

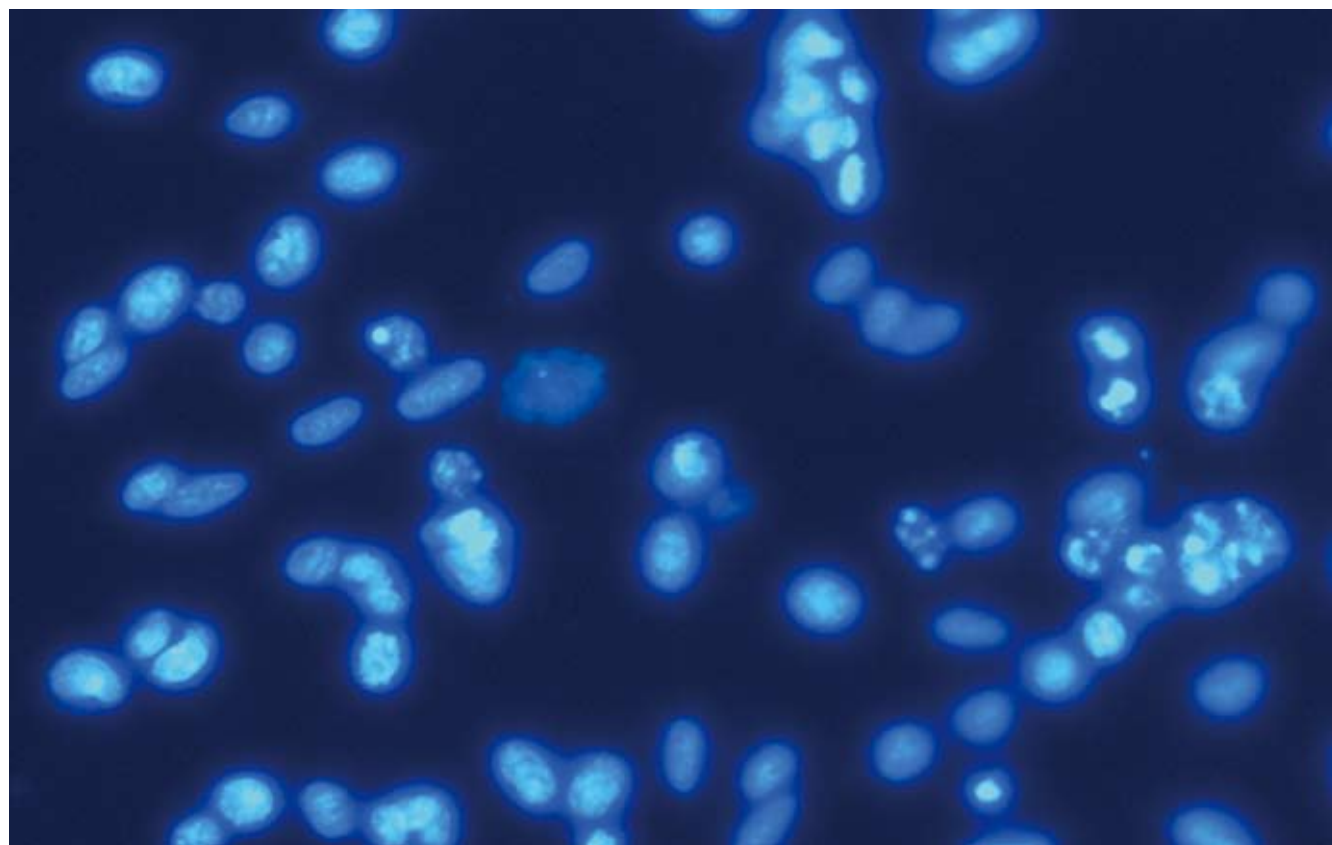
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)
CN 14-1260/R

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2011 年 5 月 28 日 第 19 卷 第 15 期 (Volume 19 Number 15)



15/2011

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2009-01-01/2011-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

总顾问

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

名誉总编辑

潘伯荣教授

社长/总编辑

马连生教授

副总编辑

纪小龙教授
姜洪池教授
王苑本教授
吴云林教授
徐克成教授
杨思凤教授
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
苒新明教授
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
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
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
于珮主任医师

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
陈凇教授
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
英卫东教授
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

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
徐迅迪教授
徐洪副教授
徐戈良教授
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
杨江华副教授
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
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

蔡淦教授

陈治水主任医师
杜群副研究员
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
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
徐庆教授
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
李瑗教授
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
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师

倪才方教授
施海彬教授
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
陈敬贤教授
陈秋生教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
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
魏继福副研究员
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
李菊玲副教授
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 ● 2011 年 5 月 28 日 第 19 卷 第 15 期 (总第347期)

述 评

1541 胰腺内分泌肿瘤的研究进展

黄颖秋

基 础 研 究

1550 逆灌注对移植肝缺血再灌注损伤的影响

刘其雨, 李立, 李晓延, 陈刚, 赵英鹏, 白建华, 朱新锋

1555 香芹酚对肝细胞癌HepG2细胞凋亡的诱导作用及其分子机制

殷清华, 庄英帜

1561 丹参酮 II A调节COX-2对人结肠癌HCT-116细胞VEGF表达的影响

周利红, 王炎, 范忠泽, 吴琮, 刘宣, 慈书俊, 李琦

临 床 研 究

1568 自身免疫性肝病的临床特点

王振威, 王颖, 王炳元, 丁媛媛, 李金萍, 马力, 张红

1574 MMP-3和VEGF在胰腺癌中的表达及临床意义

李春龙, 崔云甫, 杜雪飞, 邵升

1579 TFF3和 β -catenin在不同大肠黏膜组织中的表达

于大中, 于亚男, 田宇彬, 赵清喜, 孔心涓, 张翠萍, 魏良洲

1585 hARD1在人大肠腺癌中的表达及与肿瘤分化的相关性

白松, 邵佳发, 王维琦, 钟孝斌, 赵翔宇

焦 点 论 坛

1591 特殊人群HBV感染的抗病毒治疗

朱传武, 王海燕, 方煥, 汪茂荣, 李平, 黄利华, 姚悦萍, 柳龙根, 邵幼林, 谭友文, 熊清芳, 杨永峰, 赵卫峰, 陈良云, 潘修成, 任劲松, 祁丹, 易建华, 沈贵月

1592 乙型肝炎肝硬化的抗病毒治疗

朱传武, 王海燕, 方煥

1598 HBV相关性肝衰竭的抗病毒治疗

汪茂荣, 李平

1604 HBV感染者化疗时的抗病毒治疗

黄利华, 姚悦萍

1609 HBV/HIV重叠感染的抗病毒治疗

柳龙根, 邵幼林

1614 HBV/HCV重叠感染的抗病毒治疗

谭友文

1620 HBV相关性肾炎的抗病毒治疗

熊清芳, 杨永峰

1624 儿童慢性乙型肝炎特征及抗病毒治疗

赵卫峰, 陈良云

1629 伴有自身免疫性疾病的慢性乙型肝炎患者的抗病毒治疗

潘修成, 任劲松

1634 育龄期慢性乙型肝炎女性患者的抗病毒治疗

祁丹, 易建华, 沈贵月

临床经验	1639 慢性HBV感染者复发期和免疫清除期在不同年龄阶段的临床病毒学特征 吴殿磊, 徐光华, 冯继红, 陈延平, 刘娜
附录	1644 《世界华人消化杂志》投稿须知 1649 2011年国内国际会议预告
志 谢	1650 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	1554 《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》 1567 《世界华人消化杂志》参考文献要求 1573 《世界华人消化杂志》外文字符标准 1597 汤姆森-路透公布2009年WJG影响因子2.092 1603 招聘生物医学编辑部主任 1613 WJG总被引频次排名位于第174名 1619 《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》 1623 《世界华人消化杂志》栏目设置 1628 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 1633 WJG成功通过评审被PMC收录 1638 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 1643 《世界华人消化杂志》正文要求
封面故事	殷清华, 庄英帆. 香芹酚对肝细胞癌HepG2细胞凋亡的诱导作用及其分子机制. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1555-1560 http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1555.asp
本期责任人	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 李军亮; 审核编辑 李军亮; 形式规范 马连生

<p>世界华人消化杂志</p> <p>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</p> <p>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (旬刊)</p> <p>创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2011-05-28 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 太原消化病防治中心</p>	<p>编辑 世界华人消化杂志编辑委员会 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</p> <p>出版 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</p> <p>印刷 北京科信印刷厂</p> <p>发行 国内: 北京报刊发行局 国外: 中国国际图书贸易总公司 (100044, 北京市399信箱)</p> <p>订购 全国各地邮电局</p> <p>邮购 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</p>	<p>世界华人消化杂志是一份同行评议性的旬刊, 是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录.</p> <p>世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流.</p> <p>特别声明 本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.</p> <p>2011年版权归世界华人消化杂志所有</p>
<p>中国标准连续出版物号 ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) 邮发代号 国外代号 国内定价 广告经营许可证 CN 14-1260/R 82-262 M 4481 每期56.00元 全年1616.00元 1401004000050</p> <p>www.wjgnet.com</p>		

World Chinese Journal of Digestology

May 2011 Contents in Brief Volume 19 Number 15

EDITORIAL	1541 Recent advances in understanding pancreatic endocrine tumors <i>Huang YQ</i>
BASIC RESEARCH	<p>1550 Liver graft injury induced by ischemia and reperfusion secondary to retrograde reperfusion <i>Liu QY, Li L, Li XY, Chen G, Zhao YP, Bai JH, Zhu XF</i></p> <p>1555 Molecular mechanisms involved in carvacrol-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2 <i>Yin QH, Zhuang YZ</i></p> <p>1561 Tan IIA inhibits COX-2-regulated VEGF expression in human colon cancer HCT-116 cells <i>Zhou LH, Wang Y, Fan ZZ, Wu Q, Liu X, Ci SJ, Li Q</i></p>
CLINICAL RESEARCH	<p>1568 Clinical features of autoimmune liver disease <i>Wang ZW, Wang Y, Wang BY, Ding YY, Li JP, Ma L, Zhang H</i></p> <p>1574 Clinical significance of matrix metalloproteinases-3 and vascular endothelial growth factor expression in pancreatic carcinoma <i>Li CL, Cui YF, Du XF, Tai S</i></p> <p>1579 Expression of trefoil factor family-3 and β-catenin in different types of colorectal mucosal lesions <i>Yu DZ, Yu YN, Tian ZB, Zhao QX, Kong XJ, Zhang CP, Wei LZ</i></p> <p>1585 Correlation between hARD1 expression and tumor differentiation in human colorectal carcinoma <i>Bai S, Shao JF, Wang WQ, Zhong XB, Zhao XY</i></p>
TOPIC HIGHLIGHT	<p>1591 Antiviral therapy in special populations of patients with hepatitis B virus infection <i>Zhu CW, Wang HY, Fang H, Wang MR, Li P, Huang LH, Yao YP, Liu LY, Shao YL, Tan YW, Xiong QF, Yang YF, Zhao WF, Chen LY, Pan XC, Ren JS, Qi D, Yi JH, Shen GY</i></p> <p>1592 Antiviral therapy in patients with hepatitis B virus-related cirrhosis <i>Zhu CW, Wang HY, Fang H</i></p> <p>1598 Value of antiviral therapy in patients with hepatitis B virus-related liver failure <i>Wang MR, Li P</i></p> <p>1604 Antiviral treatment in patients with hepatitis B virus infection receiving chemotherapy <i>Huang LH, Yao YP</i></p> <p>1609 Antiviral therapy in patients co-infected with hepatitis B virus and human immunodeficiency virus <i>Liu LG, Shao YL</i></p> <p>1614 Antiviral treatment of hepatitis B virus and hepatitis C virus co-infection <i>Tan YW</i></p> <p>1620 Antiviral therapy in patients with hepatitis B virus-associated glomerulonephritis <i>Xiong QF, Yang YF</i></p> <p>1624 Viral hepatitis B in children: clinical characteristics and antiviral treatment <i>Zhao WF, Chen LY</i></p> <p>1629 Antiviral therapy in patients with concomitant chronic hepatitis B and autoimmune diseases <i>Pan XC, Ren JS</i></p> <p>1634 Antiviral therapy of chronic hepatitis B in women of childbearing age <i>Qi D, Yi JH, Shen GY</i></p>

CLINICAL PRACTICE	1639 Clinical and virological characteristics of patients with chronic hepatitis B during immune clearance or reactivation <i>Wu DL, Xu GH, Feng JH, Chen YP, Liu N</i>
APPENDIX	1644 Instructions to authors of World Chinese Journal of Digestology 1649 Meeting events calendar in 2011
ACKNOWLEDGMENT	1650 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology
COVER	<i>Yin QH, Zhuang YZ.</i> Molecular mechanisms involved in carvacrol-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2011; 19(15): 1555-1560 http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1555.asp
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xiao-Fang Liu</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Electronic Page Editor: <i>Ji-Cai He</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Jun-Liang Li</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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 May 28, 2011

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

RESPONSIBLE INSTITUTION

Department of Science and Technology
of Shanxi Province

SPONSOR

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

EDITING

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

PRINTING

Beijing Kexin Printing House

PUBLISHING

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

OVERSEAS DISTRIBUTOR

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

HONORARY EDITOR-IN-CHIEF

Bo-Rong Pan

EDITOR-IN-CHIEF

Lian-Sheng Ma

SCIENCE EDITORS

Director: 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

© 2011 Published by *WCJD*. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without the prior permission of *WCJD*. Authors are required to grant *WCJD* an exclusive licence to publish.

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

Copyright © 2011 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

胰腺内分泌肿瘤的研究进展

黄颖秋

黄颖秋, 中国医科大学第五临床学院 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科 辽宁省本溪市 117000

黄颖秋, 主任医师, 教授, 主要从事胃肠动力疾病、消化系统肿瘤及肝硬化的基础与临床研究.

通讯作者: 黄颖秋, 教授, 主任医师, 117000, 辽宁省本溪市平山区人民路29号, 中国医科大学第五临床学院, 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科. huangyingqiu_bx@126.com
电话: 0414-2215137

收稿日期: 2011-03-16 修回日期: 2011-05-17

接受日期: 2011-05-24 在线出版日期: 2011-05-28

Recent advances in understanding pancreatic endocrine tumors

Ying-Qiu Huang

Ying-Qiu Huang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group) Co., Ltd; the Fifth Clinical College of China Medical University, Benxi 117000, Liaoning Province, China

Correspondence to: Professor Ying-Qiu Huang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group) Co., Ltd; the Fifth Clinical College of China Medical University, 29 Renmin Road, Pingshan District, Benxi 117000, Liaoning Province, China. huangyingqiu_bx@126.com

Received: 2011-03-16 Revised: 2011-05-17

Accepted: 2011-05-24 Published online: 2011-05-28

Abstract

Pancreatic endocrine tumors (PETs) are uncommon and have an incidence of approximately 4-5 per 1 000 000 people, accounting for 1%-2% of all pancreatic neoplasms. They usually grow slowly, eventually metastasize and lead to death. PETs can be classified as functioning or non-functioning tumors based on clinical manifestation. The pathogenesis of PETs may involve abnormal expression of CD10, CD44, CD99, p27, COX2, Ki-67, KIT, CK19, ARHI, RUNX1T1, and survivin genes, loss of heterozygosity on chromosomes, hypermethylation of tumor suppressor genes, and overexpression of ghrelin. Chromogranin A (CgA) has long been used as an important broad-spectrum marker for the identification of PETs. KIT and endoglin are new independent prognostic markers for PETs. The diagnosis is based on histopathology demonstrating neuroendocrine features such as positive staining for chromogranin A and specific

hormones such as gastrin, proinsulin, vasoactive intestinal peptide (VIP) and glucagon. In addition to standard localization procedures, radiology diagnosis including computed tomography (CT), positron emission tomography and computed tomography (PET/CT), magnetic resonance imaging (MRI), ultrasound (US), endoscopic ultrasound (EUS), laparoscopic ultrasound (LUS), dynamic enhanced spiral CT, selective arterial stimulation and venous sampling (ASVS), and somatostatin receptor scintigraphy (SRS) are performed. Surgery is still one of the cornerstones in the management of PETs. Laparoscopy, and drugs of somatostatin analogs are routinely used. Understanding of the recent advances of PETs has important implications for the early diagnosis and treatment of PETs.

Key Words: Pancreatic endocrine tumors; Pathogenesis; Diagnosis; Therapy; Tumor markers; Somatostatin receptor

Huang YQ. Recent advances in understanding pancreatic endocrine tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1541-1549

摘要

胰腺内分泌肿瘤(pancreatic endocrine tumors, PETs)是一类少见肿瘤, 发病率约占总人口的4-5/100万, 占胰腺肿瘤的1%-2%, 病程缓慢, 最终发生转移致死. 根据其临床表现, PETs分为功能性和无功能性两类. CD10、CD44、CD99、p27、COX2、Ki-67、KIT、CK19、ARHI、RUNX1T1、survivin等基因表达异常、染色体杂合缺失、抑癌基因甲基化及Ghrelin过度表达等因素在PETs的发病机制中发挥重要作用. 铬粒素A(CgA)已作为PETs重要的血清学标志物. KIT和内皮蛋白是PETs新的独立预后指标. CgA的组织病理学阳性结果以及胃泌素、胰岛素原、血管活性肠肽(VIP)、胰高糖素等特异性激素检测可作为PETs的病理和定性诊断依据. 此外, 除标准的定位程序外, 计算机断层扫描(CT)、正电子发射断层成像与计算机断层扫描(PET/CT)、磁共振成像(MRI)、超声(US)、超声内镜(EUS)、腹腔镜超声(LUS)、动态增强螺旋CT

■背景资料

胰腺内分泌肿瘤是一类少见的肿瘤, 源于APUD系统, 能分泌多种神经内分泌标志物和相应的胃肠激素, 临床表现各异. 发病机制尚不十分清楚. 基因表达异常、染色体缺失、抑癌基因甲基化、Ghrelin等可能在其发病机制中起重要作用. 新的组织病理学诊断标准及分子生物学、遗传学标志物的发现对其预后评估有重要参考价值.

■同行评议者

郝建宇, 教授, 首都医科大学附属北京朝阳医院消化内科

■ 研发前沿

分子生物学技术的进步,从基因角度研究PETs的发病机制已成为目前关注的焦点。CD10、CD44、CD99、p27、COX2、Ki-67、KIT等相关基因表达异常可能在肿瘤的发生发展及预后评估中发挥重要作用。寻找PETs新的血清学标志物是目前努力的方向。

扫描、选择性动脉内刺激试验(ASVS)及生长抑素受体闪烁成像(SRS)等技术也用于PETs的定位诊断。外科手术仍是PETs治疗的首选。腹腔镜及生长抑素类似物也已常规应用。上述最新进展为PETs的早期诊断和治疗提供了新的思路。

关键词: 胰腺内分泌肿瘤;发病机制;诊断;治疗;肿瘤标志物;生长抑素受体

黄颖秋. 胰腺内分泌肿瘤的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1541-1549

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1541.asp>

0 引言

胰腺内分泌肿瘤(pancreatic endocrine tumors, PETs)又称胰岛细胞瘤,是源于胰腺多能神经内分泌干细胞的一类肿瘤,由良性逐渐发展成恶性,病程缓慢,临床少见或罕见,其发病率约为4-5/100万^[1,2]。根据有无临床症状及其分泌的激素水平,传统上PETs又分为功能性和无功能性(non-functional, NF)两类:前者包括胃泌素瘤(gastrinomas)、胰岛素瘤(insulinoma)、胰高血糖素瘤(glucagonoma)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide)瘤、生长抑素瘤(somatostatinoma)、生长激素释放因子(growth-hormone releasing factor)瘤、ACTH瘤、胰多肽(pancreatic polypeptide)瘤、致类癌综合征PETs(PETs causing carcinoid syndrome)、致高血钙综合征PETs(PETs causing hypercalcemia)等10种^[1,2];后者即NFPETs,无临床症状,激素分泌水平低^[1]。其中,胃泌素瘤、胰岛素瘤和NFPETs是发病率最高的3种PETs,而其他几种功能性PETs发病率很低。少数PETs患者具有一定的遗传易感性。多发性内分泌肿瘤1型(multiple endocrine neoplasm type 1, MEN1)的遗传外显率很高。但大多数PETs为散发,其分子发生机制和组织来源尚未十分清楚。晚近,随着分子生物学和诊断技术的飞速发展,人们对PETs的组织病理学分类、发病机制及其诊断水平有了更新的认识,治疗手段也更趋多样化。了解PETs研究领域的最新进展,对PETs的早期诊断、治疗方案的选择以及预后评估均有其十分重要的意义。

1 PETs组织病理学分类的新认识

目前,预测PETs有无局部浸润或转移等生物学行为仍有难度,PETs的某些临床病理学特征有助于判定肿瘤患者的预后。据此,2004年,WHO

根据肿瘤大小、血管浸润、核分裂象及Ki-67指数等指标,制定了PETs新的组织病理学分类标准,将PETs分为WHO1a, WHO1b, WHO2和WHO3四类。WHO1a是指肿瘤组织分化良好、无临床症状的良性PETs;WHO1b是指肿瘤组织分化良好,但其良恶性尚未确定的PETs,其肿瘤直径 ≥ 2 cm,有丝分裂象 $\geq 2/10$ 高倍视野, Ki-67 $>2\%$ 或肿瘤血管浸润;WHO2是指肿瘤组织分化良好的恶性PETs,可见局部浸润及转移;WHO3是指肿瘤组织分化差的恶性PETs,其癌细胞有丝分裂象 $\geq 10/10$ 高倍视野^[3]。该分类既考虑了PETs的临床特征,也兼顾了其病理特征,包括肿瘤大小、肿瘤细胞有丝分裂象的数目、细胞增殖指数、微血管密度、肿瘤的血管浸润及转移等与疾病预后密切相关的因素^[3]。WHO的4种分类是独立影响PETs预后的重要因素。诸多研究发现,微血管密度在PETs的发生发展中起一定作用,其显著下降可能表明PETs预后不良^[4]。一般认为,肿瘤体积的大小与其生物学行为有关,肿瘤直径 ≥ 2 cm无疑增加了PETs恶性的风险,而肿瘤直径 >3 cm应高度怀疑恶性^[5]。一项长期的随访研究证实,癌细胞有丝分裂象 $\geq 10/10$ 高倍视野可预示PETs的高度恶性和较低的生存率^[6]。细胞增殖指标Ki-67 $>2\%$ 已被认为是PETs预后不良的独立危险因素^[6,7],而Ki-67 $>5\%$ 则被证实与NFPETs显著相关^[8]。还有研究发现,另一种细胞增殖指标拓扑异构酶II α 也可作为恶性PETs预后不良的独立危险因素^[9]。此外,肿瘤组织的血管浸润、周围神经浸润及转移等均可作为PETs不良预后的影响因素^[5]。

2 PETs发病机制的新进展

2.1 基因表达异常 分子生物学技术的日臻成熟,使人们更有机会从基因角度关注PETs的发病机制以及其生物学行为对疾病预后的影响。CD10、CD44、CD99、p27、COX2等基因可能与PETs的良恶性及预后密切相关。研究显示,CD10的阳性染色与PETs的细胞增殖指标、肿瘤大小、肝转移及其生存率下降显著相关^[10], CD44的变异亚型v6和v9可作为判定PETs良性及预后良好的一项指标^[11]。而CD99、p27的表达下调,以及COX2的表达上调与细胞增殖指标Ki-67显著相关^[3,12-14]。此外,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的过度表达与PETs的浸润性生长以及肝转移显著相关^[15]。但最近研究发现,内皮蛋白(endoglin)

在胃肠胰腺神经内分泌肿瘤中过度表达, 并与肿瘤的大小、转移及浸润程度显著相关, 但却与VEGF无关, 提示, 内皮蛋白可能是PETs的一种潜在标志物^[16]. 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、肝细胞生长因子受体(hepatocyte growth factor receptor, HGFR)在胃泌素瘤中呈过度表达, 并与胃泌素瘤的肝转移及治愈率降低显著相关, 其中EGFR的过度表达还与胃泌素瘤的进行性生长及瘤体大小有关^[17]. 癌基因HER2/neu(EGFR家族成员)的mRNA在胃泌素瘤中呈过度表达, 也与胃泌素瘤的肝转移显著相关, 但与瘤体大小无关^[18]. Nasir等^[19]研究发现, RUNX1T1蛋白的表达下调可作为预测PETs肝转移的一种新的标志物. 业已证实, 细胞角蛋白CK8、CK18、CK19在源于上皮组织的恶性细胞中广泛表达, 近年研究发现, 上述细胞角蛋白基因也存在于PETs患者^[5,20]. CK19的阳性染色不仅可以区别PETs的良恶性, 还可作为PETs患者的预后指标^[3,20,21]. 最近, Zhang等^[21]采用免疫组织化学染色检测了包括Ki-67、KIT、CK19、Pdx-1、Pax4和Pax6等胰岛细胞分化指标, 应用Cox风险比例回归分析了PETs患者的临床病理特征、免疫组织化学结果与预后的关系. 多变量分析发现, 只有WHO分类标准和KIT表达可作为PETs的独立预后因素. 依据KIT和CK19的表达情况, 他们提出了PETs的免疫组化分类标准: 低风险肿瘤(KIT-/CK19-)、中度风险肿瘤(KIT-/CK19+)和高风险肿瘤(KIT+/CK19+). 该研究认为, KIT是一种新的、独立的PETs预后标志物^[21]. 值得一提的是, 作为Ras家族成员之一的ARHI, 与其他家族成员不同, 它具有抑制肿瘤细胞生长的作用, 相当于抑癌基因. 研究发现, ARHI的mRNA表达下调与PETs的生存期下降显著相关^[22]. 业已证实, Survivin基因抑制细胞凋亡, 促进肿瘤细胞的发生发展. 研究显示, 在发生肝转移的胃肠胰腺神经内分泌肿瘤患者中, Survivin基因表达阳性与预后不良显著相关^[23].

2.2 Ghrelin在PETs中的作用 Ghrelin是一种新的脑肠肽, 是迄今发现的唯一的生长激素促分泌素受体(GHS-R)的内源性配体. 根据氨基酸的羧基端序列不同, GHS-R分为GHS-R1a和GHS-R1b 2种类型^[2,24]. GHS-R1a是GHS-R的活性形式, 而GHS-R1b受体仅由第一外显子编码, 是GHS-R1a受体的羧基端被剪切后的一种形式, 因而不具有生物活性^[24]. GHS-R在胰腺组织、腺泡细胞及胰岛的 α 细胞和 β 细胞中均呈阳性表达^[25-27].

Ghrelin与其受体结合后发挥其生物学效应. 业已证实, 胰腺和胰岛细胞均可分泌Ghrelin^[28], 少量Ghrelin免疫活性细胞散在分布于与胰腺导管相连的区域内^[29]. 研究发现, 胰腺的腺泡细胞中, Ghrelin蛋白和Ghrelin mRNA均呈阳性表达^[26]. Ghrelin与其受体结合后除了能促进生长激素(GH)释放外, 还可能在PETs的发生发展中起重要作用^[30]. Volante等^[31]应用免疫组织化学、原位杂交及RT-PCR法分别检测了28例PETs组织中的Ghrelin蛋白和mRNA的表达情况, 结果显示, 39%的PETs的Ghrelin蛋白表达阳性, 而原位杂交及RT-PCR法测定的Ghrelin mRNA的阳性结果分别高达68%和79%. 此研究还发现, PETs组织中GHS-R1a和GHS-R1b的阳性表达分别为25%和50%, 其中, GHS-R1a阳性者均为胰岛素瘤, 且其GHS-R1b也呈阳性表达. 另有研究显示, PETs组织中Ghrelin蛋白和Ghrelin mRNA的阳性表达率分别为68%和95%, GHS-R蛋白和mRNA的阳性表达率分别为70%和100%, 但其血浆中的Ghrelin水平与正常对照组无显著差别, 其原因尚不清楚^[32]. 此外, 胰高血糖素瘤患者的肿瘤组织中Ghrelin mRNA也呈阳性表达^[33], 而作为NFPETs中的一种特殊类型Ghrelinoma, 不仅其肿瘤组织中的Ghrelin蛋白呈过度表达, 血浆中的Ghrelin水平也显著高于正常对照组, 但血浆中的GH水平与正常对照组无显著差异^[34], 因迄今仅见一例报道, 相关机制有待于进一步研究. 最近, 有人成功建立了Ghrelinoma的小鼠模型, 为相关研究提供了实验基础^[35,36].

2.3 基因染色体的杂合缺失 肿瘤的发生、发展是一个多阶段多基因变化的过程, 涉及许多癌基因的活化和抑癌基因的失活. 这些基因事件可发生在单碱基水平, 但更多是发生在染色体水平, 其中包括染色体整条或区域性的缺失. 所谓杂合性缺失(loss of heterozygosity, LOH)即指一个位点上两个多态性的等位基因中的一个出现缺失. LOH在肿瘤细胞中是一种十分常见的DNA变异. 等位基因已经异常的抑癌基因发生LOH可导致基因的失活, 进而导致肿瘤的发生发展. 研究显示, 1号染色体的LOH与PETs患者的生存期缩短、肿瘤的进行性生长及肝转移密切相关, 在肝转移的PETs患者中1号染色体的LOH的发生率显著高于无肝转移PETs患者就是一个例证^[37]. Chen等^[38]研究发现, 胃泌素瘤患者存在1q21-25和1q31-32两个1q LOH的频发区, 此区域的LOH与肿瘤的进行性生长及肿瘤术后的肝转

■相关报道

Corbetta等发现了一种新的无功能胰腺内分泌肿瘤Ghrelinoma, 目前世界上也仅见一例报道. 其主要表现为血浆Ghrelin水平高于正常对照组50倍以上, Ghrelin蛋白在肿瘤组织中显著表达, 血浆GH、IGF-1水平正常, 除肥胖外, 无其他激素引起的临床症状.

■创新盘点

本文创新性地综述了多种基因在PETs发生发展中的作用机制,着重介绍了多种分子生物学、遗传学标志物的研究进展,为基础研究和临床治疗提供了新的思路。

移显著相关。1q21.3-23.2、1q31.3及22q12.2-12.3三个区域的LOH可能与MEN1基因无关的独立的胰岛素瘤的发病相关,而1q21.3-23.2与22q12.3两个区域的LOH均与散发型恶性胰岛素瘤的发病有关^[39],MEN1基因的LOH发生在43%的散发型胃泌素瘤和17%的散发型胰岛素瘤中^[20,40]。3号染色体的LOH与PETs的肝转移密切相关。研究显示,50%的肝转移PETs患者发生3号染色体LOH,而无肝转移PETs患者未出现LOH^[41]。此外,6q22和6q23-24两个区域的LOH与PETs的恶性程度有关^[42]。性染色体中X染色体的LOH与PETs的恶性进展相关。研究显示,56%的女性散发型胃泌素瘤患者发生X染色体LOH,且与胃泌素瘤手术后的肿瘤进行性生长及肿瘤大小显著相关^[43],女性胃泌素瘤患者中频发X染色体LOH可能是导致女性患者预后不良的因素之一。

2.4 抑癌基因的甲基化 甲基化是由酶介导的一种化学修饰,即将甲基选择性地添加到蛋白质、DNA或RNA上,虽未改变核苷酸顺序及组成,但基因表达却受影响。DNA甲基化能引起染色体结构、DNA构象、DNA稳定性及DNA与蛋白质相互作用方式的改变,从而控制基因表达。甲基化位点可随DNA的复制而遗传,因为DNA复制后,甲基化酶可将新合成的未甲基化的位点进行甲基化。DNA甲基化模式的改变,尤其是某些抑癌基因局部甲基化水平的异常增加,在PETs的发生和发展过程中起到了不容忽视的作用^[39]。研究显示,PETs中的多种抑癌基因由于启动子甲基化而失活^[40]。其中,RASSF1A、p16、MGMT、RAR- β 及MLH1是甲基化发生频率最高的抑癌基因^[44],PETs患者中MLH1抑癌基因的甲基化可导致微卫星不稳定现象,并与患者的预后相关^[45]。此外,CpG岛甲基化表型(CpG island methylator phenotype, CIMP)涉及到多个基因启动子同时甲基化,具有肿瘤特异性,与多种肿瘤的发生或预后相关,但有关PETs的CpG岛甲基化表型的研究却罕见报道^[2]。最近,Liu等^[46]对一组神经内分泌肿瘤的RASSF1A、p14、p16、MGMT四个基因的甲基化研究发现,CpG岛甲基化表型与肿瘤的预后可能有关,二个或二个以上基因发生甲基化者与肿瘤的肝转移显著相关。

3 PETs诊断技术

3.1 PETs的血清标志物 PETs可分泌多种神经内分泌标志物,如神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)、突触素(synaptophysins,

SYN)和铬粒素A(chromogranin A, CgA)。NSE是参与糖酵解途径的烯醇化酶中的一种,存在于神经组织和神经内分泌组织中。神经内分泌肿瘤和PETs的血清中NSE可显著增高。SYN是一种与突触结构和功能密切相关的囊泡吸附蛋白,有调节神经递质释放的作用。CgA是一种分子量为77 000 Da的酸性蛋白,存在于嗜铬颗粒中,大多数PETs患者血清CgA水平升高^[47,48],被认为是目前最有价值的PETs血清标志物^[49],血清CgA的敏感性与肿瘤类型、分化程度及大小有关。上述三种标志物常被用于PETs的血清学诊断指标。而细胞角蛋白CK8、CK18、CK19以及神经细胞内微管、微丝等细胞骨架中间丝蛋白也在PETs中显著表达^[5,20],他们可能成为PETs潜在的血清学诊断标志物。此外,Ghrelin作为一种新的脑肠肽虽然在PETs的肿瘤组织中呈过度表达,但血浆中Ghrelin水平却与正常对照组无显著差异^[32]。而作为无功能性PETs中的一种特殊类型Ghrelinoma,不仅其肿瘤组织中的Ghrelin蛋白呈过度表达,其血浆中的Ghrelin水平也显著高于正常对照组^[34],提示Ghrelin可能成为Ghrelinoma这种特殊类型PETs的潜在血清学标志物。

3.2 PETs的影像诊断 PETs的定位诊断方法很多,包括螺旋CT(helical computed tomography, hCT)、正电子发射断层成像与计算机断层扫描(PET/CT)、磁共振成像(MRI)、超声(US)、超声内镜(EUS)、腹腔镜超声(laparoscopic ultrasound, LUS)、开腹术中超声(IOUS)、血管造影(DSA)、选择性动脉内刺激试验(ASVS)等^[1,2,50]。单纯的US定位诊断其阳性率相对较低,一般在9%-63%,若US和CT联合应用可显著提高诊断的阳性率,其敏感性高达84%^[51]。在全部的影像定位技术中,CT联合EUS或联合EUS引导下的细针穿刺(EUS-FNA)被认为是最有效的检查手段,尤其对胰岛素瘤的诊断,其敏感性可高达100%^[51]。而胃泌素瘤最有效的定位诊断方法是EUS与奥曲肽受体显像的联合应用^[51]。研究证实,EUS对PETs的总体敏感性可高达95.8%^[52],且EUS-FNA可用于组织学诊断,对于不能手术治疗的患者,还可以在EUS引导下注射无水乙醇治疗^[52]。EUS-FNA活检具有分辨率高、穿刺针短、能实时超声显影避开血管等优势,是一种安全有效的定位和组织学诊断方法,EUS-FNA不仅能确定PETs的恶性度,还可以预测PETs的5年生存率^[53,54]。但因EUS-FNA标本常导致微小的碎片组织也使其诊断具有局限性,倘若在

EUS-FNA检查的同时, 进行一些标志物的免疫组化分析无疑可显著提高诊断的准确性. 最近, Hosoda等^[55]应用CK7、CDX2免疫组织化学染色、神经内分泌标志物及KRAS基因突变等指标进行了相关研究, 他们采用如下的诊断标准: 神经内分泌标志物阴性, CK7阳性, KRAS基因突变为浸润性胰管癌; 神经内分泌标志物广泛阳性, CK7、CDX2阴性, 野生型KRAS基因为PETs; 神经内分泌标志物阳性不超过病灶范围, CK7、CDX2染色呈多样性, 野生型KRAS基因为胰腺腺泡细胞瘤. 按上述标准, 他们分别对25例浸润性胰管癌患者、25例PETs患者及11例胰腺腺泡细胞瘤患者的手术切除标本及51例EUS-FNA的细胞组织标本进行了对比研究. 在大多数的配对研究中, 两种标本的检测结果显示出高度的一致性. 除了KRAS基因突变外, CK7和/或CDX2表达仅在恶性PETs中偶然看到, 但并不存在于高分化的PETs中, 提示PETs的胰管变异可作为浸润性疾病的一个预测指标, 这些标志物的检测不仅有助于EUS-FNA对PETs诊断, 同时也有助于与其他胰腺肿瘤的鉴别. 近年研究发现, 应用PET/CT技术可显著提高无症状微小PETs的检出率^[51]. Inagaki等^[56]通过内镜逆行胰管造影(endoscopic retrograde pancreatography, ERP)和EUS检查发现了一例胰管梗阻的特殊患者, 后经PET/CT确诊为是一种十分罕见和独特的以肿瘤组织在胰管内广泛生长为特征的恶性NFPETs, 由于术前的精确诊断使保留胃窦的胰十二指肠切除和局部淋巴结清除术得以成功实施, 提示PET/CT有助于NFPETs的恶性程度预测和术前诊断. Toshikuni等^[57]也证实了PET/CT是NFPETs的可靠诊断方法. 此外, PET/CT也是胃泌素瘤的准确定位手段之一^[51]. 由于PETs为血运丰富的肿瘤, 选择性血管造影可用于PETs的定位诊断, 其对胰岛素瘤和胃泌素瘤的检出率分别为88%和40%^[50]. 此外, 因多数PETs患者存在生长抑素受体(somatostatin receptor, SSTR)过度表达, SSTR有多种亚型, 其中的SSTR2、SSTR3、SSTR5三种亚型与生长抑素类似物(SSTA)具有很强的结合力和亲和力^[58,59]. 体内注射¹¹¹In标记的SSTA, 可与PETs的SSTR2、SSTR3、SSTR5靶向结合, 由此形成同位素显像协助诊断^[60]. 生长抑素受体闪烁成像(SRS)的敏感性可根据肿瘤的类型而有所不同, 其对胰腺内分泌肿瘤的总体敏感性高达89%, 显著优于血浆CgA检查79%的阳性

结果^[61]. SRS不仅显著提高了胰腺肿瘤的检出率, 而且还能区分胰腺癌和PETs^[59], 其对PETs的敏感性远大于上述的常规影像定位诊断, 敏感性依次为^[60]: SRS>EUS>DSA>MRI>hCT>US. 此外, 因多数胰岛素瘤直径小于2 cm, CT、MRI、US和SRS等非侵入性成像技术对肿瘤的定位和敏感性相对较低, 而ASVS的侵入性检查对胰岛素瘤的诊断准确性可高于95%^[62], 被认为是隐匿性胰岛素瘤和胃泌素瘤最有效的定位方法. LUS可直接置于胰腺表面定位, 对胰岛素瘤的探查成功率高达86%, 并可行腹腔镜下胰岛素瘤切除术^[63].

3.3 PETs的相关激素检测 根据临床表现, 检测患者血液及组织中相应的异常激素水平, 如胃泌素、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)、胰高糖素、生长抑素、胰多肽等, 可用于PETs的定性诊断. 患者出现顽固性消化系溃疡和腹泻症状, 胃酸显著增高, 血浆基础胃泌素水平>1 000 ng/L, 即可确诊胃泌素瘤^[64], 患者出现顽固性周期性水样腹泻和低钾血症, 血浆VIP水平>100 μg/g, 即可确诊VIP瘤^[65], 患者出现Whipple三联征, 血清胰岛素水平>36 pmol/L, 血清胰岛素水平/血糖>0.3; C反应肽浓度>200 pmol/L, 胰岛素原>5 pmol/L可确诊胰岛素瘤^[66], 患者出现对称性、坏死性、游走性红斑及顽固性贫血等症状, 血清胰高糖素浓度>800 ng/L, 可确诊胰高糖素瘤^[67], 患者出现脂肪泻、糖尿病、胃酸过少和胆石症等综合征, 胃肠激素免疫组化显示肿瘤主要产生生长抑素, 可确诊生长抑素瘤^[68]. 此外, 一旦诊断为PETs, 必须注意MEN1的可能性, 还应同时检测血清钙、降钙素、甲状旁腺素、生长激素、催乳素等激素水平, 以除外MEN1.

3.4 PETs的病理诊断 与其他肿瘤的病理诊断不同, 目前仅依靠瘤体的组织病理形态学检查, 尚无法鉴别PETs的良恶性. 肿瘤对周围组织器官的浸润、转移或复发依然是诊断恶性PETs的可靠指标^[2,69]. PETs的大体标本多呈褐色、粉红色或灰白色, 与周围组织界限清楚, 部分可有完整的包膜. 组织病理切片下瘤细胞为相对一致的小圆形细胞, 核居中, 核染色质呈细颗粒状, 核分裂象少见, 瘤细胞多呈小梁状、腺泡状排列, 间质内血管丰富^[5,6,70]. 多数PETs分化较好, 分化差者少见. 此外, 肿瘤内分泌源性的诊断还有赖于免疫组织化学分析, 多数肿瘤的SYN、NSE、

■应用要点

本文全面系统阐述了PETs在发病机制、组织病理学诊断标准、肿瘤转移及预后的分子生物学、遗传学指标、血清学和影像学诊断以及内外科治疗方面的相关进展, 为基础研究及临床工作提供了有价值的信息.

■同行评价

本文总体科学性较好,较全面地综述了胰腺内分泌肿瘤概况,对临床工作有指导意义。

CgA免疫组织化学反应阳性^[47,70]。

4 PETs的治疗

4.1 外科治疗 外科手术目前仍是PETs的首选治疗方法。根据肿瘤大小和位于胰腺的部位不同,而采取不同的手术方式。其主要术式包括肿瘤局部切除术、区域淋巴结清除术、胰体尾切除术、胰腺节段切除术及胰十二指肠切除术等^[71]。对于伴有肝转移而不能根治性切除的恶性PETs患者,可行减瘤术、胃肠道短路术或肝移植术^[72],但对MEN1相关的PETs患者,因其病灶常多源发生,术后易复发,尤其对MEN1相关的胃泌素瘤患者还可用质子泵抑制剂治疗,因此手术更应慎重保守。但也有学者认为,根据SRS的准确定位而采取积极的手术切除病灶有助于MEN1相关的胃泌素瘤患者的生化治疗^[73]。一般认为,术前的准确定位有利于确定肿瘤与胰管胆管的关系,不仅对选择术式和切口十分重要,也避免了盲目手术或再次手术的风险^[74,75]。研究显示,术前采用胰腺动态增强螺旋CT扫描和灌注成像,有利于病灶的准确定位,并显著提高了体积较小PETs的检出率^[76]。但也有观点认为,对于散发的PETs,尤其是胰岛素瘤,经验丰富的外科医生完全不需要术前定位即可达到术中的准确探查率在90%以上^[77]。此外,腹腔镜技术的进步使PETs的微创治疗成为可能。腹腔镜可将超声探头置于胰腺表面进行PETs定位,并且实施瘤体摘除和胰体尾切除术,还可根据情况决定是否切除脾脏,应用前景值得期待^[63,78]。

4.2 药物治疗 前已述及,多数PETs患者存在SSTR过度表达,这不仅奠定了SRS的分子诊断学基础,也为SSTA对PETs的治疗提供了重要的分子靶点。业已证实,SSTA对SSTR的五种受体亚型均具有很强的亲和力^[59],对生长激素、胰岛素、胃泌素等多种人体激素具有抑制作用,采用SSTA的生物治疗目前已广泛用于PETs,SSTA不仅能有效抑制PETs病理性激素分泌所引发的相应症状,还能抑制肿瘤的生长^[79]。更高剂量的SSTA或SSTR新亚型选择性受体激动剂的应用可改善对标准剂量SSTA治疗无效的PETs患者的症状^[80]。低分子多激酶抑制剂,能靶向作用于肿瘤细胞和肿瘤血管上的丝氨酸和/或苏氨酸及受体酪氨酸激酶,阻断信号传导,从而抑制肿瘤细胞生长。最近,经三期临床试验证实,低分子多激酶抑制剂苏尼替尼(sunitinib)对胰腺神经内分泌肿瘤具有显著疗效^[80]。此外,影响血管内皮

生长因子受体的单克隆抗体贝伐单抗(bevacizumab)不论其独立治疗还是其与SSTA或与奥沙利铂(oxaliplatin)和卡培他滨(capecitabine)的联合治疗均取得了良好的效果^[80]。

4.3 同位素治疗 SSTR靶向放射核素治疗也常用于PETs患者。业已证实,体内注射¹¹¹In标记的SSTA,并与SSTR靶向结合后经同位素放射治疗对多数PETs患者取得了较好的疗效^[1,60]。Kaemmerer等^[58]报道,对1例因腹主动脉旁淋巴结及肠系膜血管受累,而无法实施手术切除的恶性PETs患者,首先采用肽受体放射性核素治疗(PRRT)作为新的一线辅助治疗,待腹腔淋巴结转移及肠系膜血管浸润程度显著降低后再行后续的手术切除,18 mo后随访发现,患者病情完全缓解。提示对于SSTR过度表达而不能手术切除的PETs患者,采用PRRT这种新的辅助治疗无疑是PETs一种全新的有效治疗手段。

4.4 其他 除上述常规治疗外,对伴有肝转移而不能实施手术切除的PETs患者,还可行化疗、肝动脉栓塞介入治疗、B超或CT引导下的冷冻治疗以及经腹腔镜行热凝固治疗肝转移灶等措施^[1,71]。尽管PETs的化疗或放疗并无显著的抗肿瘤效果^[58],但对于低分化的PETs以及其他方法治疗无效的高分化PETs患者仍可尝试化疗^[80]。

5 结论

PETs的发病机制尚未十分清楚,由于此类肿瘤发病率很低,使得系统研究其发病机制仍面临不少困难。在其他消化系统肿瘤常见的抑癌基因和癌基因在PETs中却很少发生变化。近年来的研究发现,一些特殊基因的表达异常、等位基因染色体的杂合缺失、抑癌基因的甲基化以及新的脑肠肽Ghrelin等在PETs的发病机制中可能发挥重要作用,这无疑为该领域的深入研究开启了新的思路。而PETs新的组织病理学分类标准的制定也对评估PETs的生物学行为提供了帮助。此外,随着肿瘤分子生物学、分子病理学及遗传学研究领域的飞速发展,用基因分子生物学标志物作为PETs的临床预后观察指标已成为可能。尽早确定PETs的预后指标并准确预测肿瘤的生长方式,无疑对治疗方案的选择有十分重要的参考价值。EUS-FNA、PET/CT等影像检查技术的进步对PETs的术前精确定位及组织学诊断提供了保障。外科手术、腹腔镜切除、SSTA治疗等诸多治疗方法的日臻成熟使患者的生存期明显改善。总之,尽管PETs的相关研究已

取得较大进展, 但关于其发病机制、遗传学及分子生物学的临床预后指标仍有待于进一步的深入研究, 前景值得期待。

6 参考文献

- Oberg K. Pancreatic endocrine tumors. *Semin Oncol* 2010; 37: 594-618
- Halfdanarson TR, Rubin J, Farnell MB, Grant CS, Petersen GM. Pancreatic endocrine neoplasms: epidemiology and prognosis of pancreatic endocrine tumors. *Endocr Relat Cancer* 2008; 15: 409-427
- Schmitt AM, Anlauf M, Rousson V, Schmid S, Kofler A, Riniker F, Bauersfeld J, Barghorn A, Probst-Hensch NM, Moch H, Heitz PU, Kloeppel G, Komminoth P, Perren A. WHO 2004 criteria and CK19 are reliable prognostic markers in pancreatic endocrine tumors. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 1677-1682
- Takahashi Y, Akishima-Fukasawa Y, Kobayashi N, Sano T, Kosuge T, Nimura Y, Kanai Y, Hiraoka N. Prognostic value of tumor architecture, tumor-associated vascular characteristics, and expression of angiogenic molecules in pancreatic endocrine tumors. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 187-196
- Oberg K, Eriksson B. Endocrine tumours of the pancreas. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005; 19: 753-781
- La Rosa S, Klersy C, Uccella S, Dainese L, Albarello L, Sonzogni A, Doglioni C, Capella C, Solcia E. Improved histologic and clinicopathologic criteria for prognostic evaluation of pancreatic endocrine tumors. *Hum Pathol* 2009; 40: 30-40
- Ekeblad S, Skogseid B, Dunder K, Oberg K, Eriksson B. Prognostic factors and survival in 324 patients with pancreatic endocrine tumor treated at a single institution. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 7798-7803
- Bettini R, Boninsegna L, Mantovani W, Capelli P, Bassi C, Pederzoli P, Delle Fave GF, Panzuto F, Scarpa A, Falconi M. Prognostic factors at diagnosis and value of WHO classification in a mono-institutional series of 180 non-functioning pancreatic endocrine tumours. *Ann Oncol* 2008; 19: 903-908
- Diaz-Rubio JL, Duarte-Rojo A, Saqui-Salces M, Gamboa-Dominguez A, Robles-Diaz G. Cellular proliferative fraction measured with topoisomerase IIalpha predicts malignancy in endocrine pancreatic tumors. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128: 426-429
- Deschamps L, Handra-Luca A, O'Toole D, Sauvanet A, Ruszniewski P, Belghiti J, Bedossa P, Couvelard A. CD10 expression in pancreatic endocrine tumors: correlation with prognostic factors and survival. *Hum Pathol* 2006; 37: 802-808
- Imam H, Eriksson B, Oberg K. Expression of CD44 variant isoforms and association to the benign form of endocrine pancreatic tumours. *Ann Oncol* 2000; 11: 295-300
- Rahman A, Maitra A, Ashfaq R, Yeo CJ, Cameron JL, Hansel DE. Loss of p27 nuclear expression in a prognostically favorable subset of well-differentiated pancreatic endocrine neoplasms. *Am J Clin Pathol* 2003; 120: 685-690
- Ali A, Serra S, Asa SL, Chetty R. The predictive value of CK19 and CD99 in pancreatic endocrine tumors. *Am J Surg Pathol* 2006; 30: 1588-1594
- Okami J, Nakamori S, Yamamoto H, Sakon M, Tsujie M, Hayashi N, Nagano H, Dono K, Umeshita K, Ishikawa O, Ohigashi H, Monden M. An immunohistochemical study of cyclooxygenase (COX)-2 expression in endocrine tumors of the pancreas. *J Exp Clin Cancer Res* 2002; 21: 569-576
- Hansel DE, Rahman A, Hermans J, de Krijger RR, Ashfaq R, Yeo CJ, Cameron JL, Maitra A. Liver metastases arising from well-differentiated pancreatic endocrine neoplasms demonstrate increased VEGF-C expression. *Mod Pathol* 2003; 16: 652-659
- Kuiper P, Hawinkels LJ, de Jonge-Muller ES, Biemond I, Lamers CB, Verspaget HW. Angiogenic markers endoglin and vascular endothelial growth factor in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 219-225
- Peghini PL, Iwamoto M, Raffeld M, Chen YJ, Goebel SU, Serrano J, Jensen RT. Overexpression of epidermal growth factor and hepatocyte growth factor receptors in a proportion of gastrinomas correlates with aggressive growth and lower curability. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2273-2285
- Goebel SU, Iwamoto M, Raffeld M, Gibril F, Hou W, Serrano J, Jensen RT. Her-2/neu expression and gene amplification in gastrinomas: correlations with tumor biology, growth, and aggressiveness. *Cancer Res* 2002; 62: 3702-3710
- Nasir A, Helm J, Turner L, Chen DT, Strosberg J, Hafez N, Henderson-Jackson EB, Hodul P, Bui MM, Nasir NA, Hakam A, Malafa MP, Yeatman TJ, Coppola D, Kvols LK. RUNX1T1: A Novel Predictor of Liver Metastasis in Primary Pancreatic Endocrine Neoplasms. *Pancreas* 2011; 40: 627-633
- Jain R, Fischer S, Serra S, Chetty R. The use of Cytokeratin 19 (CK19) immunohistochemistry in lesions of the pancreas, gastrointestinal tract, and liver. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010; 18: 9-15
- Zhang L, Smyrk TC, Oliveira AM, Lohse CM, Zhang S, Johnson MR, Lloyd RV. KIT is an independent prognostic marker for pancreatic endocrine tumors: a finding derived from analysis of islet cell differentiation markers. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 1562-1569
- Dalai I, Missiaglia E, Barbi S, Butturini G, Doglioni C, Falconi M, Scarpa A. Low expression of ARHI is associated with shorter progression-free survival in pancreatic endocrine tumors. *Neoplasia* 2007; 9: 181-183
- Grabowski P, Griss S, Arnold CN, Hörsch D, Göke R, Arnold R, Heine B, Stein H, Zeitz M, Schertübl H. Nuclear survivin is a powerful novel prognostic marker in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor disease. *Neuroendocrinology* 2005; 81: 1-9
- Lim CT, Kola B, Korbonits M, Grossman AB. Ghrelin's role as a major regulator of appetite and its other functions in neuroendocrinology. *Prog Brain Res* 2010; 182: 189-205
- Kojima M, Kangawa K. Structure and function of ghrelin. *Results Probl Cell Differ* 2008; 46: 89-115
- Lai KC, Cheng CH, Leung PS. The ghrelin system in acinar cells: localization, expression, and regulation in the exocrine pancreas. *Pancreas* 2007; 35: e1-e8
- Polińska B, Matowicka-Karna J, Kemonia H. [The role of ghrelin in the organism]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2011; 65: 1-7
- Dezaki K, Sone H, Yada T. Ghrelin is a physiological regulator of insulin release in pancreatic islets and glucose homeostasis. *Pharmacol Ther* 2008; 118: 239-249
- Grönberg M, Tsolakis AV, Magnusson L, Janson

- ET, Saras J. Distribution of obestatin and ghrelin in human tissues: immunoreactive cells in the gastrointestinal tract, pancreas, and mammary glands. *J Histochem Cytochem* 2008; 56: 793-801
- 30 Leontiou CA, Franchi G, Korbonsits M. Ghrelin in neuroendocrine organs and tumours. *Pituitary* 2007; 10: 213-225
- 31 Volante M, Allia E, Gugliotta P, Funaro A, Broglio F, Deghenghi R, Muccioli G, Ghigo E, Papotti M. Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1300-1308
- 32 Ekeblad S, Lejonklou MH, Grimfjård P, Johansson T, Eriksson B, Grimelius L, Stridsberg M, Ståhlberg P, Skogseid B. Co-expression of ghrelin and its receptor in pancreatic endocrine tumours. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 66: 115-122
- 33 Iwakura H, Hosoda K, Doi R, Komoto I, Nishimura H, Son C, Fujikura J, Tomita T, Takaya K, Ogawa Y, Hayashi T, Inoue G, Akamizu T, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Imamura M, Nakao K. Ghrelin expression in islet cell tumors: augmented expression of ghrelin in a case of glucagonoma with multiple endocrine neoplasm type I. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4885-4888
- 34 Corbetta S, Peracchi M, Cappiello V, Lania A, Lauri E, Vago L, Beck-Peccoz P, Spada A. Circulating ghrelin levels in patients with pancreatic and gastrointestinal neuroendocrine tumors: identification of one pancreatic ghrelinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 3117-3120
- 35 Iwakura H, Ariyasu H, Li Y, Kanamoto N, Bando M, Yamada G, Hosoda H, Hosoda K, Shimatsu A, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T. A mouse model of ghrelinoma exhibited activated growth hormone-insulin-like growth factor I axis and glucose intolerance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 297: E802-E811
- 36 Zhao TJ, Sakata I, Li RL, Liang G, Richardson JA, Brown MS, Goldstein JL, Zigman JM. Ghrelin secretion stimulated by {beta}1-adrenergic receptors in cultured ghrelinoma cells and in fasted mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 15868-15873
- 37 Guo SS, Wu AY, Sawicki MP. Deletion of chromosome 1, but not mutation of MEN-1, predicts prognosis in sporadic pancreatic endocrine tumors. *World J Surg* 2002; 26: 843-847
- 38 Chen YJ, Vortmeyer A, Zhuang Z, Huang S, Jensen RT. Loss of heterozygosity of chromosome 1q in gastrinomas: occurrence and prognostic significance. *Cancer Res* 2003; 63: 817-823
- 39 Choi IS, Estecio MR, Nagano Y, Kim do H, White JA, Yao JC, Issa JP, Rashid A. Hypomethylation of LINE-1 and Alu in well-differentiated neuroendocrine tumors (pancreatic endocrine tumors and carcinoid tumors). *Mod Pathol* 2007; 20: 802-810
- 40 House MG, Schulick RD. Endocrine tumors of the pancreas. *Curr Opin Oncol* 2006; 18: 23-29
- 41 Amato E, Barbi S, Malpeli G, Bersani S, Pelosi G, Capelli P, Scarpa A. Chromosome 3p alterations in pancreatic endocrine neoplasia. *Virchows Arch* 2011; 458: 39-45
- 42 Barghorn A, Speel EJ, Farspour B, Saremaslani P, Schmid S, Perren A, Roth J, Heitz PU, Komminoth P. Putative tumor suppressor loci at 6q22 and 6q23-q24 are involved in the malignant progression of sporadic endocrine pancreatic tumors. *Am J Pathol* 2001; 158: 1903-1911
- 43 Chen YJ, Vortmeyer A, Zhuang Z, Gibril F, Jensen RT. X-chromosome loss of heterozygosity frequently occurs in gastrinomas and is correlated with aggressive tumor growth. *Cancer* 2004; 100: 1379-1387
- 44 House MG, Herman JG, Guo MZ, Hooker CM, Schulick RD, Lillemoe KD, Cameron JL, Hruban RH, Maitra A, Yeo CJ. Aberrant hypermethylation of tumor suppressor genes in pancreatic endocrine neoplasms. *Ann Surg* 2003; 238: 423-431; discussion 431-432
- 45 House MG, Herman JG, Guo MZ, Hooker CM, Schulick RD, Cameron JL, Hruban RH, Maitra A, Yeo CJ. Prognostic value of hMLH1 methylation and microsatellite instability in pancreatic endocrine neoplasms. *Surgery* 2003; 134: 902-98; discussion 909
- 46 Liu L, Broadus RR, Yao JC, Xie S, White JA, Wu TT, Hamilton SR, Rashid A. Epigenetic alterations in neuroendocrine tumors: methylation of RAS-association domain family 1, isoform A and p16 genes are associated with metastasis. *Mod Pathol* 2005; 18: 1632-1640
- 47 Nikou GC, Marinou K, Thomakos P, Papageorgiou D, Sanzanidis V, Nikolaou P, Kosmidis C, Moulakakis A, Mallas E. Chromogranin A levels in diagnosis, treatment and follow-up of 42 patients with non-functioning pancreatic endocrine tumours. *Pancreatol* 2008; 8: 510-519
- 48 Massironi S, Conte D, Sciola V, Spampatti MP, Ciarfardini C, Valenti L, Rossi RE, Peracchi M. Plasma chromogranin A response to octreotide test: prognostic value for clinical outcome in endocrine digestive tumors. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2072-2078
- 49 Modlin IM, Gustafsson BI, Moss SF, Pavel M, Tsolakis AV, Kidd M. Chromogranin A--biological function and clinical utility in neuro endocrine tumor disease. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 2427-2443
- 50 Lee LS. Diagnosis of pancreatic neuroendocrine tumors and the role of endoscopic ultrasound. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2010; 6: 520-522
- 51 Varas M, Gornals J, Ponseti JM, Alastrué A, Durán C, Lleveria C, Ballesta C, Díez Caballero A, Artigas V. Pancreatic endocrine tumors or apudomas. *Rev Esp Enferm Dig* 2011; 103: 184-190
- 52 Papanikolaou IS, Karatzas PS, Triantafyllou K, Adler A. Role of pancreatic endoscopic ultrasonography in 2010. *World J Gastrointest Endosc* 2010; 2: 335-343
- 53 Figueiredo FA, Giovannini M, Monges G, Bories E, Pesenti C, Caillol F, Delperro JR. EUS-FNA predicts 5-year survival in pancreatic endocrine tumors. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 907-914
- 54 Figueiredo FA, Giovannini M, Monges G, Charfi S, Bories E, Pesenti C, Caillol F, Delperro JR. Pancreatic endocrine tumors: a large single-center experience. *Pancreas* 2009; 38: 936-940
- 55 Hosoda W, Takagi T, Mizuno N, Shimizu Y, Sano T, Yamao K, Yatabe Y. Diagnostic approach to pancreatic tumors with the specimens of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration. *Pathol Int* 2010; 60: 358-364
- 56 Inagaki M, Watanabe K, Yoshikawa D, Suzuki S, Ishizaki A, Matsumoto K, Haneda M, Tokusashi Y, Miyokawa N, Sato S, Kasai S. A malignant non-functioning pancreatic endocrine tumor with a unique pattern of intraductal growth. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007; 14: 318-323

- 57 Toshikuni N, Kai K, Fujisawa M. Nonfunctioning endocrine pancreatic tumor examined with 18F-FDG PET/CT. *Ann Nucl Med* 2008; 22: 133-137
- 58 Kaemmerer D, Prasad V, Daffner W, Hörsch D, Klöppel G, Hommann M, Baum RP. Neoadjuvant peptide receptor radionuclide therapy for an inoperable neuroendocrine pancreatic tumor. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5867-5870
- 59 Reubi JC, Maecke HR. Peptide-based probes for cancer imaging. *J Nucl Med* 2008; 49: 1735-1738
- 60 Bombardieri E, Ambrosini V, Aktolun C, Baum RP, Bishof-Delaloye A, Del Vecchio S, Maffioli L, Mortelmans L, Oyen W, Pepe G, Chiti A. 111In-pentetreotide scintigraphy: procedure guidelines for tumour imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010; 37: 1441-1448
- 61 Rodrigues M, Gabriel M, Heute D, Putzer D, Griesmacher A, Virgolini I. Concordance between results of somatostatin receptor scintigraphy with 111In-DOTA-DPhe 1-Tyr 3-octreotide and chromogranin A assay in patients with neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008; 35: 1796-1802
- 62 Nöldge G, Weber MA, Ritzel RA, Werner MJ, Kauczor HU, Grenacher L. [Invasive diagnostic procedures for insulinomas of the pancreas]. *Radiologe* 2009; 49: 224-232
- 63 Grover AC, Skarulis M, Alexander HR, Pingpank JF, Javor ED, Chang R, Shawker T, Gorden P, Cochran C, Libutti SK. A prospective evaluation of laparoscopic exploration with intraoperative ultrasound as a technique for localizing sporadic insulinomas. *Surgery* 2005; 138: 1003-1008; discussion 1008
- 64 Fendrich V, Langer P, Waldmann J, Bartsch DK, Rothmund M. Management of sporadic and multiple endocrine neoplasia type 1 gastrinomas. *Br J Surg* 2007; 94: 1331-1341
- 65 Song S, Shi R, Li B, Liu Y. Diagnosis and treatment of pancreatic vasoactive intestinal peptide endocrine tumors. *Pancreas* 2009; 38: 811-814
- 66 Vaidakis D, Karoubalis J, Pappa T, Piaditis G, Zografos GN. Pancreatic insulinoma: current issues and trends. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010; 9: 234-241
- 67 Kindmark H, Sundin A, Granberg D, Dunder K, Skogseid B, Janson ET, Welin S, Oberg K, Eriksson B. Endocrine pancreatic tumors with glucagon hypersecretion: a retrospective study of 23 cases during 20 years. *Med Oncol* 2007; 24: 330-337
- 68 Garbrecht N, Anlauf M, Schmitt A, Henopp T, Sipos B, Raffel A, Eisenberger CF, Knoefel WT, Pavel M, Fottner C, Musholt TJ, Rinke A, Arnold R, Berndt U, Plöckinger U, Wiedenmann B, Moch H, Heitz PU, Komminoth P, Perren A, Klöppel G. Somatostatin-producing neuroendocrine tumors of the duodenum and pancreas: incidence, types, biological behavior, association with inherited syndromes, and functional activity. *Endocr Relat Cancer* 2008; 15: 229-241
- 69 Fendrich V, Michl P, Habbe N, Bartsch DK. Liver-specific therapies for metastases of neuroendocrine pancreatic tumors. *World J Hepatol* 2010; 2: 367-373
- 70 Asa SL. Pancreatic endocrine tumors. *Mod Pathol* 2011; 24 Suppl 2: S66-S77
- 71 Fendrich V, Waldmann J, Bartsch DK, Langer P. Surgical management of pancreatic endocrine tumors. *Nat Rev Clin Oncol* 2009; 6: 419-428
- 72 Marín C, Robles R, Fernández JA, Bueno FS, Ramírez P, Miras M, Parrilla P. Role of liver transplantation in the management of unresectable neuroendocrine liver metastases. *Transplant Proc* 2007; 39: 2302-2303
- 73 Imamura M, Komoto I, Ota S, Hiratsuka T, Kosugi S, Doi R, Awane M, Inoue N. Biochemically curative surgery for gastrinoma in multiple endocrine neoplasia type 1 patients. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1343-1353
- 74 Sakamoto H, Kitano M, Kamata K, El-Masry M, Kudo M. Diagnosis of pancreatic tumors by endoscopic ultrasonography. *World J Radiol* 2010; 2: 122-134
- 75 Goh BK, Ooi LL, Cheow PC, Tan YM, Ong HS, Chung YF, Chow PK, Wong WK, Soo KC. Accurate preoperative localization of insulinomas avoids the need for blind resection and reoperation: analysis of a single institution experience with 17 surgically treated tumors over 19 years. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1071-1077
- 76 Bao ZK, Huang XY, Zhao JG, Zheng Q, Wang XF, Wang HC. A case of occult insulinoma localized by pancreatic dynamic enhanced spiral CT. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1418-1421
- 77 Nikfarjam M, Warshaw AL, Axelrod L, Deshpande V, Thayer SP, Ferrone CR, Fernández-del Castillo C. Improved contemporary surgical management of insulinomas: a 25-year experience at the Massachusetts General Hospital. *Ann Surg* 2008; 247: 165-172
- 78 Karaliotas C, Sgourakis G. Laparoscopic versus open enucleation for solitary insulinoma in the body and tail of the pancreas. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1869
- 79 Anthony L, Freda PU. From somatostatin to octreotide LAR: evolution of a somatostatin analogue. *Curr Med Res Opin* 2009; 25: 2989-2999
- 80 Petrányi A, Bodoky G. [Pharmacologic therapy for neuroendocrine tumours]. *Orv Hetil* 2011; 152: 379-391

编辑 李军亮 电编 李薇

逆灌注对移植肝缺血再灌注损伤的影响

刘其雨, 李立, 李晓延, 陈刚, 赵英鹏, 白建华, 朱新锋

■背景资料

临床肝移植术中的缺血再灌注损伤是影响术后移植肝功能及存活率的重要因素, 其中缺血再灌注损伤与移植过程中的灌注方法有关, 经下腔静脉逆行灌注可以减轻缺血再灌注损伤, 以进一步改善术后的移植肝功能, 本文旨在动物实验基础上阐述其可能的机制。

刘其雨, 李立, 李晓延, 陈刚, 赵英鹏, 白建华, 朱新锋, 昆明市第一人民医院暨昆明医学院附属甘美医院肝胆外科 云南省昆明市 650034

刘其雨, 在读博士, 主要从事器官移植方面的研究。

云南省自然科学基金资助项目, No. 2008CD195

昆明市科技计划基金资助项目, No. 08S100304-2

作者贡献分布: 此课题由李立、李晓延及刘其雨设计; 研究过程由陈刚、刘其雨、白建华、赵英鹏及朱新锋操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由李立与李晓延提供; 数据分析由刘其雨完成; 本论文写作由刘其雨、李立及李晓延完成。

通讯作者: 刘其雨, 650034, 云南省昆明市青年路504号, 昆明市第一人民医院暨昆明医学院附属甘美医院肝胆外科。

liuqiuyu_12@hotmail.com

电话: 0871-3188200-6016

收稿日期: 2011-02-18 修回日期: 2011-04-20

接受日期: 2011-05-05 在线出版日期: 2011-05-28

Liver graft injury induced by ischemia and reperfusion secondary to retrograde reperfusion

Qi-Yu Liu, Li Li, Xiao-Yan Li, Gang Chen, Ying-Peng Zhao, Jian-Hua Bai, Xin-Feng Zhu

Qi-Yu Liu, Li Li, Xiao-Yan Li, Gang Chen, Ying-Peng Zhao, Jian-Hua Bai, Xin-Feng Zhu, Department of Hepatobiliary Surgery, the First People's Hospital of Kunming (the Affiliated Ganmei Hospital of Kunming Medical College), Kunming 650034, Yunnan Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of Yunnan Province, No. 2008CD195; and the Science and Technology Project of Kunming City, No. 08S100304-2

Correspondence to: Qi-Yu Liu, Department of Hepatobiliary Surgery, the First People's Hospital of Kunming (the Affiliated Ganmei Hospital of Kunming Medical College), Kunming 650034, Yunnan Province, China. liuqiuyu_12@hotmail.com

Received: 2011-02-18 Revised: 2011-04-20

Accepted: 2011-05-05 Published online: 2011-05-28

Abstract

AIM: To evaluate the influence of retrograde reperfusion on ischemia/reperfusion injury in a rat model of liver transplantation.

METHODS: Thirty-six male Sprague-Dawley rats undergoing orthoptic liver transplantation were divided into three groups ($n = 12$ for each group): group 1, antegrade reperfusion via the portal vein; group 2, antegrade reperfusion simultaneously via the portal vein and hepatic artery; group 3: retrograde reperfusion via the

vena cava. Serum parameters were determined 1, 6 and 24 h after operation. Liver samples were taken for histological assessment. Cell apoptotic index was determined.

RESULTS: Rats of group 3 showed significantly lower serum level of aspartate aminotransferase compared to groups 1 and 2 ($968.4 \text{ U/L} \pm 221.5 \text{ U/L}$ vs $1801.6 \text{ U/L} \pm 324.5 \text{ U/L}$, $2564.1 \text{ U/L} \pm 410.3 \text{ U/L}$, $P = 0.003, 0.000$). Serum level of aspartate aminotransferase was significantly lower in group 1 than in group 2. The liver of rats of group 3 showed significantly less leukocytic infiltrates compared to groups 1 and group 2. The apoptotic index was lower in group 3 than in group 1 and 2.

CONCLUSION: Retrograde reperfusion leads to a lower level of ischemia/reperfusion injury than antegrade reperfusion in rats undergoing liver transplantation.

Key Words: Liver transplantation; Retrograde reperfusion; Ischemic/reperfusion injury; Apoptosis

Liu QY, Li L, Li XY, Chen G, Zhao YP, Bai JH, Zhu XF. Liver graft injury induced by ischemia and reperfusion secondary to retrograde reperfusion. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1550-1554

摘要

目的: 探讨原位肝移植中经下腔静脉逆行灌注对移植肝缺血再灌注损伤的影响。

方法: 36例大鼠肝移植随机分为3组, 每组12例。门静脉组即经门静脉顺行灌注, 肝动脉+门静脉组即同时开放肝动脉及门静脉顺行灌注, 下腔静脉组即先吻合下腔静脉后开放逆行灌注, 然后吻合门静脉及肝动脉。分别检测术后1、6及24 h的血清转氨酶、移植肝病理变化及肝细胞凋亡。

结果: 逆灌注组的肝酶学水平及肝细胞凋亡指数明显低于顺行灌注组, 移植肝的病理变化亦轻于逆灌注组, 而门静脉+肝动脉组肝组织病变最重, 肝细胞凋亡指数最大。门静脉

■同行评议者

陈积圣, 教授, 中山大学孙逸仙纪念医院肝胆外科

+肝动脉组血清转氨酶水平也最高, 移植后24 h, 门静脉+肝动脉组与门静脉组及下腔静脉组比较, 差异显著($2\,564.1\text{ U/L} \pm 410.3\text{ U/L}$ vs $1\,801.6\text{ U/L} \pm 324.5\text{ U/L}$, $968.4\text{ U/L} \pm 221.5\text{ U/L}$, $P = 0.003, 0.000$).

结论: 与传统的顺行灌注相比, 经下腔静脉逆灌注可以减轻移植肝缺血再灌注损伤。

关键词: 肝移植; 逆灌注; 缺血再灌注损伤; 凋亡

刘其雨, 李立, 李晓延, 陈刚, 赵英鹏, 白建华, 朱新锋. 逆灌注对移植肝缺血再灌注损伤的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1550-1554
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1550.asp>

0 引言

目前, 肝移植已然成为治疗终末期肝病的标准方法^[1-3], 但移植肝无功能及复苏后综合征等并发症仍困扰着临床医生^[4,5], 其中缺血再灌注损伤是其发生的主要原因^[6-8]. 移植肝缺血再灌注损伤的有效防治能够改善术后移植肝脏功能, 提高肝移植成功率, 是目前肝移植领域研究热点之一^[9-11]. 原位肝移植中常规的肝脏灌注方法是采用顺行灌注, 即在完成血管吻合后首先开放门静脉或/和肝动脉, 然后开放下腔静脉. 本文旨在比较在原位肝移植中常规顺行灌注和逆行灌注对移植肝缺血再灌注损伤的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 供、受体均选用健康近交系SD大鼠(购自昆明医学院动物研究所), 供体雌雄不拘, 受体选用♂大鼠; 受体大鼠体质量250-300 g, 略大于供体(相差20 g左右). 清洁饲养, 术前6 h禁食, 自由饮用糖水. 采用低流量乙醚持续吸入麻醉. 显微手术器械、双目手术显微镜、无菌医用无损缝合针线、自制聚乙烯门静脉套管、自制腹腔弹力拉钩、自制双层修肝盒、电子天平、手术台、电热板。

1.2 方法

1.2.1 分组: 32例大鼠肝移植随机分为3组, 门静脉组、肝动脉+门静脉组、下腔静脉组3组, 每组12例. 其中前2组均为顺行灌注组, 后1组为逆行灌注组。

1.2.2 手术: 按照常规“双套管法”大鼠原位肝移植术式^[12], 肝上下腔静脉使用两针7-0的prolene分别连续缝合其前后壁, 肝下下腔静脉及门静脉使用袖套套管吻合、胆总管使用支撑

管吻合, 肝动脉吻合结合显微技术使用“三针袖套法”. (1)门静脉组手术方法: 依次吻合供、受体肝上下腔静脉、肝下下腔静脉、门静脉, 然后依次开放门静脉、肝上下腔静脉、肝下下腔静脉, 最后吻合肝动脉并开放; (2)肝动脉+门静脉组手术方法: 依次吻合供受体肝上下腔静脉、肝下下腔静脉、门静脉、肝动脉, 最后依次开放门静脉、肝动脉、肝上下腔静脉、肝下下腔静脉; (3)下腔静脉组手术方法: 完成供、受体肝上下下腔静脉吻合后, 在吻合门静脉前首先开放肝上、肝下下腔静脉, 使下腔静脉的血逆行灌注肝脏, 然后依次吻合门静脉、肝动脉并依次开放。

1.2.3 指标的检测: (1)各组按实验设计分别于再灌注1、6、24 h后, 经下腔静脉采血. 血清谷草转氨酶水平(U/L)应用酶耦联测定法在全自动生化分析仪上测; (2)光镜下观察组织病理学改变; (3)按照说明采用Annexin V-FITC/PI双染法(试剂盒购自上海ACT基因公司)于流式细胞仪上检测细胞的早期凋亡, 分析Annexin V-FITC阳性而PI阴性的细胞百分比。

统计学处理 实验数据以mean±SD表示, 采用方差分析及多个均数间的两两比较的方法进行统计学处理分析, $P < 0.05$ 认为有统计学意义. 所有处理均采用SPSS17.0统计软件包。

2 结果

2.1 血清谷草转氨酶的变化 移植后1 h各组血清谷草转氨酶即有明显升高, 至移植后6 h各组转氨酶持续升高, 其中门静脉+肝动脉组最高, 门静脉组次之, 下腔静脉组最低; 至移植后24 h, 各组转氨酶较前有所下降, 其中下腔静脉组最低(表1)。

2.2 病理学检查结果 移植后1 h, 各组肝细胞具有轻度水肿, 随着时间的延长, 病变不断加重, 渐渐出现炎性细胞的浸润, 至移植后24 h, 汇管区见到大量炎性细胞浸润, 其中门静脉+肝动脉组最重, 门静脉组次之, 而下腔静脉组最轻(图1)。

2.3 肝脏各类细胞的百分比 肝移植早期即有肝细胞的凋亡, 至6 h到达高峰, 且随着时间延长死亡细胞逐渐增多; 同时时间点的活细胞数下腔静脉组最多, 门静脉组次之, 门静脉+肝动脉组最少; 而凋亡及坏死细胞则相反(图2)。

3 讨论

在临床肝移植中, 供肝要依次接受冷缺血、复

■研发前沿

经典的灌注方法是经门静脉或(和)的顺行灌注, 而经下腔静脉逆行灌注的研究甚少, 且其对减轻缺血再灌注损伤的机制较复杂。

■相关报道

Knipeiss等发现肝脏逆行灌注可减轻再灌注后全身血液动力学紊乱: 包括全身低血压和肺动脉高压. 常规门静脉正向灌注方法再灌注后综合征发生率高达30%, 而逆灌注法可有效降低再灌注后综合征的发生率(3.6%)。

■创新盘点

本研究通过大鼠肝移植模型的逆行灌注,并应用Annexin V-FITC/PI双染法检测肝组织的细胞凋亡等,进一步探讨其可能的保护机制。

表 1 大鼠肝移植术后24 h内各组血清谷草转氨酶的变化 (mean \pm SD, U/L)

分组	1 h	6 h	24 h
门静脉组	1 886.4 \pm 364.2 ^a	2 364.3 \pm 374.8 ^a	1 801.6 \pm 324.5 ^b
门静脉+肝动脉组	2 103.7 \pm 351.2 ^a	2 986.7 \pm 432.6 ^b	2 564.1 \pm 410.3 ^b
下腔静脉组	1 609.1 \pm 322.9	1 825.8 \pm 254.7	968.4 \pm 221.5

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 下腔静脉组。

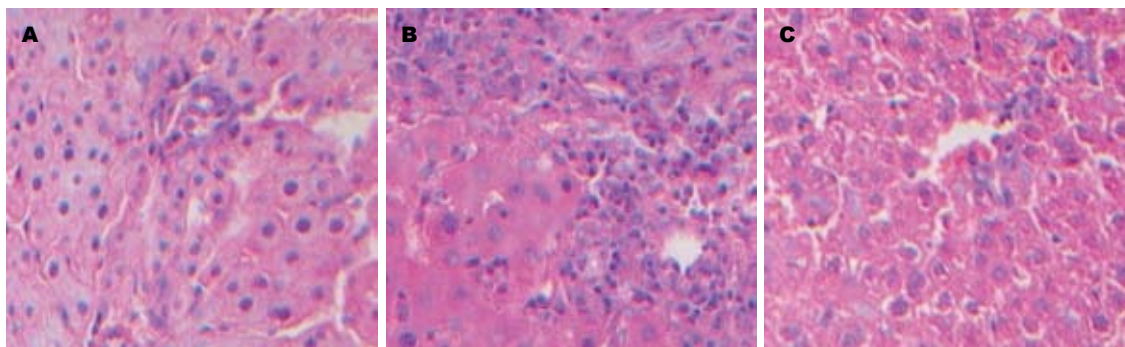
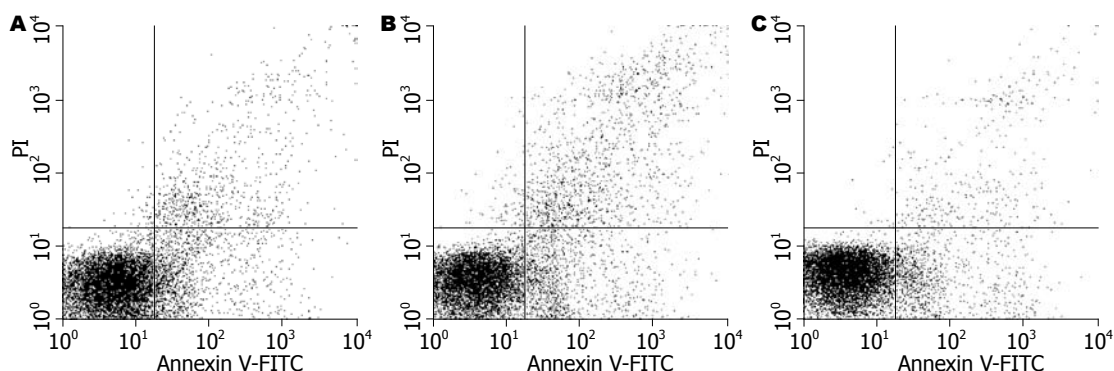
图 1 各组移植后24 h肝病理变化(H&E \times 200). A: 门静脉组; B: 门静脉+肝动脉组; C: 下腔静脉组。

图 2 各组移植后6 h肝脏各类细胞的百分比. A: 门静脉组; B: 门静脉+肝动脉组; C: 下腔静脉组. 左下角区: Annexin V-FITC和PI染色同时阴性的为活细胞; 右下角区: Annexin V-FITC染色阳性和PI染色阴性即为早期凋亡细胞; 右上角区: Annexin V-FITC和PI染色同时阳性的为晚期凋亡细胞、坏死或死亡细胞。

温热缺血和再灌注三个损伤过程. 在无肝期间, 由于肝脏温度升高可出现新肝复温缺血损伤, 而复温缺血损伤是导致早期移植肝功能不良的最重要的危险因素^[13-15]. 临床肝移植中肝脏的缺血再灌注损伤是造成术后移植肝功能不良的主要因素之一, 严重者可发展成原发性移植肝无功能^[16-18]. 因此, 移植肝的血流灌注对术后移植物的存活率至关重要^[19-21].

Kniepeiss等^[22]还发现肝脏逆行灌注可减轻再灌注后全身血液动力学紊乱, 称之为再灌注后综合征: 包括全身低血压和肺动脉高压. 常规门静脉正向灌注方法再灌注后综合征发生率达30%, 而逆灌注法可有效降低再灌注后综合征

的发生率(3.6%), 并可以减少高钾血症、肺动脉高压、右心功能衰竭等. Matevossian等^[23]及国内学者陈皓^[24]等也发现原位肝移植中经门静脉逆灌注可以降低术后早期肝酶学水平, 并进一步改善移植后早期的肝功能. 至于, 逆灌注是否可以引起缺血性胆道狭窄仍有争议, Heidenhain等^[25]认为逆灌注虽然有利于肝细胞, 但会损伤胆管上皮细胞, 引起缺血性胆道损伤; 而国内学者江艺等^[26]通过86例肝移植的回顾性分析, 发现下腔静脉逆灌注法并没有增加肝移植术后胆道并发症的发生率, 这尚有待于进一步实验临床的前瞻性研究.

本研究发现, 逆灌注移植后即有血清转氨酶

的升高, 随着时间的延长并不断升高, 但到了24 h出现了下降, 说明在移植后早期肝功能变化最为明显, 供肝得到灌注后, 肝功能渐渐得到恢复。此外, 门静脉+肝动脉组的血清转氨酶明显高于门静脉组, 无肝期时间延长是其主要原因, 复温缺血时间延长是引起早期移植肝功能不良的重要潜在因素。尽量缩短无肝期, 尽早再灌注, 可减少移植肝缺血再灌注损伤, 而经下腔静脉逆行灌注可以缩短无肝期时间, 减轻缺血再灌注损伤, 进一步保护移植肝。

肝细胞的变性和坏死是缺血再灌注损伤时各类临床表现的基础。肝脏的缺血再灌注损伤的病理过程已基本清楚^[27-29]。在复流早期, 内皮细胞肿胀、血管收缩、白细胞内陷及血小板移行进入肝血窦, 最终导致肝窦微循环受损。由于缺血引起细胞能量不足, 主动跨膜转运障碍导致细胞水肿, 使内皮细胞和Kuffer细胞肿胀。白细胞迁移速率降低和滞留导致了肝窦内腔的狭窄。白细胞与内皮细胞相互作用的机率显著增加, 滞留的白细胞虽然不能完全闭塞肝窦内腔, 但进一步妨碍了肝窦微循环网络的通畅。这些改变明显延长了缺氧时间, 甚至复流再灌注后, 肝脏仍有部分区域处于缺血状态。这一过程随后的结果是Kuffer细胞和中性粒细胞的激活, 产生细胞因子如TNF- α 、IL-1等和氧自由基进一步加重了肝组织损伤^[30-32]。

本研究发现, 移植后24 h, 门静脉+肝动脉组可见大量炎性细胞浸润, 伴有肝细胞坏死; 其中, 门静脉+肝动脉组坏死细胞所占比例最高, 而下腔静脉组中活细胞所占比例最高, 逆灌注法减轻移植肝缺血再灌注损伤的机制可能是: (1)含氧量很低的下腔静脉血对肝脏低压灌注减少了氧自由基的大量爆发; (2)缩短了无肝期, 减少了机体产生酸性物质、LPS及细胞因子TNF- α 、IL-1, 同时使一部分的酸性物质、LPS及细胞因子对移植肝的损伤; (3)逆灌注冲洗了冷保存时期移植肝进行无氧代谢产生的有毒物质, 从而减轻再灌注损伤^[33]。

总之, 经典原位肝移植中经下腔静脉逆行灌注, 可以减轻移植肝的缺血再灌注损伤, 进一步改善移植术后的肝功能。

4 参考文献

- 1 Merion RM. Current status and future of liver transplantation. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 411-421
- 2 Marudanayagam R, Shanmugam V, Sandhu B, Gunson BK, Mirza DF, Mayer D, Buckels J, Bramhall SR. Liver retransplantation in adults: a single-

- centre, 25-year experience. *HPB (Oxford)* 2010; 12: 217-224
- 3 Tan HH, Martin P. Management of end-stage liver disease in chronic hepatitis B. *Clin Liver Dis* 2010; 14: 477-493
- 4 Movahedi Z, Holt CD, Saab S. Liver transplant: a primer. *Exp Clin Transplant* 2010; 8: 83-90
- 5 Miyazaki ET, Dos Santos R, Miyazaki MC, Domingos NM, Felicio HC, Rocha MF, Arroyo PC, Duca WJ, Silva RF, Silva RC. Patients on the waiting list for liver transplantation: caregiver burden and stress. *Liver Transpl* 2010; 16: 1164-1168
- 6 Kuriyama N, Isaji S, Hamada T, Kishiwada M, Ohsawa I, Usui M, Sakurai H, Tabata M, Suzuki K, Uemoto S. Activated protein C prevents hepatic ischaemia-reperfusion injury in rats. *Liver Int* 2009; 29: 299-307
- 7 Junnarkar SP, Tapuria N, Dutt N, Fuller B, Seifalian AM, Davidson BR. Bucillamine improves hepatic microcirculation and reduces hepatocellular injury after liver warm ischaemia-reperfusion injury. *HPB (Oxford)* 2009; 11: 264-273
- 8 Hilmi IA, Peng Z, Planinsic RM, Damian D, Dai F, Tyurina YY, Kagan VE, Kellum JA. N-acetylcysteine does not prevent hepatorenal ischaemia-reperfusion injury in patients undergoing orthotopic liver transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 2328-2333
- 9 Andreani P, Hoti E, de la Serna S, degli Esposti D, Sebah M, Lemoine A, Ichai P, Saliba F, Castaing D, Azoulay D. Ischaemic preconditioning of the graft in adult living related right lobe liver transplantation: impact on ischaemia-reperfusion injury and clinical relevance. *HPB (Oxford)* 2010; 12: 439-446
- 10 Jegatheeswaran S, Siriwardena AK. Experimental and clinical evidence for modification of hepatic ischaemia-reperfusion injury by N-acetylcysteine during major liver surgery. *HPB (Oxford)* 2011; 13: 71-78
- 11 Martins PN, Chang S, Mahadevapa B, Martins AB, Sheiner P. Liver grafts from selected older donors do not have significantly more ischaemia reperfusion injury. *HPB (Oxford)* 2011; 13: 212-220
- 12 刘静, 陈福, 陈达丰, 刘旋, 杨爱国, 汪爽, 孙尔维. 改良双袖套法大鼠原位肝移植500例. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2521-2524
- 13 Bezinover D, Kadry Z, McCullough P, McQuillan PM, Uemura T, Welker K, Mastro AM, Janicki PK. Release of cytokines and hemodynamic instability during the reperfusion of a liver graft. *Liver Transpl* 2011; 17: 324-330
- 14 Hines IN, Grisham MB. Divergent roles of superoxide and nitric oxide in liver ischemia and reperfusion injury. *J Clin Biochem Nutr* 2011; 48: 50-56
- 15 Shen XD, Ke B, Uchida Y, Ji H, Gao F, Zhai Y, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Native macrophages genetically modified to express heme oxygenase 1 protect rat liver transplants from ischemia/reperfusion injury. *Liver Transpl* 2011; 17: 201-210
- 16 Wu C, Wang P, Rao J, Wang Z, Zhang C, Lu L, Zhang F. Triptolide alleviates hepatic ischemia/reperfusion injury by attenuating oxidative stress and inhibiting NF- κ B activity in mice. *J Surg Res* 2011; 166: e205-e213
- 17 Teoh NC. Hepatic ischemia reperfusion injury: Contemporary perspectives on pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection-the good, bad

■应用要点

本研究证明肝移植经下腔静脉逆行灌注可以抑制肝细胞的早期凋亡, 以减轻缺血再灌注损伤, 最终保护移植物的功能。

■同行评价

本研究选题先进, 分组科学, 结果可靠, 对临床有重要参考意义。

- and deadly. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 180-187
- 18 Scherer de Fraga R, Camacho VR, Souza GF, Cerski CT, de Oliveira JR, de Oliveira MG, Álvares-da-Silva MR. S-nitroso-N-acetylcysteine: a promising drug for early ischemia/reperfusion injury in rat liver. *Transplant Proc* 2010; 42: 4491-4495
- 19 Pratschke S, Meimarakis G, Mayr S, Graeb C, Rentsch M, Zachoval R, Bruns CJ, Kleespies A, Jauch KW, Loehe F, Angele MK. Arterial blood flow predicts graft survival in liver transplant patients. *Liver Transpl* 2011; 17: 436-445
- 20 Farid WR, de Jonge J, Sliker JC, Zondervan PE, Thomeer MG, Metselaar HJ, de Bruin RW, Kazemier G. The importance of portal venous blood flow in ischemic-type biliary lesions after liver transplantation. *Am J Transplant* 2011; 11: 857-862
- 21 Dogan S, Aslan M. Hepatic ischemia-reperfusion injury and therapeutic strategies to alleviate cellular damage. *Hepatol Res* 2011; 41: 103-117
- 22 Kniepeiss D, Iberer F, Grasser B, Schaffellner S, Stadlbauer V, Tscheliessnigg KH. A single-center experience with retrograde reperfusion in liver transplantation. *Transpl Int* 2003; 16: 730-735
- 23 Matevossian E, Doll D, Hüser N, Brauer R, Sinicina I, Nährig J, Friess H, Stangl M, Assfalg V. Liver transplantation in the rat: single-center experience with technique, long-term survival, and functional and histologic findings. *Transplant Proc* 2009; 41: 2631-2636
- 24 陈皓, 彭承宏, 沈柏用, 谢俊杰, 申川, 费悦, 邓侠兴, 周光文, 程东峰, 杨卫平, 李宏为. 原位肝移植术中逆行灌注对早期移植肝功能的影响. *上海交通大学学报(医学版)* 2006; 26: 615-617
- 25 Heidenhain C, Heise M, Jonas S, Ben-Asseur M, Puhl G, Mittler J, Thelen A, Schmidt S, Langrehr J, Neuhaus P. Retrograde reperfusion via vena cava lowers the risk of initial nonfunction but increases the risk of ischemic-type biliary lesions in liver transplantation--a randomized clinical trial. *Transpl Int* 2006; 19: 738-748
- 26 江艺, 张文华, 吕立志, 蔡秋程, 张小进. 原位肝移植中下腔静脉逆灌注法对胆道并发症的影响. *中华普通外科学文献(电子版)* 2009; 3: 212-215
- 27 Pappo O, Ben-Ari Z, Shevtsov E, Avlas O, Gassmann M, Ravid A, Cheporko Y, Hochhauser E. The role of excessive versus acute administration of erythropoietin in attenuating hepatic ischemia-reperfusion injury. *Can J Physiol Pharmacol* 2010; 88: 1130-1137
- 28 Jameel NM, Thirunavukkarasu C, Murase N, Cascio M, Prelich J, Yang S, Harvey SA, Gandhi CR. Constitutive release of powerful antioxidant-scavenging activity by hepatic stellate cells: protection of hepatocytes from ischemia/reperfusion injury. *Liver Transpl* 2010; 16: 1400-1409
- 29 Cag M, Audet M, Saouli AC, Panaro F, Piardi T, Cinqualbre J, Wolf P. Does arterialisation time influence biliary tract complications after orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc* 2010; 42: 3630-3633
- 30 Daniela K, Michael Z, Florian I, Silvia S, Estrella J, Doris D, Karl-Heinz T. Influence of retrograde flushing via the caval vein on the post-reperfusion syndrome in liver transplantation. *Clin Transplant* 2004; 18: 638-641
- 31 Koh HJ, Ryu KH, Cho ML, Heo YJ, Lee J. Factors influencing the concentration of cytokines during liver transplantation. *Transplant Proc* 2010; 42: 3617-3619
- 32 Arrenberg P, Maricic I, Kumar V. Sulfatide-mediated activation of type II natural killer T cells prevents hepatic ischemic reperfusion injury in mice. *Gastroenterology* 2011; 140: 646-655
- 33 Kern H, Bald C, Brill T, Fend F, von Weiher CH, Kriner M, Hüser N, Thorban S, Stangl M, Matevossian E. The influence of retrograde reperfusion on the ischaemia-/reperfusion injury after liver transplantation in the rat. *Int J Exp Pathol* 2008; 89: 433-437

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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)

香芹酚对肝细胞癌HepG2细胞凋亡的诱导作用及其分子机制

殷清华, 庄英帜

殷清华, 庄英帜, 南华大学第一附属医院肿瘤内科 湖南省衡阳市 421001

殷清华, 在读硕士, 主要从事肿瘤药物治疗研究.

作者贡献分布: 殷清华与庄英帜对此文所作贡献均等; 此课题由殷清华与庄英帜设计; 研究过程由殷清华操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由庄英帜提供; 数据分析由殷清华与庄英帜完成; 本论文写作由殷清华与庄英帜完成.

通讯作者: 庄英帜, 教授, 主任医师, 421001, 湖南省衡阳市, 湖南省南华大学第一附属医院肿瘤内科. zhuangyingzhi@gmail.com

收稿日期: 2011-03-22 修回日期: 2011-05-09

接受日期: 2011-05-17 在线出版日期: 2011-05-28

Molecular mechanisms involved in carvacrol-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2

Qing-Hua Yin, Ying-Zhi Zhuang

Qing-Hua Yin, Ying-Zhi Zhuang, Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Correspondence to: Professor Ying-Zhi Zhuang, Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China. zhuangyingzhi@gmail.com

Received: 2011-03-22 Revised: 2011-05-09

Accepted: 2011-05-17 Published online: 2011-05-28

Abstract

AIM: To investigate whether carvacrol induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2 and to explore possible molecular mechanism involved.

METHODS: After cultured HepG2 cells were incubated with different concentrations of carvacrol (0.00, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40 mmol/L) for 24 or 48 h, cell viability was analyzed by MTT assay; cellular morphological alterations were observed after Hoechst33258 staining; apoptosis was detected by flow cytometry (FCM); and protein expression of mitogen-activated protein kinase (MAPK) was detected by Western blot.

RESULTS: Carvacrol suppressed the proliferation of HepG2 cells in a dose- and time-depen-

dent manner. After treatment with carvacrol for 24 h, the number of apoptotic HepG2 cells increased with elevation of the concentration of carvacrol. Apoptotic cells showed typical ultrastructural features. FCM analysis indicated that the apoptosis rate of HepG2 cells increased with the increase in the concentration of carvacrol (0.00 mmol/L: 3.70% \pm 0.22%; 0.05 mmol/L: 13.50% \pm 1.59%; 0.10 mmol/L: 25.80% \pm 2.18 %; 0.20 mmol/L: 30.50% \pm 0.25%, 0.40 mmol/L: 50.60% \pm 3.81%). Carvacrol selectively altered the phosphorylation levels of MAPK members: significantly inhibiting phosphorylation of ERK1/2 in a dose-dependent manner, increasing phosphorylation of p38, but not affecting that of JNK.

CONCLUSION: Carvacrol induces apoptosis of HepG2 cells via the MAPK signal transduction pathway.

Key Words: Carvacrol; HepG2 cells; Apoptosis; Mitogen-activated protein kinase

Yin QH, Zhuang YZ. Molecular mechanisms involved in carvacrol-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1555-1560

摘要

目的: 探讨香芹酚(carvacrol, CV)对人肝癌细胞(HepG2)的抗癌作用及其分子机制.

方法: 予以不同浓度的香芹酚(0.00、0.05、0.10、0.20、0.40 mmol/L)处理肝癌细胞HepG2后, 采用四甲基偶氮唑蓝(MTT)比色法检测细胞活力; Hoechst33258染色法及流式细胞仪(FCM)技术检测细胞凋亡; Western blot检测MAPK蛋白水平的变化.

结果: 香芹酚对肝癌细胞株HepG2的抑制作用呈浓度依赖性及时间依赖性; 在作用24 h后, 随着浓度的递增, 细胞数目减少, 凋亡细胞逐步增多, 流式细胞仪检测的细胞凋亡率逐步升高, 随着香芹酚浓度的增加(0.00、0.05、

■背景资料

研究表明香芹酚对多种肿瘤均有抑制作用. 丝裂原活化的蛋白激酶(MAPK)信号转导通路是细胞信号转导中的重要组成部分, 具有调节细胞增殖、凋亡以及分化的功能, 已成为抗肿瘤治疗的一个新靶点. 探讨香芹酚诱导肝癌细胞凋亡与其影响磷酸化MAPK激酶蛋白表达的关系有助于揭示香芹酚的抗癌机制, 为将来香芹酚应用临床治疗肝癌提供理论依据.

■同行评议者

程斌, 教授, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科

■研究前沿

香芹酚抗肿瘤效应在早期就被证实,经过一系列的实验研究表明香芹酚对多种肿瘤细胞均具有抑制作用,但其作用机制并不明确,研究香芹酚对肿瘤细胞中信号传导途径的调节作用可成为研究其抗癌活性机制的一个重要环节.

0.10、0.2、0.40 mmol/L)细胞的凋亡比率明显升高,依次为: 3.70%±0.22%、13.50%±1.59%、25.80%±2.18%、30.50%±0.25%、50.60%±3.81%. 进一步的Western blot实验表明,香芹酚选择性地改变了MAPK家族成员的磷酸化,对磷酸化ERK有明显的浓度依赖性抑制作用,同时能激活p38的磷酸化,而JNK激酶磷酸化却没有改变.

结论: 香芹酚可通过MAPK信号通路诱导肝癌细胞株HepG2凋亡.

关键词: 香芹酚; HepG2; 细胞凋亡; 丝裂原活化蛋白激酶

殷清华, 庄英帆. 香芹酚对肝细胞癌HepG2细胞凋亡的诱导作用及其分子机制. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1555-1560
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1555.asp>

0 引言

香芹酚(carvacrol, CV), 化学名为5-异丙基-2-甲基苯酚, 是一种单帖酚, 又称香荆芥酚、异麝香草酚、异丙基甲苯酚等, 普遍存在于各种天然植物挥发油中, 如百里香油、牛至油、香薷精油等^[1-3]. 早在20世纪初国外就将其作为一种香料开始在食品中使用, 至今仍作为香料用于口腔用品、牙膏、爽身粉、香皂等日用品. 过去的研究表明, CV是一种广谱的抗真菌剂及抗菌剂, 且具有抗氧化及驱虫等作用, 被用于饲料添加剂、抗氧化剂、卫生杀菌剂、驱虫剂、防腐剂等^[4-6], 又因其具有百里香的香味, 对人体无毒、无过敏, 用于食品添加剂、脱味剂等^[4-6]. 近年来的研究发现, CV对黑色素瘤^[7]、肺癌^[8]、平滑肌肉瘤^[9]、白血病^[10]、乳腺癌^[11]等多种肿瘤细胞的具有抑制增殖及诱导凋亡作用, 而目前对CV抗肿瘤的机制仍不清楚. 而CV对肝癌的凋亡诱导作用, 国内外尚未见文献报道. 我们通过研究CV对肝癌细胞系HepG2的诱导凋亡作用, 并初步探讨其诱导肿瘤细胞凋亡机制, 为临床应用的提供可靠的理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 CV(CAS: 499-75-2)和四甲基偶氮盐购自美国Sigma公司; 1640培养基购自美国Gibco公司; 胎牛血清购自中国杭州四季青公司; Hoechst33258染色剂、细胞裂解液和BCA蛋白含量测定试剂购自江苏碧云天公司; 聚偏二氟乙烯印迹膜(PVDF膜)购自Millipore公司; ERK、

p-ERK、JNK、p-JNK、p38、p-p38抗体均购自美国Cell Signaling Technology公司; 兔抗人 β -actin IgG购自中国武汉博士德; Western blot荧光检测试剂盒(A, B液)购自中国北京中杉公司.

1.2 方法

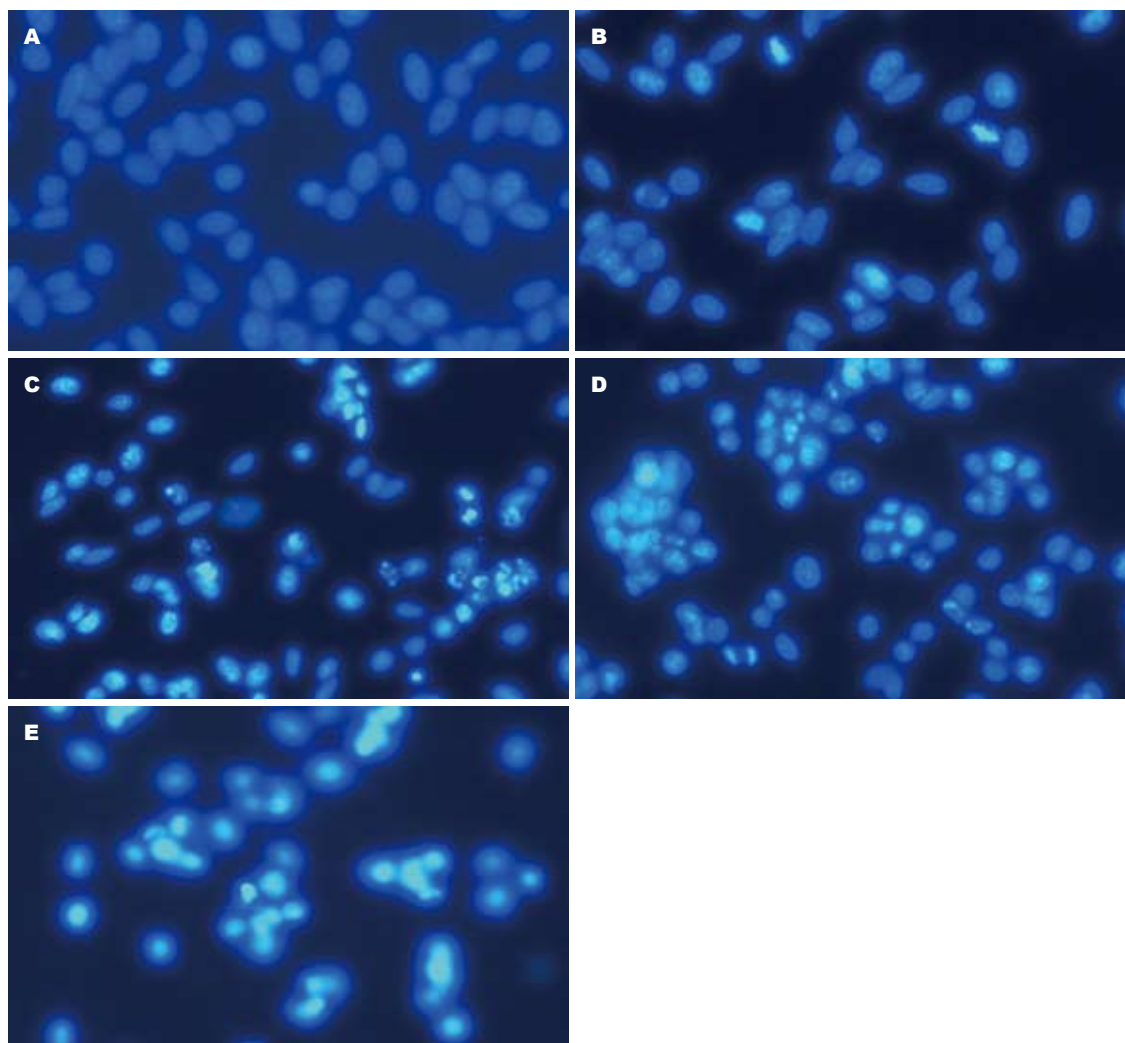
1.2.1 细胞培养: 人肝细胞癌细胞株HepG2系南华大学肿瘤研究所惠赠. 用含有100 mL/L胎牛血清的1640培养基培养, 同时加入100 U/L链霉素和100 U/L青霉素, 在37 °C、50 mL/L CO₂饱和湿度的CO₂培养箱中培养, 用2.5 g/L胰蛋白酶进行消化传代. 取对数生长期细胞进行实验.

1.2.2 MTT法检测细胞存活率: 取对数生长期细胞消化, 计数, 6 000个/孔接种于96孔培养板(每孔100 μ L), 置于37 °C、50 mL/L CO₂恒温培养箱中培养, 待细胞贴壁生长至90%融合后药物处理24或48 h, 弃原培养液, 每孔加入MTT (5 μ g/L)20 μ L培养4 h后, 弃培养液上清, 加入二甲基亚砷150 μ L, 振荡10 min至结晶完全溶解后, 将96孔板放入酶标仪, 在570 nm波长处测定吸光度(A)值, 并根据吸光度, 计算细胞存活率, 同法重复3块培养板, 取A值均值, (细胞存活率 = 给药组吸光度/空白组吸光度×100%).

1.2.3 Hoechst33258核染色观察细胞凋亡形态: 将细胞接种于6孔板内, 给予不同药物浓度处理后, 加入新鲜配制的4%多聚甲醛于4 °C固定细胞15 min, 用PBS洗2次, 加入5 g/L Hoechst33258染色液染色15 min, 用PBS洗1次, 立即于荧光显微镜下观察、照相.

1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡率: 不同浓度的CV(0.00、0.05、0.10、0.20、0.40 mmol/L)处理HepG2细胞24 h后, 离心收集细胞, PBS洗2次, 加入预冷的70%乙醇4 °C固定过夜. 1 000 r/min离心弃去乙醇, PBS洗1次, 加入含100 mg/L碘化丙啶(PI)和2×10⁴ U/L RNaseA染色液, 室温避光染色30 min, 过400目尼龙网, 用流式细胞仪测定细胞DNA含量, 以上实验重复3次.

1.2.5 Western blot检测蛋白变化: 经药物处理后的细胞, 用预冷的PBS洗涤2次, 收集细胞加入裂解缓冲液4 °C裂解15 min, 收集细胞裂解液, 离心, 收集上清液. BCA试剂测定蛋白含量. 1×SDS凝胶加样缓冲液调蛋白浓度使各组一致, 上样于SDS-PAGE聚丙烯酰胺凝胶, 每孔20 μ L蛋白进行电泳分离. 将蛋白转至PVDF膜(Millipore公司). 加入含5%脱脂奶粉封闭液过夜, 一抗(ERK、p-ERK、JNK、p-JNK、p38、p-p38 1 : 1 000,

**■ 相关报道**

研究已发现香芹酚具有抗鼠黑色素瘤细胞B16、慢性髓性白血病细胞K562、非小细胞肺癌A549及转移性乳腺癌MDA-MB231等细胞增殖及诱导凋亡作用。

图1 不同浓度的CV对HepG2细胞24 h后的影响(Hoechst33258核染色 $\times 400$)。A: 0.00 mmol/L; B: 0.05 mmol/L; C: 0.10 mmol/L; D: 0.20 mmol/L; E: 0.40 mmol/L。

β -actin 1 : 500)4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, TBST洗膜3次, 每次20 min, 二抗(1 : 1 000)室温孵育4 h, TBST洗5遍, 用化学发光试剂盒检测蛋白的表达。图片结果用图像分析软件(AlphaImagerTM 2200)分析, 以处理组灰度面积的乘积/总蛋白(ERK、p-ERK、JNK)灰度面积的乘积反映相对蛋白表达丰度或蛋白质磷酸化水平。以上实验重复3次。

统计学处理 所有实验结果以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 实验组间统计学差异显著性用SPSS13.0统计软件作单因素方差分析(ANOVA), 对照组均数与实验组均数间的比较用LSD法, 各组均数间的两两比较用SNK法, $P < 0.05$ 表示统计学上有差异显著性。

2 结果

2.1 CV对HepG2细胞存活率的影响 HepG2细胞经不同浓度的CV(0.00、0.05、0.10、0.20、

0.40 mmol/L)作用24及48 h后, MTT试验结果显示(表1), 随药物浓度及培养时间的增加, 细胞存活率逐渐降低, 与对照组比较, 差异有统计学意义($n = 5$, $P < 0.05$)。结果表明CV对肝癌细胞株HepG2细胞的抑制作用呈浓度依赖性及时间依赖性。

2.2 CV诱导HepG2细胞凋亡 Hoechst33258核染色的结果显示, 正常的HepG2细胞染色质分布均匀, 为低强度蓝色荧光。经不同浓度的CV处理后的HepG2细胞呈现典型的凋亡特征, 随着浓度的增加, 细胞数量明显减少, 细胞生长密度逐渐变疏, 呈现浓缩致密的固缩形态或颗粒状态的凋亡细胞数增加(图1)。与Hoechst33258核染色的结果相同, PI染色流式细胞仪(FCM)检测细胞凋亡率的结果显示, 不同浓度的CV(0.00、0.05、0.10、0.20、0.40 mmol/L)作用于HepG2细胞24 h, 其亚二倍体DNA含量细胞百分率明显升

■创新盘点

本研究发现ERK及p38 MAPK信号通路可能部分参与了香芹酚诱导肿瘤细胞凋亡的过程,从而抑制肝癌细胞的增殖。

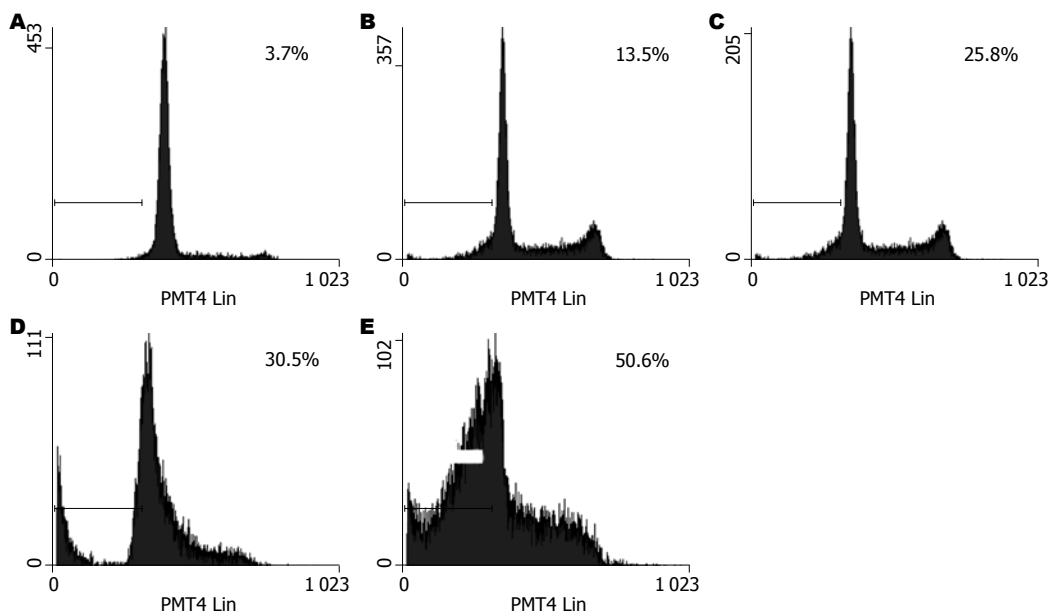


图2 FCM检测不同浓度的CV对HepG2细胞24 h后细胞二倍体DNA含量细胞百分率的影响。A: 0 mmol/L; B: 0.05 mmol/L; C: 0.1 mmol/L; D: 0.2 mmol/L; E: 0.4 mmol/L。

高,依次为: $3.70\% \pm 0.22\%$ 、 $13.50\% \pm 1.59\%$ 、 $25.80\% \pm 2.18\%$ 、 $30.50\% \pm 0.25\%$ 、 $50.60\% \pm 3.81\%$ (图2)。

2.3 CV对MAPK信号途径的影响 CV浓度依赖性抑制了ERK的磷酸化,同时激活p38的磷酸化,而JNK的磷酸化水平未见明显变化,表明ERK及p38通路参与了CV对肝癌细胞的增殖与凋亡的调控(图3)。

3 讨论

肿瘤的病因非常复杂,细胞信号转导系统异常与肿瘤的发生发展密切相关^[12]。丝裂原活化的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是一组可被多种信号激活的丝/苏氨酸激酶。经双重磷酸化激活后可参与细胞的多种生物活性,如调节基因转录,诱导细胞凋亡、调节细胞周期等。而MAPK对细胞凋亡的诱导作用,是近年来研究的重点,尤其是对肿瘤细胞凋亡的诱导作用,更是人们关注的焦点^[13,14]。因此,以此信号途径为靶点,可以干预肿瘤进程,作为肿瘤治疗的策略之一^[15]。

丝裂原活化的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号转导通路是细胞信号转导中的重要组成部分,具有调节细胞增殖、凋亡以及分化的功能^[16]。其中最重要的3条通路为ERK、JNK以及P38通路^[17,18]。MAPK级联具有高度保守性,采用三级激酶级联传递信号:细胞外刺激通过某些环节使MAPK激酶激酶

表1 CV对HepG2细胞生长的影响 ($n = 5$, mean \pm SD)

CV剂量(mmol/L)	细胞存活率(%)	
	24 h	48 h
0.00	100.00 ± 5.11	100.00 ± 3.19
0.05	82.34 ± 2.59^a	74.82 ± 3.46^a
0.10	69.94 ± 2.31^a	64.82 ± 2.79^a
0.20	58.70 ± 2.29^a	51.29 ± 3.49^a
0.40	46.10 ± 3.31^a	40.53 ± 2.47^a

^a $P < 0.05$ vs CV 0 mmol/L。

(mitogen-activated protein kinases kinase kinase, MAPKKK)激活,转而激活MAPK激酶(mitogen-activated protein kinases kinase, MAPKK),然后再通过双位点磷酸化激活MAPK。MAPK活化后,磷酸化其下游底一转录因子、蛋白激酶、酶、结黏附、迁移等过程,继而诱导肿瘤细胞的凋亡。ERK通路的激活具有抗凋亡作用,ERK活性的降低具有促进肿瘤细胞凋亡的作用,在许多肿瘤组织中ERK通路都处于异常激活状态^[19,20]。JNK及p38信号转导通路参与多种凋亡反应^[21-26],活化的p38可增强c-Myc表达^[27]、磷酸化p53^[28]、参与Fas/FasL^[29]介导的凋亡。而如今已临床中已有大量以MAPK通路为靶点的颇有前景的抗肿瘤药物^[30-32]。

CV,又名异麝香草酚,是牛至油及百里香油等的主要成分^[2,3]。通常作为一种安全的食品添加剂,例如糖果、饮料和口香糖等^[2]。已有报

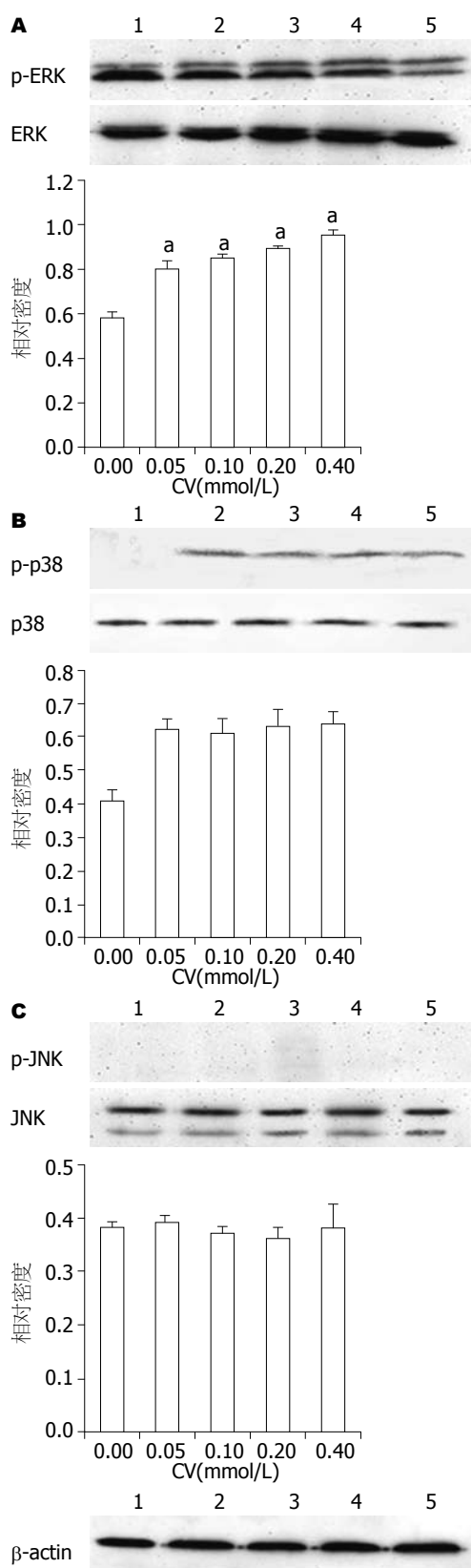


图3 Western blot检测不同浓度的CV对MAPK信号通路蛋白表达的影响。A: ERK; B: p38; C: JNK。1: 0.00 mmol/L CV; 2: 0.05 mmol/L CV; 3: 0.10 mmol/L CV; 4: 0.20 mmol/L CV; 5: 0.40 mmol/L CV。* $P < 0.05$ vs CV 0 mmol/L。

道CV具有广泛的生物学活性, 如抗炎^[33]、抗肿瘤^[34]及抗氧化作用^[35]。先已证实CV具有抗

鼠黑色素瘤细胞B16^[7]、慢性髓性白血病细胞K562^[10]、非小细胞肺癌A549^[8]及转移性乳腺癌MDA-MB231^[11]等增殖及诱导凋亡作用。对于其机制的研究仅一篇文献报道CV可通过下调Bcl-2及上调Bax的表达诱导转移性乳腺癌细胞MDA-MB321细胞凋亡^[11]。由于CV具有多效、低毒的特性, 并广泛存在于植物界, 他在医学上越来越多的研究受到人们的关注。目前国内外还未见文献报道CV对肝癌的研究, 在此基础上, 我们大胆选择Bcl-2的上游信号转导通路MAPK信号转导通路为靶点, 以肝癌细胞株HepG2为研究对象, 来研究CV酸对肝癌细胞的诱导凋亡作用。

本研究表明, CV可以抑制肝癌HepG2细胞的增殖, 并呈一定的浓度-效应和时间-效应依赖关系, 核染色及流式细胞仪分析显示CV可以明显地诱导HepG2细胞凋亡, 随着浓度的增加, 细胞数量逐渐减少, 产生明显的染色质凝聚和核裂解的凋亡细胞逐渐增加, 细胞凋亡率逐渐增高。在进一步探讨CV诱导HepG2细胞凋亡的机制时, 我们选择了MAPK信号转导通路进行研究。通过Western blot分析观察CV作用于HepG2细胞后对该信号分子活性变化的影响, 来研究他是否可能通过这一途径引起HepG2细胞的凋亡, 在不同浓度药物作用15 min后, 3种激酶的表达水平都没有明显的改变, 而是改变了他们磷酸化的程度。其中ERK的磷酸化受到明显的抑制, 且呈现出浓度依赖性; 在本实验的浓度范围内p38 MAPK只是被激活, 而其作用是否具有浓度依赖性抑或激活时间有关需要进一步探讨; JNKMAPK在本实验中没有发生磷酸化改变。由此可推测CV的作用抑制了ERK的活性, 并通过激活p38诱导肝癌HepG2细胞凋亡, 而JNK信号通路的没有参与。而是否有其他信号转导通路或其他有关其诱导肿瘤细胞凋亡的其他机制有待于后期的实验研究进一步探讨。

总之, 本实验证实CV能诱导肝癌细胞凋亡, ERK及p38 MAPK信号通路可能部分参与了CV诱导肿瘤细胞凋亡的过程, 为进一步其用于临床应用提供了实验依据, 更深的机制需进一步的实验研究。

4 参考文献

- Martins R, Neves M, Silvestre A, Silva A, Cavaleiro J. Oxidation of aromatic monoterpenes with hydrogen peroxide catalysed by Mn (III) porphyrin complexes. *J Mol Catal A Chem* 1999; 137: 41-47
- Lampronti I, Saab AM, Gambari R. Antiproliferative activity of essential oils derived from plants belonging to the Magnoliophyta division. *Int J Oncol*

■应用要点

探讨香芹酚诱导肝癌细胞凋亡及其与MAPK信号通路激酶蛋白表达的关系有助于揭示香芹酚抗癌的机制, 为进一步其用于临床应用提供了实验依据。

■同行评价

本研究选题新颖,思路明确,方法较先进,结论较明确,有较好的学术价值。

- 2006; 29: 989-995
- 3 Kiskó G, Roller S. Carvacrol and p-cymene inactivate *Escherichia coli* O157: H7 in apple juice. *BMC Microbiol* 2005; 5: 36
- 4 Baser KH. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Curr Pharm Des* 2008; 14: 3106-3119
- 5 Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou IB. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 4168-4170
- 6 Sökmen M, Serkedjieva J, Daferera D, Gulluce M, Polissiou M, Tepe B, Akpulat HA, Sahin F, Sokmen A. In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 3309-3312
- 7 He L, Mo H, Hadisusilo S, Qureshi AA, Elson CE. Isoprenoids suppress the growth of murine B16 melanomas in vitro and in vivo. *J Nutr* 1997; 127: 668-674
- 8 Koparal AT, Zeytinoglu M. Effects of Carvacrol on a Human Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Cell Line, A549. *Cytotechnology* 2003; 43: 149-154
- 9 Karkabounas S, Kostoula OK, Daskalou T, Veltsistas P, Karamouzis M, Zelovitis I, Metsios A, Lekkas P, Evangelou AM, Kotsis N, Skoufos I. Anticarcinogenic and antiplatelet effects of carvacrol. *Exp Oncol* 2006; 28: 121-125
- 10 Horvathova E, Turcaniova V, Slamenova D. Comparative study of DNA-damaging and DNA-protective effects of selected components of essential plant oils in human leukemic cells K562. *Neoplasma* 2007; 54: 478-483
- 11 Arunasree KM. Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. *Phytomedicine* 2010; 17: 581-588
- 12 Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70
- 13 Roberts PJ, Der CJ. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene* 2007; 26: 3291-3310
- 14 Wong KK. Recent developments in anti-cancer agents targeting the Ras/Raf/ MEK/ERK pathway. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2009; 4: 28-35
- 15 何平, 赵晓航. 细胞重要分子表型与肿瘤个体化治疗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1781-1787
- 16 Johnson GL, Lapadat R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science* 2002; 298: 1911-1912
- 17 Fecher LA, Amaravadi RK, Flaherty KT. The MAPK pathway in melanoma. *Curr Opin Oncol* 2008; 20: 183-189
- 18 Junttila MR, Li SP, Westermarck J. Phosphatase-mediated crosstalk between MAPK signaling pathways in the regulation of cell survival. *FASEB J* 2008; 22: 954-965
- 19 Huynh H, Nguyen TT, Chow KH, Tan PH, Soo KC, Tran E. Over-expression of the mitogen-activated protein kinase (MAPK) kinase (MEK)-MAPK in hepatocellular carcinoma: its role in tumor progression and apoptosis. *BMC Gastroenterol* 2003; 3: 19
- 20 Tommasi S, Pinto R, Pilato B, Paradiso A. Molecular pathways and related target therapies in liver carcinoma. *Curr Pharm Des* 2007; 13: 3279-3287
- 21 Bogoyevitch MA, Kobe B. Uses for JNK: the many and varied substrates of the c-Jun N-terminal kinases. *Microbiol Mol Biol Rev* 2006; 70: 1061-1095
- 22 Dhanasekaran DN, Reddy EP. JNK signaling in apoptosis. *Oncogene* 2008; 27: 6245-6251
- 23 Kalra N, Kumar V. c-Fos is a mediator of the c-myc-induced apoptotic signaling in serum-deprived hepatoma cells via the p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *J Biol Chem* 2004; 279: 25313-25319
- 24 Han J, Jiang Y, Li Z, Kravchenko VV, Ulevitch RJ. Activation of the transcription factor MEF2C by the MAP kinase p38 in inflammation. *Nature* 1997; 386: 296-299
- 25 Ghatan S, Lerner S, Kinoshita Y, Hetman M, Patel L, Xia Z, Youle RJ, Morrison RS. p38 MAP kinase mediates bax translocation in nitric oxide-induced apoptosis in neurons. *J Cell Biol* 2000; 150: 335-347
- 26 Jiang DJ, Jia SJ, Dai Z, Li YJ. Asymmetric dimethyl-arginine induces apoptosis via p38 MAPK/caspase-3-dependent signaling pathway in endothelial cells. *J Mol Cell Cardiol* 2006; 40: 529-539
- 27 Stoneley M, Chappell SA, Jopling CL, Dickens M, MacFarlane M, Willis AE. c-Myc protein synthesis is initiated from the internal ribosome entry segment during apoptosis. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 1162-1169
- 28 Bulavin DV, Saito S, Hollander MC, Sakaguchi K, Anderson CW, Appella E, Fornace AJ. Phosphorylation of human p53 by p38 kinase coordinates N-terminal phosphorylation and apoptosis in response to UV radiation. *EMBO J* 1999; 18: 6845-6854
- 29 Kornmann M, Ishiwata T, Kleeff J, Beger HG, Korc M. Fas and Fas-ligand expression in human pancreatic cancer. *Ann Surg* 2000; 231: 368-379
- 30 Johnston SR, Leary A. Lapatinib: a novel EGFR/HER2 tyrosine kinase inhibitor for cancer. *Drugs Today (Barc)* 2006; 42: 441-453
- 31 Wilhelm SM, Carter C, Tang L, Wilkie D, McNabola A, Rong H, Chen C, Zhang X, Vincent P, McHugh B, Cao Y, Shujath J, Gawlak S, Eveleigh D, Rowley B, Liu L, Adnane L, Lynch M, Auclair D, Taylor I, Gedrich R, Voznesensky A, Riedl B, Post LE, Bollag G, Trail PA. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis. *Cancer Res* 2004; 64: 7099-7109
- 32 刘宝瑞, 王婷婷, 钱晓萍. 原发性肝癌分子靶向治疗研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 993-997
- 33 Periago PM, Moezelaar R. Combined effect of nisin and carvacrol at different pH and temperature levels on the viability of different strains of *Bacillus cereus*. *Int J Food Microbiol* 2001; 68: 141-148
- 34 Stammati A, Bonsi P, Zucco F, Moezelaar R, Alakomi HL, von Wright A. Toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short-term assays. *Food Chem Toxicol* 1999; 37: 813-823
- 35 Mastelić J, Jerković I, Blazević I, Poljak-Blazi M, Borović S, Ivancić-Baće I, Smrecki V, Zarković N, Brcić-Kostić K, Vikić-Topić D, Müller N. Comparative study on the antioxidant and biological activities of carvacrol, thymol, and eugenol derivatives. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 3989-3996

编辑 李薇 电编 何基才

丹参酮 II A 调节 COX-2 对人结肠癌 HCT-116 细胞 VEGF 表达的影响

周利红, 王炎, 范忠泽, 吴琼, 刘宣, 慈书俊, 李琦

周利红, 王炎, 范忠泽, 吴琼, 刘宣, 慈书俊, 李琦, 上海中医药大学附属普陀医院 上海中医药大学中西医结合肿瘤介入研究所 上海市 200062

周利红, 硕士, 主要从事中西医结合防治肿瘤的临床及基础研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 810729552

上海市科委实验动物专项基金资助项目, No. 10140902600

上海市自然科学基金资助项目, No. 09ZR1428500

上海市重点学科基金资助项目, No. S30302

上海市教委科研预算内基金资助项目, No. 09JW42

作者贡献分布: 本课题由李琦与范忠泽设计; 研究过程由周利红、王炎、吴琼、刘宣及慈书俊共同完成; 研究所用新试剂及分析工具由李琦与范忠泽提供; 数据分析由吴琼与刘宣共同完成; 本论文写作由李琦、周利红及王炎完成。

通讯作者: 李琦, 博士, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 200062, 上海市兰溪路164号, 上海中医药大学附属普陀医院, 上海中医药大学中西医结合肿瘤介入研究所。lzwf@hotmail.com

收稿日期: 2011-01-05 修回日期: 2011-04-18

接受日期: 2011-04-26 在线出版日期: 2011-05-28

Tan IIA inhibits COX-2-regulated VEGF expression in human colon cancer HCT-116 cells

Li-Hong Zhou, Yan Wang, Zhong-Ze Fan, Qiong Wu, Xuan Liu, Shu-Jun Ci, Qi Li

Li-Hong Zhou, Yan Wang, Zhong-Ze Fan, Qiong Wu, Xuan Liu, Shu-Jun Ci, Qi Li, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Interventional Oncology Institute of Integrative Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 810729552; the Experimental Animal Special Fund of Science and Technology Commission of Shanghai, No. 10140902600; the Natural Science Foundation of Shanghai of China, No. 09ZR1428500; the Leading Academic Discipline Project of Shanghai Municipal Education Commission, No. S30302; and the Youth Foundation of Shanghai Municipal Education Commission, No. 09JW42

Correspondence to: Associate Professor Qi Li, Putuo Hospital & Interventional Oncology Institute of Integrative Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 164 Lanxi Road, Shanghai 200062, China. lzwf@hotmail.com

Received: 2011-01-05 Revised: 2011-04-18

Accepted: 2011-04-26 Published online: 2011-05-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of tanshinone IIA (Tan IIA), an active component of *Salvia miltiorrhiza*, on cell proliferation and cyclooxygenase-2 (COX-2)-regulated vascular endothelial growth

factor (VEGF) expression in human colon cancer HCT-116 cells.

METHODS: MTT assay was used to evaluate the effect of Tan IIA on the proliferation of HCT-116 cells. HCT-116 cells were co-transfected transiently with the recombinant plasmid pGL3-Basic-COX-2-promoter and control vector pRL-TK and randomly divided into blank group, control group, and Tan IIA group. Dual luciferase reporter assay was used to observe the activity of COX-2 promoter 48 h after treatment with Tan IIA. HCT-116 cells were transfected with the pIRES-COX-2 plasmid and divided into three groups as above. The expression of COX-2 mRNA in transfected cells was detected by real-time PCR, and the level of VEGF in culture medium was assayed by ELISA.

RESULTS: Tan IIA had obvious inhibition on the proliferation of HCT-116 cells. The half maximal inhibitory concentrations (IC_{50}) at 24, 48, and 72 h were $40.3 \mu\text{mol/L} \pm 5.22 \mu\text{mol/L}$, $12.9 \mu\text{mol/L} \pm 3.24 \mu\text{mol/L}$, and $8.5 \mu\text{mol/L} \pm 1.47 \mu\text{mol/L}$, respectively, and the maximal no-effect dose at 24 h was $10 \mu\text{mol/L}$. At 48 h after transfection with plasmids carrying the COX-2-promoter and COX-2 cDNA, the activity of COX-2 promoter and expression of COX-2 mRNA were obviously up-regulated (both $P < 0.01$), and the concentration of VEGF was three times higher than that in control cells ($P < 0.05$). Treatment with $10 \mu\text{mol/L}$ Tan IIA significantly down-regulated the expression of COX-2 and VEGF in transfected cells ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Tan IIA down-regulates VEGF expression and inhibits cell proliferation possibly by regulating COX-2 promoter activity and mRNA expression in HCT-116 cells.

Key Words: Tanshinone IIA; Cyclooxygenase-2; Vascular endothelial growth factor; Colon cancer

Zhou LH, Wang Y, Fan ZZ, Wu Q, Liu X, Ci SJ, Li Q. Tan IIA inhibits COX-2-regulated VEGF expression in human colon cancer HCT-116 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi*

■背景资料

COX-2在肿瘤发生、发展和转移的整个过程中起着重要的作用,参与了肿瘤形成的多个环节。对肿瘤组织或肿瘤细胞中COX-2活性检测可以作为监测肿瘤的发生发展的一个重要手段,COX-2在细胞中的基因表达水平也可以作为抗肿瘤药物筛选的一个重要指标。

■同行评议者

曹鹏, 副研究员, 江苏省中医药研究院细胞与分子生物学实验室

■研发前沿

Tan II A是从中药丹参中提取的脂溶性有效成分,具有抗氧化、抗心脑血管疾病、抗菌消炎等药理作用,近年研究发现Tan II A具有较好的抗肿瘤作用,对肝癌、胃癌、肠癌等消化系统肿瘤细胞具有较强的抑制作用。

2011; 19(15): 1561-1567

摘要

目的: 研究中药丹参有效活性成分丹参酮 II A(Tan II A)对人结肠癌HCT-116细胞的生长抑制作用及其调控COX-2对HCT-116细胞VEGF表达的影响。

方法: 利用MTT法检测不同浓度的Tan II A对人结肠癌HCT-116细胞的生长抑制作用,将pGL3-Basic-COX-2-promoter重组质粒和pRL-TK内参质粒共转染HCT-116细胞,分为空白组、对照组和Tan II A组。药物作用48 h后,双荧光素酶测定法检测COX-2启动子转录活性。将含COX-2 CDS序列的pIRES1-COX-2重组质粒转染HCT-116细胞,分为空白组、对照组和Tan II A组,ELISA法检测细胞培养液中VEGF的表达。

结果: Tan II A对人结肠癌HCT-116细胞有明显的增殖抑制作用,24、48、72 h的 IC_{50} 值分别为 $40.3 \mu\text{mol/L} \pm 5.22 \mu\text{mol/L}$, $12.9 \mu\text{mol/L} \pm 3.24 \mu\text{mol/L}$, $8.5 \mu\text{mol/L} \pm 1.47 \mu\text{mol/L}$, 24 h的最大无毒剂量为 $10 \mu\text{mol/L}$ 。转染pGL3-Basic-COX-2-promoter重组质粒48 h后,COX-2启动子活性明显上调(对照组 vs 空白组, $P < 0.01$),而不同浓度的Tan II A可明显抑制COX-2启动子活性。转染pIRES1-COX-2重组质粒后,细胞培养液VEGF浓度升高(对照组 vs 空白组, $P < 0.05$),而 $10 \mu\text{mol/L}$ Tan II A处理后,VEGF的表达显著下调(Tan II A vs 对照组, $P < 0.05$)。

结论: Tan II A能明显抑制人结直肠癌细胞增殖,并通过调控人结肠癌细胞COX-2表达抑制结直肠癌细胞VEGF的表达。

关键词: 丹参酮 II A; 环氧合酶2; 血管内皮生长因子; 结肠癌

周利红, 王炎, 范忠泽, 吴琼, 刘宣, 慈书俊, 李琦. 丹参酮 II A调节COX-2对人结肠癌HCT-116细胞VEGF表达的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1561-1567

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1561.asp>

0 引言

COX-2在肿瘤发生、发展和转移的整个过程中起着重要的作用,参与了肿瘤形成的多个环节。因此,对肿瘤组织或肿瘤细胞中COX-2活性检测可以作为监测肿瘤的发生发展的一个重要手段,COX-2在细胞中的基因表达水平也可以作为抗肿瘤药物筛选的一个重要指标。丹参酮 II

A(tanshinone II A, Tan II A)是从中药丹参中提取的脂溶性有效成分,具有抗氧化、抗心脑血管疾病、抗菌消炎等药理作用,近年研究发现Tan II A对肝癌、胃癌、肠癌等肿瘤细胞具有杀伤作用。本课题组前期研究显示^[1], Tan II A对结直肠癌小鼠肿瘤组织微血管生成具有较好的抑制作用,但其抑制肿瘤血管新生的作用机制是否与其下调COX-2表达有关尚待进一步研究。本实验采用前期构建的含COX-2启动子和萤火虫荧光素酶报告基因(luc)的重组质粒pGL3-Basic-COX-2-promoter, 及含海肾荧光素酶报告基因(Rluc)的内参质粒pRL-TK共转染低表达COX-2基因的人结肠癌HCT-116细胞,研究Tan II A对人结肠癌HCT-116细胞COX-2启动子的影响;以含COX-2 CDS序列的重组质粒pIRES1-COX-2上调HCT-116细胞mRNA表达,并检测Tan II A对细胞培养液中VEGF表达的影响,以期通过调控COX-2及VEGF表达情况,研究Tan II A介导COX-2对人肠癌血管新生的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 Tan II A, 纯度98%, 西安冠宇生物技术有限公司); 四甲基偶氮唑盐(MTT, 美国Sigma公司); 二甲基亚砜(DMSO, 上海凌峰化学试剂公司); Lipofectamine 2000转染脂质体(美国Invitrogen公司); 人VEGF试剂盒(美国Bio Sources公司); Dual-Luciferase Assay System试剂盒(美国Promega公司)Rnaiso试剂(日本TaKaRa公司); RNA的反转录试剂盒(日本TaKaRa公司); Real Time PCR试剂盒(日本TaKaRa公司)。人结肠癌HCT-116细胞, 购买自中国科学院上海细胞研究所。细胞置50 mL/L CO₂培养箱, 37 °C培养, 培养基为RPMI 1640, 添加100 mL/L的小牛血清。重组质粒pGL3-Basic-COX-2-promoter、pIRES1-COX-2、内参质粒pRL-TK(由上海中医药大学附属普陀医院肿瘤实验室保藏)。人COX-2基因、探针及上下游引物由上海闪晶生物科技有限公司合成, 其中5'端标记上报告荧光基团FAM(6-carboxy-fluo-rescein-phosphoramidite), 3'端标记上淬灭荧光基团TAMRA(carboxy-tetramethyl-rhodamine), 序列如表1。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人结肠癌HCT-116细胞株购中国科学院上海细胞研究所, 用含100 mL/L小牛血清的RPMI 1640培养基置于50 mL/L CO₂、饱和湿度、37 °C孵箱中常规培养, 每1-2 d传代1

表 1 GAPDH 和 COX-2 基因的引物及探针序列

基因	引物序列(5'-3')
GAPDH	上游引物 5'TGTGTCCGTCGTGGATCTGA3'
	下游引物 5'CCTGCTTCACCACTTCTTGA3'
	探针 5'CCGCCTGGAGAAACCTGCCAAGTATG3'
COX-2	上游引物 5'AATGAGTACCGCAAACGCTTCT3'
	下游引物 5'TTCTGCAGCCATTTCCTTCTC3'
	探针 5'CCTGAAGCCGTACACATCATTTG3'

次, 取对数生长期的细胞用于实验.

1.2.2 MTT法测定细胞的药物敏感性: 取常规培养的对数生长期人结肠癌 HCT-116 细胞, 配制成 5×10^7 个/L 的单细胞悬液, 以每孔 100 μ L 的量接种于 3 个 96 孔板中, 置于 50 mL/L CO_2 、饱和湿度、37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养. 24 h 后吸弃培养液, 分别加入含 Tan II A 的含药培养液 200 μ L, 药物初治浓度为 64 μ mol/L, 设置倍比稀释的 7 个浓度, 每个浓度设置 10 个复孔. 继续培养 24、48、72 h 后吸弃培养液, 每孔加入无血清培养液 180 μ L 及浓度 5 g/L 的 MTT 溶液 20 μ L, 置于 50 mL/L CO_2 、饱和湿度、37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中继续培养. 4 h 后小心吸弃孔内液体, 每孔加入 150 μ L DMSO, 置于酶标仪上检测各孔细胞在 570 nm 处的吸光度值. 根据检测结果计算 Tan II A 对 HCT-116 细胞的生长抑制率 (growth inhibitor rate, GIR), 计算公式如下: $\text{GIR} = [1 - (A_n - A_0) / (A_c - A_0)] \times 100\%$, A_0 为空白组吸光值, A_c 为正常对照组吸光组, A_n 为各不同剂量给药组吸光值, 使用 IC₅₀ 专用软件计算 Tan II A 的 IC₅₀ 值及 24 h 细胞生长抑制率为 10% 最大剂量.

1.2.3 脂质体法质粒转染细胞: 取常规培养的对数生长期人结肠癌 HCT-116 细胞, 配制成 1×10^8 个/L 的单细胞悬液, 以每孔 500 μ L 的量接种于 24 孔板中, 置于 50 mL/L CO_2 、饱和湿度、37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养. 待 24 孔板中的 HCT-116 细胞达 80% 汇片后, 分别吸去培养板中的培养液, 并添加 500 μ L 无血清无抗生素的新鲜 RPMI 1640 培养基 (RPMI 1640-FS) 进行润洗细胞 2-3 次, 取 2 个无菌处理过的 1.5 mL 管心管, 向 1 号离心管中按 50 μ L/孔加入 RPMI 1640-FS, 然后按要求加入 pGL3-Basic-COX-2-promoter 和 pRL-TK 质粒 DNA 共 0.8 μ g/孔, 轻柔混匀后静置 5 min; 向 2 号离心管中按 50 μ L/孔加入 RPMI 1640-FS, 按 2 μ L/孔加入 Lipofectamine 2000 转染试剂, 轻柔混匀后静置 5 min; 将两个离心管中的液体混合, 轻柔混匀后室温静置 20 min; 20 min 后, 吸除 24 孔

板中的培养液, 将上述离心管中的混合液缓慢均匀地滴加到各组细胞上. 将细胞置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、恒湿的含 50 mL/L CO_2 的培养箱中培养 3-5 h (一般约为 4 h), 3-5 h 后, 吸去质粒/脂质体/RPMI 1640 复合物, 向上述 24 孔板中的各组细胞中各加入 500 μ L 的完全培养基或含药培养基, 并置于上述同样的培养条件下继续培养 24-48 h.

1.2.4 化学发光法检测双荧光素酶活性: 将上述转染 pGL3-Basic-COX-2-promoter 和 pRL-TK 质粒的 HCT-116 细胞于转染 3-5 h 后吸除质粒/脂质体/RPMI 1640 复合物, 以未转染组为空白组, 转染后加完全培养基为对照组, 分别加入 4、8、12、16、20 μ mol/L 的 Tan II A 培养液, 每个浓度 3 个复孔, 于 50 mL/L CO_2 、37 $^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中培养 48 h 后进行双荧光素酶活性. 双荧光素酶活性检测采用美国 Promega 公司提供的 Dual Luciferase Assay System 试剂盒, 方法如下: (1) 裂解细胞: 吸除 24 孔培养板中的旧培养液, 加入 1 mL PBS, 轻轻洗涤细胞, 完全倾去洗涤液, 每孔加 100 μ L $1 \times \text{PLB}$ (Passive Lysis Buffer), 混匀. 将 24 孔培养板放在摇床上摇 15-20 min, 使细胞充分裂解; (2) 发光测定: 在发光测定仪 (美国 Promega 公司, GloMix 20/20) 选择双荧光素酶检测程序, 设定测读时间为 10 s. 取萤火虫荧光素酶检测液 (LAR II) 100 μ L 加入 1.5 mL 离心管底部, 然后将 20 μ L 细胞裂解液加入离心管, 用加样枪抽吸 3-5 次混匀, 放入仪器中立即测定, 记录发光值 1 (即萤火虫荧光素酶发光值, 单位 RLU); 检测结束后取 Stop & Glo Reagent 100 μ L 加入管底部, 用加样枪抽吸 3-5 次混匀, 放入仪器中立即测定, 记录发光值 2 (即海肾荧光素酶发光值, 单位 RLU); (3) 数据处理: 将上述得到的两个荧光素酶的值进行归一化处理, 分别用萤火虫荧光素酶的值除以海肾荧光素酶的值, 所得到的比值 (RLU1/RLU2) 即可反映 COX-2 基因启动子的转录活性.

1.2.5 RT-PCR 检测 COX-2 的表达: 取常规培养对数生长期 HCT-116 细胞, 配制成 5×10^8 个/L 单细胞悬液, 接种于 6 个 60 mm 的培养皿中, 每皿 2 mL. 分为 3 组, 每组 5 个复孔: (1) 空白组: 加入空白培养液; (2) COX-2 基因转染组: pIRES1-COX-2 质粒转染后加入空白培养液; (3) Tan II A 处理组: pIRES1-COX-2 质粒转染加入 10 μ mol/L 的 Tan II A; 分别按要求对细胞处理 48 h.

按总 RNA 提取试剂盒 (日本 TaKaRa 公司) 的说明书提取细胞总 RNA, 并用 DEPC 处理过的三蒸水稀释, 用紫外分光光度计测定 260/280 nm 处

■ 相关报道

日本研究人员 Tsujii 等研究发现转染 COX-2 基因的 CaCo-2 结肠癌细胞株, 在体外培养时产生 VEGF 等血管生成因子的量比未转染的细胞株增加 4-8 倍, 而 COX-2 抑制剂可使其恢复基础水平, 表明 COX-2 通过诱导以 VEGF 为代表的生长因子的表达, 促进肿瘤新生血管形成.

■创新盘点

荧光素酶报告基因(Luciferase reporter gene)是最经典的报告基因,他能催化荧光素或脂肪醛氧化发光,主要有细菌荧光素酶(Bacterial Luciferase)、萤火虫荧光素酶(Firefly Luciferase)以及海星、发光鱼等为来源的荧光素酶。

A值,计算RNA纯度和浓度.按比例分别加入5× PrimeScript Buffer 4 μL、PrimeScript RT Enzyme Mix I 1 μL、Oligo dT Primer(50 μmol/L)1 μL、Random 6 mers(100 μmol/L)1 μL、Total RNA 4 μL,加Rnase Free Water至20 μL, 37 °C 15 min, 85 °C 5 s,反应结束所得cDNA保存于-20 °C.用荧光定量PCR试剂盒:将合成的GAPDH和COX-2基因上下游引物和探针及cDNA分别按以下剂量加入到8联管中,每个基因做12个复孔: Forward Primer 0.4 μL、Reverse Primer 0.4 μL、Probe 0.8 μL、cDNA 2 μL、Rox Reference Dye 0.4 μL、Premix EX Taq 10 μL,加diH₂O至20 μL, 94 °C预变性10 s; 95 °C变性5 s; 60 °C退火、延伸31 s, 40个循环,所得到的数据采用ABI 7300 SDS软件分析.相对mRNA表达 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ($\Delta\Delta Ct$ = 靶基因Ct值-GAPDH Ct值),以GAPDH作为内参,同时以正常HCT-116细胞为基准,各组细胞COX-2 mRNA的表达量表示成正常HCT-116细胞的N倍($N = 2^{-\text{样品}\Delta Ct / 2^{-\text{基准}\Delta Ct}}$).

1.2.6 ELISA法检测VEGF的表达:取常规培养对数生长期的人结肠癌HCT-116细胞,配制成 1×10^8 个/L单细胞悬液,每孔500 μL的量接种于24孔细胞培养板中,置于50 mL/L CO₂、饱和湿度、37 °C培养箱中培养.按方法1.2.5将24孔板中的HCT-116细胞共分为3组,每组4个复孔,将细胞进行pGL3-Basic-COX-2-promoter质粒转染或加药处理48 h.处理后,每孔各取100 μL培养液上清,按人VEGF试剂盒说明书进行ELISA法检测细胞培养液中VEGF的表达情况.

统计学处理 采用PEMS3.1专用统计软件包对数据进行统计分析,所得到的数据以mean±SD表示,多样本均数比较用单因素方差分析;各组两两比较采用SNK检验,统计结果以 $P < 0.05$ 为差异有显著性.

2 结果

2.1 Tan II A对HCT-116细胞生长抑制作用 MTT检测结果表明, Tan II A对人结肠癌HCT-116细胞具有明显的抑制作用(表2), 24、48、72 h的IC₅₀分别为(40.3±5.22) μmol/L、(12.9±3.24) μmol/L、(8.5±1.47) μmol/L, 48 h细胞的生长抑制作用与24 h相比具有显著性差异($P < 0.05$),但与72 h的相比不具统计学意义,因此说明Tan II A作用细胞48 h是抑制效果最佳(图1).同时,根据结果计算24 h细胞最大无毒剂量(即细胞生长抑制率为10%最大剂量)约为10 μmol/L,因此选择10 μmol/L Tan

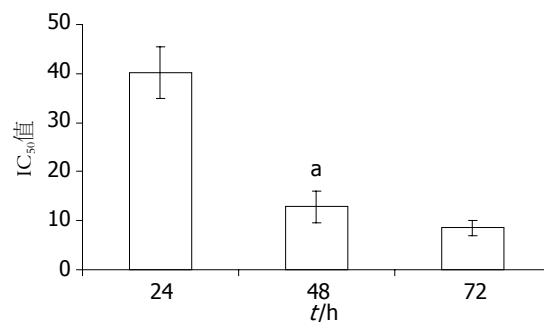


图1 Tan II A对HCT-116细胞抑制作用各时间点IC₅₀值比较.
* $P < 0.05$ vs 24 h.

表2 各浓度组Tan II A对HCT-116细胞生长抑制作用

分组	抑制率(%)		
	24 h	48 h	72 h
1 μmol/L	2.3 ± 1.6	7.4 ± 1.7	8.9 ± 1.4
2 μmol/L	3.5 ± 1.5	12.4 ± 2.9	18.0 ± 3.1
4 μmol/L	7.0 ± 1.9	20.1 ± 1.6	26.6 ± 2.0
8 μmol/L	9.2 ± 1.1	24.8 ± 2.3	33.9 ± 4.0
16 μmol/L	34.0 ± 3.5	67.3 ± 1.1	78.9 ± 2.7
32 μmol/L	49.6 ± 1.1	77.3 ± 2.4	85.9 ± 2.1
64 μmol/L	57.5 ± 2.0	85.1 ± 1.5	93.6 ± 2.1

II A作为最佳剂量用于后续实验.

2.2 Tan II A对HCT-116细胞COX-2启动子活性的影响 将COX-2启动子重组质粒pGL3-Basic-COX-2-promoter和内参质粒pRL-TK共转染结肠癌HCT-116细胞4 h后,分为空白组、对照组、4、8、12、16、20 μmol/L 7个组,分别加入含不同浓度Tan II A的RPMI 1640培养液,处理细胞48 h后化学发光法检测双荧光素酶的活性.结果显示, pGL3-Basic-COX-2-promoter重组质粒转染HCT-116细胞后, COX-2启动子活性上调明显($P < 0.01$).而Tan II A能够明显抑制细胞COX-2启动子的转录表达,并呈现剂量依赖关系,平均相对活性由对照组的14.5下降到最高剂量组的2.0,相对活性下降了7.25倍,其中浓度高于4 μmol/L的各組与对照组相比具有显著差异($P < 0.05$, $P < 0.01$, 图2, 表3).

2.3 Tan II A对HCT-116细胞COX-2 mRNA表达的影响 空白组HCT-116细胞COX-2 mRNA相对活性为 $(1.72 \pm 0.36) \times 10^{-4}$,表达水平较低,转染COX-2 CDS序列重组质粒后, COX-2 mRNA表达水平明显上调,表达量 $(8.39 \pm 0.93) \times 10^{-4}$ 约为空白组的5倍,两者具有显著差异($P < 0.01$);而加入10 μmol/L Tan II A处理后, COX-2 mRNA水平明显下调($P < 0.01$, 图3).

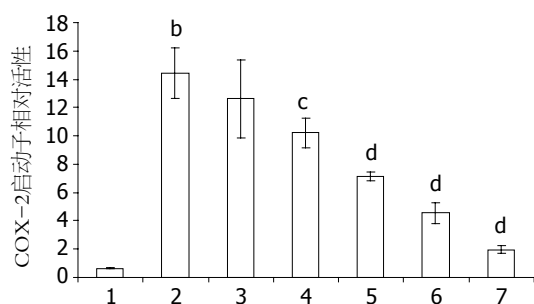


图 2 Tan II A 对 HCT-116 细胞 COX-2 启动子活性的影响. 1: 空白组; 2: 对照组; 3-7: Tan II A 4、8、12、16、20 $\mu\text{mol/L}$ 组. ^b $P < 0.01$ vs 空白组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 对照组.

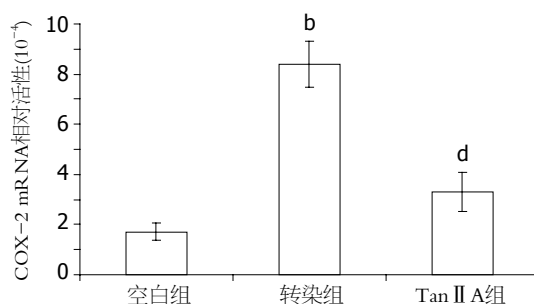


图 3 Tan II A 对 HCT-116 细胞 COX-2 mRNA 表达的影响. ^b $P < 0.01$ vs 空白组; ^d $P < 0.01$ vs 转染组.

2.4 Tan II A 介导 COX-2 对 HCT-116 细胞 VEGF 表达的作用 ELISA 结果显示, 48 h 空白组细胞培养液中 VEGF 的浓度是 (887.13 ± 33.90) ng/L, 转染 COX-2 CDS 序列重组质粒 48 h 后, 培养液中的 VEGF 的浓度为 $(2\ 530.77 \pm 99.87)$ ng/L, 约为空白对照组的 3 倍, 两者具有显著差异 ($P < 0.05$), 而转染后加入 $10\ \mu\text{mol/L}$ 的 Tan II A 作用 48 h 后, VEGF 的表达被抑制, 培养液中 VEGF 的浓度降为 $(2\ 101.66 \pm 201.02)$ ng/L, 具有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 4).

3 讨论

COX 是催化花生四烯酸 (arachidonic acid) 产生前列腺素 (prostaglandins, PGs) 的关键限速酶, 有 COX-1 和 COX-2 两种类型. COX-1 表达于所有组织与细胞, 具有调节机体生理平衡, 维持内环境稳定, 维持胃肠黏膜完整, 保持肾脏功能及血小板活化、巨噬细胞分化等“管家酶”功能^[2]. COX-2 在生理状态下不表达, 但在多种刺激因素 (如 IL-1、TNF 等) 作用下可诱导性的表达^[3]. COX-2 已成为肿瘤发生、发展重要分子靶标之一, 在多种肿瘤组织中呈现高表达, 如胃癌^[4]、大肠癌^[5]、肺癌^[6]等. COX-2 对肿瘤的发生、发展、浸润和转移有明显的促进作用^[7,8], 其作用机制可能是多方面的, 包括促进肿瘤细胞增殖、抑制肿瘤细胞凋

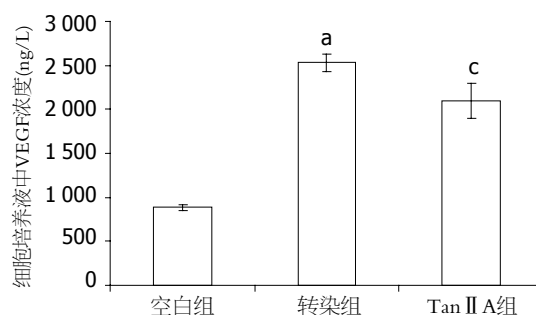


图 4 Tan II A 对 HCT-116 细胞培养液中 VEGF 表达的影响. ^a $P < 0.05$ vs 空白组; ^c $P < 0.05$ vs 转染组.

表 3 Tan II A 对 HCT-116 细胞 COX-2 启动子活性的影响 ($n = 3$)

分组	COX-2 启动子活性 (Firefly/Renilla)
空白组	0.64 ± 0.05
对照组	14.50 ± 1.78^b
Tan II A	
4 $\mu\text{mol/L}$	12.60 ± 2.74
8 $\mu\text{mol/L}$	10.20 ± 1.06^c
12 $\mu\text{mol/L}$	7.10 ± 0.33^d
16 $\mu\text{mol/L}$	4.60 ± 0.74^d
20 $\mu\text{mol/L}$	2.00 ± 0.30^d

^b $P < 0.01$ vs 空白组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 对照组.

亡、促进肿瘤新生血管形成^[9,10]等. 近几年对于 COX-2 的研究表明, 在上皮癌组织中普遍存在 COX-2 过度表达现象, 且除了肿瘤细胞有 COX-2 表达外, 肿瘤新血管周围存在肿瘤血管生长因子和 COX-2 共表达的现象^[11]. 这些现象提示了 COX-2 在肿瘤的发生和发展、转移中有重要的生理功能, 其水平的增加可能是肿瘤发生的一个早期事件.

VEGF 是 1983 年由 Senger 等^[12]发现, 是促血管生成因子的典型代表. VEGF 是一种糖基化分泌性多肽因子, 具有很强的促血管生长作用, 能特异性刺激血管内皮细胞增殖与血管生成^[13], 可直接刺激血管内皮细胞有丝分裂的发生, 或通过增加血管通透性, 使包括许多基质形成重要因子的血浆蛋白外渗, 为血管内皮细胞的迁移及肿瘤细胞的转移提供基质^[14], 促进多种恶性肿瘤生长、血管新生^[15]. 现已证实^[16], COX-2 过表达导致 VEGF 的大量生成与结直肠癌发生发展关系密切, 特别是对肠癌肿瘤组织血管新生具有明显的促进作用. Tsujii 等^[16]研究发现转染 COX-2 基因的 CaCo-2 结肠癌细胞株, 在体外培养时产生 VEGF 等血管生成因子的量比未转染的细胞株增加 4-8 倍, 而 COX-2 抑制剂可使其恢

■应用要点

本实验采用成功构建的萤火虫荧光素酶基因的重组质粒 pGL3-Basic-COX-2-promoter, 与含海肾荧光素酶基因的内参质粒 pRL-TK 组成双报告基因的检测系统, 不但克服了 Western blot、ELISA、FMC 等方法的可信度低和操作复杂的缺点, 而且还能够通过特异性的序列来靶向筛选抗肿瘤药物.

同行评价

本研究思路清晰, 论证严谨, 具有较好的学术价值.

复基础水平, 表明COX-2通过诱导以VEGF为代表的生长因子的表达, 促进肿瘤新生血管形成. VEGF 与大肠癌的发生发展、浸润程度及淋巴结转移关系密切, 干预VEGF的生成及其产生的作用途径或破坏其受体可抑制大肠癌肿瘤血管生成, 从而抑制大肠癌的生长、转移, 为临床治疗本病提供了新思路.

报告基因是一种编码容易被检测蛋白质或酶的基因, 它可以和目的基因表达调节序列相融合形成嵌合基因, 在调控序列控制下进行表达, 达到标定基因表达的目的^[17]. 重组质粒即是同时稳定表达目的基因和报告基因的载体, 能通过脂质体转染法将目的基因转染进不表达或低表达该基因活细胞内, 使目的基因和报告基因通过活细胞的转录功能转变成可直接检测的荧光蛋白, 从而靶向、高效、快速的表达目的基因. 荧光素酶报告基因^[18,19](Luciferase reporter gene)是最经典的报告基因, 他能催化荧光素或脂肪醛氧化发光, 主要有细菌荧光素酶(Bacterial Luciferase)、萤火虫荧光素酶(Firefly Luciferase)以及以海星、发光鱼等为来源的荧光素酶. 本实验采用成功构建的萤火虫荧光素酶基因的重组质粒pGL3-Basic-COX-2-promoter, 与含海肾荧光素酶基因的内参质粒pRL-TK组成双报告基因的检测系统, 不但克服了Western blot、ELISA、FMC等方法的可信度低和操作复杂的缺点, 而且还能够通过特异性的序列来靶向筛选抗肿瘤药物.

Tan II A是从中药丹参中提取的有效活性成分, 其对多种消化系肿瘤(如肝癌、胃癌、结直肠癌)具有较好的抗肿瘤活性^[20,21], 其作用机制可能与抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡分化、影响端粒酶活性、促进肿瘤血管新生、增强旁观者效应等相关, 但具体的机制尚不明确. 本研究前期动物实验表明^[1], Tan II A对小鼠肠癌组织肿瘤微血管新生具有明显的抑制作用, 其抗肠癌血管新生的作用可能与其抑制肠癌VEGF、MVD有关. 为进一步明确Tan II A抗肠癌血管新生的作用机制, 探讨其是否与调节肿瘤细胞内COX-2基因表达相关, 本研究采用双荧光素酶报告基因检测系统, 研究Tan II A的细胞内作用靶点. 检测结果发现, Tan II A能明显抑制HCT-116细胞COX-2启动子及mRNA的表达, 呈现剂量依赖关系, 说明Tan II A抗肠癌血管新生可能与其介导COX-2下调细胞内VEGF表达有关.

参考文献

- 1 周利红, 刘宣, 王炎, 范忠泽, 孙珏, 李琦. 丹参酮 II A 对小鼠肠癌皮下移植瘤血管新生的抑制作用. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3203-3209
- 2 Beasley NJ, Prevo R, Banerji S, Leek RD, Moore J, van Trappen P, Cox G, Harris AL, Jackson DG. Intratumoral lymphangiogenesis and lymph node metastasis in head and neck cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 1315-1320
- 3 He Y, Rajantie I, Ilmonen M, Makinen T, Karkkainen MJ, Haiko P, Salven P, Alitalo K. Preexisting lymphatic endothelium but not endothelial progenitor cells are essential for tumor lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Cancer Res* 2004; 64: 3737-3740
- 4 Fujimura T, Ohta T, Oyama K, Miyashita T, Miwa K. Cyclooxygenase-2 (COX-2) in carcinogenesis and selective COX-2 inhibitors for chemoprevention in gastrointestinal cancers. *J Gastrointest Cancer* 2007; 38: 78-82
- 5 Adegboyega PA, Oloade O, Saada J, Mifflin R, Di Mari JF, Powell DW. Subepithelial myofibroblasts express cyclooxygenase-2 in colorectal tubular adenomas. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5870-5879
- 6 Koki AT, Khan NK, Woerner BM, Seibert K, Harmon JL, Dannenberg AJ, Soslow RA, Masferrer JL. Characterization of cyclooxygenase-2 (COX-2) during tumorigenesis in human epithelial cancers: evidence for potential clinical utility of COX-2 inhibitors in epithelial cancers. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2002; 66: 13-18
- 7 Itatsu K, Sasaki M, Yamaguchi J, Ohira S, Ishikawa A, Ikeda H, Sato Y, Harada K, Zen Y, Sato H, Ohta T, Nagino M, Nimura Y, Nakanuma Y. Cyclooxygenase-2 is involved in the up-regulation of matrix metalloproteinase-9 in cholangiocarcinoma induced by tumor necrosis factor-alpha. *Am J Pathol* 2009; 174: 829-841
- 8 Karahan N, Güney M, Baspinar S, Oral B, Kapucuoglu N, Mungan T. Expression of gelatinase (MMP-2 and MMP-9) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2007; 28: 184-188
- 9 Dohadwala M, Yang SC, Luo J, Sharma S, Batra RK, Huang M, Lin Y, Goodglick L, Krysan K, Fishbein MC, Hong L, Lai C, Cameron RB, Gemmill RM, Drabkin HA, Dubinett SM. Cyclooxygenase-2-dependent regulation of E-cadherin: prostaglandin E(2) induces transcriptional repressors ZEB1 and snail in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2006; 66: 5338-5345
- 10 Franchi A, Gallo O, Massi D, Baroni G, Santucci M. Tumor lymphangiogenesis in head and neck squamous cell carcinoma: a morphometric study with clinical correlations. *Cancer* 2004; 101: 973-978
- 11 Lazăr D, Tăban S, Ardeleanu C, Simionescu C, Sporea I, Cornianu M, Vernic C. Immunohistochemical expression of the cyclooxygenase-2 (COX-2) in gastric cancer. The correlations with the tumor angiogenesis and patients' survival. *Rom J Morphol Embryol* 2008; 49: 371-379
- 12 Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983; 219: 983-985
- 13 Hotz HG, Hines OJ, Hotz B, Foitzik T, Buhr HJ, Reber HA. Evaluation of vascular endothelial growth factor blockade and matrix metalloproteinase inhi-

- bition as a combination therapy for experimental human pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 220-227; discussion 220-227
- 14 姜萌, 王彬尧, 王长谦, 何奔, 范华骅, 邵琴, 黄定九. 低氧诱导因子-1 α 小干扰质粒(siHIF-1 α)抑制体内血管新生. 标记免疫分析与临床 2008; 15: 150-155
- 15 朱有法, 许敬尧. 大肠癌血管内皮生长因子的表达与转移的相关性研究. 实用肿瘤杂志 2002; 17: 185-189
- 16 Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, DuBois RN. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998; 93: 705-716
- 17 Hu MC, Hsu HJ, Guo IC, Chung BC. Function of Cyp11a1 in animal models. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 215: 95-100
- 18 刘建武, 孙成华, 刘宁. 荧光素酶及其应用. 生物学通报 2004; 39: 15-17
- 19 Marques SM, Esteves da Silva JC. Firefly bioluminescence: a mechanistic approach of luciferase catalyzed reactions. *IUBMB Life* 2009; 61: 6-17
- 20 袁淑兰, 王修杰, 魏于全. 丹参酮抗肿瘤作用及其机理的研究. 癌症 2003; 22: 1363-1366
- 21 唐忠志, 付立波, 唐瑛. 丹参酮 II A 抑制人肝癌细胞的生长及诱导其凋亡的实验研究. 第三军医大学学报 2003; 25: 774-777

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号.如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7].文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所参考文献必须以近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.

自身免疫性肝病的临床特点

王振威, 王颖, 王炳元, 丁媛媛, 李金萍, 马力, 张红

■背景资料

既往多认为自身免疫性肝病是少见病。由于免疫学的进展, ALD的检出率逐年增多。本病进展相对缓慢, 但预后差异较大且多不可预见, 自发缓解率低。由于大部分患者不愿接受肝活检, 若能以简单而实用的常规方法, 对本病做出正确的诊断及治疗则具有重要的临床意义。

王振威, 王颖, 王炳元, 丁媛媛, 李金萍, 马力, 中国医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001

张红, 鞍山市传染病院 辽宁省鞍山市 114001

王振威, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病研究。

辽宁省教育厅一般基金资助项目, No. 2009A809

作者贡献分布: 本研究由王振威、王颖及王炳元设计; 王振威、王颖、丁媛媛、李金萍、马力及张红负责收集组织材料; 王振威与王炳元撰写论文。

通讯作者: 王颖, 110001, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属第一医院消化内科, wy-doctor@163.com

收稿日期: 2011-03-07 修回日期: 2011-04-20

接受日期: 2011-04-26 在线出版日期: 2011-05-28

Clinical features of autoimmune liver disease

Zhen-Wei Wang, Ying Wang, Bing-Yuan Wang, Yuan-Yuan Ding, Jin-Ping Li, Li Ma, Hong Zhang

Zhen-Wei Wang, Ying Wang, Bing-Yuan Wang, Yuan-Yuan Ding, Jin-Ping Li, Li Ma, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Hong Zhang, Anshan Infectious Disease Hospital, Anshan 114011, Liaoning Province, China

Supported by: the General Project of Foundation of Education Department of Liaoning Province, No. 2009A809

Correspondence to: Ying Wang, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. wy-doctor@163.com

Received: 2011-03-07 Revised: 2011-04-20

Accepted: 2011-04-26 Published online: 2011-05-28

Abstract

AIM: To investigate the clinical features of autoimmune liver disease (ALD).

METHODS: A total of 91 patients with ALD were enrolled in this study, including 68 cases of autoimmune hepatitis (AIH) and 23 cases of primary biliary cirrhosis (PBC). Another 41 HBsAg-positive patients with cirrhosis were used as controls. Clinical manifestations, liver function parameters and serum immunoglobulins were compared among these patients.

RESULTS: The median onset age for patients with AIH and PBC was 51.2 ± 13.4 and 52.8 ± 10.3 years, respectively. Females were more likely to suffer from AIH and PBC than males. AIH patients had significantly higher levels of

ALT, ALP, GGT, TP, and TBIL (all $P < 0.05$) than patients with chronic hepatitis B-related cirrhosis. Compared to patients with AIH, those with PBC had much higher levels of TBIL ($P < 0.05$) which were mainly caused by the increase in DBIL. All patients had decreased levels of ALB, especially those with chronic hepatitis B-related cirrhosis. Patients with AIH and those with PBC had nearly the same positive rate of autoantibodies (63.2% vs 78.3%), while all patients with chronic hepatitis B-related cirrhosis were negative for autoantibodies. Patients with AIH had higher positive rates of ANA and anti-dsDNA but a lower positive rate of AMA than patients with PBC (all $P < 0.05$). Autoantibody-negative AIH patients had significantly higher levels of ALT and AST, while autoantibody-negative PBC patients had lower levels of ALT, AST, ALP and GGT than autoantibody-positive ones.

CONCLUSION: ALD lacks typical clinical features. Perimenopausal women who display fatigue and jaundice and have elevated γ -globulin level and negative viral markers should be highly suspected of having ALD. The presence of autoantibodies may confirm the diagnosis. Patients with AIH often have abnormal transaminase levels, while high levels of transaminases activities (ALT, AST) and significantly increased biliary enzymes (ALP, GGT) and direct bilirubin levels may suggest PBC.

Key Words: Autoimmune liver disease; Primary biliary cirrhosis; Biochemical examination; Clinical medicine

Wang ZW, Wang Y, Wang BY, Ding YY, Li JP, Ma L, Zhang H. Clinical features of autoimmune liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1568-1573

摘要

目的: 探讨自身免疫性肝病(ALD)的临床特征。

方法: ALD患者91例, 其中自身免疫性肝炎(AIH)68例, 原发性胆汁性肝硬化(PBC)23例, 另选同期住院的41例HBsAg阳性的慢性乙型肝炎肝硬化患者作为对照。分析所有患者的临

■同行评议者

禄韶英, 副主任医师, 西安交通大学医学院第一附属医院普外科

床特点以及血液生化和血清免疫学检查结果。

结果: AIH和PBC均以女性患者多见, 发病年龄AIH为(51.2 ± 13.4)岁, 而PBC则是(52.8 ± 10.3)岁, 慢性乙型肝炎肝硬化患者则以男性多见, 平均年龄为(57.1 ± 13.0)岁。与慢性乙型肝炎肝硬化相比, AIH和PBC患者丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、 γ -谷氨酰基转移酶(GGT)、总蛋白(TP)、总胆红素(TBIL)均明显增高($P < 0.05$), PBC组的TBIL水平也明显高于AIH组($P < 0.05$)。ALD患者胆红素升高以直接胆红素(DBIL)升高为主; 三组白蛋白(ALB)均有降低, 但以肝硬化组降低更显著。自身抗体的阳性率在AIH和PBC比较接近(分别为63.2%和78.3%), 本组慢性乙型肝炎肝硬化病人自身抗体均为阴性。AIH组患者抗核抗体(ANA)、抗双链DNA抗体(抗-dsDNA)阳性率高于PBC组($P < 0.05$), PBC组患者抗线粒体抗体(AMA)阳性率高于AIH患者($P < 0.05$); 自身抗体阴性的AIH组ALT较阳性组显著增高, 自身抗体阴性的PBC组ALT、AST、ALP、GGT均低于阳性组($P < 0.05$)。

结论: ALD缺乏典型的临床特征。闭经前后的女性出现乏力和黄疸, 结合 γ 球蛋白升高、病毒标志物阴性, 高度怀疑ALD, 自身抗体的出现是本病更好的佐证。单纯细胞酶(AST, ALT)的升高提示AIH, 同时伴随胆道酶(ALP, GGT)和/或以DBIL升高为主的高胆红素血症, 应高度怀疑PBC。

关键词: 自身免疫性肝炎; 原发性胆汁性肝硬化; 生化检查; 临床医学

王振威, 王颖, 王炳元, 丁媛媛, 李金萍, 马力, 张红. 自身免疫性肝病的临床特点. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1568–1573
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1568.asp>

0 引言

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, ALD)是由于机体免疫系统对自身组织的抗原丧失免疫耐受, 从而诱发肝脏受到免疫攻击而导致的疾病^[1,2]。ALD包括自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)、原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)以及重叠综合征(overlap syndrome)。目前本病的诊断主要根据肝功能异常以及自身抗体的检出, 但仍有许多高度怀疑是本病的患者自身抗体阴性, 且不能用其他肝病解释其临床表现以及肝功能异常。因此本文旨在探讨ALD患者肝功能和自身免疫

性抗体的特征, 以进一步发现该病的特点, 为临床诊断提供更可靠的根据。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2004-10/2010-09在中国医科大学附属第一医院住院的ALD患者91例, 所有患者多次检查血清肝炎病毒标志物均为阴性, 无饮酒或服用已知对肝脏有损害的药物史。其中AIH患者68例(男6例, 女62例)、PBC患者23例(男1例, 女22例)。AIH诊断标准参考美国肝病学会AIH诊疗指南(2010年)^[3], PBC诊断标准参考欧洲肝病学会胆汁淤积性肝病的诊治指南(2009年)^[4]。随机选取同期住院的41例HBsAg阳性的慢性乙型肝炎肝硬化(简称乙型肝炎肝硬化)患者(男26例, 女15例)作为对照。

1.2 方法 采集患者以下临床资料: (1)临床特征: 性别、年龄、症状、合并疾病; (2)生化指标: 包括总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、碱性磷酸酶(ALP)、 γ -谷氨酰基转移酶(GGT); (3)免疫学指标: 包括免疫球蛋白A(IgA)、免疫球蛋白G(IgG)、免疫球蛋白M(IgM), 抗核抗体(ANA)、抗平滑肌抗体(SMA)、抗线粒体抗体(AMA)、抗双链DNA抗体(抗-dsDNA)。

统计学处理 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 或中位数描述, 计数资料以例数(%)描述, 结果采用SPSS11.0软件对计量资料组间比较进行 t 检验或秩和检验, 并对计数资料组间比较进行卡方检验, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 AIH与PBC发病主要以围绝经期女性为主[AIH为(51.2 ± 13.4)岁, PBC为(52.8 ± 10.3)岁], 女性多于男性(8.8% vs 91.2%; 4.3% vs 95.7%)。乙型肝炎肝硬化患者就诊时年龄为 57.1 ± 13.0 岁, 发现HBsAg(+)时间为(19.2 ± 7.3)年, 男性多于女性(63.4% vs 36.6%)。乙型肝炎肝硬化组患者与ALD组患者相比, 发病年龄差异无统计学意义, 但性别差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 临床表现 AIH患者主要的症状为乏力与黄疸各47例(69.1%), 纳差38例(55.9%), 腹胀23例(33.8%), 皮肤瘙痒与体质量下降各19例(27.9%), 发热16例(23.5%), 体温最高达41.0平均(38.8 ± 1.1) $^{\circ}\text{C}$ 。主要体征有关节疼痛11例(16.2%), 脾大与肝大各10例(14.7%), 肝掌与腹水各5例(7.4%),

■ 研究前沿

国内有关本病的研究大多为病例报道, 且例数较少, 实验室结果差异较大。仅有的报道发现可能存在地域或人种的差异, 但尚缺乏流行病学的系统研究。

■相关报道

马雄等研究的结果显示,自身免疫性肝病在临床上并不少见,诊断需综合临床、生物化学、免疫学和病理学等检测结果。北方在此领域的研究较少。

表 1 肝功能生化指标(中位数)

	ALT(U/L)	AST(U/L)	ALP(U/L)	GGT(U/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	TBIL(μ mol/L)
AIH	120.3 ^a	108.5	208.2 ^a	277.4 ^a	70.6 ^a	33.7 ^a	43.8
PBC	84.2	114.4	263.2 ^c	147.9 ^c	66.0 ^c	29.5	109.9 ^c
乙型肝炎肝硬化	58.2	81.5	93.5	51.0	62.7	28.1	24.5

^a纳入本研究的患者肝功能生化指标因数据离散程度较大,分布不服从正态分布,故采用中位数描述,数据组间差异采用秩和检验; Wilcoxon W统计量分别为1627.500、1454.000、1518.500、1566.000、1632.000, ^a $P < 0.05$ vs 乙型肝炎肝硬化组; Wilcoxon W统计量分别为980.500、1116.500、1141.500、1076.000, ^c $P < 0.05$ vs 乙型肝炎肝硬化组。

表 2 肝功能生化指标比值比较

	AST/ALT>1 n(%)	AST/ALT	DBIL/TBIL>60% n(%)	DBIL/TBIL
AIH	25(36.8) ^a	1.0 \pm 0.5 ^c	38(55.9) ^a	0.6 \pm 0.2 ^c
PBC	17(73.9)	1.3 \pm 0.5	16(69.6) ^e	0.7 \pm 0.2 ^g
乙型肝炎肝硬化	33(80.5)	1.7 \pm 1.1	5(23.9)	0.5 \pm 0.1

$\chi^2 = 19.640$ 、 20.437 , ^a $P < 0.05$ vs 乙型肝炎肝硬化组; $t = -4.872$ 、 2.196 , ^c $P < 0.05$ vs 乙型肝炎肝硬化组; $\chi^2 = 21.988$, ^e $P < 0.05$ vs 乙型肝炎肝硬化组; $t = 2.527$, ^g $P < 0.05$ vs 乙型肝炎肝硬化组。

消化道出血和蜘蛛痣各4例(5.9%)。23例PBC患者主要症状为黄疸15例(65.2%),乏力13例(56.5%),皮肤瘙痒与体质量下降各7例(30.4%),消化道出血病史3例(13.0%)。主要体征有肝大5例(21.7%),脾大3例(13.0%),腹水、肝掌以及蜘蛛痣各2例(8.7%)。乙型肝炎肝硬化患者主要的症状为黄疸24例(58.5%),腹胀20例(48.8%),消化道出血病史及乏力各13例(31.7%)。主要体征为腹水征阳性17例(41.5%),肝掌及睑结膜苍白各11例(26.8%),蜘蛛痣、肝大以及脾大各8例(19.5%)。

2.3 肝功能检查结果 ALD患者ALP, GGT, TP, TBIL水平均高于乙型肝炎肝硬化患者; AIH组患者ALT和GGT的升高有别于其他两组, PBC组患者的ALP和TBIL升高更明显; 两组肝硬化患者的蛋白合成功能明显降低(表1)。

2/3以上肝硬化患者AST/ALT>1(平均值也>1), AIH则以ALT升高为主; 一半以上的ALD患者伴有以DBIL升高为主(DBIL/TBIL>60%)的高胆红素血症, 与乙型肝炎肝硬化差异有统计学意义($P < 0.05$, 表2)。

2.4 自身抗体阳性率 自身抗体检测中至少有一项阳性ALD的患者中, AIH和PBC分别为63.2%和78.3%, 乙型肝炎肝硬化组未检出任何自身抗体(表3)。AIH组自身抗体阴性和阳性患者的ALT水平差异有统计学意义, 阴性组患者ALT水平升高

主要集中在正常参考值上限的3-5倍, 较其阳性组高, 两组间其他指标(除TP外)差异无统计学意义。AIH抗体阴性组患者与乙型肝炎肝硬化组相比, ALT、ALP及GGT水平较高, 白蛋白降低不明显。PBC自身抗体阴性的患者酶学改变不明显, 白蛋白降低较其阳性组以及乙型肝炎肝硬化组差异无统计学意义。

2.5 免疫球蛋白及自身抗体检测 3组患者IgG, γ 球蛋白明显高于正常参考值上限($P < 0.05$)。乙型肝炎肝硬化患者IgM水平低于AIH患者而IgA则高于ALD患者(表4)。AIH与PBC组患者ANA, AMA及抗-dsDNA阳性率差异有统计学意义。AIH组患者ANA、抗-dsDNA阳性率高于PBC组患者, PBC组患者AMA阳性率高于AIH患者(表5)。

2.6 伴随其他免疫学疾病 AIH合并桥本甲状腺炎5例(7.4%), 4例(5.9%)重叠PBC, 6例(8.8%)合并结缔组织病。PBC患者中, 2例(8.7%)合并类风湿性关节炎, 1例(4.3%)合并干燥综合征。乙型肝炎肝硬化组患者中, 2例(4.9%)合并类风湿性关节炎。

3 讨论

AIH好发于女性, 是一种以自身免疫性肝细胞损害为主的慢性进行性肝炎, 诊断本病需排除病毒性肝炎, 药物性肝炎以及其他疾病引起的肝损害^[5-9]。免疫抑制剂特别是肾上腺皮质激素治疗有明显效果^[10-12]。在北欧白种人群中, AIH年发

表 3 自身抗体阳性及阴性患者肝功能生化指标 (中位数)

	ALT(U/L)	AST(U/L)	ALP(U/L)	GGT(U/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	TBIL(μ mol/L)	n(%)
自身抗体阳性								
AIH	96.1 ^a	79.4	252.3	207.4	71.6 ^a	32.3	45.0	43(63.2)
PBC	99.5 ^c	128.5	280.1	171.0 ^c	65.6	29.7	106.1	18(78.3)
自身抗体阴性								
AIH	181.3	112.1	160.2	244.2	66.3	33.9	36.1	25(36.8)
PBC	29.4	57.0	159.8	46.7	69.4	26.2	123.8	5(21.7)
乙肝肝硬化	58.2 ^e	81.5	93.5 ^e	51.0 ^e	62.7 ^e	28.1 ^e	24.5	41(100.0)

^aWilcoxon W分别为1 423.500、571.000, ^a $P<0.05$ vs AIH抗体阴性组; ^bWilcoxon W分别为37.000、42.000, ^b $P<0.05$ vs PBC抗体阴性组; ^cWilcoxon W统计量分别为1 025.500、1 102.000、1 054.500、1 170.000、1 128.000, ^c $P<0.05$ vs AIH抗体阴性组。

表 4 免疫球蛋白 (mean \pm SD)

	IgG(g/L)	IgM(g/L)	IgA(g/L)	γ 球蛋白(%)
AIH	20.4 \pm 11.6	3.3 \pm 2.3 ^a	3.1 \pm 2.0 ^a	29.3 \pm 7.6
PBC	19.3 \pm 6.5	3.0 \pm 1.9	3.8 \pm 1.9	28.5 \pm 10.5
乙肝肝硬化	19.1 \pm 7.6	2.1 \pm 1.5	4.9 \pm 2.0	31.4 \pm 5.1

^a $t = 2.593$ 、 -3.597 , ^a $P<0.05$ vs 乙肝肝硬化组。

表 5 自身抗体 n(%)

	ANA	SMA	AMA	抗-dsDNA
AIH	37(54.4)	17(25.0)	10(14.7)	11(16.2)
PBC	7(30.4)	9(39.1)	10(43.5)	0(0.0)
χ^2 值	3.957	1.628	8.297	4.232
P值	0.047	0.195	0.004	0.040

ANA, SMA>1 : 40(+); AMA>1 : 100(+).

病率为1.9/100 000, 患病率为16.9/100 000^[13], 目前我国尚无AIH的流行病学资料, 但国内的报道该病并不少见^[1,14,15]。本组男女比例为1 : 10.3, 发病年龄主要集中在50-60岁之间, 发病年龄较文献报道偏大, 许多文献^[5-7,13,16]报道AIH发病年龄在40岁左右, 可能与ALD疾病进展相对缓慢, 临床症状不典型, 容易与病毒性肝炎混淆, 误诊或漏诊成为延误早期治疗, 导致发病年龄偏大的主要原因。PBC是一种慢性进行性胆汁淤积性肝脏疾病, 好发于40-60岁左右的女性, 由于肝功能损害, 发病的早期多表现为皮肤瘙痒, 后期出现黄疸并逐渐加重。PBC病变发展虽然缓慢, 但很容易发展为胆汁淤积性肝硬化, 最后引起肝功能不全^[17,18]。本研究中PBC患者则以瘙痒、乏力多见, 有别于乙肝肝硬化。

■创新盘点

自身免疫性肝病发病机制复杂, 临床表现各异。本文根据临床相对较特异的表现要点, 总结简单而实用的常规方法, 对提高对本病的认识和减少误诊具有重要的参考价值。

在生化检查方面, ALD患者ALP、GGT、TP、TBIL水平均高于乙肝肝硬化患者, 反映了该病的不同阶段均造成肝细胞和胆管细胞的功能受损, AIH可能以肝细胞(ALT、AST和GGT升高)为主, 而PBC则以胆管上皮细胞(ALP和TBIL升高)损伤更重。无论何种原因, 发展至肝硬化时均影响到蛋白合成功能。本研究中AIH组患者AST/ALT<1有43例(63.2%), 这与文献报道不一致^[17], 需要进一步探讨。一半以上的ALD患者伴有以DBIL升高为主(DBIL/TBIL>60%)的高胆红素血症, 与乙肝肝硬化组差异有统计学意义($P<0.05$)。PBC为慢性进行性胆汁淤积性疾病, 必然导致胆红素和胆汁酸代谢及排泄异常; AIH患者病理改变以急性肝细胞膜损伤和胆管炎症为主, 虽然尚未引起胞浆内细胞器的损伤, 但已经有肝内胆汁淤积的表现。

γ 球蛋白升高和自身抗体阳性是诊断ALD的重要依据^[14,19-22]。本研究中 γ 球蛋白的百分比在3组之间无差异。ALD的自身抗体阳性率仅为67.0%(61/91), AIH和PBC分别为63.2%和78.3%。符合AIH诊断评分系统仅有16例(23.5%), 符合简化标准有20例(29.4%), 与其他报道相似^[1,23-27]。AIH主要以ANA阳性为主(54.4%), 其次为SMA(25.0%)和AMA(14.7%), 16.2%患者检测到抗-dsDNA, 与李新民等^[17]、Basir等^[28]报道相似。结合ALT的

■应用要点

自身免疫性肝病疾病进展相对缓慢,临床症状不典型,容易与病毒性肝炎、肝硬化混淆,探讨其临床特点对患者的诊断、治疗及药物研发具有重要的意义。

升高,说明AIH主要是以急性(肝细胞和胆管细胞)炎症损伤为主,但这些抗体的敏感性和特异性均较低。如果能结合其他自身抗体,可能会提高诊断水平,如I型肝肾微粒体抗体(抗-LKM1)、抗可溶性肝抗原抗体/抗肝胰抗体(抗-SLA/LP)以及抗中性粒细胞胞浆抗体(pANCA)等^[26,29,30]。这些自身抗体是否对诊断ALD更具有特异性,还需在临床和实验室方法等方面更进一步研究。PBC以AMA阳性居多(43.5%),其次为SMA(39.1%)和ANA(30.4%),AMA对诊断PBC较特异,但比文献报道的阳性率低^[20,31],原因不清,可能与入选的PBC患者例数较少有关。

如果自身抗体阴性,并排除病毒性肝炎、药物损伤、嗜酒等因素,发现ALT升高3-5倍,白蛋白正常或略微下降;或者胆道酶学改变明显,同时伴有胆红素显著升高、白蛋白降低等肝硬化表现,对诊断这部分患者为AIH或PBC有一定临床意义。

ALD常合并桥本甲状腺炎、关节炎、结肠炎、干燥综合征等疾病^[23,30,32,33]。本研究AIH患者中有5例(7.4%)合并桥本甲状腺炎,4例(5.9%)重叠PBC,6例(8.8%)合并结缔组织病,发生率虽没有单纯AIH高,但亦具有AIH易伴发肝外自身免疫性疾病的部分特征。PBC患者中,2例(8.7%)合并类风湿性关节炎,1例(4.3%)合并干燥综合征。

总之,对于闭经前后的女性出现不明原因的乏力、纳差和黄疸,结合 γ 球蛋白升高、病毒标志物阴性,同时伴有其他免疫性疾病,高度怀疑ALD,自身抗体的出现是本病更好的佐证。单纯细胞酶(AST, ALT)的升高提示AIH,同时伴随胆道酶(ALP, GGT)和/或DBIL升高为主的高胆红素血症,应高度怀疑PBC^[34]。对转氨酶及免疫学检查轻度异常的病例也不能完全除外本病,应在随访生化及免疫学检查的同时,必要时进行肝脏活检,以便对ALD患者早发现、早干预、早治疗^[3,4,35]。

4 参考文献

- 1 姚光弼. 应重视自身免疫性肝病的研究. 中国实用内科杂志 2006; 26: 1839
- 2 Krawitt EL. Autoimmune hepatitis. *N Engl J Med* 2006; 354: 54-66
- 3 Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D, Vierling JM. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2010; 51: 2193-2213
- 4 EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J Hepatol* 2009; 51: 237-267
- 5 Zeniya M, Watanabe F, Morizane T, Shibata M,

- Maeyama S, Kage M, Nakanuma Y, Toda G. Diagnosing clinical subsets of autoimmune liver diseases based on a multivariable model. *J Gastroenterol* 2005; 40: 1148-1154
- 6 Sulz MC, Gerlach TJ. [Autoimmune hepatitis]. *Ther Umsch* 2011; 68: 189-194
- 7 Mayo MJ. Management of autoimmune hepatitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2011; 27: 224-230
- 8 Manns MP, Vogel A. Autoimmune hepatitis, from mechanisms to therapy. *Hepatology* 2006; 43: S132-S144
- 9 Gupta R, Agarwal SR, Jain M, Malhotra V, Sarin SK. Autoimmune hepatitis in the Indian subcontinent: 7 years experience. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 1144-1148
- 10 Joshi S, Cauch-Dudek K, Wanless IR, Lindor KD, Jorgensen R, Batts K, Heathcote EJ. Primary biliary cirrhosis with additional features of autoimmune hepatitis: response to therapy with ursodeoxycholic acid. *Hepatology* 2002; 35: 409-413
- 11 Schalm SW, Ammon HV, Summerskill WH. Failure of customary treatment in chronic active liver disease: causes and management. *Ann Clin Res* 1976; 8: 221-227
- 12 Mieli-Vergani G, Heller S, Jara P, Vergani D, Chang MH, Fujisawa T, González-Peralta RP, Kelly D, Mohan N, Shah U, Murray KF. Autoimmune hepatitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009; 49: 158-164
- 13 Czaja AJ, Manns MP, McFarlane IG, Hoofnagle JH. Autoimmune hepatitis: the investigational and clinical challenges. *Hepatology* 2000; 31: 1194-1200
- 14 李蕴铀, 魏来, 王文冰, 王培之, 张黎颖, 欧蔚妮, 谢雯, 成军. 自身免疫性肝炎临床、免疫学及病理学特征分析142例. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3534-3538
- 15 孙艳玲, 赵景民, 孟欣, 李文淑. 自身免疫性肝炎与原发性胆汁性肝硬化重叠综合征的临床与病理学研究. 解放军医学杂志 2006; 31: 662-665
- 16 Granito A, Muratori P, Muratori L, Pappas G, Casani F, Worthington J, Guidi M, Ferri S, DE Molo C, Lenzi M, Chapman RW, Bianchi FB. Antinuclear antibodies giving the 'multiple nuclear dots' or the 'rim-like/membranous' patterns: diagnostic accuracy for primary biliary cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 1575-1583
- 17 李新民, 马雄, 邱德凯. 164例自身免疫性肝病临床分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2006; 15: 274-280
- 18 Jalihal A, Telisinghe PU, Chong VH. Profiles of autoimmune hepatitis in Brunei Darussalam. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 602-607
- 19 Sato Y, Harada K, Sudo Y, Watanabe K, Nakahama T, Morimoto H, Nakanuma Y. Autoimmune hepatitis associated with bile duct injury resembling chronic non-suppurative destructive cholangitis. *Pathol Int* 2002; 52: 478-482
- 20 谭云明, 董叶, 吕娇凤, 刘宁, 李华, 秦和昌, 叶如美. 抗线粒体抗体测定对诊断原发性胆汁性肝硬化的临床意义. 世界华人消化杂志 2005; 13: 924-926
- 21 Bonder A, Retana A, Winston DM, Leung J, Kaplan MM. Prevalence of Primary Biliary Cirrhosis-Autoimmune Hepatitis Overlap Syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011 Apr 11. [Epub ahead of print]
- 22 Otegbayo JA, Akere A, Ola SO, Soyemi OM, Akan-de KO. Autoimmune liver disease in a Nigerian woman. *Afr Health Sci* 2010; 10: 208-210
- 23 邱德凯, 李新民, 魏钰, 叶丽静, 彭延申, 马雄. 107例自身免疫性肝炎及其重叠综合征患者的临床分析. 中华肝脏病杂志 2008; 16: 367-371
- 24 Zeng Z, Han YK, Zhang XF, Geng H. [Clinical features of 35 cases of autoimmune hepatitis-primary

- biliary cirrhosis overlap syndrome]. *Zhonghua Gan-zangbing Zazhi* 2005; 13: 3-5
- 25 Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Parés A, Dalekos GN, Krawitt EL, Bittencourt PL, Porta G, Boberg KM, Hofer H, Bianchi FB, Shibata M, Schramm C, Eisenmann de Torres B, Galle PR, McFarlane I, Dienes HP, Lohse AW. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2008; 48: 169-176
 - 26 Papamichalis PA, Zachou K, Koukoulis GK, Veloni A, Karacosta EG, Kypri L, Mamaloudis I, Gabeta S, Rigopoulou EI, Lohse AW, Dalekos GN. The revised international autoimmune hepatitis score in chronic liver diseases including autoimmune hepatitis/overlap syndromes and autoimmune hepatitis with concurrent other liver disorders. *J Autoimmune Dis* 2007; 4: 3
 - 27 Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmune hepatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011 May 3. [Epub ahead of print]
 - 28 Basir N, Yew TG, Telisinghe PU, Chong VH. Autoimmune hepatitis in children: a report of two cases. *Singapore Med J* 2011; 52: e27-e30
 - 29 Kumagi T, Heathcote EJ. Primary biliary cirrhosis. *Orphanet J Rare Dis* 2008; 3: 1
 - 30 Arulprakash S, Sasi AD, Bala MR, Pugazhendhi T, Kumar SJ. Overlap syndrome: autoimmune hepatitis with primary biliary cirrhosis. *J Assoc Physicians India* 2010; 58: 455-456
 - 31 Choudhuri G, Somani SK, Baba CS, Alexander G. Autoimmune hepatitis in India: profile of an uncommon disease. *BMC Gastroenterol* 2005; 5: 27
 - 32 Matsumoto T, Morizane T, Aoki Y, Yamasaki S, Nakajima M, Enomoto N, Kobayashi S, Hashimoto H. Autoimmune hepatitis in primary Sjogren's syndrome: pathological study of the livers and labial salivary glands in 17 patients with primary Sjogren's syndrome. *Pathol Int* 2005; 55: 70-76
 - 33 Czaja AJ. Special clinical challenges in autoimmune hepatitis: the elderly, males, pregnancy, mild disease, fulminant onset, and nonwhite patients. *Semin Liver Dis* 2009; 29: 315-330
 - 34 杨永林, 杨建平. 原发性胆汁性肝硬化早期诊断15例. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3335-3337
 - 35 Fujiwara K, Yasui S, Yokosuka O. Efforts for making the diagnosis of acute onset autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2011 Mar 30. [Epub ahead of print]

■同行评价

本研究设计合理, 结果可靠, 对临床医师有一定的参考价值, 但创新性一般。

编辑 曹丽鸥 电编 李薇

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

MMP-3和VEGF在胰腺癌中的表达及临床意义

李春龙, 崔云甫, 杜雪飞, 邵升

■背景资料

由于胰腺癌恶性程度及转移发生率高, 大多数胰腺癌患者切除术后预后较差。美国胰腺癌5年生存率有15%, 国内有研究报道胰头癌5年生存率<3.8%, 作为预后较差的消化系统恶性肿瘤之一, 亟待进一步加以阐释, 对其特性加以分析以期改善预后, MMP-3有望成为胰腺癌早期诊断及判断预后的重要指标。

李春龙, 崔云甫, 邵升, 哈尔滨医科大学附属第二医院胆胰外科, 黑龙江省哈尔滨市 150086
杜雪飞, 哈尔滨医科大学附属第四医院检验科实验中心, 黑龙江省哈尔滨市 150000
李春龙, 硕士, 主要从事普外科工作。
黑龙江省自然科学基金资助项目, No. ZJY0704-01
作者贡献分布: 李春龙与崔云甫对此文所作贡献均等; 此课题由李春龙、崔云甫、杜雪飞及邵升设计; 研究过程由李春龙、杜雪飞及邵升操作完成; 研究所用资金由崔云甫与李春龙提供, 论文写作由崔云甫与李春龙完成。
通讯作者: 崔云甫, 教授, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院胆胰外科。
yfcui777@hotmail.com
收稿日期: 2011-03-07 修回日期: 2011-04-29
接受日期: 2011-05-05 在线出版日期: 2011-05-28

Clinical significance of matrix metalloproteinases-3 and vascular endothelial growth factor expression in pancreatic carcinoma

Chun-Long Li, Yun-Fu Cui, Xue-Fei Du, Sheng Tai

Chun-Long Li, Yun-Fu Cui, Sheng Tai, Department of Biliary Pancreatic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Xue-Fei Du, Department of Clinical Laboratory, the Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province, No. ZJY0704-01

Correspondence to: Yun-Fu Cui, Department of Biliary Pancreatic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. yfcui777@hotmail.com

Received: 2011-03-07 Revised: 2011-04-29

Accepted: 2011-05-05 Published online: 2011-05-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinases-3 (MMP-3) in pancreatic carcinoma (PC) and to analyze their relationship with tumor angiogenesis, invasion and metastasis.

METHODS: The protein expression of VEGF and MMP-3 and microvessel density (MVD) were detected by immunohistochemistry in 56 PC specimens and 56 normal pancreatic tissue specimens.

RESULTS: The positive rates of both MMP-3 and VEGF were significantly higher in PC than in normal pancreatic tissue (75.00% vs 3.57%, 67.85% vs 1.78%, both $P < 0.01$). There was a positive correlation between the expression of VEGF and that of MMP-3. Higher expression of MMP-3 was detected in late-stage PC and PC with lymph node metastasis. The expression of VEGF was correlated with clinical stage ($P < 0.05$). MVD was correlated with expression of MMP-3 and VEGF in PC (both $P < 0.05$).

CONCLUSION: MMP-3 and VEGF may promote tumor angiogenesis and play an important role in the development and progression of PC. Detection of MMP-3 expression could be used to predict early metastasis of PC. Lower expression of VEGF may be related to lower arterial blood supply in PC.

Key Words: Matrix metalloproteinases-3; Vascular endothelial growth factor; Pancreatic carcinoma

Li CL, Cui YF, Du XF, Tai S. Clinical significance of matrix metalloproteinases-3 and vascular endothelial growth factor expression in pancreatic carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1574-1578

摘要

目的: 探讨MMP-3和VEGF蛋白在胰腺癌组织中的表达及其与胰腺癌临床病理特征、预后及胰腺癌组织中血管新生的关系。

方法: 用免疫组织化学检测了56例手术切除的胰腺癌组织和正常胰腺组织中MMP-3、VEGF的蛋白表达和微血管密度, 并请相关专业人员进行微血管密度计数分析。

结果: 在56例胰腺癌标本中有42例MMP-3(75.00%)和38例VEGF(67.85%)蛋白的表达阳性, 明显高于正常胰腺组织。MMP-3和VEGF的阳性表达呈正相关($\chi^2 = 30.42$, $P < 0.01$)。MMP-3在临床分期较晚和有淋巴结转移的胰腺癌中呈高表达。56例胰腺癌组织中的微血管密度与MMP-3、VEGF蛋白的阳性表达有关($t_{\text{VEGF}} = 3.67$, $P < 0.01$; $t_{\text{MMP-3}} = 3.05$, $P < 0.01$)。

■同行评议者

刘海林, 主任医师, 上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

结论: MMP-3和VEGF可能通过相互促进的表达, 促进胰腺癌组织中新生血管的形成, 可能在胰腺癌的发生发展中起到重要作用. MMP-3对预测肿瘤的早期转移有一定的临床意义. 而VEGF的相对低表达与临床所见胰腺癌在增强CT的低密度低动脉供血可能有关系.

关键词: 基质金属蛋白酶3; 血管内皮生长因子; 胰腺癌

李春龙, 崔云甫, 杜雪飞, 邵升. MMP-3和VEGF在胰腺癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1574-1578
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1574.asp>

0 引言

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是目前已知最重要的促血管生成因子之一, 基质金属蛋白酶3(matrix metalloproteinases-3, MMP-3)是一种与肿瘤侵袭和转移密切相关的蛋白酶, 他与血管形成过程中基底膜的降解关系密切^[1]. 血管生成(angiogenesis)与肿瘤的生长和转移密切相关, 微血管密度(microvessel density, MVD)则是反映肿瘤组织血管生成情况的一项客观指标^[2]. 本试验选取56例胰腺癌及其周围正常组织标本, 应用免疫组织化学方法检测VEGF、MMP-3表达和MVD计数, 以探讨VEGF、MMP-3与胰腺癌血管形成和临床的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 2004-01/2008-07哈尔滨医科大学第一附属医院和第二附属医院普外科住院治疗的胰腺癌患者56例. 入选标准: (1)病理确诊; (2)手术切除病变; (3)术前未行放、化疗; (4)病历资料完整. 同时记录56例胰腺癌临床病理资料, 有淋巴结转移27例, 无淋巴结转移29例.

1.2 方法 调出所有患者存档病理蜡块, 各制成4张4 μm 的切片, 1张常规HE染色, 3张行免疫组织化学染色. 免疫组织化学染色按北京中山试剂公司生产的试剂盒说明书操作. 用已知阳性切片作阳性对照, 用PBS代替一抗作阴性对照. VEGF、MMP-3阳性判断参考Volm等^[3]的方法, 以胰腺组织肿瘤细胞或腺上皮细胞胞质中出现明显的黄色或棕黄色颗粒为阳性. 按400倍视野阳性细胞百分值(0%: 0分; 1%-25%: 1分; 26%-50%: 2分; >50%: 3分)和细胞着色强度(阴性: 0分; 淡黄色: 1分; 棕黄色: 2分; 棕褐色: 3分)评分. 两分值相加, 0-2分为阴性(-), 3-4分为弱

阳性(+), 5-6分为强阳性(++). 肿瘤MVD测定参考Weidner等^[4]的方法, 首先在100倍视野下挑选CD31阳性最高区域, 然后计数5个200倍视野的CD31阳性微血管数, 取平均值. CD31阳性判断是以血管内皮细胞胞质内出现明显的黄色或棕黄色颗粒为阳性. 免疫组织化学结果的判定均由专业病理工作者在不知道实验分组的情况下作出.

统计学处理 数据以mean \pm SD表示, 弱阳性和强阳性均计为阳性, 使用SPSS13.0统计软件处理数据, 应用 t 检验、 χ^2 检验、Fisher确切概率法, $P<0.05$ 有统计学意义.

2 结果

2.1 VEGF、MMP-3、MVD在胰腺癌组织、正常组织中的表达 微血管分布不均, 而正常组织分布较少(图1). 56例胰腺癌标本中, VEGF蛋白阳性表达在癌组织、正常组织中分别为38例(67.85%)、1例(1.78%), MMP-3蛋白阳性表达在癌组织、正常组织中分别为42例(75.00%)、2例(3.57%), VEGF、MMP-3蛋白阳性表达在淋巴转移阳性组分别为21例(77.77%)、26例(96.29%), 胰腺癌VEGF阳性组MVD平均值为 36.31 ± 5.16 、阴性组MVD平均值为 20.50 ± 1.73 , 胰腺癌MMP-3阳性组MVD平均值为 35.89 ± 7.28 、阴性组MVD平均值为 20.21 ± 1.91 . MMP-3、VEGF表达阳性率癌组织显著高于正常组织, 差异均有统计学意义($\chi^2_{\text{VEGF}} = 50.98, P<0.01, \chi^2_{\text{MMP-3}} = 28.46, P<0.01$, 表1).

2.2 蛋白表达统计结果的比较及与临床参数的比较 胰腺癌VEGF、MMP-3阳性组与阴性组MVD平均值比较, 差异均有统计学意义($t_{\text{VEGF}} = 3.67, P<0.01, t_{\text{MMP-3}} = 3.05, P<0.01$, 表2). 胰腺癌组织中MMP-3和VEGF蛋白的阳性表达呈正相关($\chi^2 = 30.42, P<0.01$). 胰腺癌组织中VEGF、MMP-3表达阳性率在性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤部位、病理分级方面无明显差异($P>0.05$, 表3); MMP-3表达阳性率在临床分期和淋巴结转移方面有明显差异($P<0.05$, 表3); VEGF的表达阳性率在临床分期方面有明显差异($P<0.05$, 表3).

3 讨论

由于胰腺癌恶性度及转移发生率高, 大多数胰腺癌患者切除术后预后较差. 据Yeo等^[5]报道, 美国胰腺癌5年生存率有15%, 国内李志伟等^[6]报道胰头癌5年生存率<3.8%, 作为预后较差的

■研究前沿

关于胰腺癌的早期诊断、预后评估的相关研究较多, 但国内外关于胰腺癌与MMP-3的相关研究罕有报道, 此方面的研究有望对胰腺癌的早期诊断、预后评估提供新的生物标志.

■ 相关报道

Yancopoulos等证明肿瘤生长依赖于血管生成。当瘤体直径超过1-2 mm时,必须依赖新生血管提供养分。Nagakawa等研究表明,肿瘤微血管的形态和数量与肝转移存在联系。肝转移组的单位面积内侵犯型微血管和破坏型微血管数量显著高于非转移组。

表 1 胰腺癌组织与正常组织VEGF和MMP-3阳性率的两两比较

	VEGF		χ^2 值	P值	MMP-3		χ^2 值	P值
	+	-			+	-		
癌组织	38	18	50.98	<0.01	42	14	28.46	<0.01
正常组织	1	55			2	54		

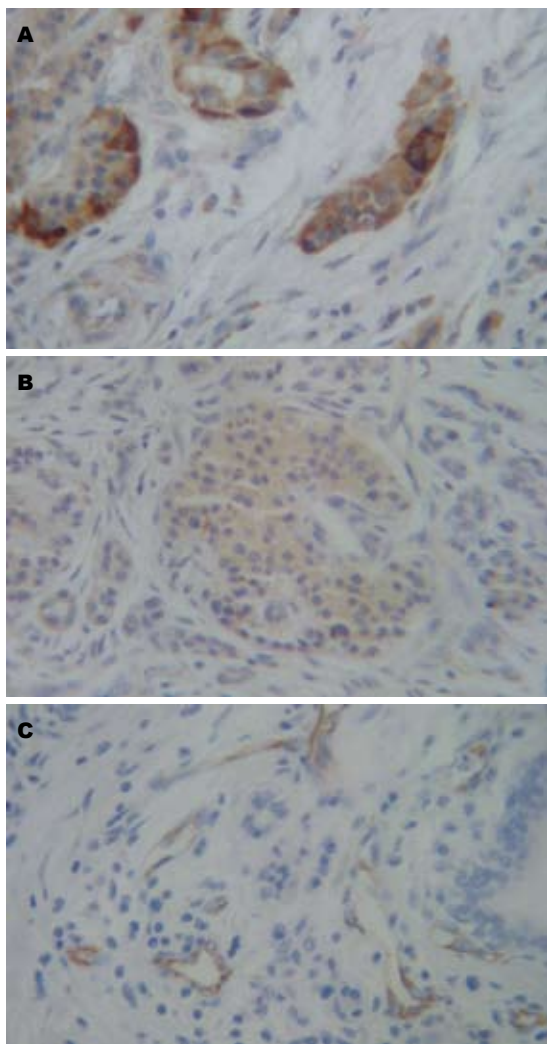


图 1 胰腺癌组织中的染色结果(×40)。A: VEGF蛋白表达; B: MMP-3蛋白表达; C: 癌组织中MVD。

消化系恶性肿瘤之一。我们对胰腺癌的了解还知之甚少,亟待进一步加以阐释,对其特性加以分析以期改善预后。肿瘤的生长离不开微血管的形成,但胰腺癌却在临床增强CT中表现为低密度影^[7],其有别于其他恶性肿瘤,由此推论胰腺癌对动脉供血的依赖低于其他肿瘤,因此其预后应该好于其他肿瘤如结肠癌、肝癌等,但临床实践告诉我们其预后远不如其他动脉血供依赖高的肿瘤^[8],其原因我们认为:其一,与胰腺癌位置隐蔽不易早期发现有关;其二,胰腺癌分泌的细胞因子的质和量可能有别于其他肿

表 2 阳性组和阴性组MVD的比较

		n	MVD	t值	P值
VEGF	+	38	36.31 ± 5.16	3.67	<0.01
	-	18	20.50 ± 1.73		
MMP-3	+	42	35.89 ± 7.28	3.05	<0.01
	-	14	20.21 ± 1.91		

瘤,从而造成了早期的淋巴转移,而使其预后低于其他恶性肿瘤。淋巴转移通路是胰腺癌细胞最主要的转移方式之一^[9]。胰腺癌的分化程度和淋巴转移直接影响患者的预后,胰腺癌细胞低分化和淋巴道转移使胰腺癌生存时间平均缩短0.91年^[5],提示胰腺癌的预后与淋巴结转移和淋巴管浸润密切相关。同时Bogoevski等^[10]研究胰腺癌淋巴结阳性个数与胰腺癌预后成负相关性,说明淋巴结有无转移是判断胰腺癌预后的重要指标,本研究提示MMP-3与淋巴结转移有相关性,MMP-3有望成为判断胰腺癌预后的检测指标。

VEGF是目前所知最关键的促进血管新生的生长因子,在胰腺癌的研究中发现VEGF与MVD密切相关^[11,12],并且VEGF呈高表达和肿瘤新生血管丰富的患者早期复发率较高,预后差^[13]。Tang等^[14]报道在胰腺癌中VEGF的表达率为80.4%,Northern blot表明胰腺癌细胞的VEGF总RNA表达是正常细胞的2.2倍。本研究也发现在胰腺癌组织中存在VEGF异常高表达,并与MVD有关,VEGF高表达者MVD也较高,临床病理分期晚的病例VEGF水平明显高于早期的病例。

MMP是以酶原的形式从胞内分泌到胞外,进而经一系列蛋白酶级联而激活^[15]。这个胶原蛋白结构域可被MMP-3、MMP-2或者次氯酸裂解^[16-18]。MMP-3可能是MMP-9最有效的激活剂^[19-21],进而MMP-9可通过释放VEGF以参与血管生成^[22,23]。有研究表明,缺氧可诱导肿瘤细胞及正常细胞VEGF的表达增强2-50倍,从而刺激肿瘤血管的形成^[24]。其作用机制及诱导途径也是我们以后研究胰腺癌发生、转移的一个重要方向。本实验结果表明MMP-3、VEGF在癌组织中的表达平

表 3 VEGF、MMP-3表达与临床病理参数的比较

	VEGF		MMP-3	
	阳性率(%)	P值	阳性率(%)	P值
性别				
男	66.67	>0.05	76.19	>0.05
女	71.42		71.42	
年龄(岁)				
≥60	67.50	>0.05	72.50	>0.05
<60	68.75		81.25	
肿瘤大小(cm)				
≥2.5	65.62	>0.05	84.37	>0.05
<2.5	70.83		62.50	
肿瘤部位				
胰头	70.21	>0.05	72.34	>0.05
胰体尾	55.55		88.89	
病理分级				
高分化	66.67	>0.05	77.78	>0.05
中低分化	68.42		73.68	
临床分期				
I + II	36.84	<0.05	31.58	<0.05
III + IV	83.78		97.29	
淋巴结转移				
阴性	58.62	>0.05	55.17	<0.05
阳性	77.77		96.29	

均水平高于正常组织中的表达,提示MMP-3、VEGF与胰腺癌的发生可能相关,并且在胰腺癌组织中MMP-3和VEGF蛋白的阳性表达有一定的相关性。

本实验还提示MMP-3、VEGF与MVD的多少相关,而MVD是反映肿瘤组织血管生成情况的一项客观指标,Yancopoulos等^[25]证明肿瘤生长依赖于血管生成,当瘤体直径超过1-2 mm时,必须依赖新生血管提供养分.Nagakawa等^[26]研究表明,肿瘤微血管的形态和数量与肝转移存在联系.肝转移组的单位面积内侵犯型微血管和破坏型微血管数量显著高于非转移组.Ikeda等报道高MVD值的患者局部复发和远处转移的发生率也显著高于低MVD值者,微血管数量明显增加,形态扭曲增粗,分支不规则,有异常的网状血管结构,其基底膜不完整,通透性增高^[27,28].肿瘤的生长和转移与血管生成有关,肿瘤细胞自原发部位脱落后浸透组织基底膜,进而借助结构不完整的新生血管进入血循环或淋巴循环^[29],MMP-3可能协同VEGF促进胰腺癌血管形成,因此,MMP-3在胰腺癌血管形成中可能起重要作用.本研究结果表明,MMP-3的表达与胰腺癌有无淋巴结转移有相关性,表明MMP-3在胰腺癌

转移过程中起重要作用,有可能为胰腺癌抗血管形成治疗提供新的靶蛋白,为胰腺癌治疗探索一种新的途径.实验结果还显示,MMP-3、VEGF的表达与胰腺癌的临床分期密切相关,而胰腺癌的临床分期与预后密切相关,这提示MMP-3、VEGF表达的高低与胰腺癌的预后密切相关.因此,我们可以通过检测MMP-3和VEGF蛋白表达来判断胰腺癌患者的预后.本实验提示MMP-3和VEGF在胰腺癌发生转移中可能有一定的关系,二者大体保持同步的变化.总之,对MMP-3和VEGF更深入的研究,有助于对胰腺癌生长、浸润和转移机制的进一步认识,最终为胰腺癌的诊断、治疗和预后评价提供重要帮助.

4 参考文献

- Gress TM, Müller-Pillasch F, Lerch MM, Friess H, Büchler M, Adler G. Expression and in-situ localization of genes coding for extracellular matrix proteins and extracellular matrix degrading proteases in pancreatic cancer. *Int J Cancer* 1995; 62: 407-413
- Hui L, Desen W, Zhizhong P, Lijing C, Xiaojun W, Zhenhai L, Tai K. Expression and Biological Significance of Leptin, Leptin Receptor, VEGF, and CD34 in Colorectal Carcinoma. *Cell Biochem Biophys* 2010 Dec 16. [Epub ahead of print]
- Volm M, Koomägi R, Mattern J. Prognostic value of vascular endothelial growth factor and its receptor Flt-1 in squamous cell lung cancer. *Int J Cancer* 1997; 74: 64-68
- Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 324: 1-8
- Yeo CJ, Sohn TA, Cameron JL, Hruban RH, Lillmoie KD, Pitt HA. Periapillary adenocarcinoma: analysis of 5-year survivors. *Ann Surg* 1998; 227: 821-831
- 李志伟, 冯玉泉, 顾万清, 周宁新, 张文智, 黄志强. 胰头癌外科疗效的临床分析. *中华肝胆外科杂志* 2006; 12: 92-94
- Maschuw K, Fendrich V, Langer P, Volland C, Ramaswamy A, Bartsch DK. Impact of CT-based diagnostic imaging on management and outcome of nonfunctioning pancreatic tumors. *Langenbecks Arch Surg* 2011 Feb 12. [Epub ahead of print]
- Schmid RM. [Pancreatic cancer]. *Praxis (Bern)* 1994; 2006; 95: 1709-1712
- 李春龙, 崔云甫, 杜雪飞, 邵升, 钟翔宇. VEGF和MMP-9在胰腺癌侵袭转移中的表达及临床意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1012-1016
- Bogoevski D, Yekebas EF, Schurr P, Kaifi JT, Kutup A, Erbersdobler A, Pantel K, Izbicki JR. Mode of spread in the early phase of lymphatic metastasis in pancreatic ductal adenocarcinoma: prognostic significance of nodal microinvolvement. *Ann Surg* 2004; 240: 993-1000; discussion 1000-1001
- 王强, 乔林, 王明德, 秦晔, 于泽成, 张奕. 胰腺癌组织中血管内皮细胞生长因子、微血管密度的表达及其意义. *中华肝胆外科杂志* 2001; 7: 182
- 潘雪, 李兆申, 许国铭, 刘枫, 满晓华, 倪灿荣, 富克远.

■应用要点

关于胰腺癌与MMP-3关系的相关研究有望对胰腺癌的早期诊断、预后评估提供新的生物标志。

■同行评价

本研究设计合理, 具有一定的学术价值。

- 13 胰腺癌中血管形成因子和细胞粘附分子的表达研究. 中华肝胆外科杂志 2003; 9: 161-164
- 14 Niedergethmann M, Hildenbrand R, Wostbrock B, Hartel M, Sturm JW, Richter A, Post S. High expression of vascular endothelial growth factor predicts early recurrence and poor prognosis after curative resection for ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Pancreas* 2002; 25: 122-129
- 15 Tang RF, Itakura J, Aikawa T, Matsuda K, Fujii H, Korc M, Matsumoto Y. Overexpression of lymphangiogenic growth factor VEGF-C in human pancreatic cancer. *Pancreas* 2001; 22: 285-292
- 16 Moon PC, Weaver J, Brooks CN. Review of matrix metalloproteinases' effect on the hybrid dentin bond layer stability and chlorhexidine clinical use to prevent bond failure. *Open Dent J* 2010; 4: 147-152
- 17 De Sanctis P, Elmakky A, Farina A, Caramelli E, Seracchioli R, Mabrouk M, Mignemi G, Venturoli S, Villa G, Guerrini M, Manuzzi L, Montanari G, Valvassori L, Zucchini C. Matrix metalloproteinase-3 mRNA: a promising peripheral blood marker for diagnosis of endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2011; 71: 118-123
- 18 Lakemeier S, Braun J, Efe T, Foelsch C, Archontidou-Aprin E, Fuchs-Winkelmann S, Paletta JR, Schofer MD. Expression of matrix metalloproteinases 1, 3, and 9 in differing extents of tendon retraction in the torn rotator cuff. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2011 Jan 11. [Epub ahead of print]
- 19 Current evidence on the relationship between four polymorphisms in the matrix metalloproteinases (MMP) gene and breast cancer risk: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2010 Dec 15. [Epub ahead of print]
- 20 Inatomi O, Andoh A, Yagi Y, Ogawa A, Hata K, Shiomi H, Tani T, Takayanagi A, Shimizu N, Fujiyama Y. Matrix metalloproteinase-3 secretion from human pancreatic periacinar myofibroblasts in response to inflammatory mediators. *Pancreas* 2007; 34: 126-132
- 21 Hayashi T, Fleming MV, Stetler-Stevenson WG, Liotta LA, Moss J, Ferrans VJ, Travis WD. Immunohistochemical study of matrix metalloproteinases (MMPs) and their tissue inhibitors (TIMPs) in pulmonary lymphangioleiomyomatosis (LAM). *Hum Pathol* 1997; 28: 1071-1078
- 22 Kawut SM, Barr RG, Johnson WC, Chahal H, Tandri H, Jain A, Bristow MR, Kizer JR, Bagiella E, Lima JA, Bluemke DA. Matrix metalloproteinase-9 and plasminogen activator inhibitor-1 are associated with right ventricular structure and function: the MESA-RV Study. *Biomarkers* 2010; 15: 731-738
- 23 Funel N, Costa F, Pettinari L, Taddeo A, Sala A, Chiriva-Internati M, Cobos E, Colombo G, Milzani A, Campani D, Dalle-Donne I, Gagliano N. Urokinase affects pancreas cancer cell phenotype in vitro by targeting MMP-9 and intra-/extracellular SPARC expression. *Pancreatol* 2010; 10: 545-552
- 24 Wang GW, Wang MQ, Wang XJ, Yu SB, Liu XD, Jiao K. Changes in the expression of MMP-3, MMP-9, TIMP-1 and aggrecan in the condylar cartilage of rats induced by experimentally created disordered occlusion. *Arch Oral Biol* 2010; 55: 887-895
- 25 Buehler P, Reber HA, Buehler M, Shrinkante S, Buehler MW, Friess H, Semenza GL, Hines OJ. Hypoxia-inducible factor 1 regulates vascular endothelial growth factor expression in human pancreatic cancer. *Pancreas* 2003; 26: 56-64
- 26 Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000; 407: 242-248
- 27 Nagakawa Y, Aoki T, Kasuya K, Tsuchida A, Koyanagi Y. Histologic features of venous invasion, expression of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9, and the relation with liver metastasis in pancreatic cancer. *Pancreas* 2002; 24: 169-178
- 28 Ikeda N, Adachi M, Taki T, Huang C, Hashida H, Takabayashi A, Sho M, Nakajima Y, Kanehiro H, Hisanaga M, Nakano H, Miyake M. Prognostic significance of angiogenesis in human pancreatic cancer. *Br J Cancer* 1999; 79: 1553-1563
- 29 Folkman J. The role of angiogenesis in tumor growth. *Semin Cancer Biol* 1992; 3: 65-71
- 30 Esposito I, Menicagli M, Funel N, Bergmann F, Boggi U, Mosca F, Bevilacqua G, Campani D. Inflammatory cells contribute to the generation of an angiogenic phenotype in pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Clin Pathol* 2004; 57: 630-636
- 31 Moilanen M, Sorsa T, Stenman M, Nyberg P, Lindy O, Vesterinen J, Paju A, Kontinen YT, Stenman UH, Salo T. Tumor-associated trypsinogen-2 (trypsinogen-2) activates procollagenases (MMP-1, -8, -13) and stromelysin-1 (MMP-3) and degrades type I collagen. *Biochemistry* 2003; 42: 5414-5420

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

TFF3和 β -catenin在不同大肠黏膜组织中的表达

于大中, 于亚男, 田字彬, 赵清喜, 孔心涓, 张翠萍, 魏良洲

于大中, 于亚男, 田字彬, 赵清喜, 孔心涓, 张翠萍, 魏良洲, 青岛大学医学院附属医院消化内科 山东省青岛市 266003
于大中, 青岛大学医学院附属医院消化内科在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 于大中、于亚男及田字彬对此文贡献均等; 此课题由于大中、于亚男及田字彬设计; 研究过程由于大中与于亚男操作完成; 研究所用病例由田字彬、赵清喜、孔心涓、张翠萍及魏良洲提供; 数据分析及本论文写作由于大中、于亚男及田字彬完成。

通讯作者: 田字彬, 教授, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院消化内科. tianzb@qdmh.qd.sd.cn

电话: 0532-82911302 传真: 0532-82911302

收稿日期: 2011-03-30 修回日期: 2011-05-09

接受日期: 2011-05-17 在线出版日期: 2011-05-28

Expression of trefoil factor family-3 and β -catenin in different types of colorectal mucosal lesions

Da-Zhong Yu, Ya-Nan Yu, Zi-Bin Tian, Qing-Xi Zhao, Xin-Juan Kong, Cui-Ping Zhang, Liang-Zhou Wei

Da-Zhong Yu, Ya-Nan Yu, Zi-Bin Tian, Qing-Xi Zhao, Xin-Juan Kong, Cui-Ping Zhang, Liang-Zhou Wei, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Correspondence to: Professor Zi-Bin Tian, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. tianzb@qdmh.qd.sd.cn

Received: 2011-03-30 Revised: 2011-05-09

Accepted: 2011-05-17 Published online: 2011-05-28

Abstract

AIM: To analyze the expression of trefoil factor family-3 (TFF3) and β -catenin in different types of colorectal mucosal lesions and to explore their role in the development and progression of colorectal adenocarcinoma and adenoma.

METHODS: The expression of TFF3 and β -catenin was detected by immunohistochemistry in 20 normal colorectal mucosa specimens, 30 colorectal polyp specimens, 20 colorectal adenoma (CRA) specimens, 20 colorectal adenoma (with atypical hyperplasia, CRAAH) specimens, and 40 colorectal adenocarcinoma (CRCA) specimens. The differences in the expression of TFF3 and β -catenin in different types of colorectal mucosal lesions were compared.

RESULTS: The positive rate of TFF3 expression was significantly lower in CRA and CRAAH ($P < 0.05$), but higher in CRCA. The abnormal expression of β -catenin were gradually increasing along with the sequence of CRA→CRAAH→CRAC, the membrane expressing deletion and ectopic expression were both higher in CRAC than in CRCP and CRA (60.00% vs 0.00%, 15.00%; 75.00% vs 0.00%, 40.00%, all $P < 0.05$). TFF3 expression was not correlated with tumor location or differentiation in CRAC, but was related to lymph node metastasis and Duke's stage (both $P < 0.05$). β -catenin expression was not correlated with tumor location or lymph node metastasis, but was related to tumor differentiation. Ectopic expression of β -catenin was related to Duke's stage ($P < 0.05$). There were significantly positive correlations between TFF3 expression and abnormal expression and loss of membrane expression of β -catenin in CRA ($r = 0.427$, $P = 0.006$; $r = 0.577$, $P = 0.000$) but not in CRAC ($r = 0.015$, $P = 0.951$; $r = 0.385$, $P = 0.094$). There was a significantly positive correlation between loss of membrane expression and ectopic expression of β -catenin in CRAC and CRA ($r = 0.638$, $P = 0.000$; $r = 0.514$, $P = 0.020$).

CONCLUSION: The expression of TFF3 and β -catenin is closely related with the development and progression of CRAC. They may be involved in an early event in colorectal carcinogenesis. TFF3 is related to the abnormal expression of β -catenin, both of which may be involved in the development and progression of CRAC.

Key Words: Trefoil factor family-3; β -catenin; Colorectal adenocarcinoma; Atypical hyperplasia; Adenoma; Immunohistochemistry

Yu DZ, Yu YN, Tian ZB, Zhao QX, Kong XJ, Zhang CP, Wei LZ. Expression of trefoil factor family-3 and β -catenin in different types of colorectal mucosal lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1579-1584

摘要

目的: 研究三叶因子3(TFF3)和 β -catenin在不同大肠黏膜组织中的表达及其相互关系, 探讨其在大肠腺癌及腺瘤发生、发展中的作用。

■背景资料

随着生活水平的不断提高及饮食习惯的改变, 结肠癌的发病率呈逐渐上升趋势。结肠癌的发生是一个多因素多阶段漫长的过程, 目前尚且缺乏有效的早期诊断指标。近年来研究表明TFF3与 β -catenin在肿瘤发生发展中起重要作用。

■同行评议者

黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

■研究前沿

TFF3与 β -catenin在肿瘤中异常表达,其在癌前状态是否也有表达及其在肿瘤发生、浸润和转移中的作用机制是当前研究的热点问题.

方法:采用免疫组织化学PV6000法检测20例正常大肠黏膜、30例非腺瘤性息肉、20例大肠腺瘤、20例大肠腺瘤伴不典型增生和40例大肠腺癌组织中TFF3和 β -catenin的表达,分析二者表达的差异及其相关性.

结果:TFF3在大肠腺瘤、不典型增生组织表达下降($P<0.05$),腺瘤表达增加. β -catenin的异常表达率随腺瘤 \rightarrow 腺瘤伴不典型增生 \rightarrow 腺癌逐渐增加,腺癌组的膜表达缺失及异位表达均高于非腺瘤性息肉和腺瘤组(60.00% vs 0.00%, 15.00%; 75.00% vs 0.00%, 40.00%, 均 $P<0.05$).TFF3在腺瘤中的表达与部位、分化程度无关,与淋巴结转移和Duke's分期密切相关(均 $P<0.05$); β -catenin异常表达与部位、淋巴结转移无关,与肿瘤分化程度相关,异位表达尚与Duke's分期相关(均 $P<0.05$).TFF3在腺瘤中的表达与 β -catenin膜表达缺失、异位表达均呈显著正相关($r=0.427, P=0.006; r=0.577, P=0.000$),腺瘤中无相关($r=0.015, P=0.951; r=0.385, P=0.094$);腺瘤和腺瘤中 β -catenin的膜表达缺失、异位表达两者间均呈显著正相关($r=0.638, P=0.000; r=0.514, P=0.020$).

结论:TFF3和 β -catenin的表达与大肠腺瘤的发生、发展密切相关,是肿瘤发生的早期分子事件.TFF3与 β -catenin的异常表达相关,可能在大肠腺瘤的发生、发展中存在共同作用.

关键词:三叶因子3; β -catenin; 大肠腺瘤; 不典型增生; 腺瘤; 免疫组织化学

于大中, 于亚男, 田宇彬, 赵清喜, 孔心涓, 张翠萍, 魏良洲. TFF3和 β -catenin在不同大肠黏膜组织中的表达. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1579-1584
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1579.asp>

0 引言

三叶因子3(trefoil factor family-3, TFF3)主要在小肠及结直肠杯状细胞中表达,其能诱导细胞迁移而与肿瘤的发生关系密切. β -连接素(β -catenin)是一个多功能蛋白,其在肠干细胞中的过度积累是导致肠干细胞过度克隆增殖、肠息肉和肿瘤形成的主要因素.我们采用免疫组织化学方法,检测结直肠正常黏膜组织、非腺瘤性息肉、腺瘤性息肉及腺瘤中TFF3及 β -catenin的表达,并探讨二者与结直肠息肉及腺瘤发生发展的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 选取青岛大学医学院附属医院2008-12/

2009-12病理室存档的结肠镜活检(未电切组织)及结肠癌根治术后标本蜡块110例,其中非腺瘤性息肉30例、腺瘤性息肉20例、腺瘤伴不典型增生20例及结直肠腺癌40例.结肠癌病例术前均未接受放、化疗,并选取远端正常结直肠黏膜20例作对照.实验选用与HE染色一致的蜡块制成4 μ m切片行免疫组织化学方法.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学(PV6000)法:兔抗人TFF3多克隆抗体(工作浓度为1:200)购自北京博奥森生物技术有限公司;鼠抗人 β -catenin单克隆抗体(工作浓度为1:200),PV6000试剂盒,柠檬酸抗原修复缓冲液, PBS缓冲液, DAB显色剂均购自北京中杉金桥生物技术有限公司.切片染色前根据要求行柠檬酸缓冲液高温高压抗原修复,余具体操作过程均按试剂盒说明书完成.阴性对照中的一抗以PBS缓冲液代替.

1.2.2 结果判定:(1)TFF3判断标准:以胞质内出现淡黄色至棕黄色染色视为阳性细胞,根据细胞染色强度和染色细胞所占面积之和来判断.染色强度积分为:无染色0分,弱染色1分,中等染色2分,强染色3分;染色面积积分为:阳性范围 $\leq 10\%$ 为0分, 11%-25%为1分, 26%-50%为2分, 51%-75%为3分, $>75\%$ 为4分.若两者积分之和 ≥ 3 分则为阳性, ≤ 2 分则为阴性;(2) β -catenin判断标准:在正常黏膜中, β -catenin免疫组织化学阳性反应为棕黄色细小颗粒状,主要定位于细胞膜,微量定位于细胞质;在腺瘤与腺瘤中,其阳性染色主要定位于细胞质,并有部分细胞核阳性.按照Maruyama等方法,分别从细胞膜、细胞质、细胞核三方面判断其在细胞内的分布情况.细胞膜 $>70\%$ 细胞阳性为正常表达,反之为膜表达缺失;细胞质或细胞核 $>10\%$ 细胞阳性为胞质或胞核阳性表达,即异位表达.细胞膜表达缺失、胞质或胞核表达统称为表达异常.

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行统计学处理,TFF3和 β -catenin在不同结直肠黏膜组织中的表达之间的关系以及在结直肠腺瘤不同临床病理特征之间的关系用 χ^2 检验,TFF3和 β -catenin在不同结直肠黏膜中的表达相关用Spearman相关分析. $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 TFF3和 β -catenin在不同结直肠黏膜组织中的表达 TFF3在正常结直肠黏膜和非腺瘤性息肉中表达位于细胞质中(图1),腺瘤、腺瘤伴不典型增生组织中TFF3表达下降,而在结直肠腺癌

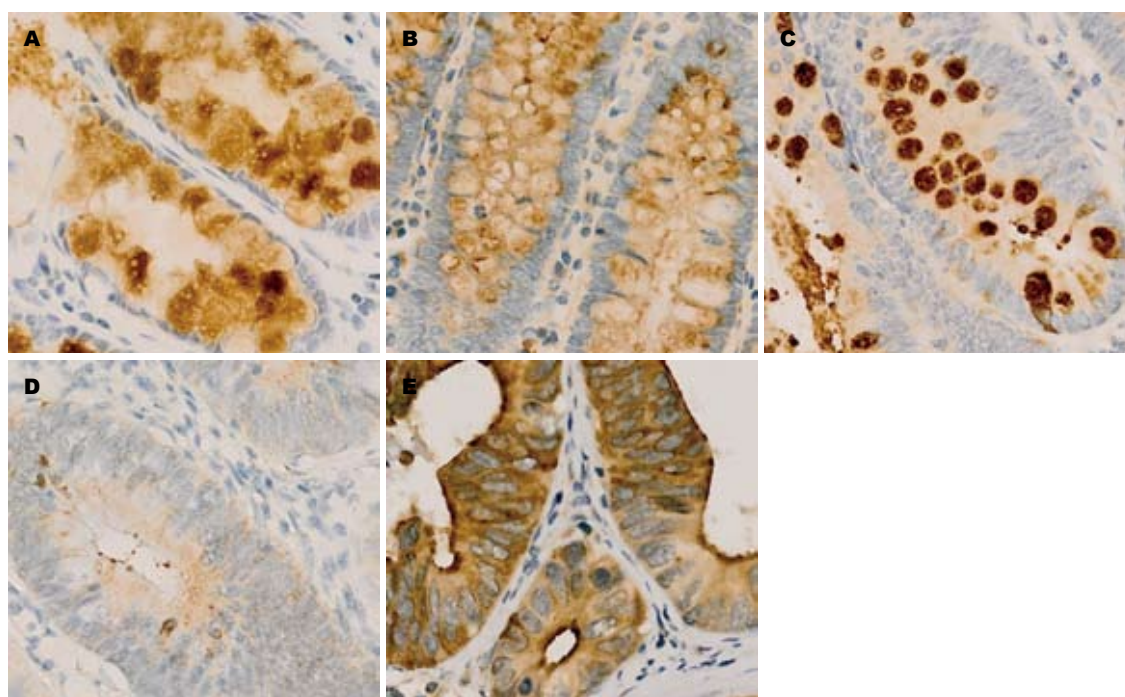


图 1 TFF3在不同大肠黏膜组织中的表达(免疫组织化学 $\times 200$)。A: 正常大肠黏膜; B: 非腺瘤性息肉; C: 腺瘤; D: 腺瘤伴不典型增生; E: 腺癌。

■ 相关报道

John等研究结肠癌演变过程时发现, TFF3在腺瘤中表达明显降低, 而在腺癌和黏液癌中呈高表达状态。提示TFF3的表达与细胞增殖呈负相关, 可能对结直肠癌的发生起到保护作用。

表 1 TFF3和 β -catenin在不同结直肠黏膜组织中的表达 $n(\%)$

组织类型	n	β -catenin		TFF3阳性表达
		膜表达缺失	异位表达	
正常结直肠黏膜	20	0(0.00) ^c	0(0.00) ^c	19(95.00)
非腺瘤性息肉	30	0(0.00) ^c	0(0.00) ^c	28(93.33)
腺瘤	20	3(15.00) ^c	8(40.00) ^{ac}	13(65.00) ^a
腺瘤伴不典型增生	20	5(25.00) ^a	11(55.00) ^a	12(60.00) ^a
结直肠腺癌	40	22(60.00) ^a	30(75.00) ^a	32(80.00)

^a $P < 0.05$ vs 正常结直肠黏膜; ^c $P < 0.05$ vs 结直肠腺癌。

中表达增加, 其TFF3阳性表达分别为95.00%、93.33%、65.00%、60.00%和80.00%。与正常结直肠黏膜相比, 非腺瘤性息肉TFF3表达相同, 腺瘤及腺瘤伴不典型增生组织中表达下降(均 $P < 0.05$, 表1), 而结直肠腺癌中TFF3表达与正常结直肠黏膜无显著差异。 β -catenin在正常结直肠黏膜和非腺瘤性息肉的表达主要定位于细胞膜(图2), 无膜表达缺失及异位表达, 而在腺瘤、腺瘤伴不典型增生和结直肠腺癌中呈不同程度的膜表达缺失和异位表达。 β -catenin的膜表达缺失和异位表达随着腺瘤 \rightarrow 腺瘤伴不典型增生 \rightarrow 腺癌均呈逐渐增加, 其膜表达缺失率分别为15.00%、25.00%、60.00%, 其中腺瘤伴不典型增生和腺癌组膜表达缺失率较正常结直肠黏膜组高(均 $P < 0.05$), 腺瘤组无明显差异; β -catenin

异位表达分别为40.00%、55.00%、75.00%, 均比正常结直肠黏膜组异位表达增加(均 $P < 0.05$)。而与结直肠腺癌组比较, 非腺瘤性息肉和腺瘤组 β -catenin的膜表达缺失和异位表达均降低(均 $P < 0.05$, 表1), 腺瘤伴不典型增生无显著性差异。

2.2 TFF3和 β -catenin表达与结直肠腺癌临床病例特征的关系 TFF3在结直肠腺癌中的表达与部位、分化程度无明显关系, 与淋巴结转移和Duke's分期密切相关(均 $P < 0.05$); β -catenin膜表达缺失和异位表达与部位、淋巴结转移均无明显关系, 而与肿瘤分化程度相关, 异位表达尚与Duke's分期相关(均 $P < 0.05$, 表2)。随着结直肠腺癌恶性程度的增高, TFF3表达逐渐下降, β -catenin异位表达越来越明显。

2.3 结直肠腺癌及腺瘤中TFF3和 β -catenin表达

■创新盘点

本研究发现 TFF3 在结直肠腺癌中的表达与 β -catenin 的异常表达呈显著正相关, 而腺瘤中则无这种相关。提示 TFF3 与 β -catenin 在结直肠腺瘤→腺癌的发展过程中可能存在共同作用。

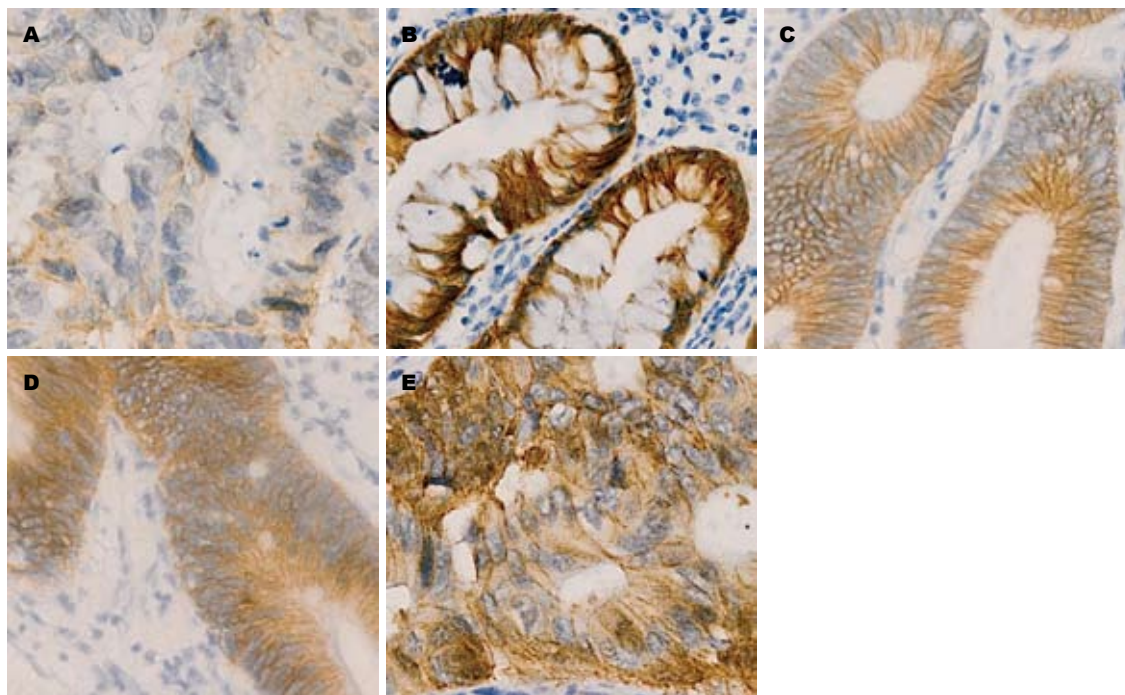


图 2 β -catenin 在不同大肠黏膜组织中的表达(免疫组织化学 $\times 200$)。A: 正常大肠黏膜; B: 非腺瘤性息肉; C: 腺瘤; D: 腺瘤伴不典型增生; E: 腺癌。

的相关性 Spearman 相关分析显示, 腺癌中 TFF3 的表达与 β -catenin 膜表达缺失、异位表达均呈显著正相关($r = 0.427, P = 0.006; r = 0.577, P = 0.000$); 腺瘤中无相关($r = 0.015, P = 0.951; r = 0.385, P = 0.094$); 腺癌和腺瘤中 β -catenin 的膜表达缺失、异位表达两者间均呈显著正相关($r = 0.638, P = 0.000; r = 0.514, P = 0.020$)。

3 讨论

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的消化系统恶性肿瘤, 近年来随着生活水平的提高、饮食习惯以及环境因素的改变, 其发病率呈逐渐上升趋势, 在欧洲处于恶性肿瘤的第2位^[1,2], 在我国也处于第3-4位^[3,4]。CRC 的发生是一个多因素多阶段漫长的过程, 其发生有三种途径: 经典的腺瘤→腺癌途径、“锯齿状途径”和 De Novo 途径, 一般认为从正常结直肠黏膜→腺瘤→腺癌途径最为重要^[5,6]。

TFF3, 是近年来研究较多的小分子多肽三叶因子家族成员之一, 1991年由 Suemori 等^[7]首次在大鼠空肠发现, 其基因与 TFF1 及 TFF2 基因密集于染色体 21q22.3 上。TFF3 分子由 59 个氨基酸组成, 含有 1 个 P 结构域, 存在单聚体(6 692 kDa)及二聚体(13 146.8 kDa)两种形式, 其同源二聚体由 2 个 Cys58 形成的分子间二硫键连接而成^[8]。正常情况下主要在小肠及结肠杯状细胞

表 2 TFF3、 β -catenin 表达与结直肠腺癌临床病例特征的关系 $n(\%)$

	<i>n</i>	TFF3 阳性表达	β -catenin	
			膜表达缺失	异位表达
部位				
结肠	24	19(79.17)	11(45.83)	18(75.00)
直肠	16	13(81.25)	11(68.75)	12(75.00)
<i>P</i> 值		>0.05	>0.05	>0.05
分化程度				
高分化	13	10(76.92)	4(30.77)	6(46.15)
中分化	14	13(92.86)	7(50.00)	11(78.57)
低分化	13	9(69.23)	11(84.62)	13(100.00)
<i>P</i> 值		>0.05	<0.05	<0.05
淋巴结转移				
无	27	25(92.59)	14(51.85)	21(77.78)
有	13	7(53.85)	8(61.54)	9(69.23)
<i>P</i> 值		<0.05	>0.05	>0.05
Duke's 分期				
A	16	15(93.75)	8(50.00)	9(56.25)
B	11	9(81.82)	6(54.54)	8(72.73)
C+D	13	7(53.85)	8(61.54)	13(100.00)
<i>P</i> 值		<0.05	>0.05	<0.05

中表达, 由杯状细胞分泌, 特异分布于肠黏膜表面, 在哺乳动物体内具有黏膜保护、损伤愈合修复作用^[9,10]。研究报道结直肠腺癌中 TFF3 的表达与其发育不良进展程度之间呈显著正相关^[11]。John 等^[12]研究结肠癌演变过程时发现, TFF3 在

腺瘤中表达明显降低,而在黏液癌和腺癌中呈高表达状态;TFF3表达尚与结肠肿瘤的分期有关,Dukes A期表达明显高于Dukes B、C、D期.已经证明TFF3能诱导HT29结肠癌细胞系细胞凋亡的特征,随后肿瘤细胞对TFF3产生抵抗、表达减少,可能使他们逃脱正常的细胞凋亡控制;还发现TFF3过度表达可抑制结肠癌细胞株LoVo和SW837在体外和体内的生长^[12,13].本研究检测不同结直肠黏膜组织中TFF3的表达,发现其在非腺瘤性息肉与正常结直肠黏膜表达相同,腺瘤及腺瘤伴不典型增生中表达降低,而腺癌中表达增加;TFF3在结直肠腺癌中的表达与部位、分化程度无明显关系,而与淋巴结转移和Duke's分期密切相关,Duke's A期90%以上表达阳性,Duke's C+D期表达明显下降.这一结果提示TFF3在结直肠肿瘤发生、发展过程中的作用,其可能是结直肠黏膜癌变过程中的早期分子事件;TFF3表达与恶性肿瘤临床病理特征的相关性,可能反映了肿瘤分化的最终丧失.TFF3在早期结直肠腺癌中表达增加可能与其抑制细胞黏附、促进肿瘤细胞侵袭、抑制细胞凋亡以及促进新生血管生成作用有关.

β -catenin是细胞膜黏附蛋白复合物的成员,也是重要的细胞信号分子,在上皮型钙黏蛋白(E-cadherin, E-cad)介导的细胞黏附和Wnt信号转导通路中发挥着关键作用^[14,15]. β -catenin在肿瘤发展过程中伴随蛋白从胞质向胞核转移,这一变化被认为是腺瘤-腺癌序列进展的重要标志^[16,17].Wnt/ β -catenin信号转导通路在肿瘤的发生、发展、侵袭以及转移中起着非常重要的作用,其异常活化与结直肠肿瘤的发生、发展密切相关^[18-20].许多研究发现, β -catenin异常表达与结直肠癌分化程度、侵犯深度,是否转移、分期增高等有相关性^[21-25],提示 β -catenin异常表达与恶性肿瘤侵袭和转移存在相关性.这可能由于 β -catenin从胞膜移位导致 β -catenin-E-cadherin复合体解离,同型细胞间黏附能力下降,从而增强了肿瘤细胞的转移能力^[26],核内 β -catenin高表达可使癌细胞具备上皮-间质转化及干细胞形成的能力,进而导致肿瘤的侵袭与转移^[27].本研究中 β -catenin在正常结直肠黏膜和非腺瘤性息肉的表达主要定位于细胞膜,无膜表达缺失及胞质或胞核异位表达,而随腺瘤 \rightarrow 腺瘤伴不典型增生 \rightarrow 腺癌过程其异常表达率逐渐增加,腺癌的异常表达较非腺瘤性息肉和腺瘤均增加.本研究还发现 β -catenin异常表达与腺癌部位、淋

巴结转移无明显关系,而与肿瘤分化程度相关; β -catenin异位表达尚与Duke's分期相关,随结直肠癌恶性程度的增高, β -catenin异位表达越来越明显.这也提示 β -catenin是结直肠肿瘤发生中的早期分子事件,其异常表达可致Wnt/ β -catenin信号转导通路活化,从而在肿瘤发生、发展过程中发挥重要作用.

另外,本研究还发现TFF3在结直肠腺癌中的表达与 β -catenin的异常表达呈显著正相关,而腺瘤中则无这种相关;腺癌和腺瘤中 β -catenin的膜表达缺失与异位表达两者间均呈显著正相关.这一结果提示TFF3与 β -catenin在结直肠腺瘤 \rightarrow 腺癌的发展过程中可能存在共同作用.已经证明TFF3可诱导HT29结肠癌细胞的 β -catenin和表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的酪氨酸磷酸化,导致细胞间粘连破坏,使上皮细胞互相分离,从而增加HT29结肠癌细胞的迁移力^[28].TFF3可通过扰乱 β -catenin-E-cadherin复合体及相关蛋白的表达,上调 β -catenin和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)的mRNA表达,下调E-cadherin和基质金属蛋白酶抑制因子-1(inhibitor of matrix metalloproteinase-1, TIMP-1)的表达,并最终影响细胞的黏附、转移、侵袭过程^[29,30].

本研究结果表明TFF3与 β -catenin作为结直肠腺癌发生过程中的重要因子,参与了结直肠黏膜腺瘤形成和恶性转化的过程,是结直肠黏膜癌变过程中的早期分子事件,其影响肿瘤细胞的黏附、转移和侵袭过程.因此,检测TFF3和 β -catenin对结直肠肿瘤早期诊断、评估预后及治疗模式的选择有着重要的临床参考价值.但TFF3的细胞内作用机制、具体信号转导途径的相关研究尚处于起始阶段,尚需进一步研究证明其与结直肠癌发生、发展过程的关系,从而有利于结直肠癌的早期诊断和治疗.

■应用要点

本研究结果表明TFF3与 β -catenin是结直肠黏膜癌变过程中的早期分子事件,在结直肠黏膜癌变及癌变后的恶性演进过程中起作用,进一步了解二者表达与结直肠癌发生、发展的关系,可为结直肠癌的早期诊断、预后评估及临床治疗提供新的思路 and 前景.

4 参考文献

- 1 Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 2007; 18: 581-592
- 2 Ferlay J, Parkin DM, Steliarova-Foucher E. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *Eur J Cancer* 2010; 46: 765-781
- 3 周晓东, 吕农华. 大肠癌的流行病学研究现状. *现代消化及介入诊疗* 2006; 11: 149-151
- 4 赵旭东, 王亚杰. 结直肠癌发生的基因机制研究进展. *现代肿瘤医学* 2006; 14: 1462-1464
- 5 Buecher B, Bezieau S, Dufilhol C, Cauchin E, Heymann MF, Mosnier JF. [Emerging concepts in colorectal serrated polyps]. *Gastroenterol Clin Biol* 2007; 31: 39-54

■同行评价

本文研究了TFF3和 β -catenin在不同大肠黏膜组织的表达,对结直肠癌的早期诊断、预后评估及治疗方式的选择有一定参考价值,学术价值较好。

- 6 房静远. 关注结直肠腺瘤的诊治研究. 中华消化杂志 2010; 30: 433-435
- 7 Suemori S, Lynch-Devaney K, Podolsky DK. Identification and characterization of rat intestinal trefoil factor: tissue- and cell-specific member of the trefoil protein family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 11017-11021
- 8 Thim L, Wöldike HF, Nielsen PF, Christensen M, Lynch-Devaney K, Podolsky DK. Characterization of human and rat intestinal trefoil factor produced in yeast. *Biochemistry* 1995; 34: 4757-4764
- 9 Kouznetsova I, Kalinski T, Peitz U, Mönkemüller KE, Kalbacher H, Vieth M, Meyer F, Roessner A, Malfertheiner P, Lippert H, Hoffmann W. Localization of TFF3 peptide in human esophageal submucosal glands and gastric cardia: differentiation of two types of gastric pit cells along the rostro-caudal axis. *Cell Tissue Res* 2007; 328: 365-374
- 10 陈美娅, 张靖, 任建林. 三叶因子3研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2267-2273
- 11 Hinz M, Schwegler H, Chwierski CE, Laube G, Linke R, Pohle W, Hoffmann W. Trefoil factor family (TFF) expression in the mouse brain and pituitary: changes in the developing cerebellum. *Peptides* 2004; 25: 827-832
- 12 John R, El-Rouby NM, Tomasetto C, Rio MC, Karam SM. Expression of TFF3 during multistep colon carcinogenesis. *Histol Histopathol* 2007; 22: 743-751
- 13 Uchino H, Kataoka H, Itoh H, Hamasuna R, Kono M. Overexpression of intestinal trefoil factor in human colon carcinoma cells reduces cellular growth in vitro and in vivo. *Gastroenterology* 2000; 118: 60-69
- 14 Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways. *Science* 2004; 303: 1483-1487
- 15 Bright-Thomas RM, Hargest R. APC, beta-Catenin and hTCF-4; an unholy trinity in the genesis of colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29: 107-117
- 16 Morin PJ. beta-catenin signaling and cancer. *Bioessays* 1999; 21: 1021-1030
- 17 Kikuchi A. Regulation of beta-catenin signaling in the Wnt pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 268: 243-248
- 18 Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature* 2005; 434: 843-850
- 19 刘宁, 姜海行, 黄振宁, 覃山羽, 李信. SFRP2和 β -catenin在大肠癌中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3963-3969
- 20 Kawasaki T, Noshio K, Ohnishi M, Suemoto Y, Kirkner GJ, Dehari R, Meyerhardt JA, Fuchs CS, Ogino S. Correlation of beta-catenin localization with cyclooxygenase-2 expression and CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer. *Neoplasia* 2007; 9: 569-577
- 21 顾国利, 魏学明, 王石林, 任力, 郑爱民, 黄蓉蓉, 胡益云. 大肠癌E-cadherin, β -catenin, MMP-7表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2007; 15: 375-380
- 22 马思平, 单吉贤, 王辉. E-cadherin和 β -catenin在大肠癌组织中的表达及与预后的关系. 实用肿瘤学杂志 2003; 17: 268-270
- 23 Brabletz T, Jung A, Kirchner T. Beta-catenin and the morphogenesis of colorectal cancer. *Virchows Arch* 2002; 441: 1-11
- 24 段光杰, 阎晓初, 卞修武, 李军, 陈鑫. β -链接素和基质金属蛋白酶-7在结直肠腺瘤-腺癌组织表达的意义. 中华病理学杂志 2004; 6: 518-522
- 25 Wong SC, Lo ES, Lee KC, Chan JK, Hsiao WL. Prognostic and diagnostic significance of beta-catenin nuclear immunostaining in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1401-1408
- 26 Bonitsis N, Batistatou A, Karantima S, Charalabopoulos K. The role of cadherin/catenin complex in malignant melanoma. *Exp Oncol* 2006; 28: 187-193
- 27 Brabletz T, Hlubek F, Spaderna S, Schmalhofer O, Hiendlmeyer E, Jung A, Kirchner T. Invasion and metastasis in colorectal cancer: epithelial-mesenchymal transition, mesenchymal-epithelial transition, stem cells and beta-catenin. *Cells Tissues Organs* 2005; 179: 56-65
- 28 Meyer zum Büschenfelde D, Hoschützky H, Tauber R, Huber O. Molecular mechanisms involved in TFF3 peptide-mediated modulation of the E-cadherin/catenin cell adhesion complex. *Peptides* 2004; 25: 873-883
- 29 Efsthathiou JA, Noda M, Rowan A, Dixon C, Chinery R, Jawhari A, Hattori T, Wright NA, Bodmer WF, Pignatelli M. Intestinal trefoil factor controls the expression of the adenomatous polyposis coli-catenin and the E-cadherin-catenin complexes in human colon carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 3122-3127
- 30 Chan VY, Chan MW, Leung WK, Leung PS, Sung JJ, Chan FK. Intestinal trefoil factor promotes invasion in non-tumorigenic Rat-2 fibroblast cell. *Regul Pept* 2005; 127: 87-94

编辑 李薇 电编 何基才

特殊人群HBV感染的抗病毒治疗

朱传武, 王海燕, 方 焕, 汪茂荣, 李 平, 黄利华, 姚悦萍, 柳龙根, 邵幼林, 谭友文, 熊清芳, 杨永峰, 赵卫峰,
陈良云, 潘修成, 任劲松, 祁 丹, 易建华, 沈贵月

编者按 慢性乙型肝炎是一个全球性公共卫生问题, 严重威胁人类健康. 据世界卫生组织报道, 全球超过1/3的人口感染过HBV, 其中3.5亿为慢性感染者. 2006年全国乙型肝炎流行病学调查表明, 我国1-59岁一般人群HBsAg携带率为7.18%, 比1992年的9.75%有了显著的下降. 目前, 慢性乙型肝炎的抗病毒治疗可以有效控制疾病进展, 但对于HBV感染的特殊人群如何进行抗病毒治疗更应该受到临床医生的高度重视: (1)抗病毒是慢性乙型肝炎的关键疗法, 目的是阻止肝硬化的形成, 但对于已经发展为肝硬化的患者要控制病情进一步恶化, 抑制病毒复制仍然是至关重要的, 并已成为近年来的临床治疗共识; (2)HBV感染引起的肝衰竭患者抗病毒治疗是否有利于提高抢救成功率也是近年来的热点问题; (3)随着肿瘤发病率的提高及有效细胞毒性化疗药物的广泛应用, 肿瘤合并HBV感染的患者接受化疗时HBV再激活已成为常见的临床问题; (4)高效抗逆转录病毒疗法使HIV感染的预后得到了改善, 而慢性乙型肝炎却成为影响HBV/HIV重叠感染患者预后的重要因素. 由于HIV和HBV所用的抗病毒药物及其耐药特征等具有相似性, 使HBV/HIV重叠感染成为临床治疗的难点和研究的热点; (5)HBV和HCV是两种可以导致慢性肝炎、肝硬化甚至肝细胞癌的病毒, 从全球范围看, 慢性HBV感染者有3.5亿, 慢性HCV感染者有1.3亿, 那么两者的重叠感染必然成为不可避免的现状; (6)1971年Combes等首次发现膜性肾病伴有HBV抗原阳性患者, 并在其肾活检切片上发现了HBsAg. 自乙肝抗病毒药物陆续进入临床后, 合理治疗HBV感染与乙肝相关性肾病也得到了众多学者的关注; (7)对于儿童慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗的指征尚有争议, 尤其是对于血清HBV DNA水平较高而丙氨酸氨基转移酶(ALT)正常的患儿是否需要抗病毒治疗争议较大; (8)自身免疫性疾病患者通常需要接受免疫抑制剂治疗, 但在伴随HBV感染时如何控制肝病的发展, 这也是临床面临的难题; (9)育龄期女性慢性乙型肝炎的抗病毒治疗需要考虑药物对患者自身及胎儿安全性的影响等.

本期特邀请苏州市第五人民医院肝病科朱传武教授组织此次焦点论坛, 以期对临床医生在HBV感染的特殊人群抗病毒治疗中起到指导作用.

1	乙型肝炎肝硬化的抗病毒治疗.....	1592
2	HBV相关性肝衰竭的抗病毒治疗.....	1598
3	HBV感染者化疗时的抗病毒治疗.....	1604
4	HBV/HIV重叠感染患者的抗病毒治疗.....	1609
5	HBV/HCV重叠感染的抗病毒治疗.....	1614
6	HBV相关性肾炎的抗病毒治疗.....	1620
7	儿童慢性乙型肝炎特征及抗病毒治疗.....	1624
8	伴有自身免疫性疾病的慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗策略.....	1629
9	育龄期慢性乙型肝炎女性患者的抗病毒治疗.....	1634

hARD1在人大肠腺癌中的表达及与肿瘤分化的相关性

白松, 邵佳发, 王维琦, 钟孝斌, 赵翔宇

白松, 昆明医学院第一附属医院干疗科 云南省昆明市 650032

邵佳发, 王维琦, 钟孝斌, 赵翔宇, 昆明医学院 云南省昆明市 650032

白松, 教授, 主任, 主要从事消化系统肿瘤研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 30271667

作者贡献分布: 此课题由白松设计; 研究过程由王维琦、邵佳发、钟孝斌及赵翔宇操作完成; 数据分析由王维琦、赵翔宇及钟孝斌完成; 本论文写作由白松完成.

通讯作者: 白松, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路 295号, 昆明医学院第一附属医院干疗科.

baisong523@163.com

电话: 0871-5324888-2824

收稿日期: 2011-04-17 修回日期: 2011-05-17

接受日期: 2011-05-20 在线出版日期: 2011-05-28

Correlation between hARD1 expression and tumor differentiation in human colorectal carcinoma

Song Bai, Jia-Fa Shao, Wei-Qi Wang, Xiao-Bin Zhong, Xiang-Yu Zhao

Song Bai, Department of cadre medical treatment, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Jia-Fa Shao, Wei-Qi Wang, Xiao-Bin Zhong, Xiang-Yu Zhao, Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Professor Bai Song, Department of VIP Healthcare Services, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China. baisong523@163.com

Received: 2011-04-17 Revised: 2011-05-17

Accepted: 2011-05-20 Published online: 2011-05-28

Abstract

AIM: To examine the expression of human arrest defective 1 (hARD1) in human colorectal carcinoma and to analyze its relationship with tumor differentiation.

METHODS: A total of 98 colorectal carcinoma samples (including 30 cases of well-differentiated adenocarcinoma, 27 cases of moderately differentiated adenocarcinoma, 31 cases of lowly differentiated adenocarcinoma, and 10 cases of mucous adenoma) were collected from the First Affiliated Hospital of Kunming medical College and used in this study. Immunohistochemistry was used to detect hARD1 expression in the

above tissue samples.

RESULTS: hARD1 was highly expressed in colorectal carcinoma (78.57%), moderately or lowly in adenoma (33.33%), and hardly found in normal colorectal tissue (0%). hARD1 expression was significantly higher in well differentiated adenocarcinoma than in moderately and lowly differentiated adenocarcinoma ($P < 0.05$), in moderately differentiated adenocarcinoma than in lowly differentiated adenocarcinoma ($P < 0.05$), and in adenocarcinoma than in mucous adenoma ($P < 0.05$).

CONCLUSION: hARD1 expression was high in colorectal carcinoma, and differential expression of hARD1 was detected among colorectal carcinoma, adenoma and normal colorectal tissue. hARD1 expression was related to tumor differentiation in colorectal adenocarcinoma.

Key Words: Colorectal carcinoma; Human arrest defective 1; Immunohistochemistry; Differentiation

Bai S, Shao JF, Wang WQ, Zhong XB, Zhao XY. Correlation between hARD1 expression and tumor differentiation in human colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1585-1590

摘要

目的: 检测人大肠腺癌标本中hARD1的表达及其与肿瘤分化的相关性.

方法: 收集昆明医学院第一附属医院手术切除的大肠癌患者大肠腺癌组织、癌旁组织及大肠正常切缘组织标本100例, 排除术前化疗的2例, 共98例, 其中高分化腺癌30例, 中分化腺癌27例, 低分化腺癌31例, 黏液腺癌10例. 细胞免疫化学法检测hARD1在大肠腺癌组织、大肠腺瘤和正常大肠组织中的表达. 应用图像分析技术检测hARD1在不同大肠癌组织中的表达差异.

结果: hARD1在人大肠腺癌组织中高表达(78.57%), 大肠腺瘤组织中低表达(33.33%), 正常大肠组织几乎不表达(0%). hARD1在人

■背景资料

大肠癌近年来发病率上升, 其发病机制被认为是多因素、多因子和多阶段共同参与. 目前研究发现hARD1能在细胞生长的过程包括细胞凋亡、增殖、分化、代谢等方面发挥作用, 故与肿瘤的发生、发展密切相关. hARD1与乳腺癌、肝癌、肺癌和甲状腺癌有密切的关系, 其与大肠癌关系的研究较少. 所以研究hARD1与大肠癌的多种因素的关系显得更加重要.

■同行评议者

刘丽江, 教授, 江汉大学医学院病理学与病理生理学教研室

■研究前沿

2008年,任婷婷等研究发现,ARD1在大肠腺癌组织和肠炎组织表达有差异,而且越来越多的研究证实hARD1与beta-catenin、cyclin D1等多种因子有密切关系,但是与大肠癌临床因素的研究一直还未开展。

高分化腺癌中的表达明显高于中、低分化腺癌($P<0.05$),中分化腺癌中的表达又高于低分化腺癌($P<0.05$),且在黏液腺癌中表达更低($P<0.05$)。

结论: hARD1在大肠癌组织、大肠腺瘤和正常大肠组织表达有差异。hARD1在不同分化的大肠癌组织中表达也有差异。其中在高分化腺癌中表达最高。

关键词: 大肠腺瘤; hARD1; 细胞免疫化学; 分化

白松,邵佳发,王继琦,钟孝斌,赵翔宇. hARD1在人大肠腺瘤中的表达及与肿瘤分化的相关性. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1585-1590
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1585.asp>

0 引言

近年来,大肠腺癌的发病率不断升高,而对于其早期诊断依然缺少有效方法。目前普遍认为大肠腺癌是多因素作用、多基因参与、多阶段发展的疾病。近年来分子生物学的长足进展,使得大肠腺癌治疗的研究方向朝着更新更微观发展,对其各种分子机制、细胞周期调控、凋亡分化诱导的研究越来越深入。hARD1基因定位于染色体Xq28区域,全长5 019 bp,含有7个外显子,编码235个氨基酸的蛋白质,其相对分子量约26 500 Da^[1]。hARD1广泛表达于人体多种组织,hARD1基因表达的蛋白与N乙酰化转移酶NATH结合形成具有乙酰转移酶活性的复合物,发挥蛋白质N- α -氨基乙酰化功能,目前研究发现hARD1能在细胞生长的过程包括细胞凋亡、增殖、分化、代谢等方面发挥作用,故与肿瘤的发生,发展密切相关。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2009-04/2010-04昆明医学院第一附属医院手术切除的100例大肠腺癌患者癌组织、癌旁组织及大肠正常切缘组织标本,排除术前化疗的2例,共98例,平均年龄63.5岁,其中男61例,女37例,高分化腺癌30例,中分化腺癌27例,低分化腺癌31例,黏液腺癌10例。癌旁组织为距癌组织1 cm的组织,正常切缘组织为距癌组织10 cm以上组织。同时收取肠镜切除大肠腺瘤21例及正常大肠组织15例(经痔疮手术,切除的多余的废弃的大肠组织,经医院伦理委员会同意使用)。所有标本均符合2000年WHO大肠癌诊断分类标准。所有新鲜组织取材后迅速分装于冻存管中放于液氮罐低温保存备用。

1.2 方法 免疫组织化学法检测hARD1在98例大肠腺癌、21例大肠腺瘤、15例正常大肠组织中的表达。石蜡包埋组织标本,以3-4 μ m的厚度作连续切片,利用辣根酶标记的链霉亲和素(SP)染色法进行免疫组织化学染色,PBS代替一抗作阴性对照,用CEA代替一抗做标准阳性对照。实验过程中以鼠抗人ARD1单克隆抗体作为一抗,结果判定:采用半定量积分法,应用计算机图像分析技术对免疫组织化学结果进行定量。

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件包进行数据统计。其中计数资料采用秩和检验,计量资料采用单因素方差分析,hARD1与临床病理因素采用多因素回归分析,并做参照单位分析图。

2 结果

2.1 hARD1在大肠腺癌组织中阳性表达 用PBS代替一抗做阴性对照,未见阳性染色(图1);用CEA代替一抗做阳性对照,见癌组织实质细胞呈棕黄色颗粒染色(图2);hARD1主要表达于癌组织区实质细胞质(亦可见胞核),呈现棕黄色颗粒染色,与CEA阳性染色相近(图3)。

2.2 hARD1在大肠腺癌、大肠腺瘤及正常大肠组织中的表达差异 hARD1蛋白在大肠腺癌组织中阳性77例,阳性率为78.57%,而大肠腺瘤阳性率为33.33%,正常大肠组织阳性率为0%(图4)。大肠腺癌组织中hARD1表达与腺瘤组织相比,存在显著性差异($P<0.01$),大肠腺癌组织中hARD1表达与正常组织相比,存在显著性差异($P<0.01$)。应用计算机图像分析软件对各组中hARD1表达强度的分析,大肠腺癌组织中的hARD1表达强度为 42.74 ± 20.62 ,大肠腺瘤为 26.91 ± 14.72 ,正常大肠组织为 9.72 ± 4.9 (表1)。大肠腺癌组织与大肠腺瘤的表达强度相比,有显著性差异($P<0.01$),与正常大肠组织的表达强度相比有显著性差异($P<0.01$)。

2.3 大肠腺癌组织中hARD1的表达与分化程度的关系 在高分化大肠腺癌组织中hARD1阳性表达率为96.66%,中分化大肠腺癌组织中hARD1阳性表达率为81.48%,低分化腺癌中hARD1阳性表达率为74.19%,黏液腺癌中hARD1阳性表达率为30%(图5, 6),经秩和检验两两比较差异均具显著性,各组组间比较存在显著性差异($P<0.01$)。在大肠腺癌组织中hARD1的表达率依次为,高分化腺癌>中分化腺癌>低分化腺癌>黏液腺癌(表2, 图5, 6)。

表 1 各组织中hARD1表达的阳性率和表达强度(PU)的比较

分组	n	hARD1表达					PU
		-	+	++	+++	阳性(%)	
大肠腺癌组织	98	21	22	40	15	78.57	42.74 ± 20.62 ^a
大肠腺瘤组织	21	14	6	1	0	33.33	26.91 ± 14.72 ^c
正常大肠组织	15	15	0	0	0	0.00	9.72 ± 4.9

^a $P < 0.05$ vs 大肠腺瘤组织和正常大肠组; ^c $P < 0.05$ vs 正常大肠组。

表 2 各组织中hARD1表达的阳性率和表达强度(PU)的比较

分组	n	hARD1表达					PU
		-	+	++	+++	阳性(%)	
高分化腺癌	30	1	3	14	12	96.66	63.25 ± 12.36 ^a
中分化腺癌	27	5	2	18	2	81.48	47.40 ± 7.48 ^c
低分化腺癌	31	8	14	8	1	74.19	30.94 ± 9.82 ^e
黏液腺癌	10	7	3	0	0	30.00	5.18 ± 9.63

^a $P < 0.05$ vs 中低分化腺癌及黏液腺癌; ^c $P < 0.05$ vs 低分化腺癌及黏液腺癌; ^e $P < 0.05$ vs 黏液腺癌。

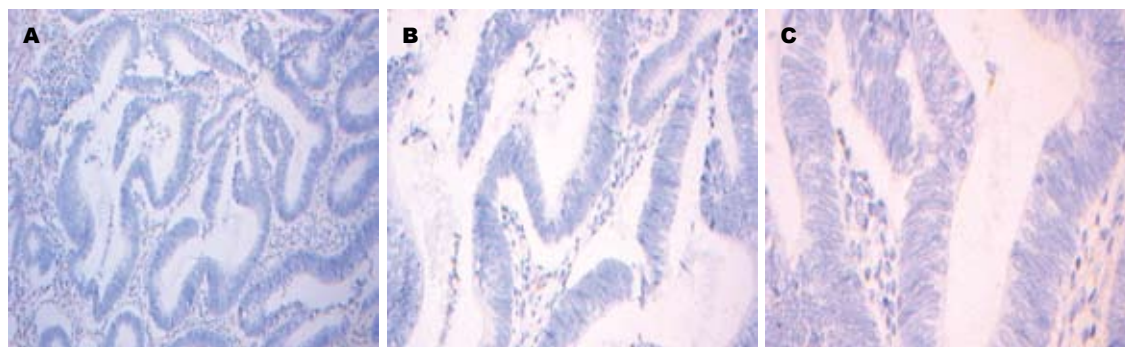


图 1 PBS代替一抗所作阴性对照. A: ×100; B: ×200; C: ×400.

在大肠腺癌组织中, 高分化腺癌阳性表达强度(PU)为 63.25 ± 12.36 , 中分化腺癌阳性表达强度为 47.4 ± 7.48 , 低分化腺癌阳性表达强度为 30.94 ± 9.82 , 黏液腺癌阳性表达强度为 5.18 ± 9.63 . 经过统计分析, 各组之间存在显著性差异($P < 0.05$). 大肠腺癌组织阳性表达强度依次为, 高分化腺癌>中分化腺癌>低分化腺癌>黏液腺癌(表2, 图5, 6).

2.3 hARD1表达的相关临床因素分析 以hARD1为自变量, 性别、年龄、浸润程度、转移与否为因变量, 进行多因素方差分析, 肿瘤部位与hARD1相关($P = 0.000$), 与其余的临床指标无相关性. 但对肿瘤部位(升结肠、横结肠、乙状结肠、直肠)进行LSD多重比较未发现统计学差异.

3 讨论

蛋白的乙酰化和去乙酰化是调节细胞凋亡、细胞循环和肿瘤生成翻译后重要的修饰. 乙酰化普遍发生于真核生物的各种蛋白质, 是一种重要的蛋白质翻译后修饰, 或伴随着蛋白质的翻译过程发生, 在各种不同的真核生物蛋白质中大约85%存在乙酰化修饰, 对蛋白质的稳定性和活性产生重大影响^[2]. 蛋白质乙酰化由一套范围很广的乙酰基转移酶催化, 将乙酰基从乙酰CoA转移至N-末端的 α -氨基酸或赖氨酸残基的 ϵ -氨基的不同位置.

本研究首次发现hARD1表达水平在由低到高的表达顺序为正常大肠组织-腺瘤-腺癌. 这说明hARD1的表达水平, 与临床上肿瘤发生发展有一定的相关性. 腺瘤作为正常组织向癌发展

■相关报道

目前对hARD1的研究显示其与细胞凋亡和增殖有关, Arnesen等提出了hARD1可能是治疗癌症的新靶点. 但是临床研究较少, 对于肺癌、乳腺癌和甲状腺癌的研究发现, hARD1在不同肿瘤中发挥不同的作用, 而其对于大肠腺癌的研究也只有任婷婷等报道的大肠腺癌组织与肠炎组织的表达差异.

■创新盘点

本研究首次发现hARD1表达水平由大肠组织-腺瘤到腺癌依次升高,这说明hARD1的表达水平,与临床上肿瘤发生发展有一定的相关性,提示hARD1随着细胞的变异而表达增强。

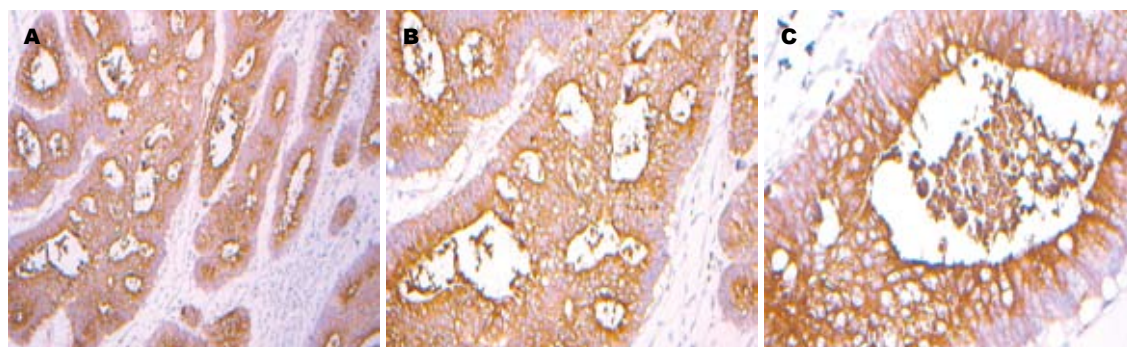


图 2 CEA阳性对照. A: $\times 100$; B: $\times 200$; C: $\times 400$.

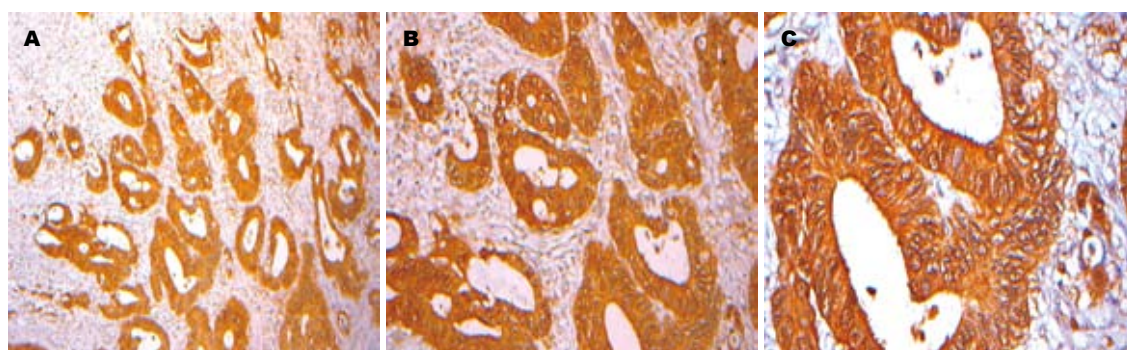


图 3 hARD1在大肠癌组织中阳性表达. A: $\times 100$; B: $\times 200$; C: $\times 400$.

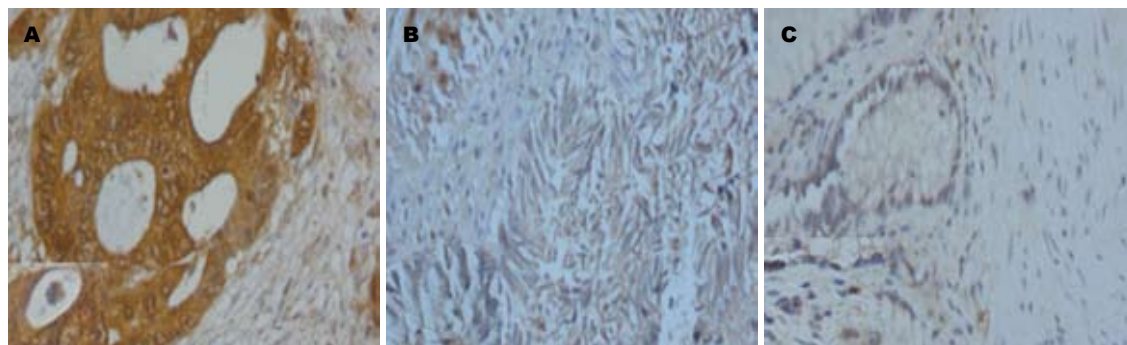


图 4 hARD1在正常组织、腺瘤组织、癌组织中的表达($\times 200$). A: 癌组织中hARD1高表达; B: 腺瘤中低表达; C: 正常大肠组织中hARD1不表达。

过程中的一个环节,其hARD1表达水平介于正常组织和癌组织之间.可能提示hARD1随着细胞的变异而表达增强,进一步说明hARD1与大肠腺癌的发展存在密切的关系。

本实验还首次证实了hARD1与大肠腺癌分化有关,并且进一步证实了hARD1与大肠腺癌分化的具体关系:在大肠腺癌中,hARD1表达水平在高、中、低分化、黏液腺癌中表达存在差异,在高分化中表达最高,由低到高顺序为黏液腺癌-低分化腺癌-中分化腺癌-高分化腺癌.癌组织的分化程度是表示肿瘤细胞异型性程度的

一个指标,也是一个判定肿瘤恶性程度的标准.在大肠腺癌的类型中,黏液腺癌为一个特殊类型,临床上恶性程度较高.免疫组织化学的结果显示黏液腺癌的hARD1表达最低.在癌组织中,由高分化-中分化到低分化,肿瘤的恶性程度不断增加,hARD1的表达也越来越少,提示hARD1可能随着肿瘤恶性程度的增加而表达降低。

在正常大肠组织-腺瘤-癌组织中hARD1表达渐增,对比分化上恶性程度越高hARD1表达渐减少,我们发现在腺瘤中hARD1表达的水平较低,而进入癌发生阶段后,随着分化程度的不同,

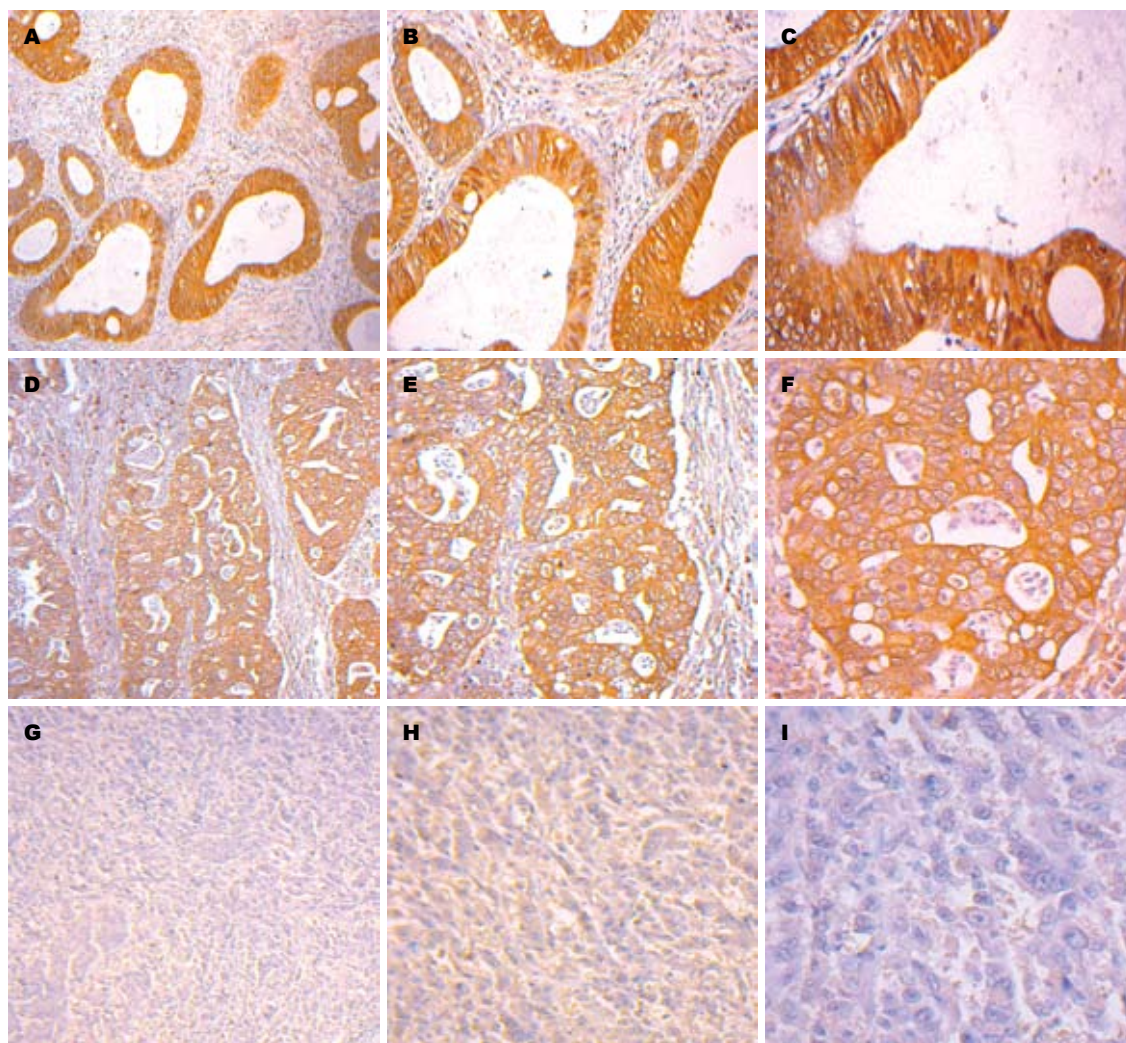


图 5 hARD1在大肠腺癌中的表达强度. A-C: hARD1在高分化腺癌组织高表达; D-F: hARD1在中分化腺癌组织中表达($\times 100$); G-I: hARD1在低分化腺癌组织中低表达. A, D, G: $\times 100$; B, E, H: $\times 200$; C, F, I: $\times 400$.

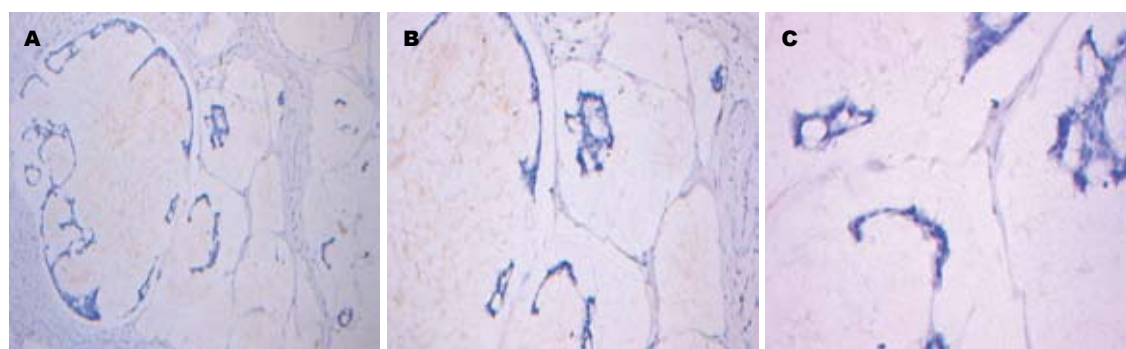


图 6 hARD1在黏液腺癌中低表达. A: $\times 100$; B: $\times 200$; C: $\times 400$.

■应用要点

本文应用免疫组化化学法检测hARD1在大肠癌组织、大肠腺癌和正常大肠组织中的表达,发现:hARD1在人大肠腺癌组织中高表达,在大肠腺癌中低表达,在正常大肠组织不表达;hARD1在不同分化的大肠腺癌组织中均表达并有差异.提示:hARD1与大肠腺癌的发展存在密切的关系,为大肠腺癌基因研究提供了新的方向,为进一步研究hARD1与大肠腺癌的关系奠定了

hARD1表达存在明显的上升,其具体机制尚待今后进一步研究,我们猜测,在大肠腺癌发生过程中,hARD1可能是一条新的细胞蛋白修饰途径的关键因子,不同于正常细胞中的蛋白修饰,可能是一种较为独立的途径.目前发现和大肠腺癌分化相关的因子有PKCa(protein kinase a)、

cyclinD1、CDK4^[3-6]、上皮型钙黏蛋白(E cadherin)^[7]、层粘连蛋白(LN)^[8,9],前三者与低分化有密切关系,组织分化减低伴随E cadherin表达下调和LN的缺失.目前蛋白组学研究证实大肠腺癌的低分化和高分化组织间,蛋白质表达存在差异^[10,11],与本实验相联系,提示可以通过蛋

■同行评价

本研究选题尚可,对临床医师有一定的参考价值.

白组学的方法,进一步研究hARD1与大肠腺癌分化更深层次的关系.

本研究对98例大肠腺癌hARD1表达与临床及病理多个因素进行了多因素统计学分析,结果显示hARD1的表达与性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤浸润深度、转移无统计学意义,提示hARD1的表达可能与性别、年龄、肿瘤部位、浸润深度、转移无关.

总之,在大肠腺癌中hARD1的表达水平,不仅与组织的类型有关,还与组织分化类型有关.由此可见,hARD1与癌发展过程中的组织变化,范围变化和分化改变有着密切的关系.从这三方面可以说明,hARD1在大肠腺癌发展的过程中,与癌组织的发生发展有着极为密切的联系.具体渐变过程见上.本实验证实了hARD1与大肠腺癌几个临床因素之间的关系,Arnesen提出了hARD1可能作为肿瘤治疗的新靶点的设想^[1].在大肠腺癌的研究中,我们发现,hARD1与大肠腺癌密切的关系,并且有一定的规律.这为了进一步研究大肠腺癌中hARD1的作用,打下了坚实的基础.hARD1与大肠腺癌分化程度存在联系,而其是否在癌组织发展过程中促使组织分化成熟过程依然未知.

4 参考文献

- 1 Arnesen T, Anderson D, Baldersheim C, Lanotte M, Varhaug JE, Lillehaug JR. Identification and characterization of the human ARD1-NATH protein acetyltransferase complex. *Biochem J* 2005; 386: 433-443
- 2 Meinnel T, Peynot P, Giglione C. Processed N-termini of mature proteins in higher eukaryotes and their major contribution to dynamic proteomics. *Biochimie* 2005; 87: 701-712
- 3 Whittaker SR, Walton MI, Garrett MD, Workman P. The Cyclin-dependent kinase inhibitor CYC202 (Roscovitine) inhibits retinoblastoma protein phosphorylation, causes loss of Cyclin D1, and activates the mitogen-activated protein kinase pathway. *Cancer Res* 2004; 64: 262-272
- 4 Lahn M, Paterson BM, Sundell K, Ma D. The role of protein kinase C- α (PKC- α) in malignancies of the gastrointestinal tract. *Eur J Cancer* 2004; 40: 10-20
- 5 Yan KX, Liu BC, Shi XL, You BR, Xu M. Role of cyclinD1 and CDK4 in the carcinogenesis induced by silica. *Biomed Environ Sci* 2005; 18: 286-296
- 6 Reddy HK, Mettus RV, Rane SG, Graña X, Litvin J, Reddy EP. Cyclin-dependent kinase 4 expression is essential for neu-induced breast tumorigenesis. *Cancer Res* 2005; 65: 10174-10178
- 7 Herbst TJ, McCarthy JB, Tsilibary EC, Furcht LT. Differential effects of laminin, intact type IV collagen, and specific domains of type IV collagen on endothelial cell adhesion and migration. *J Cell Biol* 1988; 106: 1365-1373
- 8 Offerhaus GJ, Giardiello FM, Bruijn JA, Stijnen T, Molyvas EN, Fleuren GJ. The value of immunohistochemistry for collagen IV expression in colorectal carcinomas. *Cancer* 1991; 67: 99-105
- 9 Stierum R, Gaspari M, Dommels Y, Ouatas T, Pluk H, Jespersen S, Vogels J, Verhoeckx K, Groten J, van Ommen B. Proteome analysis reveals novel proteins associated with proliferation and differentiation of the colorectal cancer cell line Caco-2. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1650: 73-91
- 10 Stulík J, Osterreicher J, Koupilová K, Knízek A, Bures J, Jandík P, Langr F, Dedic K, Jungblut PR. The analysis of S100A9 and S100A8 expression in matched sets of macroscopically normal colon mucosa and colorectal carcinoma: the S100A9 and S100A8 positive cells underlie and invade tumor mass. *Electrophoresis* 1999; 20: 1047-1054
- 11 Arnesen T, Thompson PR, Varhaug JE, Lillehaug JR. The protein acetyltransferase ARD1: a novel cancer drug target? *Curr Cancer Drug Targets* 2008; 8: 545-553

编辑 李军亮 电编 李薇

乙型肝炎肝硬化的抗病毒治疗

朱传武, 王海燕, 方 焕

■背景资料

抗病毒治疗可阻止或减少乙型肝炎肝硬化的发生, 但对于已经形成肝硬化的患者如何控制病变进一步发展是肝病治疗领域的重要课题。研究表明, 干扰素和核苷(酸)类似物用于乙型肝炎肝硬化的抗病毒治疗同样是有有效的, 患者可获得显著的临床疗效。

朱传武, 王海燕, 方焕, 苏州市第五人民医院肝病科 江苏省苏州市 215007

朱传武, 教授, 医学博士, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事慢性乙型肝炎的临床与免疫学研究。

作者贡献分布: 本文由朱传武选题和审校, 王海燕与方焕参与文献检索和论文写作。

通讯作者: 朱传武, 医学博士, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 215007, 江苏省苏州市南门外西二路2号, 苏州市第五人民医院肝病科。zhuchw@126.com

电话: 0512-65180193

收稿日期: 2011-01-17 修回日期: 2011-05-07

接受日期: 2011-05-24 在线出版日期: 2011-05-28

Antiviral therapy in patients with hepatitis B virus-related cirrhosis

Chuan-Wu Zhu, Hai-Yan Wang, Huan Fang

Chuan-Wu Zhu, Hai-Yan Wang, Huan Fang, Department of Hepatology, the Fifth People's Hospital of Suzhou, Suzhou 215007, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Professor Chuan-Wu Zhu, Department of Hepatology, the Fifth People's Hospital of Suzhou, 2 Xier Road, Suzhou 215007, Jiangsu Province, China. zhuchw@126.com

Received: 2011-01-17 Revised: 2011-05-07

Accepted: 2011-05-24 Published online: 2011-05-28

Abstract

Antiviral therapy can lead to biochemical remission, histological improvement, and even complete reversibility of liver cirrhosis in patients with hepatitis B virus-related cirrhosis, thereby significantly reducing the incidence of hepatic decompensation, hepatocellular carcinoma and liver disease-related death. Interferon alpha is not contraindicated in compensated cirrhosis and can be used in finite treatment for 6 or 12 months. Long-term treatment with nucleoside/nucleotide analogues is recommended for both compensated and decompensated cirrhosis. Biochemical and virological changes should be carefully monitored during antiviral treatment to promptly find viral breakthrough and prevent hepatitis B recurrence and liver failure. In addition, hepatocellular carcinoma is required to be screened in all cirrhotic patients.

Key Words: Liver cirrhosis; Hepatitis B virus; Antiviral therapy

Zhu CW, Wang HY, Fang H. Antiviral therapy in patients with hepatitis B virus-related cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1592-1597

摘要

乙型肝炎肝硬化患者接受抗病毒治疗可以获得生化学缓解和组织学改善, 部分患者甚至获得了肝硬化的完全逆转, 显著降低了肝脏失代偿、肝癌以及肝病相关死亡的发生。干扰素可用于代偿期肝硬化有限疗程的抗病毒治疗, 核苷(酸)类似物可用于代偿期和失代偿期肝硬化的长期抗病毒治疗。治疗期间需密切监测生化学和病毒学变化, 及早发现病毒学突破, 阻止肝炎复发和肝衰竭发生, 同时要加强对原发性肝癌的监测。

关键词: 肝硬化; 乙型肝炎病毒; 抗病毒治疗

朱传武, 王海燕, 方焕. 乙型肝炎肝硬化的抗病毒治疗. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1592-1597

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1592.asp>

0 引言

乙型肝炎肝硬化是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)持续感染和肝脏炎症长期发作的结果, 预后较差, 代偿期肝硬化5年生存率为80%-86%, 而失代偿期肝硬化仅为14%-35%^[1-4]. 在肝硬化基础上, 原发性肝癌的年发病率为2%-3.7%, 5年累积发病率为10%-17%^[2,4]. 慢性乙型肝炎抗病毒治疗的目标是控制肝脏病变进展, 减少肝衰竭、肝硬化及原发性肝癌的发生。在干扰素和核苷(酸)类似物相继被批准用于慢性乙型肝炎抗病毒治疗以来, 大量的循证医学证据表明, 长期抑制或清除HBV可有效控制疾病的进展, 因此, 实现慢性乙型肝炎的治疗目标不仅是可能的而且是现实的。对于已经发展为乙型肝炎肝硬化或晚期肝纤维化患者, 研究证实抗病毒治疗也是非常重要的, 病毒的持续抑制可以减轻肝脏炎症和组织学损害, 减少并发症产生, 终末期肝病和肝癌的发病率显著下降^[5]. 本文就乙型肝炎肝硬化的抗病毒治疗作一综述。

■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学第二医院感染科

1 乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗的必要性

既往认为, 乙型肝炎肝硬化一旦形成则不可逆转, 治疗主要采用支持、对症、预防和控制并发症等方法, 如条件许可, 肝脏移植是治疗晚期肝病的最佳方案, 但器官来源不足, 医疗费用昂贵极大地限制了移植技术带来的成效。在多因素回归分析中, 发现HBV是乙型肝炎肝硬化患者死亡的独立危险因素, HBeAg阳性的代偿期肝硬化患者发生e抗原血清转换后, 5年生存率为97%, 而HBeAg持续阳性者仅为72%^[6]。干扰素抗病毒治疗显著改善了晚期肝纤维化患者的疾病进展^[7]。特别是核苷(酸)类似物上市以来, 越来越多的证据显示, 乙型肝炎肝硬化采用抗病毒治疗可显著改善肝脏纤维化, 发生肝脏失代偿或肝癌的风险显著降低^[8-10]。因此, 乙型肝炎肝硬化不可逆转的论断正在被颠覆, 国内外的慢性乙型肝炎防治指南均特别强调需对乙型肝炎肝硬化患者实施抗病毒治疗^[11-14]。对于代偿期肝硬化抗病毒治疗的适应证, 不同的指南在建议上略有差异, 主要涉及到血清HBeAg的状态, HBV DNA的水平, 以及ALT有无异常等; 但对于失代偿期肝硬化, 各个指南在抗病毒治疗的建议上均是一致的, 只要能够检测出HBV DNA, 无论其水平高低, 以及ALT是否正常均需治疗。

2 乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗的药物

目前, 已经获准用于慢性乙型肝炎抗病毒治疗的药物有普通干扰素、聚乙二醇化干扰素(PEG-IFN)、拉米夫定、阿德福韦酯、恩替卡韦、替比夫定和替诺福韦, 其中替诺福韦尚未在我国上市。在乙型肝炎肝硬化的抗病毒治疗中, 这些药物均已被采用, 并取得了较好的临床疗效。

2.1 干扰素 干扰素是正向免疫调节剂, 通过上调宿主免疫功能发挥抗病毒效应, 并有直接抑制病毒复制的作用。同时, 干扰素还具有内在的抗纤维化活性和直接抑制肝星状细胞激活的作用^[15]。在肝硬化动物模型中, 干扰素可以降低胶原基因的转录并逆转肝硬化^[16,17]。目前, 关于干扰素治疗乙型肝炎肝硬化国际上的治疗指南尚存在不同的观点, 有推荐应用的也有主张避免应用的^[12-14]。一项早期的研究发现, 干扰素治疗18例失代偿期肝硬化患者, 6例获得持续HBV DNA阴转和HBeAg消失, 并伴随ALT复常和肝病缓解, 但5例出现严重细菌感染, 9例出现病情恶化^[18]。另一项低剂量干扰素治疗48 wk的失代

偿期肝硬化患者, 66%获得了病毒的持续抑制和HBeAg消失, 但细菌感染、肝炎发作和食管静脉曲张破裂出血等也较常见^[19]。因此, 对于失代偿期肝硬化, 由于肝脏储备功能差, 应用干扰素后激活的免疫功能在清除病毒的同时, 可能会导致大量肝细胞的破坏而直接引起肝衰竭, 故干扰素已被列为治疗失代偿期肝硬化的禁忌证。在代偿期肝硬化患者中, 发现干扰素抗病毒疗效甚至优于无肝硬化患者^[1]。Fattovich等^[20]研究了40例干扰素治疗的HBeAg阳性肝硬化患者, 随访7年后, 67%的患者出现了e抗原消失, 并与ALT复常、HBsAg消失和肝病相关死亡的减少密切相关。干扰素也显著降低了肝硬化患者肝癌发生的风险^[21]。1例接受干扰素治疗的患者, 5年后肝硬化完全消失^[22]。Buster等^[23]进一步研究了干扰素治疗晚期肝纤维化的疗效和安全性, 70例Ishak纤维化积分为4-6分的代偿期患者为研究组, 以169例无晚期肝纤维化患者作为对照, PEG-IFN α -2b的剂量为100 μ g, 每周1次, 疗程52 wk, 在停药24 wk后晚期肝纤维化组发生e抗原血清转换、病毒载量低于 10^7 copies/L及肝脏纤维化的改善均显著优于无纤维化组; 24例肝硬化患者病毒学应答率也显著优于无肝硬化组。严重不良反应的发生率两组间无差别, 但乏力、食欲不振和血小板减少症在晚期肝纤维化组更常见。研究结果提示, 干扰素治疗代偿期肝硬化是有效而安全的。

2.2 拉米夫定 拉米夫定是第一个获准使用的口服核苷类抗乙型肝炎病毒药物, 具有良好的安全性, 因此, 拉米夫定较早用于乙型肝炎肝硬化的抗病毒治疗。无论是代偿期或是失代偿期肝硬化, 无论HBeAg是阳性或是阴性, 较多的研究表明, 拉米夫定100 mg每天1次能够有效抑制乙型肝炎病毒的复制, 显著提高了患者的生存率, 降低了肝移植的需求。Villeneuve等^[24]报道了35例肝硬化患者接受拉米夫定治疗, 大多数患者肝功能获得缓慢而持续的改善, 治疗9 mo以后改善最为明显。多数患者在连续治疗6 mo后即获得了显著的生化指标和Child-Pugh评分的改善, 其中2例等候肝移植的患者因为临床病情稳定而退出移植候选名单。一组23例Child-Pugh评分为10分以上的患者, 在接受拉米夫定治疗后, 14例Child-Pugh评分下降超过3分, 而对照组中无1例能够获得这样的临床应答^[25]。对于接受拉米夫定2-3年较长疗程治疗的患者, 肝活检证实部分患者肝硬化完全缓解^[26,27]。Liaw等^[5]进行

■ 研发前沿

目前用于慢性乙肝抗病毒治疗的两大类药物均可用于乙型肝炎肝硬化的抗病毒治疗, 但如何选择合理的抗病毒疗法, 临床医师需考虑患者、病毒、药物、甚至经济的因素, 以使患者获得安全而有效的治疗。

■相关报道

中国、亚太、美国、欧洲慢性乙型肝炎防治指南均强调了乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗的重要性,并对治疗措施提出了一些具体的建议,但各个指南在推荐的治疗方法上还存在一些差别,这主要是由于目前肝硬化的抗病毒临床资料尚有限,并且各国在可获得的药物、治疗经费等方面也略有不同。

的一项拉米夫定国际多中心、随机双盲、安慰剂对照研究,旨在探讨拉米夫定治疗对肝硬化或晚期肝纤维化患者出现肝性脑病、肝癌、自发性细菌性腹膜炎、食管静脉曲张破裂出血及肝病相关死亡等病情进展的影响。结果表明,平均治疗32.4 mo,拉米夫定治疗组7.8%的患者出现病情进展,3.4%的患者Child-Pugh评分增加,3.9%的患者发生肝癌,而安慰剂对照组则分别为17.7%、8.8%和7.4%,两组间存在显著的统计学差异。49%的拉米夫定治疗患者出现了YMDD基因型耐药,发生耐药变异后易于导致Child-Pugh评分的增加。拉米夫定治疗组和安慰剂对照组在不良事件发生率上没有差异。结果提示,拉米夫定治疗肝硬化或晚期肝纤维化疗效确切而安全,显著延缓了疾病的进展。另一项前瞻性研究比较了拉米夫定治疗慢性乙型肝炎和肝硬化4年的疗效和耐药率,发现拉米夫定对各治疗组HBV DNA的抑制和ALT的降低具有同等疗效,各组血清白蛋白和血小板计数均上升,其中白蛋白增加的幅度以失代偿期肝硬化最为显著,代偿期肝硬化次之,慢性乙型肝炎最低;大多数失代偿期肝硬化患者腹水、肝性脑病和黄疸改善;4年的累积病毒学突破率为53%,失代偿期肝硬化患者发生病毒学突破后更易出现肝脏衰竭^[28]。在拉米夫定治疗对肝硬化门静脉高压影响的研究中,发现19例HBeAg阴性的肝硬化患者在拉米夫定治疗12 mo时,除1例以外,18例患者肝静脉压力梯度(HVPG)均显著下降;13例HVPG基线值为12 mmHg以上的患者中有10例HVPG下降超过20%或低于12 mmHg的阈值,出现病毒学突破的患者HVPG增加^[29]。由于拉米夫定耐药变异率较高,出现病毒学突破后即使采用挽救性治疗,也会发生较高的肝脏失代偿^[30]。因此,拉米夫定的低耐药基因屏障使其在肝硬化抗病毒治疗中的疗效受限。

2.3 阿德福韦酯 HBeAg阳性或阴性慢性乙型肝炎患者口服阿德福韦酯10 mg,每日1次,疗程1年,HBV DNA的PCR不可检测率分别为21%和51%^[6,31],病毒抑制率低于其他的核苷(酸)类似物^[14],因此,阿德福韦酯较少单药用于乙型肝炎肝硬化的抗病毒治疗。Kim等^[32]报道了18例失代偿期肝硬化患者接受阿德福韦酯单药治疗24 wk,HBV DNA的不可检测率为83%,ALT复常率为78%,Child-Pugh、MELD评分分别下降3分、5分。1组32例失代偿期肝硬化患者接受阿德福韦酯治疗48 wk,肝功能的恢复、HBV DNA和

HBeAg的阴转率随治疗时间的延长而增加,血清肝纤维化指标比治疗前显著下降,未发现药物相关的肾脏损害^[33]。在Hadziyannis等^[34]的一项阿德福韦酯5年临床研究中,发现治疗前12例具有桥型纤维化或肝硬化患者,7例Ishak纤维化评分至少改善2分以上,4例肝硬化患者中有3例评分改善达到4分,显示阿德福韦酯的长期治疗可以逆转肝纤维化。当发生阿德福韦酯临床耐药以后,Ishak纤维化评分会恶化^[34]。Schiff等^[35]报道了阿德福韦酯治疗226例拉米夫定耐药等待肝移植的患者,经过阿德福韦酯治疗后,病毒复制被显著抑制,部分患者出现HBeAg消失和e抗原血清转换;大多数患者肝功能指标包括白蛋白、总胆红素和凝血酶原时间恢复正常;MELD评分改善。治疗48 wk时,91%的患者Child-Pugh评分减少1分以上,使患者能够存活到有机会接受肝脏移植,也有患者因为临床改善而退出移植候选名单。阿德福韦酯因为具有潜在的肾脏毒性,因此,在治疗中必须密切监测肾功能。Lee等^[36]报道了1例肝硬化患者接受阿德福韦酯治疗1.5年后,出现严重低磷血症,表现为全身骨痛,碱性磷酸酶升高,骨密度降低等症状,在纠正低磷后症状缓解。

2.4 恩替卡韦 因为能够快速抑制HBV复制,且耐药基因屏障较高,因此,2009年欧洲肝病治疗指南推荐恩替卡韦作为乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗的一线药物,但其安全性资料尚不足^[14]。恩替卡韦治疗晚期肝纤维化或肝硬化,1年后Ishak评分改善的患者接近60%,但用于治疗拉米夫定耐药的患者的改善率为43%^[37]。Pozzi等^[38]报道1例肝硬化患者因干扰素疗效不佳接受恩替卡韦治疗,治疗前HBV DNA载量为 4×10^9 IU/L, HVPG为29 mmHg。恩替卡韦治疗3 mo以后,HBV DNA阴转,9 mo以后, HVPG下降到24 mmHg,提示恩替卡韦持续抑制病毒复制可以使门静脉压力下降。一组70例失代偿期肝硬化患者应用恩替卡韦0.5 mg,每日1次,治疗12 mo时HBV DNA阴转率为92.3%,HBeAg消失率为54%,Child-Pugh和MELD评分均改善,66%的患者Child-Pugh评分为A级,49%的患者获得Child-Pugh 2分以上的改善,1年累积非移植存活率为87.1%^[9]。在另一研究中,104例肝硬化患者接受恩替卡韦初始抗病毒治疗,96 wk时98.1%的患者HBV DNA低于检测下限,ALT复常率为80.7%,在HBeAg阳性患者中,e抗原血清转换率为13.9%;HBV基因型与恩替卡韦疗效无关^[39]。结果同样表明,恩替卡韦治

疗乙型肝炎肝硬化具有确切的疗效。

2.5 替比夫定 三期临床研究证实替比夫定具有良好的抗病毒和改善肝纤维化作用^[40]。对治疗前具有桥型纤维化或肝硬化(Ishak评为4-6分)患者, 在治疗后Ishak评分降为0-3分的患者中, HBeAg阳性患者占68%, 阴性患者占56%; 而基线Ishak评分为0-3分的患者, 治疗1年后仅1%的患者进展到3分以上^[40]。Gane等^[41]进行了一项国际多中心、随机、双盲、对照研究, 比较了替比夫定和拉米夫定治疗失代偿期肝硬化2年的结果, 发现替比夫定治疗组ALT复常率为58%, HBV DNA不可检测率为47%, 病毒学突破率为29%, 拉米夫定治疗组分别为50%, 36%和39%; 24 wk和2年生生存率替比夫定组分别为96%和83%, 拉米夫定组分别为91%和75%; 替比夫定组病死率为16%, 拉米夫定组为22%; 替比夫定组严重不良事件发生率为55%, 拉米夫定组为61%, 两组均无横纹肌溶解或乳酸酸中毒发生。结果提示, 替比夫定治疗失代偿期肝硬化在安全性上与拉米夫定相似, 在疗效上似乎优于拉米夫定, 这也是迄今为止国际上治疗乙型肝炎肝硬化一项设计良好的头对头研究。

2.6 替诺福韦 替诺福韦具有强力的抗病毒活性、良好的安全性和很低的耐药性, 因此, 替诺福韦也被美国和欧洲肝病指南推荐作为乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗的一线药物^[13,14]。由于替诺福韦获得批准用于慢性乙型肝炎抗病毒治疗的时间不长, 所以, 目前在乙型肝炎肝硬化治疗中其临床报道则更少。Ratziu等^[42]报道1例肝硬化患者用拉米夫定抗病毒治疗, 出现YMDD变异后改为阿德福韦酯治疗, 2年后又出现rtN236T和rtA181T变异, 导致病毒学突破, 肝炎再发, 肝脏失代偿, 服用替诺福韦后获得了持续的病毒抑制, 逆转了肝功能衰竭。另1例病理证实为乙型肝炎肝硬化混合HIV感染的患者接受替诺福韦治疗后, 发生了肝硬化的逆转, 血小板计数、血清纤维化指标、腹部超声和胃肠内镜检查均恢复正常^[43]。Matthews等^[44]用替诺福韦治疗了7例HBV/HIV混合感染的肝硬化患者, 基线时HBV DNA均值为 6.23×10^7 copies/mL, 此前患者均接受过拉米夫定治疗, 在替诺福韦治疗28 mo以后, 患者所有实验室指标均改善, 其中白蛋白和凝血酶原时间显著改善; 3例Child-Pugh B或C级患者变为A级, 其中1例退出了肝移植候选名单; 4例HBeAg阳性患者中, 3例HBeAg阴转, 其中2例发生e抗原血清转换; 平均HBV DNA水平低于35

copies/mL, 提示在此类患者的抗病毒治疗中, 替诺福韦具有改善肝功能, 逆转肝纤维化的作用。

3 乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗的疗程

代偿期肝硬化患者接受干扰素治疗时, 2005年更新的亚太肝病共识建议其疗程可以参考慢性乙型肝炎的方案, 即HBeAg阳性患者治疗4-6 mo, HBeAg阴性患者治疗12 mo^[45]。对于接受核苷(酸)类似物治疗的代偿期肝硬化患者, 应该考虑长期治疗, 如果是HBeAg阳性患者发生了e抗原血清转换, 那么再巩固治疗6 mo后可以停药, 而对HBeAg阴性患者需在HBsAg阴转后才能停药, 但停药后均需密切监测病毒学复发和肝炎再发。对于失代偿期肝硬化患者则不能停药, 需要接受长期的核苷(酸)类似物抗病毒治疗^[13]。

4 结论

乙型肝炎肝硬化在HBV复制的情况下, 更易出现病情进展, 导致肝脏失代偿、肝癌及肝病相关死亡的增加, 抗病毒治疗有利于控制肝病进展, 减少终末期肝病产生, 甚至完全逆转肝脏纤维化。干扰素不能治疗失代偿期肝硬化, 但代偿期肝硬化可用干扰素治疗, 最好从小剂量开始, 根据患者的耐受情况逐步增加到预定的治疗剂量, 并在治疗中密切监测疗效及安全性。核苷(酸)类似物因其具有良好的安全性而成为目前乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗的主要药物, 由于各个药物之间在抗病毒活性和耐药基因屏障方面存在差别, 因此, 最好选择抗病毒活性强, 耐药基因屏障高的药物作为一线治疗药物。但因各地医保政策的差异及患者经济承受能力的不同, 在选择耐药性较低的药物时最好加上另一个无交叉耐药的核苷(酸)类似物联合治疗。无论是代偿期或失代偿期肝硬化, 在接受核苷(酸)类似物治疗期间均需加强与患者沟通, 保持良好的依从性, 密切监测病毒学突破, 以便适时加以处置, 防止肝脏失代偿。同时, 所有接受抗病毒治疗的患者需定期检测甲胎蛋白, 以及做肝脏影像学检查。

5 参考文献

- 1 Chu CM, Liaw YF. Hepatitis B virus-related cirrhosis: natural history and treatment. *Semin Liver Dis* 2006; 26: 142-152
- 2 Fattovich G, Bortolotti F, Donato F. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. *J Hepatol* 2008; 48: 335-352
- 3 Fattovich G, Olivari N, Pasino M, D'Onofrio M,

■创新盘点

本文重点综述了乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗的进展, 较为系统地介绍了目前抗病毒药物在肝硬化治疗中的疗效与安全性, 为临床医师对肝硬化患者进行合理的抗病毒治疗提供一定的参考。

■同行评价

本文文献复习较全面, 对于当前乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗具有较好参考价值。

- Martone E, Donato F. Long-term outcome of chronic hepatitis B in Caucasian patients: mortality after 25 years. *Gut* 2008; 57: 84-90
- 4 Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology* 2004; 127: S35-S50
- 5 Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, Farrell G, Lee CZ, Yuen H, Tanwandee T, Tao QM, Shue K, Keene ON, Dixon JS, Gray DF, Sabbat J. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 2004; 351: 1521-1531
- 6 Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, Marcellin P, Lim SG, Goodman Z, Wulfsohn MS, Xiong S, Fry J, Brosgart CL. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003; 348: 800-807
- 7 Poynard T, Massard J, Rudler M, Varaud A, Lebray P, Moussalli J, Munteanu M, Ngo Y, Thabut D, Benhamou Y, Ratzu V. Impact of interferon-alpha treatment on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B: an overview of published trials. *Gastroenterol Clin Biol* 2009; 33: 916-922
- 8 Lim CY, Kowdley KV. Optimal duration of therapy in HBV-related cirrhosis. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 2-6
- 9 Shim JH, Lee HC, Kim KM, Lim YS, Chung YH, Lee YS, Suh DJ. Efficacy of entecavir in treatment-naïve patients with hepatitis B virus-related decompensated cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 52: 176-182
- 10 杨清, 龚作炯, 胡丹凤. 阿德福韦酯治疗乙型肝炎肝硬化失代偿期患者96周的临床观察. *中华肝脏病杂志* 2009; 17: 515-519
- 11 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. *中华肝脏病杂志* 2005; 13: 881-891
- 12 Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatol Int* 2008; 2: 263-283
- 13 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007; 45: 507-539
- 14 EASL Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2009; 50: 227-242
- 15 Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 209-218
- 16 Inagaki Y, Nemoto T, Kushida M, Sheng Y, Higashi K, Ikeda K, Kawada N, Shirasaki F, Takehara K, Sugiyama K, Fujii M, Yamauchi H, Nakao A, de Crombrughe B, Watanabe T, Okazaki I. Interferon alfa down-regulates collagen gene transcription and suppresses experimental hepatic fibrosis in mice. *Hepatology* 2003; 38: 890-899
- 17 Mathew TC, Abdeen S, Dashti H, Mathew E, Al-Bader A. Effect of alpha-interferon and alpha-tocopherol in reversing hepatic cirrhosis in rats. *Anat Histol Embryol* 2007; 36: 88-93
- 18 Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM, Waggoner JG, Park Y. Interferon alfa for patients with clinically apparent cirrhosis due to chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1993; 104: 1116-1121
- 19 Marcellin P, Giuily N, Lioriot MA, Durand F, Samuel D, Bettan L, Degott C, Bernuau J, Benhamou JP, Erlinger S. Prolonged interferon-alpha therapy of hepatitis B virus-related decompensated cirrhosis. *J Viral Hepat* 1997; 4 Suppl 1: 21-26
- 20 Fattovich G, Giustina G, Realdi G, Corrocher R, Schalm SW. Long-term outcome of hepatitis B e antigen-positive patients with compensated cirrhosis treated with interferon alfa. European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Hepatology* 1997; 26: 1338-1342
- 21 Lin SM, Yu ML, Lee CM, Chien RN, Sheen IS, Chu CM, Liaw YF. Interferon therapy in HBeAg positive chronic hepatitis reduces progression to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2007; 46: 45-52
- 22 Malekzadeh R, Mohamadnejad M, Rakhshani N, Nasser-Moghaddam S, Merat S, Tavangar SM, Sohrabpour AA. Reversibility of cirrhosis in chronic hepatitis B. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 344-347
- 23 Buster EH, Hansen BE, Buti M, Delwaide J, Niederau C, Michielsen PP, Flisiak R, Zondervan PE, Schalm SW, Janssen HL. Peginterferon alpha-2b is safe and effective in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with advanced fibrosis. *Hepatology* 2007; 46: 388-394
- 24 Villeneuve JP, Condreay LD, Willems B, Pomier-Layrargues G, Fenyves D, Bilodeau M, Leduc R, Peltekian K, Wong F, Margulies M, Heathcote EJ. Lamivudine treatment for decompensated cirrhosis resulting from chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000; 31: 207-210
- 25 Yao FY, Terrault NA, Freise C, Maslow L, Bass NM. Lamivudine treatment is beneficial in patients with severely decompensated cirrhosis and actively replicating hepatitis B infection awaiting liver transplantation: a comparative study using a matched, untreated cohort. *Hepatology* 2001; 34: 411-416
- 26 Rizzetto M, Tassopoulos NC, Goldin RD, Esteban R, Santantonio T, Heathcote EJ, Lagget M, Taak NK, Woessner MA, Gardner SD. Extended lamivudine treatment in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2005; 42: 173-179
- 27 Dienstag JL, Goldin RD, Heathcote EJ, Hann HW, Woessner M, Stephenson SL, Gardner S, Gray DF, Schiff ER. Histological outcome during long-term lamivudine therapy. *Gastroenterology* 2003; 124: 105-117
- 28 Nishida T, Kobashi H, Fujioka S, Fujio K, Takaguchi K, Ikeda H, Kawaguchi M, Ando M, Araki Y, Higashi T, Shoji B, Takaki A, Iwasaki Y, Sakaguchi K, Shiratori Y, Yamamoto K. A prospective and comparative cohort study on efficacy and drug resistance during long-term lamivudine treatment for various stages of chronic hepatitis B and cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 794-803
- 29 Manolakopoulos S, Triantos C, Theodoropoulos J, Vlachogiannakos J, Kougiumtzan A, Papatheodoridis G, Tzourmakliotis D, Karamanolis D, Burroughs AK, Archimandritis A, Raptis S, Avgerinos A. Antiviral therapy reduces portal pressure in patients with cirrhosis due to HBeAg-negative chronic hepatitis B and significant portal hypertension. *J Hepatol* 2009; 51: 468-474
- 30 Joo MK, Yeon JE, Kim JH, Jung YK, Lee SJ, Kim JH, Yim HJ, Byun KS, Park JJ, Kim JS, Bak YT. Chronic cirrhotic hepatitis B patients with a high incidence of hepatic decompensation after viral breakthrough with lamivudine-resistant mutants and during rescue treatment. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 1514-1521
- 31 Marcellin P, Chang TT, Lim SG, Tong MJ, Sievert W, Shiffman ML, Jeffers L, Goodman Z, Wulfsohn MS, Xiong S, Fry J, Brosgart CL. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive

- 32 chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003; 348: 808-816
- 32 Kim KM, Choi WB, Lim YS, Lee HC, Chung YH, Lee YS, Suh DJ. Adefovir dipivoxil alone or in combination with ongoing lamivudine in patients with decompensated liver disease and lamivudine-resistant hepatitis B virus. *J Korean Med Sci* 2005; 20: 821-828
- 33 杨清, 龚作炯, 胡丹凤. 阿德福韦酯和拉米夫定治疗乙型肝炎肝硬化失代偿期的临床观察. *中华肝脏病杂志* 2007; 15: 821-824
- 34 Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, Marcellin P, Lim SG, Goodman Z, Ma J, Brosgart CL, Borroto-Esoda K, Arterburn S, Chuck SL. Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B for up to 5 years. *Gastroenterology* 2006; 131: 1743-1751
- 35 Schiff E, Lai CL, Hadziyannis S, Neuhaus P, Terrault N, Colombo M, Tillmann H, Samuel D, Zeuzem S, Villeneuve JP, Arterburn S, Borroto-Esoda K, Brosgart C, Chuck S. Adefovir dipivoxil for wait-listed and post-liver transplantation patients with lamivudine-resistant hepatitis B: final long-term results. *Liver Transpl* 2007; 13: 349-360
- 36 Lee HJ, Choi JW, Kim TN, Eun JR. [A case of severe hypophosphatemia related to adefovir dipivoxil treatment in a patient with liver cirrhosis related to hepatitis B virus]. *Korean J Hepatol* 2008; 14: 381-386
- 37 Schiff E, Simsek H, Lee WM, Chao YC, Sette H, Janssen HL, Han SH, Goodman Z, Yang J, Brett-Smith H, Tamez R. Efficacy and safety of entecavir in patients with chronic hepatitis B and advanced hepatic fibrosis or cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2776-2783
- 38 Pozzi M, Pizzala DP, Maldini FF, Doretto A, Ratti L. Portal pressure reduction after entecavir treatment in compensated HBV cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2009; 56: 231-235
- 39 徐严, 王江滨, 徐杰, 焦健, 张永贵, 季尚玮, 赵平, 郭宏华, 李岩, 周长玉. 恩替卡韦治疗104例乙型肝炎肝硬化患者96周的疗效观察. *中华肝脏病杂志* 2010; 18: 109-112
- 40 Lai CL, Gane E, Liaw YF, Hsu CW, Thongsawat S, Wang Y, Chen Y, Heathcote EJ, Rasenack J, Bzowej N, Naoumov NV, Di Bisceglie AM, Zeuzem S, Moon YM, Goodman Z, Chao G, Constance BF, Brown NA. Telbivudine versus lamivudine in patients with chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2007; 357: 2576-2588
- 41 Gane EJ, Gane E, Chan HL, Choudhuri G, Suh DJ, Chutaputti A, Safadi R, Tanwandee T, Thonsawat S, Assy N, Sarin SK, Bao W, Trylesinski A, Avila C. Treatment of decompensated HBV-cirrhosis: results from 2-year randomized trial with telbivudine or lamivudine, Chan HL, Choudhuri G, Suh DJ, Chutaputti A, Safadi R, Tanwandee T, Thonsawat S, Assy N, Sarin SK, Bao W, Trylesinski A, Avila C. Treatment of decompensated HBV-cirrhosis: results from 2-year randomized trial with telbivudine or lamivudine. *J Hepatol* 2010; 52 (suppl No 1): S4
- 42 Ratzu V, Thibault V, Benhamou Y, Poynard T. Successful rescue therapy with tenofovir in a patient with hepatic decompensation and adefovir resistant HBV mutant. *Comp Hepatol* 2006; 5: 1
- 43 Mallet VO, Dhalluin-Venier V, Verkarre V, Correas JM, Chaix ML, Viard JP, Pol S. Reversibility of cirrhosis in HIV/HBV coinfection. *Antivir Ther* 2007; 12: 279-283
- 44 Matthews GV, Cooper DA, Dore GJ. Improvements in parameters of end-stage liver disease in patients with HIV/HBV-related cirrhosis treated with tenofovir. *Antivir Ther* 2007; 12: 119-122
- 45 Liaw YF, Leung N, Guan R, Lau GK, Merican I, McCaughan G, Gane E, Kao JH, Omata M. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2005 update. *Liver Int* 2005; 25: 472-489

编辑 李军亮 电编 李薇

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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)

HBV相关性肝衰竭的抗病毒治疗

汪茂荣, 李平

■背景资料

肝衰竭(LF)发病凶险、进展迅速,若不进行必要的干预,生存率很低。在我国,引起LF的病因主要是乙型肝炎病毒(HBV),占80%以上。既往关于HBV相关性LF的治疗,主要强调对症和支持治疗,鲜有抗病毒对因治疗的循证医学证据。

汪茂荣, 李平, 中国人民解放军第八一医院全军肝病中心 江苏省南京市 210002

汪茂荣, 主任医师, 教授, 主要从事病毒性肝炎、重症肝病的基础与临床研究。

作者贡献分布: 本文由汪茂荣、李平共同完成, 汪茂荣审校。

通讯作者: 汪茂荣, 教授, 210002, 江苏省南京市杨公井34标34号, 中国人民解放军第八一医院全军肝病中心。

maorongwang@gmail.com

电话: 025-80864021

收稿日期: 2011-01-17 修回日期: 2011-05-17

接受日期: 2011-05-24 在线出版日期: 2011-05-28

Value of antiviral therapy in patients with hepatitis B virus-related liver failure

Mao-Rong Wang, Ping Li

Mao-Rong Wang, Ping Li, Center for Liver Diseases, the 81st Hospital of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Professor Mao-Rong Wang, Center for Liver Diseases, the 81st Hospital of Chinese PLA, No.34, Biao 34, Yanggongjing Road, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China. maorongwang@gmail.com

Received: 2011-01-17 Revised: 2011-05-17

Accepted: 2011-05-24 Published online: 2011-05-28

Abstract

Hepatitis B virus (HBV)-induced liver failure is a severe disease that is difficult to treat and has a high mortality. Oral nucleos/tide analogues (NAs) are a useful therapy for HBV-related liver failure. Numerous studies have shown that oral NAs can efficiently improve liver function, prolong survival duration and delay or obviate the need for liver transplantation in some patients. Antiviral treatment may play an important role in the management of patients with HBV-related liver failure. This article will focus on currently used antiviral agents for the treatment of HBV-related liver failure.

Key Words: Hepatitis B virus; Liver failure; Antiviral treatment; Nucleos/tide analogues

Wang MR, Li P. Value of antiviral therapy in patients with hepatitis B virus-related liver failure. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1598-1603

摘要

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关性

肝衰竭(liver failure, LF)是临床常见的严重肝病症候群,其治疗难度大、病死率高、预后差。核苷(酸)类似物(nucleos/tide analogues, NAs)抗病毒在慢性乙型肝炎中的显著疗效,使其在HBV相关性LF患者中的应用价值越来越受到重视。2000年以来,有学者将NAs用于LF的治疗,通过抗病毒,可有效抑制HBV DNA的复制,改善LF患者的肝功能,延长生存期,延缓或减少肝移植的需求。因此NAs抗病毒治疗对于HBV相关性LF可能具有重要的临床意义。本文重点对NAs在HBV相关性LF患者中抗病毒治疗的研究进行综述。

关键词: 乙型肝炎病毒; 肝衰竭; 抗病毒治疗; 核苷类药物

汪茂荣, 李平. HBV相关性肝衰竭的抗病毒治疗. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1598-1603

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1598.asp>

0 引言

肝衰竭(Liver failure, LF)发病凶险、进展迅速,若不进行必要的干预,生存率很低。在我国,引起LF的病因主要是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV),占80%以上。既往关于HBV相关性LF的治疗,主要强调对症和支持治疗,鲜有抗病毒对因治疗的循证医学证据。2006年我国制定了《肝衰竭诊疗指南》,其中对HBV DNA阳性的LF患者,推荐尽早酌情使用核苷(酸)类似物(nucleos/tide analogues, NAs)治疗。然而,当时循证医学依据主要来源于专家、权威的经验和建议。随着新NAs上市品种的增加和治疗范围的拓宽,越来越多的研究证据表明, NAs抗病毒在HBV相关性LF治疗中有着重要作用。

1 LF定义和分类^[1]

LF是多种因素引起严重肝脏损害,导致其合成、解毒、排泄和生物转化等功能发生严重障碍或失代偿,出现以凝血机制障碍和黄疸、肝性脑病、腹水等为主要表现的一组临床症候群。根据病理组织学特征和病情发展速度, LF可分为急性、亚急性、慢加急性(亚急性)和慢性四

■同行评议者

张占卿, 主任医师, 上海市公共卫生中心

类. 急性LF的特征是起病急, 发病2 wk内出现以Ⅱ度以上肝性脑病为特征的LF症候群; 亚急性LF起病较急, 发病15 d-26 wk内出现LF症候群; 慢加急性(亚急性) LF是在慢性肝病基础上出现的急性肝功能失代偿; 慢性LF是在肝硬化基础上, 肝功能进行性减退, 导致以腹水或门静脉高压、凝血功能障碍和肝性脑病等为主要表现的慢性肝功能失代偿. 国外LF主要由药物或酒精性肝损害引起, 多表现为急性或亚急性, 而我国主要是HBV感染, 大部分LF则表现为慢加急性或慢性LF.

2 HBV相关性LF抗病毒治疗

目前临床上常用的NAs主要有拉米夫定、阿德福韦、替比夫定、恩替卡韦和替诺福韦等. 这些抗病毒药物机理相同, 均通过作用于HBV逆转录酶, 抑制HBV的复制, 从而减轻肝脏免疫损伤, 有利于肝脏功能恢复. 但由于NAs抑制病毒需要一个时效过程, 故文献关于NAs治疗急性和亚急性LF疗效的报道较少, 大部分文献报道慢性和慢加急性LF患者疗效. 本文亦重点总结这5种NAs在这两类LF患者中的治疗效果.

2.1 拉米夫定 拉米夫定作为第一个获批的口服抗HBV药物, 其问世大大推动了慢性乙型肝炎治疗的进程. 国内外已有多项研究^[2-11]对其在LF患者中的应用进行了报道. 多数研究认为拉米夫定能抑制LF患者的HBV DNA水平, 改善Child-Turcotte-Pugh(CTP) 评分, 提高疾病的好转率、改善临床症状, 并且证实拉米夫定治疗LF是安全的.

在慢性LF患者中, 最早一项研究显示^[2]: 18例患者接受150 mg/d拉米夫定治疗, 在治疗8 wk后所有患者HBV DNA均转阴, 治疗至6 mo时有3例患者出现HBeAg血清学转换. 和治疗前比较, 这些患者的转氨酶水平和CTP评分明显改善, 且自发性腹膜炎、肝性脑病等并发症也是较治疗前明显减少. 研究者认为, 拉米夫定抗病毒治疗能促使e抗原转换, 并能明显改善肝脏的临床和生化功能. 一项随机双盲对照研究显示^[3]: 46例CTP \geq 10分的慢性LF患者随机分两组, 接受拉米夫定治疗的23例患者CTP评分由11下降为8分, 其中有14例(60.9%)CTP改善 \geq 3分; 而未接受拉米夫定治疗对照组CTP平均由11分上升为12分, 两组比较有明显差异($P = 0.016$). 在相同基础病情条件下, 拉米夫定治疗组只有34.8%最终接受了原位肝移植(OLT), 平均等待时间

为3.5(1-32) mo; 而对照组有73.9%接受了肝移植, 平均等待时间为3(1-14) mo. 拉米夫定治疗组的存活期和等待肝移植时间显著优于对照组($P < 0.001$). 因此, 对于慢性LF患者来说, 拉米夫定治疗可以稳定或者改善肝脏的功能, 可以减少或者延迟肝移植手术治疗的需要^[4,5], 还可以预防手术后HBV的再感染.

在急性LF患者中, 拉米夫定同样有效. Schmilovitz-Weiss等^[6]报道15例急性LF患者接受拉米夫定100 mg/d治疗后, 13例(86.6%)患者出现病情改善. 他们在3 d内肝性脑病减轻、1 wk内凝血功能好转, 4 wk内HBV DNA转阴, 8 wk内转氨酶正常. Tillmann等^[7]观察17例急性LF患者接受拉米夫定100 mg/d或150 mg/d治疗, 同时设20例未接受拉米夫定治疗者为对照组. 结果显示治疗组患者均未出现LF相关并发症, 其中14例(82.4%)病情好转, 而对照组只有4例(20%)好转, 两组有明显差异($P < 0.001$). 日本学者^[8]回顾性分析33例B基因型的急性LF患者, 拉米夫定治疗组死亡率为30%, 而对照组死亡率为74%, 两组亦具有明显差异($P = 0.029$).

但是尚有少部分学者认为拉米夫定治疗效果欠佳. Fontana等^[12]对等待肝移植的LF患者进行研究, 对162例服用拉米夫定和147例未服用拉米夫定的患者进行比较, 发现拉米夫定并没有显著改善患者的症状和提高生存率, 只是推迟了需要肝移植的时间. Chan等^[13]对慢性乙型肝炎急性发作时使用拉米夫定预防LF发生进行了研究, 通过对治疗组28例和对照组18例的观察表明, 治疗组6例(21.4%)和对照组5例(27.8%)分别发生了LF($P = 0.62$), 这部分患者最终死亡或进行了肝移植. 因此作者认为, 拉米夫定对于慢性乙型肝炎急性发作的患者并不能有效预防LF的发生.

拉米夫定治疗LF有效, 但存有潜在的风险, 即长期用药后出现的病毒耐药. 报道显示拉米夫定治疗慢性乙型肝炎的第1年变异率为15%-30%, 5年变异率更高达70%^[14,15]. 尽管较治疗前患者血清中HBV DNA载量下降、肝功能好转, 但是由于病毒的变异, 体内变异病毒大量复制, 将导致肝脏炎症^[16]. 而病毒变异后出现的肝脏炎症往往更为严重, 对于LF患者来说, 更需要小心和谨慎^[17]. 同样肝移植术后的患者如果出现拉米夫定耐药, 由于病毒大量复制, 将大大增加移植后病毒复制的危险^[18,19]. 因此, 所有接受拉米夫定治疗的LF患者需要密切监测体内HBV

■**研发前沿**
在LF患者中如何长期稳定的使用抗病毒药物, 则是目前所面临的亟待解决的问题.

■应用要点

在具体的实际工作中,应根据抗病毒药物的种类和特点,患者的病情状况、经济能力、依从性等进行全面评估后,选择合适的LF抗病毒治疗药物。

DNA的水平,在出现病毒载量上升时,应及时调整治疗。

2.2 阿德福韦酯 国内外将阿德福韦酯作为LF患者初始治疗的研究较少,2003年Schiff等^[20]报道了128例慢性LF患者在出现拉米夫定耐药(LAM-R)后接受阿德福韦酯治疗的研究。这些患者在接受阿德福韦酯治疗的同时,大部分继续了拉米夫定的治疗。尽管患者体内优势株病毒是LAM-R病毒,但阿德福韦酯治疗仍表现出较好的疗效。治疗24 wk时,92%的患者CTP评分得到稳定或者改善;48 wk时,HBV DNA平均下降了4.1log₁₀ copies/mL,其中81%患者的血清HBV DNA不可检测,血清ALT、白蛋白、胆红素及凝血酶原时间复常率分别为76%、81%、50%、83%;治疗48 wk未发现阿德福韦酯耐药变异。2007年Schiff等^[21]增加了患者数量,再次报道LAM-R的慢性LF患者接受阿德福韦酯治疗的效果。226例患者在治疗48 wk时,HBV DNA较基线平均下降了3.5log₁₀ copies/mL。治疗48 wk和96 wk后,分别有59%和65%的患者血清HBV DNA转阴。48 wk后ALT、白蛋白、胆红素、PT的好转率分别为77%、76%、60%、84%。他们认为,阿德福韦酯治疗LAM-R突变的慢性LF患者可获得显著病毒学、生化学和临床参数的改善。国内亦有1篇文献^[22]报道在慢性LF患者拉米夫定耐药变异后联合阿德福韦酯治疗的效果。联合治疗24 wk后,患者ALT、AST、胆红素、白蛋白、PTa水平较联合治疗前明显改善,ALT、AST、胆红素复常率分别为57.1%、42.8%、50.0%;HBV DNA<10⁵ copies/L、HBeAg转阴、抗-HBe出现的比例分别为50.0%、28.4%和7.1%;腹水全部消退,且对肾功能无明显影响,治疗期间亦未观察到阿德福韦酯相关变异。他们同样认为阿德福韦酯联合拉米夫定治疗LMV-R的慢性LF患者的疗效肯定、安全性好。

阿德福韦酯治疗LF也存在一些不足,Thabut等^[23]报道了1例慢性LF患者服用拉米夫定出现YMDD变异后换用阿德福韦酯,虽然控制了HBV DNA的复制,但是并没有成功挽救患者的生命。他们认为在LF患者抗病毒治疗过程中,只要出现HBV DNA突破,就应立即给予其他抗病毒药物,而不应该等待到转氨酶异常后再换用其他抗病毒药。阿德福韦酯的耐药变异较低,且即使阿德福韦酯出现耐药变异后,加用拉米夫定也是有效的^[24]。但是在拉米夫定优先耐药的情况下,附加的拉米夫定治疗究竟能维持多久

仍是不确定的。阿德福韦酯治疗还存在一个问题便是潜在的肾毒性。由于LF患者的肝脏功能恶化、腹水、感染、利尿剂的使用等因素影响,阿德福韦酯治疗的LF患者中,肾毒性的发生率高达28%/年^[25]。这使得阿德福韦酯作为LF患者的初始治疗受到一定程度的限制。

2.3 替比夫定 国外尚未见关于替比夫定治疗LF的报道。国内张弘等^[26]将40例慢性LF患者随机分为替比夫定治疗组和护肝降酶一般治疗对照组,每组各20例。治疗4 wk时,治疗组与对照组ALT复常率和HBV DNA转阴率分别为20.5%和5.0%;12 wk时,两组ALT复常率和HBV DNA转阴率分别为60.0%和15.0%;24 wk时,两组ALT复常率和HBV DNA转阴率分别为100.0%和10.0%;治疗组与对照组HBeAg转阴例数分别为9例和1例。治疗12 wk时治疗组与对照组CPT评分分别下降至(6.5±0.9)分和(7.84±0.9)分;24 wk时分别下降至(5.24±0.9)分和(7.14±0.9)分,具有显著差异($P<0.05$)。2组治疗24 wk时,均未发现明显的不良反应。这些结果初步提示替比夫定治疗LF的有效性。梁静等^[27]报道了替比夫定治疗肝硬化患者的研究,40例患者接受替比夫定治疗,另40例患者接受拉米夫定治疗作为对照,在替比夫定治疗48 wk时,ALT、AST明显下降,白蛋白、胆红素、PTa及CTP评分等指标均有所改善;92.5% (37/40)的患者HBV DNA转阴,35.0% (7/20)的患者出现了HBeAg血清学转换,明显高于拉米夫定治疗组($P<0.05$),同时治疗48 wk时替比夫定组YMDD变异率仅为5.0%。他们认为替比夫定能快速有效抑制乙型肝炎肝硬化患者的病毒复制,使HBV DNA水平下降,同时可以改善肝功能,且耐药率较低。

2.4 恩替卡韦 恩替卡韦能够快速抑制病毒,包括LAM-R病毒^[28],对HBV相关LF也同样有效。Shim等^[29]利用恩替卡韦作为慢性LF患者初治的抗病毒药物,55例患者接受了12 mo的恩替卡韦治疗后,49%的患者CTP评分改善≥2分,92.3%的患者HBV DNA转阴,54%的患者出现HBeAg消失。结果提示恩替卡韦能明显改善慢性LF患者的病情。国内肖光明等^[30]对78例慢性LF病例进行对照研究,根据肝功能、PTa及HBV DNA变化情况,他们发现在慢性LF早期治疗组中,恩替卡韦治疗有效率明显高于对照组($P=0.0275$),而在中、晚期治疗组中无明显差异($P=0.4687$)。由此他们认为:恩替卡韦在慢性LF早期应用可以提高疗效,但对中期和晚期的LF疗效可能没

有影响。

在慢加急性LF患者中, 舒欣等^[31]分析了59例HBeAg阴性患者短期使用恩替卡韦的疗效。与73例常规治疗者相比, 抗病毒组存活32例(54.2%), 常规治疗组存活26例(35.6%), 抗病毒治疗组存活率明显高于常规治疗组($P = 0.032$)。随后他们分别对早、中、晚期的慢加急性LF患者进行恩替卡韦抗病毒治疗研究^[32], 结果显示: 早期治疗组的存活率为63.3%(31/49), 明显高于对照组39.7%(23/58)($P = 0.015$); 中期治疗组的存活率为63.0%(17/27), 亦明显高于对照组35.1%(13/37)($P = 0.028$); 而在晚期患者中两组生存率差异无统计学意义。因此他们认为: 在HBV相关性LF患者中使用恩替卡韦抗病毒治疗能有效提高生存率, 在乙型肝炎慢加急性早期及中期LF患者中, 采用恩替卡韦抗病毒治疗能明显提高生存率。

恩替卡韦能够快速抑制HBV DNA, 改善LF患者的肝功能。但是关于恩替卡韦在LF患者中长期应用的疗效和安全, 尚有待进一步的研究和观察。Fontana^[33]撰文对常见几种抗病毒药物在晚期肝病患者中的疗效进行比较, 认为恩替卡韦最合适作为该类患者初治的一线用药。同时也指出, 对于晚期肝病长期用药的选择还需进一步的研究。

2.5 替诺福韦 替诺福韦目前已在海外上市, 前期研究已表明, 替诺福韦具有比恩替卡韦还强的抑制HBV DNA作用, 对LAM-R病毒依然敏感。最新Liaw等^[34]对112例慢性LF患者进行研究, 其中45例患者给予替诺福韦治疗, 45例患者给予恩曲他滨(FTC)/替诺福韦联合治疗, 22例给予恩替卡韦治疗。治疗48 wk, 在不良事件和肾脏损害方面, 替诺福韦和恩替卡韦表现出相近的结果($P > 0.05$); 3组(替诺福韦、FTC/替诺福韦、恩替卡韦)的HBV DNA阴转率分别为70.5%、87.8%和72.7%, 转氨酶复常率分别为57%、76%和55%, HBeAg消失率/血清转换率分别为21%/21%、27%/13%和0%/0%。由此认为替诺福韦在HBV相关慢性LF患者中应用是安全的, 并且能够有效的抑制病毒复制、改善患者肝功以及临床相关指标。

3 结论

HBV相关性LF的内科治疗目前尚缺乏特效药物和手段。针对病因进行抗病毒治疗, 通过抑制HBV DNA复制可以延缓疾病进展, 虽然不能改

变终末期肝病的最终结局, 但可改善肝功能、延长生存期、延缓或减少肝移植的需求。在LF患者中如何长期稳定的使用抗病毒药物, 则是目前所面临的亟待解决的问题。针对现有的抗病毒药物特点, 结合临床实践和经验, 我们认为: HBV相关LF患者只要HBV DNA阳性, 即应尽早进行抗病毒治疗。抗病毒治疗理想的终点是HBsAg的消失, 故对于多数患者来说是疗程是长期的甚至是终生的。抗病毒治疗虽然能降低肝细胞癌的发生率, 但在治疗过程中仍然需要定期进行血清学、生化学、AFP和影像学检查, 以免疏忽而耽误治疗。

在选用抗病毒药物时首先选用NAs, 因为干扰素可诱发肝细胞坏死和凋亡而可能加重LF, 在LF或晚期肝病中属禁忌, 而其他药物如膦甲酸钠、苦参素等尚无确切证据表面其对LF患者有效。而在选择NAs药物时, 应优先选用抗病毒能力强、耐药率低的药物。恩替卡韦抗病毒作用强、耐药基因屏障高, 若患者经济许可, 宜作为优先选用。替诺福韦作为一种新型NAs, 临床研究显示其具有良好的抗病毒作用, 但是目前其在LF患者中的疗效及安全性尚需进一步研究证实。若患者HBV DNA水平较低($\leq 10^4$ copies/mL), 且肾功能良好, 也可尝试阿德福韦酯治疗, 但需注意到阿德福韦酯在LF患者治疗中出现肾功能损害几率较高, 应密切监测肾功能的变化。拉米夫定是目前治疗HBV相关LF患者循证医学证据和安全性资料最为充分的药物, 但耐药是拉米夫定治疗所面临的主要问题, 而耐药后的疗效及治疗费用也应是要考虑的重要因素。替比夫定通常可以和阿德福韦酯联合使用, 是联合治疗方案的一种, 理论上可提高抗病毒治疗的效果并能减少耐药, 但其远期疗效及药物经济学价值有待进一步研究。总之, 在具体的实际工作中, 应根据抗病毒药物的种类和特点, 患者的病情状况、经济能力、依从性等进行全面评估后, 选择合适的LF抗病毒治疗药物。

4 参考文献

- 1 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 643-646
- 2 Kapoor D, Guptan RC, Wakil SM, Kazim SN, Kaul R, Agarwal SR, Raisuddin S, Hasnain SE, Sarin SK. Beneficial effects of lamivudine in hepatitis B virus-related decompensated cirrhosis. *J Hepatol* 2000; 33: 308-312
- 3 Yao FY, Terrault NA, Freise C, Maslow L, Bass NM. Lamivudine treatment is beneficial in patients with severely decompensated cirrhosis and actively rep-

■同行评价

本文选题较好, 文献引用合理, 有一定的可读性。

- licating hepatitis B infection awaiting liver transplantation: a comparative study using a matched, untreated cohort. *Hepatology* 2001; 34: 411-416
- 4 Perrillo RP, Wright T, Rakela J, Levy G, Schiff E, Gish R, Martin P, Dienstag J, Adams P, Dickson R, Anschuetz G, Bell S, Condeay L, Brown N. A multicenter United States-Canadian trial to assess lamivudine monotherapy before and after liver transplantation for chronic hepatitis B. *Hepatology* 2001; 33: 424-432
- 5 Andreone P, Biselli M, Gramenzi A, Cursaro C, Morelli MC, Sama C, Lorenzini S, Spinucci G, Porzio F, Felling F, Di Giammarino L, Bernardi M. Efficacy of lamivudine therapy for advanced liver disease in patients with precore mutant hepatitis B virus infection awaiting liver transplantation. *Transplantation* 2002; 74: 1119-1124
- 6 Schmilovitz-Weiss H, Ben-Ari Z, Sikuler E, Zuckerman E, Sbeit W, Ackerman Z, Safadi R, Lurie Y, Rosner G, Tur-Kaspa R, Reshef R. Lamivudine treatment for acute severe hepatitis B: a pilot study. *Liver Int* 2004; 24: 547-551
- 7 Tillmann HL, Hadem J, Leifeld L, Zachou K, Canbay A, Eisenbach C, Graziadei I, Encke J, Schmidt H, Vogel W, Schneider A, Spengler U, Gerken G, Dalekos GN, Wedemeyer H, Manns MP. Safety and efficacy of lamivudine in patients with severe acute or fulminant hepatitis B, a multicenter experience. *J Viral Hepat* 2006; 13: 256-263
- 8 Miyake Y, Iwasaki Y, Takaki A, Fujioka S, Takaguchi K, Ikeda H, Kobashi H, Sakaguchi K, Shiratori Y. Lamivudine treatment improves the prognosis of fulminant hepatitis B. *Intern Med* 2008; 47: 1293-1299
- 9 袁静, 周伯平, 胡毅文, 敖飞健, 杨桂林, 文彬, 刘智, 马为民. 拉米夫定治疗慢性重型乙型肝炎疗效观察. *中华传染病杂志* 2001; 19: 372-374
- 10 徐君, 张园海. 拉米夫定治疗慢性乙型肝炎近期疗效观察. *实用肝脏病杂志* 2004; 7: 214-216
- 11 张耀, 郑莎, 周吉军, 王宇明. 拉米夫定治疗乙型肝炎病毒相关性肝衰竭疗效的Meta分析. *第三军医大学学报* 2008; 30: 848-850
- 12 Fontana RJ, Keeffe EB, Carey W, Fried M, Reddy R, Kowdley KV, Soldevila-Pico C, McClure LA, Lok AS. Effect of lamivudine treatment on survival of 309 North American patients awaiting liver transplantation for chronic hepatitis B. *Liver Transpl* 2002; 8: 433-439
- 13 Chan HL, Tsang SW, Hui Y, Leung NW, Chan FK, Sung JJ. The role of lamivudine and predictors of mortality in severe flare-up of chronic hepatitis B with jaundice. *J Viral Hepat* 2002; 9: 424-428
- 14 Leung NW, Lai CL, Chang TT, Guan R, Lee CM, Ng KY, Lim SG, Wu PC, Dent JC, Edmundson S, Condeay LD, Chien RN. Extended lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B enhances hepatitis B e antigen seroconversion rates: results after 3 years of therapy. *Hepatology* 2001; 33: 1527-1532
- 15 Liaw YF, Leung NW, Chang TT, Guan R, Tai DI, Ng KY, Chien RN, Dent J, Roman L, Edmundson S, Lai CL. Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. *Gastroenterology* 2000; 119: 172-180
- 16 Ogata N, Fujii K, Takigawa S, Nomoto M, Ichida T, Asakura H. Novel patterns of amino acid mutations in the hepatitis B virus polymerase in association with resistance to lamivudine therapy in Japanese patients with chronic hepatitis B. *J Med Virol* 1999; 59: 270-276
- 17 de Man RA, Bartholomeusz AI, Niesters HG, Zondervan PE, Locarnini SA. The sequential occurrence of viral mutations in a liver transplant recipient re-infected with hepatitis B: hepatitis B immune globulin escape, famciclovir non-response, followed by lamivudine resistance resulting in graft loss. *J Hepatol* 1998; 29: 669-675
- 18 Rosenau J, Bahr MJ, Tillmann HL, Trautwein C, Klemmner J, Manns MP, Böker KHW. Lamivudine and low-dose hepatitis B immune globulin for prophylaxis of hepatitis B reinfection after liver transplantation possible role of mutations in the YMDD motif prior to transplantation as a risk factor for reinfection. *J Hepatol* 2001; 34: 895-902
- 19 Seehofer D, Rayes N, Steinmüller T, Müller AR, Settmacher U, Neuhaus R, Radke C, Berg T, Hopf U, Neuhaus P. Occurrence and clinical outcome of lamivudine-resistant hepatitis B infection after liver transplantation. *Liver Transpl* 2001; 7: 976-982
- 20 Schiff ER, Lai CL, Hadziyannis S, Neuhaus P, Terrault N, Colombo M, Tillmann HL, Samuel D, Zeuzem S, Lilly L, Rendina M, Villeneuve JP, Lama N, James C, Wulfssohn MS, Namini H, Westland C, Xiong S, Choy GS, Van Doren S, Fry J, Brosgart CL. Adefovir dipivoxil therapy for lamivudine-resistant hepatitis B in pre- and post-liver transplantation patients. *Hepatology* 2003; 38: 1419-1427
- 21 Schiff ER, Lai CL, Hadziyannis S, Neuhaus P, Terrault N, Colombo M, Tillmann H, Samuel D, Zeuzem S, Villeneuve JP, Arterburn S, Borroto-Esoda K, Brosgart C, Chuck S. Adefovir dipivoxil for wait-listed and post-liver transplantation patients with lamivudine-resistant hepatitis B: final long-term results. *Liver Transpl* 2007; 13: 349-360
- 22 王方, 张俊, 张小岗, 张静, 李德明. 阿德福韦酯联合拉米夫定治疗拉米夫定耐药失代偿期肝硬化患者14例. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1468-1470
- 23 Thabut D, Ratzu V, Bernard-Chabert B, Poynard T, Benhamou Y, Thibault V. Unsuccessful rescue therapy with adefovir dipivoxil for lamivudine resistant HBV in a patient with liver failure. *Gut* 2003; 52: 614
- 24 Angus P, Vaughan R, Xiong S, Yang H, Delaney W, Gibbs C, Brosgart C, Colledge D, Edwards R, Ayres A, Bartholomeusz A, Locarnini S. Resistance to adefovir dipivoxil therapy associated with the selection of a novel mutation in the HBV polymerase. *Gastroenterology* 2003; 125: 292-297
- 25 Fung SK, Lok AS. Management of patients with hepatitis B virus-induced cirrhosis. *J Hepatol* 2005; 42 Suppl: S54-S64
- 26 张弘, 宓余强, 徐亮. 替比夫定治疗失代偿期乙型肝炎肝硬化临床观察. *传染病信息* 2009; 22: 160-162
- 27 梁静, 韩涛, 肖时湘, 李岩, 阙志超, 刘磊. 替比夫定治疗乙型肝炎肝硬化的疗效观察. *中华肝病杂志* 2009; 17: 24-27
- 28 Yurdaydin C, Sollano J, Hadziyannis S, Kaymakoglu S, Sherman M, Brett-Smith H, Vaughan J, Hinds RG. Entecavir results in continued virologic and biochemical improvement and HBeAg seroconversion through 96 weeks of treatment in lamivudine refractory, HBeAg(+) chronic hepatitis B patients (ETV-026). *J Hepatol* 2006; 44: S36
- 29 Shim JH, Lee HC, Kim KM, Lim YS, Chung YH, Lee YS, Suh DJ. Efficacy of entecavir in treatment-naïve patients with hepatitis B virus-related decompen-

- sated cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 52: 176-182
- 30 肖光明, 何凯茵, 贾卫东, 雷春亮, 杨湛. 恩替卡韦治疗慢性重型乙型肝炎的病例对照研究. *中华实验和临床病毒学杂志* 2009; 23: 56-58
- 31 舒欣, 徐启桓, 陈旒, 张卡, 李刚. HBeAg阴性乙型肝炎ACLF患者的临床特征及抗病毒治疗短期疗效. *中华实验和临床病毒学杂志* 2008; 22: 481-483
- 32 舒欣, 徐启桓, 陈旒, 张卡, 李刚. 恩替卡韦在乙型肝炎慢加急性肝功能衰竭中的应用. *中华传染病杂志* 2009; 27: 281-286
- 33 Fontana RJ. Entecavir in decompensated HBV cirrhosis: the future is looking brighter. *J Hepatol* 2010; 52: 147-149
- 34 Liaw YF, Sheen IS, Lee CM, Akarca US, Papatheodoridis GV, Suet-Hing Wong F, Chang TT, Horban A, Wang C, Kwan P, Buti M, Prieto M, Berg T, Kitrinos K, Peschell K, Mondou E, Frederick D, Rousseau F, Schiff ER. Tenofovir disoproxil fumarate (TDF), emtricitabine/TDF, and entecavir in patients with decompensated chronic hepatitis B liver disease. *Hepatology* 2010 Sep 1. [Epub ahead of print]

编辑 李军亮 电编 李薇

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

招聘生物医学编辑部主任

本刊讯 百世登出版集团(Baishideng Publishing Group Co., Limited, BPG)已经为各位编辑部主任搭建好整体架构, 希望培养出对编辑与出版行业真正感兴趣甚至愿意将其作为终身事业的专业人才, 成为BPG的核心人物. 欢迎应届毕业生加盟BPG团队, 请将您的简历E-mail发至: j.l.li@wjgnet.com

■ 工作职责

- 1 贯彻执行员工手册、编辑手册、编委手册和作者手册.
- 2 根据作者指南及学科发展动向和读者的需求, 制订期刊的总体发展规划, 负责编辑、出版、发行和经营管理.
- 3 策划年度编委会成员的社论和专题亮点等栏目约稿, 并按照计划负责监督落实.
- 4 负责期刊同行评议和定稿会, 按期编排、加工, 发排稿件, 发排后参与校对或审核校样、核红、签字付印.
- 5 组织期刊印刷版或网络版出版后审读, 发现问题及时修改.

■ 职位要求

硕士及以上学历, 具有生物医学专业学科背景及丰富的写作和发表生物医学文章者优先录用.

■ 薪资待遇面议

■ 培训流程

第一步学习手册; 第二步编务; 第三步排版制作; 第四步编辑; 第五步投稿办公系统操作; 第六步期刊网络系统学习; 第七步期刊管理培训; 第八步BPG管理委员会考核; 第九步考核通过后正式签订劳动合同, 并颁发编辑部主任聘任书.

HBV感染者化疗时的抗病毒治疗

黄利华, 姚悦萍

■背景资料

HBV感染者化疗时HBV再激活导致化疗中断, 肝功能恶化, 部分患者甚至肝衰竭而死亡, 医务人员在临床工作中如何判断HBV再激活、预防HBV再激活、防治再激活是亟待解决的问题。

黄利华, 姚悦萍, 无锡市传染病医院 江苏省无锡市 214005
黄利华, 主任医师, 主要从事病毒性肝炎基础与临床研究。
作者贡献分布: 本文撰写由黄利华完成; 姚悦萍负责部分外文资料收集整理。
通讯作者: 黄利华, 主任医师, 214005, 江苏省无锡市兴源路88号, 无锡市传染病医院. huanglihua1964@sina.com
电话: 0510-82307555
收稿日期: 2011-01-17 修回日期: 2011-05-16
接受日期: 2011-05-24 在线出版日期: 2011-05-28

Antiviral treatment in patients with hepatitis B virus infection receiving chemotherapy

Li-Hua Huang, Yue-Ping Yao

Li-Hua Huang, Yue-Ping Yao, Wuxi Infectious Disease Hospital, Wuxi 214005, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Professor Li-Hua Huang, Wuxi Infectious Disease Hospital, 88 Xingyuan Road, Wuxi 214005, Jiangsu Province, China. huanglihua1964@sina.com
Received: 2011-01-17 Revised: 2011-05-16
Accepted: 2011-05-24 Published online: 2011-05-28

Abstract

Reactivation of hepatitis B virus (HBV) is a frequent complication of chemotherapy in patients with HBV infection. Reactivation is characterized by increased levels of serum HBV DNA, abnormal liver function and hepatic failure. HBV reactivation inevitably leads to disruption of chemotherapy and severe clinical results in some cases. Nucleoside analogues play an important role in preventing and reducing the risk for HBV reactivation and HBV-associated morbidity and mortality. This paper gives a systematic review of the definition, mechanism and causes of HBV reactivation and summarizes the principles and problems for antiviral treatment in patients with HBV reactivation. It is strongly recommended that all patients should be screened for HBV serum markers before chemotherapy and preventive therapy with nucleoside analogues be given in patients with HBV. The use of potent antiviral drugs with low resistance potential and close viral monitoring during therapy are important for patients with HBV infection undergoing chemotherapy.

Key Words: Hepatitis B virus; Chemotherapy; Reac-

tivation; Antiviral treatment

Huang LH, Yao YP. Antiviral treatment in patients with hepatitis B virus infection receiving chemotherapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1604-1608

摘要

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染者接受化疗时HBV再激活已成为肿瘤化疗的常见并发症, 其特征是HBV DNA水平升高, 肝功能异常甚至肝功能衰竭。HBV再激活能导致化疗中断及严重的不良临床后果, 核苷(酸)类似物在预防和减少HBV再激活方面发挥了重要作用。本文系统阐述了HBV再激活的定义、发生机制和危险因素, 提出了HBV再激活时抗病毒治疗的策略和操作流程, 分析了HBV再激活抗病毒治疗中存在的问题, 进一步强调对所有患者化疗前应进行HBV血清标志物筛查, 加强病毒水平监测, 合并HBV感染的个体化疗前或化疗中应预防性使用核苷(酸)类似物抗病毒治疗, 选择有效低耐药的抗病毒药物个体化治疗。

关键词: 乙型肝炎病毒; 化疗; 再激活; 抗病毒治疗

黄利华, 姚悦萍. HBV感染者化疗时的抗病毒治疗. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1604-1608

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1604.asp>

0 引言

据世界卫生组织报道, 全球超过1/3的人口感染过乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV), 其中3.5亿为慢性感染者。随着肿瘤发病率提高及有效细胞毒性化疗药物的广泛应用, 肿瘤合并HBV感染的患者接受化疗时HBV再激活已成为常见的临床问题而引起人们的重视^[1-4]。过去的十年中, 临床资料显示实体瘤患者HBV再激活率不断升高, 其中肝细胞癌患者HBV再激活率达60%, 其他癌症患者HBV再激活率在25%-40%, 造血干细胞移植的患者HBV再激活率超过50%^[5]。因此, 合并HBV感染的肿瘤患者在接受化疗时的抗病毒治疗已受到高度重视^[6,7]。

■同行评议者

吴君, 主任医师,
贵阳医学院附属
医院感染科

1 抗肿瘤化疗时HBV的再激活

1.1 HBV再激活的定义和机制 早在1975年, Wands等^[8]首先报道20例淋巴瘤及骨髓增殖性疾病患者化疗中出现HBV复发, 表现为肝功能恶化, 此后逐渐引入了HBV再激活的概念. HBV再激活是指在非活动性HBsAg携带者或已治愈的乙型肝炎患者中再次出现肝炎活动, 其特征是转氨酶水平的升高, 血清中再次检测到HBV DNA或其水平增高, 临床上表现出肝炎症状. Koo等^[9]明确提出化疗期间或之后立即出现肝炎, 伴随HBV DNA水平高于基线10倍以上或绝对值大于40 000 IU/mL, 并排除其他病毒感染, 即可诊断为HBV再激活. HBV再激活的机制尚未完全清楚, 多数学者^[10-12]认为其过程分为两个阶段: 第一阶段化疗药物的应用免疫系统被抑制, 特别是抑制T细胞功能, 导致病毒复制增强, 感染HBV肝细胞数目增加, 表现为血清中检测到HBV DNA或其水平升高、血清HBeAg释放; 第二阶段是停用细胞毒性药物后, 随着T细胞介导的免疫功能恢复, 免疫细胞攻击受病毒感染的肝细胞, 导致肝细胞的快速损伤, 临床表现为肝炎, 甚至肝功能衰竭. 这种HBV再激活发生的概率和严重程度往往是难以预料的.

1.2 HBV再激活的危险因素 HBV再激活取决于病毒复制水平和机体免疫反应的平衡. 一些多因素分析研究结果已经显示HBV再激活相关的危险因素包括: 男性、青年人、化疗前ALT水平高、HBeAg阳性等^[10-12]. 目前认为再激活与下列因素有关: (1)再激活与原发病有关, 淋巴瘤、乳腺癌等HBV再激活风险较高, 由于大多数肿瘤本身就有免疫抑制作用, 特别是淋巴瘤本身免疫抑制现象突出, 再加上化疗药物的免疫抑制作用^[10,13], 所以这些患者免疫抑制表现更为显著, HBV再激活风险高; (2)再激活与药物有关, 不论是传统的细胞毒性药物还是抗B淋巴细胞或抗T淋巴细胞单克隆抗体^[14]等生物应答调节剂均有不同程度免疫抑制功能, 细胞毒化疗方法和化疗药物剂量、疗程与再激活有关. 蒽环类能刺激HepG2.2.15分泌HBV DNA, HBV DNA含有糖皮质激素的应答元件, 激素能促进HBV转录, 使得DNA和RNA生成增多, 病毒复制再度活跃, 因此含糖皮质激素和蒽环类的细胞毒性化疗更能导致HBV再激活, 当然多种化疗药物的联合使用, 显著抑制机体免疫功能是引起HBV再激活的主要原因; (3)再激活与HBV感染状态有关, 化疗前HBV DNA水平, HBV DNA>2 000

IU/mL是HBV激活的独立危险因素^[15]; HBsAg阳性HBV再激活风险大; 乙肝病毒核心相关抗原(HBcrAg)与肝脏cccDNA水平密切相关, HBcrAg水平高再激活风险大^[10]; 抗-HBs阴性或<10 IU/L以及治疗中抗-HBs水平进行性下降提示再激活风险大^[10,13]; HBeAg阳性或治疗中进行性升高再激活可能大^[13]; 隐匿性肝炎即HBsAg阴性而抗-HBs、抗-HBc阳性的肿瘤患者也会出现HBV再激活^[16,17], 此时HBsAg的消失并不意味着HBV从机体的清除, HBV DNA可以在肝脏和外周血单个核细胞中检测出来^[18], 化疗时免疫抑制促使HBV复制, 诱发肝功能损害; (4)再激活与病毒基因型有关, B和C基因型的患者容易发生HBV再激活^[10]; (5)再激活与基因变异有关, Awerkiew等^[19]报道1例非霍奇金淋巴瘤患者在接受免疫抑制治疗前血清学检查显示只有抗HBs阳性, 化疗后发生HBV再激活, 该患者无疫苗接种史, 抗HBs阳性是感染所致, 经HBV基因序列分析发现S基因有突变, S蛋白氨基酸发生置换(L109R, G137W, G145R), 改变了HBsAg抗原性, 致使HBsAg出现假阴性. 目前有报道在一些HBV再激活的患者中发现了S蛋白53、126、134、194、210、144、145位氨基酸置换^[17], 由于HBsAg与HBV逆转录酶区部分重叠, HBsAg的变异也可影响HBV逆转录酶的序列. HBV前C区和基本核心启动子的变异在亚洲乙肝感染者B、C基因中占优势, 变异导致HBeAg阴性, 但病毒复制能力增强, 这样的HBeAg阴性肿瘤患者, HBV再激活危险性增加并可诱导重症肝炎^[10].

2 化疗时HBV再激活的抗病毒治疗

2.1 HBV再激活的抗病毒治疗 HBV再激活可发生在化疗中及化疗结束后, 常见化疗开始后4-36 wk(中位数16 wk)^[13]. HBV再激活后患者可以表现为无症状病毒复制状态、急性肝炎、肝功能失代偿、肝衰竭甚至死亡^[20]. 鉴于临床后果的严重性, 预防和减少化疗时HBV再激活是临床上急需解决的实际问题. 根据化疗时HBV再激活的危险因素, 重视化疗前HBV血清标志物检测; 化疗时慎用或尽量不用糖皮质激素, 如必须应用, 化疗结束时注意逐渐减量, 以防止因免疫反跳而诱导重型肝炎的发生; 对高危人群积极的预防性使用抗病毒药物注射. 上述种种观点逐渐得到临床医务人员的重视和认同, 人们已经意识到HBV感染者化疗时应该采取一种动态、个体、优化的综合治疗策略.

■ 研发前沿

虽然NAs能降低化疗时HBV的再激活, 但还有很多问题尚待研究, 比如: 预防治疗在化疗开始前1 wk时间是否足够? 预防治疗后抗病毒药物的适宜疗程如何? 治疗中耐药的处理及初始联合治疗是否可行? HBV再激活有无预测模式? 种种问题都有待临床研究论证.

■相关报道

Wands等首先报道20例淋巴瘤及骨髓增殖性疾病患者化疗中出现HBV复发,表现为肝功能恶化,此后逐渐引入了HBV再激活的概念。

目前获得批准并应用于临床的抗病毒药物包括干扰素和核苷(酸)类似物(nucleos(tide) analogues, NAs)。曾有人提出应用干扰素来预防和治疗HBV再激活,干扰素不仅具有直接抗病毒作用同时又有免疫调节作用,从理论上说是可行的,但临床发现常规干扰素治疗可以加重肝细胞破坏而能导致严重肝损害,此外由于其不良反应(骨髓抑制)限制了干扰素的临床应用。

近年来, NAs在预防和治疗HBV再激活上发挥了重要作用。NAs通过抑制HBV逆转录酶,有效减少HBV病毒血症,而且NAs不良反应与细胞毒性药物不重叠,两者可以同时使用。Loomba等^[21]报道预防性服用拉米夫定(LAM)能够减少那些HBsAg阳性患者化疗期间HBV的再激活,并且将HBV相关性肝炎减少79%甚至更高, LAM的应用明显减少HBV相关性肝衰竭和死亡。有多项资料提示LAM能降低HBV感染者化疗时HBV再激活,以及HBV相关疾病的发病率与死亡率^[22-24]。HBV感染者化疗时服用LAM发生YMDD变异率与普通慢性乙肝的比例是相似的,而且一旦耐药换用恩替卡韦、阿德福韦仍然有效^[25]。Lubel等^[25]报道如果HBsAg阳性血液病患者化疗结束3 mo内停用LAM, 29%发生LAM撤离后HBV再激活,基线HBVDNA大于2 000 IU/L再激活风险更高。由于隐匿性乙肝的存在, HBsAg阴性、抗-HBs和/或抗-HBc阳性肿瘤患者接受化疗时同样可以发生HBV再激活^[9,26,27]。Marignani等^[27]报道隐匿性肝炎HBVDNA水平低, LAM抗病毒疗效好且性价比更高,对高病毒载量患者建议使用抗病毒效价高耐药发生低的药物如恩替卡韦等,并建议预防性使用抗病毒药物防治隐匿性乙肝HBV再激活。

尽管预防性服用NAs能有效预防HBV感染者化疗时HBV再激活,但NAs长期使用后病毒基因变异和停药后的反弹等因素,因此严密的临床检测还是必须的。You等^[28]报道1例51岁的男性肝癌患者接受了预防性LAM抗病毒治疗,由于YMDD变异而导致重型肝炎,所以对于接受抗肿瘤化疗的HBV携带者来说,优先选择一个有效低耐药的抗病毒药物是非常重要的。Mimura等^[29]报道3例HBsAg阳性B细胞型淋巴瘤的患者接受利妥昔单抗和CHOP方案(R-CHOP)治疗, 2例进行了8次R-CHOP治疗,还有1例在接受利妥昔单抗治疗后再进行两次R-CHOP治疗, 3例均预防性服用LAM治疗,在LAM治疗终止后的2-4 mo,所有的患者都发生了HBV再激活。

除LAM有较好的预防HBV再激活的作用外,其他NAs因其各自的药理特点也发挥了不同的作用。恩替卡韦的抗病毒活性高于阿德福韦、LAM,其在防治化疗患者HBV再激活方面有较好疗效^[30-32],阿德福韦与其他NAs无交叉耐药位点还可用于耐药后的挽救治疗。因此,对于接受化疗的HBV感染者而言,应该根据个体的不同背景选择合适的抗病毒药物。

2.2 HBV再激活抗病毒治疗策略

NAs预防和治疗肿瘤患者HBV再激活有3种方式: (1)预防用药,只要患者HBsAg阳性,不管ALT、HBV DNA水平如何,一律在化疗开始前1 wk开始一直持续到化疗结束后一段时间服用NAs; (2)早期疗法,每2 wk检测HBV DNA、ALT,如果发现HBV DNA升高,在ALT尚未升高前立即给予NAs治疗; (3)延迟干预,就是HBV DNA、ALT升高后再接受治疗。现有的研究认为预防治疗优于早期治疗和延迟治疗^[25]。

鉴于此,亚太地区、美国、中国专家均推荐,对于HBsAg阳性肿瘤患者接受化疗时应预防性使用NAs抗病毒治疗。2010年版《中国慢性乙型肝炎防治指南》^[33]建议:接受化疗、免疫抑制剂治疗的患者,应常规筛查HBsAg。若为阳性,即使HBV DNA阴性和ALT正常,也应在治疗前1 wk开始服用LAM或其他NAs。对HBsAg阴性、抗HBc阳性患者,在给予长期或大剂量免疫抑制剂或细胞毒药物(特别是针对B或T淋巴细胞单克隆抗体)治疗时,应密切监测HBV DNA和HBsAg,若出现阳转则应及时加用抗病毒治疗。在化疗和免疫抑制剂治疗停止后,应根据患者病情决定停药时间: (1)对于基线HBV DNA<2 000 IU/L的患者,在完成化疗或免疫抑制剂治疗后,应当继续治疗6 mo; (2)基线HBV DNA水平较高(>2 000 IU/L)的患者,应当持续治疗到和免疫功能正常慢性乙型肝炎患者同样的停药标准; (3)对于预期疗程≤12 mo的患者,可以选用LAM或替比夫定; (4)对于预期疗程更长的患者,美国肝病协会指南(2007年)和欧洲肝病协会指南(2009年)一致认为应优先选用恩替卡韦或阿德福韦酯^[34]; (5)NAs停用后可出现病毒复发,甚至病情恶化,应予以高度重视; (6)干扰素有骨髓抑制作用,应当避免选用。具体操作流程可参考图1^[33-35]。

3 结论

慢性乙型肝炎是一种难治性疾病,其治疗具有

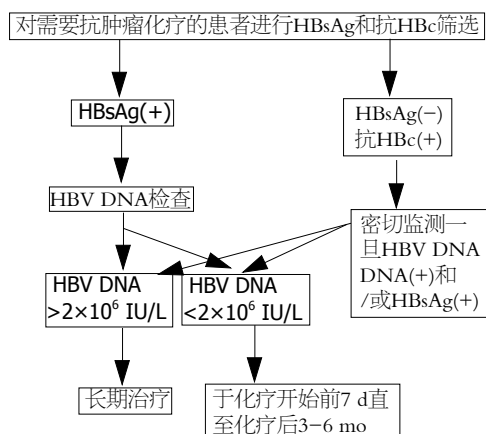


图1 预防肿瘤化疗时HBV再激活策略。

长期性、复杂性、个体化的特点。HBsAg阳性肿瘤患者进行化疗时,由于细胞毒性药物和免疫抑制剂的应用,使得处于静息状态或低复制状态的HBV再激活,从而引起病情恶化并有可能导致死亡。有报道美国20%的肿瘤科医生在化疗前从不筛查HBV^[35],我国情况也不容乐观。随着新型NAs抗病毒药物的问世,合并HBV感染的肿瘤患者化疗时HBV再激活机制研究的深入,临床资料证实NAs能降低HBV再激活,减少HBV相关死亡率,我们相信对这些特殊患者的抗病毒治疗必将被大家接受。为此,我们要求对所有接受化疗的肿瘤患者都应该筛查HBV标志物;所有对HBV无免疫的,均应尽快注射乙肝疫苗(0, 1, 6方案),在化疗前注射两针,第三针在化疗结束后进行,末次注射疫苗后数周检测抗-HBs应答水平,保持抗-HBs>10 IU/L,无免疫应答者可以加大免疫接种剂量。由于化疗患者免疫低下,对疫苗无应答是常见的,但57%的肿瘤患者仍会有抗-HBs血清转换^[16];化疗时HBsAg阳性患者,不管ALT和HBV DNA水平如何,均应预防使用NAs,预防治疗疗效好于早期治疗;根据基线HBV DNA水平预测治疗疗程并选择合适的NAs;HBsAg阴性、抗HBc阳性患者,密切监测HBV DNA和HBsAg,阳转时迅速加用抗病毒治疗。虽然NAs能降低化疗时HBV的再激活,但还有很多问题尚待研究,比如:预防治疗在化疗开始前1 wk时间是否足够?预防治疗后抗病毒药物的适宜疗程如何?治疗中耐药的处理及初始联合治疗是否可行?HBV再激活有无预测模式?种种问题都有待临床研究论证。相信随着对HBV再激活知识的普及,对HBV再激活发机制的了解,大量临床资料的积累,我们会有以循证医学为依据的答案。多个学科综合考虑的治

疗策略必将进一步预防和减少肿瘤患者化疗时HBV再激活,以完成多疗程化疗,延长生命,提高生活质量。

4 参考文献

- Ferraro D, Pizzillo P, Di Marco V, Vultaggio A, Iannitto E, Venezia G, Craxi A, Di Stefano R. Evaluating the risk of hepatitis B reactivation in patients with haematological malignancies: is the serum hepatitis B virus profile reliable? *Liver Int* 2009; 29: 1171-1177
- Wasmuth JC, Fischer HP, Sauerbruch T, Dumoulin FL. Fatal acute liver failure due to reactivation of hepatitis B following treatment with fludarabine/cyclophosphamide/rituximab for low grade non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Med Res* 2008; 13: 483-486
- Power JP, El Chaar M, Temple J, Thomas M, Spillane D, Candotti D, Allain JP. HBV reactivation after fludarabine chemotherapy identified on investigation of suspected transfusion-transmitted Hepatitis B virus. *J Hepatol* 2010; 53: 780-787
- Muñoz Bertrán E, Pérez Ceballos E, Gómez Espín R, Ortega González I. [Hepatitis B reactivation in an HbsAg-negative/anti-HBc-positive patient with B-cell non-Hodgkin lymphoma receiving chemotherapy with rituximab]. *Gastroenterol Hepatol* 2010; 33: 377-381
- Yeo W, Johnson PJ. Diagnosis, prevention and management of hepatitis B virus reactivation during anticancer therapy. *Hepatology* 2006; 43: 209-220
- Hoofnagle JH. Reactivation of hepatitis B. *Hepatology* 2009; 49: S156-S165
- Khokhar OS, Farhadi A, McGrail L, Lewis JH. Oncologists and hepatitis B: a survey to determine current level of awareness and practice of antiviral prophylaxis to prevent reactivation. *Chemotherapy* 2009; 55: 69-75
- Wands JR, Chura CM, Roll FJ, Maddrey WC. Serial studies of hepatitis-associated antigen and antibody in patients receiving antitumor chemotherapy for myeloproliferative and lymphoproliferative disorders. *Gastroenterology* 1975; 68: 105-112
- Koo YX, Tan DS, Tan IB, Tao M, Chow WC, Lim ST. Hepatitis B virus reactivation and role of antiviral prophylaxis in lymphoma patients with past hepatitis B virus infection who are receiving chemioimmunotherapy. *Cancer* 2010; 116: 115-121
- Kusumoto S, Tanaka Y, Ueda R, Mizokami M. Reactivation of hepatitis B virus following rituximab-plus-steroid combination chemotherapy. *J Gastroenterol* 2011; 46: 9-16
- Roche B, Samuel D. The difficulties of managing severe hepatitis B virus reactivation. *Liver Int* 2011; 31 Suppl 1: 104-110
- Fukushima N, Mizuta T, Tanaka M, Yokoo M, Ide M, Hisatomi T, Kuwahara N, Tomimasu R, Tsuneyoshi N, Funai N, Sueoka E. Retrospective and prospective studies of hepatitis B virus reactivation in malignant lymphoma with occult HBV carrier. *Ann Oncol* 2009; 20: 2013-2017
- Lalazar G, Rund D, Shouval D. Screening, prevention and treatment of viral hepatitis B reactivation in patients with haematological malignancies. *Br J Haematol* 2007; 136: 699-712
- Yeo W, Chan TC, Leung NW, Lam WY, Mo FK,

■应用要点

本文作者从再激活的发病机理和高危因素分析着手,强调了抗病治疗的重要性,着重规范医务人员临床诊疗工作流程,提出了防治肿瘤患者HBV再激活的策略,对医务人员临床工作有实际的指导意义。审稿专家认为作者对乙型肝炎病毒感染患者化疗时抗病毒治疗的重要性、必要性进行了综述,并提出了操作流程,有一定的实用价值。

■同行评价

本文有一定的实用价值,但新颖性一般。

- Chu MT, Chan HL, Hui EP, Lei KI, Mok TS, Chan PK. Hepatitis B virus reactivation in lymphoma patients with prior resolved hepatitis B undergoing anticancer therapy with or without rituximab. *J Clin Oncol* 2009; 27: 605-611
- 15 Jang JW, Choi JY, Bae SH, Yoon SK, Chang UI, Kim CW, Cho SH, Han JY, Lee YS. A randomized controlled study of preemptive lamivudine in patients receiving transarterial chemo-lipiodolization. *Hepatology* 2006; 43: 233-240
- 16 Kusumoto S, Tanaka Y, Mizokami M, Ueda R. Reactivation of hepatitis B virus following systemic chemotherapy for malignant lymphoma. *Int J Hematol* 2009; 90: 13-23
- 17 Borentain P, Colson P, Coso D, Bories E, Charbonnier A, Stoppa AM, Auran T, Loundou A, Motte A, Ressiot E, Norguet E, Chabannon C, Bouabdallah R, Tamalet C, G  rolami R. Clinical and virological factors associated with hepatitis B virus reactivation in HBsAg-negative and anti-HBc antibodies-positive patients undergoing chemotherapy and/or autologous stem cell transplantation for cancer. *J Viral Hepat* 2010; 17: 807-815
- 18 Cheung WI, Chan HL, Leung VK, Tse CH, Fung K, Lin SY, Wong A, Wong VW, Chau TN. Reactivation of hepatitis B virus infection with persistently negative HBsAg on three HBsAg assays in a lymphoma patient undergoing chemotherapy. *J Clin Virol* 2010; 47: 193-195
- 19 Awerkiew S, D  umer M, Reiser M, Wend UC, Pfister H, Kaiser R, Willems WR, Gerlich WH. Reactivation of an occult hepatitis B virus escape mutant in an anti-HBs positive, anti-HBc negative lymphoma patient. *J Clin Virol* 2007; 38: 83-86
- 20 Manzano-Alonso ML, Castellano-Tortajada G. Reactivation of hepatitis B virus infection after cytotoxic chemotherapy or immunosuppressive therapy. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1531-1537
- 21 Loomba R, Rowley A, Wesley R, Liang TJ, Hoofnagle JH, Pucino F, Csako G. Systematic review: the effect of preventive lamivudine on hepatitis B reactivation during chemotherapy. *Ann Intern Med* 2008; 148: 519-528
- 22 Cil T, Altintas A, Pasa S, Bayan K, Ozekinci T, Isikdogan A. Lamivudine for the prevention of hepatitis B virus reactivation in hepatitis-B surface antigen (HBsAg) seropositive cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Leuk Lymphoma* 2008; 49: 939-947
- 23 Yun J, Kim KH, Kang ES, Gwak GY, Choi MS, Lee JE, Nam SJ, Yang JH, Park YH, Ahn JS, Im YH. Prophylactic use of lamivudine for hepatitis B exacerbation in post-operative breast cancer patients receiving anthracycline-based adjuvant chemotherapy. *Br J Cancer* 2011; 104: 559-563
- 24 Ziakas PD, Karsaliakos P, Mylonakis E. Effect of prophylactic lamivudine for chemotherapy-associated hepatitis B reactivation in lymphoma: a meta-analysis of published clinical trials and a decision tree addressing prolonged prophylaxis and maintenance. *Haematologica* 2009; 94: 998-1005
- 25 Lubel JS, Angus PW. Hepatitis B reactivation in patients receiving cytotoxic chemotherapy: diagnosis and management. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 864-871
- 26 Pei SN, Chen CH, Lee CM, Wang MC, Ma MC, Hu TH, Kuo CY. Reactivation of hepatitis B virus following rituximab-based regimens: a serious complication in both HBsAg-positive and HBsAg-negative patients. *Ann Hematol* 2010; 89: 255-262
- 27 Marignani M, Marzano A. Surveillance and treatment protocols to detect and treat hepatitis B virus reactivation in hepatitis B surface antigen-negative/antibody to hepatitis B core antigen-positive patients receiving chemotherapy for onco-hematologic malignancies. *J Clin Oncol* 2011; 29: e210; author reply e211
- 28 You CR, Jang JW, Choi JK, Bae SH, Yoon SK, Kay CS, Choi JY. Hepatic Failure Caused by Reactivation of YMDD Mutants Occurring during Preemptive Lamivudine Therapy. *Gut Liver* 2010; 4: 262-265
- 29 Mimura N, Tsujimura H, Ise M, Sakai C, Kojima H, Fukai K, Yokosuka O, Takagi T, Kumagai K. [Hepatitis B virus reactivation after cessation of prophylactic lamivudine therapy in B-cell lymphoma patients treated with rituximab combined CHOP therapy]. *Rinsho Ketsueki* 2009; 50: 1715-1719
- 30 Watanabe M, Shibuya A, Takada J, Tanaka Y, Okuwaki Y, Minamino T, Hidaka H, Nakazawa T, Koizumi W. Entecavir is an optional agent to prevent hepatitis B virus (HBV) reactivation: a review of 16 patients. *Eur J Intern Med* 2010; 21: 333-337
- 31 冯洪玲, 唐克诚, 李谦. 恩替卡韦治疗非霍奇金淋巴瘤相关性HBV再激活34例. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3519-3522
- 32 中华医学会肝病学会, 中华医学会传染病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 13-24
- 33 Chung SJ, Kim JK, Park MC, Park YB, Lee SK. Reactivation of hepatitis B viral infection in inactive HBsAg carriers following anti-tumor necrosis factor-alpha therapy. *J Rheumatol* 2009; 36: 2416-2420
- 34 Villadolid J, Laplant KD, Markham MJ, Nelson DR, George TJ. Hepatitis B reactivation and rituximab in the oncology practice. *Oncologist* 2010; 15: 1113-1121
- 35 Tran TT, Rakoski MO, Martin P, Poordad F. Screening for hepatitis B in chemotherapy patients: survey of current oncology practices. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 240-246

编辑 李军亮 电编 李薇

HBV/HIV重叠感染的抗病毒治疗

柳龙根, 邵幼林

柳龙根, 邵幼林, 江苏省常州市第三人民医院肝病科 江苏省常州市 213001

柳龙根, 主任医师, 主要从事乙型和丙型肝炎免疫致病机理和抗病毒治疗研究。

作者贡献分布: 课题设计由柳龙根完成, 写作由柳龙根与邵幼林完成。

通讯作者: 柳龙根, 主任医师, 213001, 江苏省常州市兰陵北路300号, 江苏省常州市第三人民医院肝病科. ssewllg@163.com
电话: 0519-83016002

收稿日期: 2011-01-17 修回日期: 2011-05-12

接受日期: 2011-05-24 在线出版日期: 2011-05-28

Antiviral therapy in patients co-infected with hepatitis B virus and human immunodeficiency virus

Long-Gen Liu, You-Lin Shao

Long-Gen Liu, You-Lin Shao, Department of Hepatology, Changzhou Third People's Hospital, Changzhou 213001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Long-Gen Liu, Department of Hepatology, Changzhou Third People's Hospital, Changzhou 213001, Jiangsu Province, China. ssewllg@163.com

Received: 2011-01-17 Revised: 2011-05-12

Accepted: 2011-05-24 Published online: 2011-05-28

Abstract

The rapid spread of human immunodeficiency virus (HIV) in China has made hepatitis B virus (HBV)/HIV co-infection become a common clinical condition. HBV/HIV co-infection substantially alters the natural course of HBV or HIV mono-infection as well as their management. Therapy for HBV infection in HIV-co-infected patients is based on whether or not there is an indication for anti-HIV therapy. In patients with no indication for anti-HIV therapy, interferon- α (IFN- α) or adefovir dipivoxil (ADV) is recommended. In patients with an indication of anti-HIV therapy, a backbone of highly active anti-retroviral therapy should include tenofovir disoproxil fumarate (TDF) in combination with lamivudine (LAM) or emtricitabine (FTC). Switching to or adding ETV/ADV is recommended in patients who develop LAM/FTC resistance. LdT has no activity against HIV and is therefore not recommended for anti-HBV therapy in patients with HBV/HIV co-infection.

Key Words: Hepatitis B Virus; Human immunodeficiency virus; Co-infection; Antiviral therapy

Liu LG, Shao YL. Antiviral therapy in patients co-infected with hepatitis B virus and human immunodeficiency virus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1609-1613

摘要

随着人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染率快速增长, 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)/HIV重叠感染成为一种临床易见疾病. HBV/HIV重叠感染使HBV和HIV的生物学行为发生改变, 进而相互影响病情进展, 使得HBV/HIV重叠感染患者的抗病毒治疗更为复杂. 干扰素治疗HBV/HIV重叠感染患者HBeAg血清学转换发生率<10%, 一般只用于可能发生血清学转换的患者. 阿德福韦酯(ADV)无抗HIV活性, 也不诱导HIV耐药, 可用于不需高效抗逆转录病毒疗法(HAART)的患者. 拉米夫定(LAM)、恩曲他滨(FTC)、替诺福韦(TDF)和恩替卡韦(ETV)对HBV和HIV都具有活性, 用于两者都需要治疗时组成HAART, 首选包括TDF+LAM或TDF+FTC的HAART方案, 如果LAM/FTC耐药, 可以加用或换用ETV或ADV挽救治疗. 替比夫定(LdT)虽无抗HIV活性, 但可以选择rtM204I耐药, 不单独用于HBV/HIV重叠感染患者抗HBV治疗.

关键词: 乙型肝炎病毒; 人类免疫缺陷病毒; 重叠感染; 抗病毒治疗

柳龙根, 邵幼林. HBV和HIV重叠感染的抗病毒治疗. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1609-1613

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1609.asp>

0 引言

高效抗逆转录病毒疗法(highly active antiretroviral therapy, HAART)使人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染的预后得到了改善, 但是慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)却成为影响乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)/HIV重叠感染患者预后的重要因素. 由于

■背景资料

HBV和HIV感染都会导致严重的后果, 在将来很长一段时期内难以有根治的方法, 抗病毒是二者目前唯一有效控制病情的治疗方法, HBV/HIV重叠感染使问题变得更加复杂, 对HBV/HIV重叠感染患者采用科学、合理和有效的抗病毒治疗极为必要.

■同行评议者

靳雪源, 副主任医师, 中国人民解放军第302医院消化内科

■研发前沿

HBV/HIV重叠感染使HBV和HIV的生物学行为发生改变,二者如何相互影响病情进展、如何采取有效的治疗成为研究的热点和难点。

HIV和HBV所用的抗病毒药物和耐药特征等具有相似性,使HBV/HIV重叠感染的治疗非常复杂,成为临床治疗的难点和研究的热点。

1 HBV/HIV重叠感染的流行病学

全球约4千万人感染HIV, 3.6亿人感染HBV, 其中HIV感染者重叠HBV感染约为5%-20%^[1]。截止2009年底我国现存HIV感染者约74万人^[2]。我国现有的慢性HBV感染者约9300万人^[3]。且我国HBV感染以垂直传播为主, 我国HIV患者重叠感染HBV的比率较西方国家高。马建新等^[4]研究显示HIV感染者中, HBsAg阳性率为11.2%, HBsAg阴性感染者中, HBV DNA阳性率为30.5%。据此估计我国有HBV/HIV重叠感染者约22万, 包括14万重叠隐性HBV感染者。

2 HBV/HIV重叠感染的相互影响

HBV/HIV重叠感染可通过反式激活作用和重组作用相互影响, HBV感染细胞所产生的“X”蛋白可触发HIV基因合成, 加速重叠感染AIDS患者的病程进展^[5]。在HIV感染时CD4细胞耗竭, 损害机体先天性和获得性免疫, 从而影响CHB自然史的各阶段。HBV/HIV重叠感染患者HBV呈高水平复制, HBsAg和HBeAg转阴率和血清转换率降低, 增加肝病相关死亡率^[6]。一项在5 293例男性同性恋患者中的研究发现, HBV/HIV重叠感染者肝病相关性年死亡率为14.2/1 000人, 明显高于单独HIV-1感染者(1.7/1000)或HBsAg阳性者(0.8/1000), 特别是引入HAART之后, HBV/HIV重叠感染患者肝病相关死亡风险更高^[7]。Iser等^[8]通过研究HIV重叠感染HBV感染肝细胞系发现HIV再感染显著增加细胞内HBsAg, 认为HIV感染通过改变HBV的生物特征而加速肝病进展。随着HAART应用, 机会性感染和肿瘤的发病率显著下降, 降低了AIDS的发生率, 但是HAART可以通过直接的药物肝毒性、免疫重建炎性反应综合征^[9]、HBV耐药导致肝脏炎症“再活化”等机制引起肝脏损害。从而使HBV/HIV重叠感染患者更有可能发展至严重肝病阶段。

3 HBV/HIV重叠感染的抗病毒药物

HBV/HIV重叠感染患者抗HBV治疗目的在于减少进展至肝硬化和肝细胞癌的风险, 为此, 应尽量把HBV DNA抑制到最低值并减少/延缓HBV耐药发生。HBV/HIV重叠感染患者抗HBV治疗

难以获得持续应答(sustained response), 即使发生HBeAg血清转换后也可出现HBeAg阳转, 所以应终生治疗^[10]。目前用于HBV/HIV重叠感染患者抗HBV药物可根据抗HBV/HIV活性分为两类: (1)只有抗HBV活性的药物: 干扰素(interferon, IFN)和阿德福韦酯(adeфовir dipivoxil, ADV); (2)同时兼有抗HBV和HIV活性的药物: 拉米夫定(lamivudine, LAM)、恩曲他滨(emtricitabine, FTC)、替诺福韦(tenofovir disoproxil fumarate, TDF)和恩替卡韦(entecavir, ETV)。

3.1 单一抗HBV治疗

3.1.1 IFN- α : 虽然有研究显示IFN具有抗HIV活性^[11], 但因可致白细胞下降而不用于抗HIV治疗。IFN- α 治疗HBV/HIV重叠感染患者HBeAg血清学转换发生率小于10%, 并且可引起CD4细胞减少^[12]。Peg-IFN- α +ADV治疗LAM耐药HBV/HIV重叠感染患者48 wk显示, 只在治疗时ALT/AST维持正常, 停药后全部发生HBV病毒学突破、没有发生血清学转换^[13]。Peg-IFN- α +TDF治疗HBV/HIV重叠感染, 与TDF单药治疗相比HBV DNA水平和血清学转换率无差别^[14]。因此, 标准IFN- α 和peg-IFN- α 一般只用于不需HAART且可能发生HBeAg血清学转换的HBV/HIV重叠感染患者(女性、<40岁、高ALT水平、低HBV DNA载量基因A型)。

3.1.2 ADV: ADV治疗CHB推荐的剂量为10 mg/d, 此剂量对HIV无明显抑制作用, 也没发现HIV耐药^[15]。HAART后出现LAM耐药, 加用ADV可显著降低HBV/HIV重叠感染患者HBV DNA水平, 治疗144 wk后45%患者获得病毒学应答^[16]。HBV对ADV耐药主要发生rtA181V/T和rtN236T变异^[17]。因此ADV可用于不需HAART的HBV/HIV重叠感染患者, 且可用于挽救治疗HAART后LAM耐药患者。

3.2 同时抗HBV和HIV治疗

3.2.1 LAM和FTC: LAM治疗CHB剂量为100 mg/d, 用于抑制HIV复制剂量为300 mg/d, HBV/HIV重叠感染患者使用300 mg/d LAM单药治疗HBV单独感染和HBV/HIV重叠感染患者都能显著的抑制病毒复制。LAM单药治疗HBV/HIV重叠感染患者HBV DNA应答率为86%(24 mo)^[18], 高于单独HBV感染患者的40%-44%^[19], 可能因为采取杂交分析检测方法(10^8 copies/L)和治疗剂量(300 mg/d)有关。然而不幸的是LAM单药治疗HBV/HIV重叠感染患者不但可以选择HIV和HBV耐药, 而且选择HBV的耐药的速率较HBV

■创新盘点

鉴于抗HBV和HIV药物的相似性, 本文从抗病毒药物是否对HBV和HIV均有效的角度分类阐述了不同药物特点和使用时机, 并通过流程图的形式清晰的反应了治疗时机和治疗方案的选择。

单独感染者更快, 2年和4年HBV耐药率分别达50%和90%^[18]. HBV对LAM耐药主要常见的变异为rtM204V/I和rtL180M. FTC和LAM有相似的结构, FTC治疗HBV单独感染患者48 wk HBV DNA阴转率为54%, 耐药率为13%^[20]. 当前指南认为二者可以互换, 由于高耐药率和诱导HBV和HIV耐药, 二者不单独用于HBV/HIV重叠感染患者的治疗.

3.1.2 TDF: TDF结构和ADV相似, 300 mg TDF抗HBV效能更高, 毒性更低. TDF治疗HBV/HIV重叠感染5年的研究显示, 92% HBeAg阳性和95% HBeAg阴性患者维持HBV应答, 仅3%患者因血清肌酐水平升高而停止使用TDF治疗, 提示TDF治疗HBV/HIV重叠感染长期安全有效^[21]. 含有TDF的HAART方案有效抑制HBV/HIV重叠感染的患者体内野生HBV、前C区变异HBV和LAM耐药变异HBV复制^[22]. TDF+FTC较FTC单药治疗HAART初治的HBV/HIV重叠感染患者HBV DNA阴转更高, 48 wk两组阴转率分别为90%和33%^[23]. TDF+LAM和TDF单药治疗LAM耐药的HBV/HIV重叠感染患者病毒学应答情况相似, 治疗116 wk TDF+LAM组和TDF单药组HBV DNA阴转率19/25(76%)和42/50(84%)^[24]. 然而最近一项关于122例LAM暴露的HBV/HIV重叠感染患者横向研究结果与此相反, 在HAART中包含TDF+LAM或TDF+FTC较TDF单药治疗HBV能获得更多HBV DNA阴转. 根据这项结果, LAM暴露的HBV/HIV重叠感染患者的HAART方案中应含有TDF+LAM或TDF+FTC^[25]. TDF治疗HBV/HIV重叠感染患者耐药率较低, 一项长达34 mo的研究显示无论该患者之前是否接受LAM治疗, 仅5%患者发生病毒学突破^[26]. HBV对TDF耐药主要为rtA194T变异, 体外实验显示该变异HBV毒株对TDF耐药, 该变异可单独存在也可和LAM耐药相关变异一起出现^[27].

3.1.3 ETV: ETV初治CHB患者的剂量为0.5 mg/d, 对HBV有很强抑制作用, 并有良好的安全性. 因为ETV具有抗HIV活性、选择rtM184V变异、并可导致LAM的敏感性下降, 因此ETV不推荐用于不需要HAART的HBV/HIV重叠感染患者^[28]. 在LAM耐药HBV/HIV重叠感染患者, 使用1.0 mg/d ETV作为HAART的组成部分挽救治疗安全有效, 但更易出现ETV耐药^[29].

3.1.4 替比夫定: 体外实验研究显示替比夫定(LdT)没有抑制HIV活性^[30], 但因可选择与LAM交叉耐药的rtM204I变异, 因此不需要HAART

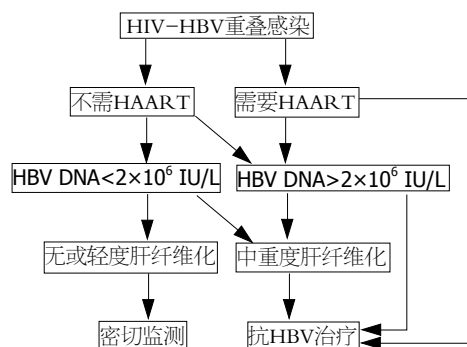


图1 HBV/HIV重叠感染患者治疗HBV时机选择.

时不建议用于抗HBV治疗^[6], 由于LAM耐药后, LdT的敏感性也明显下降, LdT也不建议用于LAM耐药的挽救治疗.

4 HBV/HIV重叠感染抗病毒治疗时机和方案的选择

多数指南推荐当HIV感染患者CD4⁺ T细胞<350×10⁶ cells/L时采取HAART, 但目前只有少数几个指南介绍了关于HBV/HIV重叠感染患者抗病毒治疗, 认为应采取个体化抗病毒治疗^[19,31].

HBV/HIV重叠感染患者在HIV需要HAART之前, 当HBV需要治疗时, 可以选用对HIV无效的药物, 这样可避免诱导HIV耐药, 如标准IFN-α、peg-IFN-α或ADV. IFN-α和peg-IFN-α可用于CD4细胞>500×10⁶ cells/L的HBeAg阳性患者, CD4细胞数更低和HBeAg阴性患者可考虑选用ADV. 尽管LdT无抗HIV活性, 但可选择rtM204I变异; ETV具有抗HIV活性, 且可选择rtM184V变异, 因此对HBV/HIV重叠感染患者不应单独使用LdT和ETV抗HBV治疗^[30,32]. 对活动性肝炎及进展的肝病可依据2010年制订的慢性乙型肝炎防治指南治疗^[33], 对于无明显炎症活动的患者, 可因后续的HAART直接的药物肝毒性、免疫炎症重建综合征引起肝损害, 因此抗HBV治疗显得尤为重要, 可参考Iser等提供的方案进行抗HBV治疗^[34](图1). 当HBV和HIV进展至都需要治疗的时候, 不管HBV DNA水平和肝纤维化程度如何, 应慎重选用对HBV有效药物的HAART方案以减少病毒耐药. 首选包括了TDF+LAM或TDF+FTC的HAART方案. 如果在此HAART基础上仍出现LAM或FTC耐药可加用ETV或ADV治疗挽救治疗, 然而这些联合治疗还有待进一步研究. 欧洲艾滋病临床协会2009推荐的HBV/HIV重叠感染患者治疗方案可供参考^[35](图2).

■应用要点

目前我国现有的慢性HBV感染者约9300万人, HIV感染者约74万人, HBV/HIV重叠感染者约22万人. 对该部分重叠感染者进行抗病毒治疗较单独感染更加复杂, 各级医务人员应依据循证医学证据进行科学施治.

■名词解释

高效抗逆转录病毒治疗: 由于HIV具有高复制性和高变异性, 单药治疗很容易诱导病毒变异, 产生耐药, 导致临床治疗失败和后续治疗难度加大, 1996年温哥华第10届国际艾滋病大会上美籍华裔科学家何大一发表了所谓的“鸡尾酒”式的多种抗病毒药物联合治疗法, 即高效抗逆转录病毒治疗 (highly active anti-retroviral therapy, HAART), 又称HAART疗法。

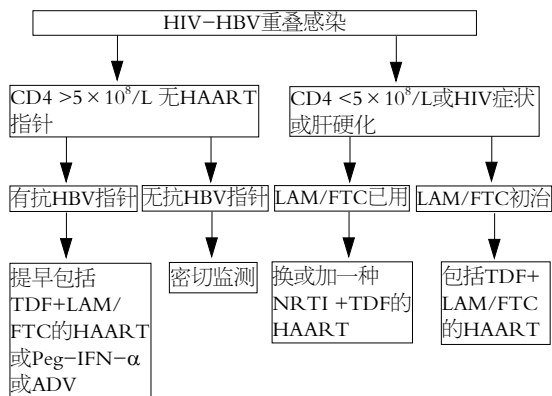


图2 HBV/HIV重叠感染患者治疗方案(EACS 2009).

5 结论

由于HIV和HBV的病毒学、使用抗病毒药物和耐药特征等具有相似性, 使HBV/HIV重叠感染的抗病毒治疗变得极为复杂和困难。目前用于HBV/HIV重叠感染患者抗HBV药物可根据抗HBV/HIV活性分为两类: (1)只有抗HBV活性的药物: IFN和ADV; (2)同时兼有抗HBV和HIV活性的药物: LAM、FTC、TDF和ETV。HBV/HIV重叠感染患者, 进行抗病毒治疗时应考虑只有HBV需要治疗时, 可以选用对HIV无效的药物, 如标准IFN- α 、peg-IFN- α 或ADV。IFN- α 和peg-IFN- α 可用于CD4细胞 $>500 \times 10^6$ cells/L的HBeAg阳性患者, CD4细胞数更低和HBeAg阴性患者可考虑选用ADV, 对HBV/HIV重叠感染患者不应单独使用LdT和ETV抗HBV治疗。对于无明显炎症活动的患者, 可参考Iser等提供的方案进行抗HBV治疗。当HBV和HIV进展至都需要治疗的时候, 首选包括了TDF+LAM或TDF+FTC的HAART方案。如果在此HAART基础上出现LAM或FTC耐药可加用ETV或ADV进行挽救治疗。

6 参考文献

- Zhou J, Dore GJ, Zhang F, Lim PL, Chen YM. Hepatitis B and C virus coinfection in The TREAT Asia HIV Observational Database. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1510-1518
- 中华人民共和国卫生部, 联合国艾滋病规划署, 世界卫生组织. 2009年中国艾滋病疫情估计工作报告 2010
- Lu FM, Zhuang H. Management of hepatitis B in China. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122: 3-4
- 马建新, 卢洪洲, 王江蓉, 张仁芳, 郑毓芳, 刘莉, 齐唐凯, 沈银忠. 人类免疫缺陷病毒感染合并隐匿性乙型肝炎病毒感染的现状调查. *中华内科杂志* 2008; 47: 574-577
- 曹晓沧, 连佳, 吕宗舜. HBV与HIV重叠感染及其影响. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1089-1092
- Soriano V, Puoti M, Peters M, Benhamou Y, Sulkowski M, Zoulim F, Mauss S, Rockstroh J. Care of HIV patients with chronic hepatitis B: updated recommendations from the HIV-Hepatitis B Virus

- International Panel. *AIDS* 2008; 22: 1399-1410
- Thio CL, Seaberg EC, Skolasky R, Phair J, Visscher B, Muñoz A, Thomas DL. HIV-1, hepatitis B virus, and risk of liver-related mortality in the Multicenter Cohort Study (MACS). *Lancet* 2002; 360: 1921-1926
- Iser DM, Warner N, Revill PA, Solomon A, Wightman F, Saleh S, Crane M, Cameron PU, Bowden S, Nguyen T, Pereira CF, Desmond PV, Locarnini SA, Lewin SR. Coinfection of hepatic cell lines with human immunodeficiency virus and hepatitis B virus leads to an increase in intracellular hepatitis B surface antigen. *J Virol* 2010; 84: 5860-5867
- Wurstthorn K, Wedemeyer H, Manns MP. Republished paper: Managing HBV in patients with impaired immunity. *Postgrad Med J* 2011; 87: 223-238
- Hoffmann CJ, Thio CL. Clinical implications of HIV and hepatitis B co-infection in Asia and Africa. *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 402-409
- Barr SD, Smiley JR, Bushman FD. The interferon response inhibits HIV particle production by induction of TRIM22. *PLoS Pathog* 2008; 4: e1000007
- Di Martino V, Thevenot T, Colin JF, Boyer N, Martinot M, Degos F, Coulaud JP, Vilde JL, Vachon F, Degott C, Valla D, Marcellin P. Influence of HIV infection on the response to interferon therapy and the long-term outcome of chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2002; 123: 1812-1822
- Ingiliz P, Valantin MA, Thibault V, Duvivier C, Dominguez S, Katlama C, Poynard T, Benhamou Y. Efficacy and safety of adefovir dipivoxil plus pegylated interferon-alpha2a for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B virus infection in HIV-infected patients. *Antivir Ther* 2008; 13: 895-900
- Johnson RM, Ristig MB, Overton ET, Lisker-Melman M, Cummings OW, Aberg JA. Safety and tolerability of sequential pegylated IFN-alpha2a and tenofovir for hepatitis B infection in HIV(+) individuals. *HIV Clin Trials* 2007; 8: 173-181
- Delaugerre C, Marcelin AG, Thibault V, Peytavin G, Bombled T, Bochet MV, Katlama C, Benhamou Y, Calvez V. Human immunodeficiency virus (HIV) Type 1 reverse transcriptase resistance mutations in hepatitis B virus (HBV)-HIV-coinfecting patients treated for HBV chronic infection once daily with 10 milligrams of adefovir dipivoxil combined with lamivudine. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1586-1588
- Benhamou Y. Treatment algorithm for chronic hepatitis B in HIV-infected patients. *J Hepatol* 2006; 44: S90-S94
- 邵幼林, 张锁才, 陈良云, 吴金华, 赵卫峰. LAM耐药后ADV序贯治疗再耐药HBV变异株的动态变化. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1895-1901
- Benhamou Y, Bochet M, Thibault V, Di Martino V, Caumes E, Bricaire F, Opolon P, Katlama C, Poynard T. Long-term incidence of hepatitis B virus resistance to lamivudine in human immunodeficiency virus-infected patients. *Hepatology* 1999; 30: 1302-1306
- Lock ASF, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology* 2009; 50: 1-36
- Lim SG, Ng TM, Kung N, Krastev Z, Volfova M, Husa P, Lee SS, Chan S, Shiffman ML, Washington MK, Rigney A, Anderson J, Mondou E, Snow A, Sorbel J, Guan R, Rousseau F. A double-blind placebo-controlled study of emtricitabine in chronic hepatitis B. *Arch Intern Med* 2006; 166: 49-56
- de Vries-Sluijs TE, Reijnders JG, Hansen BE, Zaaijer

- HL, Prins JM, Pas SD, Schutten M, Hoepelman AI, Richter C, Mulder JW, de Man RA, Janssen HL, van der Ende ME. Long-term therapy with tenofovir is effective for patients co-infected with human immunodeficiency virus and hepatitis B virus. *Gastroenterology* 2010; 139: 1934-1941
- 22 Benhamou Y, Fleury H, Trimoulet P, Pellegrin I, Urbinelli R, Katlama C, Rozenbaum W, Le Teuff G, Trylesinski A, Piketty C. Anti-hepatitis B virus efficacy of tenofovir disoproxil fumarate in HIV-infected patients. *Hepatology* 2006; 43: 548-555
- 23 Avihingsanon A, Lewin SR, Kerr S, Chang JJ, Piyaawat K, Napissanant N, Matthews GV, Dore GJ, Bowden S, Lange J, Ruxrungtham K. Efficacy of tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine compared with emtricitabine alone in antiretroviral-naïve HIV-HBV coinfection in Thailand. *Antivir Ther* 2010; 15: 917-922
- 24 Schmutz G, Nelson M, Lutz T, Sheldon J, Bruno R, von Boemmel F, Hoffmann C, Rockstroh J, Stoeckl A, Wolf E, Soriano V, Berger F, Berg T, Carlebach A, Schwarze-Zander C, Schürmann D, Jaeger H, Mauss S. Combination of tenofovir and lamivudine versus tenofovir after lamivudine failure for therapy of hepatitis B in HIV-coinfection. *AIDS* 2006; 20: 1951-1954
- 25 Matthews GV, Seaberg E, Dore GJ, Bowden S, Lewin SR, Sasadeusz J, Marks P, Goodman Z, Philp FH, Tang Y, Locarnini S, Thio CL. Combination HBV therapy is linked to greater HBV DNA suppression in a cohort of lamivudine-experienced HIV/HBV coinfecting individuals. *AIDS* 2009; 23: 1707-1715
- 26 Alvarez-Uria G, Ratcliffe L, Vilar J. Long-term outcome of tenofovir disoproxil fumarate use against hepatitis B in an HIV-coinfecting cohort. *HIV Med* 2009; 10: 269-273
- 27 Amini-Bavil-Olyaei S, Herbers U, Sheldon J, Luedde T, Trautwein C, Tacke F. The rtA194T polymerase mutation impacts viral replication and susceptibility to tenofovir in hepatitis B e antigen-positive and hepatitis B e antigen-negative hepatitis B virus strains. *Hepatology* 2009; 49: 1158-1165
- 28 Sasadeusz J, Audeley J, Mijch A, Baden R, Caro J, Hunter H, Matthews G, McMahon MA, Olender SA, Siliciano RF, Lewin SR, Thio CL. The anti-HIV activity of entecavir: a multicentre evaluation of lamivudine-experienced and lamivudine-naïve patients. *AIDS* 2008; 22: 947-955
- 29 Pessoa MG, Gazzard B, Huang AK, Brandão-Mello CE, Cassetti I, Mendes-Corrêa MC, Soriano V, Phiri P, Hall A, Brett-Smith H. Efficacy and safety of entecavir for chronic HBV in HIV/HBV coinfecting patients receiving lamivudine as part of antiretroviral therapy. *AIDS* 2008; 22: 1779-1787
- 30 Lin K, Karwowska S, Lam E, Limoli K, Evans TG, Avila C. Telbivudine exhibits no inhibitory activity against HIV-1 clinical isolates in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 2670-2673
- 31 Hammer SM, Eron JJ Jr, Reiss P, Schooley RT, Thompson MA, Walmsley S, Cahn P, Fischl MA, Gatell JM, Hirsch MS, Jacobsen DM, Montaner JS, Richman DD, Yeni PG, Volberding PA. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *JAMA* 2008; 300: 555-570
- 32 Sasadeusz J, Audeley J, Mijch A, Baden R, Caro J, Hunter H, Matthews G, McMahon MA, Olender SA, Siliciano RF, Lewin SR, Thio CL. The anti-HIV activity of entecavir: a multicentre evaluation of lamivudine-experienced and lamivudine-naïve patients. *AIDS* 2008; 22: 947-955
- 33 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 临床肝胆病杂志 2011; 27: I-XVI
- 34 Iser DM, Lewin SR. Treatment of hepatitis B virus (HBV) in the setting of HIV-HBV co-infection. *Asian Biomed* 2009; 3: 15-27
- 35 EACS guidelines 2009: Available from: <http://www.europeanaidscinicalsociety.org/guidelines.asp>

同行评价

本文对HBV/HIV重叠感染的抗病毒治疗进行了较充分的分析, 具有较好的科学性、创新性和可读性, 较好地反映我国或国际胃肠病学临床和基础研究的先进水平, 具有较重要的指导意义。

编辑 李军亮 电编 李薇

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WJG 总被引频次排名位于第 174 名

本刊讯 *World Journal of Gastroenterology* (WJG)被Science Citation Index Expanded (SCIE)和MEDLINE等国际重要检索系统收录, 在国际上享有较高声誉和影响力。WJG在PubMed Central (PMC)统计, 单月独立IP地址访问58 257次, 全文网络版(HTML Full Text)下载94 888次, 全文PDF下载59 694次。另外根据基本科学指标库(essential science indicators)统计, 2000-01-01/2010-12-31, SCIE检索的临床医学(clinical medicine)期刊有1 105种, 总被引频次排名, WJG位于第174名。(2011-05-14 马连生 董事长/总编辑)

HBV/HCV重叠感染的抗病毒治疗

谭友文

■背景资料

HBV/HCV重叠感染可以加速肝脏疾病的发展,更易发展为肝硬化和肝细胞癌,对于感染造成肝纤维化、肝硬化或有发展肝细胞癌危险因素的患者建议抗病毒治疗,对重叠感染的治疗,需根据不同的临床模式进行评估,采用不同的治疗方案。但在治疗前后均需监测HBV和HCV病毒学指标和生化学指标的变化,防止“优势”模式的转换而出现肝炎的复发。

谭友文, 江苏大学临床医学院传染病教研室 镇江市第三人民医院肝病科 江苏省镇江市 212000

谭友文, 主任医师, 副教授, 主要从事病毒性肝炎的基础与临床工作。

通讯作者: 谭友文, 主任医师, 副教授, 212000, 江苏省镇江市润州区300号, 镇江市第三人民医院肝病科, 江苏大学临床医学院传染病教研室. tyw915@sina.com

电话: 0511-88925605

收稿日期: 2011-01-17 修回日期: 2011-05-17

接受日期: 2011-05-24 在线出版日期: 2011-05-28

Antiviral treatment of hepatitis B virus and hepatitis C virus co-infection

You-Wen Tan

You-Wen Tan, Department of Hepatology, the Third People's Hospital of Zhenjiang; Department of Infectious Diseases, Clinical College of Jiangsu University, Zhenjiang 212000, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Associate Professor You-Wen Tan, the Third People's Hospital of Zhenjiang; Department of Infectious Diseases, Clinical College of Jiangsu University, Zhenjiang 212000, Jiangsu Province, China. tyw915@sina.com

Received: 2011-01-17 Revised: 2011-05-17

Accepted: 2011-05-24 Published online: 2011-05-28

Abstract

Hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) infections are among the most common causes of advanced chronic liver disease worldwide. HBV/HCV co-infection is not uncommon with an estimated 7-20 million individuals affected worldwide. Patients with HBV/HCV co-infection have an increased risk of cirrhosis, hepatocellular carcinoma (HCC), and even death. The pathophysiology of HBV/HCV co-infection is complex, as different patterns of virological dominance may occur, which can even fluctuate over time. Recently, combination of pegylated interferon (PEG-IFN) plus ribavirin has been explored in HBV/HCV-coinfected patients who are positive for HCV-RNA. In this paper, we summarize the epidemiology, viral interaction and clinical features of HBV/HCV co-infection and the available treatment options. Detailed serological and virological evaluations are required for HBV/HCV-co-infected patients before initiation of antiviral therapy. At present, PEG-IFN- α plus ribavirin should be the treat-

ment of choice in patients with dominant HCV replication. However, HBV rebound may occur after elimination of HCV, and thus close monitoring for both viruses is recommended even for patients with initially suppressed HBV DNA.

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

Tan YW. Antiviral treatment of hepatitis B virus and hepatitis C virus co-infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1614-1619

摘要

从全球范围看,乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)重叠感染估计约有700-2000万人口感染。重叠感染和单一HBV或HCV感染比较,更易发展为肝硬化、肝细胞癌甚至肝衰竭的比例也高,HBV和HCV重叠感染可有四种不同的临床模式,即HCV活动伴HBV非活动,HBV活动伴HCV非活动,HBV与HCV混合感染,HBV与HCV病毒均不可测,对重叠感染的治疗,需根据不同的临床模式进行评估,采用不同的治疗方案,治疗前后均需监测HBV和HCV病毒学指标和生化学指标的变化,防止“优势”模式的转换而出现肝炎的复发。

关键词: 乙型肝炎病毒; 丙型肝炎病毒; 感染

谭友文. HBV/HCV重叠感染的抗病毒治疗. *世界华人消化杂志* 2011; 19(15): 1614-1619

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1614.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)是两种可以导致慢性肝炎、肝硬化甚至肝细胞癌的病毒,全球范围看,慢性乙肝感染者有3.5亿,慢性丙肝感染者有1.3亿^[1,2]。那两者的重叠感染必然成为不可避免的事实。从现有文献看,两者的重叠感染较单一感染有更大的发展成肝硬化、肝细胞癌的风险^[3,4],由于两种病毒的相互作用,使HBV/

■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学第二医院感染科

HCV重叠感染的治疗要远复杂于HBV和HCV的单一感染,理想的抗病毒治疗是两种病毒都能清除,HBV/HCV重叠感染的治疗和单一感染抗病毒治疗,需要在抗病毒前进行评估,即何种病毒起主导作用或者说,对肝脏的损害以哪种为主.我国是HBV高发区,同样也是HCV感染高发区,HBV/HCV重叠感染众多,急需规范化的诊疗指南推荐,但有关HBV/HCV混合感染的研究却很少,尤其关于自然史、感染的治疗结果等都是需要迫切了解的问题.作者复习近年关于HBV/HCV重叠感染的文献资料,对HBV/HCV重叠感染的研究现状进行总结,对临床工作有一定的指导作用.

1 流行病学

HBV/HCV重叠感染并不少见,多流行在乙肝高发区,如亚洲、非洲和南美^[5-7],在低流行区感染人口约0.9%-5%^[8],在一些高流行区,甚至超过25%,全球HBV/HCV混合感染人口约700-2 000万,在我国台湾地区感染率约0.4%-2.0%,大陆和香港地区感染率约0.60%-1.74%,在慢性携带者发现约有11.4%-14.5%患者抗HCV阳性^[9-12].感染人群主要集中在静脉毒品使用者、AIDS患者、多脏器损伤、血透以及不洁血制品使用者^[13,14].HBV/HCV重叠感染的实际人数可能远高于报道的,由于隐匿性乙肝(HBV DNA阳性,但HBsAg阴性)的存在. HBV/HCV混合感染受关注的主要是由于可能导致严重肝脏疾病和增加肝细胞癌的风险^[15,16],台湾一份12 008例居民10年的随访资料显示,HBV/HCV重叠感染者和单纯HCV感染比较有更大的肝细胞癌风险(4.46%比2.98%). Liaw等也证明了HBsAg阳性携带者伴HCV重叠感染,与慢性乙肝比较更易肝硬化和肝细胞癌(31.3% vs 17.2%; 9.4% vs 4.7%). 更多文献证实了HBV/HCV重叠感染不仅增加肝细胞癌的风险,更是增大了与肝病相关的疾病死亡^[3,17-19].

1.1 隐匿性HBV与HCV重叠感染 隐匿性HBV是指血清HBV DNA持续阳性,但HBsAg阴性的乙肝患者^[20,21],在慢性丙肝经常发现隐匿性HBV的存在^[22],尤其在亚洲^[22,23]、南欧特别是意大利近1/3慢性丙肝发现乙肝病毒复制,但HBsAg阴性^[24,25].这种混合感染认为更易发展成肝硬化并且干扰素的治疗效果也差^[24,26-30].可是也有文献认为,HBV感染是否活动与肝炎的临床转归和严重程度无关^[31,32].因此,隐匿性HBV与HCV混合感染

的流行病学资料仍需要严格的队列研究.

1.2 HBV与HCV混合感染 HBV与HCV混合感染或者同时感染,文献报道并不多,文献第1例是由Liaw等报道的,这是一个针刺的意外暴露病例^[33],6 wk内获得了血清学的证实.另1例是由于输血后感染的, Baginski等^[34]也迅速发现了HBs的血清转换.因此认为HBV的清除或低水平表达与HCV有关.可Alberti等认为两种病毒的混合感染和单一HBV或HCV的病毒清除并无多大关系.

在HBV流行地区,慢性HBV携带和HCV重叠感染更多见^[23,35],文献认为慢性HBV携带感染上急性丙肝,有更高的重症化倾向和死亡率^[36,37].相反的资料认为,急性丙肝的感染可以有助于HBV的暂时和永久性消失^[38]. Liaw等^[16]发现,发生在慢性HBV的慢性HCV和单一慢性HCV比较,10年发展成肝硬化的患者为48%,20年后发展成肝癌为32%,显然更高.和HCV感染在HBV患者相比,急性HBV感染在慢性HCV的发生更少.这样的病例往往发生在特殊的人群,如静脉药瘾者,多性伴者.

2 病毒的相互作用

HBV与HCV病毒之间的相互作用如何?从HBV流行区的观察来看,HBV/HCV重叠感染的个体其HCV RNA水平和单一HCV感染的患者水平相当,但其HBV DNA水平却比单一HBV感染的患者水平低.从慢性乙肝混合感染HCV的个体发现,e抗原血清转换甚至HBsAg清除更以发生,这些资料提示HBV与HCV重叠感染,更利于HBV的抑制,并认为HBV的复制受到了HCV的抑制.这个结果可以解释,在HBV高流行区,为什么隐形乙肝多见于伴有HCV感染者.同样的,在以HCV感染为“优势”的重叠感染中,伴有HBV高复制的患者比低水平的,其HCV RNA往往更低.所以认为,这两种病毒相互抑制,当一种病毒处于活动状态(HCV RNA>50 000 kIU/L;或HBV DNA>2 000 kIU/L),而另一种病毒往往处于抑制状态(HCVRNA阴性或HBV DNA阴性或<2 000 kIU/L).并且发现在肝组织HBV DNA聚合酶,HBsAg和HBcAg表达下降^[5,39-41].急性HCV感染不仅抑制HBV DNA,而且促进HBe血清学转换,甚至HBsAg清除^[42,43].

HBV与HCV重叠感染最少有4种临床模式,HCV活动伴HBV非活动,HBV活动伴HCV非活动,HBV与HCV混合感染,HBV与HCV病毒均不可测,在我国大多表现为HCV活动伴HBV非活

■研发前沿

重叠感染如果以丙肝为优势感染,Peg-干扰素与利巴韦林应该为首选,如果乙肝优势感染的,是否需要加用核苷类似物,仍需要更多的临床数据.

■相关报道

Liaw等也证明了HBsAg阳性携带者伴HCV重叠感染,与慢性乙肝比较更易肝硬化和肝细胞癌。

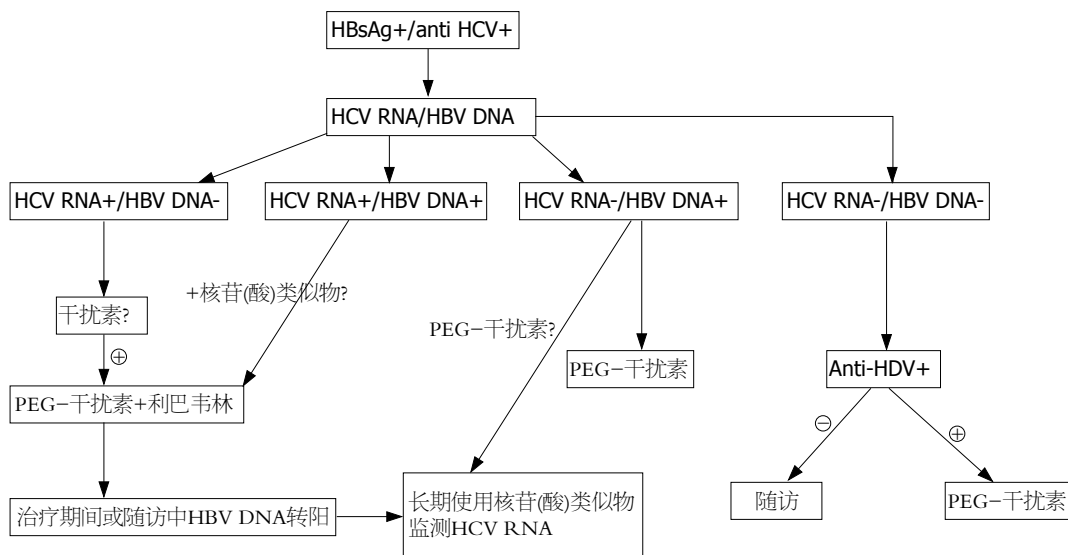


图1 HBV/HCV重叠感染的抗病毒治疗的建议. 在不同时间段至少检查2次.

动. 现有的大多数资料未充分考虑病毒的不同模式. 一份来自以色列的多中心资料对不同的重叠感染模式进行了长期的随访, 共有133例未进行治疗的HBV与HCV重叠感染患者, 分别属于上述4种病毒学模式, 经过1-2年的随访, 发现约32例(31%)在动态观察中出现了模式的转变, 这种现象的存在, 是在临床进行治疗前需要评估的. 在抗病毒治疗过程中, 两种病毒间的相互作用以至优势模式的转变是不得不关注的. 如丙肝病毒被抗病毒抑制, 也许乙肝病毒会再燃甚至导致严重的肝炎发作^[44,45].

但是病毒之间的这种相互作用机制却知道甚少, HBV和HCV均为嗜肝病毒, 两者单独感染机体均可以引起特异体液免疫和细胞毒T淋巴细胞反应, HBV往往引起的反应强烈, 可以清除HBV并免疫损伤肝细胞, 而HCV由于其表位的高度突变性, 免疫反应较弱, 也正是如此HCV感染易慢性化, 相反, 肝损伤也较轻. 那HBV和HCV同时感染肝细胞, 为什么两者似乎相互抑制? 早期体外研究显示, 在Huh-7细胞同时感染HBV和HCV, 可见HCV肝炎核心蛋白抑制HBV-DNA的转录. 但新的研究认为HBV和HCV在肝细胞混合感染并相互抑制是不可能的^[46,47]. 机体对病毒的不同免疫反应更让人信服.

3 HBV/HCV重叠感染的抗病毒治疗

HBV/HCV重叠感染治疗的首要目的仍是持续和长久地抑制和清除HBV/HCV病毒, 减少肝组织的炎症反应, 阻止肝纤维化的发展, 最终减少肝硬化及肝细胞癌的发生, 达到延长寿命^[48]. 由

于HBV/HCV重叠感染的抗病毒治疗数据的有限, 目前还没有对这种特殊感染状态的抗病毒指南^[49]. 个体化治疗是治疗准则, 对病毒学特点、曾经的抗病毒治疗史以及是否伴有其他病毒的感染如HDV、HIV等均需考虑. 我们复习文献, 对HBV/HCV重叠感染的抗病毒治疗的建议如图1. 治疗慢性乙肝的药物有干扰素、Peg-干扰素、拉米夫定、阿德福韦、恩替卡韦、替比夫定和替诺福韦. 慢性丙肝的治疗药物干扰素、Peg-干扰素与利巴韦林.

3.1 干扰素(加利巴韦林) 干扰素对两种病毒均有抑制作用, 干扰素治疗HBV和HCV的文献很多, 但对混合感染治疗的经验却很少, 总之, 常规治疗剂量对混合感染的疗效很差, 但如果提高使用剂量, 900万, 3次/wk, 可以明显提高HCV RNA的清除, HBeAg的转换或HBV DNA的抑制^[50]. 干扰素与利巴韦林治疗HBV/HCV重叠感染, 据报道的几篇文献看^[51-53], 24 wk HCV RNA的持久应答率43%-69%, HBV DNA不可测达11%-35%. 但HBsAg消失率1年可达14%, 2年后到21%.

3.2 干扰素加拉米夫定 干扰素加拉米夫定治疗HBV/HCV重叠感染, 目前仅见1篇文献报道^[54], 8例患者均为HBeAg、HBV DNA、HCV RNA阳性, 使用500万干扰素和拉米夫定100 mg/d, 治疗12 mo, HCV RNA转阴4例, HBeAg消失3例, 血清转换2例, 3例HBV DNA不可测. 可以看到, 干扰素和核苷(酸)类似物联用可以用于HBV“优势”的HBV/HCV重叠感染, 但例数尚少, 拉米夫定不是最佳的HBV抑制药物, 其他核苷(酸)类似物可能也可以使用于重叠感染, 尤其推荐

HBV“优势”型重叠感染或干扰素使用后出现的HBV DNA反弹。

3.3 Peg-干扰素与利巴韦林 Peg-干扰素与利巴韦林是治疗慢性丙肝的金标准药物,对慢性乙肝HBV DNA的持久应答率也有20%-30%。这两种药物也常是HBV/HCV重叠感染的治疗选择^[54,55],一份多中心的临床试验显示^[56],19例HBV/HCV混合感染患者,均为HCV优势感染,其中13例HBV DNA不可测水平,10例为HCV基因1型,所有患者治疗48 wk,14例获得了HCV RNA应答。在6例HBV DNA阳性中2例转变为不可测,2例病毒量下降,2例保持阳性。需要注意的是,原来13例HBV DNA不可测水平的患者中有4例转阳,这4例均有HCV RNA转阴(<2 000 kIU/L),其中1例HBV DNA 5.0×10^9 IU/L。但这几例病毒学反跳没有出现生化反弹。一份来自台湾的多中心资料显示^[54],161例混合感染者接受Peg-干扰素与利巴韦林治疗,疗程结束,HCV基因1型的有72%获得了HCV病毒学应答,83%非HCV基因1型获得了HCV病毒学应答,56%的患者同样也获得了HBV病毒学应答。来自我国一份资料显示,使用Peg-干扰素与利巴韦林治疗50例HBV/HCV重叠感染,其中46例认为是HCV优势型,4例为HBV优势型,发现24 wk对基因1型的HCV RNA的早期应答(50.0%, 15/30)要远好于单一的HCV感染(16.0%, 4/25);但HCV RNA的反跳又远高于单一的HCV感染(55.6%, 15/27: 21.4%, 3/14)。同样看到,两者间的远期应答却无差异(40.0%, 12/30: 44.0%, 11/25)。并注意到,联合治疗的副作用,重叠感染要高于单一感染(30%, 15/50: 13%, 6/46)^[57]。

目前的文献认为,重叠感染如果以丙肝为优势感染,Peg-干扰素与利巴韦林应该为首选,如果乙肝优势感染的,是否需要加用核苷类似物,仍需要更多的临床数据。

4 结论

HBV/HCV重叠感染可以加速肝脏疾病的发展,更易发展为肝硬化和肝细胞癌,对重叠感染引起的肝衰竭不建议抗病毒治疗,而推荐肝移植。对于感染造成肝纤维化、肝硬化或有发展肝细胞癌危险因素的患者建议抗病毒治疗,治疗方案可以选用Peg-干扰素与利巴韦林加或不加乙肝病毒抑制药物。两种病毒间的相互抑制作用可能贯穿始终。在抗病毒前,对患者血清病毒学和生化学要进行至少3-6 mo的监测,并评价“优

势感染”病毒,根据上文的推荐选择抗病毒方案。在治疗期间和停药后6 mo,应该严密监测血清病毒学和生化学指标,因为少数文献报道,在治疗期间和停药后出现了肝炎的发作。

对于HBV/HCV重叠感染抗病毒治疗,我们仍然知之甚少,如对抗病毒疗效是否存在地域性差距,对干扰素的应答是否和HBV, HCV单一感染一样,核苷(酸)类似物的加用能否抑制HBV的反弹等。

5 参考文献

- 1 de Franchis R, Hadengue A, Lau G, Lavanchy D, Lok A, McIntyre N, Mele A, Paumgartner G, Pietrangelo A, Rodés J, Rosenberg W, Valla D. EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. 13-14 September, 2002 Geneva, Switzerland. Consensus statement (long version). *J Hepatol* 2003; 39 Suppl 1: S3-25
- 2 Naoumov NV. Hepatitis C virus infection in Eastern Europe. *J Hepatol* 1999; 31 Suppl 1: 84-87
- 3 Liu CJ, Liou JM, Chen DS, Chen PJ. Natural course and treatment of dual hepatitis B virus and hepatitis C virus infections. *J Formos Med Assoc* 2005; 104: 783-791
- 4 Liaw YF, Chen YC, Sheen IS, Chien RN, Yeh CT, Chu CM. Impact of acute hepatitis C virus superinfection in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 2004; 126: 1024-1029
- 5 Crespo J, Lozano JL, de la Cruz F, Rodrigo L, Rodríguez M, San Miguel G, Artiñano E, Pons-Romero F. Prevalence and significance of hepatitis C viremia in chronic active hepatitis B. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 1147-1151
- 6 Pontisso P, Ruvoletto MG, Fattovich G, Chemello L, Gallorini A, Ruol A, Alberti A. Clinical and virological profiles in patients with multiple hepatitis virus infections. *Gastroenterology* 1993; 105: 1529-1533
- 7 Rudowska E, Basta L, Piwowarska G, Drybańska B, Dylag S. [The epidemiological trends connected with detection of HIV, HCV, HBV and syphilis markers in blood donors in the years 2006-2009]. *Pol Merkur Lekarski* 2011; 30: 181-186
- 8 Lavin L, Faliu B, Bessa Z, Houssin D. [National control plan for hepatitis B and C, 2009-2012: public health issues]. *Rev Prat* 2011; 61: 8-9
- 9 Custer B, Sullivan SD, Hazlet TK, Iloeje U, Veenstra DL, Kowdley KV. Global epidemiology of hepatitis B virus. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: S158-S168
- 10 Li W, Zhu Y, Hua Z. [Exploration on the association between the pattern of HBV markers and infection of HCV among population]. *Zhonghua Liuxing Bingxue Zazhi* 1994; 15: 212-214
- 11 Zhu B, Wu N, Qiang L, Shao Y. [The serologic study on the blood transmission origin of HIV]. *Zhonghua Liuxing Bingxue Zazhi* 2000; 21: 140-142
- 12 Liu CJ, Chen PJ, Chen DS. Dual chronic hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Hepatol Int* 2009; 3: 517-525
- 13 Reimer J, Lorenzen J, Baetz B, Fischer B, Rehm J, Haasen C, Backmund M. Multiple viral hepatitis in injection drug users and associated risk factors. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 80-85
- 14 Kliem V, Burg M, Haller H, Suwelack B, Abendroth

同行评价

本文选题准确,有一定临床参考价值。

- D, Fritsche L, Fornara P, Pietruck F, Frei U, Donauer J, Lison AE, Michel U. Relationship of hepatitis B or C virus prevalences, risk factors, and outcomes in renal transplant recipients: analysis of German data. *Transplant Proc* 2008; 40: 909-914
- 15 Sagnelli E, Coppola N, Messina V, Di Caprio D, Marrocco C, Marotta A, Onofrio M, Scolastico C, Filippini P. HBV superinfection in hepatitis C virus chronic carriers, viral interaction, and clinical course. *Hepatology* 2002; 36: 1285-1291
- 16 Liaw YF, Yeh CT, Tsai SL. Impact of acute hepatitis B virus superinfection on chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2978-2980
- 17 Di Marco V, Lo Iacono O, Cammà C, Vaccaro A, Giunta M, Martorana G, Fuschi P, Almasio PL, Craxi A. The long-term course of chronic hepatitis B. *Hepatology* 1999; 30: 257-264
- 18 Amin J, Law MG, Bartlett M, Kaldor JM, Dore GJ. Causes of death after diagnosis of hepatitis B or hepatitis C infection: a large community-based linkage study. *Lancet* 2006; 368: 938-945
- 19 Osella AR, Misciagna G, Guerra VM, Chiloiro M, Cuppone R, Cavallini A, Di Leo A. Hepatitis C virus (HCV) infection and liver-related mortality: a population-based cohort study in southern Italy. The Association for the Study of Liver Disease in Puglia. *Int J Epidemiol* 2000; 29: 922-927
- 20 McCall D, Henderson GI, Gray P, Schenker S. Ethanol effects on active Na⁺ and K⁺ transport in cultured fetal rat hepatocytes. *Biochem Pharmacol* 1989; 38: 2593-2600
- 21 Hollinger FB, Sood G. Occult hepatitis B virus infection: a covert operation. *J Viral Hepat* 2010; 17: 1-15
- 22 Sagnelli E, Imperato M, Coppola N, Pisapia R, Sagnelli C, Messina V, Piai G, Stanzione M, Bruno M, Moggio G, Caprio N, Pasquale G, Del Vecchio Blanco C. Diagnosis and clinical impact of occult hepatitis B infection in patients with biopsy proven chronic hepatitis C: a multicenter study. *J Med Virol* 2008; 80: 1547-1553
- 23 Torbenson M, Thomas DL. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 479-486
- 24 Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Orlando ME, Raimondo G. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999; 341: 22-26
- 25 Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Cacciola I, Raffa G, Craxi A, Farinati F, Missale G, Smedile A, Tiribelli C, Villa E, Raimondo G. Hepatitis B virus maintains its pro-oncogenic properties in the case of occult HBV infection. *Gastroenterology* 2004; 126: 102-110
- 26 Fukuda R, Ishimura N, Niigaki M, Hamamoto S, Satoh S, Tanaka S, Kushiya Y, Uchida Y, Iihara S, Akagi S, Watanabe M, Kinoshita Y. Serologically silent hepatitis B virus coinfection in patients with hepatitis C virus-associated chronic liver disease: clinical and virological significance. *J Med Virol* 1999; 58: 201-207
- 27 Zignego AL, Fontana R, Puliti S, Barbagli S, Monti M, Carecchia G, Giannelli F, Giannini C, Buzzelli G, Brunetto MR, Bonino F, Gentilini P. Relevance of inapparent coinfection by hepatitis B virus in alpha interferon-treated patients with hepatitis C virus chronic hepatitis. *J Med Virol* 1997; 51: 313-318
- 28 Norton JE, Brédas JL. Polarization energies in oligoacene semiconductor crystals. *J Am Chem Soc* 2008; 130: 12377-12384
- 29 Mrani S, Chemin I, Menouar K, Guillaud O, Pradat P, Borghi G, Trabaud MA, Chevallier P, Chevallier M, Zoulim F, Trépo C. Occult HBV infection may represent a major risk factor of non-response to antiviral therapy of chronic hepatitis C. *J Med Virol* 2007; 79: 1075-1081
- 30 Miura Y, Shibuya A, Adachi S, Takeuchi A, Tsuchihashi T, Nakazawa T, Saigenji K. Occult hepatitis B virus infection as a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C in whom viral eradication fails. *Hepatol Res* 2008; 38: 546-556
- 31 Ramia S, Sharara AI, El-Zaatari M, Ramlawi F, Mahfoud Z. Occult hepatitis B virus infection in Lebanese patients with chronic hepatitis C liver disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008; 27: 217-221
- 32 Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Occult hepatitis B virus infection and clinical outcomes of patients with chronic hepatitis C. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4068-4071
- 33 Liaw YF, Chu CM, Chang-Chien CS, Wui CS. Simultaneous acute infections with hepatitis non-A, non-B, and B viruses. *Dig Dis Sci* 1982; 27: 762-764
- 34 Baginski I, Chemin I, Hantz O, Pichoud C, Jullien AM, Chevre JC, Li JS, Vitvitski L, Sninsky JJ, Treppe C. Transmission of serologically silent hepatitis B virus along with hepatitis C virus in two cases of posttransfusion hepatitis. *Transfusion* 1982; 32: 215-220
- 35 Chu CM, Yeh CT, Liaw YF. Fulminant hepatic failure in acute hepatitis C: increased risk in chronic carriers of hepatitis B virus. *Gut* 1999; 45: 613-617
- 36 Wu JC, Chen CL, Hou MC, Chen TZ, Lee SD, Lo KJ. Multiple viral infection as the most common cause of fulminant and subfulminant viral hepatitis in an area endemic for hepatitis B: application and limitations of the polymerase chain reaction. *Hepatology* 1994; 19: 836-840
- 37 Chu CM, Sheen IS, Liaw YF. The role of hepatitis C virus in fulminant viral hepatitis in an area with endemic hepatitis A and B. *Gastroenterology* 1994; 107: 189-195
- 38 Sagnelli E, Coppola N, Marrocco C, Onofrio M, Sagnelli C, Coviello G, Scolastico C, Filippini P. Hepatitis C virus superinfection in hepatitis B virus chronic carriers: a reciprocal viral interaction and a variable clinical course. *J Clin Virol* 2006; 35: 317-320
- 39 Sato S, Fujiyama S, Tanaka M, Yamasaki K, Kuramoto I, Kawano S, Sato T, Mizuno K, Nonaka S. Coinfection of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis B infection. *J Hepatol* 1994; 21: 159-166
- 40 Sheen IS, Liaw YF, Chu CM, Pao CC. Role of hepatitis C virus infection in spontaneous hepatitis B surface antigen clearance during chronic hepatitis B virus infection. *J Infect Dis* 1992; 165: 831-834
- 41 Fong TL, Di Bisceglie AM, Waggoner JG, Banks SM, Hoofnagle JH. The significance of antibody to hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1991; 14: 64-67
- 42 Liaw YF. Hepatitis C virus superinfection in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol* 2002; 37 Suppl 13: 65-68
- 43 Liaw YF, Lin SM, Sheen IS, Chu CM. Acute hepatitis C virus superinfection followed by spontaneous HBeAg seroconversion and HBsAg elimination. *Infection* 1991; 19: 250-251
- 44 Weltman MD, Brotodihardjo A, Crewe EB, Farrell

- GC, Bilous M, Grierson JM, Liddle C. Coinfection with hepatitis B and C or B, C and delta viruses results in severe chronic liver disease and responds poorly to interferon-alpha treatment. *J Viral Hepat* 1995; 2: 39-45
- 45 Yalçın K, Degerterkin H, Alp MN, Tekeş S, Satıcı O, Budak T. Determination of serum hepatitis B virus DNA in chronic HBsAg carriers: clinical significance and correlation with serological markers. *Turk J Gastroenterol* 2003; 14: 157-163
- 46 Eyre NS, Phillips RJ, Bowden S, Yip E, Dewar B, Locarnini SA, Beard MR. Hepatitis B virus and hepatitis C virus interaction in Huh-7 cells. *J Hepatol* 2009; 51: 446-457
- 47 Bellecave P, Gouttenoire J, Gajer M, Brass V, Koutsoudakis G, Blum HE, Bartenschlager R, Nassal M, Moradpour D. Hepatitis B and C virus coinfection: a novel model system reveals the absence of direct viral interference. *Hepatology* 2009; 50: 46-55
- 48 National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of hepatitis C: 2002-June 10-12, 2002. *Hepatology* 2002; 36: S3-S20
- 49 EASL Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2009; 50: 227-242
- 50 Villa E, Grottola A, Buttafoco P, Colantoni A, Bagni A, Ferretti I, Cremonini C, Bertani H, Manenti F. High doses of alpha-interferon are required in chronic hepatitis due to coinfection with hepatitis B virus and hepatitis C virus: long term results of a prospective randomized trial. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2973-2977
- 51 Chuang WL, Dai CY, Chang WY, Lee LP, Lin ZY, Chen SC, Hsieh MY, Wang LY, Yu ML. Viral interaction and responses in chronic hepatitis C and B coinfecting patients with interferon-alpha plus ribavirin combination therapy. *Antivir Ther* 2005; 10: 125-133
- 52 Manns MP, Wedemeyer H, Cornberg M. Treating viral hepatitis C: efficacy, side effects, and complications. *Gut* 2006; 55: 1350-1359
- 53 Liu CJ, Chen PJ, Chen DS. A forgotten population with chronic hepatitis C infection: subjects coinfecting with hepatitis B virus. *Hepatology* 2004; 40: 266; author reply 267-268
- 54 Yu ML, Lee CM, Chuang WL, Lu SN, Dai CY, Huang JF, Lin ZY, Hu TH, Chen CH, Hung CH, Wang JH, Chen CL, Kao JH, Lai MY, Liu CH, Su TH, Wu SS, Liao LY, Kuo HT, Chao YC, Tung SY, Yang SS, Chen PJ, Liu CJ, Chen DS. HBsAg profiles in patients receiving peginterferon alfa-2a plus ribavirin for the treatment of dual chronic infection with hepatitis B and C viruses. *J Infect Dis* 2010; 202: 86-92
- 55 Potthoff A, Wedemeyer H, Boecher WO, Berg T, Zeuzem S, Arnold J, Spengler U, Gruengreiff K, Kaeser T, Schuchmann M, Bergk A, Forestier N, Deterding K, Manns MP, Trautwein C. The HEP-NEC B/C co-infection trial: A prospective multicenter study to investigate the efficacy of pegylated interferon-alpha2b and ribavirin in patients with HBV/HCV co-infection. *J Hepatol* 2008; 49: 688-694
- 56 Potthoff A, Deterding K, Trautwein C, Rifai K, Manns MP, Wedemeyer H. Sustained HCV-RNA response and hepatitis Bs seroconversion after individualized antiviral therapy with pegylated interferon alpha plus ribavirin and active vaccination in a hepatitis C virus/hepatitis B virus-coinfecting patient. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19: 906-909
- 57 Yu JW, Sun LJ, Zhao YH, Kang P, Gao J, Li SC. Analysis of the efficacy of treatment with peginterferon alpha-2a and ribavirin in patients coinfecting with hepatitis B virus and hepatitis C virus. *Liver Int* 2009; 29: 1485-1493

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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)

HBV相关性肾炎的抗病毒治疗

熊清芳, 杨永峰

■背景资料

1989年在北京召开的乙型肝炎病毒相关性肾炎座谈会上, 正式将其命名为乙型肝炎病毒相关性肾小球肾炎(HBV-GN), 简称乙型肝炎肾炎, 常见临床表现与原发性肾小球肾炎相似, 以蛋白尿为主症, 甚至可出现肾病综合征表现。后期可出现肾功能减退, 最终进展到尿毒症期。其病理类型多样化表现, 最常见的是膜性肾小球肾炎, 其次是膜增殖性肾小球肾炎、系膜增生性肾小球肾炎、局灶节段性系膜增生或局灶节段硬化性肾小球肾炎及IgA肾病等。

熊清芳, 杨永峰, 南京市第二医院肝病科 江苏省南京市 210003

杨永峰, 医学博士, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 主要从事肝病的临床与基础研究。

作者贡献分布: 本综述由熊清芳完成, 杨永峰审核。

通讯作者: 杨永峰, 医学博士, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 210003, 江苏省南京市鼓楼区钟阜路1-1号, 南京市第二医院肝病科。yyf1972@tom.com

电话: 025-83626433

收稿日期: 2011-01-17 修回日期: 2011-05-20

接受日期: 2011-05-24 在线出版日期: 2011-05-28

Antiviral therapy in patients with hepatitis B virus-associated glomerulonephritis

Qing-Fang Xiong, Yong-Feng Yang

Qing-Fang Xiong, Yong-Feng Yang, Department of Hepatology, the Second Hospital of Nanjing, Nanjing 210003, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Professor Yong-Feng Yang, Department of Hepatology, the Second Hospital of Nanjing, Nanjing 210003, Jiangsu Province, China. yyf1972@tom.com
Received: 2011-01-17 Revised: 2011-05-20
Accepted: 2011-05-24 Published online: 2011-05-28

Abstract

Hepatitis B virus-associated glomerulonephritis (HBV-GN) is a common clinical condition. Up to now, the optimal therapy is undefined although several approaches have been made. This paper reviews the efficacy and safety of antiviral therapy (including interferon and lamivudine) in the treatment of HBV-GN. Interferon- α is efficacious in remission of proteinuria, clearance of HBeAg and delay of renal function deterioration. Remission of proteinuria is often accompanied by clearance of HBV replication markers. Corticosteroid treatment could not improve renal outcome in patients with HBV-GN.

Key Words: Hepatitis B virus; Glomerulonephritis; Antiviral therapy

Xiong QF, Yang YF. Antiviral therapy in patients with hepatitis B virus-associated glomerulonephritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1620-1623

摘要

乙型肝炎病毒相关性肾炎(hepatitis B virus

associated glomerulonephritis, HBV-GN)是HBV感染的表现之一。已有多种药物被用于治疗HBV-GN, 但迄今为止尚无最佳的治疗方案。抗病毒(包括干扰素和核苷类似物)治疗HBV-GN能有效抑制HBV复制、缓解蛋白尿, 且HBeAg的清除与蛋白尿的缓解密切相关, 并能在一定程度上延缓肾功能恶化的发生, 大多数患者耐受性好, 而糖皮质激素治疗HBV-GN, 其预后无明显改善。

关键词: 乙型肝炎病毒; 肾炎; 抗病毒治疗

熊清芳, 杨永峰. HBV相关性肾炎的抗病毒治疗. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1620-1623

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1620.asp>

0 引言

1971年Combes等首次发现膜性肾病伴有HBV抗原阳性患者, 并在其肾活检切片上发现了HBsAg, 此后乙型肝炎相关性肾病得到了众多学者的关注。1989年在北京召开的乙型肝炎病毒相关性肾炎座谈会上, 正式将其命名为乙型肝炎病毒相关性肾小球肾炎(hepatitis B virus associated glomerulonephritis, HBV-GN), 简称乙型肝炎肾炎, 常见临床表现与原发性肾小球肾炎相似, 以蛋白尿为主症, 甚至可出现肾病综合征表现。后期可出现肾功能减退, 最终进展到尿毒症期。其病理类型多样化表现, 最常见的是膜性肾小球肾炎, 其次是膜增殖性肾小球肾炎、系膜增生性肾小球肾炎、局灶节段性系膜增生或局灶节段硬化性肾小球肾炎及IgA肾病等。并先后采用了多种的治疗方法, 如类固醇激素、干扰素、拉米夫定、阿糖腺苷、中西医结合治疗等, 现治疗以抗病毒为主, 随着对HBV-GN的深入研究, 如何更好地抗病毒治疗及减少肾脏损害为目前研究之重点。本文对HBV-GN的抗病毒治疗进行综述。

1 我国HBV-GN治疗方案的演变和进展

1988年的HBV-GN治疗指南主张按照原发性的膜性肾病和膜增殖性肾炎治疗, 即用糖皮质激素

■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

素治疗HBV-GN, 但疗效一直有争议, 有报道认为糖皮质激素能缓解患者蛋白尿^[1,2], 对肾脏免疫损伤有一定作用; 但有报道与此正相反, 糖皮质激素不仅对肾病无效, 且有增加HBV复制的风险, 糖皮质激素突然撤出还能加重肝损伤^[3,4]. 因此, 这些研究不支持使用皮质类固醇治疗HBV相关性肾病. 同时临床研究发现, 不论是HBV的自然清除, 还是经抗病毒治疗后的有效应答, 都可使继发性肾病随之好转, 说明HBV-GN治疗的关键是清除HBV; 故在2000年版的诊疗方案中开始推荐干扰素(interferon, IFN)和阿糖腺苷等药物抗病毒治疗, 并提出“不宜应用免疫抑制剂”^[5], 此后大量证据表明抗病毒治疗对HBV-GN有效, 甚至对无肝功能损害, 和/或肝活检也正常的HBV-GN患者也有效^[6,7]. 因此在2008年的新指南^[8]中明确提出抗病毒治疗是HBV-GN主要的治疗方法, 也是其他治疗方法的基础, 对糖皮质激素治疗则采取更为灵活的方法, 指出在必要时使用(特别是膜增生性肾炎)又无活动性肝炎等禁忌情况下, 可以酌情谨慎使用, 忌单独使用.

2 HBV-GN的抗病毒治疗

抗乙型肝炎病毒其主要药物有IFN和核苷类药物. IFN包括聚乙二醇IFN和普通IFN; 主要的核苷类药物有拉米夫定(Lamivudine)、阿德福韦酯(Adefovir)、替比夫定、恩替卡韦(Entecavir). 2008年的指南推荐了IFN和拉米夫定, 具体的药物选择应根据患者的病情和意愿来决定.

2.1 IFN IFN与细胞膜受体结合, 改变细胞内有关酶的活力, 刺激抗病毒蛋白的生成, 从而抑制病毒mRNA信息的传递, 进一步抑制病毒繁殖, 并能激活巨噬细胞和单核细胞, 增加T抑制细胞、NK细胞活性, 增强免疫识别以清除被感染细胞. 有学者推测乙型肝炎患者是否发生肾脏损伤与患者内源性IFN- α 的浓度有关^[9], 对乙型肝炎相关性肾病, 使用IFN以提高并达到一定的IFN水平对防止病毒的肾损伤或损伤进展有一定作用. 王朝晖等^[10]对9例HBV相关肾炎患者予以IFN- α 治疗, 治疗有效者蛋白尿减少, 体内病毒复制下降, 由此证实病毒复制在HBV相关肾炎中的作用. 国内另外1项随机对照研究IFN- α 治疗HBV-GN患儿, 治疗组3 mo内蛋白尿消失并伴血清HBeAg阴转, 对照组50%仍有重度蛋白尿; 但停止IFN- α 治疗后可出现HBV DNA的阳转及蛋白尿的复发^[11]. 也有回顾性研究报道6 wk的IFN治疗对15例HBV-GN患者中8例的蛋白尿减轻有效,

且在停止IFN- α 治疗后仍保持一段时间缓解^[12].

IFN治疗效果与剂量、治疗时间有关, 还与性别、HBV DNA水平、ALT高低有一定关系. 女性、HBV DNA $<2 \times 10^{11}$ copies/L以及ALT高水平者常可取得较好疗效^[13]. 从各地研究来看, IFN剂量也因人而异. 同样用IFN- α 2b, Lai等^[1]采用3 MU每周肌注3次共3 mo, 1/5完全缓解, 但有报道对4例成人HBV-MPGN使用3 MU皮下注射, 每周3次持续6 mo, 蛋白尿均仍持续^[14]. Sithebe等^[15]增大剂量为10 MU/m²每周肌注3次共4 mo, 10/24完全缓解; Zhang等^[11]采用大剂量IFN- α 5 MU(体质量 <20 kg)或8 MU(体质量 ≥ 20 kg)长疗程(12 mo), 治疗组20例全部完全缓解, 且16例血清e抗原阴转. 2008年的新指南基本上在Chung等^[14]和Sithebe等^[15]观察基础上, 参考感染病学会观点^[16,17], 推荐治疗HBV-GN的IFN剂量为每次3-6 MU/m²(≤ 10 MU/m²), 每周肌注3次, HBeAg阳性者使用4-6 mo, 阴性者需治疗12 mo, 疗程至少3 mo, 长疗程(12 mo)效果更好. 该剂量明显高于2000年版HBV-GN诊疗方案中推荐剂量(1-3 MU/m²). 静止性HBsAg携带状态(HBsAg阳性, 血清ALT正常且血清HBV DNA测不出或低于正常低值)IFN- α 治疗无效, HBV复制期为IFN- α 的最佳适应证, 同时, 失代偿肝病者不适用, 拟行移植的患者也不应使用^[18].

普通IFN需长期注射, 依从性差, 聚乙二醇化IFN改变了普通IFN的药代动力学, 明显提高了IFN的生物学活性^[19], 每周注射1次, 延长了注射间隔, 同时使血药浓度更加稳定, 有报道聚乙二醇 α -2aIFN(Peg IFN- α -2a)治疗的应答率为常规IFN治疗的2倍, 依从性要明显好于普通IFN, 近2年才开始陆续用于儿童HCV相关性肾炎^[20], 但尚未见用于HBV-GN, 新指南也未作推荐.

2.2 拉米夫定 拉米夫定是核苷类抗病毒药, 作用于乙型肝炎病毒的DNA多聚酶, 从而抑制DNA合成和病毒复制, 有很好的抗病毒作用. 香港学者Tang等^[21]观察10例接受拉米夫定治疗的乙型肝炎病毒阳性并经肾活检证实的膜性肾病患者, 临床上同时有谷丙转氨酶升高和乙型肝炎病毒血症, 另有12例未经拉米夫定治疗的乙型肝炎相关性膜性肾病患者作为对照, 研究发现, 拉米夫定治疗组患者尿蛋白明显减少, 血清白蛋白增加, 谷丙转氨酶水平正常, 治疗1年内HBV DNA转阴, 4例患者在治疗6 mo时完全缓解, 6例患者在治疗12 mo时完全缓解; 未治疗组1例患者在随访6 mo时完全缓解, 3例患者在随访12

■研发前沿

HBV-GN治疗药物包括抗病毒药物、免疫抑制剂和免疫调节剂, 但关于HBV-GN的最佳治疗方案迄今尚无定论.

■应用要点

目前普遍认为,免疫抑制治疗对HBV-GN的预后无明显改善且有增加病毒复制的风险,而单纯的抗病毒治疗疗效尚可,HBV-GN的治疗应以抗病毒为主,以期在最短的时间内最大限度地抑制病毒复制。

mo时完全缓解,治疗组和未治疗组3年的肾存活率分别为100%和58%;两组患者的血压均控制达标,拉米夫定治疗耐受良好,无药物不良反应发生,随访过程中无肝硬化和肿瘤发生。研究者据此得出结论,在未进行抗病毒治疗以前,乙型肝炎相关性膜性肾病是导致终末期肾功能衰竭的重要原因,拉米夫定治疗不仅可减轻肝脏损害,而且可改善合并膜性肾病患者的远期预后。Khedmat等^[22]对10篇(共包含119例患者)研究进行Meta分析,结果显示所有使用拉米夫定的患者都有蛋白尿的缓解,其中72.7%完全缓解,并且在缓解后1年内没有复发,认为得出拉米夫定能有效地阻止乙型肝炎病毒相关性肾炎的进展。但由于拉米夫定耐药突变的比例较高,在长期治疗过程中应注意这一问题^[23]。

对不愿意注射治疗的儿童HBV-GN,新指南推荐采用拉米夫定口服治疗。该药物是目前唯一被FDA批准用于儿童的抗病毒核苷类药物,口服方便,依从性好,但停药易复发并能诱导病毒变异^[21,24]。其他核苷类药物如阿德福韦、恩替卡韦、替比夫定缺乏相关临床资料,且儿童患者安全性尚不清楚,新指南未作推荐。

2.3 恩替卡韦 恩替卡韦是一种口服的抗病毒药物,为环氧羟碳脱氧鸟苷,2005年由FDA批准用于慢性HBV感染的治疗。该药的适应证同拉米夫定,但疗效优于拉米夫定,耐药发生率低,3年耐药发生率约1%。对于拉米夫定诱导的耐药变异株有效,但剂量要加倍。一般推荐剂量核苷类初治患者为0.5 mg/d,对拉米夫定耐药者1 mg/d。恩替卡韦治疗乙型肝炎相关肾的报道较少, Ikee等^[25]报道1例有3年高血压史且肾活检诊断为HBV相关性膜性肾病的57岁女性患者,口服恩替卡韦4 mo内出现HBeAg血清学转换和HBV DNA转阴,随后蛋白尿完全缓解。病毒转阴后继续口服恩替卡韦1年,但停药3 mo后出现复发。

2.4 阿德福韦酯 阿德福韦酯通过抑制HBV DNA聚合酶,阻止DNA链的延长,抑制病毒的复制,对野生型HBV和拉米夫定耐药突变HBV都有抑制作用^[26]。目前尚未有对阿德福韦酯治疗HBV-GN的报道。但由于其潜在的肾毒性,用于HBV-GN的治疗应慎重。

2.5 替比夫定 替比夫定抑制HBV复制的活力较拉米夫定强,但两者有交叉耐药,1年后基因型耐药发生率为2.7%-4.4%,成人剂量为600 mg/d。目前尚未有用于HBV-GN的报道。

3 目前主要存在的问题

HBV-GN治疗的难点在于:(1)对于抗病毒疗效差、耐药等难治性患者,缺少特效治疗,对于肝硬化的患者,以肾病综合征为主的大量的尿蛋白丢失,加重了低蛋白血症,是促使腹水形成及腹腔感染,从而使病情加重的主要原因;(2)缺乏长期随访和重要的临床结局(如10年、20年肾存活率)报道;缺少大样本、多中心,多治疗方案的对比研究结果;(3)对于儿童病例,缺乏抗病毒治疗对生长发育的影响的研究;(4)需进一步观察对不同肾脏病理类型的HBV-GN的短期和长期疗效。

4 结论

HBV-GN治疗药物包括抗病毒药物(IFN及核苷类似物)、免疫抑制剂(糖皮质激素、吗替麦考酚酯和来氟米特)和免疫调节剂(阿糖腺苷联合胸腺刺激素),但关于HBV-GN的最佳治疗方案迄今尚无定论。目前普遍认为,免疫抑制治疗对HBV-GN的预后无明显改善且有增加病毒复制的风险,而单纯的抗病毒治疗疗效尚可,HBV-GN的治疗应以抗病毒为主,以期在最短的时间内最大限度地抑制病毒复制。对于抗病毒治疗无效、且无病毒复制指征、临床表现为肾病综合征或大量蛋白尿的患者,可考虑在严密监控病毒学指标的前提下短期试用免疫抑制剂治疗。遗憾的是,这些结论的提出仅以小样本临床研究或病例报道为依据,其可行性尚需通过大样本、多中心,多治疗方案的对比研究,使目前的治疗手段进一步提高。

5 参考文献

- 1 Lai KN, Tam JS, Lin HJ, Lai FM. The therapeutic dilemma of the usage of corticosteroid in patients with membranous nephropathy and persistent hepatitis B virus surface antigenaemia. *Nephron* 1990; 54: 12-17
- 2 Furuse A, Hattori S, Terashima T, Karashima S, Matsuda I. Circulating immune complex in glomerulonephropathy associated with hepatitis B virus infection. *Nephron* 1982; 31: 212-218
- 3 Cadrobbi P, Bortolotti F, Zacchello G, Rinaldi R, Armigliato M, Realdi G. Hepatitis B virus replication in acute glomerulonephritis with chronic active hepatitis. *Arch Dis Child* 1985; 60: 583-585
- 4 Hoofnagle JH, Davis GL, Pappas SC, Hanson RG, Peters M, Avigan MI, Waggoner JG, Jones EA, Seeff LB. A short course of prednisolone in chronic type B hepatitis. Report of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1986; 104: 12-17
- 5 Jefferson JA, Couser WG. Therapy of membranous nephropathy associated with malignancy and sec-

- ondary causes. *Semin Nephrol* 2003; 23: 400-405
- 6 Lai KN, Lai FM, Chan KW, Chow CB, Tong KL, Vallance-Owen J. The clinico-pathologic features of hepatitis B virus-associated glomerulonephritis. *Q J Med* 1987; 63: 323-333
 - 7 Hsu HC, Lin GH, Chang MH, Chen CH. Association of hepatitis B surface (HBs) antigenemia and membranous nephropathy in children in Taiwan. *Clin Nephrol* 1983; 20: 121-129
 - 8 周建华. 儿童常见肾脏疾病诊治循证指南(试行)解读(五): 乙型肝炎病毒相关性肾炎诊断和治疗. *中华儿科杂志* 2010; 48: 596-598
 - 9 张艳宁, 冯江敏, 王力宁. 乙型肝炎病毒相关性肾炎患者血清干扰素 α 检测的临床意义. *中国医科大学学报* 2002; 31: 205
 - 10 王朝晖, 陈楠, 任红, 张文, 陈晓农, 陆志檬. α -干扰素治疗成人乙型肝炎病毒相关肾炎的疗效观察. *中国实用内科杂志* 2006; 26: 121-123
 - 11 Zhang Y, Zhou JH, Yin XL, Wang FY. Treatment of hepatitis B virus-associated glomerulonephritis: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 770-777
 - 12 Conjeevaram HS, Hoofnagle JH, Austin HA, Park Y, Fried MW, Di Bisceglie AM. Long-term outcome of hepatitis B virus-related glomerulonephritis after therapy with interferon alfa. *Gastroenterology* 1995; 109: 540-546
 - 13 Sokal E. Drug treatment of pediatric chronic hepatitis B. *Paediatr Drugs* 2002; 4: 361-369
 - 14 Chung DR, Yang WS, Kim SB, Yu E, Chung YH, Lee Y, Park JS. Treatment of hepatitis B virus associated glomerulonephritis with recombinant human alpha interferon. *Am J Nephrol* 1997; 17: 112-117
 - 15 Sithebe NP, Kramvis A, Kew MC, Bhimma R, Coovadia HM, Naidoo P. Hepatitis B and C virus co-infection in black children with membranous nephropathy. *Pediatr Nephrol* 2002; 17: 689-694
 - 16 Shi Y, Wu YH, Shu ZY, Zhang WJ, Yang J, Chen Z. Interferon and lamivudine combination therapy versus lamivudine monotherapy for hepatitis B e antigen-negative hepatitis B treatment: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010; 9: 462-472
 - 17 Huang ZL, Zhao ZX, Deng H, Zhang YF, Lu CR, Gao ZL. [A pilot study of peginterferon alfa-2a combined with short-term lamivudine therapy in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2010; 18: 419-422
 - 18 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). *中华内科杂志* 2011; 50: 168-179
 - 19 Sugiyama T, Yamada T, Kimpara Y, Fujita N, Goto K, Koyama N. Effects of pegylated interferon alpha-2a on hepatitis-C-virus-associated glomerulonephritis. *Pediatr Nephrol* 2009; 24: 199-202
 - 20 Pawłowska M, Halota W. [The adherence in the treatment of chronic hepatitis C]. *Pol Merkur Lekarski* 2005; 18: 469-472
 - 21 Tang S, Lai FM, Lui YH, Tang CS, Kung NN, Ho YW, Chan KW, Leung JC, Lai KN. Lamivudine in hepatitis B-associated membranous nephropathy. *Kidney Int* 2005; 68: 1750-1758
 - 22 Khedmat H, Taheri S. Hepatitis B virus-associated nephropathy: an International Data Analysis. *Iran J Kidney Dis* 2010; 4: 101-105
 - 23 Ng YY, Yang WC, Lee ST. Long-term lamivudine therapy in hepatitis B-associated membranous nephropathy? *Kidney Int* 2006; 69: 776
 - 24 Okuse C, Yotsuyanagi H, Yamada N, Ikeda H, Takahashi H, Suzuki M, Kondo S, Kimura K, Koike J, Itoh F. Successful treatment of hepatitis B virus-associated membranous nephropathy with lamivudine. *Clin Nephrol* 2006; 65: 53-56
 - 25 Ikee R, Ishioka K, Oka M, Maesato K, Moriya H, Hidaka S, Ohtake T, Kobayashi S. Hepatitis B virus-related membranous nephropathy treated with entecavir. *Nephrology (Carlton)* 2010; 15: 266
 - 26 Herreros de Tejada Echanojáuregui A, Moreno Planas JM, Rubio González E, Portero Azorin F, López Monclús J, Revilla Negro J, Lucena de la Poza JL, Sánchez Turrión V, Barrios Peinado C, Cuervas-Mons Martínez V. Adefovir dipivoxil therapy in liver transplant recipients with lamivudine-resistant hepatitis B virus. *Transplant Proc* 2005; 37: 1507-1508

■同行评价

本文选题准确, 论述全面, 具有较好的参考价值.

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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.

儿童慢性乙型肝炎特征及抗病毒治疗

赵卫峰, 陈良云

■背景资料

2010-12, 中华医学会肝病学会和中华医学会感染病学分会联合制订了《慢性乙型肝炎防治指南2010年更新版》, 为临床医师正确处理慢性乙型肝炎提供了更新的参考依据。本文结合该指南相关内容, 对儿童慢性乙型肝炎特征及抗病毒治疗进行系统阐述, 方便广大医师对儿童慢性乙型肝炎做出正确的治疗选择。

赵卫峰, 苏州大学附属第一医院感染科 江苏省苏州市 215006

陈良云, 常熟市第二人民医院传染科 江苏省常熟市 215500
赵卫峰, 主任医师, 副教授, 研究生导师, 主要从事HBV抗病毒治疗和HBV的分子生物学研究。

作者贡献分布: 课题设计由赵卫峰完成, 写作由赵卫峰和陈良云共同完成。

通讯作者: 赵卫峰, 副教授, 215006, 江苏省苏州市十梓街188号, 苏州大学附属第一医院感染病科。

szzhaoweifeng@yahoo.com.cn

电话: 0512-67780393

收稿日期: 2011-01-17 修回日期: 2011-05-16

接受日期: 2011-05-24 在线出版日期: 2011-05-28

Viral hepatitis B in children: clinical characteristics and antiviral treatment

Wei-Feng Zhao, Liang-Yun Chen

Wei-Feng Zhao, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China

Liang-Yun Chen, Department of Infectious Diseases, the Second People's Hospital of Changshu City, Changshu 215500, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Associated Professor Wei-Feng Zhao, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China. szzhaoweifeng@yahoo.com.cn

Received: 2011-01-17 Revised: 2011-05-16

Accepted: 2011-05-24 Published online: 2011-05-28

Abstract

Chronic hepatitis B is a common and frequent disease occurring in children in China. Chronic hepatitis B virus infection during childhood may cause serious clinical consequences. Reasonable treatment is extremely important for children with therapeutic indications. However, there are many challenges in the treatment of chronic hepatitis B in children, such as treatment indications and the choice of antiviral therapy. This paper describes the natural history of HBV infection in children, indications for antiviral therapy, goals of antiviral treatment, and choice of antiviral drugs.

Key Words: Chronic hepatitis B; Child; Antiviral treatment

Zhao WF, Chen LY. Viral hepatitis B in children: clinical

characteristics and antiviral treatment. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1624-1628

摘要

在我国儿童中, 慢性乙型肝炎是常见病、多发病。儿童时期感染乙型肝炎病毒可致严重临床后果, 因此, 对有治疗指征患者及时采取合理治疗方案极为重要。而当前国内外对儿童慢性乙型肝炎的治疗尚存诸多问题及争论, 如: 儿童慢性乙型肝炎患者的治疗指征; 选择何种抗病毒药物进行治疗等。为方便广大医师对儿童慢性乙型肝炎做出正确的治疗选择, 本文对儿童乙型肝炎病毒感染的自然史、抗病毒治疗指征、抗病毒治疗目标以及抗病毒药物的选择进行系统阐述。

关键词: 慢性乙型肝炎; 儿童; 抗病毒治疗

赵卫峰, 陈良云. 儿童慢性乙型肝炎特征及抗病毒治疗. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1624-1628

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1624.asp>

0 引言

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是一个全球性公共卫生问题, 严重威胁人类健康。我国是CHB的高流行区, 2006年全国乙型肝炎流行病学调查表明, 我国1-59岁一般人群HBsAg携带率为7.18%, 5岁以下儿童的HBsAg携带率为0.96%^[1]。儿童时期感染乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)慢性化发生率高, 且可发生严重的肝脏损害, 包括肝硬化、肝衰竭, 甚至肝癌。当前对于儿童CHB的治疗目的主要是抑制病毒复制以阻止活动性肝细胞损害并增加HBeAg血清学转换率。但是, 对于儿童CHB患者抗病毒治疗的指征尚有争议, 尤其是对于血清HBV DNA水平较高而丙氨酸氨基转移酶(ALT)正常的患儿是否需要抗病毒治疗争议较大。近年来, 各种抗病毒药物的应用使得儿童CHB治疗取得重大进展, 同时, 由抗病毒药物所致的不良反应及抗病毒耐药问题也为临床医生带来了更大挑战。本文就儿童CHB的特征、抗病毒治疗指征及药物选

■同行评议者

金瑞, 教授, 首都医科大学附属北京佑安医院消化科

择作一简要概述.

1 儿童HBV感染的特征

儿童CHB与成人相比, 既有其相似性, 又具特殊性. 与成人相似, 儿童HBV感染的自然史一般可分为HBeAg阳性期(免疫耐受期)、HBeAg血清学转换期(免疫清除期)、HBeAg阴性期(低/非复制期)以及再活动期4个时期^[2].

1.1 免疫耐受期 第一时期即免疫耐受期, 主要特征为HBV复制活跃, 血清HBsAg、HBeAg阳性, HBV DNA水平较高($\geq 10^6$ IU/mL, 或者 10^7 copies/mL). 处于这一时期的儿童多无临床症状, 转氨酶水平处于正常值高限或轻度异常, 肝脏组织学检查提示轻微炎症或正常^[3]. 由于生命早期的HBV感染有更强的免疫耐受性, 感染HBV的年龄越早免疫耐受性越强. 围产期感染HBV, 如不阻断, 慢性化发生率在90%以上, 幼儿期感染HBV, 慢性化发生率为30%左右, 而成人期感染HBV, 慢性化发生率仅为5%-10%^[4].

1.2 免疫清除期 免疫清除期表现为血清HBV DNA滴度 $>10^4$ copies/mL, 但一般低于免疫耐受期, ALT/AST持续或间歇升高, 肝组织学有坏死炎症等表现. 自发HBeAg血清学转换多发生于青春期及成年早期, 而在3岁以前儿童较少见. 一项对415名儿童HBsAg携带者的随访研究发现, 平均年HBeAg血清学转换率在3岁以上儿童中为4%-5%, 而在<3岁患儿中, 这一比例仅为2%^[5].

1.3 低/非复制期 此时HBeAg消失, 而HBeAb出现, 转氨酶水平持续正常, 血清HBV DNA水平较低或是低于检测值下限($<2.0 \times 10^3$ IU/mL, 或者 10^4 copies/mL), ALT/AST水平正常. 这一时期的儿童可有非特异性的或是极轻微的肝脏纤维化^[6]. HBsAg的自发清除在儿童CHB患者中极少见($<1\%$ /年), 尤其是围生期感染并有轻微肝组织学改变的患儿更为罕见^[7].

1.4 再活动期 部分处于非活动期的患者可能出现一次或数次的肝炎发作, 多数表现为HBeAg阴性、抗-HBe阳性(部分是由于前C区与/或BCP变异所导致HBeAg表达水平低下或不表达), 但仍有HBV DNA活动性复制、ALT持续或反复异常, 成为HBeAg阴性慢性乙型肝炎^[8], 这些患者可进展为肝纤维化、肝硬化、失代偿肝硬化和原发性肝癌; 也有部分患者可出现自发性HBsAg消失(伴或不伴抗-HBs)和HBV DNA降低或检测不到, 因而预后常良好. 少部分此期患者可

回复到HBeAg阳性的状态(特别是在免疫抑制状态如接受化疗时).

2 抗病毒治疗指征

儿童及青少年血清HBsAg阳性超过6 mo以上, 伴有转氨酶水平升高及HBV DNA阳性的患者, 均应考虑抗病毒治疗. 对于血清HBV DNA $>10^5$ copies/mL, 转氨酶水平 >2 倍正常值上限者, 鉴于其HBeAg血清学转换率较高, 推荐及时采取合适抗病毒治疗方案^[9]. 与对照组相比, 采取抗病毒治疗的儿童CHB患者的HBeAg血清学转换率在转氨酶正常组、1-2倍正常值上限组以及大于5倍正常值上限组分别为 $<5\%$ 、 $5\%-10\%$ 以及 25% ^[10]. 然而, 尽管转氨酶水平可作为肝脏损伤的一个有用指标, 但是关于其正常值范围仍有争议. 既往曾建议男性与女性的转氨酶正常值上限分别为30和19 IU/L^[11]. 但儿童转氨酶正常值上限尚未确立. 对于青少年人群, 尚可适用于成人这一标准, 但对于年幼儿童, 转氨酶正常值上限可因实验室检查及年龄有较大差异. 当前专家建议只要儿童转氨酶水平 >40 IU/L, 或是大于该实验室检查正常值上限, 就认为转氨酶水平有升高^[12].

尽管血清ALT水平对肝损害极为敏感, 但ALT作为评价有无肝脏活动性病变及是否需要抗病毒治疗以及预后判断的指标, 尚存在一定的缺陷. 其升高的幅度与肝组织病变的严重程度并不呈一致关系. 研究表明, 约20% ALT正常的病例有汇管区炎和界面性炎; 10% ALT正常的病例有重度肝纤维化或肝硬化^[13]. 因此, 不宜片面将ALT水平升高作为IFN抗病毒治疗的必备条件, 建议对有条件者做肝脏组织学检查, 以免延误治疗时机.

除考虑转氨酶及HBV DNA两方面因素外, 一些特殊类型患者亦需综合考虑抗病毒治疗. 这些特殊患者包括: 代偿期或失代偿期肝硬化, 乙肝相关性肾炎, 肝移植, 合并有HCV/HIV/HDV感染, 有肝癌家族史等^[14]. 如对于代偿期肝硬化, 2007年AASLD指南中^[15]指出, 无论患者ALT $>2 \times$ ULN还是ALT正常或轻微升高, 若血清HBV DNA水平 >2000 IU/mL, 都应当考虑抗病毒治疗. 一旦有肝功能失代偿的倾向或明显的肝功能失代偿的肝炎患者应尽早治疗. 在接受免疫抑制剂或化疗前, 患者应检测HBsAg, 如果HBsAg阳性, 推荐在开始免疫抑制剂治疗或化疗前就预防性应用抗病毒药物, 直至结束后至

■ 研发前沿

当前对于儿童CHB的治疗目的主要是抑制病毒复制以阻止活动性肝细胞损害并增加HBeAg血清学转换率. 但是, 对于儿童CHB患者抗病毒治疗的指征尚有争议, 尤其是对于血清HBV DNA水平较高而丙氨酸氨基转移酶(ALT)正常的患儿是否需要抗病毒治疗争议较大.

■相关报道

研究显示, 延长拉米夫定治疗至24 mo, 对在治疗第1年末实现病毒学应答和ALT正常儿童无益处。

少12 wk^[16]。据报道, 20%-50%患者在接受激素等免疫抑制治疗或化疗后可导致HBV再活动^[17]。而在接受化疗的成人HBsAg阳性患者, 应用拉米夫定可使肝炎复发风险下降50%^[18]。

3 抗病毒治疗目标

儿童CHB抗病毒治疗总体目标与成人相似, 即最大限度地长期抑制HBV, 减轻肝细胞炎症坏死及肝纤维化, 延缓和阻止疾病进展, 减少和防止肝脏失代偿、肝硬化、肝细胞癌及其并发症的发生, 从而改善患者生活质量和延长存活时间^[19]。同时, 由于儿童CHB的漏诊及漏治是造成大量成人终末期肝病的重要因素之一, 更应加强对儿童CHB的关注, 对有适应证的患者及时采取合适抗病毒治疗方案, 从而阻止肝脏疾病的活动性进展, 降低成人活动进展型肝病和晚期重症肝病的发病率。

4 抗病毒药物选择

当前批准可用于治疗CHB的药物有两大类。一类是干扰素(IFN), 包括普通IFN和聚乙二醇干扰素(Peg IFN); 另一类是核苷(酸)类似物, 包括拉米夫定、阿德福韦酯、恩替卡韦、替比夫定和替诺福韦等。其中已有四种药物被批准可用于儿童(<18周岁)。拉米夫定可用于3岁以上患儿; 普通IFN和阿德福韦酯被批准用于12岁及以上患儿; 恩替卡韦可用于16岁及以上患儿^[14]。在治疗开始前必须对患儿的年龄、疾病严重程度、取得疗效的可能性以及潜在的药物不良反应、合并症和治疗费用、患者的意愿等综合考虑, 进行个体化的治疗。

4.1 干扰素类

4.1.1 普通干扰素: 普通干扰素(IFN- α)是最早批准的抗HBV治疗药物之一。其优点是疗程确定、疗效持久、很少出现耐药突变株。很多学者已将普通IFN作为儿童代偿期肝病的首选药物。目前公认的IFN- α 疗程至少1年才能获得较好的疗效, 延长疗程可提高HBeAg和HBsAg清除率。目前IFN- α 推荐剂量为300-500 MU/m², 隔日1次。但IFN治疗的个体差异性较大, 应根据患者的年龄、体质量、耐受性、基础肝脏疾病、血中性粒细胞绝对值、血小板等调节用量, 强调个体化药物治疗。临床试验已证实IFN- α 治疗儿童CHB有效, 荟萃分析显示, 儿童HBV感染后应用IFN- α 治疗, 有20%-40%的患儿出现HBeAg血清学转换和ALT复常^[20]。IFN- α 抗病毒治疗应

答的主要预测因素是治疗前ALT水平高, HBV DNA水平低, 获得感染的时间晚, 有肝脏活动性病变等。在一项IFN- α 治疗儿童CHB的大型的、多中心的随机对照试验中, 到治疗结束时, 治疗组有26%的患儿HBeAg和HBV DNA转阴, 而对照组仅11%。其中在基线时ALT水平>2倍正常值上线者, 这一比例高达35%, 并有10%的患儿出现HBsAg血清学转换, 在对照组仅1%^[11]。儿童与成人相比, IFN- α 治疗不良反应相对轻且较少见。其近期不良反应主要表现为流感样症状、发热、轻度食欲减退, 经或不经对症处理可缓解, 不影响治疗。个别患儿有一过性耳鸣、皮疹、一过性(2-3 wk)白细胞减少, 多可自行缓解。随访观察, 未见其影响生长发育。但对婴幼儿及有高热惊厥者的治疗初期应严密观察体温, 及时合理处置。出现中性粒细胞和血小板持续下降时, 酌情减量或停药严密观察, 及时对症治疗。极少数患儿在疗程中出现黄疸或精神症状, 应立即停药并进行相应处理。

4.1.2 聚乙二醇干扰素: 聚乙二醇干扰素(Peg IFN)是将IFN和聚乙二醇结合, 以减慢IFN吸收和排泄的速度, 主要包括两种, 分别为Peg IFN- α 2a和Peg IFN- α 2b, 推荐剂量分别为104 μ g/m², 1次/wk及1.5 μ g/m², 1次/wk。Peg IFN最初被批准用于治疗慢性丙型肝炎, 现已批准用于治疗成人CHB。虽然目前尚未批准治疗儿童CHB, 但推测有望替代普通IFN治疗CHB患儿。Zhu等^[21]研究Peg IFN在对儿童CHB患者的治疗中, 疗效、依从性优于IFN- α , 且不良反应少。

4.2 核苷(酸)类似物

4.2.1 拉米夫定: 拉米夫定的优点是口服用药, 耐受性好, 尤其适用于失代偿性肝硬化或有肝功能失代偿危险的患儿。拉米夫定治疗2-17岁患儿的推荐剂量为3 mg/(kg·d), 最大剂量100 mg/d。Jonas等^[22]研究在拉米夫定治疗52 wk后病毒学应答率(HBV DNA阴转和HBeAg消失)为23%, 对照组为13%。其中, 治疗前患儿ALT水平>2倍正常值上限者其病毒学应答率达35%。研究显示, 延长拉米夫定治疗至24 mo, 对在治疗第1年末实现病毒学应答和ALT正常儿童无益处。如果治疗第1年有HBeAg的血清学转换则在随访期间患者的病毒学应答可持续, 1年治疗结束后随访24 mo, 71%的患者ALT持续正常, 87%的患者有病毒学应答^[23]。治疗前ALT水平高、肝脏炎症重和病毒量低提示更好的治疗应答^[24]。然而, 拉米夫定作为一种中效抗病毒药物, 不能完全抑

制部分患者体内HBV DNA复制, 且其耐药基因屏障低, 长期治疗CHB耐药率逐年升高, 5年可达70%^[25]. 有资料表明, 拉米夫定治疗儿童CHB 1年的耐药突变发生率为19%, 治疗2年为64%^[24]. 产生耐药突变株的患儿治疗效果明显低于无变异株患儿. 部分病例在发生病毒耐药变异后会出现病情加重, 少数甚至发生肝功能失代偿.

4.1.2 阿德福韦酯: Jonas等^[26]在美国和欧洲进行了一项阿德福韦酯用于儿童CHB抗病毒治疗的大型多中心临床研究. 将患儿分为2-6岁, 7-11岁和12岁以上3组. 治疗48 wk后, 所有患儿HBV DNA载量均明显下降. 其中, 12-17岁组阿德福韦酯的病毒学和生化学应答率(HBV DNA阴转, ALT水平正常)较高, 治疗组达23%, 而安慰剂对照组为0%. 在<12岁的患儿中, 治疗组和安慰剂组比较无统计学差异. HBeAg血清学转换率在治疗组为15.9%, 对照组仅5.3%. 该研究中所有病例未发生病毒耐药, 阿德福韦酯在2-18岁患儿中总体耐受性良好, 仅有轻至中度的不良反应, 且和治疗无关. 关于ADV疗效的持久性、长期用药的变异发生率还需进行更多的临床试验.

4.1.3 其他抗病毒药物: 目前关于恩替卡韦用于2岁以上儿童CHB患者抗病毒治疗的II期临床试验及替诺福韦用于青少年CHB患者的临床试验正在进行. 由于儿童CHB患者抗病毒耐药风险大, 且耐药导致的后果可能大于抗病毒治疗带来的益处, 对具有严重肝病的患者开始临床试验前需谨慎选药^[14].

5 联合治疗

鉴于单药治疗CHB疗效可能欠佳及耐药性的产生, 许多研究转向联合治疗. 如果IFN治疗期间患儿没有产生病毒学应答, 则可以考虑应用IFN- α 联合核苷(酸)类似物治疗. 联合治疗较单一治疗可有更高的应答率和病毒清除率, D'Antiga等^[27]研究表明先用拉米夫定治疗8 wk, 然后IFN联合拉米夫定治疗10 mo用于免疫耐受期慢性HBV感染患儿取得较好效果, 但病例数少, 尚待进一步验证. 在儿童患者中, 联合治疗的疗效尚需进一步随机对照研究的证实. 但应避免替比夫定和Peg IFN联合应用, 因为可导致外周神经肌肉疾病. 另有报道^[28]75例儿童CHB采用IFN- α 和IFN- α 与拉米夫定联合抗病毒治疗的研究显示, 联合抗病毒治疗组治疗结束时HBeAg转换率和HBV DNA阴转率分别为60%和90%, 优于单一应用IFN- α 组(治疗结束时HBeAg

转换率为38%, HBV DNA阴转率为40%).

6 结论

由于儿童CHB最终可发生严重的肝脏损害, 包括肝硬化、肝衰竭, 甚至肝癌等, 而抗病毒治疗可以阻止肝脏疾病的活动性进展, 因此, 对有抗病毒治疗适应证的患者及时采取合理抗病毒方案尤为重要. 然而, 当前有关儿童CHB抗病毒治疗尚有诸多争议, 循证医学依据尚不足, 亟须积极开展抗病毒药物治疗儿童CHB的相关研究, 为临床医生对儿童CHB做出正确的治疗选择提供依据.

7 参考文献

- 1 Liang X, Bi S, Yang W, Wang L, Cui G, Cui F, Zhang Y, Liu J, Gong X, Chen Y, Wang F, Zheng H, Wang F, Guo J, Jia Z, Ma J, Wang H, Luo H, Li L, Jin S, Hadler SC, Wang Y. Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China--declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination. *Vaccine* 2009; 27: 6550-6557
- 2 中华医学会肝病学分会、中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中国医学前沿杂志(电子版) 2011; 3: 66-82
- 3 Hui CK, Leung N, Yuen ST, Zhang HY, Leung KW, Lu L, Cheung SK, Wong WM, Lau GK. Natural history and disease progression in Chinese chronic hepatitis B patients in immune-tolerant phase. *Hepatology* 2007; 46: 395-401
- 4 Lok AS, Heathcote EJ, Hoofnagle JH. Management of hepatitis B: 2000--summary of a workshop. *Gastroenterology* 2001; 120: 1828-1853
- 5 Chang MH, Hsu HY, Hsu HC, Ni YH, Chen JS, Chen DS. The significance of spontaneous hepatitis B e antigen seroconversion in childhood: with special emphasis on the clearance of hepatitis B e antigen before 3 years of age. *Hepatology* 1995; 22: 1387-1392
- 6 Ni YH, Chang MH, Chen PJ, Tsai KS, Hsu HY, Chen HL, Tsuei DJ, Chen DS. Viremia profiles in children with chronic hepatitis B virus infection and spontaneous e antigen seroconversion. *Gastroenterology* 2007; 132: 2340-2345
- 7 Boxall EH, Sira J, Standish RA, Davies P, Sleight E, Dhillon AP, Scheuer PJ, Kelly DA. Natural history of hepatitis B in perinatally infected carriers. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004; 89: F456-F460
- 8 McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2009; 49: S45-S55
- 9 ACT-HBV Asia Pacific Steering Committee Members. Chronic hepatitis B: treatment alert. *Liver Int* 2006; 26: 47-58
- 10 Chang MH. Natural history and clinical management of chronic hepatitis B virus infection in children. *Hepatol Int* 2008; 2: 28-36
- 11 Prati D, Taioli E, Zanella A, Della Torre E, Butelli S, Del Vecchio E, Vianello L, Zanuso F, Mozzi F, Milani S, Conte D, Colombo M, Sirchia G. Updated definitions of healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels. *Ann Intern Med* 2002; 137: 1-10
- 12 Haber BA, Block JM, Jonas MM, Karpen SJ, London WT, McMahon BJ, Murray KF, Narkewicz MR, Rosenthal P, Schwarz KB. Recommendations for

同行评价

本文在指南解读基础上, 增加了一些儿童慢性乙型肝炎治疗的有关资料, 对临床医生具有一定的指导意义.

- screening, monitoring, and referral of pediatric chronic hepatitis B. *Pediatrics* 2009; 124: e1007-e1013
- 13 骆抗先. 乙型肝炎基础和临床. 第3版. 人民卫生出版社, 2006: 224-226
 - 14 Jonas MM, Block JM, Haber BA, Karpen SJ, London WT, Murray KF, Narkewicz MR, Rosenthal P, Schwarz KB, McMahon BJ. Treatment of children with chronic hepatitis B virus infection in the United States: patient selection and therapeutic options. *Hepatology* 2010; 52: 2192-2205
 - 15 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007; 45: 507-539
 - 16 Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatol Int* 2008; 2: 263-283
 - 17 Lubel JS, Testro AG, Angus PW. Hepatitis B virus reactivation following immunosuppressive therapy: guidelines for prevention and management. *Intern Med J* 2007; 37: 705-712
 - 18 Katz LH, Fraser A, Gafter-Gvili A, Leibovici L, Turkaspa R. Lamivudine prevents reactivation of hepatitis B and reduces mortality in immunosuppressed patients: systematic review and meta-analysis. *J Viral Hepat* 2008; 15: 89-102
 - 19 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology* 2009; 50: 661-662
 - 20 Elisofon SA, Jonas MM. Hepatitis B and C in children: current treatment and future strategies. *Clin Liver Dis* 2006; 10: 133-148, vii
 - 21 Zhu SS, Zhang HF, Dong Y. Evaluation of the effect of extended peginterferon- α -2a therapy on physical and psychological development in children with HBeAg positive chronic hepatitis B. The 20th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, Beijing 2010: 161
 - 22 Jonas MM, Mizerski J, Badia IB, Areias JA, Schwarz KB, Little NR, Greensmith MJ, Gardner SD, Bell MS, Sokal EM. Clinical trial of lamivudine in children with chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2002; 346: 1706-1713
 - 23 Sokal EM, Kelly DA, Mizerski J, Badia IB, Areias JA, Schwarz KB, Vegnente A, Little NR, Gardener SD, Jonas MM. Long-term lamivudine therapy for children with HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2006; 43: 225-232
 - 24 Jonas MM, Little NR, Gardner SD. Long-term lamivudine treatment of children with chronic hepatitis B: durability of therapeutic responses and safety. *J Viral Hepat* 2008; 15: 20-27
 - 25 Haché C, Villeneuve JP. Lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B and cirrhosis. *Expert Opin Pharmacother* 2006; 7: 1835-1843
 - 26 Jonas MM, Kelly D, Pollack H, Mizerski J, Sorbel J, Frederick D, Mondou E, Rousseau F, Sokal E. Safety, efficacy, and pharmacokinetics of adefovir dipivoxil in children and adolescents (age 2 to < 18 years) with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2008; 47: 1863-1871
 - 27 D'Antiga L, Aw M, Atkins M, Moorat A, Vergani D, Mieli-Vergani G. Combined lamivudine/interferon- α treatment in "immunotolerant" children perinatally infected with hepatitis B: a pilot study. *J Pediatr* 2006; 148: 228-233
 - 28 Dikici B, Bosnak M, Bosnak V, Dagli A, Davutoglu M, Yagci RV, Haspolat K. Comparison of treatments of chronic hepatitis B in children with lamivudine and alpha-interferon combination and alpha-interferon alone. *Pediatr Int* 2002; 44: 517-521

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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)

育龄期慢性乙型肝炎女性患者的抗病毒治疗

祁丹, 易建华, 沈贵月

■背景资料

育龄期慢性乙型肝炎女性通常需要考虑妊娠期间抗病毒治疗对自身及胎儿安全性的影响。但是由于抗病毒药物妊娠安全性的研究有限, 大多来自于动物实验研究, 部分来自人类免疫缺陷病毒(HIV)/获得性免疫缺陷综合征(AIDS)的临床实践, 缺乏大样本量的核苷(酸)类药物治疗育龄女性慢性乙型肝炎的数据, 因而核苷(酸)类药物被WHO定为妊娠B/C级药物。

祁丹, 易建华, 沈贵月, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染病科 湖北省武汉市 430022

易建华, 主任医师, 主要从事病毒性肝炎与肝衰竭方向的研究。

作者贡献分布: 本文综述主要由祁丹与沈贵月完成; 易建华审校。
通讯作者: 易建华, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染病科。

doctor_yjh@yahoo.com.cn

电话: 027-85726783

收稿日期: 2011-01-17 修回日期: 2011-05-13

接受日期: 2011-05-24 在线出版日期: 2011-05-28

Antiviral therapy of chronic hepatitis B in women of childbearing age

Dan Qi, Jian-Hua Yi, Gui-Yue Shen

Dan Qi, Jian-Hua Yi, Gui-Yue Shen, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Jian-Hua Yi, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. doctor_yjh@yahoo.com.cn

Received: 2011-01-17 Revised: 2011-05-13

Accepted: 2011-05-24 Published online: 2011-05-28

Abstract

This paper introduces the recent research results about antiviral therapy of chronic hepatitis B in women of childbearing age. It addresses several key issues, including the application of interferon in women of childbearing age; clinical evidence and treatment problems for the application of nucleoside analogues in pregnant patients; and significance of nucleoside analogues in blocking mother-to-child transmission and breastfeeding problems. Interferon-based therapy is preferable for women of childbearing age. Pregnant women may choose relatively safe nucleoside analogues to reduce perinatal transmission and liver injury.

Key Words: Chronic hepatitis B; Childbearing age; Antiviral therapy

■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学第二医院感染科

Qi D, Yi JH, Shen GY. Antiviral therapy of chronic hepatitis B in women of childbearing age. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1634-1638

摘要

本文介绍了近年来育龄期慢性乙型肝炎女性患者抗病毒治疗的一些研究结果, 分析了育龄期女性干扰素的应用、核苷(酸)类药物在妊娠患者中应用的临床依据以及核苷(酸)类药物在阻断乙型肝炎病毒母婴传播中的意义及母乳喂养问题, 指出对于育龄期未怀孕患者来说首选干扰素治疗, 同时对于妊娠的患者来说, 选择相对安全的核苷(酸)类药物抗病毒治疗可以起到降低宫内感染, 降低肝脏病变等作用。

关键词: 慢性乙型肝炎; 育龄期; 抗病毒治疗

祁丹, 易建华, 沈贵月. 育龄期慢性乙型肝炎女性患者的抗病毒治疗. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1634-1638

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1634.asp>

0 引言

育龄期慢性乙型肝炎女性通常需要考虑妊娠期间抗病毒治疗对自身及胎儿安全性的影响。但是由于抗病毒药物妊娠安全性的研究有限, 大多来自于动物实验研究, 部分来自人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)/获得性免疫缺陷综合征(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)的临床实践, 缺乏大样本量的核苷(酸)类药物治疗育龄女性慢性乙型肝炎的数据, 因而核苷(酸)类药物被WHO定为妊娠B/C级药物。但目前已有的研究表明, 拉米夫定等在孕晚期应用能够抑制乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)复制, 减轻肝脏病变, 降低宫内感染, 且并不会影响胎儿的发育。因此, 对于育龄期女性是否需要抗病毒治疗应权衡利弊, 合理应用。本文主要从育龄期女性干扰素的应用、核苷(酸)类药物在妊娠患者中应用的临床证据、妊娠慢性乙型肝炎患者核苷(酸)类药物治疗、围产期HBV母婴传播及其阻断措施、HBV感染母亲母乳喂养的安全性等问题来一一讨论。

1 育龄期女性干扰素的应用

亚太肝脏研究协会2008年亚太地区乙型肝炎

治疗指南就育龄期女性未怀孕患者,建议首选干扰素治疗^[1]。这是由于干扰素相对于核苷(酸)类药物有明确的治疗疗程(48 wk),并且可以获得更多的血清学应答^[2]。有研究表明,聚乙二醇干扰素 α -2a治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者48 wk后,随访至第24周时,ALT $>5\times$ ULN患者的HBeAg血清转换率达41%、HBV DNA $\leq 9.0 \log_{10}$ copies/mL患者的HBeAg血清转换率达53%。HBeAg血清转换患者随访1年仍继续维持HBeAg血清转换者达86%,HBV DNA $<10^5$ copies/mL患者的HBeAg血清转换率仍达80%^[3]。聚乙二醇干扰素 α -2a或联合拉米夫定治疗HBeAg阴性患者48 wk后停药随访3年,HBsAg消失者达8%^[4]。育龄期女性可以选择抗病毒治疗后再行妊娠。然而干扰素有抗增殖和致畸作用,因此禁用于妊娠期女性。Li等^[5]将35只HBV转基因孕鼠小鼠分为5组,分别给予拉米夫定(孕早期、孕中期)、干扰素(孕早期、孕中期)和生理盐水,结果两种药物均降低了HBV母婴传播的危险性且对母鼠及子代的安全性无明显影响。但是目前由于干扰素在妊娠期应用的研究有限,相对的拉米夫定、替诺福韦的研究要充分的,因此可以考虑确有必要抗病毒治疗者可在妊娠期使用更为安全的拉米夫定或替诺福韦等抗病毒治疗。

2 核苷(酸)类药物在妊娠患者中应用的临床证据

美国药品食品监督管理局(FDA)按妊娠安全性将替诺福韦和替比夫定分类为“B级”,表明已经证实动物模型中应用是安全的,但在人的应用资料有限;动物实验研究结果显示,拉米夫定、阿德福韦酯和恩替卡韦有胚胎致畸作用,但未做关于人类的对照研究,因而被分类为“C级”。

2.1 拉米夫定 临床前的家兔实验中发现,拉米夫定可能透过妊娠兔胎盘进入胎儿体内,因此认为在妊娠早期使用拉米夫定可能导致胚胎死亡。但在临床实验中,美国抗逆转录酶药物妊娠登记处(antiretroviral pregnancy registry)2008年的数据显示与普通人群相比,妊娠期间应用拉米夫定的孕妇所生新生儿的出生缺陷无明显差异^[6]。Su等^[7]的一项队列研究发现,38名感染HBV的女性在服用拉米夫定期间怀孕并选择在妊娠期间继续治疗,结果均未发生围产期的母婴传播、无畸胎和妊娠并发症。这与既往相同人群仅采取主、被动免疫后发生母婴传播的结果相比更佳。Xu等^[8]进行的一项多中心对照双盲研究中,有

150例HBV DNA阳性妊娠女性参与,分为拉米夫定组89例、对照组61例,141名婴儿接受主被动免疫,并在婴儿出生后52 wk检测HBV相关指标。结果发现,拉米夫定组HBsAg和HBV DNA阳性率分别为18%和20%,而对照组为39%和46%。两组母婴不良事件发生率相似,未发现胎儿畸形。研究表明,拉米夫定在孕晚期应用是安全的,可能因为拉米夫定属于左旋核苷类似物,对人体的核酸无作用^[9]。

2.2 替诺福韦 替诺福韦属FDA妊娠安全性B级药物,临床前的猴子实验中证实安全、有效。替诺福韦具有高效的胎盘运输功能,猿免疫缺陷病毒(SIV)感染的猴子服用后可极大的减低病毒载量,最终获得健康后代。但是30 mg/(kg·d)的剂量在妊娠期间短暂影响了母猴骨生物学标记和一些胎儿参数^[10]。Mi等^[11]研究了8名使用替诺福韦的孕妇和胎儿的数据,每位患者接受替诺福韦300 mg/d,其中有1例患者是在服用替诺福韦过程中发生妊娠,另外有3例是用于控制活动性的肝病,4例用来预防HBV母婴传播,所有病例在分娩后都选择继续服用替诺福韦。结果发现,所有患者HBV DNA在最初4 wk减少了2-4 \log_{10} copies/mL,分娩后HBV DNA $\leq 10^4$ copies/mL;服药过程中未发现HBV DNA的反弹和病情继续进展,所有胎儿均未发生HBV感染、发育正常。结果表明,替诺福韦在孕晚期应用安全且耐受性良好。替诺福韦易于耐受,能有效抑制病毒复制,目前已成为孕晚期抗病毒治疗的研究重点。

2.3 替比夫定 替比夫定同样属于FDA妊娠安全性B级药物,临床前研究中无致畸性,且显示其对胚胎和胎仔发育无不良作用。张丽菊等^[12]选取61例妊娠后期慢性乙型肝炎患者,31例给予替比夫定治疗,其余作为对照。产后替比夫定组母体HBV DNA水平较治疗前明显下降($P<0.01$),且分娩前HBV DNA水平也明显低于对照组($t=23.64, P<0.01$)。两组新生儿7月龄时HBV感染率分别为0.0%和13.3%(4/30)。所有婴儿都接受了主、被动免疫,替比夫定组婴儿的HBV感染率为0,而对照组为13.3%。刘敏等^[13]在5例孕妇(HBV DNA $>1\times 10^7$ copies/mL)孕晚期给予替比夫定治疗,结果4例产后HBV DNA $<5\times 10^2$ copies/mL,1例HBV DNA降至 4.56×10^3 copies/mL,胎儿发育正常、HBsAg阴性。以上研究表明,替比夫定在孕晚期使用是安全的,耐受性良好,可以作为孕晚期抗病毒治疗的选择之一。

2.4 阿德福韦酯与恩替卡韦 阿德福韦酯对孕妇

■ 研发前沿

目前尚没有足够的大样本的前瞻性对照研究证明对HBsAg阳性母亲进行抗病毒治疗可减少HBV母婴传播的可能性,尤其是对新生儿已采用HBIG加乙型肝炎疫苗的预防方案时。

■应用要点

目前没有关于替诺福韦的对照研究,但是替诺福韦的安全性应该和拉米夫定相当,因此可以作为孕晚期抗病毒的选择药物之一。

用药研究不充分。国外动物实验研究结果显示,恩替卡韦有致畸性或胚胎毒性,但尚无女性的对照研究,孕妇用药同样应慎重。

总之,目前研究最多的仍然是拉米夫定,虽然FDA定为妊娠C级药物,但是目前尚未发现不良反应。除了拉米夫定,替比夫定和替诺福韦也可作为选择。在2010年版慢性乙型肝炎防治指南妊娠相关情况处理中提到,未妊娠者若有治疗适应证,可应用干扰素或者核苷(酸)类药物治疗并在治疗期间采取可靠的避孕措施;妊娠者如确有必要可以选择拉米夫定或其他妊娠B级药物(替比夫定或替诺福韦),并充分告知患者治疗风险。这为育龄期女性选择抗病毒治疗提供了一定的依据。

3 妊娠慢性乙型肝炎患者核苷(酸)类药物治疗

所有育龄期女性在妊娠前都应进行HBsAg筛查。HBV复制阳性,肝功能正常的育龄女性不要在妊娠前盲目抗病毒治疗。妊娠后,应先检测血清HBV DNA;对HBV DNA载量较高的妊娠女性,或在妊娠期间发生肝功能异常者,可在妊娠晚期(28 wk后)使用抗病毒治疗,以达到抑制病毒复制,减轻肝脏病变,降低宫内感染,提高母婴传播阻断率的目的。而HBV DNA水平较低且肝功能正常的妊娠女性则暂不必抗病毒治疗。

妊娠前肝功能轻度受损的育龄女性可先保肝治疗,待肝功能恢复正常后再妊娠。由于这类女性的肝功能较差,且病毒复制阳性,如果在妊娠期间给予抗病毒治疗,可达到抑制病毒复制、缓解肝脏病变和阻断HBV母婴传播的双重目的。但为了母胎安全,应严密监测肝功能变化,尽量将治疗推迟到妊娠晚期使用。

肝功能中重度受损的育龄女性如不经治疗,妊娠后有较大风险,很可能在妊娠期间肝病加重,威胁母婴生命。因此,应动员患者进行积极的抗病毒治疗,应用拉米夫定或替比夫定等,待达到完全应答的疗效(肝功能恢复正常、HBV DNA不可测,HBsAg血清转换)后,继续治疗6-12 mo,停药观察半年,病情平稳方可妊娠;在妊娠期间仍要继续观察肝功能和HBV DNA水平,如果发生病情反复,仍需考虑再次应用拉米夫定或替比夫定等抗病毒治疗^[14]。出现病情反复的患者,若确实不适宜继续妊娠,则应及时终止妊娠。

在拉米夫定、替诺福韦、替比夫定治疗过程中偶然妊娠的女性,由于妊娠早期的安全性数据尚不充分,仍应告知患者拉米夫定等治疗

的可能风险,动员患者中止妊娠。如果患者坚持妊娠,则应加强随访。阿德福韦酯、恩替卡韦治疗过程中偶然妊娠的女性由于这些药物妊娠安全性的数据更加缺乏,建议患者中止妊娠,或者换用以上较为安全的抗病毒药物。使用拉米夫定或其他核苷(酸)类药物治疗的患者分娩后应当继续治疗,直到达到停药标准后方可停药观察。

4 围产期HBV母婴传播及其阻断措施

目前推荐HBsAg阳性母亲出生的新生儿应用HBIG加乙型肝炎疫苗进行联合预防。HBIG和第一针疫苗应在出生12 h以内给予,后两针疫苗在出生第1个月和第6个月时给予。该方案对95%以上的新生儿都可以起到预防HBV传播的作用,失败的5%发生HBV感染通常是那些未能全程接种疫苗、未能产生抗-HBs者或者是那些HBV DNA水平非常高($>8 \log_{10}$ IU/mL)的母亲出生的新生儿。因此,除了对新生儿应用HBIG加乙型肝炎疫苗进行预防外,已有提议对高病毒血症水平的HBsAg阳性母亲在妊娠最后3 mo给予抗病毒治疗,以降低分娩时的HBV DNA水平,从而进一步减少HBV母婴传播的风险。

有研究认为,妊娠早、中期如无明显损害胎盘屏障的因素如先兆流产等,乙型肝炎病毒通过胎盘由母体传给胎儿的机会较小,而妊娠晚期由于损害胎盘屏障的因素明显增多,且胎盘本身的通透性增高,病毒传播的机会则明显增加。一般认为宫内感染的发生主要是在孕晚期,而此时胎儿各主要器官已成型,因此孕晚期给予一定的干预措施成为阻断HBV宫内感染的另一选择^[15]。在已知的HIV感染母亲中,抗病毒药物已经被证实可以显著降低母婴传播率。同时,抗病毒药物还被用于孕晚期预防新生儿疱疹^[2]。

已有一些无对照的研究提示,拉米夫定治疗可减少母婴传播的可能性,并且对母亲和新生儿都是安全的。荷兰的一项研究中,HBV DNA高水平($>10^9$ 基因组当量/mL)的8例孕妇在孕34周给予拉米夫定治疗,新生儿均接受了HBIG加乙型肝炎疫苗联合预防。结果8例新生儿中只有1例发生HBV感染;与历史对照比较,而同样HBV DNA水平的母亲出生的25例新生儿中有7例(28%)发生了HBV感染^[16]。我国进行的一项随机对照研究,对HBsAg阳性、HBV DNA高水平($>10^9$ 基因组当量/mL)的孕妇从妊娠第32周至产后4 wk随机给予拉米夫定或安慰剂治疗。在ITT分析中,拉米夫定组的HBsAg阳性率低于安慰

剂组(10/56、18% vs 23/59、39%, $P = 0.014$); 剔除失访的病例, 则在给予拉米夫定治疗的母亲所生的新生儿中3/49例(6%) 在1岁时有HBV传播的证据, 而安慰剂组母亲所生的新生儿中5/41例(12%) 有HBV传播的证据, 差异无显著性($P = 0.368$); 两组的不良事件相似, 没有明显的安全性问题^[8]。

替比夫定是FDA妊娠安全性B级药物, 其原发治疗无效率和治疗第1年后的病毒耐药率均明显低于拉米夫定, 而HBeAg血清转换率高于拉米夫定。刘敏等^[13]对5例HBV感染妊娠女性在孕晚期给予替比夫定治疗, 结果产后5例患者均有血清学应答, 5例新生儿发育正常、HBV DNA阴性。张丽菊等^[12]选取61名妊娠后期慢性乙型肝炎患者, 31例给予替比夫定治疗, 其余作为对照, 产后两组新生儿7月龄时HBV感染率分别为0和13.3%(4/30)。Han等^[17]选择了186名HBeAg阳性且HBV DNA > 6 log₁₀ copies/mL的孕晚期(20-32周)患者, 94例给予替比夫定, 92例作为对照。在给予替比夫定治疗4 wk后, 替比夫定组胎儿HBsAg阳性为0, 而对照组为8.7%。替比夫定治疗组胎儿均发育正常, 无不良反应。

目前没有关于替诺福韦的对照研究, 但是替诺福韦的安全性应该和拉米夫定相当, 因此可以作为孕晚期抗病毒的选择药物之一。

此外, 虽然高病毒载量的重要性已经明确, 但这并不是唯一导致主被动免疫失败的原因。有一个突出的例子是一位低HBV DNA载量的孕妇在接受拉米夫定及主被动免疫后仍然发生HBV母婴传播^[18]。这说明即使是低水平的HBV DNA仍然有可能发生母婴传播。

目前尚没有足够的大样本的前瞻性对照研究证明对HBsAg阳性母亲进行抗病毒治疗可减少HBV母婴传播的可能性, 尤其是对新生儿已采用HBIG加乙型肝炎疫苗的预防方案时。研究确实表明, 拉米夫定等可以安全地用于妊娠期治疗, 但一个重要而尚未解决的问题是该治疗对母亲是否安全, 包括停药后的病情活动以及HBV DNA高水平的患者由于应用低耐药基因屏障的核苷(酸)类药物而发生病毒耐药的可能性。

5 HBV感染母亲母乳喂养的安全性

WHO就HBV感染的母亲是否能母乳喂养给出了一个肯定的答案, 目前没有实验证明母乳喂养导致垂直传播。相反, 母乳中存在多种具有不同生物学作用的蛋白质如乳铁传递蛋白, 对

HCV、腺病毒、HIV、单纯疱疹病毒、轮状病毒和巨细胞病毒都有抗病毒活性。有研究表明乳铁传递蛋白、铁和锌饱和乳铁蛋白可以显著减少HBV感染的HepG2细胞中HBV DNA的载量^[19]。AAP(美国儿科学会)推荐, 对于接受HBIG和HBV疫苗的婴儿而言, HBV感染的母亲母乳喂养并非禁忌^[20]。另外, 母乳喂养也不会对乙型肝炎疫苗的免疫反应有影响。有一项研究入组了230名婴儿, 在仅接受乙型肝炎疫苗接种的婴儿中, 80.9%接受母乳喂养的婴儿在1岁时产生了表面抗体, 人工喂养的婴儿有73.2%产生表面抗体; 而同时接种乙型肝炎疫苗和HBIG的婴儿, 母乳喂养与人工喂养产生表面抗体率分别为90.9%和90.3%^[21]。当然, 口服核苷(酸)类抗病毒药物的哺乳期女性还是建议其不要采取母乳喂养, 因为乳汁中药物浓度对婴儿的安全性研究尚不充分。

6 结论

是否应该使用核苷(酸)类药物阻断HBV母婴传播, 降低HBV DNA水平, 必须考虑到潜在的风险。一般来说, 妊娠早期的风险大于妊娠中晚期, 肝炎发作时治疗利益大于单纯阻断HBV母婴传播的预防, 妊娠B级药物的安全性可能大于妊娠C级药物。临床实践中应当告诫使用这类药物的育龄女性患者采取可靠的避孕措施, 对于有抗病毒治疗指征的妊娠患者在经过权衡确定利益大于风险时可选择安全性较高的药物治疗, 尽量避免为了单纯预防HBV母婴传播目的而使用这类药物。今后, 随着这类临床研究的增多, 对于育龄期女性患者抗病毒治疗的安全性评估必将更加规范和可靠。

7 参考文献

- 1 Liaw YF, Leung N, Kao JH, Piratvisuth T, Gane E, Han KH, Guan R, Lau GK, Locarnini S; for the Chronic Hepatitis B Guideline Working Party of the Asian-Pacific Association for the Study of the Liver. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatol Int* 2008; 2: 263-283
- 2 Bzowej NH. Hepatitis B Therapy in Pregnancy. *Curr Hepat Rep* 2010; 9: 197-204
- 3 Lau GKK, Piratvisuth T, Luo KX. Durability of response and occurrence of late response to peginterferon alfa-A (40kD) [Pegasys] one year post-treatment in patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B. *J Hepatology* 2006; 44 (suppl 2): S23-S24
- 4 Marcellin P, Bonino F, Lau GK, Farci P, Yurdaydin C, Piratvisuth T, Jin R, Gurel S, Lu ZM, Wu J, Popescu M, Hadziyannis S. Sustained response of hepatitis B e antigen-negative patients 3 years after treatment

■同行评价

本文文献复习全面, 是一篇实用性较强, 临床参考意义较大的论文。

- with peginterferon alpha-2a. *Gastroenterology* 2009; 136: 2169-2179.e1-e4
- 5 Li D, Xu DZ, Choi BC, Men K, Zhang JX, Lei XY, Yan YP. Preliminary study on the efficacy and safety of lamivudine and interferon alpha therapy in decreasing serum HBV DNA level in HBV positive transgenic mice during pregnancy. *J Med Virol* 2005; 76: 203-207
- 6 The antiretroviral pregnancy registry steering committee. Antiretroviral pregnancy registry international interim report for 1 January 1989 through 31 January 2008. Registry Coordinating Center, 2008, Wilmington, NC
- 7 Su GG, Pan KH, Zhao NF, Fang SH, Yang DH, Zhou Y. Efficacy and safety of lamivudine treatment for chronic hepatitis B in pregnancy. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 910-912
- 8 Xu WM, Cui YT, Wang L, Yang H, Liang ZQ, Li XM, Zhang SL, Qiao FY, Campbell F, Chang CN, Gardner S, Atkins M. Lamivudine in late pregnancy to prevent perinatal transmission of hepatitis B virus infection: a multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Viral Hepat* 2009; 16: 94-103
- 9 Johnson MA, Moore KH, Yuen GJ, Bye A, Pakes GE. Clinical pharmacokinetics of lamivudine. *Clin Pharmacokinet* 1999; 36: 41-66
- 10 Reynaud L, Carleo MA, Talamo M, Borgia G. Tenofovir and its potential in the treatment of hepatitis B virus. *Ther Clin Risk Manag* 2009; 5: 177-185
- 11 Mi L, Karsdon J, Huang WM. Outcomes of eight Chinese-Americans pregnant patients with chronic hepatitis B (CHB) treated with tenofovir DF (TDF) during pregnancy. From the 61st Annual Meeting of AASLD, 2010
- 12 张丽菊, 王玲. 替比夫定对妊娠后期乙型肝炎病毒宫内感染的阻断作用. *中华肝脏病杂志* 2009; 17: 561-563
- 13 刘敏, 李丽, 王玲, 蔡浩东. 替比夫定阻断5例乙型肝炎病毒感染妊娠妇女母婴HBV垂直传播疗效和安全性的初步观察. *药物不良反应杂志* 2008; 10: 19-21
- 14 蔡皓东, 王玲, 刘敏. 乙型肝炎病毒感染妊娠妇女拉米夫定的应用及安全性. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 151-153
- 15 李端. 孕期抗病毒治疗研究现状. *国外医学·病毒学分册* 2004; 11: 33-36
- 16 van Zonneveld M, van Nunen AB, Niesters HG, de Man RA, Schalm SW, Janssen HL. Lamivudine treatment during pregnancy to prevent perinatal transmission of hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat* 2003; 10: 294-297
- 17 Han G, Zhao W, Cao M. A prospective and open-label study for the efficacy and safety of telbivudine(Ltd)in pregnancy for the prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus (HBV) to the infants. From the 61st Annual Meeting of AASLD, 2010
- 18 Kazim SN, Wakil SM, Khan LA, Hasnain SE, Sarin SK. Vertical transmission of hepatitis B virus despite maternal lamivudine therapy. *Lancet* 2002; 359: 1488-1489
- 19 Petrova M, Kamburov V. Breastfeeding and chronic HBV infection: clinical and social implications. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5042-5046
- 20 Gartner LM, Morton J, Lawrence RA, Naylor AJ, O'Hare D, Schanler RJ, Eidelman AI. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics* 2005; 115: 496-506
- 21 Wang JS, Zhu QR, Wang XH. Breastfeeding does not pose any additional risk of immunoprophylaxis failure on infants of HBV carrier mothers. *Int J Clin Pract* 2003; 57: 100-102

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (编辑部主任: 李军亮 2011-01-01)

伴有自身免疫性疾病的慢性乙型肝炎患者的抗病毒治疗

潘修成, 任劲松

潘修成, 任劲松, 徐州医学院附属医院感染性疾病科 江苏省徐州市 221002

潘修成, 主任医师, 副教授, 硕士生导师, 主要从事慢性病毒性肝炎的基础与临床研究。

作者贡献分布: 本文由任劲松撰写, 潘修成审核。

通讯作者: 潘修成, 主任医师, 副教授, 硕士生导师, 221002, 江苏省徐州市淮海西路99号, 徐州医学院附属医院感染性疾病科。xzpxc68@126.com

收稿日期: 2011-01-17 修回日期: 2011-05-15

接受日期: 2011-05-24 在线出版日期: 2011-05-28

Antiviral therapy in patients with concomitant chronic hepatitis B and autoimmune diseases

Xiu-Cheng Pan, Jin-Song Ren

Xiu-Cheng Pan, Jin-Song Ren, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Associated Professor Xiu-Cheng Pan, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, 99 West Huaihai Road, Xuzhou, Jiangsu Province, China. xzpxc68@126.com

Received: 2011-01-17 Revised: 2011-05-15

Accepted: 2011-05-24 Published online: 2011-05-28

Abstract

Chronic hepatitis B with concomitant autoimmune diseases is clinically common, and most of these patients need antiviral treatment. Each type of anti-HBV agent, such as nucleos(t)ide analogues and interferon- α , has its own unique advantages and disadvantages. Before selecting optimal antiviral therapy, we should evaluate these patients adequately to avoid iatrogenic injuries. For example, which autoimmune disease is the patients suffering from? How serious is the disease?

Key Words: Chronic hepatitis B; Autoimmune diseases; Anti-hepatitis B virus treatment

Pan XC, Ren JS. Antiviral therapy in patients with concomitant chronic hepatitis B and autoimmune diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1629-1633

摘要

慢性乙型肝炎患者伴有自身免疫性疾病在临

床上比较常见, 大部分这类患者需要抗乙型肝炎病毒治疗。核苷(酸)类似物和干扰素等抗乙型肝炎病毒药物在治疗此类患者时各有优劣, 收益与风险并存。因此, 临床实践中应该充分评估患者伴发的自身免疫性疾病种类和严重程度, 选择最合适的抗乙型肝炎病毒药物, 避免造成医源性损伤。

关键词: 慢性乙型肝炎; 自身免疫性疾病; 抗乙型肝炎病毒治疗

潘修成, 任劲松. 伴有自身免疫性疾病的慢性乙型肝炎患者的抗病毒治疗. *世界华人消化杂志* 2011; 19(15): 1629-1633

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1629.asp>

0 引言

部分慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者自身抗体滴度存在不同程度的增高, 如抗核抗体、甲状腺过氧化物酶抗体(thyroid peroxidase antibody, TPO-Ab)、抗平滑肌抗体、抗双链DNA抗体等。其中大部分不伴有相应的临床症状, 也有少部分被诊断为自身免疫性疾病^[1]。这类特殊人群是否需要抗乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)治疗? 选择哪种抗HBV治疗方案? 怎样预防和控制抗HBV药物特别是干扰素使用过程中的风险等问题一直存在争论, 本文将通过回顾相关文献结合最新CHB防治的指南性文件对这些问题进行探讨。

1 CHB与自身免疫性疾病

CHB伴有自身免疫性疾病可以分为2种: 第1种为与HBV感染密切相关, 由于HBV的分子模拟、HBV相关抗原抗体复合物沉积、自身免疫耐受被打破等原因造成。这类疾病都发生在HBV感染之后, 如CHB合并HBV相关肾小球肾炎。及时有效的抗HBV治疗可能同时缓解并发的两种疾病; 另一种与HBV感染可能无关, 这类自身免疫性疾病在HBV感染之前或之后都可发生, 在病程中可能与CHB互相促进造成病情恶化, 如在感染HBV之前即患有的甲状腺功能

■背景资料

对具有适应证的CHB患者进行抗HBV治疗已形成广泛共识, 并取得了公认的疗效。部分慢性乙型肝炎患者伴有自身免疫性疾病, 其中某些自身免疫性疾病可能与HBV感染有关。对该类患者进行合适的抗病毒治疗, 不仅持久抑制HBV复制, 而且有助于自身免疫性疾病病情的改善, 因此已备受临床重视。

■同行评议者

高泽立, 主任医师, 上海交通大学医学院附属第九人民医院周浦分院消化科

■ 研发前沿

目前,各种CHB治疗的指南性文献对于一般抗病毒治疗适应证、用药、疗程、不良反应、耐药的处置等都作出了细致的阐述。但是,对于伴有自身免疫性疾病的CHB患者的抗病毒治疗尚缺乏专门的指导意见和共识出台。

亢进症(甲亢)或甲状腺功能减退症(甲减)可能加重肝脏损伤、甚至导致重型肝炎,相反肝脏合成甲状腺激素蛋白和5'-脱碘酶活性降低导致甲亢/甲减症状加剧^[2]。当然,有些自身免疫性疾病与HBV感染的关系比较复杂,如有糖尿病家族史的患者在感染HBV后甚至在干扰素治疗过程中才出现血糖升高。CHB患者合并的自身免疫性疾病不论是否与HBV相关,积极的抗HBV治疗不但可以改善肝功能,对伴发的自身免疫性疾病恢复也有促进作用,而抗HBV药物的选择十分关键。

2 抗HBV药物与自身免疫性疾病

在包括美国肝病研究学会、欧洲肝病研究学会、亚太肝病研究学会以及中华医学会在内许多国家和地区的专业组织制定的CHB治疗指南性文件中均对CHB合并自身免疫性疾病患者的抗病毒治疗给予了一定的关注^[3-6]。目前抗HBV治疗手段包括核苷(酸)类似物、干扰素、胸腺肽制剂、DC疫苗、CIK细胞等等。其中前两种抗病毒药物的治疗效果为大多数CHB防治指南所承认,临床上使用也最为广泛。

2.1 核苷(酸)类似物 目前在国内批准上市的抗HBV核苷(酸)类似物有4种,其中拉米夫定、替比夫定、恩替卡韦为核苷类似物,阿德福韦酯为核苷酸类似物。核苷(酸)类似物进入体内后被磷酸化,模拟HBV DNA复制所必需的核苷酸,插入HBV DNA序列终止其复制;另外核苷(酸)类似物还有抑制HBV DNA聚合酶的作用。理论上说,核苷类似物抑制DNA复制的功能不具有HBV选择性,如他可以抑制线粒体的基因复制导致肌酸激酶升高、横纹肌溶解以及乳酸酸中毒^[7]。核苷(酸)类似物对免疫细胞的影响也有报道,如利巴韦林等核苷类似物可以通过降低腺嘌呤水平进而抑制活化T淋巴细胞的功能^[8],潘修成等^[9]报道替比夫定在抗HBV治疗过程中可能具有抑制调节性T淋巴细胞的功能。但是尚未发现核苷(酸)类似物在推荐剂量下抗HBV治疗时诱导自身免疫性疾病或加重原有自身免疫性疾病。相反,核苷(酸)类似物抗HBV有效的患者,随着肝功能恢复、免疫功能重建可以减轻伴发的自身免疫性疾病。因此,核苷酸类似物在自身免疫性疾病中使用是安全的。当然,因为需要长期用药、经济负担重以及较高的耐药率使部分患者望而却步。

2.2 干扰素 现在市场上批准使用的干扰素均为

重组人 α 干扰素,包括普通干扰素和聚乙二醇干扰素。干扰素除了通过诱导肝细胞内表达抗病毒蛋白、抑制HBV复制以外还通过免疫调节作用促进清除HBV。由于免疫调节属性以及直接的细胞毒作用,干扰素可以诱导多种自身免疫性疾病,或使原有的自身免疫性疾病恶化。因此,《指南》对干扰素的使用前提进行了相对严格的限制,推荐了使用前应该排除的禁忌证,指导了使用过程中可能发生的不良反应及处理方法,限制了不同状况患者的治疗疗程。本文也将主要就干扰素在合并自身免疫性疾病的CHB患者的使用进行讨论。

2.3 胸腺激素制剂 胸腺肽 $\alpha 1$ 和胸腺五肽等胸腺激素制剂通过诱导T淋巴细胞分化、成熟和细胞因子分泌的能力发挥免疫调节作用。胸腺激素制剂单独或联合核苷(酸)类似物抗HBV治疗国内外均有报道,但是报道的治疗效果有争论^[10-13]。目前,胸腺肽 $\alpha 1$ 抗HBV治疗被亚太及中国《指南》所推荐,但是循证医学依据级别不高。多数专家建议胸腺激素制剂应该联合核苷(酸)类似物抗HBV治疗,增强抗HBV的疗效。胸腺激素制剂由于其“双向”免疫调节作用^[14,15],在糖尿病、自身免疫性血小板减少性紫癜、风湿性及类风湿性疾病、强直性脊柱炎等自身免疫性疾病均有使用^[16]。因此对于有抗病毒适应证,在咨询相关专科专家的基础上,有干扰素使用禁忌证且不愿意接受核苷(酸)类似物治疗的合并自身免疫性疾病部分患者,有条件的可以考虑使用胸腺肽 $\alpha 1$ 或胸腺五肽。

2.4 DC疫苗、CIK细胞、LAK细胞等免疫细胞 通过体外致敏的免疫细胞回输抗HBV治疗的研究目前仍在探索中,报道有一定的抗HBV疗效^[17,18]。由于均处于临床试验阶段,在选择患者时有意识的排除了合并自身免疫性疾病患者,因此尚无这种治疗方法对此类患者病情影响的报道,各《指南》以及相关专家也没有相关的推荐意见。

3 伴有自身免疫性疾病的CHB患者的抗病毒治疗

3.1 伴有自身免疫性甲状腺疾病 如前所述,CHB合并自身免疫性甲状腺疾病如甲亢或甲减会互相加重病情,干扰素通过免疫调节活性和直接的甲状腺毒性作用可使原有的自身免疫性甲状腺疾病恶化^[19],因此《慢性乙型肝炎特殊患者抗病毒治疗专家共识》^[20](《共识》)建议合并自身免疫性甲状腺疾病的CHB患者不使用干扰素抗HBV治疗,干扰素治疗过程中出现自身免

疫性甲状腺疾病也建议停用干扰素。但是如果干扰素治疗之前或治疗过程中伴有甲状腺球蛋白抗体(TgAb)、TPO-Ab等滴度增高但是无相关临床症状, 是否使用干扰素则需要充分考虑。Fernandez-Soto等^[21]通过对41例CHB患者(其中治疗前5% TPOAb阳性, 3%TgAb阳性)研究, 发现CHB患者在接受干扰素抗HBV治疗结束后有5%患者出现甲状腺功能异常但是不伴临床症状, 在停用干扰素6 mo后抗体滴度均恢复正常。Kansu等^[22]则报道了CHB患儿在干扰素治疗期间出现抗甲状腺抗体阳性后继续治疗并未出现甲状腺功能障碍。Preziati等^[23]的前瞻性研究提示干扰素治疗与自身免疫性甲状腺疾病密切相关, 女性患者或干扰素治疗前TPO-Ab滴度高于18 kIU/L是自身免疫性甲状腺疾病发生的危险因素。因此《共识》并没有把有甲状腺功能异常史或治疗前甲状腺自身抗体滴度高的患者列为禁忌证, 但是推荐在干扰素使用期间定期检测包括TPO-Ab在内的甲状腺功能指标。

3.2 伴有糖尿病 干扰素与1型糖尿病是否有关, 目前存在争议。国外既有干扰素治疗抗病毒治疗诱发糖尿病的报告, 也有口服干扰素治疗糖尿病的报告。国内到2008年才由Lv等^[24]报道了第1例干扰素诱导糖尿病病例。目前, 美国、欧洲以及亚太《指南》均没有把糖尿病列入干扰素抗HBV治疗的禁忌证。中国《指南》及美国肝病研究学会的《丙型肝炎防治指南》和胃肠病研究学会的《丙型肝炎防治指南》只是把未能很好控制的糖尿病视为相对禁忌证^[25,26]。对于合并糖尿病并发症如糖尿病视网膜病变、周围神经病变和酮症酸中毒的患者干扰素治疗报道均来自对丙型肝炎的治疗。Panetta等^[27]报道合并糖尿病的患者使用干扰素不会增加视网膜病变的风险。但是Viennet等^[28]报道了使用干扰素可能导致视网膜病变或使原有视网膜病变加重。Lee等^[29]则报道了干扰素联合利巴韦林导致糖尿病酮症酸中毒的病例。因此, 对于血糖控制不佳合并糖尿病并发症或者在干扰素治疗期间出现上述并发症的CHB患者不建议用干扰素抗病毒治疗。相反, 使用核苷(酸)类似物没有禁忌证。长期使用核苷类似物有效, 肝脏功能恢复后, 血糖水平也能得到有效的调控。当然对于血糖水平未得到有效控制的患者在使用恩替卡韦时要提防乳酸中毒, 而有糖尿病肾病的患者应注意药物剂量并慎用阿德福韦酯。

3.3 伴有自身免疫性肝病 CHB患者血清中抗核

抗体、抗平滑肌抗体、抗线粒体抗体、抗肝肾微粒体抗体等自身抗体滴度增高在临床上并不少见, 干扰素抗HBV治疗过程诱发自身抗体滴度升高甚至自身免疫性肝病的案例也有报道。由于缺乏充分的循证医学证据, 也没有相关的诊断标准出台, 因此病毒性肝炎合并自身免疫性肝病的诊断较为困难, 伴有自身免疫性肝炎特征的慢性乙型肝炎患者是否需要抗病毒治疗、能否使用干扰素抗病毒等问题也更为复杂, 早期的报道也互相冲突。目前主要通过判断肝脏损伤是由自身免疫性肝炎还是CHB引起来决定是否抗HBV治疗。Fattovich等^[30]报道在干扰素抗HBV治疗之前或治疗过程中自身免疫性肝炎相关抗体阳性的CHB患者可以继续使用干扰素治疗, 治疗结束后自身抗体滴度一般会下降, 也未出现严重的自身免疫性肝病。Cianciara等^[31]则报道了干扰素抗HBV治疗时诱导自身免疫性肝炎并加重肝脏损伤的病例。但是, 由于干扰素在治疗慢性丙型肝炎时出现严重的自身免疫性肝炎的大量报道, 特别是随着核苷(酸)类似物的广泛应用和其安全性得到肯定, 这种争论也就戛然而止。CHB合并原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎诊断相对容易, 目前尚没有使用干扰素抗HBV治疗的报道。有报道称拉米夫定单用或联合齐多夫定抗病毒治疗后可以使ALP、ALT、AST下降, 减轻原发性胆汁性肝硬化患者胆管损伤。因此, 合并自身免疫性肝病的CHB患者抗病毒治疗应该首选核苷(酸)类似物^[32]。另外, 部分治疗自身免疫性肝病药物如熊去氧胆酸已被证明有免疫调节作用并可能具有抗HBV作用, 可以考虑联合使用^[33]。

3.4 伴有与自身免疫有关的肾脏疾病 CHB合并与自身免疫有关的肾脏疾病包括两类, 即以HBV相关肾小球肾炎为主的HBV感染引起的肾脏损伤和与HBV感染无关, 由自身免疫原因引起的肾脏疾病。这两类疾病均有可能进展至肾衰竭, 需要透析甚至肾移植。不管是为了改善肾功能的前一类患者, 还是为了减轻伴随的肝脏损伤的后一类患者, 均需要抗病毒治疗。在核苷酸类似物出现之前, 人们尝试使用干扰素抗HBV治疗。在20世纪80年代, Lisker-Melman等^[34]研究发现合并自身免疫性肾脏疾病的患者在接受每天5百万单位重组干扰素后, 肾脏功能伴随HBV DNA的抑制和ALT的下降而改善。其后, 陆续有关干扰素对伴有与自身免疫有关肾脏疾病的CHB患者抗病毒治疗的类似报道。研究还

■相关报道

中国慢性乙型肝炎特殊患者抗病毒治疗专家委员会发布的《慢性乙型肝炎特殊患者抗病毒治疗专家共识》初步对伴有自身免疫性疾病的CHB患者抗病毒治疗进行了探讨。

■创新盘点

合并自身免疫性疾病的CHB患者能否使用干扰素进行抗病毒治疗一直是临床医师面临的棘手的问题, 本文认为部分这类患者合理使用干扰素抗病毒治疗仍能获得很好收益。

发现肾衰竭需要透析患者、肾移植前患者以及肾移植后患者在权衡风险和收益后可以考虑使用干扰素抗HBV治疗。随着核苷(酸)类似物的出现, 这种治疗手段越来越受到质疑, 应用这种疗法的报道也减少。但是对于使用核苷酸类似物同样有风险的儿童, 干扰素仍有使用的报道。Szczepańska等^[35]在2005年的小样本研究提出干扰素在肾脏疾病儿童患者使用有效, 至少不会恶化原有疾病。因此, 在权衡利弊得失后, 不耐受或不愿使用核苷酸类似物治疗的肾脏疾病的患者, 尤其是儿童患者可以考虑使用干扰素抗HBV治疗。核苷酸类似物在肾脏疾病患者没有绝对禁忌证, 但是在使用时要考虑肌酐清除率、透析等情况, 参照说明书调整用药剂量。

3.5 合并需要免疫抑制剂治疗的自身免疫性疾病 对于合并其他自身免疫性疾病需要糖皮质激素等免疫抑制治疗的CHB患者, 大部分《指南》建议HBsAg阳性患者即使HBV DNA阴性也应该在使用上述治疗之前至少1 wk使用核苷(酸)类似物抗HBV治疗, 而HBV DNA阳性者如果在病毒复制被抑制以后再开始免疫抑制治疗则更安全。对于HBsAg阴性、HBVDNA阴性、抗HBc抗体阳性的患者则需要定期监测ALT、HBV DNA水平, 发现HBV DNA阳性, 应及时抗病毒治疗。虽然多数《指南》没有推荐具体的抗病毒药物, 但是专家建议使用抗病毒效果好、耐药发生率低的药物如恩替卡韦。在治疗过程中要增加监测病毒水平的频率, 及时发现和处理耐药的发生。其治疗疗程专家意见不一, 对治疗之前HBV DNA阴性的患者, 在免疫抑制治疗结束后6-12 mo可以尝试停药。治疗之前HBV DNA阳性, 尤其是大于 10^8 拷贝/L的患者建议长期服药, 治疗终点与其他患者一致。另外, 有研究提出合并风湿性疾病的部分CHB患者以及HBV感染相关的结节性多动脉炎患者可以使用干扰素联合糖皮质激素治疗, 预防和控制HBV复制, 但是目前还没有形成共识^[36]。

4 结论

CHB目前仍然被认为是一种终身疾病, 但是积极有效的抗病毒治疗尤其是核苷酸类似物和干扰素等药物在临床的大量应用, 极大地提高了CHB患者的生活质量和生命预期。在CHB患者的诊治过程中, 我们应该认识到虽然核苷酸类似物对合并有自身免疫性疾病的CHB患者安全性较高, 但不是所有此类患者均有干扰素抗

HBV治疗的绝对禁忌证。在知情同意情况下, 给予部分患者合理使用干扰素不但可以抗HBV, 还能改善并发的自身免疫性疾病。对于确有干扰素应用禁忌证的患者应该避免使用干扰素, 防止合并的自身免疫性疾病恶化。

5 参考文献

- 1 Maya R, Gershwin ME, Shoenfeld Y. Hepatitis B virus (HBV) and autoimmune disease. *Clin Rev Allergy Immunol* 2008; 34: 85-102
- 2 钱静, 刘勇钢. 甲状腺与肝脏疾病关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1167-1170
- 3 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology* 2009; 50: 661-662
- 4 EASL Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2009; 50: 227-242
- 5 Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatol Int* 2008; 2: 263-283
- 6 中华医学会肝病学分会、感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. *中华肝脏病杂志* 2005; 13: 881-891
- 7 Fleischer RD, Lok AS. Myopathy and neuropathy associated with nucleos(t)ide analog therapy for hepatitis B. *J Hepatol* 2009; 51: 787-791
- 8 Stojkov D, Lavrnja I, Pekovic S, Dacic S, Bjelobaba I, Mostarica-Stojkovic M, Stosic-Grujicic S, Jovanovic S, Nedeljkovic N, Rakic L, Stojiljkovic M. Therapeutic effects of combined treatment with ribavirin and tiazofurin on experimental autoimmune encephalomyelitis development: clinical and histopathological evaluation. *J Neurol Sci* 2008; 267: 76-85
- 9 潘修成, 杨帆, 陈明, 傅涓涓, 郭忠胜, 张言超, 孙莉莉. 替比夫定对慢性乙型肝炎患者外周血CD4+CD25+调节性T细胞动态变化的影响及其临床意义. *中华肝脏病杂志* 2008; 12: 885-888
- 10 Chien RN, Liaw YF, Chen TC, Yeh CT, Sheen IS. Efficacy of thymosin alpha1 in patients with chronic hepatitis B: a randomized, controlled trial. *Hepatology* 1998; 27: 1383-1387
- 11 You J, Zhuang L, Cheng HY, Yan SM, Yu L, Huang JH, Tang BZ, Huang ML, Ma YL, Chongsuvivatwong V, Sriplung H, Geater A, Qiao YW, Wu RX. Efficacy of thymosin alpha-1 and interferon alpha in treatment of chronic viral hepatitis B: a randomized controlled study. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6715-6721
- 12 Chien RN, Lin CY, Yeh CT, Liaw YF. Hepatitis B virus genotype B is associated with better response to thymosin alpha1 therapy than genotype C. *J Viral Hepat* 2006; 13: 845-850
- 13 李玲, 王宇明. 阿德福韦酯联合胸腺五肽治疗慢性乙型肝炎初探. *免疫学杂志* 2008; 24: 103-105
- 14 Romani L, Bistoni F, Montagnoli C, Gaziano R, Bozza S, Bonifazi P, Zelante T, Moretti S, Rasi G, Garaci E, Puccetti P. Thymosin alpha1: an endogenous regulator of inflammation, immunity, and tolerance. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1112: 326-338
- 15 Pierluigi B, D'Angelo C, Fallarino F, Moretti S, Zelante T, Bozza S, De Luca A, Bistoni F, Garaci E, Romani L. Thymosin alpha1: the regulator of regulators? *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1194: 1-5
- 16 王琳, 郭成山, 侯明, 李丽珍, 张春青, 陈峰, 秦平, 彭军, 贺韦东, 初晓霞. 胸腺肽 $\alpha 1$ 联合大剂量地塞米松治疗慢性特发性血小板减少性紫癜的疗效分析. *中华内科杂志* 2007; 46: 274-276

- 17 刘树人, 张雁, 谢庆, 李灼亮, 余宙耀, 孔祥平. HBsAg 冲击致敏的自体DCs诱导的CIK细胞对慢性乙型肝炎的治疗作用. 世界华人消化杂志 2005; 13: 897-899
- 18 高燕, 魏来, 陈红松, 孙婧, 王松霞, 王宇. 免疫活性细胞回输法治疗慢性乙型肝炎不引起肝组织损害. 中华肝病杂志 2003; 11: 391-393
- 19 Chun S, Zucker SD. Combination therapy for chronic hepatitis B: a one-two knockout punch, or a swing and a miss? *Gastroenterology* 2006; 130: 613-664; discussion 613-664
- 20 慢性乙型肝炎特殊患者抗病毒治疗专家委员会. 慢性乙型肝炎特殊患者抗病毒治疗专家共识. 中华实验和临床感染病杂志(电子版) 2010; 4: 92-101
- 21 Fernandez-Soto L, Gonzalez A, Escobar-Jimenez F, Vazquez R, Ocete E, Olea N, Salmeron J. Increased risk of autoimmune thyroid disease in hepatitis C vs hepatitis B before, during, and after discontinuing interferon therapy. *Arch Intern Med* 1998; 158: 1445-1448
- 22 Kansu A, Kuloğlu Z, Demirçeken F, Girgin N. Autoantibodies in children with chronic hepatitis B infection and the influence of interferon alpha. *Turk J Gastroenterol* 2004; 15: 213-218
- 23 Preziati D, La Rosa L, Covini G, Marcelli R, Rescalli S, Persani L, Del Ninno E, Meroni PL, Colombo M, Beck-Peccoz P. Autoimmunity and thyroid function in patients with chronic active hepatitis treated with recombinant interferon alpha-2a. *Eur J Endocrinol* 1995; 132: 587-593
- 24 Lv YY, Shi BY, Guo H. Abrupt onset of type 1 diabetes mellitus during recombinant interferon-alpha 2b therapy in a patient with chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4713-4715
- 25 Dienstag JL, McHutchison JG. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of hepatitis C. *Gastroenterology* 2006; 130: 225-230
- 26 Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology* 2009; 49: 1335-1374
- 27 Panetta JD, Gilani N. Interferon-induced retinopathy and its risk in patients with diabetes and hypertension undergoing treatment for chronic hepatitis C virus infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30: 597-602
- 28 Viennet A, Glatre F, Bacin F. [Interferon-related retinopathy in a man with chronic hepatitis C]. *J Fr Ophthalmol* 2009; 32: 505-510
- 29 Lee YN, Jeong SW, Lim JH, Ryu YS, Jeon SR, Kim SK, Jang JY, Kim YS, Kim BS, Roh MO. [Occurrence of diabetic ketoacidosis and autoimmune thyroiditis in a patient treated with pegylated interferon-alpha 2b and ribavirin for chronic hepatitis C]. *Korean J Hepatol* 2010; 16: 187-191
- 30 Fattovich G, Betterle C, Brollo L, Pedini B, Giustina G, Realdi G, Alberti A, Ruol A. Autoantibodies during alpha-interferon therapy for chronic hepatitis B. *J Med Virol* 1991; 34: 132-135
- 31 Cianciara J, Laskus T. Development of transient autoimmune hepatitis during interferon treatment of chronic hepatitis B. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1842-1844
- 32 Mason AL, Farr GH, Xu L, Hubscher SG, Neuberger JM. Pilot studies of single and combination antiretroviral therapy in patients with primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2348-2355
- 33 Fabris P, Tositti G, Mazzella G, Zanetti AR, Nicolini R, Pellizzer G, Benedetti P, de Lalla F. Effect of ursodeoxycholic acid administration in patients with acute viral hepatitis: a pilot study. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 1187-1193
- 34 Lisker-Melman M, Webb D, Di Bisceglie AM, Kasianides C, Martin P, Rustgi V, Waggoner JG, Park Y, Hoofnagle JH. Glomerulonephritis caused by chronic hepatitis B virus infection: treatment with recombinant human alpha-interferon. *Ann Intern Med* 1989; 111: 479-483
- 35 Szczepańska M, Tobis A, Schneiberg B, Szprynger K, Kobos E, Morawiec-Knysak A. [Treatment of chronic hepatitis with interferon in children with kidney diseases]. *Pol Merkur Lekarski* 2005; 18: 22-28
- 36 Kötter I, Hamuryudan V, Öztürk ZE, Yazici H. Interferon therapy in rheumatic diseases: state-of-the-art 2010. *Curr Opin Rheumatol* 2010; 22: 278-283

■同行评价

本文叙述了伴有自身免疫性疾病的慢性乙型肝炎患者抗病毒策略, 文笔较流畅, 层次清晰, 参考文献较新, 值得临床医师阅读。

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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)

慢性HBV感染者复发期和免疫清除期在不同年龄阶段的临床病毒学特征

吴殿磊, 徐光华, 冯继红, 陈延平, 刘娜

吴殿磊, 延安大学附属医院感染病科 延安大学医学院 陕西省延安市 716000

徐光华, 冯继红, 陈延平, 刘娜, 延安大学附属医院感染病科 陕西省延安市 716000

作者贡献分布: 此课题由徐光华设计; 研究过程由冯继红、吴殿磊、刘娜及陈延平操作完成; 数据分析由吴殿磊完成; 本论文写作由吴殿磊完成。

通讯作者: 徐光华, 教授, 716000, 陕西省延安市, 延安大学附属医院感染病科. yaxugh@yahoo.com.cn

电话: 0911-2881196

收稿日期: 2011-03-12 修回日期: 2011-05-06

接受日期: 2011-05-17 在线出版日期: 2011-05-28

Clinical and virological characteristics of patients with chronic hepatitis B during immune clearance or reactivation

Dian-Lei Wu, Guang-Hua Xu, Ji-Hong Feng, Yan-Ping Chen, Na Liu

Dian-Lei Wu, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Yan'an University, Medical College of Yan'an University; Yan'an 716000, Shaanxi Province, China
Guang-Hua Xu, Ji-Hong Feng, Yan-Ping Chen, Na Liu, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an 716000, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Guang-Hua Xu, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an 716000, Shaanxi Province, China. yaxugh@yahoo.com.cn

Received: 2011-03-12 Revised: 2011-05-06

Accepted: 2011-05-17 Published online: 2011-05-28

Abstract

AIM: To investigate the clinical and virological characteristics of patients with chronic hepatitis B (CHB) during the immune clearance or reactivation phases.

METHODS: Five hundred and seventy CHB patients during the immune clearance or reactivation phases who had a disease history of more than 12 mo were selected from Yan'an region in China. These patients were divided into three age groups (<20, 20-40, >40). Serum levels of HBV DNA and HBeAg were measured by real-time fluorescence quantitative polymerase chain

reaction (FQ-PCR) and time-resolved fluoroimmunoassay (TRFIA), respectively. Serum level of anine aminotransferase (ALT) was also measured.

RESULTS: Patients (166/270) during the reactivation phase were mostly aged above 40 years (166/270) and more likely to be males ($P = 0.000, 0.002$). Cases with an ALT level two times less than the normal value accounted for considerable proportions in patients during the reactivation phase (12.59%, 45.93%). Patients during the immune clearance were distributed mainly in the 20-40 age group (153/300). Of 300 patients during the immune clearance phase who were followed up for more than 50 mo, 193 achieved spontaneous HBeAg seroconversion. Younger patients achieved HBeAg seroconversion in a shorter time than older ones ($P = 0.001, 0.004$).

CONCLUSION: There are significantly different clinical and virological characteristics among patients during immune clearance or reactivation in different age groups.

Key Words: Chronic hepatitis B virus infection; Immune clearance; Reactivation; Clinical and virological characteristics

Wu DL, Xu GH, Feng JH, Chen YP, Liu N. Clinical and virological characteristics of patients with chronic hepatitis B during immune clearance or reactivation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1639-1643

摘要

目的: 研讨慢性乙型肝炎在不同年龄阶段免疫耐受期和复发期临床病毒学特征。

方法: 随机选取免疫清除期和复发期慢性乙型肝炎患者570(免疫清除期患者300例和复发期患者270例)。按年龄分为: <20岁组, 20-40岁组, >40岁组。用实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)及时间分辨荧光免疫分析(TRFIA)技术检测其血清中HBV DNA、HBeAg含量, 用速率法检测ALT水平。同时对患者肝脏进行

■背景资料

关于HBV临床病毒学特征研究的学术文章较多, 但用HBV临床病毒学定量指标, 分不同年龄阶段, 对免疫清除期和复发期患者进行分析, 尚未见详细报道。

■同行评议者

杨江华, 副教授, 安徽省芜湖市皖南医学院弋矶山医院感染科

■研究前沿

慢性乙型肝炎抗病毒治疗ALT升高的标准和时机存在争议,免疫清除期和复发期这两类患者在特定情况下需要抗病毒治疗,本课题涉及的临床基础研究为进一步研究治疗标准有一定意义。

B型超声探查。

结果: 复发期患者主要在>40岁组(166/270),其比例显著高于其他组,而且,男性比女性比例明显高($P = 0.000, 0.002$)。在270例复发期患者中,ALT水平低于2倍正常值水平的患者占有相当的比例(12.59%, 45.93%)。免疫清除期患者主要分布于20-40岁组(153/300),对300例免疫清除期患者随访10-50 mo,结果显示193例患者实现了有效的血清转换(HBeAg-antiHBe),血清转换主要发生在20-40岁组($P = 0.003, 0.002$),而且越年轻转换时间越短($P = 0.001, 0.004$)。

结论: 在不同的年龄阶段,免疫耐受期和复发期存在完全不同的临床病毒学特征。

关键词: 慢性乙型肝炎; 免疫清除; 复发; 临床病毒学特征

吴殿磊, 徐光华, 冯继红, 陈延平, 刘娜. 慢性HBV感染者复发期和免疫清除期在不同年龄阶段的临床病毒学特征. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1639-1643

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1639.asp>

0 引言

慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染自然史一般分为4个期^[1,2]免疫耐受期、免疫清除期、非活动携带状态和复发期。免疫耐受期,HBV DNA水平较高,HBeAg阳性表达,ALT水平在正常范围。免疫清除期,ALT水平持续或者间断高于正常值上限,HBV DNA和HBeAg值仍较高。稳定期也称非活动携带状态,HBeAb阳性表达,HBV DNA阴性,ALT水平正常。复发期,ALT超出正常范围,HBV DNA升高,有时还伴随HBeAg阳转。据报道^[1,3],年龄在HBV慢性感染过程中起重要作用,因此,我们在不同年龄阶段从HBV慢性感染史的角度,通过HBV定量、HBV-M(HBV血清标志物)定量、ALT及B超等指标,研究慢性乙型肝炎免疫清除期和复发期HBV临床病毒学特征,希望这些资料数据对对不同年龄慢性乙型肝炎的临床预后判断能有所帮助。

1 材料和方法

1.1 材料 随机选取2005-06/2010-06延安大学附属医院感染科门诊免疫清除和复发患者570例,其中女268例,男302例。患者按年龄分为3组,即:<20岁组、20-40岁组、>40岁组。ALT水平持续或间断升高并高于正常值上限4倍以上的患者不纳入研究范围,ALT一过性升高者(如:劳累、

表 1 HBeAg和HBV DNA检测诊断标准

诊断水平	HBV DNA(copies/mL)	HBeAg(DRU/mL)
阴性	<10 ³	<0.03
阳性	>10 ³	>0.03
低水平升高	10 ³ -10 ⁵	0.12-0.5
中等水平升高	10 ⁵ -10 ⁸	0.5-2.0
高水平升高	>10 ⁸	2.0-8.0

表 2 慢性乙型肝炎自然史临床诊断标准(HBV DNA取对数)

自然史	HBV DNA (copies/mL)	HBeAg (DRU/mL)	ALT(U/L)	B超或CT
免疫耐受期	>5	>0.03	<40	正常或不正常
免疫清除期	>3	>0.03	>40	正常或不正常
稳定期	<3	<0.03	<40	正常或不正常
复发期	>3	<0.03	>40/<40	正常或不正常

熬夜、饮酒、使用肝脏损害药物等)也排除在外。所有入选病例未进行过抗病毒治疗。无合并其他肝炎病毒感染。诊断符合2005-12北京公布的《乙型肝炎防治指南》中的诊断标准。随访观察时间为10-60 mo。美国PE公司Gene Amp7500定量基因检测系统和1235 Auto DELFIA全自动时间分辨荧光免疫分析系统定量检测HBV DNA和HBV-M;日立7600全自动生化分析仪检测ALT等生化指标。HBV核酸荧光检测试剂盒,由中山大学达安基因诊断中心提供;时间分辨荧光免疫分析乙型肝炎血清标志物定量检测试剂盒,由苏州新波生物技术有限公司提供;ALT相关试剂,由北京九强生物技术有限公司提供。

1.2 方法 取患者当日空腹血,分为3管,分别作HBV DNA定量,乙型肝炎血清标志物定量,ALT检测。操作严格按说明书进行。根据参考文献[1]、试剂说明和结合本实验室的具体情况规定检测诊断标准,检测诊断标准见表1,2。HBV DNA和HBeAg检测灵敏度分别为: 10⁶ copies/L和0.003 DRU/mL。ALT正常值上限为40 IU/L。

统计学处理 所有数据以mean±SD表示。用SPSS13.0统计软件进行卡方(chi-square test)、*t*检验直线相关和线性回归分析。

2 结果

2.1 检测结果构成 免疫清除患者在各年龄组分

表 3 570例患者在不同年龄阶段, HBV临床检测基本特征

年龄组	自然史	HBV DNA (copies/mL)	HBeAg (DRU/mL)	ALT(U/L)	HCC/LC伴B超 或CT异常 ^a	男/女
<20岁	免疫清除期	6.46 ± 0.62	1.15 ± 0.272	84.70 ± 31.46	0	25/28
	复发期	6.05 ± 0.113	<0.03	90.63 ± 23.45	2	3/5
20-40岁	免疫清除期	6.64 ± 0.62	1.22 ± 0.33	91.40 ± 38.30	2	74/79
	复发期	6.61 ± 0.73	<0.03	71.38 ± 32.75	4	58/38
>40岁	免疫清除期	6.77 ± 0.56	1.28 ± 0.21	87.50 ± 30.97	3	41/53
	复发期	6.61 ± 0.68	<0.03	76.69 ± 28.80	9	101/65

HCC: 肝细胞癌; LC: 肝硬化.

■创新盘点

本研究在慢性HBV感染自然史的背景下, 用HBV临床病毒学定量指标分不同年龄阶段, 分别阐明免疫清除期和复发期检测结果的构成状况, 并对应其自然史进行临床分析, 以期寻找较合适的治疗时机.

表 4 免疫清除患者血清转换随访结果 ($n = 300$)

年龄组	血清转换前		血清转换		合计 n (%)	血清转换 平均时间(mo)
	男	女	男	女		
<20岁	25	79	21	55	40(75.5) ^b	8.87 ± 2.74 ^b
20-40岁	28	41	19	25	106(69.3) ^b	9.52 ± 3.23 ^b
>40岁	74	53	51	22	47(50.0)	12.31 ± 5.98

^b $P < 0.01$ vs >40岁组.

布为: <20岁组53例; 20-40岁组153例; >40岁组94例. 在20-40岁组, 免疫清除患者占51%, 高于其他2组比例. 在不同年龄组, 免疫清除患者无明显性别差异. 复发期患者在各年龄组分布为: <20岁组8例; 20-40岁组96例; >40岁组166例. 复发期患者主要在>40岁组, 且男性明显多于女性(>40岁组: $P = 0.000$; 20-40岁组: $P = 0.026$; <20岁组: $P = 0.538$, 表3).

2.2 免疫清除期患者随访结果 300例免疫耐受期患者随访10-60 mo. 嘱咐其尽可能避免肝脏损害的活动(如: 劳累、熬夜、饮酒, 使用肝脏损害药物等). 随访检测包括: HBV DNA、HBV-M、ALT和B超或CT检测, 每3-6 mo进行1次. 结果显示, 193例患者实现了有效的血清转换(HBeAg到 anti-HBe). 血清转换主要发生在20-40岁组($P = 0.003$, 0.002). 转换时间为: 5.3-33.7 mo, 不同年龄组转换时间均值分别为: 8.87 mo ± 2.74 mo (<20岁组); 9.52 mo ± 3.23 mo(20-40岁组); 12.31 mo ± 5.98 mo(>40岁组), 各组间有显著差异. 年龄越大转换时间越长, 无性别差异(表4).

2.3 复发患者ALT水平和HBV DNA载量 在ALT水平上限1-2倍内的复发患者仍然较多(12.59%, 45.93%). 在ALT水平<40 U/L组、40-80 U/L组、>80 U/L组, HBV DNA载量均值分别为: 6.01 ± 0.6 copies/mL、6.54 ± 0.68 copies/mL、6.85 ±

表 5 复发期患者ALT水平和HBV DNA载量 ($n = 270$)

ALT(U/L)	n (%)	HBV DNA(copies/mL)
<40组	12.59(34/270)	6.01 ± 0.67 ^b
40-80组	45.93(124/270)	6.54 ± 0.68 ^d
>80组	41.48(112/270)	6.85 ± 0.61

^b $P < 0.01$ vs ALT 40-80组和>80 U/L组; ^d $P < 0.01$ vs ALT>80 U/L组.

0.61 copies/mL, 有显著差异($P = 0.000$, 0.000、0.000). 同时在HBV DNA和ALT之间存在正相关($r = 0.480$, $P = 0.000$)和线性回归关系($b = 0.01$, $R^2 = 0.23$, $P = 0.000$, 图1, 表5).

3 讨论

在20-40岁组, 免疫清除患者比例明显高于其他组, 我们以往的研究结果显示^[4]免疫耐受的患者主要分布在<20岁组, 大多数情况下, 随着青少年年龄的增长, 他们自身的免疫系统逐渐发育成熟, 开始清除机体HBV(机体从免疫耐受期进入免疫清除期), 这是他们获得免疫清除能力的主要原因. HBeAg的清除及有效地血清转换, 无论是自发的还是抗病毒治疗形成的, 对于其预后都非常有^[5-13]. 随访300例免疫清除患者显示有相当比例患者(193/300)实现了安全有效地血清

■应用要点

研究发现,免疫清除患者主要在20-40岁组,年龄越大越不易实现血清转换。而复发期的患者主要分布于40岁以上的人群。复发和HCC/LC患者男性明显多于女性。这为不断完善慢性乙型肝炎防治策略提供了宝贵的临床病毒学资料。

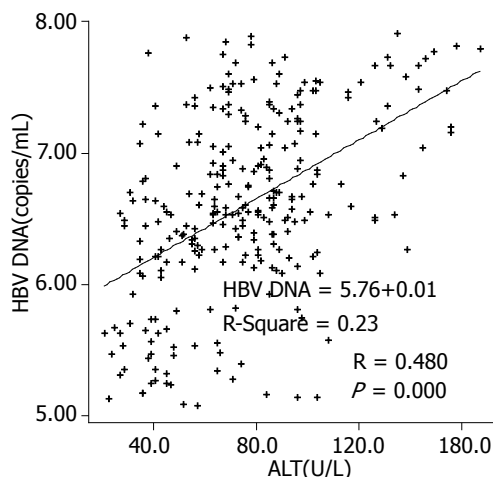


图1 HBV DNA对数值和ALT间存在正相关和线性回归关系。

转换,而且年龄越大越不易发生转换。这同先前的报道稍有差异^[14]。也许对免疫清除患者抗病毒治疗标准,在不同年龄阶段应该有所调整。

复发期的患者主要分布于40岁以上的人群。而且肝癌有9例(9/13)在>40岁组,明显多于其他组。复发和肝癌患者男性明显多于女性。也许男性的一些不良习惯(如:饮酒,熬夜娱乐等)是导致这一结果的原因,这一推测符合先前的一些相关报道^[15,16]。数据显示,HBV DNA(对数值)和ALT之间存在正相关和线性回归关系,这提示复发期肝细胞损害与HBV DNA载量明显相关。同时数据显示复发患者之间特点也存在差异,患者间ALT水平有较大差别,有的甚至在正常范围。但是长时间持续低水平HBV攻击机体,对他们的预后仍然不利。也许这些患者需要更频繁的随访(随访包括:HBV DNA载量,HBsAg定量,甲胎蛋白,ALT、B超或CT每3-6 mo复查1次)。鉴于复发期患者的不同特点,采取个体化抗病毒治疗标准也许更好。

据报道几个HBV基因突变(如:基本核心启动子T1762/A1764和前核心T1896位点突变等)与HBsAg阴性的慢性乙型肝炎(包括复发患者)及肝癌明显相关^[17-21],这些突变多发生在多年HBV感染之后。这些突变应该是病毒逃逸机体免疫的策略,同时也许是HBV复发的病毒学原因。

结果显示在不同的年龄阶段,免疫耐受期和复发期存在完全不同的临床病毒学特征。在HBV自然史中,年龄和患者患病的时间应该是重要因素。这两类患者在特定情况下需要抗病毒治疗,他们抗病毒治疗ALT升高的标准和时机是否也应该采取个体化方案?这需要进一步研究。

4 参考文献

- 1 Lok AS. Chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2002; 346: 1682-1683
- 2 Kao JH, Chen DS. Global control of hepatitis B virus infection. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 395-403
- 3 Lin CL, Liao LY, Liu CJ, Yu MW, Chen PJ, Lai MY, Chen DS, Kao JH. Hepatitis B viral factors in HBeAg-negative carriers with persistently normal serum alanine aminotransferase levels. *Hepatology* 2007; 45: 1193-1198
- 4 吴殿磊, 徐光华, 冯继红, 樊霞. 二十岁以下慢性HBV感染者HBV DNA与HBsAg的定量关系. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 909-912
- 5 Fattovich G, Giustina G, Schalm SW, Hadziyannis S, Sanchez-Tapias J, Almasio P, Christensen E, Krosgaard K, Degos F, Carneiro de Moura M. Occurrence of hepatocellular carcinoma and decompensation in western European patients with cirrhosis type B. The EUROHEP Study Group on Hepatitis B Virus and Cirrhosis. *Hepatology* 1995; 21: 77-82
- 6 Niederau C, Heintges T, Lange S, Goldmann G, Niederau CM, Mohr L, Häussinger D. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1996; 334: 1422-1427
- 7 de Jongh FE, Janssen HL, de Man RA, Hop WC, Schalm SW, van Blankenstein M. Survival and prognostic indicators in hepatitis B surface antigen-positive cirrhosis of the liver. *Gastroenterology* 1992; 103: 1630-1635
- 8 Yu MW, Hsu FC, Sheen IS, Chu CM, Lin DY, Chen CJ, Liaw YF. Prospective study of hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis in asymptomatic chronic hepatitis B virus carriers. *Am J Epidemiol* 1997; 145: 1039-1047
- 9 Fattovich G, Brollo L, Giustina G, Noventa F, Pontisso P, Alberti A, Realdi G, Ruol A. Natural history and prognostic factors for chronic hepatitis type B. *Gut* 1991; 32: 294-298
- 10 Fattovich G, Giustina G, Realdi G, Corrocher R, Schalm SW. Long-term outcome of hepatitis B e antigen-positive patients with compensated cirrhosis treated with interferon alfa. European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Hepatology* 1997; 26: 1338-1342
- 11 Lin SM, Sheen IS, Chien RN, Chu CM, Liaw YF. Long-term beneficial effect of interferon therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1999; 29: 971-975
- 12 Lau DT, Everhart J, Kleiner DE, Park Y, Vergalla J, Schmid P, Hoofnagle JH. Long-term follow-up of patients with chronic hepatitis B treated with interferon alfa. *Gastroenterology* 1997; 113: 1660-1667
- 13 Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, Farrell G, Lee CZ, Yuen H, Tanwandee T, Tao QM, Shue K, Keene ON, Dixon JS, Gray DF, Sabbat J. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 2004; 351: 1521-1531
- 14 Chen YC, Chu CM, Liaw YF. Age-specific prognosis following spontaneous hepatitis B e antigen seroconversion in chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51: 435-444
- 15 Villa E, Rubbiani L, Barchi T, Ferretti I, Grisendi A, De Palma M, Bellentani S, Manenti F. Susceptibility of chronic symptomless HBsAg carriers to ethanol-induced hepatic damage. *Lancet* 1982; 2: 1243-1244
- 16 Chevillotte G, Durbec JP, Gerolami A, Berthezene P, Bidart JM, Camatte R. Interaction between hepatitis

- b virus and alcohol consumption in liver cirrhosis. An epidemiologic study. *Gastroenterology* 1983; 85: 141-145
- 17 Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Basal core promoter mutations of hepatitis B virus increase the risk of hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. *Gastroenterology* 2003; 124: 327-334
- 18 Lin CL, Liao LY, Wang CS, Chen PJ, Lai MY, Chen DS, Kao JH. Basal core-promoter mutant of hepatitis B virus and progression of liver disease in hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Liver Int* 2005; 25: 564-570
- 19 Liu CJ, Chen BF, Chen PJ, Lai MY, Huang WL, Kao JH, Chen DS. Role of hepatitis B viral load and basal core promoter mutation in hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. *J Infect Dis* 2006; 193: 1258-1265
- 20 Liu CJ, Chen BF, Chen PJ, Lai MY, Huang WL, Kao JH, Chen DS. Role of hepatitis B virus precore/core promoter mutations and serum viral load on non-cirrhotic hepatocellular carcinoma: a case-control study. *J Infect Dis* 2006; 194: 594-599
- 21 Chen BF, Liu CJ, Jow GM, Chen PJ, Kao JH, Chen DS. High prevalence and mapping of pre-S deletion in hepatitis B virus carriers with progressive liver diseases. *Gastroenterology* 2006; 130: 1153-1168

■同行评价

本研究内容较为新颖, 对HBV感染者临床预后判断具有指导意义。

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则¹ $P<0.05$, ² $P<0.01$; 第3套为³ $P<0.05$, ⁴ $P<0.01$ 。 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/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/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。

《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-RCES权威、核心期刊排行榜与指南》和

中国知识资源总库收录。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。

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

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 1×10^{12} /L, WBC数用 1×10^9 /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、CO₂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 1×10^{-3} g与 5×10^{-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% CO₂, 50 mL/L CO₂; 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 = 45×10^{-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(2010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: 010-5908-0035, 传真: 010-8538-1893, 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)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \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 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq \text{分母} \leq 1000$, 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志谢中. 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: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认

《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。

为……; PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。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/lcyj.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, 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: 010-5908-0035
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

2011年国内国际会议预告

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

2011-06-24/26

2011南方消化论坛暨第七届全国肠道疾病学术大会

会议地点: 广州市

联系方式: gwei203@yahoo.com.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

2011-07-14/17

第五届地坛国际感染病会议

会议地点: 北京市

联系方式: info@bjditan.org

2011-07-22/24

第四届全国脂肪肝病专题研讨会

会议地点: 重庆市

联系方式: 010-85867619

2011-07-25/29

2011年第四届全国糖尿病及其并发症营养治疗新进展学习班

会议地点: 上海市

联系方式: tangyan8503@yahoo.cn

2011-07-29/30

肝脏疾病转化医学论坛(长春)暨第三届长春国际肝病高峰论坛

会议地点: 长春市

联系方式: gbgft@yahoo.cn

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

2011-08-20/22

第十五次全国中西医结合儿科学术会议

会议地点: 兰州市

联系方式: zxyek@sina.com

2011-08-31/09-02

腹腔间室综合征的护理进展

会议地点: 延吉市

联系方式: qiyan68@126.com

2011-09

中华医学会超声医学分会第十一次全国超声医学学术会议

会议地点: 青岛市

联系方式: http://www.nccsum.org/

2011-09-14/17

第六届全国疑难及重症肝病大会

会议地点: 兰州市

联系方式: office@cnsld.org

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

2011-09-15/18

第十三届全国肝癌学术会议

会议地点: 重庆市

联系方式: livercongress@zs-hospital.sh.cn

2011-09-16/18

第七届全国消化系统中晚期恶性肿瘤学术年会

会议地点: 济南市

联系方式: xiaohuahuiyi@126.com

2011-10-13/16

2011年亚太地区国际肿瘤生物学和医学学术会议

会议地点: 上海市

联系方式: clinimmunchina@yahoo.com

2011-10-21/23

中华医学会病理学分会第十七次学术会议

会议地点: 杭州市

联系方式: leighdai@cma.org.cn

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!

陈洪 主任医师
东南大学附属中大医院消化科

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

樊晓明 主任医师
复旦大学附属金山医院消化科

高国全 教授
中山大学中山医学院生化系

高泽立 主任医师
上海交通大学医学院附属第九人民医院周浦分院消化科

戈之铮 教授
上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

葛海燕 教授
同济大学附属第十人民医院普通外科

巩鹏 教授
大连医科大学附属第一医院普外二科

韩天权 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科 上海消化外科研究所

郝立强 副教授
上海长海医院普外二科

洪天配 教授
北京大学第三医院内分泌科

季菊玲 副教授
南通大学医学院病理教研室

李华山 主任医师
中国中医科学院广安门医院肛肠科

刘超 副教授
中山大学孙逸仙纪念医院肝胆胰外科

马红 主任医师
首都医科大学附属北京友谊医院肝病中心

牛英才 副研究员
齐齐哈尔医学院医药科学研究所

朴云峰 教授
吉林大学第一附属医院消化科

任建林 教授
厦门大学附属中山医院消化内科

石毓君 副研究员
四川大学华西医院外科

王蒙 副教授
中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

王志刚 副主任医师
上海市第六人民医院普外科

肖恩华 教授
中南大学湘雅二医院放射教研室

徐庆 教授
桂林医学院药理教研室

徐泱 副教授
上海复旦大学附属中山医院肝肿瘤外科

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院微创胆道外科

颜宏利 教授
中国人民解放军第二军医大学遗传学教研室

杨江华 副教授
安徽省芜湖市皖南医学院弋矶山医院感染科

于颖彦 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院器官移植中心病理室

袁友红 副教授
湖南省人民医院科研部

张国梁 主任医师
天津市第一中心医院消化内科