现为局部黏膜皱襞增厚粗大,表面见多发性点片状糜烂或浅溃疡,覆污苔,可见陈旧性出血。5例为弥漫性浸润,胃壁广泛增厚变硬,胃腔狭窄,蠕动减弱。黏膜表面有糜烂。活检时触感质硬。

2.4 超声内镜下表现 本组中10例患者为明确胃壁浸润的情况行超声内镜检查。表现为起源于胃黏膜下层的低回声病灶,回声不均匀,大部分正常胃壁5层结构弥漫性破坏、增厚,增厚的胃壁层次尚可辨认。

2.5 病理结果 本组经内镜活检,为多处深凿活检,活检块数>6-8块。病理及免疫组织化学确诊为胃淋巴瘤,均为非霍奇金淋巴瘤,其中,B淋巴细胞淋巴瘤79例(97.5%),T淋巴细胞淋巴瘤2例(2.5%)。

B淋巴细胞淋巴瘤中以结外边缘带B淋巴细胞型(黏膜相关性低度恶性B淋巴细胞淋巴瘤)在本组病例中最多,共40例(占B淋巴细胞淋巴瘤50.6%),其病理特点为:镜下见弥漫小细胞浸润的反应滤泡,伴较多组织样细胞及浆细胞浸润,淋巴细胞核分裂象散在,肠上皮陷窝明显减少。可见到淋巴上皮细胞损伤,部分浅层黏膜中有中性粒细胞浸润;免疫组织化学结果:CD20(+),CD5(-),CD10(-),CD3(-),CD21(-/+),cyclin D1(-)。弥漫大B淋巴细胞型2例(占B细胞淋巴瘤2.53%),镜下见弥漫增生的大淋巴细胞,呈中度至高度增生,胞质呈嗜碱性,圆形或卵圆形空泡状细胞核。核仁突出,可含1个或1个以上核仁,染色质较分散;免疫组织化学结果:CD20(+),CD5(-/+),CD3(-),ALK(-)。

T淋巴细胞淋巴瘤2例(2.5%),镜下见肿瘤细胞形态异质性和多形性,可以是小的单形性细胞到大的间变性细胞,核呈圆形或椭圆形。空泡状,有1个或多个核仁,中等量胞质,呈淡染色或嗜酸性,内可见大量炎症细胞,组织细胞和嗜酸性细胞浸润,恶性细胞有明显的吞噬红细胞和红细胞碎片现象;免疫组织化学结果:CD7(+),CD3(+),CD30(-/+),CD4(-),CD8(-),CD20(-)。

### ■应用要点

原发性胃恶性淋巴瘤临床表现不典型,内镜下形态具有多型性,提高对其内镜下表现的认识,结合多取及深取活检对原发性恶性胃淋巴瘤的确诊具有重要的意义。



#### ■同行评价

本文内容丰富,为临床医师内镜下认识和诊断原发性胃恶性淋巴瘤提供参考。

2.6 *H.pylori*检测 本组81例患者中46例有*H.pylori*检测结果,阳性39例,阳性率为84.8%。

2.7 内镜诊断与病理诊断符合率 常规内镜检查81例中的55例分别拟诊为胃癌、胃溃疡和胃息肉等,内镜下初步诊断的误诊率达67.9%。仅26例考虑为胃淋巴瘤,内镜诊断与病理诊断符合率32.1%。

### 3 讨论

PGML是起源于胃黏膜下层淋巴组织的恶性肿瘤,绝大部分为B淋巴细胞来源,T淋巴细胞型PGML较罕见,后者属高度恶性<sup>[3]</sup>。本组资料病理检查及免疫组织化学的结果提示81例中仅2例为T淋巴细胞瘤,其余79例均为B淋巴细胞性,CD20(+),LCA(+),与相关报道符合。所有年龄组都有可能发病,本组为19-86岁,年龄跨度较大。男女比例为1.13:1,男性多于女性。在临床表现方面缺乏特异性,主要为上腹部胀痛、反酸、恶心呕吐、食欲减退、呕血黑便等消化系统症状,无明显规律可循,本组病例主诉多为上述表现,尚有3例以贫血为首诊,所占比例为3.7%。

结合本组资料及文献报道,认为PGML内镜下表现有以下特点:病变部位以胃窦及胃体部最多见,并可侵犯至胃底、贲门、胃角,甚至跨过幽门侵入十二指肠球部。本组发现1例(1.2%)同时侵及十二指肠球部。最常见的类型为溃疡型和肿物型(即隆起型病变)。溃疡型病变可表现为局限性黏膜增厚,呈脑回状,表面可光滑或出现黏膜糜烂及浅溃疡,溃疡可单发或多发。其次为结节样增生、息肉型、肿物隆起型等,总的可归纳为多行性,多灶性,弥漫性或假性愈合等特点<sup>[4]</sup>。如果仅行内镜检查不做组织学检查也容易造成误诊,比如本组81例中经内镜检查仅26例初步诊断为胃恶性淋巴瘤,并与病理结果相符,内镜下确诊率仅32.1%。内镜下确诊率低的原因可能与内镜医师对本病认识不足,缺乏诊断本病的警惕性有关,故应加强对该病的深入认识。

由于PGML来源于黏膜下层,组织学活检和病理诊断均有一定困难,因此内镜下多次、多点活检以及包括黏膜下层在内的大块胃黏膜圈套活检尤为重要。本组81例经内镜下活检行病理学及免疫组织化学全部均得到组织学阳性结果。要注意每次活检除在多部位取材外,还应在同一部位反复钳取、深挖至黏膜下,活检≥6块。此外大块组织活检阳性率显著增高。本组常

规活检难以明确诊断的5例(3例隆起型,2例浸润型)行病变局部黏膜切除取活检作组织学检查,病理结果全部明确为淋巴瘤。对巨大型溃疡边缘隆起的病灶,取材不应选在最隆起处,因该处水肿明显,浆细胞稀释浸润,应选择较平坦的稍隆起部位取材,其下多充满浸润的肿瘤细胞<sup>[5]</sup>。隆起型病变表面可有糜烂或浅溃疡,也可呈现息肉样突向管腔,多发或散发,须与胃息肉相鉴别,注意组织学检查。病理诊断结合免疫组织化学技术相当重要,可以借此提高确诊率。

对于PGML的诊断,除普通内镜及病理活检之外,还应重视超声内镜的应用。超声内镜通过内镜顶部的高频超声探头,可清晰地显示正常胃壁的黏膜层、黏膜肌层、黏膜下层、固有肌层和浆膜层5层结构,还可以显示出胃壁外情况,在判断隆起型病变的性质、起源和肿瘤侵犯深度方面有明确的优越性。本组10例行超声内镜检查。典型声像表现为病变早期第2或第2、3层明显增厚,为低回声取代,原有5层结构仍存在;进展期则出现胃壁明显增厚且原有结构层次不清,并可探及壁外肿大的淋巴结。超声内镜在评价浸润范围、组织类型及对治疗的反应方面具有重要价值<sup>[6]</sup>。有文献报道超声内镜对76例PGML的诊断正确率达97%<sup>[7]</sup>。另外,若能对病灶行超声内镜下细针穿刺活检则可获更高确诊率<sup>[8]</sup>。

研究表明,*H.pylori*为淋巴瘤发生、生长提供了抗原刺激,引起炎性反应、免疫反应,淋巴细胞聚集并形成滤泡,这种获得性的淋巴组织是胃壁发生淋巴瘤的病理基础。绝大多数胃黏膜相关淋巴组织(mucosa-associated lymphoid tissue, MALT)淋巴瘤病例胃黏膜能检出*H.pylori*,本组资料*H.pylori*感染率达84.8%。表明*H.pylori*感染与胃MALT淋巴瘤存在密切关联<sup>[9,10]</sup>。根除*H.pylori*,可引起75%的胃MALT淋巴瘤的肿瘤组织消退,早期低度恶性淋巴瘤可完全消退,即使是高度恶性淋巴瘤亦有完全消退者。从而推荐根治*H.pylori*是治疗该病的第一种选择。有报道提示随访中发现*H.pylori*再感染, MALT淋巴瘤复发,再根治又得以消退者,表明感染与该肿瘤发生上的特殊关系<sup>[11-13]</sup>。

PGML的预后优于胃癌。内镜下PGML的病变远比胃癌广泛,但出现恶病质相对较少,一般情况较好<sup>[14]</sup>。胃MALT淋巴瘤5年生存率可达90%,10年生存率为75%<sup>[15]</sup>。因此,对PGML的正确诊断具有重要意义。PGML的诊断要注重常规内镜检查、病理检查、免疫组织化学技术地综

合应用, 有条件的要结合超声内镜检查, 以提高确诊率。

#### 4 参考文献

- 1 Dawson IM, Cornes JS, Morson BC. Primary malignant lymphoid tumours of the intestinal tract. Report of 37 cases with a study of factors influencing prognosis. *Br J Surg* 1961; 49: 80-89
- 2 陈蕾, 吕翔. 胃原发性恶性淋巴瘤. 诊断病理学杂志 2006; 13: 79
- 3 马升高, 钟谷平, 董磊, 吴建胜, 吴明, 韩清锡. 原发性胃肠道恶性淋巴瘤内镜表现与病理分析. 中华消化内镜杂志 2009; 26: 314-316
- 4 刘旭妍, 辛艳芹, 王少峰. 38例胃原发非霍奇金淋巴瘤内镜活检病理分析. 中华消化内镜杂志 2008; 25: 92-93
- 5 黄祥成, 巴明臣, 卿三华, 李国新, 闻英. 原发性胃恶性淋巴瘤诊治分析. 中华消化内镜杂志 2004; 21: 343-344
- 6 姜利佳, 湛先保, 陈洁, 金震东, 邹多武. 胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤16例临床诊断分析. 中华消化杂志 2008; 28: 279-280
- 7 Caletti GC, Ferrari A, Bocus P, Togliani T, Scalorbi C, Barbara L. Endoscopic ultrasonography in gastric lymphoma. *Schweiz Med Wochenschr* 1996; 126: 819-825
- 8 Yasuda I, Tsurumi H, Omar S, Iwashita T, Kojima Y, Yamada T, Sawada M, Takami T, Moriwaki H, Soehendra N. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy for lymphadenopathy of unknown origin. *Endoscopy* 2006; 38: 919-924
- 9 Wündisch T, Thiede C, Morgner A, Dempfle A, Günther A, Liu H, Ye H, Du MQ, Kim TD, Bayerdörffer E, Stolte M, Neubauer A. Long-term follow-up of gastric MALT lymphoma after *Helicobacter pylori* eradication. *J Clin Oncol* 2005; 23: 8018-8024
- 10 贺降福, 刘荣, 胡仕林, 沈俊松, 王银, 陈新皓. 胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤临床与内镜诊断分析. 国际消化病杂志 2007; 27: 306-308
- 11 欧阳钦, 易智慧. 胃肠道淋巴瘤. 中华消化杂志 2006; 26: 209-212
- 12 陈金良, 姜葵, 王邦茂. 胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤临床研究及随访. 胃肠病学和肝病学杂志 2008; 17: 558-560
- 13 陈金良, 姜葵, 张继平, 温冰, 张建中, 章明放, 王邦茂. 幽门螺杆菌复燃或再感染致胃MALT淋巴瘤复发一例. 中华医学杂志 2008; 88: 1581
- 14 Hjerstad MJ, Hollender A, Warloe T, Karlsen KO, Ikonomo I, Kvaloy S, Nome O, Holte H. Quality of life after total or partial gastrectomy for primary gastric lymphoma. *Acta Oncol* 2006; 45: 202-209
- 15 Rodríguez-Sanjuán JC, García RA, Trugeda S, de la Torre F, Llorca J, Gómez-Fleitas M. Do current indications for surgery of primary gastric lymphoma exist? *Rev Esp Enferm Dig* 2006; 98: 180-188

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 •

### 《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP, T<sub>1/2</sub>不能写成tl/2或T<sub>1/2</sub><sup>1</sup>, V<sub>max</sub>不能V<sub>max</sub>, 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*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*<sub>max</sub>, *C*<sub>max</sub>, *V*<sub>d</sub>, *T*<sub>1/2</sub> *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

# 胃镜在腹腔镜治疗上消化道良性疾病中的应用

赵作成, 秦鸣放

## ■背景资料

腹腔镜技术在腹部肝胆胰脾肾实质脏器的应用日臻成熟。但由于解剖结构的差异, 腹腔镜技术应用至空腔脏器却面临腔内如何定位及切开深度和范围的难题。尤其在消化道良性疾病手术中, 胃镜的术中应用, 可使问题迎刃而解。

赵作成, 天津医科大学南开临床学院 天津市 300100

赵作成, 天津市大港医院普外科 天津市 300270

秦鸣放, 天津市南开医院微创外科 天津市 300100

作者贡献分布: 此文资料总结及论文撰写由赵作成完成; 资料收集由赵作成完成; 腹腔镜、内镜手术由秦鸣放与赵作成完成; 秦鸣放负责全文理论指导。

通讯作者: 赵作成, 主治医师, 300100, 天津市, 天津医科大学南开临床学院. harezzc@sohu.com

收稿日期: 2010-09-18 修回日期: 2010-10-25

接受日期: 2010-11-02 在线出版日期: 2010-12-18

## Application of gastroscopy in laparoscopic treatment of benign diseases of the upper gastrointestinal tract

Zuo-Cheng Zhao, Ming-Fang Qin

Zuo-Cheng Zhao, Nankai Clinical College, Tianjin Medical University, Tianjing 300100, China

Zuo-Cheng Zhao, Department of General Surgery, Dagang Hospital of Tianjing City, Tianjing 300270, China

Ming-Fang Qin, Department of Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China

Correspondence to: Zuo-Cheng Zhao, Nankai Clinical College, Tianjin Medical University, Tianjing 300100, China. harezzc@sohu.com

Received: 2010-09-18 Revised: 2010-10-25

Accepted: 2010-11-02 Published online: 2010-12-18

## Abstract

**AIM:** To evaluate the value of gastroscopy in laparoscopic treatment of benign diseases of the upper gastrointestinal tract.

**METHODS:** The clinical data for 32 patients who underwent combined gastroscopy and laparoscopy for treating benign diseases of the upper gastrointestinal tract at Nankai Hospital from March 2006 to March 2010 were analyzed retrospectively.

**RESULTS:** Lesions were accurately located and surgeries were successfully performed by combined gastroscopy and laparoscopy in all 32 patients. No conversion to laparotomy or severe complications, such as bleeding and perforation, occurred. The duration of surgery ranged from 40 to 98 min (average 59 min), intraoperative bleeding volume from approximately 20 to 100 mL, postoperative consumption of liquid diet from day 2 to 4, and average hospital stay from 5

to 7 d. No recurrence occurred during 6-24 mo.

**CONCLUSION:** Combined gastroscopy and laparoscopy allow to accurately locate lesions, improve surgical success rate, and reduce surgical complications in patients with benign diseases of the upper gastrointestinal tract.

**Key Words:** Upper gastrointestinal tract; Benign disease; Laparoscopy; Gastroscopy

Zhao ZC, Qin MF. Application of gastroscopy in laparoscopic treatment of benign diseases of the upper gastrointestinal tract. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3800-3803

## 摘要

**目的:** 探讨应用胃镜在腹腔镜治疗上消化道疾病中的临床应用价值。

**方法:** 回顾性分析2006-03/2010-03天津市南开医院行胃镜辅助腹腔镜治疗上消化道良性疾病32例患者的临床资料, 对相关资料进行分析总结。

**结果:** 32例患者均在胃镜辅助下顺利找到病灶并成功施行相应术式, 无中转开腹, 无出血穿孔等并发症。手术时间40-98(平均59) min, 出血约20-100 mL, 术后2-4 d恢复流质饮食, 平均住院时间5-7 d。该组病例术后随访6-24 mo, 未有复发病例。

**结论:** 胃镜在腹腔镜治疗上消化道良性疾病中能够使病灶定位清楚、病灶切除彻底而提高了此类手术的成功率, 减少并发症, 保证手术安全性, 该方法值得推广应用。

**关键词:** 上消化道; 良性疾病; 腹腔镜; 胃镜

赵作成, 秦鸣放. 胃镜在腹腔镜治疗上消化道良性疾病中的应用. *世界华人消化杂志* 2010; 18(35): 3800-3803

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3800.asp>

## 0 引言

上消化道良性疾病包括食管、胃、十二指肠的

## ■同行评议者

徐大华, 副主任医师, 首都医科大学宣武医院普外科

良性病变, 而其中以胃间质瘤, 贲门失弛缓症, 胃息肉等多见. 腹腔镜技术的发展为治疗该类疾病提供了微创方法. 胃镜与腹腔镜的联合应用使微创优势更加明显. 南开医院微创外科中心2006-03/2010-03胃镜辅助腹腔镜治疗上消化道良性疾病32例, 取得了良好效果. 现报道如下.

## 1 材料和方法

1.1 材料 本组32例患者中男21例, 女11例, 年龄28-79(平均43.5)岁. 其中胃间质瘤19例(直径1.0-2.5 cm), 胃巨大息肉4例(直径 $\geq 2$  cm广基, 基底宽 $\geq 2$  cm), 贲门失弛缓症9例.

### 1.2 方法

1.2.1 检查及诊断: 胃间质瘤、胃息肉: 术前行纤维胃镜、超声内镜、腹部CT以及术后病理等检查确诊. 贲门失弛缓症行上消化道造影、胃镜及食管测压检查明确诊断.

1.2.2 手术: 采用全身麻醉. 常规脐缘1 cm切口, 置入腹腔镜, 探查腹腔. 胃息肉: 胃镜找到息肉并观察到腹腔镜下操作钳将息肉顶起, 注射美兰或应用穿刺针穿透进行定位, 应用腹腔镜下电灼或缝合线进行标记. 于胃壁准确定位, 提起息肉处胃壁, 7号丝线8字贯穿缝合将息肉充分提起, 直线切割缝合器将提起的胃壁全层包括息肉完整切除, 切缘距息肉2 cm, 胃镜监视下息肉切除完整, 快速冰冻切片明确有无恶变. 胃间质瘤: 由胃镜观察定位后由抓钳抓住胃壁, 位于胃体前壁者应用内镜切割吻合器(endoscopy-gastrointestinal incision anastomose, Endo-GIA)围绕肿瘤做胃楔形切除; 位于其他部位者, 先用超声刀或结扎速(ligasure)切断部分胃网膜或周围韧带充分显露病灶, 然后应用Endo-GIA行胃楔形切除. 胃楔形切除的切缘距肿块应 $>2$  cm, 以减少复发. 切除标本装入标本袋内取出. 冲洗腹腔, 标本送病理检查. 贲门失弛缓症Heller术: 腹腔镜操作器械置入后, 超声刀打开膈食管筋膜, 显露食管下段及贲门. 游离食管周围组织, 经口置入胃镜定位狭窄处, 腹腔镜下超声刀纵行切开食管贲门狭窄处前壁肌层, 可见食管黏膜膨出. 胃镜适当充气, 检查切开后黏膜的完整性以及切开长度是否足够. 关闭腹腔镜光源后, 观察膨出的黏膜层透光区, 确定无光线外泄, 进一步证实无黏膜破损. 然后行胃底折叠, 最后胃镜检查胃底折叠是否合适.

## 2 结果

32例均在胃镜指示下顺利找到病灶并成功施行

相应术式, 术中无出血和穿孔, 无中转开腹. 手术时间40-98(平均59) min, 出血约20-100 mL, 术后2-4 d恢复流质饮食下床活动, 平均住院时间5-7 d. 胃息肉, 胃间质瘤术后病理回报均为良性肿瘤, 术后随访6-24 mo未有复发病例及术后狭窄. 贲门失弛缓症病例症状明显改善, 随访6 mo, 术后可正常进食, 均无吞咽困难和反酸表现. 复查胃镜显示贲门部无狭窄.

## 3 讨论

上消化道良性疾病是常见病, 多发病. 腹腔镜技术的发展成熟为该类疾病提供了新的治疗方法. 腹腔镜手术充分体现了手术创伤小、术后痛苦少、恢复快的优势<sup>[1-3]</sup>. 据报道, 上消化道良性肿瘤 $<50$  mm依然能够行腹腔镜切除术<sup>[4]</sup>. 更让人兴奋的是国外已有单孔腹腔镜行胃间质瘤切除的病例<sup>[5]</sup>. 然而, 腹腔镜在腔道外科疾病中面临以下困难: (1)定位不准确: 由于腹腔镜手术失去了手的触觉, 对于腔内相对较小肿物, 靠器械往往不能准确定位, 这是腹腔镜手术的难点之一. (2)腔外操作切开深度难把握: 如果盲目切开食管、胃壁, 可能造成穿孔, 大出血等严重并发症. 而术中胃镜的应用使困难迎刃而解.

术中胃镜的作用: (1)切除前定位: 术中应用胃镜在胃内找到病灶后, 利用胃镜的光源照射同时暂时关闭腹腔镜光源, 可对病灶进行定位<sup>[6]</sup>. 胃间质瘤是一种恶性潜能未定的肿瘤, 从良性到恶性是一种渐进过程. 影响间质瘤危险程度判定的因素很多, 目前肯定的指标为肿瘤大小、核分裂象计数和部位<sup>[7-10]</sup>. 因此, 早期发现体积较小的肿瘤, 准确定位, 彻底完整切除, 对预后有很大影响. 本组胃息肉、胃间质瘤病例均在胃镜指示下准确定位, 提高效率; (2)切除中监视: 本组胃体后壁及胃窦后壁间质瘤的7例, 术中切开肿瘤对应的胃前壁, 在胃镜配合下, 将后壁肿瘤从胃前壁切口提出后用吻合器切除. 由此可见, 对于胃后壁的间质瘤, 双镜联合更具优势<sup>[11]</sup>; (3)切除后检查: 保证效果, 减少并发症, 提高安全性. 上消化道良性疾病行腹腔镜手术最容易出现穿孔、术后狭窄. 在胃镜指示下能够掌握贲门括约肌切开的部位、深度和长度, 保证手术的效果<sup>[12]</sup>. 能够对胃壁的吻合严密性检查. 本组病例中, 对Endo-GIA后通过胃镜的腔内适量充气, 腔外注水观察气泡以检查吻合的严密程度. 腹腔镜下Heller肌肉切开术联合胃底折叠术是贲门失弛缓症手术治疗的首选, 具有疗效佳,

### ■研发前沿

由于腹腔镜手术失去了手的触觉, 对于腔内相对较小肿物, 靠器械往往不能准确定位, 这是腹腔镜手术的难点之一.

## ■同行评价

本文实用性较好, 具有一定的临床应用参考价值。

创伤小等优点<sup>[13]</sup>。本组食管贲门失迟缓症病例均采用该术式。术中均经胃镜检查, 不仅明确了腹腔镜Heller术肌切开是否完全, 而且可以观察食管、胃底黏膜是否在术中破损, 从而保证了手术的治疗效果, 提高了手术的安全性。胃镜下折叠的胃底可以覆盖在膨出的食管黏膜上, 可降低术后食管瘘的发生率<sup>[14]</sup>; (4)完整、彻底的切除病灶, 最大限度保留正常组织。能够减少术后腔道狭窄几率。

因此, 腹腔镜与术中胃镜结合定位才能尽快找到并切除或修补病灶。并且, 通过胃镜消化道充气能够使病灶充分显露, 易于切除。当患者同时患有腹腔内其他器官病变时, 采取腹腔镜胃镜联合手术, 可以在一次麻醉、一次手术中完成, 充分体现微创优势。由于腹腔镜手术是在内镜直视下进行, 能够确保病变完整去除, 避免遗留病变<sup>[15]</sup>。间质瘤质脆易碎, 而肿瘤的破碎很可能会引起肿瘤细胞在腹腔内种植性生长<sup>[16-18]</sup>, 完整的外科切除能大大提高5年生存率<sup>[19]</sup>; 同时胃镜在腹腔镜直视下操作能够及时纠正手术欠缺, 避免术后并发症, 术中发现穿孔出血时, 可及时进行修补缝合。另外还能观察创面止血是否彻底, 缝合是否严密, 通过胃镜注气检查有无狭窄、漏气, 可以检查及确认腹腔镜手术质量<sup>[20]</sup>。我们总结腹腔镜与胃镜联合的原则是: 制定合理的方案来优化手术, 以最好的疗效、最小的创伤和最安全的手术方式, 使患者获得最大的利益。

术中胃镜应用时需注意, 在全麻下进镜方式、体位不同, 增加难度; 注气量要少, 在不影响观察的情况下, 尽可能少的向胃腔内注入空气, 降低胃壁张力, 操作轻柔, 切忌过度挤压肿瘤而致肿瘤破裂。术后吸净气体。

然而, 由于本手术方式不能达到根治目的, 因此对于术前高度怀疑为恶性或术中冰冻切片提示恶性时, 则应放弃胃镜联合腹腔镜手术方式而改用腹腔镜恶性肿瘤根治术或开放的恶性肿瘤根治术, 不能盲目地追求微创效果。由于该手术对临床医生手术操作技巧要求较高, 病灶的大小和位置不一, 操作难度不同, 如系膜缘的良性肿物暴露难度较大, 尤其在胃后壁、胃小弯侧和贲门的肿物更难于暴露, 对于间质瘤患者, 还要考虑恶性程度等因素。因此医生术前应对患者病情进行充分评估。

总之, 选择合适的病例行胃镜联合腹腔镜上消化道疾病手术, 具有定位迅速, 手术彻底, 并发症少, 创伤小, 术后恢复快, 值得推荐。熟练

联合应用内镜、腹腔镜, 既继承传统外科手术原则, 又能不断创新<sup>[21]</sup>。内镜、腹腔镜的灵活、熟练应用, 给我们带来更多的希望和憧憬。

## 4 参考文献

- 1 Nakamori M, Iwahashi M, Nakamura M, Tabuse K, Mori K, Taniguchi K, Aoki Y, Yamaue H. Laparoscopic resection for gastrointestinal stromal tumors of the stomach. *Am J Surg* 2008; 196: 425-429
- 2 Dholakia C, Gould J. Minimally invasive resection of gastrointestinal stromal tumors. *Surg Clin North Am* 2008; 88: 1009-1018, vi
- 3 Nguyen SQ, Divino CM, Wang JL, Dikman SH. Laparoscopic management of gastrointestinal stromal tumors. *Surg Endosc* 2006; 20: 713-716
- 4 Iwahashi M, Takifuji K, Ojima T, Nakamura M, Nakamori M, Nakatani Y, Ueda K, Ishida K, Naka T, Ono K, Yamaue H. Surgical management of small gastrointestinal stromal tumors of the stomach. *World J Surg* 2006; 30: 28-35
- 5 Henckens T, Van de Putte D, Van Renterghem K, Ceelen W, Pattyn P, Van Nieuwenhove Y. Laparoendoscopic single-site gastrectomy for a gastric GIST using double-bended instruments. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2010; 20: 469-471
- 6 赵宏志, 秦鸣放, 王震宇, 蔡旺, 王庆, 勾承月, 李宁. 内镜超声联合腹腔镜诊治早期胃间质瘤. *中国微创外科杂志* 2010; 10: 394-401
- 7 Vallböhmer D, Marcus HE, Baldus SE, Brabender J, Lurje G, Drebber U, Metzger R, Hölscher AH, Schneider PM. Comparative analysis of four histopathological classification systems to discriminate benign and malignant behaviour in gastrointestinal stromal tumors. *Anticancer Res* 2008; 28: 367-372
- 8 Imamura M, Yamamoto H, Nakamura N, Oda Y, Yao T, Kakeji Y, Baba H, Maehara Y, Tsuneyoshi M. Prognostic significance of angiogenesis in gastrointestinal stromal tumor. *Mod Pathol* 2007; 20: 529-537
- 9 马大烈, 白辰光. 胃肠道间质瘤的病理诊断和预后. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2367-2371
- 10 Joensuu H. Risk stratification of patients diagnosed with gastrointestinal stromal tumor. *Hum Pathol* 2008; 39: 1411-1419
- 11 周迪, 张勇, 龚伟, 杨勇, 刘颖斌, 全志伟. 腹腔镜联合胃镜行胃间质瘤切除术的临床分析. *腹腔镜外科杂志* 2009; 14: 526-529
- 12 Zaninotto G, Costantini M, Rizzetto C, Zanatta L, Guirrola E, Portale G, Nicoletti L, Cavallini F, Battaglia G, Ruol A, Ancona E. Four hundred laparoscopic myotomies for esophageal achalasia: a single centre experience. *Ann Surg* 2008; 248: 986-993
- 13 范莹, 吴硕东, 苏琪. 腹腔镜联合胃镜食管Heller肌切开加Dor胃底折叠术治疗贲门失弛缓症的临床应用. *中国内镜杂志* 2008; 14: 1235-1237
- 14 赵宏志, 秦鸣放, 王庆, 勾承月, 李宁. 腹腔镜联合胃镜微创治疗贲门失弛缓症26例分析. *中国实用外科杂志* 2010; 30: 684-686
- 15 黄庆先, 贾秀梅, 周先亭, 王国斌. 胃镜联合腹腔镜胃息肉切除术11例. *中国微创外科杂志* 2006; 6: 892
- 16 Verweij J, Casali PG, Zalcberg J, LeCesne A, Reichardt P, Blay JY, Issels R, van Oosterom A, Hogendoorn PC, Van Glabbeke M, Bertulli R, Judson I. Progression-free survival in gastrointestinal stromal tumours with high-dose imatinib: randomised trial. *Lancet* 2004; 364: 1127-1134
- 17 Corless CL, Fletcher JA, Heinrich MC. Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2004;



- 22: 3813-3825
- 18 Nowain A, Bhakta H, Pais S, Kanel G, Verma S. Gastrointestinal stromal tumors: clinical profile, pathogenesis, treatment strategies and prognosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 818-824
- 19 Parfitt JR, Streutker CJ, Riddell RH, Driman DK. Gastrointestinal stromal tumors: a contemporary review. *Pathol Res Pract* 2006; 202: 837-847
- 20 王恩湘, 许国铭. 术中内镜检查对消化道出血的诊断意义. *中华消化内镜志* 1996; 13: 305-306
- 21 秦明放. 内镜腹腔镜联合治疗的新思维. *中华消化内镜杂志* 2003; 20: 293-294

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 •

## 2009 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
I170	JOURNAL OF GERIATRIC CARDIOLOGY	—	—	—	—	—	—
G275	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	6013	1	3.70	0.789	3	0.59
G803	肝脏	710	25	-0.45	0.545	21	0.10
G938	国际呼吸杂志	796	22	-0.38	0.218	46	-0.56
G415	国际内分泌代谢杂志	786	23	-0.39	0.243	44	-0.51
G940	国际心血管病杂志	331	41	-0.74	0.231	45	-0.53
Q908	临床肺科杂志	1600	12	0.25	0.437	26	-0.12
G501	临床肝胆病杂志	671	28	-0.48	0.385	33	-0.22
G658	临床荟萃	1913	9	0.49	0.363	36	-0.27
G257	临床内科杂志	968	19	-0.24	0.403	30	-0.19
G855	临床消化病杂志	393	37	-0.69	0.443	25	-0.11
G261	临床心血管病杂志	998	18	-0.22	0.444	24	-0.10
G293	临床血液学杂志	462	35	-0.64	0.633	8	0.28
G491	岭南心血管病杂志	214	44	-0.83	0.205	47	-0.59
G662	内科急危重症杂志	365	40	-0.71	0.389	31	-0.22
G523	内科理论与实践	85	46	-0.93	0.260	41	-0.48
G746	实用肝脏病杂志	431	36	-0.66	0.483	22	-0.03
G190	世界华人消化杂志	3009	6	1.35	0.625	9	0.26
G800	胃肠病学	703	27	-0.45	0.602	11	0.21
G326	胃肠病学和肝病学杂志	706	26	-0.45	0.412	29	-0.17
G451	现代消化及介入诊疗	233	43	-0.82	0.567	14	0.14
G083	心肺血管病杂志	392	38	-0.69	0.575	13	0.16
G419	心血管病学进展	713	24	-0.44	0.436	27	-0.12
G578	心血管康复医学杂志	590	33	-0.54	0.385	33	-0.22
G260	心脏杂志	654	29	-0.49	0.387	32	-0.22
G234	中国动脉硬化杂志	1042	17	-0.19	0.555	19	0.12
G973	中国呼吸与危重监护杂志	625	32	-0.51	0.677	7	0.36
G267	中国实用内科杂志	2693	7	1.10	0.578	12	0.17
G211	中国糖尿病杂志	1855	11	0.45	0.567	14	0.14
G380	中国心血管杂志	367	39	-0.71	0.384	35	-0.23
G203	中国心脏起搏与心电生理杂志	652	30	-0.49	0.614	10	0.24
G633	中国血液净化	815	20	-0.36	0.559	17	0.13
G119	中国循环杂志	650	31	-0.49	0.290	40	-0.42
G231	中华肝脏病杂志	3363	5	1.63	0.733	4	0.48
G235	中华高血压杂志	1259	16	-0.02	0.715	5	0.44
G147	中华结核和呼吸杂志	5293	2	3.14	1.492	1	2.01
G639	中华老年多器官疾病杂志	203	45	-0.84	0.248	43	-0.50
G876	中华老年心脑血管病杂志	812	21	-0.37	0.561	16	0.13
G155	中华内分泌代谢杂志	1891	10	0.48	0.713	6	0.44
G156	中华内科杂志	3674	4	1.87	0.550	20	0.11
G505	中华乳腺病杂志(电子版)	84	47	-0.93	0.302	39	-0.39
G161	中华肾脏病杂志	1562	13	0.22	0.558	18	0.13
G285	中华消化内镜杂志	1497	14	0.17	0.431	28	-0.13
G168	中华消化杂志	2460	8	0.92	0.451	23	-0.09
G892	中华心律失常学杂志	496	34	-0.61	0.306	38	-0.38
G170	中华心血管病杂志	4623	3	2.61	1.391	2	1.80
G172	中华血液学杂志	1482	15	0.16	0.356	37	-0.28
G610	中华胰腺病杂志	303	42	-0.76	0.256	42	-0.48
	48种期刊平均值	1280			0.496		

以上数据摘自2010年版《中国科技期刊引证报告》(核心版). 科学技术文献出版社, 184-185.

# 肝小静脉闭塞病介入治疗21例

褚建国, 黄鹤, 孙鹏, 孙晓丽, 张小明, 冷希圣

## ■背景资料

近年来, 对狭义的布-加氏综合征(BCS)介入治疗的报道较多, 其作者均感少数患者治疗后效果不佳, 这其中不乏存在肝小静脉闭塞病(HVOD)病例的可能, 对该病的认识、甄别或治疗方案的制定成为亟待解决的临床问题。HVOD为肝小叶中央静脉和小叶下静脉损伤, 导致管腔狭窄或闭塞。本病主要累及肝内小静脉, 有别于常见的BCS, 后者主要是肝静脉及其属支狭窄或阻塞, 部分累及肝后下腔静脉。HVOD及BCS均可引起术后性门静脉高压症、肝细胞坏死和肝功能减退, 但其两者的治疗方法具有较大区别。

褚建国, 黄鹤, 孙鹏, 中国人民解放军空军总医院放射线科北京市 100142

孙晓丽, 中国人民解放军空军总医院中心实验室北京市 100142

张小明, 北京大学人民医院血管外科北京市 100044

冷希圣, 北京大学人民医院普通外科北京市 100044

作者贡献分布: 黄鹤、孙鹏、孙晓丽、张小明及冷希圣对此文所作贡献均等; 此课题由褚建国设计; 研究过程由褚建国、黄鹤、孙鹏、孙晓丽、张小明及冷希圣操作完成; 研究中患者检验数据由孙晓丽提供; 数据分析由褚建国与孙晓丽完成; 本论文写作由褚建国完成。

通讯作者: 冷希圣, 教授, 100044, 北京市, 北京大学人民医院普通外科. lengxs2003@yahoo.com.cn

收稿日期: 2010-08-26 修回日期: 2010-10-10

接受日期: 2010-10-26 在线出版日期: 2010-12-18

## Interventional therapy of hepatic veno-occlusive disease: an analysis of 21 cases

Jian-Guo Chu, He Huang, Peng Sun, Xiao-Li Sun, Xiao-Ming Zhang, Xi-Sheng Leng

Jian-Guo Chu, He Huang, Peng Sun, Department of Radiology, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China

Xiao-Li Sun, Department of Central Laboratory, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China

Xiao-Ming Zhang, Department of Vascular Surgery, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China

Xi-Sheng Leng, Department of General Surgery, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China

Correspondence to: Professor Xi-Sheng Leng, Department of General Surgery, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China. lengxs2003@yahoo.com.cn

Received: 2010-08-26 Revised: 2010-10-10

Accepted: 2010-10-26 Published online: 2010-12-18

## Abstract

**AIM:** To evaluate the feasibility of interventional therapy of hepatic veno-occlusive disease and to explore the clinical significance of two-step stent grafting in the establishment of portacaval shunts.

**METHODS:** Twenty-one patients with hepatic veno-occlusive disease underwent inferior vena cava stenting first to restore blood flow to the subhepatic inferior vena cava, followed by intrahepatic puncture of the portal vein via the bracket slot to conduct stent grafting. Of all 21 patients, 4 had variceal bleeding, 16 had refrac-

tory ascites, 1 had hepatopulmonary syndrome; 6 had Child-Pugh grade B liver function, and 15 had Child-Pugh grade C liver function.

**RESULTS:** Stent grafting was successful in all 21 patients, and the success rate was 100%. No operation-related complications occurred. Mean postoperative portosystemic pressure gradient decreased by 23 cmH<sub>2</sub>O (26.33 cmH<sub>2</sub>O ± 4.06 cmH<sub>2</sub>O vs 50.61 cmH<sub>2</sub>O ± 7.12 cmH<sub>2</sub>O; 8.67 cmH<sub>2</sub>O ± 6.71 cmH<sub>2</sub>O vs 26.16 cmH<sub>2</sub>O ± 2.74 cmH<sub>2</sub>O, all  $P < 0.01$ ). The average follow-up period was 416 d. No rebleeding occurred, and refractory ascites was effectively controlled. The one-year primary patency rate was 100%.

**CONCLUSION:** Two-step stent grafting is safe and feasible in the treatment of hepatic veno-occlusive disease. Due to the development of hepatomegaly and hepatic caudate lobe compression of the subhepatic inferior vena cava in patients with veno-occlusive disease, the two-step stent grafting procedure has obvious advantages over single interventions in the establishment of portacaval shunts.

**Key Words:** Hepatic veno-occlusive disease; Hepatomegaly; Liver caudate lobe; Subhepatic inferior vena cava

Chu JG, Huang H, Sun P, Sun XL, Zhang XM, Leng XS. Interventional therapy of hepatic veno-occlusive disease: an analysis of 21 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3804-3808

## 摘要

**目的:** 评价肝小静脉闭塞病(hepatic veno-occlusive disease, HVOD)介入治疗的可行性及探讨两步法嫁接支架“吻合”建立门腔分流新技术的临床意义。

**方法:** 21例临床上均符合巴尔的摩(Baltimore)标准和西雅图(Seattle)标准的HVOD患者首先行下腔静脉支架术, 恢复其肝后下腔静脉血流, 再经其支架缝隙穿刺肝内门静脉分支, 将两支架进行嫁接。静脉曲张出血4例, 难治性腹水16例, 肝肺综合征1例; Child's B级6例、C级

## ■同行评议者

倪才方, 教授, 苏州大学附属第一医院介入科

15例.

**结果:** 21例肝小静脉闭塞病患者两支架嫁接分流术均获成功, 技术成功率100%, 未出现术中技术相关并发症, 术后门腔压力梯度平均下降23 cmH<sub>2</sub>O(门静脉压: 26.33 cmH<sub>2</sub>O $\pm$ 4.06 cmH<sub>2</sub>O vs 50.61 cmH<sub>2</sub>O $\pm$ 7.12 cmH<sub>2</sub>O; 下腔静脉压力: 8.67 cmH<sub>2</sub>O $\pm$ 6.71 cmH<sub>2</sub>O vs 26.16 cmH<sub>2</sub>O $\pm$ 2.74 cmH<sub>2</sub>O,  $P<0.01$ ), 平均随访416 d, 所有患者未发生再出血, 难治性腹水得到有效的控制. 1年内初步开通率100%.

**结论:** 肝小静脉闭塞病两步法嫁接支架“吻合”分流术是安全可行的, 由于肝小静脉闭塞病肝肿大, 尾叶压迫肝后下腔静脉的特殊性, 两步法嫁接支架“吻合”建立门腔分流新技术比单一介入方法干预具有明显的临床效果优势.

**关键词:** 肝小静脉闭塞病; 肝肿大; 肝尾叶; 肝后下腔静脉

褚建国, 黄鹤, 孙鹏, 孙晓丽, 张小明, 冷希圣. 肝小静脉闭塞病介入治疗21例. 世界华人消化杂志. 2010; 18(35): 3804-3808 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3804.asp>

## 0 引言

肝小静脉闭塞病(hepatic veno-occlusive disease, HVOD)目前普遍认为是肝小叶中央静脉和小叶下静脉损伤, 导致管腔狭窄或闭塞. 本病主要累及肝内小静脉, 有别于布-伽氏综合征(Budd-Chiari syndrome, BCS), 后者主要是肝静脉及其属支狭窄或阻塞, 部分累及肝后下腔静脉. HVOD及BCS均可引起窦后性门静脉高压症、肝细胞坏死和肝功能减退, 但其两者的治疗方法具有较大区别<sup>[1]</sup>. 近年来, 造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)后并发症是HVOD的主要病因之一<sup>[2-12]</sup>, 临床上所见病例逐渐增多, 诊断和治疗较为棘手, HVOD一旦发生, 治疗的选择非常有限, 尤其重症患者采用传统治疗方法往往难以奏效, 只能积极寻找病因, 内科保肝支持治疗, 进入肝衰竭和晚期肝硬化时尝试原位肝移植. 该病急性患者20%死于肝衰竭. 本组尝试采用两步法嫁接支架“吻合”建立门腔分流新技术获得了满意的临床效果, 现报道如下.

## 1 材料和方法

1.1 材料 2006-11/2010-05 21例经肝组织活检及

肝静脉压力梯度测定(hepatic vein pressure gradient, HVP)超过10 mmHg诊断为肝小静脉闭塞病患者, 行两步法嫁接支架“吻合”建立门-腔分流术. 患者均为青少年, 男17例, 女4例, 年龄13-21(平均17.5)岁. 17例患者起病为无明显诱因出现阵发性上腹部钝痛、乏力、纳差、腹胀, 因诊断不明门诊观察, 平均45-60 d后开始出现腹水、肝肿大及静脉曲张破裂出血, 难治性腹水16例, 静脉曲张出血4例, 肝肺综合征1例; Child's B级6例、C级15例. 21例中13例入院后化验甲乙丙丁戊型肝炎病毒标志物均阴性, 弓形虫、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒抗体亦均为阴性, 抗酸染色未见异常, 血常规检查: 白细胞升高, 血小板计数正常. 生化检查ALT、AST均>1 000 U/L, 腹部彩色多普勒提示肝脏弥漫性病变, 腹腔积液, 3D CTA显示: 肝内密度减低, 考虑肝损伤所致; 肝肿大, 脾脏正常, 肝后下腔静脉被肿大的尾叶推压致狭窄或闭塞, 中或大量腹水, 门静脉主干及其属支被向下推压移位管径均纤细, 但胃冠状静脉等侧枝循环静脉显示增粗并肝外分流量较大, 附脐静脉开放, 18例患者三支肝静脉未见异常. 临床已按标准剂量的上限给予利尿剂及补蛋白, 患者腹水量仍进行性增加. 本组患者均为重度HVOD患者, 且已经继发门静脉高压相关并发症, 即静脉曲张破裂出血、难治性腹水及脾肿大、脾功能亢进. 下腔静脉置入支架的适应证为: (1)重大的肝尾叶压迫所致的下腔静脉狭窄; (2)房-腔静脉压力梯度>10 cmH<sub>2</sub>O以上者. 经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)适应证此不赘述. 术前按惯例与患者家属及本人签署手术知情同意书, 并所有病例经过医院医学伦理委员会批准通过.

### 1.2 方法

1.2.1 手术: 第1步, 恢复肝后下腔静脉直径与血流. 经股静脉置鞘, 送5F猪尾导管行下腔静脉造影、测压, 于狭窄或闭塞段行球囊导管扩张并置入25/75 mm “Z”型支架(JRZ25-75安泰生物医用材料有限公司, 北京). 肝段下腔静脉支架直径均选择25/75 mm成人标准置入支架, 该段下腔静脉被包裹在肝实质内, 支架直径按成人尺寸预先加大, 以适应年轻患者的生长发育. 再次造影、测压, 此时支架术后下腔静脉压力平均下降17 cmH<sub>2</sub>O, 术毕拔管. 第2步, 恢复门静脉压力. 于下腔静脉支架置入术后7 d, 经颈静脉入路沿超硬导丝送入RUPS-100(Transjugular Liver

## ■ 研发前沿

鉴于HVOD与BCS、CPH的病理和受累的肝脏体积及血管的部位不同, 研究的前沿集中在介入术式的选择和治疗方案的制定.

# ■创新视点

本研究是对内外科均感棘手的重度HVOD的治疗方案的制定,总结出重度HVOD病程发展的因果制约关系(肝小静脉闭塞→肝淤血→肝肿大→肝尾叶压迫肝段下腔静脉致狭窄→门静脉高压)及介入治疗的切入点,仅解决下腔静脉狭窄而忽略门静脉高压的解决是疗效不佳的重要原因。

表 1 支架嫁接分流术前肝功及实验室检查指标的变化 (mean ± SD)

	ALT(U/L)	AST(U/L)	GGT(U/L)	ALB(g/L)	TBIL(μmol/L)
术前	>1 000 ± 126.54	>1 000 ± 126.54	168.56 ± 9.18	29.75 ± 6.31	69.88 ± 11.95
术后	16.73 ± 3.33 <sup>b</sup>	18.66 ± 2.45 <sup>b</sup>	28.69 ± 12.27 <sup>b</sup>	48.21 ± 4.59 <sup>b</sup>	20.89 ± 10.12 <sup>b</sup>

<sup>b</sup>P<0.001 vs 术前。

Access Set; Cook, Bloomington, Ind., U.S.A.)肝内穿刺套装, 经已置入且稳定后的肝后下腔静脉支架之中-下两节连接处的缝隙, 即肝后下腔静脉之腹侧壁向肝内门静脉左支穿刺。由于HOVD患者的侧枝循环静脉丰富且分流量大, 部分患者出现门静脉离肝性血流, 间接门静脉造影常不显影, 极少数情况下门静脉左支穿刺定位需经皮肝穿门静脉右支直接门静脉造影并留管引导, 前提是术前需要放腹水3 000-4 000 mL。

另外, 与乙型肝炎后肝硬变门静脉高压萎缩肝脏患者行TIPS的操作差异较大的是: HVOD患者多为青少年, 门静脉及其属支发育尚未成熟, 各静脉血管直径较纤细, 由于肝肿大, 门静脉整体被向下推压, 肝后下腔静脉至门静脉各分支两点间距离均较远, RUPS-100肝内穿刺套装的有效穿刺长度往往不够, 常采用穿刺套管针至尽头后再进一步推送外鞘的方法, 使之够得着位置较低的门静脉分支。经肝段下腔静脉支架缝隙穿刺点的选择, 应选取“Z”形支架两节间所构成的菱形的中点, 即两对角线的中心, 偏离该中心的穿刺点将会造成术中介入器材的操作困难, 同时也埋下了支架嫁接后被“Z”形支架缝隙挤扁的隐患。采用8 mm/6 cm球囊(Medi-Tech/Boston Scientific, Watertown, Mass., U.S.A.)对门静脉左支静脉壁-肝实质-肝后下腔静脉支架缝隙血管壁进行扩张。根据球囊切迹两点间距离选择非晶碳化硅涂层镍钛合金支架(Astron PROBIO<sup>®</sup>, BIOTRONIK SE & Co. KG Berlin Germany), 长度一般多为9 mm/8 cm。准确定位后, 将支架释放置于门静脉左支与肝后下腔静脉支架缝隙之间的分流道内。嫁接支架置入后门静脉端不超过门静脉分叉, 下腔静脉支架端伸出约1 cm。将标测猪尾导管引入门静脉主干再次造影、测压。根据胃冠状静脉直径采用不同规格金属弹簧圈栓塞之。

1.2.2 随访: 术后7 d彩色多普勒超声评价TIPS分流道状态; 摄右上腹部正侧位平片观察支架形态和位置; 每日测量腹围及尿量; 上消化道钡餐

造影对食管胃底静脉曲张恢复及实验室检查指标进行对比评价。术后每隔3 mo重复上述检查进行随访, 术后1年按约定行分流道随访造影及测压, 必要时对分流道进行修正。

## 2 结果

2.1 支架嫁接分流术后近期结果 21例两步法嫁接支架“吻合”分流术均获得成功, 技术成功率100%; 未出现术中与操作技术相关并发症。由于该技术需要两步法方可完成, 在第1步肝后下腔静脉支架置入后, 患者临床症状并无明显改善, 该支架经7 d在血管内稳定后, 方可行第2步; 经“Z”型支架缝隙穿刺门静脉将两支架嫁接吻合成功后, 患者肝小静脉闭塞病的临床症状才得以缓解直至消失。门静脉压及下腔静脉压显著降低(26.33 cmH<sub>2</sub>O ± 4.06 cmH<sub>2</sub>O vs 50.61 cmH<sub>2</sub>O ± 7.12 cmH<sub>2</sub>O; 8.67 cmH<sub>2</sub>O ± 6.71 cmH<sub>2</sub>O vs 26.16 cmH<sub>2</sub>O ± 2.74 cmH<sub>2</sub>O, 均P<0.01)。肝内分流道流速为67.14 cm/s ± 12.41 cm/s。术后平均住院15 d, 食管胃底静脉曲张出血得到有效控制, 难治性腹水迅速减少或消失。相关实验室检查包括: ALT、AST、GGT、ALB及TBIL等指标均明显恢复。术后7 d彩色多普勒对肝内血流动力学评价: 分流道内无湍流血流信号, 门静脉管径、血流方向及速度恢复正常; 上消化道钡餐造影示: 食管胃底静脉曲张基本消失, 黏膜皱襞已连续, 部分局部食管壁尚松弛, 患者术后尿量增多数倍, 腹水迅速消退, 停用利尿剂继续保肝及规律抗凝治疗(表1)。

2.2 随访结果 本组全部肝小静脉闭塞病例中, 19例资料完整的术后患者得到严格随访(2例失访)。间隔3 mo彩色多普勒超声、上消化道钡餐及相关实验室指标例行检查, 按协议术后1年进行经颈静脉下腔静脉及肝内分流道造影、测定门静脉及下腔静脉压力及必要时分流道修正术。1年随访造影显示, 所有患者分流道内及嫁接支架均未出现因假性内膜过度增生所致的狭窄; 随访期间Child-Pugh分级评分不同程度地改善, 平



均术后6 mo内, 6例B级患者, 4例提高为A级; C级15例有7例改善至B级。随访造影操作中, 介入器材均可顺利通过两支架进入门静脉主干, 该术后各随访阶段患者实验室检查结果稳定, 门静脉高压相关并发症均未再出现。

### 3 讨论

HOVD多见于青少年, 以往多发生于牙买加、南美洲国家、印度和埃及。主要由于食用含有毒性的生物碱草药, 如狗舌草、猪屎豆、天芥草等, 以及黄曲霉素、二甲基亚硝胺、尔拉坦、6-硫基嘌呤, 也可由放射治疗、维生素A过量、家族性免疫缺陷综合征引起。HVOD的总体死亡率为20%-50%。重型HVOD对内科治疗反应差, 常并发多器官功能衰竭, 死亡率可达98%<sup>[13]</sup>。血胆红素升高的程度及速度对评价预后有一定的价值。

1953年Hill等<sup>[14]</sup>, 报道了150例牙买加儿童的“浆液性肝病”, 翌年Bras等<sup>[15]</sup>报道时使用了HOVD这一名词, 以后这一病名被世界各国所通用。有关本病的流行病学资料尚未见详尽报道。终末肝小静脉、肝血窦内皮细胞(sinusoidal endothelial cells, SEC)和肝小叶第三带(III区)肝细胞损伤是HVOD的病理基础。不同病期病理改变不同。其病理主要是急性期肝脏体积肿大, 表面光滑, 似槟榔肝。光镜下见中央静脉及小叶下静脉内膜显著肿胀, 血液受阻, 中央静脉周围肝窦明显扩张、淤血、伴有不同程度的肝细胞坏死。坏死区肝细胞消失, 网状纤维支架残留, 红细胞外渗明显, 不伴炎性细胞浸润, 呈典型出血坏死性改变。亚急性期肝脏表面呈区域状收缩, 中央静脉及小叶下静脉内皮增生、增厚, 形成纤维化和管腔狭窄、闭塞, 出现持久性血液回流障碍。中央静脉周围纤维化, 但未形成假小叶。亚急性期的特点是持久性肝脏肿大, 反复出现腹水, 肝功能常重度受损。慢性期则以门脉高压症为主要表现, 部分病例可伴有门静脉纤维化和血栓形成, 但主肝静脉很少受累。临床上应该与Budd-Chiari综合征相鉴别。肝穿活检曾是诊断HVOD的金标准, 但随着CT 3D成像、彩色多普勒超声技术的不断发展, HVOD的临床诊断将不再困难。

本组21例HVOD病例的特点是, 常见于青少年, 无乙型肝炎或其他类型病毒感染病史, 起病急进展速度快, 肝脏损伤严重, 与常见的乙型肝炎后或酒精性肝硬化所致门静脉高压症具有

显著的区别, 实验室检查多为WBC增高, PLT正常, ALT、AST显著升高, 影像学检查为肝脏明显肿大, 脾脏正常; 多数患者肝静脉正常, 肝后段下腔静脉因肝尾叶压迫变为极度狭窄甚至闭塞。本组中13例患者, 曾诊断为肝静脉型或腔静脉节段型Budd-Chiari综合征而行经皮肝穿肝静脉成形术或单独下腔静脉支架成形术的经历, 2例曾行外科腔-房转流术, 非但无效还带来巨创。究其原因是该病鉴别诊断存在难度。HVOD属于窦后性门静脉高压, 术中门静脉压力明显高于乙型肝炎后肝硬化门静脉高压患者, 常达到50 cmH<sub>2</sub>O以上, 个别病例接近60 cmH<sub>2</sub>O, 这在乙型肝炎后肝硬化门静脉高压患者术中难以见到。术中直接门静脉造影发现: HVOD患者的侧枝循环静脉及走向亦具有特殊性, 流向胃底食管静脉的情况较少, 大多数病例的侧枝循环代偿静脉为自发性脾肾分流及附脐静脉开放, 管径粗、分流量大, 因此, 虽然门静脉压力极高, 但门静脉及其属支仍纤细, 50%病例为离肝性血流, 所以, 间接门静脉造影时, 即使使用血管扩张剂或加大流量/Sec门静脉均难以显影。

采用两步法嫁接支架“吻合”建立门腔分流技术治疗肝小静脉闭塞病迄今国内外尚未见报道, 由于该病具有其特殊性, 所以仅针对肝静脉或下腔静脉进行介入干预治疗难以奏效。由于肝后下腔静脉已被肿大的肝尾叶严重推压而明显狭窄或闭塞, 此时亦无法单独采取TIPS技术, 因为仅行TIPS, 支架的近心端开口将被狭窄的肝后下腔静脉所完全封堵, 无法产生分流而无效。鉴于此, 我们设计了两步法嫁接支架“吻合”建立门-腔分流的新技术, 先期恢复受压的肝段下腔静脉管径和血流, 然后再经该“Z”型支架的节间缝隙最宽处(9 mm)穿刺肝内门静脉左支, 建立门-腔静脉分流通路, 使肝内分流支架近心端嫁接至下腔静脉支架右前腹侧壁形成吻合, 恢复正常的肝脏及下腔静脉血流动力学循环, HVOD患者的相关症状得以迅速缓解。

总之, 两步法嫁接支架“吻合”建立门腔分流是一项治疗HVOD具有明显临床意义的新技术, 虽然本组目前临床研究的病例尚少, 但已经显示出其满意的临床结果, 对于HOVD的治疗是一安全、有效及理想的术式选择。

### 4 参考文献

- 1 McDonald GB, Hinds MS, Fisher LD, Schoch HG, Wolford JL, Banaji M, Hardin BJ, Shulman HM, Clift RA. Veno-occlusive disease of the liver and

### ■应用要点

嫁接支架分流术在HVOD治疗实际应用中已经充分显示出良好的术后临床表现, 临床研究取得的满意临床疗效, 在将来临床应用中对布-伽氏综合征(BCS)患者继发门静脉高压的治疗亦具有直接的指导意义及推广价值, 应用前景广阔。



## ■同行评价

本文科学性较好, 具有一定的临床实用价值.

- multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. *Ann Intern Med* 1993; 118: 255-267
- 2 Cacchione A, LeMaitre A, Couanet DV, Benhamou E, Amoroso L, Simonnard N, Hartmann O. Risk factors for hepatic veno-occlusive disease: a retrospective unicentric study in 116 children autografted after a high-dose BU-thiotepa regimen. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42: 449-454
- 3 Majhail NS, Mothukuri JM, Macmillan ML, Verneris MR, Orchard PJ, Wagner JE, Weisdorf DJ. Costs of pediatric allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 54: 138-143
- 4 Cheuk DK, Wang P, Lee TL, Chiang AK, Ha SY, Lau YL, Chan GC. Risk factors and mortality predictors of hepatic veno-occlusive disease after pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007; 40: 935-944
- 5 Soubrane O, Brouquet A, Zalinski S, Terris B, Brézault C, Mallet V, Goldwasser F, Scatton O. Predicting high grade lesions of sinusoidal obstruction syndrome related to oxaliplatin-based chemotherapy for colorectal liver metastases: correlation with post-hepatectomy outcome. *Ann Surg* 2010; 251: 454-460
- 6 Lee SH, Yoo KH, Sung KW, Koo HH, Kwon YJ, Kwon MM, Park HJ, Park BK, Kim YY, Park JA, Im HJ, Seo JJ, Kang HJ, Shin HY, Ahn HS. Hepatic veno-occlusive disease in children after hematopoietic stem cell transplantation: incidence, risk factors, and outcome. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45: 1287-1293
- 7 Iguchi A, Kobayashi R, Kaneda M, Kobayashi K. Plasma protein C is a useful clinical marker for hepatic veno-occlusive disease (VOD) in stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 54: 437-443
- 8 Valla DC. Budd-Chiari syndrome and veno-occlusive disease/sinusoidal obstruction syndrome. *Gut* 2008; 57: 1469-1478
- 9 Krimmel T, Williams LA. Hepatic sinusoidal obstruction syndrome following hematopoietic stem cell transplantation. *Oncol Nurs Forum* 2008; 35: 37-39
- 10 Senzolo M, Germani G, Cholongitas E, Burra P, Burroughs AK. Veno occlusive disease: update on clinical management. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3918-3924
- 11 Mori T, Aisa Y, Shimizu T, Yamazaki R, Mihara A, Yajima T, Hibi T, Ikeda Y, Okamoto S. Hepatic veno-occlusive disease after tranexamic acid administration in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol* 2007; 82: 838-839
- 12 Wadleigh M, Ho V, Momtaz P, Richardson P. Hepatic veno-occlusive disease: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Curr Opin Hematol* 2003; 10: 451-462
- 13 Kumar S, DeLeve LD, Kamath PS, Tefferi A. Hepatic veno-occlusive disease (sinusoidal obstruction syndrome) after hematopoietic stem cell transplantation. *Mayo Clin Proc* 2003; 78: 589-598
- 14 Hill KR, Rhodes K, Stafford JL, AUB R. Serous hepatitis: a pathogenesis of hepatic fibrosis in Jamaican children. *Br Med J* 1953; 1: 117-122
- 15 Bras G, Jelliffe DB, Stuart KL. Veno-occlusive disease of liver with nonportal type of cirrhosis, occurring in Jamaica. *AMA Arch Pathol* 1954; 57: 285-300

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 •

## 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)

# 幽门螺杆菌在原发性胆总管结石患者胆汁和胆石中的表达

宋敏, 吴杰, 王萍, 黄晓东, 张姮, 孙圣斌, 范彦, 廖宇圣, 李晖

宋敏, 吴杰, 王萍, 黄晓东, 张姮, 孙圣斌, 范彦, 廖宇圣, 李晖, 武汉市中心医院消化内科 湖北省武汉市 430014

作者贡献分布: 宋敏、吴杰、王萍、黄晓东、张姮、孙圣斌、范彦、廖宇圣及李晖对此文所作贡献均等; 此课题由宋敏设计; 研究过程由宋敏、吴杰、王萍、黄晓东、张姮、孙圣斌、范彦、廖宇圣及李晖操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由宋敏、吴杰、王萍、黄晓东、张姮、孙圣斌、范彦、廖宇圣及李晖提供; 数据分析由宋敏完成; 本论文写作由宋敏完成。

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

电话: 027-82211450

收稿日期: 2010-08-30 修回日期: 2010-10-14

接受日期: 2010-11-02 在线出版日期: 2010-12-18

## Detection of *Helicobacter pylori* DNA in bile and gallstone of patients with primary choledocholithiasis

Min Song, Jie Wu, Ping Wang, Xiao-Dong Huang, Heng Zhang, Sheng-Bing Sun, Yan Fan, Yu-Sheng Liao, Hui Li

Min Song, Jie Wu, Ping Wang, Xiao-Dong Huang, Heng Zhang, Sheng-Bing Sun, Yan Fan, Yu-Sheng Liao, Hui Li, Department of Gastroenterology, the Central Hospital of Wuhan, Wuhan 430014, Hubei Province, China

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

Received: 2010-08-30 Revised: 2010-10-14

Accepted: 2010-11-02 Published online: 2010-12-18

## Abstract

**AIM:** To detect *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) DNA in bile and gallstone of patients with primary choledocholithiasis.

**METHODS:** Thirty-two patients with primary choledocholithiasis (experiment group) and 30 control subjects (control group) were included in the study. All the patients underwent endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP). *H.pylori* DNA in bile and gallstone was detected by real-time PCR.

**RESULTS:** The cycle threshold (Ct) value obtained from bile of patients with primary choledocholithiasis was significantly higher than that from bile of control subjects ( $16.78 \pm 9.28$  vs  $3.75 \pm 7.71$ ,  $P < 0.01$ ). No significant differ-

ences were noted in *H.pylori* DNA levels in bile and gallstone among patients with bile pigment calculi, those with cholesterol stones and those with mixed stones ( $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** *H.pylori* DNA can be detected in bile and gallstone of patients with primary choledocholithiasis. *H.pylori* DNA level is not correlated with stone type. *H.pylori* present in bile and gallstone of patients with primary choledocholithiasis may play an important role in the development of primary choledocholithiasis.

**Key Words:** Real-time PCR; Primary choledocholithiasis; Bile; Gallstone; *Helicobacter pylori*

Song M, Wu J, Wang P, Huang XD, Zhang H, Sun SB, Fan Y, Liao YS, Li H. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in bile and gallstone of patients with primary choledocholithiasis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3809-3812

## 摘要

**目的:** 研究原发性胆总管结石(primary choledocholithiasis)患者胆汁和胆石中幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*)的表达。

**方法:** 采用对照研究方法, 对原发性胆总管结石患者(试验组)32例和对照就诊者(对照组)30例行内镜下逆行胰胆管造影术(ERCP), 采用实时荧光定量PCR法检测胆汁及胆石中*H.pylori* DNA表达。

**结果:** 利用比较平均循环数值(Ct)法测定*H.pylori* DNA的表达水平, 原发性胆总管结石组胆汁*H.pylori* DNA Ct值为 $16.78 \pm 9.28$ , 对照组胆汁Ct值 $3.75 \pm 7.71$ , 两组之间*H.pylori* DNA表达比较, 差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ); 分组两两比较胆色素结石组(16例), 胆固醇结石组(5例), 混合性结石组(11例)间胆汁及胆石中*H.pylori* DNA表达, 无统计学差异( $P > 0.05$ )。

**结论:** 原发性胆总管结石患者胆汁及胆石中存在*H.pylori*表达, 但*H.pylori*表达与结石类型无明显相关, 其高表达提示*H.pylori*可能参与了原发性胆总管结石的发生及发展, 但其具体

## ■背景资料

近年来, 国内外大量研究表明胆囊结石患者胆石、胆囊组织及胆汁中存在*H.pylori*表达, 并认为*H.pylori*参与了胆囊结石形成, 而有关原发性胆总管结石患者胆汁及胆石中是否存在*H.pylori*表达及其表达水平的报道鲜见。

## ■同行评议者

陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科

## ■相关报道

曹月敏等采用PCR方法发现*H.pylori* DNA存在于胆囊结石患者的胆汁及结石中,并认为*H.pylori*感染与胆囊结石形成有关。

作用机制有待进一步研究。

**关键词:** 实时定量PCR; 原发性胆总管结石; 胆汁; 胆石; 幽门螺杆菌

宋敏, 吴杰, 王萍, 黄晓东, 张姮, 孙圣斌, 范彦, 廖宇圣, 李晖. 幽门螺杆菌在原发性胆总管结石患者胆汁和胆石中的表达. 世界华人消化杂志 2010; 18(35): 3809-3812  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3809.asp>

## 0 引言

近年来,国内外大量研究表明胆囊结石患者胆石、胆囊组织及胆汁中存在幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*)表达,并认为*H.pylori*参与了胆囊结石形成<sup>[1-8]</sup>,而有关原发性胆总管结石(primary choledocholithiasis)患者胆汁及胆石中是否存在*H.pylori*表达及其表达水平的报道鲜见。为进一步探讨原发性胆总管结石患者胆汁及胆石中是否存在*H.pylori*表达及其表达水平,我们建立原发性胆总管结石患者胆汁及胆石*H.pylori*表达水平的实时定量PCR方法,并检测原发性胆总管结石患者胆汁及胆石中*H.pylori*表达水平。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 按照原发性胆总管结石定义<sup>[9]</sup>,选取原发性胆总管结石组32例,其中男17例,女15例;平均年龄65.5岁(33-79岁)。所有患者经内镜下逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)均未提示肝内胆管结石及胆囊结石。13例为胆总管结石,胆囊及肝内胆管无结石,伴胆管炎者7例;19例为胆囊切除术后胆总管结石,肝内胆管无结石,伴胆管炎者10例。选取非胆石症患者30例为对照组,其中胰头肿瘤21例,Oddis括约肌功能障碍6例,胆道蛔虫3例。ERCP术中取胆总管胆汁2 mL及胆石标本,分别置灭菌管内,标本均立即置入-80℃冰箱保存。按文献[10]方法判断结石成分。组织基因组DNA提取试剂盒(TIANamp Genomic DNA Kit)(离心柱型)购自天根生化(北京)有限公司;实时荧光定量PCR试剂盒(Real Master Mix)(SYBR Green)购自天根生化(北京)有限公司;基因扩增仪(BIO-RAD PTC-200)伯乐生命医学产品(上海)有限公司。

**1.2 方法** SYBR green实时荧光定量PCR: (1)DNA的提取:按照试剂说明书,使用试剂盒提供的提取液,分别从解冻混匀的胆汁1 mL及捣碎后的

胆石100 mg中提取出DNA,放-20℃冰箱保存; (2)引物的设计及合成:所有引物采用Primer 5.0软件设计,均由上海生工生物工程技术服务公司合成和纯化。*H.pylori*:上游5'-CTCATCTCTAGCCAGGTCTA-3',下游5'-TCGCATCATCTCAAAACAGAC-3',产物大小244 bp; (3)实时荧光定量PCR反应:目的基因反应体系为模板2 μL,上下游引物各1 μL, Realtime PCR Master Mix 9 μL,蒸馏水补齐至总体积7 μL。总反应体积20 μL,反应参数为94℃ 20 s, 59℃ 30 s, 68℃ 50 s(收集荧光),共40个循环。反应完成后,得到所有标本的所有记录点曲线。软件将自动进行数据分析,调整基线,计算出Threshold cycle(Ct值),即每个反应管内的荧光信号到达设定的域值时所经历的循环数。

**统计学处理** 根据每个样本的Ct值,比较各组样本的表达变化情况。数据采用SPSS13.0统计软件进行分析, $P<0.05$ 表示有统计学差异。

## 2 结果

**2.1 实时荧光定量PCR扩增曲线分析** 图1为*H.pylori*的扩增曲线,从图中可见扩增曲线为典型的倒s形曲线,说明此次荧光定量PCR测定的敏感性良好。

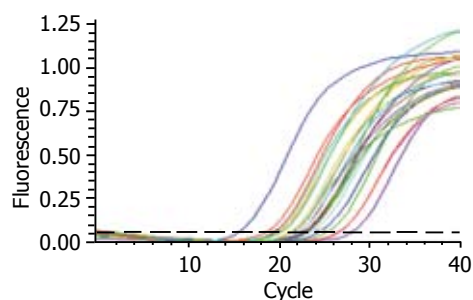
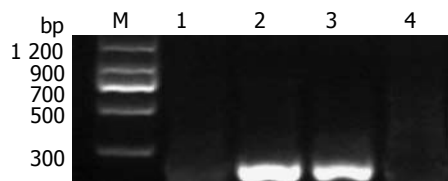
**2.2 *H.pylori*扩增产物的琼脂糖凝胶电泳鉴定** *H.pylori*扩增产物大小在244 bp标准片段附近,与预期结果一致(图2)。

**2.3 试验组及对照组中胆汁*H.pylori*的表达变化**

**2.3.1 试验组及对照组中胆汁*H.pylori*检出率的比较:**试验中无Ct值出现认为*H.pylori*阴性表达,反之为*H.pylori*阳性表达。本试验*H.pylori*在对照组中仅有6例表达,在32例原发性胆总管结石患者胆汁中*H.pylori* DNA阳性表达25例。原发性胆总管结石组较对照组胆汁*H.pylori* DNA检测结果有差异,两组之间的*H.pylori* DNA检出率具有统计学差异(阳性检出率:78.13% vs 20.00%,  $P<0.01$ ; 阴性检出率:21.87% vs 80.00%)。

**2.3.2 试验组及对照组中胆汁*H.pylori*表达水平的比较:**利用比较平均循环数值(Ct)法测定*H.pylori* DNA的表达水平,原发性胆总管结石组胆汁*H.pylori* DNA Ct值为 $16.78 \pm 9.28$ ,对照组胆汁Ct值 $3.75 \pm 7.71$ ,两组之间比较*H.pylori* DNA表达具有统计学差异( $P<0.01$ )。

**2.3.3 不同类型原发性胆总管结石胆汁*H.pylori*的表达变化:**原发性胆总管结石组中胆色素结石16例,胆固醇结石5例,混合性结石11例,分组

图1 *H. pylori*的扩增曲线。图2 *H. pylori*扩增产物琼脂糖凝胶电泳鉴定。M: DNA Marker; 1: 胆汁阴性对照; 2: 胆汁阳性标本; 3: 胆石阳性标本; 4: 胆石阴性对照。

两两比较, 胆色素结石、胆固醇结石和混合性结石患者胆汁*H. pylori* DNA表达水平并无明显差异( $18.23 \pm 7.48$ ;  $12.54 \pm 11.53$ ;  $16.60 \pm 10.83$ )。

2.3.4 不同类型原发性胆总管结石胆石*H. pylori*的表达变化: 32例原发性胆总管结石患者胆石中*H. pylori* DNA阳性4例表达, 其中胆色素结石2例(12.50%), 混合性结石2例(18.18%), 胆固醇结石未见*H. pylori* DNA阳性表达。分组两两比较, 胆色素结石、胆固醇结石和混合性结石患者胆石*H. pylori* DNA表达水平并无明显差异( $2.65 \pm 7.24$ ,  $0.00 \pm 0.00$ ,  $1.86 \pm 6.18$ )。

### 3 讨论

近年来, 国内外大量研究表明胆囊结石患者胆石、胆囊组织及胆汁中存在*H. pylori*表达, 并认为*H. pylori*参与了胆囊结石形成<sup>[1-8]</sup>。曹月敏等<sup>[2]</sup>采用PCR方法发现*H. pylori* DNA存在于胆囊结石患者的胆汁及结石中, 并认为*H. pylori*感染与胆囊结石形成有关。Misra等<sup>[4]</sup>研究发现, 胆囊结石患者胆石及胆汁中存在*H. pylori*, 并通过PCR方法检测到*H. pylori*序列存在。而有关原发性胆总管结石患者胆汁中是否存在*H. pylori*表达及其表达水平的报道鲜见。实时定量PCR技术利用了PCR技术核酸扩增的高效性, 探针技术的高特异性和光谱技术的高敏感性以及计量高准确性等优点, 同时又克服了普通PCR技术易污染, 不能定量等不足, 将染料SYBR Green I 与双链DNA结合后发出荧光, 通过实时监测反应体系

中的SYBR Green I 的荧光强度, 达到检测PCR产物扩增量的目的。因其具有引物和探针的双重特异性, 故在精确度、敏感性、检测范围、产出率及PCR后处理步骤方面均优于传统的半定量, 实时定量PCR<sup>[11]</sup>是一种高效的核酸定量分析方法, 该技术在本次试验中的应用, 可以相对准确地检测胆汁和胆石中*H. pylori* DNA量的变化给予定量。我们采用实时定量PCR的方法对原发性胆总管结石组和对照组胆汁及胆石进行*H. pylori* DNA检测, 结果显示原发性胆总管结石患者胆汁及胆石中均存在*H. pylori*感染因素, 胆汁中的*H. pylori* DNA检出率明显高于胆石, 并且*H. pylori*在胆汁中具有较高的表达水平, 与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), 提示*H. pylori*可能是进入胆道系统, 先在胆汁中繁殖, 然后进入胆石, 并参与原发性胆总管结石的发生发展。

体外培养研究表明, 胆汁酸对*H. pylori*的黏附生长有抑制作用。在血琼脂中, *H. pylori*不能在含有5%胆汁的情况下生长, 但是暴露于含有5%胆汁的液体培养基中30 min仅有25%的*H. pylori*被杀死<sup>[12]</sup>。这说明*H. pylori*具有逃避胆汁碱性环境的自我保护机制, 通过十二指肠时尚有存活的可能性。方驰华等<sup>[13]</sup>采用PCR技术对胆囊结石患者的胆汁、黏膜、结石和门静脉血细菌群进行同步研究, 发现胆汁中存在*H. pylori* DNA, 而门脉血液及淋巴系统中均未检测到*H. pylori* DNA, 故而推测胆汁中的*H. pylori*可能系十二指肠逆流所致。国外研究表明<sup>[14]</sup>, *H. pylori*可能是胆固醇性结石菌群中固有的一部分, 定植在胆道诱发胆固醇性结石的形成。Figura等<sup>[15]</sup>认为*H. pylori*感染导致胆管上皮增殖, 胆管狭窄, 胆流变缓, 胆汁淤滞进而促进胆色素结石的形成。而有关不同类型胆总管结石*H. pylori*表达的报道甚少。我们的研究发现, 胆色素结石、胆固醇结石及混合性结石胆汁和胆石中*H. pylori* DNA表达并无明显差异。这可能与样本量较少有一定关系。

总之, 我们认为原发性胆总管结石患者胆汁及胆石中存在*H. pylori*表达, 但*H. pylori*表达与结石类型无明显相关, 其高表达提示*H. pylori*可能是原发性胆总管结石形成过程中的重要病原菌之一。

### 4 参考文献

- Farshad Sh, Alborzi A, Malek Hosseini SA, Oboodi B, Rasouli M, Japoni A, Nasiri J. Identification of *Helicobacter pylori* DNA in Iranian patients with gallstones. *Epidemiol Infect* 2004; 132: 1185-1189
- 曹月敏, 张万星, 郭怀斌, 彭彦辉, 王兰辉, 谭文科, 宁

### ■应用要点

原发性胆总管结石患者胆汁及胆石中存在*H. pylori*表达, 但*H. pylori*表达与结石类型无明显相关, 其高表达提示*H. pylori*可能参与了原发性胆总管结石的发生及发展, 但其具体作用机制有待进一步研究。

### ■同行评价

本文可读性较好,为幽门螺杆菌在原发性胆总管结石发生发展中的作用奠定了实验基础。

- 3 Isaeva GSh, Abuzarova ER, Valeeva IuV, Pozdeev OK, Murav'eva EV. [Helicobacter pylori in patients with disorders of hepatobiliary system] *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 2009; : 96-101
- 4 Misra V, Misra SP, Dwivedi M, Shouche Y, Dharne M, Singh PA. Helicobacter pylori in areas of gastric metaplasia in the gallbladder and isolation of H. pylori DNA from gallstones. *Pathology* 2007; 39: 419-424
- 5 Nilsson I, Shabo I, Svanvik J, Monstein HJ. Multiple displacement amplification of isolated DNA from human gallstones: molecular identification of Helicobacter DNA by means of 16S rDNA-based pyrosequencing analysis. *Helicobacter* 2005; 10: 592-600
- 6 Abayli B, Colakoglu S, Serin M, Erdogan S, Isiksal YF, Tuncer I, Koksall F, Demiryurek H. Helicobacter pylori in the etiology of cholesterol gallstones. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 134-137
- 7 Neri V, Margiotta M, de Francesco V, Ambrosi A, Valle ND, Fersini A, Tartaglia N, Minenna MF, Ricciardelli C, Giorgio F, Panella C, Ierardi E. DNA sequences and proteic antigens of H. pylori in cholecystic bile and tissue of patients with gallstones. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 715-720
- 8 Lee JW, Lee DH, Lee JI, Jeong S, Kwon KS, Kim HG, Shin YW, Kim YS, Choi MS, Song SY. Identification of Helicobacter pylori in Gallstone, Bile, and Other Hepatobiliary Tissues of Patients with Cholecystitis. *Gut Liver* 2010; 4: 60-67
- 9 李兆申, 许国铭. 胆道疾病内镜诊断与治疗学. 第1版. 上海: 第二军医大学出版社, 2006: 257
- 10 傅培彬, 张圣道, 戴坤扬, 郑魁元, 张臣烈, 薛永寿, 蒋渝, 王体芬. 以胆石剖面结构及化学成分为基础的胆石分类法. *中华外科杂志* 1984; 22: 258-260
- 11 Ginzinger DG. Gene quantification using real-time quantitative PCR: an emerging technology hits the mainstream. *Exp Hematol* 2002; 30: 503-512
- 12 Mathai E, Arora A, Cafferkey M, Keane CT, O'Morain C. The effect of bile acids on the growth and adherence of Helicobacter pylori. *Aliment Pharmacol Ther* 1991; 5: 653-658
- 13 方驰华, 杨继震, 康惠广. 胆囊结石胆汁、黏膜、结石幽门螺杆菌与结石核心形成的关系. *世界华人消化杂志* 1999; 7: 233-235
- 14 Kuroki T, Fukuda K, Yamanouchi K, Kitajima T, Matsuzaki S, Tajima Y, Furui J, Kanematsu T. Helicobacter pylori accelerates the biliary epithelial cell proliferation activity in hepatolithiasis. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 648-651
- 15 Figura N, Cetta F, Angelico M, Montalto G, Cetta D, Pacenti L, Vindigni C, Vaira D, Festuccia F, De Santis A, Rattan G, Giannace R, Campagna S, Gennari C. Most Helicobacter pylori-infected patients have specific antibodies, and some also have H. pylori antigens and genomic material in bile: is it a risk factor for gallstone formation? *Dig Dis Sci* 1998; 43: 854-862

编辑 李薇 电编 李薇

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)



# 快通道外科对结直肠癌患者血清CRP、IL-6及胰岛素抵抗的影响

张宏, 崔明明, 刘鼎盛, 冯勇, 陈春生

张宏, 崔明明, 刘鼎盛, 冯勇, 陈春生, 中国医科大学附属盛京医院结直肠肿瘤外科 辽宁省沈阳市 110004  
辽宁省高等学校科学技术研究基金资助项目, No. 2009A719  
辽宁省科学技术计划基金资助项目, No. 2009225010-22  
作者贡献分布: 张宏、崔明明、刘鼎盛、冯勇及陈春生对此文贡献均等; 课题由张宏与陈春生设计; 手术由张宏、崔明明、刘鼎盛、冯勇及陈春生完成; 实验操作由崔明明与刘鼎盛完成; 数据分析由刘鼎盛与冯勇完成; 论文写作由张宏完成; 冯勇及陈春生负责修改。  
通讯作者: 陈春生, 教授, 110004, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属盛京医院结直肠肿瘤外科。  
zhanghong1203@yahoo.com.cn  
收稿日期: 2010-09-07 修回日期: 2010-10-22  
接受日期: 2010-10-26 在线出版日期: 2010-12-18

## Effect of fast track surgery on serum levels of CRP, IL-6 and insulin resistance in patients with colorectal cancer

Hong Zhang, Ming-Ming Cui, Ding-Sheng Liu, Yong Feng, Chun-Sheng Chen

Hong Zhang, Ming-Ming Cui, Ding-Sheng Liu, Yong Feng, Chun-Sheng Chen, Department of Colorectal Tumor Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China  
Supported by: the Scientific and Technical Foundation for Researchers in Colleges and Universities in Liaoning Province, No. 2009A719; and the Scientific and Technical Research Program of Liaoning Province, No. 2009225010-22  
Correspondence to: Professor Chun-Sheng Chen, Department of Colorectal Tumor Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. zhanghong1203@yahoo.com.cn  
Received: 2010-09-07 Revised: 2010-10-22  
Accepted: 2010-10-26 Published online: 2010-12-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of fast track surgery on serum levels of C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and insulin resistance in patients with colorectal cancer.

**METHODS:** Eighty-six patients with colorectal cancer were randomly and equally assigned to two groups: one receiving fast track surgery (FTS group) and the other receiving conventional therapy (CM group). Peripheral blood samples were collected 1 d before and 1, 5, 7 d after the operation. Serum levels of CRP, IL-6, fasting

blood glucose (FBG), and fasting insulin (FINS) were measured. The time to first passage of flatus and feces, rate of complications, length of hospital stay, and hospital costs were also compared between the two groups.

**RESULTS:** The FTS group was associated with a significantly earlier first passage of flatus and feces, shorter postoperative hospital stay, and less medical costs ( $P < 0.05$ ) than the CM group, but there was no significant difference in morbidity between the two groups. Serum levels of CRP and IL-6 increased significantly on days 1 and 5 after operation in both groups (CM group:  $82.03 \text{ mg/L} \pm 7.23 \text{ mg/L}$ ,  $34.80 \text{ mg/L} \pm 5.21 \text{ mg/L}$  vs  $4.23 \text{ mg/L} \pm 0.92 \text{ mg/L}$ ;  $202.15 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 15.66 \text{ } \mu\text{g/L}$ ,  $86.48 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 9.33 \text{ } \mu\text{g/L}$  vs  $37.82 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 8.99 \text{ } \mu\text{g/L}$ ; FTS group:  $68.11 \text{ mg/L} \pm 3.55 \text{ mg/L}$ ,  $15.50 \text{ mg/L} \pm 2.09 \text{ mg/L}$  vs  $3.33 \text{ mg/L} \pm 0.99 \text{ mg/L}$ ;  $163.10 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 12.98 \text{ } \mu\text{g/L}$ ,  $47.69 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 8.64 \text{ } \mu\text{g/L}$  vs  $40.52 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 9.12 \text{ } \mu\text{g/L}$ , all  $P < 0.05$ ), and all these parameters were higher in the CM group than in the FTS group (all  $P < 0.05$ ). On day 7 postoperatively, the levels of CRP and IL-6 returned to pre-operation levels in the FTS group (both  $P > 0.05$ ), but still maintained high levels in the CM group (both  $P < 0.05$ ). In both groups, HOMA-IR was significantly higher and IAI was significantly lower on the day after surgery ( $P < 0.05$ ), and the changes were more significant in the CM group than in the FTS group (all  $P < 0.05$ ). On day 5 postoperatively, HOMA-IR and IAI returned to pre-operation levels in the FTS group (both  $P > 0.05$ ), but remained abnormal in the CM group (both  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Fast track surgery may enhance early recovery and decrease medical costs. Compared with conventional therapy for colorectal cancer, FTS has less influence on serum levels of CRP, IL-6, and insulin resistance, and is therefore associated with less immunosuppression, milder stress reaction, and shorter stress time.

**Key Words:** Fast track surgery; Colorectal cancer; C-reactive protein; Interleukin-6; Insulin resistance

## ■背景资料

近年快通道外科(FTS)这一理念日益受到临床的重视,应用的范畴不断扩大,越来越多的医生逐渐开始认同和接受。

## ■同行评议者

蔡三军, 主任医师, 复旦大学附属肿瘤医院腹部外科

## ■相关报道

Jakobsen等报道160例使用FTS治疗方法的结肠切除患者,术后平均住院日降至3.4 d,而再入院率及并发症的发生率无明显增加。

Zhang H, Cui MM, Liu DS, Feng Y, Chen CS. Effect of fast track surgery on serum levels of CRP, IL-6 and insulin resistance in patients with colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3813-3817

## 摘要

**目的:**探讨快速通道外科(FTS)理念治疗结直肠癌手术前后血清CRP、IL-6及胰岛素抵抗的变化。

**方法:**86例结直肠癌患者随机分为两组,每组各43例,分别采用FTS理念治疗和常规方法治疗(CM)。比较两组术后首次排气时间、排便时间、并发症发生率、住院天数、住院费用。术前1 d、术后1、5、7 d分别空腹采静脉血,测定血清CRP、IL-6、血糖、胰岛素的含量。采用稳态模型胰岛素抵抗指数和胰岛素作用指数评价胰岛素抵抗情况。

**结果:**FTS组术后首次排气时间、首次排便时间、住院天数明显短于CM组,平均住院费用低于CM组( $P<0.05$ )。两组并发症发生率无显著差异。两组术后第1天及第5天两组患者CRP及IL-6显著升高(CM组:  $82.03 \text{ mg/L} \pm 7.23 \text{ mg/L}$ ,  $34.80 \text{ mg/L} \pm 5.21 \text{ mg/L}$  vs  $4.23 \text{ mg/L} \pm 0.92 \text{ mg/L}$ ;  $202.15 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 15.66 \text{ } \mu\text{g/L}$ ,  $86.48 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 9.33 \text{ } \mu\text{g/L}$  vs  $37.82 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 8.99 \text{ } \mu\text{g/L}$ ; FTS组:  $68.11 \text{ mg/L} \pm 3.55 \text{ mg/L}$ ,  $15.50 \text{ mg/L} \pm 2.09 \text{ mg/L}$  vs  $3.33 \text{ mg/L} \pm 0.99 \text{ mg/L}$ ;  $163.10 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 12.98 \text{ } \mu\text{g/L}$ ,  $47.69 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 8.64 \text{ } \mu\text{g/L}$  vs  $40.52 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 9.12 \text{ } \mu\text{g/L}$ ,  $P<0.05$ )。术后第7天CRP、IL-6在FTS组恢复至术前水平( $P>0.05$ ),而CM组与术前相比仍有显著差异( $P<0.05$ )。术后第1天两组HOMA-IR均明显高于术前、IAI均明显低于术前( $P<0.05$ )。CM组改变更为明显,与FTS组相比有显著差异( $P<0.05$ )。术后第5天这两种指标在FTS组恢复至术前水平( $P>0.05$ ),而CM组与术前相比仍有显著性差异( $P<0.05$ )。

**结论:**FTS治疗可以促进患者早日康复,节省住院费用。与常规治疗相比,FTS理念治疗对结直肠癌患者的CRP、IL-6及胰岛素抵抗影响小,对免疫功能抑制轻,应激反应强度低,持续时间短。

**关键词:**快速通道外科;结直肠癌;C反应蛋白;白细胞介素6;胰岛素抵抗

张宏,崔明明,刘鼎盛,冯勇,陈春生.快速通道外科对结直肠癌患者血清CRP、IL-6及胰岛素抵抗的影响. *世界华人消化杂志* 2010; 18(35): 3813-3817

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3813.asp>

## 0 引言

快速通道外科(fast track surgery, FTS)又称快速康

复外科,21世纪初兴起于欧洲,近年这一理念日益受到临床的重视,应用的范畴不断扩大,在国内越来越多的医生逐渐开始接受和认同。FTS的理念是指在不改变现代外科治疗原则的前提下,尽可能减少机体对手术创伤的应激反应,减少并发症,加速术后的康复。在结直肠外科领域,FTS应用最早也最为成功。许多国内外文献均证实FTS应用于结直肠手术能促进患者早日康复,与传统治疗组相比明显缩短住院时间,降低术后并发症的发生率,减少住院费用<sup>[1-4]</sup>。但针对FTS对患者手术后免疫功能及应激状态影响的研究尚无报道。中国医科大学附属盛京医院结直肠肿瘤外科自2009-05开始将FTS应用于部分结直肠癌的择期手术患者。本文拟通过回顾性研究,对比FTS组和传统治疗组结直肠癌手术患者的血清C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)及反映应激状态指标胰岛素抵抗的影响。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选中国医科大学附属盛京医院结直肠肿瘤外科2009-02/2009-10结直肠癌患者86例,男49例,女37例,年龄28-78(中位年龄57.6)岁。入选标准:已确诊为结直肠癌且未行新辅助化疗,无严重器官功能障碍,无肠梗阻,无免疫功能异常性疾病,无糖尿病,患者及家属知情同意。患者随机分为FTS组和传统治疗(conventional method, CM)组各43例。CM组:男23例,女20例,平均年龄 $54.2 \pm 15.97$ 岁,11例右半结肠癌,6例左半结肠癌,2例横结肠癌,9例乙状结肠癌,15例直肠癌;FTS组:男26例,女17例,平均年龄 $55.75 \pm 16.25$ 岁,9例右半结肠癌,11例左半结肠癌,3例横结肠癌,7例乙状结肠癌,13例直肠癌。两组病例在年龄、性别及疾病组成方面差别比较无统计学意义( $P>0.05$ )。所有治疗由同一组医师进行。CRP、IL-6的测定采用放射免疫法。试剂盒购自北京东亚放射免疫研究所,严格按试剂盒说明书操作。FBG的测定采用酶动力学方法,由ABBOTT公司ARCHIPECT 16200分析仪自动检测。FINS的测定采用化学发光法,由BAYER公司ADVIA CENTAUR 免疫分析仪自动检测。

## 1.2 方法

**1.2.1 治疗方案:**FTS组采用快速通道围手术期处理方案,患者术前不口服泻药,不洗澡,禁食6 h,禁水2 h。不放置鼻胃管,手术时采用硬膜外麻醉。术后留置硬膜外止痛泵,给予非阿片类镇痛剂。

## ■创新盘点

针对FTS对患者手术后免疫功能及应激状态影响的研究尚无报道。

表 1 两组患者术后指标的比较

	CM组( <i>n</i> = 43)	FTS组( <i>n</i> = 43)	<i>P</i> 值
首次排气时间(h)	85.61 ± 12.34	62.28 ± 11.05	<0.05
首次排便时间(h)	130.72 ± 25.92	109.24 ± 28.00	<0.05
总体并发症	7	4	>0.05
肺炎	2	1	
切口感染	3	2	
吻合口漏	2	1	
肠梗阻	0	0	
住院天数(d)	15.25 ± 3.08	12.45 ± 3.85	<0.05
住院费用(万元)	3.61 ± 0.54	2.74 ± 0.36	<0.05

## ■应用要点

FTS对免疫功能具有保护作用,降低了应激反应,控制围手术期的病理生理变化,使得患者早日康复,具有广阔的发展前景。

术后24 h留置尿管,6 h饮水,24 h全流食。术后6 h患者即可下床活动。CM组采用常规的传统围手术期处理方案,患者术前口服泻药,术前机械洗肠,禁食水8 h。放置鼻胃管至术后排气后。手术时采用全麻。术后肌注或静脉泵入杜冷丁。术后3-7 d留置尿管。患者排气后饮水,5 d全流食,术后24 h即可下床活动。

1.2.2 标本采集:术前1 d及手术后1、5、7 d清晨分别空腹采静脉血5 mL。置入抗凝集试管中,3 000 r/min,离心10 min,分离出血清,置-20 °C冰箱保存,备统一检测。

1.2.3 检测指标:测定血清中CRP、IL-6、血糖(fasting blood glucose, FBG)、血清胰岛素(fasting insulin, FINS)。胰岛素抵抗指标的测定:采用稳态模型胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment-insulin resistance index, HOMA-IR)和胰岛素作用指数(insulin action index, IAI)评价研究对象的胰岛素抵抗情况。 $HOMA-IR = FINS(mIU/L) \times FBG(mmol/L) / 22.5$ ,该数值越大,说明胰岛素抵抗程度越重。 $IAI = 1 / (FINS \times FBG)$ ,该数值越大,说明胰岛素抵抗程度越轻。这两个指标均为非正态分布,取其自然对数比较。

**统计学处理** 所有数据均采用SPSS13.0软件进行分析。计量指标用mean±SD来表示,采用成组*t*检验进行差异分析,计数指标采用 $\chi^2$ 检验。 $P < 0.05$ 有统计学显著意义。

## 2 结果

2.1 CM组与FTS组术后临床指标的比较 FTS组术后首次排气时间、首次排便时间、住院天数明显短于CM组,平均住院费用低于CM组( $P < 0.05$ )。两组总体并发症发生率无显著差异(表1)。

2.2 CM组与FTS组患者CRP、IL-6在术前、术后1、5、7 d的变化 CM组与FTS组的术前

CRP、IL-6无显著差异。术后第1天及第5天两组患者CRP及IL-6明显升高,较术前有显著性差异( $P < 0.05$ ),两组间比较以CM组升高更为显著( $P < 0.05$ )。与术后第1天相比,术后第5天两组CRP、IL-6的下降有显著差异( $P < 0.05$ )。术后第7天FTS组的CRP、IL-6恢复至术前水平( $P > 0.05$ ),而CM组与术前相比仍有显著差异( $P < 0.05$ ),组间的这两种指标比较有统计学差异( $P < 0.05$ ,表2)。

2.3 CM组与FTS组患者HOMA-IR、IAI在术前、术后1、5、7 d的变化 CM组与FTS组患者术前HOMA-IR及IAI无显著差异。术后第1天两组HOMA-IR均明显高于术前、IAI均明显低于术前,差异有显著性( $P < 0.05$ )。CM组的这两种指标改变更为明显,与FTS组相比有显著差异( $P < 0.05$ )。术后第5天两组HOMA-IR较术后第1日明显下降( $P < 0.05$ )、IAI较术后第1天明显升高( $P < 0.05$ ),其中FTS组与术前已无显著性差异( $P > 0.05$ ),而CM组与术前相比仍有显著性差异( $P < 0.05$ )。术后第7天两组患者HOMA-IR及IAI与术前已无显著性差异( $P > 0.05$ ),两组间的差异也无显著性( $P > 0.05$ ,表3)。

## 3 讨论

FTS最早是由丹麦外科医生Kehlet<sup>[5,6]</sup>等提出,也有文献称之为加速术后康复外科(enhanced recovery after surgery, ERAS)、快速道康复(fast track rehabilitation)。FTS理念是采用有循证医学证据的围手术期一系列优化措施,减少患者的生理及心理创伤,降低应激反应,达到快速康复的目的。FTS是一个多学科协作的过程,不仅包括外科医生、心理治疗师、麻醉师、护士、营养师、康复师等,还包括患者及家属的参与配合,这样才能保证完整良好的实施。采取的具体措施主要包括3个方面:(1)患者术前精神和体质

# ■名词解释

FTS理念: 采用有循证医学证据的围手术期一系列优化措施, 减少患者的生理及心理创伤, 降低应激反应, 达到快速康复的目的.

表 2 两组患者CRP、IL-6在术前、术后1、5、7 d的变化 (mean  $\pm$  SD)

时间	CRP(mg/L)		IL-6( $\mu$ g/L)	
	CM组	FTS组	CM组	FTS组
术前1 d	4.23 $\pm$ 0.92	3.33 $\pm$ 0.99	37.82 $\pm$ 8.99	40.52 $\pm$ 9.12
术后第1天	82.03 $\pm$ 7.23	68.11 $\pm$ 3.55	202.15 $\pm$ 15.66	163.10 $\pm$ 12.98
术后第5天	34.80 $\pm$ 5.21	15.50 $\pm$ 2.09	86.48 $\pm$ 9.33	47.69 $\pm$ 8.64
术后第7天	6.00 $\pm$ 1.97	4.98 $\pm$ 1.26	40.11 $\pm$ 7.64	43.43 $\pm$ 9.31

表 3 两组患者HOMA-IR、IAI在术前、术后1、5、7 d的变化 (mean  $\pm$  SD)

时间	HOMA-IR		IAI	
	CM组	FTS组	CM组	FTS组
术前1 d	1.913 $\pm$ 0.077	1.853 $\pm$ 0.095	0.037 $\pm$ 0.003	0.035 $\pm$ 0.001
术后第1天	13.035 $\pm$ 2.003	7.665 $\pm$ 1.338	0.013 $\pm$ 0.002	0.014 $\pm$ 0.004
术后第5天	7.129 $\pm$ 1.093	2.017 $\pm$ 0.252	0.021 $\pm$ 0.003	0.029 $\pm$ 0.005
术后第7天	1.824 $\pm$ 0.066	1.777 $\pm$ 0.039	0.033 $\pm$ 0.008	0.031 $\pm$ 0.007

两方面的准备; (2)尽可能减少治疗过程的刺激因素, 降低应激反应; (3)阻断传入神经对应激信号的传导. 在当今微创外科理念逐步确立的时候, 人们发现其实广义的微创就涵盖了FTS的内容, 其主旨也是减少手术创伤, 促进早日恢复, 而绝不单单指切口的长短<sup>[7]</sup>. 正像微创理念逐渐被认同一样, FTS也开始应用于临床多个领域, 包括心脏外科、泌尿外科、肝脏外科、胰腺外科、骨科、妇科及结直肠外科等, 并且逐渐被更多的医生接受. 其中应用最为广泛的就是结直肠外科领域, 很多研究显示FTS能有效促进术后胃肠道功能的恢复, 减少总并发症的发生率, 减少应激反应, 节省住院总费用<sup>[8-11]</sup>. Jakobsen等<sup>[12]</sup>报道160例使用FTS治疗方法的结肠切除患者, 术后平均住院日降至3.4 d, 而再入院率及并发症的发生率无明显增加. 本研究显示FTS组术后首次排气时间、首次排便时间、住院天数明显短于CM组, 平均住院费用显著低于CM组, 而并发症发生率两组无显著差异.

CRP是一种肝脏合成的急性时相蛋白, 参与全身和局部的非特异免疫应答, 正常情况下以微量形式存在于健康人血液中. 机体处于损伤或感染状态时CRP会迅速上升, 其改变远早于体温、外周血白细胞计数的改变, 一般6-12 h后血清中CRP浓度开始增高, 24-48 h达最高峰, 其升高幅度与损伤的程度呈正相关, 待炎症修复后迅速恢复正常. 有研究显示细微的创伤如淋巴结活检术或静脉插管术即可以引起血CRP升高, 而且创伤越严重, 血CRP的升高越明显. 因此

CRP是辅助检测机体损伤状态的一个重要指标. 围手术期的一系列治疗措施在治疗疾病同时也造成了新的损害, 同样会引起机体生理功能和免疫功能的改变<sup>[13]</sup>. 本实验结果表明CRP在两组术后第1天、第5天均明显升高, 但FTS组明显低于CM组( $P<0.05$ ). 术后第7天FTS组降至术前水平, 而CM组仍然高于术前水平( $P<0.05$ ). 表明手术创伤降低了患者的非特异免疫功能, 而FTS组对患者围手术期免疫功能影响较小.

IL-6是由活化的T淋巴细胞、巨噬细胞、外周血单核细胞、血管内皮细胞等产生的一种多功能炎症细胞因子, 可诱导肝细胞产生CRP, 影响抗原特异免疫反应, 参与炎症反应以及调节急性期反应, 促进中性粒细胞的黏附, 是手术应激反应的最佳指标. 近年来研究证明在感染、创伤、缺氧、缺血以及自身免疫性疾病患者的血清和脑脊液中均可检测到高水平的白细胞介素<sup>[14]</sup>. 应激反应是机体的保护机制, 同时也导致机体的免疫抑制, 为术后康复带来不利影响. 本研究显示两组术后IL-6均明显升高, 与术前相比有统计学意义. CM组IL-6升高更明显( $P<0.05$ ). 术后第7天FTS组降至术前水平, 而CM组仍未恢复( $P<0.05$ ). 说明FTS组围手术期治疗所造成的创伤轻微, 应激反应小, 强度低, 持续时间短, 免疫抑制轻, 有利于患者的恢复.

胰岛素抵抗是指胰岛素执行其正常生物作用的效应不足, 表现为外周组织尤其是肌肉、脂肪组织对葡萄糖的利用障碍, 是外科手术的一种常见综合征. 手术创伤所致的失血、低血容量及

组织缺氧将引起神经、内分泌系统发生相应的应激反应, 应激激素(如生长激素、肾上腺皮质激素、儿茶酚胺)释放, 可直接拮抗胰岛素的作用, 导致血糖增高, 而 $\beta$ 细胞分泌的胰岛素增加和肝糖输出增加, 进一步导致高血糖和高胰岛素血症同时出现. 研究表明手术的创伤程度与胰岛素抵抗成正相关, 手术的创伤越大, 术中出血越多, 胰岛素抵抗越明显<sup>[15]</sup>. 紧张、疼痛与胰岛素抵抗也成正相关, 手术期间患者精神越紧张, 疼痛越剧烈, 胰岛素抵抗越明显. 胰岛素抵抗严重影响机体代谢, 破坏内环境的稳定, 对患者的预后和恢复不利. 本研究显示术后第1天两组HOMA-IR明显高于术前, IAI明显低于术前, 显示手术的创伤加重了胰岛素抵抗. 术后第1天FTS组的HOMA-IR和IAI变化与CM组有显著差异, 术后第5天FTS组的HOMA-IR、IAI与术前已无显著性差异, 提示FTS减轻了应激反应, 降低了围手术期病人的手术创伤, 能显著降低结直肠癌术后胰岛素抵抗的程度, 从而有利于降低并发症, 促使患者早日康复.

总之, 随着观念的转变、技术的进步和基础理论研究的深化, 特别是微创、减轻应激反应、疼痛控制等理念的出现, FTS理念得到了进一步的推广, 许多疾病的临床治疗模式发生了极大的变化, 传统外科正在经受潜移默化的革新和挑战. 由于其对免疫功能的保护作用, 降低了应激反应, 控制围手术期的病理生理变化, 使得以患者早日康复, 我们相信FTS具有广阔的发展前景.

#### 4 参考文献

- 1 Scatizzi M, Kröning KC, Boddi V, De Prizio M, Feroci F. Fast-track surgery after laparoscopic colorectal surgery: is it feasible in a general surgery unit? *Surgery* 2010; 147: 219-226
- 2 Ionescu D, Iancu C, Ion D, Al-Hajjar N, Margarit S, Mocan L, Mocan T, Deac D, Bodea R, Vasian H. Implementing fast-track protocol for colorectal surgery: a prospective randomized clinical trial. *World J Surg* 2009; 33: 2433-2438
- 3 Carli F, Charlebois P, Baldini G, Cachero O, Stein B. An integrated multidisciplinary approach to implementation of a fast-track program for laparoscopic colorectal surgery. *Can J Anaesth* 2009; 56: 837-842
- 4 Zargar-Shoshtari K, Connolly AB, Israel LH, Hill AG. Fast-track surgery may reduce complications following major colonic surgery. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1633-1640
- 5 Kehlet H, Wilmore DW. Multimodal strategies to improve surgical outcome. *Am J Surg* 2002; 183: 630-641
- 6 Wilmore DW, Kehlet H. Management of patients in fast track surgery. *BMJ* 2001; 322: 473-476
- 7 Lindsetmo RO, Champagne B, Delaney CP. Laparoscopic rectal resections and fast-track surgery: what can be expected? *Am J Surg* 2009; 197: 408-412
- 8 Wind J, Maessen J, Polle SW, Bemelman WA, von Meyenfildt MF, Dejong CH. [Elective colon surgery according to a 'fast-track' programme] *Ned Tijdschr Geneesk* 2006; 150: 299-304
- 9 Kehlet H, Wilmore DW. Evidence-based surgical care and the evolution of fast-track surgery. *Ann Surg* 2008; 248: 189-198
- 10 Wichmann MW, Eben R, Angele MK, Brandenburg F, Goetz AE, Jauch KW. Fast-track rehabilitation in elective colorectal surgery patients: a prospective clinical and immunological single-centre study. *ANZ J Surg* 2007; 77: 502-507
- 11 Zonca P, Stigler J, Maly T, Neoral C, Hajek M, Stiglerova S. Do we really apply fast-track surgery? *Bratisl Lek Listy* 2008; 109: 61-65
- 12 Jakobsen DH, Sonne E, Andreasen J, Kehlet H. Convalescence after colonic surgery with fast-track vs conventional care. *Colorectal Dis* 2006; 8: 683-687
- 13 Ordemann J, Jacobi CA, Schwenk W, Stösslein R, Müller JM. Cellular and humoral inflammatory response after laparoscopic and conventional colorectal resections. *Surg Endosc* 2001; 15: 600-608
- 14 Rose-John S, Waetzig GH, Scheller J, Grötzinger J, Seegert D. The IL-6/sIL-6R complex as a novel target for therapeutic approaches. *Expert Opin Ther Targets* 2007; 11: 613-624
- 15 Banks WA, Willoughby LM, Thomas DR, Morley JE. Insulin resistance syndrome in the elderly: assessment of functional, biochemical, metabolic, and inflammatory status. *Diabetes Care* 2007; 30: 2369-2373

#### ■同行评价

本文新颖性尚可, 对快速康复外科的具体病理生理机制研究方面作出了一定的贡献.

编辑 李薇 电编 李薇



# 肠易激综合征国内实验研究现状的调查

吴晓亮, 孙建华

## ■背景资料

肠易激综合征 (IBS) 发病率较高, 罗马 III 标准、成人 IBS 诊治新指南、我国肠易激综合征共识意见等一系列 IBS 诊断标准的更新, 掀起了国内 IBS 的研究热潮, 由于 IBS 机制尚不明确, 目前研究成果仍没有达成共识, 其研究内容和方法多样化, 缺乏统一的标准。

吴晓亮, 南京中医药大学 江苏省南京市 210029  
孙建华, 江苏省中医院 江苏省南京市 210029  
江苏省中医药领军人才基金资助项目, No. LJ200905  
作者贡献分布: 本文由吴晓亮完成; 孙建华审校。  
通讯作者: 孙建华, 主任医师, 210029, 江苏省南京市汉中门155号, 江苏省中医院针灸康复科, drjhsun@qq.com  
收稿日期: 2010-09-07 修回日期: 2010-09-18  
接受日期: 2010-09-25 在线出版日期: 2010-12-18

## Irritable bowel syndrome: current state of experimental research in China

Xiao-Liang Wu, Jian-Hua Sun

Xiao-Liang Wu, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China  
Jian-Hua Sun, Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: the Foundation for Chinese Medicine Leading Talents in Jiangsu Province, No. LJ200905

Correspondence to: Jian-Hua Sun, Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. drjhsun@qq.com

Received: 2010-09-07 Revised: 2010-09-18

Accepted: 2010-09-25 Published online: 2010-12-18

## Abstract

**AIM:** To conduct a systematic review examining the current state of experimental research of irritable bowel syndrome (IBS) in China.

**METHODS:** IBS is a functional disorder of the gastrointestinal tract. Although numerous studies have investigated the pathophysiologic processes underlying IBS, the mechanisms underlying the pathogenesis of IBS remain poorly understood. In the present study, the Wanfang Med Online and China Knowledge Resource Integrated Database were searched to retrieve relevant literature to find reported animal models of IBS and identify factors affecting the pathogenesis of IBS.

**RESULTS:** Approximately 62.86% of IBS-related studies investigated the role of neurotransmitters and neuropeptides in IBS. Animal models of IBS were developed frequently by a single method or combined use of two methods, and

rarely by combined use of multiple methods. There have been few studies conducting objective evaluation of the impact of animal gender and age on research findings obtained from animal models of IBS.

**CONCLUSION:** Researchers have not yet reached a uniform consensus about IBS-related experimental contents and the methods for development of animal models of IBS. More researchers tend to develop animal models of IBS by combined use of multiple methods with efforts to more truly mimic human IBS.

**Key Words:** Irritable bowel syndrome; Mechanistic investigation; Animal model

Wu XL, Sun JH. Irritable bowel syndrome: current state of experimental research in China. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(35): 3818-3823

## 摘要

**目的:** 系统回顾性分析目前国内肠易激综合征 (IBS) 发病机制及建模研究。

**方法:** 通过检索万方医学数据库和中国知识资源综合数据库的资源目录, 寻找符合要求的实验研究文献, 结合国际研究进展分析所搜集的数据。

**结果:** 神经递质和神经肽在国内 IBS 实验中研究比例较大, 约 62.86%; 单一方法建模与两种方法联合建模的应用比例相近, 而多种方法综合建模应用比例较低; 尚缺乏模型大鼠性别、年龄差异对 IBS 研究结果影响的客观评价。

**结论:** 建模方法和研究内容多样, 没有达成统一的共识。但已经从单一的方法建模逐渐向多种方法联合建模的方式转变, 试图建立能更好模拟临床患者的 IBS 综合模型以进行多机制的研究。

**关键词:** 肠易激综合征; 机制研究; 动物模型

吴晓亮, 孙建华. 肠易激综合征国内实验研究现状的调查. *世界华人消化杂志* 2010; 18(35): 3818-3823

## ■同行评议者

白爱平, 副教授, 南昌大学第一附属医院消化内科

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3818.asp>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是指一种以腹痛或腹部不适伴排便习惯改变和(或)大便性状异常的功能性肠病, 该病缺乏可解释症状的形态学改变和生化异常, 属于中医“泄泻”、“便秘”、“腹痛”范畴<sup>[1]</sup>. 我国城市的患病率约为5%, 是一种世界范围内的多发病, 在欧美国家则为10%-20%<sup>[2,3]</sup>. 罗马III标准的更新<sup>[4]</sup>, 2007年英国胃肠病学学会成人肠易激综合征诊治新指南的提出<sup>[5]</sup>, 以及我国肠易激综合征共识意见即长沙共识意见的重新修订<sup>[6]</sup>, 掀起了IBS的研究热潮. 本文通过检索最近3年国内有关IBS实验研究的文献报道, 结合国际研究进展分析其研究内容和建模方法.

## 1 材料和方法

1.1 材料 检索中国知网、万方医学数据库等国内核心数据库, 检索词为: 肠易激综合征、IBS、动物模型、实验研究、脑-肠轴、神经免疫等, 检索日期: 2007-07-01/2010-07-01. 排除IBS临床试验、现象研究等非实验性研究.

1.2 方法 通过检索和筛选, 共有57篇IBS实验研究类国内核心数据库收录文献符合纳入标准, 啮齿类动物大鼠为实验动物, 研究内容以机制研究和建模研究为主, 主要涉及腹泻型和便秘型两个亚型, 分别录入各篇文献中的IBS分型、研究目的、建模方法、标本部位、动物种类等具体信息, 以含有观察指标或建模方法等相应资料的文献篇数为计数依据, 统计其在国内IBS实验研究中所占的比例. 如在国内IBS机制研究中主要选取的动物标本包括结肠黏膜、外周血、脊髓和脑组织, 频次统计结果为结肠黏膜组织44次, 血液标本26次, 脊髓组织9次, 脑组织10次, 脑组织中涉及海马、下丘脑、前扣带回、脑干、丘脑、中缝背核等部位.

## 2 结果

2.1 不同机制研究在国内IBS实验研究中所占比例

2.1.1 神经递质和神经肽表达水平的研究比例: 神经递质和神经肽表达水平的研究在国内IBS实验研究中所占比例较大, 约为62.86%, 其中P物质(substance P, SP)、5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)及其受体(5-HTR)和血管活性肠肽

表 1 神经递质和神经肽在国内IBS实验研究中的比例

观察指标	n	比例(%)
5-羟色胺(5-HT)及其受体(5-HTR)	8	11.43
乙酰胆碱(Ach)	0	0.00
脊髓背角N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体	1	1.43
P物质(SP)	9	12.85
血管活性肠肽(VIP)	7	10.00
胆囊收缩素(CCK)	1	1.43
神经肽Y(NPY)	2	2.86
降钙素基因相关肽(CGRP)	4	5.72
促肾上腺皮质激素(ACTH)	1	1.43
肾上腺皮质激素	1	1.43
胃动素(MOT)	3	4.29
生长抑素(SS)	5	7.14
一氧化氮(NO)和一氧化氮合酶(NOS)	2	2.86
总计	44	62.86

一篇实验研究中多同时观察几项指标, 故总基数统计为70, 大于文献发表篇数57.

表 2 神经免疫等其他机制在国内IBS实验研究中的比例

观察指标	n	比例(%)
TNF	2	2.86
IL-1 $\beta$	3	4.29
IL-4	1	1.43
IL-10	1	1.43
IL-8	1	1.43
肥大细胞	2	2.86
c-fos基因	4	5.72
Cajal间质细胞(ICC)	2	2.86
雌二醇(E2)	1	1.43
兴奋区	1	1.43
肠道菌丛潜生体(CGC)	1	1.43
总计	19	27.14

一篇实验研究中多同时观察几项指标, 故总基数统计为70, 大于文献发表篇数57.

(vasoactive intestinal peptide, VIP)的研究比例均超过10%(表1).

2.1.2 神经免疫等其他机制的研究比例: 神经胶质细胞、L-型钙通道、P2X4受体、辣椒素受体和神经营养因子类BDNF及其受体TrkB等IBS神经转导机制的研究报道所占比例仅有10%, 神经免疫等其他机制的研究比例为27.14%, 其中细胞因子和c-fos基因水平的研究比例较大(表2).

2.1.3 大鼠结肠、脊髓和脑组织中均有表达水平研究的指标及其比例: 在大鼠结肠、脊髓和

## ■ 研究前沿

IBS的病理生理学基础主要包括: 肠道动力和肠道平滑肌功能障碍、内脏感觉异常、脑-肠轴、精神心理因素、消化系激素及全肠道感染、小肠细菌过度生长或小肠细菌移位等, 其发病机制尚未完全了解, 其中与内脏感觉异常、脑-肠互动等密切相关的神经递质、神经肽等的观察为国内近年来研究的热点. 缺乏公认统一的IBS模型, 已经从单一方法转向多种方法联合, 综合神经、内分泌、免疫和心理等多因素制备动物模型.

## ■相关报道

Eutamene等用非局部炎症急性束缚应激结合急性避水应激成功制备了便秘型IBS大鼠模型。

表 3 国内大鼠结肠、脊髓和脑组织中均有表达水平研究的指标及其比例  $n(\%)$ 

观察指标	<i>n</i>	结肠	血	脊髓	脑组织
5-HT及5-HTR	8(11.43)	7(15.90)	1(3.85)	1(11.11)	3(30.00)
CGRP	4(5.72)	2(4.54)	2(7.69)	1(11.11)	2(20.00)
NPY	2(2.86)	1(2.27)	1(3.85)	1(11.11)	1(10.00)
c-fos	4(5.72)	1(2.27)	0(0.00)	1(11.11)	3(30.00)
基数	70(100.00)	44(100.00)	26(100.00)	9(100.00)	10(100.00)

基数为统计总值, 如结肠标本选用频次的统计结果为44次。

表 4 国内单一方法建模应用比例

建模方法	<i>n</i>	比例(%)
非伤害性结直肠扩张(CRD)	6	23.07
新生期母婴分离法(MS)	1	3.85
丁酸钠溶液灌肠法	1	3.85
乙酸灌肠法	1	3.85
冰水灌胃法	6	23.07
生理盐水灌胃法	1	3.85
结肠醋酸慢性刺激法	6	23.07
旋毛线虫—过性肠道感染模型	1	3.85
三硝基苯磺酸诱导的内脏痛觉超敏模型	1	3.85
福氏志贺菌感染后IBS大鼠模型	1	3.85
腹腔注射鸡卵清Alb法	1	3.85
总计	26	100.00

总计为单一方法建模类实验研究次数总和。

脑组织中均有表达水平观察的指标包括5-HT及5-HTR、降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)、神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)和c-fos, 其中结肠组织的局部表达水平的观察占有较高比例(表3)。

2.2 不同建模方法在国内IBS模型实验中所占比例 单一方法建模在国内IBS模型实验中所占比例为43.33%, 其中非伤害性结直肠扩张(colorectal distension, CRD)、结肠醋酸慢性刺激法和冰水灌胃法应用比例较高(表4)。两种方法联合建模所占比例为45.00%, 其中番泻叶煎剂灌胃法结合束缚应激刺激法应用比例较高, 发现肢体束缚应激法多与其他方法联合建模(表5)。而多种方法综合建模应用比例较低, 仅为11.67%。

2.3 模型大鼠性别、年龄及种类的选择比例 在IBS模型实验中, 选用较多的模型大鼠是SD大鼠, 占38.60%, 其次为成年SD大鼠和成年Wistar大鼠, 多数实验中未区分大鼠性别, 选用♀大鼠模型的研究只占3.51%, WKY大鼠在国内IBS实

表 5 国内两种方法联合建模应用比例

建模方法	<i>n</i>	比例(%)
新生期母婴分离复合避水应激法	2	7.41
慢性束缚联合夹尾刺激法	5	18.52
冷—束缚应激法	2	7.41
醋酸—电刺激法	1	3.70
CRD联合旋毛线虫—过性肠道感染法	2	7.41
慢性结肠刺激结合夹尾刺激法	3	11.11
番泻叶煎剂灌胃结合束缚应激刺激法	8	29.63
传统肢体束缚结合结直肠伤害性扩张刺激(CI)	1	3.70
乙酸灌肠加束缚应激法	1	3.70
结直肠伤害性扩张刺激(CI)结合醋酸灌肠	1	3.70
诱导CGC结合川椒浸液灌胃法	1	3.70
总计	27	100.00

总计为两种方法联合建模类实验研究次数总和。

验中没有相关报道(表6)。

## 3 讨论

IBS的病理生理学基础主要包括: 肠道动力和肠道平滑肌功能障碍、内脏感觉异常、脑-肠轴、精神心理因素、胃肠道激素及全肠道感染、小肠细菌过度生长或小肠细菌移位等<sup>[7]</sup>。Arebi等<sup>[8]</sup>发现其发病为多种因素相互作用所致。其中与内脏感觉异常、脑-肠互动等密切相关的神经递质、神经肽表达变化的观察为国内近年来研究的热点, 其他IBS神经转导机制以及神经营养因子类、雌激素类、Cajal间质细胞等均有研究<sup>[9-12]</sup>, 近年来神经免疫类肥大细胞和细胞因子、早癌基因类*c-fos*和细菌微生态CGC等相关机制的探索逐渐增多<sup>[13-17]</sup>。5-HT及其受体和神经肽在IBS机制中的作用得到证实, 英国新指南<sup>[5]</sup>指出5-HT<sub>3</sub>拮抗剂能够改善全身症状、腹泻和腹痛等, 而5-HT<sub>4</sub>激动剂能够改善全身症状、便秘和腹胀



表 6 国内IBS模型大鼠选用比例

大鼠种类	雄性(%)	雌性(%)	雌雄各半(%)	未区分性别(%)	<i>n</i> (%)
成年Wistar大鼠	9	0	3	4	16(28.07)
成年SD大鼠	8	2	1	6	17(29.82)
SD乳鼠	3	0	3	16	22(38.60)
保虫昆明鼠	0	0	0	2	2(3.51)
WKY大鼠	0	0	0	0	0(0.00)
总计 <i>n</i> (%)	20(35.09)	2(3.51)	7(12.28)	28(49.12)	57(100.00)

## ■创新盘点

本文就国内近年来IBS实验研究的现状做了系统总结,统计其研究频率,相对客观地分析了国内研究重点及进展,结合国际最新研究进展分析了IBS研究规律,以更好地指导进一步研究。

等,选择性5-HT再吸收抑制剂则能够改善全身症状。5-HT及5-HT<sub>1R</sub>、CGRP、NPY和*c-fos*在大鼠结肠、脊髓和脑组织中均有表达水平的变化,与IBS脑-肠互动机制关系密切。

国内研究应用的IBS动物模型主要有内脏敏感类模型、应激类模型、认知模型、脑-肠互动模型、中医证型类模型等。外周致敏类IBS动物模型应用比例较高,其中内脏敏感性模型约占64.91%,而如运用参与脑-肠互动机制的激素复制IBS致中枢兴奋性增高类模型的建模方法研究较少。目前尚没有公认统一的IBS模型,但已经从单一方法转向多种方法联合,综合神经、内分泌、免疫和心理等多因素制备动物模型。

最早的IBS模型制备方法有物理刺激、化学刺激、炎症感染等方法,方法单一,种类繁多,缺乏公认、复制率高的理想模型,不能较好的模拟IBS患者的临床表现及发病机理。但适合于单因素的研究分析,如CRD、母婴分离和冰水灌胃模型等。CRD模型作为较早的物理刺激方法,得到广泛应用,常结合回撤反射评分作为内脏痛敏模型的评价方法。母婴分离模型则被证实与神经心理免疫轴的相关性,流行病学调查显示,早期不良生活事件是一种不良的应激反应系统,可能增加对IBS的易感性,母婴分离模型在系统评价中证实该模型可诱导改变脑-肠轴形成,常用于研究压力有关疾病诸如抑郁和IBS的可能机理<sup>[18]</sup>。冰水灌胃模型作为较少的IBS便秘型模型制备方法之一,简便易行,近年来应用较多,为丰富及进一步研究IBS病理生理有着重要意义,主要适用于肠道动力障碍类研究。病原体 and 化学物质诱导的感染炎症类模型则常用于感染后继发IBS研究的动物模型<sup>[19]</sup>。

两种方法联合建模在国内IBS实验中的应用比例已经超过单一方法建模,应用较多的为番泻叶煎剂灌胃法结合束缚应激刺激法<sup>[20,21]</sup>和慢性束缚联合夹尾应激刺激法<sup>[22]</sup>,其中肢体束

缚应激法可诱导心理焦虑类模型,可联合其他因素的刺激,成功诱导IBS躯体心理综合模型,Spence等<sup>[23]</sup>发现处于高压力和焦虑水平的患者在急性胃肠炎发作后易继发IBS,而IBS患者更易有焦虑及抑郁倾向,部分抑郁抑制类药物也对IBS治疗有效。另外,脑功能成像兴奋区对应内脏敏感刺激的不同表达也为其提供了有力的证据<sup>[24]</sup>。例如Eutamene等<sup>[25]</sup>用非局部炎症急性束缚应激结合急性避水应激成功制备便秘型IBS大鼠模型。传统肢体束缚结合结直肠伤害性扩张刺激<sup>[26]</sup>和乙酸灌肠加束缚应激制备内脏敏感性IBS大鼠模型<sup>[27]</sup>,均有系统模型评价,肯定了其可行性。这类建模方法操作较为简便,干扰因素明确,在建模研究中发挥重要作用,与单一模型相比,更接近临床发病,然而IBS作为一种神经免疫、心理躯体、内脏高敏以及肠功能异常的综合性疾病,目前研制的模型仍显薄弱。近年来国内外尝试多种方法综合建模,以集合IBS有关的生理、认知、应激行为等各个组成部分。国内现用的方法有直肠内给予芥子油结合轻度束缚和母婴分离刺激应激法、樟脑丸特殊气味结直肠扩张结合肢体束缚刺激法、慢性应激模型结合束缚方法和急慢性应激法等<sup>[28-30]</sup>。新的方法一直在探索,如利用基因敲除技术等遗传学方法和技术建立重复性较好、精确的转基因IBS动物模型等<sup>[31,32]</sup>。

IBS临床流行病学调查显示,男女发病率比例为1:2,发病年龄在20-40岁,研究报道性别差异主要存在于大脑疼痛处理过程中,这一点在脑功能成像的研究中得到证实,女性对内脏痛敏应激的表现为更多的情感机制的参与,而男性则涉及注意力和认知的差异,但大脑反应为对内脏刺激的抑制作用是一致的<sup>[33]</sup>。因此在试验研究中应当注意区别。国内部分研究已经注意到IBS模型大鼠区分雌雄作对照观察,但仅有12.28%。幼鼠以其较高的可塑性常被选用制备

## ■应用要点

本文系统地总结了国内机制研究的重点及趋势和IBS模型应用情况,分析了进一步研究的方向和建模方法的选择,能更好地把握IBS机制研究的切入点和研究方法,为IBS脑-肠互动机制的探讨提供了依据。

IBS模型,但尚缺乏大鼠性别、年龄差异对IBS实验结果影响的评估。保虫昆明鼠多用于制备感染后IBS模型,而WKY大鼠在国内IBS动物实验中尚无报道。O'Mahony等<sup>[34]</sup>发现WKY大鼠与SD大鼠相比,在IBS内脏高敏感及脑-肠互动研究中对应激刺激更具备灵敏性,Gibney等<sup>[35]</sup>认为CRD所致WKY大鼠前额叶皮层的活动类似于IBS患者,认为该大鼠模型能充分模拟IBS患者,比SD和Wistar大鼠模型更适合IBS脑-肠轴功能失调的研究。

IBS作为中医药的优势病种之一,除临床观察外,研究其作用机制已变得日趋重要。在本次检索结果中,中医证型建模多为腹泻型IBS肝郁脾虚型和脾胃虚寒型。中药治疗IBS的动物实验研究文献占49.12%,组方多为痛泻要方。针刺治疗IBS的实验文献为5.26%,相关报道较少,且多从选穴和止痛机制分析针刺对IBS内脏痛敏<sup>[36-38]</sup>的作用机制。而对其脑-肠互动调控作用的研究较少,针刺和中药作为IBS有效的治疗方法,其作用机制的研究价值巨大。

## 4 参考文献

- 张声生,李乾构,魏玮,来要良. 肠易激综合征中医诊疗共识意见. 中华中医药杂志 2010; 25: 1062-1065
- Spinelli A. Irritable bowel syndrome. *Clin Drug Investig* 2007; 27: 15-33
- Xiong LS, Chen MH, Chen HX, Xu AG, Wang WA, Hu PJ. A population-based epidemiologic study of irritable bowel syndrome in South China: stratified randomized study by cluster sampling. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 1217-1224
- 张万岱. 功能性胃肠病罗马标准的简介和解读. 世界华人消化杂志 2008; 16: 120-124
- 张文静. 成人肠易激综合征诊治新指南. 现代消化及介入诊疗 2007; 12: 141
- 孙菁,袁耀宗. 肠易激综合征: 罗马Ⅲ标准与我国共识意见解读. 医学与哲学·临床决策论坛版 2008; 29: 12-16
- 孔庆建,张辉,孙波,张德军. 肠易激综合征的病因与发病机制. 中国煤炭工业医学杂志 2006; 9: 1033-1034
- Arebi N, Gurmany S, Bullas D, Hobson A, Stagg A, Kamm M. Review article: the psychoneuroimmunology of irritable bowel syndrome—an exploration of interactions between psychological, neurological and immunological observations. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 830-840
- 夏德雨,王景杰,陆松鹤,王胜智,颜云龙,王伟,黄裕新. 直肠扩张刺激引起IBS大鼠痛行为学以及骶髓DCN中神经元和胶质细胞的变化. 胃肠病学和肝病学杂志 2007; 16: 589-594
- 王景杰,王胜智,夏德雨,颜云龙,王伟,黄裕新. 结肠扩张刺激对P2X4受体在IBS大鼠神经中枢中表达的影响. 胃肠病学和肝病学杂志 2008; 17: 813-817
- 赖华梅,诸琦,王静,张明均. 脑源性神经营养因子在乳鼠结肠扩张刺激诱导的慢性内脏高敏感和肠道动力异常中的作用. 胃肠病学 2008; 13: 223-227
- 韩真,王运东. 腹泻型肠易激综合征模型大鼠肠道Cajal间质细胞的变化及意义. 中国病理生理杂志 2008; 24: 2263-2264, 2271
- 唐洪梅,李得堂,黄樱华,丘振文. 肠激安方抑制肠易激综合征模型大鼠肥大细胞的实验研究. 中药新药与临床药理 2008; 19: 464-466
- 徐海珍,谢建群,施斌,张涛. 腹泻型肠易激综合征大鼠结肠黏膜炎性细胞因子的表达及温中健脾方对其影响的研究. 上海中医药杂志 2007; 41: 69-72
- 吕宾,蒋霞,丁瑞峰,张璐. 内脏高敏感大鼠脑干降钙素基因相关肽、c-fos基因表达的研究. 胃肠病学 2007; 12: 681-684
- 孙刚,杨云生,彭丽华,王巍峰. 肠易激综合征大鼠内脏敏感性异常与结肠及中枢神经系统5-HT和c-fos表达的关系. 胃肠病学和肝病学杂志 2008; 17: 313-317
- 朱雪萍,陈卫昌,朱晓黎,武庆斌. 幼鼠肠易激综合征模型肠道微生态的对照研究. 实用儿科临床杂志 2007; 22: 530-531
- O'Mahony SM, Marchesi JR, Scully P, Codling C, Ceolho AM, Quigley EM, Cryan JF, Dinan TG. Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses. *Biol Psychiatry* 2009; 65: 263-267
- 朱力阳,彭成,谢晓芳,王嫣虹. 化学刺激引起的两种大鼠内脏高敏感性模型的建立. 中国药理学通报 2010; 26: 267-270
- 李冬华,李春淼,李伍善,邹志东,张炎. 痛泻要方对肠易激综合征模型大鼠血管活性肠肽的影响. 时珍国医国药 2007; 18: 2098-2099
- 费晓燕,谢建群,郑昱,吴大正,袁建业. 疏肝饮对腹泻型肠易激综合征模型大鼠胃动素和胆囊收缩素的影响. 上海中医药杂志 2008; 42: 63-65
- 石君杰,戴玉英,王海云,徐发莹. 慢性束缚及夹尾刺激致大鼠肠易激综合征模型的建立及其内脏敏感性评价. 中国中西医结合消化杂志 2008; 16: 87-90
- Spence MJ, Moss-Morris R. The cognitive behavioural model of irritable bowel syndrome: a prospective investigation of patients with gastroenteritis. *Gut* 2007; 56: 1066-1071
- Johnson AC, Myers B, Lazovic J, Townner R, Greenwood-Van Meerveld B. Brain activation in response to visceral stimulation in rats with amygdala implants of corticosterone: an fMRI study. *PLoS One* 2010; 5: e8573
- Eutamene H, Bradesi S, Larauche M, Theodorou V, Beaufrand C, Ohning G, Fioramonti J, Cohen M, Bryant AP, Kurtz C, Currie MG, Mayer EA, Bueno L. Guanylate cyclase C-mediated antinociceptive effects of linacotide in rodent models of visceral pain. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 312-e84
- Ma XP, Tan LY, Yang Y, Wu HG, Jiang B, Liu HR, Yang L. Effect of electro-acupuncture on substance P, its receptor and corticotropin-releasing hormone in rats with irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5211-5217
- 安钰,白殿卿,付健,孙晓宁. 乙酸灌肠加束缚应激致大鼠肠易激综合征模型的建立及其评价. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1548-1551
- 朱雪萍,陈卫昌,朱晓黎,董宁征. 脑肠肽、脑肠轴在肠易激综合征模型中作用机制研究. 临床儿科杂志 2008; 26: 236-239
- 王伟岸,钱家鸣,潘国宗,温淑豪,张艳萍. 脑-肠互动指向性条件应激肠易激综合征动物模型的建立. 中华消化杂志 2004; 24: 590-593
- Lü H, Qian JM, Jin GL, Zhou DF, Shen YC. [The establishment of an animal model of gut-brain interaction in irritable bowel syndrome for the evaluation of visceral sensation, motility and psychological behavior.] *Zhonghua Neike Zazhi* 2009; 48:



- 1035-1039
- 31 Van Kerkhoven LA, Laheij RJ, Jansen JB. Meta-analysis: a functional polymorphism in the gene encoding for activity of the serotonin transporter protein is not associated with the irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 979-986
- 32 Camilleri M, Andrews CN, Bharucha AE, Carlson PJ, Ferber I, Stephens D, Smyrk TC, Urrutia R, Aerssens J, Thielemans L, Göhlmann H, van den Wyngaert I, Coulie B. Alterations in expression of p11 and SERT in mucosal biopsy specimens of patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2007; 132: 17-25
- 33 Wang Z, Guo Y, Bradesi S, Labus JS, Maarek JM, Lee K, Winchester WJ, Mayer EA, Holschneider DP. Sex differences in functional brain activation during noxious visceral stimulation in rats. *Pain* 2009; 145: 120-128
- 34 O'Mahony SM, Bulmer DC, Coelho AM, Fitzgerald P, Bongiovanni C, Lee K, Winchester W, Dinan TG, Cryan JF. 5-HT(2B) receptors modulate visceral hypersensitivity in a stress-sensitive animal model of brain-gut axis dysfunction. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 573-578, e124
- 35 Gibney SM, Gosselin RD, Dinan TG, Cryan JF. Colorectal distension-induced prefrontal cortex activation in the Wistar-Kyoto rat: implications for irritable bowel syndrome. *Neuroscience* 2010; 165: 675-683
- 36 Tian SL, Wang XY, Ding GH. Repeated electroacupuncture attenuates chronic visceral hypersensitivity and spinal cord NMDA receptor phosphorylation in a rat irritable bowel syndrome model. *Life Sci* 2008; 83: 356-363
- 37 Liu HR, Wang XM, Zhou EH, Shi Y, Li N, Yuan LS, Wu HG. Acupuncture at both ST25 and ST37 improves the pain threshold of chronic visceral hypersensitivity rats. *Neurochem Res* 2009; 34: 1914-1918
- 38 Xu GY, Winston JH, Chen JD. Electroacupuncture attenuates visceral hyperalgesia and inhibits the enhanced excitability of colon specific sensory neurons in a rat model of irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 1302-e125

## ■同行评价

本文选题恰当, 为临床医师对IBS模型的选择提供帮助.

编辑 曹丽鸥 电编 李薇

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, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部.

## 2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 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.

# 《世界华人消化杂志》投稿须知

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

## 1 投稿总则

1.1 性质 《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。OA最大的优点是面向全国本领域专家及公众开放无需注册, 免费获取PDF等格式的全文, 切实破除了传统性期刊阻碍科学研究成果快速传播的障碍。OA是一项真正意义上的公益性科学传播工具, 编委、作者和读者利益的最大化的目标, 努力推进本学科的繁荣和发展。

《世界华人消化杂志》定价56.00元, 全年2016.00元, 邮发代号82-262, 由世界华人消化杂志编辑部出版。《世界华人消化杂志》主要报道胃肠病学、肝胆病学、胰腺病学、内镜介入与消化外科等多学科的评论及基础研究和临床实践等各类文章, 具体内容涉及: 食管疾病, 如反流性食管炎、Barret's食管、食管静脉曲张和食管癌等; 胃部疾病, 胃食管反流性疾病、胃炎、胃动力障碍、胃出血、胃癌和幽门螺杆菌感染等; 肠道疾病, 如肠道出血、肠穿孔、肠梗阻、肠道炎症(如IBD/CD等)、肠道感染、大肠癌和大肠腺瘤等; 肝胆部疾病如病毒性肝炎、肝硬化、脂肪肝、肝纤维化、肝衰竭、胆石病、胆汁郁积、梗阻性黄疸、肝癌、胆囊癌、胆管癌和门静脉高压等; 胰腺疾病, 如胰腺炎和胰腺癌等; 全身性疾病涉及消化系统, 如自身免疫性及瘀胆性疾病、腹腔疾病、消化不良和代谢性疾病等; 以及与以上疾病相关的基因及基因组学、微生物及分子生物学、病因学、流行病学、免疫学、临床内外科诊断与治疗(如影像、化疗、移植、营养等); 除以上外, 本刊也报道诊断与筛选、内窥镜检查法、影像及先进技术。

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录。国内为中国科技论文统计与分析期刊(科技部列选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》(2008年版)内科学类的核心期刊、《中国学术期刊评价研究

报告-RCCS权威、核心期刊排行榜与指南》和中国知识资源总库收录。2008年度《世界华人消化杂志》总被引频次为2480, 位居内科学类41种期刊的第6位; 影响因子为0.547, 位居内科医学类41种期刊的第17位。《世界华人消化杂志》即年指标0.059, 他引率0.79, 地区分布数29, 基金论文比0.340, 国际论文比0.00, 学科影响指标0.59, 综合评价总分49.5, 位居内科学类41种期刊的第8位。

1.2 栏目 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。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T<sub>1/2</sub>, Vmax不能Vmax,  $\mu$ 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),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (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.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家

标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 $M_r$  30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 $A_r$ (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}$ /L, WBC数用 $1 \times 10^9$ /L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L.  $M_r$ 明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm =  $45 \times 10^{-6}$ ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

《世界华人消化杂志》为中国科技论文统计源核心期刊(2009年)和中文核心期刊要目总览(北京大学图书馆, 2008年版)收录的学术期刊.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-85381901, 传真: 010-85381893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

2.5 统计学符号 (1) $t$ 检验用小写 $t$ ; (2) $F$ 检验用英文大写 $F$ ; (3)卡方检验用希腊文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希腊文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号

分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通

大学医学院附属医院仁济医院,上海市消化疾病研究所.

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材

料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并考入磁盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版. 北京报刊发行局发行, 邮发代号: 82-262.



2010年,《世界华人消化杂志》将坚持开放获取(open access, OA)的出版模式,编辑出版高质量文章,努力实现编委、作者和读者利益的最大化,努力推进本学科的繁荣和发展,向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……,潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……;PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊:序号,作者(列出全体作者),文题,刊名,年,卷,起页-止页,PMID和DOI编号;书籍: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。

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

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

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

### 4.2 研究原著写作格式实例

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

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

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

### 4.4 文献综述写作格式实例

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

### 4.5 研究快报写作格式实例

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

### 4.6 临床经验写作格式实例

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

### 4.7 病例报告写作格式实例

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

## 5 投稿方式

接受在线投稿,不接受其他方式的投稿,如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28 d。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审,2位或以上通过为录用,否则将退稿或修改后再审。接受后的稿件作者需缴纳稿件处理费及发表费,文章发表后可获得1本样刊及10套单行本(稿酬)。

## 6 修回稿须知

6.1 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、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系,修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信,保证无泄密,如果是几个单位合作的论文,则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改,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,所造成的问题由作者承担责任。

6.3 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。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号  
远洋国际中心D座903室  
电话: 010-8538-1892  
传真: 010-8538-1893  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

## 2010-2011年国内国际会议预告

2010-12-18

北京平谷国际软硬镜超声联合技术暨动物模拟培训研讨会  
会议地点: 北京市  
联系方式: pggy2001@126.com

2010-12-26/30

肝胆疾病-肝功能衰竭治疗新理念  
会议地点: 南京市  
联系方式: 025-83106666-66866

2011-01-14/16

第一届全国结直肠癌多学科治疗中青年专家学术大会  
会议地点: 哈尔滨市  
联系方式: 0451-86298096

2011-01-20/22

2011年胃肠道癌症研讨会-胃肠道肿瘤的科学和多学科管理  
会议地点: 美国旧金山  
联系方式: giregistration@jspargo.com

2011-03

中华医学会第四次全国感染性疾病中青年学术会议  
会议地点: 长沙市  
联系方式: medcon@126.com

2011-03-01/31

湖北省医学会结直肠肛门外科学分会2011年学术会议  
会议地点: 十堰市  
联系方式: chqjiang@hotmail.com

2011-03-25

第六届中国消化外科学术会议暨第七届全军肝胆外科学术会议  
会议地点: 北京市  
联系方式: 010-67534765-8888

2011-03-25/27

首届中国腹膜后肿瘤论坛  
会议地点: 北京市  
联系方式: sjtcolorectalsurgery@gmail.com

2011-04-01/30

第九届全国儿童感染性疾病暨第十届全国儿童肝脏疾病学术会议  
会议地点: 扬州市  
联系方式: fuxiaoxia@cma.org.cn

2011-04-08

2011第五届中华消化病学年度讲坛  
会议地点: 北京市  
联系方式: cma\_spd@yahoo.com

2011-04-14/17

第四届全国消化内科危重疑难少见病学术大会  
会议地点: 桂林市  
联系方式: xiaohuayinan2011@yahoo.com.cn

2011-04-15/17

第二届中国肿瘤介入与微创治疗大会  
会议地点: 上海市  
联系方式: 010-84288944

2011-04-22/24

第九届全国内镜外科学术研讨会  
会议地点: 济南市  
联系方式: gandannejing@163.com

2011-05-27/29

第十四届中西医结合学会大肠肛门病专业委员会学术研讨会  
会议地点: 沈阳市  
联系方式: gcyy88@163.com

2011-06-11/12

2011国际消化疾病论坛  
会议地点: 香港  
联系方式: www.iddforum.com

2011-06-16/20

第二十三次全国中西医结合消化学术会议  
会议地点: 太原市  
联系方式: 0351-4174328

2011-06-23/26

第十五次全国病毒性肝炎及肝病学术会议  
会议地点: 沈阳市  
联系方式: lijuyi@cma.org.cn

2011-07-07

第八届全国大肠癌学术会议暨2011哈尔滨国际结直肠癌外科周  
会议地点: 哈尔滨市  
联系方式: rainy\_gg@yeah.net

2011-08-04/07

第五届中国肿瘤内科大会  
会议地点: 北京市  
联系方式: 010-87788701

2011-09-14/18

第十四届全国临床肿瘤学大会暨2011年CSCO学术年会  
会议地点: 福州市  
联系方式: 010-67726451

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

杜奕奇 副教授

中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

范学工 教授

中南大学湘雅医院感染病科

傅春彬 主任医师

吉化集团公司总医院消化内科

高英堂 研究员

天津市第三中心医院, 天津市肝胆疾病研究所分子细胞室

管冬元 副教授

上海中医药大学基础医学院实验中医教研室

郭晓钟 教授

中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

郝纯毅 主任医师

北京肿瘤医院肿瘤外科

郝建宇 教授

首都医科大学附属北京朝阳医院消化内科

何敏 教授

广西医科大学医学科学实验中心

洪天配 教授

北京大学第三医院内分泌科

黄晓东 主任医师

武汉市中心医院消化内科

季菊玲 副教授

南通大学医学院病理教研室

江米足 教授

浙江大学医学院附属儿童医院儿科

李涛 副主任医师

北京大学人民医院肝胆外科

刘冰熔 教授

黑龙江省哈尔滨医科大学附属第二临床医院消化内科

龙学颖 副主任医师

中南大学湘雅医院放射科

邱伟华 副主任医师

上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

任晓峰 教授

东北农业大学动物医学学院微生物室

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

唐南洪 教授

福建医科大学附属协和医院肝胆外科研究所

王健生 教授

西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤外科

王江滨 教授

吉林大学中日联谊医院消化内科

肖文华 主任医师

中国人民解放军总医院第一附属医院肿瘤科

严惟力 副教授

上海交通大学医学院附属仁济医院核医学科

颜宏利 教授

中国人民解放军第二军医大学遗传学教研室

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

张春虎 副教授

中南大学湘雅医院中西医结合研究所

张占卿 主任医师

上海市公共卫生中心

赵秀英 副教授

首都医科大学附属北京佑安医院临床检验中心

朱亮 副教授

大连医科大学生理教研室