

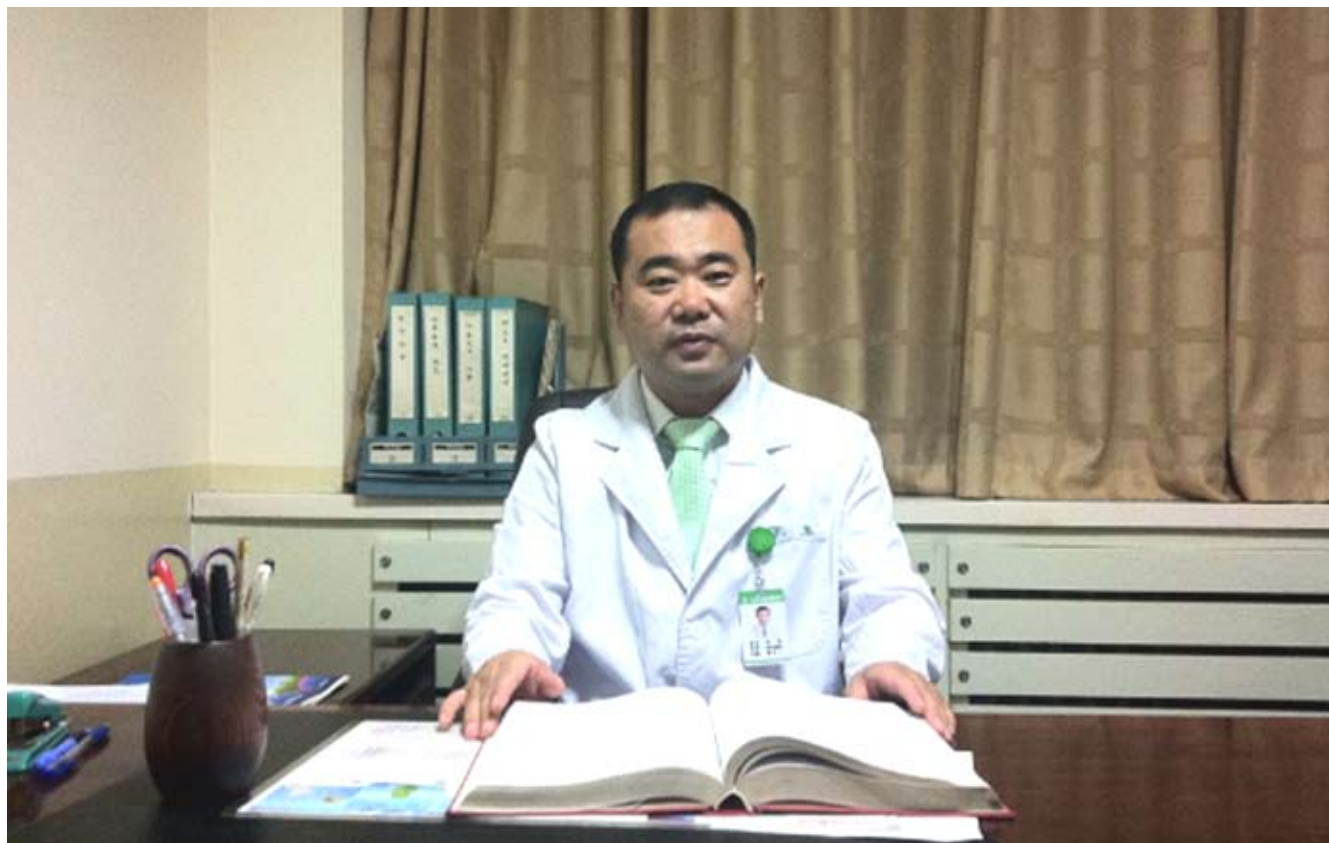
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)
CN 14-1260/R

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2012年9月8日 第20卷 第25期 (Volume 20 Number 25)



25 / 2012

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《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

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

程英升教授
党双锁教授
江学良教授
刘连新教授
刘占举教授
吕宾教授
马大烈教授
王小众教授
姚登福教授
张宗明教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
陈国忠主任医师
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
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊晓明教授
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
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
郝丽萍副教授

何松教授
洪天配教授
黄培林教授
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
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
陆伦根教授
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
任粉玉教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
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
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授

徐可树教授
杨建民教授
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
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
周宇教授
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
陈凜教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
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
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
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
莫卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
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
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李旭副教授
李永翔教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘建教授
刘颖斌主任医师
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕云福教授
麻勇研究员
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
单云峰副主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君研究员
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙星副教授
孙学英教授
邵升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授
田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王健生教授
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
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
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
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
陈志辉副主任医师
丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
刘正稳教授
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
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

消化中医学

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
刘绍能主任医师
南极星教授
牛英才研究员
王富春教授
邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
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
代智副研究员
江建新副主任医师
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢晓梅教授
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
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
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
魏经国教授
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
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
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
樊红教授
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
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李增山副教授
刘克辛教授
刘森副教授
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
汪思应教授
王钦红教授
魏继福研究员
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
阴赅宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
杜祥教授
邓昊副教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
潘兴华副主任医师
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
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2012年9月8日 第20卷 第25期 (总第393期)

述 评	2337 <i>ATM</i> 基因的表达与大肠癌放射敏感性关系的研究进展 李 革
基础研究	2341 <i>FUT3</i> -miRNA重组质粒对人胃癌KATO-III细胞增殖的影响 辛永红, 郝雁飞, 蔡永君, 刘强, 汪运山
临床研究	2347 <i>miR-191</i> 在胃癌组织中的表达及其靶基因的预测 郭鹏辉, 杜燕蕾, 聂玉强 2353 <i>Brg1</i> 在Peutz-Jeghers综合征息肉组织中的蛋白表达及基因突变 刘金霞, 张凡, 周平, 夏廷毅, 毛高平
文献综述	2358 肝性脑病发病机制的研究进展 张玉波 2364 <i>LPL</i> 、 <i>GPIIb/IIIa</i> 、 <i>apoA-V</i> 突变在高脂血症性急性胰腺炎发病中的作用 陈亚辉, 陈垦, 杨元生, 谢文瑞, 杜政委, 王晖 2370 晚期胰腺癌内科治疗的研究进展 赵亚东, 杨金坤, 赵爱光 2377 结直肠癌潜在预后标志物的研究进展 陈丽芳, 余英豪 2382 回盲部病变诊断的研究进展 孔文霞, 高青
研究快报	2388 <i>Cullin1</i> 蛋白在胃癌中的表达及临床意义 王维民, 周苏君, 顾贤成, 谈永飞, 葛志军, 周建伟, 周炎 2393 水通道蛋白2在胆总管结扎大鼠肝硬化肾组织中的表达及丹参注射液对其表达的影响 王建华, 郭永泽, 张晓岚 2397 <i>TAGLN</i> 真核表达载体pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-TAGLN-mut及稳定转染细胞株的构建 方媛媛, 苏红, 周慧敏, 林瑾
临床经验	2404 超声内镜联合CT对胃间质瘤的临床诊断价值 刘长青, 谭诗云, 李军华, 刘坤 2407 腹腔镜探查联合灌洗活检在进展期胃癌术前分期中的价值 朱信强, 李子禹 2410 非酒精性脂肪肝血尿酸水平与胰岛素抵抗的相关性 任习芳, 艾耀伟, 潘志红, 刘修莉, 陈畅, 龚发良 2414 细菌性肝脓肿58例 施言, 黄光明, 张发明, 朱晓娟, 范志宁, 季国忠 2420 肝细胞癌根治性治疗后口服维生素K2类似物的Meta分析 钟鉴宏, 黎乐群, 游雪梅, 向邦德, 马良, 龚文锋 2427 生长抑素及ENBD对预防ERCP术后胰腺炎的临床对照 郭汉斌, 李浩然, 李绍祥, 马丽, 龚丽娟, 曹建彪
病例报告	2432 氩氦刀冷冻治疗泌胰岛素性多发性内分泌瘤 I 型1例 张长明, 姚飞, 陈继兵, 黄丽雯, 李永强, 曾健滢, 滑艳艳, 刘卫群, 李艳红, 李家亮, 何丽华, 牛立志, 左建生, 徐克成

附 录	2436 《世界华人消化杂志》投稿须知 2441 2012年国内国际会议预告
志 谢	2442 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	2357 《世界华人消化杂志》栏目设置 2363 《世界华人消化杂志》出版流程 2369 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 2376 《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》 2387 《世界华人消化杂志》正文要求 2392 WJG总被引频次排名位于第174名 2403 《世界华人消化杂志》外文字符标准 2406 WJG成功通过评审被PMC收录 2413 《世界华人消化杂志》参考文献要求 2419 百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 李革, 副教授, 副主任医师, 133000, 吉林省延吉市, 延边大学附属医院胃肠外科
本期责任人	编务 周媛; 送审编辑 李军亮, 田滢; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 田滢; 形式规范审核编辑部主任 李军亮; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2012-09-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称 世界华人消化杂志

主管单位 山西省科学技术厅

主办单位 太原消化病研究中心

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

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

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属医院协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部主任 李军亮

印刷 北京科信印刷厂

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)

订购 全国各地邮电局

《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》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。

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。

2012年版权归世界华人消化杂志所有

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68.00元 全年2448.00元 1401004000050

www.wjgnet.com

World Chinese Journal of Digestology

September 2012 Contents in Brief Volume 20 Number 25

EDITORIAL	2337 Progress in understanding the relationship between <i>ATM</i> gene and radiosensitivity of colorectal cancer <i>Li G</i>
BASIC RESEARCH	2341 Transfection of miRNAs targeting the <i>FUT3</i> gene inhibits cell proliferation in human gastric cancer cell line KATO-III <i>Xin YH, Jia YF, Cai YJ, Liu Q, Wang YS</i>
CLINICAL RESEARCH	2347 Expression of miR-191 and its potential target genes in gastric carcinoma <i>Guo PH, Du YL, Nie YQ</i> 2353 Protein expression and gene mutation of Brg1 in Peutz-Jeghers syndrome <i>Liu JX, Zhang F, Zhou P, Xia TY, Mao GP</i>
REVIEW	2358 Progress in understanding the pathogenesis of hepatic encephalopathy <i>Zhang YB</i> 2364 Advances in understanding the role of gene mutation in the pathogenesis of hyperlipidemic acute pancreatitis <i>Chen YH, Chen K, Yang YS, Xie WR, Du ZW, Wang H</i> 2370 Advances in medical treatment of advanced pancreatic cancer <i>Zhao YD, Yang JK, Zhao AG</i> 2377 Recent advances in detection of potential prognostic markers in colorectal cancer <i>Chen LF, Yu YH</i> 2382 Progress in the diagnosis of ileocecal lesions <i>Kong WX, Gao Q</i>
RAPID COMMUNICATION	2388 Clinical significance of Cullin 1 protein expression in gastric cancer <i>Wang WM, Zhou SJ, Gu XC, Tan YF, Ge ZJ, Zhou JW, Zhou Y</i> 2393 <i>Salvia miltiorrhiza</i> reduces expression of aquaporin 2 in kidney tissue of cirrhotic rats <i>Wang JH, Guo YZ, Zhang XL</i> 2397 Construction of a eukaryotic expression vector carrying <i>tagln</i> and establishment of a cell line stably expressing <i>tagln</i> <i>Fang YY, Su H, Zhou HM, Lin Y</i>
CLINICAL PRACTICE	2404 Diagnostic value of endoscopic ultrasonography combined with CT in gastric stromal tumors <i>Liu CQ, Tan SY, Li JH, Liu K</i> 2407 Clinical value of laparoscopic exploration with peritoneal lavage in preoperative staging of advanced gastric cancer <i>Zhu XQ, Li ZY</i> 2410 Relationship between serum uric acid and insulin resistance in patients with nonalcoholic fatty liver disease <i>Ren XF, Ai YW, Pan ZH, Liu XL, Chen C, Gong FL</i> 2414 Pyogenic liver abscess: An analysis of 58 cases <i>Shi Y, Huang GM, Zhang FM, Zhu XJ, Fan ZN, Ji GZ</i> 2420 Oral vitamin K2 analogs for hepatocellular carcinoma after surgery: A meta-analysis <i>Zhong JH, Li LQ, You XM, Xiang BD, Ma L, Gong WF</i> 2427 Somatostatin versus endoscopic nasal biliary drainage in the prevention of post-ERCP pancreatitis and hyperamylasemia <i>Guo HB, Li HR, Li SX, Ma L, Gong LJ, Cao JB</i>

CASE REPORT	2432 Cryoablation for the treatment of multiple endocrine neoplasia type 1: A report of one case <i>Zhang CM, Yao F, Chen JB, Huang LW, Li YQ, Zeng JY, Hua YY, Liu WQ, Li YH, Li JL, He LH, Niu LZ, Zuo JS, Xu KC</i>
APPENDIX	2436 Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> 2441 Meeting events calendar in 2012
ACKNOWLEDGMENT	2442 Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Ge Li, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Yanbian University Hospital, Yanji 133000, Jilin Province, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Yuan Zhou</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li, Ying Tian</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Ying Tian</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 September 8, 2012

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)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

SCIENCE EDITORS

Director: Jun-Liang Li

SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue
RMB 2448 Yuan for one year

CSSN

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

COPYRIGHT

© 2012 Published by *World Chinese Journal of Digestology (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 © 2012 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

ATM基因与大肠癌放射敏感性关系的研究进展

李革

李革, 延边大学附属医院胃肠外科 吉林省延吉市 133000
李革, 副教授, 副主任医师, 研究生导师, 主要从事大肠肿瘤基础与临床研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 30960368
吉林省卫生厅基金资助项目, No. 2011-1
作者贡献分布: 文献检索、论文撰写和论文审校均由李革完成。
通讯作者: 李革, 副教授, 副主任医师, 研究生导师, 133000, 吉林省延吉市局子街1327号, 延边大学附属医院胃肠外科, geli522@yahoo.cn
电话: 0433-2660073
收稿日期: 2012-06-05 修回日期: 2012-08-16
接受日期: 2012-08-26 在线出版日期: 2012-09-08

Progress in understanding the relationship between ATM gene and radiosensitivity of colorectal cancer

Ge Li

Ge Li, Department of General Surgery, Yanbian University Hospital, Yanji 133000, Jilin Province, China.
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30960368; the Foundation of Health Department of Jilin Province, No. 2011-1
Correspondence to: Ge Li, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Yanbian University Hospital, 1327 Juzi District, Yanji 133000, Jilin Province, China. geli522@yahoo.cn
Received: 2012-06-05 Revised: 2012-08-16
Accepted: 2012-08-26 Published online: 2012-09-08

Abstract

Ataxia telangiectasia (AT) is an autosomal recessive disease, and the responsible gene is ATM. One clinical characteristic of AT is exquisite radiosensitivity to ionizing radiation. The ATM gene has been one of the most important targets in radiobiology field that are used to elucidate the mechanisms of radiosensitivity and radioresistance. This gene is located on human chromosome 11q22-q23 and is involved in the repair of DNA damage and regulation of cell cycle checkpoints. This article reviews the structure and functions of the ATM gene and the relationship between ATM and radiosensitivity of colorectal cancer.

Key Words: Ataxia telangiectasia; Radiosensitivity; Colorectal cancer

Li G. Progress in understanding the relationship between ATM gene and radiosensitivity of colorectal cancer. *Shijie*

Huaren Xiaohua Zazhi 2012; 20(25): 2337-2340

摘要

共济失调毛细血管扩张症因ATM基因发生突变所致, 一个主要特征是对放射线极度敏感, 使ATM成为研究辐射增敏的一个重要的切入点。ATM基因位于人类染色体的11q22-q23, 其蛋白主要参与DNA的损伤识别和修复、细胞周期的调控。本文将就有关ATM基因的结构功能及与大肠癌放射敏感性关系的研究进行相关综述。

关键词: ATM; 放射敏感性; 大肠癌

李革. ATM基因与大肠癌放射敏感性关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20(25): 2337-2340
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2337.asp>

0 引言

大肠癌是人类常见的恶性肿瘤之一, 过去几十年里的报道表明, 即使施行了根治性手术, 但其5年生存率只有50%左右^[1]。目前, 大肠癌的治疗中, 结合手术、化疗、放疗的治疗成为新的模式。特别因放疗对大肠癌治疗的诸多优点, 广泛应用于临床^[2-5]。然而, 部分患者对放疗敏感性不高, 因此, 寻找一种科学、可行的途径来预测肿瘤的放射敏感性, 进而进行人为的干预, 提高放疗疗效、减少放疗的并发症, 是临床上亟待解决的问题。研究证实, ATM基因表达与细胞放射敏感性有密切的关系。本文就有关ATM基因的结构功能及与大肠癌放射敏感性关系的研究进行简要综述。

1 ATM基因的结构和功能

共济失调毛细血管扩张症(ataxia-telangiectasia, AT)是一种罕见的常染色体隐性遗传病, 以进行性中枢神经元变性、免疫缺陷、对放射线敏感为特点。1995年Savitsky等^[6]确定AT为单基因遗传病, 并由于他是AT基因突变所致, 因而将此致病基因命名为ATM(AT mutated)。

■背景资料

多项研究已经证实ATM基因的表达与多种恶性肿瘤的放射敏感性有关, 抑制ATM基因功能或直接通过下调ATM基因产物表达可以增加恶性肿瘤患者对辐射的敏感性以提高放疗疗效, 对ATM基因的进一步深入研究可能会开辟肿瘤治疗的新途径。

■同行评议者

吴泰璜, 教授, 山东省立医院肝胆外科

■研发前沿

对于辐射抗拒导致大肠癌放射治疗失败仍是个世界性难题的今天,利用各种方法造成类似ATM基因突变状态、抑制ATM基因功能或直接通过下调ATM基因产物表达来增加患者对辐射的敏感性,可能是治疗恶性肿瘤的一个良好策略。

ATM基因定位于人类染色体11q22-23,有150 kbp的DNA,66个外显子,其表达基因(mRNA)为13 kbp.整个ATM基因编码3 056个氨基酸,分子量约350 kDa,ATM蛋白广泛表达于人体各种组织细胞中.ATM基因由于其3'端序列与PI3K的序列同源性,与DNA-PK等同属于PI3K基因家族,在DNA损伤、修复以及相应的细胞周期反应信号传导中处于关键位置^[7,8],就目前所知,ATM基因可能具有以下功能:参与DNA损伤修复,阻止细胞凋亡,调控端粒代谢活动等^[9,10].ATM基因突变将会导致ATM基因截短失活、ATM-mRNA转录异常,从而导致ATM蛋白表达缺失或下降^[11].在同源重组(homologous recombination repair, HR)修复过程中,ATM直接或间接磷酸化HR修复复合体中的Rad51酪氨酸残基,促进同源重组复合物的形成,从而调控DNA损伤的修复,生理性ATM通过激活细胞周期检测点信号转导系统,使受到离子辐射和放射线类似物损害而导致双链DNA断裂的细胞停滞于各个细胞周期,并对受损的DNA进行修复,因此,ATM对维持染色体的稳定性和防止细胞癌变起重要作用^[12].随着对ATM功能的深入研究,人们逐渐认识到ATM蛋白是直接感受DNA双链断裂(DNA-double strand breaks, DSB)损伤并起始诸多DNA损伤信号反应通路的主开关分子,其核心作用是对电离辐射或紫外线造成的DSB损伤起反应^[13-15].当发生DSB时,人体主要有2条途径传递DNA损伤信号:一条途径是通过ATR传递给Chk1,引起CDC25磷酸化,通过抑制CDC25的活性,使细胞周期阻断;另一条是通过ATM传递给Chk2,磷酸化和去磷酸化一系列蛋白底物激活各个细胞周期检测点机制,引起G₁/S、S、G₂/M期阻滞,从而延缓细胞周期进程^[16].因此,ATM也是一个重要的细胞周期检测点蛋白,在信号传导通路和DNA损伤修复的相互协调下,在S期DNA复制或染色体有丝分裂前对受损的DNA进行修复.大量的研究表明细胞的DNA损伤修复能力及周期调控这两方面是细胞辐射敏感性的主要决定因素^[17,18].因此,ATM的表达量和功能状态与细胞放射敏感性有关.ATM细胞的ATM表达缺失,表现为对放射线非常敏感。

2 ATM基因与肿瘤放射敏感性

随着分子生物学的发展,越来越多的研究证实,肿瘤细胞的放射敏感性与一系列相互关联的基因群有关.已报道的相关基因有*p53*、*p21*、

xrcc、*brca1*、*brca2*、*ATM*等^[19-22],其中ATM基因与肿瘤细胞放射敏感性的关系是近年来研究的热点.肿瘤的发生及放射敏感与ATM有密切关系,电离辐射的重要靶分子是DNA.射线可引起DNA链断裂、碱基改变、DNA交联及整个或部分高级结构的变化,从而影响其生物学功能.ATM是细胞DNA损伤后反应传导通路中的中枢调控因子,ATM的突变和失活可以导致基因不稳定性的增加、DNA双链断裂修复障碍,从而出现对放射的高度敏感.ATM基因突变与细胞特殊的辐射敏感性关系,使其成为研究辐射增敏的一个重要的切入点。

Iannuzzi等^[23]应用变性高压液相色谱技术,在出现放疗后严重迟发反应的女性乳腺癌患者外周血中又检测出8种新的ATM基因突变,主要为碱基的转换或颠换,证明了ATM基因突变与辐射敏感性的密切相关性.Guha等^[24]应用ATM的反义RNA抑制ATM蛋白的表达,成功地增加了脑胶质瘤细胞的放射敏感性.邹剑等^[25]应用载ATM寡核苷酸纳米粒转染小鼠头颈鳞癌细胞株,发现被转染的细胞ATM mRNA及ATM蛋白表达均下调,而且细胞的放射敏感性增加;任涛等^[26]的研究证实肺癌细胞株A549和NCI-H446具有放射敏感性差异,ATM蛋白在两个细胞株中的表达亦有显著性差异,表明ATM蛋白表达量与放射敏感性呈负相关.其他的方法如通过应用磷酸肌醇激酶抑制剂或基因治疗的方法抑制ATM蛋白表达,也可提高细胞对放射线的敏感性,通过各种方式造成类似ATM基因突变状态,抑制ATM基因功能^[27-29],或直接通过下调ATM基因产物的表达^[30-32],增加恶性肿瘤细胞对辐射的敏感性,已被多个实验室证实是提高放疗疗效的一个良好策略.有研究认为,ATM基因PI3K功能区的突变会引起细胞辐射敏感性的改变.也有实验证实,抑制ATM/PI3K功能区的表达会引起细胞辐射敏感性的改变.这些试验研究再次证明ATM蛋白表达与细胞放射敏感/抗拒性的关系。

3 ATM基因与大肠癌放射敏感性

随着对细胞周期调节、细胞凋亡以及DNA修复机制了解的深入,人们开始尝试寻找能够预测放疗敏感性的分子标志物和提高放疗敏感性的方法.已有的对大肠癌组织细胞放射敏感性的研究表明,抑癌基因*p53*、*p21*的突变, Ku70的表达, CDC25A、VAV1、TP73、BRCA1和ZAP70的高表达, Bcl-2的低表达、细胞增殖标

■相关报道

韩国学者Choi等研究咖啡因在结肠癌细胞株RKO体内外实验中,发现其通过直接抑制ATM蛋白激酶活性可明显降低G₂期细胞比例,细胞对射线的敏感性提高。

记Ki67、PCNA的高表达、*survivin*基因的高表达等被认为与放疗敏感性呈负相关^[19-22]。Ejima等^[33]对25例实体瘤细胞系作了ATM突变分析,在16个细胞系发现50种突变,其中在5个结肠癌细胞系中ATM存在高频突变;李革等^[34-36]研究发现在大肠癌组织和细胞系中有ATM基因的表达,直肠癌组织中ATM蛋白阳性表达率与放射敏感性呈负相关,而且大肠癌细胞株HM7中ATM高表达,与放射敏感性有关;Kim等^[37]研究发现在结肠癌细胞株HCT-116中,抑制ATM基因的表达,明显提高HCT-116细胞的放射敏感性;Williams等^[38]对39种包括大肠癌在内的人类癌细胞株进行放射敏感性实验,发现其中ATM基因突变与大肠癌的放射敏感性相关,提出ATM基因可作为预测放疗敏感性的分子标志物之一。

如果能通过抑制ATM基因功能,调控DNA损伤修复及细胞周期变化,即可达到有效的放射增敏作用。ATM蛋白激酶的活性改变引起DNA修复进程中断是导致放射敏感性高的重要原因。ATM激酶阻滞剂能有效地提高肿瘤细胞的放射敏感性,一些小分子抑制剂可抑制ATM中的放射敏感性相关酶的活性,导致细胞循环检测点缺失,从而提高肿瘤细胞的放射敏感性^[39]。咖啡因作为治疗药物使用已有100多年的历史。生物学作用包括:环核苷酸磷酸二酯酶、单胺和环氧酶的抑制作用;钙动员和影响神经递质的吸收。研究认为咖啡因的G₂废除机制是对ATM和ATR的抑制作用,从而起到增敏效果^[40]。亦有作者报道咖啡因增敏作用是因为抑制DNA修复,而不是周期检查点的废除^[41]。Choi等^[42]应用咖啡因在结肠癌细胞株RKO体内外实验中,发现其通过直接抑制ATM蛋白激酶活性可明显减少G₂期细胞比例,细胞对射线的敏感性提高;Lin等^[43]应用植物提取物槲皮素对大肠癌细胞株DLD1在体内外进行放射敏感性实验,发现其可通过抑制ATM介导的DNA损伤修复信号传导通路提高肿瘤的放射敏感性。

4 结论

肿瘤细胞的放射敏感性与一系列相互关联的基因群有关。其中ATM基因在DNA双链断裂损伤修复及细胞周期调控的信号传导中扮演着极其重要的作用。研究发现ATM激酶抑制剂能中断ATM依赖性检测点通路,从而达到提高肿瘤细胞放射敏感性的作用。对于放射抗拒导致大肠癌放射治疗失败仍是世界性难题的今天,利

用各种方法造成类似ATM基因突变状态、抑制ATM基因功能或直接通过下调ATM基因产物表达来增加患者对辐射的敏感性以提高放射疗效,可能是治疗恶性肿瘤的一个良好策略。因此,加强对ATM基因和蛋白的研究,寻找有效的蛋白活性抑制剂,将为临床大肠癌放射治疗的增敏作用提供理论指导和实验依据。

5 参考文献

- Soreide K, Berg M, Skudal BS, Nedreboe BS. Advances in the understanding and treatment of colorectal cancer. *Discov Med* 2011; 12: 393-404
- Rasulov AO, Shelygin IA, Boiko AV, Droshneva IV. [Influence of a total focal dose of preoperative chemoradiotherapy on direct results of treatment of rectal cancer]. *Vestn Khir Im I I Grek* 2011; 170: 34-37
- Rivera S, Villa J, Quero L, Hennequin C. Adjuvant radiotherapy for rectal cancer: recent results, new questions. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2011; 35: 17-22
- Huerta S. Rectal cancer and importance of chemoradiation in the treatment. *Adv Exp Med Biol* 2010; 685: 124-133
- Patel A, Puthillath A, Yang G, Fakih MG. Neoadjuvant chemoradiation for rectal cancer: is more better? *Oncology (Williston Park)* 2008; 22: 814-826; discussion 826, 828-831, 836
- Savitsky K, Bar-Shira A, Gilad S, Rotman G, Ziv Y, Vanagaite L, Tagle DA, Smith S, Uziel T, Sfez S, Ashkenazi M, Pecker I, Frydman M, Harnik R, Patanjali SR, Simmons A, Clines GA, Sarti A, Gatti RA, Chessa L, Sanal O, Lavin MF, Jaspers NG, Taylor AM, Arlett CF, Miki T, Weissman SM, Lovett M, Collins FS, Shiloh Y. A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science* 1995; 268: 1749-1753
- Lim DS, Kim ST, Xu B, Maser RS, Lin J, Petrini JH, Kastan MB. ATM phosphorylates p95/nbs1 in an S-phase checkpoint pathway. *Nature* 2000; 404: 613-617
- McKinnon PJ. ATM and the molecular pathogenesis of ataxia telangiectasia. *Annu Rev Pathol* 2012; 7: 303-321
- Ditch S, Paull TT. The ATM protein kinase and cellular redox signaling: beyond the DNA damage response. *Trends Biochem Sci* 2012; 37: 15-22
- Bhatti S, Kozlov S, Farooqi AA, Naqi A, Lavin M, Khanna KK. ATM protein kinase: the linchpin of cellular defenses to stress. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68: 2977-3006
- Bensimon A, Aebersold R, Shiloh Y. Beyond ATM: the protein kinase landscape of the DNA damage response. *FEBS Lett* 2011; 585: 1625-1639
- Löbrich M, Jeggo PA. The two edges of the ATM sword: co-operation between repair and checkpoint functions. *Radiother Oncol* 2005; 76: 112-118
- Hennequin C, Quero L, Favaudon V. [DNA repair and tumour radiosensitivity: focus on ATM gene]. *Bull Cancer* 2011; 98: 239-246
- Tichý A, Vávrová J, Pejchal J, Rezáčová M. Ataxia-telangiectasia mutated kinase (ATM) as a central regulator of radiation-induced DNA damage response. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2010; 53:

■创新盘点

本文对ATM基因与肿瘤放射敏感性国内外最新研究成果进行了综述。

■名词解释

ATM: 共济失调毛细血管扩张症(AT)是一种罕见的常染色体隐性遗传病,以进行性中枢神经元变性、免疫缺陷、对放射线敏感为特点。1995年Savitsky确定AT为单基因遗传病,但由于他是AT基因突变所致,因而将此致病基因命名为ATM(AT mutated)。

■同行评论

本文就有关ATM基因的结构功能及与大肠癌放射敏感性关系的研究进行相关综述, 文章分析合理, 条理分明, 研究有一定意义, 科学性及可读性较强。

- 13-17
- 15 Tomita M. Involvement of DNA-PK and ATM in radiation- and heat-induced DNA damage recognition and apoptotic cell death. *J Radiat Res* 2010; 51: 493-501
- 16 Fernandes N, Sun Y, Chen S, Paul P, Shaw RJ, Cantley LC, Price BD. DNA damage-induced association of ATM with its target proteins requires a protein interaction domain in the N terminus of ATM. *J Biol Chem* 2005; 280: 15158-15164
- 17 Pauwels B, Wouters A, Peeters M, Vermorken JB, Lardon F. Role of cell cycle perturbations in the combination therapy of chemotherapeutic agents and radiation. *Future Oncol* 2010; 6: 1485-1496
- 18 Hamilton J, Bernhard EJ. Cell signalling and radiation survival: the impact of protein phosphatases. *Int J Radiat Biol* 2009; 85: 937-942
- 19 Chu X, Chen L, Wang J, Guan X, Geng H, Zhang Q, Song H. siRNA-mediated survivin inhibition enhances chemo- or radiosensitivity of colorectal cancer cells in tumor-bearing nude mice. *Hepatogastroenterology* 2010; 57: 1445-1452
- 20 Huang MY, Wang JY, Chang HJ, Kuo CW, Tok TS, Lin SR. CDC25A, VAV1, TP73, BRCA1 and ZAP70 gene overexpression correlates with radiation response in colorectal cancer. *Oncol Rep* 2011; 25: 1297-1306
- 21 Chen WS, Lee YJ, Yu YC, Hsiao CH, Yen JH, Yu SH, Tsai YJ, Chiu SJ. Enhancement of p53-mutant human colorectal cancer cells radiosensitivity by flavonoid fisetin. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 77: 1527-1535
- 22 Liang H, Zhan HJ, Wang BG, Pan Y, Hao XS. [Expression change of apoptosis-associated genes after hyperthermia, chemotherapy and radiotherapy in human colon cancer-transplanted nude mice]. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2008; 11: 270-275
- 23 Iannuzzi CM, Atencio DP, Green S, Stock RG, Rosenstein BS. ATM mutations in female breast cancer patients predict for an increase in radiation-induced late effects. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 52: 606-613
- 24 Guha C, Guha U, Tribius S, Alfieri A, Casper D, Chakravarty P, Mellado W, Pandita TK, Vikram B. Antisense ATM gene therapy: a strategy to increase the radiosensitivity of human tumors. *Gene Ther* 2000; 7: 852-858
- 25 邹剑, 叶惠平, 张懿, 杨玉琼, 赵厚育, 陈飞, 刘世喜. 载ATM反义寡核苷酸纳米粒对小鼠SCC VII细胞放射增敏实验研究. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志* 2009; 15: 247-252
- 26 任涛, 谭榜宪, 陈晓品. ATM蛋白在不同肺癌细胞株中表达差异与放射敏感性关系的研究. *世界肿瘤杂志* 2008; 7: 256-258
- 27 Cortés ML, Oehmig A, Saydam O, Sanford JD, Perry KF, Fraefel C, Breakefield XO. Targeted integration of functional human ATM cDNA into genome mediated by HSV/AAV hybrid amplicon vector. *Mol Ther* 2008; 16: 81-88
- 28 Ahmed KM, Li JJ. ATM-NF-kappaB connection as a target for tumor radiosensitization. *Curr Cancer Drug Targets* 2007; 7: 335-342
- 29 Williams JR, Zhang Y, Russell J, Koch C, Little JB. Human tumor cells segregate into radiosensitivity groups that associate with ATM and TP53 status. *Acta Oncol* 2007; 46: 628-638
- 30 Tichý A, Záskodová D, Rezacová M, Vávrová J, Vokurková D, Pejchal J, Vilasová Z, Cerman J, Osterreich J. Gamma-radiation-induced ATM-dependent signalling in human T-lymphocyte leukemic cells, MOLT-4. *Acta Biochim Pol* 2007; 54: 281-287
- 31 Wang HM, Chen LH, Zheng XK, Li QS, Wu XY, Xia YF. [Radiosensitization of nasopharyngeal carcinoma cell line CNE1 by inhibiting the expression of ATM/PI3K functional region]. *Ai Zheng* 2006; 25: 1097-1101
- 32 Mirzayans R, Severin D, Murray D. Relationship between DNA double-strand break rejoining and cell survival after exposure to ionizing radiation in human fibroblast strains with differing ATM/p53 status: implications for evaluation of clinical radiosensitivity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 66: 1498-1505
- 33 Ejima Y, Yang L, Sasaki MS. Aberrant splicing of the ATM gene associated with shortening of the intronic mononucleotide tract in human colon tumor cell lines: a novel mutation target of microsatellite instability. *Int J Cancer* 2000; 86: 262-268
- 34 李革, 李林虎, 尹玩熙. 直肠癌自发性细胞凋亡、ATM蛋白表达和放射敏感性关系的研究. *广东医学* 2008; 29: 50-52
- 35 李革, 李林虎, 尹玩熙. 凋亡相关基因与直肠癌放射敏感性相关关系的研究. *陕西医学杂志* 2008; 37: 131-132
- 36 李革, 李香俊, 罗强, 印平. ATM蛋白在不同放射敏感性大肠癌细胞株中的表达. *中国现代医学杂志* 2010; 20: 3559-3561
- 37 Kim WJ, Vo QN, Shrivastav M, Lataxes TA, Brown KD. Aberrant methylation of the ATM promoter correlates with increased radiosensitivity in a human colorectal tumor cell line. *Oncogene* 2002; 21: 3864-3871
- 38 Williams JR, Zhang Y, Zhou H, Gridley DS, Koch CJ, Russell J, Slater JS, Little JB. A quantitative overview of radiosensitivity of human tumor cells across histological type and TP53 status. *Int J Radiat Biol* 2008; 84: 253-264
- 39 Rainey MD, Charlton ME, Stanton RV, Kastan MB. Transient inhibition of ATM kinase is sufficient to enhance cellular sensitivity to ionizing radiation. *Cancer Res* 2008; 68: 7466-7474
- 40 Sarkaria JN, Busby EC, Tibbetts RS, Roos P, Taya Y, Karnitz LM, Abraham RT. Inhibition of ATM and ATR kinase activities by the radiosensitizing agent, caffeine. *Cancer Res* 1999; 59: 4375-4382
- 41 Wang H, Boecker W, Wang H, Wang X, Guan J, Thompson LH, Nickoloff JA, Iliakis G. Caffeine inhibits homology-directed repair of I-SceI-induced DNA double-strand breaks. *Oncogene* 2004; 23: 824-834
- 42 Choi EK, Ji IM, Lee SR, Kook YH, Griffin RJ, Lim BU, Kim JS, Lee DS, Song CW, Park HJ. Radiosensitization of tumor cells by modulation of ATM kinase. *Int J Radiat Biol* 2006; 82: 277-283
- 43 Lin C, Yu Y, Zhao HG, Yang A, Yan H, Cui Y. Combination of quercetin with radiotherapy enhances tumor radiosensitivity in vitro and in vivo. *Radiother Oncol* 2011 Nov 25. [Epub ahead of print]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静

miR-191在胃癌组织中的表达及其靶基因的预测

郭鹏辉, 杜燕蕾, 聂玉强

郭鹏辉, 杜燕蕾, 聂玉强, 广州医学院附属广州市第一人民医院消化内科 广东省广州市 510180

郭鹏辉, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.

2010年广东省自然科学基金资助项目, No. 10151006001000016

2011年广州市医药卫生科技重点基金资助项目, No. 201102A212011

作者贡献分布: 此课题由聂玉强、杜燕蕾及郭鹏辉设计; 实验操作、数据整理统计、论文写作由郭鹏辉完成; 论文校正由聂玉强与杜燕蕾完成.

通讯作者: 聂玉强, 教授, 主任医师, 510180, 广东省广州市盘福路, 广州医学院附属广州市第一人民医院消化内科, 广州市消化病重点实验室. nieyq@medmail.com.cn

电话: 020-81045106

收稿日期: 2012-04-25 修回日期: 2012-05-26

接受日期: 2012-08-11 在线出版日期: 2012-09-08

Expression of miR-191 and its potential target genes in gastric carcinoma

Peng-Hui Guo, Yan-Lei Du, Yu-Qiang Nie

Peng-Hui Guo, Yan-Lei Du, Yu-Qiang Nie, Department of Gastroenterology, Guangzhou Key Laboratory of Digestive Diseases, the First Municipal People's Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510180, Guangdong Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 10151006001000016; and the Key Medical and Health Foundation of Guangdong Province, No. 201102A212011

Correspondence to: Yu-Qiang Nie, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Guangzhou Key Laboratory of Digestive Diseases, the First Municipal People's Hospital of Guangzhou Medical College, Panfu Road, Guangzhou 510180, Guangdong Province, China. nieyq@medmail.com.cn

Received: 2012-04-25 Revised: 2012-05-26

Accepted: 2012-08-11 Published online: 2012-09-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of miR-191 and its predicted target genes in gastric carcinoma.

METHODS: The relative expression of miR-191 in gastric carcinoma and tumor-adjacent tissue was quantified by qRT-PCR. The potential target genes of miR-191 were predicted using bioinformatic software. Expression of target genes in gastric carcinoma and tumor-adjacent tissue was detected by immunohistochemistry. The association between miR-191 expression and target gene expression was analyzed.

RESULTS: The expression of miR-191 was significantly higher in gastric carcinoma than in tumor-adjacent tissue [0.0314 (0.0037-0.4924) vs 0.0240 (0.0037-0.1593), $P < 0.05$]. MiR-191 expression was not related with age, gender, histological type, lymph node metastasis or clinical stage. Nine target genes were predicted, including SOX4 and NDST1, both of which had been confirmed as direct targets of miR-191. The expression of phospholipase C-delta 1 (PLCD1) was significantly up-regulated in gastric carcinoma compared to tumor-adjacent tissue (56.7% vs 96.7%, $P < 0.01$). MiR-191 expression was significantly inversely correlated with PLCD1 expression in gastric carcinoma (90% vs 30%, $r = -0.639$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: The expression of miR-191 is up-regulated in gastric carcinoma. MiR-191 may play a pivotal role in the pathogenesis of gastric carcinoma by regulating PLCD1 expression.

Key Words: Gastric carcinoma; MiR-191; Real-time quantitative PCR; Phospholipase C-delta 1; Immunohistochemistry

Guo PH, Du YL, Nie YQ. Expression of miR-191 and its potential target genes in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2347-2352

摘要

目的: 分析胃癌组织中miR-191的表达及预测其靶基因, 并检测靶基因在胃癌组织中的表达.

方法: 胃癌及配对癌旁正常组织标本50例, 应用基于SYBR Green I的实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测miR-191的表达情况, 后用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法进行相对定量分析. 利用生物信息学软件对miR-191进行靶基因预测. 用免疫组织化学检测靶基因在胃癌组织中的表达情况, 并分析其与miR-191表达情况的关系.

结果: miR-191在胃癌组织中的表达显著高于癌旁正常组织[0.0314(0.0037-0.4924) vs 0.0240(0.0037-0.1593), $P < 0.05$], miR-191与临床病理特征(性别、年龄、病理组织分型、淋巴结转移和TNM分期)无显著相

■背景资料

在我国, 每年因胃癌死亡的患者占死于消化系统肿瘤患者的首位, miRNAs与多种肿瘤相关, miR-191在多种肿瘤中呈差异性表达.

■同行评议者

樊晓明, 教授, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科

■ 研发前沿

胃癌死亡率高, 早期诊断的手段少, 发现时一般已属中晚期, 寻找新的诊断标志物和治疗靶标是一个亟待解决的问题。

关性. 对miR-191预测得到磷脂酶C-delta 1(phospholipase C-delta 1, PLCD1)、SOX4等9个靶基因, 其中SOX4和NDST1被证明是miR-191的靶基因. PLCD1在胃癌组织中的表达显著低于癌旁正常组织(56.7% vs 96.7%, $P < 0.01$), 且其与miR-191在胃癌中的表达呈负相关(90% vs 30%, $r = -0.639$, $P < 0.01$).

结论: miR-191在胃癌组织中呈高表达, 可能通过调控PLCD1对胃癌的发病起重要作用。

关键词: 胃癌; miR-191; 实时荧光定量PCR; 磷脂酶C-delta 1; 免疫组织化学

郭鹏辉, 杜燕蕾, 聂玉强. miR-191在胃癌组织中的表达及其靶基因的预测. 世界华人消化杂志 2012; 20(25): 2347-2352
http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2347.asp

0 引言

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 在我国每年因胃癌死亡的患者占死于消化系统肿瘤患者的首位^[1], 但其发病机制尚未清楚. 随后, 近年研究表明, miRNAs在肿瘤的发生发展中起类似于癌基因或抑癌基因的作用^[2]. 研究者利用基因芯片技术检测出miR-191在多种肿瘤中呈异常表达^[3], 但其在胃癌中的表达及其与胃癌临床病理的关系所知尚少, 而且, miR-191在胃癌中是通过哪个靶基因发挥作用更是尚未有相关报道. 本实验应用qRT-PCR技术对miR-191在胃癌及配对癌旁正常组织中的表达情况进行检测, 并进行靶基因预测, 分析miR-191与靶基因的表达相关性, 初步探讨miR-191在胃癌发病中的作用, 并为进一步的功能实验提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2009-04/2010-12在广州市第一人民医院外科切除的胃癌患者50例, 其中男32例, 女18例, 年龄范围33-80岁, 平均年龄59岁±11.9岁. 所有患者术前均未进行过放疗及化疗. 取胃癌及距癌肿5 cm以上的正常组织标本置于液氮速冻后储存于-80 °C冰箱. 所有癌及癌旁正常组织均经过术后病理证实, 癌组织中高分化腺癌4例、中分化腺癌21例、低分化腺癌21例、黏液腺癌4例, 其中39例有淋巴结转移. 根据Lauren分型^[4], 其中肠型27例、弥漫型23例. TNM分期根据美国癌症联合委员会(AJCC)方案^[5]: I期5例, II期17例, III期25例, IV期3例.

1.2 方法

1.2.1 总RNA的提取: 应用TRIzol试剂对50例胃

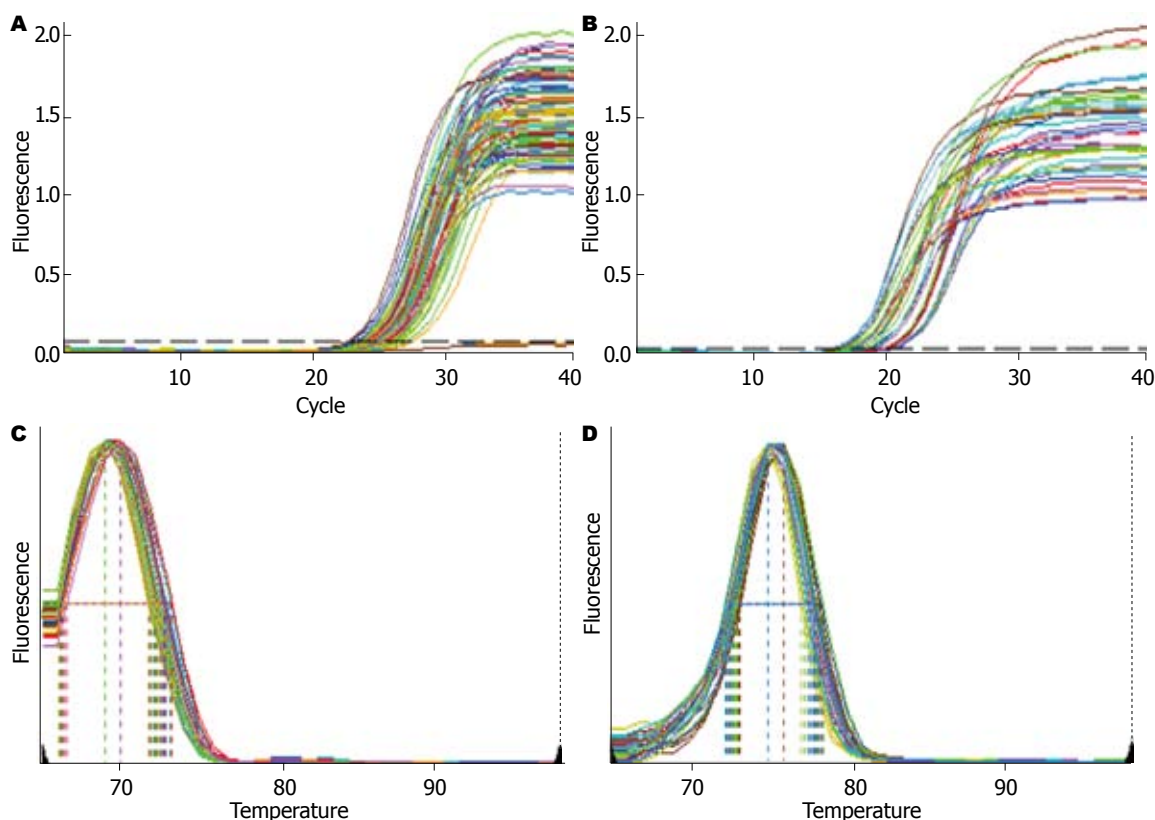
癌及癌旁正常组织进行总RNA抽提(具体方法根据试剂说明书). 用紫外分光光度计(Amersham Ultrospec 2001)检测总RNA的浓度和纯度, 所有标本RNA吸光度 $A_{260/280}$ 均为1.8-2.1, 表明总RNA纯度好. 用1.2%琼脂糖电泳检测总RNA的完整性, 28S条带亮度约为18S两倍则表明总RNA完整性好.

1.2.2 总RNA的逆转录: 应用逆转录试剂盒miR C-URY LNA™ Universal cDNA Synthesis Kit(Exiqon公司, 丹麦)对总RNA进行逆转录. 根据试剂盒说明书, 将所有标本的总RNA均稀释成终浓度为1.42-1.79 μg/L, 然后配成20 μL反应液: 5×Reaction buffer 4 μL、Enzyme mix 2 μL、模板总RNA(稀释后)14 μL. 反应条件: 42 °C 60 min, 95 °C 5 min.

1.2.3 miR-191的实时荧光定量PCR检测: 应用实时定量PCR试剂盒miRCURY LNA™ SYBR® Green master mix Universal RT(Exiqon公司, 丹麦)和miR-191及内参U6引物(LNA™ PCR primer set, Exiqon公司, 丹麦), 在MJ Research DNA Engine Opticon 2荧光定量PCR仪进行检测. 根据试剂说明书配成20 μL反应液: 模板cDNA 8 μL、SYBR® Green master mix 10 μL、miR-191/内参U6引物2 μL. 反应条件: 预变性95 °C 10 min; 95 °C 10 s、60 °C 1 min, 40个循环. 每个标本设3个复孔. 实验得到miR-191及U6在各标本中的CT值, 以U6内参校正, 用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 相对定量法比较miR-191在胃癌及配对正常组织的表达量, $2^{-\Delta\Delta CT} = 2^{-(CT_{\text{miR-191}} - CT_{\text{U6}}) - (CT_{\text{癌旁miR-191}} - CT_{\text{癌旁U6}})}$, 若 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值>1.0认为表达增高, <1.0认为表达降低, = 1.0认为表达不变.

1.2.4 靶基因预测: 应用MiRanda^[6]、TargetScan^[7]及PicTar^[8]3个生物信息学软件对miR-191进行靶基因预测, 取3个软件均预测到的基因作为靶基因.

1.2.5 靶基因的免疫组织化学: 在上述50例病例中取30例进行免疫组织化学实验. 兔抗人磷脂酶C-delta 1(phospholipase C-delta 1, PLCD1)多克隆抗体(购自美国Santa Cruz Bionotechnology公司)按1:50进行稀释, 应用二抗试剂盒(Dako REAL™ EnVision™ Detection Systems Peroxidase/DAB, Rabbit/Mouse购自丹麦Dako公司)进行EnVision二步法检测. 用PBS代替一抗作为阴性对照. 每张切片随机选取10个高倍视野(×400)进行观察. 评分标准为^[9], 依据着色强度评分: 无着色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 褐黄色为3分; 依据显示细胞率评分: 无着色为0



■ 相关报道
Ueda等应用基因芯片技术,发现包括miR-191等22个miRNAs在胃癌中高表达,13个miRNAs低表达;Hu等发现磷脂酶C-delta 1(PLCD1)在胃癌中呈低表达,与其启动子的CpG岛的甲基化有关,这表明PLCD1可能是胃癌抑癌基因。

图1 qRT-PCR扩增曲线及融解曲线. A: miR-191扩增曲线; B: U6扩增曲线; C: miR-191融解曲线; D: U6融解曲线.

分, $\leq 25\%$ 为1分, 26%-50%为2分, 51%-75%为3分, $> 75\%$ 为4分. 两者相加得综合评分: 0分为(-), 2-3分为(\pm), 4-5分为(+), 6-7分为(++). 最后(-)和(\pm)判为阴性, (+)和(++判为阳性.

统计学处理 数据统计学分析利用SPSS17.0进行, 胃癌及癌旁正常组织的相对表达量采用配对样本Wilcoxon秩和检验(双侧)分析, 并应用 χ^2 检验(双侧)分析不同的临床病理特征与miR-191表达情况的关系. 用配对样本Wilcoxon秩和检验(双侧)分析胃癌组织与配对癌旁正常组织PLCD1表达水平的差异. 用Spearman相关分析方法分析miR-191和PLCD1在胃癌组织中表达水平(与癌旁正常组织相比)的相关性. 所有的统计分析中, $P < 0.05$ 表示有统计学意义.

2 结果

2.1 qRT-PCR 在本实验中, miR-191及U6的扩增曲线均呈典型S型曲线(图1A, B); 融解曲线呈单峰且融解温度均一(图1C, D); qRT-PCR产物电泳图可见单一条带, 无杂带. 实验以U6为内参做校正, 与配对的正常组织相比, 68%(34/50)胃癌组织的miR-191相对表达量呈高表达. miR-191及U6的标准曲线的扩增效率(E)分别为114.4%和111.7%, 两扩增效率相近并接近100%(图2A, B),

应用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 进行相对定量分析, miR-191在胃癌组织中的表达量是配对正常组织的2.01倍, 有显著性差异($P < 0.05$).

2.2 临床病理学参数与miR-191表达的关系 应用 χ^2 检验(双侧)分析不同临床病理学参数与miR-191表达间的关系, 结果显示均无显著差异性($P > 0.05$, 表1).

2.3 miR-191的靶基因预测 应用生物信息学软件进行miR-191的靶基因预测, 有9个基因在3个软件中均预测到, 包括PLCD1、SOX4、RNF139、FZD5、GAP43、TJP1、TMOD2、NDST1和AMMECR1.

2.4 靶基因PLCD1的免疫组织化学检测 对30例胃癌组织及配对癌旁正常组织进行免疫组织化学检测, 发现PLCD1均在上皮细胞的胞浆染色表达, 阳性细胞的胞浆DAB染色呈棕黄色(图3A). 96.7%(29/30)癌旁正常组织中的PLCD1表达呈(+或(++), 而胃癌组织中仅56.7%(17/30)表达(+或(++), 差异有统计学意义($P < 0.01$, 表2). 与配对正常组织相比, 70%(21/30)胃癌组织中的PLCD1表达强度下降或阴性(图3B, C); 有90%(18/20)miR-191表达增高的胃癌组织中的PLCD1表达强度下降, 而只有30%(3/10)miR-191表达降低的胃癌组织中的PLCD1表达强度下降.

■创新盘点

运用qPCR技术验证前人用基因芯片技术发现miR-191在胃癌中高表达的结果,并用生物信息学软件对其进行靶基因预测,免疫组织化学检测靶基因的表达,分析miR-191与靶基因的相关性。

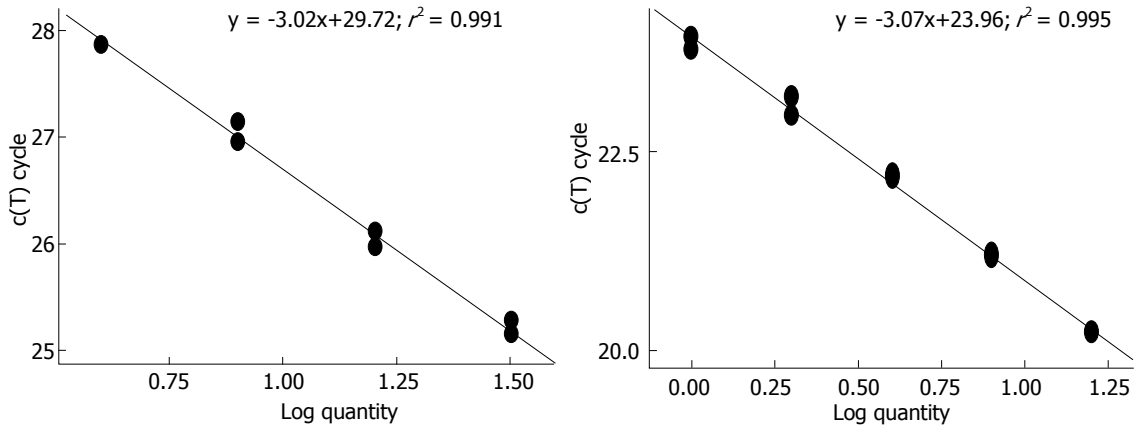


图2 标准曲线. A: miR-191(E = 114.4%)标准曲线; B: U6(E = 111.7%)标准曲线。

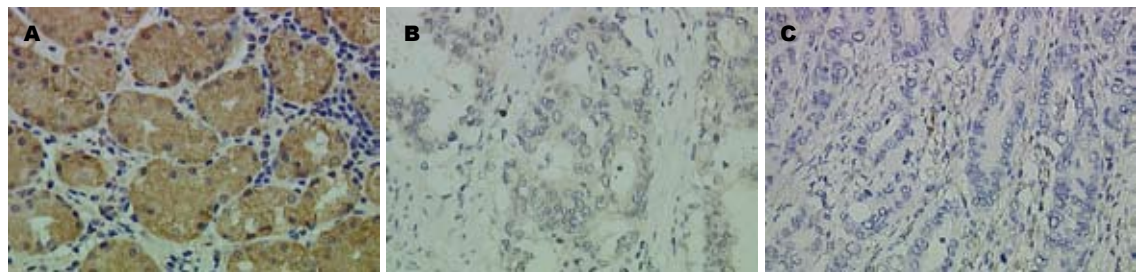


图3 胃癌及癌旁正常组织的免疫组织化学(DAB染色, ×400). A: 胃正常组织; B, C: 胃癌组织。

表1 临床病理学参数组间miR-191表达情况 (n = 50)

临床病理学参数	n	胃癌组织中miR-191表达		P值
		高表达(n = 34)	低表达(n = 16)	
性别				0.434
男	32	23	9	
女	18	11	7	
年龄(岁)				0.121
<60	28	16	12	
≥60	22	18	4	
组织学分型				0.603
高分化腺癌	4	2	2	
中分化腺癌	21	14	7	
低分化腺癌	21	16	5	
黏液腺癌	4	2	2	
Lauren分型				0.408
肠型	27	17	10	
弥漫型	23	17	6	
淋巴结转移				0.725
有	39	27	12	
无	11	7	4	
TNM分期				0.525
I期-II期	22	16	6	
III期-IV期	28	18	10	

表2 胃癌组织与正常组织PLCD1表达水平差异 (n = 30)

分组	PLCD1表达强度				P值
	-	±	+	++	
胃癌组织	8	5	15	2	0.000
癌旁正常组织	0	1	9	20	

3 讨论

miRNAs是一类内源性的保守的非编码的小分子双链RNA,是目前研究较多的ncRNA^[10],其大小长约20-25个核苷酸,成熟的miRNAs主要与靶基因mRNA的3'非翻译区完全或不完全互补使mRNA降解或翻译的抑制^[11].自1993年, Lee等^[12]在线虫中发现了第一个miRNA: Lin-4,人类基因组内发现的miRNAs已经超过1 000个,并推测其可能调控基因组内1/3左右基因的表达^[13,14]. miRNA与肿瘤有着密切关系,参与了肿瘤的生成、发展和转归过程^[15].目前已有不少研究表明,大量miRNAs在胃癌中呈现差异性表达^[16-18].本研究发现:与配对癌旁正常组织相比,miR-191在胃癌组织中的表达显著升高,但其表达与性别、年龄、病理组织学分型、淋巴结转移和TNM分期无相关性,利用生物信息学软件对miR-191进行靶基因预测筛选出PLCD1、SOX4(sex determining region Y-box 4)等9个靶基因。

再对miR-191与PLCD1在胃癌组织中表达水平进行相关性分析,结果显示两者呈显著负相关($r = -0.639, P < 0.01$).

Volinia等^[3]利用基因芯片技术对363个实体癌标本(乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌)及177个正常组织标本进行分析,其中miR-191在5种实体癌中呈高表达。Ueda等^[19]同样应用基因芯片技术对184例胃癌组织及169例非癌胃黏膜组织进行分析,发现包括miR-191等22个miRNAs在胃癌中高表达,13个miRNAs低表达;而且在2种不同组织类型(肠型和弥漫型)的胃癌中miRNA的异常表达是不一样的。国内西京医院也发现miR-191在胃癌中高表达^[20]。miR-191在肝细胞癌中高表达,抑制miR-191可以减缓细胞增殖和诱导细胞凋亡,在老鼠模型中有减小癌肿体积的作用,miR-191参与了MAPK/ERK、TGF- β 及MAPK/JNK 3条通路,SOX4、IL1A(interleukin-1a)、TMC7(transmembrane channel-like 7)这3个基因是miR-191的靶基因^[21]。另外,在结肠癌、急性粒细胞白血病、恶性黑色素瘤、乳癌和卵巢癌等有miR-191高表达^[3,22]。所以,miR-191可能与恶性肿瘤的发生发展有着密切关系。本研究通过qRT-PCR检测发现miR-191在胃癌组织中高表达,与上述研究者的基因芯片结果一致,提示miR-191可能参与胃癌的发病机制,但尚需进一步的功能实验进行验证。在多种肿瘤中,miR-191高表达与预后不佳有关^[22]。本实验显示miR-191表达与性别、年龄、病理组织分型、淋巴结转移和TNM分期无相关性,这可能与样本量有关,需扩大样本量进行验证,也需对本组病人进行追踪随访以观察miR-191的表达与胃癌预后的关系。

预测miR-191的9个靶基因中的SOX4^[21]和NDST1^[23]为已证实的miR-191的靶基因。SOX4是与胚胎细胞发育、调节细胞分化增殖有关的转录因子,其在多种肿瘤中高表达^[21]。胃癌细胞株MGC803中证实NDST1(N-deacetylase/N-sulfotransferase 1)是miR-191的靶基因,NDST1抑制胃癌细胞增殖^[23]。其他已证实为miR-191的靶基因有肝细胞癌中的IL1A、TMC7^[21]和TIMP3(tissue metalloproteinase inhibitor 3)^[22],小鼠红细胞发育成熟有关的Riock3和Mxil^[24]。PLCD1是磷脂酶C家族中的一员,参与激素分泌、神经递质传导、胞膜运输及细胞骨架调节等多种重要功能。PLCD1在胃癌中的表达降低并与其CpG岛的甲基化相关,在胃癌发生中可能起着抑癌基因的作用^[25]。另外,PLCD1也被证明在乳腺癌和食管鳞状细胞癌中呈低表达并发挥

抑癌的功能^[26,27]。miR-191可能通过抑制这些基因的表达,从而促使胃黏膜细胞的癌变。PLCD1可能是包括胃癌等多种癌症的抑癌基因,并且为miR-191预测靶基因,本实验选择PLCD1进行免疫组织化学实验,初步分析其表达与miR-191的表达是否有相关性。本实验结果显示,相对于癌旁正常组织,PLCD1在胃癌中的表达降低,而且miR-191与PLCD1在胃癌组织中表达水平呈显著负相关。所以,我们认为PLCD1可能是miR-191的靶基因,但需要更进一步进行靶基因的鉴定。

生物信息学软件对miRNA靶基因的预测是功能研究的最初步骤,由于miRNA与靶序列可以不完全配对结合,一个miRNA可以有多个靶基因^[28,29],所以需要联合3-5个软件均预测到的基因作为靶基因从而降低假阳性率^[30],能够避免在功能实验中对靶基因选择的盲目性。

本实验应用了含有锁核苷酸(locked nucleic acid, LNA)技术的qRT-PCR试剂盒。miRNAs的以下特点将会给普通qRT-PCR研究带来困难:(1)成熟miRNAs序列短(20-22 nt);(2)哺乳动物中的miRNAs家族成员间往往只相差1个核苷酸;(3)引物结合目标序列除了在成熟miRNAs中也存在于pri-miRNA或pre-miRNA。而LNA技术可以有效解决上述问题。LNA分子中部分核糖上的2'-O与4'-C连结在一起,与靶核酸分子具有很强的杂交能力,与DNA/RNA形成的双链的Tm值分别可升高1 °C-8 °C和2 °C-10 °C,可以使整个qRT-PCR更具稳定性、特异性及敏感性^[31]。

总之,本实验对miR-191在胃癌中表达情况的研究及其靶基因的预测为后续功能研究提供了重要依据。

4 参考文献

- 1 陈灞珠,林果为.实用内科学.第13版.北京:人民卫生出版社,2009:1989-1995
- 2 Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 2007; 302: 1-12
- 3 Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, Visone R, Iorio M, Roldo C, Ferracin M, Prueitt RL, Yanaihara N, Lanza G, Scarpa A, Vecchione A, Negrini M, Harris CC, Croce CM. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 2257-2261
- 4 Sakamoto H, Yoshimura K, Saeki N, Katai H, Shimoda T, Matsuno Y, Saito D, Sugimura H, Tanioka F, Kato S, Matsukura N, Matsuda N, Nakamura T, Hyodo I, Nishina T, Yasui W, Hirose H, Hayashi M, Toshiro E, Ohnami S, Sekine A, Sato Y, Totsuka

■同行评价

本文检测了miR-191在胃癌组织中的表达及其与临床病理之间的关系,并利用免疫组织化学半定量方法检测PLCD1,间接验证了其可能是miR-191的靶基因。该文对于进一步研究miR-191及其靶基因PLCD1在胃癌发生中的作用提供了初步依据。

- H, Ando M, Takemura R, Takahashi Y, Ohdaira M, Aoki K, Honmyo I, Chiku S, Aoyagi K, Sasaki H, Ohnami S, Yanagihara K, Yoon KA, Kook MC, Lee YS, Park SR, Kim CG, Choi IJ, Yoshida T, Nakamura Y, Hirohashi S. Genetic variation in PSCA is associated with susceptibility to diffuse-type gastric cancer. *Nat Genet* 2008; 40: 730-740
- 5 Rice TW, Blackstone EH, Rusch VW. 7th edition of the AJCC Cancer Staging Manual: esophagus and esophagogastric junction. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1721-1724
- 6 Enright AJ, John B, Gaul U, Tuschl T, Sander C, Marks DS. MicroRNA targets in *Drosophila*. *Genome Biol* 2003; 5: R1
- 7 Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Burge CB. Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell* 2003; 115: 787-798
- 8 Krek A, Grün D, Poy MN, Wolf R, Rosenberg L, Epstein EJ, MacMenamin P, da Piedade I, Gunsalus KC, Stoffel M, Rajewsky N. Combinatorial microRNA target predictions. *Nat Genet* 2005; 37: 495-500
- 9 赵彤, 朱梅刚, 黄宗义, 张亚历, 张素娟, 李梅芳. 肺癌癌基因蛋白产物同步检测的对比分析. *癌症* 1995; 14: 13-15
- 10 Taft RJ, Pang KC, Mercer TR, Dinger M, Mattick JS. Non-coding RNAs: regulators of disease. *J Pathol* 2010; 220: 126-139
- 11 Hwang HW, Mendell JT. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis. *Br J Cancer* 2006; 94: 776-780
- 12 Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843-854
- 13 Sontheimer EJ, Carthew RW. Silence from within: endogenous siRNAs and miRNAs. *Cell* 2005; 122: 9-12
- 14 Zamore PD, Haley B. Ribo-gnome: the big world of small RNAs. *Science* 2005; 309: 1519-1524
- 15 Garzon R, Marcucci G, Croce CM. Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 775-778
- 16 Petrocca F, Visone R, Onelli MR, Shah MH, Nicoloso MS, de Martino I, Iliopoulos D, Pilozzi E, Liu CG, Negrini M, Cavazzini L, Volinia S, Alder H, Rucio LP, Baldassarre G, Croce CM, Vecchione A. E2F1-regulated microRNAs impair TGFbeta-dependent cell-cycle arrest and apoptosis in gastric cancer. *Cancer Cell* 2008; 13: 272-286
- 17 Kim YK, Yu J, Han TS, Park SY, Namkoong B, Kim DH, Hur K, Yoo MW, Lee HJ, Yang HK, Kim VN. Functional links between clustered microRNAs: suppression of cell-cycle inhibitors by microRNA clusters in gastric cancer. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: 1672-1681
- 18 Li X, Zhang Y, Zhang Y, Ding J, Wu K, Fan D. Survival prediction of gastric cancer by a seven-microRNA signature. *Gut* 2010; 59: 579-585
- 19 Ueda T, Volinia S, Okumura H, Shimizu M, Taccioli C, Rossi S, Alder H, Liu CG, Oue N, Yasui W, Yoshida K, Sasaki H, Nomura S, Seto Y, Kaminishi M, Calin GA, Croce CM. Relation between microRNA expression and progression and prognosis of gastric cancer: a microRNA expression analysis. *Lancet Oncol* 2010; 11: 136-146
- 20 Li X, Zhang Y, Zhang H, Liu X, Gong T, Li M, Sun L, Ji G, Shi Y, Han Z, Han S, Nie Y, Chen X, Zhao Q, Ding J, Wu K, Daiming F. miRNA-223 promotes gastric cancer invasion and metastasis by targeting tumor suppressor EPB41L3. *Mol Cancer Res* 2011; 9: 824-833
- 21 Elyakim E, Sitbon E, Faerman A, Tabak S, Montia E, Belanis L, Dov A, Marcusson EG, Bennett CF, Chajut A, Cohen D, Yerushalmi N. hsa-miR-191 is a candidate oncogene target for hepatocellular carcinoma therapy. *Cancer Res* 2010; 70: 8077-8087
- 22 He Y, Cui Y, Wang W, Gu J, Guo S, Ma K, Luo X. Hypomethylation of the hsa-miR-191 locus causes high expression of hsa-mir-191 and promotes the epithelial-to-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *Neoplasia* 2011; 13: 841-853
- 23 Shi X, Su S, Long J, Mei B, Chen Y. MicroRNA-191 targets N-deacetylase/N-sulfotransferase 1 and promotes cell growth in human gastric carcinoma cell line MGC803. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2011; 43: 849-856
- 24 Zhang L, Flygare J, Wong P, Lim B, Lodish HF. miR-191 regulates mouse erythroblast enucleation by down-regulating *Riok3* and *Mxi1*. *Genes Dev* 2011; 25: 119-124
- 25 Hu XT, Zhang FB, Fan YC, Shu XS, Wong AH, Zhou W, Shi QL, Tang HM, Fu L, Guan XY, Rha SY, Tao Q, He C. Phospholipase C delta 1 is a novel 3p22.3 tumor suppressor involved in cytoskeleton organization, with its epigenetic silencing correlated with high-stage gastric cancer. *Oncogene* 2009; 28: 2466-2475
- 26 Xiang T, Li L, Fan Y, Jiang Y, Ying Y, Putti TC, Tao Q, Ren G. *PLCD1* is a functional tumor suppressor inducing G(2)/M arrest and frequently methylated in breast cancer. *Cancer Biol Ther* 2010; 10: 520-527
- 27 Fu L, Qin YR, Xie D, Hu L, Kwong DL, Srivastava G, Tsao SW, Guan XY. Characterization of a novel tumor-suppressor gene *PLC delta 1* at 3p22 in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2007; 67: 10720-10726
- 28 Baek D, Villén J, Shin C, Camargo FD, Gygi SP, Bartel DP. The impact of microRNAs on protein output. *Nature* 2008; 455: 64-71
- 29 Selbach M, Schwanhäusser B, Thierfelder N, Fang Z, Khanin R, Rajewsky N. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature* 2008; 455: 58-63
- 30 Min H, Yoon S. Got target? Computational methods for microRNA target prediction and their extension. *Exp Mol Med* 2010; 42: 233-244
- 31 Kauppinen S, Vester B, Wengel J. Locked nucleic acid: high-affinity targeting of complementary RNA for RNomics. *Handb Exp Pharmacol* 2006: 405-422

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

FUT3-miRNA重组质粒对人胃癌KATO-III细胞增殖的影响

辛永红, 郑雁飞, 蔡永君, 刘强, 汪运山

辛永红, 蔡永君, 泰山医学院临床学院 济南市第四人民医院
输血科 山东省济南市 250031

郑雁飞, 汪运山, 山东大学附属济南市中心医院医学实验诊断
中心 山东省肿瘤防治靶向分子研究重点实验室 山东省济南市
250013

刘强, 中国重汽集团医院 山东省济南市 250031

辛永红, 硕士, 副主任技师, 主要从事肿瘤免疫及血液免疫学研究。
济南市科技局科技计划基金资助项目, No. 200705086-2
济南市卫生局科技发展计划基金资助项目, No. 2007-17

作者贡献分布: 本课题由辛永红、郑雁飞及汪运山设计; 研究过
程由汪运山指导, 辛永红、郑雁飞、蔡永君及刘强操作完成; 论
文写作、数据分析由辛永红与郑雁飞完成。

通讯作者: 汪运山, 教授, 博士生导师, 250013, 山东省济南市解
放路105号, 山东大学附属济南市中心医院医学实验诊断中心。
sdjnwys@163.com

电话: 0531-85695368

收稿日期: 2012-05-26 修回日期: 2012-08-02

接受日期: 2012-08-11 在线出版日期: 2012-09-08

Transfection of miRNAs targeting the *FUT3* gene inhibits cell proliferation in human gastric cancer cell line KATO-III

Yong-Hong Xin, Yan-Fei Jia, Yong-Jun Cai, Qiang Liu, Yun-Shan Wang

Yong-Hong Xin, Yong-Jun Cai, Department of Blood Transfusion, the Fourth People's Hospital of Jinan, Taishan Medical College, Jinan 250031, Shandong Province, China
Yan-Fei Jia, Yun-Shan Wang, Medical Laboratory and Diagnostic Center, Jinan Central Hospital; Shandong Key Laboratory of Tumor Target Molecule, Jinan 250013, Shandong Province, China

Qiang Liu, China National Heavy Duty Truck Group Corporation Hospital, Jinan 250031, Shandong Province, China
Supported by: the Science and Technology Program of Jinan Municipal Science and Technology Bureau, No. 200705086-2; and the Science and Technology Development Program of Jinan Municipal Health Bureau, No. 2007-17

Correspondence to: Yun-Shan Wang, Professor, Medical Laboratory and Diagnostic Center, Jinan Central Hospital, 105 Jiefang Road, Jinan 250013, Shandong Province, China. sdjnwys@163.com

Received: 2012-05-26 Revised: 2012-08-02

Accepted: 2012-08-11 Published online: 2012-09-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of inhibition of *FUT3* gene expression with miRNAs on the proliferation of gastric cancer cells (KATO-III).

METHODS: Vectors carrying two miRNAs targeting the *FUT3* gene were constructed and

transiently transfected into KATO-III cells using liposome-mediated method. RT-PCR was performed to detect the expression of *FUT3* mRNA, and immunocytochemistry and flow cytometry analysis were carried out to test expression variation of sLeA antigen. MTT assay and colony-forming assay were used to analyze cell proliferation and to detect the effect of decreased *FUT3* expression on cell growth.

RESULTS: Compared to non-transfected cells and cells transfected with empty vector, the relative expression levels of *FUT3* mRNA were significantly decreased (0.41 ± 0.01 vs 0.71 ± 0.05 , 0.65 ± 0.03 , both $P < 0.05$; 0.36 ± 0.02 vs 0.71 ± 0.05 , 0.65 ± 0.03 , both $P < 0.05$); the sLeA antigen expression levels were also significantly reduced ($35.51\% \pm 0.36\%$ vs $52.79\% \pm 2.62\%$, $49.75\% \pm 1.29\%$, both $P < 0.05$; $26.05\% \pm 1.14\%$ vs $52.79\% \pm 2.62\%$, $49.75\% \pm 1.29\%$, both $P < 0.05$); cell growth was significantly inhibited ($38.10\% \pm 1.96\%$ vs $5.6\% \pm 0.63\%$, $8.9\% \pm 0.91\%$, both $P < 0.05$; $49.04\% \pm 2.37\%$ vs $5.6\% \pm 0.63\%$, $8.9\% \pm 0.91\%$, both $P < 0.05$); and colony-forming ability was significantly reduced ($14.10\% \pm 1.70\%$ vs $29.79\% \pm 3.05\%$, $28.92\% \pm 2.10\%$, both $P < 0.05$; $12.50\% \pm 1.96\%$ vs $29.79\% \pm 3.05\%$, $28.92\% \pm 2.10\%$, both $P < 0.05$) in *FUT3*-miRNA and *FUT3*-miRNA2 transfected cells.

CONCLUSION: Transfection of miRNAs targeting the *FUT3* gene can effectively inhibit the proliferation of KATO-III cells.

Key Words: *FUT3* gene; MiRNA; RNA interference; Stomach neoplasms; Proliferation

Xin YH, Jia YF, Cai YJ, Liu Q, Wang YS. Transfection of miRNAs targeting the *FUT3* gene inhibits cell proliferation in human gastric cancer cell line KATO-III. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2341-2346

摘要

目的: 研究利用miRNA干扰技术抑制*FUT3*基因表达对人胃癌KATO-III细胞增殖的影响。

方法: 将前期实验构建成功的2对针对*FUT3*基

■背景资料

胃癌是消化系统常见的恶性肿瘤, 目前认为有关胃癌的发生与多因素相关。近年研究表明, Lewis抗原与多种恶性肿瘤关系密切, 岩藻糖基转移酶(*FUTs*)是参与合成Lewis抗原的关键酶, *FUT3*是其中之一。

■同行评议者

杜雅菊, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

■ 相关报道

Weston等研究发现,人FUT3的反义核酸可通过阻断 α 1,3/4-岩藻糖基转移酶基因表达,下调sLeA和sLeX的表达水平,抑制结肠癌细胞的黏附和肝转移; Aubert等研究发现,人FUT3的反义核酸序列可下调sLeA和sLeX的表达水平,影响胰腺癌细胞的增殖和转移,但不影响细胞的凋亡。

因的特异性miRNA表达载体,用脂质体转染入人胃癌KATO-III细胞,RT-PCR检测FUT3基因表达水平的变化;免疫细胞化学法、流式细胞术检测其合成抗原sLeA表达变化;MTT法、克隆形成实验检测FUT3基因的表达抑制对KATO-III细胞增殖的影响。

结果:转染FUT3-miRNA的2个干扰组FUT3基因mRNA相对表达量分别为 0.41 ± 0.01 , 0.36 ± 0.02 ,明显低于对照组(0.71 ± 0.05)和空载体组(0.65 ± 0.03 , $P < 0.05$);细胞表面合成抗原sLeA的表达水平,FUT3-miRNA1组为 $35.51\% \pm 0.36\%$,FUT3-miRNA2组为 $26.05\% \pm 1.14\%$,明显低于对照组($52.79\% \pm 2.62\%$)与空载体组($49.75\% \pm 1.29\%$, $P < 0.05$);与对照组($5.60\% \pm 0.63\%$)和空载体组($8.90\% \pm 0.91\%$)相比较,FUT3-miRNA1组($38.10\% \pm 1.96\%$)和FUT3-miRNA2组($49.04\% \pm 2.37\%$)能明显抑制细胞的增殖($P < 0.05$);细胞的克隆形成能力FUT3-miRNA1组($14.10\% \pm 1.70\%$)和FUT3-miRNA2组($12.50\% \pm 1.96\%$),显著低于对照组($29.79\% \pm 3.05\%$)和空载体组($28.92\% \pm 2.10\%$, $P < 0.05$)。

结论:FUT3靶向miRNA真核表达载体可有效抑制胃癌细胞的增殖能力。

关键词:FUT3基因; miRNA; RNA干扰; 胃肿瘤; 增殖

辛永红, 郑雁飞, 蔡永君, 刘强, 汪运山. FUT3-miRNA重组质粒对人胃癌KATO-III细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(25): 2341-2346

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2341.asp>

0 引言

Lewis抗原是一组存在于细胞表面糖脂和糖蛋白糖链上的糖类抗原,唾液酸化的Lewis A抗原(简称sLeA)在肿瘤细胞中高度表达,与恶性肿瘤细胞的增殖、分化、黏附以及浸润密切相关^[1-8],很多学者将其作为恶性肿瘤诊断和评价预后的重要指标。 α 1,3/4-岩藻糖基转移酶(α 1,3/4-fucosyltransferase, FUT3)是参与合成sLeA抗原的唯一关键酶^[9-11]。近年来,有学者通过改变岩藻糖基结构或基因敲除方式来研究肿瘤细胞的增殖、黏附、迁移、侵袭等恶性行为的变化^[12-14]。miRNA是近年来发现的一类内源性非编码单链RNA,能通过与靶mRNA特异性碱基互补配对引起靶mRNA降解或抑制其翻译,达到调控基因表达的目的^[15,16]。miRNA能高效和特异性阻断靶基因的表达,是继siRNA之后RNA干扰领域一种

重要的研究手段和实验工具^[17,18]。

本研究拟采用miRNA干扰技术,以较高表达Lewis血型抗原的胃癌细胞系KATO-III为研究对象,构建针对FUT3基因的miRNA干扰质粒,将其以阳离子脂质体包裹的方式转染入胃癌细胞株KATO-III中,观察其在KATO-III中对FUT3基因的沉默作用及对sLeA抗原表达水平的影响,并研究FUT3基因的表达抑制对该肿瘤细胞增殖的影响。本课题的研究将有利于探讨RNA干涉岩藻糖基转移酶表达对肿瘤细胞行为影响的可能机制,并为肿瘤的预防和治疗提供新的思路 and 手段。

1 材料和方法

1.1 材料 KATO-III细胞株是低分化的人胃癌细胞,属于悬浮细胞,购自美国生物资源中心(American Type Culture Collection, ATCC);转染试剂FuGENE HD Transfection Reagent(Roche);抗Sialyl Lewis A(sLeA)抗体KM231(Chemicon),羊抗鼠荧光二抗R-PE(SouthernBiotech); TRIzol Reagent(invitrogen); RT-PCR试剂盒(Takara);免疫组织化学染色试剂盒Mouse SP Kit(北京中杉金桥生物技术公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与转染:人胃癌细胞株KATO-III培养在含100 mL/L胎牛血清的DMEM中,置于37 °C 50 mL/L CO₂饱和湿度的培养箱中,2-3 d后通过离心传代。转染前24 h,将肿瘤细胞接种在6孔培养板上,每孔约 5×10^5 个细胞,使每孔细胞饱和度在转染前达到90%以上,铺板时不使用含抗生素的培养液,次日按FuGENE HD转染试剂说明书方法转染。实验分为4组:对照组、空载体组、两干扰组(FUT3-miRNA1组和FUT3-miRNA2组)。

1.2.2 RNA干扰效率的检测:(1)FUT3基因mRNA表达水平采用实时PCR检测:转染48 h后收集细胞,利用TRIzol Reagent提取转染细胞的总RNA。使用RT-PCR试剂盒,按50 °C 30 min, 99 °C 5 min, 5 °C 5 min的步骤分别合成cDNA。PCR反应引物序列如下: FUT3正向引物5'-GCAAGGCTTAGACCAGTTCG-3',反向引物5'-AAAGGCCATGTCCATAGCAG-3',产物长度337 bp; GAPDH正向引物5'-ATTCAACGGCAGTCAAGG-3',反向引物5'-CACCAGTGATGCAGGGAT-3',产物长度500 bp。在PCR仪(PE5700)中扩增,反应条件为94 °C 2 min; 94 °C

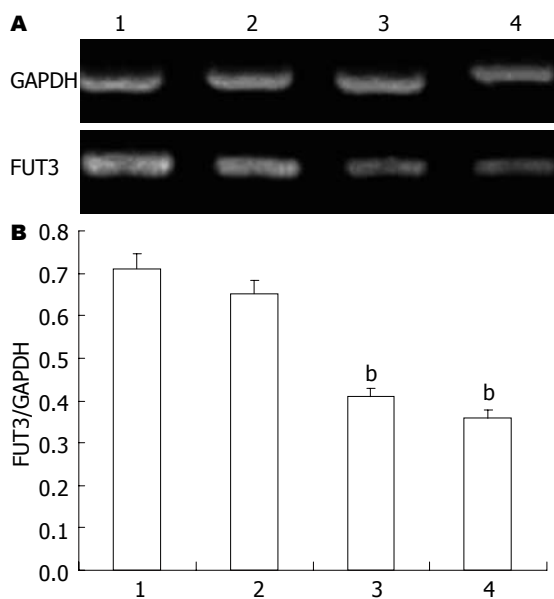


图1 RT-PCR检测miRNA干扰后FUT3的表达. A: FUT3表达的琼脂糖凝胶电泳; B: 相对灰度值分析. 1: 对照组; 2: 空载体组; 3: FUT3-miRNA1组; 4: FUT3-miRNA2组. ^b $P < 0.01$ vs 对照组, 空载体组.

30 s, 56 °C 30 s, 72 °C 1 min, 30个循环. PCR扩增产物经2%琼脂糖凝胶电泳检测; (2)免疫细胞化学法检测FUT3表达产物sLeA抗原的变化: 操作按免疫细胞化学试剂盒(中杉金桥)说明书进行, 一抗和二抗的稀释浓度均为1:100. 在显微镜下进行观察并照相记录, 阳性细胞染色后呈棕黄色颗粒; (3)流式细胞术检测sLeA抗原表达的变化: 转染48 h后收获细胞, 用PBS洗2次, 加固定剂室温孵育细胞20 min, PBS洗2次; 室温孵育一抗(单抗sLeA)30 min, PBS洗2次, 室温避光孵育二抗(羊抗鼠荧光二抗R-PE)30 min, PBS洗2次, 最后用PBS悬浮细胞, 送流式细胞仪检测.

1.2.3 细胞的增殖活性变化: (1)MTT比色法来测定细胞活力: 将KATO-III细胞接种于96孔培养板中, 细胞终密度约为 2×10^4 /mL, 体积100 μ L, 接种后24 h进行转染. 分别培养0、24、48、72 h后每孔加入100 μ L MTT液(5 g/L), 继续培养4 h后, 小心弃去上清液, 加入100 μ L DMSO液, 震荡, 待蓝紫色溶解后, 在全自动酶标仪上测定各孔 A_{492} . 抑制率 = (1-实验组 A 值平均值/对照组 A 值平均值) \times 100%; (2)克隆形成实验: 细胞以 1×10^3 /mL的浓度接种于60 mm双层琼脂培养皿中, 置37 °C 50 mL/L CO₂及饱和湿度条件下培养10-14 d, 观察细胞克隆的形成, 比较4组的克隆形成率. 克隆形成率 = (平均克隆数/接种细胞数) \times 100%.

统计学处理 应用SPSS统计软件对数据进

行统计学分析, 实验数据以mean \pm SD表示, 组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 miRNA重组质粒转染后FUT3基因mRNA水平的变化 转染后48 h的RT-PCR结果显示, 各组均可见FUT3基因的特异性条带(337 bp)和内参GAPDH主带(500 bp), 与对照组(0.71 \pm 0.05)及空载体组(0.65 \pm 0.03)相比, FUT3-miRNA1组(0.41 \pm 0.01)和FUT3-miRNA2组(0.36 \pm 0.02)的FUT3 mRNA表达量均明显降低, 经比较差异有明显的统计学意义(均 $P < 0.01$), 说明两组重组质粒均能抑制FUT3基因表达, 且FUT3-miRNA2的抑制效率较高(图1A). 而空载体组与对照组相比, 差异无统计学意义($P > 0.05$). 以内参基因GAPDH为基准分析各条带的相对密度值(图1B).

2.2 miRNA重组质粒对FUT3表达产物sLeA表达的影响

2.2.1 免疫细胞化学法分析: 免疫细胞化学染色检测sLeA抗原在细胞内的定位和表达. 结果显示抗原主要分布于细胞膜上, 对照组和空载体组的KATO-III细胞膜表面的sLeA表达较多(图2A, B), 多数细胞均有棕黄色颗粒沉着, 黄色颗粒沉着代表sLeA抗原表达阳性, 分布较为广泛、均匀; 转染后的实验组KATO-III细胞仅见少量的棕黄色颗粒沉着, 与对照组和空载体组相比, sLeA呈明显的低表达(图2C, D).

2.2.2 流式细胞术分析: 对照组和空载体组KATO-III细胞膜表面sLeA表达量分别为52.79% \pm 2.62%和49.75% \pm 1.29%, FUT3-miRNA1组为35.51% \pm 0.36%, FUT3-miRNA2组为26.05% \pm 1.14%(图3A-D). 经统计学分析表明, 转染48 h后FUT3-miRNA1组的sLeA表达水平明显低于正常对照组及空载体组, 差异均有明显统计学意义(35.51% \pm 0.36% vs 52.79% \pm 2.62%, 49.75% \pm 1.29%, 均 $P < 0.01$); FUT3-miRNA2组的sLeA表达水平也明显低于正常对照组及空载体组, 差异均有明显统计学意义(26.05% \pm 1.14% vs 52.79% \pm 2.62%, 49.75% \pm 1.29%, 均 $P < 0.01$, 图3E), 可见2种miRNA质粒均能降低KATO-III细胞膜表面sLeA的合成水平. 而空载体组与对照组相比, 差异无统计学意义($P > 0.05$).

2.3 RNAi技术对肿瘤细胞增殖的影响

2.3.1 MTT法检测: 对照组与空载体组在各时间点细胞的生长未受明显影响($P > 0.05$), 而两

■ 创新盘点

本实验利用miRNA干扰技术抑制FUT3的表达, 降低肿瘤细胞表面Lewis抗原合成水平, 进而影响肿瘤细胞的生物学行为, 达到治疗肿瘤的目的. 目前国内外鲜有报道.

■应用要点

本研究证实FUT3靶向miRNA真核表达载体可有效抑制胃癌细胞的增殖能力,为肿瘤的基因治疗提供了新途径.

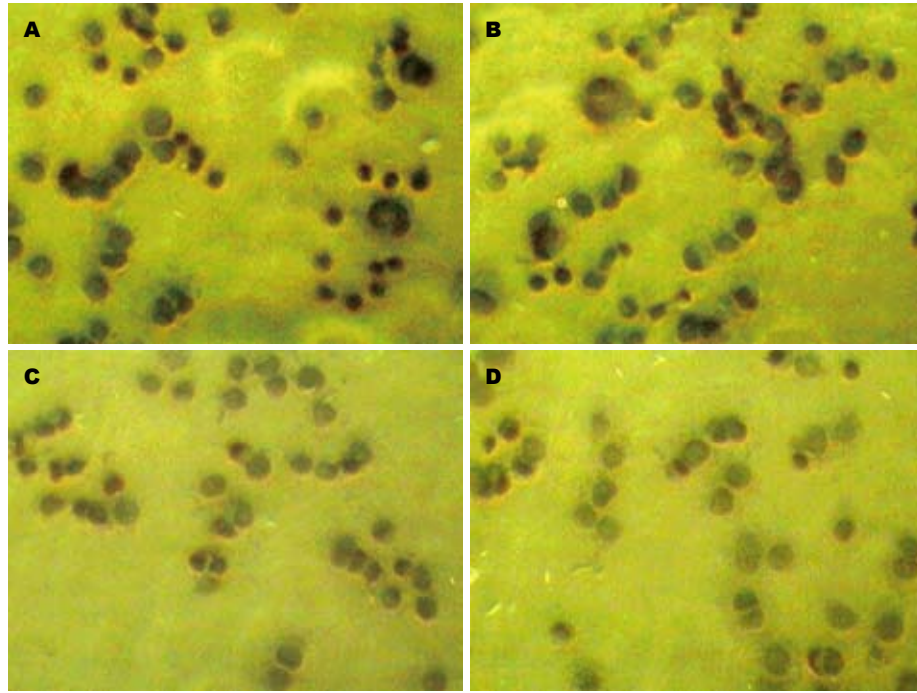


图 2 免疫细胞化学染色检测sLeA抗原在KATO-III细胞内表达($\times 400$). A: 对照组; B: 空载体组; C: FUT3-miRNA1组; D: FUT3-miRNA2组.

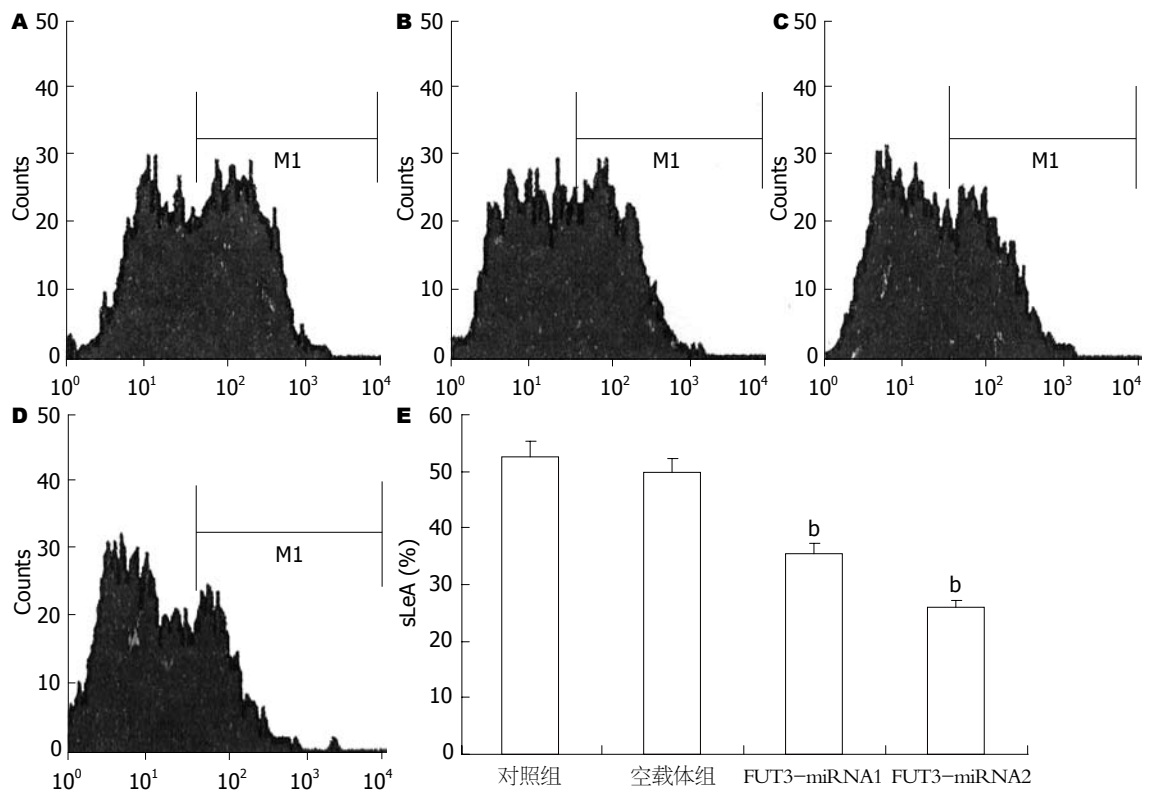


图 3 FCM检测FUT3的RNA干扰对细胞表面sLeA合成水平的影响. A, B, C, D: KATO-III细胞表面sLeA表达水平; A: 对照组; B: 空载体组; C: FUT3-miRNA1; D: FUT3-miRNA2; E: sLeA表达水平的统计分析. ^b $P < 0.01$ vs 对照组, 空载体组.

干扰组FUT3-miRNA1和FUT3-miRNA2在转染24 h后细胞生长均明显受到抑制,且抑制率随着作用时间延长而提高,72 h时抑制率最高达到49%(49.04% \pm 2.37% vs 5.60% \pm 0.63%, 8.90% \pm 0.91%, 均 $P < 0.01$, 图4). 相差显微镜下,对照组细胞生长状况良好,半贴壁半悬浮生长,边缘较整

齐,呈圆形;FUT3-miRNA1/2干扰组细胞形态不规则,细胞皱缩,颗粒增多,细胞碎片增加.

2.3.2 克隆形成实验: FUT3-miRNA1组和FUT3-miRNA2的克隆形成率分别为14.10% \pm 1.70%、12.50% \pm 1.96%,两干扰组分别与对照组(29.79% \pm 3.05%)及空载体组(28.92% \pm 2.10%)比较,细

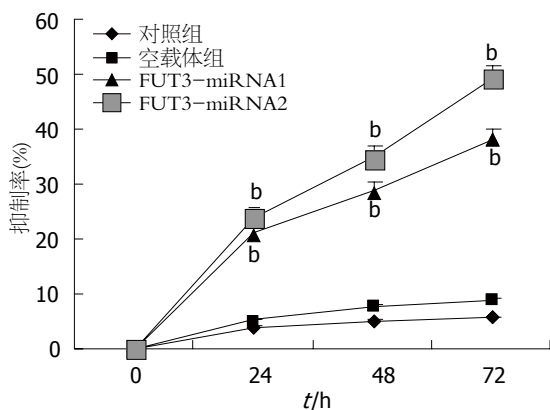


图4 MTT法检测FUT3的RNA干扰对细胞生长的影响。^a $P < 0.01$ vs 对照组, 空载体组。

胞的克隆能力均明显下降, 经统计学分析, 差异均有统计学意义($14.10\% \pm 1.70\%$ vs $29.79\% \pm 3.05\%$, $28.92\% \pm 2.10\%$, 均 $P < 0.01$)和($12.50\% \pm 1.96\%$ vs $29.79\% \pm 3.05\%$, $28.92\% \pm 2.10\%$, 均 $P < 0.01$, 图5)。说明2种FUT3-miRNA重组质粒对于KATO-III细胞的增殖力均有明显的抑制作用。而空载体组与对照组相比, 差异则无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

近年来, 随着分子生物学、分子遗传学、分子免疫学及转基因技术等学科的发展, 发现了许多与肿瘤发生、发展和预后密切相关的基因, 其中关于岩藻糖基转移酶基因及其合成产物的研究日益受到关注^[19,20]。FUT3基因的表达是岩藻寡糖抗原合成及其表达调控的关键^[21], 其中FUT3是唯一可形成 $\alpha 1,3$ 与 $\alpha 1,4$ 两类键的FUT, 既能合成带 $\alpha 1,3$ -Fuc的LeX、LeY、sLeX, 又能唯一合成带 $\alpha 1,4$ -Fuc的LeA、LeB及sLeA。研究证实, sLeX和sLeA作为肿瘤相关抗原在许多恶性肿瘤细胞表面高度表达, 是血管内皮细胞(E)表面或血小板(P)表面选凝素(selectin)的配体, 在肿瘤细胞的黏附和识别过程中起着重要作用^[22-25]。

基于FUT3基因对Lewis血型抗原生物合成的调控作用, 其已经成为肿瘤基因治疗研究的新靶点。研究报道, 转有人FUT3基因的羊奶或牛奶可以结合人体内的幽门螺杆菌, 阻止他与胃肠细胞结合从而达到治疗或预防胃肠疾病的目的^[26]。有学者通过针对FUT3的反义核酸来阻断 $\alpha 1,3/4$ -岩藻糖基转移酶基因表达, 下调sLeA表达水平, 影响肿瘤细胞增殖, 抑制癌细胞的黏附和迁移^[27,28]。但应用miRNA技术来抑制FUT3表达的研究则鲜见报道。

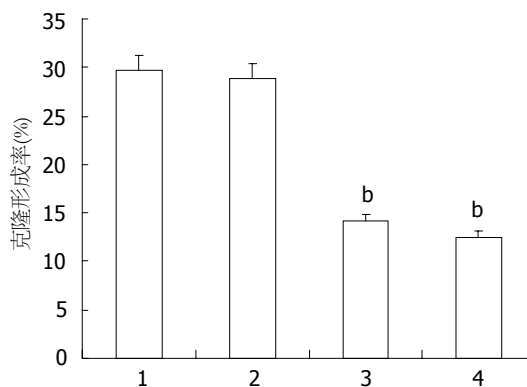


图5 克隆形成实验检测FUT3的RNA干扰对细胞克隆形成的影响。1: 对照组; 2: 空载体组; 3: FUT3-miRNA1组; 4: FUT3-miRNA2组; ^a $P < 0.01$ vs 对照组, 空载体组。

近几年, RNAi已成为抑制特异性基因表达及研究基因功能的重要方法^[29]。人工miRNA元件以天然miRNA为基础骨架构建, 在体外人工合成含有特定茎环结构的pre-miRNA片段, 转染入细胞后模拟内源性miRNA的形成及降解靶基因的过程, 其有效沉默序列的筛选量要远少于传统siRNA, 且沉默效果高于siRNA。基于这些优点, miRNA成为继siRNA之后RNA干扰领域又一重要的研究手段和实验工具^[30]。

本研究所构建的靶向FUT3的miRNA表达载体, 经转染入人胃癌KATO-III细胞, 通过RT-PCR、免疫细胞化学和流式细胞术检测, 初步验证了所设计的两组miRNA干扰质粒均可通过降低岩藻糖基转移酶FUT3的表达, 明显下调KATO-III细胞表面sLeA的合成, 其中FUT3-miRNA2的抑制效果比FUT3-miRNA1更明显, 而对照组和空载体组相比则无明显差异。MTT结果显示, RNA干扰FUT3基因表达后可明显抑制肿瘤细胞生长, 在转染后72 h时抑制作用最为明显, 抑制率可达49%; 克隆形成实验结果显示, 两组miRNA干扰质粒的克隆形成能力明显下降, 与对照组和空载体组相比, 存在显著性差异。以上结果均显示两组miRNA重组质粒对胃癌细胞系KATO-III的生长和增殖有明显抑制作用。

本实验所构建miRNA表达载体转染KATO-III细胞, 可有效抑制FUT3基因的表达, 降低sLeA抗原的生物合成, 诱发RNAi效应, 并且对细胞的生长和增殖也有不同程度的影响。但FUT3基因及其下游产物sLeA对胃癌细胞增殖调控的具体机制还有待于进一步研究。

4 参考文献

- 1 Ugorski M, Laskowska A. Sialyl Lewis(a): a tumor-

■ 名词解释

Lewis A抗原: 即唾液酸化Lewis-A抗原(sLeA), 是血管内皮细胞表面或血小板表面选凝素的配体。在许多肿瘤细胞表面表达量异常升高, 与恶性肿瘤细胞的增殖、分化、黏附以及浸润密切相关。

■同行评价

本文构建了FUT3-miRNA特异性重组质粒,探讨了miRNA沉默干扰FUT3基因对胃癌细胞增殖的影响。该实验立题新颖,具有一定的创新性。

- 1 associated carbohydrate antigen involved in adhesion and metastatic potential of cancer cells. *Acta Biochim Pol* 2002; 49: 303-311
- 2 Alpaugh ML, Tomlinson JS, Ye Y, Barsky SH. Relationship of sialyl-Lewis(x/a) underexpression and E-cadherin overexpression in the lymphovascular embolus of inflammatory breast carcinoma. *Am J Pathol* 2002; 161: 619-628
- 3 Brooks SA, Leatham AJ. Expression of the CD15 antigen (Lewis x) in breast cancer. *Histochem J* 1995; 27: 689-693
- 4 Ito H, Hiraiwa N, Sawada-Kasugai M, Akamatsu S, Tachikawa T, Kasai Y, Akiyama S, Ito K, Takagi H, Kannagi R. Altered mRNA expression of specific molecular species of fucosyl- and sialyl-transferases in human colorectal cancer tissues. *Int J Cancer* 1997; 71: 556-564
- 5 彭云丽, 李静, 耿美玉. sLea/x与肿瘤血源性转移研究进展. *中国生物工程杂志* 2007; 27: 92-95
- 6 Jeschke U, Mylonas I, Shabani N, Kunert-Keil C, Schindlbeck C, Gerber B, Friese K. Expression of sialyl lewis X, sialyl Lewis A, E-cadherin and cathepsin-D in human breast cancer: immunohistochemical analysis in mammary carcinoma in situ, invasive carcinomas and their lymph node metastasis. *Anticancer Res* 2005; 25: 1615-1622
- 7 Liu F, Qi HL, Chen HL. Regulation of differentiation- and proliferation-inducers on Lewis antigens, alpha-fucosyltransferase and metastatic potential in hepatocarcinoma cells. *Br J Cancer* 2001; 84: 1556-1563
- 8 Capelle MA, Brügger P, Arvinte T. Spectroscopic characterization of antibodies adsorbed to aluminium adjuvants: correlation with antibody vaccine immunogenicity. *Vaccine* 2005; 23: 1686-1694
- 9 Narimatsu H. [Human fucosyltransferases: tissue distribution of blood group antigens, cancer-associated antigens and fucosyltransferases]. *Tanpakushitsu Kakusan Koso* 1998; 43: 2394-2403
- 10 Dupuy F, Germot A, Marenda M, Oriol R, Blancher A, Julien R, Maftah A. Alpha1,4-fucosyltransferase activity: a significant function in the primate lineage has appeared twice independently. *Mol Biol Evol* 2002; 19: 815-824
- 11 郭鹏, 张英, 张夏英, 陈惠黎, 张延, 成松久. 与肿瘤侵袭相关的Lewis抗原在人肝癌细胞H7721上的表达及其合成的酶学分析. *肿瘤* 2002; 22: 448-452
- 12 余尚扬, 蓝秀万, 何敏, 王秋雁. RNA干扰沉默 α 1, 3岩藻糖转移酶-VII基因对人肝癌细胞增殖的影响. *肿瘤防治研究* 2010; 37: 507-510
- 13 张英, 张夏英, 刘飞, 齐慧玲, 陈惠黎. 细胞表面糖链末端唾液酸和岩藻糖与某些细胞生物学行为的关系. *分子细胞生物学报* 2002; 35: 271-277
- 14 岳丽玲, 樊丽, 牛英才, 刘吉成. RNA干扰敲减FucT VII表达抑制人结肠癌细胞HT-29和HUVeCs的粘附能力. *中国生物化学与分子生物学报* 2010; 26: 290-294
- 15 Ying SY, Chang DC, Lin SL. The microRNA (miRNA): overview of the RNA genes that modulate gene function. *Mol Biotechnol* 2008; 38: 257-268
- 16 宋亚锋, 陶凯雄. MicroRNA在胃癌中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1911-1913
- 17 王凯, 李乐平, 郭琼行, 苗瑞政, 程力, 靖昌庆, 王金申. 靶向ING1基因的miR-622真核表达载体在胃癌细胞MKN-45中的鉴定及其功能. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2810-2815
- 18 邓美洲, 陶凯雄, 王国斌, 刘兴华. siRNA沉默USP22基因对胃癌细胞增殖的抑制作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1985-1989
- 19 杨雪松, 贾爽, 张震波, 燕秋. 人 α 1, 3-岩藻糖基转移酶IV荧光真核表达载体的构建及鉴定. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1064-1068
- 20 岳丽玲, 樊丽, 刘吉成. 人FUT3基因真核表达载体的构建与表达. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3210-3213
- 21 Raes G, Ghassabeh GH, Brys L, Mpofu N, Verschueren H, Vanhecke D, De Baetselier P. The metastatic T-cell hybridoma antigen/P-selectin glycoprotein ligand 1 is required for hematogenous metastasis of lymphomas. *Int J Cancer* 2007; 121: 2646-2652
- 22 Juntavee A, Sripa B, Pugkhem A, Khuntikeo N, Wongkham S. Expression of sialyl Lewis(a) relates to poor prognosis in cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 249-254
- 23 Magnani JL. The discovery, biology, and drug development of sialyl Lea and sialyl Lex. *Arch Biochem Biophys* 2004; 426: 122-131
- 24 Miyoshi E, Moriwaki K, Nakagawa T. Biological function of fucosylation in cancer biology. *J Biochem* 2008; 143: 725-729
- 25 Kimura H, Shinya N, Nishihara S, Kaneko M, Irimura T, Narimatsu H. Distinct substrate specificities of five human alpha-1,3-fucosyltransferases for in vivo synthesis of the sialyl Lewis x and Lewis x epitopes. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 237: 131-137
- 26 Xu HT, Zhao YF, Lian ZX, Fan BL, Zhao ZH, Yu SY, Dai YP, Wang LL, Niu HL, Li N, Hammarström L, Borén T, Sjöström R. Effects of fucosylated milk of goat and mouse on *Helicobacter pylori* binding to Lewis b antigen. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2063-2066
- 27 Aubert M, Panicot-Dubois L, Crotte C, Sbarra V, Lombardo D, Sadoulet MO, Mas E. Peritoneal colonization by human pancreatic cancer cells is inhibited by antisense FUT3 sequence. *Int J Cancer* 2000; 88: 558-565
- 28 Weston BW, Hiller KM, Mayben JP, Manousos GA, Bendt KM, Liu R, Cusack JC. Expression of human alpha(1,3)fucosyltransferase antisense sequences inhibits selectin-mediated adhesion and liver metastasis of colon carcinoma cells. *Cancer Res* 1999; 59: 2127-2135
- 29 崔欲晓, 刘民, 李欣, 汤华. RNA干扰抑制癌胚抗原表达对结肠癌细胞增殖的影响. *中国生物化学与分子生物学报* 2009; 25: 78-82
- 30 Mestdagh P, Feys T, Bernard N, Guenther S, Chen C, Speleman F, Vandesompele J. High-throughput stem-loop RT-qPCR miRNA expression profiling using minute amounts of input RNA. *Nucleic Acids Res* 2008; 36: e143

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

Brg1在Peutz-Jeghers综合征息肉组织中的蛋白表达及基因突变

刘金霞, 张凡, 周平, 夏廷毅, 毛高平

刘金霞, 周平, 夏廷毅, 中国人民解放军空军总医院肿瘤放疗科 北京市 100142

张凡, 商丘医学高等专科学校 河南省商丘市 476000

毛高平, 中国人民解放军空军总医院消化科 北京市 100142

刘金霞, 硕士, 主要从事消化系统肿瘤的病理学研究。

全军十一五面上课题基金资助项目, No. 06MA032

作者贡献分布: 本课题由周平、夏廷毅及毛高平设计; 由周平指导完成; 实验过程及论文撰写由刘金霞完成; 资料整理及数据分析由张凡、刘金霞共同完成。

通讯作者: 周平, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 100142, 北京市阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院肿瘤放疗科。zhouping4946@yahoo.com.cn。

电话: 010-68410099

收稿日期: 2012-05-23 修回日期: 2012-07-29

接受日期: 2012-08-11 在线出版日期: 2012-09-08

Protein expression and gene mutation of Brg1 in Peutz-Jeghers syndrome

Jin-Xia Liu, Fan Zhang, Ping Zhou, Ting-Yi Xia, Gao-Ping Mao

Jin-Xia Liu, Ping Zhou, Ting-Yi Xia, Department of Radiation Oncology, the General Hospital of Air Force of Chinese PLA, Beijing 100142, China

Fan Zhang, Shangqiu Medical College, Shangqiu 476000, Henan Province, China

Gao-Ping Mao, Department of Digestive Diseases, the General Hospital of Air Force of Chinese PLA, Beijing 100142, China

Supported by: the Project of Chinese PLA during the 11th "5-Year Plan" Period, No. 06MA032

Correspondence to: Ping Zhou, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Radiation Oncology, the General Hospital of Air Force of Chinese PLA, 30 Fucheng Road, Beijing 100142, China. zhouping4946@yahoo.com.cn

Received: 2012-05-23 Revised: 2012-07-29

Accepted: 2012-08-11 Published online: 2012-09-08

Abstract

AIM: To investigate the protein expression and gene mutation of Brahma-related gene 1 (Brg1) in Peutz-Jeghers syndrome (PJS), and to analyze their relation with tumor development.

METHODS: The expression of Brg1 protein in 72 cases of PJS polyps was detected by immunohistochemistry. Mutations in exons 4 and 10 of the Brg1 gene was detected by means of polymerase chain reaction-direct sequencing (PCR-DNA) in 39 cases of PJS polyps and 2 cases of carcinoma.

RESULTS: The positive rate of Brg1 protein expression in PJS (54.17%) was lower than that in adenocarcinoma (76.67%) but higher than that in normal tissue (16.67%). There was a significant difference in the positive rate of Brg1 protein expression among the three groups ($P < 0.05$). No Brg1 gene mutations were detected in 39 cases of PJS polyps and 2 cases of carcinoma.

CONCLUSION: Increased expression of Brg1 protein in PJS may be associated with the development of this disease. Brg1 gene mutations might be rare in PJS. Brg1 expression can be used as an important parameter for differentiating malignancy and evaluating prognosis of PJS.

Key Words: Peutz-Jeghers syndrome; Brahma-related gene 1; Immunohistochemistry; Polymerase chain reaction; Gene mutation

Liu JX, Zhang F, Zhou P, Xia TY, Mao GP. Protein expression and gene mutation of Brg1 in Peutz-Jeghers syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2353-2357

摘要

目的: 研究Brg1(Brahma-related gene 1)基因在Peutz-Jeghers综合征(Peutz-Jeghers syndrome, PJS)息肉组织中蛋白表达及基因突变的意义, 探讨其与肿瘤发生的关系。

方法: 应用免疫组织化学技术分析72例PJS息肉组织Brg1蛋白的表达, 同时应用PCR-DNA技术检测39例PJS息肉和2例癌变组织中Brg1基因第4和10外显子的基因突变, 初步探讨其与PJS发生、发展及预后的关系。

结果: Brg1蛋白在PJS息肉中的表达率为54.17%(39/72), 与小肠腺癌的表达率(76.67%)相比明显降低, 与正常组织的表达率(16.67%)相比明显增高; PJS息肉组和正常小肠黏膜组Brg1蛋白阳性表达差异有统计学意义($P < 0.05$); PJS息肉组和小肠癌组Brg1蛋白阳性表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。39例PJS息肉标本和2例癌变标本中, Brg1第4和10外显子

背景资料

Peutz-Jeghers综合征(PJS)是一种由LKB1/STK11突变而引起的常染色体显性遗传性疾病, 其主要临床特点是胃肠道多发息肉、皮肤黏膜色素斑和家族遗传性, 其具体的发病机制尚不完全明确, 因此有待于进一步研究阐明。

同行评议者

颜宏利, 教授, 中国人民解放军第二军医大学医学遗传学教研室

■ 研发前沿

目前临床上对于PJS的治疗仍以发现息肉并摘除为主,但息肉易复发,所以研究探索抑制息肉再生长的治疗方法是目前迫切需要研究的新方向。

的基因突变率为零。

结论: Brg1蛋白在PJS息肉中高表达并对PJS的发生发展起着重要作用,但Brg1基因突变在PJS中少见, Brg1蛋白的表达可作为判断PJS息肉恶变及预后的重要指标。

关键词: Peutz-Jeghers综合征; Brm相关基因1; 免疫组织化学; 聚合酶链反应; 基因突变

刘金霞, 张凡, 周平, 夏廷毅, 毛高平. Brg1在Peutz-Jeghers综合征息肉组织中的蛋白表达及基因突变. 世界华人消化杂志 2012; 20(25): 2353-2357

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2353.asp>

0 引言

Brg1(Brahma-related gene 1)是人类ATP依赖的染色质重构复合物SWI/SNF核心催化亚基的核心,是20世纪90年代初在酿酒酵母中发现的一种抑癌基因,位于人类染色体19p13上^[1],由35个外显子和34个内含子组成,基因编码的蛋白质相对分子量为 2.05×10^5 kDa,其mRNA长约5 247 bp.他在基因调控、细胞因子应答、肿瘤发生、发育和分化过程中起着非常重要的作用,具有ATP依赖的解螺旋酶活性,在SWI/SNF的核染色质改造功能中发挥着重要作用,同时也是许多基因复制所必需的蛋白之一^[2].在肺癌的发生中位于19p上的抑癌基因Brg1和STK11起着同样的作用^[3].Brg1基因在前列腺癌^[4]、宫颈癌^[5]及胃癌^[6,7]组织中存在高表达,而在肺癌组织^[8,9]、喉鳞状细胞癌及多种肿瘤细胞系中表达下调或缺失^[10],由以上可推测Brg1可能在肿瘤的发生、发展中起着关键性的作用.亦有报道在Peutz-Jeghers综合征(Peutz-Jeghers syndrome, PJS)息肉发生、发展中STK11和Brg1有着密切的联系^[11],但在PJS息肉中的表达及突变情况国内外尚未见阐述.本研究采用过氧化物酶(S-P)免疫组织化学方法、PCR技术及DNA直接测序法(PCR-DNA)检测PJS息肉组织及正常组织和小肠癌组织中Brg1蛋白表达及基因突变情况,旨在探讨Brg1在PJS息肉发生、发展及癌变过程中的作用,为PJS患者的临床治疗提供参考价值.

1 材料和方法

1.1 材料 选择中国人民解放军空军总医院病理科2004-04/2010-09归档的蜡块标本,其中PJS息肉组织72例,远离瘤体的小肠黏膜以及正常小肠黏膜组织12例,小肠癌组织30例.病理切片均

经2位以上病理医师确诊. S-P试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司; Brg1抗体购自北京博奥森生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学S-P法: 将石蜡组织块脱蜡至水化后,采用抗原修复处理的链霉素抗生物素蛋白S-P法染色, DAB显色. Brg1蛋白免疫组织化学检测技术实验步骤按说明书进行.用已知阳性片作为阳性对照,以磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照.结果判断标准:连续观察10个高倍视野($\times 400$),各计数1 000个细胞的阳性细胞数,计算阳性细胞所占的百分率并取平均值. Brg1染色阳性细胞为细胞核呈棕黄色至深褐色,部分细胞质同时为淡黄色和/或黄色.其中阳性细胞 $<25\%$ 为(-), $25\%-50\%$ 为阳性(+), $51\%-75\%$ 为中等阳性(++), $>75\%$ 为强阳性(+++).

1.2.2 PCR-DNA测序: (1)DNA模板的制备:将石蜡包埋的组织切片 $10 \mu\text{m}$ 厚2片,放在加入1 mL二甲苯的1.5 mL Ep管中,颠倒混匀,使二甲苯与组织充分接触,放置于 48°C 水浴锅中45 min,用苯酚/氯仿抽提法常规提取人基因组DNA,用作PCR模板; (2)PCR扩增: Brg1基因第4和10外显子引物经PubMed在线设计,其序列合成均在中国人民解放军军事医学科学院分子生物学实验室完成,引物序列为:外显子4: sense 5'-TCTTCCAGTTCCAGCCAGTG-3', antisense 5'-CGAGGGTGTTCGGTAGCGT-3',产物大小为280 bp;外显子10: sense 5'-CGAC-CAGAAGAAGGACAAG-3', antisense 5'-CTGAG-GCAAGAGGTAGGC-3',产物大小为158 bp.对39例Brg1免疫组织化学染色阳性标本进行扩增,反应体系包括DNA模板 $2 \mu\text{L}$,上、下游引物各 $1 \mu\text{L}$, 2.5 mmol/L $4 \times \text{dNTPs}$ $4 \mu\text{L}$, $10 \times \text{Buffer}$ $5 \mu\text{L}$,TaqDNA聚合酶 $1 \mu\text{L}$,纯水 $36 \mu\text{L}$,总体积 $50 \mu\text{L}$.反应条件为 95°C 预变性5 min, 95°C 30 s, 55°C 或 52.5°C 30 s, 72°C 1 min;40个循环后 72°C 延伸7 min.每组PCR反应均设无模板DNA的阴性对照; (3)DNA变性电泳:制作2%琼脂糖凝胶,将 $5 \mu\text{L}$ 扩增产物与 $1 \mu\text{L}$ 上样缓冲液混合,用移液器将样品依次加入已配置好的凝胶样品槽的点样孔;在 5 V/cm 的电压下电泳至溴酚蓝带跑到电泳槽中央;电泳结束后取出凝胶,在紫外灯下观察结果并拍片; (4)DNA回收:将目的DNA片段切出,称其重量;回收步骤按试剂盒说明书进行,将回收产物送去测序.

统计学处理 应用SPSS17.0软件进行统计分

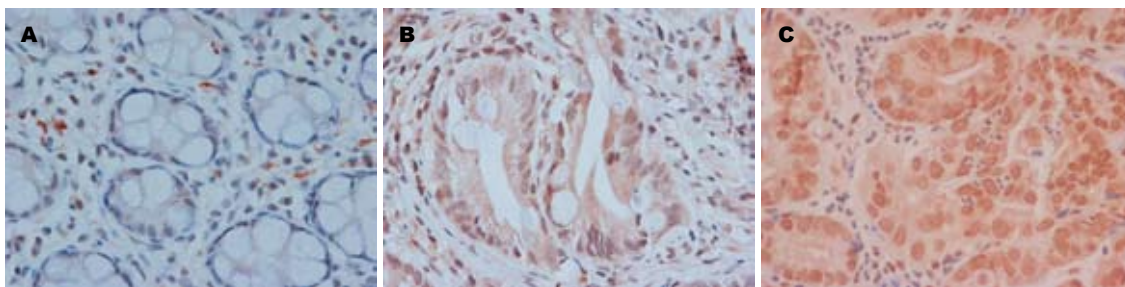


图 1 Brg1在不同组织中的表达(S-P染色, ×400). A: 正常小肠黏膜组织; B: PJS息肉组织; C: 小肠癌组织.

■创新盘点
 本文利用免疫组织化学及PCR技术对PJS胃肠息肉中Brg1基因进行研究, 为PJS基因治疗提供新的思路, 对PJS胃肠息肉的临床治疗提供一定的实验依据.

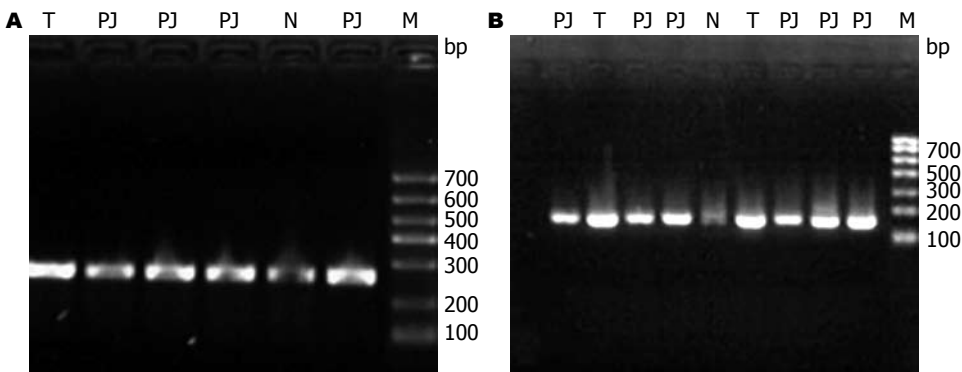


图 2 PJS息肉组织中Brg1基因的PCR产物电泳. A: Brg1 Exon4; B: Brg1 Exon10. N: 正常组织; T: 癌变组织; PJ: PJ息肉组织; M: Marker.

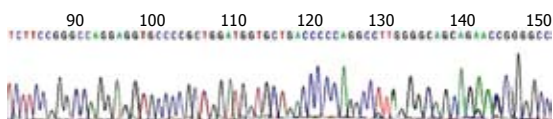


图 3 PJS息肉组织中Brg1 Exon4测序图谱.

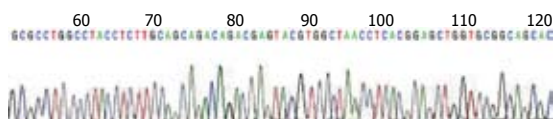


图 4 PJS息肉组织中Brg1 Exon10测序图谱.

析, 组间差别采用四格表 χ^2 检验. $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 免疫组织化学染色 Brg1蛋白在PJS息肉组织及正常小肠黏膜组织中均表达于细胞核, 呈棕黄色至深褐色, 多数部分细胞质同时为黄色. Brg1蛋白在小肠癌组织中为中等阳性或强阳性表达, 在PJS息肉组织中为中等阳性表达或弱阳性表达, 在正常小肠黏膜组织中为弱阳性表达或不表达(图1). Brg1蛋白的阳性表达在癌组织与PJS息肉组织之间差异有统计学意义($\chi^2 = 4.870, P < 0.05$); PJS息肉组织与正常小肠黏膜组织比较差异也具有统计学意义($\chi^2 = 4.497, P < 0.05$, 表1).

2.2 PCR-DNA电泳 Brg1基因第4外显子PCR扩增产物大小为280 bp, 第10外显子PCR扩增产物为158 bp, 均符合扩增长度, 扩增成功. 经2%琼脂糖凝胶电泳后, 图像记录分析系统中可以看

到单一且特异性好的目标条带(图2). 将Brg1基因第4、10外显子PCR产物纯化、回收、测序, 测序峰图(图3, 4), 读出图谱, 将图谱序列通过NCBI进行在线比对, 结果均未发现Brg1第4、10外显子突变.

3 讨论

在遗传性家族性疾病中, PJS是属于中等度癌变风险的一种综合征, 多器官系统易患癌症是本病的一个重要特点. 以前报道本病是一种良性病变, 恶变的几率极低, 仅为1%-3%. 随着研究的深入, 人们发现有的PJS息肉为腺瘤样改变, 可以发生癌变, 而且错构瘤本身也有可能演变为腺瘤和癌, 存在着由错构瘤-腺瘤-腺癌的演变过程^[12]. 本综合征是患胃肠道和胃肠道外肿瘤及妇科癌症的高危因素^[13], 治疗多以发现息肉内镜切除为主, 给患者和家属带来沉重的经济和精神负担^[14], 因此近几年来本病引起医学界的高度重视.

应用要点

如果能研究出一种抑制PJS患者息肉再生的药物, 将为PJS患者带来福音。

表 1 Brg1蛋白在PJS息肉组织、小肠癌组织及正常小肠黏膜组织中的表达

组织类型	n	Brg1蛋白				阳性率(%)
		-	+	++	+++	
PJS息肉组织	72	33	15	18	6	54.17
小肠癌组织	30	7	4	8	11	76.67
正常小肠黏膜组织	12	10	2	0	0	16.67

目前PJS的发病机制尚不明确, 多数研究认为他的主要相关致病基因为STK11/LKB1基因, 位于人类染色体19p13.3, 编码丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 在染色质重构、细胞周期、细胞极性以及能量代谢的应答调控等方面发挥着重要的作用。1998年Jenne等^[15]和Hemminki等^[16]同时报道STK11/LKB1基因与PJS的发生、发展有着密切的关系。在家族性PJS患者和散发性患者中, 已经鉴定出有144种STK11基因突变, 包括错义突变、缺失突变和插入突变等^[17]。在PJS家系患者中STK11/LKB1突变率仅为70%, 在散发病例中的突变率为30%-67%^[14], 高度提示PJS存在着遗传异质性。随着国内外学者的不断探索, 发现3p14是PJS脆性位点出现频率最高的位点, 该基因可能参与了PJS的发病^[18]。而Mehenni等^[19]、Marneros等^[20]在寻找PJS新的致病基因时发现位于19q13.4区带存在基因突变。夏欧东等^[21]发现Axin蛋白在PJS息肉中低表达。马娅梅等^[22]检测到IFITM1 mRNA及IFITM1蛋白水平在PJS患者中的表达有变化。国外也有研究证明Wnt信号通路中的关键蛋白Beta-catenin可能是PJS息肉发生发展和癌变的蛋白之一^[23]。最近研究发现STRAD α 、Brg1、MO25 α 有可能参与PJS的发生发展^[24]。

最近文献报道, 无论PJS患者是否存在LKB1基因突变, 其患癌风险均明显较普通人群增高^[25], 所以PJS的发病机制和临床治疗越来越受到人们的重视。Brg1作为最近发现的一种重要的抑癌基因, 他可以E/F非依赖方式抑制c-fos的转录^[26,27]。也有人研究发现, SWI/SNF家族与许多基因的激活有关, 也与转录的抑制有关, 他主要通过转录活化和抑制功能来控制肿瘤的生长^[28]。不同的研究发现Brg1基因在前列腺癌、宫颈癌及胃癌组织中高表达, 而在肺癌组织及多种肿瘤细胞系中表达下调或缺失。

本研究利用S-P法检测发现, Brg1蛋白在小肠癌组织和PJS息肉组织中高表达, 二者阳性表达率明显高于正常小肠黏膜组织, 且Brg1蛋白在

小肠癌组织中的阳性率高于PJS息肉组织。Brg1蛋白在小肠癌中的表达以强阳性或中等阳性为主, 在PJS息肉组织中的表达以中等阳性或弱阳性为主, 而在正常小肠黏膜组织中以弱阳性表达或不表达为主。

我们进一步利用PCR-DNA直接测序法对Brg1是否在患者息肉组织中存在突变进行检测, 经查阅大量文献发现Brg1基因突变的位点50%以上发生在外显子4和10上^[6], 因此我们选择了Brg1基因的第4、10外显子进行检测。通过对39例PJS息肉标本和2例癌变标本以及12例正常小肠标本进行检测, 经PCR-DNA直接测序法扩增出Brg1第4和10外显子, 对扩增产物经凝胶电泳检测、纯化回收进行测序, 测序结果均未发现突变。

通过本研究可推测Brg1蛋白在PJS息肉组织中存在高表达, 很可能是PJS息肉发生发展和息肉癌变的一个关键性因素之一。但Brg1基因作为一种抑癌基因, 在PJS息肉组织和小肠癌组织中却表现为癌基因的活性, 究其原因, 可能是Brg1基因在PJS息肉组织和小肠癌组织中发生了功能丢失或转录激活的作用, 从而失去了原本的抑癌作用, 进而在PJS息肉的发生发展及息肉癌变的过程中起着一定的作用。

魏学明等^[29]在PJS的诊治和预防提出了分子靶向治疗, 为PJS胃肠道息肉带来预防性治疗的新途径, 其代表就是环氧化酶-2的选择性抑制剂。而中药以“济生乌梅丸”为代表可能成为PJS息肉的预防性治疗提供另一个选择。通过本研究我们推测BRG1也有可能成为PJS胃肠息肉治疗的靶向指标, 但其具体机制尚待进一步研究阐明。

4 参考文献

- Wong AK, Shanahan F, Chen Y, Lian L, Ha P, Hendricks K, Ghaffari S, Iliev D, Penn B, Woodland AM, Smith R, Salada G, Carillo A, Laity K, Gupte J, Swedlund B, Tavtigian SV, Teng DH, Lees E. BRG1, a component of the SWI-SNF complex, is mutated in multiple human tumor cell lines. *Cancer Res* 2000; 60: 6171-6177
- Baas AF, Smit L, Clevers H. LKB1 tumor suppressor protein: PARtaker in cell polarity. *Trends Cell Biol* 2004; 14: 312-319
- Rodriguez-Nieto S, Sanchez-Cespedes M. BRG1 and LKB1: tales of two tumor suppressor genes on chromosome 19p and lung cancer. *Carcinogenesis* 2009; 30: 547-554
- 李燕, 石群立, 金行藻, 孟奎, 周晓军, 孙丽萍. 组织芯片检测前列腺癌中Brg1表达的研究. *中华男科杂志* 2006; 12: 629-632
- 王秀明, 何蓬芝. Brg1基因在宫颈癌中的表达. *安徽医学杂志* 2010; 31: 446-448, F0003
- 李青, 周晓军, 谢海龙, 苏宁, 邓红, 易龙. 胃癌组织中

- Brg1基因突变及蛋白表达的研究. 医学研究生学报 2005; 18: 875-878, i0009
- 7 Sentani K, Oue N, Kondo H, Kuraoka K, Motoshita J, Ito R, Yokozaki H, Yasui W. Increased expression but not genetic alteration of BRG1, a component of the SWI/SNF complex, is associated with the advanced stage of human gastric carcinomas. *Pathobiology* 2001; 69: 315-320
 - 8 关勇军, 蔡秀梅, 李友军, 何春梅, 何琼琼, 程瑞雪, 陈主初. 肺癌组织和肿瘤细胞系中Brg1的表达分析. *生命科学研究* 2007; 11: 84-89
 - 9 Reisman DN, Sciarrotta J, Wang W, Funkhouser WK, Weissman BE. Loss of BRG1/BRM in human lung cancer cell lines and primary lung cancers: correlation with poor prognosis. *Cancer Res* 2003; 63: 560-566
 - 10 崔香艳, 汪欣, 陈玮伦, 于红, 黄可新, 祝威. Brg1在喉鳞状细胞癌组织中的表达及意义. *吉林大学学报(医学版)* 2010; 36: 546-549
 - 11 Marignani PA, Kanai F, Carpenter CL. LKB1 associates with Brg1 and is necessary for Brg1-induced growth arrest. *J Biol Chem* 2001; 276: 32415-32418
 - 12 Wang ZJ, Ellis I, Zauber P, Iwama T, Marchese C, Talbot I, Xue WH, Yan ZY, Tomlinson I. Allelic imbalance at the LKB1 (STK11) locus in tumours from patients with Peutz-Jeghers' syndrome provides evidence for a hamartoma-(adenoma)-carcinoma sequence. *J Pathol* 1999; 188: 9-13
 - 13 Tantipalakorn C, Khunamornpong S, Lertprasertsuke N, Tongsong T. Female genital tract tumors and gastrointestinal lesions in the Peutz-Jeghers syndrome. *J Med Assoc Thai* 2009; 92: 1686-1690
 - 14 Kopáková M, Bures J, Ferko A, Tacheč I, Rejchrt S. Comparison of intraoperative enteroscopy and double-balloon enteroscopy for the diagnosis and treatment of Peutz-Jeghers syndrome. *Surg Endosc* 2010; 24: 1904-1910
 - 15 Jenne DE, Reimann H, Nezu J, Friedel W, Loff S, Jeschke R, Müller O, Back W, Zimmer M. Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threonine kinase. *Nat Genet* 1998; 18: 38-43
 - 16 Hemminki A, Markie D, Tomlinson I, Avizienyte E, Roth S, Loukola A, Bignell G, Warren W, Aminoff M, Höglund P, Järvinen H, Kristo P, Pelin K, Ridanpää M, Salovaara R, Toro T, Bodmer W, Olschwang S, Olsen AS, Stratton MR, de la Chapelle A, Aaltonen LA. A serine/threonine kinase gene defective in Peutz-Jeghers syndrome. *Nature* 1998; 391: 184-187
 - 17 Alessi DR, Sakamoto K, Bayascas JR. LKB1-dependent signaling pathways. *Annu Rev Biochem* 2006; 75: 137-163
 - 18 赵喜荣, 康连春, 周永双, 贾义星, 陈竹, 康素海, 李文梅, 赵敏, 崔建涛, 孙安乐, 吕有勇. Peutz-Jeghers综合征脆性组氨酸三联体基因突变与癌变的关系. *癌症* 2003; 22: 50-54
 - 19 Mehenni H, Blouin JL, Radhakrishna U, Bhardwaj SS, Bhardwaj K, Dixit VB, Richards KF, Bermejo-Fenoll A, Leal AS, Raval RC, Antonarakis SE. Peutz-Jeghers syndrome: confirmation of linkage to chromosome 19p13.3 and identification of a potential second locus, on 19q13.4. *Am J Hum Genet* 1997; 61: 1327-1334
 - 20 Marneros AG, Mehenni H, Reichenberger E, Antonarakis SE, Krieg T, Olsen BR. Gene for the human transmembrane-type protein tyrosine phosphatase H (PTPRH): genomic structure, fine-mapping and its exclusion as a candidate for Peutz-Jeghers syndrome. *Cytogenet Cell Genet* 2001; 92: 213-216
 - 21 夏欧东, 马娅梅, 吴保平. 黑斑息肉综合征中Axin表达研究. *解放军医学杂志* 2008; 33: 692-694
 - 22 马娅梅, 吴保平, 夏欧东. 干扰素诱导的跨膜蛋白1在Peutz-Jeghers综合征的表达及意义. *南方医科大学学报* 2009; 29: 541-543
 - 23 Chaiyapan W, Sangkhathat S, Kanngurn S, Phu-kaoloun M, Chiengkriwate P, Patrapinyokul S. Immunohistological evidence for Wnt-signaling activation in Peutz-Jeghers polyposis. *Pediatr Surg Int* 2010; 26: 173-177
 - 24 Alhopuro P, Katajisto P, Lehtonen R, Ylisaukko-Oja SK, Näätsaari L, Karhu A, Westerman AM, Wilson JH, de Rooij FW, Vogel T, Moeslein G, Tomlinson IP, Aaltonen LA, Mäkelä TP, Launonen V. Mutation analysis of three genes encoding novel LKB1-interacting proteins, BRG1, STRADalpha, and MO25alpha, in Peutz-Jeghers syndrome. *Br J Cancer* 2005; 92: 1126-1129
 - 25 袁柏思, 路又可, 金鑫鑫, 万海军, 周淑萍, 汪芳裕. Peutz-Jeghers综合征: 恶性肿瘤高风险人群. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3094-3099
 - 26 Bartlett C, Orvis TJ, Rosson GS, Weissman BE. BRG1 mutations found in human cancer cell lines inactivate Rb-mediated cell-cycle arrest. *J Cell Physiol* 2011; 226: 1989-1997
 - 27 Murphy DJ, Hardy S, Engel DA. Human SWI-SNF component BRG1 represses transcription of the c-fos gene. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 2724-2733
 - 28 Pal S, Yun R, Datta A, Lacomis L, Erdjument-Bromage H, Kumar J, Tempst P, Sif S. mSin3A/histone deacetylase 2- and PRMT5-containing Brg1 complex is involved in transcriptional repression of the Myc target gene cad. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 7475-7487
 - 29 魏学明, 顾国利, 徐丽梅, 毛高平, 王石林. Peutz-Jeghers综合征的诊治进展和预防性治疗. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3111-3116

■同行评价
PJS中Brg1蛋白表达及基因突变的研究比较少, 本文有较好的创新性, 并为临床治疗相关疾病提供了较好的参考价值, 意义较大。

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012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.

肝性脑病发病机制的研究进展

张玉波

■背景资料

肝性脑病(HE)严重危害人类健康,其病理基础为脑水肿,氨中毒学说仍是主要发病机制之一,但具体发病机制目前仍不明确。随着研究的进展,又增加了炎症反应等学说。

张玉波,涿州市医院消化科 河北省涿州市 072750
张玉波,主治医师,主要从事肝脏及胰腺疾病的临床诊治。
作者贡献分布:本文综述由张玉波完成。
通讯作者:张玉波,主治医师,072750,河北省涿州市范阳西路129号,涿州市医院消化科。qaz301214@126.com
电话:0312-5521121
收稿日期:2012-05-28 修回日期:2012-07-30
接受日期:2012-08-11 在线出版日期:2012-09-08

Progress in understanding the pathogenesis of hepatic encephalopathy

Yu-Bo Zhang

Yu-Bo Zhang, Department of Gastroenterology, Zhuozhou Hospital, Zhuozhou 072750, Hebei Province, China
Correspondence to: Yu-Bo Zhang, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Zhuozhou Hospital, 129 Fanyang West Road, Zhuozhou 072750, Hebei Province, China. qaz301214@126.com
Received: 2012-05-28 Revised: 2012-07-30
Accepted: 2012-08-11 Published online: 2012-09-08

Abstract

Hepatic encephalopathy (HE) is a serious neuropsychiatric complication of both acute and chronic liver diseases. Symptoms of HE can include confusion, disorientation, poor coordination, and even coma. The pathogenesis of HE was thought to involve the increase in blood levels of ammonia, which increases the intracellular levels of glutamine, promotes calcium influx and initiates oxidative stress, destroys the function of mitochondria, disrupts energy metabolism and causes inflammation, destroys blood brain barrier, increases the water permeability of brain endothelial cells and astrocytes, and then induces brain edema. While, inflammation, in turn, raises the ammonia levels in the brain, which is toxic to the central nervous system. Manganese is an important component which participates in the above processes. A general consensus exists that the synergistic effects of excess ammonia and inflammation cause astrocyte swelling and cerebral edema; however, the precise molecular mechanisms that lead to these morphological changes in the brain are unclear. This article will summarize the research progress in understanding the pathogenesis of HE.

■同行评议者

庄林,主任医师,昆明市第三人民医院肝病科;范小玲,主任医师,北京地坛医院综合科

Key Words: Hepatic encephalopathy; Ammonia; Inflammation; Neurosteroids; Oxidative stress; Manganese

Zhang YB. Progress in understanding the pathogenesis of hepatic encephalopathy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2358-2363

摘要

肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)是肝功能严重障碍和/或门体分流术后患者发生的以代谢紊乱为基础,神经、精神症状为主要表现的综合征。其症状包括意识混乱、定向力障碍、协调能力降低,甚至昏迷。其发病机制被认为是高氨血症使脑星形胶质细胞内谷氨酰胺浓度升高、钙离子内流启动氧化应激、破坏线粒体功能,干扰能量代谢并诱发炎症反应,破坏血脑屏障使内皮细胞、脑星形胶质细胞对水通透性增加,引发脑水肿。炎症反应又反过来升高脑内氨浓度,增加其中枢神经系统毒性,而锰是参与上述过程的重要组成成分,故目前公认为高氨血症和炎症反应的协同作用导致星形胶质细胞肿胀,进而引起脑水肿导致HE。本文就HE发病机制的研究进展作一综述。

关键词: 肝性脑病; 氨; 炎症反应; 神经类固醇; 氧化应激; 锰

张玉波. 肝性脑病发病机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20(25): 2358-2363

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2358.asp>

0 引言

肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)是肝功能严重障碍和/或门体分流术后患者发生的以代谢紊乱为基础,神经、精神症状为主要表现的综合征。患者可出现不同程度的意识、智力、定向力、情感、行为以及精细运动等改变。根据临床症状的轻重分为症状明显型HE(overt hepatic encephalopathy, OHE)和轻微型HE(minimal hepatic encephalopathy, MHE)。OHE可经临床试验检测到神经、精神异常,而MHE的神经、精神学临床检查则基本正常,需特异的心理智能

测试则可发现异常. 1998年, 第11界世界胃肠大会工作小组将HE分为3种主要类型: A型为急性肝衰竭相关型, 不包括慢性肝病伴发的急性HE; B型为门体分流相关型, 肝活检证实肝组织学正常; C型指在慢性肝病或肝硬化基础上发生的HE. C型又进一步细分为发作性HE、持续性HE和轻微性HE^[1].

数十年来氨中毒学说一直被认为是HE的主要发病机制. 但近年来研究发现, HE的发病存在着其他致病因素, 如炎症反应、神经类固醇、氧化应激和锰中毒等. 发现HE患者脑组织有星形胶质细胞肿胀的病理改变. 虽然HE发病的确切分子机制还不清楚, 但普遍认为在氨、炎症反应、氧化应激等因素的共同作用下, 脑星形胶质细胞肿胀, 进而导致脑水肿, 可解释HE的主要临床表现. 现就其发病机制作一综述.

1 高氨血症与HE

血氨浓度升高作为HE的发病机制早已得到广泛关注. 18世纪初期, Shawcross等^[2]在狗体内制造门腔静脉瘘, 致受试狗表现出神经精神改变. 而对狗喂食肉类可加重其症状, 从而将该类症状命名为肉毒性综合征. 在20世纪末, Phillips等详细描述了肝功能不全患者的行为改变. 1991年, Prakash等^[3]应用放射性标记的氮, 对重症肝病和MHE患者进行了PET影像学研究中, 找到了血氨增高是肝性脑病发病机制的直接证据.

血氨有两种主要来源: 一是来源于结肠内肠道菌群, 如革兰阴性厌氧菌、肠杆菌、变形菌、梭菌属等, 细菌尿素酶分解尿素为氨和二氧化碳. 由于肝硬化患者肠壁水肿, 蠕动功能减退使细菌增多, 其分解代谢的氨增多; 二是来源于小肠的肠上皮细胞, 肠上皮细胞通过肠内谷氨酰胺酶分解谷氨酰胺, 产生氨及谷氨酸^[4]. 其证据来自西班牙学者的研究: 他们发现肝硬化患者尤其是MHE患者体内编码谷氨酰胺酶的基因上调^[5]. 发现导致谷氨酰胺酶活性增加的基因增强子区域存在特定变异, 使肝硬化患者发生OHE的几率增加^[6].

哺乳动物体内氨代谢途径主要有3种: (1)经肝代谢, 源于肠道的氨由内脏静脉网进入肝脏, 经过鸟氨酸循环代谢为无毒且具有水溶性的尿素, 由肾排出. 而肝功能受损时, 血氨经鸟氨酸循环代谢减少; 门体分流时, 血氨绕过肝脏代谢, 经血脑屏障入脑; (2)经肾脏代谢, 氨以尿素或铵离子(NH₄⁺)形式经尿排出体外, 该途径受pH值

影响较大, 肝硬化易发生碱中毒, 使铵离子转化为气态氨增多, 后者易通过血脑屏障, 从而加重HE. 此外, 肝硬化患者常因腹泻、过度利尿, 发生肾灌注不足, 肾小球滤过率下降, 肾脏排氨能力减弱. 而单纯的盐水输注即可改善患者的肾脏排氨^[7]; (3)经骨骼肌细胞代谢, 肌细胞内谷氨酰胺合成酶将氨合成为谷氨酰胺, 肝硬化患者多存在肌肉萎缩, 使谷氨酰胺合成障碍, 影响氨的代谢^[8].

目前认为氨造成脑毒性的机制为: 一是氨通过血脑屏障进入颅内, 星形胶质细胞是脑内唯一能代谢氨的细胞^[9], 其内质网内的谷氨酰胺合成酶, 催化等摩尔的谷氨酸和氨合成谷氨酰胺, 致使星形胶质细胞内生成的谷氨酰胺明显升高. 谷氨酰胺具有胶体渗透性, 可吸引水分子进入细胞内引起细胞肿胀、脑水肿及颅内高压. 在动物实验中, 给予谷氨酰胺合成酶抑制剂甲硫氨酸亚砷胺可预防星形胶质细胞肿胀^[10,11]. 体外试验使星形胶质细胞突然暴露于高浓度氨(基本类同于急性肝衰竭和A型HE患者脑内氨浓度)中, 将导致谷氨酸的大量释放^[12,13]. 由于后者属兴奋性神经递质, 临床上A型HE患者则出现易激惹, 混乱、癫痫样发作和昏迷等症状. C型HE的特征性临床表现是轻度脑水肿和神经抑制状态^[14,15]. 星形胶质细胞在高浓度氨中暴露时间延长, 将导致一系列变化: (1)细胞内渗透性物质如肌醇和牛磺酸释放增多, 可部分代偿星形胶质细胞的肿胀^[16]. 这种内环境的稳态机制, 可导致细胞内肌醇储备减少, 使HE突然恶化^[17]; (2)突触后板的谷氨酰胺受体活性降低, 星形胶质细胞膜上的谷氨酰胺载体失活^[18], 随着时间延长, 这些细胞转化成阿尔茨海默II型星形胶质细胞^[19]; 二是研究表明, 氨可使星形胶质细胞钙离子内流增加, 直接启动氧化及硝基化应激, 导致线粒体功能障碍, 并通过开放线粒体通透性转换孔导致能量丢失. 他还可诱导RNA发生氧化作用, 激活细胞丝裂原活化蛋白激酶及NF-κB, 导致炎症反应、损害细胞内信号通路, 发生神经系统功能障碍^[20]; 三是氨的直接毒性作用还包括: 导致抑制性与兴奋性神经递质比例失调, 终使抑制性神经递质含量增加; 干扰脑细胞能量代谢; 改变基因表达, 使维持大脑正常功能的蛋白发生异常改变; 损害颅内血流的自动调节功能^[21].

2 炎症反应与HE

氨代谢障碍并不能独立解释HE的所有神经改变^[22]. 研究表明, 高氨血症联合炎症反应或其他

■研发前沿

目前主要认为高氨血症与炎症反应、神经类固醇、氧化或硝基化应激协同作用导致脑星形胶质细胞肿胀, 进而发生脑水肿.

■相关报道

近年来不断有关于HE的体内外实验研究, 如血氨在脑内的代谢途径、炎症反应因子的参与等, 从分子水平、信号通路结合大体标本、影像学等方面探讨HE的发病机制.

■创新盘点

本文从高氨血症、炎症反应、神经类固醇、氧化或硝基化应激、锰等方面,综述HE发病机制的研究进展。

神经毒性分子可诱发HE. Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR-4)可识别革兰氏阴性菌,而肝硬化患者TLR-4结构发生多态性改变,产生炎症反应,使中性粒细胞过度激活,释放多种炎症因子,增加HE的发生率^[23]. Shawcross等^[24]给患有全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)的肝硬化患者口服氨基酸溶液诱导出高氨血症,使这些患者的心理测试结果加重.一旦患者的SIRS或感染得到及时控制(如应用亚低温处理或布洛芬、吲哚美辛治疗),炎症反应标记物如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)和白细胞介素(interleukin, IL)-1、血氨的水平将恢复正常,患者的心理测试结果也不会因被诱导高氨血症而加重.另一组大样本的研究,通过检测肝硬化患者血氨以及炎症反应标记物水平,得到了与Shawcross研究类似的结论,均提示炎症反应和炎症因子在HE发病机制中发挥重要作用. MHE的发生及严重程度与血氨水平及肝病严重程度无相关性,但MHE患者血清中炎症反应标记物(如C反应蛋白、白细胞计数、IL-6)水平却明显高于无HE的患者^[25].

研究表明,星形胶质细胞和小神经胶质细胞在受到炎症刺激时释放炎症因子如IL-1、IL-6时, TNF的水平也同样升高.而TNF、IL-1 β 都能损害脑血管内皮细胞,影响血脑屏障神经胶质细胞面的完整性^[26].体外研究表明, TNF和IL-6能提高离体脑组织内皮细胞对水的通透性, TNF可促进血氨弥散进入星形胶质细胞,进一步加重星形胶质细胞的肿胀.在对急性肝衰竭的研究中发现,使TNF- α 或IL-1受体基因缺失,可抑制炎症反应,延迟HE的发生,减轻脑水肿^[27].

3 神经类固醇与HE

炎症反应激活小神经胶质细胞,使转位蛋白(又称为边缘型苯二氮卓类受体)表达上调,从而导致线粒体内神经类固醇合成增多^[28].已证明神经类固醇参与HE的发病机制^[29].神经类固醇可在中枢或外周神经系统合成,原料来自胆固醇或类固醇前体(由性腺和肾上腺产生的类固醇激素的代谢物).脑内的神经类固醇主要在星形胶质细胞的线粒体内质网合成^[30].神经胶质细胞线粒体膜上的转位蛋白可调控神经类固醇的合成^[31,32].肝衰竭患者体内增多的氨和锰,使转位蛋白表达增加,促进神经类固醇的合成.尸检发现肝硬化患者脑内转位蛋白表达增加^[33].Cagnin等^[28]应用特异转位蛋白配体对患有MHE患者PET成像,发

现转位蛋白的密度也是增加的.神经类固醇参与HE发病的机制可能为:(1)改变神经递质信号传递,神经类固醇是 γ -氨基丁酸受体的正性变构调节剂,可以增加氯离子细胞内流,增强 γ -氨基丁酸能的作用,使神经元 γ -氨基丁酸的突触后膜抑制功能增强,脑干网状结构唤醒机制被打破,产生中枢抑制效应,产生C型HE的临床表现,如神志改变和昏迷等;(2)改变基因表达,神经类固醇使星形胶质细胞内胶质纤维酸性蛋白,胞内葡萄糖、谷氨酸、甘氨酸的载体,单胺氧化酶、一氧化氮合成酶等发生改变^[34].但具体分子机制和信号途径有待进一步明确.

4 氧化及硝基化应激与HE

大量研究证明,氨可以诱导氧化应激,将分离的小鼠星形胶质细胞暴露于高浓度氨中培养,可引起细胞外谷氨酸盐浓度升高,谷氨酸盐激活N-甲基-D天冬氨酸受体,生成大量活性氮族(reactive nitrogen species, RNS)和活性氧族(reactive oxygen species, ROS),发生氧化应激损伤,加重HE^[35,36].2006年Albrecht^[37]等提出“特洛伊木马”假说用来解释谷氨酰胺对星形胶质细胞的毒性作用,认为高氨环境中的星形胶质细胞内,产生过多的谷氨酰胺进入线粒体基质内,被磷酸化激活的谷氨酰胺酶分解出高浓度氨,诱导线粒体活性氧产生,并认为这一过程产生的ROS和RNS是通过钙依赖途径调节的.除此之外,ROS还参与细胞内蛋白的酪氨酸残基硝化,从而影响底物的跨星形胶质细胞运输,选择性地降低血脑屏障渗透性,最终导致星形胶质细胞肿胀及脑水肿^[10].另一方面,氧化应激也可加重氨中毒,首先氧化应激会导致蛋白质硝化,其中谷氨酸合成酶的硝化会导致氨与谷氨酸盐结合发生障碍,引起脑中氨浓度升高;其次,研究发现氧化应激可导致线粒体通透性转换的直接结果使线粒体内膜电位消失,引起线粒体基质肿胀,ATP能量合成障碍,也可加重氨中毒.以上提示氨中毒与氧化应激相互影响的密切关系引起脑星状胶质细胞的病理损害是HE发生的重要环节^[38].

5 锰中毒与HE

锰是中枢神经系统内谷氨酰胺合成酶、线粒体超氧化物歧化酶、丙酮酸羧化酶的重要组成成分.人体内锰主要来源于食物,由胃肠道吸收,经胆汁排泄.肝硬化患者常有胆汁淤积,锰经胆道排泄减慢,导致血锰水平升高.锰作为神经毒

素, 主要影响苍白球、黑质区域, 其机制可能是导致线粒体代谢紊乱及氧化应激以及与铁稳态失衡、炎症、谷氨酸及多巴胺代谢障碍有关。锰是谷氨酰胺合成酶的重要成分, 而80%的锰沉积于星形胶质细胞的线粒体内^[39]。可使星形胶质细胞转变成II型阿尔茨海默细胞, 产生氧化和亚硝基化应激, 通过开放线粒体通透性转换孔道(mitochondrial permeability transition, MPT), 损害线粒体功能, 从而使星形胶质细胞肿胀, 诱发脑水肿。但给予抗氧化剂如维生素E或MPT抑制剂如环孢素A可大大阻滞星形胶质细胞的肿胀^[40]。锰还可兴奋星形胶质细胞上的转位蛋白, 促进神经类固醇的合成, 增强 γ -氨基丁酸能的作用^[41]。用MRI技术可以检测到肝硬化患者和广泛门腔静脉分流术后小鼠脑基底节区锰的沉积^[42-44], 肝功能复常后锰沉积会逐渐消失^[45]。锰优先沉积于大脑基底节还可解释HE患者出现的帕金森样症状等^[46]。

6 其他因素

研究发现对肝硬化患者使用苯二氮卓类药物、其肠道细菌产生的内源性苯二氮卓类物质、细菌代谢色氨酸的副产物吲哚及羟吲哚等均有镇静作用, 与HE的抑制状态有关^[47,48]。肝硬化患者和C型HE动物模型中乙酰胆碱酯酶活性增强, 使乙酰胆碱减少50%-60%, 可引发HE, 该因素与高氨血症无关^[49]。这一机制对研制乙酰胆碱酯酶抑制剂, 治疗HE发挥重大作用^[50]。

7 结论

HE的发病机制除氨中毒引起脑星形胶质细胞肿胀外, 近年来研究证明炎症反应、神经类固醇、氧化或硝基化应激以及锰中毒等因素也参与HE发病。在众多因素的协同作用下, 导致星形胶质细胞发生肿胀, 使胶质细胞与神经元之间的神经递质传递障碍, 引发HE的神经、精神症状。提示今后在临床治疗HE过程中, 除降低血氨外, 其他减轻炎症反应、抗氧化应激等措施也是重要的治疗方法, 今后随着对HE发病分子机制的研究和阐明, 会开发出更有效的诊断与治疗方法。

8 参考文献

- 1 Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Blei AT. Hepatic encephalopathy--definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World

- 1 Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology* 2002; 35: 716-721
- 2 Shawcross DL, Olde Damink SW, Butterworth RF, Jalan R. Ammonia and hepatic encephalopathy: the more things change, the more they remain the same. *Metab Brain Dis* 2005; 20: 169-179
- 3 Prakash R, Mullen KD. Mechanisms, diagnosis and management of hepatic encephalopathy. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 515-525
- 4 Frederick RT. Current concepts in the pathophysiology and management of hepatic encephalopathy. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2011; 7: 222-233
- 5 Romero-Gómez M, Ramos-Guerrero R, Grande L, de Terán LC, Corpas R, Camacho I, Bautista JD. Intestinal glutaminase activity is increased in liver cirrhosis and correlates with minimal hepatic encephalopathy. *J Hepatol* 2004; 41: 49-54
- 6 Romero-Gómez M, Jover M, Del Campo JA, Royo JL, Hoyas E, Galán JJ, Montoliu C, Baccaro E, Guevara M, Córdoba J, Soriano G, Navarro JM, Martínez-Sierra C, Grande L, Galindo A, Mira E, Mañes S, Ruiz A. Variations in the promoter region of the glutaminase gene and the development of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis: a cohort study. *Ann Intern Med* 2010; 153: 281-288
- 7 Jalan R, Kapoor D. Enhanced renal ammonia excretion following volume expansion in patients with well compensated cirrhosis of the liver. *Gut* 2003; 52: 1041-1045
- 8 Olde Damink SW, Jalan R, Redhead DN, Hayes PC, Deutz NE, Soeters PB. Interorgan ammonia and amino acid metabolism in metabolically stable patients with cirrhosis and a TIPSS. *Hepatology* 2002; 36: 1163-1171
- 9 Cooper AJ, Plum F. Biochemistry and physiology of brain ammonia. *Physiol Rev* 1987; 67: 440-519
- 10 Häussinger D, Schliess F. Pathogenetic mechanisms of hepatic encephalopathy. *Gut* 2008; 57: 1156-1165
- 11 Tanigami H, Rebel A, Martin LJ, Chen TY, Brusilow SW, Traystman RJ, Koehler RC. Effect of glutamine synthetase inhibition on astrocyte swelling and altered astroglial protein expression during hyperammonemia in rats. *Neuroscience* 2005; 131: 437-449
- 12 Rose C, Kresse W, Kettenmann H. Acute insult of ammonia leads to calcium-dependent glutamate release from cultured astrocytes, an effect of pH. *J Biol Chem* 2005; 280: 20937-20944
- 13 Rose C. Effect of ammonia on astrocytic glutamate uptake/release mechanisms. *J Neurochem* 2006; 97 Suppl 1: 11-15
- 14 Häussinger D. Low grade cerebral edema and the pathogenesis of hepatic encephalopathy in cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43: 1187-1190
- 15 Rovira A, Alonso J, Córdoba J. MR imaging findings in hepatic encephalopathy. *AJNR Am J Neuroradiol* 2008; 29: 1612-1621
- 16 Córdoba J, Sanpedro F, Alonso J, Rovira A. 1H magnetic resonance in the study of hepatic encephalopathy in humans. *Metab Brain Dis* 2002; 17: 415-429
- 17 Shawcross DL, Balata S, Olde Damink SW, Hayes PC, Wardlaw J, Marshall I, Deutz NE, Williams R, Jalan R. Low myo-inositol and high glutamine levels in brain are associated with neuropsychological deterioration after induced hyperammonemia. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287:

■应用要点

通过本文可较系统的了解HE的发病机制, 有利于开发新的治疗手段。

■同行评价

该综述较全面地总结了近年来HE的发生机制,内容相对较新、概括较全面,对临床有一定的指导意义。

- G503-G509
- 18 Butterworth RF. Pathophysiology of hepatic encephalopathy: The concept of synergism. *Hepatol Res* 2008; 38: S116-S121
 - 19 Gregorios JB, Mozes LW, Norenberg MD. Morphologic effects of ammonia on primary astrocyte cultures. II. Electron microscopic studies. *J Neuropathol Exp Neurol* 1985; 44: 404-414
 - 20 Norenberg MD, Rama Rao KV, Jayakumar AR. Signaling factors in the mechanism of ammonia neurotoxicity. *Metab Brain Dis* 2009; 24: 103-117
 - 21 Seyan AS, Hughes RD, Shawcross DL. Changing face of hepatic encephalopathy: role of inflammation and oxidative stress. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3347-3357
 - 22 Shawcross D, Jalan R. The pathophysiologic basis of hepatic encephalopathy: central role for ammonia and inflammation. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62: 2295-2304
 - 23 Guarner-Argente C, Sánchez E, Vidal S, Román E, Concepción M, Poca M, Sánchez D, Juárez C, Soriano G, Guarner C. Toll-like receptor 4 D299G polymorphism and the incidence of infections in cirrhotic patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 1192-1199
 - 24 Shawcross DL, Davies NA, Williams R, Jalan R. Systemic inflammatory response exacerbates the neuropsychological effects of induced hyperammonemia in cirrhosis. *J Hepatol* 2004; 40: 247-254
 - 25 Shawcross DL, Wright G, Olde Damink SW, Jalan R. Role of ammonia and inflammation in minimal hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 2007; 22: 125-138
 - 26 Didier N, Romero IA, Créminon C, Wijkhuisen A, Grassi J, Mabondzo A. Secretion of interleukin-1beta by astrocytes mediates endothelin-1 and tumour necrosis factor-alpha effects on human brain microvascular endothelial cell permeability. *J Neurochem* 2003; 86: 246-254
 - 27 Bémour C, Qu H, Desjardins P, Butterworth RF. IL-1 or TNF receptor gene deletion delays onset of encephalopathy and attenuates brain edema in experimental acute liver failure. *Neurochem Int* 2010; 56: 213-215
 - 28 Cagnin A, Taylor-Robinson SD, Forton DM, Banati RB. In vivo imaging of cerebral "peripheral benzodiazepine binding sites" in patients with hepatic encephalopathy. *Gut* 2006; 55: 547-553
 - 29 Ahboucha S, Butterworth RF. The neurosteroid system: implication in the pathophysiology of hepatic encephalopathy. *Neurochem Int* 2008; 52: 575-587
 - 30 Baulieu EE. Neurosteroids: a novel function of the brain. *Psychoneuroendocrinology* 1998; 23: 963-987
 - 31 Papadopoulos V, Baraldi M, Guilarte TR, Knudsen TB, Lacapère JJ, Lindemann P, Norenberg MD, Nutt D, Weizman A, Zhang MR, Gavish M. Translocator protein (18kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function. *Trends Pharmacol Sci* 2006; 27: 402-409
 - 32 Papadopoulos V, Lecanu L, Brown RC, Han Z, Yao ZX. Peripheral-type benzodiazepine receptor in neurosteroid biosynthesis, neuropathology and neurological disorders. *Neuroscience* 2006; 138: 749-756
 - 33 Bélanger M, Desjardins P, Chatauret N, Rose C, Butterworth RF. Mild hypothermia prevents brain edema and attenuates up-regulation of the astrocytic benzodiazepine receptor in experimental acute liver failure. *J Hepatol* 2005; 42: 694-699
 - 34 Ahboucha S, Coyne L, Hirakawa R, Butterworth RF, Halliwell RF. An interaction between benzodiazepines and neuroactive steroids at GABA A receptors in cultured hippocampal neurons. *Neurochem Int* 2006; 48: 703-707
 - 35 Hilgier W, Anderzhanova E, Oja SS, Saransaari P, Albrecht J. Taurine reduces ammonia- and N-methyl-D-aspartate-induced accumulation of cyclic GMP and hydroxyl radicals in microdialysates of the rat striatum. *Eur J Pharmacol* 2003; 468: 21-25
 - 36 Reinehr R, Görg B, Becker S, Quartskhava N, Bidmon HJ, Selbach O, Haas HL, Schliess F, Häussinger D. Hypoosmotic swelling and ammonia increase oxidative stress by NADPH oxidase in cultured astrocytes and vital brain slices. *Glia* 2007; 55: 758-771
 - 37 Albrecht J, Norenberg MD. Glutamine: a Trojan horse in ammonia neurotoxicity. *Hepatol* 2006; 44: 788-794
 - 38 Schliess F, Görg B, Häussinger D. Pathogenetic interplay between osmotic and oxidative stress: the hepatic encephalopathy paradigm. *Biol Chem* 2006; 387: 1363-1370
 - 39 Gunter KK, Aschner M, Miller LM, Eliseev R, Salter J, Anderson K, Gunter TE. Determining the oxidation states of manganese in NT2 cells and cultured astrocytes. *Neurobiol Aging* 2006; 27: 1816-1826
 - 40 Rama Rao KV, Reddy PV, Hazell AS, Norenberg MD. Manganese induces cell swelling in cultured astrocytes. *Neurotoxicology* 2007; 28: 807-812
 - 41 Talwalkar JA, Kamath PS. Influence of recent advances in medical management on clinical outcomes of cirrhosis. *Mayo Clin Proc* 2005; 80: 1501-1508
 - 42 Mullen KD, Jones EA. Natural benzodiazepines and hepatic encephalopathy. *Semin Liver Dis* 1996; 16: 255-264
 - 43 Mullen KD, Cole M, Foley JM. Neurological deficits in "awake" cirrhotic patients on hepatic encephalopathy treatment: missed metabolic or metal disorder? *Gastroenterology* 1996; 111: 256-257
 - 44 Rose C, Butterworth RF, Zayed J, Normandin L, Todd K, Michalak A, Spahr L, Huet PM, Pomier-Layrargues G. Manganese deposition in basal ganglia structures results from both portal-systemic shunting and liver dysfunction. *Gastroenterology* 1999; 117: 640-644
 - 45 Naegele T, Grodd W, Viebahn R, Seeger U, Klose U, Seitz D, Kaiser S, Mader I, Mayer J, Lauchart W, Gregor M, Voigt K. MR imaging and (1)H spectroscopy of brain metabolites in hepatic encephalopathy: time-course of renormalization after liver transplantation. *Radiology* 2000; 216: 683-691
 - 46 Krieger D, Krieger S, Jansen O, Gass P, Theilmann L, Lichtnecker H. Manganese and chronic hepatic encephalopathy. *Lancet* 1995; 346: 270-274
 - 47 Baraldi M, Avallone R, Corsi L, Venturini I, Baraldi C, Zeneroli ML. Natural endogenous ligands for benzodiazepine receptors in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 2009; 24: 81-93
 - 48 Riggio O, Mannaioni G, Ridola L, Angeloni S, Merli M, Carlà V, Salvatori FM, Moroni F. Peripheral and splanchnic indole and oxindole levels in cirrhotic patients: a study on the pathophysiology of hepatic encephalopathy. *Am J Gastroenterol* 2010; 105:

- 1374-1381
- 49 Méndez M, Méndez-López M, López L, Aller MA, Arias J, Arias JL. Acetylcholinesterase activity in an experimental rat model of Type C hepatic encephalopathy. *Acta Histochem* 2011; 113: 358-362
- 50 Basu P, Shah NJ, Krishnaswamy N, Hampole H, Pacana T, Rayapudi K, Brown Jr. Transdermal rivastigmine for treatment of encephalopathy in liver cirrhosis-a randomized placebo controlled trial (TREC TRIAL). *J Hepatology* 2010; 52(supp 1): S67-S68

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

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

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

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

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

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

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-18)

LPL、GPIHBP1、apoA-V 突变在高脂血症性急性胰腺炎发病中的作用

陈亚辉, 陈 垦, 杨元生, 谢文瑞, 杜政委, 王 晖

■背景资料

高脂血症性急性胰腺炎(HLAP)近年来发病率逐渐上升, 复发率及死亡率高, 其发病机制却尚未完全阐明. 针对该病的发病机制的研究有不同进展, 这有利于加深对该病的了解与认识, 对今后HLAP的防治提供了理论基础和实践依据.

陈亚辉, 陈垦, 杜政委, 广东药学院临床学院内科学教研室 广东省广州市 510310
杨元生, 广东药学院附属新海医院消化内科 广东省广州市 510310
谢文瑞, 广东药学院附属第一医院消化内科 广东省广州市 510600
王晖, 广东药学院中药学院药理学教研室 广东省广州市 510006
陈亚辉, 在读硕士, 主要从事急性胰腺炎的发病机制及治疗研究. 广东省科学事业计划基金资助项目, No. 2007B031405004 广州市科学技术基金资助项目, No. 2007-Z3-E5011 广东省自然科学基金资助项目, No. 8151022401000012
作者贡献分布: 本综述由陈亚辉完成; 由陈垦、杨元生、谢文瑞、杜政委及王晖审核.
通讯作者: 陈垦, 主任医师, 510310, 广东省广州市海珠区赤岗南华大街68号, 广东药学院临床医学院内科学教研室. chenkenck@126.com
电话: 020-3405585
收稿日期: 2012-05-31 修回日期: 2012-07-05
接受日期: 2012-08-07 在线出版日期: 2012-09-08

Advances in understanding the role of gene mutations in the pathogenesis of hyperlipidemic acute pancreatitis

Ya-Hui Chen, Ken Chen, Yuan-Sheng Yang, Wen-Rui Xie, Zheng-Wei Du, Hui Wang

Ya-Hui Chen, Ken Chen, Zheng-Wei Du, Department of Internal Medicine, College of Clinical Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, Guangdong Province, China

Yuan-Sheng Yang, Department of Gastroenterology, Affiliated Xinhai Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, Guangdong Province, China
Wen-Rui Xie, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510600, Guangdong Province, China
Hui Wang, Department of Pharmacology, College of Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

Supported by: the Scientific Research Program of Guangdong Province, No. 2007B031405004; the Science and Technology Foundation of Guangzhou, No. 2007-Z3-E5011; and the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 8151022401000012

Correspondence to: Ken Chen, Chief Physician, Department of Internal Medicine, College of Clinical Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, 68 Nanhua Road, Haizhu District, Guangzhou 510310, Guangdong Province, China. chenkenck@126.com

Received: 2012-05-31 Revised: 2012-07-05
Accepted: 2012-08-07 Published online: 2012-09-08

■同行评议者

李淑德, 教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

Abstract

Acute pancreatitis (AP) is a common disorder that manifests as acute abdomen and has an extremely high mortality rate. At present, the pathogenesis of AP has become a hot topic of research but has not been completely clarified yet. The relationship between hyperlipidemia (HL) and AP has attracted wide attention. Gene mutations, especially mutations in the lipoprotein lipase (LPL), glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein-binding protein 1 (GPIHBP1) and apolipoprotein A-V (apoA-V) genes, are closely associated with the pathogenesis of HL and recurrent pancreatitis. In this article, we will review the recent progress in understanding the role of gene mutations in the pathogenesis of hyperlipidemic AP (HLAP).

Key Words: Lipoprotein lipase; Glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein-binding protein 1; Apolipoprotein A-V; Acute pancreatitis; Pathogenesis

Chen YH, Chen K, Yang YS, Xie WR, Du ZW, Wang H. Advances in understanding the role of gene mutation in the pathogenesis of hyperlipidemic acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(23): 2364-2369

摘要

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是常见的一种急腹症, 死亡率极高, 其病因及发病机制尚未完全明确, 是目前研究的热点. 其中, 高脂血症(hyperlipidemia, HL)与AP关系的研究越来越受到重视, 而基因突变尤其是脂蛋白脂肪酶(lipoprotein lipase, LPL)、甘油磷酸肌醇锚定高密度脂蛋白结合蛋白1(glycosylphosphatidylinositol high density lipoprotein-binding protein 1, GPIHBP1)及载脂蛋白A-V (apolipoprotein A-V, apoA-V)的基因突变对HL特别是高乳糜微粒血症及随之发生的复发性胰腺炎的影响最为显著. 本文就这3个蛋白的相关基因突变在高脂血症性胰腺炎发病中的作用研究进展作一综述.

关键词: 脂蛋白脂肪酶; 甘油磷酸肌醇锚定高密度

脂蛋白结合蛋白1; 载脂蛋白A-V; 高脂血症性胰腺炎; 发病机制

陈亚辉, 陈垦, 杨元生, 谢文瑞, 杜政委, 王晖. LPL、GPIIb/IIIa、apoA-V 突变在高脂血症性急性胰腺炎发病中的作用. 世界华人消化杂志 2012; 20(25): 2364-2369
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2364.asp>

0 引言

高脂血症(hyperlipidemia, HL)是急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)病因中较少见的一种, 约占1%-4%^[1], 但在妊娠期AP却占了56%^[2]. 随着人们生活水平提高及饮食结构变化, HL也越来越普遍, 其与AP的关系也备受关注. 越来越多研究提示HL与AP的关系密不可分, 国内外学者普遍认为高甘油三酯血症导致AP的可能机制包括游离脂肪酸对胰腺的毒性作用, 使胰腺微循环障碍, 氧化与抗氧化作用失衡等, 而基因突变对高脂血症性胰腺炎(hyperlipidemic acute pancreatitis, HLAP)的作用也越来越突出. 基因突变使脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)、甘油磷酸肌醇锚定高密度脂蛋白结合蛋白1(glycosylphosphatidylinositol high density lipoprotein-binding protein 1, GPIIb/IIIa)、载脂蛋白A-V (apolipoprotein A-V, apoA-V)在甘油三酯(triglyceride, TG)及乳糜微粒的代谢中的作用受损, 导致严重高TG血症及高乳糜微粒血症, 使胰腺炎等相关疾病反复发生. 因此, 如能明确各突变基因的具体位置, 并采用基因替代方法治疗HLAP, 则可能从根本上控制病情, 使机体恢复正常.

1 高脂血症与急性胰腺炎的关系

自从1865年Speck报道HL与AP的关系后, 学者对此进行了深入研究. HL的病因分原发和继发两类, 前者属于脂代谢遗传性疾病, 根据Frederickson分型, 将其分为I、II、III、IV、V型, 其中I、V型与HLAP密切相关^[3]. I型HL又称家族性乳糜微粒血症综合征(familial chylomicronemia syndrome, FCS), 他是一种因家族遗传的LPL或载脂蛋白C-II缺陷或由LPL抑制剂所致的一种脂蛋白代谢障碍性疾病. V型HL与外界环境因素密切相关, 如2型糖尿病^[1]、肥胖^[4]、妊娠^[5]、酒精中毒^[4,5]、雌激素^[1,6]等均可导致HL. 这两类HL都以血清TG显著升高为特点, 可增加AP发病率^[5,6]. FCS是高TG血症最显著的例子, 几乎所有空腹TG水平超过1 000 mg/dL(11.36 mmol/L)的患者都患有FCS^[7], 而FCS最显著的表

现是AP, 故HLAP又称高甘油三酯血症性胰腺炎(hypertriglyceridemic pancreatitis, HTGP). 一方面, 由于循环中过量的富含TG的脂蛋白被水解成游离脂肪酸并释放入胰腺血管床内导致过量的游离脂肪酸聚集在胰腺腺泡内, 抑制线粒体的功能从而导致ATP生成减少, 损伤胰腺细胞及毛细血管内皮细胞^[8]; 另一方面, 循环中TG水解产生大量乳糜微粒, 后者使血液黏度增加并堵塞胰腺毛细血管, 使胰腺毛细血管缺血和酸中毒. 大量聚集的乳糜微粒使乳酸脱氢酶外漏, 导致细胞损伤. 血管内的高TG促使内皮细胞激活, 白细胞黏附, 通过脂质沉淀和代谢紊乱导致内皮依赖性血管舒张障碍^[9-11]. 这些变化致使胰腺微循环障碍, 胰岛内血流减少, 胰腺内皮细胞、腺泡细胞及胰岛细胞功能受损, 导致AP发生^[12].

2 LPL、GPIIb/IIIa、ApoA-V 在HTGP发病中的作用

2.1 LPL基因缺陷与HTGP I型HL属于常染色体隐性遗传病, 以循环中大量含TG的脂蛋白聚集为特点, 而高TG作为一个独立的危险因子, 可导致复发性胰腺炎、疹性黄色瘤、肝脾肿大、视网膜脂血症等. LPL是水解TG的关键酶, 该酶出现障碍可使血清乳糜微粒及富含TG的脂蛋白聚集, 临床表现为乳糜微粒血症, 血清TG升高. 在重症高甘油三酯血症患者中, 当LPL活性低于正常的5%时, 其胰腺炎的发生比正常高360倍^[13]. LPL基因位于第8号染色体p22上, 约30 kb, 有10个外显子, 编码包括27个氨基酸信号肽在内的475个氨基酸蛋白^[14]. LPL基因缺陷是I型HL发生的主要原因, 可导致重症HTGP的发生^[15]. Chang等^[16]通过变性高效液相色谱和高分辨率融化分析方法对134例HL患者的LPL基因分析发现, HTGP的患者LPL的变异频率较正常对照组明显高, 其变异的基因主要集中在LPL基因外显子5的V181I位点、外显子6的L252V位点及外显子9的S447X位点上, 所有突变都以杂合子的状态存在. 其中, 3例L252V位点突变患者中仅有1例发生了AP, 相比之下, LPL基因外显子9上的S447X位点的突变发生在大部分(77.8%)HTGP患者的身上. 这表示, 在HTGP患者中, S447X位点的突变比L252V更常见. S447X是LPL基因外显子9上的多态性位点, 位于第8号染色体p22上, 他是由一个终止密码子替代了丝氨酸所致的错义突变^[17]. 这一位点的突变很可能是导致HTGP的根本原因之一. 2006年, Ross等^[18]将腺病毒介导的LPLS447X基因注入LPL基因缺陷大鼠和猫

■**研究前沿**
国内外学者普遍认为高甘油三酯血症导致AP的可能机制包括游离脂肪酸对胰腺的毒性作用, 使胰腺微循环障碍, 氧化与抗氧化作用失衡等, 而基因突变对HLAP的作用也越来越突出.

■应用要点

明确何种基因突变在HLAP中发挥作用对临床上用基因替代疗法治疗该病具有重大的意义,并为后续的科研提供了方向和思路.

的肌肉组织中发现LPL缺陷的大鼠和猫血TG水平得到了明显改善. 随后, Stroes等^[19]亦在一次3 mo的开放标签临床研究试验中, 分别给两组各4例LPL缺乏的患者腿部肌肉注射剂量为 1×10^{11} /kg及 3×10^{11} /kg LPLS447X基因, 12 wk后测他们TG水平, 结果较治疗前分别降低了27%及41%, 且无任何不良反应出现. 26-36 wk后, 在患者肌肉匀浆中可检测出有活性的LPL蛋白. 这一试验间接表明LPL的S447X位点的突变在HTGP中扮演重要角色, 该研究为AAV-1介导的基因治疗在人类疾病治疗中提供了初步证据, 同时也给人们在针对LPL基因缺陷的HTGP的治疗方面提供了新的靶点.

2.2 GPIHBP1基因突变与HTGP LPL介导脂蛋白的水解主要发生在骨骼、心肌及脂肪组织的毛细血管表面^[20]. 而毛细血管内皮细胞并不能直接表达LPL, 他由实质细胞、心肌细胞及脂肪细胞产生并分泌到周围间隙. GPIHBP1则是一种输送LPL并使其黏附和固定在毛细血管内皮细胞基底表面的糖蛋白, 他是一个新的内皮细胞LPL结合位点, 对LPL的活性及稳定性起重要作用. 人类GPIHBP1位于第8号染色体长臂远端, 编码184个氨基酸蛋白, 包括3个区域: N末端高度酸性区(Ly6), C末端结合区^[21]. GPIHBP1的N末端Ly6区基因突变会影响其余LPL及乳糜微粒的结合^[22]. GPIHBP1基因突变可导致其与心肌、骨骼肌及脂肪组织毛细血管内LPL结合能力丧失, 从而引起乳糜微粒和低密度脂蛋白大量聚集. 近来, 有学者在对重症乳糜微粒血症伴复发性胰腺炎患者的研究中发现了4个GPIHBP1基因的错义突变, 他们分别是Q115P^[23]、C65Y^[24]、C65S^[25]及C68G^[26], 这4个基因突变均涉及GPIHBP1 Ly6区域高度保守的半胱氨酸残基. Beigneux等^[23]通过对120例HL患者研究发现, GPIHBP1蛋白基因Q115P突变患者血清LPL的水平较正常低, 且予静脉注入肝素后LPL升高的量也很低, 但LPL活性正常. 同时, 有体外细胞培养研究也显示, Q115P突变虽能使GPIHBP1到达细胞表面, 但与LPL结合能力很弱, 其结合力小于野生型GPIHBP1的5%, 这一体外研究特别支持Q115P突变导致患者HL的观点. Franssen等^[24]认为, GPIHBP1的Ly6区域是由8或10个以特定的间距排列的半胱氨酸组成, 这些半胱氨酸相互之间形成二硫键, 后者又共同构成一个三指结构基序. 他们发现, GPIHBP1基因C65Y纯合子错义突变使Ly6域高度保守的半胱氨酸残基被

酪氨酸取代, 导致半胱氨酸之间的二硫键断裂并进一步使三指结构破坏, 最终影响GPIHBP1蛋白的结构和功能. 通过转染的CHO细胞显示, GPIHBP1-C65Y能到达细胞表面但却失去了结合LPL的能力, 予一定剂量的肝素后也只有微量LPL进入血清. 此外, Coca-Prieto等^[26]也通过对5例儿童乳糜微粒综合征患者的基因检测发现, 其中1例患者出现了GPIHBP1第68位密码子(C68G)错义突变, 之后对这2例GPIHBP1缺陷的患者静脉注射肝素后, 其循环中LPL水平仍未上升. 上述这些研究表明, 伴有GPIHBP1障碍的乳糜微粒血症者, 其组织中LPL活性并未发生改变, 而是由于GPIHBP1失去结合LPL的能力, 使后者无法被转运至毛细血管管腔表面致其无法水解血清中富含TG的乳糜微粒, 影响TG等脂质的代谢.

2.3 ApoA-V基因突变与HTGP ApoA-V是2001年人类首次通过小鼠和人类比较基因组测序而被发现的^[27]. 他位于染色体11q23上, 属于apoA1-C3-A4基因族, 成熟的apoA-V包含343个氨基酸残基, 在无脂类存在时, apoA-V的N末端1-146氨基酸残基形成一个螺旋束, 该螺旋结构具有亲水性^[28]. Wong-Mauldin等^[29]证明了1-146氨基酸残基片段能结合脂蛋白. 人类和小鼠的apoA-V是一个能有效降低血清TG水平的因子, Pennacchio等^[27]在小鼠实验中发现, 通过转基因或腺病毒表达的apoA-V能明显降低血清TG, 并由此推测apoA-V加速TG水解的机制可能是: apoA-V增加LPL在内皮细胞结合位点的聚集, 刺激LPL介导水解或改变调节LPL的载脂蛋白的作用. 而在人类这一机制还未明确, 他可能与各种遗传及环境等因素密切相关. 但众多研究显示^[30,31], 人类apoA-V基因突变会使血清TG升高, 该基因突变与重症高TG血症密切相关^[32]. 由于apoA-V通过某种细胞机制影响LPL的合成和分泌, 从而加快富含TG的脂蛋白水解, 当编码该蛋白的基因发生突变时, 这一作用受阻, 导致重症高TG血症的发生. 2005年有报道2例apoA-V基因缺陷的患者出现了重症乳糜微粒血症并伴有反复发作的HTGP^[33]. 常见的apoA-V突变的基因有Q145X、Q139X、Q97X, 当这些基因发生变异时, 易导致乳糜微粒血症, 而apoA-V较罕见的等位基因S19W的出现也能提高胰腺炎发生的几率^[34]. 在体外, 有研究显示apoA-V与GPIHBP1之间存在一种紧密连接, 即apoA-V带正电荷的肝素结合序列与GPIHBP1的酸性区相

互连接, 这种连接作用有利于促进LPL介导乳糜微粒中的TG的分解. 当apoA-V的带正电荷序列原件发生变异时, 这种连接则会丧失^[35]. 不难推测, GPIHBP1二聚体表面有一种高密度负电荷, 他能识别LPL及apoA-V, 从而促进乳糜微粒有效脂解. 近来, 有研究显示, apoA-V的降脂作用依赖GPIHBP1的参与. 该研究通过对apoA-V基因敲除小鼠静脉注射重组apoA-V后发现, TG水平4 h内降低了60%, 但对apoA-V及GPIHBP1这两个基因同时敲除的小鼠则无效. 同样的方法, 将apoA-V静脉注入*gpihbp1(-/-)*小鼠, 结果显示注入的apoA-V无法降低血清TG水平. 这些说明GPIHBP1与apoA-V之间的协调对血清TG的水解作用有重要的影响^[36]. Vaessen等^[37]学者检测*lpI^{-/-}*小鼠的血清TG及apoA-V水平后发现, 这两者的水平同时升高, 而将LPL基因转入LPL基因缺陷的小鼠, 结果导致TG和apoA-V同时降低. 因此可推测, 水解富含TG的脂蛋白需将转运至乳糜微粒和极低密度脂蛋白上的apoA-V适当地清除, 并及时得到新的补充. 体内外研究都表明, apoA-V能有效加速血浆TG的水解, apoA-V基因突变会导致重症高TG血症及复发性AP的发生, 然而, apoA-V促使TG水解加快的确切机制仍不明确, 他可能与LPL、GPIHBP1等之间有着密切的关系, 或许apoA-V的迁移和再利用与脂蛋白或脂蛋白与LPL作用位点之间的交换存在复杂的关系, 还有待更深的研究.

2.4 其他 除了上述3个基因突变外, 脂肪酶成熟因子1(lipase maturation factor 1, LMF1)、载脂蛋白E(apolipoprotein E, apoE)基因突变或多态性对HTGP的影响也备受关注. 人类LMF1基因位于第16号染色体p13.3上, 编码567个氨基酸, LMF1是内质网内的伴侣分子, 含有5个跨膜结构域及1个保守的C-末端结构域, 他参与了内质网中LPL及肝脂肪酶的成熟过程. LMF1基因突变与重症高TG血症发生密切相关, 主要包括Y439X、W464X这两个基因的无义突变可直接使LPL的活性及含量减少甚至缺乏, 最终导致高TG血症及复发性胰腺炎等疾病的发生^[38,39]. 此外, $\epsilon 2$ 和 $\epsilon 4$ 是apoE的一对等位基因, 有研究称他们的多态性与妊娠期高TG性胰腺炎及高餐后血脂水平的发生也有关^[40,41].

3 基因突变与HTGP的治疗

目前对高TG血症性AP治疗主要采用控制饮食, 肝素^[42]和/或胰岛素^[43]、贝特类药^[44]、烟酸^[45]、

ω -3游离脂肪酸^[46]等药物治疗及血浆交换^[47]等方法, 但在多数HTGP患者这些方法无法阻止AP的发展. 而基因治疗的研究相对较少, 基因替代疗法是目前研究的热点, 包括LPL替代、apoA-V基因替代治疗等. 如前文所述, 国外学者^[16,17]将携带LPLS447X基因的腺相关病毒直接注射局部肌肉在动物实验和临床试验中取得了较好的效果. 2006年, 也有研究者^[48]用腺相关病毒转运人的apoA-V基因载入apoE基因缺陷的患者体内使之过表达, 结果血清TG及胆固醇都显著下降. 由此猜测, 是否可以将检测出已知GPIHBP1及apoA-V的突变基因敲除并用腺相关病毒载体转运的方法注入重组的正确基因, 从而使GPIHBP1及apoA-V有效表达, 缓解血清TG的升高, 最终阻止AP的发展及复发. 尽管基因替代治疗在遗传性HLAP取得了一定的成果, 但在AAV载体使用的剂量上还不肯定, 高剂量的载体可被外周血中早期出现的衣壳特异性T细胞标记. 有学者在使用 3×10^{11} vg/kg AAV载体时, T细胞会被免疫抑制阻止, 而剂量递增至 1×10^{12} vg/kg时, 外周血被检测出大量的衣壳T细胞^[49], 这表示AAV载体衣壳所致的特异性T细胞免疫反应可能具有剂量依赖性, 还需更多动物模型实验的研究, 以明确最佳剂量.

4 结论

毋庸置疑, 随着对HLAP研究的深入, 从以往的游离脂肪酸学说, 胰腺炎微循环障碍, 炎症因子的作用等形态学研究到近年基因突变的研究, 使人们认识了导致HTGP发病的根本原因, 也对I型HL所致的AP治疗提供了新的靶点. 与以往治疗方法相比, 基因治疗从根本上解决了导致高TG血症的问题, 或许将成为控制重症高甘油三脂血症的长期有效治疗方法. 然而, 基因治疗的方法尚未成熟, 还存在许多不足, 如AAV介导的基因治疗可能会导致AAV载体衣壳特异性T细胞激活, 从而发生相关的免疫反应, 而这种免疫反应是否会阻止或缩短LPL的长期表达还未知, 以及是否应在治疗期给予免疫抑制剂等还有待明确, 需深入研究. 再者, 是否可在基因替代治疗的基础上, 进一步对HLAP突变序列基因组进行编辑以避免插入突变所致的相关问题, 还需更进一步研究.

5 参考文献

- 1 Tsuang W, Navaneethan U, Ruiz L, Palascak JB, Gelrud A. Hypertriglyceridemic pancreatitis: presentation and management. *Am J Gastroenterol* 2009;

■创新盘点

本文从基因突变的角度综述了HLAP发病机制的相关进展, 着重探讨了LPL、GPIHBP1和apoA-V 3个蛋白相关基因突变在该病中的作用, 深层次地阐述了导致该病发生的根本原因, 强调了基因突变在导致该病发生发展的重要性.

■同行评价

本文阐述了基因突变对HLAP发病的作用,对研究该病发病的分子机制及治疗有很大的帮助,具有重要的临床意义。

- 104: 984-991
- 2 Kayataş SE, Eser M, Cam C, Cogendez E, Guzin K. Acute pancreatitis associated with hypertriglyceridemia: a life-threatening complication. *Arch Gynecol Obstet* 2010; 281: 427-429
 - 3 Fredrickson DS, Lees RS. A System For Phenotyping Hyperlipoproteinemia. *Circulation* 1965; 31: 321-327
 - 4 Kota SK, Kota SK, Jammula S, Krishna SV, Modi KD. Hypertriglyceridemia-induced recurrent acute pancreatitis: A case-based review. *Indian J Endocrinol Metab* 2012; 16: 141-143
 - 5 Sivakumaran P, Tabak SW, Gregory K, Pepkowitz SH, Klapper EB. Management of familial hypertriglyceridemia during pregnancy with plasma exchange. *J Clin Apher* 2009; 24: 42-46
 - 6 Lee J, Goldberg IJ. Hypertriglyceridemia-induced pancreatitis created by oral estrogen and in vitro fertilization ovulation induction. *J Clin Lipidol* 2008; 2: 63-66
 - 7 Labossiere R, Goldberg IJ. "Management of Hypertriglyceridemia," in *Therapeutic Lipidology*. USA NJ: Humana Press, 2008: 201-220
 - 8 Petersen OH, Tepikin AV, Gerasimenko JV, Gerasimenko OV, Sutton R, Criddle DN. Fatty acids, alcohol and fatty acid ethyl esters: toxic Ca²⁺ signal generation and pancreatitis. *Cell Calcium* 2009; 45: 634-642
 - 9 Popov D, Simionescu M, Shepherd PR. Saturated-fat diet induces moderate diabetes and severe glomerulosclerosis in hamsters. *Diabetologia* 2003; 46: 1408-1418
 - 10 林志辉, 黄胡萍. 脂质过氧化损伤对高脂血症大鼠重症急性胰腺炎的作用及机制. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2561-2565
 - 11 吴婷, 王昭智. 一氧化氮在伴高脂血症急性出血坏死性胰腺炎大鼠胰腺及肾损害中的作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1022-1027
 - 12 Stokes KY, Granger DN. The microcirculation: a motor for the systemic inflammatory response and large vessel disease induced by hypercholesterolaemia? *J Physiol* 2005; 562: 647-653
 - 13 Chait A, Brunzell JD. Chylomicronemia syndrome. *Adv Intern Med* 1992; 37: 249-273
 - 14 Deeb SS, Peng RL. Structure of the human lipoprotein lipase gene. *Biochemistry* 1989; 28: 4131-4135
 - 15 Bartha I, Dinya T, Seres I, Paragh G, Ross C, Hayden MR, Biró S, Vargha G. Acute hypertriglyceridemic pancreatitis during pregnancy due to homozygous lipoprotein lipase gene mutation. *Clin Chim Acta* 2009; 400: 137-138
 - 16 Chang YT, Chang MC, Su TC, Liang PC, Su YN, Kuo CH, Wei SC, Wong JM. Lipoprotein lipase mutation S447X associated with pancreatic calcification and steatorrhea in hyperlipidemic pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 591-596
 - 17 Salah A, Khan M, Esmail N, Habibullah S, Al Lahham Y. Genetic polymorphism of S447X lipoprotein lipase (LPL) and the susceptibility to hypertension. *J Crit Care* 2009; 24: e11-e14
 - 18 Ross CJ, Twisk J, Bakker AC, Miao F, Verbart D, Rip J, Godbey T, Dijkhuizen P, Hermens WT, Kastelein JJ, Kuivenhoven JA, Meulenberg JM, Hayden MR. Correction of feline lipoprotein lipase deficiency with adeno-associated virus serotype 1-mediated gene transfer of the lipoprotein lipase S447X beneficial mutation. *Hum Gene Ther* 2006; 17: 487-499
 - 19 Stroes ES, Nierman MC, Meulenberg JJ, Franssen R, Twisk J, Henny CP, Maas MM, Zwinderman AH, Ross C, Aronica E, High KA, Levi MM, Hayden MR, Kastelein JJ, Kuivenhoven JA. Intramuscular administration of AAV1-lipoprotein lipase S447X lowers triglycerides in lipoprotein lipase-deficient patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 2303-2304
 - 20 Wang H, Eckel RH. Lipoprotein lipase: from gene to obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 297: E271-E288
 - 21 Beigneux AP, Gin P, Davies BS, Weinstein MM, Bensadoun A, Fong LG, Young SG. Highly conserved cysteines within the Ly6 domain of GPIIIBP1 are crucial for the binding of lipoprotein lipase. *J Biol Chem* 2009; 284: 30240-30247
 - 22 Beigneux AP, Gin P, Davies BS, Weinstein MM, Bensadoun A, Ryan RO, Fong LG, Young SG. Glycosylation of Asn-76 in mouse GPIIIBP1 is critical for its appearance on the cell surface and the binding of chylomicrons and lipoprotein lipase. *J Lipid Res* 2008; 49: 1312-1321
 - 23 Beigneux AP, Franssen R, Bensadoun A, Gin P, Melford K, Peter J, Walzem RL, Weinstein MM, Davies BS, Kuivenhoven JA, Kastelein JJ, Fong LG, Dallinga-Thie GM, Young SG. Chylomicronemia with a mutant GPIIIBP1 (Q115P) that cannot bind lipoprotein lipase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 956-962
 - 24 Franssen R, Young SG, Peelman F, Hertecant J, Sierts JA, Schimmel AW, Bensadoun A, Kastelein JJ, Fong LG, Dallinga-Thie GM, Beigneux AP. Chylomicronemia with low postheparin lipoprotein lipase levels in the setting of GPIIIBP1 defects. *Circ Cardiovasc Genet* 2010; 3: 169-178
 - 25 Olivecrona G, Ehrenborg E, Semb H, Makoveichuk E, Lindberg A, Hayden MR, Gin P, Davies BS, Weinstein MM, Fong LG, Beigneux AP, Young SG, Olivecrona T, Hernell O. Mutation of conserved cysteines in the Ly6 domain of GPIIIBP1 in familial chylomicronemia. *J Lipid Res* 2010; 51: 1535-1545
 - 26 Coca-Prieto I, Valdivielso P, Olivecrona G, Ariza MJ, Rioja J, Font-Ugalde P, García-Arias C, González-Santos P. Lipoprotein lipase activity and mass, apolipoprotein C-II mass and polymorphisms of apolipoproteins E and A5 in subjects with prior acute hypertriglyceridaemic pancreatitis. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 46
 - 27 Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, Cohen JC, Cox DR, Fruchart JC, Krauss RM, Rubin EM. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science* 2001; 294: 169-173
 - 28 Wong K, Beckstead JA, Lee D, Weers PM, Guigard E, Kay CM, Ryan RO. The N-terminus of apolipoprotein A-V adopts a helix bundle molecular architecture. *Biochemistry* 2008; 47: 8768-8774
 - 29 Wong-Mauldin K, Raussens V, Forte TM, Ryan RO. Apolipoprotein A-V N-terminal domain lipid interaction properties in vitro explain the hypertriglyceridemic phenotype associated with natural truncation mutants. *J Biol Chem* 2009; 284: 33369-33376
 - 30 Zhao T, Zhao J. Association of the apolipoprotein A5 gene -1131 T& gt; C polymorphism with fasting blood lipids: a meta-analysis in 37859 subjects. *BMC Med Genet* 2010; 11: 120
 - 31 Johansen CT, Wang J, Lanktree MB, Cao H, McIntyre AD, Ban MR, Martins RA, Kennedy BA, Hassell RG, Visser ME, Schwartz SM, Voight BF, Elosua R, Salomaa V, O'Donnell CJ, Dallinga-Thie GM,

- Anand SS, Yusuf S, Huff MW, Kathiresan S, Hegele RA. Excess of rare variants in genes identified by genome-wide association study of hypertriglyceridemia. *Nat Genet* 2010; 42: 684-687
- 32 Kluger M, Heeren J, Merkel M. Apoprotein A-V: An important regulator of triglyceride metabolism. *J Inherit Metab Dis* 2008 Apr 14. [Epub ahead of print]
- 33 Priore Oliva C, Pisciotto L, Li Volti G, Sambataro MP, Cantafora A, Bellocchio A, Catapano A, Tarugi P, Bertolini S, Calandra S. Inherited apolipoprotein A-V deficiency in severe hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 411-417
- 34 Henneman P, Schaap FG, Havekes LM, Rensen PC, Frants RR, van Tol A, Hattori H, Smelt AH, van Dijk KW. Plasma apoAV levels are markedly elevated in severe hypertriglyceridemia and positively correlated with the APOA5 S19W polymorphism. *Atherosclerosis* 2007; 193: 129-134
- 35 Gin P, Yin L, Davies BS, Weinstein MM, Ryan RO, Bensadoun A, Fong LG, Young SG, Beigneux AP. The acidic domain of GPIHBP1 is important for the binding of lipoprotein lipase and chylomicrons. *J Biol Chem* 2008; 283: 29554-29562
- 36 Shu X, Nelbach L, Weinstein MM, Burgess BL, Beckstead JA, Young SG, Ryan RO, Forte TM. Intravenous injection of apolipoprotein A-V reconstituted high-density lipoprotein decreases hypertriglyceridemia in apoav-/- mice and requires glycosylphosphatidylinositol-anchored high-density lipoprotein-binding protein 1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 2504-2509
- 37 Vaessen SF, Dallinga-Thie GM, Ross CJ, Splint LJ, Castellani LW, Rensen PC, Hayden MR, Schaap FG, Kuivenhoven JA. Plasma apolipoprotein AV levels in mice are positively associated with plasma triglyceride levels. *J Lipid Res* 2009; 50: 880-884
- 38 Péterfy M, Ben-Zeev O, Mao HZ, Weissglas-Volkov D, Aouizerat BE, Pullinger CR, Frost PH, Kane JP, Malloy MJ, Reue K, Pajukanta P, Doolittle MH. Mutations in LMF1 cause combined lipase deficiency and severe hypertriglyceridemia. *Nat Genet* 2007; 39: 1483-1487
- 39 Cefalù AB, Noto D, Arpi ML, Yin F, Spina R, Hilden H, Barbagallo CM, Carroccio A, Tarugi P, Squatrito S, Vigneri R, Taskinen MR, Péterfy M, Averna MR. Novel LMF1 nonsense mutation in a patient with severe hypertriglyceridemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 4584-4590
- 40 Cardona F, Morcillo S, Gonzalo-Marin M, Tina-hones FJ. The apolipoprotein E genotype predicts postprandial hypertriglyceridemia in patients with the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2972-2975
- 41 Dergunov AD. Apolipoprotein E genotype as a most significant predictor of lipid response at lipid-lowering therapy: mechanistic and clinical studies. *Biomed Pharmacother* 2011; 65: 597-603
- 42 王湘英, 卢义展, 张文兴, 骆永富, 王强. 低分子肝素对伴高脂血症急性坏死性胰腺炎大鼠PAF、ET-1/NO的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 856-860
- 43 Twilla JD, Mancell J. Hypertriglyceridemia-induced acute pancreatitis treated with insulin and heparin. *Am J Health Syst Pharm* 2012; 69: 213-216
- 44 Sandhu S, Al-Sarraf A, Taraboanta C, Frohlich J, Francis GA. Incidence of pancreatitis, secondary causes, and treatment of patients referred to a specialty lipid clinic with severe hypertriglyceridemia: a retrospective cohort study. *Lipids Health Dis* 2011; 10: 157
- 45 Poonuru S, Pathak SR, Vats HS, Pathak RD. Rapid reduction of severely elevated serum triglycerides with insulin infusion, gemfibrozil and niacin. *Clin Med Res* 2011; 9: 38-41
- 46 Takaishi K, Miyoshi J, Matsumura T, Honda R, Ohba T, Katabuchi H. Hypertriglyceridemic acute pancreatitis during pregnancy: prevention with diet therapy and omega-3 fatty acids in the following pregnancy. *Nutrition* 2009; 25: 1094-1097
- 47 Stefanutti C, Di Giacomo S, Labbadia G. Timing clinical events in the treatment of pancreatitis and hypertriglyceridemia with therapeutic plasmapheresis. *Transfus Apher Sci* 2011; 45: 3-7
- 48 Huang W, Bi N, Zhang X, Wang Y, Chen B, Liu G. Overexpression of apolipoprotein AV in the liver reduces plasma triglyceride and cholesterol but not HDL in ApoE deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 346: 14-18
- 49 Mingozzi F, Meulenberg JJ, Hui DJ, Basner-Tschakarjan E, Hasbrouck NC, Edmonson SA, Hutnick NA, Betts MR, Kastelein JJ, Stroes ES, High KA. AAV-1-mediated gene transfer to skeletal muscle in humans results in dose-dependent activation of capsid-specific T cells. *Blood* 2009; 114: 2077-2086

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012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)

晚期胰腺癌内科治疗的研究进展

赵亚东, 杨金坤, 赵爱光

■背景资料

由于胰腺癌起病隐匿, 早期无特异性症状, 临床确诊时已达晚期, 失去手术根治的机会, 探寻应用于晚期胰腺癌治疗的新药以及新的治疗方案是延长晚期胰腺癌患者生存期并改善其生活质量的关键之一。

赵亚东, 杨金坤, 赵爱光, 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤一科 上海市 200032

赵亚东, 在读硕士, 主要从事中西医结合治疗消化系统恶性肿瘤的研究。

上海市级医院新兴前沿技术基金资助项目, No. SHDC12010120
作者贡献分布: 本文综述由赵亚东完成; 杨金坤与赵爱光审校。

通讯作者: 杨金坤, 主任医师, 200032, 上海市徐汇区宛平南路725号, 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤一科。

jinkunyang@126.com

电话: 021-64385700

收稿日期: 2012-05-06 修回日期: 2012-07-05

接受日期: 2012-08-11 在线出版日期: 2012-09-08

Advances in medical treatment of advanced pancreatic cancer

Ya-Dong Zhao, Jin-Kun Yang, Ai-Guang Zhao

Ya-Dong Zhao, Jin-Kun Yang, Ai-Guang Zhao, Department of Oncology (Division I), the Affiliated Longhua Hospital of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Supported by: the Municipal-level Hospitals Emerging Fronts Projects of Shanghai, No. SHDC12010120

Correspondence to: Jin-Kun Yang, Chief Physician, Department of Oncology (Division I), the Affiliated Longhua Hospital of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 725 Wanping South Road, Xuhui District, Shanghai 200032, China. jinkunyang@126.com

Received: 2012-05-06 Revised: 2012-07-05

Accepted: 2012-08-11 Published online: 2012-09-08

Abstract

Chemotherapy is currently an important means of treating advanced pancreatic cancer. Gemcitabine is a chemotherapeutic agent for the first-line treatment of advanced pancreatic cancer. Some progress has been made to improve survival in patients with advanced pancreatic cancer with gemcitabine-based combination chemotherapy regimens. FOLFIRINOX is the first non-gemcitabine regimen whose efficacy has been demonstrated to be superior to gemcitabine in selected patients. In addition, the development of a variety of targeted drugs (including cytotoxic drugs and biological drugs) has brought a new prospect to the treatment of pancreatic cancer. In this article, we will review recent advances in chemotherapy and targeted therapy of pancreatic cancer.

Key Words: Pancreatic cancer; Chemotherapy; Tar-

geted therapy

Zhao YD, Yang JK, Zhao AG. Advances in medical treatment of advanced pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2370-2376

摘要

化疗是目前晚期胰腺癌内科治疗的重要手段。吉西他滨(gemcitabine, GEM)为治疗晚期胰腺癌的一线药物, 以其为基础的联合治疗方案在不断探索中, 并取得一定进展。FOLFIRINOX方案成为首个经选择患者的、疗效优于GEM的非GEM方案。随着研究的深入, 多种靶向药物的出现(包括细胞毒药物或生物靶向药物)给胰腺癌的治疗带来了希望。本文将对胰腺癌的化疗和靶向治疗作一总结, 以供临床参考。

关键词: 胰腺肿瘤; 化疗; 靶向治疗

赵亚东, 杨金坤, 赵爱光. 晚期胰腺癌内科治疗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20(25): 2370-2376

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2370.asp>

0 引言

胰腺癌是消化系常见的恶性肿瘤之一, 具有起病隐匿、恶性程度高、手术切除率低、传统放疗化疗不敏感的特点, 预后极差。在美国2012年^[1]预计有43 920新发病例, 约有37 390人死于胰腺癌。这意味着其成为第11大最常见的新发癌症的原因, 而在恶性肿瘤致死率中排第4位, 发病率与死亡率突出的不成比例。此外, 不像大多数癌症(如肺癌、结肠癌、前列腺癌和乳腺癌), 其死亡率都在下降, 而胰腺癌的死亡率相对稳定。大多数患者在明确诊断时已达晚期, 失去手术治疗的机会, 其中位生存期仅为5-7 mo^[2], 5年生存率仅为5.1%^[3]。近年来晚期胰腺癌的内科治疗越来越受到重视, 本文将对胰腺癌的化疗和靶向治疗作一总结, 以供临床参考。

1 化疗

1.1 单药化疗

1.1.1 5-氟尿嘧啶(5-Fluorouracil, 5-FU): 在吉西

■同行评议者

郭晓钟, 教授, 中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

他滨(gemcitabine, GEM)出现之前, 5-FU作为晚期胰腺癌化疗的唯一选择长达20余年. 2003年的美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)会议上公布了一个包括9项临床试验的系统回顾和荟萃分析^[4], 显示了以5-FU为基础化疗较最佳支持治疗在总生存期(overall survival, OS)上显示了积极的结果(6.38 mo vs 3.87 mo, $P < 0.0001$).

1.1.2 GEM: Burris等^[5]进行了一项随机对照III期临床研究, GEM与5-FU比较, 共126例晚期胰腺癌患者随机分配入组. GEM组: GEM(1 000 mg/m²静脉滴注, 第1个疗程1次/wk, 连用7 wk休1 wk, 从第2疗程起每用3 wk休1 wk). 5-FU组: 5-FU 600 mg/m², 1次/wk. 主要疗效指标包括: 临床获益反应、疼痛的缓解、KPS评分和体质量. 结果GEM组在临床获益率(23.8% vs 4.8%, $P = 0.0022$)、中位生存期(5.65 mo vs 4.41 mo, $P = 0.0025$)和1年生存率方面(18% vs 2%)均优于5-FU, 可以认为GEM在缓解疾病相关症状及改善生存方面优于5-FU. 鉴于此, 1997年美国FDA批准GEM作为胰腺癌的一线化疗用药. 从此, 在临床研究中, 以GEM为基础的联合化疗大量展开.

GEM固定剂量率给药(fixed dose rate, FDR): 有研究显示GEM的输注率与其疗效存在相关性. 一项前瞻性的II期试验中, 92例局部晚期和转移性胰腺癌患者随机接受GEM(2 200 mg/m²静脉滴注>30 min)或GEM+FDR(1 500 mg/m²静脉滴注>150 min)第1、8和15天, 每4 wk为1周期. 结果GEM+FDR可获得更好的生存期(8 mo vs 5 mo, $P = 0.013$), 但出现了较严重的不良事件, 主要为血液学毒性^[6]. 然而随后在一项针对晚期胰腺癌患者的III期临床研究(ECOG-6201)中^[7], GEM+FDR却未能显示明显的生存获益(6.2 mo vs 4.9 mo). 所以未来仍需进一步研究, 以获得更多临床数据支持.

1.1.3 替吉奥(S-1): S-1是一种氟尿嘧啶衍生物口服抗癌剂^[8], 他包括替加氟(tegafur, FT)和以下2类调节剂: 吉美嘧啶(gimeracil, CDHP)与奥替拉西(oteracil potassium, Oxo). 其3种组分的作用如下: FT是5-FU的前体药物, 具有优良的口服生物利用度, 能在活体内转化为5-FU. CDHP能够抑制在二氢嘧啶脱氢酶作用下从FT释放出来的5-FU的分解代谢, 有助于长时间维持血液和肿瘤组织中5-FU的有效浓度, 从而取得与5-FU持续静脉输注类似的疗效. Oxo能够阻断5-FU的磷酸化, 口服给药之后, Oxo在胃肠组织中具有很高的分布

浓度, 从而影响5-FU在胃肠道的分布, 进而降低5-FU的毒性作用^[9]. 多年的临床应用证明, S-1是安全有效的抗癌药物. 两项II期试验表明S-1对于初治的晚期胰腺癌患者是有效且耐受性良好的^[10,11]. 2011年ASCO会议报道了一项随机、开放的III期临床试验(GEST)^[12], 共834例不能手术切除的体能状态良好的晚期胰腺癌患者随机接受GEM(1 000 mg/m², 第1、8和15天, 每4 wk重复)、S-1(80/100/120 mg/d, 基于体表面积, 第1-28天, 每6 wk重复)和GS(GEM 1 000 mg/m², 第1和8天; S-1 60/80/100 mg/d, 基于体表面积, 第1-14天, 每3 wk重复). 结果证实S-1在OS方面并不劣于GEM(9.7 mo vs 8.8 mo, $P = 0.0003$), 反应率分别为21.0%和13.3%. 3/4级毒性反应方面, GEM主要为血液学毒性(中性粒细胞减少41.0% vs 8.8%, 血小板减少11.0% vs 1.5%), 而S-1则主要为消化系统反应(厌食7.3% vs 11.4%, 腹泻1.1% vs 5.5%). 这是第一次显示口服S-1具有与GEM相似的疗效和耐受性的III期试验, 因此, 其作为一线方案治疗胰腺癌值得进一步研究.

1.2 联合化疗

1.2.1 FOLFIRINOX: Conroy等^[13]进行了一项随机的III期临床研究, 比较FOLFIRINOX(5-FU[F], 亚叶酸钙[LV], 伊立替康[I], 奥沙利铂[O])与GEM治疗转移性胰腺癌(metastatic pancreatic cancer, MPA)的临床疗效. 将88例体力状态良好的转移性胰腺癌患者随机分入FOLFIRINOX组: (O 85 mg/m²+I 180 mg/m²+LV 400 mg/m²+F 400 mg/m²快滴均为第1天+F 2 400 mg/m² CIV 46 h, 每2 wk一次); GEM组: (1 000 mg/m²静脉滴注, 第1个疗程1次/wk, 连用7 wk休1 wk, 从第2疗程起每用3 wk休1 wk). 结果显示FOLFIRINOX方案在客观反应率(27.6% vs 10.9%, $P = 0.0008$)、中位无进展生存期(6.4 mo vs 3.4 mo, $P < 0.0001$)和中位总生存期方面(10.5 mo vs 6.9 mo, $P < 0.001$)均明显优于GEM单药方案. 为了进一步验证FOLFIRINOX方案的有效性和安全性, Conroy等^[14]将342例转移性胰腺癌患者随机分入FOLFIRINOX组和GEM组, 结果显示FOLFIRINOX方案在客观反应率(31.6% vs 9.4%, $P < 0.001$)、中位无进展生存期(6.4 mo vs 3.3 mo, HR: 0.47, 95%CI: 0.37-0.59; $P < 0.001$)和中位总生存期方面(11.1 mo vs 6.8 mo, HR: 0.57, 95%CI: 0.45-0.73, $P < 0.001$)均显著优于GEM单药, 然而FOLFIRINOX方案的3/4级毒性反应包括: 中性粒细胞减少45.7%、中性粒细胞减少伴发热5.4%、血小

■**研发前沿**
建立和应用合适的高通量筛查策略来寻找新的功能性相关靶点, 以及采用合适的临床前体内模型模拟人体环境来验证假设的体内治疗靶点正成为新的研发重点.

■相关报道

尽管厄洛替尼联合吉西他滨(GEM)治疗晚期胰腺癌得到了一定的生存获益,然而2010年ASCO胃肠道癌症研讨会报道厄洛替尼单药治疗胰腺癌完全失去了这一微弱的生存优势。

板减少9.1%、腹泻12.7%、感觉神经病变9.0%以及2级的脱发,其发生率高于GEM单药方案。尽管FOLFIRINOX方案有较高的不良事件发生率,显著延长了生活质量恶化的时间,但仍不失为体力状态好的晚期胰腺癌患者的最佳选择。在未来研究中,可以考虑将FOLFIRINOX方案优化并简化,以期降低其毒性反应。

1.2.2 GEM+CAP: 多项小样本的II期临床研究证实, GEM+卡培他滨(capecitabine, CAP)对晚期胰腺癌患者有良好的疗效^[15,16]。2010年Cunningham等^[17]报道的一项多中心随机对照III期临床研究,比较GEM+CAP组与GEM单药组的临床获益反应和生活质量。包括2002-2005年英国75家医院共533例晚期胰腺癌患者,随机分入GEM+CAP组: GEM 1 000 mg/m², 静脉滴注30 min, 1次/wk, 用3 wk休1 wk, CAP 830 mg/m², 口服, 2次/d, 连用3 wk休1 wk。GEM组: GEM 1 g/m², 静脉滴注30 min, 第1个疗程1次/wk, 连用7 wk休1 wk, 从第2疗程起每用3 wk休1 wk。血清糖类抗原19-9(CA 19-9)和疼痛每6 wk评估1次, 生活质量和影像学检查每12 wk评估1次。结果显示GEM+CAP组在客观反应率(19.1% vs 12.4%, $P = 0.03$)、中位无进展生存期(5.3 mo vs 3.8 mo, $P = 0.004$)和中位总生存期方面(7.1 mo vs 6.2 mo, $P = 0.08$)优于GEM组, 且两组的耐受性良好。毒性反应方面, 中性粒细胞减少GEM+CAP组35% vs GEM组22%, 恶心、呕吐、腹泻和口腔炎两组的发生率相似。所以, 该项研究和其他已发表的III期临床研究^[18]结果一样, GEM+CAP方案患者生存获益明显, 中位总生存期亦有改善趋势, 生活质量无明显影响, 毒性反应尚在可接受范围, 该方案可以考虑作为晚期胰腺癌的一线治疗方案。

1.2.3 GEM+S-1: Kim等^[19]进行的一项II期临床试验, 研究GEM+S-1(GS)作为一线方案治疗晚期胰腺癌患者的安全性和有效性, 研究者将22例经病理证实, 有可测量病灶的晚期胰腺癌患者施以GS方案, 具体为S-1(30 mg/m²口服, 2次/d, 第1-14天)和GEM(1 000 mg/m², 静脉滴注30 min, 第8、15天), 每3 wk重复1次, 直至疾病进展或出现无法耐受的毒性反应。结果显示疾病控制率为27.3%(所有的均为部分缓解), 中位疾病进展时间为4.6 mo (95%CI: 2-7.2 mo), 中位总生存期为8.5 mo(95%CI: 6.8-10.1 mo), 1年生存率估计为27.3%, 而未显示严重的不良反应, 3/4级血液学不良反应为中性粒细胞减少(9.1/9.1%)和贫血(4.5/0%)。非血液学不良反应主要为消化系

反应, 患者尚可耐受。在两项多中心随机II期临床研究中, GS方案较单药方案在客观反应率、疾病控制率、中位无进展生存时间和中位总生存期方面均有明显优势^[20,21]。而在GEM试验^[12]中, 有454例患者分别接受GEM和GS治疗, 结果在OS方面却未显示明显差异(8.8 mo vs 10.1 mo, $P = 0.15$), 无进展生存期方面差异则有统计学意义(4.1 mo vs 5.7 mo, $P < 0.0001$), 反应率分别为13.3%和29.3%。此外在改善生活质量方面GS亦有明显的优势($P = 0.003$)。这项试验表明, GS方案有助于更好的提高生活质量, 但该方案的有效性仍需要进一步研究。

1.2.4 GEMOX: 2005年Louvet等^[22]报道了一项多中心随机对照III期临床研究, 比较GEM+奥沙利铂(oxaliplatin, OXA)组与GEM单药组对晚期胰腺癌患者的临床疗效和毒性反应, 共313人纳入。结果发现GEMOX组在客观反应率(26.8% vs 17.3%, $P = 0.04$)、无进展生存期(5.8 mo vs 3.7 mo, $P = 0.04$)、临床获益率(38.2% vs 26.9%, $P = 0.03$)以及中位总生存期方面(9.0 mo vs 7.1 mo, $P = 0.13$)优于GEM单药组。毒性反应方面, 两组整体而言耐受性良好, 无毒性死亡发生。GEMOX组较GEM单药组, 3/4级毒性反应包括血小板减少(14.0% vs 3.2%, $P = 0.007$)、呕吐(8.9% vs 3.2%, $P = 0.03$)、感觉神经症状(19.1% vs 0%, $P = 0.001$)。这些结果证实了GEMOX的有效性和安全性, 但这项研究未能证明与GEM单药相比有显著的生存获益。同样Poplin等^[7]报道的一项多中心随机对照III期临床研究(ECPG-6201), GEMOX与GEM单药相比也未能显著延长患者的总生存期。

1.2.5 GTX: GTX(GEM+多烯紫杉醇, Docetaxel+CAP)联合方案^[23], 一项II期随机临床试验^[24]证实其是安全有效的, 值得进一步探索。在一项小样本的转移性胰腺癌患者接受GTX联合方案治疗的研究中^[25], 其总体缓解率为29%(所有病例均为部分缓解), 另外有31%患者的肿瘤表现为轻度缓解或疾病稳定状态。所有的患者的中位生存期为11.2 mo, 而获得部分缓解的患者其中位生存期为13.5 mo。然而, 遗憾的是该方案的毒性反应显著, 3/4级白细胞减少的发生率为14%, 3/4级血小板减少的发生率为14%, 3/4级贫血为9%。De Jesus-Acosta等^[26]进行一项GTX方案的多中心回顾性分析, 共有154例经病理证实的局部晚期或转移性胰腺癌的病例被施以GTX方案, 具体为: CAP 750 mg/(m²·d), 分2次剂量口服, 第1-14天, GEM

750 mg/m², 静脉滴注>75 min, 第4、11天, 多西紫杉醇30 mg/m², 静脉滴注, 第4、11天, 每3 wk重复, 直到病情恶化、毒性反应较剧烈或患者不能耐受为止。研究发现, 接受该方案初次治疗的患者($n = 75$), 中位生存期为11.6 mo, 1年生存率为46%, 其中转移性和局部晚期胰腺癌患者的中位生存期分别为11.3 mo和25.0 mo, PS评分成为改善生存的唯一相关因素。当GTX方案作为二线方案或补救方案时($n = 79$), 中位生存期为5.7 mo, 1年生存率为32%, 其中转移性和局部晚期胰腺癌患者的中位生存期分别为5.7 mo和16.2 mo, 之前的手术治疗与改善生存密切相关, 而任何的3/4级毒性反应是一个生存不利因素。另外154例患者中部分缓解达11%, 62%的患者病情稳定。毒性反应方面主要为: 中性粒细胞减少、ALT升高和需要住院治疗。3/4级血液学和非血液学毒性分别为41%和9%。可以看出GTX方案的一线或二线治疗, 对于转移性和局部晚期胰腺癌患者都有明显的生存获益。

2 靶向治疗

2.1 EGFR酪氨酸激酶抑制剂 酪氨酸激酶与细胞内的信号传导有关, 抑制酪氨酸激酶活性可以抑制肿瘤细胞的生长。有研究表明胰腺癌中人工型表皮生长因子受体1(epidermal growth factor receptor 1, EGFR1)过度表达^[27,28]通常预后较差^[29,30]。Moore等^[31]在全球范围进行了一项双盲的、安慰剂对照的III期临床研究, 研究HER-1及EGFR1酪氨酸激酶抑制剂-厄洛替尼(erlotinib)在晚期胰腺癌中的应用, 共569例进展期胰腺癌患者按1:1的比例随机分配入GEM+厄洛替尼组(100 mg/d或150 mg/d口服)和GEM+安慰剂组。主要终点指标为OS。结果显示, GEM+厄洛替尼组能够显著延长OS(6.24 mo vs 5.19 mo, HR: 0.82, 95%CI: 0.69-0.99 mo, $P = 0.038$); 1年总生存率分别为23%和17%($P = 0.023$); 无进展生存期亦显著延长(HR: 0.77, 95%CI: 0.64-0.92 mo, $P = 0.004$); 客观应答率无明显区别。GEM+厄洛替尼组不良反应如皮疹和腹泻有所增加, 但均为1-2级, 患者可耐受。该研究为目前惟一GEM合用靶向药物能够显著提高进展期胰腺癌患者生存获益的方案, 其中厄洛替尼的推荐剂量为100 mg/d。最近的一项III期试验^[32]比较了GEM和厄洛替尼联用或不联用贝伐珠单抗治疗转移性胰腺癌的疗效, 结果显示联合贝伐珠单抗并未改善总生存期, 不过将贝伐珠单抗加入GEM/厄

洛替尼联合方案可带来无进展生存期方面的显著获益。

2.2 EGFR单克隆抗体 西妥昔单抗(cetuximab)是一种EGFR单克隆抗体, 可与表达于正常细胞和多种癌细胞表面的EGF受体特异性结合, 并竞争性阻断EGF和其他配体, 通过对与EGF受体结合的酪氨酸激酶(tyrosine kinase, TK)的抑制作用, 阻断细胞内信号转导途径, 从而抑制癌细胞的增殖, 诱导癌细胞的凋亡, 减少基质金属蛋白酶和EGF的产生^[33]。Philip等^[34]开展了一项随机对照III期临床研究, 745例不能手术切除的局部晚期或转移性胰腺癌患者被随机分配接受GEM单独或GEM联合西妥昔单抗治疗。观察的主要终点是总生存期。次要终点包括无进展生存期, 治疗失败时间, 客观反应率和毒性反应。结果在平均存活时间方面, GEM联合西妥昔单抗组为6.3 mo, 而GEM单药组为5.9 mo($P = 0.23$)。在客观反应率和无进展生存期方面两组相似。在治疗失败时间上, GEM联合西妥昔单抗组长于GEM单药组($P = 0.006$), 但仅为2 wk。此外, 在缓解疼痛和改善情绪方面, 两种方案无明显差异, 提示西妥昔单抗在提高患者生活质量上作用有限^[35]。虽然该研究未能证明GEM联合西妥昔单抗对于晚期胰腺癌患者有明显的生存获益, 但仍不能否定抗EGFR治疗策略的潜在作用, 未来值得继续探索研究。

2.3 VEGF单克隆抗体 贝伐珠单抗(bevacizumab)是一种重组的人源化单克隆抗体, 可以选择性地与人血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)结合并阻断其生物活性, 从而抑制肿瘤血管内皮细胞增殖和血管形成^[36]。在一项多中心的II期试验^[37]中GEM联合贝伐单抗治疗晚期胰腺癌患者产生了21%的应答率、中位无进展生存期为5.4 mo、中位总生存期8.8 mo和1年生存率29%的效果, 这些令人鼓舞的数据促使癌症和白白血病B组(简称CALGB)^[38]进行了一项随机对照III期双盲临床研究, 共有602例患者被纳入到研究中, 接受GEM 1 000 mg/m²静脉滴注超过30 min, 第1、8、15天, 贝伐单抗10 mg/kg或安慰剂, 第1、8天, 每28 d重复。结果显示GEM/贝伐单抗组的中位总生存期为5.8 mo, GEM/安慰剂组为5.9 mo($P = 0.95$)。中位无进展生存期为3.8 mo vs 2.9 mo($P = 0.07$)。整体应答率分别为13%和10%。患者体能状态0、1和2的中位总生存期分别为7.9、4.8和2.4 mo。由此提示贝伐单抗联合GEM并不能延长晚期胰腺癌患者

■应用要点

在目前众多的治疗方案中, GEM虽为治疗胰腺癌的首要选择, 但其疗效有限, FOLFIRINOX方案可显著提高胰腺癌临床获益反应, 改善生活质量, 延长生存期, 有望成为晚期胰腺癌治疗新的一线方案。

■同行评价

本文对于近年来胰腺癌化疗的进展做了很好的总结,对于临床医师提高胰腺癌规范化治疗很有帮助。

的生存期。

2.4 索拉非尼 索拉非尼(sorafenib)是一种新型口服抗癌制剂,有研究表明^[39],其具有双重抗肿瘤效应,一方面,他可以通过抑制RAF/MEK/ERK信号传导通路,直接抑制肿瘤细胞增殖生长;另一方面,他又可通过抑制VEGFR和PDGFR而阻断肿瘤新生血管的形成,间接抑制肿瘤细胞的生长。Siu等^[40]报道的一项I期试验显示,GEM联合索拉非尼对于晚期胰腺癌患者有较好的反应且耐受性良好。但2011年ASCO会议报道的一项多中心、双盲、随机对照III期临床研究^[41],比较GEM联合索拉非尼和GEM联合安慰剂对104例局部晚期或转移性胰腺癌患者的疗效,结果在无病生存期方面,两组无明显差异(3.8 mo vs 5.6 mo, $P = 0.601$),中位总生存期亦是如此(8.5 mo vs 9.2 mo, $P = 0.146$),所以GEM联合索拉非尼治疗晚期胰腺癌的有效性仍需继续研究探讨。

2.5 马赛替尼 马赛替尼(masitinib)是一种选择性的激酶抑制剂,不仅可以阻断C-kit、FDGRR、Lyn、FGFR3酪氨酸激酶的活性,亦可以通过抑制FAK磷酸化活性而阻断FAK细胞通路。在已报道的几项研究中,GEM联合马赛替尼在体外对人胰腺癌肿瘤细胞株,以及在体内对使用人类胰腺癌的小鼠模型均有显著的抗增殖活性^[42,43]。同样Mitry等^[44]进行的一项评估GEM联合马赛替尼对晚期胰腺癌安全性和有效性的研究中发现,在肿瘤进展时间及总生存期都取得较好的结果,毒性反应尚可耐受。在近期的一项马赛替尼III期临床研究中期待有好的结果。

3 结论

胰腺癌是一种整体存活率低的致死性疾病。化疗是晚期胰腺癌患者最常见的治疗手段。目前,GEM仍然是晚期胰腺癌一般患者群的金标准,是新联合方案的基础药物。近期研究表明,PS评分较好的患者,FOLFIRINOX方案可显著提高临床获益反应,改善生活质量,延长生存期,可作为体力状况良好的晚期胰腺癌治疗新的一线方案;S-1单药及GEMCAP方案中患者生存获益明显,中位总生存期亦有改善趋势,生活质量无明显影响,毒性反应尚在可接受范围,均可以考虑用于晚期胰腺癌的一线治疗。GTX方案可作为不能耐受GEM及GEM治疗失败后的挽救方案。对于体力状态良好的局部晚期或转移性胰腺癌患者,靶向药物厄洛替尼联合GEM方案可成为推荐方案,而后进行的多个靶向药物的联合化

疗方案均未能带来显著的生存获益,所以靶向药物联合化疗仍是学者今后的重点研究方向。晚期胰腺癌的内科治疗,强调多种手段联合运用,综合治疗是使患者临床获益最大化的最佳治疗方式。

4 参考文献

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29
- 2 Burris HA. Recent updates on the role of chemotherapy in pancreatic cancer. *Semin Oncol* 2005; 32: S1-S3
- 3 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 71-96
- 4 Fung MC, Ishiguro H, Takayama S, Morizane T, Adachi S, Sakata T. Survival benefit of chemotherapy treatment in advanced pancreatic cancer: A meta-analysis. 2003 ASCO Annual Meeting; 2003 May 3-June 3; Chicago, Illinois. 2003: abstr 1155
- 5 Burris HA, Moore MJ, Andersen J, Green MR, Rothenberg ML, Modiano MR, Cripps MC, Portenoy RK, Storniolo AM, Tarassoff P, Nelson R, Dorr FA, Stephens CD, Von Hoff DD. Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2403-2413
- 6 Tempero M, Plunkett W, Ruiz Van Haperen V, Hainsworth J, Hochster H, Lenzi R, Abbruzzese J. Randomized phase II comparison of dose-intense gemcitabine: thirty-minute infusion and fixed dose rate infusion in patients with pancreatic adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2003; 21: 3402-3408
- 7 Poplin E, Feng Y, Berlin J, Rothenberg ML, Hochster H, Mitchell E, Alberts S, O'Dwyer P, Haller D, Catalano P, Cella D, Benson AB. Phase III, randomized study of gemcitabine and oxaliplatin versus gemcitabine (fixed-dose rate infusion) compared with gemcitabine (30-minute infusion) in patients with pancreatic carcinoma E6201: a trial of the Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3778-3785
- 8 Saif MW, Syrigos KN, Katirtzoglou NA. S-1: a promising new oral fluoropyrimidine derivative. *Expert Opin Investig Drugs* 2009; 18: 335-348
- 9 Fukushima M. S-1 review from preclinical pharmacology. *Gastric Cancer* 2009; 12: 3-9
- 10 Strumberg D, Bergmann L, Graeven U, Hanauske A, Lipp R, Schuette J, Schultheis B, Scigalla P, Urrea P, Scheulen ME. First-line treatment of patients with metastatic pancreatic cancer: results of a Phase II trial with S-1 (CESAR-Study group). *Int J Clin Pharmacol Ther* 2010; 48: 470-472
- 11 Schultheis B, Strumberg D, Bergmann L, Graeven U, Hanauske AR, Lipp R, Schuette J, Saito K, Scigalla P, Scheulen ME. Results of a phase II trial of S-1 as first-line treatment of metastatic pancreatic cancer (CESAR-study group). *Invest New Drugs* 2012; 30: 1184-1192
- 12 Ioka T, Ikeda M, Ohkawa S, Yanagimoto H, Fukutomi A, Sugimori K, Baba H, Yamao K, Shimamura T, Chen J, Mizumoto K, Furuse J, Funakoshi A, Hatori T, Yamaguchi T, Egawa S, Sato A, Ohashi Y, Cheng

- A, Okusaka T. Randomized phase III study of gemcitabine plus S-1 (GS) versus S-1 versus gemcitabine (GEM) in unresectable advanced pancreatic cancer (PC) in Japan and Taiwan: GEST study. 2011 ASCO Annual Meeting; 2011 June 3-7; Chicago, Illinois. 2011: abstr 4007
- 13 Conroy T, Desseigne F, Ychou M, Ducreux M, Bouche O, Guimbaud R, Becouarn Y, Montoto-Grillot C, Gourgou-Bourgade S, Adenis A. Randomized phase III trial comparing FOLFIRINOX (F: 5FU/leucovorin [LV], irinotecan [I], and oxaliplatin [O]) versus gemcitabine (G) as first-line treatment for metastatic pancreatic adenocarcinoma (MPA): Preplanned interim analysis results of the PRODIGE 4/ACCORD 11 trial. 2010 ASCO Annual Meeting; 2010 June 4-8; Chicago, Illinois. 2010: abstr 4010
- 14 Conroy T, Desseigne F, Ychou M, Bouché O, Guimbaud R, Bécouarn Y, Adenis A, Raoul JL, Gourgou-Bourgade S, de la Fouchardière C, Bennouna J, Bachet JB, Khemissa-Akouf F, Péré-Vergé D, Delbaldo C, Assenat E, Chauffert B, Michel P, Montoto-Grillot C, Ducreux M. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2011; 364: 1817-1825
- 15 Song HS, Do YR, Chang HM, Ryu MH, Lee KH, Kim YH, Hong DS, Cho JY, Lee KE, Kim SY. A phase II study of capecitabine plus gemcitabine in patients with locally advanced or metastatic pancreatic cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008; 62: 763-768
- 16 Choi JG, Seo JH, Oh SC, Choi CW, Kim JS. A Phase II Trial of Gemcitabine plus Capecitabine for Patients with Advanced Pancreatic Cancer. *Cancer Res Treat* 2012; 44: 127-132
- 17 Cunningham D, Chau I, Stocken DD, Valle JW, Smith D, Steward W, Harper PG, Dunn J, Tudur-Smith C, West J, Falk S, Crellin A, Adab F, Thompson J, Leonard P, Ostrowski J, Eatock M, Scheithauer W, Herrmann R, Neoptolemos JP. Phase III randomized comparison of gemcitabine versus gemcitabine plus capecitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5513-5518
- 18 Herrmann R, Bodoky G, Ruhstaller T, Glimelius B, Bajetta E, Schüller J, Saletti P, Bauer J, Figer A, Pestalozzi B, Köhne CH, Mingrone W, Stemmer SM, Tamas K, Kornek GV, Koeberle D, Cina S, Bernhard J, Dietrich D, Scheithauer W. Gemcitabine plus capecitabine compared with gemcitabine alone in advanced pancreatic cancer: a randomized, multicenter, phase III trial of the Swiss Group for Clinical Cancer Research and the Central European Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2212-2217
- 19 Kim MK, Lee KH, Jang BI, Kim TN, Eun JR, Bae SH, Ryoo HM, Lee SA, Hyun MS. S-1 and gemcitabine as an outpatient-based regimen in patients with advanced or metastatic pancreatic cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2009; 39: 49-53
- 20 Ozaka M, Matsumura Y, Ishii H, Omuro Y, Itoi T, Mouri H, Hanada K, Kimura Y, Maetani I, Okabe Y, Tani M, Ikeda T, Hijioka S, Watanabe R, Ohoka S, Hirose Y, Suyama M, Egawa N, Sofuni A, Ikari T, Nakajima T. Randomized phase II study of gemcitabine and S-1 combination versus gemcitabine alone in the treatment of unresectable advanced pancreatic cancer (Japan Clinical Cancer Research Organization PC-01 study). *Cancer Chemother Pharmacol* 2012; 69: 1197-1204
- 21 Nakai Y, Isayama H, Sasaki T, Sasahira N, Tsujino T, Toda N, Kogure H, Matsubara S, Ito Y, Togawa O, Arizumi T, Hirano K, Tada M, Omata M, Koike K. A multicentre randomised phase II trial of gemcitabine alone vs gemcitabine and S-1 combination therapy in advanced pancreatic cancer: GEMSAP study. *Br J Cancer* 2012; 106: 1934-1939
- 22 Louvet C, Labianca R, Hammel P, Lledo G, Zampino MG, André T, Zaniboni A, Ducreux M, Aitini E, Taïeb J, Faroux R, Lepere C, de Gramont A. Gemcitabine in combination with oxaliplatin compared with gemcitabine alone in locally advanced or metastatic pancreatic cancer: results of a GERCOR and GISCAD phase III trial. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3509-3516
- 23 Fogelman DR, Chen J, Chabot JA, Allendorf JD, Schrope BA, Ennis RD, Schreiber SM, Fine RL. The evolution of adjuvant and neoadjuvant chemotherapy and radiation for advanced pancreatic cancer: from 5-fluorouracil to GTX. *Surg Oncol Clin N Am* 2004; 13: 711-735, x
- 24 Xenidis N, Chelis L, Amarantidis K, Chamalidou E, Dimopoulos P, Courcoutsakis N, Tentas A, Chiotis A, Prassopoulos P, Kakolyris S. Docetaxel plus gemcitabine in combination with capecitabine as treatment for inoperable pancreatic cancer: a phase II study. *Cancer Chemother Pharmacol* 2012; 69: 477-484
- 25 Fine RL, Fogelman DR, Schreiber SM, Desai M, Sherman W, Strauss J, Guba S, Andrade R, Chabot J. The gemcitabine, docetaxel, and capecitabine (GTX) regimen for metastatic pancreatic cancer: a retrospective analysis. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008; 61: 167-175
- 26 De Jesus-Acosta A, Oliver GR, Blackford A, Kinsman K, Flores EI, Wilfong LS, Zheng L, Donehower RC, Cosgrove D, Laheru D, Le DT, Chung K, Diaz LA. A multicenter analysis of GTX chemotherapy in patients with locally advanced and metastatic pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 2012; 69: 415-424
- 27 Fjällskog ML, Lejonklou MH, Oberg KE, Eriksson BK, Janson ET. Expression of molecular targets for tyrosine kinase receptor antagonists in malignant endocrine pancreatic tumors. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1469-1473
- 28 Tobita K, Kijima H, Dowaki S, Kashiwagi H, Ohtani Y, Oida Y, Yamazaki H, Nakamura M, Ueyama Y, Tanaka M, Inokuchi S, Makuuchi H. Epidermal growth factor receptor expression in human pancreatic cancer: Significance for liver metastasis. *Int J Mol Med* 2003; 11: 305-309
- 29 Xiong HQ. Molecular targeting therapy for pancreatic cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2004; 54 Suppl 1: S69-S77
- 30 Ueda S, Ogata S, Tsuda H, Kawarabayashi N, Kimura M, Sugiura Y, Tamai S, Matsubara O, Hatusue K, Mochizuki H. The correlation between cytoplasmic overexpression of epidermal growth factor receptor and tumor aggressiveness: poor prognosis in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas* 2004; 29: e1-e8
- 31 Moore MJ, Goldstein D, Hamm J, Figer A, Hecht JR, Gallinger S, Au HJ, Murawa P, Walde D, Wolff RA, Campos D, Lim R, Ding K, Clark G, Voskoglou-Nomikos T, Ptasynski M, Parulekar W. Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer:

- a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1960-1966
- 32 Van Cutsem E, Vervenne WL, Bannouna J, Humblet Y, Gill S, Van Laethem JL, Verslype C, Scheithauer W, Shang A, Cosaert J, Moore MJ. Phase III trial of bevacizumab in combination with gemcitabine and erlotinib in patients with metastatic pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2231-2237
- 33 Harding J, Burtneess B. Cetuximab: an epidermal growth factor receptor chimeric human-murine monoclonal antibody. *Drugs Today (Barc)* 2005; 41: 107-127
- 34 Philip PA, Benedetti J, Corless CL, Wong R, O'Reilly EM, Flynn PJ, Rowland KM, Atkins JN, Mirtsching BC, Rivkin SE, Khorana AA, Goldman B, Fenoglio-Preiser CM, Abbruzzese JL, Blanke CD. Phase III study comparing gemcitabine plus cetuximab versus gemcitabine in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma: Southwest Oncology Group-directed intergroup trial S0205. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3605-3610
- 35 Moinpour CM, Vaught NL, Goldman B, Redman MW, Philip PA, Millwood B, Lippman SM, Seay TE, Flynn PJ, O'Reilly EM, Rowland KM, Wong RP, Benedetti J, Blanke CD. Pain and emotional well-being outcomes in Southwest Oncology Group-directed intergroup trial S0205: a phase III study comparing gemcitabine plus cetuximab versus gemcitabine as first-line therapy in patients with advanced pancreas cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3611-3616
- 36 Ranieri G, Patrino R, Ruggieri E, Montemurro S, Valerio P, Ribatti D. Vascular endothelial growth factor (VEGF) as a target of bevacizumab in cancer: from the biology to the clinic. *Curr Med Chem* 2006; 13: 1845-1857
- 37 Kindler HL, Friberg G, Singh DA, Locker G, Natam S, Kozloff M, Taber DA, Karrison T, Dachman A, Stadler WM, Vokes EE. Phase II trial of bevacizumab plus gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 8033-8040
- 38 Kindler HL, Niedzwiecki D, Hollis D, Sutherland S, Schrag D, Hurwitz H, Innocenti F, Mulcahy MF, O'Reilly E, Wozniak TF, Picus J, Bhargava P, Mayer RJ, Schilsky RL, Goldberg RM. Gemcitabine plus bevacizumab compared with gemcitabine plus placebo in patients with advanced pancreatic cancer: phase III trial of the Cancer and Leukemia Group B (CALGB 80303). *J Clin Oncol* 2010; 28: 3617-3622
- 39 Liu L, Cao Y, Chen C, Zhang X, McNabola A, Wilkie D, Wilhelm S, Lynch M, Carter C. Sorafenib blocks the RAF/MEK/ERK pathway, inhibits tumor angiogenesis, and induces tumor cell apoptosis in hepatocellular carcinoma model PLC/PRF/5. *Cancer Res* 2006; 66: 11851-11858
- 40 Siu LL, Awada A, Takimoto CH, Piccart M, Schwartz B, Giannaris T, Lathia C, Petrenciuc O, Moore MJ. Phase I trial of sorafenib and gemcitabine in advanced solid tumors with an expanded cohort in advanced pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 144-151
- 41 Goncalves A, Viret F, Franois E, Dahan L, Perrier H, Lamy R, Re D, Largillier R, Gasmi M, Tchiknavorian X, Turrini O, Moureau-Zabotto L, Delpero J, Viens P. BAYPAN study: A double-blind, phase III randomized trial of gemcitabine plus sorafenib versus gemcitabine plus placebo in patients with advanced pancreatic cancer. 2011 ASCO Annual Meeting; 2011 June 3-7; Chicago, Illinois. 2011: abstr 4028
- 42 Thamm DH, Rose B, Kow K, Humbert M, Mansfield CD, Moussy A, Hermine O, Dubreuil P. Masitinib as a chemosensitizer of canine tumor cell lines: a proof of concept study. *Vet J* 2012; 191: 131-134
- 43 Humbert M, Castéran N, Letard S, Hanssens K, Iovanna J, Finetti P, Bertucci F, Bader T, Mansfield CD, Moussy A, Hermine O, Dubreuil P. Masitinib combined with standard gemcitabine chemotherapy: in vitro and in vivo studies in human pancreatic tumour cell lines and ectopic mouse model. *PLoS One* 2010; 5: e9430
- 44 Mitry E, Hammel P, Deplanque G, Mornex F, Levy P, Seitz JF, Moussy A, Kinet JP, Hermine O, Rougier P, Raymond E. Safety and activity of masitinib in combination with gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 395-403

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012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)

结直肠癌潜在预后标志物的研究进展

陈丽芳, 余英豪

陈丽芳, 余英豪, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科 福建省福州市 350025

陈丽芳, 硕士, 主要从事肿瘤病理方向的研究.

中国人民解放军南京军区科研基金(A类)资助项目, No. 10MA107

作者贡献分布: 本文综述由陈丽芳完成; 余英豪审校.

通讯作者: 余英豪, 教授, 主任医师, 350025, 福建省福州市西二环北路156号, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科.

yuyinghao0808@126.com

电话: 0591-24937095 传真: 0591-83717703

收稿日期: 2012-05-06 修回日期: 2012-08-05

接受日期: 2012-08-11 在线出版日期: 2012-09-08

Recent advances in detection of potential prognostic markers in colorectal cancer

Li-Fang Chen, Ying-Hao Yu

Li-Fang Chen, Ying-Hao Yu, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Supported by: the Research Foundation of Nanjing Military Command of Chinese PLA (Type A), No. 10MA107

Correspondence to: Ying-Hao Yu, Professor & Chief Physician, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, 156 Xi'erhuan North Road, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. yuyinghao0808@126.com

Received: 2012-05-06 Revised: 2012-08-05

Accepted: 2012-08-11 Published online: 2012-09-08

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common malignant tumors. Recent development in molecular biology techniques, gene sequencing and molecular diagnostics has led to the discovery of some new prognostic markers in colorectal cancer. So far, K-ras is a valid prognostic marker that can be used in clinical practice. However, many markers investigated suffer from technical shortcomings, which result mainly from lack of quantitative techniques to capture the impact of molecular alterations. This paper gives an overview of recent advances in research of promising biological prognostic markers in CRC, including RHAMM, FOXP3⁺ Treg, HSP27, PIK3CA, and PTEN.

Key Words: Colorectal cancer; Prognosis; Molecular marker

Chen LF, Yu YH. Recent advances in detection of

potential prognostic markers in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2377-2381

摘要

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是世界上最常见的恶性肿瘤之一。随着分子生物学技术的发展, 基因测序及分子诊断水平的提高, 在CRC分子生物学方面不断有新的预后因素被发现。目前为止, K-ras被公认为CRC可用于临床实践的有效标志物。很多分子标志物的研究由于技术上的缺陷, 导致缺乏定量技术来检测分子的改变, 因此不能很好地应用于临床实践。近年来还发现RHAMM、FOXP3⁺ Treg、HSP27、PIK3CA、PTEN等对判断CRC的预后具有重要的意义。本文就CRC潜在预后标志物的研究进展进行综述。

关键词: 结直肠癌; 预后; 分子标志物

陈丽芳, 余英豪. 结直肠癌潜在预后标志物的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20(25): 2377-2381

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2377.asp>

0 引言

随着分子生物学技术的迅速发展, 基因测序及分子诊断水平的提高, 不断有新的结直肠癌(colorectal cancer, CRC)预后因子被发现, 但其中许多预后因子尚处于研究阶段, 且结论不一致。到目前为止, K-ras被公认为CRC可用于临床实践的一个有效标志物^[1-3], 可利用K-ras基因突变状态筛选抗表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)靶向药物^[4-6]。对CRC的分子标志物的检测, 有助于其早期诊断、提高疗效及判断预后。近年来国内外学者对影响CRC预后的分子标志物进行了大量研究, 发现了一些潜在对预后判断有积极意义的分子标志物, 本文将进行简要综述。

1 透明质酸介导的细胞游走受体

透明质酸介导的细胞游走受体(receptor for hyaluronan-mediated motility, RHAMM)基因定位

■背景资料

K-ras是目前被推荐用于结直肠癌(CRC)患者诊断及预后判断的分子标志物, 但其远远不能满足临床需求, 因此亟待寻找更多的CRC预后标志物。

■同行评议者

李洋, 副教授, 汕头大学医学院病理学

■ 研发前沿

对CRC预后标志物的研究是判断肿瘤治疗及预后的热点之一,近年来国内外学者对影响CRC预后的分子标志物进行了大量的研究,并取得了一定的进展。

于人染色体5q33.2长臂末端,并根据其分布特点分为胞内和膜型两种类型,二者的cDNA序列有高度同源性,均可通过细胞膜外结合区与透明质酸(hyaluronic acid, HA)结合. RHAMM通过与透明质酸、微管、肌动蛋白、钙调蛋白、细胞外调节激酶信号通路成份相互作用,在细胞周期、增殖、迁移及粘附过程等信号转导中发挥了关键的作用^[7-9]. 研究发现, RHAMM与CD44形成复合物后经Ras-Raf-MEK-ERK通路来发挥其致癌效应^[10]. RHAMM与ERK结合并控制其表达水平, ERK通过一连串的磷酸化作用被激活后,参与细胞的分泌、分化及增殖^[11,12]. 有研究表明, RHAMM高表达与肿瘤的演变及转移密切相关^[13].

在正常的结肠黏膜, RHAMM在大肠隐窝处的柱状细胞胞浆内呈微弱表达,而杯状细胞不表达. 郑建建等^[14]通过real-time PCR检测了30例结肠癌患者及其相应癌旁组织,结果表明RHAMM和ERK2在结肠癌中的表达都高于正常组织,且两者表达有相关性,并且都与是否发生淋巴结转移有关联, RHAMM可能通过Ras-ERK途径参与了结肠癌的发生、进展及转移. 因此, RHAMM和ERK2可作为患者诊断和预后的参考指标之一. Lugli等^[15]将1 420例大肠癌患者分为MMR阳性组、MLH-1阴性组及林奇综合征组,用组织芯片结合免疫组织化学检测3组中RHAMM的表达水平. 结果发现, MMR阳性组及林奇综合征组的RHAMM表达水平明显高于正常组织,而且结肠癌中RHAMM阳性的患者较RHAMM阴性患者预后差,而MLH-1阴性的大肠癌患者中RHAMM的表达与临床病理特征没有关联性. 进一步证实了RHAMM在肠癌组织中的过度表达,能够诱导肿瘤的发展,是结肠癌预后不良的一个独立判断指标. Zlobec等^[16]研究了587例发生淋巴结转移的大肠癌患者,发现高表达RHAMM与淋巴结远处转移高度相关,在结肠癌预后判断因素中, RHAMM的高表达比肿瘤分期及血管浸润更重要.

2 FOXP3⁺ Treg

调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)代表一群独特的CD4辅助性T细胞亚群,通过细胞与细胞直接接触或通过细胞因子的释放,对效应性CD4/CD8 T细胞活化和增殖发挥抑制作用^[17]. CD4、CD25是其主要的分子表型. CD4⁺CD25⁺调节性T细胞由Sakaguchi等于1995年首先报

道,是具有免疫调节功能的T淋巴细胞亚群,约占CD4⁺T细胞的5%-15%,可以通过抑制机体自身的免疫反应和对外来抗原或者病原体的过度免疫反应,来阻止自身免疫性疾病的发生并维持自身免疫耐受^[18,19]. 叉状头转录因子(forkhead transcription factor, FOXP3)对调控CD4⁺CD25⁺调节性T细胞发育有重要作用,是CD4⁺CD25⁺调节性T细胞的一个特异标志^[20,21]. 有研究表明FOXP3在自身免疫性疾病和肿瘤免疫过程中发挥作用^[22,23].

Loddenkemper等^[24]通过免疫组织化学方法检测40例CRC患者的FOXP3蛋白表达水平,发现FOXP3⁺ Treg在大肠癌患者中数量显著增加(肠癌患者中Treg数量平均为12.9/HPF,而正常的大肠组织中为0.6/HPF). 并且发生淋巴结转移的肠癌患者中Treg的数量会减少为9.9/HPF,未发生转移的为17.8/HPF. 但是患者的生存期与FOXP3⁺ Treg的数量没有关联性. Woo等^[25]首先报道了Treg表达与肿瘤侵犯局部淋巴细胞有关. 然而, Ling等^[26]研究表明,在肿瘤早期及晚期, Treg的数量没有显著差异. Salama等^[27]用组织芯片结合免疫组织化学检测了967例II期及III期CRC患者,发现FOXP3⁺调节性T细胞的表达水平明显提高, CD8⁺CD45RO⁺ T淋巴细胞数量反而减少. FOXP3⁺ Treg的数量增加的患者其生存期得到延长,相对于CD8⁺CD45RO⁺记忆性T淋巴细胞具有更好的预后意义. FOXP3⁺调节性T细胞的表达水平与组织病理学特征无关,而与肿瘤的分期密切相关,可以作为CRC的一个独立的预后指标.

3 HSP27

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是生物体内进化保守的蛋白家族,是重要的分子伴侣,具有多种生物学功能,与肿瘤的发生、发展及肿瘤耐药性的产生等都有着密切关系^[28,29]. HSP27是sHSP亚家族中的重要一员,首先在人类细胞中发现的一种分子量为27 kDa的HSP,人类的HSP27又称为HSPB1,其氨基酸序列具有与αB-晶体蛋白相类似的N末端序列. 在生物体内主要有两种HSP27: 构成型和诱导型. 构成型HSP27在生理状态下低水平表达,维持细胞的基本活动并与细胞的分化、发育,特别是神经系统的发育密切相关;诱导型HSP27主要在外界环境的刺激下表达,具有保护细胞的功能. HSP27作为caspase抑制剂发挥作用,这也是最主要的抗凋亡作用

■ 相关报道

CRC的一些分子标志物在一定程度上有助于判断其预后,提高疗效. 有报道p53、bcl-2、p21、c-myc、k-ras等基因表达与CRC的预后相关.

机制^[30,31].

HSP27在前列腺癌、卵巢癌、胃癌及肝癌中的高表达提示不良预后,但在食管及口腔鳞状细胞癌中的高表达则提示预后较好^[32,33].近年来研究发现,HSP27的异常表达与肠癌的发生及发展有关^[34].Wang等^[35]研究表明,HSP27在CRC中的表达明显高于癌旁组织,而且HSP27高表达患者预后较差,提示HSP27过度表达是大肠癌不良预后的一个独立相关因素.HSP27还与化疗敏感性和耐药性有关.HSP27是5-FU的反应性(活性)蛋白,5-FU能够提高肠癌组织中HSP27的表达,而HSP27表达水平的降低可以使肠癌对5-FU的耐受性下降.5-FU能使肠癌细胞中的p38 MAPK及HSP27磷酸化,而p38 MAPK的传导阻滞会抑制5-FU诱导的HSP27磷酸化.有研究发现,结肠癌中HSP27与化疗药物伊立替康的耐药性有关,抑制HSP27的表达能够提高药物对癌细胞的敏感性;有文献报道HSP27与热疗及放疗有关,HSP27的低表达会促进热诱导的癌细胞发生凋亡,而HSP27的高表达会提高癌细胞对紫外线辐射的敏感性.因此,HSP27与肠癌的治疗密切相关,HSP27促进细胞凋亡是其中的一个重要机制.HSP27的表达与肠癌生物学行为的关系错综复杂,有待于进一步研究.

4 PIK3CA

磷脂酰肌醇-3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)是一类特异性磷酸化肌醇磷脂3位羟基的激酶,称为PI3Ks家族.根据PI3Ks结构和底物的特异性不同,可将PI3Ks分为I、II、III型.其中I型PI3Ks研究最多,是由催化亚基p110和调节亚基p85构成的异二聚体.PIK3CA是PI3Ks家族的关键成员,与肿瘤形成及细胞的增殖、黏附、存活和迁移等过程相关^[36].PI3K的调节亚基能特异性结合蛋白质因子,并通过膜受体结合各种信号分子,进而激活PIK3CA,活化的PIK3CA能够磷酸化4,5-二磷酸磷脂酰肌醇(4,5-PIP₂)生成3,4,5-三磷酸磷脂酰肌醇(PIP₃)^[37,38].AKT通过PH区与PIP₃结合,并被蛋白激酶PDK1磷酸化而活化.磷酸化的AKT可调控一系列下游分子的功能,从而促进细胞的增殖和存活.这条信号途径的某些成分包括PIK3CA发生了改变,会导致肿瘤的发生与发展.

Jehan等^[39]发现,38%的CRC患者出现PIK3CA的扩增,这与PIK3CA蛋白的高表达密切相关,而与PIK3CA是否发生基因突变无关.

在接受辅助性化疗或放疗的患者中,PIK3CA发生扩增的患者,其生存期明显延长.PIK3CA可以作为判断CRC预后的一个独立性标志物,并能够预测患者能否通过辅助性的放化疗获得更好的治疗效果.最近的研究表明,发生PIK3CA基因突变的CRC患者预后不良,抑制PIK3CA基因突变可能成为新型的肿瘤靶向治疗方法^[40,41].Samuels等^[42]的研究发现PIK3CA基因突变主要集中在第9和20外显子(占88%-90%),分别对应着该酶的螺旋区和激酶区,PIK3CA基因突变可能与在K-ras及Braf基因的致癌突变相似,是突变激活的.有研究报道PIK3CA基因突变能够阻碍EGFR抑制剂发挥作用^[43,44].PIK3CA是否在抗-EGFR单克隆抗体的应答中发挥重要作用有待于大量的临床调查研究.

5 PTEN

Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN)是继p53基因之后发现的人类肿瘤中最易发生缺失和突变的抑癌基因,据文献报道,大多数肿瘤中均存在PTEN缺失和突变^[45-47].PTEN通过去磷酸化作用而负性调节PI3K/AKT信号通路,PTEN的突变或丢失使细胞内PIP₃积聚,AKT持续活化,从而抑制细胞凋亡,促进肿瘤细胞增殖,导致肿瘤的发生^[48,49].

刘国平等^[50]采用链酶亲和素-生物素过氧化物酶(strept avidin biotin complex, SABC)免疫组织化学法检测CRC组织PTEN蛋白的表达,发现96例CRC组织中50例呈阳性表达,阳性率52.1%;46例癌旁组织中37例阳性表达,阳性率80.4%.而且PTEN蛋白表达水平降低与CRC细胞分化程度、淋巴结转移、Dukes分期呈正相关,提示PTEN基因在CRC的发生、发展、侵袭转移过程中起抑制作用.Sawai等研究表明^[51],PTEN的缺失在散发性CRC患者中发挥着重要作用,PTEN的低表达可能导致肿瘤复发.在发生肝脏转移的大肠癌患者中,PTEN缺失的患者预后比PTEN正常表达的差.PTEN很有可能成为K-ras野生型患者抗EGFR治疗的预后标志物^[52],PTEN对CRC患者预后的影响仍需要进一步的调查研究.

6 结论

CRC的发生、发展是多个基因及蛋白分子相互作用的过程,寻找判断其预后的分子生物学标志物,对指导结直肠癌的治疗有着重大意义.理想的预后指标,应该能够预测患者预后,对治疗

■创新盘点

本文对RHAMM、FOXP3⁺ Treg、HSP27、PIK3CA、PTEN等CRC潜在预后标志物的最新研究进展进行综述,使读者对CRC的预后标志物研究现状有更加全面的认识.

■应用要点

CRC的发生、发展是个复杂的多步骤过程,有些分子生物学的改变对预后的判断有积极意义,CRC潜在预后标志物对指导治疗、提高疗效有着重大意义.

■名词解释

透明质酸介导的细胞游走受体 (RHAMM): 该基因定位于人染色体5q33.2长臂末端, 在细胞周期、增殖、迁移及粘附过程等信号转导中发挥了关键的作用, RHAMM的高表达与肿瘤的演变及转移密切相关。

方案有一定的参考价值, 并且与肿瘤细胞的生物学行为相关, 还要有较高的特异性和灵敏性。由于缺少检测分子水平的定量技术, 很多分子生物学标志物的检测面临着技术难题。这些潜在的预后标志物能否用于临床实践, 还需要大量的临床实验进一步证实。

7 参考文献

- 1 王丽, 余英豪. 结直肠癌K-ras基因检测及其靶向治疗的研究现状. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 62-67
- 2 Bazan V, Migliavacca M, Zanna I, Tubiolo C, Grassi N, Latteri MA, La Farina M, Albanese I, Dardanoni G, Salerno S, Tomasino RM, Labianca R, Gebbia N, Russo A. Specific codon 13 K-ras mutations are predictive of clinical outcome in colorectal cancer patients, whereas codon 12 K-ras mutations are associated with mucinous histotype. *Ann Oncol* 2002; 13: 1438-1446
- 3 Heinemann V, Stintzing S, Kirchner T, Boeck S, Jung A. Clinical relevance of EGFR- and KRAS-status in colorectal cancer patients treated with monoclonal antibodies directed against the EGFR. *Cancer Treat Rev* 2009; 35: 262-271
- 4 Markman B, Javier Ramos F, Capdevila J, Taberero J. EGFR and KRAS in colorectal cancer. *Adv Clin Chem* 2010; 51: 71-119
- 5 Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van Cutsem E, Siena S, Freeman DJ, Juan T, Sikorski R, Suggs S, Radinsky R, Patterson SD, Chang DD. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1626-1634
- 6 Yen LC, Uen YH, Wu DC, Lu CY, Yu FJ, Wu IC, Lin SR, Wang JY. Activating KRAS mutations and overexpression of epidermal growth factor receptor as independent predictors in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab. *Ann Surg* 2010; 251: 254-260
- 7 Maxwell CA, Keats JJ, Belch AR, Pilarski LM, Reiman T. Receptor for hyaluronan-mediated motility correlates with centrosome abnormalities in multiple myeloma and maintains mitotic integrity. *Cancer Res* 2005; 65: 850-860
- 8 Assmann V, Marshall JF, Fieber C, Hofmann M, Hart IR. The human hyaluronan receptor RHAMM is expressed as an intracellular protein in breast cancer cells. *J Cell Sci* 1998; 111(Pt 12): 1685-1694
- 9 Wang C, Thor AD, Moore DH, Zhao Y, Kerschmann R, Stern R, Watson PH, Turley EA. The overexpression of RHAMM, a hyaluronan-binding protein that regulates ras signaling, correlates with overexpression of mitogen-activated protein kinase and is a significant parameter in breast cancer progression. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 567-576
- 10 Deschoolmeester V, Baay M, Specenier P, Lardon F, Vermorken JB. A review of the most promising biomarkers in colorectal cancer: one step closer to targeted therapy. *Oncologist* 2010; 15: 699-731
- 11 Assmann V, Jenkinson D, Marshall JF, Hart IR. The intracellular hyaluronan receptor RHAMM/IHABP interacts with microtubules and actin filaments. *J Cell Sci* 1999; 112(Pt 22): 3943-3954
- 12 Mohapatra S, Yang X, Wright JA, Turley EA, Greenberg AH. Soluble hyaluronan receptor RHAMM in-

- duces mitotic arrest by suppressing Cdc2 and cyclin B1 expression. *J Exp Med* 1996; 183: 1663-1668
- 13 Hall CL, Yang B, Yang X, Zhang S, Turley M, Samuel S, Lange LA, Wang C, Curpen GD, Savani RC, Greenberg AH, Turley EA. Overexpression of the hyaluronan receptor RHAMM is transforming and is also required for H-ras transformation. *Cell* 1995; 82: 19-26
- 14 郑建建, 朱方超, 杨宇, 刘乐平, 孙国羊, 谢辉, 陈必成. 结肠癌中RHAMM与ERK2的表达及其与临床病理特征的关系. *实用医学杂志* 2011; 27: 1760-1762
- 15 Lugli A, Zlobec I, Günthert U, Minoo P, Baker K, Tornillo L, Terracciano L, Jass JR. Overexpression of the receptor for hyaluronic acid mediated motility is an independent adverse prognostic factor in colorectal cancer. *Mod Pathol* 2006; 19: 1302-1309
- 16 Zlobec I, Minoo P, Baumhoer D, Baker K, Terracciano L, Jass JR, Lugli A. Multimarker phenotype predicts adverse survival in patients with lymph node-negative colorectal cancer. *Cancer* 2008; 112: 495-502
- 17 von Boehmer H. Mechanisms of suppression by suppressor T cells. *Nat Immunol* 2005; 6: 338-344
- 18 Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003; 299: 1057-1061
- 19 Viguier M, Lemaitre F, Verola O, Cho MS, Gorochov G, Dubertret L, Bachelez H, Kourilsky P, Ferradini L. Foxp3 expressing CD4+CD25(high) regulatory T cells are overrepresented in human metastatic melanoma lymph nodes and inhibit the function of infiltrating T cells. *J Immunol* 2004; 173: 1444-1453
- 20 Schubert LA, Jeffery E, Zhang Y, Ramsdell F, Ziegler SF. Scurfin (FOXP3) acts as a repressor of transcription and regulates T cell activation. *J Biol Chem* 2001; 276: 37672-37679
- 21 Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155: 1151-1164
- 22 Fontenot JD, Rudensky AY. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. *Nat Immunol* 2005; 6: 331-337
- 23 Khattri R, Cox T, Yasayko SA, Ramsdell F. An essential role for Scurfin in CD4+CD25+ T regulatory cells. *Nat Immunol* 2003; 4: 337-342
- 24 Loddenkemper C, Schernus M, Noutsias M, Stein H, Thiel E, Nagorsen D. In situ analysis of FOXP3+ regulatory T cells in human colorectal cancer. *J Transl Med* 2006; 4: 52
- 25 Woo EY, Chu CS, Goletz TJ, Schlienger K, Yeh H, Coukos G, Rubin SC, Kaiser LR, June CH. Regulatory CD4(+)CD25(+) T cells in tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 4766-4772
- 26 Ling KL, Pratap SE, Bates GJ, Singh B, Mortensen NJ, George BD, Warren BF, Piris J, Roncador G, Fox SB, Banham AH, Cerundolo V. Increased frequency of regulatory T cells in peripheral blood and tumour infiltrating lymphocytes in colorectal cancer patients. *Cancer Immunol* 2007; 7: 7
- 27 Salama P, Phillips M, Grieff F, Morris M, Zeps N, Joseph D, Platell C, Iacopetta B. Tumor-infiltrating FOXP3+ T regulatory cells show strong prognostic

- significance in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 186-192
- 28 Garrido C, Brunet M, Didelot C, Zermati Y, Schmitt E, Kroemer G. Heat shock proteins 27 and 70: anti-apoptotic proteins with tumorigenic properties. *Cell Cycle* 2006; 5: 2592-2601
- 29 Ciocca DR, Calderwood SK. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications. *Cell Stress Chaperones* 2005; 10: 86-103
- 30 Rocchi P, Jugpal P, So A, Sinneman S, Ettinger S, Fazli L, Nelson C, Gleave M. Small interference RNA targeting heat-shock protein 27 inhibits the growth of prostatic cell lines and induces apoptosis via caspase-3 activation in vitro. *BJU Int* 2006; 98: 1082-1089
- 31 Rocchi P, Beraldi E, Ettinger S, Fazli L, Vessella RL, Nelson C, Gleave M. Increased Hsp27 after androgen ablation facilitates androgen-independent progression in prostate cancer via signal transducers and activators of transcription 3-mediated suppression of apoptosis. *Cancer Res* 2005; 65: 11083-11093
- 32 Feng JT, Liu YK, Song HY, Dai Z, Qin LX, Almofti MR, Fang CY, Lu HJ, Yang PY, Tang ZY. Heat-shock protein 27: a potential biomarker for hepatocellular carcinoma identified by serum proteome analysis. *Proteomics* 2005; 5: 4581-4588
- 33 Geisler JP, Geisler HE, Tammela J, Miller GA, Wiemann MC, Zhou Z. A study of heat shock protein 27 in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1999; 72: 347-350
- 34 Liu W, Ma Y, Huang L, Peng J, Zhang P, Zhang H, Chen J, Qin H. Identification of HSP27 as a potential tumor marker for colorectal cancer by the two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Mol Biol Rep* 2010; 37: 3207-3216
- 35 Wang F, Zhang P, Shi C, Yang Y, Qin H. Immunohistochemical detection of HSP27 and hnRNP K as prognostic and predictive biomarkers for colorectal cancer. *Med Oncol* 2011 Aug 23. [Epub ahead of print]
- 36 Karakas B, Bachman KE, Park BH. Mutation of the PIK3CA oncogene in human cancers. *Br J Cancer* 2006; 94: 455-459
- 37 Franke TF, Yang SI, Chan TO, Datta K, Kazlauskas A, Morrison DK, Kaplan DR, Tsichlis PN. The protein kinase encoded by the Akt proto-oncogene is a target of the PDGF-activated phosphatidylinositol 3-kinase. *Cell* 1995; 81: 727-736
- 38 Toker A, Yoeli-Lerner M. Akt signaling and cancer: surviving but not moving on. *Cancer Res* 2006; 66: 3963-3966
- 39 Jehan Z, Bavi P, Sultana M, Abubaker J, Bu R, Husain A, Alsbeih G, Al-Sanea N, Abduljabbar A, Ashari LH, Alhomoud S, Al-Dayel F, Uddin S, Al-Kuraya KS. Frequent PIK3CA gene amplification and its clinical significance in colorectal cancer. *J Pathol* 2009; 219: 337-346
- 40 Kato S, Iida S, Higuchi T, Ishikawa T, Takagi Y, Yasuno M, Enomoto M, Uetake H, Sugihara K. PIK3CA mutation is predictive of poor survival in patients with colorectal cancer. *Int J Cancer* 2007; 121: 1771-1778
- 41 Ogino S, Noshio K, Kirkner GJ, Shima K, Irahara N, Kure S, Chan AT, Engelman JA, Kraft P, Cantley LC, Giovannucci EL, Fuchs CS. PIK3CA mutation is associated with poor prognosis among patients with curatively resected colon cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1477-1484
- 42 Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, Silliman N, Ptak J, Szabo S, Yan H, Gazdar A, Powell SM, Riggins GJ, Willson JK, Markowitz S, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science* 2004; 304: 554
- 43 Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F, Veronese S, Nichelatti M, Artale S, Di Nicolantonio F, Saletti P, De Dosso S, Mazzucchelli L, Frattini M, Siena S, Bardelli A. PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. *Cancer Res* 2009; 69: 1851-1857
- 44 Tejpar S, Odze RD. Accomplishments in 2008 in biologic markers for gastrointestinal cancers-focus on colorectal cancer. *Gastrointest Cancer Res* 2009; 3: S73-S78
- 45 Di Cristofano A, Pandolfi PP. The multiple roles of PTEN in tumor suppression. *Cell* 2000; 100: 387-390
- 46 Goel A, Arnold CN, Niedzwiecki D, Carethers JM, Dowell JM, Wasserman L, Compton C, Mayer RJ, Bertagnolli MM, Boland CR. Frequent inactivation of PTEN by promoter hypermethylation in microsatellite instability-high sporadic colorectal cancers. *Cancer Res* 2004; 64: 3014-3021
- 47 Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, Yung WK, Lin H, Ligon AH, Langford LA, Baumgard ML, Hattier T, Davis T, Frye C, Hu R, Swedlund B, Teng DH, Tavtigian SV. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet* 1997; 15: 356-362
- 48 Colakoglu T, Yildirim S, Kayaselcuk F, Nursal TZ, Ezer A, Noyan T, Karakayali H, Haberal M. Clinicopathological significance of PTEN loss and the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway in sporadic colorectal neoplasms: is PTEN loss predictor of local recurrence? *Am J Surg* 2008; 195: 719-725
- 49 Velasco A, Bussaglia E, Pallares J, Dolcet X, Llobet D, Encinas M, Llecha N, Palacios J, Prat J, Matias-Guiu X. PIK3CA gene mutations in endometrial carcinoma: correlation with PTEN and K-RAS alterations. *Hum Pathol* 2006; 37: 1465-1472
- 50 刘国平, 何雄文, 牛美兰. PTEN基因与结直肠癌发生发展侵袭转移关系的研究. *医药论坛杂志* 2009; 17: 44-45
- 51 Sawai H, Yasuda A, Ochi N, Ma J, Matsuo Y, Wakasugi T, Takahashi H, Funahashi H, Sato M, Takeyama H. Loss of PTEN expression is associated with colorectal cancer liver metastasis and poor patient survival. *BMC Gastroenterol* 2008; 8: 56
- 52 Laurent-Puig P, Cayre A, Manceau G, Buc E, Bachet JB, Lecomte T, Rougier P, Lievre A, Landi B, Boige V, Ducreux M, Ychou M, Bibeau F, Bouché O, Reid J, Stone S, Penault-Llorca F. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5924-5930

■同行评价
本文对RHAMM、FOXP3⁺ Treg、HSP27、PIK3CA、PTEN等CRC潜在预后标志物的研究进展进行综述,对CRC预后标志物的临床应用与研究有一定意义,且文章结构合理、叙述有条理,参考价值较大。

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

回盲部病变诊断的研究进展

孔文霞, 高青

■背景资料

回盲部是多种肠道疾病的好发部位, 鉴别诊断困难, 其诊断需病史、临床特征、影像学及内镜病检的综合支持。随着各种新的影像及内镜技术的发展, 回盲部疾病的检出率大大提高。

孔文霞, 高青, 重庆医科大学附属第一医院消化内科 重庆市 400016

孔文霞, 硕士, 主要从事消化系疾病的研究。

作者贡献分布: 本文综述由孔文霞完成; 高青审校。

通讯作者: 高青, 主任医师, 400016, 重庆市渝中区袁家岗友谊路1号, 重庆医科大学附属第一医院消化内科。

gaoqing27@yahoo.com.cn

电话: 023-89012020

收稿日期: 2012-06-12 修回日期: 2012-07-08

接受日期: 2012-08-06 在线出版日期: 2012-09-08

Progress in the diagnosis of ileocecal lesions

Wen-Xia Kong, Qing Gao

Wen-Xia Kong, Qing Gao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Correspondence to: Qing Gao, Chief Physician, 1 Youyi Road, Yuzhong District, Chongqing 400016,

China. gaoqing27@yahoo.com.cn

Received: 2012-06-12 Revised: 2012-07-08

Accepted: 2012-08-06 Published online: 2012-09-08

Abstract

The ileocecal area includes the ileocecal valve, terminal ileum, cecum, appendix, and top ascending colon. Since this area may be affected by pathologic conditions that are either common throughout the gastrointestinal system or exclusive to this area, a great variety of intestinal diseases may arise in this region, making the diagnosis of ileocecal lesions difficult. In clinic, the diagnosis of ileocecal lesions depends on the combination of disease history, clinical features, imaging and endoscopic findings. The development of advanced imaging and endoscopy technology has greatly increased the detection rate of ileocecal lesions. In this review, we discuss the use of imaging and endoscopic examinations for evaluation of ileocecal area to help ensure accurate diagnosis and appropriate treatment.

Key Words: Ileocecal lesions; Imaging technology; Endoscopic examination; Diagnosis

■同行评议者

沈琳, 主任医师, 北京大学临床肿瘤医院消化内科

Kong WX, Gao Q. Progress in the diagnosis of ileocecal lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2382-2387

摘要

回盲部包括回盲瓣、回肠末段、盲肠、阑尾及升结肠始段, 该部位可受到来自消化系及其以外的各种致病因素的影响, 是多种肠道疾病的好发部位, 鉴别诊断困难, 其诊断需病史、临床特征、影像学及内镜病检的综合支持。随着各种新的影像及内镜技术的发展, 回盲部疾病的检出率在不断提高。本文将综合对回盲部病变的内镜及影像学检查及相应的优势及劣势进行综述, 为临床医师在诊治该部位病变时提供参考。

关键词: 回盲部病变; 影像技术; 内镜检查; 诊断

孔文霞, 高青. 回盲部病变诊断的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20(25): 2382-2387

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2382.asp>

0 引言

回盲部为消化系的“中间地带”, 由于该区结构复杂, 淋巴组织丰富, 肠内容物在此停留时间长, 其特殊的解剖结构和生理功能, 已成为炎症、癌肿、结核等多种消化系疾病的好发部位, 但临床表现多无明显的特异性。对回盲部病变仅凭内镜表现确定其性质常常比较困难, 即使结合病理活检, 除了排除恶性病变外, 也很难提供特异性的病理改变, 其诊断仍需依靠病史、临床特征、影像学、内镜及病检的综合支持。随着各种影像学及内镜技术的发展, 回盲部疾病的检出率在不断提高。

1 回盲部解剖结构和生理特点

1.1 解剖结构 回盲部位于右髂窝, 在解剖上包括回肠末段、盲肠、升结肠近端、回盲瓣和阑尾。临床通常使用的回盲部一词, 并无特定的解剖学标界。在X线诊断上, 一般将回肠终末15 cm左右的一段末段回肠、回盲瓣、盲肠、近侧半升结肠及阑尾作为回盲部的范围^[1]。也有研究者^[2]认为回盲部区是以回盲瓣为中心, 包括盲肠、阑尾、末端回肠和升结肠起始部各10 cm的区域。盲肠为大肠起始部, 粗而短, 几乎不参与肠内容

物的排泄, 无系膜, 活动度大, 故在X线造影或CT检查中该部位息肉常因盲肠运动易被误认为粪便而造成漏诊^[3]. 回盲瓣作为一个机械性屏障, 可以控制小肠内容物进入盲肠的速度, 使食糜在小肠内有足够时间的停留并得到充分消化和吸收, 避免消化吸收紊乱, 又可防止大肠内容物逆流回肠, 因此回盲瓣在结肠细菌大量繁殖进而侵犯小肠中起一定的保护作用^[4].

1.2 生理特点 回盲部淋巴组织非常丰富, 作为肠黏膜的免疫屏障, 淋巴组织产生的免疫应答在抵御病原体的入侵中起重要的保护作用, 同时导致了易侵犯淋巴系统的疾病在此部位多发生, 如肠结核、淋巴瘤等, 此处肠腔宽, 食糜停留时间长, 为细菌繁殖提供了条件, 故回盲区炎症性病变的发生率高. 回盲部粪便多保持稀糊状, 对病灶刺激微弱, 加之肠壁薄易扩张, 故早期病变容易被忽略, 特别是回盲部癌肿, 位置隐蔽, 且较少引起肠梗阻, 肿块不易被摩擦引起出血, 易造成患者就诊延迟.

2 回盲部病变的构成

回盲部病变以一般炎性病变占首位, 回盲部恶性肿瘤次之, 息肉第三, 肠结核、淋巴瘤、溃疡性结肠炎及克罗恩病等少见, 我国多项大型临床研究报道结果均较一致^[5]. 炎性病变中以阑尾炎最常见.

3 影像学检查

回盲部病变的诊断, 影像学检查尤为重要, 消化系统钡餐能显示肠黏膜及其功能改变, 超声检查显示肠壁增厚、包块囊实性及血流变化情况, CT具有敏锐的密度分辨率, 能较好地显示病变, 尤其能准确评估肠壁、肠系膜和肠腔外组织的受侵范围, 日益受到临床重视.

3.1 X线造影 采用气钡双重造影法, 能明显扩张并清楚显示回盲部解剖关系, 并可纵向了解整个消化系统病变分布情况, 但不能提供回盲部病变的肠腔外表现^[6]. X线造影对于阑尾炎诊断价值小, 表现为阑尾呈分节状, 腔内的钡剂排空时间延长及阑尾未显影等, 但Schisgall^[7]报道钡灌肠有58%的正常阑尾不显影; 息肉显示为圆形或椭圆形的充盈缺损, 轮廓光滑整齐, 肠壁柔软; 癌肿的充盈缺损大, 轮廓有分叶征及僵硬感, 伴黏膜破坏, 龛影位于腔内的充盈缺损中, 周围伴有指压迹及裂隙征, 病变范围相对局限^[8]; 溃疡性结肠炎表现为多发小龛影突出肠腔外而使

管壁边缘毛糙呈毛刺状及锯齿状, 溃疡之间黏膜增生形成多个假性息肉, 充盈像上表现为小圆形充盈缺损^[9]; 肠结核病变呈连续性, 早期有“跳跃征”, 随着病变发展肠壁出现环形龛影, 病变后期, 由于疤痕挛缩使受累回肠末端、盲肠及回盲瓣变窄、缩短, 呈现“一字征”, 较具特征性^[10]; 克罗恩病病变为节段性、边界清楚, 纵行裂隙样溃疡及黏膜改变形成“鹅卵石征”具有特异性, 且容易形成肠瘘、腹腔脓肿, 同时发现病变累及小肠时应高度怀疑^[11].

3.2 超声检查 超声检查方便、价格低廉, 可多次重复有利于病变的动态观察, 无禁忌症, 能提示肿块大小及囊实性的鉴别, 腹腔有无积液、脓肿、转移灶等并发症, 运用彩色多普勒超声可了解病变血供情况, 同时对炎性水肿或纤维增生所致的肠壁增厚有较好的鉴别^[12], 对比增强超声(contrast-enhanced ultrasonography, CEUS)是将第2代超声对比增强剂与低机械指数的实时谐波超声结合在一起, 对于肠壁小血管的可视化有较高的分辨率.

阑尾病变可表现为阑尾肿大, 壁厚, 彩色血流信号点状或略丰富, 周围渗出明显, 并可发现是否合并有周围脓肿等^[13]; 克罗恩病的超声检查对于并发症如脓肿、窦道、穿孔、肠腔狭窄等有较高的诊断准确性^[14]. 克罗恩病的早期病理变化是肠壁内新生血管形成^[15], 而CEUS实现了对肠壁小血管的实时可视化, 并且有与CT和磁共振成像相当的分辨率^[16,17], 可用以评估克罗恩病的活动度, 有利于临床灵活制定合理的治疗方案并可对克罗恩病的治疗效果进行监测^[18]. 克罗恩病具有反复发作的特点, 需长期随访监测, CT相对高昂的价格和离子辐射的危险限制了其在克罗恩病患者中的应用, 肠镜作为一种侵入性检测, 不易为患者长期接受, 故CEUS可作为理想的克罗恩病的评估及随访方法^[19].

3.3 多层螺旋CT 多层螺旋CT(MDCT)被认为是最好的评估回盲部病变的影像学检查, 随着MDCT后处理功能的不断发展和完善, 其在肠道病变方面的应用研究日益增多^[20], 在横断位观察基础上, 通过后处理功能包括多平面重组(multiplanar reconstruction, MPR)和曲面重组(curved planar reformation, CPR)技术能够从不能角度整体观察回盲区情况, 做到观察的连续性和完整性, 尤其是CT结肠成像(CT colonography, CTC)技术, 包括多排螺旋CT仿真结肠镜技术(CT virtual colonography, CTVC)、透明显示(Ray

■ 研发前沿
回盲部病变的鉴别诊断困难, 目前尚无特异性的检查方法, CT结肠成像技术及新的内镜检查技术是当前研究的热点及方向.

■ 创新盘点

结合多层螺旋CT表现,回盲部病变应用放大内镜联合窄带成像技术、超声内镜等新的内镜检查技术提高了病变检出率。

Sum)等,他利用计算机软件功能,将螺旋CT容积扫描获得的图像数据进行三维后处理,重建出类似纤维内窥镜所见的空腔脏器内表面的立体图像。与纤维结肠镜相比,患者不需要向体内插入任何的金属器械,安全、舒适,没有损伤、出血等并发症,可以良好的展现结肠内外整体效果、三维形态和毗邻关系^[21],故CTC对回盲部病变的结构及与周围组织的关系显示有巨大优势,不仅清楚显示病灶本身不同组织的细微特征的特点,配合对比剂应用增强有利于良恶性鉴别,提高了对病灶的定性诊断准确率,而且能显示其与邻近组织结构、血管关系及腹膜后的改变,从而全面了解病变的范围及评估病变的严重程度,为临床确定治疗方案提供依据^[22]。

阑尾炎表现为平扫见阑尾增粗,边界模糊,周围脂肪间隙内见云雾状高密度影,增强扫描见阑尾壁均匀强化^[23];CTC可以发现直径2-5 mm的息肉,与肠镜相比,其检出直径>10 mm的息肉病变的总体敏感性为94%-100%^[24-26];癌肿表现为肠壁僵硬且增多多>3 cm,有不规则的肿块,与周围正常肠壁分界清楚,偏心性肠管狭窄,增强扫描肿块多表现为不均匀强化、中央坏死、囊变区无强化^[27];肠结核表现为受累肠壁及回盲瓣的不规则明显增厚,增强扫描病段有分层显像,当见腹腔肿大淋巴结呈环状分隔样强化及融合多环状强化时应高度怀疑结核^[28];溃疡性结肠炎表现为连续性肠壁增厚,病段肠壁厚度大致均匀且为对称性改变,黏膜面出现多发小溃疡和小息肉,可出现分层现象,表现为“靶征”或“双晕征”;克罗恩病表现为受累肠段沿肠轴方向较均匀一致性增厚,病变节段跳跃性分布,可见肠系膜增厚粘连、移位性脂肪、脂肪纤维增生,发现瘘管、窦道、脓肿等相关并发症时更支持其诊断^[29]。

3.4 正电子发射断层扫描-计算机断层扫描仪显像 正电子发射断层扫描(positron emission tomography, PET)是一种进行功能代谢显像的分子影像学设备,通过病灶部位对示踪剂的摄取了解病灶功能代谢状态, PET/CT一次显像即可获得形态和功能信息,实现了解剖学成像和组织成像的完美融合,不但能方便检测微小病变,还能提供精确的解剖定位。

3.4.1 氟-18-脱氧葡萄糖:将CT高的解剖形态分辨率和PET获取的分子水平的功能与代谢信息相结合的氟-18-脱氧葡萄糖(18F-DG PET/CT)大大提高了肿瘤的检测率。恶性肿瘤细胞的存活

数量和增殖活性决定了肿瘤组织的葡萄糖代谢水平,18F-DG是一种天然的葡萄糖类似物,作为肿瘤显像剂,其摄取强度与肿瘤的恶性程度和预后相关。故对于回盲部癌肿的诊断、分期方面18F-DG PET/CT有较高的价值^[30-32],但结核、炎症、肉芽肿以及一些良性肿瘤等也存在不同程度的FDG浓聚区, PET/CT常受其影响,存在一定比率的假阳性和假阴性^[33],临床上尚需结合其他影像学手段进行回盲部病变的鉴别诊断。

3.4.2 99Tc-六甲基丙二胺胍标记白细胞扫描(99Tcm-HMPAO-labeled leukocyte scintigraphy, TLLS):99Tcm-HMPAO-WBC作为一种炎症显像剂,其中99Tcm-HMPAO为脂溶性物质,可自由进入WBC内而变为水溶性物质,滞留于胞浆中,WBC具有强烈的趋化性,可向炎症部位聚集,99Tcm释放 γ 射线可显示99Tcm-HMPAO-WBC的体内分布情况,从而用于准确诊断体内炎性病灶。故回盲部病变中,TLLS对于炎性病灶的诊断及评估炎症程度有很高的价值。急性阑尾炎可表现为右下腹条索状浓聚,99Tcm-HMPAO-WBC显像可快速、准确地诊断或排除急性阑尾炎,降低阑尾炎的阴性开腹率,值得用于阑尾炎的急诊诊断^[34]。对于炎症性肠病,99Tcm-HMPAO-WBC显像可早期诊断、确定病变部位和范围^[35,36],观察疗效以及预后评估,也可用于在活动性病变期或有严重并发症存在而不能行结肠镜检查者的病情评价中^[37,38]。

4 内镜检查

4.1 普通纤维结肠镜检查及内镜下病检 肠镜检查可在直视状态下观察肠腔,并可对病变部位取材病理活检,是肠道病变的首选检查,但仅能观察到肠腔黏膜表面病变,不能对病变厚度、肠壁外生性病变进行观察及评估肠腔外表现。

阑尾炎内镜下表现为阑尾口部黏膜不规则,略凹陷,边缘粗糙变形,周围黏膜充血、水肿、脆性增加,病理学检查为阑尾各层有中性粒细胞浸润^[39];癌肿表现为不规则隆起伴溃疡,呈菜花状,病变范围局限;溃疡性结肠炎为弥漫性改变,溃疡呈针尖样多发性浅溃疡,溃疡间黏膜可形成假性息肉,病检主要为弥漫性炎性细胞浸润、隐窝上皮增生、隐窝脓肿形成;肠结核的溃疡呈环形分布,多数溃疡均非浅表性,干酪样肉芽肿、肉芽肿数目增多且相互融合是其典型病理学特点^[40],但活检通常不典型,与克罗恩病难以鉴别。Kirsch等^[41]研究发现,肉芽肿直径

>0.05 mm的比率在肠结核组中较克罗恩病显著增多, 具有鉴别价值; 克罗恩病最早的损害是黏膜淋巴小结上形成的阿弗他溃疡, 呈节段性分布, 随着溃疡扩展融合, 表现为纵行裂隙状溃疡, 黏膜隆起呈鹅卵石样改变, 具有特异性, 病检为跳跃性裂隙状溃疡、结节样非干酪样肉芽肿、肠壁各层炎症细胞浸润。

4.2 微探头超声内镜联合放大内镜及窄带成像技术 随着内镜技术的发展, 目前内镜窄带成像技术(narrow-band imaging, NBI)、放大内镜(magnified endoscope, ME)、微探头超声内镜(miniprobe sonography, MPS)已在临床工作中广泛使用, 使得胃肠道病变的诊断准确率及癌肿的早期病变检出率在不断提高^[42]。

4.2.1 NBI结合ME技术: NBI是一种非侵入性光学增强技术, 他通过使用干扰滤光器产生窄谱红、绿和蓝光作用与靶器官, 增加上皮表面及其下方血管的对比度, 与放大内镜联合, 能对消化系病变的病灶表面腺体开口(Pit)和微血管形态显示清晰, 他的视觉效果具有获得内镜下染色同等效果的可能性^[43], 与放大色素内镜相比, 无需喷洒色素, 在操作上简单易行, 只需进行模式切换, 并可行靶向活检, 对于肠道病变的肿瘤及非肿瘤性的鉴别有很好的诊断能力, 能明显提高早期癌, 特别是平坦和凹陷性病灶的诊断率^[44,45]。对于炎症性肠病, 患病时间越长, 病变癌变的可能性越高, 而这种类型早期癌的诊断困难, Danese等^[46]研究报告显示: 一些在白光大肠镜下认为正常的黏膜, 应用NBI加ME有阳性发现, 其血管生成明显增加, 因此认为NBI可以提供更多的信息以诊断炎症性肠病的严重程度。

4.2.2 微探头超声内镜: 临床上消化系隆起病变靠常规内镜观察常不能明确隆起病变的性质和病变层次范围, 而超声内镜弥补了这一不足^[47]。MPS是经内镜活检通道插入微探头进行扫描检查病变, 能够清楚显示肿块边界、大小及包膜, 对了解病变的起源、性质, 正确区分消化道腔内外的病变有重要临床价值。与常规超声内镜相比, MPS最大优点在于肠道因病变狭窄致内镜不能通过者, 微探头能够插入通过狭窄部位^[48,49]。

结合上述技术特点优势, 先对消化系隆起病灶表面Pit形态和微血管形态进行细致清晰的观察分析, 以明确病变的范围边界, 再予MPS了解消化系隆起性病变的来源层次和侵犯层次, 确定病变的深度。三者联合能判断隆起病变的肿

瘤性与非肿瘤性, 对消化系隆起性病变的起源具有准确的定位作用, 并能提示病变的性质, 尤其是对于早期肿瘤有极高的诊断正确性, 对于进一步治疗有明确的临床指导价值。

5 结论

随着工业化进程和环境等变化, 克罗恩病在中国等发展中国家发病率呈升高趋势^[50,51], 肠结核仍维持高发状态, 两者的鉴别诊断尤为困难, 相互误诊率日益增高, 有的患者甚至两种疾病重叠发生, 在多种辅助检查均无法较好鉴别的情况下须进行诊断性治疗。随着回盲部辅助检查方法的不断改进及新的检查方法的出现, 该部位病变尤其肿瘤更容易早期诊断且准确率不断升高, MDCT结肠成像技术、NBI及MPS的前景值得临床广泛应用, 继而有利于临床工作者积极采取有效的治疗手段。

6 参考文献

- 尚克中, 陈九如. 胃肠道造影原理与诊断. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1995: 280
- Hoeffel C, Crema MD, Belkacem A, Azizi L, Lewin M, Arrivé L, Tubiana JM. Multi-detector row CT: spectrum of diseases involving the ileocecal area. *Radiographics* 2006; 26: 1373-1390
- Pearce JM. Henry Gray's Anatomy. *Clin Anat* 2009; 22: 291-295
- Folaranmi S, Rakoczy G, Bruce J, Humphrey G, Bowen J, Morabito A, Kapur P, Morecroft J, Craigie R, Cserni T. Ileocaecal valve: how important is it? *Pediatr Surg Int* 2011; 27: 613-615
- 彭文岗, 张铭. 肠镜检查回盲部病变476例. *肿瘤研究与临床* 2010; 22: 852-853
- Rubessin SE, Maglante DD. Double-contrast barium enema technique. *Radiol Clin North Am* 2003; 41: 365-376
- Schisgall RM. Use of the barium swallow in the diagnosis of acute appendicitis. *Am J Surg* 1983; 146: 663-667
- Claridge LC. Barium enema and diagnosis of colorectal cancer. *BMJ* 2011; 343: d7704
- Carucci LR, Levine MS. Radiographic imaging of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2002; 31: 93-117, ix
- Dutta AK, Sahu MK, Gangadharan SK, Chacko A. Distinguishing Crohn's disease from intestinal tuberculosis—a prospective study. *Trop Gastroenterol* 2011; 32: 204-209
- Gatta G, Di Grezia G, Di Mizio V, Landolfi C, Mansi L, De Sio I, Rotondo A, Grassi R. Crohn's disease imaging: a review. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 816920
- Wilson SR. Gastrointestinal tract sonography. *Abdom Imaging* 1996; 21: 1-8
- Kim YS, Kim Y, Cho OK, Koh BH, Rhim H, Park DW, Park CK. Sonography for right lower quadrant pain. *J Clin Ultrasound* 2001; 29: 157-185
- Winges SA, Kornatz KW, Santello M. Common input to motor units of intrinsic and extrinsic hand

■应用要点

本文对回盲部病变的内镜、影像学检查及两者的优劣势进行综述, 对临床医生选择检查方式有指导意义。

■同行评价

本文综述了回盲部病变内镜及影像学的诊断进展,内容合理、全面,立题新颖,文章侧重临床,对临床医生诊治回盲部病变有一定的指导意义。

- muscles during two-digit object hold. *J Neurophysiol* 2008; 99: 1119-1126
- 15 Thornton M, Solomon MJ. Crohn's disease: in defense of a microvascular aetiology. *Int J Colorectal Dis* 2002; 17: 287-297
 - 16 Malagò R, D'Onofrio M, Mantovani W, D'Alpaos G, Foti G, Pezzato A, Caliarì G, Cusumano D, Benini L, Pozzi Mucelli R. Contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) vs. MRI of the small bowel in the evaluation of Crohn's disease activity. *Radiol Med* 2012; 117: 268-281
 - 17 De Franco A, Di Veronica A, Armuzzi A, Roberto I, Marzo M, De Pascalis B, De Vitis I, Papa A, Bock E, Danza FM, Bonomo L, Guidi L. Ileal Crohn disease: mural microvascularity quantified with contrast-enhanced US correlates with disease activity. *Radiology* 2012; 262: 680-688
 - 18 Chatu S, Pilcher J, Saxena SK, Fry DH, Pollok RC. Diagnostic accuracy of small intestine ultrasonography using an oral contrast agent in Crohn's disease: comparative study from the UK. *Clin Radiol* 2012; 67: 553-559
 - 19 Jaffe TA, Gaca AM, Delaney S, Yoshizumi TT, Toncheva G, Nguyen G, Frush DP. Radiation doses from small-bowel follow-through and abdominopelvic MDCT in Crohn's disease. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 189: 1015-1022
 - 20 Gluecker TM, Johnson CD, Harmsen WS, Offord KP, Harris AM, Wilson LA, Ahlquist DA. Colorectal cancer screening with CT colonography, colonoscopy, and double-contrast barium enema examination: prospective assessment of patient perceptions and preferences. *Radiology* 2003; 227: 378-384
 - 21 Iannaccone R, Laghi A, Catalano C, Brink JA, Mangiapane F, Trenna S, Piacentini F, Passariello R. Detection of colorectal lesions: lower-dose multi-detector row helical CT colonography compared with conventional colonoscopy. *Radiology* 2003; 229: 775-781
 - 22 Szenes M, Nagy G, Gyömbér E, Girán B, Fischer T, Völgyi Z, Gasztonyi B. [Experience with CT colonography (virtual colonoscopy) from the view of gastroenterologists]. *Orv Hetil* 2008; 149: 1161-1165
 - 23 Kim K, Kim YH, Kim SY, Kim S, Lee YJ, Kim KP, Lee HS, Ahn S, Kim T, Hwang SS, Song KJ, Kang SB, Kim DW, Park SH, Lee KH. Low-dose abdominal CT for evaluating suspected appendicitis. *N Engl J Med* 2012; 366: 1596-1605
 - 24 Chaparro Sánchez M, del Campo Val L, Maté Jiménez J, Cantero Perona J, Barbosa A, Olivares D, Khorrami S, Moreno-Otero R, Gisbert JP. Computed tomography colonography compared with conventional colonoscopy for the detection of colorectal polyps. *Gastroenterol Hepatol* 2007; 30: 375-380
 - 25 Qin MW, Pan WD, Cong GN, Wang Y, Zhang YQ, Liang JX. Application of computed tomographic colonography in diagnosis of colonic polyps. *Chin Med Sci J* 2009; 24: 36-40
 - 26 Sutherland T, Coyle E, Lee WK, Lui B. Diagnosing colorectal polyps and masses - the use of CT colonography. *Aust Fam Physician* 2011; 40: 117-120
 - 27 Pickhardt PJ, Hassan C, Halligan S, Marmo R. Colorectal cancer: CT colonography and colonoscopy for detection--systematic review and meta-analysis. *Radiology* 2011; 259: 393-405
 - 28 Silva AC, Beaty SD, Hara AK, Fletcher JG, Fidler JL, Menias CO, Johnson CD. Spectrum of normal and abnormal CT appearances of the ileocecal valve and cecum with endoscopic and surgical correlation. *Radiographics* 2007; 27: 1039-1054
 - 29 Lee SS, Kim AY, Yang SK, Chung JW, Kim SY, Park SH, Ha HK. Crohn disease of the small bowel: comparison of CT enterography, MR enterography, and small-bowel follow-through as diagnostic techniques. *Radiology* 2009; 251: 751-761
 - 30 Jadvar H. Colonic FDG uptake pattern in subjects receiving oral contrast with no known or suspected colonic disease. *Clin Nucl Med* 2011; 36: 754-756
 - 31 Brush J, Boyd K, Chappell F, Crawford F, Dozier M, Fenwick E, Glanville J, McIntosh H, Renehan A, Weller D, Dunlop M. The value of FDG positron emission tomography/computerised tomography (PET/CT) in pre-operative staging of colorectal cancer: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 2011; 15: 1-192, iii-iv
 - 32 Sanli Y, Kuyumcu S, Ozkan ZG, Kilic L, Balik E, Turkmen C, Has D, Isik G, Asoglu O, Kapran Y, Adalet I. The utility of FDG-PET/CT as an effective tool for detecting recurrent colorectal cancer regardless of serum CEA levels. *Ann Nucl Med* 2012 May 30. [Epub ahead of print]
 - 33 Abouzi MM, Crawford ES, Nabi HA. 18F-FDG imaging: pitfalls and artifacts. *J Nucl Med Technol* 2005; 33: 145-155; quiz 162-163
 - 34 Shung-Shung S, Yu-Chien S, Mei-Due Y, Hwei-Chung W, Kao A. Improving the diagnosis of acute appendicitis with atypical findings by Tc-99m HMPAO leukocyte scan. *Nuklearmedizin* 2002; 41: 37-41
 - 35 Mota LG, Coelho LG, Simal CJ, Ferrari ML, Toledo C, Martin-Comin J, Diniz SO, Cardoso VN. Leukocyte-technetium-99m uptake in Crohn's disease: does it show subclinical disease? *World J Gastroenterol* 2010; 16: 365-371
 - 36 Grassi R, Rambaldi PF, Di Grezia G, Mansi L, Cucurullo V, Cirillo A, Riegler G, Cappabianca S, Rotondo A. Inflammatory bowel disease: value in diagnosis and management of MDCT-enteroclysis and 99mTc-HMPAO labeled leukocyte scintigraphy. *Abdom Imaging* 2011; 36: 372-381
 - 37 Aydin F, Dinçer D, Güngör F, Boz A, Akça S, Yıldız A, Tosun O, Karayalçın B. Technetium-99m hexamethyl propylene amine oxime-labeled leukocyte scintigraphy at three different times in active ulcerative colitis: comparison with colonoscopy and clinico-biochemical parameters in the assessment of disease extension and severity. *Ann Nucl Med* 2008; 22: 371-377
 - 38 Sans M, Fuster D, Llach J, Lomeña F, Bordas JM, Herranz R, Piqué JM, Panés J. Optimization of technetium-99m-HMPAO leukocyte scintigraphy in evaluation of active inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 1828-1835
 - 39 Simsek Z, Altınbaş A, Uskudar O, Han U. Role of colonoscopy in the diagnosis of acute appendicitis. *Dig Endosc* 2012; 24: 50
 - 40 李学锋, 周明欢, 卢放根, 邹益友, 文继舫, 刘宇, 崔熠, 刘小伟. 克罗恩病和肠结核活检及手术标本的病理学特征分析148例. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 409-412
 - 41 Kirsch R, Pentecost M, Hall Pde M, Epstein DP, Watermeyer G, Friederich PW. Role of colonoscopic biopsy in distinguishing between Crohn's disease and intestinal tuberculosis. *J Clin Pathol* 2006; 59: 840-844
 - 42 Wallace MB, Kiesslich R. Advances in endoscopic imaging of colorectal neoplasia. *Gastroenterology* 2010; 138: 2140-2150

- 43 Chiu HM, Chang CY, Chen CC, Lee YC, Wu MS, Lin JT, Shun CT, Wang HP. A prospective comparative study of narrow-band imaging, chromoendoscopy, and conventional colonoscopy in the diagnosis of colorectal neoplasia. *Gut* 2007; 56: 373-379
- 44 Singh R, Nordeen N, Mei SL, Kaffes A, Tam W, Saito Y. West meets East: preliminary results of narrow band imaging with optical magnification in the diagnosis of colorectal lesions: a multicenter Australian study using the modified Sano's classification. *Dig Endosc* 2011; 23 Suppl 1: 126-130
- 45 Ikematsu H, Saito Y, Tanaka S, Uraoka T, Sano Y, Horimatsu T, Matsuda T, Oka S, Higashi R, Ishikawa H, Kaneko K. The impact of narrow band imaging for colon polyp detection: a multicenter randomized controlled trial by tandem colonoscopy. *J Gastroenterol* 2012 Mar 24. [Epub ahead of print]
- 46 Danese S, Fiorino G, Angelucci E, Vetrano S, Pagano N, Rando G, Spinelli A, Malesci A, Repici A. Narrow-band imaging endoscopy to assess mucosal angiogenesis in inflammatory bowel disease: a pilot study. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2396-2400
- 47 Ikematsu H, Saito Y, Yamano H. Comparative evaluation of endoscopic factors from conventional colonoscopy and narrow-band imaging of colorectal lesions. *Dig Endosc* 2011; 23 Suppl 1: 95-100
- 48 Menzel J, Domschke W. Gastrointestinal miniprobe sonography: the current status. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 605-616
- 49 Czakó L, Szepes Z, Szepes A. [Diagnostic endoscopic ultrasonography in the gastrointestinal tract]. *Orv Hetil* 2012; 153: 93-101
- 50 Leong RW, Lau JY, Sung JJ. The epidemiology and phenotype of Crohn's disease in the Chinese population. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 646-651
- 51 Goh K, Xiao SD. Inflammatory bowel disease: a survey of the epidemiology in Asia. *J Dig Dis* 2009; 10: 1-6

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012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.

Cullin1蛋白在胃癌中的表达及临床意义

王维民, 周苏君, 顾贤成, 谈永飞, 葛志军, 周建伟, 周炎

■背景资料

Cullin1所组成的复合体具有典型的泛素连接酶活性, 介导许多与细胞周期相关的功能蛋白尤其是癌相关蛋白的降解过程, 有效地调节着细胞周期进程。该蛋白是细胞周期结束的必需调控因子, 其异常变化可能在肿瘤发生过程中起重要作用。

王维民, 周苏君, 顾贤成, 谈永飞, 葛志军, 周炎, 江苏大学附属宜兴医院 江苏省宜兴市 214200

周建伟, 南京医科大学 江苏省南京市 210029

王维民, 主治医师, 硕士, 主要从事肿瘤化疗及分子靶向治疗方面研究。

江苏省恶性肿瘤生物标志物与防治重点实验室开放课题基金资助项目, No. 11ZLKF09

作者贡献分布: 本课题由王维民与周炎设计; 研究过程由王维民、周炎、周苏君、顾贤成、谈永飞、葛志军及周建伟共同完成; 数据分析由王维民完成; 本论文写作由王维民与周炎完成。

通讯作者: 周炎, 主任医师, 214200, 江苏省宜兴市宜城街道通贞观路75号, 江苏大学附属宜兴医院肿瘤内科, staff260@yxph.com 电话: 0510-87330801

收稿日期: 2012-05-12 修回日期: 2012-07-29

接受日期: 2012-08-06 在线出版日期: 2012-09-08

Clinical significance of Cullin 1 protein expression in gastric cancer

Wei-Min Wang, Su-Jun Zhou, Xian-Cheng Gu, Yong-Fei Tan, Zhi-Jun Ge, Jian-Wei Zhou, Yan Zhou

Wei-Min Wang, Su-Jun Zhou, Xian-Cheng Gu, Yong-Fei Tan, Zhi-Jun Ge, Yan Zhou, the Affiliated Yixing Hospital of Jiangsu University, Yixing 214200, Jiangsu Province, China

Jian-Wei Zhou, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: the Open Fund of Jiangsu Key Lab of Cancer Biomarkers, Prevention and Treatment, No. 11ZLKF09

Correspondence to: Yan Zhou, Chief Physician, Department of Oncology, the Affiliated Yixing Hospital of Jiangsu University, 75 Zhenguan Road, Yixing 214200, Jiangsu Province, China. staff260@yxph.com

Received: 2012-05-12 Revised: 2012-07-29

Accepted: 2012-08-06 Published online: 2012-09-08

Abstract

AIM: To examine the expression of Cullin 1 protein in gastric cancer cells and tissues and to analyze the correlation between Cullin 1 protein expression and clinicopathologic variables and patient survival.

METHODS: Cullin 1 protein expression in BGC-823, SGC-7901, and GES-1 cells was determined by Western blot. In addition, we constructed a tissue microarray that included 792 primary gastric cancer tissues and evaluated Cullin 1 expression in tumor biopsies by immunohistochemistry.

RESULTS: Cullin 1 protein expression levels

were higher in BGC-823 and SGC-7901 cells than in GES-1 cells (both $P < 0.01$), and in gastric cancer tissues than in adjacent tissues ($P < 0.01$). Cullin 1 overexpression was significantly correlated with TNM stage ($P = 0.011$), depth of invasion ($P = 0.035$, T1-T3 vs T4), and lymph node metastasis ($P = 0.036$). Furthermore, we found a strong correlation between high Cullin 1 expression and worse overall and 3-year survival rates in gastric cancer patients ($P = 0.042$, 0.026). Cox regression analysis revealed that Cullin 1 expression was an independent prognostic factor predicting 3-year outcome in patients with gastric cancer ($P = 0.028$).

CONCLUSION: Cullin 1 may be an important marker for lymph node metastasis and prognosis in gastric cancer, representing a potential treatment target for this malignancy.

Key Words: Cullin 1; Gastric cancer tissue; Gastric cancer cells; Western blot

Wang WM, Zhou SJ, Gu XC, Tan YF, Ge ZJ, Zhou JW, Zhou Y. Clinical significance of Cullin 1 protein expression in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2388-2392

摘要

目的: 研究Cullin1在胃癌细胞及胃癌组织中的表达, 并分析Cullin1、临床分期与患者生存率之间的相关性。

方法: 采用Western blot法检测SGC-7901、BGC-823胃癌细胞与正常胃黏膜上皮细胞GES-1中、胃癌组织与癌旁组织中Cullin1蛋白表达差异。我们利用已经构建的胃癌数据库, 采用免疫组织化学法检测792例胃癌组织中Cullin1表达。

结果: 我们研究发现, SGC-7901、BGC-823胃癌细胞中Cullin1表达水平高于胃上皮细胞株GES-1($P < 0.01$)。胃癌组织中Cullin1蛋白表达水平高于癌旁组织($P < 0.01$)。Cullin1过表达与胃癌TNM分期($P = 0.011$)、浸润深度($P = 0.035$, T1-T3与T4)及淋巴结转移($P = 0.036$)

■同行评议者

欧希龙, 副教授, 东南大学中大医院消化科

显著相关. 此外, 我们发现Cullin1的高表达与胃癌患者较差的总生存时间及3年生存率明显相关($P = 0.042, 0.026$). Cox回归分析显示, Cullin1表达是胃癌患者3年生存率的一个独立的预后因子($P = 0.028$).

结论: 我们的数据表明, Cullin1可作为胃癌淋巴结转移、预后以及潜在治疗的一个重要标志和研究目标.

关键词: Cullin1; 胃癌组织; 胃癌细胞; Western blot 染色

王维民, 周苏君, 顾贤成, 谈永飞, 葛志军, 周建伟, 周炎. Cullin1蛋白在胃癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2012; 20(25): 2388-2392
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2388.asp>

0 引言

胃癌是世界上最常见的恶性肿瘤中之一. 虽然他的发病率一直缓慢下降, 但依然是全球第2大癌症死因^[1]. 胃癌患者的5年生存率只有20%左右, 高死亡率与其转移密切相关^[2]. 肿瘤的侵袭转移是几个连续的步骤, 包括增殖、侵袭、脱离, 进入淋巴结和血管移植, 粘附和渗透进入靶器官, 从而再增殖^[3]. 细胞内各种功能蛋白如原癌蛋白、抑癌蛋白等动态影响到细胞周期进程. 这些蛋白在细胞内水平的高低, 机制之一是受泛素-蛋白酶体降解途径的精细调控^[4,5]. 该酶系催化蛋白质水解过程包含泛素活化酶(E1)、泛素耦联酶(E2)和泛素连接酶(E3). 泛素连接酶主要有2个家族, 即HECT家族和RING家族, 其中后者以Cullin蛋白作为模板装配成. 作为Cullin蛋白代表性成员, Cullin1所组装的复合体具有典型的泛素连接酶活性, 介导许多细胞周期与相关的功能蛋白尤其是癌相关蛋白的降解过程, 有效地调节着细胞周期进程. Cullin1是细胞周期结束的必需调控因子, 其异常变化可能在肿瘤发生过程中起重要作用. 本课题组主要研究SGC-7901、BGC-823胃癌细胞与正常胃黏膜上皮细胞GES-1中、胃癌组织与癌旁组织中Cullin1蛋白表达差异; 利用已经构建的胃癌患者临床数据库测定Cullin1蛋白表达, 并分析与胃癌临床分期相关性, 以提供胃癌预后的可预测指标.

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌细胞株SGC-7901、BGC-823及胃上皮细胞株GES-1均由南京医科大学公共卫生

学院分子毒理实验室提供. 胃癌组织及癌旁组织由江苏大学附属宜兴医院普外科提供. RPMI 1640细胞培养基(gibco公司), 胎牛血清(杭州四季春公司), 胰蛋白酶(sigma), RIPA裂解液、BCA试剂盒(碧云天), Cullin1单抗(epitomics公司), 二抗(碧云天), β -actin(碧云天), 电泳仪、转膜仪、酶标仪(美国伯乐).

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 上述细胞株均于培养皿中贴壁生长, 用含100 mL/L胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 mg/L链霉素的RPMI 1640(DMEM)培养基, 置37 °C、50 mL/L CO₂培养箱中培养. 待细胞长至约占80%培养皿时, 用胰酶消化贴壁细胞, 收集到离心管中, 3 000 r/min离心5 min, 弃去上清待用.

1.2.2 胃癌组织与癌旁组织标本收集: 胃癌患者手术切除的胃癌组织和癌旁组织. 癌组织取自肿瘤中心处, 癌旁组织取自距肿瘤边缘至少10 cm处. 所有病例均经组织病理学诊断确诊, 均无其他部位原发肿瘤, 术前无化疗、放疗和免疫治疗史. 标本取材后, 立即置于液氮中速冻, 然后转到-80 °C冰箱内保存.

1.2.3 利用BCA法测定胃癌组织与癌旁组织、胃癌细胞与胃正常上皮细胞总蛋白浓度: 用RIPA裂解液并匀浆处理胃癌组织和癌旁组织, 提取组织中总蛋白, 操作均在冰上进行. 收集胃癌细胞SGC-7901、BGC-823及胃上皮细胞株GES-1, 用预冷的PBS洗2遍, 再加入RIPA裂解液, 充分混匀, 放入4 °C冰箱半小时. 然后在4 °C低温下离心15 min, 吸取上清. 将上述2种上清液根据BCA蛋白测量试剂盒说明书操作, 测出总蛋白浓度.

1.2.4 Western blot测定Cullin1蛋白表达: 取100 μ g总蛋白进行7.5% SDS-PAGE凝胶电泳分析, 电泳结束后转移蛋白至PVDF膜上, 含5%脱脂奶粉的TBST液中室温封闭2 h, 用TBST清洗5遍, 每次5 min, 然后加入1:1 000稀释特异性一抗(兔抗人Cullin1), 4 °C孵育过夜; 次日用TBST液洗膜5次, 每次5 min, 然后加入相应二抗(1:1 000), 室温孵育4 h, 再用TBST液洗膜10次, 每次5 min. DAB显色后, 再上机检测. 实验均重复3遍.

1.2.5 构建1 022例胃癌组织标本库: 1999-01-01/2006-12-31由我院收集1 022例胃癌组织标本库. 患者的基本信息[包括性别、年龄、病情、病理分期(TNM)及有无远处转移等]均能详细提供.

1.2.6 建立胃癌组织芯片检测Cullin1蛋白的表达: 胃癌组织芯片合同委托生物芯片上海国家工程

■ 相关报道

Chen等研究得出Cullin1蛋白表达与黑色素瘤细胞生长正相关. 其机制是通过SCF-Skp2下调P27蛋白, 促进黑色素瘤细胞增殖; 有报道认为Cullin1通过与泛素样小分子NEDD8共价连接而被修饰, 在哺乳动物细胞中一个完整的NEDD8通路需要Cullin1依赖的泛素化作用.

■ 创新盘点

本文研究Cullin1在胃癌细胞及胃癌组织中的表达, 并分析Cullin1、临床分期与患者的生存率之间的相关性.

应用要点

Cullin1蛋白与胃癌的恶性度密切相关,该蛋白可作为评估胃癌预后的参考指标。

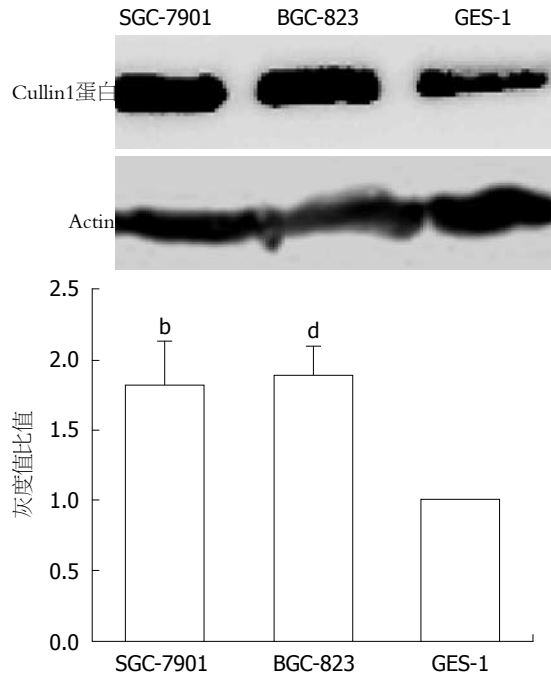


图1 细胞中Cullin1蛋白的表达。^b $P < 0.01$, ^d $P < 0.01$ vs GES-1。

研究中心构建,从排序的石蜡瘤块中心和相对应的癌旁组织处取直径1.0 mm肿瘤组织。作为组织对照,正常胃黏膜上皮细胞活检组织被插入每张芯片的四角和中心。用标准的操作程序,检测胃癌组织芯片中Cullin1蛋白表达。胃癌组织芯片在55℃下,作用20 min,然后用由二甲苯清洗脱蜡3次,每次约5 min;再分别用无水乙醇、950 mL/L、800 mL/L的乙醇和蒸馏水清洗,每次约5 min;样品在10 mmol/L的柠檬酸钠(pH 6.0)内,95℃下加热30 min进行抗原修复;在3%的过氧化氢孵化30 min,以阻断内源性过氧化物酶活性;用血清封闭30 min,用鼠源性单克隆抗体Cullin1(1:50稀释)与样品切片孵育,在4℃条件下过夜;然后与相应的二抗结合30 min;再通过3,3'-二氨基基板,进行苏木红染色;然后进行脱水的程序,样品切片用盖玻片密封。阴性对照组省略Cullin1抗体孵化。在每个芯片的样品切片上,正常胃黏膜上皮组织的染色被评定为染色的质量标准。免疫组织染色结果判定:Cullin1染色等级采用免疫染色评分(IRS)^[6],以染色强度乘以阳性细胞百分比计算。根据IRS,Cullin1染色被分为:阴性(IRS: 0),弱(IRS: 1-2),中度(IRS: 3-6),强(IRS: 8-12)。

统计学处理 Fisher精确检验评价Cullin1与临床参数间的相关性。Kaplan-Meier方法绘制生存曲线,log-rank检验比较生存率。单因素和多因素Cox比例风险模型分析患者生存率的相关影响因素。所有统计检验均为双侧检验,以 $P \leq 0.05$

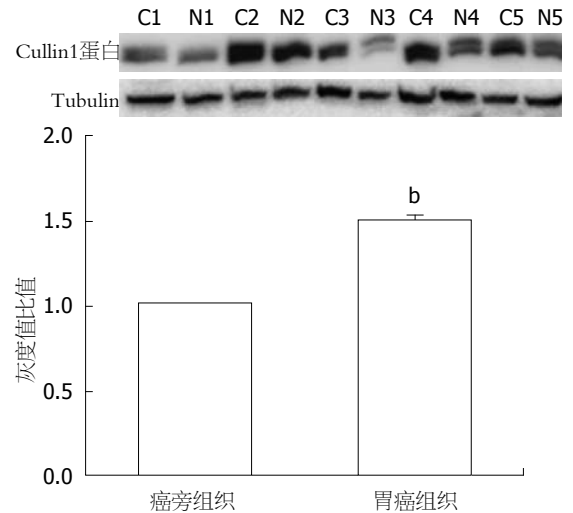


图2 胃癌组织与癌旁组织中Cullin1蛋白的表达。C: 胃癌组织; N: 癌旁组织。^b $P < 0.01$ vs 癌旁组织。

为有统计学差异。

2 结果

2.1 Cullin1蛋白在胃癌细胞及胃正常黏膜细胞中的表达 Cullin1蛋白在胃癌细胞SGC-7901、BGC-823中表达水平平均高于胃上皮细胞株GES-1。采用图像分析系统进行半定量分析,与胃正常黏膜细胞GES-1相比,SGC-7901、BGC-823中Cullin1蛋白表达量分别上调71.18%、71.64%,差异均具有统计学意义($P < 0.01$,图1)。

2.2 Cullin1蛋白在胃癌组织及癌旁组织中的表达 5例胃癌组织中Cullin1蛋白表达水平平均高于癌旁组织。采用图像分析系统进行半定量分析,C1-C5中Cullin1的表达量较N1-N5分别上调43.60%、47.16%、52.33%、34.84%、65.02%,差异均具有统计学意义($P < 0.01$,图2)。

2.3 胃癌组织中Cullin1蛋白与胃癌临床分期的相关性 由于抗原修复过程丢失抗原或未夹对肿瘤组织,1 022例胃癌组织芯片可供分析792例,根据胃癌TNM分期,I期182例、II期180例、III期397例、IV期23例。III期和IV期胃癌组织Cullin1染色比I、II期胃癌组织明显加强($P = 0.011$,图3)。因为TNM分期与浸润程度、淋巴结转移均密切相关,我们进一步分析Cullin1表达与两者的关系。结果显示:Cullin1表达与浸润深度($P = 0.035$)及淋巴结转移($P = 0.036$)。根据随访数据分析:Cullin1高表达患者在总生存期及3年生存期均明显低于Cullin1低表达患者($P = 0.042$ 和 $P = 0.026$)。Cox回归分析显示,Cullin1表达是胃癌患者3年生存的一个独立预后因子($P = 0.028$)。

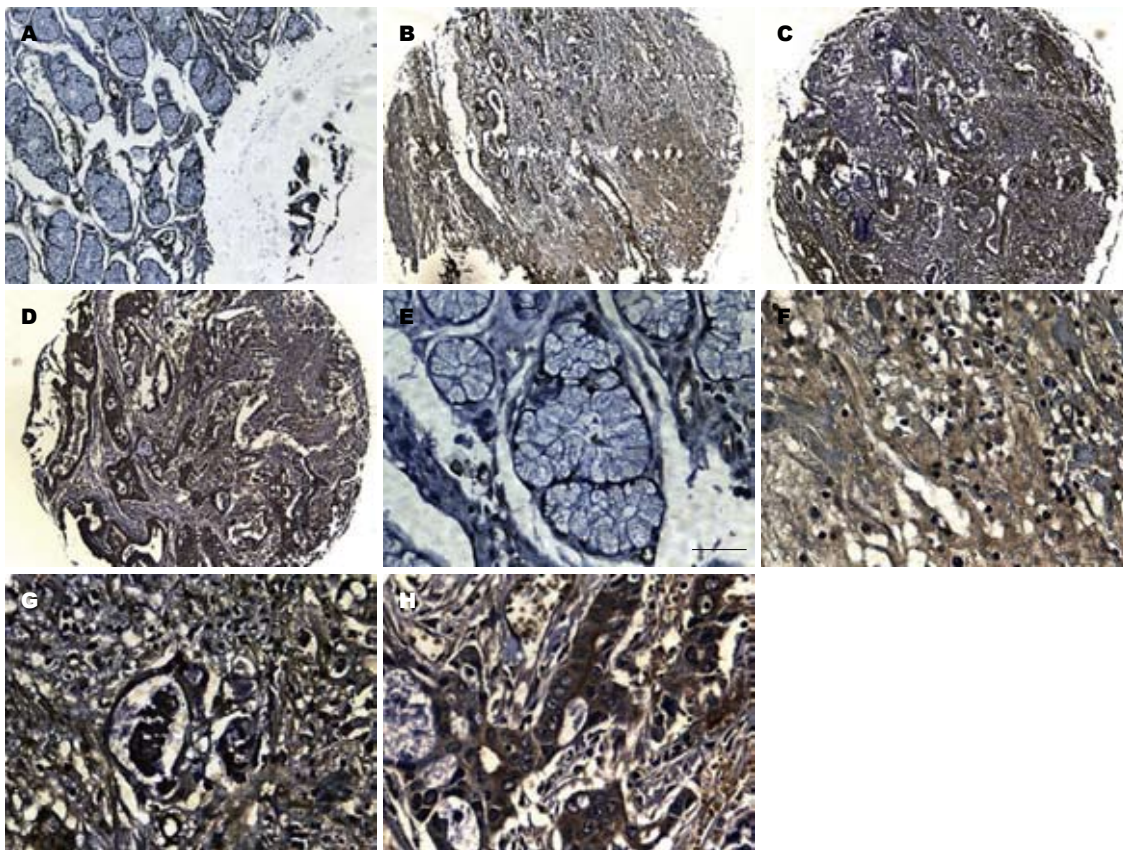


图3 胃癌组织与癌旁组织中Cullin1表达免疫染色图谱. A, E: 胃癌癌旁组织, 阴性; B, F: 胃癌组织弱阳性; C, G: 胃癌组织中度阳性; D, H: 胃癌组织强阳性.

■ 名词解释
泛素连接酶: 一个能够将泛素分子连接到目的蛋白质某个赖氨酸上的酶. 通常情况下, 泛素连接酶可以将目的蛋白质多泛素化, 即加上多个泛素分子, 形成多泛素链; 而带有多泛素链的蛋白质就可以被蛋白酶体所识别, 从而被降解.

3 讨论

Cullin1是Cullin基因组中的一个成员, 泛素连接酶复合体的核心成分, 对细胞周期起调控作用, 与多种恶性肿瘤的发生、发展密切相关. 人类Cullin1定位于3号染色体上, 具有6个外显子和5个内含子, 且包含780个氨基酸残基. Cullin1所组装的蛋白复合体称SCF(skp1-cull1-F box protein), 是一个多亚基蛋白复合物. SCF能泛素化多种蛋白因子如P27、P21、P57及细胞周期素等, Cullin1蛋白作为SCF复合体骨架蛋白可起到模板作用, 其结构的变化会引起泛素连接酶复合物活性的变化, 使许多细胞内的底物蛋白的降解水平发生改变.

近年来, 国内外学者研究发现, Cullin1蛋白表达水平与一些恶性肿瘤生物学行为及预后密切相关. Chen等^[7]研究得出Cullin1蛋白表达与黑色素瘤细胞生长成正相关. 其机制是通过SCFSkp2下调P27蛋白, 促进黑色素瘤细胞增殖. 有报道认为Cullin1通过与泛素样小分子NEDD8共价连接而被修饰, 在哺乳动物细胞中一个完整的NEDD8通路需要Cullin1依赖的泛素化作用^[8]. 丢失Cullin1可导致早期的胚胎死亡和

cyclin E的调节异常^[9]. 细胞核激素受体—雌激素受体ER α 在乳腺癌具有广泛调节基因表达及增殖程序, 他的缺失导致乳腺癌内分泌治疗不敏感. ER α 缺失主要被SCFSkp2介导的泛素化降解^[10]. 在食管鳞癌组织中SCFSkp2蛋白表达与肿瘤分期、淋巴结转移成正相关($P<0.05$); 与接受放疗患者的总生存期成负相关($P<0.05$), 其主要分子机制是SCFSkp2蛋白能提高食管鳞癌细胞对放疗的耐受性^[11]. 另有研究证实NEDD8可通过抑制SCF复合物酶的活性, 从而阻滞细胞周期进程^[12]. 在LNCaP前列腺癌细胞中, 研究雄激素敏感相关性miRNA, 发现miR-148a能降低Cullin1构建的CAND1复合物表达, 抑制SCF泛素酶活性, 从而抑制前列腺癌细胞生长^[13]. Kong等^[14]研究证实由Cullin1参与组成的CAC1蛋白, 能够提高细胞周期蛋白依赖性激酶CKD2活性, 促进细胞增殖. Chen等^[15]发现由Cullin1组装SCF绑定的FBXL2蛋白, 其发生突变能通过泛素化作用于钙调蛋白, 从而使细胞周期素D3表达下降, 最终导致并诱导肺癌细胞凋亡. SCF(Fbw7)蛋白属于SKP1-CUL1-F-box构建的具有泛素酶功能的复合物, 具有抑癌基因功能. 他主要能影响细

■同行评价

本文设计新颖, 实验科学, 标本数大, 结果有说服力.

胞周期进程、细胞增殖、分化、DNA损伤反应等^[16]. 相关研究表明^[17], 在肿瘤细胞G₁期向S期过渡时, miR-27a能抑制细胞中SCF(Fbw7)蛋白表达, 从而导致肿瘤细胞生长.

本研究显示, 胃癌细胞及胃黏膜上皮细胞内、胃癌及其癌旁组织中均可检测Cullin1蛋白的表达, 且胃癌细胞、胃癌组织中Cullin1蛋白的表达水平明显高于胃黏膜上皮细胞、癌旁组织($P < 0.01$). Cullin1蛋白表达与胃癌患者临床TNM分期、浸润程度及淋巴结转移均有明显相关($P < 0.05$). 这提示Cullin1蛋白与胃癌的恶性度密切相关. Cullin1蛋白可作为评估胃癌预后的参考指标. 但该蛋白在胃癌组织中表达的分子机制及其生物学特征, 以及他在其他肿瘤领域中的作用, 尚需进一步探讨.

4 参考文献

- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- Yoo CH, Noh SH, Shin DW, Choi SH, Min JS. Recurrence following curative resection for gastric carcinoma. *Br J Surg* 2000; 87: 236-242
- Hynes RO. Metastatic potential: generic predisposition of the primary tumor or rare, metastatic variants-or both? *Cell* 2003; 113: 821-823
- Bernassola F, Karin M, Ciechanover A, Melino G. The HECT family of E3 ubiquitin ligases: multiple players in cancer development. *Cancer Cell* 2008; 14: 10-21
- Yang H, Landis-Piowar KR, Chen D, Milacic V, Dou QP. Natural compounds with proteasome inhibitory activity for cancer prevention and treatment. *Curr Protein Pept Sci* 2008; 9: 227-239
- Simon R, Richter J, Wagner U, Fijan A, Bruderer J, Schmid U, Ackermann D, Maurer R, Alund G, Knönagel H, Rist M, Wilber K, Anabitarte M, Hering F, Hardmeier T, Schönenberger A, Flury R, Jäger P, Fehr JL, Schraml P, Moch H, Mihatsch MJ, Gasser T, Sauter G. High-throughput tissue microarray analysis of 3p25 (RAF1) and 8p12 (FGFR1) copy number alterations in urinary bladder cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 4514-4519
- Chen G, Li G. Increased Cull1 expression promotes melanoma cell proliferation through regulating p27 expression. *Int J Oncol* 2010; 37: 1339-1344
- Ohh M, Kim WY, Moslehi JJ, Chen Y, Chau V, Read MA, Kaelin WG. An intact NEDD8 pathway is required for Cullin-dependent ubiquitylation in mammalian cells. *EMBO Rep* 2002; 3: 177-182
- Dealy MJ, Nguyen KV, Lo J, Gstaiger M, Krek W, Elson D, Arbeit J, Kipreos ET, Johnson RS. Loss of Cull1 results in early embryonic lethality and dysregulation of cyclin E. *Nat Genet* 1999; 23: 245-248
- Bhatt S, Xiao Z, Meng Z, Katzenellenbogen BS. Phosphorylation by p38 mitogen-activated protein kinase promotes estrogen receptor α turnover and functional activity via the SCF(Skp2) proteasomal complex. *Mol Cell Biol* 2012; 32: 1928-1943
- Wang XC, Tian LL, Tian J, Jiang XY. Overexpression of SKP2 promotes the radiation resistance of esophageal squamous cell carcinoma. *Radiat Res* 2012; 177: 52-58
- Tanaka T, Nakatani T, Kamitani T. Inhibition of NEDD8-conjugation pathway by novel molecules: potential approaches to anticancer therapy. *Mol Oncol* 2012; 6: 267-275
- Murata T, Takayama K, Katayama S, Urano T, Horie-Inoue K, Ikeda K, Takahashi S, Kawazu C, Hasegawa A, Ouchi Y, Homma Y, Hayashizaki Y, Inoue S. miR-148a is an androgen-responsive microRNA that promotes LNCaP prostate cell growth by repressing its target CAND1 expression. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2010; 13: 356-361
- Kong Y, Nan K, Yin Y. Identification and characterization of CAC1 as a novel CDK2-associated cullin. *Cell Cycle* 2009; 8: 3544-3553
- Chen BB, Glasser JR, Coon TA, Mallampalli RK. F-box protein FBXL2 exerts human lung tumor suppressor-like activity by ubiquitin-mediated degradation of cyclin D3 resulting in cell cycle arrest. *Oncogene* 2012; 31: 2566-2579
- Cheng Y, Li G. Role of the ubiquitin ligase Fbw7 in cancer progression. *Cancer Metastasis Rev* 2012; 31: 75-87
- Lerner M, Lundgren J, Akhondji S, Jahn A, Ng HF, Moqadam FA, Oude Vrielink JA, Agami R, Den Boer ML, Grandér D, Sangfelt O. MiRNA-27a controls FBW7/hCDC4-dependent cyclin E degradation and cell cycle progression. *Cell Cycle* 2011; 10: 2172-2183

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012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)

水通道蛋白2在胆总管结扎大鼠肝硬化肾组织中的表达及丹参注射液对其表达的影响

王建华, 郭永泽, 张晓岚

王建华, 郭永泽, 河北工程大学附属医院消化内科 河北省邯郸市 056029

张晓岚, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000

王建华, 医学硕士, 主治医师, 主要从事肝纤维化发病机制方面的研究。

作者贡献分布: 此课题在张晓岚的指导下, 由王建华进行设计、收集资料、数据分析; 郭永泽完成写作。

通讯作者: 张晓岚, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科。

xiaolanzh@126.com

电话: 0310-8572317

收稿日期: 2012-05-23 修回日期: 2012-08-03

接受日期: 2012-08-11 在线出版日期: 2012-09-08

Salvia miltiorrhiza reduces expression of aquaporin 2 in kidney tissue of cirrhotic rats

Jian-Hua Wang, Yong-Ze Guo, Xiao-Lan Zhang

Jian-Hua Wang, Yong-Ze Guo, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Hebei Engineering University, Handan 056029, Hebei Province, China

Xiao-Lan Zhang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Xiao-Lan Zhang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. xiaolanzh@126.com

Received: 2012-05-23 Revised: 2012-08-03

Accepted: 2012-08-11 Published online: 2012-09-08

Abstract

AIM: To detect the expression of aquaporin 2 (AQP2) in kidney tissue of rats with BDL-induced cirrhosis and to observe the effect of treatment with salvia miltiorrhiza on AQP2 expression in this animal model.

METHODS: Seventy SD rats were randomly divided into sham operation group and model group. To induce biliary cirrhosis, SD rats underwent double ligation and sectioning of the common bile duct (BDL). Animals in the model group were sacrificed at weeks 1, 2, 3 and 4. At week 5, the model group was divided into two groups: treatment group and control group. Rats in the treatment group were treated with salvia

miltiorrhiza, while those in the control group was treated with vehicle. Liver histopathological changes were evaluated by hematoxylin and eosin (H&E) staining and Masson's trichrome staining. Kidney histopathological changes were evaluated by H&E staining. Immunohistochemistry was employed to investigate the expression of AQP2 in kidney tissue of cirrhotic rats.

RESULTS: With the progression of hepatic cirrhosis, the expression of AQP2 increased gradually. The optical density (OD) of renal AQP2 at weeks 1 to 4 was significantly higher in the model group than in the sham operation group (cortex: 0.4703 ± 0.0313 , 0.4832 ± 0.0212 , 0.5081 ± 0.0417 , 0.6802 ± 0.0531 vs 0.4197 ± 0.0295 ; medulla: 0.4320 ± 0.0237 , 0.4724 ± 0.0284 , 0.4796 ± 0.0451 , 0.5187 ± 0.0612 vs 0.4139 ± 0.0152 ; all $P < 0.05$). The expression of AQP2 in the control group was higher than that in the treatment group. The OD of renal AQP2 in the control group was significantly higher than that in the treatment group (cortex: 0.5536 ± 0.0476 vs 0.4233 ± 0.0521 ; medulla: 0.4764 ± 0.0536 vs 0.4158 ± 0.0413 , both $P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of AQP2 is up-regulated in kidney tissue of cirrhotic rats. Salvia miltiorrhiza treatment reduced the expression of AQP2 in kidney tissue of cirrhotic rats.

Key Words: Cirrhosis; Ascites; Aquaporin 2; Salvia miltiorrhiza

Wang JH, Guo YZ, Zhang XL. Salvia miltiorrhiza reduces expression of aquaporin 2 in kidney tissue of cirrhotic rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2393-2396

摘要

目的: 探讨胆总管结扎(bile duct ligation, BDL)大鼠肝硬化不同阶段肾组织中水通道蛋白2(aquaporins-2, AQP2)表达的变化; 用丹参注射液干预肝硬化腹水大鼠, 观察丹参注射液对其表达的影响。

方法: 将70只♂SD大鼠随机分成假手术组、模型组。模型组分别于结扎后1、2、3、4 wk

背景资料

腹水是肝硬化由代偿转化为失代偿的一个重要标志, 难治性腹水则是失代偿早中期转化为晚期的重要表现。肝移植是肝硬化难治性腹水及其并发症最终的有效治疗手段, 但是费用昂贵并且肝源有限, 限制了他在基层医院的应用。因此, 选择一种具有利尿作用而且经济实用的药物是当务之急。

同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

■研发前沿

肝硬化难治性腹水的治疗一直是临床上所感兴趣的话题。其机制尚未完全阐明,但目前普遍认为水钠潴留是腹水发生的重要因素。最近研究发现水调节的关键蛋白-水通道蛋白2(AQP2)可能与肝硬化腹水的发生有关。

麻醉10只动物。假手术组与4 wk模型组同批麻醉。4 wk末时,再从剩余存活造模大鼠中,随机选取16只腹腔穿刺证实有腹水的大鼠,随机分为治疗组和对照组。从造模第5周开始进行治疗观察。治疗组给予丹参注射液2 mL腹腔注射,1次/d,连用2 wk。对照组给予蒸馏水2 mL腹腔注射,1次/d,连用2 wk,6 wk末2组同批麻醉。采用HE染色、Masson三色染色确定模型建立情况;肾脏组织标本采用HE染色,光镜下观察组织学变化,应用免疫组织化学方法测定AQP2的表达及分布。

结果:造模1-4 wk大鼠肾组织AQP2的阳性染色平均吸光度A值(皮质: 0.4703 ± 0.0313 , 0.4832 ± 0.0212 , 0.5081 ± 0.0417 , 0.6802 ± 0.0531 ;髓质: 0.4320 ± 0.0237 , 0.4724 ± 0.0284 , 0.4796 ± 0.0451 , 0.5187 ± 0.0612)均高于假手术组(皮质: 0.4197 ± 0.0295 ;髓质: 0.4139 ± 0.0152 , $P < 0.05$),提示肝硬化进程中,AQP2在肾皮质和肾髓质的表达均逐渐增强。治疗组(皮质: 0.4233 ± 0.0521 ,髓质: 0.4158 ± 0.0413)大鼠肾组织AQP2的阳性染色平均A值显著低于对照组(皮质: 0.5536 ± 0.0476 ,髓质: 0.4764 ± 0.0536 , $P < 0.05$)。

结论:以BDL法制备的大鼠肝硬化模型中存在着肾脏AQP2表达的上调,提示在肝硬化进程中,肾脏集合管可能参与了水重吸收的增加;而丹参注射液可以下调肝硬化腹水大鼠肾脏AQP2的高表达。

关键词:肝硬化;腹水;水通道蛋白2;丹参

王建华, 郭永泽, 张晓岚. 水通道蛋白2在胆总管结扎大鼠肝硬化肾组织中的表达及丹参注射液对其表达的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(25): 2393-2396

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2393.asp>

0 引言

肝硬化是多种肝病终末期的共同病理变化,其失代偿阶段的标志之一是腹水生成。腹水的发生有多种病理生理因素参与,其机制尚未完全阐明,但目前普遍认为水钠潴留是腹水发生的重要因素。本文将研究水调节的关键蛋白-水通道蛋白2(aquaporins-2, AQP2)在肝硬化腹水模型肾组织的表达,同时观察丹参注射液对其的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 成年健康♂SD大鼠70只,体质量350-400 g,清洁级,由河北医科大学实验动物中心提供(DK0410-0054)。丹参注射液(Salvia

Miltiorrhiza injection, SMI)(正大集团公司,批号Z30020177,10 mL/支,相当于含生药15 g)。羊抗AQP2多克隆抗体、SP9003试剂盒、DAB显色剂及多聚赖氨酸均购自美国Santa Cruze公司。

1.2 方法

1.2.1 造模及实验动物分组:将70只大鼠随机分成假手术组、模型组。应用胆总管结扎(bile duct ligation, BDL)方法建立胆汁淤积性肝硬化大鼠模型。模型组共60只,分别于结扎后1、2、3、4 wk麻醉10只动物。假手术组10只,与4 wk模型组同批麻醉。第4周末肝病理学检查提示肝硬化模型复制成功。4 wk末时,再从剩余存活造模大鼠中,随机选取16只腹腔穿刺证实有腹水的大鼠,随机分为治疗组和对照组,每组8只。

1.2.2 治疗:从造模第5周开始进行治疗观察。治疗组给予丹参注射液2 mL腹腔注射,1次/d,连用2 wk。对照组给予蒸馏水2 mL腹腔注射,1次/d,连用2 wk,6 wk末2组同批麻醉。

1.2.3 取材:各组动物麻醉后,于无菌条件下切开皮肤进入腹腔,留取双侧肾组织,4%多聚甲醛固定,石蜡包埋、切片,送HE染色和免疫组织化学染色;同时切取部分肝脏左叶,4%多聚甲醛固定,常规石蜡切片,用于HE染色和Masson三色染色。

1.2.4 HE染色和Masson三色染色:肝肾组织做5 μm连续切片,按常规程序进行染色。

1.2.5 肾组织AQP2免疫组织化学染色:采用SP方法。石蜡包埋的肝组织以5 μm的厚度连续切片,二甲苯脱蜡,乙醇梯度水化;3%甲醇-过氧化氢室温下孵育20 min,消除内源性过氧化物酶,0.01 mol/L枸橼酸缓冲液(pH 6.0)微波炉内抗原修复,100 mL/L山羊血清封闭非特异性染色。加入一抗(羊抗AQP2, 1:100),4℃过夜;滴加生物素化二抗工作液,37℃温箱湿盒内孵育30 min,0.01 mol/L PBS清洗3次,每次5 min;滴加辣根过氧化物酶标记链酶卵白素工作液,37℃温箱湿盒内孵育30 min;DAB显色2-5 min,自来水充分冲洗,终止显色,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂胶封固。免疫组织化学染色对照设置:以PBS代替一抗进行上述染色作为空白对照,结果为阴性。棕黄色为阳性染色。

1.2.6 图像分析:采用Motic 6.0数码医学图像分析系统,各组织采用相同放大倍数(肝组织×200,肾皮质×400,肾髓质×200),每个切片计数10个视野,以阳性染色的积分吸光度(IA)值来表示抗原表达量,对AQP2免疫阳性染色的A值进行测定,然后用Nikon尼康光镜显微照相机摄片。

■相关报道

已有研究证实丹参增加肾血流,有利尿和抗炎作用,调节肾组织局部微循环,改善肾功能。最近研究证实,丹参治疗能显著降低糖尿病大鼠肾组织中的AQP2蛋白表达,推测丹参对糖尿病大鼠肾脏的保护作用可能与降低AQP2的表达有关。

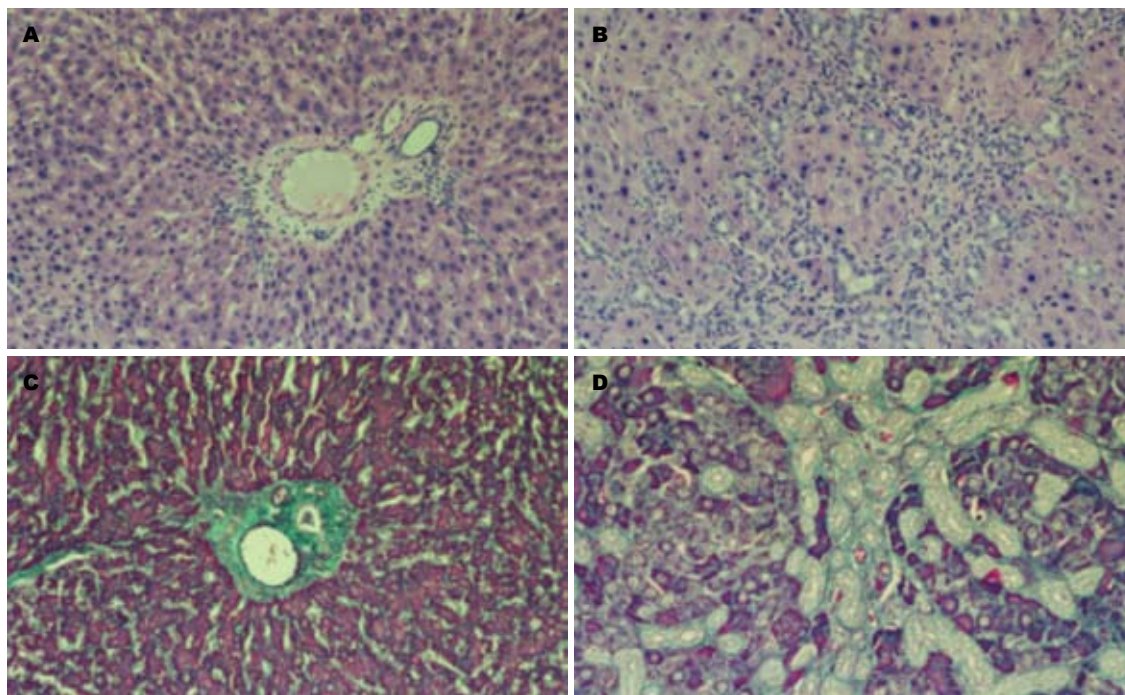


图1 肝组织病理. A: 假手术组(HE, ×200); B: BDL 4 wk组(HE, ×200); C: 假手术组(Masson, ×200); D: BDL 4 wk组(Masson, ×200).

应用要点
 本研究发现, AQP2参与了肝硬化腹水的发生发展, 丹参可以下调肝硬化腹水时肾组织中AQP2的表达, 为临床治疗肝硬化腹水提供新的治疗方向.

光镜标本制成后, 直接在光镜下观察病理改变并摄片.

统计学处理 数据利用SPSS13.0统计软件进行分析. 计量资料以mean±SD表示, 多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)及 q 检验, 两组间采用 t 检验. $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 实验动物的一般情况 假手术组大鼠皮毛光泽, 体质量稳定增加. 模型组于造模2-3 d开始, 全身色泽变黄, 小便颜色加深; 造模1 wk以后, 食欲逐渐减退, 体质量下降, 嗜睡, 活动减少, 至造模4 wk多数模型大鼠发生腹水. 实验过程中由于麻醉、手术出血及疾病进展, 先后有4只大鼠死亡, 分别在假手术组、造模1 wk及4 wk时.

2.2 各组动物肝脏病理组织学观察 模型大鼠肝脏肉眼观呈褐绿色或棕色, 表面呈细颗粒状, 明显增大, 质地变硬, 边缘变钝. HE及Masson三色染色显示, 造模3-4 wk肝脏广泛纤维结缔组织增生, 增生的纤维间隔互相连接、包绕、分割, 改建原来的肝小叶甚至形成假小叶. 假手术组肝小叶结构完整, 肝板排列整齐, 少量结缔组织局限于门管区(图1).

2.3 各组动物肾脏病理组织学观察 假手术组大鼠肾脏肉眼观察色泽红润, 大小正常, 光镜下肾小球结构清晰, 肾小管上皮细胞排列整齐, 基底

膜完整. 模型组大鼠肾脏肉眼观呈棕褐色, 随造模时间延长, 色泽有所加深; 但表面光滑. HE染色显示大鼠肝硬化进程中肾脏病理组织学与假手术组比较无明显差异.

2.4 肝硬化过程中AQP2蛋白在肾脏皮质、髓质的表达 免疫组织化学显示, 正常大鼠肾组织中有少量表达; 随着肝硬化的发展, 大鼠肾组织中AQP2阳性细胞明显增多, 主要分布于集合管, 造模1-4 wk大鼠肾组织AQP2的 A 值均高于假手术组(表1, $P<0.05$).

2.5 治疗组与对照组大鼠肾脏AQP2表达 治疗组AQP2染色阳性细胞数量明显少于对照组. 治疗组 A 值(皮质: 0.4233 ± 0.0521 , 髓质: 0.4158 ± 0.0413)显著低于对照组AQP2(皮质: 0.5536 ± 0.0479 , 髓质: 0.4764 ± 0.0536 , 表2).

3 讨论

AQPs是一组介导不同类型细胞膜跨膜转运水的通道蛋白^[1]. 迄今哺乳动物中已发现13个AQPs^[2]. 肾脏作为整个机体调节水平衡的主要器官, 其AQPs含量最丰富, 至少表达7种AQPs(AQP1-4, AQP6-8), 其中AQP2又被称为集合管水通道, 是调节肾集合管对水通透性的主要水通道蛋白^[3]. 我们通过用BDL方法制备肝硬化大鼠模型, 应用免疫组织化学方法检测大鼠肝硬化过程中肾组织AQP2表达, 探讨AQP2在肝硬化腹水形成中的

■同行评价

本研究内容新颖,研究方法具有一定的科学性,其对于肝硬化腹水形成机制的探讨具有参考价值。

表 1 肝硬化过程中AQP2蛋白在肾组织的表达 (mean ± SD, n值)

分组	肾皮质	肾髓质
假手术组	0.4197 ± 0.0295	0.4139 ± 0.0152
BDL 1 wk组	0.4703 ± 0.0313	0.4320 ± 0.0237
BDL 2 wk组	0.4823 ± 0.0212	0.4724 ± 0.0284
BDL 3 wk组	0.5018 ± 0.0417 ^a	0.4796 ± 0.0541 ^a
BDL 4 wk组	0.6802 ± 0.0531 ^a	0.5187 ± 0.0612 ^a

^aP<0.05 vs 假手术组.

作用;然后,我们用丹参注射液干预肝硬化腹水大鼠,初步了解其对AQP2表达的影响。

本研究结果显示,随着肝硬化的进展,大鼠肾脏皮质、髓质中AQP2阳性细胞明显增多,主要分布于集合管.造模1-4 wk大鼠肾脏皮质、髓质AQP2阳性面积依次增高,均显著高于假手术组,提示肾脏集合管可能参与了水的重吸收的增加.与我们的研究相一致,孙剑勇等^[4]用40% CCl₄-橄榄油溶液皮下注射14 wk造模,制备肝硬化腹水大鼠模型,发现腹水大鼠AQP2蛋白及mRNA全面上调.但是,也有相反的报道,在多项采用由BDL制备的肝硬化(代偿)动物模型的实验中发现,血浆AVP水平正常,AQP2在肾皮质中的表达降低,而在髓质中无明显改变,作者对这种改变的解釋是“AQP2表达的下调可能是肝硬化代偿阶段对于水潴留的一种适当反应,当进展至失代偿阶段时,伴随着血浆AVP水平的增高才会出现AQP2的上调^[5-7]”.AQP2表达主要受AVP的调节,AVP与主细胞管周膜上受体结合,使主细胞内腺苷酸水平增高^[8],后者激活蛋白激酶A,激活的蛋白激酶A使AQP2磷酸化,然后AQP2转移至管腔膜,致管腔膜上AQP2密度增加,从而提高对水的通透性^[9].

丹参的脂溶性成分主要是丹参酮,水溶性成分包括丹参素、原儿茶醛、丹参酚酸.丹参注射液以水溶性成分为主.已有研究证实,丹参有利尿作用.胡波等^[10,11]发现,丹参能显著降低糖尿病大鼠肾组织中AQP2的蛋白表达和基因表达.但是,丹参是否影响肝硬化腹水时肾组织中AQP2的表达,目前尚缺乏研究。

我们采用丹参注射液干预肝硬化腹水大鼠2 wk,结果显示治疗组AQP2染色阳性细胞数量

表 2 治疗组与对照组大鼠肾脏AQP2表达 (mean ± SD, n = 8, n值)

分组	肾皮质	肾髓质
对照组	0.5536 ± 0.0479	0.4764 ± 0.0536
治疗组	0.4233 ± 0.0521	0.4158 ± 0.0413
t值	2.787	2.254
P值	<0.01	<0.05

明显少于对照组,提示丹参可以下调肝硬化腹水时肾组织中AQP2的高表达.但是有关通过哪些信号通路来调节肾组织AQP2的表达,有待进一步深入研究.因此,深入探讨丹参注射液对AQP-2的调控机制,将为我们临床治疗肝硬化腹水提供新的治疗方向。

4 参考文献

- Hachez C, Chaumont F. Aquaporins: a family of highly regulated multifunctional channels. *Adv Exp Med Biol* 2010; 679: 1-17
- Ishibashi K, Hara S, Kondo S. Aquaporin water channels in mammals. *Clin Exp Nephrol* 2009; 13: 107-117
- Bonilla-Felix M. Development of water transport in the collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 287: F1093-F1101
- 孙剑勇, 王吉耀, 白春学, 贺伯明, 王逸青. 肝硬化腹水大鼠水通道蛋白的表达. *中国临床医学* 2004; 11: 1020-1022
- Fernández-Llama P, Turner R, Dibona G, Knepper MA. Renal expression of aquaporins in liver cirrhosis induced by chronic common bile duct ligation in rats. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1950-1957
- Jonassen TE, Nielsen S, Christensen S, Petersen JS. Decreased vasopressin-mediated renal water reabsorption in rats with compensated liver cirrhosis. *Am J Physiol* 1998; 275: F216-F225
- Jonassen TE, Promeneur D, Christensen S, Petersen JS, Nielsen S. Decreased vasopressin-mediated renal water reabsorption in rats with chronic aldosterone-receptor blockade. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 278: F246-F256
- Wang W, Li C, Summer S, Falk S, Schrier RW. Interaction between vasopressin and angiotensin II in vivo and in vitro: effect on aquaporins and urine concentration. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 299: F577-F584
- Moeller HB, Praetorius J, Rützler MR, Fenton RA. Phosphorylation of aquaporin-2 regulates its endocytosis and protein-protein interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 424-429
- 胡波, 范红伟, 鲍军强, 王燕午, 陈冰雪, 王振国, 李锋. 丹参对糖尿病肾损伤大鼠水液代谢异常与水通道蛋白调节机制探讨. *时珍国医国药* 2011; 22: 356-358
- 胡波, 范红伟, 王燕午, 陈冰雪, 王振国, 李俊勇, 李锋. 丹参对糖尿病肾病大鼠肾脏水通道蛋白-2表达的影响. *时珍国医国药* 2010; 21: 1103-1105

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

TAGLN真核表达载体pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-TAGLN-mut及稳定转染细胞株的构建

方媛媛, 苏红, 周慧敏, 林瑾

方媛媛, 苏红, 周慧敏, 林瑾, 中山大学孙逸仙纪念医院消化内科 广东省广州市 510120
林瑾, 中山大学孙逸仙纪念医院 恶性肿瘤基因调控与靶向治疗广东普通高校重点实验室 广东省广州市 510120
方媛媛, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。
国家自然科学基金青年科学基金资助项目, No. 30901782
中央高校基本科研业务费专项基金资助项目, No. 11ykpy32
作者贡献分布: 此课题由方媛媛、苏红、周慧敏及林瑾设计; 实验过程由方媛媛与周慧敏完成; 研究所用试剂及分析工具由林瑾与苏红提供; 数据分析由方媛媛、苏红、周慧敏及林瑾完成; 本论文写作由方媛媛、苏红、周慧敏及林瑾完成。
通讯作者: 林瑾, 副主任医师, 510120, 广东省广州市沿江西路107号, 中山大学孙逸仙纪念医院消化内科, 恶性肿瘤基因调控与靶向治疗广东普通高校重点实验室。linwy@mail.sysu.edu.cn
电话: 020-81332598
收稿日期: 2012-06-27 修回日期: 2012-08-03
接受日期: 2012-08-06 在线出版日期: 2012-09-08

Construction of a eukaryotic expression vector carrying *tagln* and establishment of a cell line stably expressing *tagln*

Yuan-Yuan Fang, Hong Su, Hui-Min Zhou, Ying Lin

Yuan-Yuan Fang, Hong Su, Hui-Min Zhou, Ying Lin, Department of Gastroenterology and Hepatology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China
Ying Lin, Key Laboratory of Malignant Tumor Gene Regulation and Target Therapy of Guangdong Higher Education Institutes, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30901782; the Fundamental Research Funds for the Central Universities, No. 11ykpy32
Correspondence to: Ying Lin, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology and Hepatology, Key Laboratory of Malignant Tumor Gene Regulation and Target Therapy of Guangdong Higher Education Institutes, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, 107 Yanjiang Xi Road, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China. linwy@mail.sysu.edu.cn
Received: 2012-06-27 Revised: 2012-08-03
Accepted: 2012-08-06 Published online: 2012-09-08

Abstract

AIM: To construct a eukaryotic expression plasmid carrying *tagln* (the gene encoding transgelin) and establish the human colon carcinoma cell line RKO stably expressing *tagln*.

METHODS: Using the Gateway Technology, a BP recombination reaction was performed using a construct carrying the *tagln* gene (pOTB7-TAGLN-mut) and a donor vector (pDONR221) to create an entry clone (pDONR221-TAGLN-mut). An LR recombination reaction was then performed between the entry clone and the destination vector (pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-DEST) to generate a recombinant plasmid (pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-TAGLN-mut). The recombinant plasmid was confirmed by sequencing. Lipofectamine-mediated transfection was performed in RKO cells and stable transfectants were selected. The stable expression of *tagln* in RKO cells was validated by real-time RT-PCR and Western blot. Matrigel invasion assay was performed with these stable cell lines.

RESULTS: Sequencing analysis showed that *tagln* was successfully inserted into the pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-DEST plasmid. Real-time RT-PCR and Western blotting indicated that the expression of *tagln* increased remarkably in RKO cells transfected with the pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-TAGLN-mut plasmid (RKO-TAGLN cells) as compared to those transfected with the control vector (RKO-CTRL cells) and non-transfected RKO cells (relative mRNA expression levels: 45.58 ± 12.79 , 1.32 ± 0.43 vs 1, both $P < 0.01$; protein expression levels: 1.69 ± 0.04 , 0.29 ± 0.05 vs 0.29 ± 0.04 , both $P < 0.01$). Overexpression of *tagln* increased cell invasion by $161.76\% \pm 61.18\%$ in RKO cells ($P < 0.01$).

CONCLUSION: A eukaryotic expression plasmid carrying *tagln* has been successfully generated and a RKO cell line stably expressing *tagln* has been established. These lay a foundation for further research of the role of transgelin in human colon carcinoma.

Key Words: Transgelin; Colon carcinoma; RKO cells; Gateway technology

Fang YY, Su H, Zhou HM, Lin Y. Construction of a eukaryotic expression vector carrying *tagln* and establishment of a cell line stably expressing *tagln*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2397-2403

■背景资料

结肠癌是常见的恶性肿瘤之一, 90%的结肠癌患者死于肿瘤转移。*tagln*编码的transgelin, 属钙调蛋白家族成员, 是平滑肌分化的早期标志物。前期研究发现transgelin在有淋巴结转移的结肠癌原发灶中高表达。

■同行评议者

高国全, 教授, 中山大学中山医学院生物化学教研室; 李革, 副教授, 延边大学附属医院; 周南进, 研究员, 江西省医学科学研究所

■ 研发前沿

transgelin是一种肌动蛋白结合蛋白,与细胞迁移、侵袭有关,参与EMT的过程,但在各种肿瘤细胞中的表达和作用并不一致。transgelin在结肠癌转移中的作用机制有待进一步研究阐明。

摘要

目的: 构建携 $tagln$ 基因的真核表达载体,建立稳定转染该质粒的人结肠癌细胞株RKO并鉴定。

方法: 通过Gateway克隆技术,使用pOTB7-TAGLN-mut与pDONR221进行BP重组反应,产生入门克隆,再与pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-DEST空载体进行LR重组反应,生成目的质粒pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-TAGLN-mut。通过测序验证目的质粒的插入序列。将携带 $tagln$ 的真核表达载体和对照质粒稳定转染至人结肠癌细胞株RKO。通过实时荧光定量PCR和免疫印迹检测 $tagln$ 的mRNA和蛋白表达水平。通过细胞侵袭实验了解transgelin在结肠癌细胞RKO中的作用。

结果: 携带 $tagln$ 的真核表达载体测序分析显示插入序列及位点正确;实时荧光定量PCR及免疫印迹结果显示,稳定转染重组目的质粒的细胞株(RKO-TAGLN细胞)中 $tagln$ 的表达水平与转染对照质粒的细胞株(RKO-CTRL细胞)及野生型RKO细胞相比明显上调,差异具有统计学意义(mRNA相对表达水平分别为 45.58 ± 12.79 、 1.32 ± 0.43 和1, $P < 0.01$;蛋白质灰度定量值为 1.69 ± 0.04 、 0.29 ± 0.05 和 0.29 ± 0.04 , $P < 0.01$)。细胞侵袭实验提示, RKO-TAGLN细胞较RKO-CTRL细胞的侵袭能力提高($161.76\% \pm 61.18\%$, $P < 0.01$)。

结论: 成功构建携 $tagln$ 基因的真核表达载体并建立过表达transgelin的稳定细胞株和对照细胞株,为研究transgelin在结肠癌中的作用奠定基础。

关键词: Transgelin; 结肠癌; 人结肠癌细胞RKO; Gateway克隆技术

方媛媛, 苏红, 周慧敏, 林瑾. TAGLN真核表达载体pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-TAGLN-mut及稳定转染细胞株的构建. 世界华人消化杂志 2012; 20(25): 2397-2403
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2397.asp>

0 引言

结肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一,在世界范围内,其发生率在男性肿瘤患者中居第3位,在女性肿瘤患者中居第2位。近年来,结肠癌的发病率在北美,东欧以及亚洲呈现上升趋势,我国的结肠癌发病率也在逐年升高^[1-3]。在美国和西欧国家,随着早期诊断和治疗水平的上升,结肠癌的病死率已经开始出现下降趋势^[4]。然而结肠癌转移是患者死亡的主要原因。因此,除早

期诊断外,有效抑制结肠癌转移,对于延长患者的生存期也具有非常重要的意义。transgelin是一种在物种间高度保守的蛋白,早期在人成纤维细胞中被发现,属于平滑肌蛋白^[5]。近年来,由于发现transgelin在肿瘤组织中存在异常表达,因此transgelin与肿瘤的关系逐步受到学界的重视。在既往的研究中,transgelin在肿瘤中所起的作用并不一致,在各种肿瘤组织中的表达也呈现不同趋势,甚至有学者提出,transgelin主要在肿瘤间质中表达,由于肿瘤间质组织含量不同造成了transgelin表达的不同^[3]。然而,在我们的前期研究中,利用激光显微切割技术,从结肠癌组织中收集肿瘤细胞进行定量蛋白组学分析,发现transgelin在淋巴结转移阳性组中的表达明显高于淋巴结转移阴性组,因此我们认为结肠癌细胞中transgelin高表达起促进转移的作用^[6]。在本研究中,我们通过Gateway克隆技术构建携带 $tagln$ (编码transgelin蛋白的基因)的真核表达载体,建立过表达transgelin的人结肠癌稳定细胞株RKO及对照细胞株,为进一步研究transgelin在结肠癌转移中的作用机制奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 材料 包含 $tagln$ 全长的质粒pOTB7-TAGLN-mut由Georgia Health Sciences University, GA, USA的Dr William S Dynan惠赠,此质粒中的 $tagln$ 含有2个位点的同义密码子突变^[6]。Not I限制性内切酶购自New England Biolabs;质粒pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-DEST、pDONR221、BP Clonase II混合物、LR Clonase II混合物、感受态大肠杆菌菌株TOP 10、Lipofectamine 2000、blasticidin及TRIzol均购自Invitrogen;质粒小提试剂盒购自QIAGEN;质粒大提试剂盒购自OMEGA;人结肠癌细胞株RKO购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库;EMEM培养基、胎牛血清和OPTI-MEM I培养基均购自Gibco;胰蛋白酶购自Bioind;提取蛋白质的裂解液购自Santa Cruz;兔抗人transgelin抗体和鼠抗人GAPDH抗体均购自Abcam;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔和山羊抗鼠抗体均购自Sigma-Aldrich;实时定量PCR试剂盒购自TaKaRa。

1.2 方法

1.2.1 transgelin真核表达载体pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-TAGLN-mut的构建: 首先将pOTB7-TAGLN-mut质粒线性化,即取2 μg 质粒、Not I限制性内切酶(10 U/ μL)1 μL 、10 \times NE缓冲液

3 2 μL 和10 \times BSA 2 μL , 补充DNase/RNase-free water至20 μL 混匀; 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h后加入乙醇 50 μL , 3 mol/L醋酸钠2 μL ; 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 g 离心 1 min, 将线性化的质粒沉淀; 用700 mL/L乙醇洗涤沉淀 2次; 4 $^{\circ}\text{C}$ 、7 500 g 离心5 min; 风干后用 TE buffer 溶解DNA.

根据Gateway克隆技术(<http://www.invitrogen.com>)进行BP反应, 将150 ng线性化质粒 pOTB7-TAGLN-mut、150 ng质粒pDONR221(1 μL)以及TE缓冲液混合(总体积8 μL)置于1.5 mL EP管中; 加入2 μL BP Clonase II 混合物于25 $^{\circ}\text{C}$ 反应3 h; 加入2 μL 蛋白激酶K(2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$); 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育10 min终止BP反应; 取2 μL BP反应产物转化 50 μL TOP10感受态大肠杆菌, 将转化反应产物接种至含100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 卡那霉素的固体LB培养基; 于37 $^{\circ}\text{C}$ 培养14 h后挑取单克隆菌落; 其后将菌落接种至含100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 卡那霉素的液体LB培养基中; 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温摇床225 r/min振荡培养12 h; 取菌液接种至含有25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 氯霉素的固体LB培养基(原pDONR221含有氯霉素耐药基因, 经重组反应插入目的基因后, 氯霉素耐药基因消失); 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养24 h后无菌落生长, 上述双重筛选初步验证BP反应产生正确的入门克隆pDONR221-TAGLN-mut.

使用经测序验证的入门克隆进行LR反应, 取150 ng pDONR221-TAGLN-mut、150 ng pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-DEST(1 μL)和TE缓冲液混合(总体积8 μL)置于1.5 mL EP管中, 加入2 μL LR Clonase II 混合物, 混匀后于25 $^{\circ}\text{C}$ 反应2 h, 加入2 μL 蛋白激酶K(2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$), 于37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育10 min终止LR反应. 取2 μL LR反应产物转化 50 μL 感受态大肠杆菌TOP10, 将转化反应产物接种到含有100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 氨苄西林的固体LB培养基, 挑选单克隆菌落小规模扩增, 经过上述含氯霉素的固体LB培养基的双重筛选(质粒 pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-DEST含有氯霉素耐药基因, 经重组反应插入目的基因后, 氯霉素耐药基因消失), 挑选出符合条件的菌落进行进一步扩增(具体步骤同BP反应). 根据质粒提取试剂盒的方法提取质粒.

1.2.2 入门克隆pDONR221-TAGLN-mut和重组目的质粒pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-TAGLN-mut测序分析: 将入门克隆和重组目的质粒送宝生物工程(大连)有限公司进行测序, 入门克隆使用引物M13F和M13R, 序列分别为 5'-GTAAAACGACGGCCAG-3'和5'-CAG-

GAAACAGCTATGAC-3'; 重组目的质粒使用引物T7-F和V5-R, 序列分别为5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3'和5'-ACCGAGGAGAGGGT-TAGGGAT-3'.

1.2.3 细胞培养及稳定细胞株构建: 人结肠癌细胞株RKO用含有100 mL/L胎牛血清(FBS)的EMEM培养基(Eagle's minimal essential medium)在含50 mL/L CO₂的37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养, 用0.25%胰蛋白酶-EDTA消化传代.

RKO细胞分别转染目的质粒pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-TAGLN-mut和空载对照质粒 pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-DEST, 细胞分别命名为RKO-TAGLN和RKO-CTRL. 转染前24 h, 以20 \times 10⁴/孔的密度将细胞接种至24孔板中. 转染当天细胞融合度达90%, 按转染试剂说明将2 μL Lipofectamine 2000和2 μg 质粒分别溶于50 μL OPTI-MEM I 培养基中, 两者混匀后室温孵育30 min, 滴入相应细胞培养孔中轻微震荡摇匀. 孵育8 h后更换新鲜培养基, 24 h后消化细胞, 以1:30稀释接种至直径60 mm培养皿中, 并用含50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ blasticidin的普通培养基继续培养, 每3 d换液1次. 2 wk后可在倒置荧光显微镜下观察到表达绿色荧光蛋白的细胞集落形成. 标记后挑取单克隆, 继续用50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ blasticidin的普通培养基进行培养扩增, 其后将携带相同质粒的数株单克隆细胞混合培养. 转染细胞进入稳定状态后, 用25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ blasticidin维持培养.

1.2.4 PCR检测: TRIzol法提取稳定转染细胞株RKO-TAGLN、RKO-CTRL和野生型RKO细胞(以下称RKO-WT)的总RNA, 并逆转录生成cDNA, 再以cDNA为模板, 进行实时定量PCR扩增, 目的基因tagln的上游引物为5'-GTTC-CAGACTGTTGACCTCTTT-3', 下游引物为5'-CTGCGCTTTCTTCATAAACC-3'. 以GAPDH作为内参, 其上游引物为5'-ACAGCCTCAAGAT-CATCAGCAAT-3', 下游引物为5'-ATGGACTGTGGTCATGAGTCCTT-3'. PCR反应条件为95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s后95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, 循环40次, PCR扩增结束后绘制溶解曲线, 对目的基因的表达采用2^{- $\Delta\Delta\text{Ct}$} 法行相对定量分析.

1.2.5 免疫印迹检测: 应用RIPA buffer(Santa Cruz)提取稳定转染细胞株RKO-TAGLN、RKO-CTRL和RKO-WT的总蛋白. 取25 μg 蛋白上样, 120 V恒压电泳1.5 h后转至硝酸纤维膜(NC膜), 30 V转膜1 h. 用含30 g/L BSA的TBST封闭NC膜1 h, 其后分别加入一抗(抗transgelin 1:500, 抗

■ 相关报道

与本研究结果相似, Lee等发现, transgelin能促进肿瘤干细胞的迁移和侵袭; Hidalgo等发现transgelin过表达于子宫内膜异位组织, 可能参与内膜细胞的迁移和侵袭. 而Thompson的报道却发现transgelin的缺失能增加肌动蛋白动力从而促进肿瘤细胞迁移.

■ 创新盘点

使用gateway克隆技术构建携*tagln*基因的真核表达载体,并建立过表达transgelin的稳定细胞株,并初步验证了transgelin在结肠癌细胞中的相关生物学功能。

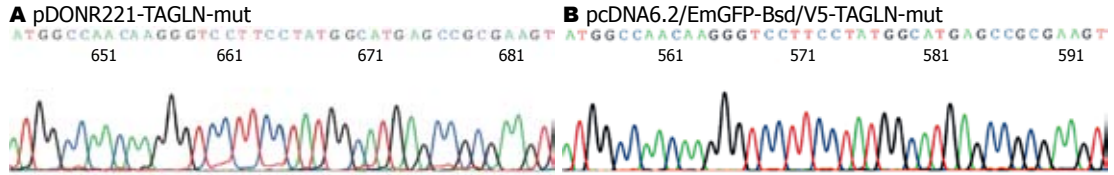


图1 质粒测序图. A: BP反应产物, 质粒pDONR221-TAGLN-mut部分测序; B: LR反应产物, 质粒pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-TAGLN-mut部分测序.

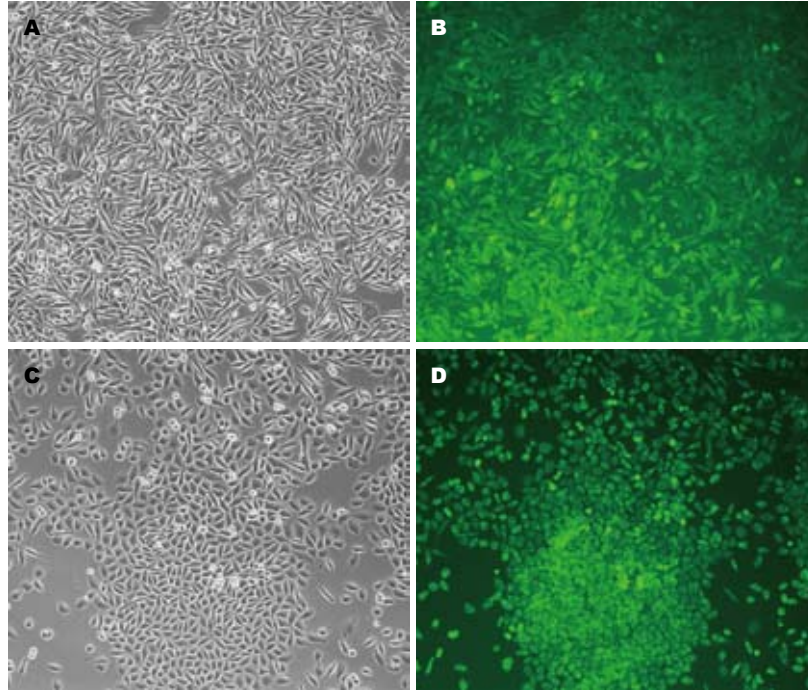


图2 绿色荧光蛋白在稳定转染目的质粒和对照质粒的人结肠细胞RKO中的表达. A, B: 转染目的质粒pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-TAGLN-mut的RKO稳定细胞株(RKO-TAGLN); C, D: 转染空载对照质粒pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-DEST的RKO稳定细胞株(RKO-CTRL). 其中A, C为相差显微镜视野; B, D为荧光显微镜视野.

GAPDH 1 : 4 000), 4 °C摇床孵育过夜. TBST洗膜3次, 每次10 min, 后加入相应二抗(辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠或者山羊抗兔IgG 1 : 30 000), 室温摇床孵育1 h. TBST洗膜3次, 每次10 min, ECL化学发光, 胶片曝光. 胶片经扫描后, 采用Quantity One软件进行灰度分析.

1.2.6 细胞侵袭实验: 用无血清EMEM培养基稀释matrigel至650 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 每个transwell小室用100 μL 的matrigel稀释液包被. 实验前, 用不含FBS的EMEM培养基培养细胞24 h, 将细胞消化后计数, 用含10 g/L BSA的EMEM培养基重悬细胞, 调整细胞密度为 $200 \times 10^4/\text{mL}$, 在transwell小室中加入100 μL 细胞悬液. 在24孔板中加入600 μL 含100 mL/L FBS的EMEM培养基, 将小室放入24孔板内, 放入37 °C温箱培养48 h. 取出小室至干净的24孔板, 吸去上室培养基, 在24孔板内加入600 μL 4%多聚甲醛固定20 min, 取出后用棉签拭去小室膜上方的细胞. 风干后用800 μL 1 g/L结晶紫染色15 min, 然后用流动的清水洗净小室, 风干后倒置相差显微镜进行拍摄. 拍摄后用100 μL 10%醋酸洗脱至96孔板内, 酶标仪测量 A_{595} .

统计学处理 采用方差分析对两株稳定转染细胞和野生型RKO细胞的*tagln* mRNA及蛋白表达水平差异进行统计分析. 通过*t*检验分别对两株稳定转染细胞的侵袭能力差异进行统计分析. 数据通过SPSS13.0统计软件包进行处理. $P < 0.05$ 为差异具有显著性.

2 结果

2.1 入门克隆和重组目的质粒的序列鉴定 测序结果表明目的基因在预期位点成功插入, 且序列正确(图1), 表明入门克隆pDONR221-TAGLN-mut和重组目的质粒pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-TAGLN-mut构建成功.

2.2 稳定转染细胞系的建立 转染了目的质粒pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-TAGLN-mut和对照质粒pcDNA6.2/EmGFP-Bsd/V5-DEST的RKO细胞株, RKO-TAGLN和RKO-CTRL, 经过传代培养2 mo后, 在倒置荧光显微镜下观察, 两株细胞均一表达绿色荧光(图2).

2.3 *tagln*在稳定转染细胞系中表达的鉴定 实时定量PCR结果显示, RKO-TAGLN细胞中*tagln*

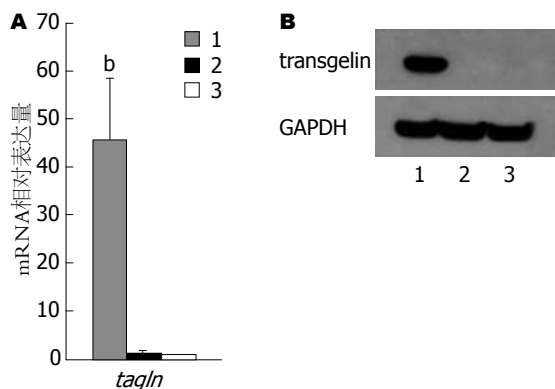


图3 *tagln*分别在稳定转染目的质粒、对照质粒和野生型人结肠癌细胞RKO中的表达。A: 实时定量RT-PCR检测TAGLN在两株稳定细胞和野生型RKO细胞中的mRNA表达水平,以GAPDH为内参,为3次独立实验所得($P<0.01$); B: 免疫印迹检测TAGLN在两株细胞稳定细胞和野生型RKO细胞中的蛋白表达水平,以GAPDH为内参; 1: RKO-TAGLN; 2: RKO-CTRL; 3: RKO-WT。

mRNA表达水平与其余两组相比,明显增高超过40倍($P<0.01$)。RKO-CTRL与RKO-WT细胞相比,*tagln* mRNA表达水平无统计学差异(图3A)。免疫印迹灰度值分析显示,RKO-TAGLN与RKO-CTRL和RKO-WT细胞相比,transgelin蛋白表达水平分别增高(499.71%±113.45%)和(498.39%±97.09%),差异均有统计学意义($P<0.01$)。RKO-CTRL与RKO-WT细胞的transgelin表达水平无统计学差异(图3B)。上述结果表明两株稳定细胞构建成功。

2.4 细胞侵袭能力的变化 经过侵袭实验侵袭至transwell小室膜下方的细胞经过固定、染色后(图4A, B)。继而使用洗脱液将细胞洗脱,通过测量洗脱液的 A_{595} 值来评价细胞的侵袭能力。结果显示,RKO-TAGLN细胞的 A_{595} 值为 0.3398 ± 0.1125 ,RKO-CTRL细胞为 0.1358 ± 0.0493 ,提示RKO-TAGLN细胞的侵袭能力比RKO-CTRL细胞显著增高(161.76%±61.18%),差异有统计学意义($P<0.01$,图4C)。提示transgelin能增加结肠癌细胞RKO的侵袭能力。

3 讨论

传统的酶切和连接法构建载体,酶切位点的选择上有比较多的局限性,不仅需要回避目的基因内部的酶切位点以及选择载体多克隆位区的酶切位点,并且要保证在载体的插入方向正确,操作复杂且克隆效率偏低,载体与宿主系统之间具有较强的依赖性。Gateway克隆技术是一种新的通用型载体构建方法,基于 λ 噬菌体位点特异性重组系统^[7],包括BP反应(包含attB位点的

PCR产物、cDNA等与含attP位点的donor载体在BP Clonase II混合物作用下反应生成入门克隆)和LR反应(包含attL位点的入门克隆与含有attR位点的目的载体在LR Clonase II混合物作用下生成目的基因真核表达载体)。这种克隆技术保持开放阅读框不变,快速高效实现DNA片段转移^[8]。能够将基因高效地克隆到一个或多个与Gateway克隆技术兼容的载体系统中。Gateway入门载体两端的接头不同,能够很好地解决目的基因连入的方向问题,而且,在中间载体和表达载体上含有ccdB基因,在普通大肠杆菌菌株中,ccdB蛋白可导致促旋酶介导的双链DNA断裂,故携带有此基因的载体无法在普通大肠杆菌中繁殖,只有发生重组被目的基因片段替换后,才可以使宿主菌不受影响,这就大大减低了载体构建过程中的假阳性^[9]。在植物表达载体的构建中,这种技术已经得到广泛应用^[10],在国外Gateway克隆技术已普遍应用于生物医学,但在国内仍未被广泛应用。

transgelin,又称SM22(smooth muscle protein22),是一种22 kDa大小的高度保守蛋白,其基因定位于人类染色体11q23.2^[11],transgelin普遍存在于血管和内脏平滑肌细胞中,是平滑肌分化的早期标志^[12]。早期对于transgelin的研究主要集中在平滑肌细胞和衰老细胞中的功能^[13],随着研究的不断进展,transgelin与肿瘤的相关性逐渐受到人们的重视。在结肠癌、肝癌以及前列腺癌等恶性肿瘤中,均发现transgelin的过表达^[6,14,15]。也有部分研究^[11,16]显示,transgelin在肿瘤组织中呈现低表达。因而,transgelin在肿瘤的发生发展中的作用尚不明确。前期实验中,通过激光显微切割对有无淋巴结转移的结肠癌原发灶中的肿瘤细胞成分进行蛋白组学分析,发现淋巴结转移阳性的结肠癌细胞中的transgelin表达明显高于淋巴结转移阴性组,因此我们认为结肠癌细胞高表达transgelin能够促进肿瘤转移^[6]。

transgelin是肌动蛋白结合蛋白^[17],属于钙调理蛋白家族的成员,具有N端钙调理蛋白同源区域(CH)和C端钙调理蛋白样模块(CLIK),C端钙调理蛋白样模块(CLIK)是结合肌动蛋白的必要区域^[18]。肌动蛋白参与细胞骨架的形成,而细胞骨架在细胞增殖、凋亡和迁移等过程中扮演重要角色^[19,20]。transgelin可能作用于肌动蛋白,调节细胞骨架,进而促进肿瘤细胞的转移。

从*tagln*的基因结构看,包含有转化生长因子 β (TGF- β)调控元件^[21]和SMAD蛋白结合位

应用要点

通过研究transgelin在结肠癌转移中的作用机制,为结肠癌转移提供新的分子基础,为进一步预防和控制结肠癌转移提供新的靶点。

同行评价

运用gateway技术构建TAGLN的真核表达载体及稳转细胞株, 选题科学, 有一定的创新性, 实验设计合理, 结论可靠, 对临床结肠癌转移研究有一定的意义。

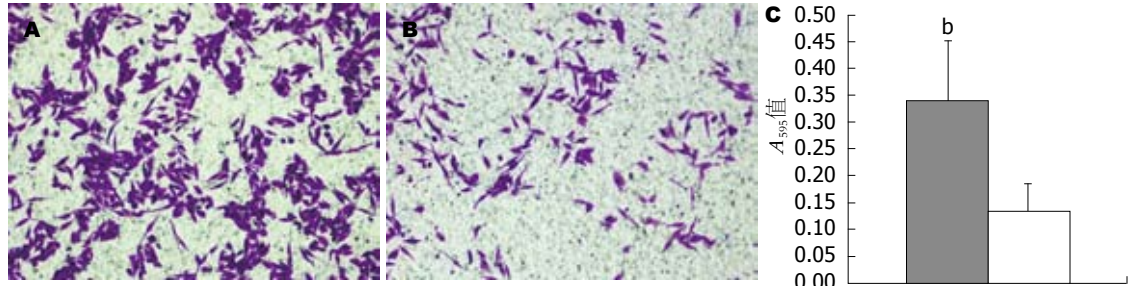


图4 transgelin对人结肠癌细胞RKO侵袭能力的影响. A: RKO-TAGLN细胞株侵袭图($\times 100$); B: RKO-CTRL细胞株侵袭图($\times 100$); C: 检测洗脱液 A_{595} 值, 结果为3次独立实验所得($P < 0.01$).

点^[22], Yu等^[23]对人肺上皮细胞A549细胞的研究表明, TGF- β 通过Alk5/SMAD3信号通路作用于tagln, 诱发上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 引起肺上皮细胞的迁移. 这些研究表明, transgelin很可能参与EMT过程. EMT是一个非常复杂的分子过程, 上皮细胞可以通过EMT过程“褪去”已分化细胞的特性, 比如细胞间的粘附现象、细胞极性现象、细胞缺乏运动能力等这些表型, 获得间质细胞的特征, 比如细胞具备移动能力、侵袭能力、抗凋亡能力等^[24]. 新近有研究发现transgelin过表达于子宫内膜异位组织, 可能参与子宫内膜细胞的迁移和侵袭^[25]; 也有研究显示, transgelin能促进肿瘤干细胞的迁移和侵袭^[15]. 但也有报道发现, transgelin的缺失能增加肌动蛋白动力从而促进肿瘤细胞迁移^[26]. 通过研究transgelin在结肠癌转移中的作用, 了解其分子的机制, 将为抑制结肠癌转移提供新的靶点.

本研究成功构建携tagln的绿色荧光蛋白真核表达载体, 并建立了稳定表达transgelin以及对对照质粒的人结肠癌细胞株RKO, 通过细胞侵袭实验初步验证了transgelin在结肠癌细胞RKO中的作用, 为我们进一步研究transgelin在结肠癌细胞中的功能及在结肠癌转移中的作用机制奠定了基础.

志谢 感谢中山大学孙逸仙纪念医院肿瘤科程帝同志及铜陵市人民医院放射科严俊同志在实验技术讨论中给予的建议和帮助.

4 参考文献

- 1 万德森. 结直肠癌流行趋势及其对策. 癌症 2009; 28: 897-902
- 2 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90
- 3 Li N, Zhang J, Liang Y, Shao J, Peng F, Sun M, Xu N, Li X, Wang R, Liu S, Lu Y. A controversial tumor

marker: is SM22 a proper biomarker for gastric cancer cells? *J Proteome Res* 2007; 6: 3304-3312

- 4 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29
- 5 Thweatt R, Lumpkin CK, Goldstein S. A novel gene encoding a smooth muscle protein is overexpressed in senescent human fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 187: 1-7
- 6 Lin Y, Buckhaults PJ, Lee JR, Xiong H, Farrell C, Podolsky RH, Schade RR, Dynan WS. Association of the actin-binding protein transgelin with lymph node metastasis in human colorectal cancer. *Neoplasia* 2009; 11: 864-873
- 7 Landy A. Dynamic, structural, and regulatory aspects of lambda site-specific recombination. *Annu Rev Biochem* 1989; 58: 913-949
- 8 Magnani E, Bartling L, Hake S. From Gateway to MultiSite Gateway in one recombination event. *BMC Mol Biol* 2006; 7: 46
- 9 Bernard P, Couturier M. Cell killing by the F plasmid CcdB protein involves poisoning of DNA-topoisomerase II complexes. *J Mol Biol* 1992; 226: 735-745
- 10 Xu R, Li QQ. Protocol: Streamline cloning of genes into binary vectors in Agrobacterium via the Gateway(R) TOPO vector system. *Plant Methods* 2008; 4: 4
- 11 Prasad PD, Stanton JA, Assinder SJ. Expression of the actin-associated protein transgelin (SM22) is decreased in prostate cancer. *Cell Tissue Res* 2010; 339: 337-347
- 12 Assinder SJ, Stanton JA, Prasad PD. Transgelin: an actin-binding protein and tumour suppressor. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 482-486
- 13 Kim TR, Cho EW, Paik SG, Kim IG. Hypoxia-induced SM22 α in A549 cells activates the IGF1R/PI3K/Akt pathway, conferring cellular resistance against chemo- and radiation therapy. *FEBS Lett* 2012; 586: 303-309
- 14 Peng J, Zhang Q, Ma Y, Wang Y, Huang L, Zhang P, Chen J, Qin H. A rat-to-human search for proteomic alterations reveals transgelin as a biomarker relevant to colorectal carcinogenesis and liver metastasis. *Electrophoresis* 2009; 30: 2976-2987
- 15 Lee EK, Han GY, Park HW, Song YJ, Kim CW. Transgelin promotes migration and invasion of cancer stem cells. *J Proteome Res* 2010; 9: 5108-5117
- 16 Zhao L, Wang H, Deng YJ, Wang S, Liu C, Jin H, Ding YQ. Transgelin as a suppressor is associated with poor prognosis in colorectal carcinoma patients. *Mod Pathol* 2009; 22: 786-796
- 17 Prinjha RK, Shapland CE, Hsuan JJ, Totty NF, Mason IJ, Lawson D. Cloning and sequencing of

- cDNAs encoding the actin cross-linking protein transgelin defines a new family of actin-associated proteins. *Cell Motil Cytoskeleton* 1994; 28: 243-255
- 18 Fu Y, Liu HW, Forsythe SM, Kogut P, McConville JF, Halayko AJ, Camoretti-Mercado B, Solway J. Mutagenesis analysis of human SM22: characterization of actin binding. *J Appl Physiol* 2000; 89: 1985-1990
- 19 Pawlak G, Helfman DM. Cytoskeletal changes in cell transformation and tumorigenesis. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 41-47
- 20 Qian Y, Corum L, Meng Q, Blenis J, Zheng JZ, Shi X, Flynn DC, Jiang BH. PI3K induced actin filament remodeling through Akt and p70S6K1: implication of essential role in cell migration. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 286: C153-C163
- 21 Adam PJ, Regan CP, Hautmann MB, Owens GK. Positive- and negative-acting Kruppel-like transcription factors bind a transforming growth factor beta control element required for expression of the smooth muscle cell differentiation marker SM22alpha in vivo. *J Biol Chem* 2000; 275: 37798-37806
- 22 Chen S, Kulik M, Lechleider RJ. Smad proteins regulate transcriptional induction of the SM22alpha gene by TGF-beta. *Nucleic Acids Res* 2003; 31: 1302-1310
- 23 Yu H, Königshoff M, Jayachandran A, Handley D, Seeger W, Kaminski N, Eickelberg O. Transgelin is a direct target of TGF-beta/Smad3-dependent epithelial cell migration in lung fibrosis. *FASEB J* 2008; 22: 1778-1789
- 24 Bates RC, Mercurio AM. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) and colorectal cancer progression. *Cancer Biol Ther* 2005; 4: 365-370
- 25 Dos Santos Hidalgo G, Meola J, Rosa E Silva JC, Paro de Paz CC, Ferriani RA. TAGLN expression is deregulated in endometriosis and may be involved in cell invasion, migration, and differentiation. *Fertil Steril* 2011; 96: 700-703
- 26 Thompson O, Moghraby JS, Ayscough KR, Winder SJ. Depletion of the actin bundling protein SM22/transgelin increases actin dynamics and enhances the tumourigenic phenotypes of cells. *BMC Cell Biol* 2012; 13: 1

编辑 曹丽鸥 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min) ÷ E%(仪器效率) ÷ 60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成t_{1/2}或T_{1/2}, V_{max}不能V_{max}, 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.

超声内镜联合CT对胃间质瘤的临床诊断价值

刘长青, 谭诗云, 李军华, 刘坤

■背景资料

胃间质瘤(GST)为黏膜下肿瘤, 并有恶性潜能, 术前准确诊断及全面评价病变范围是临床关注的重点。

刘长青, 李军华, 刘坤, 荆门市第一人民医院消化科 湖北省荆门市 448000

谭诗云, 武汉大学人民医院消化科 湖北省武汉市 430060

刘长青, 硕士, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤早期诊断的研究。
作者贡献分布: 本论文写作主要由刘长青完成; 谭诗云、李军华及刘坤负责修改; 谭诗云对图片进行审核。

通讯作者: 刘长青, 主治医师, 448000, 湖北省荆门市象山大道67号, 荆门市第一人民医院消化科. liuchangqing8@sohu.com
电话: 0724-2305745

收稿日期: 2012-06-02 修回日期: 2012-08-08

接受日期: 2012-08-11 在线出版日期: 2012-09-08

Diagnostic value of endoscopic ultrasonography combined with CT in gastric stromal tumors

Chang-Qing Liu, Shi-Yun Tan, Jun-Hua Li, Kun Liu

Chang-Qing Liu, Jun-Hua Li, Kun Liu, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Jingmen, Jingmen 448000, Hubei Province, China

Shi-Yun Tan, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Correspondence to: Chang-Qing Liu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Jingmen, 67 Xiangshan Road, Jingmen 448000, Hubei Province, China. Liuchangqing8@sohu.com

Received: 2012-06-02 Revised: 2012-08-08

Accepted: 2012-08-11 Published online: 2012-09-08

Abstract

AIM: To evaluate the diagnostic value of endoscopic ultrasonography and CT in gastric stromal tumors.

METHODS: Twenty-seven patients who were found to have gastric protrusion lesions by gastroscopy underwent endoscopic ultrasonography and CT examinations. The results of endoscopic ultrasonography and CT examinations were then compared with postoperative pathological results.

RESULTS: In 11 patients who had lesions less than 3 cm in diameter, the diagnostic yield of endoscopic ultrasonography was 85.2% and that of CT was 62.7%. In 9 patients who had lesions 3-5 cm, the diagnostic yield of endoscopic ultrasonography was 68.4% and that of CT was 76.2%. In 7 patients who had lesions greater than 5 cm,

the diagnostic yield of endoscopic ultrasonography was 59.2% and that of CT was 83.7%. The diagnostic yield of endoscopic ultrasonography combined CT was 95.3%.

CONCLUSION: Endoscopic ultrasonography combined with CT is the best method for diagnosis of gastric stromal tumors.

Key Words: Endoscopic ultrasonography; CT; Gastric stromal tumors; Diagnosis

Liu CQ, Tan SY, Li JH, Liu K. Diagnostic value of endoscopic ultrasonography combined with CT in gastric stromal tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2404-2406

摘要

目的: 评价超声内镜联合CT对胃间质瘤(gastric stromal tumors, GST)的临床诊断价值。

方法: 胃镜检查发现胃隆起性病变的病例同时行超声内镜及CT检查, 将超声内镜和CT检查的诊断结果与手术后组织病理检查结果进行对比。

结果: 27例胃黏膜下隆起性病变中, 直径<3 cm为11例, 超声内镜诊断率为85.2%, CT诊断率为62.7%; 直径为3-5 cm为9例, 超声内镜诊断率为68.4%, CT诊断率为76.2%; 直径>5 cm为7例, 超声内镜诊断率为59.2%, CT诊断率为83.7%, 同时行超声内镜及CT检查诊断率为95.3%。

结论: 超声内镜联合CT检查是胃间质瘤的最佳诊断方法。

关键词: 超声内镜; CT; 胃间质瘤; 诊断

刘长青, 谭诗云, 李军华, 刘坤. 超声内镜联合CT对胃间质瘤的临床诊断价值. *世界华人消化杂志* 2012; 20(25): 2404-2406
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2404.asp>

0 引言

胃间质瘤(gastric stromal tumors, GST)是起源于

■同行评议者

马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

胃肠道肌层cajal细胞的肿瘤^[1], 具有不确定的恶性潜能, 瘤细胞显示KIT突变和表达KIT蛋白(CD117)及CD34, 是一种独立的疾病^[2-4]. 由于病变位于黏膜下层、肌壁内或浆膜下层, 常规胃镜检查对黏膜下病变难以定性, 而超声内镜对黏膜下病变有特殊诊断意义, 但超声内镜对直径>5 cm的病变诊断有限, 而CT对充满水的胃壁有较好的分辨率, 对胃间质瘤的诊断具有一定的特异性^[5], 超声内镜和CT联合诊断胃间质瘤具有良好的互补性, 为手术治疗提供指导. 我们收集了本院近三年最终病理和免疫组织化学确诊为GST的病例, 通过对结果的回顾性分析来探讨超声内镜及CT对胃GST的诊断特点.

1 材料和方法

1.1 材料 我院2007-07/2010-07胃镜检查中胃黏膜下隆起性病变行手术后病理诊断为间质瘤病例27例, 男15例, 女12例, 年龄30-70岁, 平均38.2岁.

1.2 方法 用Olympus GF-UM260、JF UM-20型超声内镜, 探头频率7.5 MHz或12.0 MHz, 采用普通胃镜检查, 发现胃黏膜下有隆起性病变者行超声内镜及用西门子DR-H型全身CT机扫描, 采用层厚10 mm、层间距10 mm连续扫描检查, 扫描前禁食8 h, 并检查前5-30 min口服500-1 000 mL纯净水, 分析27例GST超声内镜及CT检查诊断特点.

统计学处理 所有统计资料应用SPSS13.0软件包进行数据分析, 采用 t 检验和相关分析. 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 胃镜检查 胃镜检查发现27例GST中, 19例胃壁隆起呈球形或半球形, 表面尚光滑, 边界清楚, 胃黏膜正常; 7例胃壁黏膜隆起顶部有溃疡, 基底宽, 边界清; 1例形成巨大溃疡, 溃疡边缘结节状隆起, 有活动性出血, 瘤体直径>10.0 cm; 肿块<3.0 cm 11例, 肿块3.0-5.0 cm 9例, 肿块>5.0 cm 7例.

2.2 超声内镜检查 27例GST病例中, 位于胃底14例、胃体8例、胃窦5例; 起源于黏膜肌层为7例, 固有肌层为20例, 超声内镜下肿块直径<3 cm者呈现为不均匀低回声或等回声病灶; 直径3-5 cm者内部回声不均匀, 并可见点片状高回声(图1); 直径>5 cm者呈不均匀混合回声, 内部可见液化坏死区, 浆膜层不完整, 壁外见肿大淋巴结.

2.3 CT检查 27例GST中, CT表现均为单发软组

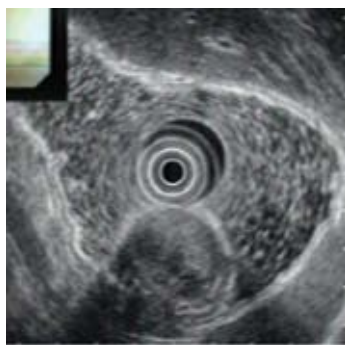


图1 胃间质瘤超声内镜图.



图2 胃间质瘤CT图.

织肿块, 其直径1.0-10.2 cm. 胃底部14例, 胃大弯处5例、胃小弯处3例和胃窦部5例, 肿块呈半圆形或类圆形, 边界清晰, 肿块向胃腔外生长13例, 单纯向胃腔内生长5例, 同时向胃腔内和外生长9例. CT平扫肿块呈等或略低密度, 边界清楚, 肿块直径<3 cm者密度均匀(图2), 直径3-5 cm者密度欠均匀, 直径>5 cm者密度欠均匀, 内部可见液化坏死区, 局部与邻近器官粘连.

2.4 超声内镜及CT检查结果比较 27例GST中, 直径<3 cm为11例, 超声内镜诊断率为85.2%, CT诊断率为62.7%; 直径为3-5 cm为9例, 超声内镜诊断率为68.4%, CT诊断率为76.2%; 直径>5 cm为7例, 超声内镜诊断率为59.2%, CT诊断率为83.7%, 同时行超声内镜及CT检查诊断率为95.3%.

3 讨论

GST是胃肠道最常见的间叶源性肿瘤, 其50%发生于胃体部, 胃大弯侧略多于胃小弯, 胃窦和贲门胃底区各占25%^[6], 临床表现缺乏特异性, 主要常见症状包括腹痛腹胀、腹部包块及消化道出血, 与胃癌、胃溃疡容易混淆^[7], 所有GST均有恶性潜能, 影响GST预后最贴切的变量是肿瘤大小、有丝分裂细胞数和部位^[8-11].

■创新盘点
超声内镜联合CT既对GST在胃壁的起源、累及胃壁层次及病变性质有直接了解, 又结合CT对GST周围情况进行评估, 较完整的反应病变整体情况.

■应用要点
超声内镜联合CT较完整的展现GST的局部与整体的关系, 为临床下一步治疗提供了依据.

■同行评价

本文具有一定的科学性、创新性和可读性,较好地反映我国胃肠病学临床研究的先进水平。

由于GST对放疗、化疗均不敏感,临床上GST的主要治疗手段是手术治疗。完整切除肿瘤,并保证切缘阴性是关键^[12,13],因此术前的诊断显得尤其重要。由于螺旋CT其密度分辨率高,解剖层次清晰,能直接显示肿瘤发生的部位、生长方式、形态大小、轮廓边界、密度均匀性、有无出血坏死,与邻近器官有无侵犯等,对GST的诊断具有一定的特异性。但CT诊断GST也存在一定的限度,当肿块较小,或对邻近结构侵犯与周围结构分界不清,或肿瘤与胃壁相连部分较仅以蒂相连时,定位、定性较困难,容易误诊或漏诊^[14]。而超声内镜是对胃黏膜下病变的首选检查方法^[15],利用超声内镜能够明确胃黏膜下病变起源于哪一层并根据回声情况而诊断病变性质,但超声内镜受频率所限,对病变的远场显示不清,对直径较大的病灶不能显示其边界及与周围组织的关系。本组病例显示对于直径<3 cm的胃黏膜下间质瘤,超声内镜有更高的诊断率($P<0.05$),而对于直径>5 cm的病变,CT显示有更高的诊断率($P<0.05$),而对于直径在3-5 cm的GST,两者诊断率相当($P<0.05$),同时行超声内镜及CT检查诊断率为95.3%。本组研究显示,GST的术前诊断因根据肿瘤的形态大小、生长方式综合考虑,超声内镜和CT各有优缺点,两者结合可能为最佳的诊断手段。

4 参考文献

- Adani GL, Marcello D, Sanna A, Mazzetti J, Anania G, Donini A. Gastrointestinal stromal tumours: evaluation of biological and clinical current opinions. *Chir Ital* 2002; 54: 127-131
- Xie XY, Carter N, Darwin PE, Drachenberg CB. Gastrointestinal stromal tumors: update. *Arkh Patol* 2004; 66: 36-40
- Joensuu H, Kindblom LG. Gastrointestinal stromal tumors--a review. *Acta Orthop Scand Suppl* 2004; 75: 62-71
- 陈金培, 刘国荣, 杨耀湘. CD117、CD34、Ki-67在胃肠道间质瘤中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3043-3047
- 王丽萍. 影像学检查对胃肠道间质瘤诊断价值探讨. *南京医科大学学报* 2006; 26: 134-137
- 崔法, 冯仕庭. 胃间质瘤的影像诊断. *影象诊断与介入放射学* 2004; 13: 162-165
- Orosz Z, Tornóczy T, Sápi Z. Gastrointestinal stromal tumors: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 136 cases. *Pathol Oncol Res* 2005; 11: 11-21
- Vallböhmer D, Marcus HE, Baldus SE, Brabender J, Lurje G, Drebbler U, Metzger R, Hölscher AH, Schneider PM. Comparative analysis of four histopathological classification systems to discriminate benign and malignant behaviour in gastrointestinal stromal tumors. *Anticancer Res* 2008; 28: 367-372
- Imamura M, Yamamoto H, Nakamura N, Oda Y, Yao T, Kakeji Y, Baba H, Maehara Y, Tsuneyoshi M. Prognostic significance of angiogenesis in gastrointestinal stromal tumor. *Mod Pathol* 2007; 20: 529-537
- 罗庆锋, 刘继喜, 刘晓, 许乐. 胃间质瘤的临床及病理特征分析138例. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 332-335
- Joensuu H. Risk stratification of patients diagnosed with gastrointestinal stromal tumor. *Hum Pathol* 2008; 39: 1411-1419
- 何裕隆. 提高胃间质瘤的诊治水平. *中华普通外科学文献(电子版)* 2008; 2: 258-261
- Caram MV, Schuetze SM. Advanced or metastatic gastrointestinal stromal tumors: systemic treatment options. *J Surg Oncol* 2011; 104: 888-895
- 李成明, 张瑜, 祝青松, 王付龙. CT诊断胃间质瘤. *中国医学影像学杂志* 2008; 16: 145-146
- 张晓丽, 钱林学. 超声技术在胃间质瘤诊断和治疗中的应用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2311-2315

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012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)

腹腔镜探查联合灌洗活检在进展期胃癌术前分期中的价值

朱信强, 李子禹

朱信强, 南京鼓楼医院集团 宿迁市人民医院普外科 江苏省宿迁市 223800
李子禹, 北京大学肿瘤医院胃肠外科 北京市 100142
朱信强, 主治医师, 主要从事胃肠肿瘤的基础与临床研究。
作者贡献分布: 此课题由李子禹设计; 临床操作过程由朱信强与李子禹完成; 试验结果判定由李子禹完成; 数据分析由朱信强与李子禹完成; 本论文写作由朱信强与李子禹完成。
通讯作者: 李子禹, 博士, 副主任医师, 副教授, 100142, 北京市海淀区阜成路52号, 北京大学肿瘤医院胃肠外科。
ligregory369@hotmail.com
电话: 010-88121122
收稿日期: 2012-06-11 修回日期: 2012-07-30
接受日期: 2012-08-06 在线出版日期: 2012-09-08

Clinical value of laparoscopic exploration with peritoneal lavage in preoperative staging of advanced gastric cancer

Xin-Qiang Zhu, Zi-Yu Li

Xin-Qiang Zhu, Department of General Surgery, Nanjing Gulou Hospital Group, Suqian People's Hospital, Suqian 223800, Jiangsu Province, China
Zi-Yu Li, Department of Gastrointestinal Surgery, Peking University Cancer Hospital, Beijing, 100142, China
Correspondence to: Zi-Yu Li, Professor, Department of Gastrointestinal Surgery, Peking University Cancer Hospital, Beijing, 100142, China. ligregory369@hotmail.com
Received: 2012-06-11 Revised: 2012-07-30
Accepted: 2012-08-06 Published online: 2012-09-08

Abstract

AIM: To explore the clinical significance of laparoscopic exploration with peritoneal lavage in staging of gastric cancer and choice of surgical procedures.

METHODS: The clinical data for 43 patients with gastric cancer who underwent laparoscopic exploration and treatment of in the Peking University Cancer Hospital were retrospectively analyzed.

RESULTS: All the 43 patients with gastric cancer underwent successful laparoscopic exploration and peritoneal lavage. The procedures were performed in 30-45 min (average 32 min) with less bleeding. Fourteen cases of peritoneal metastasis were found during operation. There was once case of gastric tumor directly invading surrounding organs. Twenty-seven cases of gastric tumours penetrated through the serosa of the

stomach, while the others still confined to the serosa. Endoscopic palpation was not obvious in four cases. All patients underwent peritoneal lavage, and 16 (37.2%) cases got positive cytologic findings in serous cavity effusions.

CONCLUSION: Laparoscopic exploration with peritoneal lavage has very important clinical significance in the staging of gastric cancer and choice of surgical procedures.

Key Words: Gastric cancer; Laparoscopic exploration; Peritoneal lavage; Staging

Zhu XQ, Li ZY. Clinical value of laparoscopic exploration with peritoneal lavage in preoperative staging of advanced gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2407-2409

摘要

目的: 探讨腹腔镜探查联合腹腔灌洗活检对进展期胃癌术前分期及术式选择的临床意义。

方法: 回顾分析北京大学肿瘤医院43例胃癌患者腹腔镜探查经过, 结果及治疗方案。

结果: 43例患者腹腔镜探查均获成功, 探查操作时间为30-45 min(平均32 min), 术中出血少。探查发现: 腹膜转移者14例, 肿瘤直接侵犯周围脏器1例。肿瘤突破浆膜者27例, 未突破浆膜者16例, 其中有4例镜下触诊不明显。所有患者行腹腔灌洗, 其中阳性者16例, 阳性率为37.2%。

结论: 胃癌患者术前预行腹腔镜探查和灌洗对于术前分期和选择合适的术式具有重要的指导意义。

关键词: 胃癌; 腹腔镜探查; 腹腔灌洗; 分期

朱信强, 李子禹. 腹腔镜探查联合灌洗活检在进展期胃癌术前分期中的价值. *世界华人消化杂志* 2012; 20(25): 2407-2409
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2407.asp>

0 引言

胃癌是我国最常见的消化系统恶性肿瘤, 临床

■背景资料

胃癌极易发生腹腔内播散转移, 而目前临床上的辅助检查对于胃癌的腹膜播散转移检出率较低。这可能使很多实际已经处于IVa期的患者被当作II、III期接受了没达到根治目的的根治性手术。而针对该类病人的术前新辅助化疗可以杀灭微转移灶, 从而使胃癌病情获得降级、降期, 提高其行根治术的机会。因此, 术前准确分期对于胃癌患者接受合适的术式具有重要的指导意义。本研究探讨将腹腔镜探查联合腹腔灌洗活检应用于胃癌术前分期的临床应用价值。

■同行评议者

陈凛, 教授, 中国人民解放军总医院普通外科

■创新盘点

本研究从临床实际问题出发,利用腹腔镜微创的优势,结合腹腔灌注活检的便捷,对进展期胃癌患者行术前探查和灌注,以获得更准确的术前分期;从而为其选择更合适的治疗措施,具有一定的创新性和实用价值。

上虽然对其采取手术、化疗等一系列综合措施,但其病死率仍居所有恶性肿瘤的前列^[1,2]。造成目前胃癌临床疗效欠佳的一个重要原因就是:肿瘤在获得诊断前就已经发生了微小而广泛的腹腔内播散转移^[3,4]。有时这些转移灶微小到甚至无法用肉眼辨别。目前临床上主要依赖腹腔超声、CT扫描及MRI等辅助检查对胃癌患者进行术前分期^[5]。虽然上述检查对于较大的肝肺转移和腹腔转移具有较高的精确度,但对于微小的腹腔播散转移的诊断仍有较大的局限性。这就导致临床上仍有不少胃癌病例在手术探查时才发现腹膜转移。因此,准确的术前分期对于指导胃癌的临床治疗、选择合适的治疗方式、判定患者预后具有重要的临床意义。研究发现^[6-8]:腹腔镜探查和腹腔灌注活检的细胞学检查对于发现胃癌的微小腹腔播散转移具有重要的意义。本研究采用腹腔镜探查联合灌注活检对进展期胃癌患者腹腔内播散转移情况进行检测,旨在研究腹腔镜探查联合腹腔灌注活检细胞学检查的方法对于进展期胃癌患者术前分期的临床应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料 随机选取2011-09/2012-01北京大学肿瘤医院胃肠外科收治的、符合入选条件的胃癌患者共43例(男35例,女8例),年龄34-77岁(中位年龄54.5岁)。所有病例均行胃镜检查诊断为胃癌。超声胃镜检查示:肿瘤突破浆膜、与周围分界欠清、可探及区域淋巴结肿大者18例,肿瘤突破浆膜、可探及腹膜后淋巴结肿大者20例,尚未突破浆膜、与固有肌层分界欠清者5例。腹部CT扫描示:胃壁不规则增厚、伴有强化、浆膜面毛糙者35例,胃壁轻度增厚者8例。患者入选标准需同时满足以下条件:(1)经组织学确诊为胃癌,未接受过放化疗治疗;(2)腹部超声、CT或MRI等影像学检查示肿瘤处于进展期,但无远处转移;(3)腹水征阴性;(4)无手术禁忌症,能耐受手术;(5)愿意接受腹腔镜探查和腹腔灌注活检,并签署知情同意书者。

1.2 方法 所有患者均在手术室进行腹腔镜探查和腹腔灌注活检。全麻,取平卧位,于脐上方1.5 cm处作纵行切口,切开皮肤、皮下组织、腹白线及腹膜,置入12 mm Trocar,建立气腹并维持压力于12-15 mmHg水平。置入腹腔镜头,直视下平脐锁骨中线处分别置入5 mm Trocar,置入操作钳进行探查和灌注,探查灌注结束后拔除

Trocar,关闭戳孔,术毕。

探查顺序:左右膈下→腹腔壁层腹膜→盆腔→结肠、小肠及系膜→肝脏、脾脏→切开胃结肠韧带→小网膜腔→胰腺→胃。

探查内容:有无腹水,盆腹腔腹膜、肠系膜、大网膜、小网膜和Douglas腔有无转移灶,肝表面有无转移,胃周淋巴结是否肿大,胃浆膜面有无浸润,胃壁是否僵硬。必要时以抓钳钳取可疑组织进行病理学检查。

腹腔灌注活检:以250 mL灭菌生理盐水分别冲洗左右膈下和Douglas腔。30°仰卧位维持10 min,于Douglas腔收集灌注液,离心沉渣,细胞学检查有无脱落的肿瘤细胞。

2 结果

本组患者均获探查和灌注活检成功,探查灌注等操作时间:30-45 min(平均32 min),出血量:5-10 mL(平均7.4 mL)。

探查结果显示:胃癌突破浆膜面者27例(含后壁肿瘤1例)、未突破浆膜者16例。已发生腹膜转移者14例(32.6%)、侵犯周围脏器者1例、镜下触诊不明显者4例。

腹腔灌注结果显示:细胞学检查阳性者16例(37.2%),略高于腹腔镜发现腹膜转移者。

所有患者根据腹腔镜探查和腹腔灌注活检的结果再次进行术前分期。之后分别行新辅助化疗、根治性切除、姑息性切除等治疗方式。

3 讨论

研究显示^[3,4,9]:胃癌极易发生腹腔播散转移(特别是肉眼无法辨识的微转移),而目前临床常用影像学检查对胃癌的T分期和N分期的准确度可达到很高的准确率,然而对于这些微小的播散转移灶的阳性检出率偏低。这可能导致很多实际已经处于IVa期的患者被当作II、III期接受了没达到根治目的的根治性手术。而这些病人在术后很快死于腹腔复发转移,从而影响了整体胃癌的疗效。本研究发现:约有32.6%-37.2%的进展期胃癌患者可能已经发生了腹腔播散转移。因此,针对这些患者即使行D2根治性手术也无法达到根治的目的。而针对该类病人的术前新辅助化疗可以杀灭微转移灶,从而使胃癌病情获得降级、降期,提高其行根治术的机会,这有助于提高患者的生存率、延长其生存期^[10]。所以,术前准确分期对于胃癌患者接受合适的术式具有重要的指导意义。而腹腔镜以其操作简便、

■应用要点

腹腔镜探查联合腹腔灌注活检技术有助于为进展期胃癌患者提供更准确的临床分期,从而使其得到更合适的临床治疗措施。及早发现腹腔播散转移病例,并对其开展术前新辅助化疗,有助于使该类患者获得降级、降期,从而提高其行根治术的机会、提高其生存率、延长其生存期。

创伤小、可直观观察并可取活检的优点在胃癌的术前准确分期中可扮演重要的角色^[11].

现代的诊断性腹腔镜探查技术具有直观、创伤小、恢复快、准确率较高的优点, 能取得与剖腹探查同样的探查效果. 但其对患者免疫和生理的影响较开腹手术小^[12,13]. 虽然腹腔镜探查可能使患者多耐受一次麻醉、增加了一些医疗花费, 但其有助于为患者准确地评估分期、减少不必要的开腹手术, 从而减少患者住院日数、降低并发症. 腹腔镜探查的同时可行腹腔热灌洗化疗和灌洗活检. 从而发现肉眼无法发现的微转移, 并同时即作出治疗. 研究发现^[14-16]: 腹腔镜探查时, CO₂泄露所产生的烟囱效应将增加腹腔脱落的肿瘤细胞种植于Trocar孔周围的几率. 另外, 沾染肿瘤细胞的腹腔镜器械也有增加腹腔内播散转移的机会. 因此, 腹腔镜探查时操作应轻柔、尽量避免直接接触肿瘤. 本组暂未发现这方面的并发症.

腹腔内脱落癌细胞的存在是形成腹膜转移的前提和基础, 这些自原发灶脱落的癌细胞在腹腔内形成复发的“种子”, 一旦种植于腹膜这个“土壤”, 就导致了腹膜转移的发生; 众多的细胞因子参与上述病理生理过程^[17,18]. 因此, 腹腔内脱落细胞学的检测对于肿瘤分期、指导治疗、判定预后的意义重大. 目前, 腹腔脱落细胞学检测的方法有: 细胞涂片法、免疫组织化学法、流式细胞术、酶联免疫法、免疫细胞化学法、免疫磁珠分选法、RT-PCR法等等. 免疫学方法虽可提高脱落癌细胞的阳性检出率, 但均昂贵、费时. PCR方法检测的敏感性虽高, 但操作繁琐、样本易受污染、费用昂贵. 腹腔镜下灌洗液的常规细胞学涂片检测具有简易、快速、经济的优点, 值得在临床配合腹腔镜探查时推广.

4 参考文献

1 Jing JJ, Liu HY, Hao JK, Wang LN, Wang YP, Sun LH, Yuan Y. Gastric cancer incidence and mortality in Zhuanghe, China, between 2005 and 2010. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1262-1269
 2 刘龚孜子, 周鐔, 谢川, 杨杭, 吕农华. 胃癌干细胞的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 574-579

3 Wang YD, Wu P, Mao JD, Huang H, Zhang F. Relationship between vascular invasion and microvessel density and micrometastasis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6269-6273
 4 Ru Y, Zhang L, Chen Q, Gao SG, Wang GP, Qu ZF, Shan TY, Qian N, Feng XS. Detection and clinical significance of lymph node micrometastasis in gastric cardia adenocarcinoma. *J Int Med Res* 2012; 40: 293-299
 5 林家威, 黄顺荣, 吴东波, 徐胜, 钟晓刚, 周小燕. 64排螺旋CT三期增强扫描在胃癌淋巴清扫术前评估中的价值. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 596-600
 6 李鹏, 左联华, 田华, 郑勇. 进展期胃癌术前腹腔镜探查的临床意义. *腹腔镜外科杂志* 2009; 14: 663-665
 7 李云涛, 杨枫, 刘展, 侯康, 夏乡, 江山红. 腹腔镜分期对进展期胃癌治疗方案选择的影响. *四川医学* 2009; 30: 1004-1006
 8 王夫景, 高岩, 黄跃南, 佟佰峰, 张秀云, 杨维良. 腹腔冲洗液和腹膜组织检测胃癌腹腔微转移的临床意义. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2148-2150
 9 Wang J, Yu JC, Kang WM, Wang WZ, Liu YQ, Gu P. The predictive effect of cadherin-17 on lymph node micrometastasis in pN0 gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 1529-1534
 10 何若冰, 陈俊强. 胃癌新辅助化疗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1207- 1211
 11 Mahadevan D, Sudirman A, Kandasami P, Ramesh G. Laparoscopic staging in gastric cancer: An essential step in its management. *J Minim Access Surg* 2010; 6: 111-113
 12 Pavlidis TE, Pavlidis ET, Sakantamis AK. The role of laparoscopic surgery in gastric cancer. *J Minim Access Surg* 2012; 8: 35-38
 13 Cui M, Xing JD, Yang W, Ma YY, Yao ZD, Zhang N, Su XQ. D2 dissection in laparoscopic and open gastrectomy for gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 833-839
 14 Sica GS, Iaculli E, Biancone L, Di Carlo S, Scaramuzzo R, Fiorani C, Gentileschi P, Gaspari AL. Comparative study of laparoscopic vs open gastrectomy in gastric cancer management. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4602-4606
 15 Pugliese R, Maggioni D, Costanzi A, Ferrari G, Gualtierotti M. Laparoscopic and mini-invasive surgery. *Ann Ital Chir* 2012; 83: 192-198
 16 Kim KH, Kim MC, Jung GJ, Kim HH. Long-term outcomes and feasibility with laparoscopy-assisted gastrectomy for gastric cancer. *J Gastric Cancer* 2012; 12: 18-25
 17 Yoneda A, Ito S, Susumu S, Matsuo M, Taniguchi K, Tajima Y, Eguchi S, Kanematsu T, Nagata Y. Immunological milieu in the peritoneal cavity at laparotomy for gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1470-1478
 18 Song KY, Wong J, Gonzalez L, Sheng G, Zamarin D, Fong Y. Antitumor efficacy of viral therapy using genetically engineered Newcastle disease virus [NDV(F3aa)-GFP] for peritoneally disseminated gastric cancer. *J Mol Med (Berl)* 2010; 88: 589-596

■名词解释
 肿瘤微转移(micrometastasis): 又称隐形转移(occult metastasis), 是指直径≤1 mm的微小转移灶(约含10⁶个肿瘤细胞). 微转移是一个复杂的过程, 包括: 瘤细胞在血管内滞留、种植于受累器官、移出血管、增殖并常伴有间质反应.

■同行评价
 本文进一步验证了腹腔镜探查联合腹腔灌注活检技术在胃癌分期中的临床价值, 研究紧贴临床实际, 具有现实的临床推广价值.

编辑 曹丽鸥 电编 鲁亚静

非酒精性脂肪肝血尿酸水平与胰岛素抵抗的相关性

任习芳, 艾耀伟, 潘志红, 刘修莉, 陈畅, 龚发良

■背景资料

非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是典型的代谢性疾病, 脂质代谢异常贯穿了其发病的整个过程, 胰岛素抵抗是其独立的发病因素, 胰岛素抵抗、尿酸成为NAFLD发病机制中的研究热点, 理论体系不够完善, 有待进一步研究。

任习芳, 艾耀伟, 潘志红, 刘修莉, 陈畅, 龚发良, 三峡大学人民医院消化内科 湖北省宜昌市 443000

任习芳, 副主任医师, 主要从事肝胆疾病及腹水的诊治研究。

作者贡献分布: 此课题由任习芳与潘志红设计; 研究过程由任习芳、艾耀伟及刘修莉操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由刘修莉提供; 数据分析由任习芳与陈畅完成; 本论文写作由任习芳、艾耀伟及龚发良完成。

通讯作者: 艾耀伟, 博士, 副主任医师, 443000, 湖北省宜昌市解放路2号, 三峡大学人民医院消化内科。aiyw2001@qq.com
电话: 0717-6222800

收稿日期: 2012-05-28 修回日期: 2012-07-28

接受日期: 2012-08-06 在线出版日期: 2012-09-08

Relationship between serum uric acid and insulin resistance in patients with nonalcoholic fatty liver disease

Xi-Fang Ren, Yao-Wei Ai, Zhi-Hong Pan, Xiu-Li Liu, Chang Chen, Fa-Liang Gong

Xi-Fang Ren, Yao-Wei Ai, Zhi-Hong Pan, Xiu-Li Liu, Chang Chen, Fa-Liang Gong, Department of Gastroenterology, People's Hospital of China Three Gorges University Medical School, Yichang 443000, Hubei Province, China
Correspondence to: Yao-Wei Ai, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, People's Hospital of China Three Gorges University Medical School, 2 Jiefang Road, Yichang 443000, China. aiyw2001@qq.com

Received: 2012-05-28 Revised: 2012-07-28

Accepted: 2012-08-06 Published online: 2012-09-08

Abstract

AIM: To investigate the relationship between serum uric acid and insulin resistance in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) alone and those with NAFLD and type 2 diabetes mellitus (T2DM).

METHODS: Forty patients with NAFLD alone, 72 NAFLD patients with T2DM, and 62 healthy controls were studied. Abdominal ultrasound was used for fatty liver examination. Insulin levels were determined by radioimmunoassay (RIA). Insulin resistance indexes were assessed by the homeostasis assessment insulin resistance (HOMA-IR). Other biochemical variables were measured using routine methods.

RESULTS: Compared to healthy controls, the body mass index (BMI), alanine aminotransferase

(ALT), aspartate aminotransferase (AST), cholesterol (TC), fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), HOMA IR, glycosylated hemoglobin (HbA1C), UA1b/UCr and SUA significantly increased in NAFLD patients with T2DM. Compared to patients with NAFLD alone, insulin resistance was more serious in NAFLD patients with T2DM. Correlation analysis showed that FBG, HOMA IR and HbA1C were closely related with SUA.

CONCLUSION: Serum uric acid is closely related with insulin resistance in patients with NAFLD. Therefore, reduction of insulin resistance and correction of SUA are important for preventing NAFLD.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Type 2 diabetes mellitus; Serum uric acid; Insulin resistance

Ren XF, Ai YW, Pan ZH, Liu XL, Chen C, Gong FL. Relationship between serum uric acid and insulin resistance in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2410-2413

摘要

目的: 研究非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver, NAFL)患者血尿酸水平及其与胰岛素抵抗程度的相关性。

方法: 选取单纯NAFL患者40例, NAFL合并2型糖尿病患者(type 2 diabetes mellitus, T2DM)72例, 健康体检者62名为研究对象。测定体重指数(body mass index, BMI), 检测空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、尿酸(serum uric acid, SUA)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、胆固醇(cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1C)、尿微量白蛋白/尿肌酐(Ualb/UCr)等生化指标并行肝脏B超检查。放射免疫法测定空腹胰岛素(fasting insulin, FINS), 计算胰岛素抵抗指数(HOMA IR)。

结果: NAFL合并T2DM组BMI、SUA、ALT、AST、TG、FBG、FINS、HOMA IR、

■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

HbA1C、Ualb/UCr、SF均高于对照组;与单纯NAFL比较,NAFL合并T2DM组胰岛素抵抗及SUA水平更重;相关性研究表明FBG、HOMA IR、HbA1C与SUA呈正相关。

结论: NAFL患者存在明显的胰岛素抵抗及高尿酸血症,且两者具有一定的相关性。降低胰岛素抵抗联合纠正尿酸代谢紊乱对防止NAFL的发生发展具有重要的临床意义。

关键词: 非酒精性脂肪肝性肝病; 2型糖尿病; 尿酸; 胰岛素抵抗

任习芳, 艾耀伟, 潘志红, 刘修莉, 陈畅, 龚发良. 非酒精性脂肪肝尿酸水平与胰岛素抵抗的相关性. 世界华人消化杂志 2012; 20(25): 2410-2413
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2410.asp>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)和遗传易感密切相关的代谢应激性肝脏损伤,疾病谱包括非酒精性单纯性脂肪肝(nonalcoholic simple fatty liver, NAFL)、非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)及其相关肝硬化和肝细胞癌。目前多数研究认为NAFLD是遗传-环境-代谢应激相关性疾病,2002年美国肝脏病学学会NASH专题研讨会认为NAFL是代谢综合征在肝脏的表现^[1],NAFL常常合并肥胖症、糖尿病、胰岛素抵抗和高脂血症。近年来,胰岛素抵抗、尿酸成为NAFLD发病机制中的研究热点^[2-5]。本研究旨在对NAFL患者血清尿酸水平与胰岛素抵抗之间的关系进行探讨,试图进一步揭示NAFL的发病机制,从而为该病的诊断和治疗探索新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料 研究对象为三峡大学人民医院消化内科2010-2011年度住院患者及体检人员。其中单纯NAFL患者40例,NAFL合并2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者72例,对照组62名为同年度健康体检者。NAFLD诊断符合2010年中华医学会肝脏病学学会标准;糖尿病按照1999年WHO诊断标准。

1.2 方法 所有研究对象均询问病史,由专人测定身高、体质量,由体检专职人员行肝、胆、脾B型超声检查,并清晨空腹抽取外周静脉血3-5 mL,肝素抗凝,检测空腹血糖(fasting blood

sugar, FBG)、尿酸(serum uric acid, SUA)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、胆固醇(cholesterol, TC)、甘油三酯(triglycerides, TG)、糖化血红蛋白(glycated hemoglobin, HbA1C)、尿微量白蛋白/尿肌酐(Ualb/UCr)等生化指标,放射免疫法测定空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)。所用仪器为日立7600全自动生化分析仪。体质量指数(body mass index, BMI) = 体质量(kg)/身高²(m²);胰岛功能评价采用胰岛素抵抗指数(HOMA IR) = FBG × FINS/22.5。

统计学处理 正态分布的计量资料用mean ± SD表示,组间均数采用 t 检验,参数间进行Pearson相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。所有统计学资料均用SPSS12.0软件进行处理。

2 结果

2.1 一般资料比较 3组的平均年龄分别为52.39岁 ± 11.21岁、53.48岁 ± 10.90岁和55.43岁 ± 11.08岁。经分析,3组的年龄、性别构成比无明显统计学差异。单纯NAFL组及NAFL合并T2DM组的BMI均高于对照组;NAFL合并T2DM组BMI、SUA、ALT、AST、TG、Ualb/UCr高于对照组,有统计学意义(表1)。

2.2 尿酸与胰岛素抵抗指标的比较 单纯NAFL组SUA高于对照组,与单纯NAFL组比较,NAFL合并T2DM组FBG、HOMA IR、HbA1C、SUA均明显升高且有统计学意义(表2)。

2.3 单因素相关性分析 经过Pearson相关性分析发现,在样本间多因素之间存在复杂的相关性,SUA与BMI、WHR、FBG、FINS、HOMA IR之间存在显著的正相关(分别为 $r = 0.245, P = 0.028, r = 0.215, P = 0.005; r = 0.610, P = 0.000; r = 0.381, P = 0.006$),与胰岛素敏感指数之间存在非常显著的负相关($r = -0.567, P = 0.000$),WHR与BMI之间存在非常显著的正相关($r = 0.236, P = 0.002$)。

3 讨论

NAFLD与IR密切相关,通常合并肥胖症和/或T2DM、高脂血症等代谢综合征(MS)的组分^[6,7]。本研究显示,伴NAFLD的T2DM组WHR、SUA、ALT、AST、GGT、TG及VLDL均显著高于对照组($P < 0.05$),表明NAFLD患者中呈现了中心性肥胖、IR、肝酶异常及血脂代谢异常等MS的临床特征。这与伴NAFLD的T2DM组患者

■ 研究前沿

非酒精性脂肪性肝病(NAFL)是最常见的肝病之一,但对其了解不是充分,所以需要进一步研究,包括相关的生物标志或预测指标,用生物标志取代肝活检诊断进展性NAFL等。

■名词解释

非酒精性脂肪性肝病(NAFLD): 除酒精和其他明确的损肝因素所致的肝细胞内脂肪过度沉积为主要特征的临床病理综合征, 与胰岛素抵抗和遗传易感性密切相关的获得性代谢应激性肝损伤。包括单纯性脂肪肝(SFL)、NASH及其相关肝硬化。

表 1 3组临床资料分析

项目	对照组(<i>n</i> = 62)	单纯非酒精性脂肪性肝病(<i>n</i> = 40)	非酒精性脂肪性肝病合并糖尿病组(<i>n</i> = 72)
年龄(岁)	55.43 ± 11.08	52.39 ± 11.21	53.48 ± 10.90
BMI(kg/m ²)	22.74 ± 1.21	25.95 ± 2.36 ^b	27.02 ± 3.16 ^b
ALT(U/L)	22.75 ± 16.63	33.84 ± 24.65	40.96 ± 33.54
AST(U/L)	22.62 ± 5.54	31.29 ± 14.26	34.71 ± 19.13 ^b
TG(mmol/L)	1.46 ± 1.09	2.24 ± 1.36	2.26 ± 1.96 ^b
TC(mmol/L)	4.87 ± 0.91	5.43 ± 1.12 ^b	5.58 ± 1.20
UA(μmol/L)	286.14 ± 71.56	313.23 ± 75.66 ^b	336.52 ± 97.57 ^b
Ualb/UCr(mg/g)	10.21 ± 7.15	24.14 ± 24.46	57.86 ± 76.44 ^b

^b*P* < 0.01 vs 对照组。

表 2 3组血尿酸与胰岛素抵抗指标的比较 (mean ± SD)

项目	对照组(<i>n</i> = 62)	单纯非酒精性脂肪性肝病(<i>n</i> = 40)	非酒精性脂肪性肝病合并糖尿病组(<i>n</i> = 72)
FBG(mmol/L)	4.75 ± 0.54	5.17 ± 0.62	8.98 ± 4.21 ^{bd}
FINS(μg/L)	9.47 ± 4.13	12.71 ± 7.16	13.55 ± 7.09 ^{bd}
HOMA IR	2.04 ± 0.89	2.66 ± 1.50	5.20 ± 1.99 ^{bd}
HbA1C(%)	5.89 ± 0.54	5.92 ± 0.22	10.11 ± 2.34 ^{bd}
SUA(μmol/L)	286.14 ± 71.56	313.23 ± 75.66	336.52 ± 97.57 ^{bd}
胰岛素敏感指数	0.047 ± 0.022	0.029 ± 0.025	0.025 ± 0.019 ^{bd}

^b*P* < 0.01 vs 对照组; ^d*P* < 0.01 vs 单纯非酒精性脂肪肝组。

FPG、HOMA-IR较高(*P* > 0.05)等相一致。本研究发现, 单纯NAFL组存在肥胖和血糖、血脂代谢异常, 当合并T2DM后, 肝功能明显异常, 血脂进一步升高, 胰岛素抵抗程度明显加重, 这与国内外部分文献中提出的NAFLD是MS的组分之一的观点相吻合^[8,9], 认为胰岛素抵抗主要通过两个途径导致肝细胞脂肪变性, 即脂质过多症和高胰岛素血症。

SUA的变化反应嘌呤代谢的改变, 与人体内的物质代谢密切相关。目前已有不少研究报道, 在肥胖、血脂异常、糖代谢异常、高胰岛素血症以及心血管疾病均合并高尿酸血症, NAFLD与SUA之间的关系逐步为人们所重视^[10]。Niskanen等^[11]报道“芬兰糖尿病预防研究”, 发现基础高SUA水平者预示发生T2DM的风险增加2倍(RR = 1.87, 95%CI: 1.07-3.26), 还显示高SUA与高胰岛素水平密切相关, 认为高SUA是高胰岛素血症独立危险因素。SUA升高与IR密切相关, 考虑有以下几种因素: (1)NAFLD患者肝细胞内脂肪沉积增加, 脂肪酸氧化率提高, 引起G-6-Pase活性提高, 导致肝脏糖异生增强, 肝葡萄糖输出增加, 同时胰岛素对G-6-Pase抑制能力降低, 从而引起肝脏的胰岛素抵抗; (2)胰岛素抵抗可

以引起肾素-血管紧张素系统亢进, 而血管紧张素II可以减少肾血流量, 从而抑制尿酸排泄; (3)胰岛素抵抗可加重氧化应激, 促进尿酸合成。国内也有报道, 在肾脏中, UA与钠离子有共同的转运系统, 胰岛素可通过减少钠-氢交换而减少钠离子的排泄水平从而减少UA的排泄^[12]。本研究中, 伴NAFLD的T2DM组中尿酸清除率较单纯性NAFL、对照组显著降低(*P* < 0.05), 考虑与伴NAFLD的T2DM组中IR较严重有关。SUA升高、胰岛素抵抗以及肝脏损伤间的恶性循环, 使原有的疾病进一步恶化。

本研究相关性分析发现, 伴T2DM的NAFLD患者SUA明显高于单纯性脂肪肝及对照组患者(336.52 ± 97.57, 313.23 ± 75.66, 286.14 ± 71.56, *P* < 0.05), 存在显著的正相关; 胰岛素敏感指数明显低于正常对照组, 但不能证实高尿酸水平独立地位, 提示UA水平依赖胰岛素抵抗在NAFLD的发病中起作用, 这和研究结果尿酸与胰岛素敏感指数之间存在非常显著的负相关关系相吻合。

总之, NAFL患者存在明显的胰岛素抵抗及高尿酸血症, 且二者具有一定的相关性。国内通过实验证实饮食调整对NAFL有积极的治疗作用, ω-3多不饱和脂肪酸胶丸、中药降脂颗粒对

NAFL患者也有疗效^[13-15]。但在NAFL合并T2DM患者的治疗上,若能同时从改善胰岛素抵抗及高尿酸血症两方面联合入手可能会有较好的疗效。目前胰岛素抵抗的治疗相对成熟,本文认为避免高嘌呤食物摄入,如动物内脏、鱼虾、肉汤、饮酒等,减少UA生成,促进UA排泄,对NAFL合并T2DM的治疗具有不容忽视的作用。

4 参考文献

- 1 Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003; 37: 1202-1219
- 2 Pazzaglia S, Cifaldi L, Saran A, Nobili V, Fruci D, Alisi A. Hedgehog/hyaluronic acid interaction network in nonalcoholic Fatty Liver Disease, fibrosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2012 Apr 13. [Epub ahead of print]
- 3 周婷婷, 秦波. 脂肪细胞因子与非酒精性脂肪肝和胰岛素抵抗关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3014-3018
- 4 王炳芳, 田培营, 冯莹, 吴福荣, 陆永高, 杨英. 胰岛素抵抗在非酒精性脂肪肝发病中的作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3175-3180
- 5 秦恩, 马秀英, 周婷, 张帆, 吴琴琴, 曾莉, 杨英, 黄燕, 邹天富, 李李, 王佑娟. 成人非酒精性脂肪肝与高尿酸血症关系的研究. *华西医学* 2012; 27: 226-229
- 6 Lu H, Zeng L, Liang B, Shu X, Xie D. High prevalence of coronary heart disease in type 2 diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Arch*

- 7 *Med Res* 2009; 40: 571-575
- 7 李芳萍, 张四青, 王斐. 2型糖尿病和非酒精性脂肪肝患者的胰岛素抵抗和胰岛β细胞功能. *中华内科杂志* 2009; 48: 940-943
- 8 Tsochatzis EA, Papatheodoridis GV, Archimandritis AJ. Adipokines in nonalcoholic steatohepatitis: from pathogenesis to implications in diagnosis and therapy. *Mediators Inflamm* 2009; 2009: 831670
- 9 李运红, 徐肇敏, 吕瑛. 胰岛素抵抗与非酒精性脂肪肝的关系研究. *南京医科大学学报(自然科学版)* 2008; 28: 787-789
- 10 向国卿, 孟宪云, 张浩, 台文霞, 孟晓丹, 王炳元. 脂肪肝相关危险因素的评估. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1038-1041
- 11 Niskanen L, Laaksonen DE, Lindström J, Eriksson JG, Keinänen-Kiukaanniemi S, Ilanne-Parikka P, Aunola S, Hämäläinen H, Tuomilehto J, Uusitupa M. Serum uric acid as a harbinger of metabolic outcome in subjects with impaired glucose tolerance: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes Care* 2006; 29: 709-711
- 12 赵莹莹, 郝久营, 李凤敏, 刘春梅, 李明珍, 孙丽荣. 伴非酒精性脂肪肝的2型糖尿病患者的临床特点及与血清尿酸水平的关系. *中国慢性病预防与控制* 2011; 19: 57-59
- 13 谭莺, 陈金虎, 张佳妮, 王利娟, 刘慧霞. 饮食调整对非酒精性脂肪肝的治疗作用及机制. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3394-3401
- 14 陈榕, 郭清, 朱文静, 谢青, 王晖, 蔡伟. ω-3多不饱和脂肪酸胶丸对非酒精性脂肪肝患者的治疗作用. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2002-2006
- 15 马赞颂, 柳涛, 郑培永, 邢练军, 季光. 中药降脂颗粒对非酒精性脂肪肝大鼠肝脏瘦素受体mRNA及P-JAK2/P-STAT3的影响. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3360-3366

■同行评价

本文选题较好,尤其是对尿酸的探讨部分值得临床重视,有一定的实用价值。

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

细菌性肝脓肿58例

施言, 黄光明, 张发明, 朱晓娟, 范志宁, 季国忠

■背景资料

细菌性肝脓肿是致病细菌引起的肝脏化脓性病变, 临床上早期诊断率低, 并发症多, 需引起医护人员足够重视。因肝脏中的库夫细胞可及时清除致病微生物, 故大部分细菌性肝脓肿为继发性感染。

施言, 黄光明, 张发明, 朱晓娟, 范志宁, 季国忠, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心 南京医科大学消化内镜研究所 江苏省南京市 210011

施言, 在读硕士, 主要从事肝胆疾病及炎症性肠病的研究。

作者贡献分布: 此课题由黄光明设计; 资料收集由朱晓娟与施言完成; 数据分析和论文写作由施言完成; 黄光明、张发明、范志宁及季国忠负责审核。

通讯作者: 黄光明, 硕士生导师, 副主任医师, 210011, 江苏省南京市下关区姜家园121号, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心, 南京医科大学消化内镜研究所. hgming@njmu.edu.cn
电话: 025-58509880

收稿日期: 2012-05-10 修回日期: 2012-07-30

接受日期: 2012-08-06 在线出版日期: 2012-09-08

Pyogenic liver abscess: An analysis of 58 cases

Yan Shi, Guang-Ming Huang, Fa-Ming Zhang, Xiao-Juan Zhu, Zhi-Ning Fan, Guo-Zhong Ji

Yan Shi, Guang-Ming Huang, Fa-Ming Zhang, Xiao-Juan Zhu, Zhi-Ning Fan, Guo-Zhong Ji, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Guang-Ming Huang, Associate Chief Physician, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 121 Jiangjiayuan, Xiguan District, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China. hgming@njmu.edu.cn

Received: 2012-05-10 Revised: 2012-07-30

Accepted: 2012-08-06 Published online: 2012-09-08

Abstract

AIM: To analyze the clinical features of pyogenic liver abscess (PLA) to provide the basis for early diagnosis and treatment of this disease.

METHODS: The clinical data for 58 patients with PLA who were treated in the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University from June 2000 to December 2011 were retrospectively analyzed to determine the clinical features, and laboratory, imaging, and microbiologic findings as well as the treatment outcome.

RESULTS: Fever and chills (94.8%) were the most common clinical manifestations, followed by right upper quadrant pain (58.6%). Twenty-seven cases (46.5%) had diabetes mellitus. The most common laboratory abnormality was increased

alkaline phosphatase (ALP) (77.6%), followed by increased white blood cell (WBC) count (70.7%) and fibrinogen (FIB) (60%). The most commonly identified organism was *Klebsiella pneumoniae* (17.2%). The majority of patients had solitary liver abscess (86.2%), and most of liver abscesses were found in the right hepatic lobe with an average diameter of 7.1 cm ± 4.0 cm (1-24 cm). All patients underwent combined antibiotic treatment. Ultrasound or CT-guided needle aspiration or continuous drainage after needle aspiration of pyogenic liver abscess was performed in 26 patients (44.8%). Surgery was required in 3 patients (5.2%). One patient (1.7%) died due to septic shock after admission.

CONCLUSION: Patients who have fever, chills, and right upper quadrant pain should be considered of pyogenic liver abscess, especially in patients with diabetes, biliary tract disease, or cancer. Elevated ALP, WBC and FIB were more commonly seen than positive bacterial culture in PLA patients, which may have suggestive significance in clinical diagnosis. Antibiotics combined with needle aspiration or continuous drainage after needle aspiration are safe and effective treatments.

Key Words: Pyogenic liver abscess; Retrospective analysis; Diabetes mellitus; Complications; Prognosis

Shi Y, Huang GM, Zhang FM, Zhu XJ, Fan ZN, Ji GZ. Pyogenic liver abscess: An analysis of 58 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2414-2419

摘要

目的: 总结分析细菌性肝脓肿的临床特征及相关实验室检查结果, 为该病的诊断和合理治疗提供依据。

方法: 总结我院2000-06/2011-12的58例确诊细菌性肝脓肿患者的临床资料, 回顾性分析该病的临床特征、实验室检查、影像学、病原学及治疗特点。

结果: 58例细菌性肝脓肿患者最常见的临床表现为畏寒发热(94.8%)及右上腹痛(58.6%)。糖

■同行评议者

孟庆华, 教授, 首都医科大学附属北京佑安医院肝病四科

尿病(46.5%)为最常见的合并症。血清碱性磷酸酶(77.6%)、白细胞(70.7%)和纤维蛋白原(60%)升高最常见。最常见的细菌为肺炎克雷伯菌(17.2%)。脓肿多为单个(86.2%), 肝右叶居多(81.1%)。所有患者均选用联合抗生素治疗, 其中26例患者(44.8%)行穿刺抽脓或置管引流, 3例患者(5.2%)行手术治疗, 1例患者(1.7%)死亡。

结论: 患者临床表现为畏寒发热、右上腹痛时应高度警惕细菌性肝脓肿可能, 尤其是糖尿病、胆管疾病及恶性肿瘤患者。病原学仅在部分患者出现阳性结果, 而血清碱性磷酸酶、白细胞和纤维蛋白原升高更常见, 可能对临床诊断具有提示意义。抗感染结合穿刺抽脓或置管引流是临床安全有效的治疗手段。

关键词: 细菌性肝脓肿; 回顾性分析; 糖尿病; 并发症; 预后

施言, 黄光明, 张发明, 朱晓娟, 范志宁, 季国忠. 细菌性肝脓肿58例. 世界华人消化杂志 2012; 20(25): 2414-2419
http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2414.asp

0 引言

细菌性肝脓肿是由于致病菌经各种途径进入肝脏, 在肝实质内滞留引起局部和全身炎症反应, 以及肝实质病灶坏死液化形成脓腔的化脓性炎症。该病为亚急症, 临床表现常不典型, 早期诊断率低。目前该疾病国内长时间回顾性系统研究较少, 本研究在既往肝脓肿回顾性分析报告^[1]的基础上继续深入、增加样本数量, 同时结合其病因、诊断及治疗等方面的最新进展, 回顾性分析了本院11年来58名细菌性肝脓肿患者的临床特点、病因、治疗措施及疾病转归。

1 材料和方法

1.1 材料 搜集2000-06/2011-12南京医科大学第二附属医院近11年住院治疗的58例确诊细菌性肝脓肿患者的临床资料, 并进行统计分析。诊断标准为: (1)B超、CT或MRI检查发现肝脓肿; (2)影像学引导下穿刺抽出脓液或外科手术引流脓液或抽取患者血液及胆汁经微生物培养证实; (3)经微生物培养排除真菌性肝脓肿、阿米巴肝脓肿、变形虫肝脓肿等特殊微生物感染; (4)抗生素治疗有效。

1.2 方法 结合患者临床表现、体征、实验室检查、影像学、病原学及治疗情况进行回顾性分析。疗效判断标准: (1)痊愈: 症状、体征消失, 脓肿完全吸收; (2)好转: 症状、体征好转, 影像学

表 1 临床特点

临床特点	患者数n(%)
畏寒发热	55(94.8)
右上腹痛	34(58.6)
黄疸	17(29.3)
合并糖尿病	27(46.5)
合并恶性肿瘤	5(8.6)
并发感染性休克	7(12.1)
并发中毒性心脏病	2(3.4)
合并肾囊肿	18(31.0)

提示脓肿缩小, 呈吸收期改变; (3)无效: 症状、体征无好转, 脓肿大小无变化或进一步扩大。其中痊愈、好转为有效治疗。

统计学处理 所得临床资料运用SPSS13.0版本进行统计, 计量资料结果以mean±SD表示。统计方法包括 χ^2 检验, Fisher's精确概率法, *t*检验。检验标准 $\alpha = 0.05, P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 临床特点 58例细菌性肝脓肿患者中, 男33例(56.9%), 女25例(43.1%), 平均发病年龄59.0岁(35-88岁)。51-60岁组患者数最多, 其次为61-70岁组(图1)。最常见的临床表现为畏寒发热(94.8%), 其次为右上腹痛(58.6%)以及黄疸(29.3%)。常见合并症有糖尿病、高血压、胆石病、恶性肿瘤等(1例结肠癌, 3例胆管癌, 1例胰头癌)。我们发现18例患者(31.0%)合并肾囊肿, 27例患者(46.5%)合并糖尿病。我院资料中有9例患者(15.5%)并发中毒性血小板减少症, 12例患者(20.7%)并发血尿, 另有7例患者(12.1%)并发感染性休克, 2例患者(3.4%)并发中毒性心脏病(表1)。

2.2 实验室检查 以血清碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)(77.6%)升高居多, 其次为白细胞(white blood cell count, WBC)(70.7%)升高, 纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)(60%, 共20人检测)及谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)(46.6%)升高。63.8%患者总胆红素含量正常, 29.3%患者血清白细胞数正常(表2)。

2.3 微生物学检查 所有患者均行血培养, 对穿刺引流及置管者加做脓液培养。其中26例患者(44.8%)行穿刺液培养, 2例患者(3.5%)行胆汁培养。血液及脓液培养阳性率为39.6%, 最常见的细菌为肺炎克雷伯菌(17.2%), 其次为大肠埃希菌(10.4%)。多微生物感染率为8.6%, 如合并尿肠

■ 研发前沿

近年来, 应用影像学引导下穿刺抽脓或置管引流方法治疗细菌性肝脓肿已越来越普及。该法操作简单、安全有效, 患者接受性和耐受性均较高, 微创治疗已逐渐取代传统手术方法。

■ 相关报道

有报道称细菌性肝脓肿合并糖尿病患者容易漏诊误诊, 这可能与糖尿病血管神经病变、痛阈降低有关, 再加上脓肿早期信号可与肿瘤相似, 液化后信号与囊肿也不易鉴别。故合并糖尿病患者更应注意筛查细菌性肝脓肿。

■ 创新盘点

目前该疾病国内长时间回顾性系统研究较少, 本文结合其病因、诊断及治疗等方面的最新进展, 回顾性分析了11年来58名细菌性肝脓肿患者的临床特点、病因、治疗措施及疾病转归。

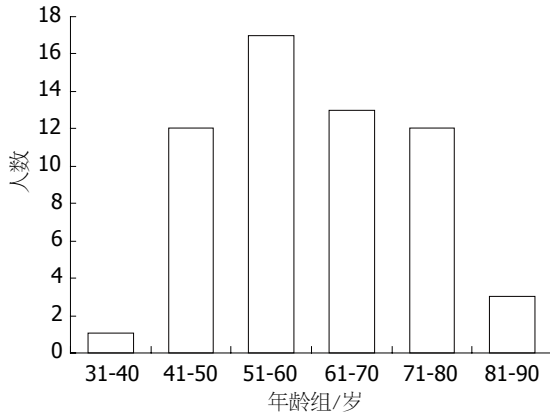


图 1 58例细菌性肝脓肿患者的年龄分布。

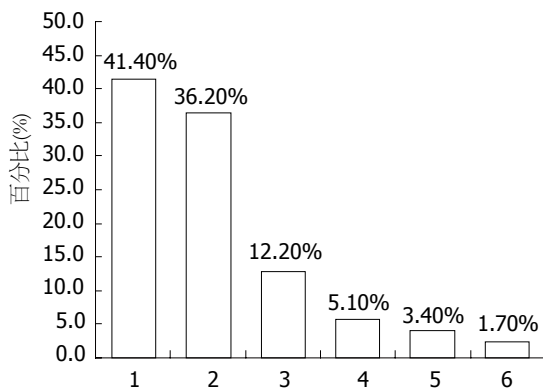


图 2 细菌性肝脓肿的感染途径: 1: 胆源性肝脓肿; 2: 胆源性肝脓肿; 3: 血源性肝脓肿; 4: 肝胆胰恶性肿瘤; 5: 曾行ERCP或PTCD术; 6: 胆总管空肠吻合术。

球菌、鸟粪杆菌、阴沟肠杆菌等。合并糖尿病患者其肺炎克雷伯菌阳性率为13.8%, 大肠埃希菌阳性率1.7%, 多微生物感染阳性率3.4%。

2.4 影像学检查 56例(96.6%)患者行腹部B超检查, 另有2例患者直接行腹部CT检查。B超检查后有29例患者(50.0%)进一步行腹部CT平扫, 另有7例患者(12.1%)行MRI检查。典型的B超表现为肝内不规则的圆形无回声或低回声包块, 包膜光滑完整。CT平扫则可见单个或多个圆形、卵圆形低密度病灶, 病灶边缘多数模糊、密度不均, 其中心区域CT值略高于水, 低于正常肝实质。多房脓肿常有单个或多个分隔, 呈蜂窝样改变。本研究中, 脓肿的平均直径为7.1 cm \pm 4.0 cm(1-24 cm), 发生于肝右叶者47例(81.1%), 肝左叶者10例(17.2%), 肝尾叶者1例(1.7%)。大多数患者为单个肝脓肿(86.2%)。我们发现合并多个脓肿者在性别、症状、白细胞数、血小板数、合并糖尿病较单个肝脓肿者无显著差异(均 $P>0.05$, 表3)。

2.5 感染途径 胆源性肝脓肿(41.4%)所占比例最高。血源性感染见于7例患者(12.2%), 其中4

表 2 实验室检查

实验室检查	患者数n(%)
ALP升高	45(77.6)
WBC升高	41(70.7)
FIB升高	12(60, 共20人)
ALT升高	27(46.6)
中毒性血小板减少	9(15.5)
血尿	12(20.7)
17.1 μ mol/L<总胆红素<34.2 μ mol/L	14(24.1)
总胆红素>34.2 μ mol/L	7(12.1)

表 3 影像学特点

肝脓肿位置	患者数n(%)
肝右叶	47(81.1)
肝右前叶	4(6.9)
肝右后叶	18(31.1)
未描述	25(43.1)
肝左叶	10(17.2)
肝尾叶	1(1.7)

例肺部感染, 2例尿路感染, 1例肠道感染。既往行ERCP或PTCD治疗肝胆胰恶性肿瘤后并发肝脓肿者2例, 胆总管空肠吻合术后并发者1例。有21例患者未发现感染灶, 定为隐源性肝脓肿(36.2%, 图2)。

2.6 治疗及结果 58例患者均予广谱抗生素联合治疗, 等待细菌培养结果再选择相应敏感抗生素针对性治疗。病程中积极纠正患者的低白蛋白血症、贫血、水电解质和酸碱平衡紊乱。抗生素使用4-6 wk或有临床疗效后停药, 出院后继续口服2-4 wk。住院期间需动态监测B超或CT以观察病情进展及疗效。本文中29例患者(50.0%)直接行诊断性抗生素治疗。26例患者(44.8%)行B超或CT引导下穿刺抽脓或置管引流, 并在脓液抽吸后向脓腔内注射抗生素冲洗, 5-7 d后根据影像学检查判断治疗效果, 若脓肿减小不明显或再次扩大, 再重复穿刺抽脓。3例患者(5.2%)行手术治疗。入院后确诊平均时间为3.5 d(1-24 d), 平均住院时间为26.6 d(2-68 d)。50例患者(86.2%)经治疗后病情痊愈或好转, 7例患者(13.8%)进一步转外院治疗。本研究中有1例患者(1.7%)入院后因感染性休克死亡, 该患者合并糖尿病且脓肿直径为13 cm。

3 讨论

细菌性肝脓肿发病率因地而异^[2-6], 临床表现不

典型, 早期诊断率低. 大多数患者以畏寒发热(94.8%)及右上腹痛(58.6%)为主要症状, 肝区压痛、叩击痛不明显. 临床表现不典型的原因可能有: (1)疾病早期脓肿较小或脓肿位于肝叶深部, 未触及肝包膜; (2)疾病早期, 患者已使用抗生素治疗延缓病情发展; (3)患者高龄或合并糖尿病、高血压等多种基础疾病, 导致痛觉、不适感等表现不明显. 血液、胆汁及脓液细菌培养阳性率低(39.6%), 可能与穿刺前使用抗生素有关. 血液学检查以血清ALP(77.6%)升高最为常见, 其次为WBC(70.7%)升高. 白细胞数的变化是临床医师最为关注的实验室指标, 但本文观察到ALP在细菌性肝脓肿患者中的升高比率更明显. ALP是分解磷脂酸的蛋白酶, 存在于人体多种组织, 分为骨型、肝型、肠型及胎盘型^[7], 据观察, 在肝实质损伤及胆管细胞炎症, 易引起升高, 而在细菌性肝脓肿患者ALP的相关报导却少见. 本文提出其临床诊断参考价值, 但应分析和排除其他原因引起ALP的升高. 本研究中可见FIB明显升高(60%, 共20人检测), 提示其可能为机体感染的血液学指标之一^[1], 但仍需扩大样本量进一步评价其敏感性和特异性.

细菌性肝脓肿发病机制复杂, 感染途径^[8]主要经由胆道、门静脉、肝动脉和直接肝脏进路. 胆道感染播散为胆源性肝脓肿的病因, 本研究中, 胆源性感染仍占据主要地位, 病原菌以肺炎克雷伯菌最常见, 这与目前研究结果一致. 因此, 对于原有胆道疾病的患者出现畏寒发热时, 应考虑肝脓肿可能, 尤其是胆管有梗阻的患者. 隐源性肝脓肿是指原发灶不明的肝脓肿类型, 本文统计发现仍有近1/3患者不能明确原发灶. Lai等^[9]报道隐源性肝脓肿患者发生结直肠癌风险为普通人群的3.36倍, Jeong等^[10]则提出针对该类患者, 特别是合并糖尿病及肺炎克雷伯菌感染者, 应常规行结肠镜检查以排除结肠良恶性病变, 如结肠溃疡、憩室、息肉及结肠癌等. 我院资料中即有1例患者合并结肠癌, 这可能与结直肠癌患者肠道黏膜屏障功能缺失, 细菌移位并经门静脉播散感染导致. 本研究资料中, 隐源性肝脓肿患者住院过程中均未行结肠镜检查, 其中尚有4例合并糖尿病, 建议今后诊疗中为防止漏诊可针对此类患者有选择地行结肠镜筛查.

B超或CT引导下穿刺抽脓或置管引流是治疗细菌性肝脓肿有效安全的方法, 可较快地降低患者体温, 减轻全身症状, 缩短治疗病程, 诊断明确者应尽快实施. 该方法的纳入标准为: 脓

肿直径 ≥ 3 cm, 脓肿液化扩大或抗生素治疗疾病仍进展者^[1]. 手术标准为: 复杂或多个脓肿、脓肿破裂、穿刺引流及药物治疗失败^[11]. 本研究中, 26例患者采取穿刺抽脓或置管引流治疗, 另有3例患者因病情进展行手术治疗. 在现代影像学技术成熟的条件下, 穿刺抽脓或置管引流治疗肝脓肿, 具有创伤小、定位准确、效果显著、可反复操作、并发症少等优势, 所取脓液尽快送细菌学培养和药敏试验则利于患者获得早期有效治疗^[12]. 我们认为B超引导下的肝穿刺引流较CT引导更便捷, 更经济且易于实施. 本研究中, 根据脓肿大小、液化情况选择穿刺抽脓或置管引流治疗, 脓肿均显著缩小, 大部分患者病情趋向于好转. Aydin等^[13]认为肝脓肿在抗生素治疗无效、脓肿未液化或多房脓肿也可选择腹腔镜治疗. Tu等^[14]对肝脓肿合并胆道疾病者分别行腹腔镜或手术治疗, 发现腹腔镜治疗组能更早口服药物且术后住院时间明显缩短, 术中出血及并发症发生率、脓肿复发率两组无显著差别. 本研究中, 1例患者因并发中毒性血小板减少, 另2例因穿刺抽脓失败均转为手术治疗, 无患者采用腹腔镜治疗. 手术患者中的2例合并有糖尿病, 其中1例还合并肺气肿, Tu等的研究提示对于此类需手术治疗的病例, 特别是合并有重大基础疾病的高龄患者, 以腹腔镜治疗替代传统手术, 在不影响治疗效果的前提下, 可能提高患者耐受性, 减少手术创伤, 同时降低治疗费用, 有利于病情早日恢复.

本研究中, 多数细菌性肝脓肿患者有不同的合并疾病. 其中, 糖尿病为最常见的合并症. 姜海琼等^[15]认为糖尿病者免疫功能低下, 中性粒细胞趋化功能下降, 单核吞噬细胞及调理素活力减弱, 抗体生成减少, 且高血糖能促进组织中细菌生长, 同时代谢紊乱使肝胆胰、胃肠之间功能失调, 易诱发胆系疾病, 引发肝脓肿. 因此, 对于糖尿病患者, 如出现畏寒发热、右上腹痛等临床表现, 需要警惕发生细菌性肝脓肿. 肝脓肿合并糖尿病患者(septic liver abscess in diabetics, DLA)多数血糖控制不理想, 临床表现不典型, 以隐源性、气体形成居多, 多为肺炎克雷伯菌感染, 易发生中毒性血小板减少及播散感染^[16]. 我院合并糖尿病患者有6例并发中毒性血小板减少症, 2例并发中毒性心脏病; 5例并发感染性休克, 其中1例死亡, 这均提示DLA者病情易恶化, 需加强针对该类患者的病情监测及治疗. 但本研究发现DLA者其脓肿直径、确诊时间、中毒性

■应用要点

本文结合细菌性肝脓肿疾病认知的最近进展, 回顾了本院细菌性肝脓肿病因、诊断、治疗及疾病转归, 对于临床工作具有指导性意义.

■名词解释

纤维蛋白原(FIB):一种由肝脏合成的具有凝血功能的蛋白质,当机体凝血机制被激活时,纤维蛋白原可在凝血酶作用下转化为纤维蛋白,从而巩固血凝块。纤维蛋白原已被证实与冠心病、高脂血症、肾病综合征等疾病相关。

心脏病及中毒性血小板减少发生率较无糖尿病患者无显著差异($P>0.05$),统计学差异不明显可能与样本量尚偏小有关。患者抵抗力差,且病程中应用较强抗生素,易出现二重感染^[17,18],需引起医护人员足够重视。本研究中,DLA者有19例行穿刺抽脓,6例行置管引流;2例行手术治疗。除1例死亡外,余患者经及时治疗,病情均得到有效控制。因此,早期控制感染、降低血糖、彻底的穿刺抽脓、置管引流或手术仍是成功治疗DLA的关键。

既往有胆道介入术史及胃肠恶性肿瘤者需高度警惕发生肝脓肿。我们有2例胆管癌伴胆总管狭窄者在行ERCP或PTCD后均发生肝脓肿,提示胆道介入术可能提高肝脓肿发生风险。周波等^[19]研究也报道了肝癌介入术后发生肝脓肿风险增加,且与性别、胆道损伤、患者营养状况、血清白蛋白水平和原发性肿瘤构成比有关。本研究中有1例患者合并结肠癌,3例合并胆管癌,1例合并胰头癌,这均提示合并恶性肿瘤可增加肝脓肿发生风险。因此对于原发灶不明的隐源性肝脓肿,应特别注意筛查合并恶性肿瘤可能性。有研究报道肝脓肿合并肝硬化、乙肝及丙肝感染、年龄 >65 岁者,需高度警惕合并肝癌^[20]。鉴别肝脓肿和肝癌除需进一步行CT或MRI检查外,还可行脓肿穿刺查找肿瘤细胞,并结合相关病史和实验室检查以综合判断。Chen等^[21]发现年龄、合并恶性肿瘤、病情进展、多房脓肿、大脓肿(直径 >5 cm)及多重感染为肝脓肿死亡的高风险因素,特别是肝脓肿合并气体形成者,其感染性休克发生率及死亡率均较高,需尽早治疗^[22]。本研究中共有5例患者合并恶性肿瘤,脓肿直径均 >7 cm,其中2例为多重感染,但这些患者一般情况良好,无糖尿病、高血压等重大合并症,病程中也无严重并发症发生,经充分的抗感染、穿刺抽脓或置管引流治疗后病情均明显好转。

因此,我们认为患者临床表现为畏寒发热、右上腹痛时应高度警惕细菌性肝脓肿可能,尤其是糖尿病、胆管疾病及恶性肿瘤患者。病原学仅在部分患者出现阳性结果,而血清碱性磷酸酶、白细胞和纤维蛋白原升高更常见,可能对临床诊断具有提示意义。抗感染结合穿刺抽脓或置管引流是临床安全有效的治疗手段。

4 参考文献

1 Zhu X, Wang S, Jacob R, Fan Z, Zhang F, Ji G. A 10-year retrospective analysis of clinical profiles, laboratory characteristics and management of pyo-

genic liver abscesses in a chinese hospital. *Gut Liver* 2011; 5: 221-227

2 Lok KH, Li KF, Li KK, Szeto ML. Pyogenic liver abscess: clinical profile, microbiological characteristics, and management in a Hong Kong hospital. *J Microbiol Immunol Infect* 2008; 41: 483-490

3 Wong WM, Wong BC, Hui CK, Ng M, Lai KC, Tso WK, Lam SK, Lai CL. Pyogenic liver abscess: retrospective analysis of 80 cases over a 10-year period. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 1001-1007

4 Kurtz LE, Greenberg RE. Pyogenic liver abscess associated with a gastrointestinal stromal tumor of the stomach. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 232-233

5 Shah I, Bhatnagar S. Liver abscess in a newborn leading to portal vein thrombosis. *Indian J Pediatr* 2009; 76: 1268-1269

6 Tsai FC, Huang YT, Chang LY, Wang JT. Pyogenic liver abscess as endemic disease, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 1592-1600

7 Ross RW, Halabi S, Ou SS, Rajeshkumar BR, Woda BA, Vogelzang NJ, Small EJ, Taplin ME, Kantoff PW. Predictors of prostate cancer tissue acquisition by an undirected core bone marrow biopsy in metastatic castration-resistant prostate cancer—a Cancer and Leukemia Group B study. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 8109-8113

8 邹建华, 陈磊, 郑起, 林擎天. 肝脓肿的诊断和治疗. *肝胆胰外科杂志* 2009; 21: 379-380, 385

9 Lai HC, Lin HC. Cryptogenic pyogenic liver abscess as a sign of colorectal cancer: a population-based 5-year follow-up study. *Liver Int* 2010; 30: 1387-1393

10 Jeong SW, Jang JY, Lee TH, Kim HG, Hong SW, Park SH, Kim SG, Cheon YK, Kim YS, Cho YD, Kim JO, Kim BS, Lee EJ, Kim TH. Cryptogenic pyogenic liver abscess as the herald of colon cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 248-255

11 Chan KS, Chen CM, Cheng KC, Hou CC, Lin HJ, Yu WL. Pyogenic liver abscess: a retrospective analysis of 107 patients during a 3-year period. *Jpn J Infect Dis* 2005; 58: 366-368

12 张海峰, 陈海琴, 丁晓凌, 周国雄. 肝脓肿临床分析183例. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2979-2982

13 Aydin C, Piskin T, Sumer F, Barut B, Kayaalp C. Laparoscopic drainage of pyogenic liver abscess. *JSLs* 2010; 14: 418-420

14 Tu JF, Huang XF, Hu RY, You HY, Zheng XF, Jiang FZ. Comparison of laparoscopic and open surgery for pyogenic liver abscess with biliary pathology. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4339-4343

15 姜海琼, 王兴鹏. 细菌性肝脓肿合并糖尿病48例. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1469-1471

16 Foo NP, Chen KT, Lin HJ, Guo HR. Characteristics of pyogenic liver abscess patients with and without diabetes mellitus. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 328-335

17 Saad F, Ach K, Dallel Youssef N, Maarouf A, Chaieb Chadli M, Chaieb L. [Hepatic abscess in diabetics, 2 case reports]. *Presse Med* 2004; 33: 98-100

18 Shimada H, Ohta S, Maehara M, Katayama K, Note M, Nakagawara G. Diagnostic and therapeutic strategies of pyogenic liver abscess. *Int Surg* 1993; 78: 40-45

19 周波, 王建华, 颜志平. 肝癌介入治疗后发生肝脓肿的危险因素分析. *中国临床医学* 2010; 17: 51-53

20 Lin YT, Liu CJ, Chen TJ, Chen TL, Yeh YC, Wu HS, Tseng CP, Wang FD, Tzeng CH, Fung CP. Pyogenic liver abscess as the initial manifestation of underlying-

- ing hepatocellular carcinoma. *Am J Med* 2011; 124: 1158-1164
- 21 Chen SC, Lee YT, Tsai SJ, Lai KC, Huang CC, Wang PH, Chen CC, Lee MC. Clinical outcomes and prognostic factors of cancer patients with pyogenic liver

- abscess. *J Gastrointest Surg* 2011; 15: 2036-2043
- 22 Tatsuta T, Wada T, Chinda D, Tsushima K, Sasaki Y, Shimoyama T, Fukuda S. A case of gas-forming liver abscess with diabetes mellitus. *Intern Med* 2011; 50: 2329-2332

■同行评价

本文为十余年数据的回顾性总结, 资料难得, 且数据较详实, 有代表性, 具有很好的临床指导价值。

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

百世登出版集团推出 12 种开放获取生物医学期刊全部被 PubMed 和 PMC 收录

本刊讯 由美国国立医学图书馆(U.S. National Library of Medicine, 简称NLM), 美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称NCBI)和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, 简称NIH), 共同于2010-2011年, 收录了百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Co., Limited, 简称BPG)出版的12种开放获取生物医学期刊. 12种期刊被NLM, NCBI和NIH共同主办的PubMed Central和PubMed平台, 公开面向全球发布, 读者免费阅读和下载全文. 12种期刊被收录的名称及网址如下:

- 1 World Journal of Biological Chemistry (世界生物化学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1495/>
- 2 World Journal of Cardiology (世界心脏病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1320/>
- 3 World Journal of Clinical Oncology (世界临床肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1494/>
- 4 World Journal of Diabetes (世界糖尿病杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1498/>
- 5 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy (世界胃肠内镜杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1323/>
- 6 World Journal of Gastrointestinal Oncology (世界胃肠肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1324/>
- 7 World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology (世界胃肠病理生理学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1496/>
- 8 World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics (世界胃肠药理学与治疗杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1497/>
- 9 World Journal of Gastrointestinal Surgery (世界胃肠外科杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1325/>
- 10 World Journal of Hepatology (世界肝病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1321/>
- 11 World Journal of Radiology (世界放射学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1322/>
- 12 World Journal of Stem Cells (世界干细胞杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1470/>

(总编辑: 马连生2011-05-30)

肝细胞癌根治性治疗后口服维生素K2类似物的Meta分析

钟鉴宏, 黎乐群, 游雪梅, 向邦德, 马良, 龚文锋

■背景资料

肝细胞癌根治性治疗后复发率高。目前尚无标准、具有明确疗效的预防术后肿瘤复发的辅助治疗措施。肝癌术后口服维生素K2类似物预防复发的报道较多, 但各研究间报道的疗效存在一定的争议。故本研究使用Meta分析的方法对其疗效进行评估。

钟鉴宏, 黎乐群, 游雪梅, 向邦德, 马良, 龚文锋, 广西医科大学附属肿瘤医院肝胆外科 广西壮族自治区南宁市 530021
钟鉴宏, 主要从事肝癌的基础及综合治疗研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81160262/H1602
广西卫生厅自筹经费科研课题基金资助项目, No. Z2012345
作者贡献分布: 本课题由钟鉴宏、黎乐群及游雪梅共同设计; 研究过程由钟鉴宏与马良完成; 论文写作由钟鉴宏、向邦德及龚文锋完成。

通讯作者: 黎乐群, 教授, 主任医师, 博士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市河堤路71号, 广西医科大学附属肿瘤医院肝胆外科。xitongpingjia@163.com

收稿日期: 2012-06-26 修回日期: 2012-07-30

接受日期: 2012-08-06 在线出版日期: 2012-09-08

Oral vitamin K2 analogs for hepatocellular carcinoma after surgery: A meta-analysis

Jian-Hong Zhong, Le-Qun Li, Xue-Mei You, Bang-De Xiang, Liang Ma, Wen-Feng Gong

Jian-Hong Zhong, Le-Qun Li, Xue-Mei You, Bang-De Xiang, Liang Ma, Wen-Feng Gong, Department of Hepatobiliary Surgery, Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81160262/H1602; and the Self-raised Scientific Research Fund of the Ministry of Health of Guangxi Province, No. Z2012345

Correspondence to: Le-Qun Li, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Tumor Hospital of Guangxi Medical University, 71 Hedi Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. xitongpingjia@163.com

Received: 2012-06-26 Revised: 2012-07-30

Accepted: 2012-08-06 Published online: 2012-09-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of oral vitamin K2 (VK2) analogs for patients with hepatocellular carcinoma (HCC) after surgery.

METHODS: Sources such as Chinese National Knowledge Infrastructure, Medline, Embase and Cochrane library were systematically searched. All clinical trials comparing curative treatments alone with curative treatments plus VK2 analogs for HCC patients were identified. Meta-analysis was performed to estimate the effects of VK2 analogs on tumor recurrence and overall survival (OS). Risk ratios (RR) and 95% confidence

intervals (95% CI) were calculated.

RESULTS: Six randomized clinical trials and one cohort study involving 930 patients were included. VK2 analogs did not statistically reduced the 1-year tumor recurrence rate, with a pooled RR of 0.67 (95% CI: 0.39-1.13, $P = 0.13$). However, hepatic resection plus VK2 analogs were associated with significantly lower 2- and 3-year tumor recurrence rates, with pooled RRs of 0.65 (95% CI: 0.51-0.83, $P < 0.001$) and 0.70 (95% CI: 0.58-0.85, $P < 0.001$). Moreover, for the 1-, 2-, and 3-year OS, VK2 analogs also demonstrated statistically significant results (RR = 1.03, 95% CI: 1.01-1.05, $P = 0.02$; RR = 1.11, 95% CI: 1.03-1.19, $P = 0.005$; RR = 1.14, 95% CI: 1.02-1.28, $P = 0.02$). Oral VK2 analogs were safe and were not associated with adverse events.

CONCLUSION: Current evidence suggests that postoperative VK2 analogs have appreciable efficacy in patients with HCC after curative treatment.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Vitamin K2 analog; Meta-analysis

Zhong JH, Li LQ, You XM, Xiang BD, Ma L, Gong WF. Oral vitamin K2 analogs for hepatocellular carcinoma after surgery: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2420-2426

摘要

目的: 评价肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)根治性治疗后口服维生素K2(vitamin K2, VK2)类似物预防肿瘤复发及提高总生存率的疗效。

方法: 计算机检索中国知网、Medline、Embase和Cochrane图书馆数据库中的相关文献。检索所有关于HCC根治性术后VK2类似物治疗的研究。对纳入文献进行资料提取及质量评价。采用相对危险度(risk ratio, RR)及其95%可信区间(confidence interval, CI)表示统计效应量。

结果: 共纳入6个随机对照试验和1个队列

■同行评议者

孙星, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院普外科

研究, 合计930例患者. Meta分析结果显示: (1)HCC根治性术后口服VK2类似物不能降低术后1年复发率(RR = 0.67, 95%CI: 0.39-1.13, $P = 0.13$), 但术后2年及3年复发率显著降低(RR = 0.65, 95%CI: 0.51-0.83, $P < 0.001$; RR = 0.70, 95%CI: 0.58-0.85, $P < 0.001$); (2)1、2、3年总生存率: 口服VK2类似物治疗组与单纯手术治疗组比较, 2组差异有统计学意义(RR = 1.03, 95%CI: 1.01-1.05, $P = 0.02$; RR = 1.11, 95%CI: 1.03-1.19, $P = 0.005$; RR = 1.14, 95%CI: 1.02-1.28, $P = 0.02$); (3)口服VK2类似物安全, 无不良反应报道.

结论: 目前证据显示辅助VK2类似物治疗对降低HCC患者根治性术后复发率及提高总生存率有一定的疗效. 由于纳入研究的随访时间较短和存在的局限性, 有必要开展多中心大样本的随机对照试验长期随访观察进一步证实其疗效.

关键词: 肝细胞癌; 维生素K2类似物; Meta分析

钟鉴宏, 黎乐群, 游雪梅, 向邦德, 马良, 龚文锋. 肝细胞癌根治性治疗后口服维生素K2类似物的Meta分析. 世界华人消化杂志 2012; 20(25): 2420-2426

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2420.asp>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)恶性程度高, 其导致的死亡率位列恶性肿瘤第3位. 手术切除或射频消融(radiofrequency ablation, RFA)治疗肿瘤是目前临床上最常用的根治性治疗方法. 然而, 即使是早期HCC, 根治性术后其复发率仍高达80%^[1]. 因此, 术后合理、有效的预防复发的治疗措施是必要的. 目前, 临床上预防HCC术后复发的治疗药物及方法主要有干扰素、经肝动脉化疗栓塞、过继免疫治疗、核苷酸类抗病毒治疗等. 但这些治疗却有很多的局限性, 如不良反应多、只适合存在高危复发因素的患者、不能提高总生存率和缺少高级别循证证据的支持等. 故有必要探讨更安全、有效的治疗方法. 维生素K2类似物(vitamin K2, VK2), 又名四烯甲萘醌, 临床上用于治疗骨质疏松症^[2], 但在2004年却被发现有预防合并肝炎肝硬化女性HCC患者的肿瘤复发^[3]. 自此, 陆续多个随机对照试验(randomized clinical trials, RCT)报道了VK2类似物预防HCC复发的疗效. 但研究间的结论并不统一, 甚至相反. 本文使用Meta分析的方法将临床同质的多个研究合并分析,

以求统一结论.

1 材料和方法

1.1 材料 检索数据库中国知网、Medline、Embase和Cochrane图书馆, 截止日期到2012-05; 同时对检索到文献的参考文献再进行筛选检索. 英文和中文检索都采用主题词和自由词结合的方式. 英文检索词为liver neoplasms, hepatocellular carcinoma, liver tumor, resectable, operative, resection, hepatectomy, vitamin K, analog和menetetrenone. 中文检索词为肝肿瘤、肝癌、肝切除、手术、维生素K和四烯甲萘醌. 排除重复发表的文献. 按照制定的检索策略进行检索, 最初检索到可能符合纳入标准的文献共344篇. 经阅读题名及摘要后, 排除个案报道、回顾性分析和综述, 剩余18文献.

1.2 方法

1.2.1 文献纳入和排除标准: (1)研究类型. HCC根治性切除或RFA术后VK2治疗的RCT, 队列研究及病例对照研究, 发表语种为英文和中文. 对于重复发表或病例有重叠的研究, 将其整合为一个研究; (2)研究对象. 纳入标准: 经病理学或多个影像学证实为原发性HCC的患者; 试验组和对照组患者HCC被根治性治疗(切缘无肉眼癌灶残留; RFA治疗后1 mo复查CT无肿瘤残存). 排除标准: 转移性肝癌或已有肝外转移的患者, 服用VK2前使用过华法林的患者; (3)干预措施. 试验组患者在HCC根治性治疗后接受VK2类似物口服治疗, 对照组为单纯HCC根治性治疗, 排除肿瘤被姑息性切除或切除不完整的研究; (4)结局测量指标: 生存率、复发率.

1.2.2 文献质量评价: 两名评价员参考QUOROM声明^[4], 分别独立评价纳入研究偏倚的高低, 分别评价随机分配方法、隐蔽分组、盲法和是否使用意向性分析. 研究中详细描述了3个以上项目的为高质量, 1个都没有描述则为低质量, 其余为中等质量. 非RCT研究的质量被认为低质量.

1.2.3 统计学方法: 两名评价员分别检索、阅读、筛选符合纳入标准的文献, 对文献进行质量评价, 提取相关资料. 计数资料采用相对危险度(risk ratio, RR)及其95%可信区间(confidence interval, CI)表示统计效应量. 采用 χ^2 检验来分析各个研究间的异质性. 以 $P < 0.1$ 为显著性水准, 异质性大小以 I^2 值表示. 采用固定效应模型进行数据分析, 当存在明显异质性时则采用随机效应模型分析. 数据统计学处理采用Cochrane协作网

■ 研发前沿
目前尚无Meta分析专门评估维生素K2类似物预防肝细胞性肝癌术后复发的疗效.

■ 相关报道

维生素K2类似物临床上用于治疗骨质疏松症, 2004年被发现有预防合并肝炎肝硬化女性HCC患者的肿瘤复发的作用。

表 1 纳入研究的一般特点

文献样本量	肿瘤数量	平均肿瘤直径(mm)	Child-Pugh 评分(A/B)	HBV (n)	HCV (n)	PIVKA-II (mAU/mL)	AFP (ng/mL)
Yoshiji等 ^[6]							
18	1.62	17.9	16/2	0	15	60.2	79.8
25	1.59	18.7	20/5	3	11	41.3	88.5
Mizuta等 ^[7]							
32	1.50	17.7	26/6	4	29	41.8	102.2
29	1.48	19.4	22/7	3	27	70.3	508
Kakizaki等 ^[8]							
30	单个: 19; 多个: 11	20.4	22/8	0	30	≤40: 10; >40: 20	≤20: 15; ≥20: 15
30	单个: 22; 多个: 8	25.0	22/8	0	30	≤40: 8; >40: 22	≤20: 16; ≥20: 14
Hotta等 ^[9]							
21	单个: 11; 多个: 10	11-30: 18; 31-50: 3	15/6	6	14	<40: 14; ≥40: 7	<20: 6; ≥20: 15
24	单个: 9; 多个: 15	11-30: 18; 31-50: 6	12/12	3	19	<40: 9; ≥40: 15	<20: 9; ≥20: 15
Yoshida等 ^[5]							
367	单个: 260; 多个: 107	20	323/44	38	305	<40: 328; ≥40: 36	<100: 344; ≥100: 22
181	单个: 127; 多个: 54	20.3	154/27	20	150	<40: 155; ≥40: 25	<100: 164; ≥100: 17
Kubota等 ^[10]							
50	-	最大: 41	-	14	46	66	-
51	-	最大: 36	-	17	45	106	-
Hosho等 ^[11]							
23	1.3	最大: 23	-	8	16	1182.9	382.6
49	1.4	最大: 28	-	15	33	2421.3	226.8

AFP: 甲胎蛋白; HBV: 乙型肝炎病毒; HCV: 丙型肝炎病毒; PIVKA-II: 维生素K缺乏或拮抗剂II。

表 2 纳入研究的质量评价

文献	随机分配	隐藏分组	评价者被盲	意向性分析
Yoshiji等 ^[6]	+	+	-	-
Mizuta等 ^[7]	+	-	-	+
Kakizaki等 ^[8]	-	-	-	-
Hotta等 ^[9]	+	-	-	-
Yoshida等 ^[5]	+	+	+	+
Kubota等 ^[10]	+	+	-	+
Hosho等 ^[11]	-	-	-	-

提供的RevMan5.0统计软件进行。

2 结果

2.1 文献特征 通过阅读全文来筛选, 最终纳入6个RCT^[5-10]和1个队列研究^[11]进行Meta分析。纳入的各个研究试验组和对照组基线具有可比性, 共930例患者。各纳入的研究对于肿瘤复发的标准一致, 肝内复发和肝外转移均视为复发。各研究的一般资料见表1。所有研究对象均为日本人。所有患者均接受根治性HCC切除术或RFA治疗, 在出现复发前均未接受其他针对复发的辅助治疗。治疗组患者接受口服45 mg或90 mg VK2类

似物治疗。Yoshida等^[5]的研究只报道了1年的生存数据。Hosho等^[11]的队列研究中23例患者接受口服45 mg VK2类似物治疗, 49例配对患者为对照组。

2.2 纳入试验的方法学质量评价 依据QUOROM文献的评价标准, 对纳入试验的方法学质量进行评价(表2)。

2.3 统计分析结果 各个研究的生存数据见表3。对照组患者的术后3年复发率为67.6%-91.6%, 总生存率为56.5%-88.0%。

2.3.1 肿瘤复发率: 7个研究均报道了术后1年的复发率。异质性检验发现各研究间存在一定的统计学异质性($P = 0.01$, $I^2 = 64\%$), 故使用随机效应模型进行统计。结果显示, HCC根治性术后患者口服VK2类似物并不能降低术后1年复发率($RR = 0.67$, $95\%CI: 0.39-1.13$, $P = 0.13$)。然而, 固定效应模型显示, 术后2年及3年复发率显著降低($RR = 0.65$, $95\%CI: 0.51-0.83$, $P < 0.001$; $RR = 0.70$, $95\%CI: 0.58-0.85$, $P < 0.001$), 见图1。

2.3.2 总生存率: 研究间同质性较好($P = 0.48$, $I^2 = 0\%$), 使用固定效应模型, 统计分析发现, HCC根治性术后患者口服VK2类似物提高了术后1

表 3 各个纳入研究的治疗效果

文献干预措施	治疗(手术切除/射频消融)	随访时间(mo)	复发率(%)			总生存率(%)		
			1年	2年	3年	1年	2年	3年
Yoshiji等 ^[6]								
VK2(45 mg)	0/18	48.0	22.2	44	61.1	100	94.4	88.9
对照组	0/25	48.0	24.0	48.0	68.0	100	92.0	88.0
培哌普利+VK2(45 mg)	0/25	48.0	12.0	28.0	32.0	100	100	96.0
培哌普利	0/19	48.0	15.8	36.8	52.6	100	94.7	89.5
Mizuta等 ^[7]								
VK2(45 mg)	1/31	28.9	12.5	39.0	64.3	100	96.6	87.0
对照组	3/26	27.7	55.2	83.2	91.6	96.4	80.9	64.0
Kakizaki等 ^[8]								
VK2(45 mg)	4/26	-	7.7	51.4	61.2	100	95.0	77.5
对照组	7/23	-	28.3	64.1	90.1	95.8	90.2	66.4
Hotta等 ^[9]								
VK2(45 mg)	2/19	19.5	23.8	28.6	-	100	100	-
对照组	2/22	16.5	33.3	46.5	73.3	87.5	81.7	81.7
Yoshida等 ^[5]								
VK2(45 mg)	9/173	36	31.2	-	-	99.2	-	-
VK2(90 mg)	5/180	36	37.7	-	-	98.7	-	-
对照组	7/174	36	28.2	-	-	97.2	-	-
Kubota等 ^[10]								
VK2(45 mg)	50/0	-	20.6	36.9	43.6	-	-	-
对照组	51/0	-	30.0	52.0	76.1	-	-	-
Hosho等 ^[11]								
VK2(45 mg)	2/21	23.8	26.1	32.8	78.1	100	93.3	85.6
对照组	7/42	26.9	49.0	61.7	67.6	93.3	79.1	56.5

VK2: 维生素K2类似物.

年总生存率(RR = 1.03, 95%CI: 1.01-1.05, P = 0.02). 统计术后2年及3年总生存率时, 研究间同质性较好(P = 0.55, I² = 0%; P = 0.40, I² = 0%), 统计结果显示治疗组患者总生存率显著高于对照组(RR = 1.11, 95%CI: 1.03-1.19, P = 0.005; RR = 1.14, 95%CI: 1.02-1.28, P = 0.02, 图2).

2.4 敏感性分析 为了检验非RCT研究对合并结果的可靠性, 排除队列研究重新合并分析, 发现在复发率和1年、2年总生存率方面, 结果并没有改变. 但是术后3年总生存率无统计学意义(RR = 0.12, 95%CI: 0.97-1.28, P = 0.12).

2.5 口服VK2类似物的不良反应 所有7个研究均报道口服VK2类似物安全, 无明显不良反应及血液生化异常改变.

3 讨论

Chu等^[12]曾报道认为口服VK2类似物对根治性手术切除或射频消融治疗的HCC患者有一定的预防复发作用, 然而, 最近的一个大样本多中心

■创新盘点

本文检索了维生素K2类似物预防肝细胞癌根治性术后肿瘤复发疗效的相关文章, 纳入所有临床对照研究, 运用Meta分析的方法评估其疗效. 较之前的系统评价扩大了样本量, 得出的结论更可靠.

RCT^[5]却否定这一结论. 为了进一步明确VK2类似物在HCC术后应用的价值, 本文纳入所有RCT和队列研究进行Meta分析, 结果显示, VK2类似物显著降低术后2年和3年复发率, 同时提高术后1、2和3年总生存率. 口服VK2类似物安全.

VK2是一种γ-羧基酶的辅酶. VK缺乏或拮抗剂II(PIVKA-II)诱导了右旋-γ-羧基-凝血酶原的产生, 他是肝脏合成的无凝血活性的异常凝血酶原, 在HCC患者的血清中异常升高. 很多研究认为术前血清中PIVKA-II滴度升高是HCC患者预后不良的因素之一^[13-15], 主要原因为PIVKA-II刺激了人类血管内皮细胞的生长和转移^[16]. 因此, VK2抑制HCC细胞系生长的机制为通过抑制或激活某些信号通路的调节^[17-20]. 虽然VK2诱导细胞周期停止和抑制生长的准确机制尚未完全明确, VK2类似物治疗的基本原理是为了预防HCC根治性治疗后余肝发生新的肿瘤. 而术后辅助治疗(如经肝动脉化疗栓塞)的目的是为了杀灭术前影像学未能发现的肿瘤及术中

■应用要点

本研究表明,辅助VK2类似物治疗对降低肝细胞癌患者根治性术后复发率及提高总生存率有一定的疗效,但由于纳入研究的随访时间较短,有必要开展大样本长期随访的随机对照试验进一步证实其疗效。

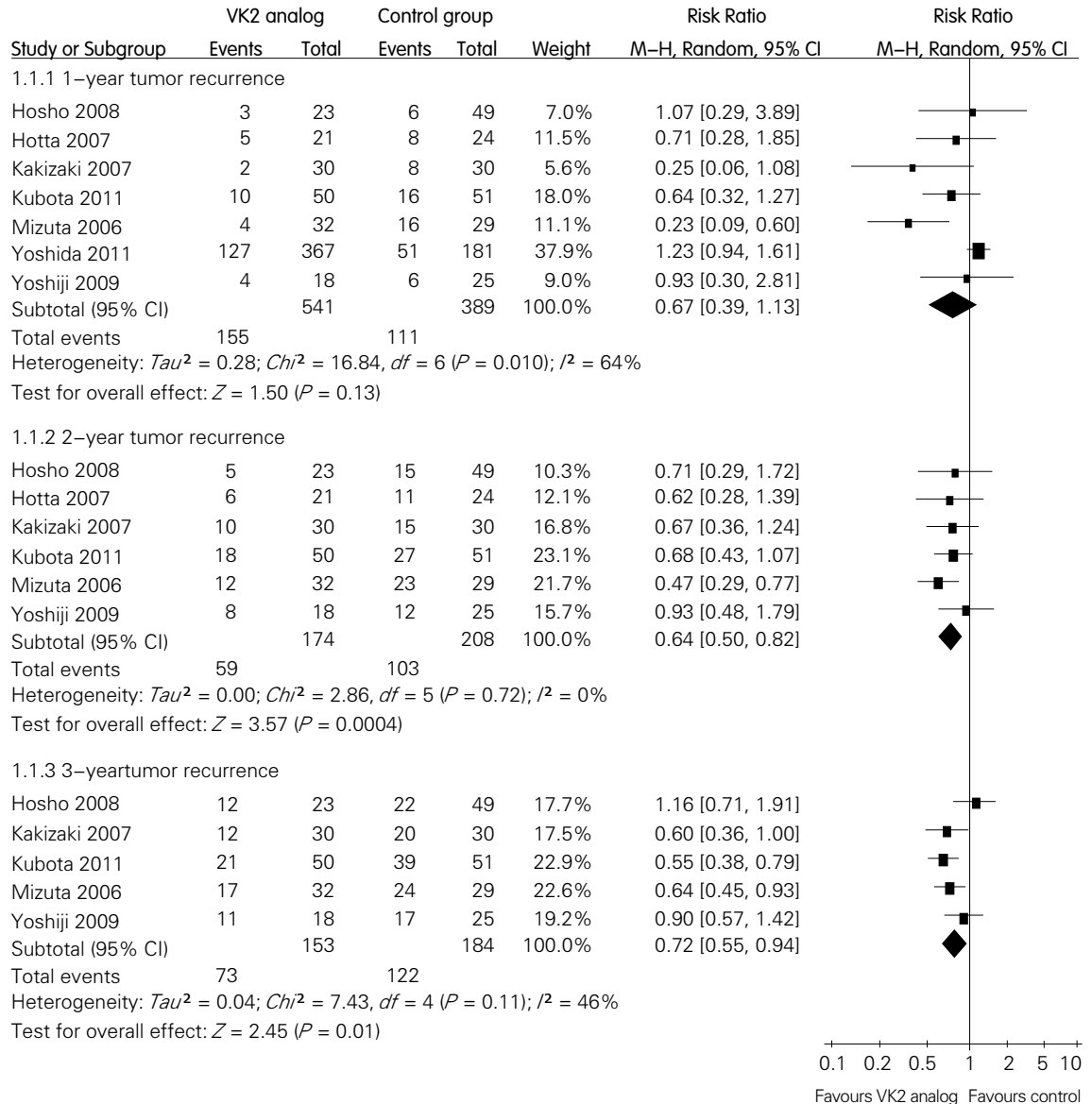


图 1 维生素K2类似物化学预防肝细胞性肝癌患者术后复发率的Meta分析。

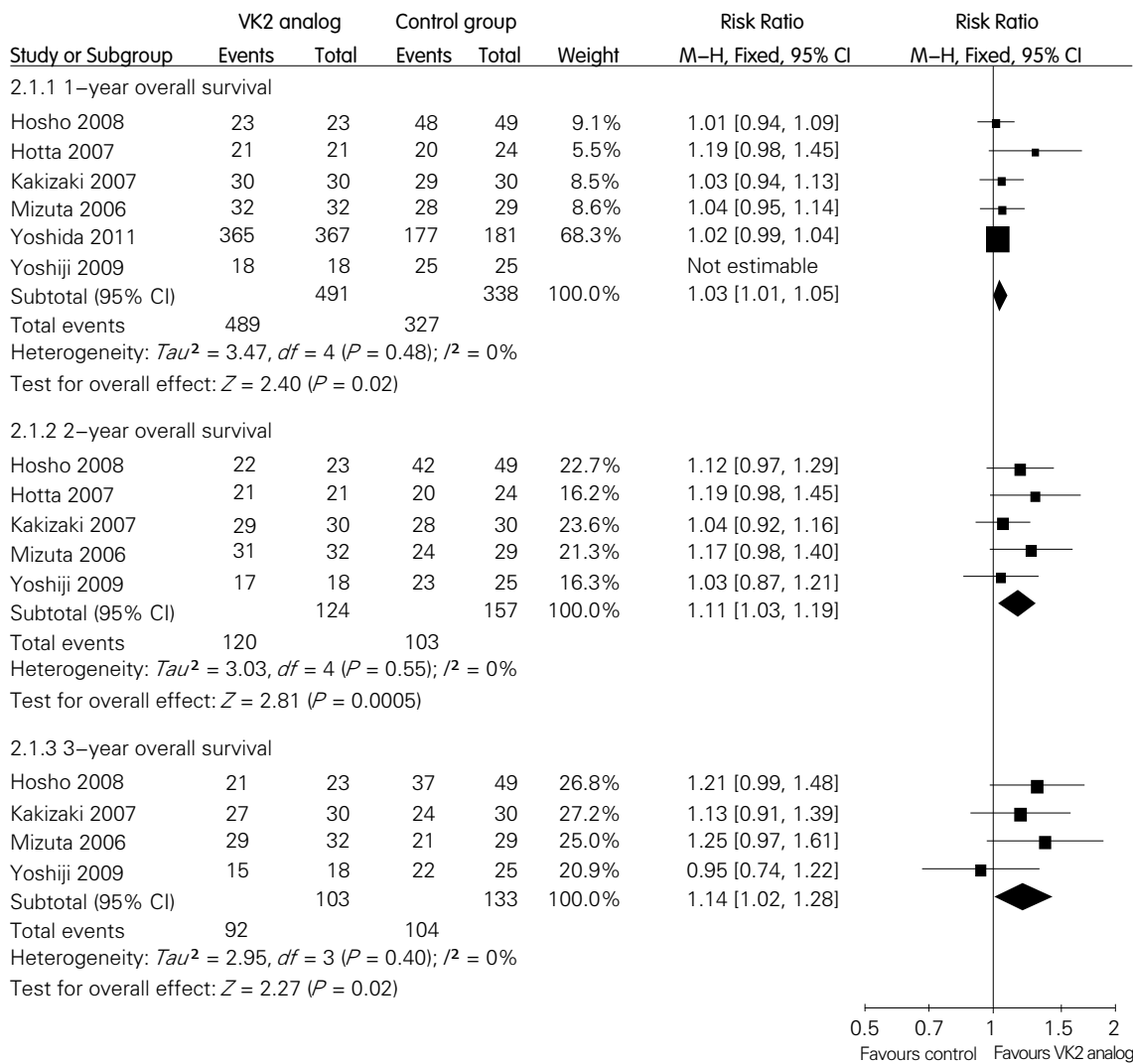
脱落的肿瘤细胞,术后辅助治疗并不能预防余肝在长期生存中发生新的肿瘤。因此,为了达到术后长期的无瘤状态,使用VK2类似物化学预防余肝新发肿瘤是有必要的。

本文共纳入了7个研究,所有患者均接受HCC根治性手术切除或RFA治疗,肿瘤均被根治性治疗。其中,接受RFA治疗的HCC患者占84%(780/930)。RFA治疗通过多个途径激活自然杀伤细胞的活性^[21]。大多数患者为单个肿瘤,肿瘤直径为1.1-5.0 cm,多<2 cm。因此,这些患者的早期复发不良因素(如血管侵犯、多个肿瘤结节、肿瘤直径>5 cm等)较少。也就是说,理论上本文纳入的患者的肿瘤复发时间应该多发生于术后2年之后;另一方面, VK2类似物主要为了预防肿瘤多中心复发。这两方面因素应该是本

文不能得出VK2类似物降低术后1年复发率的原因。理论上,低复发率患者的总生存率应该更高,生存时间应该更长,但由于纳入研究的观察随访时间较短(<36 mo),目前资料尚不能得出VK2类似物的长期疗效。

所有7个研究均在日本进行,纳入的患者多合并丙型肝炎(83%),因此, VK2类似物应用于其他人或乙型肝炎患者的疗效尚未明确。基于中国人群和日本人群肝癌标本的基础研究认为, VK2类似物通过抑制或激活某些信号通路来预防余肝发生新的肿瘤^[18-20]。因此,在中国人群开展类似临床研究的临床疗效可能与Meta分析结果相似。

Meta分析结果显示, VK2类似物较对症支持治疗显著提高术后总生存率。然而,纳入的7个



同行评价
该研究具有一定的新颖性和临床意义。对于肝细胞癌根治术后的肿瘤复发和术后生存进行了较为细致的分层分析, 具有一定的临床价值。

图 2 维生素K2类似物应用于肝细胞性肝癌患者术后对总生存率影响的Meta分析.

研究和纳入4个研究的系统综述^[12]均未观察到相似结果. 早期RCT结果^[7,8]显示VK2类似物显著降低HCC术后复发率, 但最近的RCT^[5]却认为治疗组和对照组的无瘤生存率相似. 这些相互矛盾的结果说明, 大样本的临床研究或Meta分析是有必要开展的.

本文为二次研究, 存在一定的局限性. 如并非所有研究均详细报道了随机分配方法和使用隐蔽分组, 故不能排除选择性和实施偏倚的可能. 只有一个研究在设计阶段使用了样本量估算, 使用意向性分析的研究也只有两个. 更重要的是, VK2类似物的主要目的是预防余肝发生新的肿瘤, 而新生肿瘤发生时间多>2年, 因此, 足够长的随访时间是必须的, 但纳入文献的随访时间均较短; 另一方面, 纳入的研究中存在手术切除与RFA两种方法进行HCC的根治. 这两种治疗方法本身可能对肿瘤复发有不同的影响. 因此, 对本文的结果和结论的解释尚需保持一定

的慎重. 长期的随访也许能观察到VK2类似物的显著疗效.

Meta分析结果显示, VK2类似物应用于HCC根治性治疗后对降低复发率和提高总生存率均有一定的疗效. 另外, 口服VK2类似物是安全的. 由于不同患者的复发因素不同, 复发类型和复发时间亦有差异, 针对不同患者的不同方案联合治疗模式是未来研究的方向和热点.

4 参考文献

- Lang H, Sotiropoulos GC, Brokalaki EI, Schmitz KJ, Bertona C, Meyer G, Frilling A, Paul A, Malagó M, Broelsch CE. Survival and recurrence rates after resection for hepatocellular carcinoma in noncirrhotic livers. *J Am Coll Surg* 2007; 205: 27-36
- Prabhoo R, Prabhoo TR. Vitamin K2: a novel therapy for osteoporosis. *J Indian Med Assoc* 2010; 108: 253-254
- Habu D, Shiomi S, Tamori A, Takeda T, Tanaka T, Kubo S, Nishiguchi S. Role of vitamin K2 in the development of hepatocellular carcinoma in women with viral cirrhosis of the liver. *JAMA* 2004; 292:

- 358-361
- 4 Moher D, Cook DJ, Eastwood S, Olkin I, Rennie D, Stroup DF. Improving the quality of reports of meta-analyses of randomised controlled trials: the QUOROM statement. QUOROM Group. *Br J Surg* 2000; 87: 1448-1454
 - 5 Yoshida H, Shiratori Y, Kudo M, Shiina S, Mizuta T, Kojiro M, Yamamoto K, Koike Y, Saito K, Koyanagi N, Kawabe T, Kawazoe S, Kobashi H, Kasugai H, Osaki Y, Araki Y, Izumi N, Oka H, Tsuji K, Toyota J, Seki T, Osawa T, Masaki N, Ichinose M, Seike M, Ishikawa A, Ueno Y, Tagawa K, Kuromatsu R, Sakisaka S, Ikeda H, Kuroda H, Kokuryu H, Yamashita T, Sakaida I, Katamoto T, Kikuchi K, Nomoto M, Omata M. Effect of vitamin K2 on the recurrence of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2011; 54: 532-540
 - 6 Yoshiji H, Noguchi R, Toyohara M, Ikenaka Y, Kitade M, Kaji K, Yamazaki M, Yamao J, Mitoro A, Sawai M, Yoshida M, Fujimoto M, Tsujimoto T, Kawaratani H, Uemura M, Fukui H. Combination of vitamin K2 and angiotensin-converting enzyme inhibitor ameliorates cumulative recurrence of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2009; 51: 315-321
 - 7 Mizuta T, Ozaki I, Eguchi Y, Yasutake T, Kawazoe S, Fujimoto K, Yamamoto K. The effect of menatetrenone, a vitamin K2 analog, on disease recurrence and survival in patients with hepatocellular carcinoma after curative treatment: a pilot study. *Cancer* 2006; 106: 867-872
 - 8 Kakizaki S, Sohara N, Sato K, Suzuki H, Yanagisawa M, Nakajima H, Takagi H, Naganuma A, Otsuka T, Takahashi H, Hamada T, Mori M. Preventive effects of vitamin K on recurrent disease in patients with hepatocellular carcinoma arising from hepatitis C viral infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 518-522
 - 9 Hotta N, Ayada M, Sato K, Ishikawa T, Okumura A, Matsumoto E, Ohashi T, Kakumu S. Effect of vitamin K2 on the recurrence in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 2073-2077
 - 10 Kubota K, Sawada T, Kita J, Shimoda M, M K. Effect of menatetrenone, a vitamin K2 analog, on recurrence of hepatocellular carcinoma after surgical resection - Final results of randomized controlled study. *Eur J Cancer* 2011; 47 Suppl 1: S470
 - 11 Hosho K, Okano J, Koda M, Murawaki Y. Vitamin K2 has no preventive effect on recurrence of hepatocellular carcinoma after effective treatment. *Yonago Acta medica* 2008; 51: 95-99
 - 12 Chu KJ, Lai EC, Yao XP, Zhang HW, Lau WY, Fu XH, Lu CD, Shi J, Cheng SQ. Vitamin analogues in chemoprevention of hepatocellular carcinoma after resection or ablation—a systematic review and meta-analysis. *Asian J Surg* 2010; 33: 120-126
 - 13 Sakaguchi T, Suzuki S, Morita Y, Oishi K, Suzuki A, Fukumoto K, Inaba K, Nakamura S, Konno H. Impact of the preoperative des-gamma-carboxy prothrombin level on prognosis after hepatectomy for hepatocellular carcinoma meeting the Milan criteria. *Surg Today* 2010; 40: 638-645
 - 14 Takahashi S, Kudo M, Chung H, Inoue T, Ishikawa E, Kitai S, Tatsumi C, Ueda T, Nagai T, Minami Y, Ueshima K. PIVKA-II is the best prognostic predictor in patients with hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation therapy. *Oncology* 2008; 75 Suppl 1: 91-98
 - 15 Kim HS, Park JW, Jang JS, Kim HJ, Shin WG, Kim KH, Lee JH, Kim HY, Jang MK. Prognostic values of alpha-fetoprotein and protein induced by vitamin K absence or antagonist-II in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: a prospective study. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 482-488
 - 16 Bertino G, Ardiri AM, Calvagno GS, Bertino N, Boemi PM. Prognostic and diagnostic value of des-gamma-carboxy prothrombin in liver cancer. *Drug News Perspect* 2010; 23: 498-508
 - 17 Nakamura M, Nagano H, Noda T, Wada H, Ota H, Damdinsuren B, Marubashi S, Miyamoto A, Takeda Y, Doki Y, Umeshita K, Dono K, Sakon M, Monden M. Vitamin K2 has growth inhibition effect against hepatocellular carcinoma cell lines but does not enhance anti-tumor effect of combination treatment of interferon-alpha and fluorouracil in vitro. *Hepatol Res* 2006; 35: 289-295
 - 18 Li L, Qi Z, Qian J, Bi F, Lv J, Xu L, Zhang L, Chen H, Jia R. Induction of apoptosis in hepatocellular carcinoma Smmc-7721 cells by vitamin K(2) is associated with p53 and independent of the intrinsic apoptotic pathway. *Mol Cell Biochem* 2010; 342: 125-131
 - 19 Azuma K, Urano T, Ouchi Y, Inoue S. Vitamin K2 suppresses proliferation and motility of hepatocellular carcinoma cells by activating steroid and xenobiotic receptor. *Endocr J* 2009; 56: 843-849
 - 20 Ozaki I, Zhang H, Mizuta T, Ide Y, Eguchi Y, Yasutake T, Sakamaki T, Pestell RG, Yamamoto K. Menatetrenone, a vitamin K2 analogue, inhibits hepatocellular carcinoma cell growth by suppressing cyclin D1 expression through inhibition of nuclear factor kappaB activation. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 2236-2245
 - 21 Zerbini A, Pilli M, Laccabue D, Pelosi G, Molinari A, Negri E, Cerioni S, Fagnoni F, Soliani P, Ferrari C, Missale G. Radiofrequency thermal ablation for hepatocellular carcinoma stimulates autologous NK-cell response. *Gastroenterology* 2010; 138: 1931-1942

编辑 曹丽鸥 电编 鲁亚静

生长抑素及ENBD对预防ERCP术后胰腺炎的临床对照

郭汉斌, 李浩然, 李绍祥, 马丽, 龚丽娟, 曹建彪

郭汉斌, 李浩然, 李绍祥, 马丽, 龚丽娟, 曹建彪, 中国人民解放军北京军区总医院全军肝病治疗中心 北京市 100700

郭汉斌, 主治医师, 主要从事肝胆胰疾病的内镜下治疗的研究。
作者贡献分布: 本文由郭汉斌与曹建彪设计; 李浩然、李绍祥、马丽及龚丽娟协助完成。

通讯作者: 曹建彪, 教授, 博士生导师, 100700, 北京市东城区, 中国人民解放军北京军区总医院全军肝病中心。

caojianbiao@sina.com

电话: 010-66721181

收稿日期: 2012-05-06 修回日期: 2012-06-27

接受日期: 2012-08-11 在线出版日期: 2012-09-08

Somatostatin versus endoscopic nasal biliary drainage in the prevention of post-ERCP pancreatitis and hyperamylasemia

Han-Bin Guo, Hao-Ran Li, Shao-Xiang Li, Li Ma, Li-Juan Gong, Jian-Biao Cao

Han-Bin Guo, Hao-Ran Li, Shao-Xiang Li, Li Ma, Li-Juan Gong, Jian-Biao Cao, Institute of Hepatology, General Hospital of Beijing Military Command of Chinese PLA, Beijing 100700, China

Correspondence to: Jian-Biao Cao, Professor, General Hospital of Beijing Military Command of Chinese PLA, Dongcheng District, Beijing 100700, China. caojianbiao@sina.com

Received: 2012-05-06 Revised: 2012-06-27

Accepted: 2012-08-11 Published online: 2012-09-08

Abstract

AIM: To investigate the preventive effect of somatostatin versus endoscopic nasal biliary drainage (ENBD) on post-ERCP pancreatitis (PEP) and hyperamylasemia.

METHODS: A total of 110 patients were enrolled and randomly divided into 3 groups to receive somatostatin, ENBD or placebo. Incidences of PEP, hyperamylasemia and adverse reactions were observed.

RESULTS: The overall incidences of PEP and hyperamylasemia were 17.2% (19/110) and 4.54% (5/110), respectively. The levels of serum amylase at 6 h in the somatostatin group and ENBD group were significantly lower than that in the control group (467 IU/L \pm 63 IU/L, 501

IU/L \pm 405 IU/L vs 1 323 IU/L \pm 46 IU/L, both $P < 0.05$), while the levels of serum amylase at 24 h showed no significant differences among the three groups ($P > 0.05$). The time to disappearance of abdominal symptoms, the time to recovery of blood parameters, and average length of hospital stay in the somatostatin group and ENBD group were significantly shorter than those in the control group (all $P < 0.05$). The costs were significantly lower in the somatostatin group than in the ENBD group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Both somatostatin and ENBD can effectively prevent post-ERCP pancreatitis and hyperamylasemia, and somatostatin is associated with lower medical expenses.

Key Words: Somatostatin; Endoscopic nasal biliary drainage; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Pancreatitis; Hyperamylasemia

Guo HB, Li HR, Li SX, Ma L, Gong LJ, Cao JB. Somatostatin versus endoscopic nasal biliary drainage in the prevention of post-ERCP pancreatitis and hyperamylasemia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2427-2431

摘要

目的: 探讨预防性应用生长抑素及术后放置鼻胆引流管对经内镜胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)后胰腺炎及高淀粉酶血症的作用及安全性。

方法: 按照既定标准入院接受ERCP诊治的患者110例, 随机分为3组, 分别给予生长抑素组、ENBD及安慰剂。观察术后胰腺炎、高淀粉酶血症的发生情况、预后及经济学评价。

结果: 3组患者中术后胰腺炎总发生率为17.2% ($n = 19$), 高淀粉酶血症为4.54% ($n = 5$), 对照组胰腺炎、高淀粉酶血症发生率明显高于其余2组 ($P < 0.05$); 血清淀粉酶变化, 生长抑素组(467 IU/L \pm 63 IU/L)、ENBD组(501 IU/L \pm 405 IU/L)术后6 h较对照组(1 323 IU/L \pm 46 IU/L)低, 差距有统计学意义 ($P < 0.05$); 但术后24 h血清淀粉酶水平无显著性差异 ($P > 0.05$);

■背景资料

近年来随着内镜逆行胰胆管造影(ERCP)技术的改进和内镜医师经验的积累, ERCP术后并发症的发生率明显下降, 但ERCP术后胰腺炎(PEP)的发生率却无显著改变, 成为ERCP术后最常见、最严重的并发症之一。

■同行评议者

王文跃, 主任医师, 中日友好医院普通外科

■ 研发前沿

胰管支架的放置是一项难度较高的技术,需要内镜操作者经较长时间的操练才能掌握,而且在所有行ERCP的患者中放置胰管支架也是不经济的。因此,在普通行ERCP的患者中寻找一种便宜、方便、有效、安全的药物或者一种可行的操作技术一直都是研究的热点。

生长抑素组及ENBD组胰腺炎患者腹部症状体征消失时间、血象下降时间、平均住院时间均较对照组明显缩短,差距有统计学意义($P<0.05$);对比2种预防ERCP术后胰腺炎的方法,生长抑素费用明显低于ENBD,可大大降低医疗费用的支出,差距有统计学意义($P<0.05$)。

结论:生长抑素、鼻胆引流管均可有效预防ERCP术后胰腺炎及高淀粉酶血症的发生,生长抑素更为经济。

关键词:生长抑素;鼻胆引流管;内镜逆行胰胆管造影术;胰腺炎;高淀粉酶血症

郭汉斌, 李浩然, 李绍祥, 马丽, 龚丽娟, 曹建彪. 生长抑素及ENBD对预防ERCP术后胰腺炎的临床对照. 世界华人消化杂志 2012; 20(25): 2427-2431

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2427.asp>

0 引言

内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是肝胆胰疾病的重要诊治手段之一。近年来随着ERCP技术的改进和内镜医师经验的积累,ERCP术后并发症的发生率明显下降,但ERCP术后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)的发生率却无显著改变,成为ERCP术后最常见、最严重的并发症之一。在前瞻性非选择性病例的试验中,PEP的发生率多在5%左右,PEP高危患者PEP的发生率可达30%-50%^[1-4]。术后血清淀粉酶水平超过正常值水平而无临床症状者称为高淀粉酶血症,其发生率可高达75%^[1]。虽然大部分PEP属于轻型,但仍有约10%可发展为重症胰腺炎,导致住院时间延长、医疗费用增加,甚至危及患者的生命。

临床发现,鼻胆引流管可预防由ERCP操作引起的乳头水肿或Oddi括约肌痉挛所致的胰管引流障碍。生长抑素是一种有效的胰酶分泌的抑制物,在临床上治疗急性胰腺炎取得了较好的疗效,二者可能是预防PEP的有效方法,因此我们进行了预防PEP的前瞻性研究,评价二者的疗效,报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 110例拟进行诊断性或治疗性ERCP的无胰腺炎的梗阻性黄疸或胆总管结石患者,符合:(1)所有患者年龄>18岁;(2)非孕妇、及近3 mo内出现心肌梗塞及肾功能衰竭患者;(3)非生

长抑素过敏者。分别随机安排入生长抑素组、ENBD(endoscopic biliary drainage)组及安慰剂组,安慰剂组术前给予NS 500 mL静点,术后给予抗炎、补液、对症支持治疗;生长抑素组自术前30 min开始给予NS 500 mL+思他宁(默克雪兰诺)3 mg,持续至12 h,术后给予抗炎、补液、对症支持治疗;ENBD组于术后给予鼻胆引流管置入,并保持引流通畅,术前给予NS 500 mL静点,术后给予抗炎、补液、对症支持治疗,术后禁食、至淀粉酶正常且无腹痛开始进食。排除标准:妊娠或哺乳期妇女;患有严重心血管、肾脏疾病,如严重的心肺或肾功能不全者;急性胰腺炎或慢性胰腺炎急性发作;对造影剂过敏;对生长抑素类药物治疗禁忌的患者;有精神障碍或疾病的患者。

1.2 方法

1.2.1 手术操作:各组患者均于ERCP术前10-15 min常规用药:安定5-10 mg、丁溴东莨菪碱20 mg及哌替啶50-100 mg静脉注射,内镜选用Olympus JF260十二指肠镜,造影剂选用30%泛影葡胺。术中行胆管造影、EST切开、取石等操作。

1.2.2 观察指标:(1)观察术后2、12 h血清淀粉酶变化情况;(2)患者腹痛、腹胀、发热、呕吐及腹部体征变化情况和术后恢复时间;(3)住院天数、费用;(4)腹部增强CT,进行Balthazar分级和CT严重指数(CT severity index, CTSI)评分,CTSI指数将Balthazar A-E分级分别记为0、1、2、3、4分,将坏死及其范围分为无、<33%、33%-50%、>50%,分别评分为0、2、4、6分,两种记分相加即为CTSI评分。

1.2.3 术后急性胰腺炎的诊断标准:PEP定义仍有较多的争议,目前较为认同的定义是Cotton等^[1]在基于15 000多例病例研究基础上达成的共识,是指在ERCP后出现持续性的胰腺炎相关性痛并持续至术后24 h以上,且血清淀粉酶超过正常上限的3倍,急性胰腺炎用Ranson标准进行评分,每天监测血清淀粉酶。胰腺炎分为3级:(1)轻度:Ranson评分 ≤ 2 分;(2)重度: ≥ 3 分。仅有血清淀粉酶高于正常值而无腹痛、恶心、呕吐及腹部压痛者诊断为高淀粉酶血症。

统计学处理 所有数据均经SPSS13.0数据软件处理,均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组病例一般资料 110例患者随机入组,其中生长抑素组36例,ENBD组38例,对照组36例,

表 1 各组病例基本情况

项目	生长抑素组(<i>n</i> = 36)	ENBD(<i>n</i> = 38)	对照组(<i>n</i> = 36)
年龄(岁)	51.3 ± 10.1	58.5 ± 13.2	54.8 ± 17.2
男性	19	20	15
女性	15	18	21
手术时间(min)	35.8 ± 14.6	43.5 ± 12.3	38.4 ± 13.7
造影剂注射量(mL)	15.6 ± 12.3	19.8 ± 11.9	16.9 ± 15.3
胰管显影	2.5 ± 1.9	2.1 ± 1.6	1.9 ± 1.6
胆管造影次数	2.3 ± 2.6	2.7 ± 2.1	1.9 ± 2.9
乳头切开(<i>n</i>)	23	29	24
气囊扩张(<i>n</i>)	9	6	5
乳头水肿(<i>n</i>)	18	20	16
胆总管取石	19	25	23

表 2 ERCP术后高淀粉酶血症及急性胰腺炎发病率(*n* %)

分组	胰腺炎	高淀粉酶血症
生长抑素组	5(13.9)	1(2.7)
ENBD	4(10.5)	1(2.63)
对照组	10(30.5)	3(8.3)

各组年龄、性别、体质量、造影剂注射次数、ERCP持续时间等均无明显差异, 具有较好的可比性。表1显示了两组基础数据情况, 特别是造影剂量、手术时间、切开方式、胰管和胆管显影次数等。

2.2 各组术后并发症发生情况 110例患者术后胰腺炎总发生率为17.2%, 高淀粉酶血症为4.54%, 生长抑素组5例, 占13.9%; ENBD组4例, 占10.5%; 对照组10例, 占30.5%。对照组胰腺炎发生率明显高于其余两组($P < 0.05$, 表2)。

患者总的高淀粉酶血症的发生率为4.54%, 其中对照组3例, 发生率为8.3%; 生长抑素组1例, 发生率为2.62%; ENBD组1例, 发生率为2.7%。对照组高于生长抑素组、ENBD组, 差异有统计学意义($P = 0.006$); 生长抑素组和ENBD组高淀粉酶血症发生率之间无统计学意义($P = 0.277$)。血清淀粉酶变化, 生长抑素组、ENBD组术后6 h较对照组低, 分别为467 IU/L ± 63 IU/L、501 IU/L ± 405 IU/L、1 323 IU/L ± 46 IU/L($P < 0.05$), 但术后24 h血清淀粉酶水平无显著性差异, 分别为215 IU/L ± 44 IU/L、257 IU/L ± 538 IU/L、286 IU/L ± 54 IU/L($P > 0.05$)。

2.3 治疗效果比较 10例对照组患者发生术后胰腺炎, 其中Ranson评分4例>3分, 考虑重症胰腺炎, 经保守治疗均治愈, 1例形成假性囊肿, 平

均住院时间为25 d。其余均为<2分, 对照组平均住院时间为14.2 d ± 6.2 d。生长抑素组及ENBD组胰腺炎9例患者Ranson评分均为<2分, 无1例转为重症胰腺炎, 平均住院时间为8.8 d ± 3.9 d, 9.9 d ± 4.7 d。生长抑素组、ENBD组平均住院日较对照组明显缩短, 差距有统计学意义($P < 0.05$)。未转为SAP的患者中, 生长抑素组及ENBD组胰腺炎患者腹部症状、体征消失时间, 血象下降时间均较对照组明显缩短($P < 0.05$)。

2.4 经济学分析 相关费用参考北京市发改委制定的相关2010年度医疗收费标准。行ENBD引流需支架材料费3 360元, 生长抑素(思他宁, 0.3 mg, 默克雪兰诺)12 h静点需661元, 对比2种预防ERCP术后胰腺炎的方法, 生长抑素费用明显低于ENBD, 存在显著性差异。

3 讨论

PEP是ERCP术后最常见、最严重的并发症之一, 治疗不当甚至会危及患者的生命, 为此预防PEP的发生已经成为广大临床医生所面临的难题。我们必须首先明确导致ERCP术后胰腺炎的危险因素以预测和避免这种并发症的发生。其中患者特征是与PEP发生紧密相关的因素, 研究显示这至少与内镜的技术和操作同样重要。在一个或多个研究中发现有意义的患者相关的危险因素包括年轻、疑有Oddi括约肌功能障碍(SOD)、有PEP发生史和无血清胆红素升高。乳头插管所致的Oddi括约肌痉挛和乳头水肿引起胰液的引流受阻是PEP发生的主要原因^[5]。手术过程中胆道括约肌球囊扩张, 粗暴插管造成乳头损伤, 乳头括约肌切开及多次胰管造影等技术因素均是PEP的危险因素。本研究中无论是生

■ 相关报道

动物实验表明十四肽生长抑素思他宁具有抑制Oddi括约肌收缩的作用, 且已有研究表明他可减轻ERCP术后胰腺的水肿与疼痛; 也有研究发现一次性静注生长抑素对PEP有预防作用。

■应用要点

术前应用生长抑素和术后置入鼻胆引流管可有效预防术后胰腺炎及高淀粉酶血症的发生, 两项技术均是安全、有效, 相比较而言生长抑素经济性更好, 可在基层进一步推广。

表 3 ERCP术后急性胰腺炎治疗效果

	症状、体征消失时间(d)	血象下降时间(d)	平均住院时间(d)
生长抑素组	1.6 ± 1.1(2-4)	1.7 ± 1.3(1-4)	8.8 ± 3.9(6-18)
ENBD	2.1 ± 1.6(2-3)	1.6 ± 1.4(1-3)	9.9 ± 4.7(5-17)
对照组	3.5 ± 3.3(4-7)	3.1 ± 2.5(3-6)	14.2 ± 6.2(9-30)

长抑素组、ENBD组还是对照组, 比较了年龄、性别、手术时间、造影剂用量及次数、胆胰管显影次数等高危因素, 结果表明其发生PEP的危险因素并不存在显著性差异, 也表明两组资料的可靠性, 具有可比性。

在高危患者中预防性地放置胰管支架已被证明是一种安全有效的方法^[6]。然而, 胰管支架的放取是一项难度较高的技术, 需要内镜操作者经较长时间的操练才能掌握。此外, 在所有行ERCP的患者中放置胰管支架也是不经济的^[7]。因此, 在普通行ERCP的患者中寻找一种便宜、方便、有效、安全的药物或者一种可行的操作技术一直都是研究的热点。然而, 到目前为止, 绝大多数药物都被证明是无效的^[8], 且没有一种药物在临床广泛使用。

之前研究的最多、争议最多的仍是胰酶分泌抑制剂-生长抑素类药物(生长抑素和奥曲肽)。胰酶分泌抑制剂有强大的抑制胰腺外分泌功能及降低胰酶水平的作用, 可直接抑制消化酶的分泌、间接抑制胃泌素、胆囊收缩素, 从而影响胰腺外分泌功能。此外, 胰酶分泌抑制剂还能调节细胞因子的瀑布效应及通过诱导胰腺腺泡细胞的凋亡来减轻炎症反应, 并能降低Oddi括约肌的运动张力, 以降低胰管内压力。奥曲肽是人工合成的八肽生长抑素类似物, 他与生长抑素的作用相似且半衰期更长。目前国外仅有部分研究结果显示奥曲肽预防有效, 但作用并不显著^[9], 多数临床研究结果显示奥曲肽没有预防PEP的作用^[10], 仅能减少ERCP术后高淀粉酶血症的发生率。十四肽生长抑素他宁不同于奥曲肽, 动物实验表明其具有抑制Oddi括约肌收缩的作用。且已有研究表明他可减轻ERCP术后胰腺的水肿与疼痛, 也有研究发现一次性静注生长抑素对PEP有预防作用^[11,12]。我们研究发现术前和术后静滴生长抑素可明显减少胰腺炎的发生, 减少腹痛和术后血淀粉酶的水平。生长抑素对Oddi括约肌的舒张作用可减轻胰管内造影剂注射引起的胰腺损害。我们研究的患者PEP均较轻, 多发于术后6 h, 于24 h后血淀粉酶已降到

较低水平。说明ERCP术后胰腺炎多为一过性。生长抑素对这种早期胰腺炎有较好的预防作用, 但需要大样本病例的双盲对照研究来进一步证实。

ENBD能够有效地引流胆汁, 而且能够减轻ERCP术后胆管、胰管内的压力, 有利于胰液、胆汁的正常排泄, 从而减少造影剂、胆汁反流入胰管, 减少胰胆管括约肌损伤和痉挛等诱发的不利因素, 故能够减少PEP和高淀粉酶血症的发生^[13-15]。另外, ENBD能将嵌顿于共同通道的结石推开, 有效防止急性胰腺炎重症化。导管引出乳头开口部时, 作U形回转, 可把乳头开口拉呈鱼口状, 使胆汁流入十二指肠。而且ENBD属于微小侵入性治疗, 痛苦小, 不影响其他治疗, 患者易于接受, 操作比胰管支架更为容易, 但是对于有肝硬化、食管胃底静脉曲张的患者, ENBD增加了出血的风险, 应该慎用^[16,17]。

本研究为前瞻性、随机、对照研究, 采用术前应用生长抑素和术后给予鼻胆引流管的方法, 来观察二者对于术后胰腺炎的预防效果。3组患者中术后胰腺炎总发生率为17.2%, 高淀粉酶血症为4.54%, 对照组胰腺炎、高淀粉酶血症发生率明显高于其余两组($P < 0.05$)。血清淀粉酶变化, 生长抑素组、ENBD组术后6 h较对照组低, 但术后24 h血清淀粉酶水平无显著性差异。而且从术后恢复时间、并发症发生、平均住院日各项指标来看, 生长抑素组及ENBD组胰腺炎患者腹部症状、体征消失时间、血象下降时间、平均住院日均较对照组明显缩短($P < 0.05$, 表3), 可谓经济、高效、安全。另外, 从经济学角度来说, 对比2种预防PEP的方法, 生长抑素费用明显低于ENBD, 可大大降低医疗费用的支出。

PEP及高淀粉酶血症的大部分因素是可以避免的, 如避免高压及过多注射造影剂、严格无菌操作、提高操作技能、取尽残余结石、避免胰管多次显影和胰腺腺泡显影, EST时避免损伤胰腺开口部位, 减少共同通道梗阻, 尽早引流胆管, 防止胆汁反流入胰管等。我们的经验是: (1)对疑有胆道疾病患者, 可行选择性胆管插入

法, 在X线监视下, 调整造影导管、应用导丝滑入等技巧, 在X线监视下判断导丝在胆管抑或胰管, 这样可以明显减少因插管、造影对胰管的损伤, 确认进入胆管后再缓慢推注造影剂, 即可避免胰管显影; (2) 选择性胰管造影时, 可采用乳头浅插法: 在X线监视下, 轻推造影剂, 待主胰管全程显影后摄片, 切不可高压或盲目注射; (3) 导丝插入胰管行胰管预切开法: 为避免反复多次胰管插管, 当导丝插入胰管时, 行胰管预切开, 即作一小切口后, 达到将胆胰管间的隔膜切开, 从而暴露胆管开口, 有利于胆管插入; (4) EST、网篮取石术中尽量减少对胰腺组织的损伤程度, 过大的结石不能用暴力牵拉, 以免损伤胰管; 如伴有多发胆管结石, 一次不能取尽者, 应常规置入ENBD, 以免引起结石嵌顿和PEP的发生。

总之, 本研究发现, 术前应用生长抑素和术后置入鼻胆引流管均可有效预防术后胰腺炎及高淀粉酶血症的发生, 两项技术均是安全、有效, 相比较而言生长抑素经济性更好, 可在基层进一步推广。期待进行多中心、大样本研究或不同剂型生长抑素给药的试验, 来为临床提供更多的证据。

4 参考文献

- 1 Cotton PB, Lehman G, Vennes J, Geenen JE, Russell RC, Meyers WC, Liguory C, Nickl N. Endoscopic sphincterotomy complications and their management: an attempt at consensus. *Gastrointest Endosc* 1991; 37: 383-393
- 2 Booth FV, Doerr RJ, Khalafi RS, Luchette FA, Flint LM. Surgical management of complications of endoscopic sphincterotomy with precut papillotomy. *Am J Surg* 1990; 159: 132-135; discussion 132-135
- 3 Vandervoort J, Soetikno RM, Tham TC, Wong RC, Ferrari AP, Montes H, Roston AD, Slivka A, Lichtenstein DR, Ruymann FW, Van Dam J, Hughes M, Carr-Locke DL. Risk factors for complications after performance of ERCP. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 652-656
- 4 Gan SI, Kozarek RA. Pancreatic endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP). *Endoscopy* 2012; 44: 389-393
- 5 Sherman S. ERCP and endoscopic sphincterotomy-induced pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 303-305
- 6 Choudhary A, Bechtold ML, Arif M, Szary NM, Puli SR, Othman MO, Pais WP, Antillon MR, Roy PK. Pancreatic stents for prophylaxis against post-ERCP pancreatitis: a meta-analysis and systematic review. *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 275-282
- 7 Das A, Singh P, Sivak MV, Chak A. Pancreatic-stent placement for prevention of post-ERCP pancreatitis: a cost-effectiveness analysis. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 960-968
- 8 Cooper ST, Slivka A. Incidence, risk factors, and prevention of post-ERCP pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2007; 36: 259-276, vii-viii
- 9 van Acker GJ, Perides G, Steer ML. Co-localization hypothesis: a mechanism for the intrapancreatic activation of digestive enzymes during the early phases of acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1985-1990
- 10 Nøjgaard C, Hornum M, Elkjaer M, Hjalmarsson C, Heyries L, Hauge T, Bakkevold K, Andersen PK, Matzen P. Does glyceryl nitrate prevent post-ERCP pancreatitis? A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: e31-e37
- 11 李兆申, 张文俊, 潘雪, 龚彪, 智发朝, 郭学刚, 李培明, 范志宁, 孙文生, 沈云志, 麻树人, 谢渭芬, 陈旻湖, 李延青. 奥曲肽预防ERCP术后胰腺炎及高淀粉酶血症的多中心随机对照临床研究. *中华消化内镜杂志* 2004; 21: 301-304
- 12 郭海建, 刘新民, 刘俊, 熊鹰, 胡银清, 帅红梅, 李花林. 加贝酯、奥曲肽和奥美拉唑联合应用对内镜下逆行胰胆管造影术后胰腺炎的预防作用. *中国医院药学杂志* 2010; 30: 232-234
- 13 李汛, 朱晓亮, 周文策, 孟文勃, 张磊, 张辉, 李琼, 蒲小金, 陈英, 徐冬霞. 经内镜胰管支架置入在预防ERCP术后胰腺炎高危患者中的临床应用. *中国普外基础与临床杂志* 2010; 17: 124-126
- 14 王钧, 白飞虎, 周毅. NSAIDs预防内镜逆行胰胆管造影术后胰腺炎的研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1356-1359
- 15 韩兵, 王宝仁. ERCP术后急性胰腺炎并发症的危险因素及预防研究进展. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1813-1818
- 16 宋丽亚, 赵清喜, 孔心涓, 田宇彬, 张琪. ENBD预防胆管多发结石ERCP术后急性胰腺炎及高淀粉酶血症65例. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1724-1727
- 17 Cheng CL, Sherman S, Watkins JL, Barnett J, Freeman M, Geenen J, Ryan M, Parker H, Frakes JT, Fogel EL, Silverman WB, Dua KS, Aliperti G, Yakshe P, Uzer M, Jones W, Goff J, Lazzell-Pannell L, Rashdan A, Temkit M, Lehman GA. Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 139-147

■同行评价

本文内容新颖, 紧扣目前研究重点及热点; 研究设计紧密具有逻辑顺序, 记录数据详细, 并提供了可靠的循证医学证据, 为以后的研究提供了数据支持。

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

氩氦刀冷冻治疗泌胰岛素性多发性内分泌瘤 I 型 1 例

张长明, 姚飞, 陈继兵, 黄丽雯, 李永强, 曾健滢, 滑艳艳, 刘卫群, 李艳红, 李家亮, 何丽华, 牛立志, 左建生, 徐克成

■背景资料

多发性内分泌瘤 I 型是一种 MEN1 抑癌基因突变引起的常染色体显性遗传性疾病。患者以发生甲状旁腺瘤、胰岛素瘤或垂体瘤为主要特征。目前国内对该病处于散在个例的报道和研究阶段, 尚未形成系统的诊断和治疗方案。

张长明, 姚飞, 陈继兵, 黄丽雯, 李永强, 曾健滢, 滑艳艳, 刘卫群, 李艳红, 李家亮, 何丽华, 牛立志, 左建生, 徐克成, 广州复大肿瘤医院 广东省广州市 510665

张长明, 主治医师, 主要从事内分泌与代谢病研究。

作者贡献分布: 文章设计及临床冷冻治疗实施由张长明与牛立志完成; 文献查询及文章撰写由姚飞与陈继兵完成; 临床资料整理收集由黄丽雯、李永强、滑艳艳、李艳红及何丽华完成; 文章配图由曾健滢与刘卫群完成; 文章修改由牛立志与李家亮完成; 文章审校由左建生与徐克成完成。

通讯作者: 徐克成, 教授, 510665, 广东省广州市天河区棠德西路2号, 广州复大肿瘤医院. fudaclab@gmail.com

电话: 020-38993966

收稿日期: 2012-05-09 修回日期: 2012-07-02

接受日期: 2012-08-02 在线出版日期: 2012-09-08

Cryoablation for the treatment of multiple endocrine neoplasia type 1: A report of one case

Chang-Ming Zhang, Fei Yao, Ji-Bing Chen, Li-Wen Huang, Yong-Qiang Li, Jian-Ying Zeng, Yan-Yan Hua, Wei-Qun Liu, Yan-Hong Li, Jia-Liang Li, Li-Hua He, Li-Zhi Niu, Jian-Sheng Zuo, Ke-Cheng Xu

Chang-Ming Zhang, Fei Yao, Ji-Bing Chen, Li-Wen Huang, Yong-Qiang Li, Jian-Ying Zeng, Yan-Yan Hua, Wei-Qun Liu, Yan-Hong Li, Jia-Liang Li, Li-Hua He, Li-Zhi Niu, Jian-Sheng Zuo, Ke-Cheng Xu, Guangzhou Fuda Cancer Hospital, Guangzhou 51665, Guangdong Province, China

Correspondence to: Ke-Cheng Xu, Professor, Guangzhou Fuda Cancer Hospital, 2 Tangde West Road, Tianhe District, Guangzhou 510665, Guangdong Province, China. fudalab@yahoo.cn

Received: 2012-05-09 Revised: 2012-07-02

Accepted: 2012-08-02 Published online: 2012-09-08

Abstract

A 23-year-old man presented with persistent hypoglycemia. After pathological examination and MEN1 gene variation analysis, he was diagnosed with insulin-secreting multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). Cryoablation was then performed. Postoperatively, abdominal CT revealed a large low density necrotic lesion, and the patient's blood glucose gradually returned to normal level. Our case suggests that cryoablation is a promising treatment for MEN1.

Key Words: Insulin-secreting; Persistent hypoglycemia; Multiple endocrine neoplasia

Zhang CM, Yao F, Chen JB, Huang LW, Li YQ, Zeng

JY, Hua YY, Liu WQ, Li YH, Li JL, He LH, Niu LZ, Zuo JS, Xu KC. Cryoablation for the treatment of multiple endocrine neoplasia type 1: A report of one case. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(25): 2432-2435

摘要

通过对1例因胰腺占位病变、持续低血糖入院患者进行病理诊断和MEN1基因突变检测, 确诊为泌胰岛素性多发性内分泌瘤 I 型(multiple endocrine neoplasia type 1, MEN1), 尝试胰腺氩氦刀冷冻消融治疗, 术后患者病灶呈大部低密度坏死, 血糖恢复正常。结合患者病史及诊疗经过, 提高对泌胰岛素性MEN1认识。

关键词: 泌胰岛素; 低血糖; 多发性内分泌瘤 I 型

张长明, 姚飞, 陈继兵, 黄丽雯, 李永强, 曾健滢, 滑艳艳, 刘卫群, 李艳红, 李家亮, 何丽华, 牛立志, 左建生, 徐克成. 氩氦刀冷冻治疗泌胰岛素性多发性内分泌瘤 I 型 1 例. *世界华人消化杂志* 2012; 20(25): 2432-2435

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2432.asp>

0 引言

多发性内分泌瘤 I 型(multiple endocrine neoplasia type 1, MEN1)是一种常染色体显性遗传性疾病, 主要累及甲状旁腺、胰腺、垂体等内分泌腺, 其发病率为1/3-5万^[1,2]。目前认为, MEN1发病机制主要是由于MEN1基因突变所致^[3]。本文在国内首次报道氩氦刀冷冻治疗1例泌胰岛素性MEN1患者, 冷冻治疗120 d后患者胰岛素分泌正常, 患者生存状态良好。

1 病例报告

男, 23岁, 马来西亚籍华人, 因近1 mo来体力明显下降, 伴复发性低血糖性昏迷于2011-06-09入院就诊。体格检查: 身高170 cm、体质量90 kg、身体质量指数31.14、体温36.2 °C、血压138/94 mmHg、精神状态较差, 时有呼吸困难症状, 其他检查无异常。

实验室检查: 空腹血糖(波动于1.2 mmol/L-2.2 mmol/L之间, 参考值3.9 mmol/L-6.1 mmol/L)明显低于正常值范围; 空腹C肽(21.8 μg/L, 参考

■同行评议者

李革, 副教授, 延边大学附属医院



图 1 患者入院后腹部CT平扫加增强效果. 图中箭头所示为胰尾部肿瘤, 体积较小.

值 $1.1\ \mu\text{g/L}$ - $4.4\ \mu\text{g/L}$ 、空腹胰岛素($109.5\ \mu\text{U/mL}$, 参考值 $2.6\ \mu\text{U/mL}$ - $24.9\ \mu\text{U/mL}$)、垂体催乳素($34.7\ \mu\text{g/L}$, 参考值 $2.1\ \mu\text{g/L}$ - $17.7\ \mu\text{g/L}$)、促甲状腺激素($30.7\ \mu\text{IU/L}$, 参考值 $0.3\ \mu\text{IU/L}$ - $4.2\ \mu\text{IU/L}$)及甲状旁腺激素($12.4\ \text{pmol/L}$, 参考值 $1.30\ \text{pmol/L}$ - $6.80\ \text{pmol/L}$)都明显高于正常值范围; 胃泌素、CA19-9、肾上腺及甲状腺相关激素水平均正常; 血电解质检测显示游离钙($1.43\ \text{mmol/L}$, 参考值 $1.1\ \text{mmol/L}$ - $1.34\ \text{mmol/L}$)升高, 磷($0.47\ \text{mmol/L}$, 参考值 $0.81\ \text{mmol/L}$ - $1.62\ \text{mmol/L}$)降低.

影像学检查: 胸部、全腹部CT平扫加增强显示胰尾病变($3.4\ \text{cm}\times 3.4\ \text{cm}$, 图1)及左前纵膈淋巴结巨大转移瘤($5.4\ \text{cm}\times 4.7\ \text{cm}$), 并左肾上腺($1\ \text{cm}\times 1\ \text{cm}$)、肺内、骨盆、脊柱广泛骨转移, 垂体及甲状腺CT扫描未发现肉眼可见肿瘤.

患者胰尾病变、空腹胰岛素和C肽偏高、血糖值低于正常值等情况, 考虑为胰岛素瘤; 患者入院时血钙偏高, 血磷下降, 再查血清甲状旁腺激素高于正常值, 甲状旁腺功能亢进; 催乳素及促甲状腺激素明显高于正常范围, 提示垂体病变; 随后采集患者外周血白细胞进行基因组提取, 扩增MEN1基因10个外显子的编码区域, 测序发现在9号外显子存在c.1288C>T位点突变(图2), 该突变造成谷氨酸突变为终止密码子, 使MEN1基因翻译提前终止. 综上, 结合胰腺、甲状旁腺及垂体等内分泌器官病变, 同时MEN1基因发生9号外显子终止突变, 确诊MEN1.

患者全身多处肿瘤转移, 纵膈淋巴结肿瘤体积较大, 出现明显呼吸压迫症状, 拟优先治疗; 胰尾部的高功能性胰岛素瘤引起的高胰岛素血症是患者多发性低血糖性昏迷的主要原因, 故先给予每日持续补糖以缓解症状; 肾上腺肿瘤体积较大, 已出现肾脏压迫症状, 拟联合胰尾肿瘤冷冻手术时治疗.

入院7 d后, 患者在B超引导下取胸骨柄周

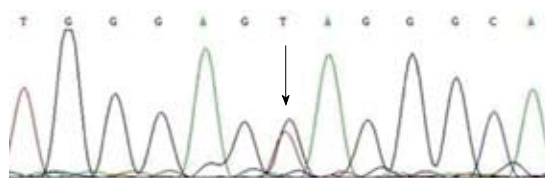


图 2 患者MEN1基因检测图. 测序显示在其外显子9存在c.1288C>T位点突变, 上图双峰位置为突变位点(如箭头所示), 其中黑色峰代表G碱基, 红色峰代表T碱基.

围皮肤为穿刺点, 以纵膈内肿瘤为靶区, 纵膈肿瘤冷冻消融术. 手术采用 $1.7\ \text{mm}$ 和 $2.0\ \text{mm}$ 冷冻探针各2只, 100%的氩气冷冻10 min, 自然复温, 共2个循环. 术后1 mo经胸部CT平扫及增强示纵膈淋巴结肿大($7.1\ \text{cm}\times 4.8\ \text{cm}$), 术后3 mo CT显示瘤体缩小为 $6.3\ \text{cm}\times 3.6\ \text{cm}$, 呈均匀坏死低密度影. 患者纵膈肿瘤消融术1 mo后病况渐稳定, 随在CT引导下行胰腺肿瘤活检, 病理报告及免疫组织化学结果显示Vimentin(-)、S100(-)、Syn(+)、CgA(+)、CEA(+)、CK(-)、Ki67(+)(图3), 考虑神经内分泌肿瘤II级(胰腺原发性不典型类癌), 进一步支持MEN1的诊断.

胰腺取活检后在CT引导下取左侧腹壁皮肤为穿刺区, 分别以胰尾部肿瘤、左肾上腺肿瘤为靶区, 行冷冻消融术. 手术采用3支 $1.7\ \text{mm}$ 探针穿刺入胰尾肿瘤(图4A), 100%氩气冷冻10 min, 自然复温, 共2个循环; 随后用1支 $1.7\ \text{mm}$ 探针穿入左肾上腺肿瘤, 100%氩气冷冻5 min, 自然复温, 共1个循环. 术后2 d经腹部CT平扫显示胰尾部密度不均匀的软组织团块影, 内部可见低密度坏死灶; 左肾上腺可见 $2.5\ \text{cm}\times 2.5\ \text{cm}$ 团块软组织灶影及低密度坏死灶. 术后1 mo腹部CT平扫加增强显示胰尾大部呈坏死低密度影; 左肾上腺肿大, 中间可见低密度坏死影. 术后2.5 mo患者再次入院复查, 精神、食欲及睡眠好, 体质量较前下降约10 kg, 体力及精力明显改善. 腹部CT平扫加增强显示胰尾部低密度结节影, 病灶内密度均匀, 大部呈低密度坏死灶(图4B). 患者入院时多次发作低血糖性晕厥, 入院后即给予全天持续静滴高渗葡萄糖溶液. 术后逐渐减少葡萄糖输注量, 至第10天完全停止. 患者空腹血糖在停止葡萄糖输注后4 d内逐渐降低到 $2\ \text{mmol/L}$, 其后8 d快速反弹至 $12\ \text{mmol/L}$, 随后逐渐恢复正常水平; 术后多日内患者餐后血糖值始终维持在正常水平; 空腹胰岛素在术后持续降低, 并于术后12 d降至正常水平, 空腹C-肽也于术后14 d恢复正常(图5). 各项血糖相关指标并持续监测到术后120 d左右, 皆稳定在正常范围之内.

■ 相关报道

胰腺内分泌肿瘤的手术治疗效果好, 即使是恶性胰腺内分泌肿瘤, 积极治疗也可获得长期存活, 但此类肿瘤容易误诊, 临床上应予以高度重视.

■ 创新盘点

原则上凡确诊胰岛素瘤应及早手术治疗, 但本研究对该患者采用氩氦刀冷冻消融治疗, 术后患者瘤体萎缩, 患者血糖恢复正常水平, 取得较好治疗效果.

■应用要点

对于不能手术切除的胰腺内分泌肿瘤,微创治疗是一可代替手术的重要选择,其中冷冻治疗因为其定位精确、创伤小、痛苦轻、疗效确切、适应症及能激活宿主细胞抗肿瘤的免疫能力等优点备受关注。对于临近血管胰腺内分泌肿瘤也适用。

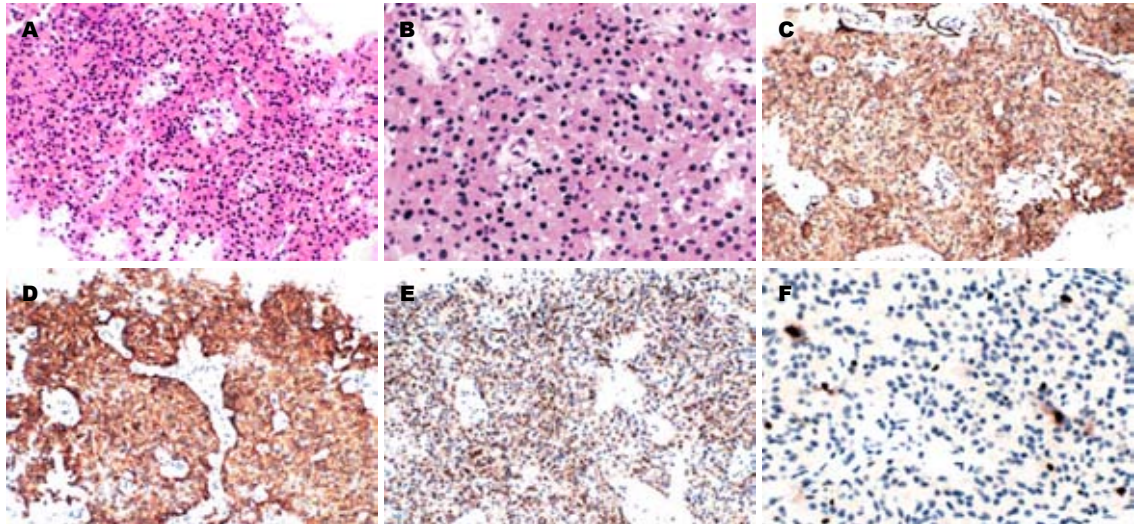


图3 胰腺肿瘤术前HE及免疫组织化学检测。A: HE($\times 200$); B: HE($\times 400$); C-F: 免疫组织化学染色阳性的神经内分泌源性蛋白,分别为CEA、Syn、CgA、Ki67。

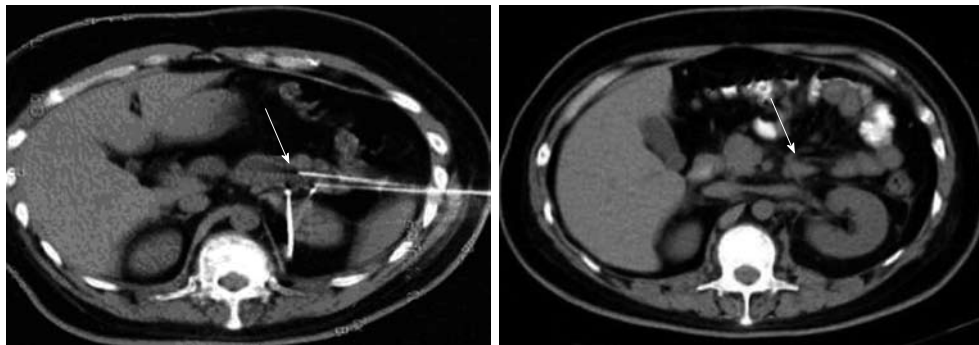


图4 通过CT观察术中冷冻情况及术后愈合情况。A: 在CT引导下用3支1.7 mm探针穿刺入胰尾部肿瘤区进行冷冻; B: 冷冻2 mo后CT检测图,显示胰尾部病灶内密度均匀,大部呈坏死低密度影。

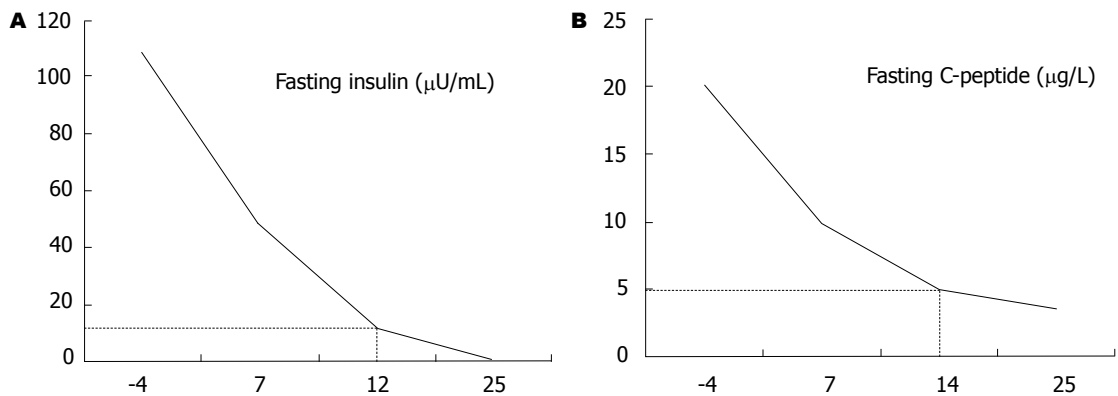


图5 患者手术前后空腹胰岛素与空腹C-肽变化情况。A: 患者冷冻前后空腹血清胰岛素水平检测,虚线代表检测指标恢复正常范围所对应的术后天数; B: 患者冷冻前后和C肽水平检测,虚线代表检测指标恢复正常范围所对应的术后天数。

2 讨论

MEN1临床主要表现为甲状旁腺瘤、胃肠胰肿瘤、垂体前叶瘤和肾上腺瘤等,以甲状旁腺功能亢进最为常见,胃肠胰内分泌肿瘤占MEN1的第2位,以胰岛素瘤、胃泌素瘤居多,其余的包括胰高血糖素瘤和无功能瘤等^[1]。1997年,科

研人员成功克隆到MEN1的治病基因MEN1,从而明确了MEN1基因与MEN1的因果关系^[4]。本例胰腺、甲状旁腺及垂体等内分泌器官病变,同时通过直接测序的方法在该患者身上检测到的MEN1基因c.1288C>T位点突变,结合患者临床症状而确诊为MEN1。

原则上凡确诊胰岛素瘤应及早手术治疗, 常用方法有单纯肿瘤摘除术、胰体尾切除术、胰腺节段切除术、保留十二指肠的胰头切除术等。近年来腹腔镜技术选择性地用于部分胰岛素瘤切除手术。2003年, 北京协和医院报道了我国首例腹腔镜胰岛素瘤切除术^[5], 但其主要适用于无既往胰腺手术史、肿瘤位于胰体尾部或胰头浅表部位的患者, 腹腔镜术中探查及腹腔镜超声定位肿瘤是手术成功的关键, 术中不能定位是中转开腹的最常见原因^[6]。多发性内分泌腺瘤 I 型合并多种类型的胃肠道和胰腺肿瘤的手术方式存在争议, 与散发胰岛素瘤患者比较, 此类患者多发及恶性胰岛素瘤比例更高, 有学者建议以门静脉为界行远端胰腺次全切除+胰头部肿瘤摘除术, 可以避免多发的胰岛素瘤导致术后复发的问題^[7]。本例患者肿瘤恶性程度高, 伴肺内、前纵膈淋巴结、肾上腺转移, 盆骨、脊柱广泛骨转移, 已失去的手术切除最佳时机。B超或CT引导下经皮冷冻消融作为一种微创治疗技术, 具有定位精确、创伤小、痛苦轻、疗效确切、适应症广等优点, 此外冷冻还能激活宿主细胞抗肿瘤的免疫能力, 使其自体清除病变细胞及坏死细胞, 在已失去手术治疗时机的癌症患者中冷冻疗法往往能取得较好结果。此外, 冷冻可根据患者情况对原发灶和转移灶同时或先后进行消融^[8]。本例患者治疗过程中, 通过CT及B超引导行胰尾部冷冻消融术及左肾上腺肿瘤冷冻消融术, 通过B超引导行纵膈转移肿瘤冷冻消融术。空腹血糖浓度在胰尾肿瘤冷冻后4 d内逐渐降低, 随后快速升高并稳定于正常水平。根据冷冻消融肿瘤的二次坏死理论, 初次冷冻后残留的肿瘤在冷冻后第4天左右发生二次坏死^[9], 故很有可能该患者冷冻后4 d内残留的胰岛素瘤仍持续过量分泌胰岛素, 在二次坏死发生后整体胰岛素才恢复生理性分泌, 保持血糖持续稳定。空腹胰岛素、C-肽分别于术后12 d和14 d恢复正常水平, 同时患者精神、食欲及睡眠好, 体质量较前下降约10 kg, 体力明显恢复, 行动自如。术后1-2 mo内由于炎症及水肿等原因, 多处冷冻部位出现CT下体积增大现象; 术后2个多月各冷冻部位都出现明显的液化坏死灶, 符合冷冻消融肿瘤的特点, 与我院其他种类肿瘤冷冻后的

现象一致^[8,10]。CT显示的肿瘤冷冻效果和患者临床症状的改善是一致的。

总之, 本文在国内外首次报道1例泌胰岛素性MEN1患者氩氦刀冷冻治疗。患者多发高胰岛素性昏迷在术后缓解, 术后的120 d胰岛素及血糖水平完全恢复正常, CT结果显示全身多处肿瘤经处理都出现液化坏死。

3 参考文献

- 1 Thakker RV. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2010; 24: 355-370
- 2 Crabtree JS, Scacheri PC, Ward JM, Garrett-Beal L, Emmert-Buck MR, Edgemon KA, Lorang D, Libutti SK, Chandrasekharappa SC, Marx SJ, Spiegel AM, Collins FS. A mouse model of multiple endocrine neoplasia, type 1, develops multiple endocrine tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 1118-1123
- 3 Shen HC, He M, Powell A, Adem A, Lorang D, Heller C, Grover AC, Ylaya K, Hewitt SM, Marx SJ, Spiegel AM, Libutti SK. Recapitulation of pancreatic neuroendocrine tumors in human multiple endocrine neoplasia type I syndrome via Pdx1-directed inactivation of Men1. *Cancer Res* 2009; 69: 1858-1866
- 4 Lemmens I, Van de Ven WJ, Kas K, Zhang CX, Giraud S, Wautot V, Buisson N, De Witte K, Salandre J, Lenoir G, Pugeat M, Calender A, Parente F, Quincey D, Gaudray P, De Wit MJ, Lips CJ, Höppener JW, Khodaei S, Grant AL, Weber G, Kytölä S, Teh BT, Farnebo F, Thakker RV. Identification of the multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) gene. The European Consortium on MEN1. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1177-1183
- 5 赵玉沛, 戴梦华, 关竞红. 腹腔镜胰岛素瘤摘除术一例. *中华外科杂志* 2003; 41: 702
- 6 Fernández-Cruz L, Blanco L, Cosa R, Rendón H. Is laparoscopic resection adequate in patients with neuroendocrine pancreatic tumors? *World J Surg* 2008; 32: 904-917
- 7 Zhou G, Wei Y, Chen X, Jiang X, Gu W, Li X, Peng C, Ning G, Li H. Multiple endocrine neoplasia type 1 simultaneous with various types of enteropancreatic endocrine tumors: one case report: lessons learned. *Pancreas* 2010; 39: 680-683
- 8 Xu KC, Niu LZ, He WB, Hu YZ, Zuo JS. Percutaneous cryosurgery for the treatment of hepatic colorectal metastases. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1430-1436
- 9 Forest V, Peoc'h M, Campos L, Guyotat D, Vergnon JM. Effects of cryotherapy or chemotherapy on apoptosis in a non-small-cell lung cancer xenografted into SCID mice. *Cryobiology* 2005; 50: 29-37
- 10 Xu KC, Niu LZ, Zhou Q, Hu YZ, Guo DH, Liu ZP, Lan B, Mu F, Li YF, Zuo JS. Sequential use of transarterial chemoembolization and percutaneous cryosurgery for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3664-3669

■同行评价

本文应用氩氦刀冷冻治疗泌胰岛素性多发性内分泌瘤, 有一定的创新性和应用前景。

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

《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68.00元,全年2448.00元,邮发代号82-262,由世界华人消化杂志编辑部出版。《世界华人消化杂志》主要报道胃肠病学、肝胆病学、胰腺病学、内镜介入与消化外科等多学科的评论及基础研究和临床实践等各类文章,具体内容涉及:食管疾病,如反流性食管炎、Barret's食管、食管静脉曲张和食管癌等;胃部疾病,胃食管反流性疾病、胃炎、胃动力障碍、胃出血、胃癌和幽门螺杆菌感染等;肠道疾病,如肠道出血、肠穿孔、肠梗阻、肠道炎症(如IBD/CD等)、肠道感染、大肠癌和大肠腺瘤等;肝胆部疾病如病毒性肝炎、肝硬化、脂肪肝、肝纤维化、肝衰竭、胆石病、胆汁郁积、梗阻性黄疸、肝癌、胆囊癌、胆管癌和门静脉高压等;胰腺疾病,如胰腺炎和胰腺癌等;全身性疾病涉及消化系统,如自身免疫性及瘀胆性疾病、腹腔疾病、消化不良和代谢性疾病等;以及与以上疾病相关的基因及基因组学、微生物及分子生物学、病因学、流行病学、免疫学、临床内外科诊断与治疗(如影像、化疗、移植、营养等);除以上外,本刊也报道诊断与筛选、内窥镜检查法、影像及先进技术。

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录。国内为中国科技论文统计与分析期刊(科技部列选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》(2011年版)内科学类的核心期刊、《中国学术期刊评价研究报告-RCCS权威、核心期刊排行榜与指南》

和中国知识资源总库收录。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示,2010年《世界华人消化杂志》总被引频次3 458次,影响因子0.694,综合评价总分60.6分,分别位居内科学类49种期刊的第5位、第7位、第6位,分别位居1 998种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第79位、第320位、第190位;其他指标:他引率0.83,被引半衰期4.9,来源文献量712,文献选出率0.90,参考文献量17 963,平均引文数25.23,平均作者数4.35,地区分布数29,机构分布数349,基金论文比0.45,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 $1 \times 10^{12}/L$, WBC数用 $1 \times 10^9/L$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r 明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、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值的文句中, 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.

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英

《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, 2011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: wcyj@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

文大写*F*; (3)卡方检验用希腊小写 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希腊小写*v*; (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±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 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^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01; 第三套为^e*P*<0.05, ^f*P*<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±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mean±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±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±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±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→23.5→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≤分母≤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!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿

号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾

病研究所。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一

律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^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^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/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

《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。

《世界华人消化杂志》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。

文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

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

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 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, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、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>

2012年国内国际会议预告

2012-08-29/09-01

中华医学会第十一次全国内分泌学学术会议

会议地点: 广州市

联系方式: lilyjia@163.com

2012-08-30/09-02

2012年中华医学会全国麻醉学术年会

会议地点: 重庆市

联系方式: csa2012@live.cn

2012-09-01/30

中华医学会第三次全国肝纤维化、肝硬化学术会议

会议地点: 郑州市

联系方式: lijuyi@cma.org.cn

2012-09-01/30

第十五届全国中西医结合大肠肛门病学学术交流会

会议地点: 济南市

联系方式: doclf@163.com

2012-09-06/09

第七届中国肿瘤学术大会暨第十一届海峡两岸肿瘤学术会议

会议地点: 北京市

联系方式: shengwangyan@163.com

2012-09-14/16

中华医学会第十二次全国超声医学学术会议

会议地点: 青岛市

联系方式: lilyjia@163.com

2012-09-20/23

2012中国消化病学大会

会议地点: 上海市

联系方式: abstract@ccdd2012.org

2012-09-21/30

2012中华影像技术第20次全国学术大会暨国际影像技术论坛

会议地点: 长春市

联系方式: ting@dxyer.com

2012-09-28/10-02

第37届欧洲临床肿瘤学会年会(ESMO2012)

会议地点: 奥地利维也纳

lhgj_jihcc@163.com

2012-10-11/14

第三届国际肿瘤表观遗传学研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: epigeneticmeeting2012@gmail.com

2012-10-12/15

国腹腔镜技术新进展与改良后手术治疗2型糖尿病手术教学研讨会

会议地点: 齐齐哈尔市

联系方式: bjgzgt@163.com

2012-10-19/21

中欧胰腺外科专业新技术、新进展学术研讨会

会议地点: 长沙市

联系方式: yu198610@163.com

2012-10-19/21

2012年(第二届)中日国际消化疾病论坛暨挑战直肠癌-战略与艺术综合研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: cjds@htbr.cn

2012-10-19/21

中日友好医院国际肠胃外科高峰论坛

会议地点: 北京市

联系方式: lckyh@126.com

2012-10-19/21

中华医学会第三次全国肝纤维化、肝硬化学术会议

会议地点: 郑州市

联系方式: lijuyi@cma.org.cn

2012-10-21/11-10

第十四次全国中医肛肠学术交流大会

会议地点: 长沙市

联系方式: gcfh2012@163.com

2012-10-31/11-03

第十届中国介入放射学学术大会(2012CSIR)暨2012国际栓塞会议

会议地点: 南京市

联系方式: liufang@cyberzone.cn

2012-11-09/11

2012中国结直肠肛门外科学术会议暨中华医学会外科学分会结直肠肛门外科学组学术年会

会议地点: 广州市

联系方式: 15813300382

2012-11-16/18

2012中华消化病学年度讲坛

会议地点: 北京市

联系方式: cma_spa@163.com

2012-11-25/27

第九届国际糖尿病联盟西太平洋地区学术大会暨第四届亚洲糖尿病学会学术年会

会议地点: 日本京都

联系方式: meeting@bimtdoctor.com

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!

代智 副研究员

复旦大学附属中山医院肝癌研究所

丁士刚 教授

北京大学第三医院消化科

杜顺达 副主任医师

北京协和医院肝外科

杜雅菊 主任医师

哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

樊红 教授

东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

高英堂 研究员

天津市第三中心医院 天津市肝胆疾病研究所分子细胞室

葛海燕 教授

同济大学附属第十人民医院普通外科

管冬元 副教授

上海中医药大学基础医学院实验中医教研室

管世鹤 副教授

安徽医科大学第一附属医院检验科

郭晓钟 教授

中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

郝立强 副教授

上海长海医院普外二科

胡国信 副教授

南昌大学第一附属医院

黄恒青 主任医师

福建省第二人民医院消化内科

刘宝林 教授

中国医科大学附属盛京医院

刘绍能 主任医师

中国中医科学院广安门医院消化科

倪才方 教授

苏州大学附属第一医院介入科

倪润洲 教授

南通大学附属医院消化内科

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

吉林大学第一临床医院

钱林学 教授

首都医科大学附属北京友谊医院

施晓雷 副主任医师

南京大学医学院附属鼓楼医院

宋振顺 教授

西京医院肝胆外科

孙诚谊 教授

贵阳医学院附属医院院长办

汤朝晖 副主任医师

上海交大医学院附属新华医院普外科

唐世刚 教授

湖南省人民医院

田文静 副教授

哈尔滨医科大学

王江滨 教授

吉林大学中日联谊医院

王振宁 教授

中国医科大学附属第一医院肿瘤外科

王志刚 副主任医师

上海市第六人民医院普外科

吴君 主任医师

贵阳医学院附属医院感染科