

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18日 第20卷 第26期 (Volume 20 Number 26)



## 26/2012

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  
徐洪副主任医师  
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  
方今女教授

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

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18日 第20卷 第26期 (总第394期)

述 评	2443 mTOR通路与Peutz-Jeghers综合征 陆相吉, 顾国利
基础研究	2448 大黄素对豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动的影响及相关机制 郭莉, 法欣欣, 邱阳, 刘越坚, 单路娟, 郭慧淑 2453 pCMV-HSF2-FLAG重组质粒的构建及其在Caco-2细胞中的表达 缪应雷, 牛俊坤, 周丽峰, 童明霞
临床研究	2460 IL-17A对肝细胞癌可溶性MICA表达的影响 刘丹, 向晓星, 顾学文, 李国青, 刘延庆
文献综述	2467 门静脉肠系膜上静脉修复重建材料的研究进展 王海涛, 陈强谱
研究快报	2474 Genistein与5-FU联合对人肝癌细胞MHCC97-L的抗增殖作用 刘丹, 赵忠新 2479 腹腔感染大鼠肠黏膜通透性的改变与E-cadherin蛋白表达的关系 成红刚, 丁连安, 曲林林, 牛冬光
临床经验	2485 HER-2在胃癌原发灶和转移淋巴结中的表达 张永磊, 花亚伟, 张占东, 马飞, 许家亮 2491 肝硬化患者肠道微生态的变化 吴旭, 吴云峰, 毛朝亮, 吴中明 2496 腹腔镜联合胆道镜治疗胆总管结石107例 朱信强, 丁闯, 张明, 管小青, 陈焰 2500 外周血中hTERT及MUC4基因的表达在胰腺癌诊断中的意义 孙大伟, 何俊闯, 邱法波, 张晓峰, 黄飞龙 2506 高原地区上消化道疾病胃镜分析13 944例 王晨, 文军宝, 姚小军, 刘宏生, 王基伟, 白冬梅 2511 生长抑素治疗肠梗阻效果的系统评价 成晓舟, 郭天康, 达明绪, 景武堂, 胡东平 2519 白介素-10基因多态性与肠易激综合征易感性关系的Meta分析 范尧夫, 刘皓, 吴燕敏, 魏睦新 2525 转移性结直肠癌治疗中贝伐单抗相关性高血压的发生及意义 杨琳, 蒋月强, 梅齐, 陈元 2529 结直肠腺瘤患者血清IGF-1和IGFBP-3的变化及其临床意义 崔艳欣, 姜常青, 王瑶, 姜相君, 辛永宁, 宋明全 2534 腰麻与骶管麻醉应用于肛门手术74例 朱怀宇, 胡四育, 王增文
病例报告	2538 血管介入结合手术切除巨大无症状嗜铬细胞瘤1例 王帅, 黄汉飞, 段键, 邹文香, 罗罡, 曾仲



<b>附 录</b>	2542 《世界华人消化杂志》投稿须知 2547 2012年国内国际会议预告
<b>志 谢</b>	2548 志谢世界华人消化杂志编委
<b>消 息</b>	2459 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 2466 《世界华人消化杂志》出版流程 2473 《世界华人消化杂志》正文要求 2478 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 2484 《世界华人消化杂志》修回稿须知 2490 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 2499 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.694 2510 《世界华人消化杂志》栏目设置 2528 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 2541 《世界华人消化杂志》外文字符标准
<b>封面故事</b>	《世界华人消化杂志》编委, 顾国利, 副教授, 副主任医师, 100142, 北京市, 中国人民解放军空军总医院普通外科
<b>本期责任人</b>	编务 周媛; 送审编辑 田滢, 翟欢欢; 组版编辑 闫晋利; 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 2012-09-18  
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

# World Chinese Journal of Digestology

## September 2012 Contents in Brief Volume 20 Number 26

<b>EDITORIAL</b>	2443 mTOR signaling pathway and Peutz-Jeghers syndrome <i>Lu XJ, Gu GL</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	2448 Emodin potentiates spontaneous contraction of gastric antral smooth muscle in guinea pigs <i>Guo L, Fa XX, Qiu Y, Liu YJ, Shan LJ, Guo HS</i> 2453 Construction of a eukaryotic expression plasmid encoding the human HSF2 gene and its expression in Caco-2 cells <i>Miao YL, Niu JK, Zhou LF, Tong MX</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	2460 Interleukin-17A enhances the production of soluble MICA by human hepatocellular carcinoma cells <i>Liu D, Xiang XX, Gu XW, Li GQ, Liu YQ</i>
<b>REVIEW</b>	2467 Progress in research of vascular grafts for portal vein/superior mesenteric vein reconstruction <i>Wang HT, Chen QP</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	2474 Genistein combined with 5-FU inhibits cell proliferation in human hepatocellular cancer cell line MHCC97-L <i>Liu D, Zhao ZX</i> 2479 Correlation between intestinal permeability and expression of E-cadherin protein in intestinal mucosa in rats with intraperitoneal infection <i>Cheng HG, Ding LA, Qu LL, Niu DG</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	2485 HER-2 amplification and overexpression in primary tumors and paired lymph node metastases of gastric cancer <i>Zhang YL, Hua YW, Zhang ZD, Ma F, Xu JL</i> 2491 Changes in intestinal microflora in patients with hepatic cirrhosis <i>Wu X, Wu YF, Mao CL, Wu ZM</i> 2496 Therapeutic value of laparoscopy combined with choledochoscopy for common bile duct stones: An analysis of 107 cases <i>Zhu XQ, Ding C, Zhang M, Guan XQ, Chen Y</i> 2500 Clinical significance of expression of hTERT and MUC4 mRNAs in peripheral blood of patients with pancreatic cancer <i>Sun DW, He JC, Qiu FB, Zhang XF, Huang FL</i> 2506 Detection of upper gastrointestinal diseases by gastroscopy in patients in the Tibetan Plateau: An analysis of 13 944 cases <i>Wang C, Wen JB, Yao XJ, Liu HS, Wang JW, Bai DM</i> 2511 Stilamin for intestinal obstruction: A systematic review of efficacy <i>Cheng XZ, Guo TK, Da MX, Jing WT, Hu DP</i> 2519 Association between interleukin-10 gene polymorphisms and susceptibility to irritable bowel syndrome: A meta-analysis <i>Fan YF, Liu H, Wu YM, Wei MX</i> 2525 Bevacizumab-induced hypertension in patients with metastatic colorectal cancer: Its incidence and clinical significance <i>Yang L, Jiang YQ, Mei Q, Chen Y</i> 2529 Clinical significance of serum levels of IGF-1 and IGFBP-3 in patients with colorectal adenoma <i>Cui YX, Jiang CQ, Wang Y, Jiang XJ, Xin YN, Song MQ</i> 2534 Spinal anesthesia or caudal anesthesia for anorectal surgery: An analysis of 74 cases <i>Zhu HY, Hu SY, Wang ZW</i>

<b>CASE REPORT</b>	2538 Vascular intervention combined with surgery for the management of huge asymptomatic pheochromocytoma: A report of one case <i>Wang S, Huang HF, Duan J, Zou WX, Luo G, Zeng Z</i>
<b>APPENDIX</b>	2542 Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> 2547 Meeting events calendar in 2012
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	2548 Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Guo-Li Gu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Yuan Zhou</i> Review Editor: <i>Ying Tian, Huan-Huan Zhai</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</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 18, 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](http://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*

# mTOR通路及Peutz-Jeghers综合征

陆相吉, 顾国利

陆相吉, 武警内蒙古总队医院外一科 内蒙古自治区呼和浩特市 010040

顾国利, 中国人民解放军空军总医院普通外科 北京市 100142  
顾国利, 副教授, 副主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事遗传性结直肠癌的临床和基础研究。

全军“十二五”后勤科研课题面上基金资助项目, No. CWS11J193

空军总医院临床攻关课题基金资助项目, No. KZG2009006

作者贡献分布: 本课题由顾国利选题; 资料收集由陆相吉与顾国利完成; 写作由陆相吉完成; 修改及审校由顾国利完成。

通讯作者: 顾国利, 副教授, 副主任医师, 硕士研究生导师, 100142, 北京市, 中国人民解放军空军总医院普通外科。

kzgg1@163.com

电话: 010-68410099-6302

收稿日期: 2012-06-03 修回日期: 2012-08-12

接受日期: 2012-09-03 在线出版日期: 2012-09-18

## mTOR signaling pathway and Peutz-Jeghers syndrome

Xiang-Ji Lu, Guo-Li Gu

Xiang-Ji Lu, Department of Surgery (Division I), Inner Mongolia Armed Police Corps Hospital, Huhhot 010040, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Guo-Li Gu, Department of General Surgery, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China

Supported by: the General Projects of the PLA “Twelfth Five-Year” Logistics Research Subject, No. CWS11J193; and the Clinical Key Project of Air Force General Hospital of Chinese PLA, No. KZG2009006

Correspondence to: Guo-Li Gu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China. kzgg1@163.com

Received: 2012-06-03 Revised: 2012-08-12

Accepted: 2012-09-03 Published online: 2012-09-18

## Abstract

The mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway is one of the most important intracellular signal transduction pathways and is involved in a series of biological activities, such as gene transcription, protein translation, ribosome synthesis, and cell apoptosis. The abnormal activation of the mTOR signaling pathway has a close relationship with the development of some hereditary diseases, tumors and diabetes. Intervention with biological processes of these diseases by influencing the mTOR signalling pathway with all kinds of biological means has become a hot area of research for several years. This article reviews the recent advances in un-

derstanding the composition and function of the mTOR signaling pathway and its role in the pathogenesis of Peutz-Jeghers syndrome. It is expected that molecular therapy targeting the mTOR signalling pathway can be used for preventive therapy of Peutz-Jeghers syndrome.

**Key Words:** mTOR; Cell signaling pathway; Peutz-Jeghers syndrome; Targeted therapy

Lu XJ, Gu GL. mTOR signaling pathway and Peutz-Jeghers syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2443-2447

## 摘要

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)所介导的细胞信号通路参与基因转录、蛋白翻译、核糖体合成、细胞凋亡等生物活动,是细胞内重要信号通路之一。其异常活化对某些遗传性疾病、肿瘤和糖尿病的发生关系密切。如何通过各种生物学手段影响该信号传导通路,从而对相关疾病的发生、治疗、转归、预后进行干预也成为现在研究的热点。本文结合近年来学者对mTOR信号通路的组成结构、功能及其在常染色体显性遗传病-Peutz-Jeghers综合征(Peutz-Jeghers syndrome, PJS)中作用的研究进展进行综述,以期能为以mTOR信号通路为靶点的分子靶向治疗应用于PJS的预防性治疗提供理论参考。

**关键词:** 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; 细胞信号通路; 黑斑息肉病; 靶向治疗

陆相吉, 顾国利. mTOR通路及Peutz-Jeghers综合征. *世界华人消化杂志* 2012; 20(26): 2443-2447

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2443.asp>

## 0 引言

Peutz-Jeghers综合征(Peutz-Jeghers syndrome, PJS), 又称黑斑息肉病, 是一种以皮肤黏膜色素斑、胃肠道多发错构瘤息肉为特征的常染色体显性遗传病<sup>[1-3]</sup>。PJS息肉具有发病早、病程迁延的特点, 可引发肠套叠、出血、梗阻、恶变等并发症<sup>[4-6]</sup>。目前PJS息肉的治疗以手术为主, 辅以内

## ■背景资料

Peutz-Jeghers综合征(PJS)是常染色体显性遗传病, 目前其临床治疗以手术为主, 辅以内镜治疗。但是, 手术和内镜治疗都只是一种解救性的局部治疗手段, 仅能毁损致病基因的靶器官, 无法达到预防息肉发生、延缓息肉发展的目的。这使PJS患者常常陷入“息肉反复治疗却反复生长、最终恶变转移而致命”的悲惨境遇。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路的异常活化在PJS发生发展过程中扮演着重要的促进角色。如果能对PJS息肉中异常活化的mTOR信号通路加以阻断或抑制, 就能够达到预防息肉发生或延缓息肉发展的目的。因此, mTOR信号通路的关键环节有可能成为PJS息肉治疗的分子靶点, 其相关抑制剂的临床应用将使PJS息肉的治疗进入预防性治疗和分子靶向治疗阶段。

## ■同行评议者

朱亮, 副教授, 大连医科大学大学生理教研室



## ■应用要点

mTOR信号通路的关键环节可能成为PJS息肉治疗的分子靶点,其相关抑制剂的临床应用将使PJS息肉的治疗进入预防性治疗和分子靶向治疗阶段。这将使众多PJS患者摆脱目前的临床治疗困境,获得最大的临床受益。

镜下切除。这些手段仅能暂时延缓息肉发展,无法达到预防息肉发生发展的目的。众多PJS患者往往陷入“息肉反复治疗却反复生长,最终恶变转移而致命”的悲惨境遇。研究发现<sup>[7-9]</sup>:哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路的异常活化在PJS息肉发生发展过程中扮演着重要角色。如果能对PJS息肉中异常活化的mTOR信号通路加以阻断或抑制,就能够达到预防息肉发生或延缓息肉发展的目的。因此,研究mTOR信号通路在PJS息肉发生发展中的作用具有重要的临床意义。

## 1 PJS的临床特征和治疗现状

1.1 临床特征 皮肤黏膜色素斑、胃肠道多发错构瘤息肉和家族遗传性是PJS的3大临床特征。

1.1.1 色素斑: PJS色素斑一般在幼儿时即发生,好发于口唇周围、颊黏膜、指(趾)端、手足掌面;可呈圆形、椭圆形、长条形及不规则型等,无毛发、无瘙痒,不会高出皮肤,也不会恶变。因黑色素含量的不同, PJS色素斑可呈黑色、黑蓝色、棕色及棕黄色;除了颊黏膜色素斑终生不变外,其他部位的色素斑多于青年时逐渐消失或变淡。除了美容的要求外, PJS色素斑一般无需治疗。

1.1.2 胃肠道息肉: PJS息肉由正常的肠黏膜腺体组成,腺体间有平滑肌束,属于错构瘤。具有数目多、大小不一、有或无蒂、全胃肠道分布的特点,可引起急慢性腹痛、肠套叠、肠扭转、肠梗阻、胃肠道出血、息肉恶变等并发症,这是导致PJS患者反复住院治疗的主要原因。其好发部位依次为空肠、回肠、直肠、结肠、十二指肠、胃,也可见于阑尾、输尿管、膀胱、尿道等。研究发现: PJS不仅存在着由错构瘤→腺瘤→腺癌的演变过程,还可通过其他恶变途径发生乳腺癌、胰腺癌、女性生殖系统肿瘤、睾丸支持细胞瘤、神经节胶质瘤等肠外肿瘤,而且这些肠外肿瘤可作为PJS的首发表现。因此,临床上遇到上述PJS相关肿瘤患者时,应警惕其是否为PJS。

1.1.3 家族遗传性: PJS是常染色体显性遗传病,外显率高达90%。流行病学调查显示:约有60%的PJS患者具有明确或可疑的家族史;部分可出现隔代遗传现象,真正散发性PJS非常罕见。因此,临床上面对疑似PJS病例时,除注意调查其父母发病情况外,也应注意调查其祖父母、外祖父母有无PJS病例。目前,我国家庭规模趋于小型化,家庭成员数目的减少将使PJS的遗传表

现更加隐匿。

1.2 PJS的治疗现状 很多医疗机构和医生视PJS为少见病,对其临床诊治并不重视。然而,流行病学调查显示: PJS发病率为1/25 000。因此, PJS可能并不少见。

目前PJS的治疗以手术为主,辅以内镜治疗,尚无统一的治疗规范可循。但是,手术和内镜治疗都只是一种解救性的局部治疗手段,仅能毁损致病基因的靶器官,无法达到预防息肉发生、延缓息肉发展的目的。这使PJS患者往往陷入“息肉反复治疗却反复生长、最终恶变转移而致命”的悲惨境遇; PJS患者及其家庭需要承受着巨大的精神痛苦和沉重的经济负担。因此,探索PJS息肉的预防性治疗方法具有重要的临床意义,这也是PJS临床科研的方向<sup>[10,11]</sup>。

近年研究发现<sup>[7-9]</sup>: 众多的细胞信号通路、细胞因子参与了PJS的生物学发展过程,其中mTOR信号通路的异常活化在PJS发生发展过程中扮演着重要的促进角色。如果能对PJS息肉中异常活化的mTOR信号通路加以阻断或抑制,就能够达到预防息肉发生或延缓息肉发展的目的。因此, mTOR信号通路的关键环节有可能成为PJS息肉治疗的分子靶点,其相关抑制剂的临床应用将使PJS息肉的治疗进入预防性治疗和靶向治疗阶段。

## 2 mTOR及其所介导的信号通路

2.1 mTOR的结构和功能 雷帕霉素靶蛋白(target of rapamycin, TOR)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶<sup>[12]</sup>,属于磷脂酰肌醇3-激酶相关激酶(phosphatidylinositol 3-kinase-related kinase, PIKK)蛋白家族成员。研究显示<sup>[13]</sup>: TOR广泛存在于从酵母到哺乳动物中,且进化十分保守,在调节细胞生长、增殖、调控细胞周期等多个方面起到重要作用。哺乳动物中的TOR称为哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)。人类的mTOR基因位于染色体1p36.2,其表达产物mTOR蛋白由2 459个氨基酸组成,分子量为289 kDa;主要存在于细胞内的内质网和高尔基体上<sup>[14]</sup>。mTOR相当于一个中继站,通过整合氨基酸、能量、生长因子所激发的上游信号通路来控制其下游信号通路中与翻译、转录有关的多种蛋白的磷酸化,从而调控细胞生长增殖和细胞周期。其转导的信号通路的异常活化及突变与某些遗传性疾病、肿瘤和糖尿病的形成密切相关,也成为某些遗传性疾病和肿瘤理想的

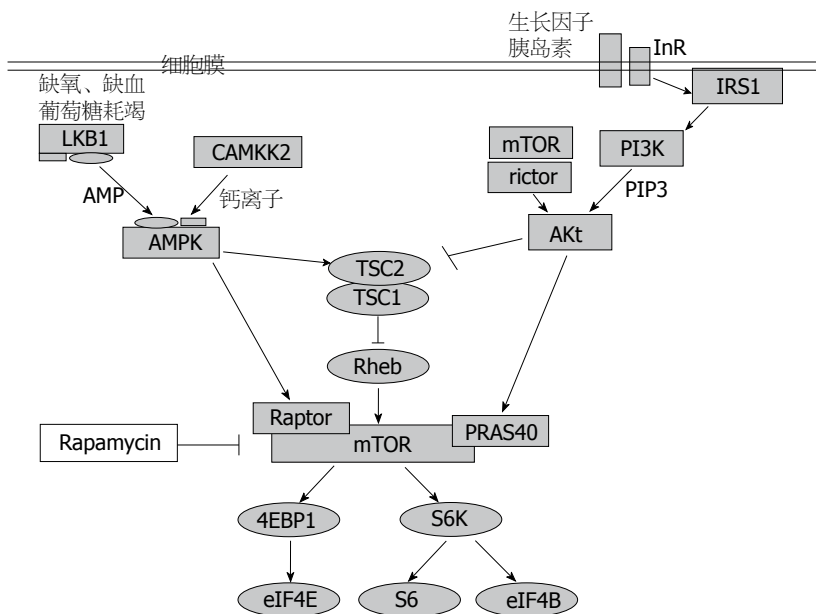


图 1 mTOR信号通路示意图<sup>[8]</sup>.

治疗靶点之一<sup>[15-18]</sup>(图1).

mTOR在细胞内主要是以两种复合体形式存在: mTORC1(mTOR-raptor)和mTORC2(mTOR-riCTOR); 前者对雷帕霉素(rapamycin)敏感, 而后者对雷帕霉素不敏感<sup>[19]</sup>. 研究发现<sup>[20-23]</sup>: mTORC1是通过感受和整合细胞内外营养因子、细胞因子及其他刺激的信号来调节转录水平、翻译水平核糖体的形成及蛋白质的合成, 从而影响细胞的生长和增殖.

**2.2 mTOR信号通路的上游通路** 目前研究认为mTOR可被生长因子与胰岛素、营养因子、能量以及压力4类上游刺激因子激活. 其中经典的PI3K/AKT/mTOR通路可由生长因子和胰岛素激活. 而LKB1/AMPK/mTOR通路由营养因子、能量(低能)和压力(缺氧)因素激活. 但研究发现<sup>[24]</sup>: 可能还存在细胞外氨基酸通路, 当氨基酸缺乏, 特别是亮氨酸缺乏时, mTORC1可接受氨基酸信号, 游离出PRAS40而被激活, 从而使下游信号S6K1和4EBP1去磷酸化.

**2.2.1 PI3K/AKT/mTOR通路:** 当接受来自酪氨酸激酶和G蛋白偶联受体的信号后, PI3K的p85调节亚基即被募集到临近质膜的部位, 并将信号传递到p110亚基, 激活PI3K, PI3K激活后的产物PI-3,4-P2及PI-3,4,5-P3继续激活磷脂酰肌醇依赖激酶PDK-1/2, 使得位于Akt的Ser473和Thr308位点磷酸化激活, 实现Akt完全活化, 发挥其抑制TSC1/TSC2的作用. TSC1/TSC2作为结节性脑硬化复合物, 是mTOR活化所必需的刺激蛋白小GTP酶Rheb的抑制剂, 正常情况下对mTOR起到

抑制作用<sup>[25]</sup>. 研究发现<sup>[26]</sup>: 在PI3K/AKT/mTOR通路中, 位于人染色体10q23的PTEN有诱导细胞周期停止和细胞凋亡, 调节细胞的粘连、移动和分化的功能, 可使PI3K激活后的产物PI-3,4-P2及PI-3,4,5-P3去磷酸化, 从而负性调节PI3K/AKT/mTOR通路.

**2.2.2 LKB1/AMPK/mTOR通路:** 抑癌基因LKB1又被称为STK11, 是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族的成员之一, 最初在人类PJS患者体内发现. LKB1通过磷酸化磷酸腺苷激活的蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK), 从而激活AMPK, 实现对mTOR活性的负性调控. 而在细胞间压力改变、葡萄糖耗竭、缺氧和局部缺血等情况下, 细胞内AMP/ATP比例增大, 也可激活体内的能量调节器的AMPK. 从而实现了对mTOR的调控<sup>[27]</sup>.

**2.3 mTOR信号通路的下游通路** 激活后的mTOR可作用于下游的两个主要靶蛋白, 即核糖体蛋白p70S6K和真核细胞始动因子4E结合蛋白1(4E binding protein 1, 4EBP1), 两者均是蛋白翻译的关键调节因子. 正常情况下4EBP1与eIF-4E结合起到翻译抑制作用, 当mTOR信号通路磷酸化4EBP1后, 使得eIF-4E与其解离并活化, 启动蛋白质翻译. 而p70S6K磷酸化后激活其翻译功能, 提高翻译效率, 加速蛋白质的合成<sup>[28]</sup>. 正是这两个靶蛋白使得mTOR在G<sub>1</sub>期向S期转换过程中起了重要作用.

### 3 mTOR信号通路在PJS发生发展中的作用

正常情况下, LKB1蛋白通过磷酸化AMPK使其

#### ■名词解释

Peutz-Jeghers综合征(PJS): 又称黑斑息肉病, 是一种以皮肤黏膜色素斑、胃肠道多发错构瘤息肉为特征的常染色体显性遗传病.

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR): 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 属于磷脂酰肌醇3-激酶相关激酶(PI3K)蛋白家族成员. mTOR相当于一个中继站, 通过整合氨基酸、能量、生长因子所激发的上游信号通路来控制其下游信号通路中与翻译、转录有关的多种蛋白的磷酸化, 从而调控细胞生长增殖和细胞周期. 其转导的信号通路的异常活化及突变与某些遗传性疾病、肿瘤和糖尿病的形成密切相关, 也成为某些遗传性疾病和肿瘤理想的治疗靶点.

### ■同行评价

本文总结了近年来国内外关于PJS和mTOR信号通路及其抑制剂的研究进展,提出了将mTOR信号通路抑制剂应用于PJS的预防性治疗的设想,具有一定的创新性和临床使用价值。

激活,激活的AMPK负性调控mTOR的活性。然而,PJS的遗传学病因是*LKB1*的种系突变,而*LKB1*突变将造成其编码产物-LKB1蛋白失活。因此,PJS中的*LKB1*/AMPK/mTOR信号通路将处于异常活化状态,这可能在PJS的发生和发展中扮演着非常重要的角色。

Shackelford等<sup>[27]</sup>证实:mTOR参与介导PJS小鼠模型的肿瘤代谢。Kuwada等<sup>[28]</sup>详细阐述了mTOR抑制剂治疗PJS的基本原理。Klumpen等<sup>[29]</sup>用mTOR抑制剂-依维莫司治疗1例由PJS而诱发的晚期胰腺癌患者,其胰腺癌灶明显缩小。Robinson等<sup>[30]</sup>和Wei等<sup>[31]</sup>研究均证实:PJS小鼠模型在口服雷帕霉素后,其肿瘤负荷明显减少,并且其息肉的血管形成明显受抑制。

## 4 mTOR抑制剂治疗PJS的临床应用

预防性治疗是PJS临床科研的焦点。mTOR抑制剂兼具预防性治疗和靶向治疗的双重作用,是近年来国内外针对PJS胃肠道息肉治疗的研究热点之一,具有广阔的应用前景<sup>[32]</sup>。特别是新近合成的众多小分子mTOR抑制剂为PJS的预防性治疗提供更多的选择。

**4.1 mTOR大分子抑制剂 雷帕霉素(也称西罗莫司, Sirolimus)**是最早研究出的mTOR特异抑制剂<sup>[30]</sup>,能有效抑制mTOR信号传导<sup>[31-33]</sup>,其通过阻断S6的磷酸化从而抑制蛋白质翻译、合成及引起细胞周期阻滞和细胞凋亡;具有抗生素、免疫抑制及抗肿瘤的作用<sup>[30-34]</sup>。研究发现<sup>[35-39]</sup>:mTOR抑制剂及衍生物对乳腺癌、肝癌、结肠癌、卵巢癌、白血病、肺癌、肾癌均有抑制作用。其中新一代衍生物有坦西莫司(Temsirolimus)已被FDA批准试用于晚期肾癌的治疗。而依维莫司(everolimus)作为新型口服的衍生物也已进入III期临床研究阶段。但这些大分子mTOR抑制剂的临床应用有典型的剂量依赖性,同时可能出现头晕、头疼、恶心等症状,以及红细胞、白细胞、血小板、血钾降低和血糖、血脂升高的现象。

**4.2 mTOR小分子抑制剂**大分子mTOR抑制剂存在人工合成困难、药物不稳定、用药途径不便、价格昂贵、免疫抑制等缺点。近年来,人们发现并人工合成了许多小分子mTOR抑制剂,他们具有稳定性好、可完全人工合成、服用方便、价格便宜、不良反应较小的优点。有些小分子mTOR抑制剂同时具有mTOR通路相关分子靶标的抑制功能,特别是PI3K的双重或多重

抑制剂将比单靶点抑制剂有更大的临床治疗优势。其中NVP-BEZ235、PKI587、PKI179、GSK2126458、AZD8055、WYE-354等小分子mTOR抑制剂已进入临床阶段<sup>[40]</sup>。

## 5 结论

由于细胞信号通路的复杂性及对PJS认识的局限性,针对mTOR的分子靶向治疗应用于PJS的临床治疗尚有许多问题需深入研究。(1)靶点问题:除了mTOR靶点外,mTOR上下游通路的关键酶是否也能成为PJS治疗的新靶点;(2)用药规范问题:分子靶向药物的使用时机、疗程和剂量;(3)疗效评价标准问题:如何形成统一的检测标准来评价疗效?(4)药物不良反应:大分子的雷帕霉素及其衍生物的免疫抑制不良反应比较严重,是否会引发其他的疾病?(5)药物性价比问题:大分子mTOR抑制剂目前价格昂贵,长期吃药、定期检查及疗效评估的费用能否为普通家庭所承受?这些问题也都是需要我们认真考虑的。

我们相信,随着对mTOR信号通路在PJS中作用的认识加深和转化医学的进步,通过以mTOR信号通路关键位点为靶点的抑制剂来实现对PJS发生、发展、治疗的调控方法有可能成为PJS治疗的研究趋势。这种无创伤、选择性强、疗效好的方法有可能为众多PJS患者解除痛苦。

## 6 参考文献

- 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
- Kopacova M, Tacheci I, Rejchrt S, Bures J. Peutz-Jeghers syndrome: diagnostic and therapeutic approach. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5397-5408
- Wang Z, Chen Y, Wu B, Zheng H, He J, Jiang B. A novel mutation in STK11 gene is associated with Peutz-Jeghers syndrome in Chinese patients. *BMC Med Genet* 2011; 12: 161
- 王石林,顾国利. Peutz-Jeghers综合征临床诊断治疗的现状和问题. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2385-2389
- Li LJ, Wang ZQ, Wu BP. Peutz-Jeghers syndrome with small intestinal malignancy and cervical carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 7397-7399
- 顾国利,魏学明,徐丽梅,王石林. Peutz-Jeghers综合征预防性治疗的研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2012; 21: 380-383
- Sebbagh M, Olschwang S, Santoni MJ, Borg JP. The LKB1 complex-AMPK pathway: the tree that hides the forest. *Fam Cancer* 2011; 10: 415-424
- Haidinger M, Werzowa J, Weichhart T, Säemann MD. Targeting the dysregulated mammalian target of rapamycin pathway in organ transplantation: killing 2 birds with 1 stone. *Transplant Rev (Orlando)* 2011; 25: 145-153
- 王石林,顾国利. Peutz-Jeghers综合征胃肠道息肉的药物干预性治疗的进展. 中国普外基础与临床杂志

- 2009; 16: 333-335
- 10 王石林, 毛高平, 顾国利. Peutz-Jeghers综合征胃肠道息肉的36例诊治经验. *中华胃肠外科杂志* 2009; 12: 428
  - 11 王石林, 顾国利, 魏学明, 毛高平, 宁守斌. Peutz-Jeghers综合征临床综合治疗模式初探(附71例报道). *中国普外基础与临床杂志* 2012; 19: 502-506
  - 12 Bolukbasi E, Vass S, Cobbe N, Nelson B, Simossis V, Dunbar DR, Heck MM. Drosophila poly suggests a novel role for the Elongator complex in insulin receptor-target of rapamycin signalling. *Open Biol* 2012; 2: 110031
  - 13 Schmukler E, Shai B, Ehrlich M, Pinkas-Kramarski R. Neuregulin promotes incomplete autophagy of prostate cancer cells that is independent of mTOR pathway inhibition. *PLoS One* 2012; 7: e36828
  - 14 张君薇, 张毅, 王广义. mTOR与消化系统肿瘤的关系. *中国普通外科杂志* 2010; 19: 1150-1152
  - 15 杨鹏宇, 张建生. mTOR抑制剂治疗胶质瘤的研究进展. *国际神经病学神经外科学杂志* 2009; 36: 548-551
  - 16 方琦, 史道华. 雷帕霉素靶蛋白抑制剂-肿瘤治疗药物的新选择. *中国医院药学杂志* 2010; 30: 499-501
  - 17 Martelli AM, Chiarini F, Evangelisti C, Cappellini A, Buontempo F, Bressanin D, Fini M, McCubrey JA. Two hits are better than one: targeting both phosphatidylinositol 3-kinase and mammalian target of rapamycin as a therapeutic strategy for acute leukemia treatment. *Oncotarget* 2012; 3: 371-394
  - 18 Shaw RJ. LKB1 and AMP-activated protein kinase control of mTOR signalling and growth. *Acta Physiol (Oxf)* 2009; 196: 65-80
  - 19 Huynh H. Molecularly targeted therapy in hepatocellular carcinoma. *Biochem Pharmacol* 2010; 80: 550-560
  - 20 Ekstrand AI, Jönsson M, Lindblom A, Borg A, Nilbert M. Frequent alterations of the PI3K/AKT/mTOR pathways in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Fam Cancer* 2010; 9: 125-129
  - 21 The class I PI3K/Akt pathway is critical for cancer cell survival in dogs and offers an opportunity for therapeutic intervention. *BMC Vet Res* 2012; 8: 73
  - 22 Lam KK, Zheng X, Forestieri R, Balgi AD, Nodwell M, Vollett S, Anderson HJ, Andersen RJ, Av-Gay Y, Roberge M. Nitazoxanide stimulates autophagy and inhibits mTORC1 signaling and intracellular proliferation of Mycobacterium tuberculosis. *PLoS Pathog* 2012; 8: e1002691
  - 23 Talos DM, Sun H, Zhou X, Fitzgerald EC, Jackson MC, Klein PM, Lan VJ, Joseph A, Jensen FE. The interaction between early life epilepsy and autistic-like behavioral consequences: a role for the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway. *PLoS One* 2012; 7: e35885
  - 24 郑鹏生, 冀静. mTOR信号通路与肿瘤的研究进展. *西安交通大学学报(医学版)* 2010; 31: 1-9
  - 25 González-Estévez C, Felix DA, Smith MD, Paps J, Morley SJ, James V, Sharp TV, Aboobaker AA. SMG-1 and mTORC1 act antagonistically to regulate response to injury and growth in planarians. *PLoS Genet* 2012; 8: e1002619
  - 26 Yoshimi A, Goyama S, Watanabe-Okochi N, Yoshiki Y, Nannya Y, Nitta E, Arai S, Sato T, Shimabe M, Nakagawa M, Imai Y, Kitamura T, Kurokawa M. Evi1 represses PTEN expression and activates PI3K/AKT/mTOR via interactions with polycomb proteins. *Blood* 2011; 117: 3617-3628
  - 27 Shackelford DB, Vasquez DS, Corbeil J, Wu S, Leblanc M, Wu CL, Vera DR, Shaw RJ. mTOR and HIF-1 $\alpha$ -mediated tumor metabolism in an LKB1 mouse model of Peutz-Jeghers syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 11137-11142
  - 28 Kuwada SK, Burt R. A rationale for mTOR inhibitors as chemoprevention agents in Peutz-Jeghers syndrome. *Fam Cancer* 2011; 10: 469-472
  - 29 Klümpfen HJ, Queiroz KC, Spek CA, van Noesel CJ, Brink HC, de Leng WW, de Wilde RF, Mathus-Vliegen EM, Offerhaus GJ, Alleman MA, Westermann AM, Richel DJ. mTOR inhibitor treatment of pancreatic cancer in a patient With Peutz-Jeghers syndrome. *J Clin Oncol* 2011; 29: e150-e153
  - 30 Robinson J, Lai C, Martin A, Nye E, Tomlinson I, Silver A. Oral rapamycin reduces tumour burden and vascularization in Lkb1(+/-) mice. *J Pathol* 2009; 219: 35-40
  - 31 Wei C, Amos CI, Zhang N, Zhu J, Wang X, Frazier ML. Chemopreventive efficacy of rapamycin on Peutz-Jeghers syndrome in a mouse model. *Cancer Lett* 2009; 277: 149-154
  - 32 Shuch B, Vourganti S, Friend JC, Zehngbot LM, Linehan WM, Srinivasan R. Targeting the mTOR pathway in Chromophobe Kidney Cancer. *J Cancer* 2012; 3: 152-157
  - 33 Advani SH. Targeting mTOR pathway: A new concept in cancer therapy. *Indian J Med Paediatr Oncol* 2010; 31: 132-136
  - 34 Roulin D, Waselle L, Dormond-Meuwly A, Dufour M, Demartines N, Dormond O. Targeting renal cell carcinoma with NVP-BEZ235, a dual PI3K/mTOR inhibitor, in combination with sorafenib. *Mol Cancer* 2011; 10: 90
  - 35 曾波航, 刘贵红, 江素华. mTOR信号传导通路相关蛋白与肿瘤治疗. *临床药物治疗杂志* 2010; 8: 13-17
  - 36 Zhang Y, Zhang JW, Lv GY, Xie SL, Wang GY. Effects of STAT3 gene silencing and rapamycin on apoptosis in hepatocarcinoma cells. *Int J Med Sci* 2012; 9: 216-224
  - 37 Matsubara H, Sakakibara K, Kunimitsu T, Matsuoka H, Kato K, Oyachi N, Dobashi Y, Matsumoto M. Non-small cell lung carcinoma therapy using mTOR-siRNA. *Int J Clin Exp Pathol* 2012; 5: 119-125
  - 38 Elfiky AA, Aziz SA, Conrad PJ, Siddiqui S, Hackl W, Maira M, Robert CL, Kluger HM. Characterization and targeting of phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) and mammalian target of rapamycin (mTOR) in renal cell cancer. *J Transl Med* 2011; 9: 133
  - 39 Wang Y, Wang XY, Subjeck JR, Shrikant PA, Kim HL. Temsirolimus, an mTOR inhibitor, enhances anti-tumour effects of heat shock protein cancer vaccines. *Br J Cancer* 2011; 104: 643-652
  - 40 唐琰, 贡岳松, 徐云根, 尤启冬. mTOR抑制剂的研究概况. *有机化学杂志* 2011; 31: 1144-1154

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利



# 大黄素对豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动的影响及相关机制

郭莉, 法欣欣, 邱阳, 刘越坚, 单路娟, 郭慧淑

## ■背景资料

大黄素(emodin)是大黄的主要有效成分之一,有免疫调节、抗炎、抗肿瘤等作用,他可促进胃肠动力,但其对胃动力调节的机制尚不明确。

郭莉, 法欣欣, 邱阳, 刘越坚, 单路娟, 郭慧淑, 大连医科大学附属第一医院中心实验室 辽宁省大连市 116011

郭莉, 讲师, 主要从事胃肠动力方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30800382

作者贡献分布: 此文主要由郭慧淑与郭莉参与设计、实验、分析与撰写; 课题经费由郭慧淑提供; 郭莉与法欣欣承担了大部分实验工作; 邱阳、刘越坚及单路娟参与部分实验及数据统计工作; 论文写作由郭莉与郭慧淑完成。

通讯作者: 郭慧淑, 教授, 116011, 辽宁省大连市中山路222号, 大连医科大学附属第一医院中心实验室. guohuishu1@126.com  
电话: 0411-83635963-2237

收稿日期: 2012-06-06 修回日期: 2012-07-26

接受日期: 2012-08-11 在线出版日期: 2012-09-18

## Emodin potentiates spontaneous contraction of gastric antral smooth muscle in guinea pigs

Li Guo, Xin-Xin Fa, Yang Qiu, Yue-Jian Liu, Lu-Juan Shan, Hui-Shu Guo

Li Guo, Xin-Xin Fa, Yang Qiu, Yue-Jian Liu, Lu-Juan Shan, Hui-Shu Guo, Central Laboratory, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30800382

Correspondence to: Hui-Shu Guo, Professor, Central Laboratory, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 222 Zhongshan Road, Dalian 116011, Liaoning Province, China. guohuishu1@126.com

Received: 2012-06-06 Revised: 2012-07-26

Accepted: 2012-08-11 Published online: 2012-09-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of emodin on spontaneous contraction of gastric antral smooth muscle in guinea pigs and to explore the possible mechanisms involved.

**METHODS:** The spontaneous contraction of gastric antral circular muscle of guinea pigs was recorded by a 4-channel physiograph. The whole cell patch-clamp technique was introduced to record *L*-type calcium currents in gastric myocytes isolated with collagenase. The effect of emodin on spontaneous contraction of gastric antral circular smooth muscle was observed.

## ■同行评议者

任超世, 研究员, 中国医学科学院, 中国协和医科大学生物医学工程研究所

**RESULTS:** Emodin potentiated spontaneous contraction of gastric antral circular smooth muscle in a dose-dependent manner. At concentrations of 5, 10, 15, 20, 25 and 50  $\mu\text{mol/L}$ , emodin increased the amplitude of spontaneous contraction to  $108.2\% \pm 6.2\%$ ,  $150.6\% \pm 8.3\%$ ,  $198.2\% \pm 7.6\%$ ,  $200.2\% \pm 8.6\%$ ,  $160\% \pm 6.8\%$ , and  $81.2\% \pm 6.2\%$  of control levels, respectively. Nifedipine (10  $\mu\text{mol/L}$ ) blocked emodin-induced increase in the amplitude of spontaneous contraction. At concentrations of 10 and 20  $\mu\text{mol/L}$ , emodin increased  $I_{\text{Ba}}$  in gastric myocytes of guinea pigs.  $I_{\text{Ba}}$  peak current tended to be stable 200 s after perfusing 10  $\mu\text{mol/L}$  emodin or 170 s after perfusing 20  $\mu\text{mol/L}$  emodin. The peak current amplitude increased to  $137.88\% \pm 5.79\%$  and  $158.69\% \pm 6.11\%$  of control levels, respectively.

**CONCLUSION:** Emodin potentiates spontaneous contraction of gastric antral smooth muscle in guinea pigs, at least partly due to augmented entry of calcium into cell *via L*-type calcium channel.

**Key Words:** Emodin; *L*-type calcium currents; Spontaneous contraction; Gastric myocytes

Guo L, Fa XX, Qiu Y, Liu YJ, Shan LJ, Guo HS. Emodin potentiates spontaneous contraction of gastric antral smooth muscle in guinea pigs. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2448-2452

## 摘要

**目的:** 观察大黄素(emodin)对豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动的影响及相关机制。

**方法:** 用四道生理记录仪记录豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动; 用膜片钳记录豚鼠胃窦环形肌细胞上*L*型钙电流, 观察*L*型钙电流在大黄素增强豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动中的作用。

**结果:** 大黄素在一定的浓度范围内增强豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动并呈剂量依赖性, 给予5、10、15、20、25、50  $\mu\text{mol/L}$ 的大黄素后豚鼠胃窦环形肌自发性收缩的幅度分别

为对照组的 $108.2\% \pm 6.2\%$ 、 $150.6\% \pm 8.3\%$ 、 $198.2\% \pm 7.6\%$ 、 $200.2\% \pm 8.6\%$ 、 $160.0\% \pm 6.8\%$ 、 $81.2\% \pm 6.2\%$ 。预先加入 $10 \mu\text{mol/L}$ 的硝苯地平, 完全阻断大黄素增强豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动。 $10 \mu\text{mol/L}$ 和 $20 \mu\text{mol/L}$ 的大黄素明显增强豚鼠胃窦环形肌细胞上钡电流( $I_{\text{Ba}}$ ), 用 $10 \mu\text{mol/L}$ 的大黄素灌流开始后 $200 \text{ s}$ 左右时 $I_{\text{Ba}}$ 电流峰值变化趋于稳定,  $20 \mu\text{mol/L}$ 的大黄素灌流开始后 $170 \text{ s}$ 左右时 $I_{\text{Ba}}$ 电流峰值变化趋于稳定。加药后 $I_{\text{Ba}}$ 电流峰值分别增加到对照组电流最大值的 $137.88\% \pm 5.79\%$ 和 $158.69\% \pm 6.11\%$ 。

**结论:** 大黄素增强豚鼠胃窦环形肌自发性收缩, 细胞外钙通过L型钙通道内流入细胞内引起平滑肌收缩是大黄素促进豚鼠胃窦环形肌自发性收缩的作用机制之一。

**关键词:** 大黄素; L型钙电流; 自发性收缩; 胃窦环形肌

郭莉, 法欣欣, 邱阳, 刘越坚, 单路娟, 郭慧淑. 大黄素对豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动的影响及相关机制. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2448-2452

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2448.asp>

## 0 引言

大黄素(emodin)是大黄的主要有效成分之一, 有免疫调节<sup>[1]</sup>、抗炎<sup>[2]</sup>、抗肿瘤<sup>[3]</sup>等作用。研究表明, 大黄素能加强离体豚鼠结肠平滑肌细胞电活动和收缩活动, 且与剂量相关呈双向调节, 通过调节细胞内能量代谢水平和降低膜对 $\text{K}^+$ 的通透性发挥作用, 表明大黄素的作用机制与抑制膜KATP通道的活性相关<sup>[4]</sup>。Yang等<sup>[5]</sup>研究表明蒽醌复合物通过结肠黏膜上氯通道调节液体分泌增强肠动力。Xu等<sup>[6]</sup>报道大黄素通过Gi/Go通路激活钙激活的氯电流使平滑肌收缩促进肠动力。李世英等<sup>[7]</sup>研究大黄素对大鼠近端结肠KV的影响, 结果显示大黄素可浓度依赖性地抑制延迟整流型钾通道及抑制快速激活型钾电流, 认为此种作用可能是其增强结肠平滑肌细胞电兴奋性收缩活动的机制之一。Oliver等<sup>[8]</sup>也得出类似的研究结果。Zhang等<sup>[9]</sup>对大黄素影响便秘小鼠小肠运动作用的研究显示, 大黄素灌胃可以明显增强小鼠小肠炭末推进运动; 高糖K-H液配制的大黄素 $0.29/\text{kg}$ 、 $0.49/\text{kg}$ 、 $0.89/\text{kg}$ 和 $1.69/\text{kg}$ 均可明显降低小鼠离体小肠PD(电解质穿过小肠上皮使小肠黏膜侧和浆膜侧产生的电位差简称PD), 而无糖K-H液配制的大黄素则无此作用, 说明大黄素促进小肠蠕动的的作用与其抑制Na-K-

ATP酶的活性有关, 通过降低小肠上皮细胞对葡萄糖、氨基酸和 $\text{Na}^+$ 等的主动转运, 增高肠内压力从而刺激肠壁使其反射性增强推进蠕动幅度。

有研究证实大黄素可促进豚鼠结肠带平滑肌细胞收缩活动, 除与抑制钾离子通道电流相关外, 可能还与增加细胞内钙离子浓度有关<sup>[10]</sup>。Liu等<sup>[11]</sup>报道大黄素可明显增加L型钙通道电流, 促进由Ka诱导的内钙增多。运用 $\text{Ca}^{2+}$ 荧光染色实验证实,  $\text{Ca}^{2+}$ 是细胞间连接和信号传递的重要成分, 大黄素可明显增加胞质 $\text{Ca}^{2+}$ 的平均荧光强度值, 即升高胞质 $\text{Ca}^{2+}$ 水平<sup>[12,13]</sup>。靳珠华和吕金胜等<sup>[14,15]</sup>研究表明大黄素对离体豚鼠肠管具有双向调节作用: 当浓度 $<29 \mu\text{mol/L}$ 时收缩幅度随剂量增加而增加;  $>29.6 \mu\text{mol/L}$ 时大黄素收缩幅度逐渐减弱直至停止, 提出这可能与大黄素在小剂量时有促进细胞内钙释放和外钙内流, 大剂量时络合钙离子有关。大黄素可直接增强低钙克氏液中处于收缩抑制状态下的大鼠离体胃平滑肌条的电兴奋性, 缩短膜电位的波动周期, 导致平滑肌收缩频率加快, 表明大黄素对大鼠离体胃平滑肌条的收缩性也具有促进作用且受到细胞外 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度变化的调节, 并在一定浓度范围( $50 \mu\text{mol/L}$ )内具剂量依赖性,  $\text{Ca}^{2+}$ 参与下肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLcK)催化肌球蛋白轻链的钙依赖性磷酸化是平滑肌调节的主要机制, 其通过分解ATP与肌动蛋白相互作用而产生收缩。

目前尚无关于大黄素促进胃动力与L型钙电流之间关系的报道, 本研究拟观察大黄素对豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动的影响, 并在组织水平和细胞水平探讨L型钙通道在其中的调节作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** EWG/B豚鼠, 雌雄不拘, 质量 $300 \text{ g} \pm 50 \text{ g}$ , 由大连医科大学动物中心提供; 用乌拉坦( $50 \text{ mg/kg}$ )麻醉。台氏液的成分( $\text{mmol/L}$ ):  $\text{NaCl}$  147,  $\text{KCl}$  4,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0.42,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  1.81,  $\text{MgCl}_2$  1.05, glucose 5.5, 以 $\text{NaOH}$ 调pH值至7.35; 生理盐水(PSS)的成分( $\text{mmol/L}$ ):  $\text{NaCl}$  134.8,  $\text{KCl}$  4.5, HEPES 10,  $\text{CaCl}_2$  2,  $\text{MgCl}_2$  1, glucose 10, 以Tris调pH值至7.40; 无钙PSS的成分( $\text{mmol/L}$ ):  $\text{NaCl}$  134.8,  $\text{KCl}$  4.5, glucose 5, HEPES 10,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  1, glucose 10, 以Tris调pH值至7.40; 改进Kraft-Bruhe液(K-B液)的成分( $\text{mmol/L}$ ): egtazic acid(EGTA) 0.5, HEPES 10,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  3,  $\text{KCl}$  50, glucose 10, L-Glutamate 50, Taurine 20,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  20, 以 $\text{KOH}$ 调pH值至7.40; PSS(含 $\text{Ba}^{2+}$ )

## ■ 研究前沿

有研究证实大黄素可促进豚鼠结肠带平滑肌细胞收缩活动, 除与抑制钾离子通道电流相关外, 可能还与增加细胞内钙离子浓度有关。

### ■应用要点

本研究首次在豚鼠胃平滑肌细胞上阐明L型钙电流在大黄素促进胃动力中的作用,为大黄素的合理应用提供依据。

的成分(mmol/L): NaCl 134.8, KCl 4.5, HEPES 10, BaCl<sub>2</sub> 10, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 1, glucose 10, 以Tris调pH值至7.40; 电极内液的成分(mmol/L): CsCl 110, Tetraethylammonium(TEA) 20, egtazic acid(EGTA)10, HEPES 5, Na<sub>2</sub>ATP 3, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 3.5, 以Tris调pH值至7.30. 配制完成后, 用1 mL的分装瓶分装, 存放于0 °C冷冻箱中, 实验前解冻使用. 纯度≥90%的大黄素, 用DMSO配成10 mmol/L的母液, -20 °C保存, 现用现配. 以上所用药品均来自Sigma公司. 配制的所有溶液均用微孔滤膜(0.22 μm)进行过滤后使用.

### 1.2 方法

1.2.1 肌条制作: 麻醉后大鼠沿中线剖腹取胃, 置氧饱和台氏液中, 去掉黏膜层, 剪取环行肌条约2.0 mm×15.0 mm, 置于容积2 mL的小槽内, 槽盖上有一玻璃小钩, 肌条的一端固定在玻璃小钩上, 另一端连于张力换能器上(TD-112S, 日本), 换能器与四道生理记录仪连接, 记录肌条的收缩活动. 小槽始终用氧饱和和台氏液灌流, 通过恒温装置使槽内温度保持37.0 °C±0.5 °C.

1.2.2 细胞制备及其电生理记录: 用乌拉坦(50 mg/kg)麻醉大鼠后, 迅速剪取胃窦部放入氧饱和的无钙的PSS缓冲液中漂洗, 然后分离环行肌并将其分割成几个肌条(1 mm×4 mm). 将肌条放入4 °C的K-B液中保存约15 min, 之后将其放入装有36 °C消化液的试管中进行孵育. 消化液是由0.1%的II型胶原酶、0.1%的二硫苏醇糖、0.15%的胰蛋白酶抑制剂和0.2%的牛血清白蛋白溶于4 mL无钙PSS缓冲液组成. 孵育结束, 将消化好的肌条移至4 °C的K-B液中保存, 在实验前用管口圆滑的滴管轻轻敲打肌条即可得到分离的单细胞. 取1滴细胞悬浮液(0.1 mL)平铺于倒置显微镜(IX-70 Olympus, Japan)镜台上的灌流槽底部, 待10-15 min细胞沉降于槽底后, 用等渗溶液进行灌流(2-3 mL/min). 然后用电阻为2-5 MΩ的玻璃电极进行5-10 GΩ的千兆封. L型钙电流通过Axopatch h1-D型膜片钳放大器记录.

**统计学处理** 所有统计数据用mean±SD来表示, 肌肉收缩幅度用SPSS统计, 电流幅值在Clamp Fit10中统计. 实验结果采用自体对照的*t*检验和组间比较的*t*检验, 具有显著性差异的标准为*P*<0.05.

## 2 结果

2.1 大黄素对豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动的影响 大黄素在5-20 μmol/L浓度范围内增强豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动的幅度, 到20 μmol/L基本到达平台期, >20 μmol/L时抑制豚鼠胃窦环

表1 不同浓度的大黄素对豚鼠胃窦环形肌自发性收缩幅度的影响 (*n* = 6)

大黄素(μmol/L)	自发性收缩幅度(%, vs 对照组)
5	108.2 ± 6.2
10	150.6 ± 8.3
15	198.2 ± 7.6
20	200.2 ± 8.6
25	160.0 ± 6.8
50	81.2 ± 6.2

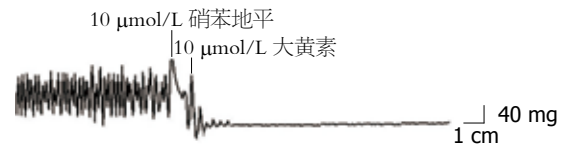


图1 10 μmol/L的硝苯地平对大黄素促进豚鼠胃平滑肌收缩的影响.

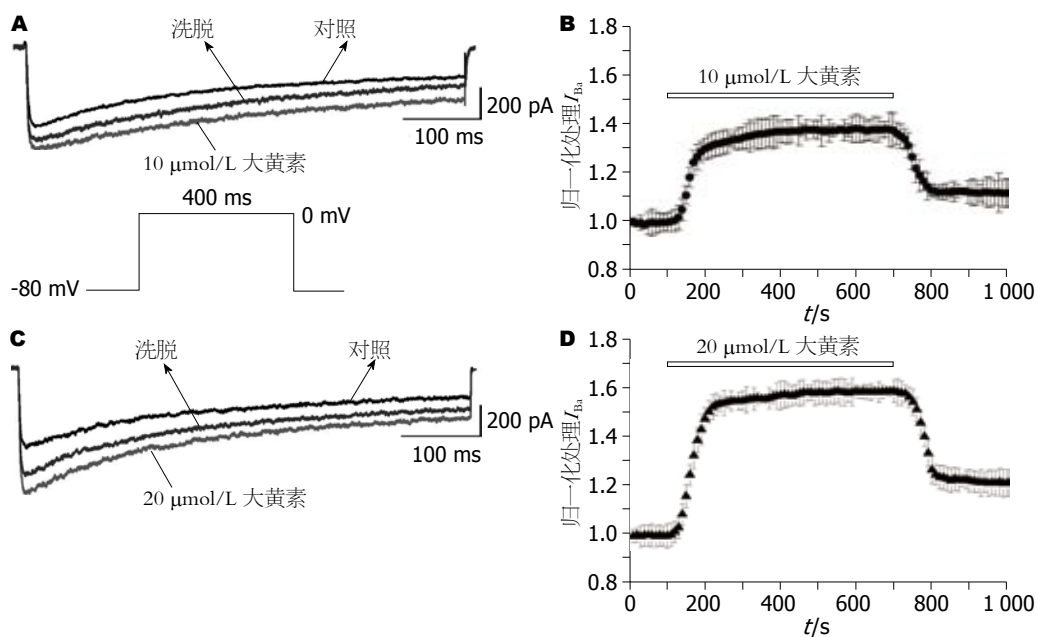
形肌自发性收缩活动(表1).

2.2 钙通道在大黄素影响豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动中的作用 为观察L型钙离子通道是否参与大黄素收缩豚鼠胃平滑肌运动中发挥作用, 用二氢吡啶类药物硝苯地平预处理后再观察大黄素收缩胃窦平滑肌作用, 结果发现10 μmol/L的硝苯地平几乎完全阻断离体豚鼠胃窦环形肌收缩(图1).

2.3 大黄素对豚鼠胃窦环形肌细胞L型钙通道电流的影响

2.3.1 钙电流的引导: 在传统全细胞模式下, 细胞外持续灌流含有2 mmol/L Ca<sup>2+</sup>的PSS, 将膜电位钳制在+80 mV, 以0 s的时间间隔给予10 mV的去极化阶跃刺激, 使细胞膜电位从-40 mV去极化到+60 mV. 持续时间为400 ms时, 可记录到I<sub>Ca</sub>. I<sub>Ca</sub>在膜电位去极化至-40 mV时开始出现, 峰值在0 mV时出现, 平均为-124.02 pA±56.34 pA. 翻转电位膜电位去极化至约+45 mV时出现. 用10 mmol/L的Ba<sup>2+</sup>代替细胞外灌流液中2 mmol/L的Ca<sup>2+</sup>, 施加相同的阶跃刺激, 即可引导出内向性I<sub>Ba</sub>, 与I<sub>Ca</sub>相比幅度明显增加, I<sub>Ba</sub>在细胞膜电位去极化至-40 mV时开始出现, 当膜去极化至0 mV时, I<sub>Ba</sub>峰值平均为-587.91 pA±95.55 pA, 翻转电位在去极化阶跃刺激约50 mV时出现. I<sub>Ba</sub>的失活较I<sub>Ca</sub>慢, 在400 ms的刺激时间内并没有完全失活. L型钙通道特异性阻断剂硝苯地平(5 μmol/L)可以明显抑制I<sub>Ba</sub>, 并且I/V曲线形状及分布无明显改变, 因此用I<sub>Ba</sub>代替I<sub>Ca</sub>.

2.3.2 大黄素对I<sub>Ba</sub>峰值的影响: 在全细胞膜片钳记录模式下, 持续用含Ba<sup>2+</sup>的细胞外液灌流细胞, 将细胞膜电位钳制在-80 mV, 给予时程为400 ms, 从-80 mV直接阶跃到0 mV的单一去极化脉冲刺



**同行评价**  
本研究对于大黄素与豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动影响的研究具有较好的参考价值。

图 2 不同浓度大黄素对豚鼠胃窦平滑肌细胞 $I_{Ba}$ 电流影响的时间依赖关系. A, C: 不同浓度大黄素对 $I_{Ba}$ 影响的原始记录; B, D: 不同浓度大黄素对 $I_{Ba}$ 影响的时间依赖关系统计.

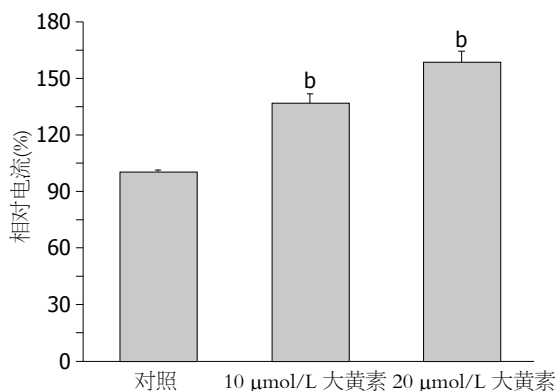


图 3 不同浓度大黄素对豚鼠胃窦平滑肌细胞 $I_{Ba}$ 电流峰值的作用.  $n = 10$ ,  $^b P < 0.01$ .

激, 且每隔10 s重复一次. 实验中记录到多条单一的 $I_{Ba}$ 电流, 待电流稳定后在细胞外液中加入不同浓度的大黄素, 观察 $I_{Ba}$ 电流峰值受药物的影响. 以加药前的电流作为对照, 实验结果显示, 10 μmol/L和20 μmol/L的大黄素均激活 $I_{Ba}$ , 表现为 $I_{Ba}$ 电流峰值明显增大(图2A, C; 图3), 而且这种激活作用呈现时间依赖性(图2B, D). 10 μmol/L的大黄素灌流开始后200 s左右时 $I_{Ba}$ 电流峰值变化趋于稳定, 20 μmol/L的大黄素灌流开始后170 s左右时 $I_{Ba}$ 电流峰值变化趋于稳定. 加药后 $I_{Ba}$ 电流峰值分别增加到对照组电流最大值的137.88% ± 5.79%和158.69% ± 6.11%. 当药物作用稳定后, 用含 $Ba^{2+}$ 的细胞外液洗脱药物,  $I_{Ba}$ 电流峰值在短时间里就可以开始恢复, 但是最终并不能完全恢复到加药前对照组的电流值峰值水平, 10 μmol/L的大黄素洗脱后 $I_{Ba}$ 电流峰值恢复到对照组的

111.75% ± 5.79%, 20 μmol/L的大黄素洗脱后 $I_{Ba}$ 电流峰值恢复到对照组的121.47% ± 5.55%.

2.3.3 大黄素对豚鼠胃窦平滑肌细胞 $I_{Ba}$ 的电流-电压曲线的影响: 离子通道电流-电压(I-V)曲线是反映离子通道动力学性质的重要参数, 可以反映通道的激活过程、阈电位、反转电位、整流特性等. 为了检测大黄素对豚鼠平滑肌细胞 $I_{Ba}$ 影响的电压依赖性, 依据实验结果绘制了不同药物浓度对 $I_{Ba}$ 的I-V关系曲线, 以分析给药前后, 各个细胞的电流幅值的变化情况. 结果显示, 不同浓度大黄素对 $I_{Ba}$ 的影响具有电压依赖性. 在细胞外液中加入10 μmol/L大黄素后, 在膜电位+10 mV-+30 mV的电压范围内均可以明显激活 $I_{Ba}$ 电流(图4); 而对于20 μmol/L大黄素, 在细胞外液中加入药物后, 在膜电位-20 mV-+40 mV的电压范围内均可以明显激活 $I_{Ba}$ 电流(图4). 同时, 10 μmol/L大黄素和20 μmol/L大黄素对 $I_{Ba}$ 通道的激活阈值都没有显著影响(表2).

### 3 讨论

本研究运用多道生理记录仪及膜片钳技术, 研究大黄素对豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动的影响并观察L型钙通道在其中的作用. 结果显示: 大黄素在5-50 μmol/L范围内对豚鼠胃窦环形肌有双向调节作用, 5-20 μmol/L范围内对增强平滑肌收缩并呈剂量依赖性, 到20 μmol/L基本到平台期, 25 μmol/L和50 μmol/L大黄素均抑制平滑肌收缩, 10 μmol/L的硝苯地平几乎完全阻断离体豚鼠胃窦环形肌收缩. 10 μmol/L和20 μmol/L



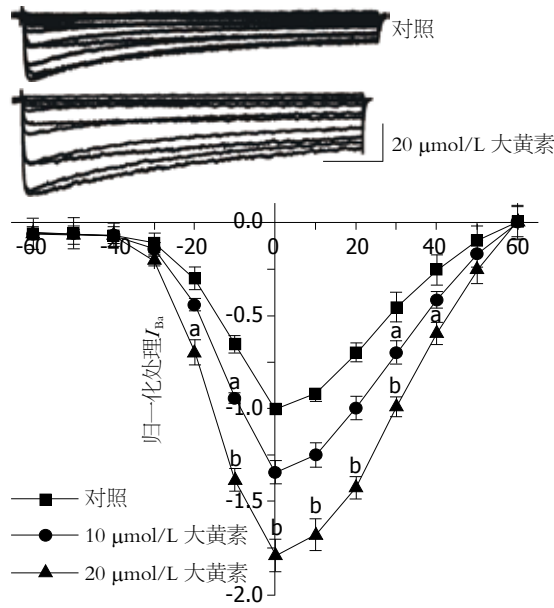


图 4 不同浓度大黄素对豚鼠胃窦平滑肌细胞 $I_{Ba}$ 的影响。

表 2 不同浓度浓度大黄素对豚鼠胃窦平滑肌细胞 $I_{Ba}$ 电流峰值的作用

大黄素 ( $\mu\text{mol/L}$ )	电流变化	加药后电 流比值(%)	稳定 时间(s)	洗脱后电 流比值(%)
10	逐渐增大	$137.88 \pm 5.79$	200	$111.75 \pm 5.79$
20	逐渐增大	$158.69 \pm 6.11$	170	$121.47 \pm 5.55$

的大黄素均激活 $I_{Ba}$ 表现为 $I_{Ba}$ , 电流峰值明显增大, 而且这种激活作用呈现时间依赖性。

本实验中 大黄素对豚鼠胃窦环形肌自发性收缩活动有双向调节作用, 在一定浓度范围内促进平滑肌收缩, 超过一定浓度反而抑制其收缩。这可能与 大黄素在小剂量时有促进细胞内钙释放和外钙内流, 大剂量时络合钙离子有关<sup>[16]</sup>。文献报道 大黄素对大鼠胃平滑肌<sup>[17]</sup>及豚鼠远端结肠自发活动<sup>[15]</sup>具有双向调节作用, 其效应呈剂量依赖的趋势,  $\text{Ca}^{2+}$ 是调节平滑肌收缩的主要调节因子, 通过实验发现 大黄素对离体远端平滑肌条收缩作用可能与 $\text{Ca}^{2+}$ 通道电流有关。大黄素通过抑制 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶, 降低小肠上皮细胞主动转运, 刺激肠壁使其反射性推进蠕动幅度增强<sup>[18]</sup>。也有研究表明<sup>[19,20]</sup>大黄素可直接增强标本的电兴奋性, 缩短膜电位的波动周期, 导致平滑肌收缩频率加快。

本研究通过组织水平和细胞水平的研究证实了细胞外的钙离子通过L型钙电通道进入细胞内参与 大黄素收缩豚鼠胃窦环形肌的过程, 至于细胞内的钙库是否参与此过程是我们以后

进一步要研究的内容。

#### 4 参考文献

- Srinivas G, Babykutty S, Sathiadevan PP, Srinivas P. Molecular mechanism of emodin action: transition from laxative ingredient to an antitumor agent. *Med Res Rev* 2007; 27: 591-608
- 王青, 周婷, 周联, 董燕, 王培训. 大黄素对HT-29细胞IL-8分泌及NF- $\kappa$ B活化的影响. *中国药理学通报* 2007; 23: 1451-1454
- 连晓岚, 胡建达, 郑志宏, 陈英玉, 郑合勇. 大黄素诱导白血病U937细胞凋亡及机制初探. *中国药理学通报* 2007; 23: 1312-1316
- 李俊英, 杨文修, 胡文卫, 王津, 金正根, 王新宇, 许文胜. 大黄素对豚鼠结肠带平滑肌细胞钾通道活性的影响. *药理学报* 1998; 33: 321-325
- Yang H, Xu LN, He CY, Liu X, Fang RY, Ma TH. CFTR chloride channel as a molecular target of anthraquinone compounds in herbal laxatives. *Acta Pharmacol Sin* 2011; 32: 834-839
- Xu L, Ting-Lou N, Zhu X, Chen Y, Yang J. Emodin augments calcium activated chloride channel in colonic smooth muscle cells by Gi/Go protein. *Eur J Pharmacol* 2009; 615: 171-176
- 李世英, 欧阳守. 大黄素对大鼠近端结肠平滑肌细胞电压依赖性钾通道的影响. *药理学报* 2005; 40: 804-809
- Oliver D, Lien CC, Soom M, Baukowitz T, Jonas P, Fakler B. Functional conversion between A-type and delayed rectifier  $\text{K}^+$  channels by membrane lipids. *Science* 2004; 304: 265-270
- Zhang HQ, Zhou CH, Wu YQ. Effect of emodin on small intestinal peristalsis of mice and relevant mechanism. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3147-3150
- Ali S, Watson MS, Osborne RH. The stimulant cathartic, emodin, contracts the rat isolated ileum by triggering release of endogenous acetylcholine. *Auton Autacoid Pharmacol* 2004; 24: 103-105
- Liu Y, Shan HL, Sun HL, He SZ, Yang BF. [Effects of emodin on the intracellular calcium concentration ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) and L-type calcium current of the single ventricular myocytes from guinea pig]. *Yaoxue Xuebao* 2004; 39: 5-8
- Ma T, Qi QH, Xu J, Dong ZL, Yang WX. Signal pathways involved in emodin-induced contraction of smooth muscle cells from rat colon. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1476-1479
- 李春穴, 童卫东, 刘宝华, 龙在云. 大黄素对体外培养Cajal间质细胞钙离子振荡功能的影响. *结直肠肛门外科* 2006; 12: 2-5
- 靳珠华, 马德录, 林秀珍. 大黄素对豚鼠离体肠管作用的影响. *中国中西医结合杂志* 1994; 14: 429-431
- 吕金胜, 何风慈, 齐震东, 傅若秋, 康正顺. 大黄素对动物离体回肠收缩作用的影响. *中国药业* 2000; 9: 25
- 吴志轩, 余保平, 徐龙, 夏虹, 罗和生. 大黄素对豚鼠胆囊平滑肌L型钙电流的调节. *中国药理学通报* 2009; 25: 382-385
- 卢春敬, 黄伟锋, 欧阳守. 大黄素对豚鼠结肠收缩性的影响及其机制的研究. *海峡药学* 2011; 23: 38-41
- 杨文修, 于海鹰, 许文胜. 大黄素对豚鼠结肠带平滑肌细胞电和收缩性能的影响. *生物物理学报* 1994; 10: 82-86
- 黎明, 徐志立. 大黄素对大鼠离体胃平滑肌条收缩性的影响. *医学信息* 2009; 22: 790-791
- 周成华, 武玉清, 许正新, 张洪泉. 大黄素对小肠运动的影响及其机制. *中国药理学通报* 2003; 19: 1421-1424

# pCMV-HSF2-FLAG重组质粒的构建及其在Caco-2细胞中的表达

缪应雷, 牛俊坤, 周丽峰, 童明霞

缪应雷, 牛俊坤, 周丽峰, 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032  
童明霞, 南充市中心医院消化内科 四川省南充市 637000  
缪应雷, 博士, 教授, 主任医师, 主要从事炎症性肠病发病机制及诊断治疗方面的研究。  
国家自然科学基金资助项目, No. 81160055  
云南省科技厅-昆明医学院联合专项基金资助项目, No. 2011FB183; No. 2007C0010R  
作者贡献分布: 此课题由缪应雷设计; 研究所用试剂由缪应雷提供; 研究过程由缪应雷、牛俊坤、周丽峰及童明霞共同操作完成; 论文写作由缪应雷与牛俊坤完成。  
通讯作者: 缪应雷, 教授, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院消化内科。myldu@sina.com.cn  
电话: 0871-5324888-2532  
收稿日期: 2012-04-30 修回日期: 2012-08-10  
接受日期: 2012-08-21 在线出版日期: 2012-09-18

## Construction of a eukaryotic expression plasmid encoding the human HSF2 gene and its expression in Caco-2 cells

Ying-Lei Miao, Jun-Kun Niu, Li-Feng Zhou, Ming-Xia Tong

Ying-Lei Miao, Jun-Kun Niu, Li-Feng Zhou, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China  
Ming-Xia Tong, Department of Gastroenterology, Nanchong Central Hospital, Nanchong 637000, Sichuan Province, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160055; the Confederative Special Foundation of Science & Technology Department of Yunnan Province and Kunming Medical College, No. 2011FB183; No. 2007C0010R  
Correspondence to: Ying-Lei Miao, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China. myldu@sina.com.cn  
Received: 2012-04-30 Revised: 2012-08-10  
Accepted: 2012-08-21 Published online: 2012-09-18

## Abstract

**AIM:** To construct a eukaryotic expression plasmid encoding the human heat shock factor 2 (HSF2) gene and to examine its expression and localization in Caco-2 cells, a human colon adenocarcinoma cell line using FLAG tag as a reporter.

**METHODS:** The coding sequence of the HSF2 gene was amplified by PCR using human HSF2

cDNA as the template and subcloned into pCMV-Myc vector after digestion with *EcoR* I and *Kpn* I. After the identity of recombinant plasmid was verified by direct sequencing, the plasmid was transfected into Caco-2 cells using Lipofectamine. Total RNA was extracted, reverse transcribed into cDNA, and tested by PCR. The expression of HSF2 and the recombinant fusion protein in Caco-2 cells was detected by Western blot. The expression and localization of HSF2 and the recombinant fusion protein in Caco-2 cells were observed by laser scanning confocal microscopy.

**RESULTS:** The coding sequence of the HSF2 gene was successfully inserted into the pCMV-Myc vector. Restriction enzyme digestion analysis showed that the length of the insert was 1 557 bp, matching the expected size. The mRNA level of HSF2 in cells transfected with the recombinant plasmid was higher than those in non-transfected cells and cells transfected with empty vector. The expression of recombinant HSF2-FLAG fusion protein, which had a molecular weight of 70 kDa, was detected by Western blot. The expression of HSF2 in cells transfected with the recombinant plasmid increased dramatically in comparison with matched groups. The HSF2 and recombinant HSF2-FLAG protein were localized predominantly to the cytoplasm but partially aggregated around the nuclear envelope in Caco-2 cells.

**CONCLUSION:** The recombinant plasmid pCMV-HSF2-FLAG has been successfully constructed, which provides the basis for further study of possible roles of HSF2 in ulcerative colitis.

**Key Words:** Heat shock factor 2; Gene recombination; Eukaryotic expression; Caco-2; Ulcerative colitis

Miao YL, Niu JK, Zhou LF, Tong MX. Construction of a eukaryotic expression plasmid encoding the human HSF2 gene and its expression in Caco-2 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2453-2459

## 摘要

**目的:** 构建人HSF2 pCMV-Myc真核表达载体,

## ■背景资料

热休克转录因子(HSF)是调节内源性保护蛋白-热休克蛋白表达的主要调控因子。HSF2对热刺激耐受,在维持细胞生长、发育和分化的调控以及延长机体生命方面起着重要作用。本研究小组前期通过双向电泳及质谱分析等系列研究筛选出9个UC差异蛋白质,发现HSF2为表达上调的蛋白,推测其可能与UC发病机制有关。

## ■同行评议者

高英堂, 研究员, 天津市第三中心医院

## ■ 研究前沿

目前对HSF2的研究多集中在蛋白质错误折叠的疾病, 延缓衰老, 胚胎及精子发育等方向, 但其在诸如溃疡性结肠炎等炎症性疾病中的作用机制仍不明确。

研究其在人结肠上皮肿瘤细胞Caco-2内的表达和定位。

**方法:** 以HSF2 Human cDNA ORF clone为模板, PCR法扩增出全长HSF2编码序列, 用EcoR I和Kpn I对HSF2 PCR纯化产物双酶切后, 采用基因重组技术将其插入至pCMV-Myc载体中。DNA测序正确后, 脂质体法将重组质粒转染到Caco-2细胞内, 提取细胞总RNA逆转录为cDNA后进行普通PCR检测HSF2 mRNA转录水平, 提取细胞蛋白进行Western blot检测HSF2蛋白质水平及融合蛋白表达。采用激光共聚焦显微镜观察HSF2及融合蛋白在Caco-2内的表达和定位。

**结果:** 将人全长HSF2编码序列克隆到真核表达载体pCMV-Myc中, 酶切鉴定片段为1 557 bp, 重组质粒测序正确。转染重组质粒后, PCR显示HSF2在mRNA水平较未转染组和空载组升高; Western blot检测到融合蛋白正确表达, 分子量约为70 kDa。与未转染组和空载组相比, 重组质粒组HSF2蛋白质水平明显升高。激光共聚焦显微镜下观察到HSF2和融合蛋白定位一致, 主要分布于Caco-2细胞质中, 少量聚集在细胞核膜。

**结论:** 成功构建了人全长HSF2编码序列的pCMV-HSF2-FLAG真核表达载体, 并在Caco-2细胞中成功表达, 为进一步研究HSF2在溃疡性结肠炎中的作用奠定了良好的基础。

**关键词:** 热休克转录因子2; 基因重组; 真核表达; Caco-2; 溃疡性结肠炎

缪应雷, 牛俊坤, 周丽峰, 童明霞. pCMV-HSF2-FLAG重组质粒的构建及其在Caco-2细胞中的表达. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2453-2459  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2453.asp>

## 0 前言

热休克反应是生物机体在温度升高、重金属、氧化剂以及病原微生物感染等应激环境下以热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)家族表达增加为特征的一种防御适应反应<sup>[1]</sup>。HSPs作为分子伴侣可以促进新生蛋白形成正常构象和正确定位, 修复或降解变性损伤蛋白, 维护细胞内环境稳定, 保证在应激条件下细胞的存活<sup>[2]</sup>。热休克转录因子(heat shock factor, HSF)是HSPs的主要调控因子, 其结构和功能具有广泛同源性, 真核生物中已发现的HSF有4种亚型, 人体内有HSF1、2、4三种不同亚型, 不同亚型的HSF激

活机制和功能既有交叉也有区别<sup>[3]</sup>。脊椎动物中, HSF1具有高度的种属保守性, 对热刺激敏感, 是哺乳动物应答应激的主要热休克转录因子<sup>[4]</sup>。不同于HSF1、HSF2对热刺激耐受, 在维持细胞生长、发育和分化的调控以及延长机体生命方面起着重要作用<sup>[5,6]</sup>。另外, HSF2可抑制蛋白质的错误折叠, 并促进泛素化作用降解构象异常的蛋白, 从而减少老年痴呆征和帕金森症等蛋白错误折叠疾病的发生率及延缓疾病的进展<sup>[7,8]</sup>。引起我们关注的是, 有学者认为HSF调控转录的HSP10、HSP70和HSP90在促进和维持溃疡性结肠炎中起着重要的作用<sup>[9,10]</sup>。近年来对HSF2在疾病发生、发展中的作用的研究日益受到关注。在本研究中我们利用基因重组技术成功构建了pCMV-HSF2-FLAG真核表达载体, 并在人结肠上皮腺癌细胞Caco-2内表达和定位, 为今后进一步研究HSF2在溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)中的生物学功能奠定了基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** Caco-2细胞由中国科学院昆明动物所张云研究员实验室惠赠; HSF2 Human cDNA ORF clone(RG226533)购自Origene公司; pCMV-Myc载体购自Clontech公司; Taq聚合酶、限制性内切酶、T4 DNA连接酶、DNA Marker、DH5 $\alpha$ 感受态细胞、蛋白定量试剂盒、cDNA第一链合成试剂盒均购自TaKaRa公司; Monoclonal ANTI-FLAG M2 antibody、Hoechst33258购自Sigma公司; HSF2(721D1)mouse monoclonal antibody、HSF2 rabbit polyclonal antibody、 $\beta$ -actin mouse monoclonal antibody、Goat anti-mouse IgG-HRP购自Santa Cruz公司; Prestained Protein Molecular Weight Marker、ECL发光底物购自Thermo公司; Lipofectamine<sup>TM</sup>2000 Reagent、Alexa Fluor<sup>®</sup> 594 Goat Anti-Mouse IgG(H+L)、Alexa Fluor<sup>®</sup> 488 Donkey Anti-Rabbit IgG(H+L)购自Invitrogen公司; 质粒大抽试剂盒、总RNA提取试剂盒、2 $\times$ Tag PCR MasterMix、电泳凝胶回收试剂盒购自天根公司; 其他试剂均为国产分析纯; 引物合成及DNA测序由深圳华大基因公司完成。

### 1.2 方法

**1.2.1 人HSF2全长编码序列扩增:** 以HSF2 Human cDNA ORF clone为模板, 利用PCR技术对HSF2进行扩增。引物系列为Primer F: 5'-CCG-GAATTCGGA TGAAGCAGAGTTCGAAC-

GTGC-3', Primer R: 5'-CGGGGTACCTTATTA  
CTTGTTCATCGTCGCTTGTAAATCGCTATCTA-  
AAAGTGGCATATCAC-3', 包括*EcoR* I 和*Kpn* I  
酶切位点. 50 μL PCR体系为: Taq 0.25 μL、10  
× PCR Buffer 5 μL、dNTP Mixture 4 μL、HSF2  
Human cDNA ORF clone 1 μL、Primer F 1 μL、  
Primer R 1 μL、ddH<sub>2</sub>O 37.5 μL. 反应条件为:  
94 °C变性5 min, 94 °C 30 s, 62 °C 30 s, 72 °C 90 s,  
72 °C延伸7 min, 循环35次. 反应产物0.8%琼脂  
糖胶电泳, 1 557 bp目的条带处切胶, 天根电泳凝  
胶回收试剂盒回收纯化PCR产物.

1.2.2 Pcmv-HSF2-FLAG表达载体的构建、鉴  
定与测定: 用*EcoR* I 和*Kpn* I 对HSF2 PCR纯化  
产物及pCMV-Myc分别进行酶切. 酶切反应体  
系为: *EcoR* I 1 μL, *Kpn* I 1 μL, 10×H Buffer 2  
μL, 纯化产物或者pCMV-Myc 16 μL, 37 °C, 酶  
切反应2 h. 酶切产物经电泳、切胶、纯化后用  
T4 DNA连接酶16 °C连接过夜. 连接产物10 μL  
转化50 μL感受态细胞*E. coli* DH5α, 转化产物接  
种于300 μL含1 mg/mL氨苄西林的灭菌LB培养  
基中, 37 °C振荡培养1 h, 8 000 r/min, 离心1 min,  
弃150 μL上清, 取剩余200 μL菌液均匀涂布于含  
氨苄西林的LB琼脂平板, 37 °C培养过夜. 挑选  
单克隆, PCR法鉴定, 选取阳性克隆接种含1 mg/  
mL氨苄西林的灭菌LB培养基中, 37 °C振荡培养  
至A<sub>600</sub>值为0.6, 取菌液送深圳华大基因公司测序  
证实, 将构建的质粒命名为pCMV-HSF2-FLAG.

1.2.3 pCMV-HSF2-FLAG质粒提取与瞬时转染:  
挑取测序正确的单克隆接种于5 mL含1 mg/mL  
氨苄西林的灭菌LB培养基中, 37 °C振荡培养过  
夜. 取过夜菌液接种到1 L含1 mg/mL氨苄西林的  
灭菌LB培养基中, 37 °C振荡培养至A<sub>600</sub>值为0.6,  
收集菌液, 按天根质粒大抽试剂盒说明抽提质  
粒, -20 °C保存待用. Caco-2细胞采用含10%FBS  
的DMEM高糖培养基, 在37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub>  
条件下培养. 选取生长状态良好的Caco-2以1.5  
× 10<sup>5</sup>/mL密度接种于24孔板, 设未转染组, 转染  
pCMV-Myc空载体组和转染pCMV-HSF2-FLAG  
重组质粒组. 待细胞融合至70%-80%时, 用Lipo-  
fectamine™2000转染0.8 μg pCMV-Myc空载体  
及pCMV-HSF2-FLAG重组质粒DNA入转染组  
Caco-2细胞. 转染方法按Lipofectamine™2000说  
明书进行.

1.2.4 总RNA提取与普通PCR鉴定: 转染36 h后,  
将未转染、转染pCMV-Myc空载体和转染pC-  
MV-HSF2-FLAG的细胞培养板置于冰上, 弃掉

培养基, 4 °C无菌PBS清洗3次, 天根总RNA提取  
试剂盒提取总RNA, TaKaRa cDNA第一链合成  
试剂盒逆转录cDNA, 以cDNA为模板, 普通PCR  
法扩增HSF2, 以GAPDH为内参. 引物序列为:  
HSF2 Primer F: 5'-AAGGTTGAGCTGTTGGA-3',  
Primer R: 5'-GATTTTCTTCCCTCTTC-3', 长度为  
178 bp. GAPDH Primer F: 5'-ACAGTCAGCCG-  
CATCTTCTT-3', Primer R: 5'-GACAAGCTTCCC-  
GTTCTCAG-3', 长度232 bp. 25 μL PCR体系为:  
2×Tag PCR MasterMix 12.5 μL、cDNA 1 μL、  
Primer F 1 μL、Primer R 1 μL、ddH<sub>2</sub>O 9.5 μL.  
反应条件为: 94 °C变性5 min, 94 °C 30 s, 58 °C  
30 s, 72 °C 30 s, 72 °C延伸7 min, 循环35次. 反应  
产物3%琼脂糖胶电泳, BIO-RAD凝胶成像系统  
采集图像, 处理分析.

1.2.5 蛋白提取与Western blot鉴定: 转染36 h  
后, 将未转染、转染pCMV-Myc空载体和转染  
pCMV-HSF2-FLAG的细胞培养板置于冰上, 弃  
掉培养基, 4 °C无菌PBS清洗3次, 用含有蛋白酶  
抑制剂的RIPA裂解液裂解细胞, 12 000 r/min,  
4 °C离心30 min, 取上清液蛋白定量后, 取50 μg  
总蛋白经10%SDS-PAGE凝胶35 mA恒流电泳分  
离, 4 °C, 200 mA恒流转移至PVDF膜上, 3%BSA  
封闭2 h, 1 : 4 000 β-actin mouse antibody, 1 :  
3 000 ANTI-FLAG M2 antibody, 1 : 1 000 HSF2  
mouse monoclonal antibody, 4 °C孵育过夜,  
TBST洗膜5 min, 3次, 1 : 4 000 Goat anti-mouse  
IgG-HRP, 室温孵育2 h, TBST洗膜5 min, 3次,  
ECL显影, 压片.

1.2.6 激光共聚焦显微镜观察HSF2及pCMV-  
HSF2-FLAG融合蛋白在Caco-2细胞中的定位:  
将玻璃片置于24孔板中, 接种细胞, 分别转染  
pCMV-Myc空载体和pCMV-HSF2-FLAG重组质  
粒. 转染36 h后, 弃培养基, PBS漂洗5 min, 3次,  
用4%多聚甲醛固定20 min, PBS漂洗5 min, 3次,  
加入0.1%Triton X-100透膜处理15 min, PBS漂  
洗5 min, 3次, 3%BSA室温封闭1 h, 1 : 200 HSF2  
Rabbit polyclonal antibody, 1 : 200 ANTI-FLAG  
M2 antibody, 4 °C孵育过夜, PBST漂洗5 min, 3  
次, 1 : 250 Alexa Fluor® 594 Goat Anti-Mouse  
IgG(H+L), 1 : 250 Alexa Fluor® 488 Donkey Anti-  
Rabbit IgG(H+L)室温避光孵育1 h, PBST漂洗  
5 min, 25 μg/mL Hoechst染核5 min, PBST漂洗  
5 min, 蒸馏水洗后用甘油封片, 激光共聚焦显微  
镜下观察拍照, 图片用Olympus FV10-ASW 2.1  
Viewer处理.

■相关报道

目前对HSF2在  
疾病中的分子机  
制受到了广泛关  
注, 2011年有研  
究显示HSF2缺失  
后通过增加αB-  
crystallina的表达  
和多谷氨酰胺蛋  
白质的积累, 缩短  
R6/2亨廷顿症小  
鼠的寿命. 另外,  
其研究确认HSF2  
是维持蛋白质内  
稳态的主要调控  
者, 他可以作为神  
经退行性等蛋白  
质错误折叠疾病  
的一个潜在治疗  
靶点. 但HSF2在  
UC作用机制中的  
研究还未见报道.



### ■ 创新盘点

基于前期双向电泳和质谱分析的结果,将HSF2构建到真核表达载体pCMV-Myc中,并在结肠上皮细胞Caco-2中表达,为研究HSF2在溃疡性结肠炎发生发展中的分子机制奠定了实验基础。

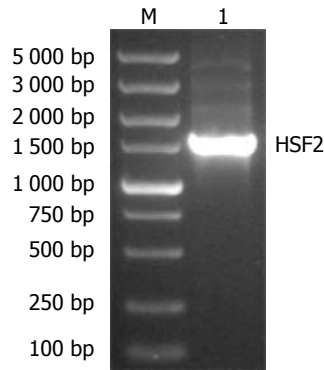


图1 HSF2全长基因的扩增PCR检测. M: DL5000 Marker; 1: HSF2 PCR扩增产物。

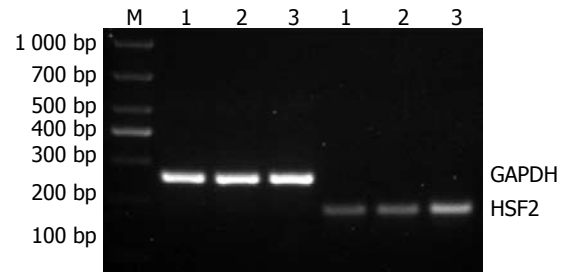


图3 重组表达产物的半定量PCR鉴定. M: DL1000 Marker; 1: 未转染组; 2: 转染pCMV-Myc空载体组; 3: 转染pCMV-HSF2-FLAG重组质粒组。

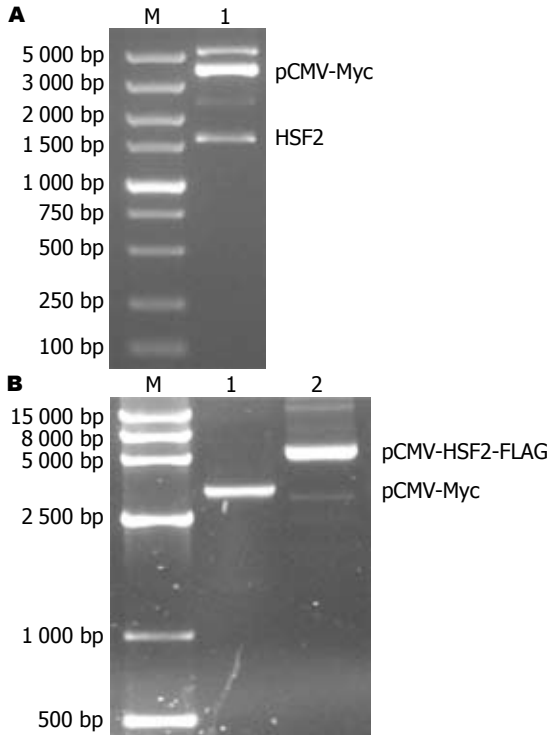


图2 pCMV-HSF2-FLAG重组表达质粒的鉴定. A: 重组质粒双酶切鉴定结果, M: DL5000 Marker; 1: pCMV-HSF2-FLAG酶切产物; B: pCMV-Myc空载体与pCMV-HSF2-FLAG重组质粒电泳结果, M: Wide Range DNA Marker; 1: pCMV-Myc空载体; 2: pCMV-HSF2-FLAG重组质粒。

## 2 结果

**2.1 HSF2全长基因的扩增结果** 目的条带约为1 557 bp, 片段大小与已经明确的基因片段大小相同(图1)。

**2.2 pCMV-HSF2-FLAG重组表达质粒的构建及鉴定** 将pCMV-HSF2-FLAG经EcoR I和Kpn I双酶切后琼脂糖凝胶电泳显示, 得到1 557 bp左右HSF2条带, 与目的条带相似。将pCMV-Myc空载体和pCMV-HSF2-FLAG经琼脂糖凝胶电泳, 在相应位置分别显示清晰的条带。对pCMV-HSF2-FLAG重组质粒正反双向测序, BioEdit软件查对碱基序列, 结果正确, 未见突变碱基。上述结果证实pCMV-HSF2-FLAG重组质粒构建成功(图2)。

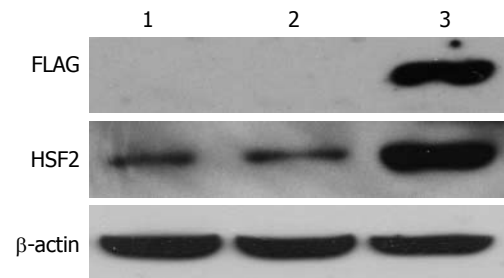


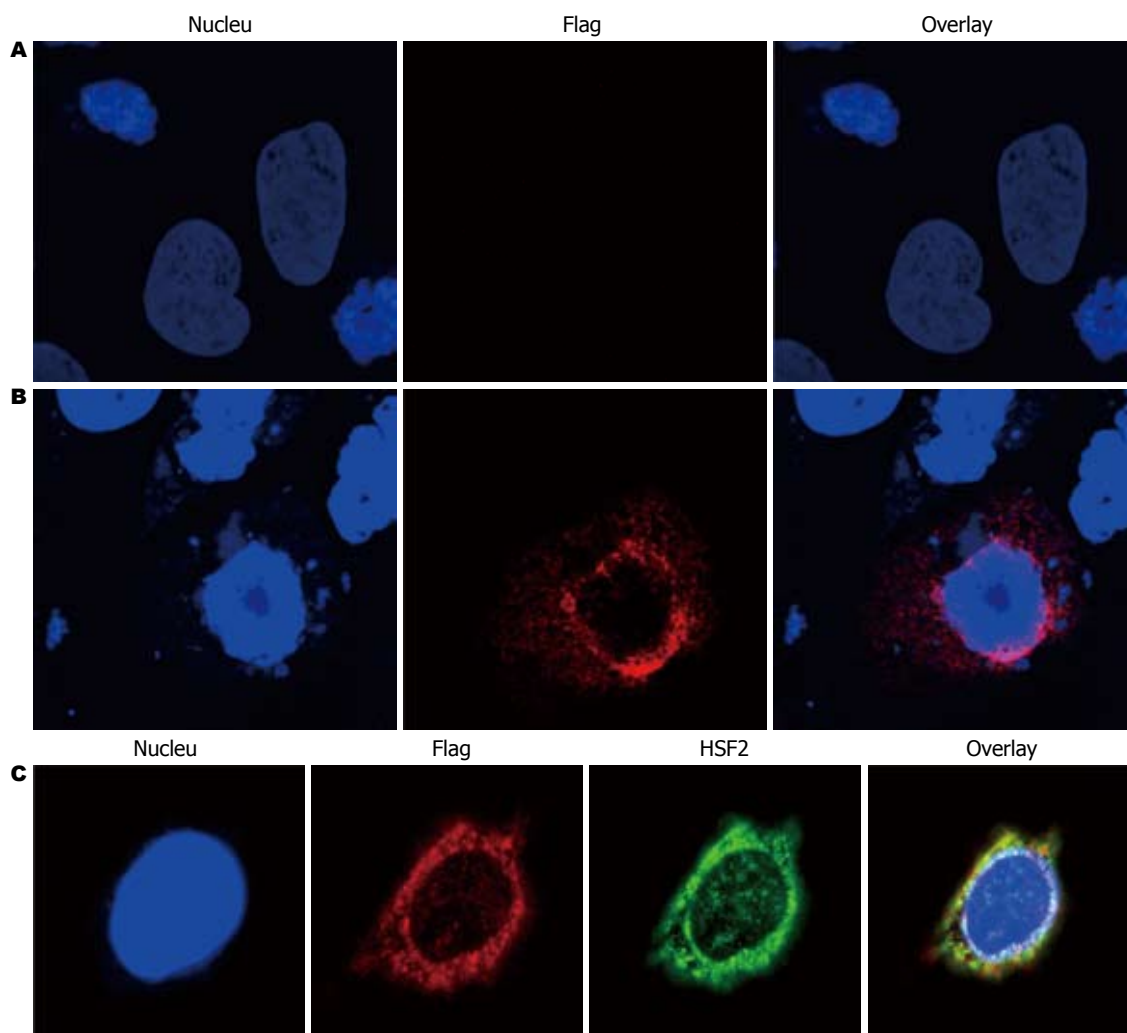
图4 Western blot鉴定HSF2及融合蛋白表达结果. 1: 未转染组; 2: 转染pCMV-Myc空载体组; 3: 转染pCMV-HSF2-FLAG重组质粒组。

功(图2)。

**2.3 pCMV-HSF2-FLAG重组质粒表达产物的普通RT-PCR鉴定** 经PCR扩增后, 未转染, 转染空载体及重组质粒的细胞均转录出178 bp的HSF2。与未转染及转染空载体组对比, 转染重组质粒的细胞HSF2 mRNA明显升高(图3)。

**2.4 pCMV-HSF2-FLAG重组质粒表达产物的Western blot鉴定** pCMV-HSF2-FLAG重组质粒在Caco-2细胞中表达, 融合蛋白在70 kDa附近显现特异的FLAG标签条带, 而未转染组和转染空载体组均未出现该特异性条带。3组细胞在69 kDa附近均显现特异性的HSF2条带, 其分子量与目的条带相符, 与未转染和转染空载体组对比, 转染重组质粒组HSF2蛋白质表达水平明显升高。结果表明所构建的pCMV-HSF2-FLAG重组质粒在Caco-2细胞中成功表达(图4)。

**2.4 HSF2及pCMV-HSF2-FLAG融合蛋白在Caco-2细胞中的定位** 激光共聚焦显微镜显示转染空载体组的Caco-2细胞中仅显现Hoechst沾染的蓝色的细胞核。而转染pCMV-HSF2-FLAG的Caco-2细胞中可见HSF2绿色荧光和融合蛋白红色荧光分布于细胞质, 特别是细胞核膜周围显现相对强烈的荧光信号。共聚焦结果表明HSF2及融合蛋白在细胞中定位一致, 其广泛分布于细胞质中, 但在细胞核膜上较富集(图5)。



**应用要点**  
 采用Caco-2细胞建立Transwell模型, 用LPS, IL-1 $\beta$ 等炎症因子刺激细胞, 模拟结肠内环境, 联合pCMV-HSF2-FLAG质粒转染过表达或干扰沉默技术, 可以比较不同的HSF2水平对细胞炎症, 增殖、凋亡以及结肠屏障功能的影响, 为研究UC的发病机制和开发生物治疗靶点提供新的思路。

图 5 HSF2及融合蛋白在Caco-2细胞中的定位. A: 转染pCMV-Myc空载体, 未显示FLAG标签红色荧光; B: 转染pCMV-HSF2-FLAG重组质粒, FLAG标签红色荧光; C: 转染pCMV-HSF2-FLAG重组质粒, FLAG标签红色荧光, HSF2绿色荧光, HSF2和融合蛋白共定位。

### 3 讨论

HSF最初是因为调控HSP表达而进入人们视线的, 但日益广泛的研究打破这一狭隘的认识, 从胚胎发育、代谢、寿命到神经退行性变、癌症等各种生理病理的变化都与其有着紧密的联系<sup>[11-13]</sup>。目前对HSF2的研究多集中在蛋白质错误折叠的疾病, 延缓衰老, 胚胎及精子发育等方向上, 但其对诸如UC等炎症性疾病研究相对较少。

本研究小组前期通过双向电泳及质谱分析等系列研究筛选出9个UC差异蛋白质, 发现HSF2为表达上调的蛋白, 推测其可能与UC发病机制有关<sup>[14]</sup>。为了能在结肠上皮细胞中过表达HSF2, 深入探讨其在溃疡性结肠炎发生发展中的分子机制, 本研究利用基因重组技术将HSF2插入到pCMV-Myc载体中, 利用酶切鉴定保证扩增片段的正确性, 通过基因测序分析证实了

pCMV-HSF2-FLAG重组质粒构建成功; 应用普通PCR技术确定转染后HSF2在mRNA水平上转录增加; 通过Western blot方法证实融合蛋白的正确性及HSF2在蛋白质水平表达升高; 利用激光共聚焦显微镜观察到绿色荧光代表的HSF2和红色荧光所代表的融合蛋白在细胞内的表达与定位。从mRNA、蛋白质水平和蛋白定位3方面证实了重组质粒在Caco-2细胞中成功表达。基因重组及质粒转染是一种研究特定基因的有效的分子生物学技术, 质粒转染过表达联合免疫荧光成像等技术, 在研究基因表达, 蛋白质在细胞内定位和信号转导等方面起着重要的作用<sup>[15,16]</sup>。用含有强启动子pCMV的pCMV-Myc载体构建pCMV-HSF2-FLAG质粒能保证插入的目的基因高效持续表达<sup>[17,18]</sup>。与目的蛋白融合的FLAG标签蛋白编码8个氨基酸的亲水性多肽(DYKDDDDK), FLAG作为融

■同行评价  
本文具有一定的  
学术价值和意义。

合表达标签,通常不会与目的蛋白相互作用并且不会影响目的蛋白的性质、功能<sup>[19]</sup>。应用anti-FLAG单克隆抗体,可通过Western blot及激光共聚焦显微镜等方法对含有FLAG的融合蛋白进行特异性的检测、鉴定,因此现FLAG标签已广泛的应用于蛋白表达、纯化、鉴定、功能研究及其蛋白相互作用等相关领域<sup>[20,21]</sup>。激光共聚焦显微镜已成熟应用于原位鉴定细胞或组织内生物大分子,观察细胞及亚细胞形态结构等领域,通过荧光共振能量转移技术,许多有关蛋白分子的共定位、蛋白分子聚合体、转录机制和蛋白折叠等分子生物学问题都可得到解决<sup>[22,23]</sup>。通过构建pCMV-HSF2-FLAG真核表达载体,联合RNA干扰和免疫共沉淀等技术,我们可以比较过表达和沉默后HSF2对细胞在应激条件下的炎症,凋亡和生存的影响,以及HSF2介导这些变化时的转录调控机制和信号通路,为UC的发病机制提供新的分子生物学线索。

HSF2大量表达于胚胎和精子等快速生长的组织,我们的结果显示HSF2主要分布于细胞质,与Kim等<sup>[24]</sup>关于HSF蛋白质定位的研究结果一致。当细胞处于应激条件下时,增加的变性蛋白竞争性地结合HSP70,导致HSF从HSF-HSP70复合体中解离;解离的HSF被蛋白激酶C或其他丝氨酸/苏氨酸激酶磷酸化形成同源三聚体,暴露出DNA结合区和NLS(核定位序列);在NLS介导下,经一主动转运过程,HSF三聚体进入胞核,通过DNA结合区结合HSP基因启动子内的特定区域开启HSP的转录以对抗应激和维持细胞稳态<sup>[25,26]</sup>。激光共聚焦显示HSF2在细胞核膜处富集,少量荧光信号在核中显示,也验证应激时HSF2入核这一机制。

近年来对HSF1及HSP的功能及其在炎症中的作用已较为深入,HSF1可通过调节HSP的表达以及影响炎症相关的转录因子等途径,抑制TNF $\alpha$ 、IL-1等致炎因子的表达,并抑制炎症信号通路中NF- $\kappa$ B、AP-1等关键转录因子的活性,产生抗炎效应<sup>[27,28]</sup>。然而国内外还未深入研究HSF2在炎症性疾病中的作用的,其在UC发生发展中的分子机制,转录调控信号通路还不明确。探索UC的发病机制,寻找特异的生物标记物及生物治疗靶点是当前研究的趋势<sup>[29,30]</sup>。采用Caco-2细胞建立Transwell模型,用LPS、IL-1 $\beta$ 等炎症因子刺激细胞,模拟结肠内环境,联合质粒转染过表达或干扰沉默技术,可以比较不同的HSF2水平对细胞炎症,增殖、凋亡以及结肠屏

障功能的影响,为研究UC的发病机制和开发生物治疗靶点提供新的思路。

#### 4 参考文献

- Morimoto RI. The heat shock response: systems biology of proteotoxic stress in aging and disease. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2011; 76: 91-99
- Kondo T, Koga S, Matsuyama R, Miyagawa K, Goto R, Kai H, Araki E. Heat shock response regulates insulin sensitivity and glucose homeostasis: pathophysiological impact and therapeutic potential. *Curr Diabetes Rev* 2011; 7: 264-269
- Fujimoto M, Nakai A. The heat shock factor family and adaptation to proteotoxic stress. *FEBS J* 2010; 277: 4112-4125
- He H, Soncin F, Grammatikakis N, Li Y, Siganou A, Gong J, Brown SA, Kingston RE, Calderwood SK. Elevated expression of heat shock factor (HSF) 2A stimulates HSF1-induced transcription during stress. *J Biol Chem* 2003; 278: 35465-35475
- Björk JK, Sistonen L. Regulation of the members of the mammalian heat shock factor family. *FEBS J* 2010; 277: 4126-4139
- Abane R, Mezger V. Roles of heat shock factors in gametogenesis and development. *FEBS J* 2010; 277: 4150-4172
- Luo W, Sun W, Taldone T, Rodina A, Chiosis G. Heat shock protein 90 in neurodegenerative diseases. *Mol Neurodegener* 2010; 5: 24
- Shinkawa T, Tan K, Fujimoto M, Hayashida N, Yamamoto K, Takaki E, Takii R, Prakasam R, Inouye S, Mezger V, Nakai A. Heat shock factor 2 is required for maintaining proteostasis against febrile-range thermal stress and polyglutamine aggregation. *Mol Biol Cell* 2011; 22: 3571-3583
- Tomasello G, Sciumé C, Rappa F, Rodolico V, Zerilli M, Martorana A, Cicero G, De Luca R, Damiani P, Accardo FM, Romeo M, Farina F, Bonaventura E, Modica G, Zummo G, Conway de Macario E, Macario AJ, Cappello F. Hsp10, Hsp70, and Hsp90 immunohistochemical levels change in ulcerative colitis after therapy. *Eur J Histochem* 2011; 55: e38
- Tanaka K, Mizushima T. Protective role of HSF1 and HSP70 against gastrointestinal diseases. *Int J Hyperthermia* 2009; 25: 668-676
- Akerfelt M, Morimoto RI, Sistonen L. Heat shock factors: integrators of cell stress, development and lifespan. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11: 545-555
- Calderwood SK, Murshid A, Prince T. The shock of aging: molecular chaperones and the heat shock response in longevity and aging--a mini-review. *Gerontology* 2009; 55: 550-558
- Anckar J, Sistonen L. Regulation of HSF1 function in the heat stress response: implications in aging and disease. *Annu Rev Biochem* 2011; 80: 1089-1115
- 缪应雷, 陈丽芳, 杜艳, 李红纳, 朱艳平, 肖玉良. 溃疡性结肠炎血清差异蛋白的筛选研究. *中华消化杂志* 2010; 30: 898-901
- Nieminen M, Tuuri T, Savilahti H. Genetic recombination pathways and their application for genome modification of human embryonic stem cells. *Exp Cell Res* 2010; 316: 2578-2586
- Gopalakrishnan B, Wolff J. siRNA and DNA transfer to cultured cells. *Methods Mol Biol* 2009; 480: 31-52
- Lai MD, Chen CS, Yang CR, Yuan SY, Tsai JJ, Tu

- CF, Wang CC, Yen MC, Lin CC. An HDAC inhibitor enhances the antitumor activity of a CMV promoter-driven DNA vaccine. *Cancer Gene Ther* 2009; 17: 203-211
- 18 Magnusson T, Haase R, Schleef M, Wagner E, Ogris M. Sustained, high transgene expression in liver with plasmid vectors using optimized promoter-enhancer combinations. *J Gene Med* 2011; 13: 382-391
- 19 Lakamp AS, Ouellette MM. A ssDNA Aptamer That Blocks the Function of the Anti-FLAG M2 Antibody. *J Nucleic Acids* 2011; 2011: 720798
- 20 Sasaki F, Okuno T, Saeki K, Min L, Onohara N, Kato H, Shimizu T, Yokomizo T. A high-affinity monoclonal antibody against the FLAG tag useful for G-protein-coupled receptor study. *Anal Biochem* 2012; 425: 157-165
- 21 Abu-Farha M, Elisma F, Figeys D. Identification of protein-protein interactions by mass spectrometry coupled techniques. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2008; 110: 67-80
- 22 Stehbens S, Pemble H, Murrow L, Wittmann T. Imaging intracellular protein dynamics by spinning disk confocal microscopy. *Methods Enzymol* 2012; 504: 293-313
- 23 Wessels JT, Yamauchi K, Hoffman RM, Wouters FS. Advances in cellular, subcellular, and nanoscale imaging in vitro and in vivo. *Cytometry A* 2010; 77: 667-676
- 24 Kim SA, Yoon JH, Ahn SG. Heat shock factor 4a (HSF4a) represses HSF2 expression and HSF2-mediated transcriptional activity. *J Cell Physiol* 2012; 227: 1-6
- 25 Sakurai H, Enoki Y. Novel aspects of heat shock factors: DNA recognition, chromatin modulation and gene expression. *FEBS J* 2010; 277: 4140-4149
- 26 Nishizawa-Yokoi A, Nosaka R, Hayashi H, Tainaka H, Maruta T, Tamoi M, Ikeda M, Ohme-Takagi M, Yoshimura K, Yabuta Y, Shigeoka S. HsfA1d and HsfA1e involved in the transcriptional regulation of HsfA2 function as key regulators for the Hsf signaling network in response to environmental stress. *Plant Cell Physiol* 2011; 52: 933-945
- 27 Shimp SK, Parson CD, Regna NL, Thomas AN, Chafin CB, Reilly CM, Nichole Rylander M. HSP90 inhibition by 17-DMAG reduces inflammation in J774 macrophages through suppression of Akt and nuclear factor- $\kappa$ B pathways. *Inflamm Res* 2012; 61: 521-533
- 28 Knowlton AA. NF $\kappa$ B, heat shock proteins, HSF-1, and inflammation. *Cardiovasc Res* 2006; 69: 7-8
- 29 Florholmen J, Fries W. Candidate mucosal and surrogate biomarkers of inflammatory bowel disease in the era of new technology. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 1407-1417
- 30 Perrier C, Rutgeerts P. Cytokine blockade in inflammatory bowel diseases. *Immunotherapy* 2011; 3: 1341-1352

编辑 李军亮 电编 闫晋利

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》再次入选《中文核心期刊要目总览》  
(2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (编辑部主任: 李军亮 2012-03-08)。

## IL-17A对肝细胞癌可溶性MICA表达的影响

刘丹, 向晓星, 顾学文, 李国青, 刘延庆

### ■背景资料

原发性肝癌是全球范围内高发的癌症, 已经成为我国第2位的肿瘤死亡原因, 对我国人民的健康构成了严重威胁。肝细胞癌(HCC)是其主要的组织学类型, 大部分由慢性病毒性肝炎及肝炎性肝硬化发展而来。近年来, 炎症与肿瘤之间的关系日益受到关注。

刘丹, 顾学文, 扬州大学临床医学院病理科 江苏省扬州市 225000

向晓星, 扬州大学临床医学院消化科 江苏省扬州市 225000  
李国青, 日本昭和大学医学部第一生理学教室 日本东京 142-8555

刘延庆, 扬州大学医学院中西医结合系 江苏省扬州市 225000

刘丹, 医学硕士, 主治医师, 主要从事肿瘤病理学研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173603

江苏省卫生厅预防医学基金资助项目, No. Y201032

作者贡献分布: 此课题由李国青设计; 研究过程由刘丹、向晓星、顾学文及刘延庆操作完成; 数据分析由李国青完成; 本论文写作由刘丹与李国青完成。

通讯作者: 李国青, 助教, 142-8555, 日本东京都品川区旗の台 1-5-8, 日本昭和大学医学部第一生理学教室。

guoqing1007@163.com

电话: +81-80-30944110

收稿日期: 2012-06-28 修回日期: 2012-08-09

接受日期: 2012-09-03 在线出版日期: 2012-09-18

### Interleukin-17A enhances the production of soluble MICA by human hepatocellular carcinoma cells

Dan Liu, Xiao-Xing Xiang, Xue-Wen Gu, Guo-Qing Li, Yan-Qing Liu

Dan Liu, Xue-Wen Gu, Department of Pathology, Clinical Medical College, Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Xiao-Xing Xiang, Department of Gastroenterology, Clinical Medical College, Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Guo-Qing Li, Department of Physiology, School of Medicine, Showa University, Tokyo 142-8555, Japan

Yan-qing Liu, Institute of Integrated Chinese and Western Medicine, Medical College, Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173603; and the Preventive Medical Foundation of Health Department of Jiangsu Province, No. Y201032

Correspondence to: Guo-Qing Li, Assistant, Department of Physiology, School of Medicine, Showa University, Tokyo 142-8555, Japan. guoqing1007@163.com

Received: 2012-06-28 Revised: 2012-08-09

Accepted: 2012-09-03 Published online: 2012-09-18

### Abstract

**AIM:** To investigate the correlation between serum interleukin-17A (IL-17A) levels and soluble major histocompatibility complex class I chain-related gene A (sMICA) in patients with chronic hepatitis (CH), liver cirrhosis (LC), or hepatocellular carcinoma (HCC), and to discuss the role of

IL-17A in regulating the production of sMICA.

**METHODS:** Serum samples were collected from healthy controls (HC) and patients with CH, LC, or HCC ( $n = 30$  for each group), and sMICA and IL-17A were assayed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). PLC/PRF/5 and HepG2 cells were cultured with 0, 10 and 50 ng/mL of recombinant human IL-17A (RhIL-17A) for 24 h, and the expression of sMICA was detected by ELISA. Flow cytometry (FCM) and real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) were used to detect the expression of membrane MICA after HCC cells were incubated with 50 ng/mL RhIL-17A for 24 h. Western blot was used to detect the expression of ADAM9, p65 and phosphorylation-p65 (P-p65).

**RESULTS:** Serum IL-17A and sMICA levels were significantly higher in HCC patients than in those with HC, LC or HC ( $^{IL-17A}F = 46.321$ ,  $^{sMICA}F = 24.144$ ,  $P < 0.01$ ). IL-17A levels were positively associated with soluble MICA levels in hepatopathy patients ( $r = 0.28$ ,  $P < 0.01$ ). Addition of RhIL-17A resulted in a significant increase in the production of sMICA and membrane MICA mRNAs in HepG2 and PLC/PRF/5 cells (all  $P < 0.05$ ), and RhIL-17A also increased the ADAM9 and P-p65 protein levels.

**CONCLUSION:** IL-17A may up-regulate membrane MICA mRNA expression by activating the nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B)-ADAM 9 signal pathway and thus enhance the production of sMICA by human HCC cells.

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; Interleukin-17A; ADAM 9; Soluble major histocompatibility complex class I chain-related gene A

Liu D, Xiang XX, Gu XW, Li GQ, Liu YQ. Interleukin-17A enhances the production of soluble MICA by human hepatocellular carcinoma cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2460-2466

### 摘要

**目的:** 探讨患者外周血清白介素-17A (serum Interleukin-17A, IL-17A) 对肝癌细胞可溶性

### ■同行评议者

代智, 副研究员, 复旦大学附属中山医院肝癌研究所



MICA(soluble major histocompatibility complex class I chain-related gene A, sMICA)的调控作用及可能机制。

**方法:** 收集慢性肝炎(chronic hepatitis, CH)、肝硬化(liver cirrhosis, LC)、HCC、健康对照者(health control, HC)各30例, 采用ELISA方法分别检测血清sMICA及IL-17A的表达水平; HepG2和PLC/PRF/5细胞加入0、10、50 ng/mL的重组人IL-17A(RhIL-17A)作用24 h后, 分别采用ELISA检测sMICA的表达; 并在50 ng/mL的RhIL-17A作用24 h后, 采用流式细胞术(flow cytometry, FCM)检测膜型MICA的表达、荧光定量RT-PCR检测MICA mRNA的表达、Western blot检测ADAM 9, p65和磷酸化p65(P-p65)的表达。

**结果:** HCC组血清IL-17A与sMICA水平明显高于CH、LC、HC组( $^{IL-17A}F = 46.321$ ,  $^{sMICA}F = 24.144$ ,  $P < 0.01$ ), 且二者呈正相关( $r = 0.28$ ,  $P < 0.01$ ); RhIL-17A显著增加HCC细胞sMICA、膜MICA mRNA的表达( $P < 0.05$ ), 且可增加HCC细胞ADAM 9和P-p65蛋白的表达。

**结论:** IL-17A能上调肝癌细胞MICA mRNA表达, 可能与其活化NF- $\kappa$ B-ADAM 9信号通路, 从而增加HCC sMICA的表达有关。

**关键词:** 肝细胞癌; 白介素-17A; ADAM 9; 可溶性MICA

刘丹, 向晓星, 顾学文, 李国青, 刘延庆. IL-17A对肝细胞癌可溶性MICA表达的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2460-2466  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2460.asp>

## 0 引言

原发性肝癌是全球范围内高发的癌症, 已经成为我国第2位的肿瘤死亡原因, 对我国人民的健康构成了严重的威胁<sup>[1,2]</sup>. 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是其主要组织学类型, 大部分由慢性病毒性肝炎及肝炎性肝硬化发展而来<sup>[3]</sup>. 近年来, 炎症与肿瘤之间的关系日益受到关注, 白介素-17A(interleukin-17A, IL-17A)作为炎症反应中重要的调控因子, 其在肿瘤的发生、发展中可能发挥双重作用. 研究发现, IL-17A在肝炎、肝硬化、肝癌患者的血清及组织中表达明显升高, 与肝癌的转移密切相关<sup>[4-6]</sup>. MHC-I链相关基因A(major histocompatibility complex

class I chain-related gene A, MICA)主要表达于肿瘤细胞、炎症细胞、病毒感染细胞等, 其脱落形成的可溶性MICA(soluble MICA, sMICA)是肿瘤细胞发生免疫逃逸的重要因素之一, 研究发现sMICA表达水平随着肝炎、肝硬化和HCC病程的进展逐渐升高, 与HCC的预后呈负相关<sup>[7-9]</sup>. 本研究中, 通过观察慢性肝病及肝细胞癌患者外周血清IL-17A与sMICA表达水平的关联性, 进一步探讨IL-17A对肝癌细胞sMICA的调控作用及可能机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 随机收集2009-/2011就诊于扬州大学临床医学院的慢性肝炎患者血清30例, 其中男17例, 女13例, 平均年龄57岁 $\pm$ 13岁; 肝硬化患者血清30例(按Child-Pugh分级: A级12例, B级8例, C级10例), 其中男16例, 女14例, 平均年龄61岁 $\pm$ 12岁, 均为临床确诊的肝炎后肝硬化患者, 入选病例除肝炎外无其他伴发疾病; 肝细胞癌患者血清30例(按Child-Pugh分级: A级15例, B级10例, C级5例), 其中男23例, 女7例, 平均年龄69岁 $\pm$ 10岁, TNM分期: 其中I期7例, II期9例, III期8例, IV期6例, 临床检查证实患者除肝炎肝硬化外无其他伴发病, 30例均为根治性切除, 并经病理证实; 正常对照组为我院体检健康者30例, 其中男15例, 女15例, 平均年龄60岁 $\pm$ 14岁, 均为排除肝炎、肝硬化及肝癌的健康成年人, 所有病例血清-20 $^{\circ}$ C冻存, 所有手术病例均有完整病理诊断和随访资料, 肝炎、肝癌分别按全国肝炎和肝癌防治协作组制定的标准核实诊断。

### 1.2 方法

**1.2.1 肝癌细胞的培养:** 人肝癌细胞株HepG2和PLC/PRF/5均购自中科院上海细胞库, 培养于DMEM(GIBCO公司)培养液, 培养液含100 mL/L胎牛血清(GIBCO公司)、100 U/mL青霉素、100 mg/mL链霉素, 于37 $^{\circ}$ C、50 mL/L CO<sub>2</sub>、饱和湿度培养箱常规培养, 取对数生长期的细胞进行试验.  $2 \times 10^5$  HepG2和PLC/PRF/5细胞分别接种于6孔培养板, 并加入0、10、50 ng/mL的重组人IL-17A(Recombinant human IL-17A, RhIL-17A, R&D公司)培养24 h进行实验。

**1.2.2 ELISA:** 收集病例血清和肝癌细胞上清, 分别采用人IL-17A ELISA试剂盒(百赛生物公司)和sMICA ELISA试剂盒(R&D公司)进行检测, 按试剂盒说明书进行操作。

**1.2.3 FCM:** BD公司流式细胞仪(flow cytometry,

## ■ 研究前沿

近年来, 炎症反应与肿瘤之间的关系日益受到关注. 研究发现, 慢性炎症与肿瘤的关系密切, 许多慢性炎症都是癌前病变, 由肝炎到肝硬化再到肝癌是一个渐进的由量变到质变的过程, 但其具体机制尚未明确。

## ■ 相关报道

最近研究发现, HCC微环境中表达Th17和IL-17A的CD8<sup>+</sup>T细胞数量增多, 且与HCC的预后差密切相关。

表 1 引物序列

探针	序列
MICA	F: 5'-CTTGCCATGAACGTCAGG-3'
	R: 5'-CCTCTGAGGCCTCGCTGCG-3'
GAPDH	F: 5'-ATCCCGCTAACATCAAATGG-3'
	R: 5'-GTGGTTCACACCCATCACAA-3'

FCM)检测HepG2和PLC/PRF/5膜固有MICA表达, 含100 mL/L胎牛血清DMEM调整细胞密度约为 $1 \times 10^6$ /mL. 检测管加入鼠抗人MICA单抗(R&D公司), 同型对照管加入同型对照单抗. 孵育后分别加入PE标记的羊抗鼠IgG单抗(R&D公司), 孵育30 min后上机检测, WinMDI软件获取和分析数据. 以平均荧光强度代表细胞膜MICA表达水平.

1.2.4 Western blot: 细胞培养至预定时间点后, 收集细胞, 分别按蛋白抽提试剂盒说明(碧云天公司)抽提细胞总蛋白及细胞核蛋白. 取蛋白40  $\mu$ g/20  $\mu$ L每孔上样, 在12%分离胶行SDS-PAGE电泳(150 V, 1.5 h), 350 mA电转90 min至PVDF膜(Millipore公司). 3% BSA室温封闭2 h后小鼠抗人ADAM 9、p65、磷酸化p65(P-p65)、 $\beta$ -actin单克隆抗体、山羊抗人Histone H3多克隆抗体(Santa Cruz公司), 4  $^{\circ}$ C孵育过夜, 再加HRP标记的山羊抗小鼠、兔抗山羊二抗室温孵育2 h, ECL法显色, 每个样本重复3遍.

1.2.5 荧光定量RT-PCR检测(qRT-PCR): (1)总RNA提取和cDNA合成, 收获各组细胞, 按TRIzol RNA提取试剂盒(Invitrogen公司)的说明书提取RNA. RNA沉淀用DEPC水溶解, 在紫外分光光度计下测 $A_{260}/A_{280}$ 的吸光度比值, 比值1.8-2.0为合格样本, 琼脂糖凝胶电泳鉴定RNA完整性, 按比例稀释RNA浓度至0.5 g/L. cDNA合成: 取2  $\mu$ L RNA、2倍逆转录缓冲液10  $\mu$ L、逆转录酶2  $\mu$ L(ABI公司), 补加DEPC处理的双蒸水至20  $\mu$ L, ABI 2720 PCR仪按25  $^{\circ}$ C 10 min、50  $^{\circ}$ C 30 min、85  $^{\circ}$ C 5 min孵育, 最后置于冰上终止反应; (2)定量PCR测定肝癌细胞MICA、ADAM 9 mRNA表达水平, 在ABI Prism 7000荧光定量RT-PCR仪上进行实时定量扩增, 定量PCR采用SYBR Green 2步法RT-PCR试剂盒(ABI公司), 根据说明书进行操作. 遵循引物设计原则, 使用Primer Express 3.0软件设计MICA及GAPDH引物(表1), 并由上海生工生物技术有限公司合成. PCR反应体系: SYBR Green qPCR混合液25  $\mu$ L,

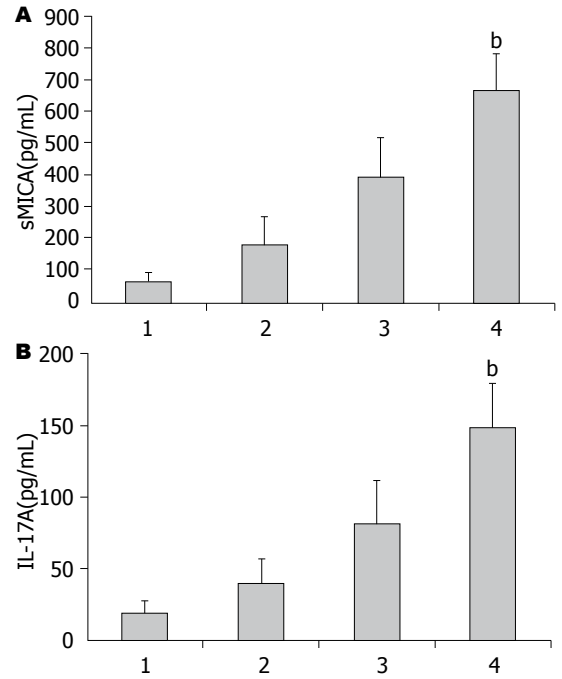


图 1 肝炎、肝硬化、肝癌和健康对照组血清sMICA和IL-17A表达. A: 血清sMICA; B: 血清IL-17A. 1: 健康对照组; 2: 肝炎组; 3: 肝硬化组; 4: 肝癌组.  $^bP < 0.01$  vs 肝癌组.

正义及反义引物各1  $\mu$ L(200 nmol/L), cDNA 5  $\mu$ L补充DEPC处理双蒸水至总反应体积为50  $\mu$ L. PCR扩增反应条件: 50  $^{\circ}$ C 2 min, 95  $^{\circ}$ C 10 min, 95  $^{\circ}$ C 15 s, 60  $^{\circ}$ C 1 min, 共40个循环. 并选取1份cDNA样本进行目的基因和参照基因扩增效率检测, 梯度稀释样本(0.1和0.01倍), 分别扩增目的基因和参照基因, 观察所得直线的斜率, 绝对值接近0则说明扩增效率相同, 可以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法表示基因相对表达量的变化:  $\Delta\Delta CT = (CT_{Target} - CT_{GAPDH}) - (CT_{Control} - CT_{GAPDH})$ . 实验重复3次, 取平均值.

**统计学处理** 灰度分析数据用mean  $\pm$  SD表示, 组间比较用t检验和方差分析,  $P < 0.05$ 为统计学有意义. 所有统计学处理在SPSS11.0及Excel 2010软件中完成.

## 2 结果

2.1 良恶性肝病者血清IL-17A与sMICA含量变化的相关性 肝癌患者血清IL-17A和sMICA水平明显高于慢性肝炎、肝硬化患者及健康对照组( $^{IL-17A}F = 46.321$ ,  $^{sMICA}F = 24.144$ ,  $P < 0.01$ ), 从肝炎到肝硬化、肝癌, 血清IL-17A及sMICA水平逐渐上升(图1). 良性肝病及肝癌患者, 血清sMICA与IL-17A水平呈显著正相关( $r = 0.28$ ,  $P < 0.01$ , 图2). 且在肝癌的不同分期中, IL-17A与sMICA的表达也存在差异, 分析I、II期与III、IV期

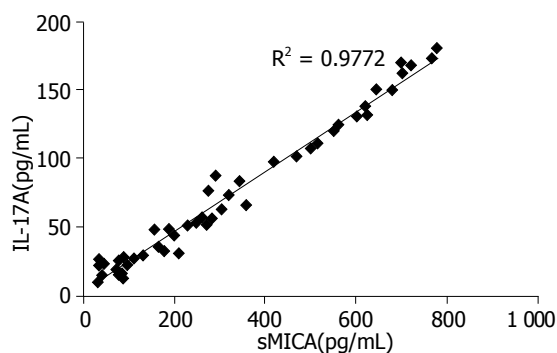


图2 肝病患者血清IL-17A与sMICA表达的相关性。

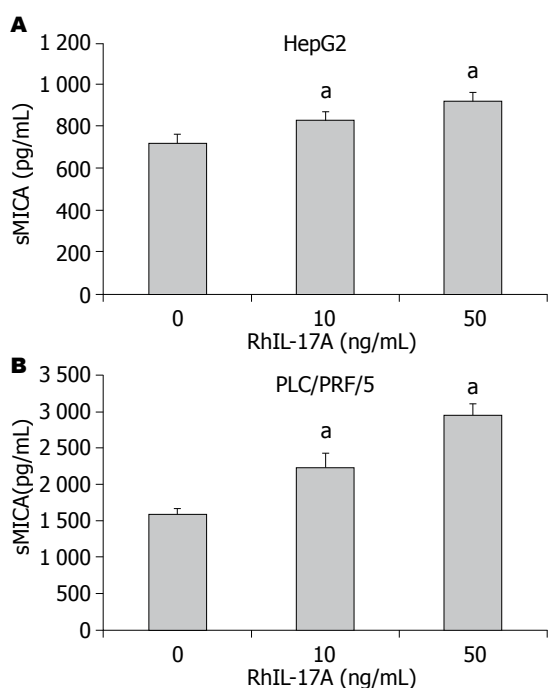


图3 RhIL-17A对肝癌细胞sMICA含量的影响。A: HepG2; B: PLC/PRF/5。\* $P < 0.05$  vs 对照组。

肝癌患者血清中IL-17A与sMICA的表达,发现伴有转移的III、IV期肝癌患者血清中IL-17A及sMICA的含量较I、II期患者血清中的含量明显增加( $P < 0.01$ )。

**2.2 RhIL-17A对肝癌细胞上清sMICA含量的影响** 分别在HepG2和PLC/PRF/5细胞培养液中加入不同浓度的RhIL-17A作用24 h, ELISA检测细胞上清,发现RhIL-17A呈浓度依赖性的显著增加HepG2和PLC/PRF/5细胞上清中sMICA的表达( $^{HepG2}F = 44.243$ ,  $^{PLC/PRF/5}F = 54.112$ ,  $P < 0.05$ ,图3)。

**2.3 RhIL-17A对肝癌细胞膜型MICA表达的影响** 分别在HepG2和PLC/PRF/5细胞培养液中加入50 ng/mL的RhIL-17A作用24 h后,收获细胞分别采用FCM检测膜型MICA蛋白表达、实时定量PCR检测MICA mRNA表达,结果发现RhIL-17A

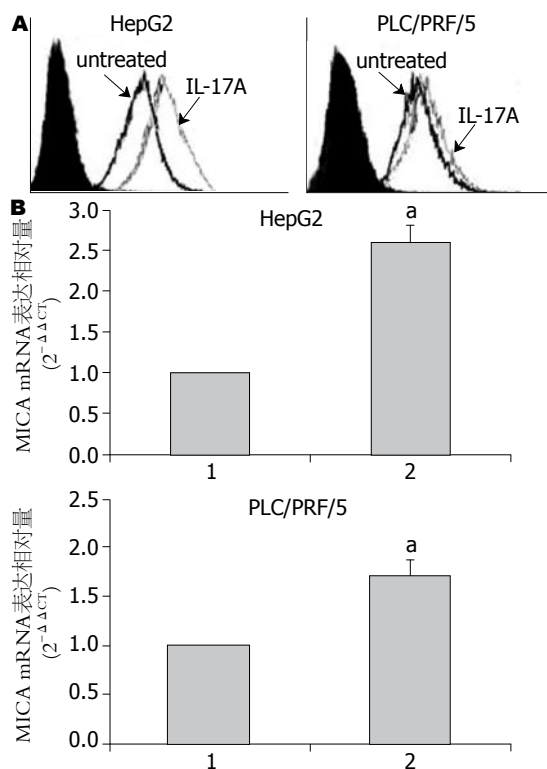


图4 RhIL-17A对肝癌细胞膜型MICA表达的影响。1: 空白对照组; 2: 50 ng/mL RhIL-17A组。\* $P < 0.05$  vs 对照组。

可以增加HepG2细胞膜固有MICA mRNA( $t = 7.033$ ,  $P < 0.05$ )及蛋白( $t = 4.121$ ,  $P < 0.05$ )表达,而对PLC/PRF/5细胞膜固有MICA蛋白表达无明显影响( $P > 0.05$ ),但可增加MICA mRNA的表达水平( $t = 6.424$ ,  $P < 0.05$ ,图4)。

**2.4 RhIL-17A对肝癌细胞ADAM 9及P-p65表达的影响** 50 ng/mL的RhIL-17A作用HepG2和PLC/PRF/5细胞24 h后, Western blot分别检测总蛋白ADAM 9, p65及核蛋白P-p65的表达,结果发现RhIL-17A可以增加HepG2和PLC/PRF/5细胞ADAM 9及P-p65的蛋白表达水平,而对p65蛋白表达无明显影响(图5)。

### 3 讨论

HCC由于其易复发、缺少有效的治疗手段及早期诊断的生物学标志物,已成为高死亡率的肿瘤之一<sup>[10]</sup>。HCC主要从慢性病毒性肝炎发展而来,炎症因子在其发生、发展中可能起重要的调控作用<sup>[11-15]</sup>。近年来,炎症反应与肿瘤之间的关系日益受到关注。研究发现,慢性炎症与肿瘤的关系密切,许多慢性炎症都是癌前病变,由肝炎到肝硬化再到肝癌是一个渐进的由量变到质变的过程,但具体机制尚未明确<sup>[16-18]</sup>。最近研究发现, HCC微环境中表达Th17和IL-17A的CD8<sup>+</sup>T细胞数量增加,且与HCC的预后差密切相关<sup>[12]</sup>。

**同行评价**  
本研究内容很重要,设计合理,研究结果可信,具有很好的临床价值。

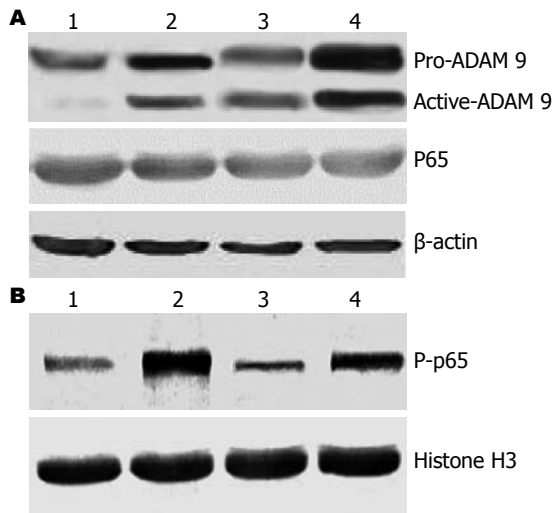


图 5 RhIL-17A对肝癌细胞ADAM 9及P-p65蛋白表达的影响. 1: HepG2空白对照组; 2: HepG2+RhIL-17A(50 ng/mL)组; 3: PLC/PRF/5空白对照组; 4: PLC/PRF/5+RhIL-17A(50 ng/mL)组.

但目前IL-17A在肿瘤发生、发展中的作用仍有争议,有研究认为IL-17A可以通过激活细胞毒性T细胞和增加INF- $\gamma$ 的表达抑制肿瘤的生长和转移<sup>[19,20]</sup>;另一方面其他研究证实IL-17A可以通过改变肿瘤的微环境及影响其他细胞因子的表达促进肿瘤的生长和转移<sup>[9,21]</sup>.本研究也证实了IL-17A在慢性肝病病程发展中的促进作用,其表达水平随着肝炎、肝硬化、肝癌的病程发展逐渐升高,且其表达与肝癌的分期及转移高度相关,也支持了后者的结论.

免疫治疗已成为肝癌治疗研究的热点,但是肝癌如何逃避机体免疫的机制仍不清楚.肿瘤的发生是由化学因素、物理因素、感染或者自身免疫性疾病的慢性刺激通过不同的机制引起肿瘤微环境的改变,触发并招募骨髓和淋巴免疫细胞进入肿瘤微环境中,随后各种宿主细胞释放多种细胞因子,促进或者抑制肿瘤的发生、发展.在这个过程中有哪些细胞因子参与了精细调节促进肿瘤和抗肿瘤之间的平衡目前还不清楚.MICA位于人第6号染色体的MHC-I类区域中,属于MIC基因家族,在消化系统肿瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌等肿瘤细胞中表达上调,被认为是一种肿瘤相关性抗原(tumor associated antigen, TAA)<sup>[22]</sup>.MICA不仅表达于绝大多数肿瘤细胞,而且一些病毒感染细胞、受诱导分化药物处理的细胞及射线照射引起DNA损伤的细胞均有表达,这表明他代表着机体的一种应激反应<sup>[23]</sup>.sMICA是肿瘤细胞削弱MICA-NKG2D系统监视的重要途径,我们既往在结肠

癌中研究发现sMICA分子能使NKG2D内化或降解,显著下调NKG2D的表达,降低特异性T细胞、NK细胞对靶细胞的攻击和杀伤,最终导致肿瘤的免疫逃逸<sup>[24]</sup>.目前已发现的可引起肝癌细胞MICA脱落的基质金属蛋白酶包括MMP 2、ADAM 9、AMAM 10等,我们在结肠癌组织中也证实了AMAM 10与MICA的表达呈负相关<sup>[25,26]</sup>.

我们的研究证实,HCC患者sMICA的含量明显高于肝硬化组、慢性肝炎组及健康人群,且III、IV期肝癌患者又显著高于I、II期;肝硬化组血清中sMICA含量明显高于慢性肝炎组.sMICA水平的升高与IL-17A呈正相关,推测在肝炎发生、发展及纤维化的过程中,细胞发生变性、坏死与再生,肝组织呈炎症改变,IL-17A表达升高,进而可诱导其他细胞因子表达增加,进而使MICA的表达及脱落增加,提示IL-17A除了引起多种细胞因子表达改变外,可能通过增加sMICA的表达进而使肿瘤细胞逃脱免疫监视,促进肿瘤的发展.

为了进一步明确IL-17A对肝癌细胞sMICA的作用及可能机制,我们在体外细胞水平同时选取乙肝表面抗原阳性和阴性的HCC细胞株HepG2和PLC/PRF/5细胞为研究对象,发现RhIL-17A可呈浓度依赖性的增加HCC细胞sMICA的表达,进一步验证了上述结论.由于sMICA的形成与肿瘤细胞膜MICA mRNA表达及基质金属蛋白酶所致的sMICA脱落二方面相关.为进一步探讨IL-17A引起sMICA升高的机制,我们检测加入一定浓度的RhIL-17A后,HepG2和PLC/PRF/5细胞膜固有MICA表达的变化,证实RhIL-17A可以增加HCC细胞MICA mRNA的表达;同时发现RhIL-17A也可以增加HCC细胞ADAM 9和P-p65蛋白的表达,提示IL-17A可能通过双重作用增加sMICA的表达.有报道ADAM 9可能是造成HCC细胞sMICA脱落的主要因素<sup>[27]</sup>,本研究也证实IL-17A可通过增加ADAM 9的表达进而引起sMICA的脱落增加,但这种作用可能并非直接作用.由于IL-17A可以调控许多重要的细胞因子通路<sup>[28-30]</sup>,如IL-17A-NF- $\kappa$ B信号通路,而基质金属蛋白酶如MMP 2、ADAM 9等是NF- $\kappa$ B信号通路的下游靶基因,本研究中P-p65作为NF- $\kappa$ B的活化形式,加入RhIL-17A后其表达增加进一步证实了IL-17A对NF- $\kappa$ B信号通路的激活,我们猜测IL-17A可能上调MICA mRNA表达并通过NF- $\kappa$ B-ADAM 9信号通路增加sMICA的脱落,增

加HCC sMICA的表达, 使细胞逃脱机体固有免疫细胞的免疫监视, 促进肿瘤的发生、发展。但本实验亦存在许多不足之处, 如IL-17A对于sMICA的作用是否主要通过ADAM 9实现, 需要更加直接的证据支持, 如通过siRNA干扰直接阻断ADAM 9的表达后, 观察RhIL-17A对肝癌细胞sMICA表达的影响等。

IL-17A及sMICA与肝癌的发生、发展、分期、转移密切相关, IL-17A可能通过对sMICA及其他细胞因子网络的调控, 改变肿瘤微环境, 使肿瘤细胞发生免疫逃逸。本研究为进一步明确慢性肝脏炎症到肝癌的发生机制、寻找有效的肝癌诊断、治疗监测指标提供线索。

#### 4 参考文献

- Semela D, Dufour JF. Angiogenesis and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2004; 41: 864-880
- 黄涛, 秦建民. 免疫靶向纳米药物在肝癌治疗中的应用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3557-3561
- Utsunomiya T, Shimada M, Imura S, Morine Y, Ike-moto T, Mori M. Molecular signatures of noncancerous liver tissue can predict the risk for late recurrence of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2010; 45: 146-152
- Li J, Lau GK, Chen L, Dong SS, Lan HY, Huang XR, Li Y, Luk JM, Yuan YF, Guan XY. Interleukin 17A promotes hepatocellular carcinoma metastasis via NF- $\kappa$ B induced matrix metalloproteinases 2 and 9 expression. *PLoS one* 2011; 6: e21816
- 王平, 武传星, 吕凌, 张峰. IL-17在原发性肝癌组织中的表达及其临床意义. *中国肿瘤生物治疗杂志* 2011; 18: 216-219
- 夏红天, 郭广宏, 黄晓强, 王敬. 肝癌患者手术前后血管内皮细胞相关细胞因子的变化. *中华肝胆外科杂志* 2011; 17: 554-557
- Kohga K, Takehara T, Tatsumi T, Ohkawa K, Miyagi T, Hiramatsu N, Kanto T, Kasugai T, Katayama K, Kato M, Hayashi N. Serum levels of soluble major histocompatibility complex (MHC) class I-related chain A in patients with chronic liver diseases and changes during transcatheter arterial embolization for hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2008; 99: 1643-1649
- Morisaki T, Onishi H, Koya N, Kiyota A, Tanaka H, Umabayashi M, Ogino T, Nagamatsu I, Katano M. Combinatorial cytotoxicity of gemcitabine and cytokine-activated killer cells in hepatocellular carcinoma via the NKG2D-MICA/B system. *Anticancer Res* 2011; 31: 2505-2510
- He D, Li H, Yusuf N, Elmets CA, Li J, Mountz JD, Xu H. IL-17 promotes tumor development through the induction of tumor promoting microenvironments at tumor sites and myeloid-derived suppressor cells. *J Immunol* 2010; 184: 2281-2288
- 王婷, 张焜和. AFP阴性肝癌的肿瘤标志物诊断的研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3420-3425
- Zhang JP, Yan J, Xu J, Pang XH, Chen MS, Li L, Wu C, Li SP, Zheng L. Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *J Hepatol* 2009; 50: 980-989
- Kuang DM, Peng C, Zhao Q, Wu Y, Zhu LY, Wang J, Yin XY, Li L, Zheng L. Tumor-activated monocytes promote expansion of IL-17-producing CD8<sup>+</sup> T cells in hepatocellular carcinoma patients. *J Immunol* 2010; 185: 1544-1549
- Kohga K, Tatsumi T, Tsunematsu H, Aono S, Shimizu S, Kodama T, Hikita H, Yamamoto M, Oze T, Aketa H, Hosui A, Miyagi T, Ishida H, Hiramatsu N, Kanto T, Hayashi N, Takehara T. Interleukin-1 $\beta$  enhances the production of soluble MICA in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 2012; 61: 1425-1432
- Tsunematsu H, Tatsumi T, Kohga K, Yamamoto M, Aketa H, Miyagi T, Hosui A, Hiramatsu N, Kanto T, Hayashi N, Takehara T. Fibroblast growth factor-2 enhances NK sensitivity of hepatocellular carcinoma cells. *Int J Cancer* 2012; 130: 356-364
- Mantovani A. Role of inflammatory cells and mediators in tumor invasion and metastasis. *Cancer Metast Rev* 2010; 29: 241
- Bortolami M, Kotsafti A, Cardin R, Farinati F. Fas / FasL system, IL-1 $\beta$  expression and apoptosis in chronic HBV and HCV liver disease. *J Viral Hepatitis* 2008; 15: 515-522
- Nakagawa H, Maeda S, Yoshida H, Tateishi R, Masuzaki R, Ohki T, Hayakawa Y, Kinoshita H, Yamakado M, Kato N, Shiina S, Omata M. Serum IL-6 levels and the risk for hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C patients: an analysis based on gender differences. *Int J Cancer* 2009; 125: 2264-2269
- Gabay C, Lamacchia C, Palmer G. IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Nat Rev Rheumatol* 2010; 6: 232-241
- Kryczek I, Wei S, Szeliga W, Vatan L, Zou W. Endogenous IL-17 contributes to reduced tumor growth and metastasis. *Blood* 2009; 114: 357-359
- Hus I, Maciag E, Rolinski J. [The role of Th17 cells in anti-cancer immunity]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2010; 64: 244-250
- Gu FM, Li QL, Gao Q, Jiang JH, Zhu K, Huang XY, Pan JF, Yan J, Hu JH, Wang Z, Dai Z, Fan J, Zhou J. IL-17 induces AKT-dependent IL-6/JAK2/STAT3 activation and tumor progression in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer* 2011; 10: 150
- Gleimer M, Parham P. Stress management: MHC class I and class I-like molecules as reporters of cellular stress. *Immunity* 2003; 19: 469-477
- Gasser S, Raulat DH. The DNA damage response arouses the immune system. *Cancer Res* 2006; 66: 3959-3962
- 贾筱琴, 刘丹, 龚卫娟, 王正兵, 田芳, 季明春. 主要组织相容复合物 I 类相关基因A与直肠癌发病及病程转归的影响. *中华消化杂志* 2007; 21: 60-61
- Zhou C, Liu J, Li Y, Liu L, Zhang X, Ma CY, Hua SC, Yang M, Yuan Q. microRNA-1274a, a modulator of sorafenib induced a disintegrin and metalloproteinase 9 (ADAM9) down-regulation in hepatocellular carcinoma. *FEBS Lett* 2011; 585: 1828-1834
- 刘丹, 田秀春, 肖芹, 王翠梅, 顾学文. 结肠癌组织中MICA和ADAM10的表达及其相关性. *临床与实验病理学杂志* 2011; 27: 652-654
- Kohga K, Takehara T, Tatsumi T, Ishida H, Miyagi T, Hosui A, Hayashi N. Sorafenib inhibits the shedding of major histocompatibility complex class I-related chain A on hepatocellular carcinoma cells by down-regulating a disintegrin and metalloproteinase 9. *Hepatology* 2010; 51: 1264-1273
- Doreau A, Belot A, Bastid J, Riche B, Trescol-



- Biemont MC, Ranchin B, Fabien N, Cochat P, Pouteil-Noble C, Trolliet P, Durieu I, Tebib J, Kas-sai B, Ansieau S, Puisieux A, Eliaou JF, Bonnefoy-Berard N. Interleukin 17 acts in synergy with B cell-activating factor to influence B cell biology and the pathophysiology of systemic lupus erythematosus. *Nat Immunol* 2009; 10: 778-785
- 29 Bond M, Fabunmi RP, Baker AH, Newby AC. Synergistic upregulation of metalloproteinase-9 by growth factors and inflammatory cytokines: an absolute requirement for transcription factor NF-kappa B. *FEBS Lett* 1998; 435: 29-34
- 30 Cheng G, Wei L, Xiurong W, Xiangzhen L, Shiguang Z, Songbin F. IL-17 stimulates migration of carotid artery vascular smooth muscle cells in an MMP-9 dependent manner via p38 MAPK and ERK1/2-dependent NF-kappaB and AP-1 activation. *Cell Mol Neurobiol* 2009; 29: 1161-1168

编辑 李军亮 电编 闫晋利

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>), 提交稿件中出现的问题可以发送E-mail至[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com)咨询, 编务将在1个工作日内回复.

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

**第三步 编辑、修改稿件:** 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该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)

# 门静脉肠系膜上静脉修复重建材料的研究进展

王海涛, 陈强谱

王海涛, 陈强谱, 滨州医学院附属医院肝胆外科及临床营养支持中心 山东省滨州市 256603  
王海涛, 在读硕士, 主治医师, 主要从事肝胆外科血管重建的研究. 山东省科学技术发展计划基金资助项目, No. 2009GG10002047  
山东省医药卫生科技发展计划基金资助项目, No. 2005HW005  
烟台市科学技术发展计划基金资助项目, No. 2009168  
作者贡献分布: 本文综述由王海涛完成; 陈强谱审校.  
通讯作者: 陈强谱, 教授, 主任医师, 256603, 山东省滨州市黄河二路661号, 滨州医学院附属医院肝胆外科及临床营养支持中心). drcqp@263.net  
电话: 0543-3257197  
收稿日期: 2012-06-12 修回日期: 2012-08-20  
接受日期: 2012-09-03 在线出版日期: 2012-09-18

## Progress in research of vascular grafts for portal vein/superior mesenteric vein reconstruction

Hai-Tao Wang, Qiang-Pu Chen

Hai-Tao Wang, Qiang-Pu Chen, Department of Hepatobiliary Surgery & Clinical Nutrition Support Center, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China  
Supported by: the Science and Technology Development Program of Shandong Province, No.2009GG10002047; the Medical Health Science and Technology Development Program of Shandong Province, No.2005HW005; and the Science and Technology Development Program of Yantai, No.2009168  
Correspondence to: Qiang-Pu Chen, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery & Clinical Nutrition Support Center, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China. drcqp@263.net  
Received: 2012-06-12 Revised: 2012-08-20  
Accepted: 2012-09-03 Published online: 2012-09-18

## Abstract

Portal vein/superior mesenteric vein reconstruction is applied more and more broadly in abdominal surgery. This reconstructive surgery can improve radical resection rate and prolong survival in patients with abdominal carcinoma, expand the indications for liver transplantation, and increase the success rate of liver transplantation. Selection of a suitable vascular graft is key to the success of the surgery. Currently available vascular grafts include autogenous veins, ligamentum teres hepatis, artificial blood vessels, allograft veins, peritoneal patch, and pericardiac patch. This review aims to summarize recent

progress in basic research, clinical application of vascular grafts for portal vein/superior mesenteric vein.

**Key Words:** Portal vein; Superior mesenteric vein; Vascular grafts; Vascular reconstruction; Pancreatic carcinoma; Liver transplantation

Wang HT, Chen QP. Progress in research of vascular grafts for portal vein/superior mesenteric vein reconstruction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2467-2473

## 摘要

近年来, 门静脉(portal vein, PV)/肠系膜上静脉(superior mesenteric vein, SMV)修复重建技术在腹部外科应用越来越多. 在腹部肿瘤手术中, 此种手术提高了肿瘤切除率, 延长了患者存活时间; 在肝移植手术中, 此种手术扩大了手术适应证, 提高了肝移植手术的成功率. 最终使患者获益. 血管修复重建材料的选择是该手术非常关键的一环. 目前可供选择的材料有自体静脉、肝圆韧带、人工血管、异体静脉、心包补片、腹膜补片等. 本文就门静脉/肠系膜上静脉修复重建材料的基础研究、临床应用及并发症等方面进行综述.

**关键词:** 门静脉; 肠系膜上静脉; 血管移植物; 血管重建; 胰腺癌; 肝移植

王海涛, 陈强谱. 门静脉肠系膜上静脉修复重建材料的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20(26): 2467-2473  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2467.asp>

## 0 引言

近年来, 随着外科理论研究的进展和手术操作技术的提高, 门静脉(portal vein, PV)/肠系膜上静脉(superior mesenteric vein, SMV)修复重建技术在腹部外科应用越来越多. 在胰腺癌<sup>[1-3]</sup>、肝门部胆管癌<sup>[4,5]</sup>、肝癌<sup>[6,7]</sup>、腹膜后肿瘤<sup>[8]</sup>等腹部肿瘤手术中, 联合PV/SMV切除修复重建, 可显著提高肿瘤切除率, 延长患者存活时间<sup>[2,4,9]</sup>. 对可切除及交界性可切除的胰腺癌, 胰十二指肠切除合并PV/SMV的切除重建得到专家推荐<sup>[10]</sup>. 一

## ■背景资料

近年来, 在胰腺癌、肝门部胆管癌、肝癌、腹膜后肿瘤等腹部肿瘤手术及肝移植手术中, 门静脉/肠系膜上静脉修复重建技术得到广泛应用. 血管修复重建材料的选择是该手术的关键点之一, 而目前理想的静脉修复重建材料不多.

## ■同行评议者

朱亮, 副教授, 大连医科大学生理教研室

## ■ 研发前沿

目前可以用于门静脉/肠系膜上静脉修复重建的材料有自体静脉、肝圆韧带、人工血管、异体静脉、心包补片、腹膜补片等。

般认为切除静脉的周径不足1/3时,可以将静脉直接缝合修补;切除静脉的周径在1/3-1/2时,可以用补片方式修复静脉;受侵静脉超过1/2周径,一般行静脉节段性切除。如果切除静脉的长度<3-4 cm,可直接行对端吻合;如果>5 cm,经常需要血管修复重建材料替代,以恢复静脉的连续性<sup>[11]</sup>。在肝移植手术中,PV/SMV修复重建技术解决了血管短缺的问题,使活体肝移植和复杂肝移植获得成功<sup>[12-14]</sup>。该技术扩大了手术的适应证,提高了手术的成功率,最终使患者获益。血管修复重建材料的选择是该手术非常关键的一环。目前可供选择的材料有自体静脉、肝圆韧带、人工血管、异体静脉、心包补片、腹膜补片等。本文拟就门静脉肠系膜上静脉修复重建材料的基础研究、临床应用及并发症等方面进行综述。

## 1 自体静脉

自体静脉取材方便,无免疫排斥反应,血栓发生率较低,远期通畅率高,经济廉价。临床可供利用的自体静脉有大隐静脉、小隐静脉、股浅静脉、髂内静脉、髂外静脉、颈内静脉、脾静脉、左肾静脉、卵巢静脉等。修复重建的方式有旁路导管、间置移植、补片以及血管整形(例如做成螺旋形或圆柱形等,匹配不同管径的静脉)。但自体静脉存在取材增加机体损伤、血管口径匹配较差、利用长度受限等缺点。

**1.1 大隐静脉** 大隐静脉起自足背静脉弓内侧,经内踝前方,至耻骨结节外下方注入股静脉,全长72 cm。大腿上部、膝部、小腿中下1/3的管径分别为0.40、0.31、0.16 cm。大隐静脉具有理想的长度,各段可以匹配不同管径的血管,并且可以纵行剖开并排整形或螺旋整形,更好地进行血管匹配<sup>[1,7,15]</sup>。大隐静脉借穿静脉与深静脉交通,取材后一般不会引起下肢水肿影响下肢功能。经内镜获取大隐静脉与开放手术相比,对血管的损伤无明显差别<sup>[15]</sup>,而对机体的创伤更小,并满足了人们的美容要求。房巨波等<sup>[16]</sup>在胰腺癌根治性切除手术中,利用自体大隐静脉重建PV和SMV 2例,效果良好。Sakamoto等<sup>[17]</sup>利用自体大隐静脉整形,制成直径1 cm的圆柱形,行转移性肝癌肝静脉切除重建3例、胰腺癌门静脉切除重建2例;制成补片,行胰腺癌门静脉切除修补1例,手术均获成功,术后无静脉血栓形成和小腿水肿等并发症。Chen等<sup>[14]</sup>在活体肝移植中,利用3段大隐静脉纵行剖开拼接整形,间置重建门静脉。术后超声多普勒复查,血管腔内无血栓形成,

下肢无水肿。但是临床上有超过30%的患者无法利用大隐静脉<sup>[18]</sup>。主要原因有:(1)大隐静脉已经作为移植材料用于冠状动脉或肢体动脉旁路转流;(2)大隐静脉曲张已行手术切除;(3)大隐静脉管径过细、分叉变异,有效长度不够;(4)大隐静脉血栓形成、管壁炎性改变等。

**1.2 小隐静脉** 小隐静脉起自足背静脉弓外侧,经外踝后方,沿小腿后面上行,汇入腓静脉。小隐静脉的长度为40 cm,小隐静脉在外踝平面和内踝端的管径分别为0.25、0.24 cm。目前临床上很少利用小隐静脉,原因可能是小隐静脉位置偏后取材不便、小隐静脉管径偏细。目前有应用小隐静脉行原位旁路术治疗下肢动脉缺血性疾病的报道<sup>[19]</sup>。大隐静脉无法利用时可以考虑小隐静脉。

**1.3 股浅静脉** 股浅静脉由腓静脉移行而来,在下肢后部上行,与股深静脉汇成股总静脉。股浅静脉远端直径1.62 cm,近端直径1.77 cm。股浅静脉的切取方法为<sup>[20]</sup>:在大腿前面中上部,平行于缝匠肌外侧缘做一长约10-12 cm皮肤切口,将缝匠肌向内牵拉,游离并显露股浅静脉,仔细结扎属支,保护隐神经。在股深与股总静脉汇合处,断扎近端股浅静脉,获取长度约4-5 cm。股浅静脉不易扭结弯曲、管径较大,适合PV/SMV的重建。如果供肢大隐静脉正常、股深静脉通畅,下肢静脉回流无明显影响。Fleming等<sup>[20]</sup>在胰腺癌联合PV/SMV切除后,利用自体股浅静脉间置重建效果良好。Lee等<sup>[1]</sup>利用股浅静脉行PV/SMV间置重建15例,补片修补4例,8例患者术后出现下肢轻度水肿,5例患者有获取血管的切口区并发症,血管的通畅性良好。Sato等<sup>[12]</sup>对4例合并门静脉血栓的肝右叶活体肝移植患者,利用受体的股浅静脉间置重建门静脉手术获得成功。术后2 mo和35 mo分别有2例患者死于多器官功能衰竭。

针对股浅静脉切除后影响下肢功能的担心,Fleming等<sup>[20]</sup>研究了120例切除股浅静脉的下肢,经过37 mo的随访,结果显示2/3以上的患者无静脉并发症(包括不可控的水肿、皮肤改变、脂性硬皮病、静脉性跛行、静脉性溃疡),只有13%的患者需长期穿弹力袜。针对股浅静脉切除后下肢深静脉血栓形成的担忧,Fleming等术后1 wk行血管多普勒检查切除股浅静脉的下肢,发现22%(19例)的患者有下肢静脉血栓。后来证实,其中84%(16例)发生在结扎的股浅静脉远端,未行抗凝治疗,并且没有继续累及腓肠静脉;15%(3例)是近端深静脉血栓,考虑是技术过失

导致切取的股浅静脉超过或齐平股深静脉和股总静脉的汇合平面, 经抗凝治疗全部治愈. 以上研究证实, 股浅静脉可以用于PV/SMV的修复重建.

**1.4 髂内静脉、髂外静脉** 髂内静脉位于盆腔侧后壁、髂内动脉侧后方, 收集膀胱、子宫、直肠等器官的静脉回流. 一侧髂内静脉切除后, 可通过对侧及盆壁侧支代偿, 盆腔脏器功能不受影响. 髂内静脉近端管径1.09-1.12 cm. 距髂总静脉分叉7 cm处的管径为0.80-0.85 cm, 与PV/SMV的管径相匹配, 管壁厚度亦相近. 管腔内无瓣膜, 距髂总静脉3 cm以内无血管分支, 向下结扎2-3个分支可游离7 cm长的血管<sup>[21]</sup>. 陈焰等<sup>[21]</sup>报告2例胰头癌患者行胰十二指肠扩大切除术并SMV重建, 均以5 cm长的髂内静脉间置重建成功, 患者术后未出现血管栓塞、肠坏死、肝衰竭等情况, 随访6、16 mo, 无血管栓塞和复发迹象. Nakao等<sup>[22]</sup>和Leon等<sup>[23]</sup>分别报道了2例和1例胰腺癌根治切除术并PV切除病例, 均利用髂内静脉行PV重建, 术后患者恢复良好.

髂外静脉为股静脉的延续, 起自腹股沟韧带的后方, 沿骨盆缘上行, 至骶髂关节前与髂内静脉汇合, 形成髂总静脉. 髂外静脉的获取方法为<sup>[24]</sup>: 术中在右侧腹股沟区取第2个切口, 腹膜外游离髂外静脉, 保护腹壁下静脉及闭孔静脉的耻骨支, 必要时切断旋髂深静脉, 切取所需长度的静脉段. Kaneoka等<sup>[24]</sup>在60例肝胆胰恶性肿瘤手术中, 利用髂外静脉修复重建门静脉45例、肝静脉15例, 手术死亡率为1.6%. 术后移植物梗阻3例, 其中门静脉重建1例, 肝静脉重建2例; 移植物并发症有3例, 切除静脉的断端出血、右下肢皮肤溃疡、右下肢严重隆起和感觉异常各1例. Okano等<sup>[6]</sup>在肝脏恶性肿瘤的手术中, 利用髂外静脉重建肝静脉5例, 术后出现手术同侧下肢暂时水肿4例、腹水2例, 无死亡病例, CT随访血管通畅. 髂外静脉切取后对下肢功能的影响, 还需要进一步研究.

**1.5 颈内静脉** 颈内静脉是乙状窦的延续, 起自颈静脉孔, 沿颈内动脉和颈总动脉外侧下行, 在胸锁关节后方, 与锁骨下静脉汇合成头臂静脉. 在甲状软骨上缘水平, 颈内静脉管径为1.2 cm, 血管的管径、壁厚与PV相当. 颈内静脉单侧切除不影响功能, 但应避免损伤迷走神经干. 联合PV/SMV切除重建的胰十二指肠切除术, Tseng等<sup>[25]</sup>报告了126例, 采用颈内静脉间置重建的有55例, 占43.7%; Fuhrman等<sup>[26]</sup>报告23例, 多数利用

颈内静脉重建; 国内李强等<sup>[27]</sup>报道6例, 全部利用颈内静脉重建, 患者平均生存期为23.2 mo, 无围手术期死亡, 其中2例术后无瘤生存已超过3年.

**1.6 脾静脉** 脾静脉起自脾门, 经脾动脉下方和胰腺后方右行, 与肠系膜上静脉汇合成门静脉. 脾静脉管径0.53 cm, 与SMV管径相近, 解剖相邻, 重建SMV较为方便. Kawada等<sup>[28]</sup>在28例胰腺癌联合PV/SMV切除重建的患者中, 有2例利用脾静脉重建PV/SMV. 彭承宏等<sup>[29]</sup>报道3例患者利用脾静脉重建PV/SMV, 效果满意, 作者提示术后可能出现脾胃区静脉回流障碍. Fuhrman等<sup>[26]</sup>注意到在联合PV/SMV切除的胰腺癌根治术中, 切除一段脾静脉并结扎远端, 引起左侧门静脉高压, 导致胃肠道出血. 处理方法: 一是结扎近端脾动脉; 二是将脾静脉与左肾静脉吻合.

**1.7 左肾静脉** 左肾静脉直径1.6 cm, 长度6.8 cm. 近端从左肾静脉汇入下腔静脉处开始, 远端到肾上腺静脉的近端, 可获取长度约5 cm<sup>[30]</sup>. 左肾静脉与PV管径相近, 解剖相邻, 获取方便. 左肾静脉切除后可以通过左肾上腺静脉和左侧生殖腺静脉代偿, 一般不影响肾脏功能. Suzuki等<sup>[31]</sup>报道14例肝胆胰恶性肿瘤合并门静脉切除术, 术中全部采用左肾静脉重建PV. 术后18 mo复查, 门静脉通畅, 肾脏功能无明显影响. Choudry等<sup>[30]</sup>利用左肾静脉重建PV/SMV, 术后通过影像学方法证实了移植物血流通畅, 并且术后血肌酐无增高, 围手术期及术后无严重的肾功损害. 他们认为利用左肾静脉重建PV/SMV, 手术可行、简单适用.

**1.8 卵巢静脉** 卵巢静脉由卵巢静脉丛及子宫的大静脉支汇合形成, 在卵巢悬韧带内上行, 跨过输尿管, 右侧汇入下腔静脉, 左侧汇入左肾静脉. 卵巢静脉的直径为0.3 cm. Kubota等<sup>[32]</sup>在肝部分切除并胰十二指肠切除术中, 切取5 cm长的右侧卵巢静脉, 从中间横断, 再纵行剖开, 拼接成2.5 cm×2.0 cm补片, 分别修复重建门静脉和右肝静脉取得成功. Saiura等<sup>[7]</sup>、Miyazaki等<sup>[33]</sup>也有利用卵巢静脉补片成功修补肝静脉的类似报道.

## 2 自体其他组织

**2.1 肝圆韧带** 肝圆韧带是胚胎时的左脐静脉闭锁退化而成, 分为内膜、中膜和外膜3层. 朱文涛等<sup>[34]</sup>研究证实: 肝圆韧带管壁主要由胶原纤维、弹性纤维和平滑肌构成, 保留了血管壁的结构特征. 肝圆韧带具有潜在性腔隙, 可以扩张再通, 再通的管腔存在内皮细胞, 理论上可以利

## ■ 相关报道

Tseng等报道了12年间单中心572例胰十二指肠切除术, 其中有126例(22%)行联合门静脉/肠系膜上静脉切除重建, 包括静脉部分切除36例(28.6%), 利用大隐静脉补片修复重建; 静脉节段切除直接吻合35例(27.8%); 静脉节段切除颈内静脉间置重建55例(43.7%).

### ■创新盘点

利用肝圆韧带进行腹部静脉重建是一种新的尝试,肝圆韧带保留了脐静脉的管壁结构特征,能够扩张再通,再通的管腔存在内皮细胞,理论依据存在,并且肝圆韧带取材方便,机体损伤小,无免疫排斥反应,具有良好的应用前景。

用肝圆韧带进行血管重建。2006年陈强谱等<sup>[35-38]</sup>在国内率先报道利用扩张再通的肝圆韧带进行血管修复重建。他们对4例胰十二指肠切除术联合PV/SMV切除的患者,利用再通的肝圆韧带间置重建PV/SMV<sup>[35]</sup>,术后随访表明,重建血管通畅,无血栓形成。他们还利用该技术行肠腔“H”分流术治疗门脉高压<sup>[36,37]</sup>,术后肝圆韧带桥血流通畅,门静脉压力下降、食管胃底静脉曲张消失、肝功能改善、无上消化道再出血,无围手术期死亡及严重术后并发症。此外他们还将肝圆韧带制成补片修复重建下腔静脉<sup>[38]</sup>,亦取得效果良好。在国外,2010年Saiura等<sup>[7]</sup>报道腹部肿瘤切除后利用肝圆韧带补片修复重建肝静脉3例,效果良好。在成人间活体肝移植手术中,Sato等<sup>[39]</sup>为预防肝移植后小体积肝综合征,利用受体肝圆韧带行门腔“H”分流术4例。移植早期,通畅的门腔分流能够解决小体积肝移植后再次门脉高压、肝功能障碍的问题。肝脏再生后,门腔分流逐渐减少直至肝圆韧带闭锁,保证了向肝血流,避免了移植物萎缩、肝功能障碍,实现了自动分流的目的,效果良好。肝圆韧带取材方便,机体损伤小,无免疫排斥反应,具有良好的应用前景。

**2.2 腹膜补片** 腹膜间皮细胞和血管内皮细胞同属单层扁平上皮,均来源于中胚层,在胚胎发育的第3周开始逐渐分化。腹膜间皮细胞和血管内皮细胞均具有分泌、吸收和保护功能。Hernando等<sup>[40]</sup>发现两种细胞均能分泌血浆酶原激酶、前列环素(PGI<sub>2</sub>),并具有抗血小板凝集作用。Chin等<sup>[41]</sup>应用自体腹膜补片修补因肿瘤切除的下腔静脉6例,经随访除1例因肝脏平滑肌肉瘤死亡外,其余5例无静脉血栓和静脉瘤形成。Emmiler等<sup>[42]</sup>和Akimaru等<sup>[43]</sup>分别有腹膜补片重建下腔静脉和中肝静脉的个例经验,临床效果都较好。Yoshioka等<sup>[44]</sup>、Salimi等<sup>[45]</sup>和陈伟强等<sup>[46]</sup>分别将腹膜制成腹膜管进行血管间置的动物实验,研究结果显示:腹膜管通畅性良好,并分别于术后14 d、2 mo、3 mo观察到腹膜管管腔完全内皮化。腹膜可以尝试作为PV/SMV修复重建材料。

**2.3 心包补片** 心包由纤维心包和浆膜心包组成,浆膜心包分脏壁两层,浆膜表面被覆一层间皮。它具有减轻炎症反应,抑制纤维组织增生和新生血管形成等作用<sup>[47]</sup>。心包片表面光滑、不易引起血栓,有一定弹性、韧性,与静脉血管壁相容性强,无排异反应,经久耐用。Inafuku等<sup>[48]</sup>报道了利用心包补片重建下腔静脉治疗布-加综合征

30年经验,共治疗53例患者,其中2例住院期间死亡,15例近期死亡。平均随访7.6年±6.5年,重建的下腔静脉3例完全狭窄,2例严重狭窄,累计5年、10年通畅率分别为89.8%、70.7%。Togo等<sup>[49,50]</sup>在2例结肠癌肝脏转移的手术中,行肝脏S1段合并下腔静脉切除和肝脏S8段合并右肝静脉切除时,则有利用心包补片修复重建成功的经验,重建后18、14 mo静脉保持通畅。

### 3 同种异体静脉

同种异体静脉与腹部静脉有相似的管壁结构,管径匹配较好,可以行PV/SMV的修复重建。主要有新鲜静脉和降低抗原性处理的静脉两种。降低抗原性的处理方法有:(1)<sup>60</sup>Co γ射线照射处理<sup>[51]</sup>;(2)经戊二醛处理<sup>[52]</sup>;(3)冷保存处理<sup>[5]</sup>;(4)经多聚环氧化物处理<sup>[53]</sup>。

郑树森等<sup>[54]</sup>在3例联合PV/SMV切除的胰腺癌根治术中,从肝移植供肝中获得5 cm长新鲜PV段,重建PV,患者恢复顺利。术后未应用免疫抑制剂及抗凝剂,术后彩超和CT均显示PV无狭窄或血栓形成。Hwang等<sup>[5]</sup>在2例肝门部胆管癌联合PV切除术中,利用冷保存的尸体髂静脉行PV重建。1例术后27 mo复查血管保持通畅。另1例术后4 mo复查,吻合口周围出现狭窄,行球囊扩张,术后12 mo复查血管通畅。

在肝移植手术的血管重建中,经常利用异体静脉重建PV/SMV<sup>[13,55]</sup>,使血管短缺的成人间活体肝移植、终末期肝病合并PV血栓的肝移植等复杂肝移植获得成功,从而扩大了手术适应证,提高了手术成功率,使更多的患者受益。Sugawara等<sup>[56]</sup>发现,23例成人间活体肝移植中,利用冷保存的异体静脉补片重建PV,5年首次血管通畅率仅为58%,二次通畅率为79%。作者认为,成人间活体肝移植PV重建应该限制利用冷保存的异体静脉。

目前利用同种异体静脉进行血管重建的病例还较少。异体静脉始终存在免疫排斥反应,耐久性差,瘤样扩张发生率高,远期通畅率不高,影响治疗效果。今后应加强降低抗原性和促进内皮细胞再生的研究。

### 4 人工血管

人工血管的优点是:来源广泛,可以批量生产,易于保存;缺点是:组织相容性差,容易形成血栓,远期通畅率不高,价格较高。目前可以进行血管重建的人工血管有:真丝血管、涤纶血



管、聚四氟乙烯(polytetrafluoroethylene, PTFE)血管、聚氨酯血管、组织工程血管等. 在PV/SMV修复重建中应用最多的是PTFE血管. PTFE是一种微孔材料, 易于组织的黏附, 其表面带负电荷, 可以阻止血小板的黏附; PTFE表面光滑, 不必预凝, 较其他人工血管具有更大的抗血栓性; PTFE生物相容性较好, 与周围组织反应较轻, 并有较好的生物稳定性, 不会在体内退化, 因此是目前应用最广泛的人工血管. 聚氨酯血管因血管内皮化快, 血管内膜增殖减少而颇受瞩目<sup>[57]</sup>. 组织工程血管是目前血管重建材料研究的热点之一, 相关研究从植入细胞到支架材料进行探索, 目前还未应用于临床.

Stauffer等<sup>[58]</sup>在胰十二指肠切除术联合PV/SMV切除重建的28例患者中, 利用PTFE补片1例、PTFE血管间置9例, 术后1例发生门静脉血栓, 无人工血管感染. 曲兴龙等<sup>[8]</sup>报告腹膜后肿瘤联合血管切除12例, 10例患者利用PTFE血管间置重建, 其中重建静脉8例, 包括下腔静脉4例、门静脉1例、左肾静脉1例、髂总静脉2例, 无围手术期死亡, 10例患者平均随访18 mo, 有6例仍存活. 应用体会是: PTFE血管吻合后应无张力, 重建完成后最好用大网膜等覆盖, 避免与胃肠等吻合口直接接触, 以防人工血管感染. Chu等<sup>[3]</sup>进行了胰十二指肠切除术联合PV/SMV切除PTFE血管重建的多中心分析, 综合3个治疗中心的资料, 共有33例患者入选. 平均随访14 mo, 证实胰十二指肠切除术后PTFE血管重建PV/SMV的总体通畅率为76%. Yi等<sup>[59]</sup>在活体右半肝移植中, 对26例缺乏中肝静脉的患者, 采用直径6-7 mm的膨化聚四氟乙烯血管重建肝脏流出道, 利用CT评价移植植物通畅性, 术后1 mo的通畅率为80.8%, 4 mo的通畅率为38.5%, 移植植物晚期阻塞后患者无症状, 他们认为膨化聚四氟乙烯是活体肝移植有用的血管重建材料.

## 5 结论

理想的静脉移植植物应具抗血栓、匹配的管径和弹性、经久耐用等特点. 其中以抗血栓性最为重要. 依据目前研究, 进行PV/SMV修复重建时, 可首选自体静脉材料, 次选人工血管. 异体静脉的长期保存及免疫排斥问题尚未解决, 临床上还难以推广. 自体肝圆韧带在重建PV/SMV方面已显示出一些优点. PTFE血管的临床应用经验日益丰富, 组织工程血管及纳米仿生血管的研制正方兴未艾. 因此, 应该继续加强静脉修复重

建材料的研究.

## 6 参考文献

- Lee DY, Mitchell EL, Jones MA, Landry GJ, Liem TK, Sheppard BC, Billingsley KG, Moneta GL. Techniques and results of portal vein/superior mesenteric vein reconstruction using femoral and saphenous vein during pancreaticoduodenectomy. *J Vasc Surg* 2010; 51: 662-666
- Chua TC, Saxena A. Extended pancreaticoduodenectomy with vascular resection for pancreatic cancer: a systematic review. *J Gastrointest Surg* 2010; 14: 1442-1452
- Chu CK, Farnell MB, Nguyen JH, Stauffer JA, Kooby DA, Sclabas GM, Sarmiento JM. Prosthetic graft reconstruction after portal vein resection in pancreaticoduodenectomy: a multicenter analysis. *J Am Coll Surg* 2010; 211: 316-324
- Hemming AW, Mekeel K, Khanna A, Baquerizo A, Kim RD. Portal vein resection in management of hilar cholangiocarcinoma. *J Am Coll Surg* 2011; 212: 604-613; discussion 613-616
- Hwang S, Ha TY, Jung DH, Park JI, Lee SG. Portal vein interposition using homologous iliac vein graft during extensive resection for hilar bile duct cancer. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 888-892
- Okano K, Oshima M, Suzuki Y. Hepatic venous outflow reconstruction using an external iliac vein graft for hepatic malignancies (with video). *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012; 19: 85-90
- Saiura A, Yamamoto J, Sakamoto Y, Koga R, Seki M, Kishi Y. Safety and efficacy of hepatic vein reconstruction for colorectal liver metastases. *Am J Surg* 2011; 202: 449-454
- 曲兴龙, 陈福真. 腹膜后肿瘤切除联合重要血管重建12例. *中国癌症杂志* 2008; 18: 234-236
- 朱文涛, 陈强谱, 张帆. 联合门静脉肠系膜上静脉切除与重建的胰腺癌手术临床应用及评价. *中华临床医师杂志(电子版)* 2011; 5: 105-108
- Evans DB, Farnell MB, Lillemoe KD, Vollmer C, Strasberg SM, Schulick RD. Surgical treatment of resectable and borderline resectable pancreas cancer: expert consensus statement. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 1736-1744
- 管清海, 陈强谱, 张长习. 血管移植植物在腹部静脉修复重建中的应用. *中国现代普通外科进展* 2011; 14: 299-301
- Sato K, Sekiguchi S, Watanabe T, Enomoto Y, Akamatsu Y, Kawagishi N, Miyagi S, Takeda I, Sato A, Fujimori K, Satomi S. The use of recipient superficial femoral vein as a venous graft for portal vein reconstruction in right lobe living donor liver transplantation. *Transplant Proc* 2009; 41: 195-197
- 徐明清, 严律南, 李波, 曾勇, 文天夫, 赵纪春, 王文涛, 杨家印, 马玉奎, 程哲宇, 张中伟. 成人活体右半肝移植术中变异门静脉右支切取与重建技术. *中华外科杂志* 2008; 46: 170-172
- Chen CL, Concejero AM, Wang CC, Wang SH, Liu YW, Yong CC, Yang CH, Jordan AP, Cheng YF. Remodeled saphenous vein as interposition graft for portal vein reconstruction in living donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2007; 13: 1472-1475
- Chiu KM, Chu SH, Chen JS, Li SJ, Chan CY, Chen KS. Spiral saphenous vein graft for portal vein reconstruction in pancreatic cancer surgery. *Vasc Endovascular Surg* 2007; 41: 149-152

## ■应用要点

门静脉/肠系膜上静脉修复重建的方式有: 旁路导管、间置移植、补片以及血管整形. 例如做成螺旋形或圆柱形等, 匹配不同管径的静脉.

### ■名词解释

组织工程血管: 利用患者自身的细胞经体外培养种植于血管基质上, 在短时间内构建具有内皮细胞和平滑肌细胞以及血管细胞外基质的新生血管。

- 16 房巨波, 朱建平, 栗洪升, 张洪宇. 门静脉节段切除治疗进展期胰腺癌. *中华普通外科杂志* 2002; 17: 590-592
- 17 Sakamoto Y, Yamamoto J, Saiura A, Koga R, Koku-do N, Kosuge T, Yamaguchi T, Muto T, Makuuchi M. Reconstruction of hepatic or portal veins by use of newly customized great saphenous vein grafts. *Langenbecks Arch Surg* 2004; 389: 110-113
- 18 Neville RF, Tempesta B, Sidway AN. Tibial bypass for limb salvage using polytetrafluoroethylene and a distal vein patch. *J Vasc Surg* 2001; 33: 266-271; discussion 271-272
- 19 王朝生, 刘昌华, 何敢想, 徐泽, 田诗政, 张双胜, 袁尚荣, 宋照祥. 小隐静脉原位旁路术治疗下肢动脉缺血症. *中国普外基础与临床杂志* 1999; 6: 230-232
- 20 Fleming JB, Barnett CC, Clagett GP. Superficial femoral vein as a conduit for portal vein reconstruction during pancreaticoduodenectomy. *Arch Surg* 2005; 140: 698-701
- 21 陈焰, 管小青, 吴际生, 张亚锦, 朱信强, 吴骥. 髂内静脉在胰十二指肠扩大切除术中应用的可行性研究. *中国医师进修杂志* 2008; 31: 15-17
- 22 Nakao A, Takeda S, Sakai M, Kaneko T, Inoue S, Sugimoto H, Kanazumi N. Extended radical resection versus standard resection for pancreatic cancer: the rationale for extended radical resection. *Pancreas* 2004; 28: 289-292
- 23 Leon LR, Hughes JD, Psalms SB, Guerra R, Biswas A, Prasad A, Krouse RS. Portomesenteric reconstruction during Whipple procedures: review and report of a case. *Vasc Endovascular Surg* 2007; 41: 537-546
- 24 Kaneoka Y, Maeda A, Isogai M. Surgical outcome of autologous external iliac vein grafting in cases of hepato-pancreato-biliary malignancy: how I do it. *J Gastrointest Surg* 2012; 16: 1590-1596
- 25 Tseng JF, Raut CP, Lee JE, Pisters PW, Vauthey JN, Abdalla EK, Gomez HF, Sun CC, Crane CH, Wolff RA, Evans DB. Pancreaticoduodenectomy with vascular resection: margin status and survival duration. *J Gastrointest Surg* 2004; 8: 935-949; discussion 949-950
- 26 Fuhrman GM, Leach SD, Staley CA, Cusack JC, Charnsangavej C, Cleary KR, El-Naggar AK, Fenoglio CJ, Lee JE, Evans DB. Rationale for en bloc vein resection in the treatment of pancreatic adenocarcinoma adherent to the superior mesenteric-portal vein confluence. *Pancreatic Tumor Study Group. Ann Surg* 1996; 223: 154-162
- 27 李强, 李慧镕, 郝希山. 胰头癌联合门静脉区域切除的临床价值. *中华普通外科杂志* 2007; 22: 902-904
- 28 Kawada M, Kondo S, Okushiba S, Morikawa T, Katoh H. Reevaluation of the indications for radical pancreatectomy to treat pancreatic carcinoma: is portal vein infiltration a contraindication? *Surg Today* 2002; 32: 598-601
- 29 彭承宏, 程东峰, 沈柏用, 陶宗元, 韩宝三, 陈泉宁, 邓侠兴, 陈皓, 周光文, 李宏为. 自体脾静脉移植在门静脉和肠系膜上静脉联合切除的胰十二指肠切除术中的应用. *外科理论与实践* 2007; 12: 213-217
- 30 Choudry H, Avella D, Garcia L, Han D, Staveley-O'Carroll K, Kimchi E. Use of the left renal vein as a practical conduit in superior mesenteric vein reconstruction. *J Surg Res* 2008; 146: 117-120
- 31 Suzuki T, Yoshidome H, Kimura F, Shimizu H, Ohtsuka M, Kato A, Yoshitomi H, Nozawa S, Sawada S, Miyazaki M. Renal function is well maintained after use of left renal vein graft for vascular reconstruction in hepatobiliary-pancreatic surgery. *J Am Coll Surg* 2006; 202: 87-92
- 32 Kubota K, Makuuchi M, Sugawara Y, Midorikawa Y, Sakamoto Y, Takayama T, Harihara Y. Reconstruction of the hepatic and portal veins using a patch graft from the right ovarian vein. *Am J Surg* 1998; 176: 295-297
- 33 Miyazaki M, Ito H, Kimura F, Shimizu H, Togawa A, Ohtsuka M, Yoshidome H, Kato A, Yoshitomi H, Sawada S, Ambiru S. Hepatic vein reconstruction using autologous vein graft for resection of advanced hepatobiliary malignancy. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 1581-1585
- 34 朱文涛, 陈强谱, 张长习, 管清海, 张帆, 黄槩. 成人肝圆韧带的解剖学与组织学观察. *中华临床医师杂志(电子版)* 2011; 5: 2078-2080
- 35 陈强谱, 欧琨, 管清海, 张帆, 林绪涛. 肝圆韧带重建门静脉/肠系膜上静脉的可行性探讨. *山东医药* 2006; 46: 7-8
- 36 陈强谱, 欧琨, 管清海, 张帆, 王建明. 肝圆韧带桥式分流联合断流术治疗门静脉高压症. *滨州医学院学报* 2005; 28: 321-323
- 37 陈强谱, 欧琨, 管清海, 张兴元. 肝圆韧带在门静脉高压症桥式分流术中的应用. *中国实用外科杂志* 2006; 26: 7-8
- 38 陈强谱, 张兴元, 管清海, 张帆, 张长习, 刘云建, 黄槩. 利用肝圆韧带补片修复重建下腔静脉二例. *中华临床医师杂志(电子版)* 2009; 3: 78-79
- 39 Sato Y, Oya H, Yamamoto S, Kobayashi T, Hara Y, Kokai H, Hatakeyama K. Method for spontaneous constriction and closure of portocaval shunt using a ligamentum teres hepatis in small-for-size graft liver transplantation. *Transplantation* 2010; 90: 1200-1203
- 40 Hernando A, García-Honduvilla N, Bellón JM, Buján J, Navlet J. Coatings for vascular prostheses: mesothelial cells express specific markers for muscle cells and have biological activity similar to that of endothelial cells. *Eur J Vasc Surg* 1994; 8: 531-536
- 41 Chin PT, Gallagher PJ, Stephen MS. Inferior vena caval resection with autogenous peritoneo-fascial patch graft caval repair: a new technique. *Aust N Z J Surg* 1999; 69: 391-392
- 42 Emmiler M, Kocogullari CU, Yilmaz S, Cekirdekci A. Repair of the inferior vena cava with autogenous peritoneo-fascial patch graft following abdominal trauma: a case report. *Vasc Endovascular Surg* 2008; 42: 272-275
- 43 Akimaru K, Onda M, Tajiri T, Yoshida H, Yokomuro S, Mamada Y, Tani N, Yoshioka M, Mineta S. Middle hepatic vein reconstruction using a peritoneal patch: report of a case. *Surg Today* 2002; 32: 75-77
- 44 Yoshioka M, Onda M, Tajiri T, Akimaru K, Mineta S, Hirakata A, Takubo K. Reconstruction of the portal vein using a peritoneal patch-graft. *Am J Surg* 2001; 181: 247-250
- 45 Salimi F, Hodjati H, Monabbati A, Keshavarzian A. Inferior vena cava reconstruction with a flap of parietal peritoneum: an animal study. *Arch Iran Med* 2009; 12: 448-453
- 46 陈伟强, 区庆嘉, 肖明. 应用腹膜进行门静脉修复重建的实验研究. *中国医学科学院学报* 1998; 20: 246-250
- 47 Schein OD. The use of processed pericardial tissue in anterior ocular segment reconstruction. *Am J Ophthalmol* 1998; 125: 549-552
- 48 Inafuku H, Morishima Y, Nagano T, Arakaki K, Yamashiro S, Kuniyoshi Y. A three-decade experience of radical open endovenectomy with pericardial patch graft for correction of Budd-Chiari syndrome. *J Vasc Surg* 2009; 50: 590-593

- 49 Togo S, Tanaka K, Endo I, Morioka D, Miura Y, Masunari H, Kubota T, Nagano Y, Masui H, Sekido H, Shimada H. Caudate lobectomy combined with resection of the inferior vena cava and its reconstruction by a pericardial autograft patch. *Dig Surg* 2002; 19: 340-343
- 50 Togo S, Tanaka K, Endo I, Kurosawa H, Morioka D, Miura Y, Nagano Y, Masui H, Sekido H, Shimada H. Reconstruction of the hepatic vein using a patch graft from the autologous pericardium. *Int Surg* 2002; 87: 233-235
- 51 张业伟, 孟庆洋, 王学浩. 经辐照的同种异体血管在肝移植中的应用. *中华外科杂志* 2007; 45: 323-325
- 52 Neufang A, Espinola-Klein C, Dorweiler B, Savvidis S, Schmiedt W, Vahl CF. Infrapopliteal composite bypass with autologous vein and second generation glutaraldehyde stabilized human umbilical vein (HUV) for critical lower limb ischaemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007; 34: 583-589
- 53 张纪蔚, 梅劲华, 张柏根. PC预处理同种异体静脉重建大股动脉的研究. *上海第二医科大学学报* 2005; 25: 8-11
- 54 郑树森, 张启逸, 严盛, 王伟林. 同种异体门静脉移植在胰腺癌根治术中的应用. *中华普通外科杂志* 2007; 22: 947-948
- 55 邹卫龙, 臧运金, 任秀均, 陈新国, 沈中阳. 间置静脉搭桥术对终末期肝病合并门静脉血栓栓塞患者肝移植效果的影响. *中华器官移植杂志* 2008; 29: 752-753
- 56 Sugawara Y, Makuuchi M, Tamura S, Matsui Y, Kaneko J, Hasegawa K, Imamura H, Kokudo N, Motomura N, Takamoto S. Portal vein reconstruction in adult living donor liver transplantation using cryopreserved vein grafts. *Liver Transpl* 2006; 12: 1233-1236
- 57 Jeschke MG, Hermanutz V, Wolf SE, Köveker GB. Polyurethane vascular prostheses decreases neointimal formation compared with expanded polytetrafluoroethylene. *J Vasc Surg* 1999; 29: 168-176
- 58 Stauffer JA, Dougherty MK, Kim GP, Nguyen JH. Interposition graft with polytetrafluoroethylene for mesenteric and portal vein reconstruction after pancreaticoduodenectomy. *Br J Surg* 2009; 96: 247-252
- 59 Yi NJ, Suh KS, Lee HW, Cho EH, Shin WY, Cho JY, Lee KU. An artificial vascular graft is a useful interpositional material for drainage of the right anterior section in living donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2007; 13: 1159-1167

■同行评价  
针对临床上门静脉/肠系膜上静脉修复重建材料选择的困惑, 本文从基础研究、获取方法、临床应用经验及并发症等方面进行综述, 具有一定的临床指导价值。

编辑 李军亮 电编 闫晋利

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: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套  $P$  值, 则 <sup>1</sup> $P < 0.05$ , <sup>2</sup> $P < 0.01$ ; 第 3 套为 <sup>3</sup> $P < 0.05$ , <sup>4</sup> $P < 0.01$ .  $P$  值后注明何种检验及其具体数字, 如  $P < 0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应在表的右上方, 表内个数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用  $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$  表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小  $7.5 \text{ cm} \times 4.5 \text{ cm}$ , 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5) 致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

# Genistein与5-FU联合对人肝癌细胞MHCC97-L的抗增殖作用

刘丹, 赵忠新

## ■背景资料

中国是肝炎重灾国, 肝癌发病率高, 手术切除虽是治疗肝癌的最有效手段, 但术后较高的复发率成为影响肝癌预后的障碍, 如何选择有效的化疗药物是临床面临的难题。

刘丹, 齐齐哈尔医学院生物遗传教研室 黑龙江省齐齐哈尔市 161006

赵忠新, 齐齐哈尔市建华医院普外科 黑龙江省齐齐哈尔市 161006

刘丹, 硕士, 主要从事细胞生物学和医学遗传学的教学和科研工作。

黑龙江省卫生厅科研课题基金资助项目, No. 2010-226

作者贡献分布: 此课题由刘丹设计; 研究过程由刘丹与赵忠新操作; 本论文写作由刘丹与赵忠新完成。

通讯作者: 刘丹, 讲师, 161006, 黑龙江省齐齐哈尔市建华区卜奎大街333号, 齐齐哈尔医学院生物遗传教研室。

7896078\_cn@sina.com

电话: 0452-2663174

收稿日期: 2012-06-04 修回日期: 2012-08-05

接受日期: 2012-08-11 在线出版日期: 2012-09-18

## Genistein combined with 5-FU inhibits cell proliferation in human hepatocellular cancer cell line MHCC97-L

Dan Liu, Zhong-Xin Zhao

Dan Liu, Department of Biological Genetics, Qiqihar Medical College, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China  
Zhong-Xin Zhao, Department of General Surgery, Jianhua Hospital of Qiqihar, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Scientific Research Fund of Health Department of Heilongjiang Province, No. 2010-226

Correspondence to: Dan Liu, Department of Biological Genetics, Qiqihar Medical College, 333 Kuibei Street, Jianhua District, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China. 7896078\_cn@sina.com

Received: 2012-06-04 Revised: 2012-08-05

Accepted: 2012-08-11 Published online: 2012-09-18

## Abstract

**AIM:** To explore whether genistein and 5-FU has synergistic inhibitory effect on the proliferation of human hepatic cancer cells (MHCC97-L).

**METHODS:** MTT method was used to assay the biological activities of different concentrations of genistein and 5-FU in MHCC97-L cells. The inverted microscope was used to observe the influence of combined genistein and 5-FU on the morphological changes of MHCC97-L cells. After the cells were stained with Hoechst 33342 and observed under a fluorescence microscope, apop-

toxis index was calculated.

**RESULTS:** Both genistein and 5-FU could effectively inhibit the proliferation of MHCC97-L cells in a dose- and time-dependent manner. When used alone, the  $IC_{50}$  (48 h) of genistein and 5-FU for MHCC97-L cells was 174.17  $\mu\text{mol/L}$  and 40.02  $\mu\text{mol/L}$ , respectively. When used in combination, the  $IC_{50}$  of genistein and 5-FU was 66.03  $\mu\text{mol/L}$  and 16.51  $\mu\text{mol/L}$ . The cell density in the combination group was lower than the two monotherapy groups. Morphologic characteristics of apoptotic cells, such as cytoplasmic clouding, cell shrinkage and cytoplasmic vacuolation, were observed. Typical apoptosis was confirmed by fluorescence microscopy. The apoptosis index was 17.55% in the genistein group, 15.63 in the 5-FU group, and 30.38% in the combination group.

**CONCLUSION:** Genistein and 5-FU can exert synergistic inhibitory effects on the growth of MHCC97-L cells possibly via mechanism associated with inducing apoptosis.

**Key Words:** Genistein; 5-FU; MHCC97-L cell line; Apoptosis

Liu D, Zhao ZX. Genistein combined with 5-FU inhibits cell proliferation in human hepatocellular cancer cell line MHCC97-L. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2474-2478

## 摘要

**目的:** 探讨Genistein与5-FU联合对人肝癌MHCC97-L细胞凋亡的诱导作用。

**方法:** 采用MTT法、倒置显微镜、Hoechst 33342荧光染色技术研究Genistein、5-FU、Genistein与5-FU联合3组药物不同浓度作用于体外培养的人肝癌MHCC97-L细胞后生长抑制及诱导凋亡的形态学变化。

**结果:** Genistein、5-FU单用及联用可抑制肝癌MHCC97-L细胞的增殖, 其抑制率与药物

## ■同行评议者

杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

剂量和作用时间呈依赖关系; 48 h单用时的 $IC_{50}$ (Genistein)为174.17  $\mu\text{mol/L}$ ,  $IC_{50}$ (5-FU)为40.02  $\mu\text{mol/L}$ ; 48 h联用时的 $IC_{50}$ (Genistein)为66.03  $\mu\text{mol/L}$ 、 $IC_{50}$ (5-FU)为16.51  $\mu\text{mol/L}$ ; 倒置显微镜结果显示, 药物组细胞密度均明显下降, 贴壁细胞出现皱缩、变圆、胞浆混浊及“空泡”现象, 尤以联用药物组变化最为明显; 荧光染色结果显示, 药物组部分细胞核呈现致密亮蓝色荧光的为凋亡细胞, 凋亡指数Genistein组为17.55%, 5-FU组为15.63%, 联用组为30.38%。

**结论:** 两种药物单独使用均可对人肝癌MHCC97-L细胞的生长具有明显抑制作用, 联合用药时, Genistein可以增强5-FU的疗效, 诱导细胞凋亡可能是其作用机制之一。

**关键词:** 染料木黄酮; 氟尿嘧啶; MHCC97-L; 细胞凋亡

刘丹, 赵思新. Genistein与5-FU联合对人肝癌细胞MHCC97-L的抗增殖作用. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2474-2478  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2474.asp>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一类高死亡率的恶性肿瘤。虽然手术切除仍被公认为是治疗肝癌的最有效手段, 但术后较高的复发率成为影响肝癌预后的主要障碍。5-FU是治疗消化系统肿瘤的常规药物, 因价格低廉, 不良反应相对较轻而广泛应用于临床, 肝癌对该药敏感性一般, 多采用动脉插管注药, 因此, 寻找一种高效、低毒、经济的抗肿瘤药物有重大的现实意义。染料木黄酮(Genistein)是大豆在生长过程中形成的次级代谢产物, 近年来研究显示其具有显著防治肿瘤的效果。Genistein通过包括抗雌激素样作用、引起肿瘤细胞凋亡、影响酪氨酸蛋白酶活性、抑制肿瘤血管新生、抗氧化作用、抑制DNA异构酶活性、抑制肿瘤的侵袭、诱导细胞分化等多样性的分子机制发挥抗肿瘤作用<sup>[1-3]</sup>, 其功效和利用潜力得到世界各国学者极大的关注。本研究将Genistein、5-FU单用和联用于体外肝癌MHCC97-L细胞, 探讨两种药物诱导细胞凋亡情况及Genistein对5-FU诱导肝癌细胞凋亡的增敏作用。

## 1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞MHCC97-L购自复旦大学

肝癌研究所。Genistein(纯度为98%)、MTT和EDTA(Sigma公司), 5-FU(天津金耀氨基酸公司), 优级胎牛血清(Hyclone公司), 胰蛋白酶和二甲亚砜(DMSO)(Amresco公司), DMEM高糖培养基(Gibco公司), Hoechst33342(江苏碧云天公司), 余为进口或国产分析纯。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养: MHCC97-L细胞用含100 mL/L胎牛血清的DMEM高糖培养液置于37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 隔1 d换液, 细胞贴壁生长, 待满瓶底时, 用胰酶消化, 吹打成单细胞, 分瓶传代。

1.2.2 分组: 实验共分为培养基对照组、溶剂对照组(含0.04% DMSO)、Genistein组(10、20、40、80、160  $\mu\text{mol/L}$ )、5-FU组(2.5、5、10、20、40  $\mu\text{mol/L}$ )和联合组(10.0+2.5、20+5、40+10、80+20、160+40  $\mu\text{mol/L}$ )。

1.2.3 MTT: 取对数生长期的MHCC97-L细胞, 以 $4 \times 10^3$ 个/孔细胞浓度于接种于3块96孔板, 每孔100  $\mu\text{L}$ 细胞悬液, 每组设5个复孔。培养24 h后, 分别加入不同处理因素, 配至200  $\mu\text{L}$ , 3块板分别培养24、48、72 h后, 加入MTT(5 g/L), 每孔20  $\mu\text{L}$ , 继续孵育4 h。4 h后吸尽每孔中的培养液, 加DMSO 150  $\mu\text{L}$ /孔, 振荡器上振荡10 min, 于自动酶标仪570 nm处测定每孔的吸光度(A)值, 实验重复3次, 计算抑制率(IR)。IR(%) = (1-药物组A值/对照组A值) × 100%。

1.2.4  $IC_{50}$ : 根据回归方程:  $\log D_m = -a/b(D_m \text{为抑制率为} 50\% \text{时的药物浓度, 即} IC_{50})$ , 计算Genistein、5-FU单用和联用时的中效浓度( $IC_{50}$ )。

1.2.5 倒置显微镜观察细胞的形态学变化: 取对数生长期的MHCC97-L细胞, 以 $3 \times 10^5$ 个/孔细胞浓度接种于2块6孔板, 每孔2 mL细胞悬液, 每组设3个复孔, 培养24 h后, 加入含0.04% DMSO培养液、80  $\mu\text{mol/L}$  Genistein、20  $\mu\text{mol/L}$  5-FU和80  $\mu\text{mol/L}$  Genistein+20  $\mu\text{mol/L}$  5-FU联合培养液, 处理72 h后, 倒置显微镜下观察细胞的浓度及形态学变化。

1.2.6 Hoechst 33342荧光染色观察细胞凋亡: 取对数生长期的MHCC97-L细胞接种, 以 $2 \times 10^5$ 个细胞浓度接种于直径为2.5 cm的4个培养皿中, 培养24 h后, 加入含0.04% DMSO培养液、80  $\mu\text{mol/L}$  Genistein、20  $\mu\text{mol/L}$  5-FU和80  $\mu\text{mol/L}$  Genistein+20  $\mu\text{mol/L}$  5-FU联合培养液, 处理48 h后, PBS洗3次, 加入1 mL Hoechst 33342染液, 避光作用10 min后, PBS洗2次, 置于荧光显微镜下,

### ■ 研发前沿

5-FU是治疗消化系统肿瘤的常规药物, 因价格低廉, 不良反应相对较轻而广泛应用于临床, 肝癌对该药敏感性一般, 多采用动脉插管注药。因此, 寻找一种高效、低毒、经济的抗肿瘤药物有重大的现实意义。



### ■相关报道

近年来,为增强化疗药物的敏感性和减轻其不良反应,国内外学者对Genistein联合多种化疗药物进行了大量的实验研究,发现联合用药能有效抑制多种癌细胞在体外的生长,促进细胞凋亡。

表 1 Genistein、5-FU单用及联用对肝癌细胞MHCC97-L增殖的影响 (mean ± SD)

分组 ( $\mu\text{mol/L}$ )	A值			抑制率(%)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
对照组	0.297 ± 0.017	0.309 ± 0.016	0.330 ± 0.029	—	—	—
溶剂对照组	0.295 ± 0.023	0.305 ± 0.018	0.323 ± 0.026	0.67	1.3	2.12
Genistein						
10	0.288 ± 0.030	0.279 ± 0.009	0.279 ± 0.013	3.03	9.62	15.45
20	0.268 ± 0.006	0.264 ± 0.016 <sup>a</sup>	0.243 ± 0.025	9.76	14.48	26.36
40	0.261 ± 0.012 <sup>a</sup>	0.251 ± 0.013 <sup>b</sup>	0.236 ± 0.022 <sup>b</sup>	12.12	18.69	28.48
80	0.251 ± 0.014 <sup>a</sup>	0.208 ± 0.012 <sup>a</sup>	0.133 ± 0.015 <sup>b</sup>	15.49	32.62	59.70
160	0.232 ± 0.008 <sup>a</sup>	0.146 ± 0.019 <sup>b</sup>	0.122 ± 0.017 <sup>b</sup>	21.89	52.70	63.03
5-FU						
2.5	0.276 ± 0.020	0.281 ± 0.002	0.266 ± 0.008	7.07	8.97	19.39
5	0.271 ± 0.011	0.267 ± 0.009	0.235 ± 0.034	8.75	13.51	28.79
10	0.270 ± 0.016	0.247 ± 0.012 <sup>a</sup>	0.227 ± 0.027 <sup>a</sup>	9.09	19.99	31.21
20	0.253 ± 0.037	0.200 ± 0.010 <sup>b</sup>	0.189 ± 0.016 <sup>a</sup>	14.81	35.21	42.73
40	0.230 ± 0.017 <sup>b</sup>	0.149 ± 0.027 <sup>a</sup>	0.137 ± 0.012 <sup>a</sup>	22.56	51.73	58.48
Gen+5-FU						
10+2.5	0.272 ± 0.010	0.261 ± 0.012	0.232 ± 0.011 <sup>a</sup>	8.42	15.45	29.70
20+5	0.262 ± 0.022	0.241 ± 0.009 <sup>a</sup>	0.220 ± 0.005 <sup>a</sup>	11.78	21.93	33.33
40+10	0.255 ± 0.008	0.232 ± 0.014 <sup>a</sup>	0.190 ± 0.015 <sup>b</sup>	14.14	24.85	42.42
80+20	0.242 ± 0.016 <sup>a</sup>	0.148 ± 0.020 <sup>a</sup>	0.108 ± 0.014 <sup>a</sup>	18.52	52.06	67.27
160+40	0.223 ± 0.010 <sup>a</sup>	0.117 ± 0.020 <sup>b</sup>	0.079 ± 0.015 <sup>b</sup>	24.92	62.10	76.06

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组.

选用340 nm的激发蓝光观察细胞凋亡情况,实验重复3次,随机计数不同视野的1 000个细胞核,计算凋亡指数(AI).  $AI(\%) = \text{具有明显凋亡特征的细胞核总数} / 1\ 000 \times 100\%$ .

**统计学处理** 数据用mean ± SD表示,采用SPSS16.0软件进行统计分析,两组间均数比较采用 $t$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 MTT DMSO对肝癌细胞的增殖无明显的抑制作用,随着Genistein、5-FU浓度的增加和作用时间的延长,其对肝癌细胞的抑制作用逐渐增强,呈现明显的剂量和时间依赖性(表1).

2.2  $IC_{50}$  48 h单用时的 $IC_{50}$ (Genistein)为174.17  $\mu\text{mol/L}$ ,  $IC_{50}$ (5-FU)为40.02  $\mu\text{mol/L}$ ,联用时的 $IC_{50}$ (Genistein)为66.03  $\mu\text{mol/L}$ 、 $IC_{50}$ (5-FU)为16.51  $\mu\text{mol/L}$ . Genistein单用浓度是联用浓度的2.64倍,5-FU单用浓度是联用浓度的2.42倍(表2).

2.3 倒置显微镜观察的细胞凋亡的形态学变化倒置显微镜下单用和联用药物组处理72 h后与对照组比较,结果显示,药物组细胞密度均明显下降,贴壁细胞出现皱缩、变圆,可见较多漂浮

表 2 48 h Genistein、5-FU单用及联用的回归方程及 $IC_{50}$

分组	回归方程	$IC_{50}(\mu\text{mol/L})$	$r$ 值
Genistein	$Y = 0.83X - 1.86$	174.17	0.99
5-FU	$Y = 0.88X - 1.41$	40.02	0.99
Gen+5-FU	$Y = 1.08X - 2.07$	66.03+16.51	0.95

的死亡细胞,胞浆透明度下降,颗粒感增强,并见“空泡”现象,且联用药物组变化最为明显,而对照组未出现上述改变(图1).

2.4 Hoechst 33342荧光染色 荧光显微镜下单用和联用药物组处理48 h后与对照组比较,结果显示,药物组部分细胞核呈现致密亮蓝色荧光的为凋亡细胞,对照组细胞呈现弥散均匀低蓝色荧光,可见少许荧光染料分布在细胞膜周围;凋亡指数计算结果,Genistein组为17.55%,5-FU组为15.63%,联用组为30.38%(图2).

## 3 讨论

近几年来由于全球环境污染日益严重、人们饮食不规律、不健康等因素,导致消化系统恶性肿瘤的发病率逐年上升,严重威胁着人类的健康. Genistein是多效的天然活性物质,基本无毒性<sup>[4]</sup>,

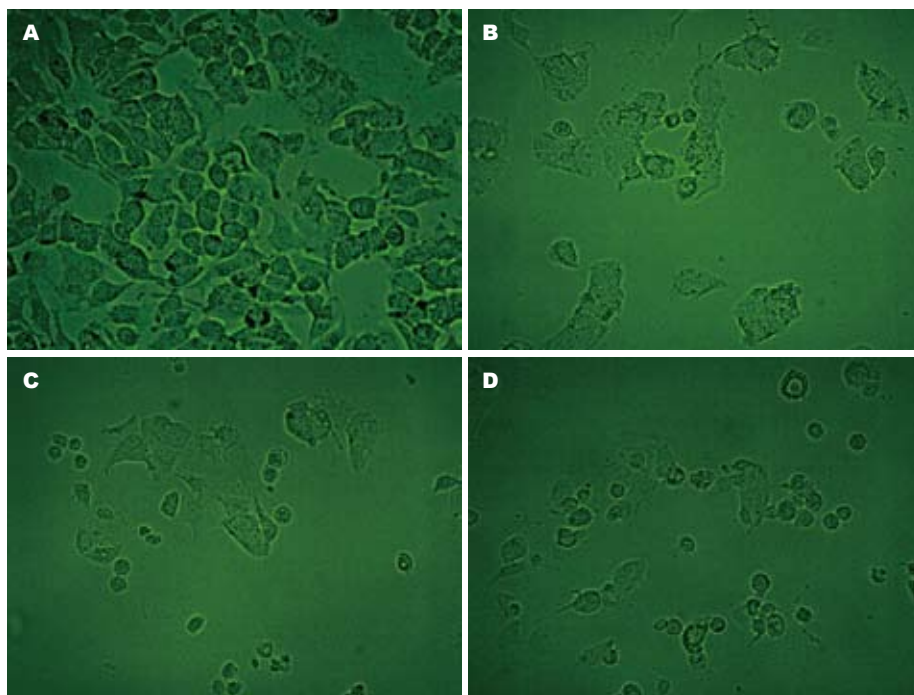


图 1 倒置显微镜下Genistein、5-FU单用及联用对MHCC97-L细胞形态的影响( $\times 200$ ). A: 对照组; B: Genistein组; C: 5-FU组; D: 联合组.

**■应用要点**  
本文通过Genistein、5-FU单用和联用作用于体外肝癌细胞, 探讨Genistein对5-FU诱导肝癌细胞凋亡的增敏作用, 为肝癌临床化疗方案的制订与化疗药物耐药逆转研究提供理论基础.

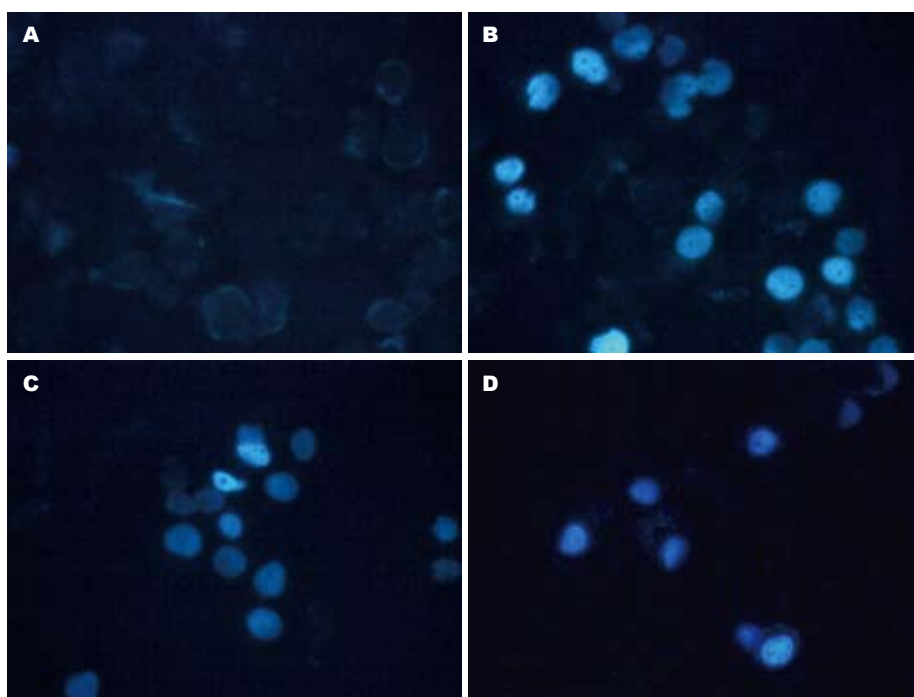


图 2 荧光显微镜下Genistein、5-FU单用及联用诱导MHCC97-L细胞凋亡的形态学变化( $\times 400$ ). A: 对照组; B: Genistein组; C: 5-FU组; D: 联合组.

并具有较强的抗肿瘤活性, 而且他在大豆中的含量高, 较易供应, 价格低廉, 药源充足, 研究其同其他抗肿瘤药物的协同作用, 提高肿瘤预防和治疗的效果, 减少药物的不良反应, 成为国内外学者研究的热点之一. 诱导肿瘤细胞凋亡是很多抗肿瘤药物发挥作用的主要机制. 研究显示, Genistein可通过诱导乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、胃癌、卵巢癌等<sup>[5-8]</sup>多种肿瘤细胞的凋亡来实现其抗肿瘤作用, 目前尚无诱导肝癌MHCC97-L细胞凋亡的相关报道.

本研究结果显示, Genistein、5-FU单用及联用可抑制肝癌MHCC97-L细胞的增殖, 其抑制率与药物剂量和作用时间呈依赖关系; 计算48 h中效浓度 $IC_{50}$ , Genistein单用浓度是联用浓度的2.64倍, 5-FU单用浓度是联用浓度的2.42倍, 可见两药联用比单用各自达到相同抑制率的用量要小很多, 尤其减少5-FU的用量, 可以大大降低其不良反应. 形态学检测是鉴定细胞凋亡最可靠的方法之一<sup>[9]</sup>, 光镜下, 药物组细胞密度均明显下降, 贴壁细胞出现皱缩、变圆、胞浆混浊

### ■同行评价

本研究设计合理,方法恰当,结果可信,具有很强的实用价值。

及“空泡”现象,尤以联用药物组变化最为明显;荧光显微镜下,药物组部分细胞核呈现致密亮蓝色荧光的为凋亡细胞,凋亡指数Genistein组为17.55%, 5-FU组为15.63%, 联用组为30.38%, 联用组明显高于单用组。综上,在体外Genistein和5-FU均可诱导肝癌MHCC97-L细胞的凋亡, Genistein可明显提高5-FU诱导细胞凋亡的疗效,这与国内外报道Genistein抑制肝癌细胞增殖<sup>[10-19]</sup>情况一致。

细胞凋亡具有严格的基因时效性和选择性。研究其分子调控机制对有计划地诱导肿瘤细胞凋亡有重要的指导作用。Genistein诱导肿瘤细胞凋亡的内在分子机制还有待于进一步研究。

### 4 参考文献

- 1 王丽斌, 王玉华. 金雀异黄素抗肿瘤实验研究进展. 实用肿瘤杂志 2012; 27: 96-100
- 2 赵净洁, 俞鸣, 孟令章. 大豆异黄酮抗癌防癌机制的研究进展. 中国公共卫生 2010; 26: 1390-1392
- 3 魏华波, 马海蓉, 王振华. 植物雌激素抗肿瘤作用机制研究进展. 食品科学 2011; 32: 274-277
- 4 Wei H, Saladi R, Lu Y, Wang Y, Palep SR, Moore J, Phelps R, Shyong E, Lebwohl MG. Isoflavone genistein: photoprotection and clinical implications in dermatology. *J Nutr* 2003; 133: 3811S-3819S
- 5 Bayazit V. Cytotoxic effects of some animal and vegetable extracts and some chemicals on liver and colon carcinoma and myosarcoma. *Saudi Med J* 2004; 25: 156-163
- 6 Wang X, Clubbs EA, Bomser JA. Genistein modulates prostate epithelial cell proliferation via estrogen- and extracellular signal-regulated kinase-dependent pathways. *J Nutr Biochem* 2006; 17: 204-210
- 7 余增丽, 张立实, 李群英, 吴德生. 大豆异黄酮和玉米赤霉烯酮对卵巢癌细胞株PEO4增殖的影响. 中华预防医学杂志 2003; 37: 154-157
- 8 Su SJ, Yeh TM, Lei HY, Chow NH. The potential of soybean foods as a chemoprevention approach for human urinary tract cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 230-236
- 9 陈誉华. 医学细胞生物学. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 345
- 10 田晓丰, 曹宏, 田力. 金雀异黄素对人肝癌SMMC-7721细胞生长抑制和凋亡的影响. 吉林大学学报(医学版) 2009; 35: 499-502
- 11 陈鹏, 邓小凡, 胡明道. Genistein与顺铂协同抗肝癌的体外研究. 昆明医学院学报 2010; 31: 79-83
- 12 金伟, 马力. 染料木黄酮对顺铂诱导肝癌SMMC-7721细胞凋亡的增敏作用. 第四军医大学学报 2005; 26: 761-763
- 13 魏思忱, 白文元, 王军民, 姚冬奇, 姚金峰, 戴胜兰. 三羟异黄酮诱导人肝癌细胞凋亡及对凋亡相关基因的影响. 基础医学与临床 2007; 27: 881-885
- 14 张继红, 梁力建, 黄洁夫, 王家泽. 三羟异黄酮上调肝癌HepG2细胞PTEN基因的表达及其诱导凋亡作用. 中山大学学报(医学科学版) 2006; 27: 285-288
- 15 Chodon D, Banu SM, Padmavathi R, Sakthisekaran D. Inhibition of cell proliferation and induction of apoptosis by genistein in experimental hepatocellular carcinoma. *Mol Cell Biochem* 2007; 297: 73-80
- 16 Mansoor TA, Ramalho RM, Luo X, Ramalho C, Rodrigues CM, Ferreira MJ. Isoflavones as apoptosis inducers in human hepatoma HuH-7 cells. *Phytother Res* 2011; 25: 1819-1824
- 17 Gu Y, Zhu CF, Dai YL, Zhong Q, Sun B. Inhibitory effects of genistein on metastasis of human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4952-4957
- 18 Jin CY, Park C, Kim GY, Lee SJ, Kim WJ, Choi YH. Genistein enhances TRAIL-induced apoptosis through inhibition of p38 MAPK signaling in human hepatocellular carcinoma Hep3B cells. *Chem Biol Interact* 2009; 180: 143-150
- 19 Chodon D, Ramamurty N, Sakthisekaran D. Preliminary studies on induction of apoptosis by genistein on HepG2 cell line. *Toxicol In Vitro* 2007; 21: 887-891

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

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》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊。中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高。精品科技期刊的遴选周期为三年。(编辑部主任: 李军亮 2012-01-01)

# 腹腔感染大鼠肠黏膜通透性的改变与E-cadherin蛋白表达的关系

成红刚, 丁连安, 曲林林, 牛冬光

成红刚, 丁连安, 曲林林, 牛冬光, 青岛大学医学院附属医院  
普外科 山东省青岛市 266061

成红刚, 硕士, 主要从事胃肠道屏障功能及消化系统肿瘤的研究。  
黎介寿院士肠道屏障研究专项研究基金资助项目, No. LJS-2009002

山东省自然科学基金资助项目, No. ZR2010HM124

作者贡献分布: 此课题由丁连安设计; 研究过程由成红刚与曲林林操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由牛冬光提供; 数据分析由成红刚与曲林林完成; 本论文写作由成红刚与丁连安完成。

通讯作者: 丁连安, 主任医师, 266061, 山东省青岛市海尔路59号, 青岛大学医学院附属医院普外科. larryding1987@gmail.com  
电话: 0532-82913050

收稿日期: 2012-05-02 修回日期: 2012-08-20

接受日期: 2012-08-21 在线出版日期: 2012-09-18

## Correlation between intestinal permeability and expression of E-cadherin protein in intestinal mucosa in rats with intraperitoneal infection

Hong-Gang Cheng, Lian-An Ding, Lin-Lin Qu, Dong-Guang Niu

Hong-Gang Cheng, Lian-An Ding, Lin-Lin Qu, Dong-Guang Niu, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266061, Shandong Province, China

Supported by: Li Jieshou's Intestinal Barrier Foundation, No. LJS-2009002; and the Natural Science Foundation of Shandong Province, No. ZR2010HM124

Correspondence to: Lian-An Ding, Chief Physician, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266061, Shandong Province, China. larryding1987@gmail.com

Received: 2012-05-02 Revised: 2012-08-20

Accepted: 2012-08-21 Published online: 2012-09-18

### Abstract

**AIM:** To observe the correlation between intestinal permeability and the expression levels of E-cadherin protein in the intestinal mucosa in rats with intraperitoneal infection.

**METHODS:** Forty healthy adult Wistar rats were randomly divided into control group ( $n = 8$ ) and abdominal infection group ( $n = 32$ ). The control group underwent celiotomy only, while the abdominal infection group was further equally divided into four subgroups and underwent ce-

cal ligation and puncture to induce abdominal infection at 12, 24, 36, and 48 h after celiotomy. All the rats were sacrificed, and ileum tissue 10 cm away from the ileocecal junction was sampled for histological examination and evaluation of mucosal damage. Plasma D-lactate was measured at various time points. The expression of E-cadherin protein in the intestinal mucosa was detected using Western blot.

**RESULTS:** Intestinal barrier began to show significant changes 12 h after induction of infection. At 12 h, the abdominal infection group had lower villous thickness, higher mucosal damage index and plasma levels of D-lactate (all  $P < 0.01$ ) than the control group. The damage reached the peak at 24 h, and lowest villus height, maximum mucosal injury score, and highest level of D-lactate were observed at this time point (all  $P < 0.05$ ). The level of D-lactate began to fall at 36 h but remained higher than that in the control group ( $P < 0.01$ ). The expression level of E-cadherin protein was lowest at 24 h ( $P < 0.05$ ), and began to rise at 36 and 48 h but remained lower than those in the control group (both  $P < 0.01$ ). D-lactate levels had a significant correlation with the expression levels of E-cadherin protein ( $r = -0.605$ ,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** There is a significant correlation between intestinal permeability and the expression levels of E-cadherin protein in the intestinal mucosa in rats with intraperitoneal infection.

**Key Words:** Intraperitoneal infection; Intestinal barrier; Intestinal permeability; D-lactate; E-cadherin

Cheng HG, Ding LA, Qu LL, Niu DG. Correlation between intestinal permeability and expression of E-cadherin protein in intestinal mucosa in rats with intraperitoneal infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2479-2484

### 摘要

**目的:** 观察腹腔感染大鼠肠屏障损伤后肠通透性的变化, 及其与E-cadherin蛋白表达的相关性。

### ■背景资料

肠道作为应激反应的中心器官之一, 在创伤、手术、严重感染等应激状态时, 起重要作用。当机体应激反应过度或失调时, 肠黏膜功能受到损害, 原先寄生于肠道内的微生物及其毒素越过受损的肠黏膜屏障, 导致肠道细菌及毒素移位。

**■同行评议者**  
王正康, 教授, 中日友好医院普外科

## ■ 研究前沿

肠黏膜屏障的具  
体机制非常复杂,  
至今尚不十分清  
楚,可能与肠黏膜  
机械屏障、局部  
生物学因素、化  
学因素及免疫功能  
有关。缺氧、炎症  
、外伤等损伤  
均可导致肠黏膜  
屏障功能障碍。

**方法:** 健康成年♂Wistar大鼠40只,随机分为空白对照组(仅行单纯剖腹手术)和腹腔感染组(采用盲肠结扎穿孔法制作腹腔感染模型),术后12、24、36、48 h取材,每组8只,处死后,距回盲部10 cm处取回肠进行常规病理检查,同时测定肠绒毛高度、肠上皮损伤指数及相应时间点血浆D-乳酸含量,应用Western blot方法测定肠黏膜E-cadherin蛋白的水平。

**结果:** 腹腔感染12 h后肠屏障开始出现明显损伤性改变:肠绒毛高度明显降低,肠黏膜损伤评分增加,血浆D-乳酸含量明显增加( $P<0.01$ );24 h损伤达到高峰:肠绒毛高度最低,肠黏膜损伤评分最大,血浆D-乳酸含量明显增高( $P<0.05$ );随后肠屏障逐渐恢复,但48 h组损伤程度仍显著高于对照组( $P<0.01$ )。与对照组比较,腹腔感染组E-cadherin蛋白表达量降低( $P<0.01$ );实验组各组相比较,24 h组E-cadherin蛋白水平最低,36 h和48 h时E-cadherin蛋白表达量开始降升高,但仍较对照组低( $P<0.01$ )。相关性检验发现血浆D-乳酸水平与E-cadherin蛋白含量具有明显负相关( $r = -0.605, P<0.01$ )。

**结论:** 腹腔感染状态下,肠屏障严重受损,肠黏膜通透性的改变与E-cadherin蛋白水平具有显著的相关性。

**关键词:** 腹腔感染;肠屏障;肠通透性;D-乳酸;E-cadherin

成红刚,丁连安,曲林林,牛冬光.腹腔感染大鼠肠黏膜通透性的改变与E-cadherin蛋白表达的关系.世界华人消化杂志 2012;20(26):2479-2484  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2479.asp>

## 0 前言

肠黏膜不仅有消化和吸收功能,而且具有重要的防御性屏障功能,具有选择性渗透吸收营养物质和防御肠道内微生物及致炎因子入侵等作用;然而,在多种应激情况下或肠黏膜受损破坏时,这种屏障功能减弱,导致肠通透性增加,即可出现细菌易位,甚至触发炎症级联反应,导致多脏器功能障碍(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)因此肠道被称作机体应激的中心器官、多器官功能障碍的发达机<sup>[1]</sup>。业已证明,D-乳酸由胃肠道固有细菌产生,且哺乳动物体内无快速代谢他的酶系统。因此,血液中D-乳酸水平升高可能反映肠黏膜屏障功能的异常<sup>[2]</sup>。文献报道腹腔感染时血浆D-乳酸水平增高<sup>[3]</sup>,但其与肠黏膜

屏障功能受损的关系尚不清楚。E-cadherin蛋白是肠上皮细胞黏附连接的主要成分,E-cadherin蛋白介导的黏附连接对肠上皮细胞的屏障功能非常重要<sup>[4]</sup>,而且在炎症肠病等一些疾病状态下,黏附连接比紧密连接更容易受到损害<sup>[5,6]</sup>,在肠屏障功能障碍的发病机制中占有重要的作用<sup>[7]</sup>。为此,我们通过制作腹腔感染模型,对体循环D-乳酸的变化规律及其与肠黏膜E-cadherin蛋白的相关性进行了研究,为临床针对性地采取有效防治措施提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康♂Wistar大鼠购自青岛药品检验所动物中心,40只,清洁级,体质量 $260 \text{ g} \pm 20 \text{ g}$ ,随机分对照组和腹腔感染组,腹腔感染组分别以术后12、24、36、48 h取材,每个时间点8只大鼠。所有动物实验前均在青岛大学医学院动物饲养中心适应性饲养1 wk,且经青岛大学伦理委员会批准。实验前禁食12 h,自由饮水,按照 $100 \text{ mg/kg}$ 氯胺酮腹腔注射麻醉。

### 1.2 方法

**1.2.1 造模:** 采用盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP)制作腹腔感染模型<sup>[8]</sup>。麻醉后,以腹正中纵行切口,逐层进入腹腔,辨认盲肠并暴露于腹腔外,小心分离盲肠系膜,避免损伤回盲肠血管。在盲肠远端与盲肠根部1/2处用3-0丝线结扎,将盲肠内容物轻轻挤向盲肠远端,用18G针头在已结扎盲肠与盲肠末端中间贯通穿刺,注意避免损伤血管。移去针头,轻挤出少量肠内容物从两侧针孔溢出,以保证穿孔开放,注意使挤出的内容物少且一致。将盲肠还纳入腹腔,分层缝合腹壁切口,术毕皮下注射预热( $37^\circ\text{C}$ ) $9.0 \text{ mg/mL}$ 氯化钠溶液(按鼠质量 $5 \text{ mL}/100 \text{ mg}$ 体质量给药)抗体克。术后各组动物均自由进食饮水。对照组仅行剖腹手术,翻动肠道后关腹,术毕处理同实验组。

**1.2.2 血标本的采集与检测:** 实验组于术后12、24、36、48 h腹主动脉取血3-5 mL后放血处死,血液推入EDTA抗凝的试管中,离心分离血浆,分装于EP管中, $-70^\circ\text{C}$ 保存待检。对照组于术后24 h采血后相同处理。根据Brandt等<sup>[9]</sup>建立的分光光度法检测血浆D-乳酸的含量。

**1.2.3 肠黏膜的组织学观察及测量:** 距回盲部10 cm处取回肠2 cm,10%甲醛固定2 h,石蜡包埋,HE染色,光镜下观察肠黏膜的形态结构的变化。低倍镜下,用台微尺(OLYMPUS)测量回肠绒毛高度



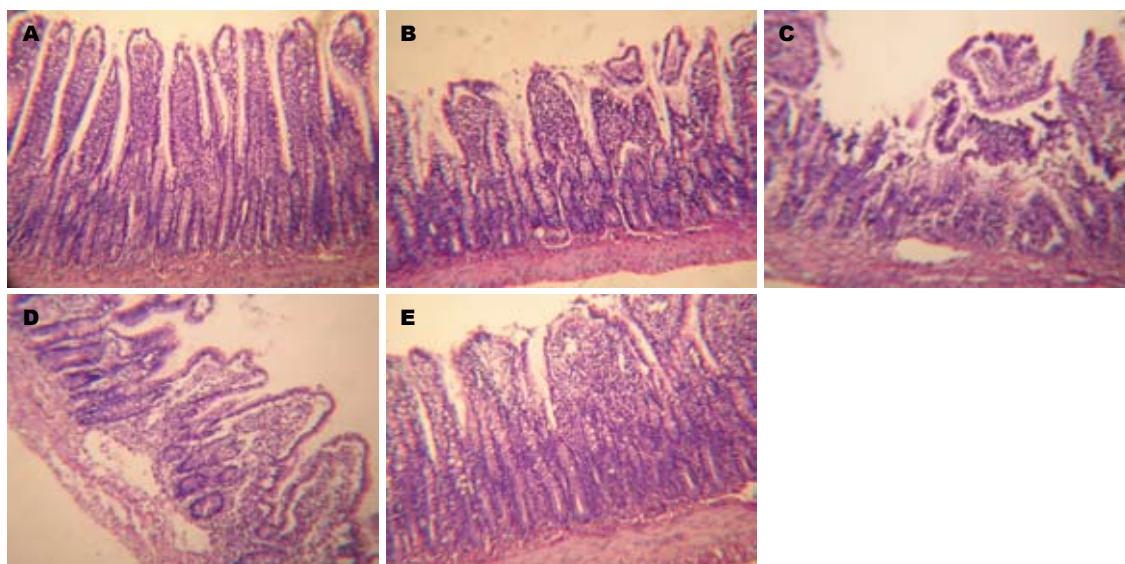


图1 各组大鼠肠黏膜组织形态学观察(苏木精-伊红染色×100). A: 对照组; B-E: 实验组12、24、36、48 h.

变化, 每个肠标本随机选取10根绒毛, 取平均值.

1.2.4 观察回肠黏膜损伤程度: 采用四级评分系统对肠损伤程度进行判定<sup>[10]</sup>. 0分: 正常; 0.5分: 肠黏膜水肿、充血, 无坏死性病变; 1分: 病变局限于肠黏膜, 有散在性出血点; 2分: 坏死累及表浅黏膜, 黏膜中有多区域出血; 3分: 全层坏死伴有肠腔出血.

1.2.5 Western blot分析: 取临近回盲部的回肠约15 cm, 冰上刮去肠黏膜, 冰上超声破碎后, 12 000 r/min离心15 min, 分装于EP管中, -80 °C冻存. 取适量肠黏膜组织, 加入RIPA裂解液(强), 按照每20 mg组织加入150-250 mL裂解液的比例加入裂解液, 匀浆至充分裂解, 12 000 g离心5 min, 取上清, BCA法测定蛋白浓度, 使样品中总蛋白的浓度为5 μg/μL. 取50 μg总蛋白进行SDS-PAGE电泳, 并原位电转印至PVDF膜上. 膜经封闭液处理, 含150 mmol/L氯化钠、0.1%SDS、20 mmol/L Tris-HCl(pH 7.6)、0.1% Tween-20和5%脱脂奶粉. 与兔抗鼠E-cadherin多克隆抗体(稀释1:200, abcam公司)和兔抗β-actin抗体(稀释1:500, 北京博奥森公司)分别孵育, 膜经PBST漂洗后再与辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔IgG(稀释1:8 000, 北京中杉金桥生物技术公司)反应, 增强化学发光液(ECL)发光试剂显影得到蛋白印记条带, 将胶片进行扫描, 用Quantity one V462软件对各条带灰度值进行半定量分析.

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件包进行分析, 计量资料用mean±SD表示, 多组均数比较采用单因素方差分析, 均数间两两比较采用

LSD-*t*检验; 完全随机设计多个样本的等级资料比较采用Kruskal-Wallis秩和检验, 用Pearson相关性检验进行相关性分析,  $P<0.05$ 为差异有显著性,  $P<0.01$ 为差异有高度显著性.

## 2 结果

2.1 腹腔内炎症情况 大体见对照组大鼠腹腔内各器官无明显炎症表现, 肠管无明显充血水肿. 12 h组大鼠可见肠管充血水肿, 腹腔少量渗出; 24 h组可见肠管充血水肿加重, 部分肠管坏死, 并腹膜包裹局限, 血性渗出较多; 36 h组和48 h组大鼠可见肠管粘连严重, 腹腔渗出减少.

2.2 肠黏膜病理学改变 对照组空肠黏膜各层结构完整, 肠绒毛排列整齐, 未见淋巴细胞增生及炎细胞浸润(图1A); 实验组出现明显的病理改变: 12 h即出现肠黏膜和黏膜下层间质水肿、血管充血, 黏膜层有中性粒细胞浸润, 肠绒毛毛细血管充血, 浆膜层明显炎性渗出(图1B); 24 h肠绒毛排列紊乱, 高矮不一, 部分倒伏、融合, 部分绒毛尖端破溃, 黏膜上皮大量脱落, 部分肠黏膜固有层内腺体灶性区域坏死(图1C); 36 h光镜下亦可见黏膜水肿、充血及炎细胞浸润, 但肠黏膜上皮脱落减少(图1D), 48 h损伤明显减轻, 部分肠黏膜恢复其连续性(图1E).

2.3 肠绒毛高度测量 实验组大鼠从12 h起小肠绒毛高度开始下降( $P<0.01$ ), 至24 h时下降最明显( $P<0.05$ ); 36 h和48 h时小肠绒毛高度开始增高, 但仍较对照组低( $P<0.01$ , 表1).

2.4 肠黏膜损伤程度评分 各组动物小肠黏膜病理损伤等级采用Kruskal-Wallis秩和检验,

### ■ 相关报道

Michelle等在敲除E-cadherin基因的大鼠中观察到肠上皮细胞凋亡的增加, 结果证明E-cadherin参与控制肠绒毛细胞发生失调凋亡的发生. E-cadherin参与调节的失调凋亡的机制可能是通过Bcl-2和caspase-9调节的信号转导通路, 最终由溶酶体酶和蛋白酶体执行降解蛋白.

### ■创新盘点

本研究首次阐述了腹腔感染时肠通透性的改变与E-cadherin蛋白的相关性,为临床上防治腹腔感染时肠通透性变化提供了有意义的理论依据。

表 1 各组小肠绒毛高度及肠黏膜损伤指数评分表 ( $n = 8$ )

分组	绒毛高度( $\mu\text{m}$ )	损伤指数
对照组	276.00 $\pm$ 18.69	0.38 $\pm$ 0.35
腹腔感染组		
感染后12 h	230.25 $\pm$ 14.88 <sup>bc</sup>	1.19 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup>
感染后24 h	205.25 $\pm$ 17.72 <sup>b</sup>	2.13 $\pm$ 0.83 <sup>b</sup>
感染后36 h	223.75 $\pm$ 10.63 <sup>bc</sup>	1.31 $\pm$ 0.59 <sup>b</sup>
感染后48 h	244.38 $\pm$ 9.94 <sup>bc</sup>	1.12 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 24 h组。

表 2 各组血浆D-乳酸含量及E-cadherin/ $\beta$ -actin灰度值的比值 ( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD)

分组	血浆D-乳酸含量( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	灰度比值
对照组	2.7596 $\pm$ 1.0838	1.181 $\pm$ 0.151
腹腔感染组		
感染后12 h	7.6467 $\pm$ 1.4946 <sup>bc</sup>	0.801 $\pm$ 0.140 <sup>bc</sup>
感染后24 h	13.1032 $\pm$ 4.3942 <sup>b</sup>	0.582 $\pm$ 0.192 <sup>b</sup>
感染后36 h	9.9723 $\pm$ 1.2097 <sup>bc</sup>	0.634 $\pm$ 0.132 <sup>bc</sup>
感染后48 h	8.3043 $\pm$ 2.2093 <sup>bc</sup>	0.878 $\pm$ 0.173 <sup>bc</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 24 h组。

$P < 0.01$ , 说明CLP后各时间点不同组间肠黏膜损伤病理等级评分有统计学差异,因此可根据各组的平均秩次大小来评价其损伤程度,实验组各组均比对照组严重,实验组以术后24 h最严重(平均秩次为31.69),12、36 h次之,48 h最轻(表1)。

**2.5 血浆D-乳酸的变化** 对照组大鼠血浆中仅含有少量的D-乳酸;实验组大鼠从12 h起血浆D-乳酸含量开始增加( $P < 0.01$ ),24 h时达到高峰( $P < 0.05$ ),36 h和48 h时D-乳酸开始降低,但仍较对照组高( $P < 0.01$ ,表2)。

**2.6 肠黏膜E-cadherin蛋白的含量** 对胶片进行灰度值扫描,以对应 $\beta$ -actin灰度值的比值作为E-cadherin蛋白的表达量。与对照组比较,实验组E-cadherin蛋白表达量降低( $P < 0.01$ );实验组中24 h组E-cadherin蛋白表达量最低( $P < 0.05$ ),36 h和48 h时E-cadherin蛋白表达量开始升高,但仍较对照组低( $P < 0.01$ ,表2,图2)。

**2.7 相关性** 大鼠血浆D-乳酸水平与E-cadherin蛋白含量具有显著负相关( $r = -0.605$ ,  $P < 0.01$ )。

### 3 讨论

肠道是一个巨大的细菌库,每克粪便含有约 $10^{10}$ - $10^{12}$ 个细菌,并且如此庞大数量的细菌产生的毒素也是惊人的,但肠道却能选择性的只吸

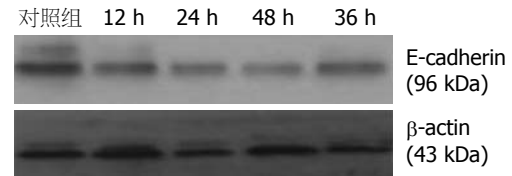


图 2 Western blot凝胶条带。

收机体所需要的营养物质,不让肠道内的细菌和毒素进入体内,依靠的就是肠黏膜的屏障功能<sup>[11]</sup>。一般说来,肠黏膜屏障有3部分组成:机械屏障即黏膜上皮、生物屏障即肠道内的正常菌群、免疫屏障即黏膜内和黏膜下的各种免疫细胞及其分泌的免疫物质。其中,小肠黏膜上皮细胞具有重要的屏障作用,一般意义的肠屏障即指这层结构<sup>[12]</sup>。

D-乳酸是肠道固有细菌的代谢终产物,肠道内许多细菌均可产生,包括大肠杆菌、乳酸菌、克雷伯杆菌等<sup>[13]</sup>。D-乳酸是L(+)-乳酸的立体异构体,在哺乳动物正常组织中不生成D-乳酸,并且哺乳动物没有D-乳酸脱氢酶,不能将D-乳酸快速代谢,因此其全身清除率只有L-乳酸的1/5<sup>[14,15]</sup>。在机体发生严重创伤、休克、重症感染、肠道缺血等损伤时,一方面肠道内细菌大量繁殖,发酵产生大量代谢终产物,D-乳酸含量明显增加;另一方面,肠绒毛顶端上皮脱落,肠黏膜通透性增加。两方面作用使得大量D-乳酸进入血循环,在外周血中可见D-乳酸水平升高,故检测血中D-乳酸水平可及时反映肠黏膜损害程度和通透性变化<sup>[14]</sup>,并且此方法操作简便,并且不需要昂贵的仪器设备,可以为临床上检测肠通透性提供可行的方法。

文献[8]报道,通过CLP制作腹腔感染模型,动物在开始阶段无明显异常反应,术后12 h才表现发热、寒战、竖毛等明显的临床症状。因此,我们把术后12 h作为初始检测点。我们发现与对照组比较,CLP术后12 h血浆中D-乳酸含量明显升高,并且在24 h达到高峰,36、48 h较24 h降低,说明CLP术后大鼠肠通透性是一个先出现增加,后缓慢修复的过程。同时分析病理学结果,二者描述的变化趋势一致。

肠上皮细胞间的连接有紧密连接(tight junctions, TJs)、黏附连接和桥粒等,其中紧密连接被认为是肠上皮细胞间主要的连接方式。近年来,随着分子生物学和显微技术的不断发展,紧密连接的分子结构及其在肠黏膜屏障功能中的作用逐渐受到重视,已成为众多学者关注的热

点. 随着研究的深入, 黏附连接在肠黏膜屏障功能中的作用正在受到重视, 一系列研究表明, 黏附连接不仅仅在相邻细胞间起加强细胞间连接的作用, 而且黏附连接的事先形成对紧密连接的装配是至关重要的, 黏附连接水平的变化可以调节紧密连接复合体的稳定性, 进而影响肠上皮细胞间的通透性<sup>[16-18]</sup>.

本实验中, 我们通过制作腹腔感染模型, 检测腹腔感染不同时间点黏附连接破坏的情况, 以对应 $\beta$ -actin灰度值的比值作为E-cadherin蛋白的表达量, 发现感染后12 h E-cadherin蛋白的表达量即发生降低, 并且在24 h表达量达到最低, 并且在36、48 h时表达量开始升高, 但仍低于对照组, 说明36 h已开始修复, 但尚未恢复到正常水平, 腹腔感染时肠黏膜E-cadherin蛋白的表达量呈现一个先出现下降, 后逐渐恢复的过程. 本实验中, 我们对比了血浆D-乳酸水平和肠黏膜E-cadherin蛋白的表达量, 通过Pearson相关性检验发现二者存在显著的负相关, 即肠黏膜E-cadherin蛋白的表达量降低, 肠黏膜的通透性增大, 这与文献报道的结果相同.

肠上皮细胞是哺乳动物组织中更新速率最快的细胞之一, 新生的肠上皮细胞从隐窝基底部的增殖细胞中分化出来, 沿着隐窝-绒毛轴迁移, 大约经过2-6 d到达肠绒毛顶端, 然后脱落进入肠腔, 细胞凋亡在这一过程中起到双重的调节作用: 控制隐窝基底部的干细胞增殖和通过失巢凋亡控制肠绒毛顶端的肠细胞脱落; 失巢凋亡现象是细胞凋亡的一种, 最早在上皮细胞和内皮细胞中发现, 是由于丧失与细胞基质的联系进而导致细胞凋亡; E-cadherin下调即可引起肠上皮细胞发生失巢凋亡现象, 通过阻断E-cadherin表达可以增加失巢凋亡的发生, 活化E-cadherin表达可以减少凋亡的发生<sup>[19]</sup>. 在敲除E-cadherin基因的大鼠中观察到肠上皮细胞凋亡的增加, 这些结果证明E-cadherin参与控制肠绒毛细胞发生失巢凋亡的发生<sup>[20]</sup>. E-cadherin参与调节的失巢凋亡的机制主要通过Bcl-2和caspase-9调节的信号转导通路, 最终由溶酶体酶和蛋白酶体执行降解蛋白<sup>[19]</sup>. 因此, 我们推断在腹腔感染状态下, 由于E-cadherin蛋白表达量下降, 可以通过介导细胞内的信号转导通路, 进而调节肠上皮细胞发生失巢凋亡, 最终导致肠通透性改变.

综上所述, 通过制作腹腔感染模型, 发现肠黏膜出现先损伤后修复的过程, 肠通透性随

着损伤程度的加重而增加, 检测腹腔感染病人血浆D-乳酸水平的变化可反映其肠屏障功能受损程度的改变, 对估计病情进展和预后有一定的意义; 同时, 腹腔感染的加重导致肠黏膜E-cadherin蛋白表达量下降, E-cadherin蛋白通过介导细胞内的信号转导通路, 进而调节肠上皮细胞发生失巢凋亡, 最终导致肠通透性改变. 这为我们临床上预防和治疗腹腔感染时肠通透性变化提供了理论依据.

#### 4 参考文献

- 黎介寿. 对肠功能障碍的再认识. 肠外与肠内营养 2008; 15: 321-322
- Duzgun AP, Bugdayci G, Sayin B, Ozmen MM, Ozer MV, Coskun F. Serum D-lactate: a useful diagnostic marker for acute appendicitis. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1483-1486
- 秦龙, 刘大为. 严重感染患者早期血D-乳酸水平对临床预后的影响. 中华临床营养杂志 2009; 17: 136-140
- van Roy F, Bex G. The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 3756-3788
- Gassler N, Rohr C, Schneider A, Kartenbeck J, Bach A, Obermüller N, Otto HF, Autschbach F. Inflammatory bowel disease is associated with changes of enterocytic junctions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G216-G228
- Hanby AM, Chinery R, Poulson R, Playford RJ, Pignatelli M. Downregulation of E-cadherin in the reparative epithelium of the human gastrointestinal tract. *Am J Pathol* 1996; 148: 723-729
- Liu L, Guo X, Rao JN, Zou T, Xiao L, Yu T, Timmons JA, Turner DJ, Wang JY. Polyamines regulate E-cadherin transcription through c-Myc modulating intestinal epithelial barrier function. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009; 296: C801-C810
- Rittirsch D, Huber-Lang MS, Flierl MA, Ward PA. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. *Nat Protoc* 2009; 4: 31-36
- Brandt RB, Siegel SA, Waters MG, Bloch MH. Spectrophotometric assay for D-(-)-lactate in plasma. *Anal Biochem* 1980; 102: 39-46
- Schlag G, Redl H, van Vuuren CJ, Davies J. Hyperdynamic sepsis in baboons: II. Relation of organ damage to severity of sepsis evaluated by a newly developed morphological scoring system. *Circ Shock* 1992; 38: 253-263
- 丁连安. 肠屏障功能障碍. 肠外与肠内营养 2005; 12: 55-58
- Daugherty AL, Mrsny RJ. Regulation of the intestinal epithelial paracellular barrier. *Pharm Sci Technol Today* 1999; 2: 281-287
- Shimizu K, Ogura H, Goto M, Asahara T, Nomoto K, Morotomi M, Yoshiya K, Matsushima A, Sumi Y, Kuwagata Y, Tanaka H, Shimazu T, Sugimoto H. Altered gut flora and environment in patients with severe SIRS. *J Trauma* 2006; 60: 126-133
- Vella A, Farrugia G. D-lactic acidosis: pathologic consequence of saprophytism. *Mayo Clin Proc* 1998; 73: 451-456
- Herrera DJ, Morris K, Johnston C, Griffiths P. Automated assay for plasma D-lactate by enzymatic spectrophotometric analysis with sample blank correction. *Ann Clin Biochem* 2008; 45: 177-183

#### 同行评价

本文以实验大鼠研究腹腔感染时肠屏障障碍的机制, 结果显示腹腔感染后小肠黏膜E-cadherin蛋白表达量的下降与肠屏障障碍显著相关. 本研究内容不是很新, 但作者做了认真的工作, 思路正确, 结论可信, 提供了一定可供参考的信息.

- 16 Angst BD, Marozzi C, Magee AI. The cadherin superfamily: diversity in form and function. *J Cell Sci* 2001; 114: 629-641
- 17 Guo X, Rao JN, Liu L, Zou TT, Turner DJ, Bass BL, Wang JY. Regulation of adherens junctions and epithelial paracellular permeability: a novel function for polyamines. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; 285: C1174-C1187
- 18 Liu YN, Lee WW, Wang CY, Chao TH, Chen Y, Chen JH. Regulatory mechanisms controlling human E-cadherin gene expression. *Oncogene* 2005; 24: 8277-8290
- 19 Fouquet S, Lugo-Martínez VH, Faussat AM, Renaud F, Cardot P, Chambaz J, Pinçon-Raymond M, Thenet S. Early loss of E-cadherin from cell-cell contacts is involved in the onset of Anoikis in enterocytes. *J Biol Chem* 2004; 279: 43061-43069
- 20 Hermiston ML, Gordon JI. In vivo analysis of cadherin function in the mouse intestinal epithelium: essential roles in adhesion, maintenance of differentiation, and regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 1995; 129: 489-506

编辑 李军亮 电编 闫晋利

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》修回稿须知

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

#### 1 修回稿信件

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

#### 2 稿件修改

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

#### 3 版权

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



# HER-2在胃癌原发灶和转移淋巴结中的表达

张永磊, 花亚伟, 张占东, 马飞, 许家亮

张永磊, 马飞, 许家亮, 郑州大学第一附属医院 河南省郑州市 450052

花亚伟, 张占东, 河南省肿瘤医院 河南省郑州市 450008

张永磊, 硕士, 主要从事胃肠道肿瘤的研究。

作者贡献分布: 此课题由张永磊与花亚伟设计; 样本收集、病理技术操作由张永磊、马飞及许家亮完成; 数据分析由张占东完成; 本论文写作由张永磊与花亚伟完成。

通讯作者: 花亚伟, 主任医师, 硕士生导师, 450008, 河南省郑州市东明路127号, 河南省肿瘤医院普外科。

huayawei@yahoo.com.cn

电话: 0371-65587166

收稿日期: 2012-05-26 修回日期: 2012-07-11

接受日期: 2012-08-01 在线出版日期: 2012-09-18

## HER-2 amplification and overexpression in primary tumors and paired lymph node metastases of gastric cancer

Yong-Lei Zhang, Ya-Wei Hua, Zhan-Dong Zhang, Fei Ma, Jia-Liang Xu

Yong-Lei Zhang, Fei Ma, Jia-Liang Xu, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Ya-Wei Hua, Zhan-Dong Zhang, Department of General Surgery, Henan Cancer Hospital, Zhengzhou 450008, Henan Province, China

Correspondence to: Ya-Wei Hua, Chief Physician, Department of General Surgery, Henan Cancer Hospital, 127 Dongming Road, Zhengzhou 450008, Henan Province, China. huayawei@yahoo.com.cn

Received: 2012-05-26 Revised: 2012-07-11

Accepted: 2012-08-01 Published online: 2012-09-18

### Abstract

**AIM:** To investigate the expression and amplification status of HER-2 in primary gastric cancer and lymph node metastases and to analyze their association with clinicopathologic features of gastric cancer.

**METHODS:** The expression and amplification status of HER-2 in primary tumors ( $n = 180$ ) and metastatic lymph nodes ( $n = 112$ ) of gastric cancer were detected by immunohistochemistry (IHC) and fluorescence in situ hybridization (FISH). Their association with clinicopathologic features of gastric cancer was analyzed using SPSS17.0.

**RESULTS:** The positive rate of HER-2 expression in primary tumors and paired lymph node

metastases was 13.9% and 20.5%, respectively, with no significant difference between the two groups ( $P > 0.05$ ). In primary tumors and metastatic lymph nodes, the concordance between HER-2 positivity by IHC and FISH was 84.0% and 82.6%, respectively. There were 6 cases with discordant HER-2 results between primary tumors and matched lymph node metastases, of which 3 were negative for HER-2 overexpression and 2 were negative for HER-2 amplification in primary lesions but showed positive conversion in metastatic lymph nodes. No cases showed negative conversion during the metastatic process. The positive rate of HER-2 was significantly associated with clinical stage, Lauren type, lymph node metastasis, depth of invasion, and degree of differentiation (all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** There was a high concordance between IHC and FISH results. HER-2 overexpression is correlated with invasion and metastasis of gastric cancer. HER-2 overexpression and amplification in metastatic sites have heterogeneity compared to primary tumors. HER-2 status should be assessed in metastatic sites if primary tumors are tested negative for HER-2.

**Key Words:** Gastric cancer; HER-2; Immunohistochemistry; Fluorescence in situ hybridization; Heterogeneity

Zhang YL, Hua YW, Zhang ZD, Ma F, Xu JL. HER-2 amplification and overexpression in primary tumors and paired lymph node metastases of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2485-2490

### 摘要

**目的:** 探讨HER-2蛋白表达与胃癌临床病理特征的关系以及HER-2蛋白表达与基因扩增的关系, 并探讨原发灶与转移灶中HER-2基因扩增及表达的异质性。

**方法:** 用免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)、荧光原位杂交(fluorescence in-situ hybridization, FISH)检测180例胃癌原发灶及112例转移淋巴结中HER-2的表达情况及基因状态, 将检测结果进行比较, 并与临床病理特

### ■背景资料

ToGA试验的成功使HER-2基因检测成为胃癌的常规检查, 但人们多依据原发灶HER-2状态来制定转移性肿瘤患者的治疗方案, 探讨其在胃癌原发灶与转移灶中的异质性表达, 为HER-2靶点治疗药物的临床应用及精确筛选适合靶向治疗的患者提供理论依据。

### ■同行评议者

张锦生, 教授, 复旦大学上海医学院病理学系



## ■研究前沿

HER-2异质性扩增和表达在乳腺癌中已经证实, 并被认为可能是针对HER-2的靶向治疗未达到预期疗效的原因之一, 在胃癌中的研究较少, 结论也不一致, 检测转移灶是否必要尚无定论。

征进行统计学分析。

**结果:** 180例胃癌原发灶IHC染色0、1+、2+及3+的例数分别为139(77.2%)、16(8.9%)、15(8.3%)及10(5.6%), 即HER-2蛋白阳性表达率为13.9%; 112例淋巴结转移灶IHC染色0、1+、2+及3+的例数分别为80(71.5%)、9(8.0%)、14(12.5%)及9(8.0%), 即HER-2蛋白阳性表达率为20.5%, 两者无显著性差异( $P>0.05$ ); 原发灶和淋巴结转移灶FISH与IHC阳性符合率分别为84.0%、82.6%; 112例淋巴结转移灶与其对应原发灶相比, 有6例IHC和/或FISH结果不一致, 其中3例发生了蛋白表达的阳性转变, 2例发生了基因状态的阳性转变, 未发现阴性转变; HER-2的表达与TNM分期、Lauren分型、有无淋巴结转移、浸润深度、分化程度有关( $P<0.05$ )。

**结论:** HER-2蛋白过表达与基因扩增有较好的一致性; HER-2过表达与胃癌的浸润和转移有关; HER-2基因扩增及表达在胃癌原发灶与转移灶中具有异质性; 若原发灶HER-2阴性, 应进一步检测转移灶。

**关键词:** 胃癌; HER-2; 免疫组织化学; 荧光原位杂交; 异质性

张永磊, 花亚伟, 张占东, 马飞, 许家亮. HER-2在胃癌原发灶和转移淋巴结中的表达. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2485-2490

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2485.asp>

## 0 引言

胃癌是我国发病率最高的消化系统恶性肿瘤, 全世界每年新发的胃癌病例40%以上是在中国, 且大多数胃癌患者发现时已属进展期, 最终多因肿瘤的浸润、转移而死亡, 也因此整体上胃癌治疗效果不佳. 因而寻找、分子水平上的预后指标及治疗手段成为热点, 并在人类表皮生长因子受体家族成员HER-2的研究中取得较大突破. 2009年ToGA试验<sup>[1]</sup>将曲妥珠单抗成功应用于晚期胃癌的治疗, HER-2基因检测也成为胃癌的常规检查. 目前建立在分子病理分型基础上的生物靶点治疗多用于肿瘤复发、转移患者, 并且人们多依据肿瘤原发灶特异性分子靶点的表达水平来决定转移性肿瘤患者的治疗, 但肿瘤细胞的转移是一个多分子参与的非随机的过程, 肿瘤细胞转移能力的形成是由肿瘤转移异质性决定的. 在乳腺癌<sup>[2]</sup>中已经证实HER-2基因扩增及表达具有异质性, 并认为其可能是针对

HER-2的靶向治疗未达到预期疗效的原因之一. 在胃癌中, 此类研究尚不多; 本研究通过免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)及荧光原位杂交(fluorescence in-situ hybridization, FISH)检测胃癌组织中的HER-2表达情况及基因状态, 分析其与胃癌常见临床病理特征的关系, 比较其在胃癌原发灶与淋巴结转移灶中的差异, 为HER-2靶点治疗药物的临床应用及精确筛选适合靶向治疗的患者提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2010-06/2011-09在我院手术切除并经病理组织学确诊的手术胃腺癌组织蜡块标本, 所有患者术前未行化疗、放疗及免疫治疗; 其中癌组织180例, 对应转移淋巴结112例. 180例胃癌中, 男112例, 女68例; 年龄30-79岁(平均59岁); 有淋巴结转移112例, 无淋巴结转移68例; 肿瘤直径 $>5$  cm 86例,  $\leq 5$  cm 94例, 有浆膜浸润116例, 无浆膜浸润64例; 按Lauren分型: 肠型62例, 弥漫型102例, 混合型26例; 按WHO组织学分级G<sub>1</sub>: 19例, G<sub>2</sub>: 55例, G<sub>3</sub>/G<sub>4</sub>: 106例; 按AJCC(2010)病理学分期(pTNM): I期17例, II期45例, III期103例, IV期15例。

LEICA SM2010R切片机(上海莱卡仪器有限公司), 光学显微镜(日本OLYMPUS), 101型电热鼓风干燥箱(北京市永光明医疗仪器厂), 原位杂交仪ThermoBrite™(StatSpin, USA), 全自动多功能组织病理检测系统Ventana Bench Mark XT及配套试剂盒. 一抗: Anti-Her-2/neu(4B5)购自德国罗氏诊断有限公司; HER-2基因扩增检测试剂盒(包含GLP HER-2/neu/CSP17探针及GLP杂交缓冲液)购自北京金菩嘉医疗科技有限公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 HER-2检测:** 经10%中性福尔马林固定、石蜡包埋的胃癌组织标本连续切片, 厚度为3-5  $\mu$ m, 用IHC检测HER-2蛋白. 然后对原发灶和淋巴结转移灶中所有染色结果为1+、2+及3+的病例进行FISH检测, 并在原发灶和转移灶中分别随机挑选15例染色为0的病例行FISH检测, 以作为对照; 再将原发灶与对应转移灶HER-2蛋白表达不一致的病例行FISH检测(与前重复者不做). 使用双盲法由2位有临床经验的病理科医生对IHC染色结果进行判读。

**1.2.2 Her-2/neu结果评分标准:** 0: 无反应或 $<10\%$ 肿瘤细胞膜染色; 1+:  $\geq 10\%$ 肿瘤细胞微弱或隐约可见膜染色, 细胞仅有部分膜染色; 2+:  $\geq 10\%$

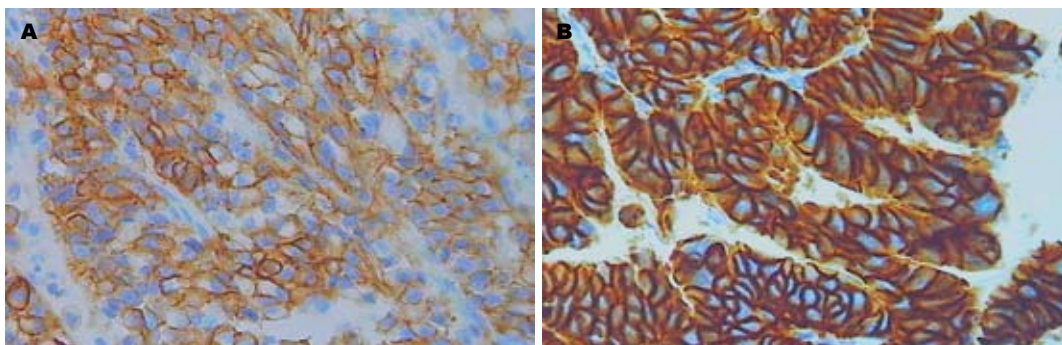


图 1 HER-2在胃癌原发灶中的表达(Ventana Bench Mark XT × 200). A: 弥漫型胃癌HER-2+++; B: 肠型胃癌HER-2+++.

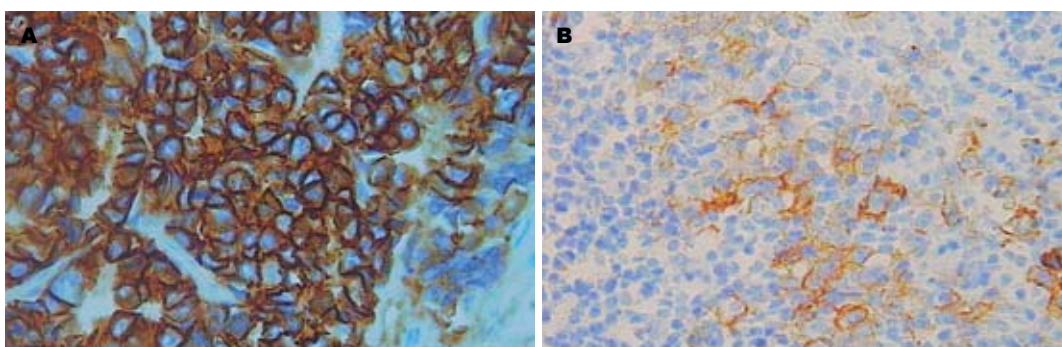


图 2 HER-2在胃癌转移淋巴结中的表达(Ventana Bench Mark XT × 200). A: HER-2+++; B: HER-2++.

#### ■ 相关报道

Bozzetti等通过免疫荧光染色(IHC)和荧光原位杂交(FISH)检测72例胃癌原发灶及并发转移灶,发现了1例淋巴结转移灶Her-2扩增及蛋白过表达,而在其原发灶没有表达.

肿瘤细胞有弱到中度的基底膜、侧膜或完全膜染色; 3+:  $\geq 10\%$ 肿瘤细胞的基侧膜、侧膜或完全膜的强染色。0、1+为HER-2阴性表达, 2+、3+为HER-2阳性表达。在100×物镜下观察胃癌细胞核的FISH结果并进行信号计数和比值计数, 计数30个细胞, 统计Ratio值(30个细胞核中红信号总数/30个细胞核中绿信号总数); 结果判断标准: (1)Ratio $< 1.8$ 为阴性结果, 即无HER-2基因扩增; (2)Ratio $> 2.2$ 为阳性结果, 即HER-2基因发生扩增; (3)Ratio介于1.8-2.2之间时, 可以选择增加计数细胞至100个, 或重做FISH实验来判断最终结果。

**统计学处理** 所有数据使用SPSS17.0软件进行统计学处理, 率的比较用 $\chi^2$ 检验及Fisher确切概率法;  $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 HER-2在胃癌原发灶、转移淋巴结中的表达及与基因扩增的关系** 180例胃癌原发灶中, HER-2蛋白IHC染色0、1+、2+及3+的例数分别为139(77.2%)、16(8.9%)、15(8.3%)及10(5.6%), 即阳性表达率(2+/3+)为13.9%(图1); 112例淋巴结转移灶中HER-2蛋白IHC染色0、1+、2+及3+的例数分别为80(71.5%)、9(8.0%)、14(12.5%)及9(8.0%), 即阳性表达率为20.5%(图2), 两组之

间无显著性差异( $P > 0.05$ )。FISH检测示在原发灶和淋巴结转移灶中所有IHC染色0及1+的病例均未发现HER-2基因扩增(图3A), 所有IHC染色3+病例均存在HER-2基因扩增(图3B); 15例IHC染色为2+的原发灶组织中有11例存在基因扩增, 14例IHC染色为2+的淋巴结转移灶中有10例存在基因扩增。胃癌原发灶和淋巴结转移灶中HER-2基因扩增与过表达的符合率分别为84.0%、82.6%。

**2.2 HER-2蛋白表达与胃癌临床病理特征的关系** HER-2蛋白表达与患者年龄、性别、肿瘤大小无关( $P > 0.05$ ); 与有无淋巴结转移、TNM分期、有无浆膜浸润、分化程度、Lauren分型有关( $P < 0.05$ , 表1)。

**2.3 胃癌原发灶和淋巴结转移灶中HER-2基因状态及表达情况的比较** 112例淋巴结转移灶与对应原发灶经IHC及FISH检测显示共有6例HER-2结果不一致, 其中3例原发灶HER-2蛋白IHC染色1+, 其转移淋巴结HER-2蛋白IHC染色2+, 即发生了阳性转变。2例基因状态发生阳性转变, 其中1例原发灶HER-2蛋白IHC染色为1+, 其淋巴结转移灶中为2+, 另外1例原发灶与转移灶HER-2蛋白IHC染色均为2+。在所有HER-2发生改变的病例中, 未见HER-2蛋白表达与基因状态

■创新盘点

本研究通过IHC和FISH法检测HER-2在胃癌原发灶和淋巴结转移灶的表达,分析其与胃癌常见临床病理特征的关系,比较其在胃癌原发灶与淋巴结转移灶中的差异.

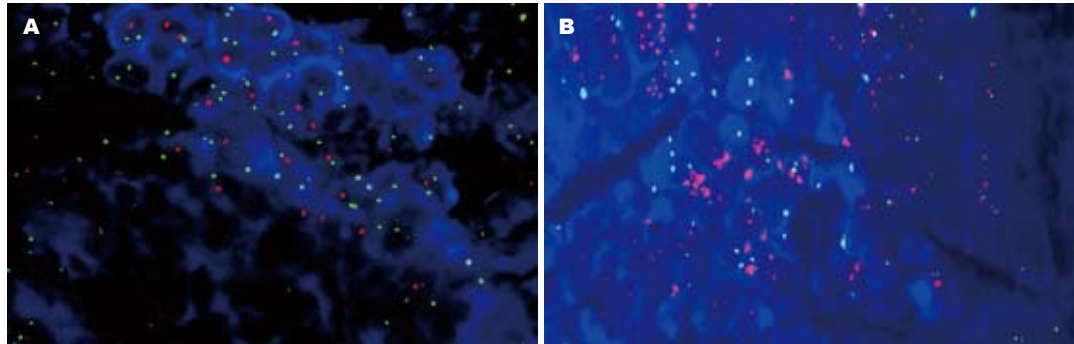


图 3 HER-2基因有无扩增(FISH × 200, 红信号为HER-2, 绿信号为CSP17). A: 无扩增; B: 有扩增.

表 1 HER-2蛋白与胃癌临床病理特征的关系

临床病理特征	n	HER-2蛋白的表达(n)		χ <sup>2</sup> 值	P值
		阳性	阴性		
性别				0.4123	0.5208
男	112	17	95		
女	68	8	60		
年龄(岁)				0.5184	0.4715
≤60	84	10	74		
>60	96	15	81		
肿瘤大小				0.7866	0.3751
≤5 cm	94	11	83		
>5 cm	86	14	72		
浸润深度					0.0408 <sup>1</sup>
未及浆膜	64	4	60		
浸及浆膜	116	21	95		
淋巴结转移				3.9035	0.0482
无	68	5	63		
有	112	20	92		
组织学分级				7.0096	0.0301
G <sub>1</sub>	19	3	16		
G <sub>2</sub>	55	13	42		
G <sub>3</sub> /G <sub>4</sub>	106	9	97		
Lauren分型				7.6861	0.0214
肠型	62	13	49		
弥漫型	102	7	95		
混合型/未知	26	5	21		
TNM分期					0.0318 <sup>1</sup>
I	17	1	16		
II	45	4	41		
III	103	14	89		
IV	15	6	9		

<sup>1</sup>Fisher确切概率法.

的阴性转变(表2).

3 讨论

HER-2蛋白是一种分子量为185 kDa的络氨酸激酶受体,是人类表皮生长因子受体家族的第

表 2 胃癌原发灶与转移性淋巴结中HER-2状态不一致的病例

病例	性别	Lauren分型	TNM分期	原发灶		淋巴结转移灶	
				IHC	FISH	IHC	FISH
1	女	肠型	III b	0	-	1+	-
2	女	肠型	III a	1+	-	2+	-
3	男	弥漫型	II a	1+	-	2+	-
4	女	肠型	II b	1+	-	2+	+
5	男	弥漫型	II b	2+	+	3+	+
6	女	肠型	III a	2+	-	2+	+

2个成员<sup>[3]</sup>. 过度表达的HER-2蛋白通过激活Ras/MAPK、PI3K/Akt等一系列细胞内信号转导通路,参与肿瘤细胞的增殖、分化、浸润和转移过程<sup>[4,5]</sup>以及相关基因的调控<sup>[6]</sup>;由于样本量大小、检测方法、评分标准的不同,以往报道的胃癌HER-2蛋白的表达率高低不均,大多在6%-38%之间,但在Allgayer等<sup>[7]</sup>的研究中HER-2蛋白的表达率高达91%. HER-2蛋白的过表达对胃癌预后的影响尚无定论,许多研究认为其是导致胃癌预后不良的独立因素<sup>[8,9]</sup>,而在另一些研究中,尽管HER-2阳性患者较阴性患者有着更低的生存率,但两者之间的差异无统计学意义<sup>[10]</sup>;几乎所有研究均发现HER-2蛋白在肠型胃癌中的表达显著高于弥漫型胃癌<sup>[11,12]</sup>.

在我们的研究中,所有IHC染色3+病例均存在HER-2基因扩增,15例IHC染色为2+的原发灶组织中有11例存在基因扩增,14例IHC染色为2+的淋巴结转移灶中有10例存在基因扩增.胃癌原发灶及淋巴结转移灶HER-2的IHC检测结果与FISH的阳性符合率分别为84.0%、82.6%,HER-2蛋白过表达与基因扩增有较好的一致性,IHC可作为HER-2的初步筛查手段,若IHC染色为2+,应进一步行FISH检测筛查.与以往报道<sup>[11,12]</sup>一致,HER-2蛋白在肠型胃癌中的表达显著高于

弥漫型胃癌, 在高、中分化胃癌中的表达显著高于低、未分化胃癌; 本研究尚发现HER-2蛋白表达与淋巴结转移情况、浆膜浸润情况有关, 其在有淋巴结转移、浆膜浸润的胃癌中的表达显著性增高, 与之前一些研究<sup>[13,14]</sup>一致, 提示HER-2蛋白的过表达可能增加了胃癌细胞的侵袭能力, 促进了癌细胞的转移。

在ToGA临床试验<sup>[1]</sup>中, HER-2表达阳性的进展期胃癌患者, 使用标准化疗方案联合赫塞汀(针对HER-2蛋白的人源单抗)治疗后, 中位生存时间达到13.8 mo, 有效率达47.3%。这无疑对进展期胃癌患者具有重要意义, 然而能否使用赫塞汀取决于癌灶HER-2的状态。对于许多失去手术机会的晚期肿瘤患者或复发转移患者, 往往无法取到肿瘤组织或者难以获得足够的组织样本以进行必要的分子病理检查, 因而人们多依据原发灶HER-2状态来制定转移性肿瘤患者的治疗方案。但肿瘤发生发展过程中的每一步都可能伴随着遗传学的改变, 肿瘤细胞转移能力的形成是由肿瘤转移异质性决定的。Bozzetti等<sup>[15]</sup>曾通过IHC和FISH检测72例胃癌原发灶及并发转移灶, 发现了1例淋巴结转移灶Her-2扩增及蛋白过表达, 而在其原发灶没有。Kim等<sup>[16]</sup>进行了一项胃癌原发灶及对应转移灶HER-2的对比研究后, 认为HER-2基因在胃癌原发灶与对应转移灶中状态出现不一致是HER-2在原发灶中异质性扩增的结果。由于原发灶与转移灶出现HER-2状态不一致的比例大小不等, 得出的结论也有差异, 对于是否检测转移灶的HER-2状态尚有争议。

本研究中胃癌组织HER-2蛋白阳性表达率低于转移性淋巴结HER-2阳性表达率, 但差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 并且有6例HER-2基因状态和/或表达情况在胃癌转移过程中发生了改变, 3例HER-2蛋白表达发生阳性转变, 2例发生了HER-2基因的阳性转变, 其中1例原发灶HER-2蛋白IHC染色为1+, 其淋巴结转移灶中为2+, 另外1例原发灶与转移灶HER-2蛋白IHC染色均为2+。提示HER-2基因扩增及表达在胃癌原发灶与转移灶之间具有异质性; 但未见原发灶HER-2阳性的胃癌转移后发生阴性转变, 因而对于原发灶HER-2阳性的患者, 可以依据原发灶HER-2的情况来指导转移性胃癌的靶向治疗; 而对于原发灶HER-2阴性患者, 我们建议应进一步检测转移灶, 以免遗漏适合HER-2靶向治疗的转移性胃癌患者。

总之, 我们研究发现HER-2的IHC检测与FISH有较好的一致性, IHC可作为HER-2的初步筛查手段, IHC结果为2+时应进一步行FISH检测; HER-2的过表达参与了胃癌的浸润、转移过程; HER-2基因扩增及表达在胃癌原发灶与转移灶之间具有异质性, 原发灶HER-2阴性的患者应进一步检测转移灶。

#### 4 参考文献

- 1 Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687-697
- 2 Wu JM, Halushka MK, Argani P. Intratumoral heterogeneity of HER-2 gene amplification and protein overexpression in breast cancer. *Hum Pathol* 2010; 41: 914-917
- 3 Akiyama T, Sudo C, Ogawara H, Toyoshima K, Yamamoto T. The product of the human c-erbB-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. *Science* 1986; 232: 1644-1646
- 4 Klos KS, Wyszomierski SL, Sun M, Tan M, Zhou X, Li P, Yang W, Yin G, Hittelman WN, Yu D. ErbB2 increases vascular endothelial growth factor protein synthesis via activation of mammalian target of rapamycin/p70S6K leading to increased angiogenesis and spontaneous metastasis of human breast cancer cells. *Cancer Res* 2006; 66: 2028-2037
- 5 Goueli BS, Janknecht R. Upregulation of the Catalytic Telomerase Subunit by the Transcription Factor ER81 and Oncogenic HER2/Neu, Ras, or Raf. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 25-35
- 6 Finkenzeller G, Weindel K, Zimmermann W, Westin G, Marmé D. Activated Neu/ErbB-2 induces expression of the vascular endothelial growth factor gene by functional activation of the transcription factor Sp 1. *Angiogenesis* 2004; 7: 59-68
- 7 Allgayer H, Babic R, Gruetzner KU, Tarabichi A, Schildberg FW, Heiss MM. c-erbB-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated with the expression of tumor-associated protease systems. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2201-2209
- 8 Tanner M, Hollmén M, Junttila TT, Kapanen AI, Tommola S, Soini Y, Helin H, Salo J, Joensuu H, Sihvo E, Elenius K, Isola J. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIalpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann Oncol* 2005; 16: 273-278
- 9 Park DI, Yun JW, Park JH, Oh SJ, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI, Yoo CH, Son BH, Cho EY, Chae SW, Kim EJ, Sohn JH, Ryu SH, Sepulveda AR. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1371-1379
- 10 Grabsch H, Sivakumar S, Gray S, Gabbert HE, Müller W. HER2 expression in gastric cancer: Rare, heterogeneous and of no prognostic value - conclu-

#### ■同行评价

本文比较HER-2在胃癌原发灶与淋巴结转移灶中的差异, 论著资料较全, 结果明确, 并有一定新意, 具有较好的临床应用价值。



- sions from 924 cases of two independent series. *Cell Oncol* 2010; 32: 57-65
- 11 陈娟, 李东石, 余英豪, 王烈, 欧阳学农, 谢飞来, 熊喜生. Her-2蛋白在胃癌中的表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1375-1379
  - 12 Hsu JT, Chen TC, Tseng JH, Chiu CT, Liu KH, Yeh CN, Hwang TL, Jan YY, Yeh TS. Impact of HER-2 overexpression/amplification on the prognosis of gastric cancer patients undergoing resection: a single-center study of 1,036 patients. *Oncologist* 2011; 16: 1706-1713
  - 13 Yan SY, Hu Y, Fan JG, Tao GQ, Lu YM, Cai X, Yu BH, Du YQ. Clinicopathologic significance of HER-2/neu protein expression and gene amplification in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1501-1506
  - 14 王仰坤, 高春芳, 负田, 张现伟, 赵文召, 郑国宝, 刘广洛. HER2和EGFR基因在胃癌组织中的状态及其与临床病理的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2642-2647
  - 15 Bozzetti C, Negri FV, Lagrasta CA, Crafa P, Bassano C, Tamagnini I, Gardini G, Nizzoli R, Leonardi F, Gasparro D, Camisa R, Cavalli S, Silini EM, Ardizoni A. Comparison of HER2 status in primary and paired metastatic sites of gastric carcinoma. *Br J Cancer* 2011; 104: 1372-1376
  - 16 Kim MA, Lee HJ, Yang HK, Bang YJ, Kim WH. Heterogeneous amplification of ERBB2 in primary lesions is responsible for the discordant ERBB2 status of primary and metastatic lesions in gastric carcinoma. *Histopathology* 2011; 59: 822-831

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

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》性质、刊登内容及目标

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), 国内统一刊号CN 14-1260/R, *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内23个省、市、自治区、特别行政区的370位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究人员服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

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

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



## 肝硬化患者肠道微生态的变化

吴旭, 吴云峰, 毛朝亮, 吴中明

吴旭, 吴云峰, 毛朝亮, 遵义市第一人民医院消化内科 贵州省遵义市 563000

吴旭, 吴中明, 遵义医学院基础医学院微生物学研究室 贵州省遵义市 563000

吴旭, 副主任医师, 主要从事感染免疫研究。

作者贡献分布: 此课题设计和论文撰写由吴旭完成; 研究过程由吴旭、吴云峰及毛朝亮操作完成; 课题设计、研究指导及论文审核修改由吴中明指导。

通讯作者: 吴中明, 教授, 563000, 贵州省遵义市汇川区大连路201号, 遵义医学院基础医学院微生物研究室。

zhongming\_wu0552@sina.com

电话: 0852-8609545

收稿日期: 2012-03-16 修回日期: 2012-07-10

接受日期: 2012-07-19 在线出版日期: 2012-09-18

### Changes in intestinal microflora in patients with hepatic cirrhosis

Xu Wu, Yun-Feng Wu, Chao-Liang Mao, Zhong-Ming Wu

Xu Wu, Yun-Feng Wu, Chao-Liang Mao, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Zunyi, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Xu Wu, Zhong-Ming Wu, Zunyi Medical College, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Correspondence to: Zhong-Ming Wu, Department of Microbiology, School of Basic Medical Sciences, Zunyi Medical College, Zunyi 563000, Guizhou Province, China. zhongming\_wu0552@sina.com

Received: 2012-03-16 Revised: 2012-07-10

Accepted: 2012-07-19 Published online: 2012-09-18

### Abstract

**AIM:** To compare the differences in the numbers of *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Eubacterium rectale-Clostridium*, *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Clostridium difficile* in stool samples between patients with hepatic cirrhosis and controls to understand the changes in intestinal flora in patients with hepatic cirrhosis.

**METHODS:** Stool samples collected from 29 patients with hepatic cirrhosis who were treated at the First People's Hospital of Zunyi during the period between March to December 2010 and 13 healthy volunteers were used in this study. The samples were fixed, smeared on slides, and analyzed by fluorescent in situ hybridization (FISH) and laser scanning confocal microscopy (LSCM). The *t*-test and rank correlation test were used for

statistical analysis.

**RESULTS:** The numbers of *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Eubacterium rectale-Clostridium*, *Escherichia coli*, *Enterococcus*, and *Clostridium difficile* were significantly lower in patients with hepatic cirrhosis than in controls ( $Z = -4.006, -4.34, -4.399, -4.174, -3.558, -3.95$ ; all  $P < 0.01$ ). The proportions of all 6 kinds of bacteria were changed. The numbers of obligate anaerobes such as *Bifidobacterium* and *Bacteroides* were reduced, while those of *E. coli*, *Eubacterium rectale-Clostridium*, *Enterococcus*, and *Clostridium difficile* were increased (all  $P < 0.05$ ). The numbers and portions of bacteria had no significant correlation with etiology and severity of hepatic cirrhosis (Child-Pugh classification).

**CONCLUSION:** The numbers and proportions of six kinds of bacteria changed in patients with hepatic cirrhosis. Changes in intestinal microflora have no significant correlation with etiology and Child-Pugh classification.

**Key Words:** Hepatic cirrhosis; Intestinal microflora; Fluorescent in situ hybridization; Laser scanning confocal microscopy

Wu X, Wu YF, Mao CL, Wu ZM. Changes in intestinal microflora in patients with hepatic cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2491-2495

### 摘要

**目的:** 观察肝硬化(hepatic cirrhosis, HC)患者粪便中类杆菌、双歧杆菌、肠球菌、大肠杆菌、直肠真杆菌-球形梭菌和梭状芽胞杆菌, 比较肝硬化患者与健康对照组之间肠道微生态的差异, 以了解肝硬化患者肠道菌群的变化。

**方法:** 收集2010-03/2010-12遵义市第一人民医院消化科所收治的肝硬化患者29例, 并以13例同期健康在校大学生作对照, 收集粪便标本。经固定、玻片上涂片, 荧光原位杂交(fluorescent in situ hybridization, FISH), 激光共聚焦扫描显微镜(laser scanning confocal microscopy, LSCM)对细菌进行计数观察。应用秩相关检测法进行分析。

### ■背景资料

肝脏与肠道之间有很密切的关系, 构成人体的肠肝循环及肠肝屏障。肠道菌群与肝硬化及其并发症的发病机制有相关性。肠道是微生物在人体内最大的定居和活动场所。由于人肠道中的绝大多数细菌不能培养, 应用培养方法很难从种类水平上获得可靠和定量的结果。因此选择一种简便、快速并且精确的方法鉴定肠道细菌群, 研究他们与机体的关系显得急迫而重要。

### ■同行评议者

刘森, 副教授, 安徽医科大学病原生物学

## ■ 研发前沿

肠道微生物的鉴定作为肝硬化患者病情严重程度、愈后评估和治疗的基础研究,受到国内外研究人员的广泛关注,成为肝硬化的研究热点之一。如何对种类繁多且复杂多变的肠道微生物进行鉴定是目前亟待研究的问题。

**结果:**肝硬化患者与健康对照组比较粪便中双歧杆菌、类杆菌、真杆菌-直肠梭菌、肠球菌、大肠杆菌和梭状芽胞杆菌均较健康对照组显著减少( $Z = -4.006$ 、 $-4.34$ 、 $-4.399$ 、 $-4.174$ 、 $-3.558$ 、 $-3.95$ , 均 $P < 0.01$ ), 6种细菌的比例发生改变,表现为双歧杆菌及类杆菌专性厌氧菌的数量减少,大肠杆菌、直肠真杆菌-球形梭菌、肠球菌和芽胞杆菌的数量增多( $P < 0.05$ )。细菌数量及比例之间的这种改变与肝硬化病因及肝硬化严重程度(Child-Pugh)分级无明显相关性( $P > 0.05$ )。

**结论:**肝硬化患者肠道中6种细菌数量及构成比发生改变,肠道微生态的这种变化与肝硬化不同病因及疾病严重程度之间无明显相关性。

**关键词:**肝硬化; 肠道微生态; 荧光原位杂交; 激光共聚焦扫描显微镜

吴旭, 吴云峰, 毛朝亮, 吴中明. 肝硬化患者肠道微生态的变化. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2491-2495  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2491.asp>

## 0 引言

肝硬化患者由于肝功能损害, 肝脏库普弗细胞解毒功能减低、门脉高压形成、肠肝屏障受损, 从肠道入血的各种物质不经过肝脏的解毒而绕过肝脏直接进入体循环, 并发各种细菌感染、内毒素血症和脓毒血症等, 各种炎症刺激物长期慢性刺激, 激活机体免疫系统, 引起异常免疫反应, 导致全身炎症反应综合征甚至多器官功能衰竭。这反过来又加重了肠道微生态的失调和肝脏的损伤, 形成恶性循环, 从而影响肝硬化愈后。因此研究肝硬化与肠道微生态之间的关系至关重要。本研究应用荧光原位杂交(fluorescent in situ hybridization, FISH)结合激光共聚焦扫描显微镜(laser scanning confocal microscopy, LSCM)对肝硬化患者粪便中的6种细菌的数量及比例进行检测, 为深入研究肝硬化患者肠道微生态奠定基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 酒精性肝硬化和非酒精性肝硬化参照中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组于2002-10南京会议制定的诊断标准, 病毒性肝炎肝硬化参照中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学会2000年西安会议联合修订的病毒性肝炎防治方案中乙肝后肝硬化的诊断标准。收集2010-03/2010-12遵义市第一人民医院消化科诊断的肝硬化失代偿期患者29例, 年

龄23-83岁, 平均59.93岁, 排除消化道出血, 其中病毒性肝炎肝硬化9例, 酒精性肝硬化12例, 非酒精性脂肪性肝病所致肝硬化8例; Child-Pugh分级, A级8例, B级14例, C级7例。以13例同期健康在校大学生自愿者为对照组, 年龄20-24岁, 平均22.46岁, 半年内未使用抗生素及益生菌类药物。寡核苷酸探针购自上海生工生物工程有限公司, LCSM(Leica TCS-SP2)。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本收集:** 收集一次新鲜全便, 持续混匀粪便样本5 min; 不能及时混匀的粪便, 放在4 °C冰箱内, 在12 h内进行混匀处理。

**1.2.2 标本固定:** 称取0.5 g粪便加到4.5 mL经过滤处理的磷酸盐缓冲液(PBS)中, 加入玻璃球珠, 漩涡震荡器混匀5 min; 离心 $10 \times 100$  r/min, 2 min,  $20 \times 100$  r/min, 2 min; 取1 mL上清液置于3 mL新鲜配制的40 g/L多聚甲醛溶液(PFA)中固定, 4 °C放置过夜, 分装。

**1.2.3 标本脱水:** 上述经固定处理的标本涂片, 50 mL/L、70 mL/L、90 mL/L和无水乙醇梯度乙醇脱水固定10 min, 空气中自然干燥。

**1.2.4 标本消化:** 溶菌酶稀释缓冲液消化10 min, 0.1% DEPC水清洗3次, 空气中自然干燥。

**1.2.5 标本杂交及漂洗:** 在暗室中将终浓度为1.0 g/mL的探针100  $\mu$ L均匀加到涂片表面, 放于湿盒内, 置50 °C恒温水浴箱内杂交12 h; 漂洗缓冲液50 °C漂洗30 min, 超纯水快速漂净, 空气中自然干燥。

**1.2.6 细菌数量的检测:** 应用LCSM检测杂交后的细菌数量(图1, 2, 使用激发波长见表1)。

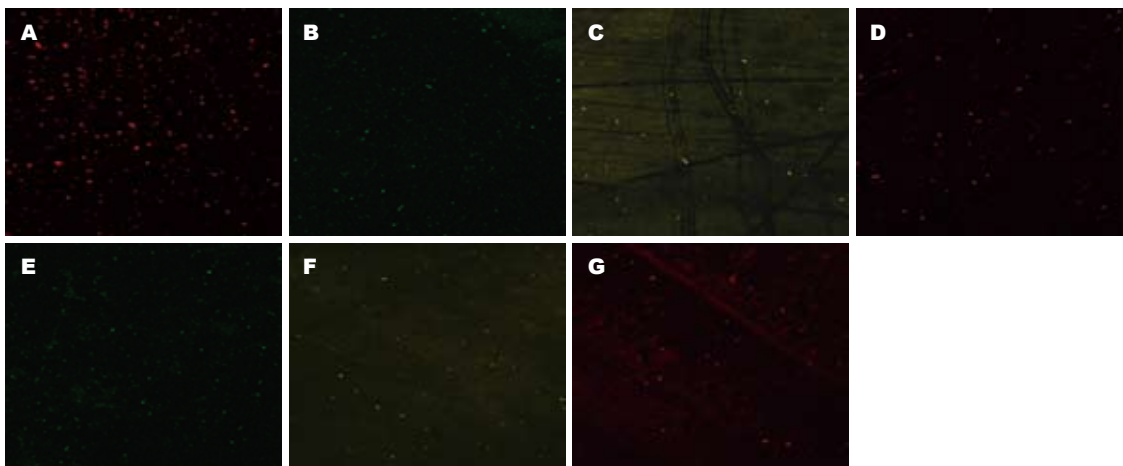
**统计学处理** 非正态分布的变量用中位数(四分位数间距)描述。肝硬化组3种不同病因之间以及肝硬化组Child-Pugh分级6种肠道细菌计数实验数据采用非参数检验Kruskal-Wallis法(非正态分布), 采用SPSS13.0软件, 进行统计分析,  $P < 0.05$ 认为有差异。

## 2 结果

FISH细菌计数、肝硬化组及健康对照组比较, 6种不同细菌计数存在显著差异( $P < 0.01$ ); 所有6种细菌计数均较健康对照组明显降低, 对于6种细菌的构成比, 肝硬化组双歧杆菌和类杆菌的比例较健康对照组降低, 而直肠真杆菌-球形梭菌、大肠杆菌、肠球菌和梭状芽胞杆菌的比例较健康对照组增高。不同病因以及不同Child-Pugh分级肝硬化之间细菌计数无明显差异( $P > 0.05$ , 表2-4)。

## ■ 相关报道

Cesaro等认为肠道微生物的失衡、细菌过长生长、免疫异常改变肠道通透性、诱导和促进肝脏损害、参与肝硬化并发症的发生。Garbuzenko等证实肠道菌群在肝硬化感染和高动力循环状态中起重要作用。



**■创新盘点**  
 本文应用FISH结合LCSM技术, 无需对细菌进行分离培养, 也不需要提取DNA, 而是以微生物基因组的核酸序列为基础, 利用荧光标记的寡核苷酸探针进行原位杂交来鉴定对肝硬化患者的肠道菌群进行分析。

图 1 健康对照组细菌LSCMX60扫描图片. A: 所有细菌荧光; B: 类杆菌; C: 双歧杆菌; D: 芽胞杆菌; E: 大肠杆菌; F: 直肠真杆菌-梭菌; G: 肠球菌.

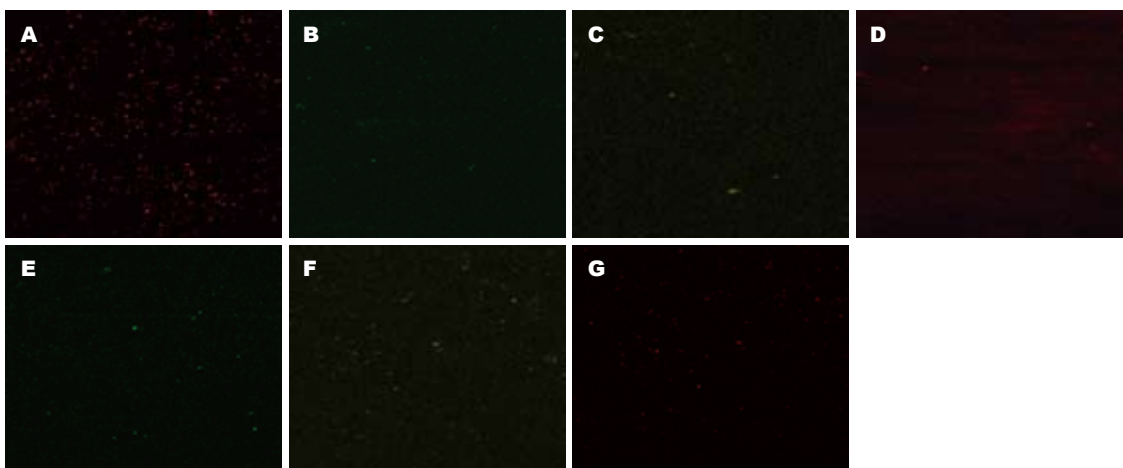


图 2 肝硬化组细菌LSCMX60扫描图片. A: 所有细菌荧光; B: 类杆菌; C: 双歧杆菌; D: 芽胞杆菌; E: 大肠杆菌; F: 直肠真杆菌-梭菌; G: 肠球菌.

### 3 讨论

肝脏与肠道之间有很密切的联系. 肠腔内正常微生物的定植, 可持续性的抑制炎症反应和肝脏免疫耐受, 维持肝脏的免疫平衡<sup>[1]</sup>. 肠道微生物的改变可引起肝脏网状内皮细胞系统功能损害<sup>[2]</sup>, 导致随时间而持续加重的免疫损害<sup>[3]</sup>, 对肝脏的作用可从无症状到肝纤维化和肝硬化<sup>[4]</sup>. 肝硬化是慢性肝病的终末阶段, 越来越多的证据表明肠道菌群与肝硬化及其并发症的发病机制有相关性<sup>[5,6]</sup>.

门静脉系统接受来自肠道的血液, 肠道的血活化肝功能. 肝脏反过来通过分泌胆汁进入肠道而影响肠道功能. 肠道微生物屏障防御致病菌的定植, 影响肠道的动力和渗透性、刺激肠黏膜免疫系统、降低细菌的易位、产生维生素、肠道微生物的异常改变在诱导和促进肝脏损害中起重要作用<sup>[7]</sup>. 他从黏膜水平上影响机体的内稳态<sup>[8]</sup>. 肝硬化时肠道动力障碍是肠道细菌过度生长的前

提条件, 他降低了肠道清除能力, 为致病菌提供了黏附和生长机会, 过度生长的细菌及其分泌的毒素引起肠上皮细胞病变; 肝脏分泌的胆汁有肠道去垢作用, 肝硬化患者胆汁分泌减少, 导致肠道黏膜致病菌的定植; 抗生素尤其是广谱抗生素的不合理使用, 引起肠道细菌数量的减少或菌群间比例的失调. Sekirov等<sup>[9]</sup>研究发现抗生素虽然没有显著改变肠道细菌的总数, 但改变了微生物的构成, 导致了肠道屏障功能的异常. 同时抗生素治疗可以改变肠道菌群的情况, 导致肠道菌群易位、肝功能的恶化和内毒素血症<sup>[10,11]</sup>, 在肝硬化感染和高动力循环状态中起重要作用<sup>[12,13]</sup>.

粪便干质量的1/3-2/5由细菌组成, 基本代表人下消化道主要是结肠菌群状态. 因此, 通过粪便微生物的检测, 对肠道菌群进行定性和定量研究是最简捷的方法<sup>[14]</sup>. 粪便微生物有高度的结构性和空间构成<sup>[15]</sup>. Berg等<sup>[16]</sup>根据细菌发生易位

## ■应用要点

75%来自人结肠的16S rRNA序列定义的细菌种系是不能用现有方法培养出来的, FISH作为对肠道菌群研究的一种方法, 根据目标微生物16S rRNA基因序列的相对保守区域设计寡聚核苷酸探针, 利用荧光素进行标记, 与靶细菌杂交, 通过检测目标序列来确定微生物的种类、数量及空间分布, 同时能显示多种颜色便于区别等优点, 但只对16S rRNA序列已知的微生物进行检测, 对于序列未知的微生物则无能为力。

表 1 16S rRNA寡核苷酸探针序列

探针	序列(5'→3')	靶细菌	荧光素	颜色	激发波长(nm)
EREC482	GCTTCTTAGTCAGGTACCG	梭状芽胞杆菌	FAM	红色	495
Enc	CCCTCTGATGGGTAGGTT	肠球菌	FAM	红色	495
Ecoli	GCAAAGGTATTAACCTTACTCCC	大肠杆菌	HEX	绿色	538
Bac303	CCAATGTGGGGGACCTT	类杆菌	HEX	绿色	538
Bif164	CATCCGGCATTACCACCC	双歧杆菌	TAMRA	黄色	559
Lowgc2p	GGGACGTTGTTCTGAGT	直肠真杆菌-梭菌	TAMRA	黄色	559
EUB338	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	所有细菌	ROX	红色	588

表 2 肝硬化组和健康对照组之间肠道几种细菌的比较 [中位数(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>)]

分组	总的细菌	类杆菌	双歧杆菌	梭状芽胞	大肠杆菌	肠球菌	真杆-梭菌
肝硬化组	624.72 (276.29, 973.14)	17.09 (8.89, 25.30)	32.14 (-8.40, 62.68)	34.68 (10.52, 58.84)	13.11 (1.60, 24.62)	25.78 (5.63, 45.93)	21.91 (12.49, 31.33)
健康对照组	1674.72 (356.63, 992.81)	128.38 (-3.01, 259.76)	289.67 (142.08, 37.27)	173.84 (-51.05, 398.73)	80.18 (5.60, 154.77)	175.92 (106.70, 245.14)	91.48 (26.71, 156.25)
Z值	3.11	-4.34	-4.006	-3.95	-3.558	-4.174	-4.399
P值	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 3 肝硬化3种不同病因之间的肠道细菌计数比较 [中位数(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>)]

病因	总的细菌	类杆菌	双歧杆菌	梭状芽胞	大肠杆菌	肠球菌	真杆-梭菌
肝炎性	891.10 (174.48, 1607.72)	17.41 (12.17, 22.64)	19.62 (-90.51, 129.75)	35.28 (5.23, 65.33)	27.15 (14.24, 40.07)	60.45 (18.74, 1.2.13)	21.60 (-4.33, 47.53)
酒精性	436.43 (172.79, 700.07)	17.36 (4.65, 30.08)	19.04 (0.37, 37.71)	19.01 (3.28, 34.73)	10.65 (5.05, 16.25)	18.20(3.21, 33.19)	22.14 (10.85, 33.43)
非酒精性	712.09 (478.28, 945.76)	15.77 (-1.45, 32.89)	60.41 (26.39, 94.42)	51.28 (10.10, 92.45)	9.01 (-11.57, 29.58)	23.809 (7.23, 40.49)	18.46 (9.97, 26.94)
Z值	4.463	0.48	1.825	1.193	1.428	2.71	1.527
P值	0.324	0.624	0.181	0.319	0.258	0.085	0.236

表 4 肝硬化不同Child-Pugh分级肠道细菌计数比较 [中位数(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>)]

分组	n	总的细菌	类杆菌	双歧杆菌	梭状芽胞	大肠杆菌	肠球菌	真杆-梭菌
A级	8	578.19 (190.4, 965.98)	19.59 (8.13, 31.06)	50.20 (9.20, 91.21)	27.81 (0.22, 55.39)	6.57 (3.88, 9.27)	17.59 (7.19, 27.98)	10.37 (3.38, 17.37)
B级	14	723.56 (337.93, 109.18)	18.55 (5.69, 31.41)	29.55 (-20.70, 79.80)	47.90 (22.55, 73.25)	19.04 (6.47, 31.60)	38.15 (11.09, 45.19)	24.07 (13.21, 34.92)
C级	7	436.43 (148.13, 688.73)	12.28 (5.54, 19.03)	19.04 (0.99, 37.08)	21.07 (5.79, 36.34)	15.76 (8.90, 22.62)	23.15 (5.93, 40.37)	21.68 (16.88, 26.74)
Z值		1.858	0.624	0.509	1.203	4.534	2.446	3.231
P值		0.395	0.732	0.775	0.548	0.104	0.294	0.199

的效能将肠道细菌分为3类: (1)最易发生易位的是肠杆菌、大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌等; (2)具有中等易位能力的是乳杆菌、表皮链球菌和粪肠杆菌等; (3)最不易发生易位的是密度很高的专性厌氧菌。双歧杆菌/肠杆菌(B/E)率, 可以

显示肠道微生物定植抗力。肝硬化患者肠道中的双歧杆菌、类杆菌等专性厌氧菌显著减少, 而肠杆菌、肠球菌和酵母菌等兼性厌氧菌增加, 肠道微生态失调, 其失调的程度与肝病的严重程度相关。Chen等<sup>[17]</sup>研究表明肝硬化患者粪

便微生物群发生了显著的变化, 拟杆菌比例显著降低, 而变形杆菌和梭状杆菌明显增高, 肠杆菌、韦荣球菌和链球菌在肝硬化组也增高. 在肝硬化患者中, 大肠杆菌是最常引起的感染易位到肠外并引起严重并发症的微生物. 接近一半分离的细菌属于定植, 展示出强大的毒力性, 这可能与更大的侵袭潜力有关<sup>[18]</sup>. 金黄色葡萄球菌感染是肝病患者最常见的细菌感染方式之一, 对死亡率有较高的预测性<sup>[19]</sup>.

由于肝硬化患者的肠道菌群失调与细菌易位之间存在的种群相关性, 我们的研究得出, 相对于健康对照组, 肝硬化组双歧杆菌、类杆菌的比例降低, 而肠球菌、大肠杆菌、梭状芽胞杆菌和真杆菌-直肠梭菌比例增高同样证实了这一结果. 但从本研究结果显示肝硬化患者肠道菌群之间数量和比例的失调与肝硬化病因无相关性, 与Child-Pugh分级之间也无明显相关性, 这与文献报道不同<sup>[20]</sup>, 原因可能是: (1)由于未对肝硬化患者进行严格限定, 部分肝硬化患者虽然Child-Pugh总评分不高, 但以肝性脑病、黄疸、低蛋白血症、腹水、凝血功能异常的其中某一项或二项评分较高, 加之合并糖尿病、感染、电解质紊乱和肝肾综合征等并发症, 或虽肝功能损害不重, 但门静脉高压明显, 肠道黏膜瘀血缺氧, 屏障的完整性和通透性发生改变, 部分肝硬化患者由于感染应用抗生素使肠道菌群失调变得复杂; (2)实验组肝硬化标本例数虽有29例, 但从病因分类和Child-Pugh分级而言相对较少; (3)选取的6种细菌为益生菌和条件致病菌, 其数量均减少, 与文献报道有差异, 但有无真菌、金黄色葡萄球菌、链球菌和克雷伯菌等致病菌的二重感染, 需进一步增加对致病菌的研究.

本研究仅选择了肠道中的常见的6种细菌进行研究, 相对于肠腔中的1 000余种细菌, 种类过少, 尚有待增加对细菌种类尤其是致病菌种类的研究及实验组条件的限定, 深入了解肝硬化患者肠道细菌紊乱的种类及程度. 此外, 作为细菌易位替代标志的细菌DNA在肠腔外组织器官的存在与肠道菌群的关系以及他们与肝硬化并发症、严重程度及愈后的关系还需要深入研究.

#### 4 参考文献

1 Singh R, Bullard J, Kalra M, Assefa S, Kaul AK, Vonfeldt K, Strom SC, Conrad RS, Sharp HL, Kaul R. Status of bacterial colonization, Toll-like receptor expression and nuclear factor-kappa B activation in normal and diseased human livers. *Clin Immunol* 2011; 138: 41-49

2 O'Sullivan DJ. Genomics can advance the potential for probiotic cultures to improve liver and overall health. *Curr Pharm Des* 2008; 14: 1376-1381

3 Mehta AK, Lyon GM. Infectious diseases in end-stage liver disease patients. *Crit Care Nurs Clin North Am* 2010; 22: 291-307

4 Talwani R, Gilliam BL, Howell C. Infectious diseases and the liver. *Clin Liver Dis* 2011; 15: 111-130

5 Papp M, Norman GL, Vitalis Z, Tornai I, Altorjay I, Foldi I, Udvardy M, Shums Z, Dinya T, Orosz P, Lombay B, Par G, Par A, Veres G, Csak T, Osztoivits J, Szalay F, Lakatos PL. Presence of anti-microbial antibodies in liver cirrhosis--a tell-tale sign of compromised immunity? *PLoS One* 2010; 5: e12957

6 Guerrero Hernández I, Torre Delgadillo A, Vargas Vorackova F, Uribe M. Intestinal flora, probiotics, and cirrhosis. *Ann Hepatol* 2008; 7: 120-124

7 Cesaro C, Tiso A, Del Prete A, Cariello R, Tuccillo C, Cotticelli G, Del Vecchio Blanco C, Loguercio C. Gut microbiota and probiotics in chronic liver diseases. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 431-438

8 Lata J, Jurankova J, Kopacova M, Vitek P. Probiotics in hepatology. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2890-2896

9 Sekirov I, Tam NM, Jogova M, Robertson ML, Li Y, Lupp C, Finlay BB. Antibiotic-induced perturbations of the intestinal microbiota alter host susceptibility to enteric infection. *Infect Immun* 2008; 76: 4726-4736

10 Zhang W, Gu Y, Chen Y, Deng H, Chen L, Chen S, Zhang G, Gao Z. Intestinal flora imbalance results in altered bacterial translocation and liver function in rats with experimental cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 1481-1486

11 Merli M, Lucidi C, Giannelli V, Giusto M, Riggio O, Falcone M, Ridola L, Attili AF, Venditti M. Cirrhotic patients are at risk for health care-associated bacterial infections. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 979-985

12 Garbuzenko DV. [The role of intestinal microflora in the development of complications of hepatic cirrhosis-associated portal hypertension]. *Klin Med (Mosk)* 2007; 85: 15-19

13 Wunsch E, Marlicz W, Milkiewicz P. [Probiotics in chronic liver diseases]. *Pol Merkur Lekarski* 2010; 29: 390-394

14 廖卫, 张敏, 孙政敏. 新鲜粪便PH和涂片检查小儿肠道菌群失调. *中国微生态学杂志* 2007; 19: 72-73

15 Swidsinski A, Loening-Baucke V, Verstraelen H, Osowska S, Doerffel Y. Biostructure of fecal microbiota in healthy subjects and patients with chronic idiopathic diarrhea. *Gastroenterology* 2008; 135: 568-579

16 Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Trends Microbiol* 1995; 3: 149-154

17 Chen Y, Yang F, Lu H, Wang B, Chen Y, Lei D, Wang Y, Zhu B, Li L. Characterization of fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis. *Hepatology* 2011; 54: 562-572

18 Bert F, Johnson JR, Ouattara B, Leflon-Guibout V, Johnston B, Marcon E, Valla D, Moreau R, Nicolas-Chanoine MH. Genetic diversity and virulence profiles of *Escherichia coli* isolates causing spontaneous bacterial peritonitis and bacteremia in patients with cirrhosis. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 2709-2714

19 Kang CI, Song JH, Ko KS, Chung DR, Peck KR. Clinical significance of *Staphylococcus aureus* infection in patients with chronic liver diseases. *Liver Int* 2010; 30: 1333-1338

20 张爱军, 战淑慧, 许琳. 肝硬化患者小肠细菌过度生长与肝功能及自发性腹膜炎的关系. *肝脏* 2009; 14: 389-390

#### 同行评价

本研究对肝硬化患者肠道微生态研究有一定指导意义.



## 腹腔镜联合胆道镜治疗胆总管结石107例

朱信强, 丁闯, 张明, 管小青, 陈焰

### ■背景资料

胆总管结石是我国常见胆道疾病, 随着对胆管结石病认识的加深, 该病的治疗方法和效果已经有了很大的进步, 由以往的开腹手术向微创外科转变。其微创处理经过了几个阶段: 内镜逆行胰胆管造影(ERCP), 内镜十二指肠乳头括约肌切开术(EST)和腹腔镜胆总管探查(LCBDE)。腹腔镜联合胆道镜胆管探查的治疗优势突出, 具有创伤小、恢复快、并发症少、保留了Oddi括约肌功能等优点, 被认为是目前治疗胆总管结石较好的选择方案, 尤其适用于胆囊结石合并胆总管结石。

### ■同行评议者

李胜, 研究员, 山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

朱信强, 丁闯, 张明, 管小青, 陈焰, 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

朱信强, 主治医师, 主要从事普通外科的基础与临床研究。

作者贡献分布: 此课题由陈焰与朱信强设计; 临床操作过程由朱信强与陈焰完成; 临床结果判定由陈焰与管小青完成; 数据分析由朱信强、张明及丁闯完成; 论文写作由朱信强与丁闯完成。

通讯作者: 陈焰, 副教授, 副主任医师, 223800, 江苏省南京鼓楼医院集团, 宿迁市人民医院普外科, 2277325244@qq.com

收稿日期: 2012-07-03 修回日期: 2012-08-03

接受日期: 2012-08-06 在线出版日期: 2012-09-18

### Therapeutic value of laparoscopy combined with choledochoscopy for common bile duct stones: An analysis of 107 cases

Xin-Qiang Zhu, Chuang Ding, Ming Zhang, Xiao-Qing Guan, Yan Chen

Xin-Qiang Zhu, Chuang Ding, Ming Zhang, Xiao-Qing Guan, Yan Chen, Department of General Surgery, Nanjing Gulou Hospital Group, Suqian People's Hospital, Suqian 223800, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Chen Yan, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Nanjing Gulou Hospital Group, Suqian People's Hospital, Suqian 223800, Jiangsu Province, China. 2277325244@qq.com

Received: 2012-07-03 Revised: 2012-08-03

Accepted: 2012-08-06 Published online: 2012-09-18

### Abstract

**AIM:** To explore the value of laparoscopy combined with choledochoscopy in the treatment of common bile duct stones.

**METHODS:** The clinical data for 107 patients with choledocholithiasis who underwent laparoscopic common bile duct exploration and stone removal with choledochoscopy from April 2008 to March 2011 at our hospital was retrospectively analyzed to explore their therapeutic value.

**RESULTS:** Of 107 patients, 102 had successful laparoscopy and choledochoscopy, and 5 underwent a conversion to laparotomy. Total operative time was 120-150 min (average 140 min). Blood loss was 20-80 mL (average 55 mL). Postoperative hospitalization length was 7-15 d

(average 8.5 d). Peritoneal drainage tubes were placed in 83 cases; 16 cases only had little pale yellow drainage fluid on the first postoperative day, and their tubes were removed on the fourth postoperative day after no fluid was drained for 3 d. About 300 mL of fluid was drained on the first postoperative day in the remaining patients, and their tubes were removed on the sixth postoperative day after no fluid was drained for 4 d. T-tubes were removed 4 wk postoperatively. All of the patients recovered well and were followed up for 3 to 6 months. No patients developed bile leakage, residual stones, or bile duct stricture.

**CONCLUSION:** Laparoscopy combined with choledochoscopy has good efficacy and fewer complications and is less invasive in the management of common bile duct stones.

**Key Words:** Laparoscopy; Choledochoscopy; Common bile duct stones

Zhu XQ, Ding C, Zhang M, Guan XQ, Chen Y. Therapeutic value of laparoscopy combined with choledochoscopy for common bile duct stones: An analysis of 107 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2496-2499

### 摘要

**目的:** 探讨腹腔镜联合胆道镜在胆总管结石治疗中的临床价值和意义。

**方法:** 回顾分析我院2008-04/2011-03以腹腔镜联合胆道镜诊治的107例胆总管结石患者的临床资料, 分析其胆总管探查取石的治疗过程, 总结双镜联合的治疗意义。

**结果:** 本组中有102例双镜联合手术成功, 5例中转开腹手术。手术时间: 120-150 min(平均140 min)。出血量: 20-80 mL(平均55 mL)。术后住院时间: 7-15 d(平均8.5 d)。放置腹腔引流管者83例, 其中有16例仅术后第1天引流出少量淡黄色液体, 3 d后无液体引出, 第4天拔管。其余术后第1天胆汁引流量约300 mL, 4 d后基本无胆汁引出, 第6天拔管。放置T管者于术

后4 wk拔管. 本组全部患者均康复出院, 随访3-6 mo, 无胆漏、结石残留及胆管狭窄等并发症发生.

**结论:** 腹腔镜联合胆道镜应用于胆总管探查是安全的, 临床治疗效果良好, 具有微创、并发症少等优点, 值得临床推广.

**关键词:** 腹腔镜; 胆道镜; 胆总管结石

朱信强, 丁闯, 张明, 管小青, 陈焰. 腹腔镜联合胆道镜治疗胆总管结石107例. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2496-2499  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2496.asp>

## 0 引言

胆总管结石是我国常见的胆道疾病, 因其病变广泛、病情复杂、手术并发症多、复发率高; 对人类健康危害巨大<sup>[1]</sup>. 随着我国居民饮食结构的改变, 胆总管结石的发病率呈明显上升趋势<sup>[2]</sup>. 临床治疗胆总管结石以手术为主. 以腹腔镜为代表的微创技术的进步, 使胆总管结石的治疗由传统开腹手术向微创手术转变. 借助于日益熟练的腹腔镜操作技术和先进的配套器械, 腹腔镜联合胆道镜胆总管探查(laparoscopic common bile duct exploration, LCBDE)取石已成为可能. 其可取得与开腹手术相同的治疗效果, 并具有创伤小、术后恢复快、并发症少、不损伤Oddi括约肌功能等优点, 逐渐成为现今治疗胆总管结石的新趋势. 我们2008-04/2011-03对107例胆道结石患者实施LCBDE, 取得良好的临床疗效, 报道如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本组107例(男37例, 女70例), 年龄: 23-71岁(中位年龄46.6岁). 腹部隐痛不适46例, 伴低热7例. 急性右上腹痛24例, 经保守治疗后予以双镜联合治疗. 急性胆囊炎合并胰腺炎17例, 经内科治疗3 mo后行手术治疗. 无明显症状者20例. 全部病例均经腹部B超和磁共振胆胰管造影(MRCP)检查, 发现: 胆总管单发结石者48例, 两枚以上结石者59例. 伴发: 胆囊多发结石43例(2-3枚)、胆囊泥沙样结石18例、萎缩性胆囊炎18例、胆囊炎28例、肝总管结石2例. 胆总管直径: 0.9-3.3 cm. 巩膜黄染23例, 总胆红素17.5-92.8  $\mu\text{mol/L}$ (平均25.5  $\mu\text{mol/L}$ ), 不同程度的GPT、GOT升高者14例. 排除标准: (1)术前MRCP提示胆管下段狭窄或显示不清; (2)黄疸进行性加重, 有壶腹部肿瘤可能; (3)有右上腹手术

史的患者. 腹腔镜胆囊切除器械, 5.0 mm钎维胆道镜及配套取石网篮、取石钳, 结石收集袋, 穿刺针, 持针器, 胆道探子一套.

**1.2 方法** 术前留置胃管、尿管, 行气管插管全麻, 病人取仰卧位, 头高脚低, 左侧倾斜30度, 按腹腔镜胆囊切除术法常规置入腹腔镜器械, 先完成腹腔镜胆囊切除以更好地显露肝下间隙. 用电凝钩解剖肝十二指肠韧带浆膜层, 分离胆总管表面粘连及浆膜层、显露胆总管, 确认其走向及直径, 穿刺证实后, 于穿刺点纵行切开1.0-1.5 cm, 吸尽溢出的胆汁, 先用拨棒自下而上挤压胆管, 看到结石直接取出, 接着在腹腔镜的监视下从剑突下Trocar置入胆道镜, 将其头端置入胆总管切口, 进入胆管内用. 发现结石后, 以取石网篮取石, 遵循先易后难、先小后大、先软后硬、先近后远和争取原位解决的原则, 将结石取出. 取石完毕后, 再次冲洗胆道, 并再次置入胆道镜检查有无残余结石、炎症程度及是否有胆管狭窄、畸形、下段是否通畅等. 胆道镜证实胆总管下段无狭窄、肝内外胆管无结石残留者, 以3-0可吸收线直接I期间断缝合胆总管切口, 针距及缝线的边距控制在0.3 cm. 然后再缝合胆总管前面的浆膜层, 肝下间隙放置腹腔引流管, 于右锁骨中线肋缘下操作孔引出. 而对于胆总管下段狭窄者, 则经腹腔镜用胆道探子对胆总管下段开口进行扩张, 通过胆道镜, 看到十二指肠大乳头开口, 无残余结石, 胆总管内放置T管引流, 间断缝合胆总管. 经T管向管腔内注入生理盐水50-60 mL, 观察胆总管缝合处周围有无渗漏, T管从右锁骨中线肋缘下操作孔引出. 取出胆囊及结石收集袋, 用生理盐水将手术野冲洗干净. 常规放腹腔引流管, 经右腋前线肋缘下戳口引出. 手术完毕.

## 2 结果

本组107例中有102例双镜联合手术成功, 5例因腹腔粘连重、组织间隙不清、操作困难而中转开腹手术. 双镜联合手术时间: 120-150 min, 平均140 min. 胆总管结石长径0.3-2.3 cm. 出血量: 20-80 mL, 术后住院时间7-15 d, 平均8.5 d. 放置腹腔引流管者共83例, 其中有16例仅术后第1天引流出少量淡黄色液体, 3 d后无液体引出, 第4天拔管; 其余术后第1天胆汁引流量300 mL左右, 4 d后基本无胆汁引出, 第6天拔管. 放置T管者, 术后处理同开腹手术. 全部病例均康复出院, 随访3-6 mo, 无胆漏、结石残留及胆管狭窄等并发

## ■ 创新点

本研究从临床实际问题出发, 分析LCBDE在胆道探查中的具体操作方法, 对比其他内镜治疗不足及风险, 具有一定的创新性和实用价值.

## ■ 应用要点

LCBDE的临床应用是安全的, 可使手术操作简单易行, 将复杂的胆道探查手术通过微创技术来完成, 并能取得和开腹同样的效果, 充分利用手术器械, 完成微创手术.

### ■名词解释

腹腔镜联合胆道镜胆总管探查技术: 是20世纪90年代中期发展起来的一种新型的微创手术方式。是在保持气腹状态下, 允许外科医师运用两种器械联合治疗复杂的胆道手术操作。并在腹腔镜下完成缝合打结等技术操作, 弥补了单纯腹腔镜操作的不足, 双镜联合明显提高了微创的治疗意义, 使患者以尽可能小的创伤治愈疾病。

症发生。

### 3 讨论

LCBDE的临床优势: (1)LCBDE是在腹腔镜胆囊切除基础上联合胆道镜探查胆管并取石, 避免不必要的开腹手术; (2)两镜联合直视下探查胆管的同时, 可以观察左右肝管、肝总管、胆总管及十二指肠乳头, 不损伤胆管和大乳头开口, 保持了Oddi括约肌完整性, 这样就明显降低了胆总管探查后期狭窄的几率; (3)治疗胆总管结石合并胆囊结石时, LCBDE可一次完成, 避免了内镜逆行胰胆管造影(ERCP)及内镜十二指肠大乳头括约肌切开术(EST)等多次手术以及EST取石不成功给病人带来的生理、心理及经济上的不利影响。而EST治疗胆管结石需切开乳头, 破坏了Oddi括约肌的完整性而影响胆道动力学, 从而加速胆管结石的形成和/或复发<sup>[3]</sup>。同时有继发重症胆管炎、胰腺炎、十二指肠穿孔、出血、胆道逆行感染可能<sup>[4]</sup>。

因此, LCBDE具有创伤小、恢复快、并发症少、保留了Oddi括约肌功能等优点, 临床优势突出, 已被公认是目前治疗胆总管结石较好的选择方案<sup>[5-8]</sup>, 尤其适用于胆囊结石合并胆总管结石的患者<sup>[9]</sup>。本组43例伴有胆囊结石的患者均成功切除胆囊和探查胆总管, 且本组中老年患者居多, 说明该术式应用于老年患者同样获益<sup>[10]</sup>。

LCBDE是全腹腔镜下的操作, 要求术者必须具有丰富的开腹手术经验以及腹腔镜、胆道镜使用技巧, 特别是熟练的腹腔镜下缝合打结技术。我们总结了相关操作要点: (1)游离肝十二指肠韧带、解剖Calot三角时, 要特别注意正确辨识胆总管; (2)根据所用胆道镜的直径、结石的大小和部位, 选取适当的胆总管切口。取石时必须在胆道镜的视野下进行, 切忌盲目取石而造成胆管的损伤; (3)胆道镜取石时动作应轻柔, 避免损伤水肿的胆管黏膜; (4)取石后再用纤维胆道镜检查, 注意观察肝内外胆管的情况, 了解胆管内有无狭窄、肿瘤及结石残留; (5)缝合胆总管要全层缝合, 边距应超过热传导可能伤及的胆总管壁1-2 mm, 以预防术后胆总切开处的边缘坏死, 其缝合质量可接近显微手术水平<sup>[11]</sup>, 一般不易引起胆漏和胆管狭窄<sup>[12]</sup>, 本组中的直接缝合病例, 随访期间均未发现胆漏, 有报道称<sup>[13]</sup>: I期缝合者预后更好; (6)因有报道称: 术后3 wk后拔除T管可因窦道未完全形成而发生胆漏<sup>[14]</sup>。故

对于探查后放置T管者, 应适当延迟术后拔管, 以确保胆总管与腹壁间窦道的彻底形成。本组中19例腹腔镜下置T管患者均在术后4 wk才拔除T管, 均未发生胆漏。

本研究发现, 腹腔镜联合胆道镜探查治疗胆总管结石是切实可行和安全可靠的。该术式明显降低了开腹手术的痛苦和并发症, 为原来需要开腹手术的胆总管结石患者提供了一种疗效确切的新技术, 值得在临床推广。

我们相信: 随着微创外科技术的大力发展, 双镜联合、三镜联合以及达芬奇外科辅助手术<sup>[15]</sup>等系统将会越来越多地被用于胆道系统疾病的治疗, 这些技术不单局限于胆道结石的治疗, 更能应用于胆道系统其他疾病的治疗, 从而使患者获得更大的临床受益。

### 4 参考文献

- 1 刘洋, 纪文斌, 罗英, 史宪杰, 胡明根, 陈永卫, 张文智. 腹腔镜联合胆道镜胆总管探查取石一期缝合术46例报告. 腹腔镜外科杂志 2012; 17: 56-58
- 2 吴泽建, 莫燕霞, 叶伟坤, 李知平, 吴锡坤. 腹腔镜联合胆道镜治疗65岁以上老年患者胆总管结石56例临床分析. 中国内镜杂志 2006; 12: 865-868
- 3 田忠, 吴硕东, 孔静, 张振海. 胆管结石患者术后经“T”管窦道胆道镜Oddi括约肌测压的表现及意义. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1119-1123
- 4 彭彬, 田云鸿, 邓绍强, 李敬东. 腹腔镜联合胆道镜胆道探查与开腹胆道探查的对比研究. 西部医学杂志 2011; 3: 1739-1740
- 5 Lu J, Cheng Y, Xiong XZ, Lin YX, Wu SJ, Cheng NS. Two-stage vs single-stage management for concomitant gallstones and common bile duct stones. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3156-3166
- 6 周海军, 何信众, 沈彬, 肖卫星. 腹腔镜联合胆道镜胆总管切开取石术82例临床分析. 肝胆胰外科杂志 2010; 22: 410-411
- 7 Campagnacci R, Baldoni A, Baldarelli M, Rimini M, De Sanctis A, Di Emiddio M, Guerrieri M. Is laparoscopic fiberoptic choledochoscopy for common bile duct stones a fine option or a mandatory step? *Surg Endosc* 2010; 24: 547-553
- 8 Kharbutli B, Velanovich V. Management of preoperatively suspected choledocholithiasis: a decision analysis. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 1973-1980
- 9 Mandry AC, Bun M, Ued ML, Iovaldi ML, Capitanich P. [Laparoscopic treatment of common bile duct lithiasis associated with gallbladder lithiasis]. *Cir Esp* 2008; 83: 28-32
- 10 Lee A, Min SK, Park JJ, Lee HK. Laparoscopic common bile duct exploration for elderly patients: as a first treatment strategy for common bile duct stones. *J Korean Surg Soc* 2011; 81: 128-133
- 11 杨金虎, 曹华祥, 金留根. 腹腔镜联合胆道镜治疗胆总管结石. 肝胆胰外科杂志 2010; 22: 112-113
- 12 陈武强, 王京立, 杨放霖, 俞宪民, 李建平, 顾元龙. 腹腔镜联合胆道镜治疗胆总管结石的临床分析. 中国普通外科杂志 2010; 19: 122-123
- 13 Shelat VG, Chan CY, Liao KH, Ho CK. Laparoscopic exploration can salvage failed endoscopic bile duct stone extraction. *Singapore Med J* 2012; 53: 313-317

- 14 刘树清, 陈书忠, 吴云光, 余明豪. 腹腔镜联合胆道镜治疗胆管结石160例. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2734-2736
- 15 Ji WB, Zhao ZM, Dong JH, Wang HG, Lu F, Lu

HW. One-stage robotic-assisted laparoscopic cholecystectomy and common bile duct exploration with primary closure in 5 patients. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2011; 21: 123-126

**■同行评价**  
 本文总结了微创双镜联合治疗胆总管结石的病例, 临床经验、内容值得借鉴, 对临床有一定指导意义。

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

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 •

**中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》  
 影响因子 0.694**

**本刊讯** 2011-12-02, 一年一度的中国科技论文统计结果由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布. 《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2010年《世界华人消化杂志》总被引频次3458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17963, 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. (编辑部主任: 李军亮 2012-01-01)

# 外周血中hTERT及MUC4基因的表达在胰腺癌诊断中的意义

孙大伟, 何俊闯, 邱法波, 张晓峰, 黄飞龙

## ■背景资料

胰腺癌是一种恶性程度很高的恶性肿瘤, 早期便可有胰周组织浸润和远处组织的微转移, 由于胰腺癌临床表现较为隐匿, 早期缺乏特异性的症状和体征, 导致早期诊断率不高, 80%-90%的胰腺癌患者就诊时, 病变已经到了晚期, 手术切除率只有15%左右, 5年生存率为1%-5%, 而且其目前的治疗方法如放射治疗、化疗、免疫治疗和内分泌治疗都不敏感, 疗效差。

孙大伟, 黄飞龙, 青岛大学医学院 山东省青岛市 266071  
何俊闯, 河南宏力医院普外科 河南省长垣县 453400  
邱法波, 青岛大学医学院附属医院肝胆外科 山东省青岛市 266003  
张晓峰, 中国人民解放军第302医院肝胆外科二中心一科 北京市 100039  
孙大伟, 在读硕士, 主要从事肝胆胰脾外科治疗和研究。  
作者贡献分布: 设计由孙大伟、何俊闯及邱法波共同完成; 标本搜集由孙大伟、何俊闯、张晓峰及黄飞龙共同完成; 实验操作及数据处理由孙大伟与何俊闯共同完成; 文章撰写由孙大伟与邱法波完成; 由邱法波审核。  
通讯作者: 邱法波, 主任医师, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院肝胆外科。qiufabo@sina.com  
电话: 0532-82911395  
收稿日期: 2012-06-11 修回日期: 2012-08-10  
接受日期: 2012-08-21 在线出版日期: 2012-09-18

## Clinical significance of expression of hTERT and MUC4 mRNAs in peripheral blood of patients with pancreatic cancer

Da-Wei Sun, Jun-Chuang He, Fa-Bo Qiu,  
Xiao-Feng Zhang, Fei-Long Huang

Da-Wei Sun, Fei-Long Huang, Medical College of Qingdao University, Qingdao 266071, Shandong Province, China  
Jun-Chuang He, Department of General Surgery, Henan Hongli Hospital, Changyuan 453400, Henan Province  
Fa-Bo Qiu, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Medical College Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China  
Xiao-Feng Zhang, Office 1 of Department 2 of Hepatobiliary Surgery, the 302th Hospital of Chinese PLA, Beijing 100039, China  
Correspondence to: Fa-bo Qiu, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Medical College Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China. qiufabo@sina.com  
Received: 2012-06-11 Revised: 2012-08-10  
Accepted: 2012-08-21 Published online: 2012-09-18

## Abstract

**AIM:** To analyze the clinical significance of expression of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) and mucin 4 (MUC4) mRNAs in peripheral blood of patients with pancreatic cancer.

**METHODS:** Real-time fluorescence quantitative RT-PCR was applied to investigate the quantita-

tive expression of hTERT and MUC4 mRNAs in peripheral blood of patients with pancreatic cancer and healthy controls.

**RESULTS:** The expression levels of hTERT and MUC4 mRNAs in peripheral blood of patients with pancreatic cancer were significantly higher than those in normal controls ( $7.95 \pm 5.46$  vs  $0.92 \pm 1.07$ ,  $P < 0.01$ ;  $38.25 \pm 25.07$  vs  $4.37 \pm 5.96$ ,  $P < 0.05$ ). The expression of both hTERT and MUC4 mRNAs was associated with lymph node metastasis, surrounding organ infiltration, distant metastasis, and TNM stage ( $^bP = 0.036, 0.027, 0.019$ ;  $^M P = 0.041, 0.022, 0.017$ ).

**CONCLUSION:** Abnormal expression of hTERT and MUC4 mRNAs closely correlates with invasion and metastasis of pancreatic cancer, and hTERT and MUC4 mRNAs in peripheral blood cells might be useful markers for pancreatic cancer.

**Key Words:** Human telomerase reverse transcriptase; Mucin 4; Pancreatic cancer; Real-time fluorescent quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction

Sun DW, He JC, Qiu FB, Zhang XF, Huang FL. Clinical significance of expression of hTERT and MUC4 mRNAs in peripheral blood of patients with pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2500-2505

## 摘要

**目的:** 探讨人端粒酶逆转录酶(human Telomerase reverse transcriptase, hTERT)及黏蛋白4(mucin4, MUC4)基因在胰腺癌患者外周血中的表达及临床意义。

**方法:** 采用实时荧光定量PCR方法检测hTERT mRNA和MUC4 mRNA在胰腺癌患者及正常人外周血中的表达, 对hTERT mRNA和MUC4 mRNA的检测结果进行评价分析。

**结果:** 胰腺癌组外周血中hTERT mRNA, MUC4 mRNA表达水平分别为( $7.95 \pm 5.46$ ,  $38.25 \pm 25.07$ )显著高于对照组( $0.92 \pm 1.07$ ,  $4.37 \pm$

## ■同行评价

周国雄, 主任医师,  
南通大学附属医院  
消化内科



5.96). 差异具有显著统计学意义(均 $P < 0.05$ ). hTERT mRNA和MUC4 mRNA均与肿瘤的淋巴结转移、周围器官或远处转移及TNM分期相关( $P$ 分别为0.036、0.027、0.019, 均 $P < 0.05$ ;  $M$ 分别为0.041、0.022、0.017, 均 $P < 0.05$ ).

**结论:** 外周血中hTERT mRNA和MUC4 mRNA的表达与胰腺癌侵袭及转移密切相关, 可作为诊断胰腺癌的标志物.

**关键词:** 人端粒酶逆转录酶; 黏蛋白4; 胰腺癌; 实时荧光定量PCR

孙大伟, 何俊涛, 邱法波, 张晓峰, 黄飞龙. 外周血中hTERT及MUC4基因的表达在胰腺癌诊断中的意义. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2500-2505  
http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2500.asp

## 0 引言

胰腺癌(pancreatic carcinoma)是一种恶性程度很高的恶性肿瘤, 早期便可有胰周组织浸润和远处组织的微转移, 由于胰腺癌临床表现较为隐匿, 早期缺乏特异性的症状和体征, 导致早期诊断率不高, 80%-90%的胰腺癌患者就诊时, 病变已经到了晚期, 手术切除率只有15%左右, 5年生存率为1%-5%<sup>[1]</sup>, 而且胰腺癌对目前的治疗方法如放射治疗、化疗、免疫治疗和内分泌治疗都不敏感, 疗效差. 因此, 如何提高胰腺癌的早期诊断率是改善本病预后的重要课题. 端粒酶是目前已知最具特异性和普遍性的恶性肿瘤标志物. 近年来, 端粒酶活性的检测在组织标本、分泌物、病理性体液和外周血标本中均得到了广泛的应用. 有研究证实, 黏蛋白4(mucin4, MUC4)在胰腺癌组织中高表达, 而在慢性胰腺炎及正常胰腺组织中不表达<sup>[2]</sup>, 因此通过研究MUC4 mRNA在胰腺癌外周血中的表达情况, 可为胰腺癌的诊断和鉴别诊断及预后评价提供帮助. 通过检测胰腺癌患者术前外周血中端粒酶逆转录酶(human Telomerase reverse transcriptase, hTERT)mRNA和MUC4 mRNA的表达水平, 有望为胰腺癌的诊断及预后判断提供一个可靠的指标.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 所有外周血标本均来自2010-10/2011-08青岛大学医学院附属医院肝胆外科胰腺癌患者及非肿瘤住院患者. 肿瘤组28例, 男16例, 女12例, 平均年龄56.5岁. 所有病例均经术后病

理学证实, 并根据术中探查和术后病理结果按UICC(2009)分期系统对其进行TNM分期. 对照组选取同期18例该院非肿瘤住院患者, 男7例, 女11例, 平均年龄48.3岁, 胆囊结石14例、胆总管结石3例、胆囊息肉1例.

### 1.2 方法

**1.2.1 总RNA提取:** 本研究通过医院伦理委员会批准, 并经患者同意, 在患者未进行手术、化疗及放疗前抽取外周静脉血5 mL, EDTA-Na抗凝, 血液采集后立即送往实验室进行总RNA提取, 3 h内经淋巴细胞分离液分离出外周血单个核细胞后置-70 °C冰箱保存待测. 总RNA提取按照说明书(TaKaRa Code: D9108A大连宝生物公司)进行. 通过紫外分光光度计分别检测RNA的R值( $A_{260}/A_{280}$ ). 计算RNA浓度. 获取合格样本冻存-80 °C冰箱中.

**1.2.2 cDNA合成:** 按照实时荧光定量RT reagent kit(TaKaRa Code: DRR037S大连宝生物公司)要求的条件对提取的总RNA进行逆转录cDNA, 反应体系为10  $\mu$ L. 逆转录的反应条件为: 37 °C 15 min(反转录反应), 85 °C 5 s(反转录酶的失活反应). 逆转录所得的反应液即为下一步实时荧光定量PCR反应所需的cDNA模板, -20 °C冰箱保存备用.

**1.2.3 FQ-PCR:** 引物序列(生工生物工程(上海)有限公司设计合成): hTERT-F1(5'-CtC CCA TTT CAT CAG CAA GTT T-3'), hTERT-R1(5'-CtT GGC TTT CAG GAT GGA GTA G-3'); MUC4-F1(5'-CAC AAC TCt CCC AAA AAC AAC A-3'), MUC4-R1(5'-TGT GAT GTG TGT CtA TCC AGC A-3'), 内参基因GAPDH序列: F1: 5'-TCA TGG GTG TGA ACC ATG AGA A-3', R1: 5'-GGC ATG GAC TGT GGT CAT GAG-3'. 荧光定量检测, 反应体系为10  $\mu$ L, 反应条件为: 95 °C预变性30 s, 然后循环40次(95 °C变性5 s, 57 °C退火15 s, 72 °C延伸20 s), 溶解条件: 95 °C 60 s, 57 °C 30 s, 95 °C 30 s.

**统计学处理** 结果分析及数据处理; 相对定量值计算公式:  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .  $\Delta Ct$  = 样本Ct均值-内参Ct均值,  $\Delta\Delta Ct$  =  $\Delta Ct$ -(随机对照样品Ct均值-该样品内参Ct均值). 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 来表示被测样本初始cDNA中目的基因的相对表达量. 每个组织样本设为3组进行检测. 采用SPSS13.0统计软件对数据结果进行处理分析, 实验结果均用mean  $\pm$  SD来表示, 组间的计量资料比较采用 $t$ 值检验, 计数资料比较采用Fisher's Exact Test检验. 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

**■ 研究前沿**  
如何提高胰腺癌的早期诊断率是改善本病预后的重要课题.

## ■ 相关报道

周家华等检测到hTERT mRNA在胰腺癌组织中表达阳性率为83.3%，癌旁组织为12.5%，证实了端粒酶参与了胰腺癌的发生过程。

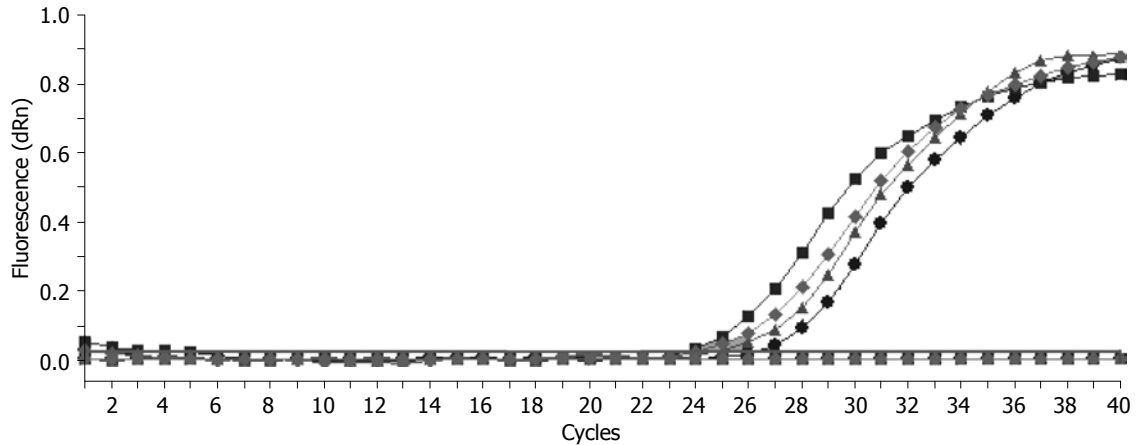


图 1 部分患者标本的hTERT mRNA实时荧光定量扩增曲线。

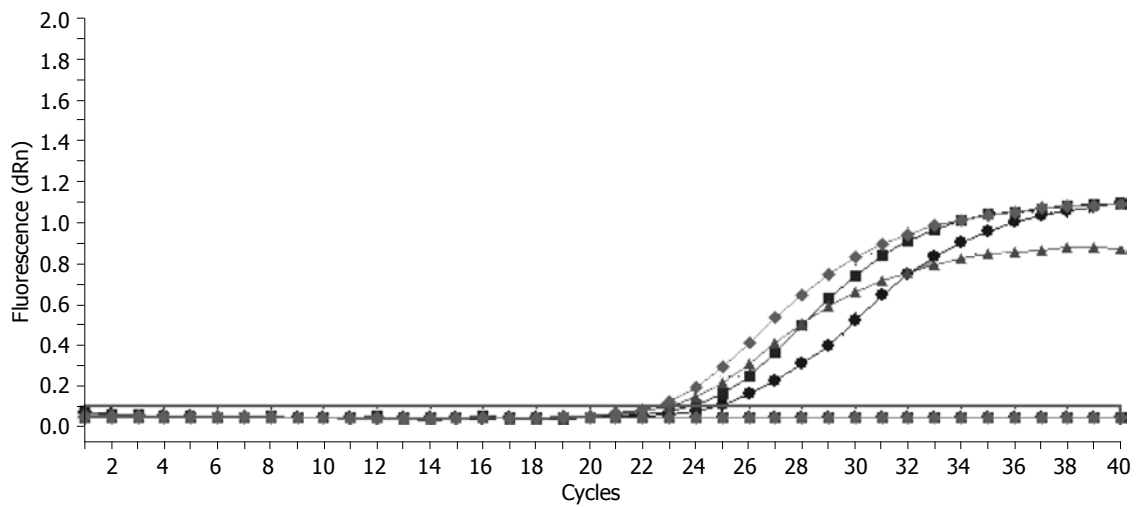


图 2 部分患者标本的MUC4 mRNA实时荧光定量扩增曲线。

表 1 两组外周血中hTERT mRNA和MUC4 mRNA表达水平的比较 (mean  $\pm$  SD,  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )

基因	胰腺癌组(n = 28)	对照组(n = 18)	t'值	P值
hTERT mRNA	7.95 $\pm$ 5.46	0.92 $\pm$ 1.07	5.63	<0.05
MUC4 mRNA	38.25 $\pm$ 25.07	4.37 $\pm$ 5.96	5.78	<0.05

## 2 结果

**2.1 胰腺癌患者hTERT mRNA, MUC4 mRNA 荧光定量PCR扩增曲线** 胰腺癌患者外周血中hTERT mRNA, MUC4 mRNA实时荧光定量检测当Ct水平 $\leq$ 34时,其荧光定量的扩增曲线呈典型的S型曲线,溶解曲线也只会呈现为单峰相,而阴性标本, Ct水平 $>$ 34时也未见典型S型波形,即使扩增40个循环也没有典型S型曲线出现,多为略有翘起的不规则波浪线.胰腺癌外周血hTERT mRNA, MUC4 mRNA阳性标本的荧光定量扩增曲线表现为典型的S型曲线(图1, 2).

**2.2 胰腺癌组与对照组外周血hTERT mRNA,**

MUC4 mRNA表达量 胰腺癌组外周血中hTERT mRNA, MUC4 mRNA表达水平分别为7.95  $\pm$  5.46和38.25  $\pm$  25.07, 对照组外周血中hTERT mRNA, MUC4 mRNA表达水平分别为0.92  $\pm$  1.07和4.37  $\pm$  5.96, 差异显著具有统计学意义(均  $P < 0.05$ , 表1).

**2.3 胰腺癌患者外周血中hTERT mRNA, MUC4 mRNA的表达水平与临床生物学特征的关系** 28例胰腺癌患者根据临床资料分别按照患者的性别、年龄、肿瘤直径大小、肿瘤分化程度、有无淋巴结转移、有无周围器官浸润或远处转移以及临床TNM分期进行分组, 观察hTERT

表 2 各组标本hTERT mRNA和MUC4 mRNA的表达水平与临床的关系 (mean ± SD, 2<sup>-△△Ct</sup>)

分组	n	hTERT mRNA		MUC4 mRNA	
		表达水平	P值	表达水平	P值
性别					
男	16	7.76 ± 5.23	0.813	37.24 ± 25.30	0.974
女	12	8.13 ± 5.86		39.02 ± 24.87	
年龄(岁)					
≥50	19	9.05 ± 6.23	0.714	40.53 ± 27.43	0.433
<50	9	6.89 ± 4.73		34.13 ± 24.05	
肿瘤直径(cm)					
≥3	17	7.85 ± 5.43	0.734	39.63 ± 25.71	0.695
<3	11	8.03 ± 5.74		37.25 ± 24.83	
分化程度					
低分化	16	8.69 ± 6.23	0.437	41.56 ± 26.73	0.36
高中分化	12	6.93 ± 5.12		37.25 ± 24.83	
淋巴转移					
有转移	9	9.43 ± 4.97	0.036	47.38 ± 27.54	0.041
无转移	19	6.05 ± 6.74		30.17 ± 24.53	
周围器官浸润或远处转移					
有	7	9.53 ± 5.26	0.027	48.13 ± 26.53	0.022
无	21	6.14 ± 6.43		29.54 ± 27.13	
TNM分期					
I - II	13	4.34 ± 5.94	0.019	28.48 ± 25.56	0.017
III - IV	15	12.74 ± 6.38		49.87 ± 25.83	

## ■同行评价

本研究方法合理, 结果可信, 有较好的临床应用价值.

mRNA与MUC4 mRNA在胰腺癌患者外周血中的表达情况. 研究结果发现, hTERT mRNA和MUC4 mRNA在胰腺癌患者外周血中的表达量均与肿瘤的淋巴结转移、周围器官或远处转移及临床TNM分期相关, 差异具有统计学意义(<sup>b</sup> $P = 0.036, 0.027, 0.019$ ; <sup>M</sup> $P = 0.041, 0.022, 0.017$ ). 而两者均与胰腺癌患者的性别、年龄、肿瘤直径大小及肿瘤分化程度无明显相关性(均 $P > 0.05$ , 表2).

2.4 胰腺癌患者外周血hTERT mRNA, MUC4 mRNA临床诊断分界值、敏感性、特异性  
hTERT mRNA定量检测胰腺癌组28例Ct水平≤34者21例, Ct水平>34者7例; 而对照组Ct水平≤34者3例, Ct水平>34者15例. MUC4 mRNA定量检测胰腺癌组28例Ct水平≤34者17例, Ct水平>34者11例; 而对照组Ct水平≤34者2例; Ct水平>34者16例. 两个指标在Ct水平≤34作为第三截割点时敏感性、特异性较高, 该水平hTERT mRNA的诊断敏感性为75%; 特异性为83.3%, MUC4 mRNA的诊断敏感性为60.7%; 特异性为88.9%, 两者联合检测的诊断敏感性为82.1%, 特异性为83.3%. 两种检测指标对胰腺癌的诊断未见差异( $P > 0.05$ ).

## 3 讨论

人端粒酶是由人端粒酶RNA(human telomerase RNA component, hTR/hTRC)、人端粒酶相关蛋白(human telomerase protein, hTEP)和hTERT共同构成, 是一种逆转录酶, 在端粒合成的过程中, 端粒酶以其自身携带的富含胞嘧啶的RNA模板为互补链, 故端粒酶可看做是一种特殊的携带模板的逆转录酶, 其RNA组分约含450个核苷酸, 模板区为5'-CUAACCCUAAC-3', 能指导端粒末端TTAGGG的重复合成, 编码基因定位于3q26.3<sup>[3,4]</sup>. 端粒酶的催化亚单位hTERT是人端粒酶的限速酶, 其表达量随端粒酶活性的增加而相应呈比例增加, 在多数恶性肿瘤以及具有再生能力和分化潜能的细胞中处于激活状态, 而在大多数终末分化的正常体细胞中处于抑制状态<sup>[5]</sup>. 因此, 对hTERT的研究对肿瘤的诊断具有重要的意义.

目前研究证实hTERT可在胰腺肿瘤组织中表达, 周家华等<sup>[6]</sup>检测到hTERT mRNA在胰腺癌组织中表达阳性率为83.3%, 癌旁组织为12.5%, 证实了端粒酶参与了胰腺癌的发生过程. 许逸卿等<sup>[7]</sup>采用TRAP-SYBR Gree染色法检测胰腺癌组织及癌旁组织的端粒酶活性发现, 端粒酶

活性在癌组织中的表达率为80.9%，而癌旁组织的表达率为7.1%，具有显著差异，认为端粒酶在胰腺癌的发生、发展及演变过程中发挥着重要的作用。而Hashimoto等<sup>[8]</sup>通过实验研究认为尽管众多研究证实胰腺癌组织当中端粒酶活性增高，而肿瘤细胞与其前体正常细胞相比端粒的长度异常缩短，也就认为恶性肿瘤细胞为修复其缩短的端粒导致端粒酶活性的增加，而非是TTAGGG重复序列的延长。

由于胰腺癌恶性程度较高，临床表现较为隐匿，早期又缺乏特异性的症状和体征，相当比例的患者诊断时即为中晚期，便可能伴有有胰周组织浸润和远处组织的微转移。许多患者早期血液循环中可能就有肿瘤细胞的存在，因数量较少或被机体免疫系统攻击术前常规的血液检测方法难以检测，而肿瘤的微转移是胰腺癌复发和转移的主要原因之一。但由于缺乏一种足够敏感和特异的生物学指标用以术前诊断及预后的评价，令临床医生深感困扰。我们研究发现，外周血中hTERT mRNA的表达水平及阳性表达率胰腺癌组(7.95±5.46; 75%)均显著高于正常对照组(0.92±1.07; 16.7%)，具有统计学意义( $P<0.05$ )。胰腺癌患者外周血中hTERT mRNA的表达水平及阳性表达率与患者淋巴结转移、有无周围组织器官浸润及临床TNM分期呈正相关( $P<0.05$ )，与患者的性别、年龄、分化程度、肿瘤直径大小等临床特征无统计学差异( $P>0.05$ )。通过实验说明，患者外周血中hTERT mRNA的表达水平越高，外周血循环中存在的肿瘤细胞就越多，说明机体抗肿瘤免疫能力减弱，使得肿瘤的转移及术后的复发成为可能。因此我们认为，胰腺癌患者外周血中hTERT mRNA的表达水平可以作为术前评估及术后判断治疗效果及预后的有效指标。

黏蛋白是一种高分子量、高度糖基化的蛋白，可由多种分泌上皮分泌，正常情况能够促进分泌上皮细胞的更新和分化，对上皮组织有着重要的润滑和保护作用，同时，参与细胞间信号转导，调节细胞黏附及肿瘤的侵袭转移<sup>[9]</sup>。一旦分泌上皮发生癌变或瘤变，其表达的质和量就出现异常。多项研究证实，上皮细胞的恶变过程中多伴有MUC的异常糖基化，表明其在肿瘤的发生、发展中发挥着重要的作用。MUC家族根据功能特点大致分为两类：分泌型黏蛋白和膜结合蛋白。其重要成员之一MUC4与乳腺癌、食管癌、胰腺癌、结肠癌等多种类型肿瘤关

系密切<sup>[10]</sup>。MUC4基因定位于3q29，编码的跨膜蛋白型黏蛋白在人体中分布广泛。MUC4蛋白由MUC4<sub>α</sub>和MUC4<sub>β</sub>组成，其中MUC4<sub>α</sub>为胞外结构，能够干扰整合素和钙粘蛋白介导的细胞与细胞、细胞与基质之间的黏附作用，使得肿瘤细胞在组织中的黏附性迅速下降，甚至消失，并通过遮蔽细胞表面的抗原蛋白，干扰细胞毒细胞等免疫细胞对肿瘤细胞的识别和杀伤作用，从而促进肿瘤细胞的转移。MUC4<sub>β</sub>为跨膜部分，含有3个EGF样结构域，可结合并激活ErbB2，从而抑制细胞凋亡，促进其生长<sup>[11-13]</sup>。ErbB2基因编码的细胞膜受体糖蛋白的序列和结构与表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)非常相似，且具有酪氨酸激酶活性。ErbB2与配体结合后，通过自身磷酸化激活胞内的磷酸酶C-r、磷脂酰肌醇-3激酶和Ras GTP酶激活蛋白，催化相应的底物，调节细胞的生长及分化。国内外研究证实<sup>[14,15]</sup>，在胰腺癌中MUC4的过度表达可诱导极化细胞中ErbB2/HER2由基底侧向顶端表达增加，更易于两者的结合，后者又可使AKT信号传导通路激活增加，从而增加肿瘤细胞的抗凋亡作用。80%-90%的胰腺外分泌肿瘤来源于导管细胞，从上皮细胞的增生、发育不良，发展至侵袭性导管癌的病变过程与结肠腺癌相似<sup>[16]</sup>。研究证实，MUC4在所有胰腺导管上皮内瘤(pancreatic intraepithelial neoplasia, PanIN)病变及侵袭性胰腺导管腺癌中均有表达，且随着不典型程度增加，其表达率也逐渐增高<sup>[17]</sup>。

MUC具有伴随癌细胞进入外周循环的作用，研究显示，在乳腺癌患者外周血单个核细胞中可检测到上皮源性的细胞角蛋白及MUC1的表达<sup>[18]</sup>。有研究在乳腺癌患者外周血单个核细胞中检测到MUC4 mRNA的表达，而在乳腺炎患者及正常健康人中没有检测到MUC4 mRNA的表达，提示在临床工作中可通过对胰腺癌或疑似胰腺癌的患者进行术前抽血，检查其外周血中是否有MUC4 mRNA表达，早期鉴别诊断胰腺癌。

我们研究发现，外周血中MUC4 mRNA的表达水平及阳性表达率胰腺癌组均显著高于正常对照组。胰腺癌患者外周血中MUC4 mRNA的表达水平及阳性表达率与患者淋巴结转移、有无周围组织器官浸润及临床TNM分期呈正相关，与患者的性别、年龄、分化程度、肿瘤直径大小等临床特征无统计学差异。提示外周血MUC4 mRNA的定量检测可作为胰腺癌微转移有效地标志物。

实验证明, 癌基因MUC4的表达可促进胰腺肿瘤细胞的生长及转移, 并且增加了肿瘤细胞的抗凋亡的能力<sup>[19]</sup>. 转化生长因子- $\alpha$ (transforming growth factor, TGF- $\alpha$ )、表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF)、干扰素(interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )等多种转录因子调控MUC4的表达, 此外, Ets蛋白PEA3上调MUC4下调ErbB-2表达在调节胰腺癌细胞系分化和增值平衡中发挥关键作用<sup>[20]</sup>. 随着研究的深入进展, 如何从转录水平调控MUC4基因的表达意境成为新的分子治疗发展新方向. MUC4启动子是转录调控相对集中的靶向区, 因涉及许多信号通路, 其调控过程较为复杂, 这些信号通路对于MUC4在胰腺癌和肝胆系统中的表达均有作用, 目前已经发现SP1和SP3是MUC4表达的重要调控因子. SP1上调MUC4的表达, SP3抑制MUC4启动子的转录活性. 同时发现EGF和TGF- $\alpha$ 可以增强启动子活性. 这些转录因子主要通过PKC、PKA信号途径调控着MUC4基因的表达<sup>[21]</sup>. 对这些信号通路的认识可对进一步研究如何抑制肿瘤生长和转移提供可能.

#### 4 参考文献

- Lemoine NR, Jain S, Hughes CM, Staddon SL, Maillet B, Hall PA, Klöppel G. Ki-ras oncogene activation in preinvasive pancreatic cancer. *Gastroenterology* 1992; 102: 230-236
- Andrianifahanana M, Moniaux N, Schmied BM, Ringel J, Friess H, Hollingsworth MA, Büchler MW, Aubert JP, Batra SK. Mucin (MUC) gene expression in human pancreatic adenocarcinoma and chronic pancreatitis: a potential role of MUC4 as a tumor marker of diagnostic significance. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 4033-4040
- Vaziri H, Benchimol S. Reconstitution of telomerase activity in normal human cells leads to elongation of telomeres and extended replicative life span. *Curr Biol* 1998; 8: 279-282
- Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 1990; 345: 458-460
- Miura M, Zhu H, Rotello R, Hartwig EA, Yuan J. Induction of apoptosis in fibroblasts by IL-1 beta-converting enzyme, a mammalian homolog of the *C. elegans* cell death gene *ced-3*. *Cell* 1993; 75: 653-660
- 周家华, 杨德同, 裴斐, 陈泉, 韩东冬, 张丽珊. 人胰腺癌与端粒酶及其亚单位表达的关系. *中华实验外科杂志* 2003; 20: 29-31
- 许逸卿, 王春友, 刘涛, 陶京, 俞建雄, 杨智勇. 胰腺癌组织中端粒酶活性的表达. *中华实验外科杂志* 2003; 20: 811-812
- Hashimoto Y, Murakami Y, Uemura K, Hayashidani Y, Sudo T, Ohge H, Fukuda E, Shimamoto F, Sueda T, Hiyama E. Telomere shortening and telomerase expression during multistage carcinogenesis of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 17-28; discussion 28-29
- Julian J, Carson DD. Formation of MUC1 metabolic complex is conserved in tumor-derived and normal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293: 1183-1190
- Hanaoka J, Kontani K, Sawai S, Ichinose M, Tezuka N, Inoue S, Fujino S, Ohkubo I. Analysis of MUC4 mucin expression in lung carcinoma cells and its immunogenicity. *Cancer* 2001; 92: 2148-2157
- Moniaux N, Escande F, Batra SK, Porchet N, Laine A, Aubert JP. Alternative splicing generates a family of putative secreted and membrane-associated MUC4 mucins. *Eur J Biochem* 2000; 267: 4536-4544
- Komatsu M, Carraway CA, Fregien NL, Carraway KL. Reversible disruption of cell-matrix and cell-cell interactions by overexpression of sialomucin complex. *J Biol Chem* 1997; 272: 33245-33254
- Komatsu M, Yee L, Carraway KL. Overexpression of sialomucin complex, a rat homologue of MUC4, inhibits tumor killing by lymphokine-activated killer cells. *Cancer Res* 1999; 59: 2229-2236
- 李晓辉, 熊炯欣, 杨智勇, 王春友. 黏蛋白4在胰腺癌组织中的表达及临床意义. *中华医学杂志* 2006; 30: 17-18, 20
- Schlieman MG, Fahy BN, Ramsamooj R, Beckett L, Bold RJ. Incidence, mechanism and prognostic value of activated AKT in pancreas cancer. *Br J Cancer* 2003; 89: 2110-2115
- 李晓辉, 熊炯欣, 王春友. MUC4 mRNA在胰腺癌患者外周血单个核细胞中的表达及临床意义. *中国医学科学院学报* 2005; 27: 624-627
- Swartz MJ, Batra SK, Varshney GC, Hollingsworth MA, Yeo CJ, Cameron JL, Wilentz RE, Hruban RH, Argani P. MUC4 expression increases progressively in pancreatic intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol* 2002; 117: 791-796
- Méhes G, Witt A, Kubista E, Ambros PF. Circulating breast cancer cells are frequently apoptotic. *Am J Pathol* 2001; 159: 17-20
- 姜争, 武林枫. 胰腺癌中MUC4 mRNA表达的作用及临床意义. *国际遗传学杂志* 2006; 29: 127-129
- Fauquette V, Perrais M, Cerulis S, Jonckheere N, Ducourouble MP, Aubert JP, Pigny P, Van Seuning I. The antagonistic regulation of human MUC4 and ErbB-2 genes by the Ets protein PEA3 in pancreatic cancer cells: implications for the proliferation/differentiation balance in the cells. *Biochem J* 2005; 386: 35-45
- Perrais M, Pigny P, Ducourouble MP, Petitprez D, Porchet N, Aubert JP, Van Seuning I. Characterization of human mucin gene MUC4 promoter: importance of growth factors and proinflammatory cytokines for its regulation in pancreatic cancer cells. *J Biol Chem* 2001; 276: 30923-30933

编辑 李军亮 电编 闫晋利



# 高原地区上消化道疾病胃镜分析13 944例

王晨, 文军宝, 姚小军, 刘宏生, 王基伟, 白冬梅

## ■背景资料

上消化道疾病是我国人群中的常见病、多发病,其临床表现缺乏特异性,胃镜检查是目前诊断上消化道疾病较为可靠的手段。

王晨, 姚小军, 刘宏生, 王基伟, 白冬梅, 中国人民解放军第22医院消化内科 青海省格尔木市 816000

文军宝, 中国人民解放军总医院南楼消化内科 北京市 100853

王晨, 主治医师, 主要从事高原消化病临床研究。

作者贡献分布: 此课题由王晨与文军宝设计; 研究过程、数据分析由王晨、文军宝、姚小军、王基伟、刘宏生及白冬梅完成; 本论文写作由王晨完成。

通讯作者: 王晨, 主治医师, 816000, 青海省格尔木市, 中国人民解放军第22医院消化内科. wangc\_xhmk@163.com  
电话: 0979-8401753

收稿日期: 2012-06-06 修回日期: 2012-08-04

接受日期: 2012-08-11 在线出版日期: 2012-09-18

## Detection of upper gastrointestinal diseases by gastroscopy in patients in the Tibetan Plateau: An analysis of 13 944 cases

Chen Wang, Jun-Bao Wen, Xiao-Jun Yao, Hong-Sheng Liu, Ji-Wei Wang, Dong-Mei Bai

Chen Wang, Xiao-Jun Yao, Hong-Sheng Liu, Ji-Wei Wang, Dong-Mei Bai, Department of Gastroenterology, the 22nd Hospital of Chinese PLA, Golmod 816000, Qinghai Province, China

Jun-Bao Wen, Department of Geriatric Gastroenterology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Correspondence to: Chen Wang, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the 22nd Hospital of Chinese PLA, Golmod 816000, Qinghai Province, China. wangc\_xhmk@163.com

Received: 2012-06-06 Revised: 2012-08-04

Accepted: 2012-08-11 Published online: 2012-09-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the clinical characteristics of upper gastrointestinal diseases diagnosed by gastroscopy in patients in the Tibetan Plateau.

**METHODS:** The clinical data for 13 944 patients who underwent gastroscopy in our hospital over the past 10 years were analyzed, including age composition, diagnosis results, and characteristics of peptic ulcer.

**RESULTS:** The male to female ratio was 1.7 : 1. The majority (81.30%) of patients who received gastroscopy was at age 20 to 50, while 32.47% was at age 31 to 40. Year-by-year statistics showed that there was no significant increase or

decrease in the detection rate of upper gastrointestinal diseases. Upper gastrointestinal diseases occur mostly in summer and autumn. Superficial gastritis had the highest detection rate, followed by duodenal ulcer, flat erosive gastritis, hemorrhagic gastritis, reflux esophagitis, duodenitis, erosive gastritis, gastric ulcer, upper gastrointestinal polyps, and digestive tract tumors. The peak age of onset was 30 to 40 years, and men were more commonly affected than women ( $P < 0.05$ ). Atrophic gastritis, gastrointestinal polyps and upper gastrointestinal cancers are more common in people over the age of 50. The ratio of incidence of duodenal ulcer to that of gastric ulcer was 2.86 : 1. The anterior wall of the duodenal bulb is the most common site of DU, while GU is often located at the gastric angle and antrum. Gastric antrum is also the most common site of gastric cancer.

**CONCLUSION:** In the Tibetan Plateau, there is a higher incidence of upper gastrointestinal disease in men than women, especially in the population at age 20 to 50. Inflammatory diseases and peptic ulcer are most common. Due to the particular environment of the plateau, there was no significant change in the detection rate of upper gastrointestinal diseases over the past 10 years.

**Key Words:** High altitude; Upper Gastrointestinal Diseases; Gastroscopy

Wang C, Wen JB, Yao XJ, Liu HS, Wang JW, Bai DM. Detection of upper gastrointestinal diseases by gastroscopy in patients in the Tibetan Plateau: An analysis of 13 944 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2506-2510

## 摘要

**目的:** 探讨青藏高原地区胃镜下上消化道疾病的发病特点。

**方法:** 对我院11年间经胃镜检查13 944例患者的临床资料及相关信息进行回顾性分析, 包括年龄构成、疾病检出情况、常见疾病如消化性溃疡的临床特点等。

**结果:** 13 944例患者中男女之比为1.7 : 1; 行

## ■同行评议者

毛高平, 教授, 中国人民解放军空军总医院

胃镜检查人群年龄20-50岁者占总人数的81.3%, 其中31-40岁占总人数的32.47%; 通过逐年逐月统计, 上消化道疾病每年检出率无明显增多或减少, 多以夏秋季好发; 其发病依次为浅表性胃炎、十二指肠溃疡、平坦糜烂性胃炎、出血性胃炎、反流性食管炎、十二指肠肠炎、隆起糜烂性胃炎、胃溃疡、上消化道息肉、上消化道肿瘤等; 以男性多见于女性( $P<0.05$ ); 炎症性疾病、消化性溃疡31-40岁为疾病高峰年龄, 萎缩性胃炎、上消化道息肉、上消化道肿瘤多见于50岁以上人群; 十二指肠溃疡与胃溃疡发病率之比为2.86:1, 十二指肠溃疡好发部位为球前壁和大弯侧, 胃溃疡好发部位为胃角和胃窦; 胃癌最常见于胃窦。

**结论:** 高原地区上消化道疾病以男性发病率高, 20-50岁为好发人群, 炎症性疾病最多, 其次为消化性溃疡; 由于高原的特殊环境, 上消化道疾病每年检出率无明显变化。

**关键词:** 高原地区; 上消化道疾病; 胃镜检查

王晨, 文军宝, 姚小军, 刘宏生, 王基伟, 白冬梅. 高原地区上消化道疾病胃镜分析13 944例. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2506-2510  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2506.asp>

## 0 引言

上消化道疾病是我国人群中的常见病、多发病, 其临床表现缺乏特异性, 胃镜检查是目前诊断上消化道疾病较为可靠的手段. 我院地处海拔2 808 m青藏高原地区, 随着社会经济等因素的发展以及本地区人口的增多, 了解上消化道疾病的临床流行病学特点很有必要; 为此, 将我院经胃镜检查13 944例患者的临床资料及相关信息作以回顾性分析并报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集我院2001-01/2011-12来自海拔2 800-5 300 m有上消化道症状, 接受胃镜检查的患者13 944例; 其中男性8 782例, 女性5 162例, 男:女 = 1.7:1; 年龄9-84岁, 平均年龄39.78岁±13.34岁。

**1.2 方法** 采用富士能2200型电子胃镜检查诊断, 并按每月逐年统计, 对其检出率、性别、年龄、病变检出部位等进行分析研究, 剔除疾病不能明确诊断者, 所取活检组织均送病理检查; 按胃镜诊断标准作出诊断。

**统计学处理** 将符合以上标准的病例收集后

再由2位以上的胃镜医师按诊断标准进行复核并汇总统计. 用SPSS13.0统计软件包进行统计学处理, 所得计数资料行 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 胃镜检查人群的年龄构成情况** 本组年龄9-84岁, 平均年龄39.78岁±13.34岁; 各年龄段男性<20岁403例(4.59%), 20-30岁2 810例(32.0%), 31-40岁2 828例(32.2%), 41-50岁1 642例(18.7%), 51-60岁694例(7.9%), >60岁405例(4.61%); 女性<20岁164例(3.18%), 20-30岁1 007例(19.51%), 31-40岁1 770例(34.29%), 41-50岁1 280例(24.8%), 51-60岁618例(11.96%), >60岁323例(6.26%); 由此可见高原地区胃镜检查人群主要集中于20-50岁的青壮年, 占总人数的81.3%(11 337/13 944), 这可能与高原地区老年人相对较少相关, 其中31-40岁占总人数的32.47%; 男女检查年龄高峰比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**2.2 疾病检出情况及性别分布** 13 944例接受胃镜检查的病例中, 男性8 782例, 女性5 162例, 男女性别之比为1.7:1. 疾病检出依次为浅表性胃炎、十二指肠溃疡、平坦糜烂性胃炎、出血性胃炎、反流性食管炎、十二指肠肠炎、隆起糜烂性胃炎、胃溃疡、上消化道息肉、上消化道肿瘤等; 以浅表性胃炎最多见, 检出率为51.86%, 其次为十二指肠溃疡, 检出率为13.3%(表1). 各组疾病检出性别间有统计学意义( $P<0.05$ )。

**2.3 疾病的年龄分布情况** 本组研究上消化道炎症性疾病、消化性溃疡以20-50岁多见, 其中以31-40岁为检出高峰年龄; 食管静脉曲张检出高峰年龄41-50岁; 上消化道息肉<20岁以下少见, 其余各年龄段检出无显著差异性; 胃癌、食管癌好发50岁以上人群(表2)。

**2.4 逐年各月疾病检出的分布情况** 上消化道炎症性疾病及胃溃疡每月检出率无显著差异性, 十二指肠溃疡5、10 mo检出率较高, 分别为: 145/1 855(18.88%), 201/1 855(18.09%); 平坦糜烂性胃炎、隆起糜烂性胃炎、出血性胃炎及消化性溃疡均以夏秋季好发. 浅表性胃炎、反流性食管炎检出与季节变化无显著差异; 通过逐年各上消化道疾病检出, 其每年疾病谱检出率无明显增多或减少, 这可能与高原地区特殊环境相关(表3, 4)。

**2.5 胃、十二指肠溃疡病变分布情况** 十二指肠

## ■ 研发前沿

本院地处海拔2 808 m青藏高原地区, 随着社会经济等因素的发展以及本地区人口的增多, 了解上消化道疾病的临床流行病学特点很有必要。

### ■应用要点

本研究为了解青藏高原地区上消化道疾病的发病情况和临床特点提供了可供参考的数据,有助于高原地区上消化道疾病的防治。

表 1 胃镜检查结果及男女分布情况

检出疾病	n	男 n(%)	女 n(%)	检出率(%)
浅表性胃炎	7231	4177(57.77)	3054(42.23)	51.86
平坦糜烂性胃炎	1407	930(66.10)	477(33.90)	10.09
隆起糜烂性胃炎	799	500(62.58)	299(37.42)	5.73
出血性胃炎	1240	809(65.24)	431(34.76)	8.89
胃溃疡	648	506(78.09)	142(21.91)	4.65
十二指肠溃疡	1855	1522(82.05)	333(17.95)	13.3
十二指肠炎	888	663(74.66)	225(25.34)	6.37
反流性食管炎	1053	822(78.06)	231(21.94)	7.55
胃癌	127	96(75.59)	31(24.41)	0.91
食管癌	59	40(67.80)	19(32.20)	0.42
食管静脉曲张	118	97(82.20)	21(17.80)	0.85
上消化道息肉	385	243(63.12)	142(36.88)	2.76
萎缩性胃炎	142	59(41.55)	83(58.45)	1.01
其他 <sup>1</sup>	360	224(62.22)	136(37.78)	2.58

<sup>1</sup>包括食管异物、腐蚀性食管炎、霉菌性食管炎、Barrett食管、残胃炎、食管裂孔疝、急性胃黏膜病变、异位胰腺、蛔虫症等少见疾病。

表 2 不同年龄组胃镜检查结果 n(%)

诊断	<20岁	20-30岁	31-40岁	41-50岁	51-60岁	>60岁
浅表性胃炎	377(5.21)	2142(29.62)	2393(33.09)	1461(20.2)	590(8.16)	268(3.72)
平坦糜烂性胃炎	38(2.70)	322(22.89)	455(32.34)	360(25.59)	153(10.87)	79(5.61)
隆起糜烂性胃炎	24(3.01)	154(19.27)	276(34.54)	205(25.66)	94(11.76)	46(5.76)
出血性胃炎	48(3.87)	335(27.02)	447(36.05)	252(20.32)	109(8.79)	49(3.95)
胃溃疡	19(2.93)	138(21.30)	195(30.09)	168(25.93)	74(11.42)	54(8.33)
十二指肠溃疡	72(3.88)	576(31.05)	629(33.91)	357(19.25)	149(8.03)	72(3.88)
十二指肠球炎	32(3.60)	219(24.66)	332(37.39)	183(20.61)	74(8.33)	48(5.41)
反流性食管炎	19(1.81)	238(22.60)	344(32.67)	273(25.93)	108(10.25)	71(6.74)
胃癌	0(0)	0(0)	12(9.45)	17(13.39)	41(32.28)	57(44.88)
食管癌	1(1.69)	0(0)	2(3.39)	8(13.56)	18(30.51)	30(50.85)
食管静脉曲张	0(0)	7(5.93)	22(18.64)	48(40.68)	25(21.19)	16(13.56)
上消化道息肉	11(2.86)	67(17.39)	80(20.78)	85(22.08)	48(12.47)	94(24.42)
萎缩性胃炎	0(0)	2(1.41)	19(13.38)	29(20.42)	38(26.76)	54(38.03)

溃疡与胃溃疡发病率之比为2.86:1,十二指肠溃疡好发部位为球前壁和大弯侧,占69.69%,胃溃疡好发部位为胃角和胃窦,占63.75%。

2.6 胃癌病变部位的分布情况 贲门-胃底26例(20.47%),胃体29例(22.83%),胃角19例(14.96%),胃窦53例(41.73%);胃癌好发部位最常见于胃窦。

### 3 讨论

高原地区居民长期处于低氧环境中,所致胃肠壁血流减慢,上皮细胞再生能力降低,黏液分泌减少,胃肠黏膜屏障功能减退而造成保护作用变差,尤其在高原红细胞增多症患者,加剧血液

黏滞性,使血流更趋郁滞,导致胃肠黏膜层细胞因缺血而糜烂、溃疡、出血等并发症<sup>[1]</sup>;因此,上消化道疾病就属于高原地区最常见病、多发病。近年来,随着社会经济等因素的发展,人们知识水平的提高和对疾病的认识,本地区行胃镜检查的人数后5年较前5年呈明显增多,为此,本组研究回顾了11年间我院胃镜检查的上消化道疾病13 944例,从而初步了解高原地区上消化道疾病的发病趋势,为卫生资源合理运用,临床卫生决策方面及临床工作提供参考数据。

本文资料表明,虽然接受胃镜检查的人数近5年来在增多,但上消化道疾病每年的疾病谱检

表 3 2001-2011年胃镜检出上消化道疾病结果  $n(\%)$ 

疾病检出情况	2001年 (603)	2002年 (887)	2003年 (962)	2004年 (1102)	2005年 (1122)	2006年 (1462)	2007年 (1697)	2008年 (1752)	2009年 (1447)	2010年 (1359)	2011年 (1551)
浅表性胃炎	373(61.86)	586(66.07)	472(49.06)	556(50.45)	554(49.38)	772(52.8)	888(52.32)	967(55.19)	723(49.97)	702(51.66)	638(41.13)
平坦糜烂	61(10.11)	100(11.27)	143(14.86)	77(6.98)	53(4.72)	117(8.02)	145(8.54)	135(7.71)	122(8.43)	188(13.83)	266(17.15)
隆起糜烂	23(3.81)	81(9.13)	90(9.36)	48(4.35)	26(2.23)	10(0.86)	58(3.41)	129(7.36)	130(8.98)	105(7.73)	99(6.38)
出血性胃炎	28(4.64)	47(5.29)	68(7.07)	116(10.52)	123(10.96)	154(10.53)	203(11.96)	142(8.11)	107(7.39)	103(7.57)	149(9.61)
胃溃疡	40(6.63)	36(4.06)	68(7.07)	54(4.9)	59(5.26)	54(3.69)	84(4.9)	64(3.65)	67(4.63)	59(4.34)	63(4.06)
十二指肠	73(12.11)	129(14.54)	192(19.96)	150(13.61)	145(12.92)	222(15.18)	237(13.97)	209(11.93)	179(12.37)	151(11.11)	168(10.83)
肠溃疡	62(10.28)	94(10.59)	118(12.27)	91(8.26)	70(6.23)	83(5.67)	92(5.42)	93(5.31)	49(3.39)	53(3.89)	83(5.35)
肠球炎	49(8.13)	72(8.18)	74(7.69)	86(7.8)	69(6.15)	107(7.31)	118(6.95)	158(9.01)	112(7.74)	106(7.8)	102(6.58)
反流性食管炎	3(0.5)	6(0.67)	12(1.25)	10(0.91)	19(1.69)	14(0.96)	16(0.94)	15(0.86)	14(0.97)	7(0.52)	11(0.71)
胃癌	3(0.5)	6(0.67)	3(0.31)	8(0.73)	3(0.27)	2(0.13)	10(0.59)	10(0.57)	1(0.07)	4(0.29)	9(0.58)
食管静	10(1.66)	6(0.67)	7(0.72)	2(0.18)	9(0.8)	13(0.89)	18(1.06)	13(0.74)	16(1.11)	11(0.81)	12(0.77)
脉曲张	18(2.98)	15(1.7)	10(1.03)	8(0.73)	28(2.49)	32(2.19)	31(1.83)	25(1.43)	29(2.01)	48(3.53)	71(4.57)
上消化	18(2.98)	15(1.7)	10(1.03)	8(0.73)	28(2.49)	32(2.19)	31(1.83)	25(1.43)	29(2.01)	48(3.53)	71(4.57)
道息肉	18(2.98)	6(0.67)	8(0.83)	9(0.82)	7(0.62)	10(0.68)	10(0.59)	12(0.68)	12(0.83)	11(0.81)	39(2.51)
萎缩性胃炎	14(2.32)	20(2.25)	21(2.18)	19(1.72)	43(3.88)	40(2.73)	32(2.36)	41(2.34)	35(2.42)	38(2.79)	57(3.68)
其他	14(2.32)	20(2.25)	21(2.18)	19(1.72)	43(3.88)	40(2.73)	32(2.36)	41(2.34)	35(2.42)	38(2.79)	57(3.68)

## ■同行评价

本文在选题上有一定的特色和意义。对于资料的处理分析,方法适当,结果可信,有一定的参考价值。

表 4 11年间与季节相关的主要上消化道疾病分布关系  $n(\%)$ 

主要疾病检出	1月 (759)	2月 (665)	3月 (1114)	4月 (1202)	5月 (1126)	6月 (1422)	7月 (1401)	8月 (1502)	9月 (1404)	10月 (1111)	11月 (1180)	12月 (1058)
浅表性胃炎	373(49.14)	397(59.69)	606(54.39)	677(56.32)	574(50.98)	734(51.62)	773(55.17)	795(52.93)	663(47.22)	522(46.98)	595(50.42)	522(49.34)
平坦糜烂	73(9.61)	59(8.87)	69(6.19)	73(6.07)	107(9.50)	126(8.86)	147(10.49)	178(11.85)	193(13.75)	144(12.96)	116(9.83)	122(11.53)
隆起糜烂	35(4.61)	41(6.17)	64(5.75)	46(3.82)	63(5.59)	74(5.20)	57(4.07)	81(5.39)	89(6.34)	91(8.19)	82(6.95)	76(7.18)
出血性胃炎	50(6.59)	53(7.97)	85(7.63)	89(7.40)	94(8.35)	128(9.01)	107(7.64)	146(9.72)	181(12.89)	119(10.71)	111(9.41)	77(7.28)
胃溃疡	42(5.53)	24(3.61)	51(4.58)	51(4.24)	57(5.06)	70(4.92)	60(4.28)	63(4.19)	70(4.99)	59(5.13)	52(4.41)	49(4.63)
十二指肠	88(11.59)	60(9.02)	119(10.68)	159(13.22)	145(12.88)	195(13.71)	184(13.13)	192(12.78)	196(13.96)	201(18.09)	160(13.56)	156(14.74)
肠溃疡	51(6.72)	39(5.86)	65(5.83)	61(5.07)	76(6.75)	108(7.59)	76(5.42)	88(5.86)	85(6.05)	83(7.47)	90(7.63)	66(6.24)
肠球炎	52(6.85)	59(8.87)	81(7.27)	97(8.07)	74(6.57)	108(7.59)	88(6.28)	109(7.26)	111(7.91)	88(7.92)	101(8.56)	85(8.03)
反流性食管炎												

出率无明显变化,并以夏秋季节好发,十二指肠溃疡以5月、10月份检出较高,可能与每年5月与10月季节交替时节风沙较大,对人们的饮食习惯及身心健康影响有关;从年龄段而言,上消化道炎性疾病、消化性溃疡以20-50岁多见,其中以31-40岁为检出高峰年龄;萎缩性胃炎、胃癌、食管癌好发50岁以上人群;可见疾病的年

龄段与平原报道<sup>[2,3]</sup>提前了10岁,可能与久居高原胃肠黏膜屏障功能减退以及人们对上消化道疾病的认识不足相关;另外,反流性食管炎并不是随年龄的增加而增加<sup>[4]</sup>,这与平原资料<sup>[5-7]</sup>不相一致,可能与高原青壮年人群的生活习惯以及高原高龄老年人相对偏少相关。

本组研究显示慢性胃炎检出率77.59%,其

中浅表性胃炎男女发病无明显差异,平坦糜烂性胃炎、隆起糜烂性胃炎、出血性胃炎均以男性显著高于女性,这可能与男性大量吸烟、饮酒相关;而萎缩性胃炎为女性高于男性,与文献报道<sup>[2,8]</sup>男性明显多于女性不一致,其原因可能与环境因素有关,也不除外病例数不多及内镜操作者的认识不够所致;反流性食管炎检出率为7.55%,与刘德远等<sup>[9]</sup>报道西藏地区RE内镜检出率7.8%相近。

消化性溃疡是严重危害人类健康的常见病之一。本文统计表明,十二指肠溃疡检出率为13.3%,胃溃疡检出率为4.65%,十二指肠溃疡与胃溃疡发病率之比为2.86:1,男性发病明显高于女性;十二指肠溃疡好发部位为球前壁和大弯侧,占69.69%,胃溃疡好发部位为胃角和胃窦<sup>[10]</sup>,占63.75%;与平原资料相符<sup>[11,12]</sup>。本文显示,近几年来,随着胃镜检查人数的增多,十二指肠溃疡检出率有所下降趋势,可能与近年来人们自我保健意识的增强,有症状及时就诊,PPI及胃黏膜保护剂的药物的应用等相关。

本组上消化道肿瘤中胃癌检出率为0.91%,男女检出比例为3.1:1,食管癌的检出率为0.42%,男女检出比例为2.1:1,胃癌的易发部位为胃窦、胃体及胃底-贲门,虽然本研究的样本数不够大,但与全国胃癌病理协作组统计8 523例中晚期胃癌显示胃窦部者最多<sup>[13]</sup>是一致的。为了提高对内镜下上消化道肿瘤的重视,尤其对

萎缩性胃炎、胃息肉、胃溃疡这些现在被认为癌前期状态的疾病,应作为高危人群,定期随访,以提高对早期癌变的诊断,为高原卫生资源提供一定的临床数据。

#### 4 参考文献

- 1 李素芝,高钰琪,刘厚东.高原疾病学.北京:人民卫生出版社,2006:121
- 2 周慧萌,范欣敏.上消化道疾病9910例胃镜检查结果分析.中国中西医结合消化杂志 2003; 11: 167-168
- 3 梁桂云,李宏伟,李又春,李华.丹江口地区10年上消化道主要疾病回顾性分析.中国医师杂志(增刊) 2006: 112-113
- 4 王晨,文军宝,原爱中,白冬梅,姚小军,刘宏生.高原地区反流性食管炎胃镜检查858例.世界华人消化杂志 2010; 18: 3356-3358
- 5 赵子仪,何伟,陈星,徐富星.反流性食管炎内镜检出率及临床分析.中华消化杂志 2005; 25: 507
- 6 李兆申,王雯,许国铭,于凤海,邹多武,孙振兴.反流性食管炎1827例临床分析.中华内科杂志 2001; 40: 9-12
- 7 潘国宗,许国铭,郭慧平,柯美云,韩少梅,李兆申,方秀才,邹多武,鲁素彩,刘婧.北京上海胃食管反流症状的流行病学调查.中华消化杂志 1999; 19: 223-226
- 8 韩杰.基层医院慢性胃病的发病现状及防治.临床荟萃 2003; 18: 1118-1119
- 9 刘德远,刘素华.高原地区反流性食管炎153例临床分析.中华消化内镜杂志 2006; 23: 63-64
- 10 王晨,文军宝,白冬梅,刘宏生.格尔木地区2197例消化性溃疡胃镜分析.解放军医学杂志 2009; 34: 492
- 11 边中启,华占楼,郑冬青.消化性溃疡胃镜分析和流行病学分析.中华消化杂志 2002; 22: 310-311
- 12 张泰昌,袁申元,林三仁.北京29所医院1999年消化性溃疡患病情况分析.中华消化内镜杂志 2002; 19: 162-165
- 13 李益农,陆星华.消化内镜学.北京:科学出版社,2004: 395-409

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

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。



# 生长抑素治疗肠梗阻效果的系统评价

成晓舟, 郭天康, 达明绪, 景武堂, 胡东平

成晓舟, 景武堂, 胡东平, 兰州大学第一临床医学院 甘肃省兰州市 730000  
郭天康, 达明绪, 甘肃省人民医院普外科 甘肃省兰州市 730000

成晓舟, 硕士, 主要从事普外科方向的研究。

作者贡献分布: 此课题由成晓舟与郭天康设计; 研究过程由郭天康、达明绪及成晓舟操作完成; 检索文献及数据分析由成晓舟、景武堂及胡东平完成; 本论文写作由郭天康与成晓舟完成。

通讯作者: 郭天康, 教授, 730000, 甘肃省兰州市东岗西路204号, 甘肃省人民医院普外科. guotiankang2009@126.com  
电话: 0931-8281969

收稿日期: 2012-05-14 修回日期: 2012-07-27

接受日期: 2012-08-06 在线出版日期: 2012-09-18

## Stilamin for intestinal obstruction: A systematic review of efficacy

Xiao-Zhou Cheng, Tian-Kang Guo, Ming-Xu Da, Wu-Tang Jing, Dong-Ping Hu

Xiao-Zhou Cheng, Wu-Tang Jing, Dong-Ping Hu, the First Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Tian-Kang Guo, Ming-Xu Da, Department of General Surgery, the People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Correspondence to: Tian-Kang Guo, Professor, Department of General Surgery, the People's Hospital of Gansu Province, 204 Donggang West Road, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. guotiankang2009@126.com

Received: 2012-05-14 Revised: 2012-07-27

Accepted: 2012-08-06 Published online: 2012-09-18

### Abstract

**AIM:** To assess the efficacy of Stilamin for intestinal obstruction.

**METHODS:** Cochrane Library, PubMed, Embase, SCI, CNKI, CBM, VIP and WANFANG databases were searched to identify randomized controlled trials and quasi-randomized controlled trials of Stilamin combined with conventional therapy versus conventional therapy for intestinal obstruction. The data were analyzed using the RevMan 5.1 software.

**RESULTS:** Thirteen studies(852 patients) were enrolled. The results of meta-analysis showed that there is a significant difference between the group of Stilamin combined with conventional therapy and the group of conventional therapy

in: (1) time to relief of abdominal pain: MD = -2.96, 95% CI: (-4.08, -1.84); (2) time to relief of abdominal distention: MD = -2.98, 95% CI: (-4.33, -1.63); (3) time required for restoration of anus exhaust: MD = -4.69, 95% CI: (-5.24, -4.13); (4) rate of remission of abdominal pain and abdominal distention: according to the treatment cycle of different subgroups, there is a statistical significance among different subgroups for 48 h after treatment and at the end of treatment: RR = 1.23, 95% CI: (1.08, 1.42); RR = 1.51, 95% CI: (1.29, 1.76); (5) rate of restoration of anus exhaust: according to the treatment cycle of different subgroups, there is a statistical significance for 48 h post-treatment and at the end of the treatment: RR = 1.20, 95% CI: (1.04, 1.37), RR = 1.71, 95% CI: (1.35, 2.17); (6) mean hospitalization stay: MD = -5.09, 95% CI: (-5.95, -4.22); (7) rate of conversion to operation: RR = 0.33, 95% CI: (0.21, 0.52); and (8) amount of gastrointestinal decompression: according to the treatment cycle of different subgroups, there is a statistical significance for 48 h, 72 h post-treatment and at the end of the treatment: MD = -305.43, 95% CI: (-359.84, -251.03); MD = -345.80, 95% CI: (-406.63, -284.97); MD = -507.14, 95% CI: (-549.19, -465.09).

**CONCLUSION:** Current evidence suggests that Stilamin combined with conventional therapy is superior to the conventional therapy for intestinal obstruction. However, large-scale, high-quality, double-blinded RCTs are required to confirm the efficacy.

**Key Words:** Stilamin; Intestinal obstruction; Systematic review

Cheng XZ, Guo TK, Da MX, Jing WT, Hu DP. Stilamin for intestinal obstruction: A systematic review of efficacy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2511-2518

### 摘要

**目的:** 评价生长抑素治疗肠梗阻的临床疗效。

**方法:** 计算机检索Cochrane Library、PubMed、Embase、SCI、CNKI、CBM、VIP、WANFANG DATA, 纳入生长抑素结合

### 背景资料

肠梗阻是普外科常见病之一, 一般采用保守治疗, 病情发展迅速者可能还需手术干预。近年来, 有研究者在常规治疗的基础上联合生长抑素对肠梗阻进行治疗, 取得良好疗效。为客观评价其疗效和安全性, 本课题从循证医学的角度做进一步研究。

### 同行评议者

陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

## ■ 研发前沿

目前,已有多项研究表明,在常规治疗的基础上使用生长抑素治疗肠梗阻有显著优势,但众多临床研究较为零散,当前尚无对其有效性和安全性进行的系统评价。

常规治疗与常规治疗比较用于肠梗阻的随机对照试验和半随机对照试验,对纳入研究的方法学质量进行评价,用Cochrane协作网提供的软件RevMan 5.1对数据进行统计分析,并对统计结果进行系统评价。

**结果:**共纳入13个研究,共计852例患者。Meta分析结果显示:生长抑素结合常规治疗在以下方面均优于常规治疗,差异具有统计学意义。(1)腹痛消失时间:MD = -2.96, 95%CI: (-4.08, -1.84); (2)腹胀消失时间:MD = -2.98, 95%CI: (-4.33, -1.63); (3)肛门恢复排气时间:MD = -4.69, 95%CI: (-5.24, -4.13); (4)腹痛腹胀缓解率:根据治疗周期不同进行亚组分析,治疗48 h及疗程结束后腹痛腹胀缓解率均具有统计学意义:RR = 1.23, 95%CI: (1.08, 1.42); RR = 1.51, 95%CI: (1.29, 1.76); (5)肛门恢复排气排便率:根据治疗周期不同进行亚组分析,治疗48 h及疗程结束后肛门恢复排气排便率均具有统计学意义:RR = 1.20, 95%CI: (1.04, 1.37); RR = 1.71, 95%CI: (1.35, 2.17); (6)平均住院时间:MD = -5.09, 95%CI: (-5.95, -4.22); (7)中转手术率:RR = 0.33, 95%CI: (0.21, 0.52); (8)胃肠减压量:根据治疗周期不同进行亚组分析,治疗48、72 h及疗程结束后胃肠减压量均具有统计学意义:MD = -305.43, 95%CI: (-359.84, -251.03); MD = -345.80, 95%CI: (-406.63, -284.97); MD = -507.14, 95%CI: (-549.19, -465.09)。

**结论:**目前研究表明生长抑素结合常规治疗肠梗阻的疗效明显优于常规治疗,但纳入的样本量小并且质量不高,因此,有必要开展更多高质量、多中心的随机双盲对照试验进一步证实其疗效。

**关键词:**生长抑素;肠梗阻;系统评价

成晓舟, 郭天康, 达明绪, 景武堂, 胡东平. 生长抑素治疗肠梗阻效果的系统评价. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2511-2518  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2511.asp>

## 0 引言

肠梗阻是普外科常见病之一,可由多种疾病引起<sup>[1]</sup>,具有病因多样、病情发展快、对机体生理影响大和病死率高等特点。当肠道发生梗阻时,可导致肠黏膜结构和功能的严重损害,从而进一步引起肠道细菌移位,造成严重的内源性感染甚至危及生命<sup>[2]</sup>。主要临床表现有腹痛、呕吐、腹胀和停止排气排便。一般采用保守治疗,包括禁食、胃肠减压、矫正水、电解质紊乱和

酸碱失衡、全胃肠外营养、预防感染和中毒等,病情发展迅速者可能还需进行手术干预。生长抑素是一种由14个氨基酸组成的环状肽类激素,对胃肠道中消化液的分泌有明显抑制作用<sup>[3]</sup>。近年来,有研究者在常规治疗的基础上联合生长抑素对肠梗阻进行治疗,结果表明治疗效果优于单纯采用常规治疗。但对于生长抑素治疗肠梗阻的有效性尚缺乏系统、严谨的评价。本研究旨在采用Cochrane系统评价方法,全面检索生长抑素治疗肠梗阻的相关研究,对其临床研究进行综合性分析,从而为临床实践提供客观依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 计算机检索Cochrane Library、PubMed、Embase、SCI、中国期刊全文数据库(CNKI)、中国生物医学文献数据库(CBM)、中文科技期刊全文数据库(VIP)和万方数字化期刊全文数据库(WANFANG DATA)。检索时间均为建库至2012-04-01。中文检索词为:肠梗阻、生长抑素、思他宁、施他宁。英文检索词为: Intestinal Obstruction, Somatostatin, Stilamin等。

### 1.2 方法

**1.2.1 观察对象:**纳入标准:临床上确诊为肠梗阻患者,包括术后炎性肠梗阻、肿瘤致恶性肠梗阻、粘连性肠梗阻、老年人不全肠梗阻等;有可测量的客观指标;年龄、性别及种族均不限。排除标准:重复发表的文献;试验组联合用奥曲肽、针灸等治疗肠梗阻的研究。

**1.2.2 研究类型:**随机对照试验(randomized controlled trial, RCT)或半随机对照试验(quasi-randomized controlled trial, qRCT),无论是否采用盲法。

**1.2.3 分组和干预措施:**治疗组:生长抑素+常规治疗,对照组:常规治疗。

**1.2.4 观察指标:**腹痛消失时间、腹胀消失时间、肛门恢复排气时间、腹痛腹胀缓解率、肛门恢复排气排便率、平均住院时间、中转手术率、胃肠减压量。

**1.2.5 文献筛选和资料提取:**2名研究者独立筛选、提取资料并交叉核对,如遇到不同意见时通过讨论或由第3位研究者咨询解决。提取的信息包括:(1)试验的基本情况、两组患者的基线情况;(2)干预措施、退出或失访、结局指标;(3)研究质量的相关指标。

**1.2.6 质量评价:**方法学质量评价采用Cochrane系统评价手册5.0<sup>[4]</sup>评价随机对照试验的标准:

(1)随机分配方法是否正确; (2)是否做到分配隐藏及其方法是否正确; (3)是否采用盲法; (4)有无失访或退出, 如有是否采用ITT分析。

**统计学处理** 采用RevMan 5.1软件对资料进行Meta分析。因本研究所纳入部分文献的治疗周期不同, 故对此按不同治疗周期进行亚组分析, 观察不同治疗周期对患者腹痛腹胀缓解率、肛门恢复排气排便率、胃肠减压量的影响。采用 $\chi^2$ 检验对同类研究间的异质性进行评价, 若 $P \geq 0.1$ ,  $I^2 \leq 50\%$ , 说明研究间具有同质性, 采用固定效应模型进行Meta分析; 若 $P < 0.1$ ,  $I^2 > 50\%$ , 则认为研究间存在异质性, 分析其异质性来源, 确定是否能采用随机效应模型。计数资料采用相对危险度(relative risk, RR)为疗效分析统计量; 计量资料采用加权均数差(weighted mean difference, MD)或标准化均数差(standardized mean difference, SMD)为疗效分析统计量, 各效应量均以95%CI表示。

## 2 结果

**2.1 检索** 根据检索策略, 共查到相关文献1 093篇, 初检中文文献406篇, 英文文献687篇, 经去重、阅读题目、摘要及全文后提取符合纳入标准的13篇文献<sup>[5-17]</sup>, 均为中文文献, 共852例各型肠梗阻患者(表1)。

**2.2 纳入研究的方法学质量评价** 纳入的13个研究<sup>[5-17]</sup>均提到“随机”字样, 一个研究<sup>[7]</sup>按入院次序随机, 其余未描述随机方法及分配隐藏。只有1个研究<sup>[6]</sup>采用双盲, 其余研究没有具体说明是否采用盲法, 所有研究均无失访(表2)。

### 2.3 Meta分析

**2.3.1 腹痛消失时间:** 3个研究<sup>[7,8,11]</sup>报道了疗程结束后腹痛消失时间, 各研究间有统计学异质性( $P = 0.004$ ,  $I^2 = 82\%$ ), 故采用随机效应模型进行Meta分析, 结果显示差异有统计学意义[MD = -2.96, 95%CI: (-4.08, -1.84)], 表明生长抑素联合常规治疗组腹痛消失时间短于常规治疗组(图1)。

**2.3.2 腹胀消失时间:** 4个研究<sup>[7,8,11,16]</sup>报道了疗程结束后腹胀消失时间, 各研究间有统计学异质性( $P = 0.004$ ,  $I^2 = 77\%$ ), 故采用随机效应模型进行Meta分析, 结果显示差异有统计学意义[MD = -2.98, 95%CI: (-4.33, -1.63)], 表明生长抑素联合常规治疗组腹胀消失时间短于常规治疗组(图2)。

**2.3.3 肛门恢复排气时间:** 4个研究<sup>[7,8,11,16]</sup>报道了疗程结束后肛门恢复排气时间, 各研究间无统

计学异质性( $P = 0.24$ ,  $I^2 = 29\%$ ), 故采用固定效应模型进行Meta分析, 结果显示差异有统计学意义[MD = -4.69, 95%CI: (-5.24, -4.13)], 表明生长抑素联合常规治疗组肛门恢复排气时间短于常规治疗组(图3)。

**2.3.4 腹痛腹胀缓解率:** 7个研究<sup>[5,9,10,12-14,17]</sup>报道了腹痛腹胀缓解率。根据治疗周期不同进行亚组分析。Meta分析结果显示: 治疗48 h及疗程结束后均有统计学意义[RR = 1.23, 95%CI: (1.08, 1.42)], [RR = 1.51, 95%CI: (1.29, 1.76)], 表明生长抑素联合常规治疗组在48 h及疗程结束后腹痛腹胀缓解率均高于常规治疗组(图4)。

**2.3.5 肛门恢复排气排便率:** 6个研究<sup>[9,10,12-14,17]</sup>报道了肛门恢复排气排便率。根据治疗周期不同进行亚组分析。Meta分析结果显示: 治疗48 h及疗程结束后均有统计学意义[RR = 1.20, 95%CI: (1.04, 1.37)], [RR = 1.71, 95%CI: (1.35, 2.17)], 表明生长抑素联合常规治疗组在48 h及疗程结束后肛门恢复排气排便率均高于常规治疗组(图5)。

**2.3.6 平均住院时间:** 5个研究<sup>[5-7,15,17]</sup>报道了住院时间(d), 各研究间无统计学异质性( $P = 0.62$ ,  $I^2 = 0\%$ ), 故采用固定效应模型进行Meta分析, 结果显示差异有统计学意义[MD = -5.09, 95%CI: (-5.95, -4.22)], 表明生长抑素联合常规治疗组平均住院时间短于常规治疗组(图6)。

**2.3.7 中转手术率:** 6个研究<sup>[7,8,10,12,14,17]</sup>报道了中转手术率。各研究间无统计学异质性( $P = 0.71$ ,  $I^2 = 0\%$ ), 故采用固定效应模型进行Meta分析, 结果显示差异有统计学意义[RR = 0.33, 95%CI: (0.21, 0.52)], 表明生长抑素联合常规治疗组中转手术率低于常规治疗组(图7)。

**2.3.8 胃肠减压量:** 9个研究<sup>[6-11,13,14,17]</sup>报道了胃肠减压量。根据治疗周期不同进行亚组分析。Meta分析结果显示: 治疗48、72 h及疗程结束后均有统计学意义[MD = -305.43, 95%CI: (-359.84, -251.03)], [MD = -345.80, 95%CI: (-406.63, -284.97)], [MD = -507.14, 95%CI: (-549.19, -465.09)], 表明生长抑素联合常规治疗组在48、72 h及疗程结束后胃肠减压量均少于常规治疗组(图8)。

## 3 讨论

肠梗阻的基本病理、生理变化为肠腔积气、积液导致肠膨胀, 肠腔释放抗吸收激素与旁分泌物质, 使肠黏膜上皮分泌增加并抑制液体吸收, 肠系膜血供减少、肠黏膜屏障功能减弱、肠

### 应用要点

本文旨在系统评价生长抑素治疗肠梗阻的临床疗效, 为临床医师在治疗肠梗阻的药物选择方面提供循证医学的依据。

### ■同行评价

本研究选题准确, 分析方法正确, 结论可靠, 对临床实践具有指导意义.

表 1 纳入研究的基本情况

纳入研究	纳入患者 (n)		男女比例		平均年龄 (岁)		疗程 (d)	诊断标准	干预措施		结局指标
	治疗组	对照组	治疗组 (男/女)	对照组 (男/女)	治疗组	对照组			治疗组	对照组	
何思民等 <sup>[8]</sup>	42	42	未提	未提	未提	未提	5-7	引自	施他宁6 mg+生理盐水500 mL持续静脉滴注+常规治疗	常规治疗	肛门恢复排气时间、胃肠减压量、腹胀腹痛消失时间和中转手术率等
赵素珍 <sup>[17]</sup>	15	15	未提	未提	未提	未提	3-12	自拟	施他宁6 mg+0.9%氯化钠注射液100 mL微泵静脉维持24 h+常规治疗	常规治疗	腹痛、腹胀缓解率, 肛门恢复排气、排便比率, 胃肠减压量, 住院时间, 中转手术例数等
张普元 <sup>[16]</sup>	23	19	未提	未提	未提	未提	未提	自拟	施他宁6 mg, 每天持续24 h静脉输注+常规治疗	常规治疗	出现肛门排气时间、腹胀消失时间、肠鸣音恢复时间等
黄庆兴等 <sup>[9]</sup>	30	28	未提	未提	未提	未提	3-12	自拟	思他宁每天6 mg静脉滴注+常规治疗	常规治疗	腹痛、腹胀缓解率, 恢复肛门排气率, 恶心、呕吐缓解率, 胃肠减压量等
段凌等 <sup>[7]</sup>	30	30	19/11	17/13	46 ± 18	45 ± 19	3-5	自拟	生长抑素6 mg+生理盐水50 mL以2 mL/h的速度持续用微量泵泵入+常规治疗	常规治疗	住院时间、肛门排气时间、腹胀消失时间、腹痛消失时间、胃肠减压引流量、中转手术例数等
王颖彦等 <sup>[12]</sup>	33	27	22/11	19/8	81 ± 6	82 ± 5	3	未提	思他宁6 mg+生理盐水500 mL持续静脉滴注+常规治疗	常规治疗	治疗前后腹痛、腹胀、恶心、呕吐、停止排气、排便例数, 治愈、缓解例数, 中转手术例数
谢昭雄等 <sup>[14]</sup>	33	31	19/14	18/13	48.8	46.2	3	未提	思他宁6 mg/d静脉微泵滴注+常规治疗	常规治疗	腹痛、腹胀缓解率, 恢复肛门排气、排便比率, 胃肠减压量等
唐毓林等 <sup>[11]</sup>	15	14	未提	未提	未提	未提	3-14	自拟	施他宁6 mg/d静脉微泵持续输入+常规治疗	常规治疗	肛门排气时间、腹胀消失时间、腹痛消失时间、胃肠减压量等
杨明利等 <sup>[5]</sup>	30	30	22/8	21/9	54.7 ± 7	55.7 ± 8	未提	未提	施他宁3 mg+生理盐水500 mL用输液泵24 h均匀静脉滴注+常规治疗	常规治疗	胃肠积存量、肛门排气时间、平均症状缓解时间和平均住院时间等
吴俊东等 <sup>[13]</sup>	32	30	21/11	21/9	57.1	54.9	3-12	自拟	思他宁每天6 mg静脉滴注+常规治疗	常规治疗	治疗前后腹痛、腹胀缓解例数, 停止排气, 排便例数, 胃肠减压量等
曾永明等 <sup>[5]</sup>	38	40	25/13	27/13	57.7 ± 11.8	50.9 ± 12.3	平均4.8	未提	思他宁6 mg+生理盐水500 mL静脉滴注+常规治疗	常规治疗	腹痛、腹胀改善例数, 胃肠减压量, 住院时间等
陈庆永等 <sup>[6]</sup>	33	30	未提	未提	未提	未提	3-17	引自	施他宁3 mg/12 h静脉微泵持续输入+常规治疗	常规治疗	胃肠减压量、平均住院时间、腹胀症状缓解情况等
彭宝岗等 <sup>[10]</sup>	81	81	52/29	48/33	49 ± 16	48 ± 17	2-12	自拟	思他宁6 mg+生理盐水500 mL静脉滴注+常规治疗	常规治疗	治疗前后腹痛、腹胀、恶心、呕吐、停止排气、排便例数, 胃肠减压量及中转手术率等

表 2 纳入研究的质量评价

纳入研究	随机方法	分配隐藏	盲法	退出或失访	ITT分析
何思民等 <sup>[8]</sup>	未描述	未提及	未提及	无	否
赵素珍 <sup>[17]</sup>	未描述	未提及	未提及	无	否
张普元 <sup>[16]</sup>	未描述	未提及	未提及	无	否
黄庆兴等 <sup>[9]</sup>	未描述	未提及	未提及	无	否
段凌等 <sup>[7]</sup>	入院次序	未提及	未提及	无	否
王颖彦等 <sup>[12]</sup>	未描述	未提及	未提及	无	否
谢昭雄等 <sup>[14]</sup>	未描述	未提及	未提及	无	否
唐毓林等 <sup>[11]</sup>	未描述	未提及	未提及	无	否
杨明利等 <sup>[15]</sup>	未描述	未提及	未提及	无	否
吴俊东等 <sup>[13]</sup>	未描述	未提及	未提及	无	否
曾永明等 <sup>[5]</sup>	未描述	未提及	未提及	无	否
陈庆永等 <sup>[6]</sup>	未描述	未提及	双盲	无	否
彭宝岗等 <sup>[10]</sup>	未描述	未提及	未提及	无	否

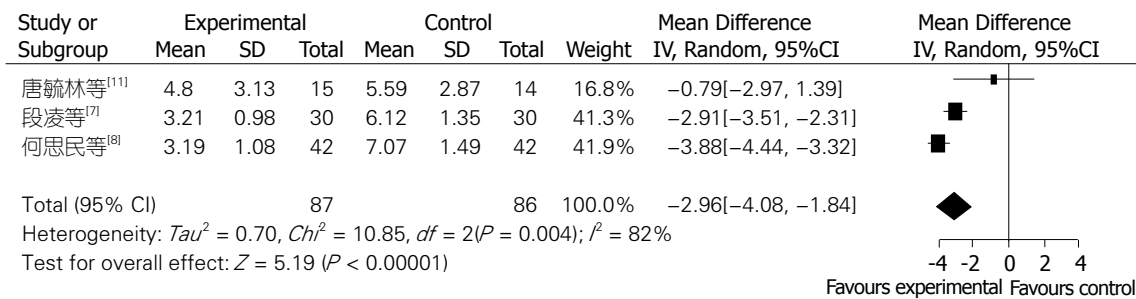


图 1 治疗后两组腹痛消失时间比较的Meta分析.

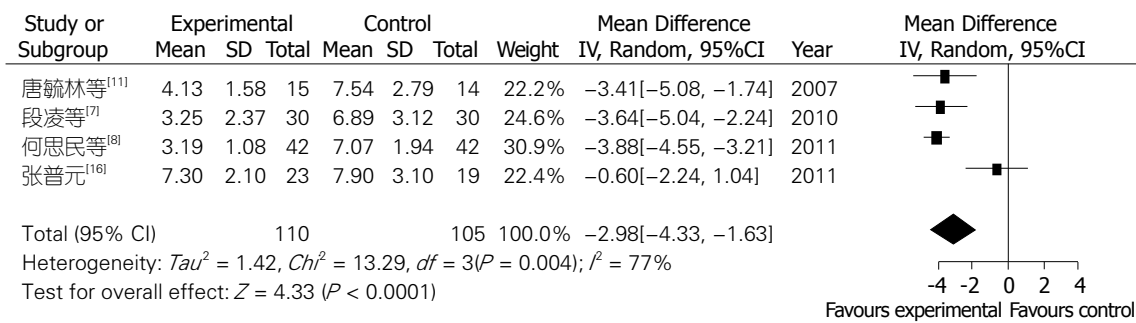


图 2 治疗后两组腹胀消失时间比较的Meta分析.

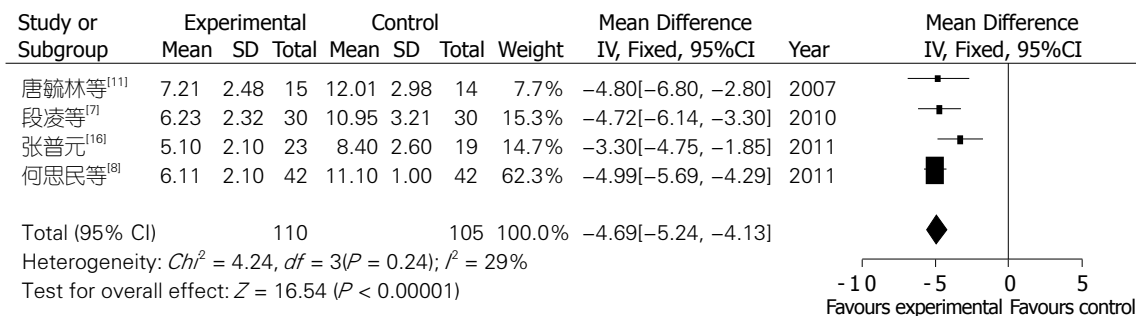


图 3 治疗后两组肛门恢复排气时间比较的Meta分析.

腔内细菌在缺氧情况下大量繁殖, 更加重了产气和积液, 肠内压增加最终可导致肠坏死、穿

孔、继发感染并出现休克<sup>[18]</sup>. 生长抑素是一种含有14个氨基酸的环状肽类激素, 对胃肠道中消



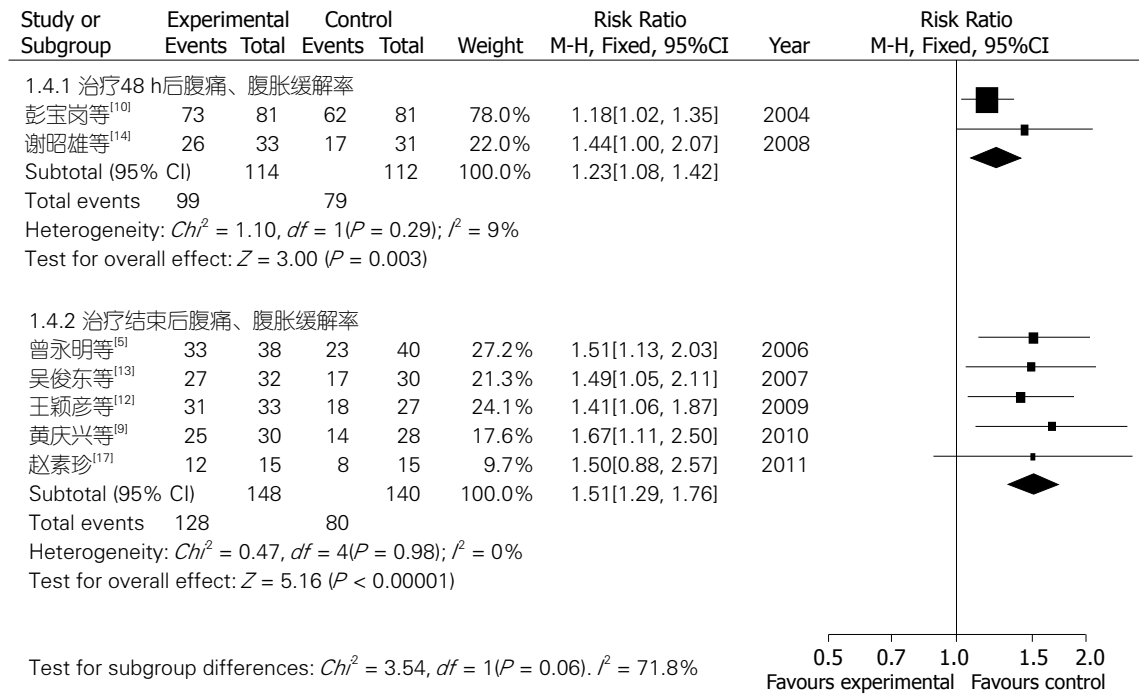


图 4 治疗后两组腹痛腹胀缓解率比较的Meta分析.

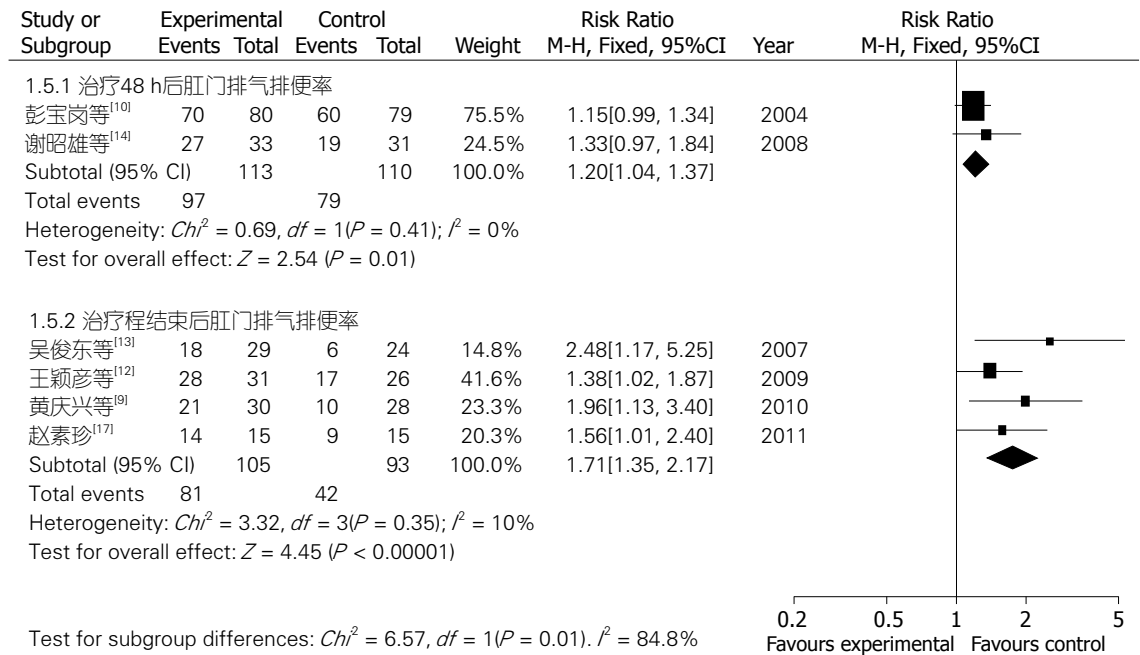


图 5 治疗后两组肛门恢复排气排便率比较的Meta分析.

化液的分泌抑制作用明显, 可抑制胃酸与多种胃肠、胰腺激素的分泌, 在肠外静脉营养等常规治疗基础上联合生长抑素, 可使消化液分泌量减少90%, 有利于肠壁血液循环的恢复, 加速炎症消退<sup>[19]</sup>. Gong等<sup>[20]</sup>研究证实, 生长抑素对胃肠、胰腺及胆汁的分泌具有广泛抑制作用, 可增加肠管的吸收功能, 减少肠内液体的滞留, 减轻肠管扩张与坏死, 促进其再通, 因此可用于肠

梗阻的治疗.

本系统评价共纳入13个研究, Meta分析结果显示: 生长抑素联合常规治疗与单纯常规治疗肠梗阻比较, 能缩短腹痛腹胀消失时间、肛门恢复排气时间、平均住院时间, 降低中转手术率、减少胃肠减压量, 增加腹痛腹胀缓解率、肛门恢复排气排便率, 彭宝岗、谢昭雄虽然观察了腹痛腹胀缓解率、肛门恢复排气排便率,

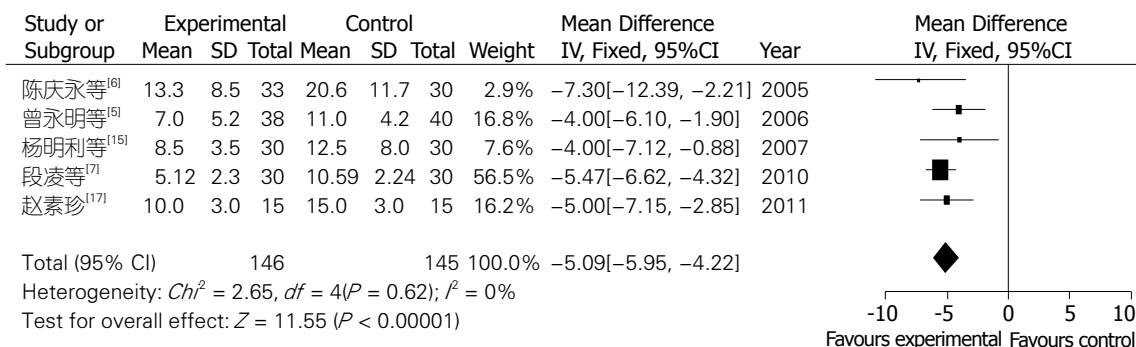


图 6 治疗后两组平均住院时间比较的Meta分析.

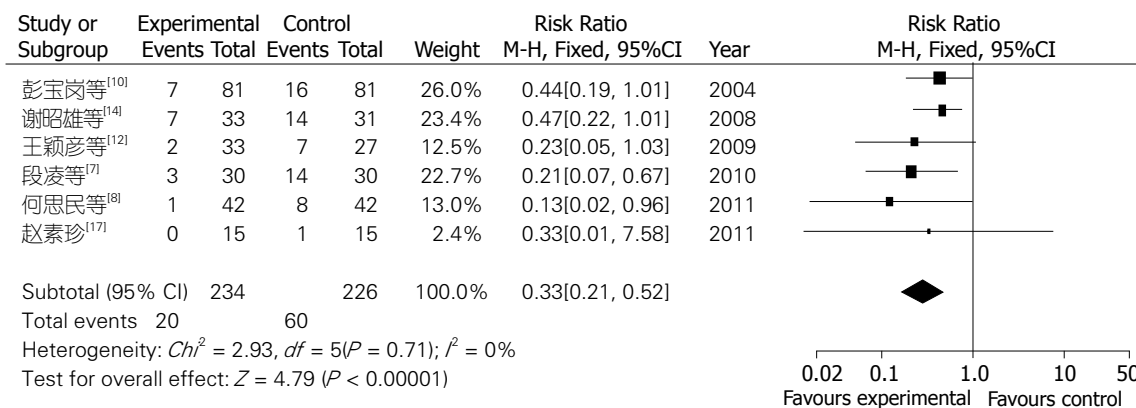


图 7 治疗后两组中转手术率比较的Meta分析.

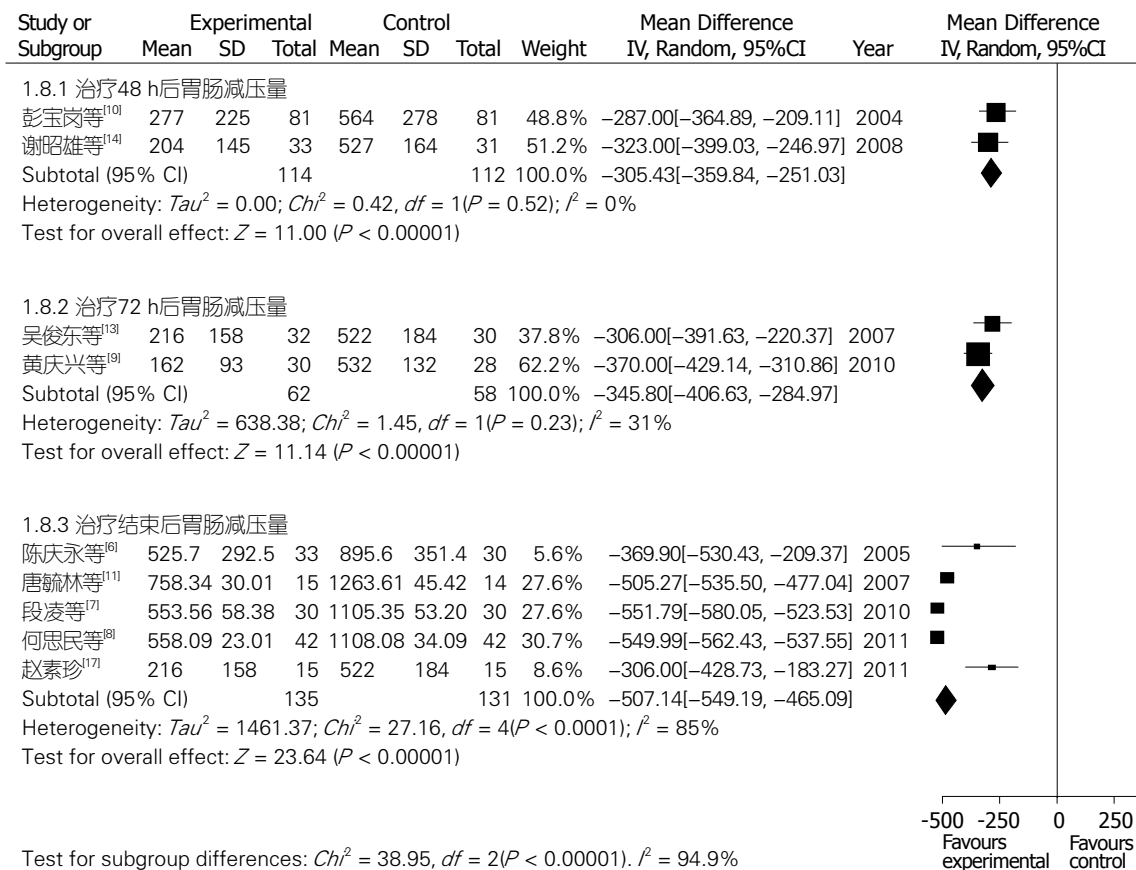


图 8 治疗后两组胃肠减压量比较的Meta分析.

彭宝岗、谢昭雄、黄庆兴、吴俊东观察了胃肠减压引流量,但观察周期不同,故将其分组分别分析,因此,在某种程度上降低了其论证强度。建议采用国际通用的“CONSORT”,详细地描述研究的实施过程,同时采用国际通用的疗效量表和终点测量指标。

所纳入的13个研究中,只有一个研究<sup>[7]</sup>描述了具体的随机方法,且随机方法不充分,其余研究只出现了“随机”字样,无法判断随机方法是否准确。所有研究未提及分配隐藏,因此存在选择性偏倚的可能性,只有一个研究<sup>[6]</sup>采用双盲,其余文献未提及盲法,因此可能存在实施偏倚和测量偏倚。13个研究所观察病例的原发疾病并不完全相同,在诊断标准方面,有7个研究<sup>[7,9-11,13,16,17]</sup>自拟诊断标准,1个研究<sup>[6]</sup>引自Frykberg等<sup>[21]</sup>的诊断标准,1个研究<sup>[8]</sup>引自Szomstein等<sup>[22]</sup>的诊断标准,4个研究<sup>[5,12,14,15]</sup>未提及诊断标准。一个研究<sup>[12]</sup>的研究对象为老年患者,由于纳入文献中患者年龄、肠梗阻病因及其严重程度存在差异,各研究临床异质性较大,所纳入研究的基线可比性较差,将会影响结果的可靠性。

总之,当前研究结果表明,生长抑素对肠梗阻的治疗效果显著,但由于纳入研究质量较低,样本量较小,有必要进一步开展高质量、大样本临床随机对照试验对其疗效作进一步评价。

#### 4 参考文献

- 1 Fevang BT, Fevang J, Stangeland L, Soreide O, Svanes K, Viste A. Complications and death after surgical treatment of small bowel obstruction: A 35-year institutional experience. *Ann Surg* 2000; 231: 529-537
- 2 Grotz MR, Deitch EA, Ding J, Xu D, Huang Q, Regel G. Intestinal cytokine response after gut ischemia: role of gut barrier failure. *Ann Surg* 1999; 229: 478-486
- 3 Strowski MZ, Parmar RM, Blake AD, Schaeffer JM. Somatostatin inhibits insulin and glucagon secretion via two receptors subtypes: an in vitro study of pancreatic islets from somatostatin receptor 2 knockout mice. *Endocrinology* 2000; 141: 111-117

- 4 Higgins JPT, Green S, editors. *Cochrane Handbook for systematic Reviews of interventions version 5.0.0*. The Cochrane Collaboration, 2008. Available from: [www.cochrane-handbook.org](http://www.cochrane-handbook.org)
- 5 曾永明, 陈广灿, 李威, 吴宝安, 李欣欣. 生长抑素在肠梗阻治疗中的作用. *实用全科医学* 2006; 4: 258-259
- 6 陈庆永, 王春友, 蒋春舫, 郑海, 王琳芳, 方开锋. 施他宁在术后早期炎性肠梗阻治疗中的应用. *临床外科杂志* 2005; 13: 692-693
- 7 段凌, 潘志欣. 生长抑素在治疗急性肠梗阻中的应用. *中国医药导报* 2010; 7: 65-66
- 8 何思民, 巩兰波. 生长抑素在治疗肠梗阻中的临床疗效研究. *中国医药指南* 2011; 9: 79-80
- 9 黄庆兴, 曹爱红, 翟刚. 生长抑素联合全肠外营养治疗恶性肠梗阻疗效分析. *医学信息* 2010; 23: 3772-3773
- 10 彭宝岗, 梁力建, 胡文杰, 王捷, 黄敏菁, 郑凯, 张卓军, 李威. 生长抑素治疗肠梗阻的临床研究. *中华胃肠外科杂志* 2004; 7: 474-476
- 11 唐毓林, 叶海洪, 李振洪, 张涌泉, 甘雨. 生长抑素(施他宁)在结直肠术后早期炎性肠梗阻治疗中的应用. *结直肠肛门外科* 2007; 13: 291-293
- 12 王颖彦, 常瑞明, 林华. 思他宁对老年人不完全性肠梗阻的临床研究. *岭南急诊医学杂志* 2009; 14: 291-292
- 13 吴俊东, 庄业忠, 黄文河, 黄棉生, 王伟峰, 许慕明. 思他宁在胃肠道肿瘤所致恶性肠梗阻非手术治疗中的应用. *实用癌症杂志* 2007; 22: 188-190
- 14 谢昭雄, 孙卫江, 许国平, 黄振添, 叶绍光. 生长抑素加全胃肠外营养在低位恶性肠梗阻治疗中的应用体会. *医学综述* 2008; 14: 2523-2524
- 15 杨明利, 潘凯, 夏利刚, 钟克力, 汪迎, 胡海军. 施他宁在急性肠梗阻非手术治疗中的应用. *中国普通外科杂志* 2007; 16: 398-399
- 16 张普元. 生长抑素对术后早期炎性肠梗阻的治疗作用. *白求恩医学院学报* 2011; 9: 188-189
- 17 赵素珍. 施他宁治疗恶性肠梗阻30例疗效观察. *实用临床医药杂志* 2011; 15: 110-111
- 18 Ripamonti CI, Easson AM, Gerdes H. Management of malignant bowel obstruction. *Eur J Cancer* 2008; 44: 1105-1115
- 19 黎介寿, 任建安, 王新波, 顾军, 姜军. 生长抑素与生长激素促进肠外瘘自愈的机理与临床研究. *中华外科杂志* 2000; 38: 447-450
- 20 Gong AY, Tietz PS, Muff MA, Splinter PL, Huebert RC, Strowski MZ, Chen XM, LaRusso NF. Somatostatin stimulates ductal bile absorption and inhibits ductal bile secretion in mice via SSTR2 on cholangiocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; 284: C1205-C1214
- 21 Frykberg ER, Phillips JW. Obstruction of the small bowel in the early postoperative period. *South Med J* 1989; 82: 169-173
- 22 Szomstein S, Lo Menzo E, Simpfendorfer C, Zundel N, Rosenthal RJ. Laparoscopic lysis of adhesions. *World J Surg* 2006; 30: 535-540

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

# 白介素-10基因多态性与肠易激综合征易感性关系的Meta分析

范尧夫, 刘皓, 吴燕敏, 魏睦新

范尧夫, 刘皓, 魏睦新, 南京医科大学第一附属医院 江苏省南京市 210029  
吴燕敏, 无锡市第三人民医院 江苏省无锡市 214041  
范尧夫, 硕士, 主要从事中西医结合治疗消化系统疾病的研究。  
江苏省中医药管理局基金资助项目, No. JD11040  
作者贡献分布: 此课题由范尧夫与魏睦新策划设计; 范尧夫、刘皓及吴燕敏负责资料收集、分析研究; 数据分析由范尧夫与刘皓完成; 本论文写作由范尧夫完成。  
通讯作者: 魏睦新, 教授, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院中医科. weimuxin@njmu.edu.cn  
电话: 025-83718836-6267  
收稿日期: 2012-05-21 修回日期: 2012-08-20  
接受日期: 2012-08-21 在线出版日期: 2012-09-18

## Association between interleukin-10 gene polymorphisms and susceptibility to irritable bowel syndrome: A meta-analysis

Yao-Fu Fan, Hao Liu, Yan-Min Wu, Mu-Xin Wei

Yao-Fu Fan, Hao Liu, Mu-Xin Wei, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China  
Yan-Min Wu, the Third People's Hospital of Wuxi, Wuxi 214041, Jiangsu Province, China  
Supported by: the Program of Jiangsu Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine, No. JD11040  
Correspondence to: Mu-Xin Wei, Professor, Department of Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. weimuxin@njmu.edu.cn  
Received: 2012-05-21 Revised: 2012-08-20  
Accepted: 2012-08-21 Published online: 2012-09-18

### Abstract

**AIM:** To investigate the association between interleukin-10 (IL-10) gene polymorphisms and genetic susceptibility to irritable bowel syndrome (IBS).

**METHODS:** Published work involving IBS from PubMed, EMBASE, Cochrane library in English and from China Academic Journal, Chinese Bio-Medical Literature Database, Wanfang Database in Chinese were searched for relevant articles. Correlation analysis was performed using RevMan 5.0.

**RESULTS:** Seven studies were finally accepted

for analysis. There were four studies focused on IL-10-592 polymorphism, four studies on IL-10-819 polymorphism, and seven studies on IL-10-1082 polymorphism. The odds ratio (OR) was 1.26 (95% CI: 1.03-1.54,  $P = 0.02$ ) for the -592 A allele, 1.67 (95% CI: 0.71-3.93,  $P = 0.24$ ) for -592 AA genotype, 1.24 (95% CI: 1.02-1.52,  $P = 0.03$ ) for the -819 T allele, 1.31 (95% CI: 0.59-2.91,  $P = 0.50$ ) for -819 TT genotype, 1.00 (95% CI: 0.86-1.17,  $P = 0.98$ ) for the -1082 G allele, and 0.68 (95% CI: 0.51-0.92,  $P = 0.01$ ) for -1082 GG genotype. Subgroup analysis showed that the OR of -1082 GG was 0.71 (95% CI: 0.52-0.97,  $P = 0.03$ ) in Western population, and 0.42 (95% CI: 0.13-1.31,  $P = 0.13$ ) in the Eastern population.

**CONCLUSION:** Our meta-analysis suggests that the -1082 GG genotype is a risk factor for IBS in Western people, and the -592 A allele and -819 T allele might be risk factors for IBS in Eastern people.

**Key Words:** Interleukin-10; Irritable bowel syndrome; Polymorphism; Meta-analysis

Fan YF, Liu H, Wu YM, Wei MX. Association between interleukin-10 gene polymorphisms and susceptibility to irritable bowel syndrome: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2519-2524

### 摘要

**目的:** 评价白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)基因多态性与肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)遗传易感性的关系。

**方法:** 检索PubMed、EMBASE数据库、Cochrane图书馆(1966/2011-12)、中国学术期刊全文数据库(CNKI)、中国生物医学文献数据库(CBM)、万方数据库(1979/2011-12)。应用RevMan 5.0对各研究结果进行异质性检验和效应值合并。

**结果:** 8篇文献被纳入分析, 其中涉及IL-10-592多态性的文献4篇、IL-10-819多态性的文献4篇、IL-10-1082多态性的文献7篇。-592位点

### 背景资料

肠易激综合征(IBS)是常见的慢性功能性胃肠道疾病之一, 目前对于IBS的病因和发病机制尚未完全明了, 其发生可能与精神心理因素、内脏高敏感性、胃肠动力异常、免疫异常、感染等多种因素有关。白介素-10的功能基因多态性可能影响宿主炎症反应强弱及炎症转归结果, 最终改变其罹患IBS的风险。

### 同行评议者

白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

## ■研究前沿

白介素-10(IL-10)作为体内免疫反应的重要调节因子,在肠道炎症反应中起重要作用,研究证明其与炎症性肠病特别是溃疡性结肠炎密切相关。

A等位基因的OR值为1.26, 95%CI: 1.03-1.54,  $P = 0.02$ ; -592位点AA型基因的OR值为1.67, 95%CI: 0.71-3.93,  $P = 0.24$ ; -819位点T等位基因的OR值为1.24, 95%CI: 1.02-1.52,  $P = 0.03$ ; -819位点TT型基因的OR值为1.31, 95%CI: 0.59-2.91,  $P = 0.50$ ; -1082位点G等位基因的OR值为1.00, 95%CI: 0.86-1.17,  $P = 0.98$ ; -1082位点GG型基因的OR值为0.68, 95%CI: 0.51-0.92,  $P = 0.01$ 。分层分析显示:西方人种-1082位点GG型基因的OR值为0.71, 95%CI: 0.52-0.97,  $P = 0.03$ ; 东方人种-1082位点GG型基因的OR值为0.42, 95%CI: 0.13-1.31,  $P = 0.13$ 。

**结论:**西方人种-1082位点GG型基因与IBS遗传易感性相关, -592位点A等位基因和-819位点T等位基因可能会增加东方人种患IBS的危险性。

**关键词:**白介素-10; 肠易激综合征; 基因多态性; Meta分析

范尧夫, 刘皓, 吴燕敏, 魏睦新. 白介素-10基因多态性与肠易激综合征易感性关系的Meta分析. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2519-2524

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2519.asp>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是常见的慢性功能性胃肠道疾病之一,全球总患病率大约为3%-25%<sup>[1]</sup>。目前对于IBS的病因和发病机制尚未完全明了,其发生可能与精神心理因素、内脏高敏感性、胃肠动力异常、免疫异常、感染等多种因素有关<sup>[2-4]</sup>。临床研究显示,在IBS患者回肠末端会发现增多的肥大细胞,一些溃疡性结肠炎的患者在缓解期时候会出现IBS样症状。细胞因子参与启动、调节炎症反应,其功能基因多态性影响宿主炎症反应强弱及炎症转归结果,最终改变其罹患IBS的风险,例如肿瘤坏死因子 $\alpha$ 和干扰素 $\gamma$ 可以促进炎症的生成,而白介素10(interleukin 10, IL-10)、转化生长因子 $\beta$ 具有抗炎作用。Lee等<sup>[5]</sup>对韩国人群研究认为IL-10-1082位点GG基因型与IBS易感性无关,但是Gonsalkorale等<sup>[6]</sup>对英国人群研究表明IL-10-1082位点GG基因型与IBS易感性有关。相同的基因位点,不同的研究结论可能与样本量大小、环境因素及种族遗传变异有关,为更好地评价IL-10的多态性与IBS易感性的关系,本研究采用Meta分析法,针对IBS与IL-10的基因多态性的关系,对以往的资料进行分析,以期得到科学可信的结论,并指导更深入的研究。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 检索PubMed、EMBASE数据库、Cochrane图书馆(1966/2011-12)、中国学术期刊全文数据库(CNKI)、中国生物医学文献数据库(CBM)、万方数据库(1979/2011-12)。英文检索以“Interleukin 10”、“IL-10”、“Irritable Bowel Syndrome”、“IBS”、“polymorphism”、“SNP”为主题词或关键词结合自由词并列检索,中文检索以“白细胞-10”“肠易激综合征或肠易激”、“多态性”为主题词或关键词结合自由词并列检索,并且追查纳入文献的参考文献。

### 1.2 方法

**1.2.1 纳入标准:**(1)以论著形式发表的病例对照研究;(2)必须有肠易激综合征组和对照组;(3)样本含量有明确说明,可获得等位基因频率和(或)基因型频率的数据,各文献有综合的统计指标;(4)检测多态性位点的实验方法科学严谨;(5)文献中等位基因分布频率符合Hardy-Weinberg(H-W)遗传平衡定律。排除没有足够数据可供提取的文献,排除非中文和英文文献,相同研究重复发表的仅纳入最近文献。

**1.2.2 数据提取:**由2位研究者独立阅读文题、摘要,排除明显不符合纳入标准的试验后,对可能符合纳入标准的试验进一步阅读全文,以确定是否真正符合纳入标准,并交叉核对,对于难以确定是否纳入的试验,通过讨论解决分歧。数据提取由2位研究者独立完成。

**统计学处理** 采用Cochrane协作网提供的ReviewManager 5软件包进行Meta分析。对各研究的两组OR值进行异质性检验。当试验结果出现显著异质性( $P < 0.05$ )时,则使用随机效应模型;当试验结果无异质性( $P > 0.05$ )时,则使用固定效应模型。

## 2 结果

**2.1 文献检索结果** 检索到PubMed、EMBASE、Cochrane图书馆英文文献15篇,万方、中国生物医学文献数据库中文文献5篇,共计文献20篇,通过各数据库获取全文。英文文献剔除2篇重复发表、4篇基因型频率等资料不全、1篇因语言不通的韩国语文献,剔除3篇功能性消化不良结果合并统计,最终纳入统计文献5篇;中文文献剔除资料相同并在英文数据库和中文数据库重复发表的文献4篇,最终纳入统计文献3篇。其中1篇<sup>[7]</sup>关于IL-10-592位点多态性与IBS易感性的



表 1 纳入病例对照研究的一般情况

纳入文献	年份	地区	基因分型法	IBS诊断标准	病例总数( <i>n</i> )	对照总数( <i>n</i> )	对照来源
Lee等 <sup>[5]</sup>	2010	Korean(E)	PCR-RFLP	Rome III	94	88	一般人群
Gonsalkorale等 <sup>[6]</sup>	2003	England(W)	ARMS-PCR	Rome I	230	450	健康志愿者
姜英杰等 <sup>[7]</sup>	2010	中国(E)	PCR-RFLP	Rome III	312	325	健康志愿者
王邦茂等 <sup>[8]</sup>	2006	中国(E)	ARMS-PCR	Rome II	43	41	一般人群
Elham等 <sup>[9]</sup>	2010	Iran(E)	PCR-SSP	Rome III	65	140	临床病例
Santhosh等 <sup>[10]</sup>	2010	Indian(E)	PCR-SSP	Rome II	23	20	健康志愿者
Patrick等 <sup>[11]</sup>	2005	Netherland(W)	PCR-RFLP	Rome II	111	162	临床病例

## ■ 相关报道

Lee等对韩国人群研究认为IL-10-1082位点GG基因型与IBS易感性无关,但是Gonsalkorale等对英国人群研究表明IL-10-1082位点GG基因型与IBS易感性有关。

表 2 IL-10-592位点各基因型分布情况 (*n*)

纳入文献	AA基因型		AC基因型		CC基因型		等位基因A		等位基因C	
	病例	对照	病例	对照	病例	对照	病例	对照	病例	对照
姜英杰等 <sup>[7]</sup>	175	150	104	148	33	27	454	448	170	202
王邦茂等 <sup>[8]</sup>	29	16	10	18	4	7	68	50	18	32
Elham等 <sup>[9]</sup>	1	12	34	57	30	71	36	81	94	199
Santhosh等 <sup>[10]</sup>	7	2	12	11	4	7	26	15	20	25

表 3 IL-10-819位点各基因型分布情况 (*n*)

纳入文献	CC基因型		CT基因型		TT基因型		等位基因C		等位基因T	
	病例	对照	病例	对照	病例	对照	病例	对照	病例	对照
王邦茂等 <sup>[8]</sup>	4	7	10	18	29	16	18	32	68	50
Elham等 <sup>[9]</sup>	31	71	34	57	1	12	96	199	36	81
Santhosh等 <sup>[10]</sup>	3	5	14	9	6	6	20	19	26	21
纪昌林等 <sup>[12]</sup>	32	25	121	143	160	113	185	193	441	369

表 4 IL-10-1082位点各基因型分布情况 (*n*)

纳入文献	GG基因型		GA基因型		AA基因型		等位基因G		等位基因A	
	病例	对照	病例	对照	病例	对照	病例	对照	病例	对照
王邦茂等 <sup>[8]</sup>	0	0	4	5	39	36	4	5	82	77
Elham等 <sup>[9]</sup>	2	12	52	75	12	53	56	99	76	181
Santhosh等 <sup>[10]</sup>	0	0	4	3	19	17	4	3	42	37
Gonsalkorale等 <sup>[6]</sup>	49	135	121	168	60	122	219	438	241	412
Lee等 <sup>[5]</sup>	1	0	16	17	78	70	18	17	172	157
Patrick等 <sup>[11]</sup>	29	45	57	83	25	34	115	173	107	151

分析, 3篇<sup>[8-10]</sup>同时研究IL-10-592、-819、-1082位点多态性与IBS易感性的分析, 3篇<sup>[5,6,11]</sup>关于IL-10-1082位点多态性与IBS易感性的分析, 1篇<sup>[12]</sup>关于IL-10-819、-1082位点多态性与IBS易感性的分析. 总计纳入文献8篇, 共有IBS患者1191例, 其中东方人种850例, 西方人种341例. 纳入对照的人群1507例(名), 其中东方人895例(名), 西方人612例(名). 被纳入Meta分析的文献中数据的描述见表1.

2.2 各位点基因型分布 每组病例对照研究中各位点基因型分布分别见表2-4.

2.3 各组病例对照位点基因频率分析结果

2.3.1 IL-10-592位点基因型频率分析: 有4篇文献研究了该位点. 对于位点AA与CC+AC的比较, 异质性检验结果 $I^2 = 64\%$ ,  $P = 0.04$ , 采用随机效应模型进行Meta分析; 对于等位基因A:C的比较, 异质性检验结果 $I^2 = 55\%$ ,  $P = 0.08$ , 采用固定效应模型进行Meta分析, 结果见图1. IL-10-592

## ■ 创新盘点

近年来,有大量关于IL-10基因多态性与IBS易感性的关系的研究,但结论不一致,所以本文进行此研究,分析IL-10基因多态性与IBS易感性的关系。

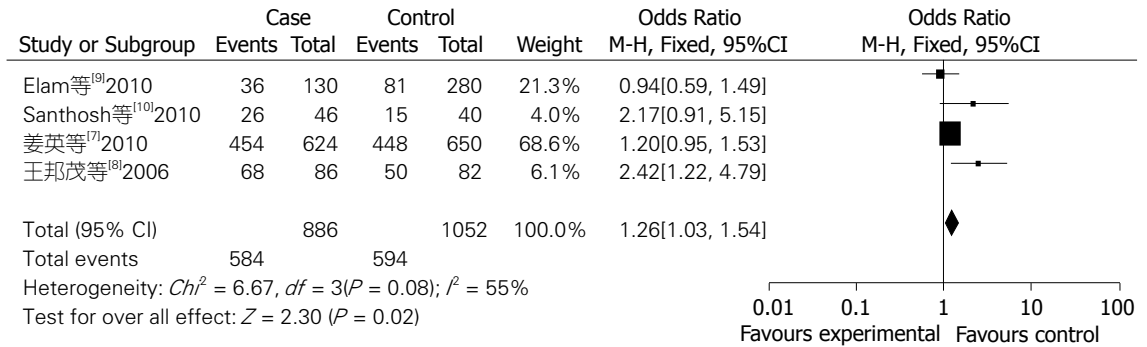


图 1 IL-10-592位点等位基因A与IBS遗传易感性的关系。

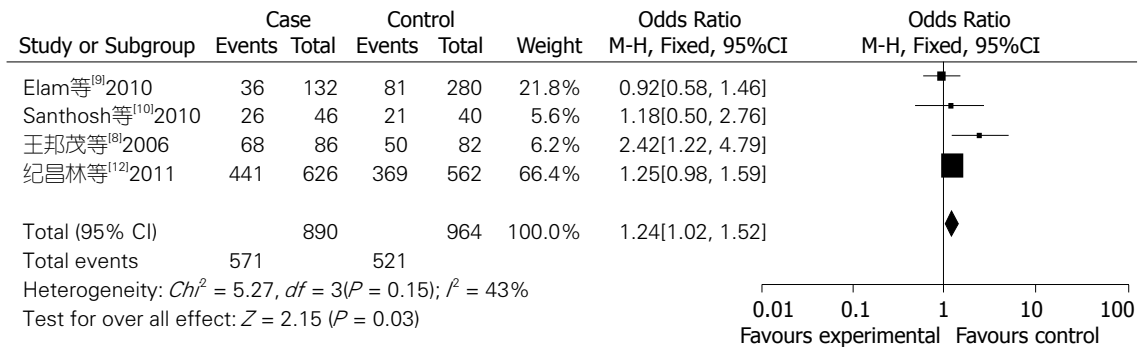


图 2 IL-10-819位点等位基因T与IBS遗传易感性的关系。

位点AA型基因的OR值为1.67, 95%CI: 0.71-3.93,  $P = 0.24$ ; IL-10-592位点A等位基因的OR值为1.26, 95%CI: 1.03-1.54,  $P = 0.02$ 。分析结果显示, -592位点A等位基因与IBS遗传易感性有关, 而AA型基因与IBS遗传易感性无关。

2.3.2 IL-10-819位点基因型频率分析: 有4篇文章研究了该位点。对于位点TT与CC+TC的比较, 异质性检验结果 $I^2 = 63\%$ ,  $P = 0.04$ , 采用随机效应模型进行Meta分析; 对于等位基因T:C的比较, 异质性检验结果 $I^2 = 43\%$ ,  $P = 0.15$ , 采用固定效应模型进行Meta分析, 结果见图2。IL-10-819位点TT型基因的OR值为1.31, 95%CI: 0.59-2.91,  $P = 0.50$ ; IL-10-819位点T等位基因的OR值为1.26, 95%CI: 1.03-1.54,  $P = 0.02$ 。分析结果显示, -819位点T等位基因与IBS遗传易感性有关, 而TT型基因与IBS遗传易感性无关。

2.3.3 IL-10-1082位点基因型频率分析: 有7篇文章研究了该位点。对于位点GG与AA+GA的比较, 异质性检验结果 $I^2 = 0\%$ ,  $P = 0.45$ , 采用固定效应模型进行Meta分析, 结果见图3; 对于等位基因G:A的比较, 异质性检验结果 $I^2 = 0\%$ ,  $P = 0.88$ , 采用固定效应模型进行Meta分析。IL-10-1082位点GG型基因的OR值为0.68, 95%CI: 0.51-0.92,  $P = 0.01$ ; IL-10-819位点G等位基因的OR值为1.00, 95%CI: 0.86-1.17,  $P = 0.98$ 。

分析结果显示, -1082位点GG型基因与IBS遗传易感性有关。

2.3.4 不同人种IL-10-1082位点基因多态性与IBS遗传易感性之间的关系: 考虑人种间存在遗传背景差异, 按人种分层进行亚组分析, 分为东方人种和西方人种。西方人种-1082位点GG型基因的OR值为0.71, 95%CI: 0.52-0.97,  $P = 0.03$ ; 东方人种-1082位点GG型基因的OR值为0.42, 95%CI: 0.13-1.31,  $P = 0.13$ 。结果显示: 西方人种-1082位点GG型基因与IBS遗传易感性相关, 而东方人种可认为-1082位点GG型基因与IBS遗传易感性无关(图4, 5)。

2.4 文献发表偏倚分析 对-592位点和-819位点的文献发表进行分析, 分别以A:C、T:C的OR值为横坐标, OR值自然对数的标准差为纵坐标, 绘制倒漏斗图, 可以发现图形显示左右不对称, 提示检索文献存在发表性偏倚。对于-1082位点所有文献进行分析, 发现图形左右对称, 提示文献不存在发表偏倚。

### 3 讨论

几十年来, 人们对于IBS的病因和发病机理的研究主要从胃肠运动、感觉、炎症、免疫、激素及心理等方面着手, 但几乎没有一种单一的疾病机理能够完全解释IBS所有的临床表现。目前

**应用要点**  
相同的基因位点, 不同的研究结论可能与样本量大小、环境因素及种族遗传变异有关。本文将IL-10与IBS的功能基因多态性文章进行荟萃分析, 为以后科研和临床研究提供一定的思路。

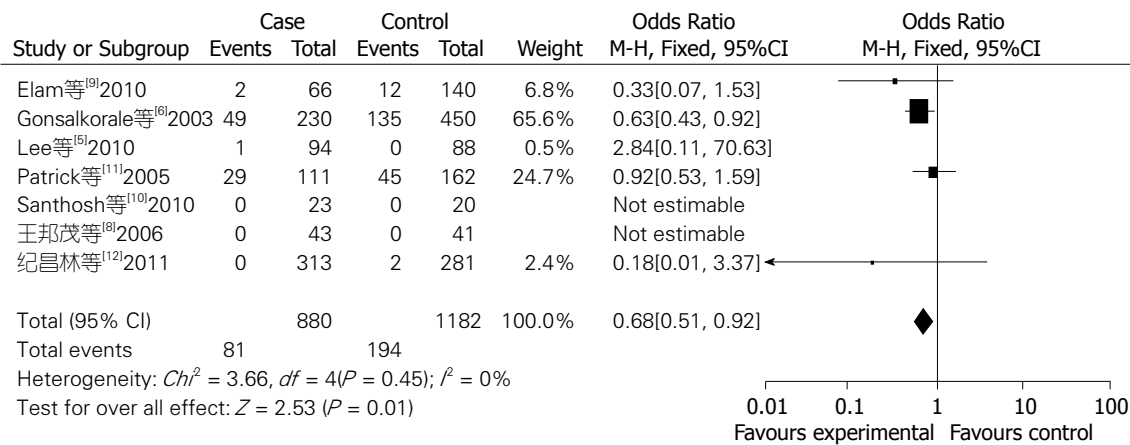


图 3 IL-10-1082位点GG型基因与IBS遗传易感性的关系。

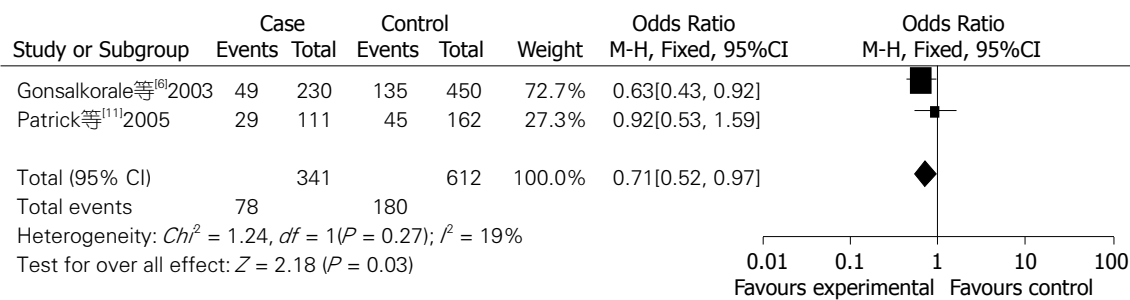


图 4 西方人种IL-10-1082位点GG型基因与IBS遗传易感性的关系。

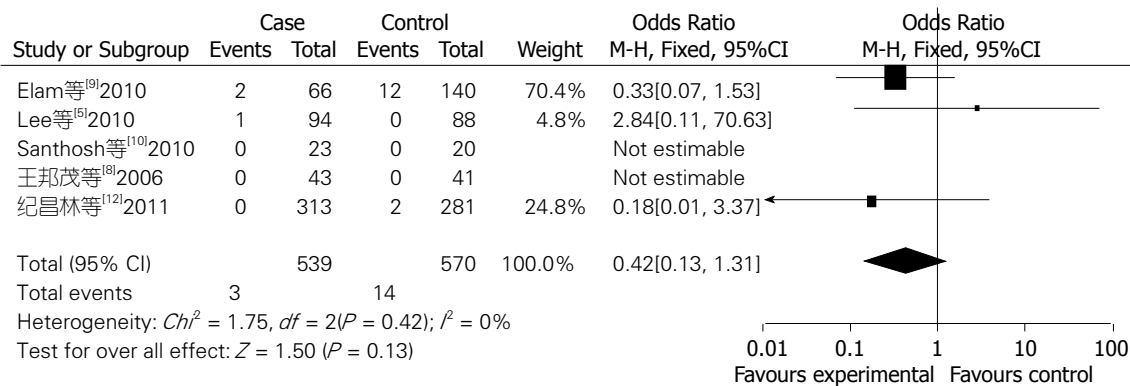


图 5 东方人种IL-10-1082位点GG型基因与IBS遗传易感性的关系。

认为该病可能是多因素综合作用的结果, 炎症及黏膜免疫系统激活可能起重要作用<sup>[13]</sup>. 流行病学研究发现部分急性胃肠道感染患者在感染缓解后会发生IBS样症状, 在这类患者的肠黏膜中就存在这种轻微炎症<sup>[14]</sup>. 而IBS患者肠黏膜中这些持续存在的轻微炎症可能与内脏高敏感性的病理生理有关. 近来研究表明遗传因素可能起一定作用, 部分患者可能存在促炎性和抑炎性细胞因子合成失衡的遗传因素.

IL-10作为体内免疫反应的重要调节因子, 在肠道炎症反应中起重要作用. IL-10基因位于第一号染色体上, 1q31-1q32区域, 为47 kDa基

因片段, 研究显示IL-10启动子区域存在多态性. -1082、-819及-592位点的多态性与IL-10的产量有关. IL-10基因的-1082(A/A)及-819(T/T)基因型, 可致IL-10细胞因子分泌量少, 与炎症性肠病特别是溃疡性结肠炎密切相关<sup>[15]</sup>. 近年来, 大量的关于IL-10基因多态性与IBS易感性的关系的研究, 但结论不一致, 所以本文进行此研究, 分析IL-10基因多态性与IBS易感性的关系.

我们分析得出, IBS患者IL-10-592位点A等位基因和IL-10-819位点T等位基因频率明显高于对照组, 患者-592位点携带A等位基因和-819位点携带T等位基因的个体比不携带该基因的

### 同行评价

本文设计合理, 具有一定的参考价值。

个体罹患IBS危险性高。原因可能是A等位基因和T等位基因抑制了IL-10的生成, 由于IL-10是患者肠道炎症的保护因素, 所以导致肠道黏膜炎症持续存在, 低产量型(等位基因A)可能会更易患IBS。以往研究显示: 东方人群的-1082位点G等位基因频率(2.5%)较爱尔兰、墨西哥等西方人群(34.8%-57.5%)显著低。我们的分层分析结果表明, 西方人种-1082位点GG型基因与IBS遗传易感性相关, 东方人种-1082位点基因多态性与IBS遗传易感性不相关。这与以上结论比较相符合, 说明不同人种某些参与炎症反应的细胞因子基因多态性分布不同, 等位基因的频率也不尽相同。

IBS是一种多因素、多阶段发展的疾病, IL-10只是诸多易感因素之一, 而且此次Meta分析是在总结以往发表的文献基础上进行分析, 由于受到不少条件的限制, 在进行分析时每一步骤都有可能产生偏倚。同时RevMan 5.0用于Meta分析尚存许多不足: 首先, 由于数据不完整的文献不易被发表, 许多相关研究不能被纳入; 其次, 由于某些结果变量数据的缺失不能进行详细的亚组分析。本研究结果显示: 西方人种-1082位点GG型基因与IBS遗传易感性相关, -592位点A等位基因和-819位点T等位基因可能会增加东方人种患IBS的危险性。本研究需要更大样本量、更多地区参与以及更高质量的研究来进一步证实。

### 4 参考文献

- Cremonini F, Talley NJ. Irritable bowel syndrome: epidemiology, natural history, health care seeking and emerging risk factors. *Gastroenterol Clin North Am* 2005; 34: 189-204
- Haahr S, Höllsberg P. Multiple sclerosis is linked to Epstein-Barr virus infection. *Rev Med Virol* 2006; 16: 297-310
- Kasahara Y, Yachie A. Cell type specific infection of Epstein-Barr virus (EBV) in EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis and chronic active EBV infection. *Crit Rev Oncol Hematol* 2002; 44: 283-294
- Middeldorp JM, Pegtel DM. Multiple roles of LMP1 in Epstein-Barr virus induced immune escape. *Semin Cancer Biol* 2008; 18: 388-396
- Lee HJ, Lee SY, Choi JE, Kim JH, Sung IK, Park HS, Jin CJ. G protein beta3 subunit, interleukin-10, and tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms in Koreans with irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 758-763
- Gonsalkorale WM, Perrey C, Pravica V, Whorwell PJ, Hutchinson IV. Interleukin 10 genotypes in irritable bowel syndrome: evidence for an inflammatory component? *Gut* 2003; 52: 91-93
- 姜英杰, 聂玉强, 赖晓波. IL-10启动子-592基因多态性与肠易激综合征的关系. *现代医院* 2010; 10: 8-10
- 王邦茂, 蒋晓忠, 杨玉龙, 刘文天, 曹晓沧, 赵晓志. 腹泻型肠易激综合征患者中IL-10基因多态性的研究. *中华内科杂志* 2006; 45: 289-292
- Barkhordari E, Rezaei N, Mahmoudi M, Larki P, Ahmadi-Ashtiani HR, Ansaripour B, Alighardashi M, Bashashati M, Amirzargar AA, Ebrahimi-Daryani N. T-helper 1, T-helper 2, and T-regulatory cytokines gene polymorphisms in irritable bowel syndrome. *Inflammation* 2010; 33: 281-286
- Santhosh S, Dutta AK, Samuel P, Joseph AJ, Ashok Kumar J, Kurian G. Cytokine gene polymorphisms in irritable bowel syndrome in Indian population—a pilot case control study. *Trop Gastroenterol* 2010; 31: 30-33
- van der Veek PP, van den Berg M, de Kroon YE, Verspaget HW, Masclee AA. Role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 gene polymorphisms in irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2510-2516
- 纪昌林, 聂玉强, 姜英杰. 白细胞介素-10启动子-1082和-819位点基因多态性与肠易激综合征的关系. *中华消化杂志* 2011; 31: 669-672
- Chadwick VS, Chen W, Shu D, Paulus B, Bethwaite P, Tie A, Wilson I. Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002; 122: 1778-1783
- Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, Hebden JM, Wright T, Skinner M, Neal KR. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute Campylobacter enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000; 47: 804-811
- Hoffmann SC, Stanley EM, Darrin Cox E, Craighead N, DiMercurio BS, Koziol DE, Harlan DM, Kirk AD, Blair PJ. Association of cytokine polymorphic inheritance and in vitro cytokine production in anti-CD3/CD28-stimulated peripheral blood lymphocytes. *Transplantation* 2001; 72: 1444-1450

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

# 转移性结直肠癌治疗中贝伐单抗相关性高血压的发生及意义

杨琳, 蒋月强, 梅齐, 陈元

杨琳, 梅齐, 陈元, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤科 湖北省武汉市 430030  
蒋月强, 华中科技大学同济医学院附属同济医院老年科 湖北省武汉市 430030  
杨琳, 博士, 主治医师, 主要从事恶性肿瘤综合治疗。湖北省自然科学基金资助项目, No. 2011CDB213  
作者贡献分布: 此课题由杨琳与陈元设计; 研究过程由杨琳、蒋月强及梅齐操作完成; 研究所用分析软件由杨琳提供; 数据分析由杨琳与蒋月强完成; 本论文写作由杨琳、梅齐及陈元完成。  
通讯作者: 陈元, 教授, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤科。  
chenyuan008@163.com  
电话: 027-83663407  
收稿日期: 2012-07-09 修回日期: 2012-08-18  
接受日期: 2012-09-03 在线出版日期: 2012-09-18

## Bevacizumab-induced hypertension in patients with metastatic colorectal cancer: Its incidence and clinical significance

Lin Yang, Yue-Qiang Jiang, Qi Mei, Yuan Chen

Lin Yang, Qi Mei, Yuan Chen, Department of Oncology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China  
Yue-Qiang Jiang, Department of Gerontology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China  
Supported by: the Natural Science Foundation of Hubei Province, No. 2011CDB213  
Correspondence to: Yuan Chen, Professor, Department of Oncology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. chenyan008@163.com  
Received: 2012-07-09 Revised: 2012-08-18  
Accepted: 2012-09-03 Published online: 2012-09-18

### Abstract

**AIM:** To investigate the incidence and management of bevacizumab-induced hypertension in patients with metastatic colorectal cancer (MCC), and to evaluate its relationship with response to bevacizumab.

**METHODS:** MCC patients treated with bevacizumab and chemotherapy were retrospectively enrolled in this study. Focus was placed on the

patients' blood pressure, corresponding management and clinical outcome. Patients were divided into two groups according to the occurrence of bevacizumab-induced hypertension or not. The disease control rate (DCR) and progression-free survival (PFS) were compared between the two groups.

**RESULTS:** In total, 40 MCC patients were treated with bevacizumab and chemotherapy. The median time from the initiation of bevacizumab to the beginning of hypertension was 38 days. The incidence of treatment-induced hypertension was 17.5% (7/40). Two patients (5.0%) were classified to have grade 3 hypertension. No grades 4-5 hypertension occurred. Blood pressure was controlled well in 7 patients after corresponding treatment. Patients with bevacizumab-induced hypertension had better DCR (85.8% vs 60.1%,  $P = 0.439$ ) and PFS (13 mo vs 8 mo,  $P = 0.191$ ), but there were no statistical differences between the two groups.

**CONCLUSION:** In MCC patients treated with bevacizumab and chemotherapy, the incidence of treatment-induced hypertension is high. But most of cases are mild to moderate and respond well to proper treatment. Bevacizumab-induced hypertension is not predictive factor of response to bevacizumab.

**Key Words:** Metastatic colorectal cancer; Targeted therapy; Bevacizumab; Hypertension

Yang L, Jiang YQ, Mei Q, Chen Y. Bevacizumab-induced hypertension in patients with metastatic colorectal cancer: Its incidence and clinical significance. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2525-2528

### 摘要

**目的:** 观察贝伐单抗治疗转移性结直肠癌 (metastatic colorectal cancer, MCC) 中高血压的发生情况, 评价其对贝伐单抗疗效的预测价值。

**方法:** 回顾性分析我院使用贝伐单抗联合化疗治疗的MCC患者中, 不良反应高血压的发

### 背景资料

贝伐单抗联合化疗能进一步提高转移性结直肠癌患者的无进展生存时间和总生存时间。高血压是贝伐单抗治疗中最常见的不良反应。控制不佳的高血压可能导致心脑血管事件和肾脏疾患, 并使抗肿瘤治疗被迫中断。

### 同行评议者

杨柏霖, 副主任医师, 南京中医药大学附属医院



## ■ 研发前沿

目前国外学者对贝伐单抗相关性高血压的发生、处理以及其预测肿瘤治疗疗效等方面进行了研究,以期更安全的使用贝伐单抗,并能更早预测其疗效,但结果尚存在争议。

生、治疗及转归。根据是否发生贝伐单抗相关性高血压把患者分为两组,比较两组疾病控制率(disease control rate, DCR)和无进展生存时间(progression-free survival, PFS)。

**结果:** 40例MCC患者使用贝伐单抗联合化疗治疗,高血压发生的中位时间为38 d,发生率为17.5%(7/40),3级高血压发生率为5.0%(2/40),无4-5级高血压发生,降压治疗后血压均可控制。与未发生高血压患者比较,发生高血压患者的DCR更高(85.8% vs 60.1%,  $P = 0.439$ ),PFS(13 mo vs 8 mo,  $P = 0.191$ )更长,但未达统计学差异。

**结论:** 高血压为贝伐单抗治疗MCC中常见不良反应,大多为轻-中度,降压治疗效果良好,但高血压未能显示出对贝伐单抗疗效的预测作用。

**关键词:** 转移性结直肠癌; 靶向治疗; 贝伐单抗; 高血压

杨琳, 蒋月强, 梅齐, 陈元. 转移性结直肠癌治疗中贝伐单抗相关性高血压的发生及意义. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2525-2528

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2525.asp>

## 0 引言

结直肠癌是人类最常见的恶性肿瘤之一,其发病率在美国位居恶性肿瘤的前3位<sup>[1]</sup>,在中国,居肿瘤相关性死亡率的第5位,且近年来发病率明显上升<sup>[2]</sup>。转移性结直肠癌(metastatic colorectal cancer, MCC)预后很差,5年生存率约11%。而贝伐单抗(bevacizumab, avastin)联合化疗无论用于一线还是二线治疗,均能进一步提高其无进展生存(progression free survival, PFS)和总生存(overall survival, OS)<sup>[3,4]</sup>。贝伐单抗是一种人源化的抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)单克隆抗体,他通过阻断VEGF与内皮受体结合,抑制肿瘤微血管形成<sup>[5]</sup>。高血压是贝伐单抗最常见的不良反应。高血压控制不佳不仅导致心血管事件、肾脏疾病和中风,而且可能使抗肿瘤治疗中断,影响临床获益;另一方面,高血压被报道可能作为预测贝伐单抗治疗MCC疗效的重要生物指标<sup>[6]</sup>。因此,贝伐单抗相关性高血压日益被人们所重视。本研究对我院使用贝伐单抗治疗的MCC患者40例中高血压的情况进行了回顾性分析。

## 1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析我院2010-02/2012-06应用

贝伐单抗联合化疗治疗MCC患者40例,结肠癌21例、直肠癌19例,均经病理学确诊。年龄39-78岁,平均年龄57.3岁,男23例,女17例。31例为一线治疗,9例为二线治疗。使用贝伐单抗治疗中位周期数为6周期(2-21周期),剂量为7.5 mg/(kg·3 wk)。联合化疗方案包括:FOLF-OX(奥沙利铂+四氢叶酸钙+氟尿嘧啶)12例、FOLFIRI(伊立替康+四氢叶酸钙+氟尿嘧啶)20例、XELOX(奥沙利铂+卡培他滨)6例、卡培他滨5例,3例患者采用1种以上化疗方案。5例患者既往有高血压病史。

1.2 方法 贝伐单抗每次7.5 mg/kg,联合化疗,每3 wk为1周期。每位患者均记录治疗开始前,治疗开始后(最初3 wk每周至少测量血压3次,此后每周至少测量血压1次)血压值。发生高血压则根据通用不良反应术语标准(Common Terminology Criteria for Adverse events, CTCAE)V3.0版进行分级。记录发生贝伐单抗相关高血压患者的降压治疗方法及血压转归。

患者每6-8 wk行影像学检查,按照实体肿瘤疗效评价标准(response evaluation criteria in Solid tumors, RECIST)1.0版进行疗效评价,分为完全缓解(complete remission, CR)、部分缓解(partial remission, PR)、疾病稳定(stable disease, SD)和疾病进展(progression of disease, PD)。计算疾病控制率(disease control rate, DCR) = CR+PR+SD。PFS是指从首次用药到疾病进展或因任何原因死亡的时间间隔(以发生在先的事件计算)。

**统计学处理** 应用SPSS13.0软件进行统计分析,计数资料采用Pearson Chi-Square检验。PFS由Kaplan-Meier曲线计算得到,二组间比较经Log-rank检验。均以 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

## 2 结果

2.1 高血压 发生贝伐单抗相关高血压7例(17.5%),高血压出现的中位时间为38 d(8-141 d)。1级患者3例(7.5%),行生活方式调节后,2例血压恢复正常,1例加用硝苯地平缓释片10 mg每日1次后,血压控制正常;2级患者2例(5.0%),1例口服培哚普利4 mg每日1次,1例口服硝苯地平缓释片10 mg每日2次,血压控制稳定;3级患者2例(5.0%),既往均有高血压病史,治疗前口服硝苯地平缓释片10 mg每日2次,发生贝伐单抗相关性高血压后,加用双氢克尿噻25 mg每日2次+培哚普利4 mg每日1次治疗,血压得到控制;无4或5级

## ■ 相关报道

Scartozzi等报道发生2-3级高血压的结直肠癌患者更能从贝伐单抗治疗中获益。Ryanne等研究发现发生贝伐单抗相关性高血压的患者OS和PFS更长。但Hurwitz等回顾性分析了6项研究,其中5项均否定了上述结论。

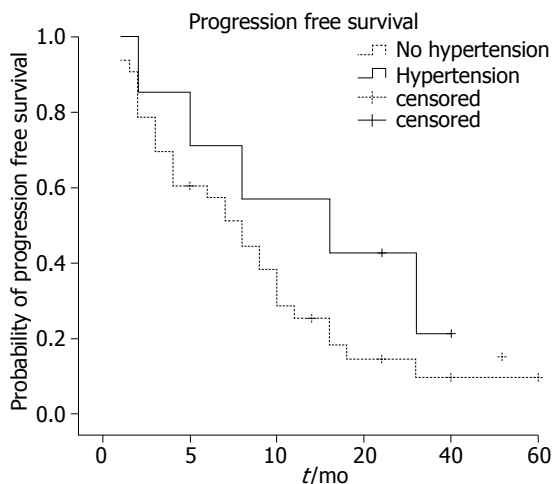


图1 贝伐单抗治疗转移性结直肠癌中, 有或无高血压发生患者的无进展生存时间(PFS).

高血压发生. 无患者因高血压导致贝伐单抗治疗减量或中断.

2.2 临床疗效 可评价疗效病例40例, 其中CR为2例(5.0%), PR为9例(22.5%), SD为15例(37.5%), PD为14例(35.0%), DCR为65.0%, 中位PFS为9 mo, 中位OS未达到. 发生高血压的7例患者中CR为1例(14.3%), PR为2例(28.6%), SD为3例(42.9%), PD为1例(14.3%), DCR为85.8%, 中位PFS为13 mo. 与未发生高血压的患者比较, 发生高血压患者的DCR(85.8% vs 60.1%)和PFS(13 mo vs 8 mo)更优, 但均未达统计学差异( $P = 0.439$ ,  $P = 0.191$ , 图1).

### 3 讨论

2004年贝伐单抗作为第一个抗血管生成药物被批准应用于临床以来, 人们发现靶向血管生成信号通路的药物常常导致高血压<sup>[7,8]</sup>. 其发病机制可能与体循环血管阻力(systemic vascular resistance, SVR)增加有关<sup>[9]</sup>. 神经内分泌因子增加(如肾素、醛固酮、儿茶酚胺类、肾上腺素等)、血管稀疏化、一氧化氮生成减少和内皮功能障碍, 均可导致SVR升高, 最终表现为血压升高.

Zhu等<sup>[10]</sup>发表的Meta分析显示: 贝伐单抗相关性高血压的总发生率为25%(21%-30%), 低剂量贝伐单抗(每次 $\leq 7.5$  mg/kg)所致高血压的发生率为2.7%-32.0%; 高剂量贝伐单抗(每次10或15 mg/kg)所致高血压的发生率为17.6%-36.0%. 本研究中患者均采用低剂量贝伐单抗治疗, 贝伐单抗相关性高血压的发生率与文献报道相似. 因此, 对接受贝伐单抗治疗的患者建议有规律的监测血压, 尤其是在治疗的前3 wk.

合理使用降压药物治疗能使绝大多数患者血压得以控制, 从而避免发生相关心脑血管事件, 以及贝伐单抗治疗的减量或停药. 本研究中7例发生贝伐单抗相关高血压的患者在经过合理降压治疗后, 血压均恢复至正常, 无患者因此导致贝伐单抗减量或停药. 由于缺乏对照研究, 目前贝伐单抗相关性高血压的降压治疗并无标准方案. Hedrick等<sup>[11]</sup>报道, 贝伐单抗相关性高血压患者中27%需要使用降压药, 其中血管紧张素转化酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitors, ACEI)占33.3%,  $\beta$ 受体阻滞剂占29%, 利尿剂占26.6%, 钙通道拮抗剂占22.7%, 血管紧张素受体阻断剂(angiotensin receptor blocker, ARB)占15%, 其他药物占9.7%. 对于高血压合并蛋白尿的患者, 可优先选用ACEI和ARB类药物, 以阻断肾素-血管紧张素系统. 需要注意的是, 我国广泛使用的钙离子拮抗剂中二氢吡啶类的硝苯地平以及非二氢吡啶类, 如维拉帕米和地尔硫卓在贝伐单抗相关性高血压中都是不推荐使用或需谨慎使用的, 而其他二氢吡啶类的, 如氨氯地平和非洛地平, 是推荐使用的. 因为硝苯地平据报道能诱导VEGF分泌<sup>[12]</sup>, 可能减弱VEGF单克隆抗体即贝伐单抗抑制肿瘤血管生成的生物作用; 维拉帕米和地尔硫卓是细胞色素氧化酶CYP3A4的抑制剂, 而贝伐单抗需经此酶代谢.

高血压是贝伐单抗作用机制相关性(on-target)的不良反应, 反映出贝伐单抗抑制VEGF信号通路的效果, 人们推测贝伐单抗相关高血压可能作为其临床疗效的预测因子. 最早Scartozzi等<sup>[6]</sup>报道了39例MCC使用贝伐单抗的患者, 发生2-3级高血压的患者中75%达到PR, 未发生高血压的患者中只有32%( $P = 0.004$ ). 随后, Ryanne Wu等<sup>[13]</sup>回顾性分析84例使用贝伐单抗治疗的MCC患者, 显示发生高血压的患者OS和PFS更长( $P = 0.03$ 和 $P = 0.01$ ). De Stefano等<sup>[14]</sup>以及Ravaud等<sup>[15]</sup>的研究也得出了相似的结论. 然而, Hurwitz等<sup>[16]</sup>的一项回顾性分析包括结肠、乳腺和肾癌的6个研究共5 900例患者, 显示只有一项研究表明贝伐单抗相关性高血压对患者OS和PFS有预测作用. 不同研究中测量血压的时间和频率、高血压分级标准、分层因素等均不完全相同, 可能导致结果目前存在争议. 本研究中发生高血压患者的DCR和PFS更优, 但未达统计学差异. 这可能与本研究样本量有限、发生贝伐单抗相关性高血压的病例数较少、且为回顾性分析等有关, 进一步开展更大样本、前瞻性、

### ■ 创新盘点

本文首次在中国MCC患者中系统性观察和分析了贝伐单抗相关性高血压的发生、处理、转归, 以及其与贝伐单抗治疗疗效的关系, 积累了贝伐单抗用于亚裔患者的治疗经验.

### ■同行评价

本研究选题合理, 结果可靠, 对临床医师有很好的参考价值。

多中心的临床研究是否能肯定贝伐单抗相关性高血压与其疗效之间的相关性, 我们拭目以待。总之, 高血压是贝伐单抗治疗中常见的不良反应, 需严密监测。贝伐单抗相关性高血压以轻度为主, 降压治疗后大多可以控制, 无需调整贝伐单抗剂量或停用。初步结果显示高血压的发生对贝伐单抗的临床疗效未能显示出预测作用。随着贝伐单抗应用的日益广泛, 我们期待更多的相关临床研究, 使患者能更安全、更有效的使用此类药物。

### 4 参考文献

- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300
- 董志伟, 乔友林, 李连弟, 王国清, 张思维, 孟祥柱, 李纪宾. 中国癌症高发现场报告. *中国肿瘤* 2009; 18: 4-9
- Giantonio BJ, Catalano PJ, Meropol NJ, O'Dwyer PJ, Mitchell EP, Alberts SR, Schwartz MA, Benson AB. Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1539-1544
- Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, Berlin J, Baron A, Griffing S, Holmgren E, Ferrara N, Fyfe G, Rogers B, Ross R, Kabbinavar F. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2335-2342
- 郁宝铭. 结直肠癌分子靶向治疗药物研究现状. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3705-3712
- Scartozzi M, Galizia E, Chiellini S, Giampieri R, Berardi R, Pierantoni C, Cascinu S. Arterial hypertension correlates with clinical outcome in colorectal cancer patients treated with first-line bevacizumab. *Ann Oncol* 2009; 20: 227-230
- Wu S, Chen JJ, Kudelka A, Lu J, Zhu X. Incidence and risk of hypertension with sorafenib in patients with cancer: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol* 2008; 9: 117-123
- Bamias A, Manios E, Karadimou A, Michas F, Lainakis G, Constantinidis C, Deliveliotis C, Zakopoulos N, Dimopoulos MA. The use of 24-h ambulatory blood pressure monitoring (ABPM) during the first cycle of sunitinib improves the diagnostic accuracy and management of hypertension in patients with advanced renal cancer. *Eur J Cancer* 2011; 47: 1660-1668
- Izzedine H, Ederhy S, Goldwasser F, Soria JC, Milano G, Cohen A, Khayat D, Spano JP. Management of hypertension in angiogenesis inhibitor-treated patients. *Ann Oncol* 2009; 20: 807-815
- Zhu X, Wu S, Dahut WL, Parikh CR. Risks of proteinuria and hypertension with bevacizumab, an antibody against vascular endothelial growth factor: systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2007; 49: 186-193
- Hedrick E, Kozloff M, Hainsworth J, Badarinarath S, Cohn A, Flynn P, Dong W, Suzuki S, Sugrue M, Grothey A. Safety of bevacizumab plus chemotherapy as first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer: updated results from a large observational registry in the US (BRiTE). 2006 ASCO Annual Meeting; 2006 June 20; Chicago, USA. 2006: abstr 3536
- Miura S, Fujino M, Matsuo Y, Tanigawa H, Saku K. Nifedipine induced vascular endothelial growth factor secretion from coronary smooth muscle cells promotes endothelial tube formation via the kinase insert domain-containing receptor/fetal liver kinase-1/NO pathway. *Hypertens Res* 2005; 28: 147-153
- Ryanne Wu R, Lindenberg PA, Slack R, Noone AM, Marshall JL, He AR. Evaluation of hypertension as a marker of bevacizumab efficacy. *J Gastrointest Cancer* 2009; 40: 101-108
- De Stefano A, Carlomagno C, Pepe S, Bianco R, De Placido S. Bevacizumab-related arterial hypertension as a predictive marker in metastatic colorectal cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 1207-1213
- Ravaud A, Sire M. Arterial hypertension and clinical benefit of sunitinib, sorafenib and bevacizumab in first and second-line treatment of metastatic renal cell cancer. *Ann Oncol* 2009; 20: 966-967; author reply 967
- Hurwitz H, Douglas PS, Middleton JP, Sledge GW, Johnson DH, Reardon DA, Chen D, Rosen O. Analysis of early hypertension (HTN) and clinical outcome with bevacizumab (BV). 2010 ASCO Annual Meeting; 2010 June 4-8; Chicago, USA. 2010: abstr 3039

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

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)

# 结直肠腺瘤患者血清IGF-1和IGFBP-3的变化及其临床意义

崔艳欣, 姜常青, 王瑶, 姜相君, 辛永宁, 宋明全

崔艳欣, 姜相君, 辛永宁, 宋明全, 青岛市市立医院消化内二科 山东省青岛市 266011

姜常青, 青岛市市立医院病理科 山东省青岛市 266011

王瑶, 青岛市市立医院内分泌科 山东省青岛市 266011

崔艳欣, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤早期诊断的研究。

青岛市科技局基金资助项目, No. 10-3-3-4-6-nsh

作者贡献分布: 崔艳欣与宋明全对此文所作贡献均等; 宋明全与

王瑶课题设计; 姜相君与姜常青收集病历; 崔艳欣完成实验操作;

崔艳欣与辛永宁完成数据分析; 崔艳欣与宋明全完成论文撰写。

通讯作者: 宋明全, 医学博士, 副主任医师, 266011, 山东省青岛市胶州路1号, 青岛市市立医院消化内二科。

songmingquan@yahoo.com.cn

电话: 0532-82789565

收稿日期: 2012-06-10 修回日期: 2012-08-04

接受日期: 2012-08-11 在线出版日期: 2012-09-18

## Clinical significance of serum levels of IGF-1 and IGFBP-3 in patients with colorectal adenoma

Yan-Xin Cui, Chang-Qing Jiang, Yao Wang,  
Xiang-Jun Jiang, Yong-Ning Xin, Ming-Quan Song

Yan-Xin Cui, Xiang-Jun Jiang, Yong-Ning Xin, Ming-Quan Song, Department of Gastroenterology (Division II), Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266011, Shandong Province, China

Chang-Qing Jiang, Department of Pathology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266011, Shandong Province, China

Yao Wang, Department of Endocrinology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266011, Shandong Province, China

Supported by: the Science and Technology Bureau of Qingdao, No. 10-3-3-4-6-nsh

Correspondence to: Ming-Quan Song, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology (Division II), Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266011, Shandong Province, China. songmingquan@yahoo.com.cn

Received: 2012-06-10 Revised: 2012-08-04

Accepted: 2012-08-11 Published online: 2012-09-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the clinical significance of serum levels of IGF-1 and IGFBP-3 in patients with colorectal adenoma.

**METHODS:** Blood samples collected from 120 patients with colorectal adenoma (CRA), 48 patients with colorectal cancer (CRC) and 34 healthy controls were used to determine serum levels of IGF-1 and IGFBP-3 by radioimmunoassay (RIA) and immunoradiometric assay (IRMA), respectively.

**RESULTS:** Serum levels of IGF-1 and IGF-1/IGFBP-3 ratio in the CRC group ( $247.35 \pm 60.77$ ;  $0.063 \pm 0.010$ ) and CRA group ( $224.75 \pm 69.45$ ;  $0.055 \pm 0.010$ ) were significantly higher than those in the healthy control group ( $195.39 \pm 63.37$ ;  $0.047 \pm 0.013$ ) (both  $P < 0.05$ ). Serum IGF-1, IGFBP-3, and IGF-1/IGFBP-3 ratio in CRA showed no significant association with gender, age, history of smoking and drinking, family history of cancer, and the size, number, site or histological classification of polyps. Serum levels of IGF-1 and IGF-1/IGFBP-3 ratio in the CRC group ( $247.35 \pm 60.77$ ;  $0.063 \pm 0.010$ ) and high-risk CRA group ( $235.81 \pm 73.72$ ;  $0.056 \pm 0.011$ ) were significantly higher than those in the advanced CRA group ( $208.15 \pm 59.44$ ;  $0.052 \pm 0.008$ ) (all  $P < 0.05$ ). There was a positive correlation between serum levels of IGF-1 and IGFBP-3 in CRA ( $r = 0.796$ ,  $P < 0.001$ ).

**CONCLUSION:** High serum levels of IGF-1 and IGF-1/IGFBP-3 may play a role in the malignant transformation of colorectal adenoma, and detection of them can be used to screen precancerous lesions.

**Key Words:** Colorectal adenoma; Insulin-like growth factor 1; Insulin-like growth factor binding protein 3; Radioimmunoassay; Immunoradiometric assay

Cui YX, Jiang CQ, Wang Y, Jiang XJ, Xin YN, Song MQ. Clinical significance of serum levels of IGF-1 and IGFBP-3 in patients with colorectal adenoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2529-2533

## 摘要

**目的:** 研究血清胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)和胰岛素样生长因子结合蛋白3(insulin-like growth factor binding protein 3, IGFBP-3)在结直肠腺瘤患者中的变化及临床意义。

**方法:** 采用放射免疫法和免疫放射法分别检测120例结直肠腺瘤患者、48例结直肠癌患者及34例健康人外周血清IGF-1和IGFBP-3表达水平。

**结果:** 血清IGF-1和IGF-1/IGFBP-3比值在结

## ■背景资料

胰岛素样生长因子系统,尤其是IGF-1和IGFBP-3与细胞增殖、分化、凋亡以及肿瘤的发生密切相关,是近年来研究的热点。对于IGF-1和IGFBP-3在结肠腺瘤患者中的观察,国内尚缺乏系统广泛的临床研究。

## ■同行评议者

顾国利,副主任医师,中国人民解放军空军总医院普通外科

### ■ 相关报道

Soubry等为期10年的研究发现: 美国人外周血曾经有IGF-1水平和IGF-1/IGFBP-3比值增高与结直肠腺瘤风险正相关, 提示IGF-1和IGF-1/IGFBP-3的增加是引发结直肠腺瘤这种癌前病变的重要因素。

直肠癌组( $247.35 \pm 60.77$ ;  $0.063 \pm 0.010$ )、腺瘤性息肉组( $224.75 \pm 69.45$ ;  $0.055 \pm 0.010$ )及健康对照组( $195.39 \pm 63.37$ ;  $0.047 \pm 0.013$ )依次降低, 前两组明显高于后组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。腺瘤性息肉患者血清IGF-1、IGFBP-3水平及IGF-1/IGFBP-3比值与患者的性别、年龄、吸烟饮酒情况及肿瘤家族史临床指标间均无统计学意义; 与息肉大小、数量、部位、组织学分类也无统计学意义。血清IGF-1和IGF1/IGFBP-3比值在结直肠腺瘤组( $247.35 \pm 60.77$ ;  $0.063 \pm 0.010$ )、进展期腺瘤组( $235.81 \pm 73.72$ ;  $0.056 \pm 0.011$ )及早期腺瘤组( $208.15 \pm 59.44$ ;  $0.052 \pm 0.008$ )依次降低, 且前两组较后组比, 差异有显著性( $P < 0.05$ )。结直肠腺瘤性息肉患者血清IGF-1和IGFBP-3呈正相关( $r = 0.796$ ,  $P < 0.001$ )。

**结论:** 血清IGF-1和IGF-1/IGFBP-3比值增高可能在结直肠腺瘤癌变中起一定作用, 对适龄人群行血清IGF-1和IGF-1/IGFBP-3检测可以简单筛选有息肉恶变倾向者。

**关键词:** 结直肠腺瘤; 胰岛素样生长因子1; 胰岛素样生长因子结合蛋白3; 放射免疫; 免疫放射

崔艳欣, 姜常青, 王瑶, 姜相君, 辛永宁, 宋明全. 结直肠腺瘤患者血清IGF-1和IGFBP-3的变化及其临床意义. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2529-2533

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2529.asp>

## 0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是近年来最常见的恶性肿瘤之一, 全国的CRC发病率和死亡率均呈上升趋势<sup>[1]</sup>。结直肠腺瘤(colorectal adenoma, CRA)是CRC最主要的癌前疾病, 大约80% CRC由CRA发展而来<sup>[2]</sup>, 而内镜下及时发现和摘除CRA可降低至少76%的CRC发生率<sup>[3]</sup>。但是我国人口基数庞大, 对适龄人群行全结肠镜检查并不适应当前的医疗状况, 导致早期CRC的诊断率并不高。目前国内对CRC早期、癌前病变及癌前疾病CRA的研究相对薄弱。胰岛素样生长因子系统是近年来研究的热点之一, 尤其是该系统中的胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)和胰岛素样生长因子结合蛋白3(insulin-like growth factor binding protein 3, IGFBP-3)与细胞增殖、分化、凋亡以及肿瘤的发生密切相关<sup>[4]</sup>。本实验通过检测CRA患者血清IGF-1和IGFBP-3的表达, 并结合临床病理资料分析其临床意义, 旨在为通过血清学筛查有恶

变倾向的息肉提供客观的理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2011-05/2012-03就诊于山东省青岛市市立医院消化内二科经电子结肠镜检查和组织病理学确诊的CRA患者120例, 其中男69例, 女51例, 年龄43-82岁, 平均年龄 $62.90 \pm 11.80$ 岁; 取同期普外科手术治疗的CRC患者48例作为阳性对照组, 其中男28例, 女20例, 年龄45-80岁, 平均年龄 $63.94 \pm 9.88$ 岁, 术前均未行任何放疗、化疗及免疫治疗且术后经组织病理学证实; 健康对照组为来我院健康查体者, 已行电子胃肠镜检查排除胃肠道息肉及肿瘤, 共34例, 其中男22例, 女12例, 年龄43-77岁, 平均年龄 $62.35 \pm 9.36$ 岁。以上所有研究对象均有完整的临床资料并排除糖尿病、肝脏疾病及甲状腺功能亢进等代谢性疾病及糖皮质激素用药史。各组间年龄、性别构成比间差异均无统计学意义( $F$ 年龄 = 0.243,  $P > 0.05$ ;  $\chi^2$ 性别 = 0.577,  $P > 0.05$ )。

### 1.2 方法

**1.2.1 待检血清样本的采集:** 所有研究对象均抽取晨起空腹静脉血3.5 mL, 置于3 500 r/min离心8 min后, 一次性吸管分离血清1-1.5 mL, 分装成双份后存入-80 °C冰箱待检。

**1.2.2 血清IGF-1和IGFBP-3水平的检测:** 血清IGF-1和IGFBP-3检测分别采用放射免疫法(radioimmunoassay, RIA)和免疫放射法(immunoradiometric assay, IRMA), 产品目录号分别为KIP 1588和KIP 1171(Diasource公司, 比利时)。具体操作步骤严格按照试剂说明书进行。测定仪器为GC-911型 $\gamma$ 放射免疫计数器(中国科学技术大学科技实业总公司), 全自动操作, 自动作曲线并打印结果。为保证结果的准确性与精确性, 每个待检样本均取双份, 取平均值。

**统计学处理** 用SPSS17.0统计软件进行统计学分析, 计量资料以mean  $\pm$  SD表示, 正态性检验采用Kolmogorov-Smirnov法, 均数间比较采用独立样本 $t$ 检验或单因素方差分析, 相关采用Pearson相关分析。 $P$ 值均为双侧性检验,  $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同分组中血清IGF-1、IGFBP-3水平及IGF-1/IGFBP-3比值** CRA组和CRC组患者血清IGF-1水平及IGF-1/IGFBP-3比值明显高于健康对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。CRA组和



表 1 不同分组中血清IGF-1、IGFBP-3水平及IGF-1/IGFBP-3比值 (mean ± SD)

分组	n	IGF-1(μg/L)	IGFBP-3(μg/L)	IGF-1/IGFBP-3
CRC组	48	247.35 ± 60.77 <sup>a</sup>	3902.59 ± 415.66	0.063 ± 0.010 <sup>a</sup>
CRA组	120	224.75 ± 69.45 <sup>a</sup>	4061.48 ± 683.91	0.055 ± 0.010 <sup>a</sup>
健康对照组	34	195.39 ± 63.37	4101.04 ± 710.32	0.047 ± 0.013

<sup>a</sup>P<0.05 vs 健康对照组.

表 2 腺瘤性息肉患者血清IGF-1、IGFBP-3及IGF-1/IGFBP-3与临床参数的关系 (mean ± SD)

项目	n	IGF-1(μg/L)	F值	P值	IGFBP-3(μg/L)	F值	P值	IGF-1/IGFBP-3	F值	P值
性别										
男	69	217.06 ± 64.13	-1.416	0.159	3977.54 ± 674.49	-1.573	0.118	0.054 ± 0.009	0.834	0.407
女	51	235.14 ± 75.46			4175.03 ± 686.74			0.056 ± 0.012		
年龄(岁)										
≥60	51	230.95 ± 69.71	0.84	0.403	4039.48 ± 713.91	-0.302	0.173	0.057 ± 0.011	-1.853	0.066
<60	69	220.16 ± 69.40			4077.74 ± 665.68			0.054 ± 0.010		
吸烟情况				0.407			0.274			
从未吸	93	221.22 ± 67.84	0.907		4007.61 ± 633.65	1.303		0.054 ± 0.011	0.784	0.459
持续吸	15	247.24 ± 78.88			4269.93 ± 840.19			0.058 ± 0.011		
曾经吸	12	223.98 ± 70.51			4218.36 ± 832.31			0.053 ± 0.010		
饮酒史							0.948			
无	99	221.98 ± 67.12	0.945	0.346	4059.58 ± 658.66	0.066		0.054 ± 0.011	1.339	0.183
有	21	237.76 ± 80.05			4070.43 ± 810.61			0.057 ± 0.010		
肿瘤家族史										
有	15	214.16 ± 68.34	-0.629	0.53	4027.90 ± 773.86	-0.202	0.840	0.055 ± 0.011	1.244	0.226
无	105	226.26 ± 69.80			4066.27 ± 674.08			0.052 ± 0.007		

CRC组患者血清IGFBP-3水平低于健康对照组, 差异无统计学意义(P>0.05, 表1).

### 2.2 CRA组患者血清IGF-1、IGFBP-3水平及IGF-1/IGFBP-3比值与临床病理特征之间的关系

CRA组患者血清IGF-1、IGFBP-3水平及IGF-1/IGFBP-3比值与患者的性别、年龄、吸烟情况、有无饮酒史及肿瘤家族史均无关(P>0.05, 表2); 与息肉直径、数量、部位及组织学类型也均无关(P>0.05, 表3).

2.3 早期CRA组、进展期CRA(高危CRA)组、CRC组患者血清IGF-1、IGFBP-3水平及IGF1/IGFBP-3比值 早期CRA组、进展期CRA组及CRC组患者血清IGF-1水平和IGF1/IGFBP-3比值依次增高, 且后者较前者比, 差异有统计学意义(t = -2.266, P = 0.025; t = -1.818, P = 0.048和 t = 0.4126, P<0.001; t = -2.17, P = 0.029). 3组患者血清IGFBP-3水平之间比较, 差异无统计学意义(P>0.05, 表4).

2.4 CRA患者血清IGF-1和IGFBP-3之间的关系 CRA患者血清IGF-1和IGFBP-3均符合正态性

分布(Z = 1.274, P = 0.078; Z = 0.767, P = 0.599), Pearson相关分析显示: 血清IGF-1与IGFBP-3水平呈正相关(r = 0.796, P<0.001).

### 3 讨论

IGF-1是一种促有丝分裂的多肽类生长因子. 血清中的IGF-1主要由肝脏产生, 并受生长激素的调节. 生理状态下胎儿血清中的IGF-1浓度比较低, 出生后不断增高, 青春期达到顶峰, 成年以后开始逐渐下降. 循环中大部分IGF-1通过结合IGF结合蛋白(IGF binding proteins, IGFBPs)形成复合物而存在, IGFBP-3是IGFBPs中含量最高、作用最强的一种. 游离的IGF-1通过与跨膜受体IGF-1R结合激活MAPK和PI3K/AKT途径, 参与细胞生长分化和增殖凋亡调节<sup>[5]</sup>. IGFBP-3除了可以竞争性结合IGF-1阻断其与IGF-1R结合产生的信号从而抑制凋亡; 还可以通过结合一些特殊的IGFBP-3膜相关受体发挥直接的肿瘤抑制<sup>[6]</sup>. 一旦正常IGF传导途径受到干扰, 就可能导致肿瘤的发生. 目前已有研究发现: 血清IGF-1

### 应用要点

本研究通过对适龄人群行血清IGF-1和IGF-1/IGFBP-3检测筛选有结直肠腺瘤并为评估恶变倾向提供客观依据, 尤其对于缺乏结肠镜筛查的人群, 提供了一种便捷的结直肠腺瘤的筛选方法.

### ■名词解释

胰岛素样生长因子(IGFs): 是一类氨基酸序列与胰岛素类似的蛋白质或多肽生长因子, 包括IGF-1和IGF-2两种, 在细胞的分化、增殖、个体的生长发育中具有重要的促进作用, 可促进细胞分裂。

表 3 CRA患者血清IGF-1、IGFBP-3水平及IGF-1/IGFBP-3比值与临床病理参数的关系 (mean ± SD)

项目	n	IGF-1(μg/L)	t(F)	P值	IGFBP-3(μg/L)	t(F)	P值	IGF-1/IGFBP-3	t(F)	P值
息肉直径大小										
≤1 cm	60	223.49 ± 64.30	0.125	0.882	4073.25 ± 664.70	0.970	0.907	0.054 ± 0.010	0.873	0.42
≥3 cm	27	230.60 ± 69.12			4010.38 ± 658.25			0.057 ± 0.011		
1-3 cm	33	222.24 ± 79.95			4081.88 ± 754.84			0.054 ± 0.012		
息肉数量										
多个	51	235.29 ± 81.79	1.336	0.175	4087.98 ± 784.15	0.350	0.727	0.056 ± 0.012	1.671	0.098
单个	69	216.94 ± 58.11			4041.89 ± 604.55			0.053 ± 0.010		
息肉部位		219.24 ± 62.23			4032.00 ± 651.88					
结肠	103	233.57 ± 121.28	2.813	0.064	4011.47 ± 422.12	1.073	0.345	0.054 ± 0.010	2.395	0.096
直肠	5	268.35 ± 92.34			4335.35 ± 981.67			0.056 ± 0.022		
直结肠	12							0.061 ± 0.010		
息肉组织学分类										
管状腺瘤	92	217.72 ± 62.81	2.500	0.086	3999.72 ± 690.15	1.625	0.201	0.053 ± 0.010	2.009	0.139
绒毛状腺瘤	18	256.80 ± 86.34			4262.81 ± 469.40			0.059 ± 0.015		
管状绒毛状腺瘤	10	231.69 ± 84.76			4267.26 ± 886.04			0.054 ± 0.009		

表 4 各组中血清IGF-1、IGFBP-3水平及IGF-1/IGFBP-3比值 (mean ± SD)

分组	n	IGF-1(μg/L)	IGFBP-3(μg/L)	IGF-1/IGFBP-3
CRC组	48	247.35 ± 60.77 <sup>a</sup>	3902.59 ± 415.66	0.063 ± 0.010 <sup>a</sup>
进展期腺瘤组	72	235.81 ± 73.72 <sup>a</sup>	4143.77 ± 702.02	0.056 ± 0.011 <sup>a</sup>
早期腺瘤组	48	208.15 ± 59.44	3938.03 ± 643.27	0.052 ± 0.008

<sup>a</sup>P<0.05 vs 腺瘤组。

的升高与前列腺癌、乳腺癌及结直肠癌等多种肿瘤的发生密切相关<sup>[7-9]</sup>。而Haydon等<sup>[10]</sup>对443例CRC患者随访5.6年, 发现高血清水平IGFBP-3可以降低CRC病死率, 而低水平IGF-1对病死率无影响。

本研究结果显示: 血清IGF-1水平及IGF-1/IGFBP-3比值由健康对照组、CRA组至CRC组依次升高, 且CRC组和CRA组与健康对照组相比, 差异有统计学意义; 而血清IGFBP-3水平呈降低趋势, 但差异无统计学意义。这与Jenkins与Probst-Hensch等<sup>[11,12]</sup>研究结果一致。Soubry等<sup>[13]</sup>为期10年的研究发现: 美国人外周血曾经有IGF-1水平和IGF-1/IGFBP-3比值增高与结直肠腺瘤风险正相关, 提示: IGF-1和IGF-1/IGFBP-3的增加是引发结直肠腺瘤这种癌前病变的重要因素。腺瘤性息肉在组织学上分为管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤和绒毛状腺瘤, 研究表明: 较大的息肉及绒毛比例高的息肉更容易癌变, 而且通常两者是相互依存的, 即体积较大的息肉通常绒毛比例也较高<sup>[14]</sup>。本实验并未发现CRA患者血清IGF-1、IGFBP-3水平及IGF-1/IGFBP-3的比值

与息肉大小及组织学分型有关, 考虑可能是不同的国家地区之间人群存在一定差异所致, 另外, 选取的研究对象不同也可以导致不同的研究结果, 如从社区中大范围的筛选与有消化系症状而住院的患者资料是不同的<sup>[15]</sup>。因为只有很小比例的腺瘤性息肉会发生癌变, 短时间内收集的绒毛状腺瘤和管状绒毛状腺瘤样本量相对较少, 导致统计学证据不充足, 也可能造成一定影响。但我们综合部分病理因素后将CRA组重新分为进展期CRA和早期CRA, 结果显示: CRC组和进展性CRA组患者血清IGF-1、IGF-1/IGFBP-3比值在较早期CRA组高, 差异有统计学意义, 而在CRC组较进展期CRA组无明显差异。这说明高水平血清IGF-1和IGF-1/IGFBP-3比值可能在结直肠腺瘤早期癌变中起一定作用, 但仍需要加大样本量来进一步验证。

虽然结肠镜检查是结直肠腺瘤主要诊断方法, 但是对于直径>1 cm的腺瘤漏诊率可达6%-12%, 癌的漏诊率约5%<sup>[16]</sup>。而目前尚未建立一个以IGFs为指标来预测和诊断肿瘤的完整方案, 但许多临床研究小组正在加紧工作, 相信不

久的将来一定会提供较好的方案为临床服务。从我们的研究结果看, 血清IGF-1水平和IGF-1/IGFBP-3比值升高与结直肠腺瘤的发生、发展有密切的联系, 血清IGF-1水平和IGF-1/IGFBP-3比值将可能作为临床上一个新的指标来简单筛选适龄人群, 对筛选出的高危人群及时行结肠镜检查 and 内镜下治疗, 从而达到预防CRC的目的。

#### 4 参考文献

- 1 赵平, 陈万青. 2010中国肿瘤登记年报. 第1版. 北京: 军事医学科学出版社, 2011: 20-90
- 2 Cotton S, Sharp L, Little J. The adenoma-carcinoma sequence and prospects for the prevention of colorectal neoplasia. *Crit Rev Oncog* 1996; 7: 293-342
- 3 房静远. 关注结直肠腺瘤的诊治研究. *中华消化杂志* 2010; 30: 433-435
- 4 Pollak M. Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 915-928
- 5 Sekharam M, Zhao H, Sun M, Fang Q, Zhang Q, Yuan Z, Dan HC, Boulware D, Cheng JQ, Coppola D. Insulin-like growth factor 1 receptor enhances invasion and induces resistance to apoptosis of colon cancer cells through the Akt/Bcl-x(L) pathway. *Cancer Res* 2003; 63: 7708-7716
- 6 康玲, 来茂德. 胰岛素样生长因子及其结合蛋白与结直肠癌. *国际流行病学杂志* 2007; 34: 58-61, 74
- 7 Roddam AW, Allen NE, Appleby P, Key TJ, Ferrucci L, Carter HB, Metter EJ, Chen C, Weiss NS, Fitzpatrick A, Hsing AW, Lacey JV, Helzlsouer K, Rinaldi S, Riboli E, Kaaks R, Janssen JA, Wildhagen MF, Schröder FH, Platz EA, Pollak M, Giovannucci E, Schaefer C, Quesenberry CP, Vogelman JH, Severi G, English DR, Giles GG, Stattin P, Hallmans G, Johansson M, Chan JM, Gann P, Oliver SE, Holly JM, Donovan J, Meyer F, Bairati I, Galan P. Insulin-like growth factors, their binding proteins, and prostate cancer risk: analysis of individual patient data from 12 prospective studies. *Ann Intern Med* 2008; 149: 461-471, W83-W88
- 8 Key TJ, Appleby PN, Reeves GK, Roddam AW. Insulin-like growth factor 1 (IGF1), IGF binding protein 3 (IGFBP3), and breast cancer risk: pooled individual data analysis of 17 prospective studies. *Lancet Oncol* 2010; 11: 530-542
- 9 Rinaldi S, Cleveland R, Norat T, Biessy C, Rohrmann S, Linseisen J, Boeing H, Pischon T, Panico S, Agnoli C, Palli D, Tumino R, Vineis P, Peeters PH, van Gils CH, Bueno-de-Mesquita BH, Vrieling A, Allen NE, Roddam A, Bingham S, Khaw KT, Manjer J, Borgquist S, Dumeaux V, Torhild Gram I, Lund E, Trichopoulou A, Makrygiannis G, Benetou V, Molina E, Donate Suárez I, Barricarte Gurrea A, Gonzalez CA, Tormo MJ, Altzibar JM, Olsen A, Tjønneland A, Grønbaek H, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Morois S, Slimani N, Boffetta P, Jenab M, Riboli E, Kaaks R. Serum levels of IGF-I, IGFBP-3 and colorectal cancer risk: results from the EPIC cohort, plus a meta-analysis of prospective studies. *Int J Cancer* 2010; 126: 1702-1715
- 10 Haydon AM, Macinnis RJ, English DR, Morris H, Giles GG. Physical activity, insulin-like growth factor 1, insulin-like growth factor binding protein 3, and survival from colorectal cancer. *Gut* 2006; 55: 689-694
- 11 Jenkins PJ, Frajese V, Jones AM, Camacho-Hubner C, Lowe DG, Fairclough PD, Chew SL, Grossman AB, Monson JP, Besser GM. Insulin-like growth factor I and the development of colorectal neoplasia in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3218-3221
- 12 Probst-Hensch NM, Yuan JM, Stanczyk FZ, Gao YT, Ross RK, Yu MC. IGF-1, IGF-2 and IGFBP-3 in pre-diagnostic serum: association with colorectal cancer in a cohort of Chinese men in Shanghai. *Br J Cancer* 2001; 85: 1695-1699
- 13 Soubry A, Il'yasova D, Sedjo R, Wang F, Byers T, Rosen C, Yashin A, Ukraintseva S, Haffner S, D'Agostino R. Increase in circulating levels of IGF-1 and IGF-1/IGFBP-3 molar ratio over a decade is associated with colorectal adenomatous polyps. *Int J Cancer* 2012; 131: 512-517
- 14 Chao A, Thun MJ, Connell CJ, McCullough ML, Jacobs EJ, Flanders WD, Rodriguez C, Sinha R, Calle EE. Meat consumption and risk of colorectal cancer. *JAMA* 2005; 293: 172-182
- 15 中华医学会消化病学分会. 中国结直肠肿瘤筛查、早诊早治和综合预防共识意见(一). *中华消化杂志* 2012; 32: 1-10
- 16 房静远, 沈镭, 孙丹凤. 大肠癌高危人群: 筛查和预防的重点. *中华医学杂志* 2009; 89: 1369-1371

#### 同行评价

本文总结分析了血清IGF-1和IGFBP-3在结直肠腺瘤患者中的变化及临床意义, 文章具有较好的创新性和临床应用价值, 可读性较强。

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

## 腰麻与骶管麻醉应用于肛门手术74例

朱怀宇, 胡四育, 王增文

### ■背景资料

腰麻和骶麻, 是两种传统的麻醉方式, 操作简单, 安全性较高, 目前广泛应用于肛肠手术。两种麻醉方式各有特点, 目前国内在肛肠手术中对两种麻醉方式进行对比的文献报道少见。

朱怀宇, 胡四育, 王增文, 清华大学医院 北京市 100084

朱怀宇, 主治医师, 主要从事外科及麻醉方向的研究。

作者贡献分布: 朱怀宇负责研究设计、资料收集、数据分析及论文撰写; 胡四育与王增文参与了资料收集及论文撰写。

通讯作者: 朱怀宇, 主治医师, 100084, 北京市海淀区, 清华大学医院外科. zhuok@sina.com

收稿日期: 2012-07-18 修回日期: 2012-08-12

接受日期: 2012-08-21 在线出版日期: 2012-09-18

### Spinal anesthesia or caudal anesthesia for anorectal surgery: An analysis of 74 cases

Huai-Yu Zhu, Si-Yu Hu, Zeng-Wen Wang

Huai-Yu Zhu, Si-Yu Hu, Zeng-Wen Wang, Tsinghua University Hospital, Beijing 100084, China

Correspondence to: Huai-Yu Zhu, Department of Surgery, Tsinghua University Hospital, Beijing 100084, China. zhuok@sina.com

Received: 2012-07-18 Revised: 2012-08-12

Accepted: 2012-08-21 Published online: 2012-09-18

### Abstract

**AIM:** To observe the clinical effect of spinal anesthesia and caudal anesthesia in anorectal surgery.

**METHODS:** Seventy-four patients who underwent anorectal surgery between September 2009 and May 2012 were reviewed retrospectively. The patients were divided into spinal anesthesia group ( $n = 36$ ) and caudal anesthesia group ( $n = 38$ ). There were no significant differences in age, sex, illness, and operation time between the two groups. Anesthesia effect, onset time, cardiovascular complication, urinary retention, and time to sensory recovery were compared between the two groups.

**RESULTS:** The rate of satisfaction with anesthesia effect was 95% in the spinal anesthesia group and 79% in the caudal anesthesia group ( $P < 0.05$ ). The morbidity of cardiovascular complication was 30.6% in the spinal anesthesia group and 5.3% in the caudal anesthesia group ( $P < 0.01$ ). The mean onset time was 1.98 min in the spinal anesthesia group and 8.99 min in the caudal anesthesia group ( $P < 0.01$ ). Urinary retention occurred in 4 cases in the spinal anesthesia group

and in 3 cases in the caudal anesthesia group ( $P > 0.05$ ). Mean time to sensory recovery was 324 min in the spinal anesthesia group and 288 min in the caudal anesthesia group ( $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Spinal anesthesia has better clinical effect than caudal anesthesia when used in anorectal surgery, but the blood pressure and heart rate must be closely monitored and cardiovascular changes must be handled on time.

**Key Words:** Spinal anesthesia; Caudal anesthesia; Anorectal surgery

Zhu HY, Hu SY, Wang ZW. Spinal anesthesia and caudal anesthesia for anorectal surgery: An analysis of 74 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2534-2537

### 摘要

**目的:** 比较腰麻与骶管麻醉在肛门手术中的效果。

**方法:** 回顾性分析2008-09/2012-05应用腰麻及骶管麻醉行肛门手术病例共74例, 36例采用腰麻(腰麻组), 38例采用骶管麻醉(骶麻组)。两组性别、年龄、病种分类及手术时间等资料相比,  $P > 0.05$ 。比较两组麻醉效果、起效时间、术中心血管系统不良反应情况、术后尿潴留的发生、术后感觉恢复时间。

**结果:** 腰麻组与骶麻组麻醉效果满意率分别为95%和79%( $P < 0.05$ ), 腰麻组与骶麻组术中心血管系统不良反应的发生率分别为30.6%和5.3%( $P < 0.01$ ), 腰麻组与骶麻组的平均麻醉起效时间分别为1.98 min和8.99 min( $P < 0.01$ ), 腰麻组与骶麻组分别发生尿潴留4例、3例( $P > 0.05$ ), 腰麻组与骶麻组术后平均感觉恢复时间分别为324 min和288 min( $P > 0.05$ )。

**结论:** 肛门手术中应用腰麻效果优于骶管麻醉, 但术中应密切监测血压、心率情况, 及时处理血流动力学的改变。

**关键词:** 腰麻; 骶管麻醉; 肛门手术

朱怀宇, 胡四育, 王增文. 腰麻与骶管麻醉应用于肛门手术74

### ■同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

例. 世界华人消化杂志 2012; 20(26): 2534-2537  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2534.asp>

## 0 引言

肛肠疾病是一种常见疾病, 在我国, 发病率相当高, 1979年全国155个单位普查57 927人, 患肛肠疾病共有33 837人, 总发病率为59.1%<sup>[1]</sup>. 在美国, 成人肛门疾病的发病率为4%-5%, 其中10%需行手要治疗<sup>[2]</sup>. 肛门直肠区受交感、副交感神经系统及体神经系统支配, 局部神经末梢非常丰富, 感觉极为敏锐, 特别是对疼痛有特殊的敏感性. 因此肛肠疾病实施手术时的麻醉, 对整个治疗过程显得格外重要. 本研究采用回顾性研究, 选取我院2008-09/2012-05采用腰麻及骶管麻醉的肛门手术共74例, 对不同麻醉方法的效果进行对比研究.

## 1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2008-09/2012-05采用腰麻及骶管麻醉的肛门手术共74例, ASA分级 I - II 级; 腰麻组共36例, 其中男27例, 女9例, 平均年龄36.17岁±12.57岁; 骶麻组38例, 男33例, 女5例, 平均年龄35.92岁±13.79岁. 应用骶麻患者痔、肛瘘、肛裂、肛周脓肿、肛乳头肥大、直肠息肉分别22、8、4、2、2、0例; 应用腰麻患者痔、肛瘘、肛裂、肛周脓肿、肛乳头肥大、直肠息肉分别16、8、3、5、2、2例.

### 1.2 方法

1.2.1 麻醉: (1)腰麻组采用的药液为10%葡萄糖1 mL加入0.75%布比卡因15 mg, 配成重比重液共3 mL, 浓度为0.5%. 患者取侧卧位, 选用25 G腰穿针, 在L3-4椎间隙直入法进针, 穿刺成功, 见脑脊液流出后, 向尾侧注入局麻药2 mL(布比卡因10 mg), 药液于10 s内推完, 注药后将体位调为头高脚低位; (2)骶管麻醉组采用的药液是2%利多卡因10 mL加0.75%布比卡因5 mL(37.5 mg), 共15 mL. 患者采用侧卧位或俯卧位, 用7号针头于骶管裂孔穿刺, 成功后注入3-5 mL试验剂量, 观察5 min后, 确认无脊髓麻醉表现后, 将剩余药液一次性注入.

1.2.2 麻醉效果评定: 采用语言评价量表(verbal rating scale, VRS), 满意: 手术无疼痛, 肛门松弛; 不满意: 手术时有轻度疼痛或牵拉痛, 肛门松弛不完全; 差: 疼痛明显, 需用其他辅助方法才能完成手术. 麻醉起效时间定义为自给药开始至患者达到最大麻醉效应所需的时间. 当麻醉达

到最大效应后, 开始消毒、铺单, 进行手术.

1.2.3 心血管系统不良反应: 心率下降, 低于50次/min, 或心率降低幅度超过基础值的30%视为心动过缓, 发生时静脉给予阿托品0.5 mg; 收缩压低于90 mmHg, 或收缩压下降幅度超过基础值的30%, 视为低血压, 发生时静脉给予麻黄碱10 mg; 心率降低或低血压有一项发生, 即视为发生心血管系统不良反应<sup>[3]</sup>.

**统计学处理** 采用SPSS13.0统计软件进行统计学分析, 对计量资料, 均数以mean±SD表示, 组间比较采用独立样本的*t*检验, 计数资料比较采用 $\chi^2$ 检验, 以 $P<0.05$ 为差异显著.

## 2 结果

2.1 一般资料 两组患者性别、年龄、病种及手术时间等资料相比, 均 $P>0.05$ . 骶麻组平均手术时间为13.45 min±3.11 min, 腰麻组平均手术时间为13.91 min±3.46 min, 两组相比, 差异没有统计学意义( $P>0.05$ ).

2.2 麻醉效果 腰麻组腰组满意35例, 不满意1例, 满意率97%; 骶麻组满意30例, 不满意4例, 差4例, 满意率79%, 两组之间的差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

2.2 心血管系统不良反应 骶麻组有2例发生心动过缓, 无低血压病例发生; 腰麻组6例发生低血压, 6例发生心动过缓, 其中一例同时出现低血压、心动过缓, 共计11例出现心血管系统不良反应, 两组之间的差异有统计学意义( $P<0.01$ ). 上述病例, 经对症治疗后, 血压、心率均恢复正常.

2.3 呼吸系统不良反应 两组患者术中均未出现胸闷, 血氧饱和度下降等呼吸系统不良反应.

2.4 术后尿潴留 骶麻组术后发生尿潴留3例, 发生率为7.9%; 腰麻组4例, 发生率为11.1%, 两组比较, 无统计学差异( $P>0.05$ ).

2.5 麻醉生效时间及恢复时间 腰麻组麻醉生效时间明显短于骶麻组, 两组之间的差异有统计学意义(1.98 min±0.62 min vs 8.99 min±1.23 min,  $P<0.01$ ), 骶麻组术后平均感觉恢复时间短于腰麻组, 但两组比较, 无统计学差异(288 min±104 min vs 324 min±88 min,  $P>0.05$ ).

2.6 神经系统并发症 腰麻组全部36例无1例发生脊麻后头痛. 两组患者术中及术后均未出现感觉异常等神经损伤的并发症.

## 3 讨论

直肠、肛管神经分布丰富, 齿状线以上直肠、

### ■ 相关报道

由于担心术中出现的心血管不良反应, 国内肛肠手术骶麻应用多于腰麻, 而由于骶麻存在一定的失败率, 国外腰麻应和要多于骶麻.



### ■应用要点

在肛肠手术中应用腰麻,在麻醉效果上较骶管麻醉具有更多的优势,操作简单,起效迅速,麻醉效果确切;但腰麻对血流动力学的影响要高于骶管麻醉。

肛管由交感神经和副交感神经支配,交感神经来自下腹神经丛(L1-L5)及腹腔神经丛(T11-L2),副交感神经为骶副交感神经(S2-S4)及齿状线以下皮肤受体神经支配,主要有阴部神经(S2-S4)的分支痔下神经和前扩约肌神经,及肛尾神经(S4-Co1)和第4骶神经会阴支。由于肛周区域神经分布丰富,对痛觉极敏感,肛肠手术需要麻醉程度较深。一旦术中麻醉深度不够,患者会感觉剧烈疼痛,反射性的躯体活动,严重者甚至会出现呼吸急促、喉痉挛等情况。在肛肠手术中,理想的麻醉方案应满足如下几点:(1)起效迅速、平稳;(2)术中无痛,肌肉松弛;(3)无术中不良反应(心血管不良反应,呼吸抑制,不自主活动,躁动);(4)麻醉恢复迅速,且无副反应发生;(5)术后早期无痛;(6)具有良好的性价比<sup>[4]</sup>。

椎管内麻醉(腰麻、骶麻)可满足肛肠手术的要求,目前在肛肠手术中广泛应用。无论腰麻还是骶麻,应用于临床都已超过百年,操作简单,并发症少。椎管内麻醉除了能满足手术需求外,还具有如下优点:(1)术中过程平稳,很少有恶心、呕吐等情况发生;(2)术后疼痛较轻;(3)患者术中意识清楚,可以与术者进行交流;(4)费用较低,具有较好的性价比<sup>[4]</sup>。

腰麻,即蛛网膜下腔麻醉,将局麻药注入蛛网膜下腔,直接作用于脊髓,具有用量小,起效快,术中镇痛明确,肌松良好,阻滞完全等特点。腰麻的另一个优点就是操作简单,易于掌握。有研究显示,在有经验医师监督下完成40-70例腰麻,麻醉操作成功的几率即在90%以上<sup>[5,6]</sup>。本组病例,均选用腰3-4间隙穿刺,回抽脑脊液通畅后再给药,麻醉效果确切。仅有1例回抽脑脊液不畅,结果术中麻醉效果不满意,考虑为局麻药未完全注入蛛网膜下腔所致。在腰麻中,影响麻醉平面的主要因素为局麻药的比重及体位,肛肠手术通常选用重比重局麻药,因此平面控制主要靠体位来调节。

骶管麻醉属于硬膜外麻醉,通过骶管裂孔将局麻药物直接注入硬膜外腔,使骶神经得以阻滞。同腰麻相比,骶麻具有如下优点:阻滞的范围与注入的局麻药的容量相关,因此麻醉平面更容易预测;感觉、运动分离:肛周感觉阻滞比较充分而下肢运动阻滞较轻或没有阻滞;心血管不良反应发生率较低;应用长效局麻药,患者术后无痛时间较长<sup>[4]</sup>。骶麻的缺点是存在一定的失败率,各家报导不同, Galindo等<sup>[7]</sup>报导失败率高达23%,而Wong等<sup>[8]</sup>报导的失败率仅为

4.3%。导致骶麻失效的主要原因为骶管解剖异常, Aggarwal等<sup>[9]</sup>的研究显示,双侧骶骨角均不能触及的占14.3%,一侧骶骨角不能触及的占24.5%;而庄心良等<sup>[10]</sup>指出,约有20%左右正常人的骶管呈解剖异常,骶管裂孔畸形或闭锁者占10%。本组8例麻醉效果不满意,占骶麻组的21%,除穿刺失败外,可能影响骶管麻醉效果的原因还有:药液大部分被脂肪组织吸收,而对神经的渗透少;药液自骶后孔流出,但很少从骶前孔流出<sup>[11]</sup>。

在局麻药的选择上,骶麻组患者采用局麻药混合剂(利多卡因加布比卡因)。在骶麻中应用混合局麻药,通常选用起效速度和持续时间不同的两种局麻药物,这样,在保证麻醉起效时间的前提下,可维持较长的作用时间<sup>[12]</sup>。如果以普鲁卡因的作用强度作为1的话,利多卡因的强度为2,布比卡因的强度为6<sup>[3]</sup>,即布比卡因的麻醉强度是利多卡因的3倍,这样,混合液中利多卡因200 mg,相当于布比卡因66 mg的强度,混合液局麻药总剂量大致相当于布比卡因100 mg的作用强度,为腰麻组布比卡因剂量的10倍。

心血管不良反应为腰麻最常见的不良反应,表现为低血压、心动过缓,严重者会发生心跳骤停。本研究显示,腰麻组低血压及心率下降的发生率均为16.7%,心血管不良反应发生率达30.6%,明显高于骶麻组。有统计表明,腰麻时心跳骤停的发生率在0.004-1/10 000<sup>[13,14]</sup>,低血压发生率在33%左右,心动过缓的发生率在13%左右<sup>[15,16]</sup>。心血管不良反应主要是由于交感神经阻滞所致,其程度依赖于阻滞平面的高度。在腰麻,交感神经阻滞的范围高于感觉阻滞平面2-6个皮肤节段,而在硬膜外麻醉时是与感觉阻滞平面相同的<sup>[17]</sup>。因此,腰麻较硬膜外麻醉更易发生心血管系统不良反应。腰麻组心血管系统不良反应发生率较高,与穿刺时体位有关,如改为坐位穿刺,即鞍麻,心血管系统不良反应的发生率会显著降低,有报道与骶管麻醉相仿<sup>[18]</sup>。

脊麻后头痛(postdural puncture headache, PDPH)是腰麻最常见的术后并发症,被认为是脑脊液经硬膜穿孔流失,脑脊液压力降低引起的低颅内压性疼痛。头痛不会导致生命危险,但限制了患者活动,并延长了住院时间。引起穿刺后头痛的因素有年龄、性别、穿刺针的粗细及穿刺针的类型。McSwiney等<sup>[19]</sup>比较了脊麻后头痛与穿刺针粗细的关系:应用20-22G腰穿针,头痛发生率为16.4%,25-26 G腰穿针,头痛的发生率

降为3.5%, 29G腰穿针, 头痛发生率为1.37%。而Vallejo等<sup>[20]</sup>的研究显示, 钝头(笔尖式)穿刺针引起头痛的几率要低于切割式腰穿针。本组腰穿针选用25G笔尖式腰穿针, 无1例头痛发生。

尿潴留是肛门、直肠手术后最常见的并发症之一。其发生率各家报道不同, 从52%到32%不等<sup>[21,22]</sup>。肛门直肠的神经支配与泌尿系统属同一神经节段(S2-S4)。如阻滞时间长, 则术后尿潴留的发生率高<sup>[23]</sup>。Pertek等<sup>[24]</sup>指出: 术后尿潴留的发生率与麻醉方式无关。本研究显示, 腰麻组与骶管麻醉组术后感觉恢复时间无统计学差异, 尿潴留的发生率亦无统计学差异。

通过比较, 在肛肠手术中应用腰麻, 在麻醉效果上较骶管麻醉具有更好的优势, 操作简单, 起效迅速, 麻醉效果确切; 但腰麻对血流动力学的影响要高于骶管麻醉。因此, 腰麻的开展必须具备心肺复苏及呼吸管理能力, 术中须密切监测血压、心率情况, 一旦发现有血压或心率下降, 立即给予干预。

#### 4 参考文献

- 1 吴阶平, 裘法祖. 黄家驹外科学. 第6版. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 1174
- 2 Li S, Coloma M, White PF, Watcha MF, Chiu JW, Li H, Huber PJ. Comparison of the costs and recovery profiles of three anesthetic techniques for ambulatory anorectal surgery. *Anesthesiology* 2000; 93: 1225-1230
- 3 盛卓人, 王俊科. 实用临床麻醉学. 第4版. 北京: 科学出版社, 2009: 188, 368-369
- 4 Gudaityte J, Marchertiene I, Pavalkis D. Anesthesia for ambulatory anorectal surgery. *Medicina (Kaunas)* 2004; 40: 101-111
- 5 Kopacz DJ, Neal JM, Pollock JE. The regional anesthesia "learning curve". What is the minimum number of epidural and spinal blocks to reach consistency? *Reg Anesth* 1996; 21: 182-190
- 6 Konrad C, Schüpfer G, Wietlisbach M, Gerber H. Learning manual skills in anesthesiology: Is there a recommended number of cases for anesthetic procedures? *Anesth Analg* 1998; 86: 635-639
- 7 Galindo A, Benavides O, De Munos SO, Bonila O, Pena R. Comparison of anesthetic solutions used in lumbar and caudal peridural anesthesia. *Anesth Analg* 1978; 57: 175-179
- 8 Wong SY, Li JY, Chen C, Tseng CH, Liou SC, Tsai SC, Kau YC, Wong KM. Caudal epidural block for minor gynecologic procedures in outpatient surgery. *Chang Gung Med J* 2004; 27: 116-121
- 9 Aggarwal A, Kaur H, Batra YK, Aggarwal AK, Rajeev S, Sahni D. Anatomic consideration of caudal epidural space: a cadaver study. *Clin Anat* 2009; 22: 730-737
- 10 庄心良, 曾因明, 陈伯鑫. 现代麻醉学. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 1093
- 11 韩庆丰, 崔浩杰, 边小松, 马俊彪, 宗亚振. 肛肠手术行骶管麻醉操作技巧的临床研究. *结直肠肛门外科* 2011; 17: 304-306
- 12 Ye F, Feng YX, Lin JJ. A ropivacaine-lidocaine combination for caudal blockade in haemorrhoidectomy. *J Int Med Res* 2007; 35: 307-313
- 13 Auroy Y, Narchi P, Messiah A, Litt L, Rouvier B, Samii K. Serious complications related to regional anesthesia: results of a prospective survey in France. *Anesthesiology* 1997; 87: 479-486
- 14 Aromaa U, Lahdensuu M, Cozantitis DA. Severe complications associated with epidural and spinal anaesthetics in Finland 1987-1993. A study based on patient insurance claims [see comment]. *Acta Anaesthesiol Scand* 1997; 41: 445-452
- 15 Carpenter RL, Caplan RA, Brown DL, Stephenson C, Wu R. Incidence and risk factors for side effects of spinal anesthesia. *Anesthesiology* 1992; 76: 906-916
- 16 Arndt JO, Bömer W, Krauth J, Marquardt B. Incidence and time course of cardiovascular side effects during spinal anesthesia after prophylactic administration of intravenous fluids or vasoconstrictors. *Anesth Analg* 1998; 87: 347-354
- 17 Miller RD. 米勒麻醉学. 第6版. 北京: 北京大学医学出版社, 2006: 1677
- 18 冯秀梅, 刘静, 曹永. 不同麻醉方法应用于肛肠手术的临床分析. *齐齐哈尔医学院学报* 2011; 32: 2421-2422
- 19 McSwiney M, Phillips J. Post dural puncture headache. *Acta Anaesthesiol Scand* 1995; 39: 990-995
- 20 Vallejo MC, Mandell GL, Sabo DP, Ramanathan S. Postdural puncture headache: a randomized comparison of five spinal needles in obstetric patients. *Anesth Analg* 2000; 91: 916-920
- 21 Prasad ML, Abcarian H. Urinary retention following operations for benign anorectal diseases. *Dis Colon Rectum* 1978; 21: 490-492
- 22 Petros JG, Bradley TM. Factors influencing post-operative urinary retention in patients undergoing surgery for benign anorectal disease. *Am J Surg* 1990; 159: 374-376
- 23 陆卫萍, 陆双伟, 曹福田. 罗比卡因腰麻在肛门直肠部手术中的应用初探. *临床麻醉学杂志* 2004; 20: 748-749
- 24 Pertek JP, Haber JP. [Effects of anesthesia on post-operative micturition and urinary retention]. *Ann Fr Anesth Reanim* 1995; 14: 340-351

#### ■同行评价

本文比较腰麻和骶管麻醉在肛门手术中的效果, 有一定的临床意义。

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

# 血管介入结合手术切除巨大无症状嗜铬细胞瘤1例

王帅, 黄汉飞, 段键, 邹文香, 罗罡, 曾仲

## ■背景资料

无症状嗜铬细胞瘤又称为隐匿性嗜铬细胞瘤, 可以来源于肾上腺组织, 也可以来源于身体任何有交感神经节分布的器官和组织, 如膀胱、后腹膜等。据统计大约有70%的偶发肾上腺肿瘤是无功能的, 尤其是<1 cm的肿瘤, 此类患者往往没有嗜铬细胞瘤的常见症状如高血压、头痛、代谢紊乱等症状, 相关实验室检查也可没有阳性结果。

## ■同行评价

袁友红, 副教授, 湖南省人民医院科研部; 王悦华, 副主任医师, 首都医科大学附属宣武医院外科

王帅, 黄汉飞, 段键, 邹文香, 罗罡, 曾仲, 昆明医科大学第一附属医院器官移植中心 云南省昆明市 650032  
云南省创新团队基金资助项目, No. 2009CI009  
王帅, 硕士, 主要从事肝缺血再灌注损伤方向的研究。  
作者贡献分布: 曾仲负责诊治、主刀手术; 罗罡实施介入治疗; 王帅、黄汉飞、段键及邹文香共同收集资料; 王帅完成写作部分。  
通讯作者: 曾仲, 博士, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院器官移植中心。  
zzong@medmail.com.cn  
电话: 0871-5324888-2438  
收稿日期: 2012-04-10 修回日期: 2012-08-18  
接受日期: 2012-08-21 在线出版日期: 2012-09-18

## Vascular intervention combined with surgery for the management of huge asymptomatic pheochromocytoma: A report of one case

Shuai Wang, Han-Fei Huang, Jian Duan, Wen-Xiang Zou, Gang Luo, Zhong Zeng

Shuai Wang, Han-Fei Huang, Jian Duan, Wen-Xiang Zou, Gang Luo, Zhong Zeng, Organ Transplantation Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China  
Supported by: the Yunnan Innovation Team Foundation, No. 2009CI009  
Correspondence to: Zhong Zeng, Professor, Chief Physician, Organ Transplantation Center, Kunming Municipal Hospital, Kunming 650032, Yunnan Province, China. zzong@medmail.com.cn  
Received: 2012-04-10 Revised: 2012-08-18  
Accepted: 2012-08-21 Published online: 2012-09-18

## Abstract

Asymptomatic pheochromocytoma accounts for about 10%-17% of cases of adrenal gland pheochromocytoma. Due to the lack of specific clinical symptoms and signs, asymptomatic pheochromocytoma is often difficult to diagnose. As it often has a rich blood supply and blood supply source is extremely irregular, surgical excision is challenging. A patient was admitted to our hospital due to repeated right epigastric pain and abdominal distension for 2 years and aggravation for 7 days. A preoperative diagnosis of right upper quadrant abdominal huge tumor was made. He underwent vascular intervention and surgical excision, and postoperative patho-

logic analysis suggested pheochromocytoma.

**Key Words:** Pheochromocytoma; Imaging examination; Intervention; Vascular embolization

Wang S, Huang HF, Duan J, Zou WX, Luo G, Zeng Z. Vascular intervention combined with surgery for the management of huge asymptomatic pheochromocytoma: A report of one case. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(26): 2538-2541

## 摘要

无症状嗜铬细胞瘤约占肾上腺嗜铬细胞瘤的10%-17%, 由于缺乏特殊的临床症状和体征, 其定性及确定组织来源均比较困难, 加之其往往有丰富的血供和供血来源极不规则, 因此手术切除难度大。我院1例患者因反复右上腹隐痛伴腹胀2年, 加重7 d于2011-10-10入院。术前诊断为右上腹巨大肿瘤, 于2011-10-18行血管介入结合手术切除, 术后病理诊断为: 嗜铬细胞瘤。

**关键词:** 嗜铬细胞瘤; 影像学检查; 介入; 血管栓塞

王帅, 黄汉飞, 段键, 邹文香, 罗罡, 曾仲. 血管介入结合手术切除巨大无症状嗜铬细胞瘤1例. *世界华人消化杂志* 2012; 20(26): 2538-2541  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2538.asp>

## 0 引言

从1962年意大利学者Calabrese<sup>[1]</sup>开始报道无症状嗜铬细胞瘤到现在, 既往研究发现, 约10%-17%的肾上腺嗜铬细胞瘤没有任何临床症状, 虽临床上对他的认识越来越全面和深入, 但其诊断和治疗对临床医生仍是严峻的考验, 尤其是对巨大的无症状嗜铬细胞瘤, 因其定性及确定组织来源均比较困难, 加之往往有丰富的血供和供血来源极不规则<sup>[2]</sup>, 血管介入结合手术切除为其提供一种新的治疗方式。

## 1 病例报告

男, 45岁, 因反复右上腹隐痛伴腹胀2年, 加重7 d于2011-10-10入院。患者于2009-06无明显诱因感

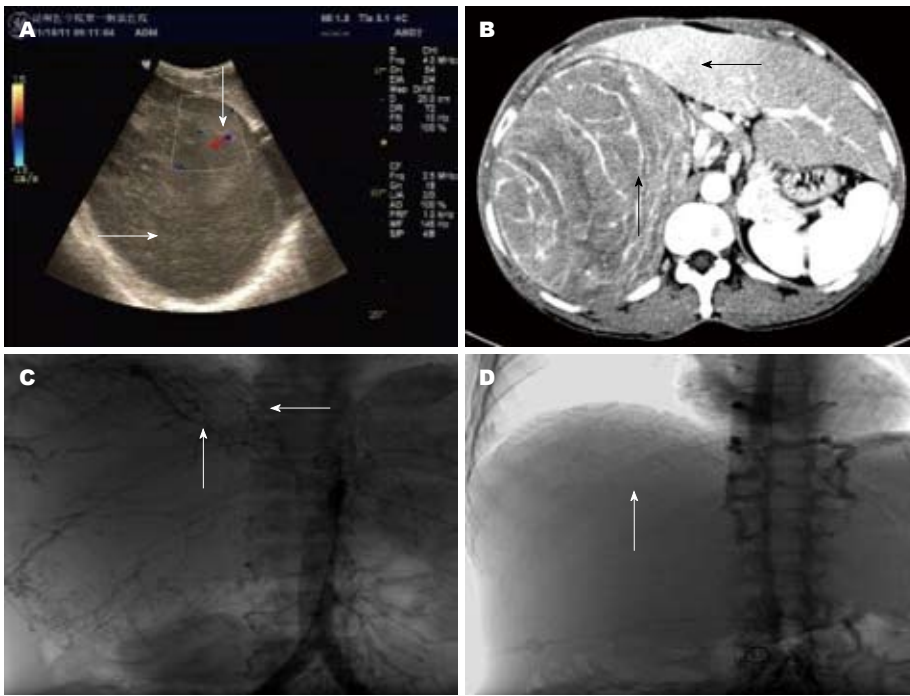


图1 肿瘤的术前影像及行栓塞治疗影像图。A: 腹部B超检查示肿瘤位于右上腹, 病变为实性包块, 边界清, 有包膜(→), 运动度似与肝脏不一致, 肿瘤供血血管血流丰富(↓); B: 腹部CT检查示肝右叶(←)巨大肿块向肝外生长, 边界清楚, 强化程度低于正常肝脏组织, 肿瘤供血血管丰富(↑); C: 介入栓塞术前DSA检查示右上腹部巨大肿瘤, 供血血管丰富, 主要由肝右动脉(↑)、右膈动脉(←)、L1右侧腰动脉及右肾动脉起始部一支动脉(考虑腰动脉)参与供血; D: 介入栓塞术后DSA检查示可见行栓塞术后, 以上的供血动脉主干存在, 肿瘤血管血供减少(↑)。

右上腹隐痛, 呈持续性痛, 无他处放射痛, 无恶心呕吐, 无反酸暖气, 无呕血黑便, 患者曾自认为是“胃病”并予以“胃舒平”治疗症状可缓解。近两年来上述症状反复发生, 性质及程度无明显改变。近7 d来, 患者感右上腹疼痛症状较前加剧并伴全腹胀痛, 患者服用胃药后无明显缓解。个人史: 患者既往身体健康, 无传染病及手术、输血、外伤史。家族史: 父母健在, 否认其他家族遗传性病史, 否认家族中有类似患者。体格检查: 生命体征正常, 皮肤巩膜无黄染, 右中上腹稍隆起, 未见胃肠型及蠕动波, 无腹壁静脉曲张, 右上腹可扪及一巨大包块, 质中等, 边界清, 活动不明显, 无压痛及反跳痛, 肝脾未扪及, 肝肾区无叩痛, 双下肢无浮肿。实验室检查: 血常规、生化检查未见明显异常, 凝血功能、大、小便常规, 肝功能储备均正常, 肿瘤标志物检查一, 肝炎标志物一。影像学检查: 腹部B超检查: 肝脏形态大小正常, 实质回声均匀, 肝内管系走行正常, 肝内胆管未见扩张。门静脉主干内径1.0 cm, CDFI、CDE示门静脉充盈良好, 未见明显充盈缺损, PW示V = 18 cm/s。右上腹探及一大约21.3 cm×15.8 cm×20.7 cm实性包块, 边界清, 有包膜, 运动度似与肝脏不一致, CDFI、CDE示包块内可引出血流信号, PW示

为低速低阻动脉频谱。超声诊断: 右上腹巨大实性包块, 性质待查(腹膜后来源? 肝脏占位?)(图1A)。腹部CT检查: 肝右叶巨大肿块向肝外生长, 由肝左、右动脉共同供血, 肝右动脉受压后移, 肝左动脉及门静脉右支、下腔静脉、胰腺、胆囊受压向左前移位, 右肾向内下方移位。CT诊断: 肝右叶肿瘤, 血管平滑肌脂肪瘤? 纤维瘤? (图1B)。肿瘤DSA检查: 右上腹部巨大肿瘤, 主要由肝右动脉、右膈动脉、L1右侧腰动脉及右肾动脉起始部一支动脉(考虑腰动脉)参与供血。可见粗细不均的肿瘤血管, 未见动静脉瘘, 动脉后期可见巨大肿瘤染色。栓后造影: 可见以上的供血动脉主干存在, 肿瘤血管消失。下腔静脉造影: 可见下腔静脉呈受压、推移改变。DSA诊断: 右上腹部巨大占位病变, 多考虑肝右叶占位(图1C, D)。

给予患者病情及综合实验室、影像学检查考虑患者为右上腹部巨大占位病变: 肝右叶占位? 腹膜后来源占位? 治疗: 2011-10-17在介入科行腹主动脉造影和下腔静脉造影, 行相应肿瘤动脉栓塞术。造影见: 右上腹部巨大肿瘤, 主要由肝右动脉、右膈动脉、L1右侧腰动脉及右肾动脉起始部一支动脉(考虑腰动脉)参与供血。可见粗细不均的肿瘤血管, 未见动静脉瘘, 动脉

#### ■ 研究前沿

随着对嗜铬细胞瘤认识程度的提高, 典型肾上腺嗜铬细胞瘤的诊治已逐渐为广大临床医师所掌握。但是, 对于直径在10 cm以上的巨大嗜铬细胞瘤而言, 在术前定位、术前高血压的控制、手术径路的选择以及术中血容量的补充和术后随访等方面, 尚存在一些值得进一步深入探讨的问题。

#### ■ 相关报道

对于巨大嗜铬细胞瘤的定义目前尚无明确统一的标准。有将肿瘤质量超过500 g的嗜铬细胞瘤定义为巨大嗜铬细胞瘤。也有将肿瘤直径>10 cm者定义为巨大嗜铬细胞瘤。



### ■创新盘点

本病例以术前栓塞联合手术使巨大嗜铬细胞瘤手术切除更为容易,其临近正常结构不易损伤,术中出血明显减少,手术时间缩短,术后并发症的发生降低,具有较好的临床应用价值。

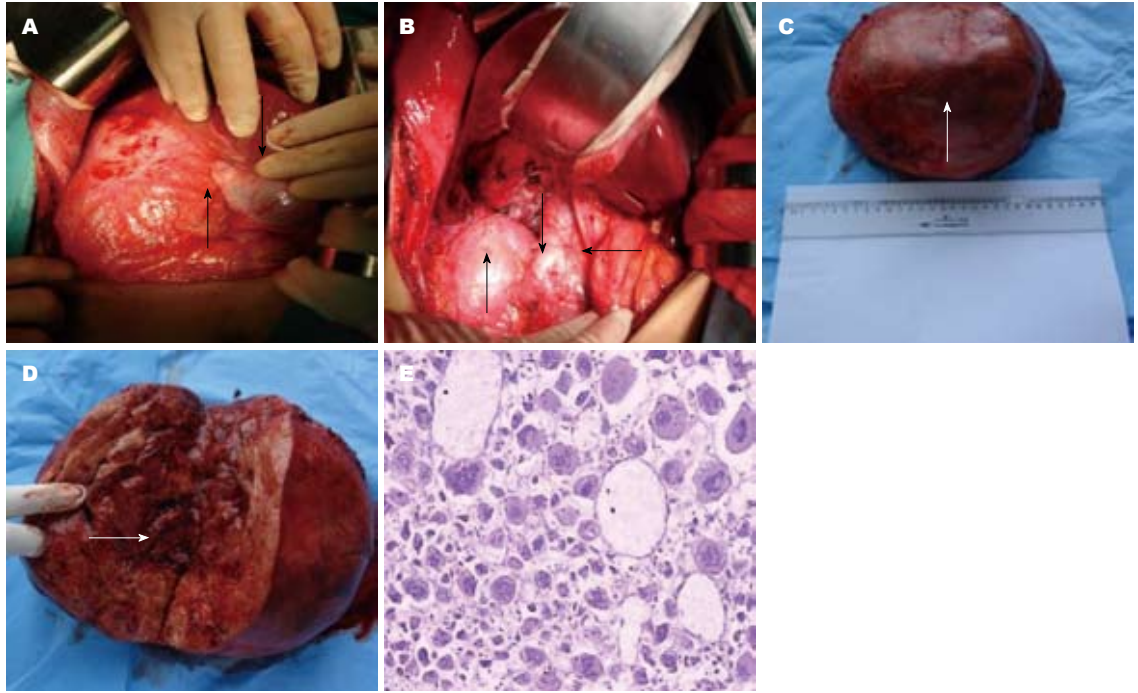


图2 肿瘤的具体形态影像及病理学。A: 术中开腹探查时的肿瘤(↑)于肝脏(↓)的位置关系; B: 术中完整切除肿瘤,其创面显示其于右肾(↑)、右肾静脉(↓)、下腔静脉(←)的关系密切; C: 完整切除的肿瘤大小约23 cm×17 cm×19 cm,质量为3.5 kg,肉眼观肿瘤表面呈稍红色,包膜完整,质地中等(↑); D: 术毕剖开肿瘤,可见肿瘤为实性,切面呈稍红色,中央有部分坏死区(→); E: 病理检查结果为嗜铬细胞瘤,肿瘤细胞呈圆形、椭圆形,排列成条索状、巢团状,胞质淡染或空泡状,间质血管丰富。

后期可见巨大肿瘤染色。将右肝动脉分支、右膈动脉、右腰动脉和右肾动脉的肿瘤供应支予以栓塞,造影可见下腔静脉呈受压、推移改变。2011-10-18行剖腹探查腹膜后巨大肿瘤切除术,取右上腹反“L”切口,术中探查见肝脏质软,肝脏向左上腹转位,肿瘤大部位位于右季肋区及腹上区,少部分位于中腹部,约23 cm×17 cm×19 cm,肝右叶受压萎缩变薄,结肠肝曲及右肾向下推移。肿瘤质地韧,表面布满粗细不均供瘤血管,供瘤动脉血管大部经栓塞已无搏动(图2A)。切开肿瘤外侧被膜,先沿肿瘤包膜外侧从上、下和外侧游离肿瘤,切断肿瘤滋养血管,至肿瘤内侧,见其内侧面有肾上腺附着,逐步分离肿瘤与肝后下腔静脉间沟通血管,钳夹切断, Prolene线缝扎。最后钝性分离肿瘤后部与腹膜后间隙之疏松连接,完整摘除肿瘤(图2B)。腹腔创面电凝止血,探查右肾脏红润,肾动脉搏动良好,肝动脉、胆囊动脉搏动良好,于肝下肿瘤窝置腹引管1根。术中出血约600 mL,术中病情平稳,切除肿瘤称质量为3.5 kg。肉眼观肿瘤表面呈微红色,包膜完整,质地较软(图2C)。术毕剖开肿瘤,肿瘤为实性,切面呈微红色,中央有深红色坏死区(图2D)。患者术后恢复顺利,治愈出院。病理检查结果:(右上腹包块)HE形态结合免疫组化结果符合嗜铬细胞瘤伴局部细胞增生活跃。病理

诊断为嗜铬细胞瘤(图2E)。

## 2 讨论

该患者临床症状不典型,从住院、介入到肿瘤切除术后血压波动于110-125/75-85 mmHg,均未出现血压过高或过低现象,一直处于较稳定水平,其血生化及常规未见明显异常,故本例属于无症状嗜铬细胞瘤,此类患者往往无嗜铬细胞瘤的常见症状如高血压、头晕头痛、代谢紊乱等,相关实验室检查也可无阳性结果。完善超声、CT及DSA检查后,术前诊断欠明确,提示为腹腔内巨大占位:(1)腹膜后来源?(2)肝脏肿瘤?术中证实肿瘤为腹膜后肾上腺来源,术后病理检查诊断为嗜铬细胞瘤。

对于此类巨大嗜铬细胞瘤,其往往具有血供丰富,供血来源极不规则,侧支循环多,外科手术中出血量大,手术操作可能对重要血管(下腔静脉、肾静脉、脾血管等)及重要脏器(肝脏、胰腺、胃、肠、肾脏等)造成损伤。从影像检查可见患者肿瘤血供丰富,手术风险大,故本例患者在术前1 d给予介入栓塞治疗,最主要的目的在于减少术中出血,降低手术风险,使临近正常结构不易损伤,缩短手术时间,减少并发症的发生<sup>[3]</sup>,本例选择术前1 d行介入栓塞治疗的另一个原因是可以减少介入治疗所引起的肿瘤的炎症及水肿

### ■应用要点

在选择巨大嗜铬细胞瘤的手术径路时,必须认真地研究肿瘤的影像学检查结果,充分评估手术的难易程度,选择能充分显露肿瘤及其周围情况的手术切口,以便在手术中能较为顺利地切除肿瘤,并使手术并发症减少到最低限度。有第11肋间或第10肋间切口,胸腹联合切口,腹部切口可行巨大嗜铬细胞瘤的手术切除治疗。



反应. 因此术前栓塞是一种有效的辅助治疗方法.

手术切除肿瘤是目前治疗嗜铬细胞瘤的唯一有效方法, 手术入路选择与肿瘤定位关系密切, 最佳的手术途径应是手术视野暴露清晰, 操作方便, 避免损伤肿瘤周围血管与脏器, 能安全完整切除肿瘤, 防止遗漏多发性与肾上腺外嗜铬细胞瘤, 同时又能使手术创伤减少到最低程度. 目前最常用的有侧位腹膜后与经腹腔入路, 经腹腔入路又分胸腹联合切口和腹部切口<sup>[4]</sup>. 本例经腹反“L”型切口并利用自动拉钩也达到

很好的手术视野暴露, 同时也便于探查腹腔内脏器, 特别是明确肿瘤于肝脏的关系, 确保完整切除肿瘤, 保证了手术效果.

### 3 参考文献

- 1 Calabrese G. [On asymptomatic pheochromocytoma]. *Arch Ital Chir* 1962; 88: 563-573
- 2 祝宇. 手术治疗巨大嗜铬细胞瘤20例报告. *临床泌尿外科杂志* 2004; 19: 148-150
- 3 李彦豪, 何晓峰, 陈勇. 实用介入诊疗技术图解. 第1版. 北京: 科学出版社, 2002: 336-337
- 4 孙福康, 张祖豹, 吴瑜璇. 嗜铬细胞瘤手术切口的选择(附103例报告). *临床泌尿外科杂志* 2001; 16: 54-56

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

### ■同行评价

本文报道肾上腺嗜铬细胞瘤行瘤动脉栓塞术, 再行外科手术切除, 具有一定科学与临床意义.

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

# 《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<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T<sub>1/2</sub>, Vmax不能Vmax,  $\mu$ 不写为英文u. 需排斜体的外文文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ , Vd,  $T_{1/2}$  CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家

标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 $M_r$  30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 $A_r$ (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/L$ , WBC数用 $1 \times 10^9/L$ , WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L.  $M_r$ 明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量 $\gamma$ 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% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm =  $45 \times 10^{-6}$ ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

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)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写*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<sup>a</sup>*P*<0.05, <sup>b</sup>*P*<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则<sup>c</sup>*P*<0.05, <sup>d</sup>*P*<0.01; 第三套为<sup>e</sup>*P*<0.05, <sup>f</sup>*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: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

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<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正

《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](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28 d。所有的来

稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。接受后的稿件作者需缴纳稿件发表费, 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](mailto: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

2012-12-07/11

第十二届全国消化道恶性病变介入诊疗研讨会暨2012内镜/介入/放射及肿瘤微创外科新技术国际论坛

会议地点: 昆明市

联系方式: 283409817@qq.com或7420hjh@sohu.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!

蔡开琳 副教授

华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

陈卫昌 教授

苏州大学附属第一医院消化内科

陈钟 教授

南通大学附属医院普外科, 肝胆外科, 南通大学肝胆外科研究所

崔云甫 教授

哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

杜奕奇 副教授

中国人民解放军第二军医大学长海医院

范学工 教授

中南大学湘雅医院

房静远 教授

仁济医院消化所

冯志杰 主任医师

河北医科大学第二医院消化内科

戈之铮 教授

上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

谷俊朝 主任医师

首都医科大学附属北京友谊医院普外科

管冬元 副教授

上海中医药大学基础医学院实验中医学教研室

何晓顺 教授

中山大学附属第一医院

黄志勇 教授

华中科技大学同济医院普外科

姜相君 主任医师

青岛市市立医院消化科

李勇 副教授

上海中医药大学附属市中医医院消化科

林志辉 教授

福建省立医院消化内科

刘宝林 教授

中国医科大学附属盛京医院

刘占举 教授

同济大学附属上海市第十人民医院

倪润洲 教授

南通大学附属医院消化内科

孙星 副教授

上海交通大学附属第一人民医院普外科

肖恩华 教授

中南大学湘雅二医院放射教研室

徐泱 副主任医师

复旦大学附属中山医院肝外科复旦大学肝癌研究所

姚鹏 副教授

中国人民解放军北京军区总医院全军肝病中心

俞继卫 副主任医师

上海交通大学医学院附属第三人民医院普外科

禹正杨 副教授

南华大学附属第一医院

袁友红 副教授

湖南省人民医院科研部(放射与介入科)

张凤春 教授

上海交通大学医学院附属仁济医院肿瘤中心

张国梁 主任医师

天津市第一中心医院消化内科

张俊 副研究员

上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

张明辉 副主任医师

河北医科大学第一医院肝病中心(传染病)