

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1月28日 第20卷 第3期 (Volume 20 Number 3)



3 / 2012

ISSN 1009-3079



《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
张宗明教授
姚登福教授

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
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
房林副教授
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
姜卫东教授
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
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
汪波副主任医师
汪根树副教授
王德盛副主任医师
王凤山教授
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
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
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
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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

孙殿兴主任医师

谭德明教授

汤华研究员

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

李瑗教授

刘宝瑞教授

刘平教授

刘云鹏教授

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

张春虎副教授

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

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

消化病理学

杜祥教授

季菊玲副教授

李淳副教授

李晟磊副主任医师

刘丽江教授

刘勇钢副主任医师

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1月28日 第20卷 第3期 (总第371期)

述 评	181 NF- κ B与胃癌的靶向治疗研究进展 刘静, 刘冰熔, 刘婷
基础研究	187 shRNA沉默干扰HMGA2基因对胃癌细胞株MKN-45的增殖与凋亡的影响 陈家庄, 赖铭裕, 韦丽秀
临床研究	193 胃腺癌患者舌苔变化及其血清sE-cad水平和临床检验指标的相关性 张军峰, 吴娟, 孙正, 张春兵, 佟书娟, 杨亚平, 马宏跃, 秦蕾, 董伟, 詹臻 200 不同大小的肝细胞癌超声造影特点 马琳, 卢强, 凌文武, 周翔, 林玲, 时莹瑜, 罗燕
文献综述	205 共聚焦显微镜辅助下诊断早期胃癌的可行性 李守震, 王权 210 胰腺移植术后并发症及其防治 肖江强, 施晓雷, 丁义涛
研究快报	215 槲皮素对人胃癌细胞侵袭和MMP-2表达的影响 王晓燕, 张尤历, 张恒, 祁卫东, 范钰 219 黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合征大鼠肥大细胞与P物质的影响 霍涛, 胡团敏, 黄思付 224 茴香提取液对地塞米松诱导大鼠胰岛素抵抗的影响 王彩冰, 黄彦峰, 黄丽娟, 何显教, 晋玲, 赵善民
临床经验	229 乙型肝炎肝硬化血清透明质酸与HBV DNA的相关性 金宏慧, 李仲平 233 非酒精性脂肪性肝病显著肝纤维化的无创诊断 李爽 238 吉西他滨联合奥沙利铂经肝动脉化疗栓塞防治肝癌术后复发 肖运平, 刘惕生, 阮天羽, 潘光栋, 肖亿 243 ERCP术中并发上消化道穿孔11例 曹友红, 姚玉玲, 吴毓麟, 孔文涛, 王福根 248 重症急性胰腺炎合并消化道瘘16例 陈修涛, 何铁英, 邹德平, 苏力担卡扎·仇曼, 林海, 韩玮, 陈启龙 253 APPL1表达与结直肠癌发生发展的关系及意义 张嫣, 宋敏, 陈新峰, 孟宇 259 UQCRC1在结直肠癌及转移淋巴结中的表达 王宁, 陈洋, 姜奕

附 录	264 《世界华人消化杂志》投稿须知 269 2012年国内国际会议预告
志 谢	270 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	192 《世界华人消化杂志》栏目设置 199 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 209 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.694 218 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 228 《世界华人消化杂志》修回稿须知 232 2011年度《世界华人消化杂志》发文情况 237 《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆2008年版《中文核心期刊要目总览》 242 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 247 《世界华人消化杂志》出版流程 252 《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》 263 《世界华人消化杂志》参考文献要求
封面故事	《世界华人消化杂志》主编, 姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院分子医学中心
本期责任人	编务 周媛; 送审编辑 李军亮, 张姗姗; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 张姗姗; 形式规范审核 李军亮; 总编辑审核最终清样 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 2012-01-28
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胃肠内科
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

January 2012 Contents in Brief Volume 20 Number 3

EDITORIAL	181 NF- κ B and targeted therapy of gastric cancer: recent research progress <i>Liu J, Liu BR, Liu T</i>
BASIC RESEARCH	187 ShRNA-mediated HMGA2 gene silencing inhibits cell proliferation and promotes apoptosis in human gastric cancer cell line MKN-45 <i>Chen JZ, Lai MY, Wei LX</i>
CLINICAL RESEARCH	193 Relationships among changes in tongue coating, levels of serum soluble E-cadherin, clinical examination parameters and gastric adenocarcinoma <i>Zhang JF, Wu J, Sun Z, Zhang CB, Tong SJ, Yang YP, Ma HY, Qin L, Dong W, Zhan Z</i> 200 Contrast-enhanced ultrasound features of hepatocellular carcinoma of different sizes <i>Ma L, Lu Q, Ling WW, Zhou X, Lin L, Shi YY, Luo Y</i>
REVIEW	205 Feasibility of diagnosis of early gastric cancer assisted by confocal microscopy <i>Li SZ, Wang Q</i> 210 Prevention and treatment of complications after pancreas transplantation <i>Xiao JQ, Shi XL, Ding YT</i>
RAPID COMMUNICATION	215 Quercetin reduces cell invasion and down-regulates matrix metalloproteinase 2 expression in human gastric cancer cell line BGC-823 <i>Wang XY, Zhang YL, Zhang H, Qi WD, Fan Y</i> 219 Effect of Huangshu Enema on mast cells and substance P in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome <i>Huo T, Hu TM, Huang SF</i> 224 Foeniculum vulgare extract reduces dexamethasone-induced insulin resistance in rats <i>Wang CB, Huang YF, Huang LJ, He XJ, Jin L, Zhao SM</i>
CLINICAL PRACTICE	229 Correlation between serum hyaluronic acid and HBV DNA levels in patients with hepatitis B-associated cirrhosis <i>Jin HH, Li ZP</i> 233 Noninvasive diagnosis of advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease <i>Li S</i> 238 Value of transcatheter arterial chemoembolization with gemcitabine plus oxaliplatin in preventing postoperative recurrence of hepatocellular carcinoma in high-risk patients <i>Xiao YP, Liu TS, Ruan TY, Pan GD, Xiao Y</i> 243 ERCP-related upper gastrointestinal perforation: an analysis of 11 cases <i>Cao YH, Yao YL, Wu YL, Kong WT, Wang FG</i> 248 Alimentary tract fistula associated with severe acute pancreatitis: an analysis of 16 cases <i>Chen XT, He TY, Zou DP, Sulidankazha-C, Lin H, Han W, Chen QL</i> 253 Expression of adaptor protein containing PH domain, PTB domain and leucine zipper motif 1 in colorectal carcinogenesis <i>Zhang Y, Song M, Chen XF, Meng Y</i> 259 Expression of UQCRC1 in primary colorectal cancer and lymph node metastases <i>Wang N, Chen Y, Jiang Y</i>

APPENDIX	264 Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> 269 Meeting events calendar in 2012
ACKNOWLEDGMENT	270 Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Editor-in-Chief <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Deng-Fu Yao, Professor, Center for Molecular Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, JiangSu Province, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Yuan Zhou</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li, Shan-Shan Zhang</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Shan-Shan Zhang</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 January 28, 2012

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

RESPONSIBLE INSTITUTION
Department of Science and Technology
of Shanxi Province

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

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

PRINTING
Beijing Kexin Printing House

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

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

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

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

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

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

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

SCIENCE EDITORS

Director: Jun-Liang Li

SUBSCRIPTION

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

CSSN

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

COPYRIGHT

© 2012 Published by *World Chinese Journal of Digestology (WCJD)*. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without the prior permission of *WCJD*. Authors are required to grant *WCJD* an exclusive licence to publish.

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

Copyright © 2012 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

NF- κ B与胃癌的靶向治疗研究进展

刘静, 刘冰熔, 刘婷

刘静, 刘冰熔, 刘婷, 哈尔滨医科大学附属二院消化内科 黑龙江省哈尔滨市 150086

刘静, 硕士, 主要从事消化系统肿瘤方面的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 30871152

作者贡献分布: 文献检索、资料分析及论文撰写由刘静与刘婷共同完成; 刘冰熔负责审核工作.

通讯作者: 刘冰熔, 教授, 150086, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学附属二院消化内科. liubingrong@medmail.com.cn
电话: 0451-86296562

收稿日期: 2011-10-25 修回日期: 2011-12-30

接受日期: 2012-01-19 在线出版日期: 2012-01-28

NF- κ B and targeted therapy of gastric cancer: recent research progress

Jing Liu, Bing-Rong Liu, Ting Liu

Jing Liu, Bing-Rong Liu, Ting Liu, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Bing-Rong Liu, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. liubingrong@medmail.com.cn

Received: 2011-10-25 Revised: 2011-12-30

Accepted: 2012-01-19 Published online: 2012-01-28

Abstract

Gastric cancer is a main cause of cancer death worldwide. Despite the knowledge that *Helicobacter pylori* constitutes the main cause of gastric cancer, the mechanisms for gastric carcinogenesis are still elucidated. Cancer development and progression depend on the balance between cell survival and death signals. Common cell survival signaling pathways are activated by carcinogens as well as by inflammatory cytokines, which contribute substantially to tumorigenesis. Nuclear factor-kappaB (NF- κ B) is a major cell survival signal. Recent studies with cell culture systems and animal models have certified the links between NF- κ B and gastric carcinogenesis and resistance to chemotherapy. Inhibition of NF- κ B activation can enhance the sensitivity of cancer cells to chemotherapeutic drugs. In this review, we summarize recent progress in understanding the role of the NF- κ B pathway in gastric cancer development as well as in modu-

lating NF- κ B for gastric cancer prevention and therapy.

Key Words: Gastric cancer; Nuclear factor-kappaB; Targeted therapy

Liu J, Liu BR, Liu T. NF- κ B and targeted therapy of gastric cancer: recent research progress. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 181-186

摘要

胃癌是世界上导致癌症相关死亡的主要原因之一. 虽然普遍认为幽门螺杆菌感染是导致胃癌发生的重要原因, 但胃癌发生的确切机制尚未被阐明. 癌症的发生、发展主要与细胞生存和死亡信号的平衡相关, 致癌物质和炎症因子能活化大多数细胞的生存信号, 从本质上促成肿瘤的形成. 核转录因子-kappaB(NF- κ B)是细胞主要的生存信号之一, 近年来在一些细胞学和动物模型实验中均发现NF- κ B的活化与胃癌发生和化疗抵抗等过程密切相关, 抑制NF- κ B的活化可提高胃癌细胞对化疗药物的敏感性. 本文对NF- κ B转录途径在胃癌演进中的机制以及其靶向治疗的相关进展综述如下.

关键词: 胃癌; 核转录因子-kappaB; 靶向治疗

刘静, 刘冰熔, 刘婷. NF- κ B与胃癌的靶向治疗研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20(3): 181-186

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/181.asp>

0 引言

胃癌是世界上导致癌症相关死亡最常见的恶性肿瘤之一. 胃癌的发病机制十分复杂且与多因素相关, 细胞内信号转导通路失调是一种主要的致病机制. 致癌物质和炎症因子能活化大多数细胞的生存信号, 从而导致肿瘤形成. 核转录因子-kappaB是细胞主要的生存信号之一, 他的活化与胃癌演进、化疗抵抗等过程密切相关.

近些年, 人们在胃癌的化学治疗上取得很大进步, 例如对5-氟尿嘧啶(5-FU)的认识更加深刻,

■背景资料

胃癌的发病机制十分复杂且与多因素相关, 细胞内信号转导通路失调是一种主要的致病机制. NF- κ B信号通路活化与胃癌发生发展机制密切相关.

■同行评议者

谭晓冬, 副教授, 中国医科大学附属盛京医院

■ 研发前沿

NF- κ B是细胞主要的生存信号之一,近年来在一些细胞学和动物模型实验中均发现NF- κ B的活化与胃癌的发生和化疗抵抗密切相关,抑制NF- κ B的活化可提高胃癌细胞对化疗药物的敏感性。

奥沙利铂和伊立替康作为辅助治疗药物^[1]以及贝伐单抗和西妥昔单抗等靶向治疗药物^[2,3]的发现等。然而,由于对化疗药物耐受等原因,进展期胃癌患者的生存率并未明显提高,因此需要新的方法来代替和补充当前的治疗。了解NF- κ B在胃癌中的生物学意义,对其活性进行选择性的调控,将其作为肿瘤治疗的新靶点,或许能为包括胃癌在内的肿瘤治疗开辟一条新途径。

1 NF- κ B在胃癌中的活化

许多实验研究表明,在胃癌等许多恶性肿瘤组织、细胞株及动物模型中能检测到NF- κ B的异常活化^[4-6]。Camp等^[4]研究发现5-FU和SN-38可诱导胃癌细胞株AGC和NCI-N87中NF- κ B的活化,用腺病毒I κ B α 超抑制物(Ad.I κ B α -SR)预处理细胞后,可明显提高化疗药物诱导的凋亡和生长抑制。Li等^[7]研究发现NF- κ B在胃癌的4种细胞系AGC、MKN28、MKN45、SGC7901中均可被组成性活化,但其活化程度不同。Yamanaka等^[6]应用免疫组化方法在63个胃癌手术切除标本中检测到21人细胞核内高表达NF- κ B/p65,最高为61%;42人低表达,最低为1%,且发现p65的组成性活化与胃癌的预后相关。NF- κ B在不同胃癌组织和细胞株之间的活化存在差异,在NF- κ B信号通路明显活化的胃癌细胞系和病例中,化疗耐药与之密切相关,因此,抗NF- κ B治疗可能成为胃癌治疗的新方法。

2 幽门螺杆菌与胃癌

近些年的研究阐明幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与宿主间相互作用是引起胃炎和胃癌的主要原因。*H. pylori*感染的毒力因素很多,其中细胞毒素相关抗原A(CagA)和细胞毒素相关基因致病岛(cagPAI)在胃癌发展过程中扮演从细菌至癌蛋白衍生的角色。cagPAI编码约30个基因,其中一些组成IV型分泌系统,介导CagA蛋白和肽聚糖(PGN)进入细胞质。CagA进入细胞质后通过各种途径干扰和破坏细胞极性、通透性及增殖等^[8,9]。

*H. pylori*感染内皮细胞后能活化多种致癌通路,主要包括NF- κ B、激活物蛋白-1、磷脂酰肌醇-3-激酶、信号转导与转录活化因子3、Wnt/ β -catenin和环氧化酶2、促分裂原活化蛋白激酶等^[10-13]。其中NF- κ B的活化在胃黏膜炎症和肿瘤形成过程中起着关键作用。*H. pylori*感染细胞后,可通过结合Toll样受体^[14]和NOD样受体

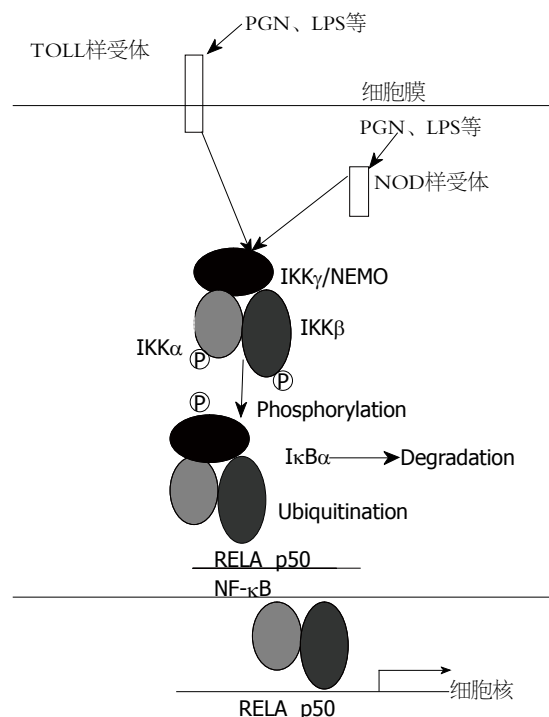


图1 胃癌与幽门螺杆菌。

活化NF- κ B通路^[15](图1)。活化的NF- κ B可调节各种炎症因子和生长因子的表达,促进细胞生长、抑制凋亡、改变细胞间黏附和迁移、诱导基因突变等过程进而促成胃癌的发生。此外,*H. pylori*可诱导胃黏膜上皮细胞的后生修饰,例如DNA异常甲基化^[16]、组蛋白乙酰化^[17]等,这些在致癌性转化中十分重要。

3 NF- κ B在肿瘤中的作用

3.1 NF- κ B与细胞的生存和凋亡 NF- κ B活化后既有促凋亡作用,又有抗凋亡作用。一方面NF- κ B通路活化可上调促凋亡蛋白如Fas、c-myc、p53、I κ B α 、死亡受体4和死亡受体5等^[18-21]的表达,进而促进细胞凋亡;另一方面,NF- κ B活化后还可以上调抑凋亡蛋白的表达如肿瘤坏死因子受体相关因子TRAF1和TRAF2、细胞凋亡蛋白抑制物c-IAP和c-IAP2、Fas相关性死亡结构域蛋白白介素转变酶抑制蛋白、Bcl-XL、A20等^[22],进而抑制细胞凋亡。此外,还能够通过抑制Jun氨基末端激酶的活性抑制凋亡^[23]。NF- κ B的活化在调节肿瘤细胞生存、抑制凋亡过程中起到十分关键的作用,抑制NF- κ B在胃癌中的活化来提高化疗药诱导的凋亡将是一条可行的途径。

3.2 NF- κ B与血管生成 肿瘤细胞同正常细胞一样,其生长需要血液提供氧气和营养物质。由肿瘤细胞、巨噬细胞、中性粒细胞等产生的单核细胞化学吸引蛋白-1、IL-8和血管内皮生长因

子等^[24-26]与肿瘤血管形成密切相关, NF- κ B的活化可调节这些血管生长因子的表达. Gutierrez-Orozco等^[25]用绿茶和黑茶提取物抑制胃癌细胞AGC中NF- κ B的活化后, IL-8的分泌水平下调, 表现出一定的抗血管生成作用. 用SN50抑制NF- κ B在人胃癌SGC7901裸鼠移植瘤模型中活化后, 可检测到肿瘤微血管密度减少^[27]. 此外, 研究发现NF- κ B转录活化可调节环氧酶2和低氧诱导转录因子-1在胃癌细胞中的表达, 从而促进血管的生成^[28,29]. 以上均表明NF- κ B的活化与胃癌血管生成密切相关.

3.3 NF- κ B与细胞增殖 许多研究表明NF- κ B通路的活化可促进胃癌和其他肿瘤的生长. 细胞周期蛋白D(Cyclin Ds)是调节细胞周期的关键蛋白, 他包括3个家族成员(Cyclin D1、D2、D3), NF- κ B可通过结合Cyclin Ds的启动子调节其表达. Manikandan等^[30]报道NF- κ B在胃癌中活化后能促进cyclin D1和cyclin B等的表达, 调节胃癌的生长. NF- κ B活化后还可以调节胃癌细胞产生一些促进细胞增殖的生长因子, 如肝细胞生长因子、粒细胞集落刺激因子、成骨蛋白^[31-33]等. 然而, 目前国内外尚无关于NF- κ B活化后下调癌细胞增殖的相关报道.

3.4 NF- κ B与扩散和转移 NF- κ B活化后促进多种基因表达参与胃癌进展. 研究表明, 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)参与细胞外基质、基底膜和黏附分子以及一些蛋白酶抑制剂的降解. NF- κ B活化后可上调MMP-2、MMP-7和MMP-9等的表达, 其表达与胃癌的浸润和转移相关^[33,34]. Yang等^[34]研究发现, 尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase-type plasminogen activator, uPA)启动子中含有NF- κ B结合位点, NF- κ B活化促进该基因表达. uPA和相应受体uPAR结合后将纤维蛋白溶酶原转化成纤维蛋白溶酶, 降解基底膜而促进肿瘤细胞的浸润和转移. NF- κ B活化后还可调节胃癌细胞中细胞间黏附分子1、内皮白细胞黏附分子1、血管细胞黏附分子1^[35-37]等的表达, 研究证明这些分子可介导癌细胞穿透血管壁, 与胃癌的转移和扩散密切相关. 此外, NF- κ B通路活化可促进上皮间质转化, 为胃癌细胞的浸润和转移提供条件^[38]. 上述均说明在胃癌的进展过程中NF- κ B发挥了重要作用.

4 NF- κ B与胃癌的靶向治疗

由于在大多数癌细胞中NF- κ B通路普遍被活化, 他又与肿瘤的发生、发展密切相关, 抑制NF- κ B

表 1 应用于胃癌研究的NF- κ B通路抑制剂

药物	作用机制	参考文献
BAY-11-7082	抑制I κ B磷酸化	[39]
BAY-11-7085	同上	[40]
硼替佐米	抑制I κ B α 降解	[42]
MG-132	同上	[43]
PDTC	抑制IKK激酶活力 清除活性氧中间产物	[7]
NAC	同上	[39]
SN50	阻断NF- κ B的核转录	[27]
E2F1	同上	[27]
DHMEQ	同上	[44]
欧甘菊	抑制NF- κ B的DNA结合力	[41]
舒林酸	抑制I κ B α 的磷酸化	[45]
阿司匹林	抑制I κ B α 的磷酸化 抑制IKK β 的活力	[46]
COX-2抑制剂	抑制I κ B α 的磷酸化和降解 抑制Rel/p65的核转录	[47]
GC	抑制I κ B的磷酸化和降解 抑制p65的乙酰化	[25]
姜黄素	抑制I κ B的降解	[48]
环孢素A	抑制NF- κ B的核转录 抑制NF- κ B的DNA结合力	[49]
他克莫司	同上	[49]

在肿瘤细胞内的活化可能取得一定的抗肿瘤作用. 在肿瘤细胞中, 仅仅抑制NF- κ B的活化不足以引起显著的细胞凋亡. 因此, 大多数实验研究主要致力于抑制NF- κ B的活性能否增强肿瘤细胞对化疗和放疗的敏感性. NF- κ B的抑制剂可作用于此通路中的不同位点来靶向调节NF- κ B的活性, 其调节靶点主要包括IKK的活性、I κ B降解、NF- κ B核转录与DNA结合等. 作用于上述靶点的各种抑制剂多数已被证明对胃癌治疗有效, 用于胃癌研究的NF- κ B抑制剂见表1.

4.1 IKK抑制剂 由于IKK活化在整个NF- κ B通路活化过程中起到关键的作用, 所以他是抑制NF- κ B活化的主要分子靶点之一. 在胃癌治疗中被发现和证实有效的IKK抑制剂包括BAY-11-7082和BAY-11-7085等^[39,40]. 这些物质或是直接结合IKK激酶抑制其活力, 或是通过阻断IKK活化的上游信号间接抑制IKK活化. 体内外研究均表明, IKK抑制剂与各种化疗药物联合应用可提高胃癌对化疗药物的敏感性.

4.2 蛋白酶体抑制剂 蛋白酶体抑制剂通过干扰I κ B蛋白降解过程实现对NF- κ B通路的抑制. 硼替佐米是第1个被FDA和欧洲医学协会批准用于临床治疗多发性骨髓瘤的药物. Nakata等^[41]研

■ 相关报道

许多实验研究表明, 在胃癌等许多恶性肿瘤组织、细胞株及动物模型中能检测到NF- κ B的异常活化. Li等研究发现NF- κ B在胃癌的4种细胞系AGC、MKN28、MKN45、SGC7901中均可被组成型活化.

■创新盘点

本文主要总结了最近几年研究的新进展,客观分析了NF- κ B与胃癌发生、发展的关系,并展望了其研究前景。

究发现硼替佐米能显著抑制NF- κ B在胃癌细胞株和裸鼠移植瘤模型中的活化。Yu等^[42]也发现多柔比星和依托泊苷可诱导胃癌细胞SGC-7901中NF- κ B的活化,用MG-132抑制NF- κ B活化后可明显增加化疗药物诱导的凋亡。

4.3 抗氧化剂 抗氧化剂抑制NF- κ B活化的机制尚不十分清晰,有研究认为其在NF- κ B活化通路的不同水平发挥抑制作用,如抑制IKK激酶的活性、减少NF- κ B的核移位、清除活性氧中间产物等。研究表明抗氧化剂吡咯烷二硫氨基甲酸(PDTC)和N-乙酰-1-半胱氨酸(NAC)均可抑制胃癌细胞株中NF- κ B的活化^[7,39]。研究发现用PDTC抑制胃癌细胞株中NF- κ B的活化后,细胞的增殖能力明显下降。

4.4 NF- κ B核转运和DNA结合抑制剂 I κ B降解后,抑制NF- κ B的核转录是阻断NF- κ B信号通路活化的另一种战略。应用于胃癌研究的NF- κ B核转运抑制剂主要包括SN50、E2F1、脱氢甲基还原醌霉素(DHMEQ)^[43]等。孙家磊等^[27]研究发现SN50可通过抑制NF- κ B活化明显增加胃癌细胞SGC-7901裸鼠移植瘤模型的凋亡。此外, Sohma等^[44]研究发现欧甘菊可通过调节NF- κ B的DNA结合能力抑制胃癌细胞中NF- κ B的活化。

4.5 抗炎药和免疫抑制剂 非甾体类抗炎药和糖皮质激素是NF- κ B信号通路的潜在抑制剂,在有关胃癌的研究中,舒林酸、阿司匹林和COX-2抑制剂等^[45-47]均可抑制胃癌细胞中NF- κ B的活化,他们或通过抑制炎症反应间接抑制NF- κ B活化,或者通过作用于NF- κ B通路活化的调节靶点直接抑制其活化。天然的抗炎药如没食子酸(GC)^[25]、姜黄素^[48]等也可作用于NF- κ B通路的不同靶点进而抑制NF- κ B在胃癌中的活化。国内外尚没有关于糖皮质激素抑制胃癌细胞中NF- κ B活性的相关报道。此外,免疫抑制剂环孢素A和他克莫司被研究发现可抑制胃腺癌细胞内NF- κ B的活化^[49]。在有关化学预防和化疗敏感性的实验中,这些药物与抗癌药物的联合已被广泛研究并被证明有效。

4.6 NF- κ B的胃癌基因靶向治疗 比起前面提及的NF- κ B通路抑制剂,直接作用于NF- κ B信号通路的某一元件的基因治疗是一种准确有效的方法。刘冰熔等^[4,50]研究发现三氧化二砷和5-FU可诱导胃癌细胞内NF- κ B活化,感染Ad-I κ B α M可通过抑制胃癌细胞NF- κ B的活性增强上述药物诱导的凋亡。研究发现siRNA分子通过干扰IKK α 和IKK β 的活性提高胃癌对化疗的敏感性^[5,51]。Saka-

moto等^[52]将鼠胃黏膜上皮细胞IKK β 基因敲除后给予甲基亚硝基脲诱导胃癌的发生,发现模型组较对照组相比有显著的细胞凋亡。以上均表明NF- κ B基因靶向治疗可有效抑制胃癌细胞生长,然而,怎样将靶向基因转移到癌细胞内,仍是当前面临的难题。

上述的NF- κ B通路抑制剂有一些已经应用于临床治疗,由于NF- κ B信号通路在机体的各种生理过程中起到十分复杂的作用,广泛抑制其活性后,一些毒副作用是不可避免的。例如,硼替佐米可抑制蛋白酶体,但是蛋白酶体不仅仅降解I κ B,他还会对其他的生理过程产生严重的影响。

5 结论

分子靶向治疗是肿瘤治疗史上继手术、放化疗后临床采用的具有诱人发展前景的治疗方法。NF- κ B通路的活化与胃癌的发生及演进的各个环节密切相关,因此靶向阻断NF- κ B通路将有一定的抗癌作用,我们有理由假设NF- κ B信号转导通路可以作为胃癌治疗的一个靶点。然而,由于NF- κ B通路在机体正常细胞内具有很重要的生理功能,尤其在免疫细胞中,广泛抑制其活化会导致机体产生严重的不良反应。相信随着NF- κ B在肿瘤细胞中活化机制的逐渐阐明,可以通过应用生物标记指示NF- κ B抑制剂的作用靶点,筛选出靶向调节恶性肿瘤细胞内NF- κ B活性的新药物。在胃癌的临床化疗和靶向治疗中应用有效的NF- κ B抑制剂值得期待。

6 参考文献

- 1 Peinert S, Grothe W, Stein A, Müller LP, Ruessel J, Voigt W, Schmoll HJ, Arnold D. Safety and efficacy of weekly 5-fluorouracil/folinic acid/oxaliplatin/irinotecan in the first-line treatment of gastrointestinal cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2010; 2: 161-174
- 2 El-Rayes BF, Zalupski M, Bekai-Saab T, Heilbrun LK, Hammad N, Patel B, Urba S, Shields AF, Vaishampayan U, Dawson S, Almhanna K, Smith D, Philip PA. A phase II study of bevacizumab, oxaliplatin, and docetaxel in locally advanced and metastatic gastric and gastroesophageal junction cancers. *Ann Oncol* 2010; 21: 1999-2004
- 3 Han SW, Oh DY, Im SA, Park SR, Lee KW, Song HS, Lee NS, Lee KH, Choi IS, Lee MH, Kim MA, Kim WH, Bang YJ, Kim TY. Phase II study and biomarker analysis of cetuximab combined with modified FOLFOX6 in advanced gastric cancer. *Br J Cancer* 2009; 100: 298-304
- 4 Camp ER, Li J, Minnich DJ, Brank A, Moldawer LL, MacKay SL, Hochwald SN. Inducible nuclear factor-kappaB activation contributes to chemotherapy resistance in gastric cancer. *J Am Coll Surg* 2004; 199:

- 249-258
- 5 Chao X, Zao J, Xiao-Yi G, Li-Jun M, Tao S. Blocking of PI3K/AKT induces apoptosis by its effect on NF- κ B activity in gastric carcinoma cell line SGC7901. *Biomed Pharmacother* 2010; 64: 600-604
 - 6 Yamanaka N, Sasaki N, Tasaki A, Nakashima H, Kubo M, Morisaki T, Noshiro H, Yao T, Tsuneyoshi M, Tanaka M, Katano M. Nuclear factor-kappaB p65 is a prognostic indicator in gastric carcinoma. *Anticancer Res* 2004; 24: 1071-1075
 - 7 Li Q, Yu YY, Zhu ZG, Ji YB, Zhang Y, Liu BY, Chen XH, Lin YZ. Effect of NF-kappaB constitutive activation on proliferation and apoptosis of gastric cancer cell lines. *Eur Surg Res* 2005; 37: 105-110
 - 8 Lee IO, Kim JH, Choi YJ, Pillinger MH, Kim SY, Blaser MJ, Lee YC. Helicobacter pylori CagA phosphorylation status determines the gp130-activated SHP2/ERK and JAK/STAT signal transduction pathways in gastric epithelial cells. *J Biol Chem* 2010; 285: 16042-16050
 - 9 Zeaiter Z, Huynh HQ, Kanyo R, Stein M. CagA of Helicobacter pylori alters the expression and cellular distribution of host proteins involved in cell signaling. *FEMS Microbiol Lett* 2008; 288: 227-234
 - 10 Tabassam FH, Graham DY, Yamaoka Y. Helicobacter pylori activate epidermal growth factor receptor- and phosphatidylinositol 3-OH kinase-dependent Akt and glycogen synthase kinase 3beta phosphorylation. *Cell Microbiol* 2009; 11: 70-82
 - 11 Nagy TA, Frey MR, Yan F, Israel DA, Polk DB, Peek RM. Helicobacter pylori regulates cellular migration and apoptosis by activation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling. *J Infect Dis* 2009; 199: 641-651
 - 12 Franco AT, Israel DA, Washington MK, Krishna U, Fox JG, Rogers AB, Neish AS, Collier-Hyams L, Perez-Perez GI, Hatakeyama M, Whitehead R, Gaus K, O'Brien DP, Romero-Gallo J, Peek RM. Activation of beta-catenin by carcinogenic Helicobacter pylori. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 10646-10651
 - 13 Bronte-Tinkew DM, Terebiznik M, Franco A, Ang M, Ahn D, Mimuro H, Sasakawa C, Ropeleski MJ, Peek RM, Jones NL. Helicobacter pylori cytotoxin-associated gene A activates the signal transducer and activator of transcription 3 pathway in vitro and in vivo. *Cancer Res* 2009; 69: 632-639
 - 14 Allison CC, Kufer TA, Kremmer E, Kaparakis M, Ferrero RL. Helicobacter pylori induces MAPK phosphorylation and AP-1 activation via a NOD1-dependent mechanism. *J Immunol* 2009; 183: 8099-8109
 - 15 Kumar Pachathundikandi S, Brandt S, Madassery J, Backert S. Induction of TLR-2 and TLR-5 expression by Helicobacter pylori switches cagPAI-dependent signalling leading to the secretion of IL-8 and TNF- α . *PLoS One* 2011; 6: e19614
 - 16 Nardone G, Compare D, De Colibus P, de Nucci G, Rocco A. Helicobacter pylori and epigenetic mechanisms underlying gastric carcinogenesis. *Dig Dis* 2007; 25: 225-229
 - 17 Ding SZ, Fischer W, Kaparakis-Liaskos M, Liechti G, Merrell DS, Grant PA, Ferrero RL, Crowe SE, Haas R, Hatakeyama M, Goldberg JB. Helicobacter pylori-induced histone modification, associated gene expression in gastric epithelial cells, and its implication in pathogenesis. *PLoS One* 2010; 5: e9875
 - 18 Han JC, Zhang KL, Chen XY, Jiang HF, Kong QY, Sun Y, Wu ML, Huang L, Li H, Liu J. Expression of seven gastric cancer-associated genes and its relevance for Wnt, NF-kappaB and Stat3 signaling. *APMIS* 2007; 115: 1331-1343
 - 19 Zhu BS, Xing CG, Lin F, Fan XQ, Zhao K, Qin ZH. Blocking NF-kB nuclear translocation leads to p53-related autophagy activation and cell apoptosis. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 478-487
 - 20 Shibata W, Takaishi S, Muthupalani S, Pritchard DM, Whary MT, Rogers AB, Fox JG, Betz KS, Kaestner KH, Karin M, Wang TC. Conditional deletion of IkappaB-kinase-beta accelerates helicobacter-dependent gastric apoptosis, proliferation, and preneoplasia. *Gastroenterology* 2010; 138: 1022-34. e1-e10
 - 21 Maldonado ME, Bousserouel S, Gossé F, Lobstein A, Raul F. Implication of NF-kB and p53 in the expression of TRAIL-death receptors and apoptosis by apple procyanidins in human metastatic SW620 cells. *Biomedica* 2010; 30: 577-586
 - 22 Luo JL, Kamata H, Karin M. IKK/NF-kappaB signaling: balancing life and death--a new approach to cancer therapy. *J Clin Invest* 2005; 115: 2625-2632
 - 23 Bark H, Choi CH. PSC833, cyclosporine analogue, downregulates MDR1 expression by activating JNK/c-Jun/AP-1 and suppressing NF-kappaB. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 65: 1131-1136
 - 24 Niu J, Azfer A, Zhelyabovska O, Fatma S, Kolattukudy PE. Monocyte chemotactic protein (MCP)-1 promotes angiogenesis via a novel transcription factor, MCP-1-induced protein (MCP-IP). *J Biol Chem* 2008; 283: 14542-14551
 - 25 Gutierrez-Orozco F, Stephens BR, Neilson AP, Green R, Ferruzzi MG, Bomser JA. Green and black tea inhibit cytokine-induced IL-8 production and secretion in AGS gastric cancer cells via inhibition of NF-kB activity. *Planta Med* 2010; 76: 1659-1665
 - 26 Xie TX, Xia Z, Zhang N, Gong W, Huang S. Constitutive NF-kappaB activity regulates the expression of VEGF and IL-8 and tumor angiogenesis of human glioblastoma. *Oncol Rep* 2010; 23: 725-732
 - 27 孙家磊, 朱宝松, 龚巍, 张鹏, 郁立衍, 赵奎, 邢春根. LY294002联合SN50对裸鼠胃癌模型肿瘤细胞生长和凋亡的影响. *中华胃肠外科杂志* 2011; 14: 364-267
 - 28 Lazăr D, Tăban S, Ardeleanu C, Simionescu C, Sporea I, Cornianu M, Vernic C. Immunohistochemical expression of the cyclooxygenase-2 (COX-2) in gastric cancer. The correlations with the tumor angiogenesis and patients' survival. *Rom J Morphol Embryol* 2008; 49: 371-379
 - 29 Nam SY, Ko YS, Jung J, Yoon J, Kim YH, Choi YJ, Park JW, Chang MS, Kim WH, Lee BL. A hypoxia-dependent upregulation of hypoxia-inducible factor-1 by nuclear factor-kB promotes gastric tumour growth and angiogenesis. *Br J Cancer* 2011; 104: 166-174
 - 30 Manikandan P, Vinothini G, Vidya Priyadarsini R, Prathiba D, Nagini S. Eugenol inhibits cell proliferation via NF-kB suppression in a rat model of gastric carcinogenesis induced by MNNG. *Invest New Drugs* 2011; 29: 110-117
 - 31 Fan S, Gao M, Meng Q, Latterra JJ, Symons MH, Coniglio S, Pestell RG, Goldberg ID, Rosen EM. Role of NF-kappaB signaling in hepatocyte growth factor/scatter factor-mediated cell protection. *Oncogene* 2005; 24: 1749-1766
 - 32 Kitoh Y, Saio M, Gotoh N, Umemura N, Nonaka K, Bai J, Vizkeleti L, Torocsik D, Balazs M, Adany R, Takami T. Combined GM-CSF treatment and

■应用要点
本文提出了NF- κ B信号转导通路可作为胃癌治疗的一个新靶点,为胃癌治疗提出一条新的治疗途径,靶向阻断NF- κ B通路将对胃癌的治疗有一定的作用。

■同行评价

本文较全面地综述了NF- κ B信号通路活化与胃癌发生发展机制的相关性,具有较好的科学性和学术价值,可读性强。

- M-CSF inhibition of tumor-associated macrophages induces dendritic cell-like signaling in vitro. *Int J Oncol* 2011; 38: 1409-1419
- 33 Kang MH, Oh SC, Lee HJ, Kang HN, Kim JL, Kim JS, Yoo YA. Metastatic function of BMP-2 in gastric cancer cells: the role of PI3K/AKT, MAPK, the NF- κ B pathway, and MMP-9 expression. *Exp Cell Res* 2011; 317: 1746-1762
- 34 Yang MD, Lai KC, Lai TY, Hsu SC, Kuo CL, Yu CS, Lin ML, Yang JS, Kuo HM, Wu SH, Chung JG. Phenethyl isothiocyanate inhibits migration and invasion of human gastric cancer AGS cells through suppressing MAPK and NF-kappaB signal pathways. *Anticancer Res* 2010; 30: 2135-2143
- 35 赵增强, 于佩武, 赵永亮, 石彦. 胃癌中RhoC和CD44v6及ICAM-1的表达及其相关性的初步研究. *中华胃肠外科杂志* 2005; 8: 352-355
- 36 Liu FR, Jiang CG, Li YS, Li JB, Li F. Cimetidine inhibits the adhesion of gastric cancer cells expressing high levels of sialyl Lewis x in human vascular endothelial cells by blocking E-selectin expression. *Int J Mol Med* 2011; 27: 537-544
- 37 Shin J, Kim J, Ryu B, Chi SG, Park H. Caveolin-1 is associated with VCAM-1 dependent adhesion of gastric cancer cells to endothelial cells. *Cell Physiol Biochem* 2006; 17: 211-220
- 38 Maier HJ, Schmidt-Strassburger U, Huber MA, Wiedemann EM, Beug H, Wirth T. NF-kappaB promotes epithelial-mesenchymal transition, migration and invasion of pancreatic carcinoma cells. *Cancer Lett* 2010; 295: 214-228
- 39 Kim MH, Yoo HS, Kim MY, Jang HJ, Baek MK, Kim HR, Kim KK, Shin BA, Ahn BW, Jung YD. Helicobacter pylori stimulates urokinase plasminogen activator receptor expression and cell invasiveness through reactive oxygen species and NF-kappaB signaling in human gastric carcinoma cells. *Int J Mol Med* 2007; 19: 689-697
- 40 Ray A, Dhar S, Ray BK. Transforming growth factor-beta1-mediated activation of NF-kappaB contributes to enhanced ADAM-12 expression in mammary carcinoma cells. *Mol Cancer Res* 2010; 8: 1261-1270
- 41 Nakata W, Hayakawa Y, Nakagawa H, Sakamoto K, Kinoshita H, Takahashi R, Hirata Y, Maeda S, Koike K. Anti-tumor activity of the proteasome inhibitor bortezomib in gastric cancer. *Int J Oncol* 2011; 39: 1529-1536
- 42 Yu LL, Dai N, Yu HG, Sun LM, Si JM. Akt associates with nuclear factor kappaB and plays an important role in chemoresistance of gastric cancer cells. *Oncol Rep* 2010; 24: 113-119
- 43 Mino K, Ozaki M, Nakanishi K, Haga S, Sato M, Kina M, Takahashi M, Takahashi N, Kataoka A, Yanagihara K, Ochiya T, Kamiyama T, Umezawa K, Todo S. Inhibition of nuclear factor-kappaB suppresses peritoneal dissemination of gastric cancer by blocking cancer cell adhesion. *Cancer Sci* 2011; 102: 1052-1058
- 44 Sohma I, Fujiwara Y, Sugita Y, Yoshioka A, Shirakawa M, Moon JH, Takiguchi S, Miyata H, Yamasaki M, Mori M, Doki Y. Parthenolide, an NF- κ B inhibitor, suppresses tumor growth and enhances response to chemotherapy in gastric cancer. *Cancer Genomics Proteomics* 2011; 8: 39-47
- 45 Yasui H, Adachi M, Imai K. Combination of tumor necrosis factor-alpha with sulindac augments its apoptotic potential and suppresses tumor growth of human carcinoma cells in nude mice. *Cancer* 2003; 97: 1412-1420
- 46 Redlak MJ, Power JJ, Miller TA. Prevention of deoxycholate-induced gastric apoptosis by aspirin: roles of NF-kappaB and PKC signaling. *J Surg Res* 2008; 145: 66-73
- 47 Wong BC, Jiang X, Fan XM, Lin MC, Jiang SH, Lam SK, Kung HF. Suppression of RelA/p65 nuclear translocation independent of IkappaB-alpha degradation by cyclooxygenase-2 inhibitor in gastric cancer. *Oncogene* 2003; 22: 1189-1197
- 48 Yu LL, Wu JG, Dai N, Yu HG, Si JM. Curcumin reverses chemoresistance of human gastric cancer cells by downregulating the NF- κ B transcription factor. *Oncol Rep* 2011; 26: 1197-1203
- 49 Beppu K, Morisaki T, Matsunaga H, Uchiyama A, Ihara E, Hirano K, Kanaide H, Tanaka M, Katanano M. Inhibition of interferon-gamma-activated nuclear factor-kappa B by cyclosporin A: A possible mechanism for synergistic induction of apoptosis by interferon-gamma and cyclosporin A in gastric carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 305: 797-805
- 50 刘冰熔, 胡丽红, 关景明, 刘丹, 姜洪池. 三氧化二砷联合Ad-IkBaM诱导胃癌细胞凋亡的研究. *中华内科杂志* 2007; 46: 569-572
- 51 Sethi G, Sung B, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappaB activation: from bench to bedside. *Exp Biol Med* (Maywood) 2008; 233: 21-31
- 52 Sakamoto K, Hikiba Y, Nakagawa H, Hayakawa Y, Yanai A, Akanuma M, Ogura K, Hirata Y, Kaestner KH, Omata M, Maeda S. Inhibitor of kappaB kinase beta regulates gastric carcinogenesis via interleukin-1alpha expression. *Gastroenterology* 2010; 139: 226-238. e6

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

shRNA沉默干扰HMGA2基因对胃癌细胞株MKN-45的增殖与凋亡的影响

陈家庄, 赖铭裕, 韦丽秀

陈家庄, 赖铭裕, 韦丽秀, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
陈家庄, 在读硕士, 主要从事胃癌发病机制方面的研究。
广西医疗卫生重点科研基金资助项目, No. 重2010021
广西自然科学基金资助项目, No. 2010GXNSFA013166
作者贡献分布: 陈家庄与赖铭裕对此文所作贡献均等; 本论文写作、数据分析由陈家庄与赖铭裕完成; 实验设计、资金申请及论文审阅指导由赖铭裕完成; 实验操作由陈家庄与韦丽秀完成。
通讯作者: 赖铭裕, 副教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科。
laimingyu2005103@yahoo.com.cn
电话: 0771-2665673
收稿日期: 2011-12-02 修回日期: 2011-12-31
接受日期: 2012-01-13 在线出版日期: 2012-01-28

ShRNA-mediated HMGA2 gene silencing inhibits cell proliferation and promotes apoptosis in human gastric cancer cell line MKN-45

Jia-Zhuang Chen, Ming-Yu Lai, Li-Xiu Wei

Jia-Zhuang Chen, Ming-Yu Lai, Li-Xiu Wei, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the Key Medical Health Research Project of Guangxi, No. Zhong 2010021; the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2010GXNSFA013166
Correspondence to: Ming-Yu Lai, Associate Professor, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. laimingyu2005103@yahoo.com.cn
Received: 2011-12-02 Revised: 2011-12-31
Accepted: 2012-01-13 Published online: 2012-01-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of short hairpin RNA (shRNA)-mediated HMGA2 gene silencing on cell growth and apoptosis in human gastric cancer cell line MKN-45.

METHODS: A shRNA eukaryotic expression vector that expresses shRNA targeting the HMGA2 gene was constructed and transfected into MKN-45 cells. HMGA2 protein expression was measured by immunocytochemistry 72 hours after transfection. Cell growth and apoptosis

were determined by MTT assay and flow cytometry, respectively.

RESULTS: Compared to the scrambled siRNA group and blank control group, the expression of HMGA2 protein was significantly decreased (171.34 ± 19.61 vs 143.48 ± 19.04 , 141.79 ± 18.09 , both $P < 0.05$); cell growth was significantly inhibited ($39.32\% \pm 2.37\%$ vs $5.66\% \pm 0.63\%$, $P < 0.05$); and cell apoptosis was significantly enhanced in the HMGA2-shRNA group ($39.67\% \pm 2.35\%$ vs $4.29\% \pm 1.33\%$, $5.05\% \pm 1.84\%$, both $P < 0.05$).

CONCLUSION: ShRNA-mediated HMGA2 gene silencing can effectively induce growth inhibition and apoptosis of MKN-45 cells. HMGA2 might be a potential target for the therapy of gastric cancer.

Key Words: High mobility group A2; Short hairpin RNA; MKN-45; Proliferation; Apoptosis

Chen JZ, Lai MY, Wei LX. ShRNA-mediated HMGA2 gene silencing inhibits cell proliferation and promotes apoptosis in human gastric cancer cell line MKN-45. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 187-192

摘要

目的: 观察小分子RNA(shRNA)沉默后HMGA2基因在胃癌细胞株MKN-45的表达, 并探讨HMGA2基因对胃癌细胞的增殖与凋亡的影响。

方法: 构建针对人HMGA2基因的shRNA真核表达载体, 瞬时转染人胃癌细胞株MKN-45。用细胞免疫组化的方法观察转染72 h后HMGA2的蛋白表达水平, 以MTT比色法、流式细胞术检测转染后MKN-45细胞的生长增殖、凋亡的情况。

结果: 转染HMGA2-shRNA组的蛋白表达强度(171.34 ± 19.61)明显弱于scrambled组(143.48 ± 19.04)和空白对照组(141.79 ± 18.09 , $P < 0.05$), 较之scrambled组($5.66\% \pm 0.63\%$)和空白对照组, HMGA2-shRNA组(39.32%)

背景资料

HMGA2是高迁移率蛋白A家族中的一员, 近年来研究的热点癌基因之一, HMGA2蛋白的表达参与人类多种肿瘤的发生, 但是发生肿瘤的机制并不是十分清楚, 特别是在胃癌的发生机制中研究并不多。

同行评议者

樊晓明, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化内科

■ 研发前沿

HMGA2作为肿瘤转移和进展中的重要因子,不仅可以作为判断预后的分子标志物,而且还可能成为阻止胃癌进展和转移的潜在靶点。

±2.37%)能明显抑制细胞的增殖($P<0.05$), HMGA2-shRNA组的凋亡率(39.67%±2.35%)与scrambled组(4.29%±1.33%)和空白对照组(5.05%±1.84%)相比明显增加($P<0.05$)。

结论: 靶向HMGA2基因的shRNA可以有效抑制人胃癌MKN-45细胞的生长,并促进细胞的凋亡, HMGA2可能是胃癌治疗的一个潜在靶点。

关键词: 高迁移率蛋白A2; 短发夹RNA; 胃癌细胞株MKN-45; 细胞增殖; 细胞凋亡

陈家庄, 赖铭裕, 韦丽秀. shRNA沉默干扰HMGA2基因对胃癌细胞株MKN-45的增殖与凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(3): 187-192
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/187.asp>

0 引言

胃癌是人类常见的恶性肿瘤,居全球肿瘤发病和癌症死亡率的第2位^[1]。尽管近年来对胃癌的研究取得了进展,但大多数患者出现临床症状时都已处于晚期并出现远处转移。HMGA2是近年来研究的热点癌基因之一,其属于高迁移率蛋白A家族中的一员,含有3个AT-钩结构与1个酸性C末端。HMGA2蛋白是一种非组蛋白染色体蛋白,本身缺乏转录活性,但能与染色质结合而改变其结构,或者直接与相关蛋白结合发生作用,继而调节其他基因的转录^[2]。研究表明HMGA2蛋白的表达参与人类多种肿瘤的发生,如大肠癌^[3]、胰腺癌^[4]、脂肪瘤^[5]、肺癌^[6]、卵巢癌^[7]、输卵管癌^[8]、膀胱癌^[9]、垂体瘤^[10]等。这些肿瘤的发生、发展均与HMGA2基因表达异常有关,并发现其表达增强与预后有关,但目前人们对于肿瘤的发生机制并不清楚,尤其是有关胃癌的发生机制研究并不多。为探讨HMGA2基因的表达对胃癌细胞的生长、凋亡的影响,本研究构建shRNA真核表达载体并瞬时转染MKN-45细胞,观察沉默干扰HMGA2基因对细胞的生长、凋亡影响,为胃癌的HMGA2靶向基因治疗提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞株MKN-45购自ATCC细胞库; DMEM培养基购自Solarbio公司; 胎牛血清购自杭州四季青公司; LipofectamineTM2000购自美国Invitrogen公司; 质粒PLL2G-shHMGA2、pLL2G-scrambled均由赛业(广州)生物科技有限

公司设计合成; 质粒小提试剂盒购自OMIGA公司; 人抗兔HMGA2多克隆抗体、SP试剂盒均购自北京博奥森生物技术有限公司; MTT购自Solarbio; Annexin v-FITC&PE凋亡试剂盒购自BD公司。

1.2 方法

1.2.1 shRNA靶序列的构建与鉴定: 根据GeneBank中人HMGA2全长cDNA序列(NM.003483)设计并合成shRNA oligo: 正义链5'-TAGTCCCTCTA-AAGCAGCTCAACTCGAGTTGAGCTGCTT-TAGAGGGACTTTTTTC-3'; 反义链5'-TC-GAGAAAAAAGTCCCTCTAAAGCAGCT-CAACTCGAGTTGAGCTGCTTTAGAGGGAC-TA-3'。另行设计一条与人的任何基因序列均无同源关系的随机乱码阴性(scrambled)序列: 正义链5'-TGCGCGCTTTGTAGGATTCGCTC-GAGCGAATCCTACAAAGCGCGCTTTTTTC-3'; 反义链5'-TCGAGAAAAAGCGCGCTTTGTAG-GATTCGCTCGAGCGAATCCTACAAAGCGC-GCA-3'。其形成的shRNA不对人源mRNA进行干扰。上述质粒载体由赛业(广州)生物科技有限公司构建,并进行测序鉴定。

1.2.2 细胞培养及瞬时转染: 人胃癌细胞MKN-45培养在含100 mL/L胎牛血清的DMEM培养基,置于37 °C、50 mL/L CO₂培养箱中培养。转染前1 d,用0.25%胰酶+EDTA消化细胞并计数,以4×10⁵/孔的密度种在6孔板,用含血清、无双抗的DMEM培养基放在CO₂培养箱培养过夜。使其在转染当天细胞密度达80%-90%。分别用250 μL的DMEM稀释4 μg质粒、4 μL LipofectamineTM2000, 5 min后将两者混合,室温放置20 min后将混合物加入到6孔板中,用无血清的DMEM培养基继续培养,6 h后换液。实验分3组: 空白对照组(只加脂质体); scrambled组(转染阴性质粒); HMGA2-shRNA组(转染HMGA2的shRNA质粒)。

1.2.3 细胞免疫组织化学染色: 将转染72 h后的各组MKN-45细胞用40 g/L甲醛固定20 min,纯甲醛加过氧化氢灭活内源性的过氧化物酶高压高温抗原修复10 min, SP法染色, DAB显色,苏木素复染,常规脱水、透明、封片,观察结果。采用PBS代替一抗做阴性对照。阳性染色呈棕黄色颗粒,位于细胞质和细胞核中。应用全自动图像分析仪Image-Pro Plus6.0图像分析软件检测阳性细胞的平均灰度值,灰度值越高,表达强度越弱。

1.2.4 MTT法: 取指数生长期细胞,以4 000个/孔

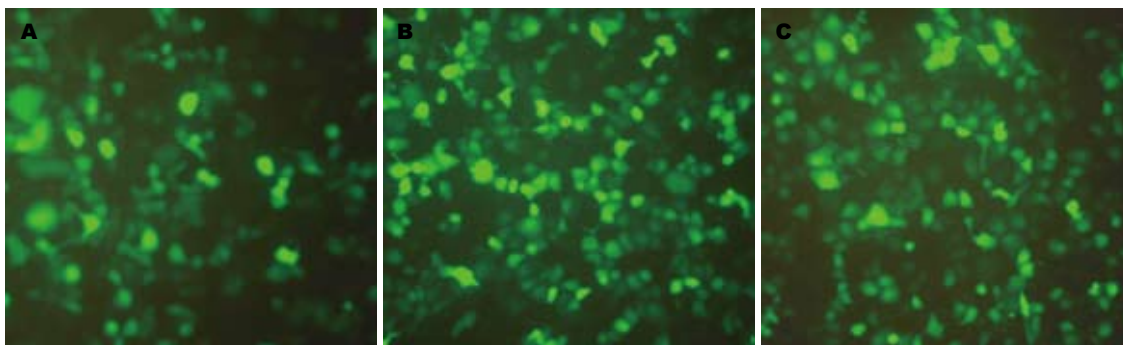


图 1 相差荧光显微镜下观察转染效果(×400). A: 24 h; B: 48 h; C: 72 h.

■ 相关报道
 Motoyama¹等研究发现HMGA2 mRNA的高表达与胃癌患者的浆膜浸润淋巴结转移及静脉的浸润成正相关,但与性别、肿块大小和组织病理的类型无明显相关性,Ohshima²等认为HMGA2与let-7家族负向调控以及与胃癌的侵袭性相关。

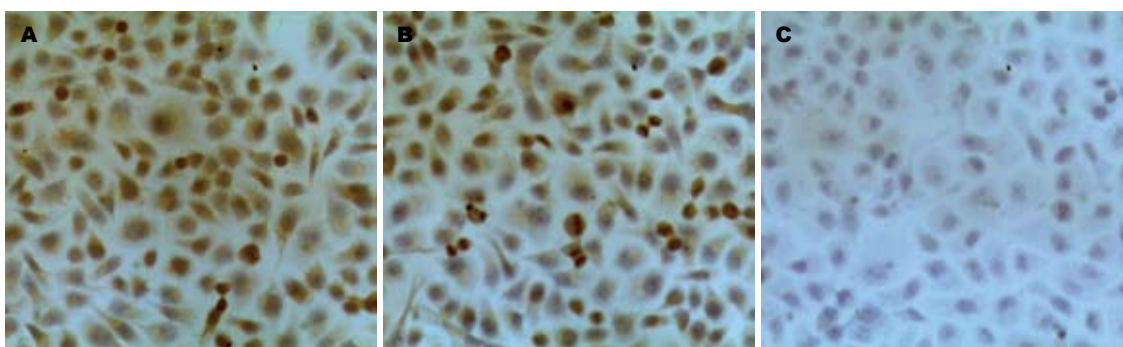


图 2 转染72 h后各组HMGA2的蛋白表达情况(×400). A: 空白对照组; B: scrambled组; C: HMGA2-shRNA组.

的密度接种于96孔板, 每组各设3个复孔, 按照LipofectamineTM2000说明书的步骤转染, 6 h后换液. 于转染后24、48、72、96、120、144 h加20 μL MTT, 置于CO₂培养箱继续培养, 4 h后小心吸取上清液, 加200 μL的DMSO, 避光振荡10 min后用酶标仪的570 nm波长检测吸光度(A)值绘制细胞生长曲线, 计算生长抑制率(%) = (1 - A_{实验组} / A_{对照组}) × 100%.

1.2.5 流式细胞术测细胞凋亡: 取转染后24、48、72 h的细胞, 用0.25%胰酶消化成单细胞悬液, 弃上清, 用冷PBS洗涤, 加Annexin v-FITC&PE凋亡试剂盒中的Buffer 100 μL, 各加5 μL ADD和5 μL PE, 室温避光放置15 min, 之后再加400 μL Buffer, 上机检测各组细胞的凋亡率.

统计学处理 应用SPSS13.0软件包进行统计学处理, 所有实验数据均以mean ± SD表示, 对各指标进行单因素方差分析(one-way ANOVA), 两组均数间的比较用SNK检验, P < 0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 重组质粒在MKN-45细胞内的荧光表达 将质粒 PLL2G-shHMGA2、pLL2G-scrambled分别转染MKN-45细胞, 于转染后24、48、72 h后, 用

表 1 转染72 h后HMGA2蛋白在不同实验组中的表达 (mean ± SD)

分组	HMGA2平均灰度值
空白对照组	141.79 ± 18.09 ^b
scrambled组	143.48 ± 19.04 ^d
HMGA2-shRNA组	171.34 ± 19.61 ^{bd}

^bP < 0.01 vs 空白对照组; ^dP < 0.01 vs scrambled组.

荧光显微镜观察细胞GFP的表达情况. 结果显示48 h后的转染效率明显增高, 可达60%-70%, 72 h后转染效率相比48 h后转染效率没有明显变化(图1).

2.2 细胞免疫组织化学染色 转染72 h后HMGA2蛋白在空白对照组、scrambled组有较强的表达, 二者无统计学差异(P > 0.05). 而HMGA2-shRNA组较其他两组表达明显减弱, 有统计学意义(171.34 ± 19.61 vs 143.48 ± 19.04, 141.79 ± 18.09, P < 0.05, 图2, 表1)

2.3 MTT法检测转染后各组细胞生长曲线和抑制率 空白对照组与scrambled组在各时间段细胞的生长未受影响(P > 0.05), 而HMGA2-shRNA组在转染24 h后细胞生长明显受到抑制(39.32% ± 2.37% vs 5.66% ± 0.63%, P < 0.05), 转染48 h后的

应用要点

本研究通过构建shRNA真核表达载体瞬时转染MKN-45细胞,观察沉默干扰HMGA2基因后对细胞的生长、凋亡影响,为胃癌的HMGA2靶向基因治疗提供依据。

表 2 转染后各组细胞在不同时段的抑制率(%, $n = 3$, mean \pm SD)

分组	24 h	48 h	72 h
空白对照组	0	0	0
scrambled组	4.52 \pm 1.45	5.66 \pm 0.63	6.56 \pm 2.03
HMGA2-shRNA组	30.57 \pm 1.87	39.32 \pm 2.37 ^a	37.46 \pm 2.39 ^a

^a $P < 0.01$ vs 24 h.

表 3 转染后各组细胞的凋亡率(%, $n = 3$, mean \pm SD)

分组	24 h	48 h	72 h
空白对照组	7.17 \pm 1.55	5.05 \pm 1.84	4.89 \pm 1.62 ^b
scrambled组	8.21 \pm 1.76	4.29 \pm 1.33	6.05 \pm 1.36 ^d
HMGA2-shRNA组	21.32 \pm 0.73 ^f	39.67 \pm 2.35 ^f	24.84 \pm 1.36 ^{bd}

^b $P < 0.01$ vs 空白对照组; ^d $P < 0.01$ vs scrambled组; ^f $P < 0.01$ vs 24 h.

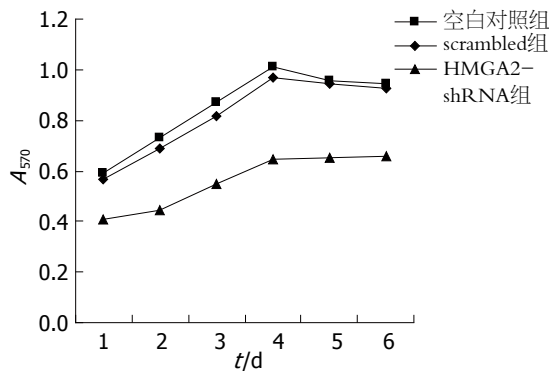


图 3 转染后各组细胞的生长曲线。

抑制率最明显(图3, 表2), 之后该组的细胞增殖仍然被抑制, 证明沉默干扰后近、远期细胞的增殖能力减弱。

2.4 流式细胞仪检测转染后各组细胞凋亡率的结果与空白对照组、scrambled组相比, HMGA2-shRNA组的细胞凋亡率明显增加(39.67% \pm 2.35% vs 4.29% \pm 1.33%, 5.05% \pm 1.84%, $P < 0.05$, 表3, 图4), 转染48 h后细胞凋亡最明显($P < 0.05$).

3 讨论

胃癌的发生、发展与原癌基因的激活, 抑癌基因的失活, 以及凋亡相关基因的异常表达等均有密切的关系. 研究表明, 凋亡障碍是胃癌发生、浸润和转移的基础. Lowed等^[11]研究认为, 胃癌存在着细胞凋亡明显受抑制的现象, 且受抑制愈明显, 预后愈差, 故凋亡指数可以作为胃癌预后不良的重要指标。

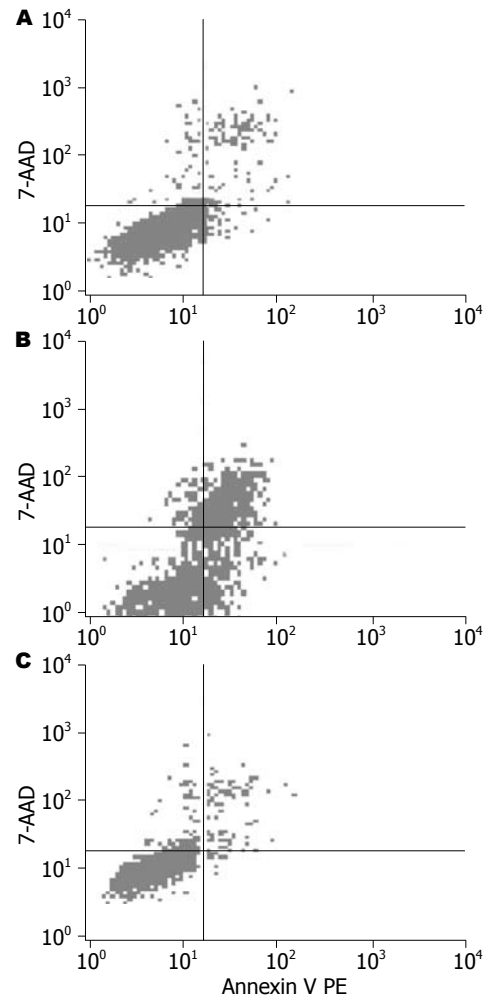


图 4 流式细胞仪检测转染后各组细胞凋亡率. A: 空白对照组; B: HMGA2-shRNA组; C: scrambled组。

HMGA2可以通过AT-hooks与DNA结合, 继而改变染色质的结构, 使之发生弯曲、拉伸、卷

曲、成环或解链,从而调节靶基因的转录,因此又被称为构筑性转录因子.作为一种结构转录因子,可以对大量基因的转录和活化进行调节,特别是那些与细胞增殖和凋亡相关的基因^[12-15].HMGA2在正常组织中低表达或不表达,而在胚胎期以及恶性肿瘤组织中的表达明显上调^[16-19].HMGA2在肿瘤的发生、侵袭和转移过程中发挥着重要作用.Li等^[20]研究认为HMGA2调节hTERT的转录从而促进肿瘤发生.Ohshima等^[21]认为HMGA2与let-7家族负向调控,与胃癌的侵袭性相关.Zha等^[22]认为HMGA2的表达可能与胃癌临床转移和进展能力有关,而其机制可能是HMGA2促进胃癌细胞EMT的发生,使之具有更强的侵袭转移能力,进而加快肿瘤进展.在一些恶性肿瘤中,HMGA2可以作为诊断分子标志物或判断预后的独立因子.Hristov等^[4]认为HMGA2在胰腺导管腺癌中表达量增加,并与淋巴结转移和肿瘤分级呈正相关,这可能是胰腺癌的一个重要生物标志.Wang等^[3]研究发现HMGA2是大肠癌的重要生物标志物.

RNA干扰(RNA interference, RNAi)是由双链RNA(double stranded RNA, dsRNA)所引起的序列特异性基因沉默.双链RNA经酶切后会形成很多小片段,称为siRNA.siRNA是由21-23个核苷酸组成的小片段双链RNA,可特异和互补靶基因mRNA序列结合,诱导其降解,产生强大的RNA干扰效应^[23].RNAi技术是一项高效且高特异性的基因封闭技术,通过抑制病原微生物或肿瘤细胞的特定基因,可导致病原微生物或肿瘤细胞死亡.RNAi技术在子宫颈癌、乳腺癌、肝癌等人类肿瘤细胞株体外抑制实验中获得了成功^[24-26].

本研究结果显示,转染HMGA2-shRNA组的HMGA2蛋白的表达量明显低于空白对照组和scrambled组,说明沉默干扰效果明显.转染HMGA2-shRNA组的细胞生长抑制率、细胞凋亡率明显高于空白对照组和scrambled组,由此表明HMGA2基因表达对胃癌细胞的增殖和凋亡调控有重要的作用.但其中的分子机制现在还未明确.De Martino等^[27]研究发现HMGA2诱导转录因子E2F1活性增加并促进细胞异常增生,HMGA2还可通过与细胞周期素B2(cyclin B2, ccnb2)基因启动子结合,上调ccnb2的活性,增加ccnb2的表达,从而促进细胞周期G₂/M期的转化,诱导肿瘤生长.HMGA2可以通过cAMP反应元件抑制p120E4F,上调细胞周期素A的表达,干

扰细胞周期,促进肿瘤发生^[28].Motoyama等^[29]对110例胃癌患者的HMGA2 mRNA的表达研究发现,HMGA2 mRNA的高表达与胃癌患者的浆膜浸润淋巴结转移及静脉的浸润成正相关,但与性别、肿块大小和组织病理的类型无明显相关性.Dicello等^[6]研究发现用反义HMGA2质粒转染肺癌细胞,HMGA2的蛋白表达水平明显下降,并对细胞的增殖有明显的抑制作用.

细胞凋亡与胃癌的发病关系已引起人们的广泛重视,借助诱导胃癌细胞凋亡来治疗胃癌亦已成为研究的热点.应用小分子干扰RNA技术,剪切癌基因或凋亡抑制基因而诱导胃癌细胞的自发凋亡,成为了胃癌治疗的一个新思路和研究^[30].本研究表明利用RNAi干扰沉默HMGA2后,可以通过抑制胃癌细胞的生长,促进胃癌细胞的凋亡而可能达到治疗胃癌的目的.但是如何做到特异而持久有效的转染载体体系,如何发现更多的基因和认识更多的基因功能,还需在理论和技术上做出更多的努力.HMGA2基因对胃癌细胞的生长和凋亡作用的具体分子机制还有待进一步实验探索.

4 参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- 2 Cleynen I, Van de Ven WJ. The HMGA proteins: a myriad of functions (Review). *Int J Oncol* 2008; 32: 289-305
- 3 Wang X, Liu X, Li AY, Chen L, Lai L, Lin HH, Hu S, Yao L, Peng J, Loera S, Xue L, Zhou B, Zhou L, Zheng S, Chu P, Zhang S, Ann DK, Yen Y. Overexpression of HMGA2 promotes metastasis and impacts survival of colorectal cancers. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 2570-2580
- 4 Hristov AC, Cope L, Reyes MD, Singh M, Iacobuzio-Donahue C, Maitra A, Resar LM. HMGA2 protein expression correlates with lymph node metastasis and increased tumor grade in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mod Pathol* 2009; 22: 43-49
- 5 Bartuma H, Panagopoulos I, Collin A, Trombetta D, Domanski HA, Mandahl N, Mertens F. Expression levels of HMGA2 in adipocytic tumors correlate with morphologic and cytogenetic subgroups. *Mol Cancer* 2009; 8: 36
- 6 Di Cello F, Hillion J, Hristov A, Wood LJ, Mukherjee M, Schuldenfrei A, Kowalski J, Bhattacharya R, Ashfaq R, Resar LM. HMGA2 participates in transformation in human lung cancer. *Mol Cancer Res* 2008; 6: 743-750
- 7 Malek A, Bakhidze E, Noske A, Sers C, Aigner A, Schäfer R, Tchernitsa O. HMGA2 gene is a promising target for ovarian cancer silencing therapy. *Int J Cancer* 2008; 123: 348-356
- 8 Wei JJ, Wu J, Luan C, Yeldandi A, Lee P, Keh P, Liu J. HMGA2: a potential biomarker complement to P53 for detection of early-stage high-grade papillary se-

■同行评价

本文探讨了shRNA沉默干扰HMGA2基因对胃癌细胞株MKN-45的增殖与凋亡的影响.研究设计较为合理,数据材料较为充分,具有一定科研意义.

- rous carcinoma in fallopian tubes. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 18-26
- 9 Yang GL, Zhang LH, Bo JJ, Hou KL, Cai X, Chen YY, Li H, Liu DM, Huang YR. Overexpression of HMGA2 in bladder cancer and its association with clinicopathologic features and prognosis HMGA2 as a prognostic marker of bladder cancer. *Eur J Surg Oncol* 2011; 37: 265-271
 - 10 Fedele M, Palmieri D, Fusco A. HMGA2: A pituitary tumour subtype-specific oncogene? *Mol Cell Endocrinol* 2010; 326: 19-24
 - 11 Lowe SW, Lin AW. Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis* 2000; 21: 485-495
 - 12 Ashar HR, Chouinard RA, Dokur M, Chada K. In vivo modulation of HMGA2 expression. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1799: 55-61
 - 13 Winter N, Nimzyk R, Börsche C, Meyer A, Bullerdiek J. Chromatin immunoprecipitation to analyze DNA binding sites of HMGA2. *PLoS One* 2011; 6: e18837
 - 14 Thuault S, Tan EJ, Peinado H, Cano A, Heldin CH, Moustakas A. HMGA2 and Smads co-regulate SNAIL1 expression during induction of epithelial-to-mesenchymal transition. *J Biol Chem* 2008; 283: 33437-33446
 - 15 Summer H, Li O, Bao Q, Zhan L, Peter S, Sathiyathan P, Henderson D, Klonisch T, Goodman SD, Dröge P. HMGA2 exhibits dRP/AP site cleavage activity and protects cancer cells from DNA-damage-induced cytotoxicity during chemotherapy. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: 4371-4384
 - 16 Akaboshi S, Watanabe S, Hino Y, Sekita Y, Xi Y, Araki K, Yamamura K, Oshima M, Ito T, Baba H, Nakao M. HMGA1 is induced by Wnt/beta-catenin pathway and maintains cell proliferation in gastric cancer. *Am J Pathol* 2009; 175: 1675-1685
 - 17 Chiappetta G, Ferraro A, Vuttariello E, Monaco M, Galdiero F, De Simone V, Califano D, Pallante P, Botti G, Pezzullo L, Pierantoni GM, Santoro M, Fusco A. HMGA2 mRNA expression correlates with the malignant phenotype in human thyroid neoplasias. *Eur J Cancer* 2008; 44: 1015-1021
 - 18 Venkatesan N, Kandalam M, Pasricha G, Sumantran V, Manfioletti G, Ono SJ, Reddy MA, Krishnakumar S. Expression of high mobility group A2 protein in retinoblastoma and its association with clinicopathologic features. *J Pediatr Hematol Oncol* 2009; 31: 209-214
 - 19 Meyer B, Loeschke S, Schultze A, Weigel T, Sandkamp M, Goldmann T, Vollmer E, Bullerdiek J. HMGA2 overexpression in non-small cell lung cancer. *Mol Carcinog* 2007; 46: 503-511
 - 20 Li AY, Lin HH, Kuo CY, Shih HM, Wang CC, Yen Y, Ann DK. High-mobility group A2 protein modulates hTERT transcription to promote tumorigenesis. *Mol Cell Biol* 2011; 31: 2605-2617
 - 21 Ohshima K, Inoue K, Fujiwara A, Hatakeyama K, Kanto K, Watanabe Y, Muramatsu K, Fukuda Y, Ogura S, Yamaguchi K, Mochizuki T. Let-7 microRNA family is selectively secreted into the extracellular environment via exosomes in a metastatic gastric cancer cell line. *PLoS One* 2010; 5: e13247
 - 22 查郎, 王子卫, 张能. HMGA2与胃癌上皮细胞间质转化的相关性及其临床意义. *生命科学研究* 2011; 15: 61-65
 - 23 陈鹏, 孔令斌, 王春松, 杨景玉. siRNA沉默Livin基因对胃癌细胞生长、凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1346-1349
 - 24 Gao Y, Shan ZY, Wang H, Zhang HM, Teng WP. Inhibitory effect of shRNA targeting GPR48 on invasion and metastasis of human cervical carcinoma cell line HeLa. *Ai Zheng* 2009; 28: 104-107
 - 25 Bluff JE, Amarzguioui M, Slattey J, Reed MW, Brown NJ, Staton CA. Anti-tissue factor short hairpin RNA inhibits breast cancer growth in vivo. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 128: 691-701
 - 26 Zhang D, Liu J, Wang Y, Chen J, Chen T. shRNA-mediated silencing of Gli2 gene inhibits proliferation and sensitizes human hepatocellular carcinoma cells towards TRAIL-induced apoptosis. *J Cell Biochem* 2011; 112: 3140-3150
 - 27 De Martino I, Visone R, Wierinckx A, Palmieri D, Ferraro A, Cappabianca P, Chiappetta G, Forzati F, Lombardi G, Colao A, Trouillas J, Fedele M, Fusco A. HMGA proteins up-regulate CCNB2 gene in mouse and human pituitary adenomas. *Cancer Res* 2009; 69: 1844-1850
 - 28 Tessari MA, Gostissa M, Altamura S, Sgarra R, Rustighi A, Salvagno C, Caretti G, Imbriano C, Mantovani R, Del Sal G, Giancotti V, Manfioletti G. Transcriptional activation of the cyclin A gene by the architectural transcription factor HMGA2. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 9104-9116
 - 29 Motoyama K, Inoue H, Nakamura Y, Uetake H, Sugihara K, Mori M. Clinical significance of high mobility group A2 in human gastric cancer and its relationship to let-7 microRNA family. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2334-2340
 - 30 王红建, 戴云海, 朱金水. 胃癌基因治疗的研究与应用进展. *肿瘤基础与临床* 2009; 22: 367-369

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.

胃腺癌患者舌苔变化及其血清sE-cad水平和临床检验指标的相关性

张军峰, 吴娟, 孙正, 张春兵, 佟书娟, 杨亚平, 马宏跃, 秦蕾, 董伟, 詹臻

张军峰, 吴娟, 佟书娟, 杨亚平, 秦蕾, 董伟, 詹臻, 南京中医药大学中西医结合学科 江苏省南京市 210046
孙正, 江苏省中医院消化肿瘤外科 江苏省南京市 210029
张春兵, 江苏省中医院检验科 江苏省南京市 210029
马宏跃, 南京中医药大学药学院 江苏省南京市 210046
张军峰, 博士, 副教授, 主要从事肿瘤患者舌苔形成的分子机制研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30973715, No. 81001502
江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2008461
教育部高等学校博士点基金资助项目, No. 20103237110011
江苏高校优势学科建设工程基金资助项目(PAPD)
江苏省高校自然科学基金资助项目, No. 10KJB360004
南京中医药大学优秀青年教师支持计划基金资助项目
作者贡献分布: 张军峰负责实验设计、数据分析与论文起草; 孙正、张春兵及佟书娟负责样本取材与信息调查; 吴娟、马宏跃、秦蕾及董伟负责调查表信息设计与数据分析理论指导; 杨亚平负责舌苔辨证与中医诊断信息设计; 詹臻负责课题设计、协调、文章审阅和修改。

通讯作者: 詹臻, 教授, 210046, 江苏省南京市仙林大道138号, 南京中医药大学中西医结合学科, zhanzhan5607@sina.com
电话: 025-85811925

收稿日期: 2011-12-11 修回日期: 2012-01-05
接受日期: 2012-01-19 在线出版日期: 2012-01-28

Relationships among changes in tongue coating, levels of serum soluble E-cadherin, clinical examination parameters and gastric adenocarcinoma

Jun-Feng Zhang, Juan Wu, Zheng Sun, Chun-Bing Zhang, Shu-Juan Tong, Ya-Ping Yang, Hong-Yue Ma, Lei Qin, Wei Dong, Zhen Zhan

Jun-Feng Zhang, Juan Wu, Shu-Juan Tong, Ya-Ping Yang, Lei Qin, Wei Dong, Zhen Zhan, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China

Zheng Sun, Department of Digestive System Tumor Surgery, Jiangsu Provincial Hospital of TCM, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Chun-Bing Zhang, Department of Clinical Laboratory, Jiangsu Provincial Hospital of TCM, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Hong-Yue Ma, College of Pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 30973715 and 81001502; the National Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2008461; the Doctoral Fund of Ministry of Education of China, No. 20103237110011; the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions; the Natural

Science Foundation of Jiangsu Higher Education Institutions, No. 10KJB360004; the Young Teacher Foundation of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine
Correspondence to: Zhen Zhan, Professor, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 138 Xianlin Road, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China. zhanzhan5607@sina.com
Received: 2011-12-11 Revised: 2012-01-05
Accepted: 2012-01-19 Published online: 2012-01-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between serum soluble E-cadherin (sE-cad) levels and changes in tongue coating in patients with gastric adenocarcinoma and healthy controls.

METHODS: This was a case-control study involving 266 gastric adenocarcinoma cases and 252 healthy controls. Serum levels of sE-cad were measured by ELISA. The correlations among serum sE-cad levels, clinical examination parameters and type of tongue coating were analyzed using nonparametric tests.

RESULTS: Serum levels of sE-cad were significantly higher in gastric adenocarcinoma cases than in healthy controls ($P < 0.01$), in patients before operation than in those after operation ($P < 0.05$), and in patients with metastasis than in those without metastasis ($P < 0.05$). The levels of sE-cad were highest in patients with white thick coating, followed by those with white thin coating, yellow thick coating, yellow thin coating and exfoliative coating ($P < 0.05$), whereas the order in healthy controls was yellow thin coating, yellow thick coating, white thin coating, white thick coating and exfoliative coating ($P > 0.05$). The proportion of gastric adenocarcinoma cases with abnormal clinical examination parameters was higher than that of healthy controls ($P < 0.05$). Especially, gastric adenocarcinoma cases with thick and thin coatings and abnormal total protein had higher levels of sE-cad than healthy controls ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The changes in thick and thin coatings and levels of total protein and sE-cad

背景资料

sE-cad是近年来开始受到重视的上皮细胞来源肿瘤的标记分子, 研究sE-cad与上皮来源肿瘤-胃腺癌的相关性具有重要诊断和预后指示价值。

同行评议者

沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院

■ 研发前沿

舌背黏膜和胃黏膜解剖学相联系,相似性较大,舌背黏膜上皮细胞的生物学状态决定舌苔类型,故中医认为,苔为胃蒸脾湿上潮而生。但是,舌苔与胃的病理生理学特征的内在联系目前尚不清楚。

in serum can offer clues for diagnosis and treatment of gastric adenocarcinoma.

Key Words: Gastric adenocarcinoma; Tongue coating; Serum soluble E-cadherin; Clinical examination parameters

Zhang JF, Wu J, Sun Z, Zhang CB, Tong SJ, Yang YP, Ma HY, Qin L, Dong W, Zhan Z. Relationships among changes in tongue coating, levels of serum soluble E-cadherin, clinical examination parameters and gastric adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 193-199

摘要

目的: 探讨胃腺癌患者和正常人的舌苔形成与血清sE-cad水平的相关性。

方法: 采用临床病例-对照法,应用ELISA测定266例胃腺癌患者和252例对照人群的血清sE-cad水平,非参数检验分析血清sE-cad水平、临床检验指标和舌苔类型的相关性。

结果: 胃腺癌组血清sE-cad水平显著高于对照组($P<0.01$),术前者血清sE-cad水平显著高于术后者($P<0.05$),胃腺癌未转移者血清sE-cad水平显著高于转移者($P<0.05$)。胃腺癌组血清sE-cad水平表现为白厚苔>白薄苔>黄厚苔>黄薄苔>剥苔,有统计学意义($P<0.05$),对照组血清sE-cad水平表现为黄薄苔>黄厚苔>白薄苔>白厚苔>剥苔,但无统计学意义($P>0.05$)。胃腺癌组临床检验指标异常者比例均高于对照组($P<0.05$),特别是总蛋白异常的厚苔、薄苔胃腺癌患者的血清sE-cad水平均高于总蛋白异常的厚苔、薄苔对照组($P<0.05$)。

结论: 胃腺癌患者苔质厚薄变化、血清总蛋白和sE-cad水平检测对临床胃腺癌防治可能有重要的临床价值。

关键词: 胃腺癌; 舌苔; 血清sE-cad; 临床检验指标

张军峰, 吴娟, 孙正, 张春兵, 佟书娟, 杨亚平, 马宏跃, 秦蕾, 董伟, 詹臻. 胃腺癌患者舌苔变化及其血清sE-cad水平和临床检验指标的相关性. *世界华人消化杂志* 2012; 20(3): 193-199
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/193.asp>

0 引言

舌苔是中医临床舌诊的重要组成部分,可以作为多种疾病的辅助诊断指标,判断病情的轻重和转归,对临床辨证论治确有重要诊断价值,为历代医家所重视^[1,2]。舌苔的形成与舌上皮细胞的增殖、分化、凋亡及脱落密切相关,受到调

亡相关基因和黏附分子的调控。前期研究^[4,5]发现舌背黏膜上皮型钙黏蛋白(E-cadherin, E-cad) mRNA和蛋白质的表达水平与舌苔厚薄变化关系密切,近年来研究发现E-cad在癌组织中表达异常是胃癌重要的恶性生物学特征^[6],与胃癌中医证型关系密切^[7],可能成为胃癌恶性程度和中医证型的一种生物学指标。

上皮型E-cad几乎表达于所有的上皮细胞,主要介导钙离子依赖的同种亲和性细胞之间的连接,是调节细胞与细胞之间、细胞与基质之间黏附反应的重要媒介,对维持正常组织的结构和形态起着重要作用。E-cad在体内有组织型(或细胞型)与可溶型(soluble E-cadherin, sE-cad)2种形式,组织型E-cad在特定条件下可经蛋白水解酶脱落成可溶性E-cad^[8]。本项目采用病例-对照(case-control)法,研究胃腺癌患者舌苔形成与血清sE-cad水平的关系,并初步探讨了临床检验指标与舌苔、血清sE-cad水平的相关性,以期揭示舌苔辨证在胃腺癌中医临床诊断中的科学内涵,为胃癌的临床防治提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 经医院伦理委员会批准,患者和体检者知情同意,2008-07/2010-07在江苏省中医院、江苏省人民医院、八一医院收治的江苏胃腺癌患者266例,男182例,女84例,年龄27-83岁,平均年龄(59.0±11.4)岁,白薄苔76例,白厚苔90例,黄薄苔18例,黄厚苔30例,剥苔52例。对照组随机选取2009-07/2010-07在上述3家医院健康体检合格的江苏籍居民(无消化系疾病史)252例,男157例,女95例,年龄23-81岁,平均年龄(54.0±13.5)岁,白薄苔142例,白厚苔51例,黄薄苔24例,黄厚苔28例,剥苔7例。舌苔分类标准参照《中医诊断学》标准,记录苔色和苔质。排除标准:妊娠或哺乳期妇女,合并严重心、脑、肺、肝、肾等器官损害,对照组肿瘤标志物血清水平超过正常范围。

1.2 方法

1.2.1 随机调查: 采用统一设计的调查表,舌诊在清晨空腹进行面访记录,舌诊按照舌色、舌形、苔色、苔质和舌下脉络进行详细记录,收集外周静脉血5 mL,其他调查内容包括一般人口学特征、饮食生活习惯、临床检验结果、临床病理特征及治疗情况等。在数据处理时,按薄白苔、黄薄苔、白厚苔、黄厚苔和剥苔等5种常见舌苔分组合并,其中腻苔和腐苔合并到厚

表 1 胃腺癌患者临床病理特征及治疗与血清sE-cad水平的相关性分析 ($\mu\text{g/L}$, mean \pm SD)

项目	分类	n	sE-cad	Z值	P值
肿瘤分级	低分化	64	0.39 \pm 0.59	3.110	0.211
	中分化	41	0.60 \pm 0.73		
	高分化	3	0.62 \pm 0.59		
手术	术前	22	0.49 \pm 0.42	25.132	0.000
	术后	86	0.48 \pm 0.63		
化疗	化疗前	75	0.54 \pm 0.77	1.625	0.104
	化疗后	29	0.35 \pm 0.53		
转移	未转移	35	0.49 \pm 0.75	10.166	0.001
	转移	73	0.47 \pm 0.62		

表 2 胃腺癌组和对照组舌苔类型与血清sE-cad水平比较分析 ($\mu\text{g/L}$, mean \pm SD)

舌苔类型	白薄苔	白厚苔	黄薄苔	黄厚苔	剥苔
胃腺癌组	0.63 \pm 1.07 ^a	0.68 \pm 1.13 ^a	0.44 \pm 0.35	0.60 \pm 0.86	0.37 \pm 0.76
对照组	0.31 \pm 0.72	0.19 \pm 0.51	0.64 \pm 1.34	0.34 \pm 0.90	0.10 \pm 0.09

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

表 3 胃腺癌组和对照组不同苔色与苔质者的血清sE-cad水平比较分析 ($\mu\text{g/L}$, mean \pm SD)

舌苔分类	白苔	黄苔	厚苔	薄苔	剥苔
胃腺癌组	0.66 \pm 1.10 ^a	0.54 \pm 0.71 ^a	0.66 \pm 1.07 ^{bc}	0.59 \pm 0.97 ^{bc}	0.37 \pm 0.76
对照组	0.28 \pm 0.67	0.48 \pm 1.12	0.24 \pm 0.67	0.36 \pm 0.84	0.10 \pm 0.09

^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.001$ vs 对照组; ^c $P < 0.01$ vs 剥苔.

苔, 无苔合并到剥苔.

1.2.2 血清sE-cad水平检测: 血液凝固后, 常规3000 rpm 10 min离心分离血清, $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存. 利用ELISA试剂盒(美国R&D公司, 购自南京捷倍思生物技术有限公司)检测血清sE-cad, 酶标仪为美国Bio-Teck公司(型号为POWERWAVE340), 严格按照说明书进行实验操作.

统计学处理 将调查表和检测结果按照双盲法输入EpiData3.0软件, 建立信息数据库, 采用统计软件SPSS16.0进行数据分析, 计量资料以mean \pm SD表示, 采用随机区组设计方差分析、秩和检验、 χ^2 检验等, 所有统计检验均为双侧概率检验.

2 结果

2.1 胃腺癌组和对照组血清sE-cad水平比较 血清sE-cad水平不符合正态分布(检验统计量 = 0.330, $P < 0.05$), 故均采用非参数秩和检验. 胃腺癌组血清sE-cad水平($0.58\text{ }\mu\text{g/L} \pm 0.98\text{ }\mu\text{g/L}$)显著

高于对照组($0.31\text{ }\mu\text{g/L} \pm 0.78\text{ }\mu\text{g/L}$), 具有极显著统计学意义($Z = -4.471$, $P < 0.001$).

2.2 胃腺癌临床病理参数及治疗与血清sE-cad水平的相关性 选择有临床病理参数及治疗记录的胃腺癌患者, 观察胃癌分级、手术、化疗和转移与血清sE-cad水平变化的相关性, 结果如表1.

2.3 胃腺癌组和对照组不同舌苔类型的sE-cad水平比较 胃腺癌组和对照组不同舌苔者血清sE-cad水平如表2. 不同舌苔类型之间, 胃腺癌组血清sE-cad水平变化具有统计学意义($Z = 13.062$, $P < 0.05$), 但对照组无统计学意义($Z = 8.503$, $P > 0.05$). 白薄苔和白厚苔均表现为胃腺癌组大于对照组, 具有显著统计学意义($Z = -3.247$, -3.937 , $P < 0.05$).

2.4 胃腺癌组和对照组不同苔色与苔质的血清sE-cad水平比较 按照苔色与苔质将合并为白苔、黄苔与厚苔、薄苔、剥苔, 血清sE-cad水平如表3. 研究发现白苔和黄苔的胃腺癌组血清sE-cad水平平均高于对照组, 统计学差异极显著($Z =$

■创新盘点

本项目首次将舌苔观察与临床病理参数、临床检验和sE-cad结合起来, 开展病例-对照研究, 发现苔质、血清sE-cad水平和总蛋白可能对胃癌患者的早期诊断、综合治疗和判定预后具有一定的指导意义.

■应用要点

由于检测方法受到多种因素影响, sE-cad水平变异较大, 在临床应将舌苔变化与sE-cad水平、病理参数、手术、化疗及预后综合进行分析, 可以有助于胃癌早期诊断和预后判断。

表 4 胃腺癌组与对照组临床检验指标的比较分析

临床检验指标	分类	胃腺癌组n(%)	对照组n(%)	χ^2 值	P值
谷草转氨酶	正常	212(81.2)	226(90.0)	8.039	0.005
	异常	49(18.8)	25(10.0)		
谷丙转氨酶	正常	221(84.7)	208(82.5)	0.427	0.514
	异常	40(15.3)	44(17.5)		
总蛋白	正常	146(56.2)	216(90.0)	71.55	0.000
	异常	114(43.8)	24(10.0)		
白细胞计数	正常	100(49.0)	214(86.6)	74.76	0.000
	异常	104(51.0)	33(13.4)		
血红蛋白	正常	57(28.8)	189(76.8)	102.5	0.000
	异常	195(71.2)	87(23.2)		
中性粒细胞百分比	正常	71(35.0)	192(77.7)	83.87	0.000
	异常	132(65.0)	55(22.3)		
淋巴细胞百分比	正常	69(32.5)	185(74.9)	82.79	0.000
	异常	143(67.5)	62(25.1)		
血糖	正常	213(82.9)	219(89.4)	4.428	0.035
	异常	44 (17.1)	26(10.6)		

表 5 胃腺癌组与对照组不同苔质者临床检验指标的比较分析

临床检验指标	分组	薄苔(正常/异常)	厚苔(正常/异常)	剥苔(正常/异常)	χ^2 值	P值
谷草转氨酶	胃腺癌组	73/18	96/23	43/8	0.403	0.817
	对照组	152/14	68/10	6/1		
总蛋白	胃腺癌组	46/45	62/57	38/12	9.953	0.007
	对照组	143/14	68/8	5/2		
白细胞计数	胃腺癌组	50/30	37/57	13/17	9.714	0.008
	对照组	142/20	67/11	5/2		
血红蛋白	胃腺癌组	29/50	22/68	6/23	4.174	0.124
	对照组	128/33	57/21	4/3		
中性粒细胞百分比	胃腺癌组	35/45	27/68	9/19	4.062	0.100
	对照组	126/36	59/19	7/0		
淋巴细胞百分比	胃腺癌组	37/44	25/73	7/26	10.50	0.005
	对照组	124/38	55/23	6/1		
血糖	胃腺癌组	79/11	92/26	42/7	3.807	0.149
	对照组	142/19	73/4	4/3		

-4.801, -2.674, $P < 0.01$). 厚苔和薄苔的胃腺癌组均高于对照组, 具有显著统计学意义($Z = -4.073$, -4.085 , $P < 0.001$).

在胃腺癌组和对照组内相比, 白苔与黄苔、厚苔与薄苔的血清sE-cad水平相比均无统计学意义($P > 0.05$), 但胃腺癌组内厚苔和薄苔的血清sE-cad水平均高于剥苔($Z = -3.062$, -3.486 , $P < 0.01$).

2.5 胃腺癌组和对照组苔色与苔质的临床检验指标比较 将胃腺癌组和对照组的临床检验指标分为正常和异常, χ^2 检验结果显示, 胃腺癌组临床检验指标(除谷丙转氨酶)异常者比例均显著高于对照组($P < 0.05$, 表4).

在胃腺癌组和对照组内, 白苔和黄苔的相关临床检验指标相比均无统计学意义($P > 0.05$), 提示苔色与临床检验指标无关(数据未显示). 胃腺癌组内厚苔、薄苔和剥苔者的总蛋白、白细胞计数、淋巴细胞百分比差异显著($P < 0.05$), 而对对照组内血糖差异显著($P < 0.05$, 表5), 提示胃腺癌患者和健康人群苔质厚薄变化的机制不同.

2.6 胃腺癌组和对照组不同苔质血清sE-cad与临床检验指标相关性 比较不同苔质者临床检验指标正常和异常者的血清sE-cad水平, 结果发现白细胞计数($F = 1.879$, $P > 0.05$)、淋巴细胞百分比($F = 0.263$, $P > 0.05$)、谷氨酰转肽酶($F = 0.403$,

表 6 总蛋白正常和异常的不同苔质者血清sE-cad水平比较分析 ($\mu\text{g/L}$, mean \pm SD)

分组	苔质	总蛋白	<i>n</i>	sE-cad	Z_0 值	P_0 值	Z_1 值	P_1 值
胃腺癌组	薄苔	正常	46	0.46 \pm 0.85	-2.374	0.018	-2.217	0.027
		异常	45	0.76 \pm 1.09			-2.637	0.008
	厚苔	正常	62	0.49 \pm 1.09	-4.843	0.000	-0.813	0.416
		异常	57	0.86 \pm 1.02			-3.055	0.002
	剥苔	正常	38	0.35 \pm 0.84	-1.261	0.207	-1.137	0.256
		异常	12	0.47 \pm 0.53			-0.366	0.715
对照组	薄苔	正常	143	0.36 \pm .84	-1.783	0.075		
		异常	14	0.44 \pm 1.10				
	厚苔	正常	68	0.26 \pm 0.72	-0.702	0.482		
		异常	8	0.15 \pm 0.09				
	剥苔	正常	5	0.06 \pm 0.05	-1.954	0.051		
		异常	2	0.21 \pm 0.00				

Z_0 和 P_0 vs 异常; Z_1 和 P_1 vs 对照组.

表 7 多因素Logistic回归分析

因素	b	SE	Wald χ^2	<i>P</i> 值	Exp(b)	95%CI	
						下限	上限
苔质厚薄	1.005	0.220	20.781	0.000	2.731	1.773	4.206
血清sE-cad	0.279	0.125	4.986	0.026	1.321	1.035	1.687
总蛋白状态	2.137	0.272	61.847	0.000	8.472	4.974	14.430
常数项	-1.225	0.170	51.727	0.000	0.294		

$P > 0.05$)、血糖($F = 1.359$, $P > 0.05$)等指标无统计学意义, 而血清总蛋白具有统计学意义($F = 5.616$, $P < 0.05$). 对整体人群统计分析也发现不同苔质者总蛋白正常和异常分布差异极显著($\chi^2 = 30.397$, $P < 0.001$), 提示苔质形成与血清总蛋白状态密切相关. 因此, 将胃腺癌组和对照组的苔质变化、血清总蛋白状态和sE-cad水平结合起来进行研究, 结果如表6, 胃腺癌组的薄苔和厚苔中, 总蛋白正常者血清sE-cad水平显著低于异常者($P < 0.05$), 厚苔和薄苔的总蛋白异常的胃腺癌组血清sE-cad水平显著高于对照组($Z = -2.637$, -3.055 , $P < 0.01$), 提示胃腺癌患者苔质厚薄变化、总蛋白和血清sE-cad水平检测可能对胃腺癌诊断具有提示作用.

将苔质、总蛋白状态(正常/异常)和血清sE-cad水平作为自变量, 与胃腺癌的发生构建多元Logistic回归模型, 结果如表7, 结果表明苔质厚薄、总蛋白状态和血清sE-cad水平联合应用对胃腺癌诊断具有重要价值.

3 讨论

中医认为, 舌苔乃胃气所生, 吴坤安说: “舌之

■名词解释

舌苔: 是散布在舌背上的一层苔垢. 望舌苔是根据苔垢的色、质变化, 作为辨证依据的诊法. 苔质有厚薄、润燥、腐腻、剥落等变化, 苔色有白、黄、灰、黑及兼色变化. 凡透过舌苔能隐隐见到舌底之苔称薄苔, 不能透过舌苔见到舌底之苔称厚苔, 病程中舌苔全部或部分剥落者称剥落苔(简称剥苔).

苔, 胃蒸脾湿上潮而生”. 在胃的病变过程中, 舌苔的变化反映病邪的深浅、疾病的性质和邪正的消长, 正如《辨舌指南》所说: “验舌苔可视六淫之深浅”. 因此, 舌苔的形成和变化与消化系统的功能密切相关^[9]. 胃癌是我国最常见的消化系恶性肿瘤, 全世界约35%的胃癌病例发生在中国, 胃镜检查结合黏膜活检是目前最可靠的诊断手段, 在胃癌手术前, 不仅要做出定性诊断, 而且还要做出胃癌的类型及浸润范围的诊断, 这对进行外科手术具有重要帮助价值^[10]. 但是, 胃镜对患者造成损伤和痛苦可能使部分患者对就医和检查存在畏惧心理, 这给早期诊断和治疗造成很大困难, 这也是青年胃癌恶性程度高、青年组预后差、5年生存率低的重要原因^[11,12]. 所以, 寻找简便易行的诊断方法, 提高胃癌检出率成为当务之急.

近年来, 大量研究发现E-cad介导的细胞间黏附作用在胃癌发生、发展及转移过程中发挥重要作用, 其在癌组织中表达异常是胃癌重要的恶性生物学特征, 组织型E-cad和血清sE-cad的表达水平与胃癌的关系日益受到重视^[13-15]. 辨证论治是中医特色之一, 作为对疾病发展过程

■同行评价

本研究具有鲜明的中西医结合特色,以胃腺癌作为研究对象,设计合理,数据可靠,统计分析得当,对舌苔应用于胃腺癌诊断提供了新思路和有意义的结果。

中某一阶段病因、病位、病性以及邪正关系的综合概括,不同胃癌证型的局部浸润、淋巴结以及远脏器转移的程度不同,研究发现E-cad表达水平趋势为肝胃不和型>痰湿凝结型>胃热伤阴型>气血双亏型, E-cad表达的减少可能是痰湿凝结型、胃热伤阴型和气血双亏型胃癌容易发生转移的重要原因之一, E-cad的表达差异可能是形成不同证型胃癌的物质基础之一^[7,16]。

有学者在大量临床实践基础上,提出舌与上消化系黏膜像存在相关性,舌象与胃镜像密切相关^[17-19]。但是,胃黏膜未明显病变者,也存在异常舌象,故不能单凭舌苔判断胃黏膜病变情况,还需要结合其他临床检查结果进行综合分析。近来,胃癌中医证型的大样本研究^[20]发现,舌象是中医胃癌临床证候分类的重要指标,对于判断疾病的性质、推断病情的进退和预测疾病预后有着重要的作用。因此,研究胃癌患者舌苔形成与血清临床检验指标及sE-cad水平的关系,以期对胃癌的早期综合诊断提供新的思路,同时为中医胃癌证型本质的研究提供一个可靠的分子证据,为中医舌诊方法的现代化提供科学根据。

本研究显示胃腺癌组血清sE-cad显著高于对照组($P<0.001$),与文献^[15]结果一致,还发现胃腺癌组不同舌苔(除黄薄苔)者的血清sE-cad水平均高于对照组,特别是白薄苔和白厚苔具有统计学意义($P<0.05$)。本研究发现胃腺癌组和对照组血清sE-cad水平在不同舌苔组的变化趋势不同,胃腺癌组厚苔显著高于薄苔($P<0.05$),而对照组表现为薄苔高于厚苔,但无统计学意义($P>0.05$),提示苔质厚薄变化对于胃腺癌患者诊断意义更大。

目前认为E-cad的结构和功能变化直接关系到癌细胞的生物学行为,其在癌细胞的失表达、表达减低或量的改变均会影响癌细胞的脱落和再黏附,血清sE-cad是经Ca²⁺依赖蛋白酶降解而产生的胞外片段,并进入血循环。尽管肿瘤细胞表达E-cad的趋势是减少的,但因癌细胞向胞外分泌蛋白酶增多,故使血清sE-cad降解产生增加,且E-cad表达下调或缺失者血清sE-cad水平升高更为显著,故有学者认为血清sE-cad是上皮型恶性肿瘤的血清标志物,具有预后诊断价值^[21-24]。本研究发现胃腺癌患者术后与术前相比,血清sE-cad水平显著降低($P<0.05$),胃腺癌未转移的患者血清sE-cad水平高于转移患者($P<0.05$),与文献报道^[25,26]一致,提示血清sE-cad可能成为胃癌早期诊断和判断复发的潜在指标。

本项目前期研究舌鳞癌患者癌周正常舌苔黏膜组织中E-cad mRNA的表达趋势为黄厚苔>黄薄苔>剥苔>白厚苔>薄白苔^[4],组织型E-cad的表达趋势为白薄苔>白厚苔>黄厚苔>黄薄苔>剥苔^[5]。本文研究发现胃腺癌组血清sE-cad水平趋势为白厚苔>白薄苔>黄厚苔>黄薄苔>剥苔,与正常舌苔黏膜组织中E-cad mRNA的表达趋势相同之处在于相同苔色的厚苔高于薄苔,不同之处在于血清sE-cad水平黄苔高于白苔,而组织中E-cad mRNA白苔高于黄苔,提示在不同舌苔的胃腺癌患者E-cad的表达调控发生变化。清·杨云峰在《临证验舌法》指出“舌见黄色,脾胃病也”,胃腺癌患者血清sE-cad水平黄苔高于白苔,且厚苔高于薄苔,《望诊遵经》指出“苔垢薄者,形气不足;苔垢厚者,病气有余”,表明厚苔胃腺癌患者病情比薄苔严重,这与胃腺癌组黄厚苔血清sE-cad水平高于黄薄苔的现象一致,提示黄苔苔质厚薄变化对胃腺癌患者更具诊断意义。《医述》指出“舌竟无苔,胃气绝也”,提示胃腺癌患者胃气化生无源而导致产生剥苔,可能与患者组织E-cad表达降至很低,因此血清sE-cad水平也很低甚至检测值为负相关。本研究也发现剥苔胃腺癌患者病情更严重,多伴随转移和复发,预后很差。然而,本研究收集剥苔例数太少而未发现统计学意义,需要扩大样本量深入探讨剥苔与临床病理参数、血清sE-cad水平及预后的相关性。

血清sE-cad是蛋白酶水解组织型E-cad形成,蛋白酶活性可能受血清内环境影响。最新研究^[27]发现表皮生长因子(epithelial growth factor, EGF)可以通过金属蛋白酶(A Disintegrin And Metalloprotease, ADAM)10途径促进组织型E-cad降解为sE-cad,提示血清EGF与sE-cad水平可能存在相关性。本项目前期研究发现EGF与肿瘤患者舌苔形成关系密切^[28],将另文探讨其相关性。因此,本研究将血清临床检验指标纳入研究,发现胃腺癌患者不同苔质组中总蛋白正常者的血清sE-cad水平显著低于异常者($P<0.05$)。血清总蛋白增高提示脱水,血清总蛋白降低提示血液稀释、饥饿、营养不良、消化吸收不良综合征、严重甲状腺机能亢进、重症糖尿病、烧伤、蛋白质吸收功能障碍的胃肠道疾患、出血等^[29]。也有研究发现,正常细胞向恶性细胞转化时常常导致酶合成异常,提示血清总蛋白异常可能影响血清sE-cad降解产生相关酶类的催化活性,进而影响血清sE-cad水平^[30]。多元回归分析结果表明,胃

腺癌患者苔质厚薄变化、总蛋白状态和血清sE-cad水平检测可能对胃腺癌诊断具有提示作用。

总之, 胃腺癌的发生是一个多因素、多阶段、长期演变的过程, 早期诊断、早期治疗是提高患者生存期及降低病死率的关键。研究^[23]发现血清sE-cad水平与胃癌的侵袭性、肿瘤的分期和肿瘤的复发有一定的相关性。因此, 术前全面分析各项临床检测指标, 特别是观察胃腺癌患者苔质变化、检测血清sE-cad水平和总蛋白状态, 有助于评估胃癌的恶性演进状态, 对胃癌患者的早期诊断、综合治疗和判定胃癌根治术后的预后具有一定的指导意义。

4 参考文献

- 1 费兆馥, 顾亦棣. 望舌识病图谱. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1-8
- 2 王季黎, 杨拴成. 舌诊源流. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 5-19
- 3 张军峰, 詹臻. 凋亡相关基因调控舌苔形成的分子机制. 现代生物医学进展 2009; 9: 742-745
- 4 詹臻, 张军峰, 范媛, 佟书娟, 许冬青. E-钙粘蛋白mRNA的表达与舌苔形成的关系研究. 陕西中医 2007; 28: 1088-1091
- 5 王景叶, 佟书娟, 詹臻. 舌鳞癌患者舌苔形成与CD29和E-cad表达的相关性研究. 上海中医药大学学报 2010; 24: 33-35
- 6 尤立光, 邹小明, 徐亚东, 佟立权. 上皮型钙黏素、细胞周期素D1和 β -连环蛋白表达与胃癌的关系. 临床外科杂志 2007; 15: 756-759
- 7 许玲, 刘龙, 孙大志, 魏品康. E-钙粘蛋白与胃癌中医证型关系的研究. 成都中医药大学学报 2004; 27: 40-43
- 8 周永宁, 吴治德, 徐采朴, 房殿春. E-钙黏蛋白复合物与胃癌. 世界华人消化杂志 2002; 10: 436-440
- 9 边玲, 刘化恩. 浅谈脾胃功能与舌苔. 中医中药 2007; 4: 127-128
- 10 刘峰, 董雷. 368例胃癌内镜与病理病灶大小的对比分析. 现代肿瘤学 2007; 15: 1305-1306
- 11 胡华华. 青年人胃癌与老年人胃癌的内镜及临床特点对比分析. 齐齐哈尔医学院学报 2006; 27: 2204-2205
- 12 林晓琳, 慎睿哲, 程时丹, 王立夫. 内镜检出胃恶性肿瘤3460例分析. 内科理论与实践 2010; 5: 217-220
- 13 周永宁, 徐采朴, 韩彪, 王金穗, 房殿春, 彭贵勇, 杨建民, 刘海峰. 胃癌E-钙黏蛋白表达与临床病理学的关系. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1121-1124
- 14 Concolino P, Papa V, Mozzetti S, Ferlini C, Pacelli F, Martinelli E, Ricci R, Filippetti F, Scambia G, Doglietto GB. The unsolved enigma of CDH1 down-regulation in hereditary diffuse gastric cancer. *J Surg Res* 2004; 121: 50-55
- 15 曾德彬, 李晋波, 付强, 潘丁, 谢建国. 胃癌血清E-钙黏附素表达及临床意义. 中国药房 2009; 20: 1083-1085
- 16 孙大志, 许玲, 何金, 魏品康. 胃癌中医证型与胃癌转移相关基因E-cadherin的关系研究. 中医杂志 2005; 16: 611-616
- 17 姚保泰, 刘瑞高, 孔少明. 中医舌像与胃镜像对照图谱. 第1版. 山东: 山东科学技术出版社, 1996: 4-5
- 18 武和平, 郑嘉岗. 舌苔变化与胃镜所见的关联性观察. 上海中医药杂志 1994; 8: 9
- 19 宋云章, 孙善琳. 胃镜象与中医舌脉证关系的初探. 成都中医学院学报 1981; 3: 52-55
- 20 孙大志, 刘龙, 矫健鹏, 魏品康, 姜林娣, 许玲. 767例胃癌中医证候特点及不同证候构成. 中西医结合学报 2010; 8: 332-340
- 21 Ahmed MI, Abd-Elmotelib F, Farag RM, Ziada NA, Khalifa A. Evaluation of some tissue and serum biomarkers in prostatic carcinoma among Egyptian males. *Clin Biochem* 1999; 32: 439-445
- 22 Gofuku J, Shiozaki H, Doki Y, Inoue M, Hirao M, Fukuchi N, Monden M. Characterization of soluble E-cadherin as a disease marker in gastric cancer patients. *Br J Cancer* 1998; 78: 1095-1101
- 23 Chan AO, Chu KM, Lam SK, Wong BC, Kwok KF, Law S, Ko S, Hui WM, Yueng YH, Wong J. Soluble E-cadherin is an independent pretherapeutic factor for long-term survival in gastric cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2288-2293
- 24 Kuefer R, Hofer MD, Zorn CS, Engel O, Volkmer BG, Juarez-Brito MA, Eggel M, Gschwend JE, Rubin MA, Day ML. Assessment of a fragment of e-cadherin as a serum biomarker with predictive value for prostate cancer. *Br J Cancer* 2005; 92: 2018-2023
- 25 曹华祥, 陈平康, 金留根, 孙春雷, 费伯健. 胃癌浸润转移与血清可溶性上皮钙黏附蛋白的关系. 中华实验外科杂志 2006; 23: 1224-1225
- 26 金文涛, 金泽秋, 蒋辉. 胃癌患者手术前后血清SE-CAD、CEA和CA19-9检测的临床意义. 放射免疫学杂志 2007; 20: 416-417
- 27 Grabowska MM, Sandhu B, Day ML. EGF promotes the shedding of soluble E-cadherin in an ADAM10-dependent manner in prostate epithelial cells. *Cell Signal* 2012; 24: 532-538
- 28 詹臻, 汪红, 王瑞平, 郝晋丰, 吴美娟. 舌苔与表皮生长因子(EGF)关系的临床研究. 南京中医药大学学报(自然科学版) 2003; 19: 14-17
- 29 巫向前. 临床检验结果评价. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 176-177
- 30 李续亮, 于哈娜, 陈健, 刘秀英, 戚敬. 肿瘤患者血清酶的变化及临床意义. 中国医学检验杂志 2002; 3: 105-106

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》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)

不同大小的肝细胞癌超声造影特点

马琳, 卢强, 凌文武, 周翔, 林玲, 时莹瑜, 罗燕

■背景资料

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是我国最常见的原发性肝癌, 具有侵袭性强, 预后差的特点。超声造影能准确地评估HCC血流灌注特征, 对HCC进行定性诊断。

马琳, 卢强, 凌文武, 周翔, 林玲, 时莹瑜, 罗燕, 四川大学华西医院超声诊断科 四川省成都市 610041

马琳, 在读硕士, 主要从事腹部超声诊断研究。

作者贡献分布: 此课题由罗燕设计; 研究过程由马琳、卢强、凌文武、周翔、林玲、时莹瑜及罗燕操作完成; 数据分析和论文写作由马琳完成; 论文修改和审阅由罗燕完成。

通讯作者: 罗燕, 教授, 610041, 四川省成都市国学巷37号, 四川大学华西医院超声诊断科。luoyan77@vip.sina.com

电话: 028-85423192

收稿日期: 2011-10-29 修回日期: 2012-01-10

接受日期: 2012-01-16 在线出版日期: 2012-01-28

Contrast-enhanced ultrasound features of hepatocellular carcinoma of different sizes

Lin Ma, Qiang Lu, Wen-Wu Ling, Xiang Zhou, Ling Lin, Ying-Yu Shi, Yan Luo

Lin Ma, Qiang Lu, Wen-Wu Ling, Xiang Zhou, Ling Lin, Ying-Yu Shi, Yan Luo, Department of Ultrasound, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Correspondence to: Yan Luo, Professor, Department of Ultrasound, West China Hospital of Sichuan University, 37 Guoxue Lane, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. luoyan77@vip.sina.com

Received: 2011-10-29 Revised: 2012-01-10

Accepted: 2012-01-16 Published online: 2012-01-28

Abstract

AIM: To analyze the contrast-enhanced ultrasound (CEUS) features of hepatocellular carcinoma (HCC) of different sizes.

METHODS: A total of 75 consecutive patients with 90 HCC lesions were enrolled. HCC was examined by CEUS and confirmed by surgery and pathology. These patients were divided into two groups according to the maximum diameter of the lesion: small HCC (SHCC) group (diameter ≤ 3 cm) and large HCC (LHCC) group (> 3 cm). The CEUS characteristics of HCC of different sizes were analyzed retrospectively.

RESULTS: Among 90 lesions, 39 were small HCC (SHCC) and 51 were large HCC (LHCC). During the arterial phase, all the 39 lesions in the SHCC group exhibited hyperenhancement, of which 37 (94.9%) were homogeneously and 2 (5.1%) were inhomogeneously enhanced. Com-

paratively, all the 51 lesions in the LHCC group exhibited hyperenhancement, of them 27 (52.9%) appeared as homogeneous enhancement, 21 (41.2%) as inhomogeneous enhancement and 6 (6%) as atypical patterns. The enhancement patterns had significant difference during the arterial phase between the two groups ($P < 0.05$). During the portal phase, 10 (25.6%) lesions were isoechoic and 29 (74.4%) were hypoechoic in the SHCC group, while 7 (13.7%) lesions were hyperechoic, 2 were isoechoic (3.9%), and 42 (82.4%) were hypoechoic in the LHCC group. A significant difference was also noted in enhancement patterns during the portal phase between the two groups ($P < 0.05$). During the late phase, hypoenhancement was visualized in all the SHCC lesions, while in the LHCC group, hypoenhancement was visualized in 50 (98%) lesions and isoechoic in 1 (2%) lesion. No significant difference was observed in enhancement patterns during the late phase between the two groups.

CONCLUSION: Our study shows that the enhancement manifestations of HCC are related to lesion size. During the arterial phase, most SHCC lesions show homogeneous enhancement, while inhomogeneous enhancement patterns appear mostly in LHCC lesions. During the portal and late phases, SHCC lesions may be washed out earlier than LHCC ones.

Key Words: Contrast-enhanced ultrasound; Hepatocellular carcinoma; Blood perfusion

Ma L, Lu Q, Ling WW, Zhou X, Lin L, Shi YY, Luo Y. Contrast-enhanced ultrasound features of hepatocellular carcinoma of different sizes. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 200-204

摘要

目的: 分析不同大小肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)特点, 提高超声对HCC的诊断水平。

方法: 将我院2011-01/2011-09行超声造影检查并经手术及病理证实为HCC的连续性病例75

■同行评议者

丁惠国, 主任医师, 首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

例90个病灶按照病灶最大直径分为小肝癌(≤ 3 cm)和大肝癌(>3 cm)2组, 回顾性分析不同大小的HCC超声造影特点。

结果: 75例90个病灶小肝癌组39个, 大肝癌组51个。动脉期, 小HCC组39个病灶均呈高增强, 其中整体均匀增强37个(94.9%), 不均匀增强2个(5.1%); 大HCC组51个病灶均呈高增强, 其中整体均匀增强27个(52.9%), 不均匀增强21个(41.2%), 不典型增强3个(6%), 不同大小HCC动脉期增强形态具有统计学差异($P<0.05$)。门脉期, 小HCC组等增强10个(25.6%), 低增强29个(74.4%), 大HCC组高增强7个(13.7%), 等增强2个(3.9%), 低增强42个(82.4%), 不同大小的HCC门脉期增强水平具有统计学差异($P<0.05$)。延迟期, 小HCC组所有病灶均呈低增强, 大HCC组1个(2.0%)呈等增强, 50个(98.0%)呈低增强, 不同大小的HCC延迟期增强水平无统计学差异。

结论: HCC超声造影表现与肿瘤大小有一定的相关性, 小HCC动脉期增强多为整体均匀增强, 大HCC不均匀增强比例较多, 门脉期和延迟期大HCC造影剂廓清可能早于小HCC。

关键词: 超声造影; 肝细胞癌; 血流灌注

马琳, 卢强, 凌文武, 周翔, 林玲, 时莹瑜, 罗燕. 不同大小的肝细胞癌超声造影特点. 世界华人消化杂志 2012; 20(3): 200-204
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/200.asp>

0 引言

超声造影(contrast-enhanced ultrasonography, CEUS)技术作为一种可以无创性评价组织灌注和微循环的新技术^[1,2], 提高了肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)的检出率及诊断的准确性^[3-7], 为超声早期诊断和早期治疗HCC提供可能。目前国内多数学者对HCC超声造影表现与病理分化程度、微血管密度等的关系进行了研究, 而对不同大小HCC的超声造影特点的分析报道较少^[8,9]。本文回顾性分析我院75例HCC患者的超声造影表现, 探讨不同大小HCC的超声造影特点, 进一步提高术前诊断的准确性。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-01/2011-09在四川大学华西医院行超声造影检查并经手术及病理证实为HCC的连续性病例, 共75例, 其中男性62例, 女性13例, 年龄26-79岁, 平均(51.3 \pm 12.3)岁, 62例(82.7%)合并肝硬化, 20例(26.7%)合并脉管癌栓。

共观察90个病灶, 最大径线0.5-19 cm, 平均(4.8 \pm 3.5) cm, 按照中国肝癌病理协作组的标准, 以直径 ≤ 3 cm作为诊断小肝癌的标准, 本文将90个病灶分为小肝癌(≤ 3 cm)及大肝癌(>3 cm)2组, 其中小肝癌组39个病灶, 大肝癌组51个病灶。

1.2 方法 使用Philips iU22型彩色超声诊断仪, 采用凸阵探头, 频率为2.0-5.0 MHz及1.0-5.0 MHz, 显像模式为反向脉冲成像, 机械指数0.06-0.08。常规超声检测病灶的部位、大小、回声特征、血流信号及频谱性质, 然后启动超声造影模式, 聚焦点置于病灶下方, 经肘静脉团注法快速推注1.2-2.4 mL造影剂Sono Vue, 并以5 mL生理盐水冲管。注射造影剂的同时开启计时器, 持续观察4-6 min, 实时记录造影过程。如有必要再进行第2次注射造影剂, 间隔时间10 min。由2名具有5年以上超声诊断经验的医师担任超声造影前后的扫查工作, 记录各病灶的灌注时相并进行诊断。所有患者均行手术切除, 经病理及免疫组化染色检查证实为HCC。

本组研究按照欧洲临床超声造影指南^[10]分为3个时相: 造影剂注入后10-30 s为动脉相, 31-120 s为门脉相, 121 s至微泡消失为延迟相。观察CEUS不同时相的超声表现, 包括: (1)增强水平, 以病灶增强后的回声强度与同期周围正常肝组织作对照, 增强不均匀时以最高增强部分为主; (2)增强形态, 本组研究主要分为典型表现和不典型表现, 典型表现包括整体均匀增强, 不均匀增强, 不典型表现包括周围向心增强、环状增强及周边结节状增强^[11-13]。

统计学处理 采用SPSS13.0版软件进行处理, 计数资料以例数及百分率表示, 采用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 超声诊断 75例患者, 单发63例(84%), 多发12例(16%), 90个病灶均被准确定位, 其中72个(80%)具有肝硬化背景, 88个正确诊断为HCC, 1个考虑为血管平滑肌脂肪瘤, 1个考虑为肝脏局灶性结节增生(FNH), 本组研究超声造影对HCC的诊断准确性为97.8%(88/90)。

2.2 动脉期增强水平及形态 按照HCC病灶大小将75例患者90个病灶分为小肝癌(≤ 3 cm)及大肝癌(>3 cm)2组, 其中小肝癌组39个, 大肝癌组51个。90个病灶在动脉期的增强形态多为典型表现, 包括整体均匀增强(71.1%, 64/90)和不均匀增强(25.6%, 23/90), 不典型表现中周围

■ 研发前沿
超声造影(contrast-enhanced ultrasonography, CEUS)作为现代超声领域研究的热点之一, 对HCC诊断及鉴别诊断价值的研究十分活跃, 但当前对不同大小的HCC超声造影表现分析较少, 有待于进一步研究。

■ 相关报道
研究发现, SHCC的CEUS表现为: 多数病灶表现典型的“快进快出”, 达峰时病灶多表现为整体均匀增强, 少数病灶呈中央低增强、周边高增强。CEUS主要用于常规超声或其他检查发现病变的前提下, 其诊断的准确率同增强CT和MRI一样高。

■创新盘点

本研究对不同大小的HCC超声造影表现进行回顾性分析,尤其是目前对HCC超声造影特点与肿瘤大小的相关研究较少,结论对HCC的诊断具有一定的参考价值。

表 1 不同大小HCC超声造影三个时相增强水平 $n(\%)$

肿瘤大小	动脉期			门脉期			延迟期		
	高增强	等增强	低增强	高增强	等增强	低增强	高增强	等增强	低增强
小肝癌	39(100)	0(0)	0(0)	0(0)	10(25.6)	29(74.4)	0(0)	0(0)	39(100)
大肝癌	51(100)	0(0)	0(0)	7(13.7)	2(3.9)	42(82.4)	0(0)	1(2.0)	50(98.0)

高增强: 病灶回声强度高于周围正常肝组织; 等增强: 病灶回声强度与周围正常肝组织类似; 低增强: 病灶回声强度低于周围正常肝组织。

表 2 不同大小HCC超声造影动脉期增强形态 $n(\%)$

肿瘤大小	病灶数	典型表现		不典型表现		
		整体均匀增强	不均匀增强	周围向心增强	环状增强	周边结节状增强
小肝癌	39	37(94.9)	2(5.1)	0(0)	0(0)	0(0)
大肝癌	51	27(52.9)	21(41.2)	1(2.0)	1(2.0)	1(2.0)

周围向心增强: 造影剂从病灶周边开始增强, 逐渐向病灶中央填充, 中央可完全或不完全充填; 环状增强: 病灶中央呈低回声, 周围呈环状高回声增强; 周边结节状增强: 病灶中央呈低回声, 周边呈结节状高回声增强。

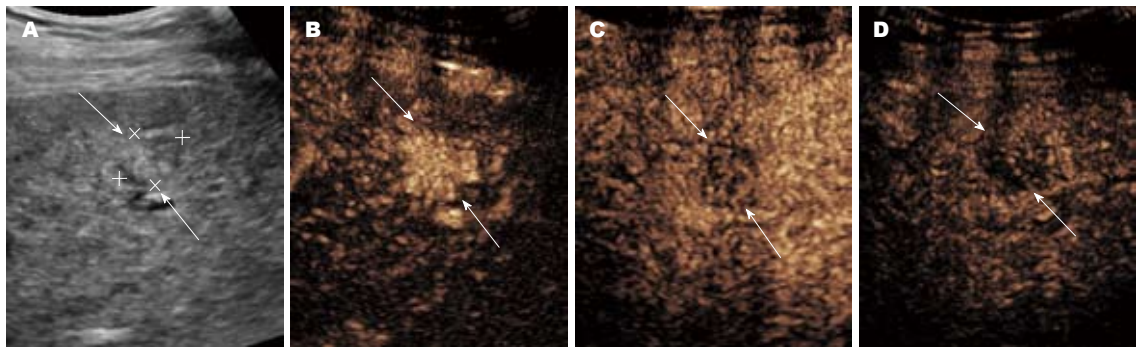


图 1 小肝癌超声造影表现. A: 右前叶下段大小为1.7 cm × 1.3 cm的弱回声结节, 边界较清楚, 形态较规则; B: 动脉期病灶呈整体均匀增强; C: 门脉期病灶开始消退呈低增强; D: 延迟期病灶整体消退呈低增强。

向心增强, 环状增强及周边结节状增强各有1例(1.1%, 1/90)。小HCC组39个病灶动脉期均呈高增强, 其中37个整体均匀增强(94.9%), 2个(5.1%)不均匀增强; 大HCC组51个病灶动脉期均呈高增强, 其中27个(52.9%)呈整体均匀增强, 21个(41.2%)不均匀增强, 3种不典型增强各有1个(2%)。不同大小的HCC动脉期增强形态具有统计学差异($P < 0.05$), 小HCC动脉期增强较均匀(表1, 2)。不同大小HCC超声造影图像见图1, 2。

2.3 门脉期及延迟期增强水平 在门脉期, 小HCC组原39个动脉期高增强病灶, 29个(74.4%)消退至低增强, 10个(25.6%)至等增强; 大HCC组原51个动脉期高增强病灶, 42个(82.4%)消退至低增强, 2个(3.9%)至等增强, 7个(13.7%)持续高增强, 不同大小病灶门脉期增强水平具有统计学差异($P < 0.05$)。延迟期, 小HCC组所有病灶呈低增强,

大HCC组中50个(98.0%)呈低增强, 1个(2.0%)呈等增强, 不同大小病灶延迟期增强水平无统计学差异(表1)。

3 讨论

低机械指数连续超声造影可实时观察肝脏肿瘤实质内微血管血流灌注的全过程, 提高了对肝脏肿瘤诊断的敏感性和特异性^[14-16], 诊断效能可与增强CT及MRI媲美^[17-20], 本组研究诊断准确性达97.8%(88/90)。

HCC典型的特征是动脉期病灶整体快速增强呈高增强^[10,21], 这是由于HCC主要由肝动脉供血, 而肝实质75%由门静脉供血, 故两者出现的增强效应完全不同^[22-24], 造影剂微泡动脉期迅速进入肿瘤微血管内, 使肿瘤快速增强, 呈“快进”表现, 本组75例90个病灶动脉期均呈高增

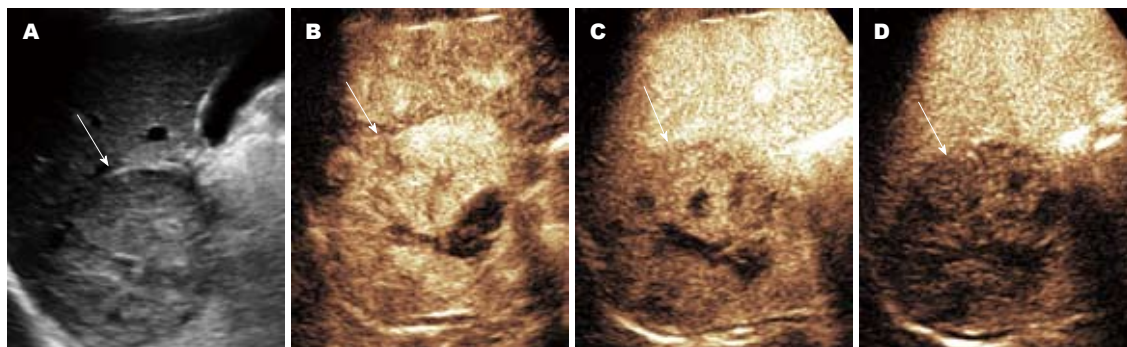


图 2 大肝癌超声造影表现. A: 右肝下份一大约7 cm×7.5 cm的稍强回声团块, 边界清楚, 形态较规则; B: 动脉期病灶呈不均匀增强; C: 门脉期病灶开始消退呈低增强; D: 延迟期病灶整体消退呈低增强, 团块中心可见3期不增强区域.

应用要点

本研究发现HCC超声造影表现与肿瘤大小具有一定的相关性, 为进一步提高临床医生对HCC的认识水平提供参考.

强, 符合这一特征. 不同大小的HCC, 其动脉期增强形态具有统计学差异($P<0.05$), 大HCC(>3 cm)动脉期不均匀增强比例较多, 与肿瘤内缺血坏死有关, 小HCC(≤ 3 cm)动脉期增强较为均匀, 这可能是由于体积较小的HCC, 其内部病理组织成分较均一, 中央坏死少见, 多呈现整体均匀增强^[25], 本研究结果与徐辉雄等^[26]报道一致.

门脉期和延迟期, HCC增强信号的廓清有所不同, 本组90个动脉期高增强的病灶门脉期有92.2%(83/90)个呈等/低增强, 延迟期均呈低增强, 这是由于肿瘤在动脉期增强后, 肝癌供血动脉迂曲扩张, 肿瘤周围及中心有大量异常增生的新生血管, 使肿瘤内造影剂的循环时间明显缩短, 当肿瘤内造影剂迅速廓清时, 正常肝实质出现强化, 肿瘤内回声强度明显低于周围肝组织, 呈“快出”表现^[27,28], 且均为2组HCC的主要造影表现. 在门脉期7个高增强的病灶中, 有6个延迟期呈低增强, 1个呈等增强, 即“慢出”和“同出”表现, “慢出”可能是由于肿瘤以门静脉血供为主或门静脉与肝动脉双重血供^[29], 使造影剂微泡从门静脉持续的再注入肿瘤而造成^[30], “同出”可能是与肿瘤除滋养血管外, 存在动静脉瘘的形成有关. “慢出”和“同出”表现均见于大HCC组, 这可能是由于肿瘤体积越大, 病灶内血管越丰富, 肿瘤滋养动脉、异常新生血管及门静脉血供不同程度增加有关^[31].

本组研究结果显示, 不同大小的HCC在门脉期的增强水平具有统计学差异($P<0.05$), 小HCC“低增强”表现比例(82.4%)较大HCC(74.4%)较多, 而本组研究不同大小病灶延迟相增强水平无统计学差异, 综合门脉期及延迟期增强水平, 可以认为不同大小的肿瘤造影剂的廓清有差异, 大HCC病灶廓清可能较早于小HCC. 这与陈敏华等^[12]的研究结果相一致.

欧洲指南^[10]指出良性病变在门脉期和延迟期仍持续增强, 恶性病变表现为造影剂的清除, 而本组研究中有一个HCC病灶门脉期持续高增强, 延迟期呈等增强, 即“快进同出”表现, 误诊为良性病变; 本组的另一例误诊见于大HCC组, 病灶动脉期呈不均匀增强, 门脉期呈等增强, 延迟期呈稍低增强, 病灶内可见星型不增强区域, 误诊为肝脏局灶性结节增生(FNH), 因此, 在临床实践检查中, 对于不典型的各种病例, 应紧密结合临床, 进一步提高HCC超声诊断水平, 部分病例最终确定需要穿刺活检.

总之, 超声造影能准确地评估HCC血流灌注特征, 对HCC进行定性诊断. HCC超声造影表现与肿瘤大小有一定的相关性, 小HCC动脉期增强多为整体均匀增强, 大HCC不均匀增强比例较多, 门脉期和延迟期大HCC造影剂廓清可能早于小HCC, 更多的诊断经验有待进一步的积累.

4 参考文献

- Morin SH, Lim AK, Cobbold JF, Taylor-Robinson SD. Use of second generation contrast-enhanced ultrasound in the assessment of focal liver lesions. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5963-5970
- Jang HJ, Yu H, Kim TK. Contrast-enhanced ultrasound in the detection and characterization of liver tumors. *Cancer Imaging* 2009; 9: 96-103
- 戴莹, 陈敏华, 严昆. 应用超声造影剂声谱维提高肝脏恶性肿瘤检出率. *中华医学超声杂志* 2004; 1: 121-123
- Nicolau C, Vilana R, Brú C. The use of contrast-enhanced ultrasound in the management of the cirrhotic patient and for detection of HCC. *Eur Radiol* 2004; 14 Suppl 8: P63-P71
- 陈晓宇, 赵宝珍, 王伟, 陆世萍. 肝细胞癌的灰阶超声、彩色多普勒超声和超声造影的对比研究. *中国医学影像学技术* 2006; 22: 189-192
- Ooi CC, Low SC, Schneider-Kolsky M, Lombardo P, Lim SY, Abu Bakar R, Lo RH. Diagnostic accuracy of contrast-enhanced ultrasound in differentiating benign and malignant focal liver lesions: a retrospective study. *J Med Imaging Radiat Oncol* 2010; 54: 421-430

■同行评价

本研究分析了不同大小的HCC超声造影特点及临床可能的应用价值, 选题具有实际的临床意义, 设计合理, 方法可靠, 结论有一定的临床参考价值。

- 7 Wu H, Lu Q, Luo Y, He XL, Zeng Y. Application of contrast-enhanced intraoperative ultrasonography in the decision-making about hepatocellular carcinoma operation. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 508-512
- 8 徐辉雄, 吕明德, 谢晓燕, 刘广健, 徐作峰, 郑燕玲, 梁瑾瑜. 实时超声造影对不超过2 cm肝细胞癌定性诊断的临床研究. *中国超声医学杂志* 2006; 22: 532-534
- 9 钱林学, 刘玉江, 丁惠国. 小肝癌的影像学诊断进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 479-486
- 10 Claudon M, Cosgrove D, Albrecht T, Bolondi L, Bosio M, Calliada F, Correas JM, Darge K, Dietrich C, D'Onofrio M, Evans DH, Filice C, Greiner L, Jäger K, Jong N, Leen E, Lencioni R, Lindsell D, Martegani A, Meairs S, Nolsøe C, Piscaglia F, Ricci P, Seidel G, Skjoldbye B, Solbiati L, Thorelius L, Tranquart F, Weskott HP, Whittingham T. Guidelines and good clinical practice recommendations for contrast enhanced ultrasound (CEUS) - update 2008. *Ultraschall Med* 2008; 29: 28-44
- 11 莫国强, 刘学明, 张闻, 许俊, 陈建科, 洪玉荣, 潘敏强. 肝局灶性病变声学造影早期动脉相增强类型及临床意义. *中国超声医学杂志* 2006; 22: 604-606
- 12 陈敏华, 戴莹, 严昆. 肝细胞肝癌超声造影增强模式及诊断标准探讨. *中国医刊* 2006; 41: 32-34
- 13 郭军, 梁媛, 严剑英, 刘焱. 实时超声造影鉴别诊断肝脏良、恶性病变. *中国医学影像技术* 2008; 24: 1434-1437
- 14 Quaia E, Calliada F, Bertolotto M, Rossi S, Garioni L, Rosa L, Pozzi-Mucelli R. Characterization of focal liver lesions with contrast-specific US modes and a sulfur hexafluoride-filled microbubble contrast agent: diagnostic performance and confidence. *Radiology* 2004; 232: 420-430
- 15 Quaia E, Stacul F, Gaiani S, Ricci P, Passariello R, Curzio D, Pozzi Mucelli R. Comparison of diagnostic performance of unenhanced vs SonoVue - enhanced ultrasonography in focal liver lesions characterization. The experience of three Italian centers. *Radiol Med* 2004; 108: 71-81
- 16 Maruyama H, Yoshikawa M, Yokosuka O. Current role of ultrasound for the management of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1710-1719
- 17 Dai Y, Chen MH, Fan ZH, Yan K, Yin SS, Zhang XP. Diagnosis of small hepatic nodules detected by surveillance ultrasound in patients with cirrhosis: Comparison between contrast-enhanced ultrasound and contrast-enhanced helical computed tomography. *Hepatol Res* 2008; 38: 281-290
- 18 Trillaud H, Bruel JM, Valette PJ, Vilgrain V, Schmutz G, Oyen R, Jakubowski W, Danes J, Valek V, Greis C. Characterization of focal liver lesions with SonoVue-enhanced sonography: international multicenter-study in comparison to CT and MRI. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3748-3756
- 19 Bartolotta TV, Taibbi A, Midiri M, La Grutta L, De Maria M, Lagalla R. Characterisation of focal liver lesions undetermined at grey-scale US: contrast-enhanced US versus 64-row MDCT and MRI with liver-specific contrast agent. *Radiol Med* 2010; 115: 714-731
- 20 Guang Y, Xie L, Ding H, Cai A, Huang Y. Diagnosis value of focal liver lesions with SonoVue®-enhanced ultrasound compared with contrast-enhanced computed tomography and contrast-enhanced MRI: a meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1595-1605
- 21 Brannigan M, Burns PN, Wilson SR. Blood flow patterns in focal liver lesions at microbubble-enhanced US. *Radiographics* 2004; 24: 921-935
- 22 Quaia E, Degobbi F, Tona G, Mosconi E, Bertolotto M, Pozzi Mucelli R. [Differential patterns of contrast enhancement in different focal liver lesions after injection of the microbubble US contrast agent SonoVue]. *Radiol Med* 2004; 107: 155-165
- 23 王洪波, 候秀娟, 王晓蕾, 王虹, 刘爱武. 实时灰阶超声造影在肝肿瘤诊断中的价值. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2726-2729
- 24 Molins IG, Font JM, Alvaro JC, Navarro JL, Gil MF, Rodríguez CM. Contrast-enhanced ultrasound in diagnosis and characterization of focal hepatic lesions. *World J Radiol* 2010; 2: 455-462
- 25 丁红, 王文平, 黄备建, 李超伦, 张晖, 魏瑞雪. 超声造影检测和诊断小肝癌的价值. *中国普外基础与临床杂志* 2007; 14: 28-31
- 26 徐辉雄, 吕明德, 谢晓燕, 刘广健, 徐作峰, 郑燕玲, 梁瑾瑜, 黄蓓. 肝细胞性肝癌超声造影的增强模式——低机械指数连续实时成像技术的应用研究. *中国超声医学杂志* 2005; 21: 126-129
- 27 白敏, 杜联芳, 张雪梅, 伍英, 李凡. 低机械指数连续实时超声造影对肝细胞肝癌的诊断价值. *临床超声医学杂志* 2008; 10: 523-526
- 28 陈敏华, 严昆. 新型造影剂与灰阶超声造影技术对肝肿瘤的诊断价值. *中华超声影像学杂志* 2004; 13: 38-42
- 29 Kudo M. Imaging blood flow characteristics of hepatocellular carcinoma. *Oncology* 2002; 62 Suppl 1: 48-56
- 30 陈敏华, 戴莹, 严昆, 范智慧, 吴薇, 王艳滨, 尹珊珊, 李吉友. 新型超声造影技术对微小肝癌诊断的价值. *北京大学学报(医学版)* 2005; 37: 458-462
- 31 司苓, 钱晓莉, 黄声稀, 吕校平, 全威, 黄艳丽. 原发性肝癌超声造影特征及其与病理相关性的研究. *临床肿瘤学杂志* 2011; 16: 50-53

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

共聚焦显微镜辅助下诊断早期胃癌的可行性

李守震, 王权

李守震, 王权, 吉林大学第一医院胃肠结直肠外科 吉林省长春市 130021

作者贡献分布: 本文综述由李守震完成写作; 王权负责审校。
通讯作者: 王权, 副教授, 130021, 吉林省长春市, 吉林大学第一医院胃肠结直肠外科. wangquan-jlcc@hotmail.com
电话: 0431-88782737

收稿日期: 2011-11-22 修回日期: 2011-12-19

接受日期: 2012-01-06 在线出版日期: 2012-01-28

Feasibility of diagnosis of early gastric cancer assisted by confocal microscopy

Shou-Zhen Li, Quan Wang

Shou-Zhen Li, Quan Wang, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China

Correspondence to: Quan Wang, Associate Professor, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China. wangquan-jlcc@hotmail.com

Received: 2011-11-22 Revised: 2011-12-19

Accepted: 2012-01-06 Published online: 2012-01-28

Abstract

Gastric cancer has high incidence and mortality and does serious harm to the health of human beings. Early diagnosis and radical operation are crucial for prognosis in patients with gastric cancer. Worldwide efforts have been taken to search new methods and technologies that can enable early, accurate and efficient diagnosis of gastric cancer. The birth of the confocal microscope makes the dream come true. It perfectly combines the advantages of various kinds of technologies and allows early, rapid and accurate diagnosis of gastric cancer. In this paper, we discuss the possibility of using laser confocal microscopy for the early diagnosis of gastric cancer to improve patients' life quality and survival rate.

Key Words: Laser confocal microscope; Gastric cancer; Early diagnosis

Li SZ, Wang Q. Feasibility of diagnosis of early gastric cancer assisted by confocal microscopy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 205-209

摘要

胃癌的发病率及死亡率均较高, 严重危害人类健康, 其早期诊断及根治性手术对胃癌患者预后至关重要。目前全世界范围内都在努力探索对胃癌早期诊断的新方法新技术, 从传统的消化内镜诊断到病理组织学诊断, 人们一直在寻求一种能够早期准确高效的诊断胃癌的有力手段, 而共聚焦显微镜的诞生实现了这一愿望, 达到了早期、快速、准确的诊断胃癌的目的, 实现了多种技术优点的完美结合。本文通过深度阅读大量新近国内外文献, 探讨通过借助目前最先进的激光共聚焦显微镜技术达到对胃癌患者的早期诊断、提高患者术后生存质量及生存率的可行性。

关键词: 激光共聚焦显微镜; 胃癌; 早期诊断

李守震, 王权. 共聚焦显微镜辅助下诊断早期胃癌的可行性. *世界华人消化杂志* 2012; 20(3): 205-209

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/205.asp>

0 引言

目前, 胃癌是世界范围内死亡率第2位的恶性肿瘤, 其5年生存率约20%。我国胃癌患者占全世界三分之一, 其发病率居各类肿瘤的首位, 早期诊断及手术治疗对预后至关重要。应用最普遍的是传统内镜检查, 但是由于其分辨率有限, 组织活检随机性较大^[1-3], 难以高效的诊断早期胃癌。因此, 利用目前最先进的共聚焦显微镜技术^[4-6]提高胃癌患者早期诊断率及手术治愈率对改善患者预后意义极其重大。1957年Minsky提出了共聚焦显微镜技术的某些基本原理, 并获得了专利; 1967年Egger和Petran成功的应用共聚焦显微镜产生了一个光学横断面; 1987年第一台商业化的共焦扫描显微镜诞生。激光扫描共聚焦显微镜是20世纪80年代发展起来的一项具有划时代意义的高科技产品, 他是在荧光显微镜成像基础上加装了激光扫描装置, 利用计算机进行图像处理, 把光学成像的分辨率提高了30%-40%, 使用紫外或可见光激发荧光探针, 从而得到放

■背景资料

胃癌是目前世界范围内死亡率第2位的恶性肿瘤, 其5年生存率约20%。早期诊断及手术治疗对预后至关重要。应用最普遍的是传统内镜检查, 但是由于其分辨率有限, 组织活检随机性较大难以高效的诊断早期胃癌。利用目前最先进的共聚焦显微镜技术提高胃癌患者早期诊断率及手术治愈率对改善患者预后意义重大。

■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

■研发前沿

国内外大量研究聚焦于通过观察正常胃黏膜、胃癌黏膜的共聚焦图像确定共聚焦内镜诊断参数。但共聚焦图像质量的保证仍需解决。

大1 000倍的组织表面和表面下的虚拟组织学图像^[7-9]即组织、细胞或亚细胞结构的荧光图像,可以在亚细胞水平上^[10-12]观察诸如Ca²⁺、pH值、膜电位等生理信号及细胞形态的变化,成为形态学、分子生物学、神经科学、药理学、遗传学等领域中新一代强有力的研究工具。在我国,这项技术主要应用与共聚焦显微内镜。查阅国内外文献,这一技术在胃癌的早期诊断方面已有诸多显著成果。通过观察正常胃黏膜,胃癌黏膜的共聚焦图像如胃小凹形态结构、微血管形态、管径、数目、面积、微血管渗漏现象^[13-15]等特征,隐窝形态、隐窝细胞明暗度^[16-18]、腺体结构、基质染色情况、基底膜完整性、细胞核形态^[19-21]、核质比例、染色模式变化等确定共聚焦内镜诊断参数。通过与组织学图像进行对比,并请病理医师对2种图像分别进行诊断,发现共聚焦图像与组织学图像具有良好的对应性^[22,23],诊断准确率非常高,提示依据共聚焦图像完全可进行实时体内组织学诊断^[24-26]。并进一步确立了应用共聚焦图像根据以上参数诊断早期胃肿瘤的诊断标准,明确了色素内镜指导的共聚焦激光显微内镜对胃癌诊断的真实性和可重复性。

1 相关研究

共聚焦激光显微内镜可清楚地观察到胃黏膜表面的胃小凹的结构^[27-29],包括组成胃小凹的表面柱状上皮细胞、胃小凹的开口、胃小凹之间的间质。正常的胃底腺黏膜表现为具有圆形开口的圆形胃小凹;正常幽门腺黏膜表现为裂隙样开口的连续的短棒状胃小凹。而胃癌患者的共聚焦图像与正常者明显不同^[30-32],正常的胃小凹结构消失,而代之以具有肿瘤特征的明显异型的细胞及结构即胃小凹结构的完整性破坏或消失,取代为分散排列的黑色团块状的肿瘤细胞,细胞着色差,细胞极性消失,黏膜微血管网^[33-35]紊乱、增粗、扭曲、变形。根据2名医师对共聚焦图像的判定结果,共聚焦激光显微内镜对胃癌诊断的准确度分别为95%和92.5%。

胃小凹形态分为7型。正常胃底腺黏膜主要表现为A型(圆形开口的圆形胃小凹),而出现组织学胃炎的胃体黏膜表现为B型(非连续性短棒状胃小凹);正常幽门腺黏膜表现为C型(开口为裂隙样的连续性短棒状胃小凹),出现组织学胃炎的胃窦黏膜表现为D型(延长、扭曲的树枝状胃小凹);随着萎缩性胃炎的出现,表现为E型,胃小凹的数目减少,开口常扩大;出现肠上皮化

生^[36-38]则表现为F型,出现易于辨认的大而黑的杯状细胞,伴有或不伴有绒毛样结构;胃癌则表现为G型,其中,未分化型腺癌为G₁型,表现为正常的胃小凹的结构消失,出现散在的异型的肿瘤细胞。分化型腺癌为G₂型,表现为正常的胃小凹的结构消失,出现形态各异、大小不一的异型的腺体;E型对于萎缩性胃炎诊断的敏感度、特异度分别为83.6%和99.6%。G型对于胃癌诊断的敏感度、特异度分别为90.0%和99.4%^[13,39,40]。色素内镜指导的共聚焦激光显微内镜对于胃癌诊断的敏感度、特异度、准确度分别为93.8%、99.2%、98.3%。

微血管诊断参数主要有微血管形态、管径、数目、面积、微血管渗漏等;微血管形态分为5型: I: 微血管数目增多,粗细不等,排列不规则; II: 微血管数目减少,排列不规则; III: 分支增多,管径基本均匀一致; IV: 规则排列的微血管网呈蜂窝状沿胃小凹排列; V: 规则排列的微血管网呈线圈状沿胃小凹排列。病理组织学中的分化型早期胃癌69.6%为I型微血管形态;未分化型早期胃癌75%为II型微血管形态;高级上皮内瘤变80.6%为III型微血管形态;低级上皮内瘤变34%为IV型;48.9%为V型微血管形态;正常胃黏膜98.4%为V型微血管形态。管径:应用共聚焦图像微血管分析专用软件-齐鲁美迪康医学图像分析软件可测量,研究结果表明分化型早期胃癌>未分化型早期胃癌>高级上皮内瘤变>低级上皮内瘤变、正常胃底腺黏膜、正常胃窦黏膜。数目:测量同上,研究结果,分化型早期胃癌高于正常胃黏膜及未分化型早期胃癌、高级上皮内瘤变、低级上皮内瘤变。面积:测量同上,渗漏,表现为微血管周围出现均匀一致的明亮区域,测量同上,研究表明早期胃癌的微血管渗漏阳性率高于上皮内瘤变及正常胃黏膜。综合评价,微血管形态,管径及数目是最有价值的参数,因其在早期胃癌及高级上皮内瘤变有显著不同于低级上皮内瘤变及正常胃黏膜的特征,面积由于受横切纵切影响变异较大,不是理想参数,微血管渗漏现象具有较高特异性,但敏感性较差。

另有研究表明胃癌组织隐窝形态不规则,隐窝细胞明暗度变暗,腺体形态高度不规则,细胞变暗,基质染色不规则,血管增生,基底膜不完整,细胞核形态改变,核质比增加,染色质浓缩,染色模式变得明亮(由于肿瘤细胞PH改变,使PH依赖荧光素产生相应变化)。共聚焦显微镜还可

■相关报道

山东大学齐鲁医院是国内最早开展共聚焦激光显微内镜的医疗单位,在胃肠道疾病的共聚焦显微内镜诊断方面积累了丰富的经验,得出许多较为可靠的诊断参数。国外2011年有文献首次报道利用共聚焦显微内镜成功诊断一例胃印戒细胞癌分期为cT3N3M1患者。

通过杯状细胞, 绒毛样胃小凹, 高柱状吸收细胞伴刷状缘^[9,41,42], 3个特征诊断肠上皮化生, 此外, 也可通过共聚焦显微镜观察胃黏膜表型及测量黏膜细胞糖蛋白含量诊断早期胃癌。

总之, 共聚焦显微镜的诊断效果等同于传统的组织学诊断, 其诊断准确率在99%以上, 根据目前数据显示其诊断灵敏度为99.4%, 特异度为99.4%, 精确度为99.2%。

2 共聚焦显微镜的局限性

共聚焦图像质量也是影响组织学诊断的重要原因。对早期胃癌患者进行共聚焦内镜检查, 发现影响诊断准确性的主要因素是图像的质量。影响共聚焦图像质量的最大的问题是存在伪影, 许多伪影是因为内镜的头端与黏膜表面没有平坦的接触, 以及呼吸、动脉搏动、胃肠蠕动引起, 应用解痉剂及通过工作通道吸引一下使黏膜表面与内镜的头端正确接触可以减少此类伪影。对比剂荧光素钠和盐酸吡啶黄的应用, 当前的临床实践证明, 尚无严重不良反应报道, 荧光素钠仅在一部分人中发生皮疹、瘙痒类的不良反应, 大多较轻, 激光共聚焦经抗过敏治疗后均可好转。但其临床风险需进一步评估。此外, 荧光素钠仅对细胞及微血管有较好的显像, 并不能显示细胞核形态, 其他对比剂如白蛋白、甲紫酚、四环素、光卟啉等显像效果不十分理想, 亟需研究新型的对比剂, 同时对细胞、微血管及细胞核有较好的显像。另外, 氩激光束的穿透性也有一定局限性。最后, 共聚焦显微镜观察深度限于黏膜表层, 有待增加观察深度。临床应用: 其国内外应用形式普遍是以共聚焦显微内镜应用于临床, 目前国内开展该检查项目的单位包括山东大学齐鲁医院和北京301医院等多家医院, 其中山东大学齐鲁医院是国内最早开展共聚焦激光显微内镜的医疗单位^[43-45], 在胃肠道疾病的共聚焦显微内镜诊断方面积累了丰富的经验, 国外2011年有文献首次报道利用共聚焦显微内镜成功诊断一例胃印戒细胞癌分期为cT3N3M1患者^[46-52]。

3 结论

对于胃癌的诊断, 传统内镜分辨率低, 组织活检随机性大, 诊断率不高, 对手术范围也无指导意义; 病理检查较多用于术后, 达不到早期诊断的目的, 也不能为手术提供指导, 快速病理检查; 所取标本有限, 而且不连续, 加之成本较高, 应用有限。而共聚焦显微镜既可以诊断早期胃癌,

又可以快速准确地确定肿瘤组织侵及范围, 可以为手术范围提供明确的指示, 目前, 研究的比较深入、具体、系统、较有价值的诊断参数主要为胃小凹形态、黏膜微血管特征等, 也建立了比较完善可靠的诊断标准, 对于激光共聚焦显微镜在胃癌早期诊断方面提供了非常有价值的借鉴及参考。

4 参考文献

- 1 吕黄勇, 李政文, 尧登华. 共聚焦激光显微内镜对良恶性胃溃疡的鉴别意义. 西南国防医药 2010; 20: 1083-1084
- 2 张建娜, 于涛, 李延青. 共聚焦显微内镜对胃凹陷型病变的鉴别诊断价值. 中华内科杂志 2007; 10: 835-837
- 3 于卫芳, 牛巍巍. 黏膜微细形态类型的可视化判断对早期贲门癌及癌前病变的诊断价值. 临床荟萃 2008; 18: 1310-1313
- 4 Leong RW. Confocal endomicroscopy in the evaluation of celiac disease. *Endoscopy* 2010; 42: 606; author reply 607
- 5 郭玉婷, 李延青, 赵幼安. 共聚焦激光内镜对胃黏膜肠上皮化生的诊断价值. 中华消化内镜杂志 2007; 24: 8-13
- 6 刘昊, 陈美兰, 郭仁舆. 激光荧光检查法在肿瘤定位诊断中的应用. 西安交通大学学报(医学版) 2007; 28: 455-457
- 7 张钢志, 戴宁. 早期胃癌内镜诊断进展. 医学综述 2008; 14: 1009-1011
- 8 郭玉婷, 李延青, 于涛, 张建娜, 刘红解, 祥军, 李文波, 左芳. 共聚焦激光显微内镜对上消化道细胞及亚细胞结构的识别. 中华消化内镜杂志 2007; 22: 15-16
- 9 Sanduleanu S, Driessen A, Gomez-Garcia E, Hammeteman W, de Bruïne A, Masclee A. In vivo diagnosis and classification of colorectal neoplasia by chromoendoscopy-guided confocal laser endomicroscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 371-378
- 10 Deinert K, Kiesslich R, Vieth M, Neurath MF, Neuhaus H. In-vivo microvascular imaging of early squamous-cell cancer of the esophagus by confocal laser endomicroscopy. *Endoscopy* 2007; 39: 366-368
- 11 Kiesslich R, Neurath MF. Endomicroscopy is born—do we still need the pathologist? *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 150-153
- 12 Kiesslich R, Goetz M, Neurath MF. Virtual histology. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008; 22: 883-897
- 13 Gheorghe C, Iacob R, Becheanu G, Dumbrav Abreve M. Confocal endomicroscopy for in vivo microscopic analysis of upper gastrointestinal tract premalignant and malignant lesions. *J Gastrointest Liver Dis* 2008; 17: 95-100
- 14 Meining A, Saur D, Bajbouj M, Becker V, Peltier E, Höfler H, von Weyhern CH, Schmid RM, Prinz C. In vivo histopathology for detection of gastrointestinal neoplasia with a portable, confocal miniprobe: an examiner blinded analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1261-1267
- 15 Wallace MB, Fockens P. Probe-based confocal laser endomicroscopy. *Gastroenterology* 2009; 136: 1509-1513
- 16 Gheonea DI, Cârțână T, Ciurea T, Popescu C, Bădărău A, Săftoiu A. Confocal laser endomicroscopy and immunoendoscopy for real-time assessment of vascularization in gastrointestinal malignancies. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 21-27

■创新盘点

本文纵向探讨胃癌早期诊断方法, 着重介绍目前最先进的共聚焦显微镜技术, 并认真总结国内外最新研究成果, 集中分析并介绍了其中较为可靠系统的诊断参数。

■名词解释

激光扫描共聚焦显微镜: 在荧光显微镜成像基础上加装了激光扫描装置, 利用计算机进行图像处理, 把光学成像的分辨率提高了30%-40%, 使用紫外或可见光激发荧光探针, 从而得到放大1 000倍的组织表面和表面下的虚拟组织学图像。

- 17 De Palma GD. Confocal laser endomicroscopy in the "in vivo" histological diagnosis of the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5770-5775
- 18 Kiesslich R, Galle PR, Neurath MF. Atlas of Endomicroscopy. *Springer Medizin Verlag Heidelberg* 2007: 55-79
- 19 Banno K, Niwa Y, Miyahara R, Nakamura M, Nagaya T, Nagasaka T, Watanabe O, Ando T, Kawashima H, Ohmiya N, Itoh A, Hirooka Y, Goto H. Confocal endomicroscopy for phenotypic diagnosis of gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 712-718
- 20 Goetz M, Wang TD. Molecular imaging in gastrointestinal endoscopy. *Gastroenterology* 2010; 138: 828-33. e1
- 21 Hsiung PL, Hardy J, Friedland S, Soetikno R, Du CB, Wu AP, Sahbaie P, Crawford JM, Lowe AW, Contag CH, Wang TD. Detection of colonic dysplasia in vivo using a targeted heptapeptide and confocal microendoscopy. *Nat Med* 2008; 14: 454-458
- 22 Foersch S, Kiesslich R, Waldner MJ, Delaney P, Galle PR, Neurath MF, Goetz M. Molecular imaging of VEGF in gastrointestinal cancer in vivo using confocal laser endomicroscopy. *Gut* 2010; 59: 1046-1055
- 23 Goetz M, Ziebart A, Foersch S, Vieth M, Waldner MJ, Delaney P, Galle PR, Neurath MF, Kiesslich R. In vivo molecular imaging of colorectal cancer with confocal endomicroscopy by targeting epidermal growth factor receptor. *Gastroenterology* 2010; 138: 435-446
- 24 Hoffman A, Goetz M, Vieth M, Galle PR, Neurath MF, Kiesslich R. Confocal laser endomicroscopy: technical status and current indications. *Endoscopy* 2006; 38: 1275-1283
- 25 Kiesslich R, Gossner L, Goetz M, Dahlmann A, Vieth M, Stolte M, Hoffman A, Jung M, Nafe B, Galle PR, Neurath MF. In vivo histology of Barrett's esophagus and associated neoplasia by confocal laser endomicroscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 979-987
- 26 Becker V, Vieth M, Bajbouj M, Schmid RM, Meining A. Confocal laser scanning fluorescence microscopy for in vivo determination of microvessel density in Barrett's esophagus. *Endoscopy* 2008; 40: 888-891
- 27 Li WB, Zuo XL, Zuo F, Gu XM, Yu T, Zhao YA, Zhang TG, Zhang JP, Li YQ. Characterization and identification of gastric hyperplastic polyps and adenomas by confocal laser endomicroscopy. *Surg Endosc* 2010; 24: 517-524
- 28 Guo YT, Li YQ, Yu T, Zhang TG, Zhang JN, Liu H, Liu FG, Xie XJ, Zhu Q, Zhao YA. Diagnosis of gastric intestinal metaplasia with confocal laser endomicroscopy in vivo: a prospective study. *Endoscopy* 2008; 40: 547-553
- 29 Zhang JN, Li YQ, Zhao YA, Yu T, Zhang JP, Guo YT, Liu H. Classification of gastric pit patterns by confocal endomicroscopy. *Gastrointest Endosc* 2008; 67: 843-853
- 30 Kakeji Y, Yamaguchi S, Yoshida D, Tanoue K, Ueda M, Masunari A, Utsunomiya T, Imamura M, Honda H, Maehara Y, Hashizume M. Development and assessment of morphologic criteria for diagnosing gastric cancer using confocal endomicroscopy: an ex vivo and in vivo study. *Endoscopy* 2006; 38: 886-890
- 31 Liu H, Li YQ, Yu T, Zhao YA, Zhang JP, Zhang JN, Guo YT, Xie XJ, Zhang TG, Desmond PV. Confocal endomicroscopy for in vivo detection of microvascular architecture in normal and malignant lesions of upper gastrointestinal tract. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 56-61
- 32 Meining A, Bajbouj M, Schmid RM. Confocal fluorescence microscopy for detection of gastric angiodysplasia. *Endoscopy* 2007; 39 Suppl 1: E145
- 33 Reitan NK, Thuen M, Goa PE, de Lange Davies C. Characterization of tumor microvascular structure and permeability: comparison between magnetic resonance imaging and intravital confocal imaging. *J Biomed Opt* 2010; 15: 036004
- 34 Ziefle S, Schüle D, Breuninger H, Schippert W, Moehrl M. Confocal laser scanning microscopy vs 3-dimensional histologic imaging in basal cell carcinoma. *Arch Dermatol* 2010; 146: 843-847
- 35 Lennerz JK, Kim SH, Oates EL, Huh WJ, Doherty JM, Tian X, Bredemeyer AJ, Goldenring JR, Lauwers GY, Shin YK, Mills JC. The transcription factor MIST1 is a novel human gastric chief cell marker whose expression is lost in metaplasia, dysplasia, and carcinoma. *Am J Pathol* 2010; 177: 1514-1533
- 36 Goetz M, Kiesslich R. Confocal endomicroscopy: in vivo diagnosis of neoplastic lesions of the gastrointestinal tract. *Anticancer Res* 2008; 28: 353-360
- 37 Adam P, Schmausser B, Göbeler-Kolve M, Müller-Hermelink HK, Eck M. Gastric extranodal marginal zone B-cell lymphomas of MALT type exclusively express Toll-like receptor 4 in contrast to other lymphomas infiltrating the stomach. *Ann Oncol* 2008; 19: 566-569
- 38 Burgermeister E, Xing X, Röcken C, Juhasz M, Chen J, Hiber M, Mair K, Shatz M, Liscovitch M, Schmid RM, Ebert MP. Differential expression and function of caveolin-1 in human gastric cancer progression. *Cancer Res* 2007; 67: 8519-8526
- 39 Hurlstone DP, Baraza W, Brown S, Thomson M, Tiffin N, Cross SS. In vivo real-time confocal laser scanning endomicroscopic colonoscopy for the detection and characterization of colorectal neoplasia. *Br J Surg* 2008; 95: 636-645
- 40 Kim HK, Park WS, Kang SH, Warda M, Kim N, Ko JH, Prince Ael-B, Han J. Mitochondrial alterations in human gastric carcinoma cell line. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; 293: C761-C771
- 41 Oldani A, Cormont M, Hofman V, Chiozzi V, Oregioni O, Canonici A, Sciallo A, Sommi P, Fabbri A, Ricci V, Boquet P. Helicobacter pylori counteracts the apoptotic action of its VacA toxin by injecting the CagA protein into gastric epithelial cells. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000603
- 42 Filip MM, Gheonea DI, Georgescu CV, Popescu C, Ciurea T, Saftoiu A. Quadri-modal imaging for real-time diagnosis of early gastric cancer. *J Gastrointest Liver Dis* 2009; 18: 271-272
- 43 黄锦, 孙刚, 杨云生. 共聚焦内镜的研究现状. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2867-2870
- 44 Ponnusamy MP, Lakshmanan I, Jain M, Das S, Chakraborty S, Dey P, Batra SK. MUC4 mucin-induced epithelial to mesenchymal transition: a novel mechanism for metastasis of human ovarian cancer cells. *Oncogene* 2010; 29: 5741-5754
- 45 Necchi V, Sommi P, Ricci V, Solcia E. In vivo accumulation of Helicobacter pylori products, NOD1, ubiquitinated proteins and proteasome in a novel cytoplasmic structure. *PLoS One* 2010; 5: e9716
- 46 Neumann H, Vieth M, Siebler J, Bernatik T, Neurath MF, Boxberger F. Fluorescein-aided endomi-

- croscopy for detection of signet ring cell carcinoma. *Endoscopy* 2011; 43 Suppl 2 UCTN: E199-E200
- 47 Wang P, Ji R, Yu T, Zuo XL, Zhou CJ, Li CQ, Li Z, Li YQ. Classification of histological severity of Helicobacter pylori-associated gastritis by confocal laser endomicroscopy. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5203-5210
- 48 Liu TW, Ho CW, Huang HH, Chang SM, Popat SD, Wang YT, Wu MS, Chen YJ, Lin CH. Role for alpha-L-fucosidase in the control of Helicobacter pylori-infected gastric cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 14581-14586
- 49 Tang XL, Yang XY, Jung HJ, Kim SY, Jung SY, Choi DY, Park WC, Park H. Asiatic acid induces colon cancer cell growth inhibition and apoptosis through mitochondrial death cascade. *Biol Pharm Bull* 2009; 32: 1399-1405
- 50 Wang F, Xia P, Wu F, Wang D, Wang W, Ward T, Liu Y, Aikhiobare F, Guo Z, Powell M, Liu B, Bi F, Shaw A, Zhu Z, Elmoselhi A, Fan D, Cover TL, Ding X, Yao X. Helicobacter pylori VacA disrupts apical membrane-cytoskeletal interactions in gastric parietal cells. *J Biol Chem* 2008; 283: 26714-26725
- 51 Lai CH, Chang YC, Du SY, Wang HJ, Kuo CH, Fang SH, Fu HW, Lin HH, Chiang AS, Wang WC. Cholesterol depletion reduces Helicobacter pylori CagA translocation and CagA-induced responses in AGS cells. *Infect Immun* 2008; 76: 3293-3303
- 52 Xiao YF, Wu DD, Liu SX, Chen X, Ren LF. Effect of arsenic trioxide on vascular endothelial cell proliferation and expression of vascular endothelial growth factor receptors Flt-1 and KDR in gastric cancer in nude mice. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6498-6505

■同行评价

本文专论激光共聚焦显微镜技术在胃癌早期诊断的应用和局限性,对临床应用有一定参考价值,选题实用,引用文献新,学术价值好。

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)

胰腺移植术后并发症及其防治

肖江强, 施晓雷, 丁义涛

■背景资料

近年来胰腺移植发展迅速, 但其效果始终不如肾、肝、心移植, 主要是因为胰腺移植并发症发生率高, 种类较多且复杂, 本文就胰腺移植并发症作一详细综述, 以起到预防和治疗参考的作用。

肖江强, 施晓雷, 丁义涛, 南京大学医学院附属鼓楼医院普外科 江苏省南京市 210008

肖江强, 博士研究生, 主要从事器官移植及人工肝治疗的研究。
作者贡献分布: 本综述由施晓雷副主任医师指导, 肖江强撰写; 由丁义涛教授审阅。

通讯作者: 丁义涛, 教授, 210008, 江苏省南京市中山北路53号, 南京大学医学院附属鼓楼医院. yitaoding@hotmail.com
电话: 025-83107080

收稿日期: 2011-12-06 修回日期: 2012-01-03

接受日期: 2012-01-19 在线出版日期: 2012-01-28

Prevention and treatment of complications after pancreas transplantation

Jiang-Qiang Xiao, Xiao-Lei Shi, Yi-Tao Ding

Jiang-Qiang Xiao, Xiao-Lei Shi, Yi-Tao Ding, Department of General Surgery, the Affiliated Drum-Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Yi-Tao Ding, Professor, Department of General Surgery, the Affiliated Drum-Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China. yitaoding@hotmail.com

Received: 2011-12-06 Revised: 2012-01-03

Accepted: 2012-01-19 Published online: 2012-01-28

Abstract

With the development of new organ preservation solutions, the application of new immunosuppressive drugs and the improvement of intensive postoperative care, pancreas transplantation has become an ideal treatment for diabetic patients with uremia. According to the International Pancreas Transplant Registry (IPTR) latest statistics, over 30 000 cases of pancreas transplantation have been carried out in the world from 1966 to the end of 2008, of which more than 22 000 cases were implemented in the United States. Complications after pancreas transplantation have been recognized since 1966 when a patient died of rejection and sepsis two months after the first case of pancreas-kidney transplantation. With the extensive development of pancreas transplantation, a better understanding of complications after pancreas transplantation is needed.

Key Words: Pancreas transplantation; Complication;

Prevention; Treatment

Xiao JQ, Shi XL, Ding YT. Prevention and treatment of complications after pancreas transplantation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 210-214

摘要

随着器官保存技术发展, 手术方式的改进, 新型免疫抑制药物的应用以及术后监护的重视, 胰腺移植技术现已日臻完善, 成为治疗糖尿病并发尿毒症的理想方法。据国际胰腺移植登记中心(international pancreas transplant registry, IPTR)最新统计, 从1966年胰腺移植首次开展到2008年末, 全球报道的胰腺移植已超30 000例, 其中有22 000多例在美国实施^[1]。而其并发症自从1966年首例胰肾联合移植患者在术后2 mo后死于排斥反应和败血症, 就与胰腺移植有着密不可分的联系, 随着胰腺移植的广泛开展, 有必要让更多人对其并发症也有更进一步的了解, 本文就从胰腺移植并发症的预防和治疗展开综述。

关键词: 胰腺移植; 并发症; 预防; 治疗

肖江强, 施晓雷, 丁义涛. 胰腺移植术后并发症及其防治. *世界华人消化杂志* 2012; 20(3): 210-214

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/210.asp>

0 引言

随着器官保存技术发展, 手术方式的改进, 新型免疫抑制药物的应用以及术后监护的重视, 胰腺移植技术现已日臻完善, 成为治疗糖尿病并发尿毒症的理想方法^[1,2]。据国际胰腺移植登记中心(International Pancreas Transplant Registry, IPTR)最新统计, 从1966年胰腺移植首次开展到2008年末, 全球报道的胰腺移植已超30 000例, 其中有22 000多例在美国实施^[2]。而其并发症自从1966年首例胰肾联合移植患者在术后2 mo后死于排斥反应和败血症^[3], 就与胰腺移植有着密不可分的联系, 随着胰腺移植的广泛开展, 有必要让更多人对其并发症也有更进一步的了解。

■同行评议者

王德盛, 副教授, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

1 手术方式

为更好地了解胰腺移植术后并发症的形成, 首先大概说明一下其手术方式, 目前临床常见术式主要区别在以下2个方面: 一是移植胰的内分泌的引流方式^[4,7]; 二是移植胰外分泌的处理方式^[8-10].

1.1 内分泌引流 胰腺移植内分泌引流可分为体循环回流(systemic venous drainage, SV)以及门静脉回流(portal venous drainage, PV)^[4,5]. SV是将移植胰的门静脉端与下腔静脉或者髂静脉吻合, 即移植胰的静脉血流直接进入体循环, 其优点是技术简单、操作容易, 较符合移植胰的解剖学位置, 无明显的移植血管扭转^[4,11]. 而PV则更接近胰腺的生理结构, 即移植胰的静脉血引流至门静脉, 因此会经由肝脏处理再流入体循环^[6,7].

1.2 外分泌引流 随着手术例数的增多和临床经验的不断积累, 胰腺移植的外分泌处理方式已由一开始的胰管结扎, 胰管开放腹腔引流等并发症多发展至今临床常用的2种方式: 膀胱引流(bladder drainage, BD)和肠腔引流(enteric drainage, ED). BD的术式为移植胰的十二指肠与受体膀胱作侧侧吻合, 其优势在于操作简单、手术成功率高、术后腹腔感染少, 且移植胰发生排斥反应时外分泌功能的变化较其内分泌的变化更早出现, 可通过尿淀粉酶、尿PH值及尿液细胞学检查监测移植胰功能^[8-10], 因此解决了长期无法诊断移植胰早期急性排斥反应的问题, 从而提高了移植胰的存活率, 在1987年到1996年间美国约90%的胰腺移植术均采用该术式^[12]. ED是将移植胰的十二指肠与空肠作端端或侧侧吻合, 该术式使得胰液引流至肠腔, 更符合消化生理, 移植胰分泌的胰液能发挥正常消化功能, 在90年代后期开始逐渐替代BD成为主流术式^[13,14].

2 并发症

近年来胰腺移植发展迅速, 但其效果始终不如肾、肝、心移植, 主要是因为胰腺移植并发症发生率高达30%, 种类较多且复杂, 包括器官移植常见并发症如异体免疫排斥反应、血管栓塞、腹腔内及伤口出血、感染等, 移植胰损伤如移植胰无功能、胰痿、急性胰腺炎等, 以及与术式选择有关的尿路感染及狭窄、膀胱炎、代谢性酸中毒、肠痿及肠梗阻、高胰岛素血症等^[8,14-20], 其中血管栓塞发生率为13%、腹腔内出血8%、肠痿4%^[21-23].

2.1 排斥反应 胰腺发生排斥的主要表现是胰腺内分泌、外分泌功能受损, 是术后移植胰失去

功能的主要原因之一^[24]. 在1978年环孢素(CsA)的临床应用之前, 全球共实施57例胰腺移植, 其1年存活率仅3%, 严重的排斥反应是影响胰腺移植发展的主要因素, 随着新型免疫抑制药物的应用, 目前胰腺移植患者1年存活率超过95%, 3年存活率约90%, 胰腺有功能存活最长者已达22年^[25].

近几十年来随着对免疫排斥方面的研究日益深入, 出现了许多新型合成药物、微生物制剂、生物制品及中草药等免疫抑制药物, 并取得很好的临床疗效^[19]. 免疫抑制治疗分为免疫抑制诱导治疗和维持治疗, 免疫诱导治疗多采用多克隆抗体, 如抗淋巴细胞球蛋白ALG、抗胸腺细胞球蛋白ATG或者单克隆抗体OKT3以及长效IL-2受体抗体等^[26,27]. 免疫抑制维持治疗多采用三联用药方案, 即由钙神经素阻断剂(CsA或FK506)、激素和抗代谢药物(Aza、MMF)3者组成, 保证了移植胰的存活及受体生存率. 目前FK506或雷帕霉素联合MMF已经成为胰腺移植免疫抑制维持的主流方案, 且应用ATG等行免疫诱导治疗在实质器官移植上能明显提高患者的远期生存率^[26,27].

此外Philosophe等^[28]报道, PV组发生排斥反应的程度明显低于SV组, 分析其原因是移植胰抗原或抗原抗体复合物等在肝脏内得到处理, 从而减少免疫排斥反应的发生. Hummel等^[20]将移植物的十二指肠与受体十二指肠吻合, 即移植胰的外分泌部通过受体十二指肠而不是空肠引流, 使得可以通过胃镜方便地观测并活检到移植物的十二指肠, 从而便于监测移植物的排斥反应, 但这一方法也不可避免地增加十二指肠痿的风险, 尚需临床验证.

2.2 血管栓塞 血管栓塞是会引起移植胰失去功能的另一主要原因, 其发生率是3%-10%^[29,30], 由于糖尿病患者处于相对高凝状态, 且胰腺血液动力学上具有灌流量较低的特点, 移植后受到高血流灌注, 加上移植部位位于右髂窝后容易因体位改变影响血流, 从而形成血栓, 约10%-20%的概率导致移植胰功能丧失并切除. 早期血栓通常在术后48 h内形成, 应用多普勒超声检查可确诊.

Humar等^[23]的研究发现使用肝素的血栓形成发生率1.1%明显低于不使用肝素的5.8%. 因此应早期使用肝素等抗凝剂预防血栓形成, 一般采用术后1-7 d内肝素钠微量泵持续静推, 并静滴低分子右旋糖酐, 术后7 d改口服抗凝药物治疗^[31]. 此外, 同时采用其他预防方法如选用对

■ 研发前沿
随着DCD试点工作的开展, 器官移植将有更进一步的发展. 多器官联合移植是临床应用难点也是热点, 其中多有涉及联合胰腺的移植. 本文着重阐述有关胰腺移植并发症的防治方面.

■创新盘点

胰腺移植进展相关综述多见报道,但有关其并发症的介绍尚显简略、且不够全面,本文旨在补充这一方面的空白。

胰腺损伤较小的UW液灌注、缩短冷/热缺血时间、完善切取和移植技术,防止吻合口扭曲及成角等^[32,33]以及应用异丙肾上腺素药物等抑制胰腺缺血再灌注损伤^[34],也是很有必要的。

2.3 出血及感染 出血和感染是外科手术常见并发症^[29,30,35],胰腺移植术用于治疗糖尿病并发尿毒症患者,常联合肾移植手术进行,因此手术时间较长,对循环系统有较大的影响,加之术后应用抗凝药物及免疫抑制剂,使得术后出血及感染问题尤为突出^[36]。出血多由血管或消化系吻合口出血、应激性溃疡及凝血机制等原因引起,应针对不同原因积极预防治疗^[37],吻合口出血可以应用去甲肾上腺素、凝血酶等自胃肠减压管注入,而由凝血机制引起的出血则需注意严格监测抗凝药物的使用。

感染则多发生在胰周、腹膜和呼吸系统,感染菌多为耐药菌,对多种抗生素不敏感,因此主要是预防感染,且应于术中放置引流管,可在术后引流液、尿、痰及血液培养药敏试验的指导下治疗。其中胰周感染是重要的早期并发症,当术后7-14 d患者表现出出血、肠梗阻、发热、腹痛、白细胞增多和肌紧张等时,应考虑胰周感染的可能,此时应采用腹腔灌洗,彻底清除胰周坏死脂肪组织并适当应用抗生素等手段来治疗^[30]。此外,在血管吻合处可因操作不当或血管支架植入等原因出现由感染引发的感染性假性动脉瘤破裂,导致严重出血危及患者生命,需立即行剖腹探查止血,必要时切除感染灶^[15]。除常见的细菌感染外,霉菌、病毒感染也有报道,巨细胞病毒(CMV)感染是器官移植受体中最重要的机会感染,其在胰腺移植患者中的发生率高达50%^[19,38,39],CMV感染在普通人群可能没有任何表现,但在应用免疫抑制剂的移植患者却很严重,通常在移植后30-50 d发生,临床表现包括发热、全身不适、关节痛、白细胞和血小板减少、肝炎和间质性肺炎、小肠结肠炎和全身弥散性疾病,称为CMV病^[40]。用特异的单克隆抗体对活检标本进行免疫染色,可进行早期诊断,术后预防治疗是关键,术后口服大剂量阿昔洛韦等抗病毒药物能预防CMV病的发生,并有效地提高CMV感染的生存率^[39,41]。

2.4 急性胰腺炎 其主要由保存、运输不当以及移植胰十二指肠内产生的肠激酶或是尿道感染时某些细菌产生的酶反流激活胰酶引起,表现主要为术中恢复血流后发现移植胰腺包膜紧张,水肿明显,术后出现胰腺移植区的压痛、感染

乃至脓肿。处理方法为术中行胰腺包膜切开减压,术后应用胰腺分泌抑制药物(施他宁、善得定等),可获得较好疗效^[30,42]。

2.5 尿道及膀胱并发症 泌尿系统并发症主要出现于外分泌引流的BD术式,碱性胰液经尿道排出,刺激膀胱黏膜导致化学性损伤,患者出现尿频、尿急、尿痛等尿路刺激症状,严重者可致尿道溃疡、膀胱出血,一般表现为镜下血尿或轻度肉眼血尿^[43];另由于尿液碱化,极易并发慢性尿道感染,导致尿道狭窄,再加上长期的糖尿病引起的自主神经和植物神经功能损坏,患者可出现排尿困难甚至尿潴留^[22,44]。

单纯的化学性膀胱炎尚缺乏有效治疗手段,一般不做特殊处理,而当患者出现并发大出血、尿中血块等严重情况,可考虑做胰液改流术^[43];感染性膀胱炎与化学性膀胱炎的鉴别主要是通过反复的清洁尿培养来判断,治疗多选择敏感抗生素;尿潴留早期患者可行胰液改道手术,晚期必要时则需行姑息或永久性膀胱造瘘^[8]。

由于ED和BD术后患者的1年生存率、移植胰1年存活率等近期临床效果相似,但BD的泌尿系统远期并发症较多,20世纪90年代中期以后,随着受者存活时间延长,与BD有关的术后远期并发症日益突出,据IPTR统计1997-2001年间的BD术式术后1-3年内分别有约6%、12%和15%的胰腺移植患者需要将BD改为ED^[13],因此许多移植中心主张首选ED。

2.6 代谢性酸中毒 代谢性酸中毒同样多见于BD术式,长期大量的碱性胰液从尿中丢失会引起慢性代谢性酸中毒,脱水和电解质平衡紊乱,所以患者术后应长期口服碳酸氢钠,定期做血气分析^[22]。

2.7 胰痿、肠痿以及肠梗阻 ED由于技术较BD复杂,手术失败率高,术后早期易发胰痿、肠痿等导致的严重腹腔感染^[45],但随着近年来吻合器的使用以及外科技术的改进^[16],从最初的Roux-en-Y肠袢引流改为供胰附带的十二指肠段与空肠侧侧吻合后,ED的手术失败率已接近BD术式。术中应考虑到预防并发症的发生,并采用预防措施,如吻合口无张力,移植胰腺周围通畅引流(烟卷+橡皮管),术后每日观察引流物的量,延缓拔管时间,同时应用药物抑制胰液分泌等,必要时应尝试行吻合口修补术^[46]。

此外,肠梗阻在ED术式较少见但诊断较困难且后果严重,主要形成原因是移植胰的摆放

位置不当导致内疝, 从而引发肠梗阻, 常规X片与CT难以发现, 需做肠造影加以鉴别诊断^[47], 术后应严密监测, 争取早期发现, 早期手术以避免肠梗阻进展。

2.8 高胰岛素血症 SV术式使得移植胰分泌的胰岛素未经过肝脏代谢就直接进入体循环, 导致患者全身性静脉血胰岛素含量偏高, 外周胰岛素敏感度降低, 显现出胰岛素抵抗, 静脉血葡萄糖水平不稳定, 血脂代谢紊乱以及因此引发的动脉硬化等^[48]。

3 结论

合理的术式选择以及严密的预防措施可有效地避免一部分并发症的发生, 随着先进仪器设备的运用、手术方式的创新及新型免疫抑制剂的研发, 胰腺移植的并发症必将能得到更好地控制。另一方面, 自加拿大成功地报道了胰岛细胞移植后^[49], 该技术得到越来越多人的关注, 虽然其远期疗效尚未可知, 但仍不失为胰腺移植发展的一个新方向^[50]。相信随着相关基础和临床研究地开展, 胰腺移植并发症终将能够克服, 造福于更多糖尿病患者。

4 参考文献

- 1 Waki K, Sugawara Y, Tamura S, Yamashiki N, Fujita H, Kadowaki T, Kokudo N. Simultaneous pancreas-kidney transplantation in the United States: an analysis of the UNOS registry. *Clin Transpl* 2010; 35-44
- 2 Gruessner AC, Sutherland DE. Pancreas transplant outcomes for United States (US) cases as reported to the United Network for Organ Sharing (UNOS) and the International Pancreas Transplant Registry (IPTR). *Clin Transpl* 2008; 45-56
- 3 Sutherland DE, Gruessner R, Kandswamy R, Humar A, Hering B, Gruessner A. Beta-cell replacement therapy (pancreas and islet transplantation) for treatment of diabetes mellitus: an integrated approach. *Transplant Proc* 2004; 36: 1697-1699
- 4 Petruzzo P, Badet L, Lefrançois N, Berthillot C, Dorel SB, Martin X, Laville M. Metabolic consequences of pancreatic systemic or portal venous drainage in simultaneous pancreas-kidney transplant recipients. *Diabet Med* 2006; 23: 654-659
- 5 Cattral MS, Bigam DL, Hemming AW, Carpentier A, Greig PD, Wright E, Cole E, Donat D, Lewis GF. Portal venous and enteric exocrine drainage versus systemic venous and bladder exocrine drainage of pancreas grafts: clinical outcome of 40 consecutive transplant recipients. *Ann Surg* 2000; 232: 688-695
- 6 Kortmann B, Pirkzall A, Pfeffer F, Hopt UT, Scharreck WD. Portal venous and enteric exocrine drainage in simultaneous pancreas-kidney transplantation: experience with 70 consecutive transplant recipients. *Transplant Proc* 2003; 35: 2102-2103
- 7 Stratta RJ, Shokouh-Amiri MH, Egidi MF, Grewal HP, Kizilisik AT, Gaber LW, Gaber AO. Simultaneous kidney-pancreas transplant with systemic-enteric versus portal-enteric drainage. *Transplant Proc* 2001; 33: 1661-1662
- 8 Jiménez-Romero C, Manrique A, Meneu JC, Cambra F, Andrés A, Morales JM, González E, Hernández E, Morales E, Praga M, Gutierrez E, Moreno E. Compative study of bladder versus enteric drainage in pancreas transplantation. *Transplant Proc* 2009; 41: 2466-2468
- 9 Sugitani A, Gritsch HA, Shapiro R, Bonham CA, Egidi MF, Corry RJ. Surgical complications in 123 consecutive pancreas transplant recipients: comparison of bladder and enteric drainage. *Transplant Proc* 1998; 30: 293-294
- 10 Prieto M, Sutherland DE, Goetz FC, Rosenberg ME, Najarian JS. Pancreas transplant results according to the technique of duct management: bladder versus enteric drainage. *Surgery* 1987; 102: 680-691
- 11 Lo A, Stratta RJ, Hathaway DK, Egidi MF, Shokouh-Amiri MH, Grewal HP, Winsett R, Trofe J, Alloway RR, Gaber AO. Long-term outcomes in simultaneous kidney-pancreas transplant recipients with portal-enteric versus systemic-bladder drainage. *Transplant Proc* 2001; 33: 1684-1686
- 12 Gruessner AC, Sutherland DE. Analysis of United States (US) and non-US pancreas transplants as reported to the International Pancreas Transplant Registry (IPTR) and to the United Network for Organ Sharing (UNOS). *Clin Transpl* 1998; 53-73
- 13 Gruessner AC, Sutherland DE. Pancreas transplant outcomes for United States (US) and non-US cases as reported to the United Network for Organ Sharing (UNOS) and the International Pancreas Transplant Registry (IPTR) as of October 2002. *Clin Transpl* 2002; 41-77
- 14 Arjona-Sánchez A, Muñoz-Casares FC, Ruiz-Rabelo J, Navarro MD, Lopez-Andreu M, Regueiro JC, Padillo-Ruiz FJ, Rufián-Peña S. Consolidation of enteric drainage for exocrine secretions in simultaneous pancreas-kidney transplant. *Transplant Proc* 2010; 42: 1815-1818
- 15 Akhtar MZ, Jones A, Sideso E, Sinha S, Vaidya A, Darby C. Management of a ruptured mycotic pseudo-aneurysm following pancreas-kidney transplantation. *Ann Transplant* 2011; 16: 122-125
- 16 Padillo J, Arjona-Sánchez A, Ruiz-Rabelo J, Regueiro JC, Canis M, Rodriguez-Benot A. Human fibrinogen patches application reduces intra-abdominal infectious complications in pancreas transplant with enteric drainage. *World J Surg* 2010; 34: 2991-2996
- 17 Coakley DN, Moloney T, McCormick J, Shaikh FM, Grace PA. Venous drainage, a simple method to prevent the systemic consequences of ischaemia-reperfusion injury in acute lower limb ischaemia. *Ir J Med Sci* 2010; 179: 131-133
- 18 Quintela J, Aguirrezabalaga J, Alonso A, Fernandez C, Corbal G, Gomez M. Portal and systemic venous drainage in pancreas and kidney-pancreas transplantation: early surgical complications and outcomes. *Transplant Proc* 2009; 41: 2460-2462
- 19 Torres-Madriz G, Boucher HW. Immunocompromised hosts: perspectives in the treatment and prophylaxis of cytomegalovirus disease in solid-organ transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2008; 47: 702-711
- 20 Hummel R, Langer M, Wolters HH, Senninger N, Brockmann JG. Exocrine drainage into the duode-

■应用要点

本文有望对胰腺移植并发症的预防和治疗起到良好的参考作用。

■同行评价

本文作者对胰腺移植术后并发症作了详细的综述,内容较全面,具有一定的参考价值.

- num: a novel technique for pancreas transplantation. *Transpl Int* 2008; 21: 178-181
- 21 Odorico JS, Sollinger HW. Technical and immunosuppressive advances in transplantation for insulin-dependent diabetes mellitus. *World J Surg* 2002; 26: 194-211
- 22 张树栋, 马潞林, 王国良, 侯小飞, 罗康平, 赵磊. 胰液膀胱引流式胰肾联合移植的远期疗效分析. *临床泌尿外科杂志* 2009; 24: 87-90
- 23 Humar A, Kandaswamy R, Granger D, Gruessner RW, Gruessner AC, Sutherland DE. Decreased surgical risks of pancreas transplantation in the modern era. *Ann Surg* 2000; 231: 269-275
- 24 Gutiérrez P, Marrero D, Hernández D, Vivancos S, Pérez-Tamajón L, Rodríguez de Vera JM, Alarcó A, González-Posada JM. Surgical complications and renal function after kidney alone or simultaneous pancreas-kidney transplantation: a matched comparative study. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 1451-1455
- 25 Gruessner AC, Sutherland DE. Pancreas transplant outcomes for United States (US) and non-US cases as reported to the United Network for Organ Sharing (UNOS) and the International Pancreas Transplant Registry (IPTR) as of June 2004. *Clin Transplant* 2005; 19: 433-455
- 26 蔡俊超, Terasaki PI. 免疫诱导治疗可改善器官移植后长期预后: 美国器官分配联合网络注册数据分析. *中华移植杂志(电子版)* 2010; 4: 275
- 27 Gruessner AC, Sutherland DE, Gruessner RW. Long-term outcome after pancreas transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2012; 17: 100-105
- 28 Carpentier A, Patterson BW, Uffelman KD, Giacca A, Vranic M, Catral MS, Lewis GF. The effect of systemic versus portal insulin delivery in pancreas transplantation on insulin action and VLDL metabolism. *Diabetes* 2001; 50: 1402-1413
- 29 Andreoni KA, Brayman KL, Guidinger MK, Sommers CM, Sung RS. Kidney and pancreas transplantation in the United States, 1996-2005. *Am J Transplant* 2007; 7: 1359-1375
- 30 Axelrod DA, McCullough KP, Brewer ED, Becker BN, Segev DL, Rao PS. Kidney and pancreas transplantation in the United States, 1999-2008: the changing face of living donation. *Am J Transplant* 2010; 10: 987-1002
- 31 郑建明, 高宇, 冯钢, 莫春柏, 宋文利. 胰腺移植术后抗凝治疗41例. *中华器官移植杂志* 2011; 32: 51-52
- 32 李元新, 李幼生, 李民. 尸体供者小肠、肝和肾脏器联合切取及保存技术. *中华移植杂志(电子版)* 2010; 4: 277-284
- 33 王永华. 胰腺移植中供胰冷缺血损伤的实验研究. 第三军医大学(外科学). 2008
- 34 裴广辉, 梁健, 宋文利, 王智平, 莫春柏. 异丙肾上腺素预处理对大鼠胰腺移植后缺血再灌注损伤的抑制作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 871-876
- 35 Berger N, Guggenbichler S, Steurer W, Margreiter C, Mayer G, Kafka R, Mark W, Rosenkranz AR, Margreiter R, Bonatti H. Bloodstream infection following 217 consecutive systemic-enteric drained pancreas transplants. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 127
- 36 Vogel T, Vadonis R, Kühn J, Eing BR, Shenninger N, Haier J. Viral reactivation is not related to septic complications after major surgical resections. *APMIS* 2008; 116: 292-301
- 37 Semiz-Oysu A, Cwiklik W. Endovascular management of acute enteric bleeding from pancreas transplant. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007; 30: 313-316
- 38 Patel R, Snyderman DR, Rubin RH, Ho M, Pescovitz M, Martin M, Paya CV. Cytomegalovirus prophylaxis in solid organ transplant recipients. *Transplantation* 1996; 61: 1279-1289
- 39 Lisboa LF, Preiksaitis JK, Humar A, Kumar D. Clinical utility of molecular surveillance for cytomegalovirus after antiviral prophylaxis in high-risk solid organ transplant recipients. *Transplantation* 2011; 92: 1063-1068
- 40 San Juan R, Yebra M, Lumbreras C, López-Medrano F, Lizasoain M, Meneu JC, Delgado J, Andrés A, Aguado JM. A new strategy of delayed long-term prophylaxis could prevent cytomegalovirus disease in (D+/R-) solid organ transplant recipients. *Clin Transplant* 2009; 23: 666-671
- 41 La Rosa C, Limaye AP, Krishnan A, Blumstein G, Longmate J, Diamond DJ. Primary response against cytomegalovirus during antiviral prophylaxis with valganciclovir, in solid organ transplant recipients. *Transpl Int* 2011; 24: 920-931
- 42 李璐璐, 李永胜, 庞丽丽, 赵娜, 冯莉, 李胜富, 龙丹, 李幼平. 奥曲肽预防胰腺移植术后并发症有效性和安全性的Meta分析. *中国循证医学杂志* 2008; 8: 267-272
- 43 宋文利, 付迎欣, 冯钢, 沈中阳. 供者十二指肠置管冲洗预防胰肾联合移植术后血尿18例报告. *中华器官移植杂志* 2009; 30
- 44 毕海, 侯小飞, 马潞林, 王国良, 赵磊, 张树栋. 胰液膀胱引流式胰肾联合移植长期存活15例随访. *中国组织工程研究与临床康复* 2011; 15: 924-927
- 45 张树栋, 马潞林, 王国良, 侯小飞, 罗康平, 赵磊. 胰肾联合移植术后并发十二指肠瘘的处理. *肝胆胰外科杂志* 2005; 17: 46-48
- 46 Kaplan GG, Seminowich S, Williams J, Muruve D, Dupre M, Urbanski SJ, Yilmaz S, Burak KW, Beck PL. The risk of microscopic colitis in solid-organ transplantation patients: a population-based study. *Transplantation* 2008; 85: 48-54
- 47 Lall CG, Sandrasegaran K, Maglinte DT, Fridell JA. Bowel complications seen on CT after pancreas transplantation with enteric drainage. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 187: 1288-1295
- 48 于立新, 余玉明, 邓文锋, 徐健, 付绍杰, 杜传福, 王亦斌, 叶桂荣, 刘小友, 苗芸, 李川江, 叶俊生. 胰肾联合移植后长期存活患者的临床观察. *中华泌尿外科杂志* 2006; 27: 32-35
- 49 Gruessner AC, Sutherland DE. Analysis of United States (US) and non-US pancreas transplants reported to the United network for organ sharing (UNOS) and the international pancreas transplant registry (IPTR) as of October 2001. *Clin Transpl* 2001: 41-72
- 50 Argo JL, Contreras JL, Wesley MM, Christein JD. Pancreatic resection with islet cell autotransplant for the treatment of severe chronic pancreatitis. *Am Surg* 2008; 74: 530-536; discussion 530-536

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

槲皮素对人胃癌细胞侵袭和MMP-2表达的影响

王晓燕, 张尤历, 张恒, 祁卫东, 范钰

王晓燕, 张尤历, 江苏大学附属医院消化内科 江苏省镇江市 212001

张恒, 祁卫东, 范钰, 江苏大学附属人民医院肿瘤研究所 江苏省镇江市 212002

王晓燕, 医学硕士, 副主任医师, 主要从事消化系统肿瘤防治的研究。江苏大学临床医学科技发展基金资助项目, No. JLY20080002 镇江市社会发展基金资助项目, No. SH2009014

作者贡献分布: 王晓燕与范钰此文所作贡献均等; 此课题由张尤历设计; 实验过程由王晓燕与张恒操作完成; 数据分析由祁卫东完成; 本论文写作由王晓燕完成。

通讯作者: 范钰, 主任医师, 212002, 江苏省镇江市电力路8号, 江苏大学附属人民医院肿瘤研究所. yuf36@sina.com

电话: 0511-88915233

收稿日期: 2011-12-19 修回日期: 2012-01-05

接受日期: 2012-01-19 在线出版日期: 2012-01-28

Quercetin reduces cell invasion and down-regulates matrix metalloproteinase 2 expression in human gastric cancer cell line BGC-823

Xiao-Yan Wang, You-Li Zhang, Heng Zhang, Wei-Dong Qi, Yu Fan

Xiao-Yan Wang, You-Li Zhang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China

Heng Zhang, Wei-Dong Qi, Yu Fan, Cancer Institute, the Affiliated People's Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212002, Jiangsu Province, China

Supported by: the Clinical Medical Science and Technology Development Foundation of Jiangsu University, No. JLY20080002; the Social Development Project Foundation of Zhenjiang City, No. SH2009014

Correspondence to: Yu Fan, Associate Chief Physician, Cancer Institute, the Affiliated People's Hospital of Jiangsu University, No.8 Dianli Road, Zhenjiang 212002, Jiangsu Province, China. yuf36@sina.com

Received: 2011-12-19 Revised: 2012-01-05

Accepted: 2012-01-19 Published online: 2012-01-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of quercetin on the migration of human gastric cancer BGC-823 cells and to explore possible mechanisms involved.

METHODS: After BGC-823 cells were treated with different doses of quercetin, the anchorage-independent growth of cells was evaluated by colony formation assay, cell invasion ability was determined by Boyden chamber assay, and the mRNA and protein expression of matrix metal-

loproteinase-2 (MMP-2) was detected by real-time RT-PCR and Western blot, respectively.

RESULTS: Quercetin reduced the invasion ability and anchorage-independent growth of BGC-823 cells in a dose-dependent manner ($P < 0.005$, $P < 0.005$). Treatment with quercetin down-regulated MMP-2 mRNA and protein expression in a time- and dose-dependent manner ($P < 0.001$, $P < 0.001$).

CONCLUSION: Quercetin inhibits the invasion of human gastric carcinoma cell line BGC-823 possibly by down-regulating MMP-2 expression.

Key Words: Gastric carcinoma; Quercetin; Invasion; Matrix metalloproteinase 2

Wang XY, Zhang YL, Zhang H, Qi WD, Fan Y. Quercetin reduces cell invasion and down-regulates matrix metalloproteinase 2 expression in human gastric cancer cell line BGC-823. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 215-218

摘要

目的: 观察槲皮素(Quercetin, Que)对人胃癌细胞侵袭的影响, 并探讨其可能机制。

方法: 采用不同浓度的槲皮素处理胃癌BGC-823细胞后, 以软琼脂集落培养试验检测癌细胞锚着不依赖性增殖, 以Boyden小室模型方法检测癌细胞侵袭能力, 采用荧光实时定量PCR检测癌细胞基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)基因mRNA水平, 以Western blot方法检测癌细胞MMP-2基因蛋白水平变化。

结果: 不同浓度的胃癌BGC-823细胞经槲皮素处理后, 恶性增殖和侵袭能力均明显下降, 且呈剂量依赖性($P < 0.005$, $P < 0.005$)。槲皮素处理组MMP-2基因mRNA和蛋白水平均明显下调, 且呈时间和浓度依赖性, 即随着作用时间的延长和槲皮素作用浓度的增加, MMP-2的mRNA和蛋白水平逐渐下降, 差异均有统计学意义($P < 0.001$, $P < 0.001$)。

■背景资料

胃癌发病率和死亡率很高, 严重威胁着人们的健康, 寻找有效且不良反应小的抗癌药物具有重要意义。槲皮素(quercetin, Que)是颇具应用前景的抗癌药物之一, 但该药物对消化系统肿瘤细胞侵袭的研究甚少。

■同行评议者

沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院

■相关报道

槲皮素可抑制多种恶性癌细胞如白血病、肺癌、肝癌、卵巢癌、膀胱癌、大肠癌等恶性增殖,抑制黑色素瘤、前列腺癌等癌细胞的恶性侵袭,但该药物对消化系统肿瘤细胞侵袭的研究甚少。

结论: 槲皮素可明显抑制胃癌BGC-823细胞侵袭能力,其机制可能与下调MMP-2基因表达有关。

关键词: 胃肿瘤; 槲皮素; 侵袭; 基质金属蛋白酶-2

王晓燕, 张尤历, 张恒, 祁卫东, 范钰. 槲皮素对人胃癌细胞侵袭和MMP-2表达的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(3): 215-218

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/215.asp>

0 引言

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一,发病率和死亡率很高,严重威胁着人们的健康,寻找有效且不良反应小的抗癌药物具有重要意义。作为一种天然的黄酮类化合物,槲皮素(querctetin, Que)广泛分布于水果、蔬菜及常见中草药之中。许多研究结果显示,槲皮素可抑制多种恶性癌细胞如白血病、肺癌、肝癌、卵巢癌、膀胱癌、大肠癌等恶性增殖^[1-5],抑制黑色素瘤、前列腺癌等癌细胞的恶性侵袭^[6-10],说明该药是颇具应用前景的抗癌药物之一,但该药物对消化系统肿瘤细胞侵袭的研究甚少。本研究采用槲皮素处理人胃癌BGC-823细胞,观察其对癌细胞侵袭和基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)基因表达的影响,以了解其可能的分子机制。

1 材料和方法

1.1 材料 槲皮素购自美国Sigma公司,用二甲基亚砜(DMSO)配成储液,-20℃冰箱保存;实验时用RPMI 1640培养基稀释,DMSO的最终浓度小于0.9%;人胃癌细胞株BGC-823购自中科院上海细胞所细胞库,江苏大学附属人民医院肿瘤组织血液生物标本库冻存;TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司;BCA蛋白分析试剂盒购自Pierce公司;基底膜胶(Matrigel)购自BD公司;RPMI 1640、新生小牛血清均购自Gibco公司。

1.2 方法

1.2.1 癌细胞培养及处理: 人胃癌BGC-823细胞置含100 mL/L胎牛血清的RPMI-1640液中,于37℃、CO₂培养箱中培养。每日观察,待细胞至对数生长期,采用不同浓度(5、10、20 μmol/L)的槲皮素处理后,以RPMI-1640代替槲皮素处理细胞作为空白对照组,备测。

1.2.2 软琼脂集落培养试验: 根据文献[11]方法进行。倒置显微镜下随机计数每组样品10个视野

中的集落个数,取其平均数作比较,以此代表胃癌细胞增殖力。结果采用 t 检验分析。

1.2.3 体外侵袭抑制试验: 根据文献[12]方法进行。Boyden小室的上、下室之间隔以孔径为8 μm的聚碳酸酯膜,膜上铺匀1:4稀释的基底膜胶(Matrigel)。下室加预先制备的NIH 3T3细胞培养上清液600 μL作为趋化因子,上室加入100 μL待测的癌细胞悬液。置于37℃、50 mL/L CO₂培养箱中温育24 h,弃去上室液体,取出聚碳酸酯膜,用棉签仔细擦尽膜上Matrigel及未穿过的细胞,甲醛固定5 min,HE染色。200倍光镜下计数穿过聚碳酸酯膜的细胞数,以侵袭细胞的相对数目表示肿瘤细胞侵袭能力。随机计数5个视野内的细胞数,取平均值进行统计处理。

1.2.4 MMP-2基因mRNA水平检测: 分别用不同浓度(5、10、20 μmol/L)的槲皮素处理胃癌BGC823细胞24、48、72 h后,收集细胞,用TRIzol提取总mRNA,并进行cDNA合成,根据文献[13]方法及条件,采用荧光实时定量PCR检测MMP-2基因mRNA水平并进行数据分析。MMP-2: 上游引物5'-CCGCCTTTAACTG-GAGCAAA-3',下游引物5'-TTTGGTTCTC-CAGCTTCAGG-3';内参基因GAPDH: 上游引物5'-TTGGTATCGTGGGAAGGACTCA-3',下游引物5'-TGTCATCATATTTGGCAGGTTT-3'。PCR反应条件为: 95℃,预变性3 min, 95℃, 30 s; 52℃, 45 s; 72℃, 45 s; 35个循环后,72℃再延伸7 min。

1.2.5 MMP-2基因蛋白水平检测: 提取各组癌细胞总蛋白,对蛋白定量后进行常规Western-blot方法检测各组蛋白水平。利用Kodak Digital Science 1D Image Analysis Software (Eastman Kodak Company, USA)测定各条带净灰度值,并与内参β-actin的测定结果相比较,计算其比值。

统计学处理 采用SPSS11.5统计软件包进行统计学处理,所得到的数值均以mean±SD表示。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 槲皮素对胃癌细胞软琼脂集落形成的影响 胃癌BGC-823细胞在体外半固体培养体系中可自发形成集落,但经槲皮素处理后,所形成的集落数明显减少。统计学分析提示,集落生长数呈浓度依赖性减少($P<0.005$,图1)。

2.2 槲皮素对胃癌细胞侵袭的影响 收集经槲皮素处理的细胞,采用Boyden小室检测癌细胞侵

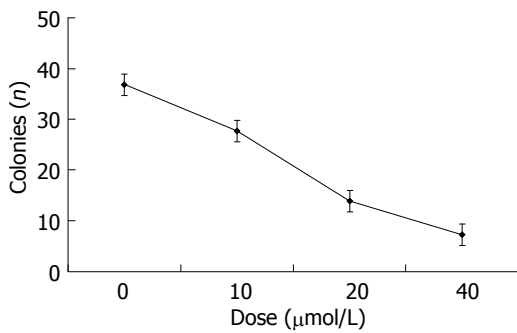


图 1 槲皮素对胃癌细胞软琼脂集落形成的影响.

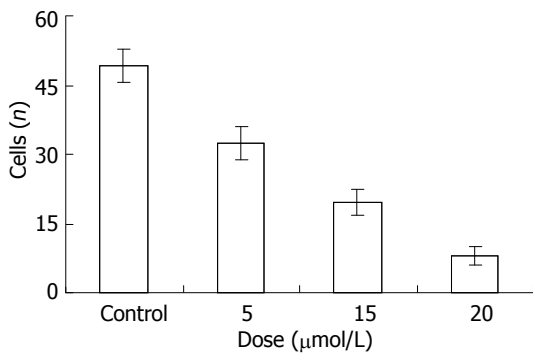


图 2 槲皮素对胃癌细胞侵袭的影响.

侵袭情况. 经统计学分析发现, 槲皮素对胃癌细胞侵袭抑制与浓度相关($P < 0.005$, 图2).

2.3 槲皮素对胃癌细胞MMP-2基因表达的影响
胃癌BGC-823细胞经槲皮素处理后, 分别于不同时间(24、48和72 h)收集细胞, 提取RNA和蛋白后, 进行相关检测. 结果显示, 随着作用时间的延长和药物浓度的增加, 经槲皮素处理各组细胞的MMP-2 mRNA和蛋白水平均明显降低($P < 0.005$, $P < 0.005$, 图3, 4).

3 讨论

肿瘤细胞在软琼脂形成集落的多少可反映肿瘤细胞锚着不依赖性增殖的特性, 且与其恶性程度呈正相关. 癌细胞侵袭能力强, 则在软琼脂上形成的集落数目多. 本研究发现, 胃癌BGC823细胞经不同浓度槲皮素处理后, 软琼脂集落数明显减少, 且呈浓度依赖性($P < 0.005$). 癌细胞侵袭、转移是一个复杂的过程. 一旦肿瘤细胞从原发肿瘤上脱落, 将侵入宿主的细胞外基质, 然后穿透淋巴管和血管, 进行远处转移. 在此过程中, 肿瘤细胞侵袭细胞外基质是重要的步骤. 在体外侵袭实验中, 我们发现BGC-823细胞具有较强的侵袭能力, 而经槲皮素处理后, 其穿过聚碳酸酯膜的细胞数量减少, 且呈浓度依赖性($P < 0.005$). 由此说明, 槲皮素可抑制胃癌

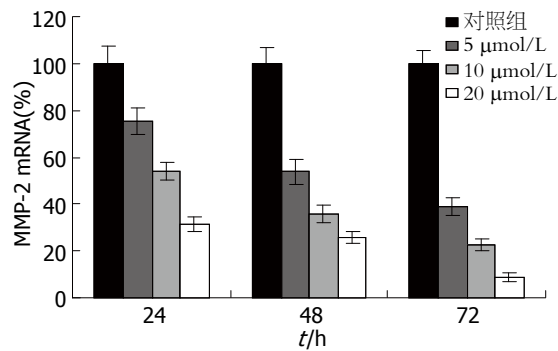


图 3 槲皮素对胃癌细胞mRNA水平的影响.

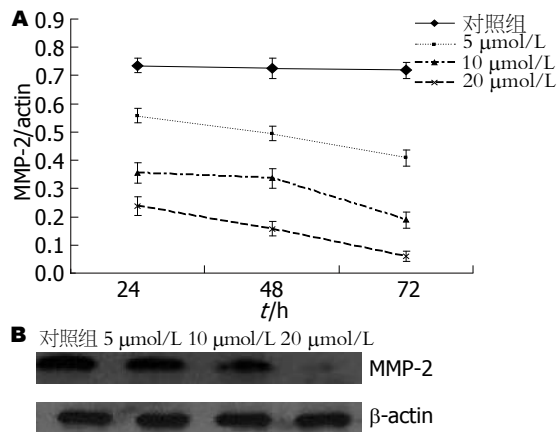


图 4 槲皮素对胃癌细胞蛋白水平的影响. A: 不同作用时间和不同作用浓度的槲皮素对MMP-2蛋白表达的影响; B: 不同浓度槲皮素作用48 h后MMP-2蛋白的表达差异.

BGC823细胞的恶性侵袭能力.

MMP是一组锌离子依赖性肽链内切酶, 主要由肿瘤细胞和肿瘤周边间质细胞产生, 几乎能降解细胞外基质的所有成分, 通过对细胞外基质的重塑促进肿瘤新生血管的生成, 从而实现肿瘤的侵袭和转移. MMP-2是该家族中重要成员之一, 能特异性降解细胞外基质和基底膜中的主要成分-IV型胶原, 使基底膜丧失完整性. 研究发现, 胃癌组织中MMP-2表达与淋巴结转移和浸润深度密切相关, 且MMP-2的表达情况可以作为评估患者预后的参考指标^[14-16]. 本研究发现, 槲皮素组MMP-2基因mRNA和蛋白水平均受到抑制, 且与时间和浓度相关($P < 0.005$; $P < 0.005$).

总之, 槲皮素可抑制胃癌细胞体外恶性增殖和侵袭能力, 其机制可能与下调MMP-2基因表达有关, 但其具体的内在作用机制值得进一步深入研究.

4 参考文献

1 Hollman PC, Katan MB. Dietary flavonoids: intake,

创新视点
以槲皮素为工具, 从基质金属蛋白酶角度了解其抑制癌细胞侵袭的分子机制.

■同行评价

本研究初步探讨了槲皮素对胃癌细胞侵袭及MMP2表达的作用,有一定科学意义。

- 1 health effects and bioavailability. *Food Chem Toxicol* 1999; 37: 937-942
- 2 Lamson DW, Brignall MS. Antioxidants and cancer, part 3: quercetin. *Altern Med Rev* 2000; 5: 196-208
- 3 Culig Z, Klocker H, Bartsch G, Hobisch A. Androgen receptors in prostate cancer. *Endocr Relat Cancer* 2002; 9: 155-170
- 4 Lambert JD, Hong J, Yang GY, Liao J, Yang CS. Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 284S-291S
- 5 Kandaswami C, Lee LT, Lee PP, Hwang JJ, Ke FC, Huang YT, Lee MT. The antitumor activities of flavonoids. *In Vivo* 2003; 19: 895-909
- 6 Zhang X, Xu Q, Saiki I. Quercetin inhibits the invasion and mobility of murine melanoma B16-BL6 cells through inducing apoptosis via decreasing Bcl-2 expression. *Clin Exp Metastasis* 2000; 18: 415-421
- 7 Zhang XM, Huang SP, Xu Q. Quercetin inhibits the invasion of murine melanoma B16-BL6 cells by decreasing pro-MMP-9 via the PKC pathway. *Cancer Chemother Pharmacol* 2004; 53: 82-88
- 8 Zhang W, Zhang F. Effects of quercetin on proliferation, apoptosis, adhesion and migration, and invasion of HeLa cells. *Eur J Gynaecol Oncol* 2009; 30: 60-64
- 9 Tang SN, Singh C, Nall D, Meeker D, Shankar S, Srivastava RK. The dietary bioflavonoid quercetin synergizes with epigallocatechin gallate (EGCG) to inhibit prostate cancer stem cell characteristics, invasion, migration and epithelial-mesenchymal transition. *J Mol Signal* 2010; 5: 14
- 10 Priyadarsini RV, Vinothini G, Murugan RS, Manikandan P, Nagini S. The flavonoid quercetin modulates the hallmark capabilities of hamster buccal pouch tumors. *Nutr Cancer* 2011; 63: 218-226
- 11 Birkenkamp-Demtroder K, Olesen SH, Sørensen FB, Laurberg S, Laiho P, Aaltonen LA, Orntoft TF. Differential gene expression in colon cancer of the caecum versus the sigmoid and rectosigmoid. *Gut* 2005; 54: 374-384
- 12 范钰, 郑树, 赵刚. 青蒿琥酯对乳腺癌MCF-7细胞抗凋亡的影响. *中国病理生理杂志* 2006; 22: 748-751
- 13 范钰, 郑树, 丁佳逸. 脂质体介导的cripto反义寡核苷酸抑制结肠癌细胞端粒酶活性. *中国病理生理杂志* 2006; 22: 761-765
- 14 He Q, Chen J, Lin HL, Hu PJ, Chen MH. Expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma, E-cadherin and matrix metalloproteinases-2 in gastric carcinoma and lymph node metastases. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120: 1498-1504
- 15 Mrena J, Wiksten JP, Nordling S, Kokkola A, Ristimäki A, Haglund C. MMP-2 but not MMP-9 associated with COX-2 and survival in gastric cancer. *J Clin Pathol* 2006; 59: 618-623
- 16 Wu CY, Wu MS, Chen YJ, Chen CJ, Chen HP, Shun CT, Chen GH, Huang SP, Lin JT. Clinicopathological significance of MMP-2 and TIMP-2 genotypes in gastric cancer. *Eur J Cancer* 2007; 43: 799-808

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470位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传递、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者提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。

黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合征大鼠肥大细胞与P物质的影响

霍涛, 胡团敏, 黄思付

霍涛, 胡团敏, 黄思付, 中国人民解放军第180医院消化内科福建省泉州市 362000
霍涛, 南昌大学医学院09级消化内科在读硕士, 主要从事胃肠动力障碍性疾病的研究。
中国人民解放军南京军区“十一五”医药卫生科研基金资助项目, No. 09 MA075
作者贡献分布: 此课题由胡团敏与霍涛设计; 研究过程由霍涛操作完成; 数据分析及论文写作由胡团敏、霍涛及黄思付共同完成。
通讯作者: 胡团敏, 教授, 362000, 福建省泉州市, 中国人民解放军第180医院消化内科. yihu180@yahoo.com.cn
电话: 0595-28919151
收稿日期: 2011-10-19 修回日期: 2012-01-03
接受日期: 2012-01-26 在线出版日期: 2012-01-28

Effect of Huangshu Enema on mast cells and substance P in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome

Tao Huo, Tuan-Min Hu, Si-Fu Huang

Tao Huo, Tuan-Min Hu, Si-Fu Huang, Department of Gastroenterology, the 180th Hospital of Chinese PLA, Quanzhou 362000, Fujian Province, China
Supported by: the Medical Scientific Research Fund of Nanjing Military Command of Chinese PLA during the 11th Five-year Plan Period, No. 09MA075
Correspondence to: Tuan-Min Hu, Professor, Department of Gastroenterology, the 180th Hospital of Chinese PLA, Quanzhou 362000, Fujian Province, China. yihu180@yahoo.com.cn
Received: 2011-10-19 Revised: 2012-01-03
Accepted: 2012-01-26 Published online: 2012-01-28

Abstract

AIM: To evaluate the effect of Huangshu Enema (HSE) on mast cells in the ileocecal junction and levels of substance P in serum and tissue homogenate of the ileocecal junction in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (D-IBS).

METHODS: Thirty-six female Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal control group ($n = 9$), model control group ($n = 9$), HSE treatment group ($n = 9$) and Dicletel treatment group ($n = 9$). A rat model of D-IBS was created by intracolonic instillation of acetic acid and restraint stress. The changes in the number of mast

cells in the ileocecal junction of rats were evaluated by the improved Toluidine blue staining method. The contents of substance P in serum and tissue homogenate of the ileocecal junction were determined by ELISA.

RESULTS: The number of mast cells in the ileocecal junction was significantly higher in the model control group than in the normal control group (3.07 ± 0.56 vs 1.47 ± 0.26 ; $t = 7.787$, $P < 0.01$). The contents of substance P in serum and tissue homogenate of the ileocecal junction were significantly higher in the model control group than in the normal control group (600.38 ± 175.25 vs 181.12 ± 40.03 , 194.01 ± 35.54 vs 60.01 ± 9.33 ; $t = 6.997$, $t = 10.943$, both $P < 0.01$). The number of mast cells in the ileocecal junction and the contents of substance P in serum and tissue homogenate of the ileocecal junction were significantly lower in the HSE treatment group than in the model control group (1.53 ± 0.26 vs 3.07 ± 0.56 , 237.86 ± 19.75 vs 600.38 ± 175.25 , 88.29 ± 5.51 vs 194.01 ± 35.54 ; all $P < 0.01$). The number of mast cells in the ileocecal junction and the content of substance P in serum had no significant difference between the HSE treatment group and the Dicletel treatment group (both $P > 0.05$). The content of substance P in tissue homogenate of the ileocecal junction was significantly lower in the HSE treatment group than in the Dicletel treatment group (88.29 ± 5.51 vs 135.11 ± 34.66 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: HSE can reduce the number of mast cells in the ileocecal junction and the contents of substance P in serum and ileocecal junction, thereby exerting a therapeutic effect on D-IBS.

Key Words: Huangshu Enema; Irritable bowel syndrome; Mast cells; Substance P

Huo T, Hu TM, Huang SF. Effect of Huangshu Enema on mast cells and substance P in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 219-223

背景资料

IBS是临床上最常见的胃肠功能紊乱性疾病之一, 其发病率高, 特征为持续或间歇性发作的腹痛、腹胀、排便习惯改变和大便形状改变, 目前其病因和发病机制尚未完全清楚。

同行评议者

魏睦新, 教授, 南京医科大学第一附属医院

■研发前沿

越来越多的观点支持IBS是免疫-神经-内分泌网络紊乱导致的内脏感知异常的肠道存在低度炎症改变的疾病,而肥大细胞、P物质与IBS之间的联系逐渐成为研究的热点之一。

摘要

目的: 评价黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合征(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, D-IBS)大鼠回盲部肥大细胞数量以及血清和回盲部肠组织匀浆P物质含量的影响。

方法: 将36只♀SD大鼠随机分成4组,分别是正常对照组、模型对照组、治疗组(黄术灌肠液组和匹维溴铵组),每组9只,采用乙酸灌肠加束缚应激法建立D-IBS大鼠模型,采用甲苯胺蓝改良染色法观察各组大鼠回盲部肥大细胞数目的变化,采用ELISA法检测血清和回盲部肠组织匀浆P物质的含量。

结果: 与正常对照组比较,模型对照组大鼠回盲部肥大细胞数目显著增多(3.07 ± 0.56 vs 1.47 ± 0.26 ; $t = 7.787$, $P < 0.01$),血清和回盲部肠组织匀浆P物质含量均显著升高(600.38 ± 175.25 vs 181.12 ± 40.03 , 194.01 ± 35.54 vs 60.01 ± 9.33 ; $t = 6.997$, $t = 10.943$, 均 $P < 0.01$);与模型对照组比较,黄术灌肠液组大鼠回盲部肥大细胞数目、血清P物质含量及回盲部肠组织匀浆P物质含量均显著减低(1.53 ± 0.26 vs 3.07 ± 0.56 , 237.86 ± 19.75 vs 600.38 ± 175.25 , 88.29 ± 5.51 vs 194.01 ± 35.54 ; 均 $P < 0.01$);与匹维溴铵组比较,黄术灌肠液组大鼠回盲部肥大细胞数目及血清P物质含量均无显著差异(均 $P > 0.05$),回盲部肠组织匀浆P物质含量显著降低(88.29 ± 5.51 vs 135.11 ± 34.66 ; $P < 0.05$)。

结论: 黄术灌肠液能够减少D-IBS大鼠回盲部肥大细胞数目,降低血清及回盲部肠组织P物质含量,从而对D-IBS起到治疗作用。

关键词: 黄术灌肠液; 肠易激综合征; 肥大细胞; P物质

霍涛, 胡团敏, 黄思付. 黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合征大鼠肥大细胞与P物质的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(3): 219-223

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/219.asp>

■相关报道

胡瑞、唐方研究发现D-IBS模型大鼠血清5-HT、NO水平下降,SP含量增加,肥大细胞数目增多;高、中剂量胃肠安丸可上调血清5-HT、NO水平,下调SP表达,减少肥大细胞数目。

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种常见的胃肠道功能紊乱性疾病,其特征为持续或间歇发作的腹痛、腹胀、排便习惯改变和大便性状的异常,其病因及发病机制至今尚未完全明了,目前普遍认为与胃肠动力紊乱、内脏感知异常、脑肠轴功能失调、心理因素、

遗传体质等多种因素有关^[1,2]。而近年来越来越多的研究表明^[3-8],IBS是一种由于免疫-神经-内分泌网络紊乱导致的内脏感知异常的肠道存在低度炎症改变的疾病,且在这个复杂网络中,肥大细胞的作用日趋受到重视。多项研究表明^[9,10],IBS患者及动物模型结肠黏膜肥大细胞明显增多,且与之相毗邻的神经纤维中P物质等神经肽类物质表达明显增强。本实验通过观察黄术灌肠液对D-IBS大鼠回盲部黏膜肥大细胞数量和血清及回盲部肠组织匀浆P物质含量的影响,以探讨黄术灌肠液治疗D-IBS的作用机制以及D-IBS的发病机制。

1 材料和方法

1.1 材料 SD清洁级♀大鼠36只,体质量 $200 \text{ g} \pm 20 \text{ g}$,购于江西中医学院(动物合格证号: SCXK 2010-0451);自组中药方剂黄术灌肠液(国家发明专利号: 200710166271.4),大黄、黄芩、黄连、黄芪、白术各15 g,加水煎煮至500 mL;西药匹维溴铵(法国苏威制药);甲苯胺蓝(Amresco, 美国);大鼠P物质ELISA检测试剂盒(上海西唐生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组及模型制备: 将36只SD大鼠适应性喂养7 d后,随机分为正常对照组、模型对照组、治疗组(黄术灌肠液组,匹维溴铵组),每组9只。对模型对照组、黄术灌肠液组和匹维溴铵组进行造模。动物模型制备参照相关文献^[11,12],并略加改动。模型制备方法为:造模前禁食水12 h,经大鼠肛门插入经甘油润滑过的自制塑料软导管,插入距肛门口约8 cm,缓慢注入40 mL/L的乙酸1 mL,拔出导管后,将大鼠下肢抬高并压迫肛门口30 s,然后用0.01 mol/L磷酸盐缓冲液1 mL冲洗结肠。乙酸灌肠后的第7天,用宽胶带束缚大鼠肩部、前肢及胸部,限制大鼠用前肢抓搔头面部,但不限制其活动,之后释放归笼,自由进食水。

1.2.2 给药: 造模成功后,黄术灌肠液组予以黄术灌肠液3 mL保留灌肠,1次/d;匹维溴铵组予以0.015 g/(kg·d)匹维溴铵悬浊液3 mL灌胃;模型对照组予以生理盐水3 mL保留灌肠,1次/d。各组均连续治疗14 d。

1.2.3 标本的获取: 疗程结束后,将各组动物分别处死,立即剖胸心脏取血约2 mL,37 °C环境中促凝,待血液凝固后,将其平衡后离心(3 000 rpm,离心15 min)分离血清,-20 °C保存待测。剖腹取回盲部肠组织约1 cm,纵行剖开,冷生理盐水冲

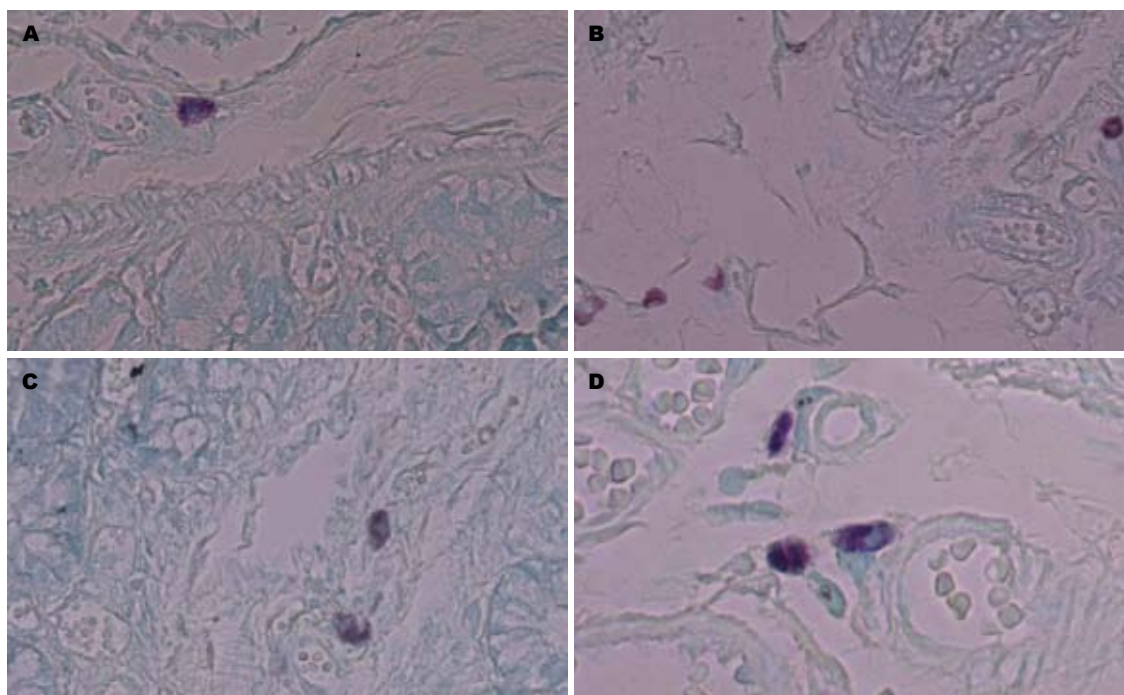


图1 肥大细胞计数($\times 400$ 倍). A: 正常对照组; B: 模型对照组; C: 黄术灌肠液组; D: 匹维溴铵组.

■ 创新亮点

本课题采用自组中药方剂“黄术灌肠液”保留灌肠治疗D-IBS具有其独特的优势, 避免了药物的肝脏首过效应, 且性质温和, 直达病灶部位, 通过调节肠道微环境改善D-IBS症状.

洗干净, 并纵行剪为2段, 其中1段滤纸吸干, 称质量, 按1:9加入生理盐水制备组织匀浆, 离心(3 000 r/min, 离心15 min)后取上清液, -20°C 保存待测; 另一段予以100 g/L中性甲醛溶液固定, 常规石蜡包埋、切片, 用于行HE常规染色及甲苯胺蓝肥大细胞特殊染色.

1.2.4 肥大细胞的计数: 采用甲苯胺蓝改良方法染色^[13,14], 染色成功后在普通光镜下观察, 每例切片随机选择5个高倍视野($\times 400$ 倍), 在有经验的病理医师指导下进行肥大细胞计数, 取其平均值.

1.2.5 P物质的检测: 采用ELISA法检测血清及回盲部肠组织匀浆P物质含量, 操作过程严格按照试剂盒说明进行.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件处理, 实验数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 正常对照组与模型对照组样本均数比较采用双侧独立样本 t 检验; 模型对照组、黄术灌肠液治疗组、匹维溴铵治疗组之间样本均数比较采用单因素方差分析, 方差齐性检验采用Levene法. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 模型观察 造模过程结束后, 大鼠出现精神萎靡, 易激惹且好斗, 进食量稍减少, 体质量下降, 毛色晦暗, 大便呈稀糊状或呈松软便且表面附着黏液增多, 但并非持续性腹泻, 部分大鼠尾部

及毛发被粪便染黄. 于低倍光镜下观察HE染色病理切片可见, 模型对照组大鼠肠黏膜上皮结构完整, 未见糜烂及溃疡, 偶见黏膜下轻度水肿及少量炎症细胞浸润. 结果提示造模成功.

2.2 疗效观察 经黄术灌肠液和匹维溴铵治疗后, 大鼠精神状态逐渐恢复, 进食量增多, 体质量增加, 毛色逐渐恢复原有光泽, 大便逐渐成形且附着黏液减少. 低倍光镜下可见结肠黏膜上皮结构完整, 未见糜烂及溃疡. 结果提示治疗有效.

2.3 回盲部肥大细胞计数 染色成功后, 高倍镜下可见肥大细胞胞核被甲苯胺蓝染成蓝色, 胞质呈紫红色, 散在或成簇分布于黏膜固有层和黏膜下层, 且多见于血管管径周围. 部分肥大细胞呈脱颗粒状态, 颗粒涌出胞膜, 散在于胞膜周围, 细胞形态不规则; 未脱颗粒者胞膜完整, 胞质均匀, 细胞大多为类圆形、椭圆形及梭形. 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠回盲部肥大细胞数目显著增多(3.07 ± 0.56 vs 1.47 ± 0.26 ; $t = 7.787$, $P < 0.01$, 图1); 与模型对照组比较, 黄术灌肠液组与匹维溴铵组大鼠回盲部肥大细胞计数均显著减少(1.53 ± 0.26 vs 3.07 ± 0.56 , 1.73 ± 0.44 vs 3.07 ± 0.56 ; 均 $P < 0.01$); 黄术灌肠液组与匹维溴铵组之间比较, 回盲部肥大细胞数目差异无统计学意义(1.53 ± 0.26 vs 1.73 ± 0.44 ; $P > 0.05$).

2.4 血清及回盲部肠组织匀浆P物质的含量 与正常对照组比较, 模型对照组血清及回盲部

■应用要点

该自组中药方剂“黄术灌肠液”应用于临床治疗IBS取得了较为满意的效果,为治疗IBS提供了一条新的临床治疗途径。

表 1 各组大鼠回盲部肥大细胞数目和血清、回盲部肠组织匀浆P物质含量 ($n = 9$, mean \pm SD)

分组	肥大细胞数目 (个/400倍视野)	血清P物质 (ng/L)	组织匀浆P物质 (ng/L)
正常对照组	1.47 \pm 0.26	181.12 \pm 40.03	60.01 \pm 9.33
模型对照组	3.07 \pm 0.56 ^b	600.38 \pm 175.25 ^b	194.01 \pm 35.54 ^b
黄术灌肠液组	1.53 \pm 0.26 ^d	237.86 \pm 19.75 ^d	88.29 \pm 5.51 ^{d,e}
匹维溴铵组	1.73 \pm 0.44 ^d	318.90 \pm 102.21 ^d	135.11 \pm 34.66 ^d

^b $P < 0.01$ vs 正常对照组; ^d $P < 0.01$ vs 模型对照组; ^e $P < 0.05$ vs 匹维溴铵组。

肠组织匀浆P物质含量均显著增高(600.38 \pm 175.25 vs 181.12 \pm 40.03, 194.01 \pm 35.54 vs 60.01 \pm 9.33; $t = 6.997$, $t = 10.943$, 均 $P < 0.01$); 与模型对照组比较, 黄术灌肠液组血清及回盲部肠组织匀浆P物质含量均显著降低(237.86 \pm 19.75 vs 600.38 \pm 175.25, 88.29 \pm 5.51 vs 194.01 \pm 35.54; 均 $P < 0.01$); 与匹维溴铵组比较, 黄术灌肠液组回盲部肠组织匀浆P物质含量显著降低(88.29 \pm 5.51 vs 135.11 \pm 34.66; $P < 0.05$), 血清P物质含量稍降低, 但差异无统计学意义(237.86 \pm 19.75 vs 318.90 \pm 102.21; $P > 0.05$, 表1)。

3 讨论

IBS发病机制复杂, 国内外多项研究均表明IBS中肥大细胞的数量表达存在异常, 特别是在D-IBS中^[3,15]。肥大细胞在免疫-神经-内分泌网络中可能起到桥梁作用, 肠道激活状态的肥大细胞可能在IBS中所表现的以动力改变、感觉异常为特征的内脏高敏感性病理生理过程中起到关键性作用。肥大细胞可将刺激的免疫反应信息传达到神经系统, 同时又接受神经系统的调控, 并将刺激信息反馈于靶器官产生免疫应答, 肥大细胞可能是IBS发病机制中一个重要的调节点^[9,10]。

P物质是1931年由Von Euler和Gaddun发现的一种脑肠肽, 是速激肽家族中具有11个氨基酸的多肽, 广泛分布于中枢神经系统、消化系及免疫器官等部位, P物质作用于消化系主要表现为促进肠蠕动、增高结肠内压力、参与痛觉传导、刺激小肠和结肠黏膜分泌水分及电解质、促进胃肠道血管扩张等^[16]。研究发现与肥大细胞毗邻的神经纤维中P物质表达增强, 提示P物质与肥大细胞之间存在紧密联系^[9]。体内外研究均显示^[17], P物质可以促进肥大细胞脱颗粒反应, 释放的组胺、白三烯、前列腺素、缓激肽等活性介质, 可引起组织炎症性反应、神经性疼痛, 介

导内脏高敏反应等。然而目前尚未发现肥大细胞表面有P物质受体, 研究认为这一作用是由于其阳离子基团与G蛋白相互作用, 而非直接激活神经激肽受体^[18]。

目前治疗IBS的药物有限^[19-21], 且以对症治疗为主, 效果不佳, 采用中药灌肠治疗IBS具有其独特优势, 避免了药物的肝脏首过效应, 且性质温和, 直达病灶部位, 通过调节肠道微环境改善IBS症状。我们所采用的“黄术灌肠液”是一自组中药方剂, 主要由大黄、黄芩、黄连、黄芪、白术组成, 该方剂配伍合理, 已获国家发明专利。研究表明该组方具有调节肠管舒缩功能、改善肠道局部的血液循环及调节肠道功能紊乱等作用^[22]。我们前期动物实验研究发现^[23,24], 黄术灌肠液可减少炎症因子IL-1 β 表达, 并上调抗炎因子IL-10, 增强其抗炎的活性, 从而纠正抗炎/促炎因子失衡; 并且能够最终显著降低D-IBS大鼠结肠黏膜血管活性肠肽的表达水平, 通过调整脑-肠轴功能, 而达到治疗D-IBS的效果。本实验进一步研究发现, D-IBS大鼠回盲部肥大细胞数量明显高于正常对照组, 黄术灌肠液能显著降低回盲部肥大细胞数量, 可能通过调节肠道免疫屏障, 减少肥大细胞的生成及脱颗粒, 从而减轻D-IBS症状。而关于D-IBS血清及结肠组织P物质的研究报道并不一致^[25-27], 本项实验研究发现D-IBS大鼠血清及回盲部肠组织P物质明显高于正常对照组, P物质可能参与了D-IBS的发病。黄术灌肠液能显著降低D-IBS大鼠血清及回盲部肠组织P物质含量, 且在降低回盲部肠组织P物质含量方面效果要优于西药匹维溴铵, 肠道局部作用更为明显。黄术灌肠液可通过调节体内P物质的含量, 进一步调节肠道动力、痛觉传导等功能, 并且减少了肥大细胞脱颗粒的介质, 进而减轻了脱颗粒释放各种活性物质(如组胺、5羟色胺、前列腺素、白三烯、血小板活化因子和细胞因子等)诱发的肠道低度炎症反

应而加重的IBS症状^[8,28], 达到改善D-IBS症状的效果。

总之, 黄术灌肠液可能通过降低回盲部肠组织黏膜中肥大细胞数目, 调节血清及回盲部肠组织内P物质含量, 通过产生协同作用, 调节肥大细胞脱颗粒的连锁反应, 起到治疗D-IBS的作用。本研究结果提示黄术灌肠液为治疗IBS提供了一条新的临床治疗途径, 且效果明显; 但由于中药组方成分复杂, 寻求其有效的活性成分将是我們进一步的研究方向。

4 参考文献

- 1 任建林, 焦兴元. 现代消化病诊疗学. 第1版. 北京: 人民军医出版社, 2007: 272-276
- 2 Katiraei P, Bultro G. Need for a comprehensive medical approach to the neuro-immuno-gastroenterology of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2791-2800
- 3 Weston AP, Biddle WL, Bhatia PS, Miner PB. Terminal ileal mucosal mast cells in irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 1590-1595
- 4 Gwee KA, Collins SM, Read NW, Rajnakova A, Deng Y, Graham JC, McKendrick MW, Moolchala SM. Increased rectal mucosal expression of interleukin 1beta in recently acquired post-infectious irritable bowel syndrome. *Gut* 2003; 52: 523-526
- 5 Wang LH, Fang XC, Pan GZ. Bacillary dysentery as a causative factor of irritable bowel syndrome and its pathogenesis. *Gut* 2004; 53: 1096-1101
- 6 Ji S, Park H, Lee D, Song YK, Choi JP, Lee SI. Post-infectious irritable bowel syndrome in patients with Shigella infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 381-386
- 7 Guilarte M, Santos J, de Torres I, Alonso C, Vicario M, Ramos L, Martínez C, Casellas F, Saperas E, Malagelada JR. Diarrhoea-predominant IBS patients show mast cell activation and hyperplasia in the jejunum. *Gut* 2007; 56: 203-209
- 8 Ohman L, Simrén M. Pathogenesis of IBS: role of inflammation, immunity and neuroimmune interactions. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 163-173
- 9 王利华, 方秀才, 潘国宗. 肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞与神经纤维的关联. *中华消化杂志* 2003; 23: 332-335
- 10 董文珠, 李兆申, 邹多武, 许国铭, 邹晓平, 朱爱勇, 尹宁, 龚艳芳. 肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞与P物质的相关性. *中华内科杂志* 2003; 42: 611-614
- 11 La JH, Kim TW, Sung TS, Kang JW, Kim HJ, Yang IS. Visceral hypersensitivity and altered colonic motility after subsidence of inflammation in a rat model of colitis. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2791-2795
- 12 徐俊荣, 罗金燕, 尚磊, 孔武明. 从肠肌间神经丛抑制

- 性神经递质的改变探讨IBS不同亚型的发病机制. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2332-2338
- 13 赵香汝, 王家鑫, 崔平. 肥大细胞用甲苯胺蓝染色之体会. *中国组织化学与细胞化学杂志* 2000; 9: 359
 - 14 罗明富, 崔山佳, 张金铃. 新鲜组织肥大细胞快速染色方法的探讨. *中国组织化学与细胞化学杂志* 2010; 19: 108-109
 - 15 杨云生, 周殿元, 张万岱, 张振书, 宋于刚. 肠易激综合征回盲部肥大细胞的研究. *中华内科杂志* 1997; 36: 231-233
 - 16 熊观瀛, 林琳, 赵志泉. P物质与肠易激综合征. *国外医学内科学分册* 2003; 30: 245-248
 - 17 蓝程, 唐承薇. P物质对多器官功能衰竭时肠黏膜肥大细胞活性的调节. *中华消化杂志* 2003; 23: 271-274
 - 18 Mousli M, Bueb JL, Bronner C, Rouot B, Landry Y. G protein activation: a receptor-independent mode of action for cationic amphiphilic neuropeptides and venom peptides. *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11: 358-362
 - 19 Bueno L, Fioramonti J, Delvaux M, Frexinos J. Mediators and pharmacology of visceral sensitivity: from basic to clinical investigations. *Gastroenterology* 1997; 112: 1714-1743
 - 20 Klooker TK, Braak B, Koopman KE, Welting O, Wouters MM, van der Heide S, Schemann M, Bischoff SC, van den Wijngaard RM, Boeckxstaens GE. The mast cell stabiliser ketotifen decreases visceral hypersensitivity and improves intestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 2010; 59: 1213-1221
 - 21 Hu XG, Xu D, Zhao Y, Yang XB, Meng J, Shen H, Guo J. The alleviating pain effect of aqueous extract from tong-xie-yao-fang, on experimental visceral hypersensitivity and its mechanism. *Biol Pharm Bull* 2009; 32: 1075-1079
 - 22 胡团敏, 黄永德, 张丽婷. 结肠易激综合征128例中药灌肠治疗探讨. *中国现代医生* 2008; 46: 29-30
 - 23 胡俊, 胡团敏, 何文钦, 黄永德. 黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合征大鼠IL-1 β 、IL-10表达的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2188-2191
 - 24 吴美玉, 胡团敏, 郑溪水. 黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合征大鼠结肠黏膜VIP表达的影响. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2966-2970
 - 25 张忠兵, 张学庸, 邓敬兰. 溃疡性结肠炎、肠易激综合征和慢性结肠炎病人黏膜中SP和VIP含量的初步探讨. *中华消化杂志* 1993; 13: 93-95
 - 26 杨云生, 宋于刚, 张万岱. 肠易激综合征血浆中胃肠激素的变化及其意义. *解放军医学杂志* 1996; 21: 330-332
 - 27 胡瑞, 唐方. 胃肠安丸对IBS-D大鼠血清NO, 5-HT及结肠组织SP, MC的影响. *中国中药杂志* 2009; 34: 3073-3077
 - 28 Farhadi A, Fields JZ, Keshavarzian A. Mucosal mast cells are pivotal elements in inflammatory bowel disease that connect the dots: stress, intestinal hyperpermeability and inflammation. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3027-3030

■同行评价

本文评价了黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合征大鼠回盲部肥大细胞数量以及血清和回盲部肠组织匀浆P物质含量的影响。研究设计合理、数据可信, 有一定学术价值。

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

茴香提取液对地塞米松诱导大鼠胰岛素抵抗的影响

王彩冰, 黄彦峰, 黄丽娟, 何显教, 晋玲, 赵善民

■背景资料

胰岛素是降低血糖的一种激素, 他还能促进脂肪合成和贮存, 促进蛋白质合成。当机体利用胰岛素过少(如胰岛素抵抗)时, 将会导致糖尿病、高血脂(易引起血管硬化)、抵抗力和免疫力降低等疾病的发生。随年龄增长, 机体对胰岛素敏感性降低, 易出现胰岛素抵抗。

王彩冰, 黄彦峰, 黄丽娟, 何显教, 晋玲, 赵善民, 广西右江民族医学院应用生理学研究室 广西壮族自治区百色市 533000
王彩冰, 讲师, 主要从事人体生理学教学及基础研究。

2007年广西自然科学基金资助项目, No. 0728245

作者贡献分布: 本研究主要由晋玲进行项目主持和论文修改; 王彩冰参与试验设计和论文撰写; 晋玲、王彩冰、黄彦峰、黄丽娟及赵善民参与试验操作; 数据统计主要由黄彦峰与何显教完成。

通讯作者: 晋玲, 高级实验师, 533000, 广西壮族自治区百色市, 广西右江民族医学院应用生理学研究室。

wangcb4444@163.com

电话: 0776-2849485

收稿日期: 2011-11-18 修回日期: 2011-12-30

接受日期: 2012-01-19 在线出版日期: 2012-01-28

Foeniculum vulgare extract reduces dexamethasone-induced insulin resistance in rats

Cai-Bing Wang, Yan-Feng Huang, Li-Juan Huang, Xian-Jiao He, Ling Jin, Shan-Min Zhao

Cai-Bing Wang, Yan-Feng Huang, Li-Juan Huang, Xian-Jiao He, Ling Jin, Shan-Min Zhao, Department of Applied Physiology, Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 0728245

Correspondence to: Ling Jin, Senior Technician, Department of Applied Physiology, Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. wangcb4444@163.com

Received: 2011-11-18 Revised: 2011-12-30

Accepted: 2012-01-19 Published online: 2012-01-28

Abstract

AIM: To investigate the impact of *foeniculum vulgare* extract on dexamethasone-induced insulin resistance (IR) in rats.

METHODS: Fifty rats were randomly divided into five groups: normal control group, model group, metformin group, low- and high-dose *foeniculum vulgare* extract groups. Except for the normal control group, the remaining groups were intramuscularly given dexamethasone (1 mg/kg) every other day. The normal control group and model group were intragastrically given saline solution, while the metformin group and low- and high-dose *foeniculum vulgare* extract groups were intragastrically given metformin (40 g/L) and 300 and 600 g/L of *foeniculum*

vulgare extract once a day, respectively. After 15 days of drug use, fasting blood glucose (FBG) and serum insulin (FINS) were determined, and glucose tolerance test (OGTT) was performed. The OGTT_{120'} recovery percentage, insulin sensitivity index (ISI) and insulin resistance index (HOMA-IR) were calculated.

RESULTS: The metformin group, low- and high-dose *foeniculum vulgare* groups and normal control group had comparable FBG and OGTT_{120'} recovery percentage. FBG was significantly lower and the OGTT_{120'} recovery percentage was significantly higher in the three treatment groups than in the model group (all $P < 0.05$ or 0.01). FINS in the three treatment groups was significantly higher than that in the normal control group but lower than that in the model group (all $P < 0.05$ or 0.01). ISI in the three treatment groups was significantly lower than that in the normal control group but higher than that in the model group (all $P < 0.01$). HOMA-IR in the three treatment groups was significantly lower than that in the model group (all $P < 0.01$). The low-dose *foeniculum vulgare* group had significantly lower ISI than the high-dose group ($P < 0.05$). As *foeniculum vulgare* dosage increased, FBG, OGTT_{120'}, FINS, ISI and HOMA-IR were closer to levels in the normal control group.

CONCLUSION: *Foeniculum vulgare* can enhance the sensitivity of cells to insulin, improve the high serum insulin symptoms, and have a hypoglycemic effect.

Key Words: *Foeniculum vulgare*; Insulin resistance; Oral glucose tolerance test; Dexamethasone

Wang CB, Huang YF, Huang LJ, He XJ, Jin L, Zhao SM. *Foeniculum vulgare* extract reduces dexamethasone-induced insulin resistance in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 224-228

摘要

目的: 观察茴香对大鼠胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)的影响。

方法: 取50只大鼠, 随机分为5组。正常对照组给

■同行评议者

徐庆, 教授, 桂林医学院药理教研室; 黄昆, 教授, 华中科技大学同济药学院

予生理盐水, 其余各组给予地塞米松(1 mg/kg), 隔日肌肉注射; 正常对照组和模型对照组给予生理盐水, 二甲双胍组给予二甲双胍(40 g/L), 茴香低、高剂量组给予茴香提取液(300、600 g/L)每天灌胃; 给药15 d后, 分别检测空腹血糖(FBG)、血清胰岛素(FINS)和糖耐量试验(OGTT), 并计算OGTT_{120'}恢复率、胰岛素敏感指数(ISI)和胰岛素抵抗指数(HOMA-IR).

结果: 二甲双胍组和茴香低、高剂量组的FBG、OGTT_{120'}恢复率与正常对照组无显著性差异, FBG低于模型对照组($P < 0.05$), 而OGTT_{120'}恢复率明显高于模型对照组($P < 0.05$, 0.01), FINS明显高于正常对照组而明显低于模型对照组($P < 0.05$, 0.01), ISI明显低于正常对照组而明显高于模型对照组($P < 0.01$), HOMA-IR明显低于模型对照组($P < 0.01$); 茴香低剂量组的ISI明显低于茴香高剂量组($P < 0.05$). 随着茴香用量的增大, FBG、OGTT_{120'}、FINS、ISI和HOMA-IR更接近正常对照组.

结论: 茴香能提高组织细胞对胰岛素的敏感性, 改善高胰岛素血症, 并有降血糖的作用.

关键词: 茴香; 胰岛素抵抗; 糖耐量试验; 地塞米松

王彩冰, 黄彦峰, 黄丽娟, 何显教, 晋玲, 赵善民. 茴香提取液对地塞米松诱导大鼠胰岛素抵抗的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(3): 224-228

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/224.asp>

0 引言

胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是指胰岛素作用的靶器官对胰岛素的敏感性下降, 即正常剂量的胰岛素产生低于正常生物学效应的一种状态; 随年龄增长, 机体对胰岛素敏感性降低, 会导致IR; 而IR参与糖尿病、高血压、冠心病、脂代谢异常的发病, 严重地危害着人们的健康^[1]. 因而, 改善机体IR对糖尿病、高血压、冠心病、脂代谢异常的防治有着重要的意义. 茴香(*Foeniculum vulgare* Mill), 为伞形科植物, 在全国各地大部分地区均有分布, 其果实、茎、叶部分都有药用, 具有散寒止痛、健胃祛风、清热化痰等功效, 用于寒疝腹痛、睾丸偏坠、经痛、胃寒呕吐、脘腹胀痛、肾虚腰痛、镇咳祛痰、治毒虫咬等症^[2-4]; 有文献报道, 茴香含有抗菌成分, 有抗菌和抗氧化能力, 并能增强抗氧化酶和预防癌变作用^[5-8]. 茴香对胰岛素抵抗的研究尚未发现有文献报道. 本实验采用茴香的民间用

量^[4]按体表面积换算成大鼠用量给大鼠灌胃, 观察其对地塞米松诱导大鼠IR^[9]的影响, 并与胰岛素增敏剂二甲双胍的临床用量^[10,11]按体表面积换算成大鼠用量给大鼠灌胃做比较分析, 为茴香的开发、利用提供实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 SD大鼠, 雌雄兼用, 体质量160-200 g, 由广西医科大学实验动物中心提供; 广西百色市内市售茴香(经广西右江民族医学院民族医学教研室覃道光教授鉴定为茴香的地上部分), 晒干备用; 地塞米松注射液(天津药业集团新郑股份有限公司), 生理盐水配制成1 g/L备用; 盐酸二甲双胍片(北京四环制药有限公司), 蒸馏水配制成40 g/L备用; 生理盐水(贵州大华制药有限公司); 50%葡萄糖注射液(天津药业集团新郑股份有限公司). 罗康全TM活力型血糖检测仪和罗康全活力型血糖测试纸(德国罗氏诊断有限公司); γ 免疫计数器(国营二六二厂), 胰岛素放射免疫分析盒(天津市协和医药科技有限公司); Galanz微波炉(佛山市顺德区格兰仕微波炉电器有限公司); 普通型静脉采血管(湖南省浏阳市医用器具厂).

1.2 方法

1.2.1 茴香提取: 用微波萃取法制备茴香水提液^[12], 每毫升含干药材1 g. 提取方法为: 将100 g茴香放入玻璃杯加4倍体积水浸泡40 min, 药料厚度 ≤ 5 cm, 加盖后放入输出功率800 W、微波频率2 450 MHz的Galanz微波炉内微波5次、每次30 s, 之后取出, 加入10倍体积蒸馏水浸提2次, 每次浸泡30 min, 合并2次滤液浓缩至100 mL. 用蒸馏水分别配制成茴香低剂量(300 g/L)和高剂量(600 g/L)的提取液备用.

1.2.2 造模: 将大鼠随机分为正常对照组、模型对照组、二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组, 共5组, 每组10只. 正常对照组大鼠给予生理盐水, 其余各组大鼠给予地塞米松(1 mg/kg), 隔日肌肉注射1次^[9], 共8次; 每次注射量均按大鼠体质量计算(1 mL/kg). 正常对照组和模型对照组大鼠给予生理盐水, 二甲双胍组大鼠给予二甲双胍(40 g/L)、茴香低剂量组和高剂量组大鼠分别给予茴香提取液(300 g/L和600 g/L)灌胃, 1次/d, 共灌胃15 d; 每次灌胃量均按大鼠体质量计算(5 mL/kg).

1.2.3 大鼠空腹血糖、口服葡萄糖耐量试验和空腹血清胰岛素的检测方法: (1)大鼠空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)和口服葡萄糖耐量

■ 研发前沿

实验证明, 对胰岛素抵抗的预防和治疗与延长人类寿命有着至关重要的联系, 而目前防治胰岛素抵抗的药物甚少.

■ 相关报道

研究显示, 茴香含有抗菌成分, 具有抗菌和抗氧化能力, 并能增强抗氧化酶和预防癌变作用; 但茴香对胰岛素抵抗的研究尚未发现有文献报道.

■ 创新盘点

文章初步探究了茴香提取液对地塞米松诱导的胰岛抵抗大鼠的治疗作用,并与二甲双胍的相应作用进行了对照,结果表明茴香提高了胰岛素的敏感指数。

表 1 FBG、OGTT及OGTT_{120'}恢复率的比较 (mean ± SD, n = 10)

分组	剂量(g/kg)	FBG(mmol/L)	OGTT(mmol/L)			OGTT _{120'} 恢复率(%)
			30'	60'	120'	
正常对照组	-	6.51 ± 0.46	7.85 ± 0.88	8.66 ± 0.97	7.07 ± 0.88	91.40
模型对照组	-	8.28 ± 0.89 ^b	14.26 ± 2.45 ^b	17.76 ± 2.10 ^b	14.85 ± 1.92 ^b	20.65 ^b
二甲双胍组	0.2	6.87 ± 0.90 ^d	10.33 ± 1.72 ^{bd}	12.40 ± 2.04 ^{bd}	8.76 ± 1.82 ^{ad}	72.49 ^d
茴香低剂量组	1.5	7.02 ± 0.75 ^d	11.74 ± 2.02 ^{bd}	13.92 ± 2.09 ^{bd}	10.28 ± 2.01 ^{bde}	53.56 ^{bc}
茴香高剂量组	3.0	6.84 ± 0.83 ^d	9.54 ± 1.46 ^{adh}	11.84 ± 2.03 ^{bdg}	8.34 ± 0.98 ^{dh}	78.07 ^{dg}

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 正常对照组; ^cP<0.05, ^dP<0.01 vs 模型对照组; ^eP<0.05 vs 二甲双胍组; ^fP<0.05, ^gP<0.01 vs 茴香低剂量组。

试验(oral glucose tolerance test, OGTT): 将罗康全活力型血糖测试纸安放在罗康全™活力型血糖检测仪的检测处,用消毒手术剪剪断大鼠尾端1-2 mm,将血滴在检测处的罗康全™活力型血糖测试纸上,记录罗康全™活力型血糖检测仪显示的血糖浓度值。各组大鼠禁食不禁水12 h、末次给药4 h进行FBG检测后,接着用50%葡萄糖(5 g/kg)给大鼠灌胃做OGTT,检测灌胃后30、60、120 min血糖浓度值^[9];并计算各组OGTT_{120'}恢复率(%)。OGTT_{120'}恢复率(%) = [1-(OGTT_{120'}-FBG)/FBG] × 100%。(2)大鼠空腹血清胰岛素(Fasting serum Insulin, FINS): 各组大鼠禁食不禁水12 h、末次给药后次日,用3%戊巴比妥钠(1 mL/kg)腹腔注射待麻醉后,从腹主动脉采血、分离血清按胰岛素放射免疫分析盒说明书操作,再用γ免疫计数器检测胰岛素浓度值。并按李光伟等公式^[13]计算各组胰岛素敏感指数(ISI)和胰岛素抵抗指数(HOMA-IR): ISI = LN[1/(FPG × FINS)], HOMA-IR = FPG × FINS/22.5。

统计学处理 实验数据用SPSS16.0统计软件进行统计分析,两组间均数比较用t检验,统计结果以mean ± SD表示;两组间百分率比较用χ²检验,统计结果以百分比(%)表示。

2 结果

2.1 大鼠给药后的FBG OGTT模型对照组FBG 明显高于正常对照组、二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组(P<0.01)。各组的OGTT_{60'}均高于OGTT_{30'}和OGTT_{120'}; OGTT_{30'}和OGTT_{60'}中,模型对照组、二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组明显高于正常对照组(P<0.05, P<0.01),模型对照组明显高于二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组(P<0.01),二甲双胍组与茴香低剂量组和高剂量组比较无显著性差异,茴香低剂量组明显高于茴香高剂量组(P<0.05, P<0.01);

OGTT_{120'}中,模型对照组、二甲双胍组、茴香低剂量组明显高于正常对照组(P<0.05, P<0.01),模型对照组明显高于二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组(P<0.01),茴香低剂量组明显高于二甲双胍组、茴香高剂量组(P<0.05, P<0.01)。在OGTT_{120'}恢复率中,二甲双胍组、茴香高剂量组与正常对照组无显著性差异,模型对照组明显低于正常对照组、二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组(P<0.05, P<0.01),茴香低剂量组与二甲双胍组无显著性差异而明显低于茴香高剂量组(P<0.05)。随茴香用量的增大,FBG、OGTT和OGTT_{120'}恢复率更接近正常对照组(表1)。

2.2 大鼠给药后的FINS 在FINS中,模型对照组、二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组明显高于正常对照组(P<0.05, P<0.01),模型对照组明显高于二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组(P<0.01),茴香低剂量组明显高于二甲双胍组、茴香高剂量组(P<0.05),二甲双胍组与茴香高剂量组比较无显著性差异。在ISI中,模型对照组、二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组明显低于正常对照组(P<0.01),模型对照组明显低于二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组(P<0.01),二甲双胍组与茴香低剂量组和高剂量组比较无显著性差异,茴香低剂量组明显低于茴香高剂量组(P<0.05)。在HOMA-IR中,二甲双胍组、茴香高剂量组与正常对照组比较无显著性差异,模型对照组明显高于二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组(P<0.01),茴香低剂量组与二甲双胍组、茴香高剂量组比较无显著性差异。随茴香用量的增大, FINS、ISI和HOMA-IR更接近正常对照组(表2)。

3 讨论

胰岛素能增加葡萄糖的利用,加速葡萄糖的无氧酵解和有氧氧化,促进肝糖原和肌糖原的合

表 2 FINS、ISI及HOMA-IR的比较 (mean ± SD, n = 10)

分组	剂量(g/kg)	FINS(mIU/L)	ISI	HOMA-IR
正常对照组	-	22.41 ± 9.59	-2.1276 ± 0.1866	6.4795 ± 2.8021
模型对照组	-	69.10 ± 12.78 ^b	-2.7480 ± 0.1167 ^b	25.7052 ± 6.6093 ^b
二甲双胍组	0.2	34.11 ± 10.83 ^{ad}	-2.3452 ± 0.1972 ^{bd}	10.7779 ± 4.7312 ^d
茴香低剂量组	1.5	46.36 ± 13.46 ^{bde}	-2.4936 ± 0.1434 ^{bd}	14.5350 ± 4.6890 ^{bd}
茴香高剂量组	3.0	33.79 ± 10.61 ^{adg}	-2.3383 ± 0.1887 ^{bdg}	10.5034 ± 4.2863 ^d

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 正常对照组; ^cP<0.01 vs 模型对照组; ^dP<0.05 vs 二甲双胍组; ^eP<0.05 vs 茴香低剂量组。

成和贮存,并能促进葡萄糖转变为脂肪,抑制糖原分解和糖异生,从而使血糖降低^[1]。当机体出现IR时,葡萄糖利用、糖原合成和贮存减少,导致机体获得能量减少、血糖升高。

近年的研究还发现^[14-16],IR会使动脉硬化和慢性肾脏病的发生,增加心血管和尿毒症的发生率及死亡率,而有效治疗IR是降低心血管和尿毒症的发生率和死亡率的措施之一。

本实验结果显示,模型对照组的ISI明显低于正常对照组,而FINS、HOMA-IR、FBG、OGTT明显高于正常对照组;说明模型对照组大鼠对胰岛素的敏感性下降,并出现了高胰岛素血症、IR和血糖升高;而高胰岛素血症是由于胰岛β细胞分泌大量的胰岛素来代偿IR所致^[1]。

本实验结果显示,二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组的FBG与正常对照组无显著性差异,模型对照组的FBG明显高于正常对照组;用药各组的OGTT都明显低于模型对照组,其中OGTT_{30'}、OGTT_{60'}明显高于正常对照组,OGTT_{120'}的二甲双胍组和茴香高剂量组与正常对照组无显著性差异,茴香低剂量组明显高于正常对照组、二甲双胍组和茴香高剂量组;二甲双胍组和茴香高剂量组的OGTT_{120'}恢复率明显高于模型对照组、与正常对照组无显著性差异,茴香低剂量组的OGTT_{120'}恢复率明显高于模型对照组、但低于正常对照组、二甲双胍组和茴香高剂量组。所得结果提示了茴香具有降血糖作用,与本课题组所做的茴香降血糖的药效学研究结果一致(另文发表);茴香高剂量组的降血糖效应与二甲双胍组相当,其降糖效应与剂量相关。

本实验结果还显示,二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组的FINS明显高于正常对照组而低于模型对照组、ISI明显低于正常对照组而高于模型对照组,说明这些大鼠都存在高胰岛素血症和对胰岛素敏感性下降,并提示二甲双

胍和茴香都能改善高胰岛素血症和提高组织细胞对胰岛素敏感性;同时,二甲双胍组、茴香低剂量组和高剂量组的HOMA-IR明显低于模型对照组,二甲双胍组和茴香高剂量组的HOMA-IR与正常对照组无显著性差异、茴香低剂量组的HOMA-IR明显高于正常对照组,提示茴香能改善组织细胞对IR,茴香高剂量组和二甲双胍组的改善IR效应相当,随茴香剂量的增大改善IR效果越明显。

总之,茴香能提高组织细胞对胰岛素的敏感性、改善高胰岛素血症和组织细胞对IR的反应,并有降血糖的作用,这些作用随茴香剂量增大而增加;而高剂量茴香与二甲双胍的这些作用效果相当。

4 参考文献

- 1 李梅. 胰岛素抵抗、高胰岛素血症的发病机制. 国外医学内分泌学分册 1995; 15: 172-175
- 2 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 44-45
- 3 吴文清, 李正军. 食疗本草. 北京: 中国医药科技出版社, 2003: 324
- 4 叶橘泉. 动植物民间药. 上海: 千顷堂书局, 1955: 110
- 5 Kwon YS, Choi WG, Kim WJ, Kim WK, Kim MJ, Kang WH, Kim CM. Antimicrobial constituents of *Foeniculum vulgare*. *Arch Pharm Res* 2002; 25: 154-157
- 6 Kaur GJ, Arora DS. Antibacterial and phytochemical screening of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi*. *BMC Complement Altern Med* 2009; 9: 30
- 7 Barros L, Heleno SA, Carvalho AM, Ferreira IC. Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of *Foeniculum vulgare* Mill. from Portugal. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 2458-2464
- 8 Singh B, Kale RK. Chemomodulatory action of *Foeniculum vulgare* (Fennel) on skin and forestomach papillomagenesis, enzymes associated with xenobiotic metabolism and antioxidant status in murine model system. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 3842-3850
- 9 冯甲棣, 张璠, 李开明, 孙秀菊. 地塞米松诱导大鼠胰岛素抵抗. 中国医科大学学报 1996; 25: 20-21
- 10 杨丽娟, 母义明. 二甲双胍对葡萄糖耐量低减的干预治疗. 中国实用内科杂志 2007; 27: 1830-1831
- 11 陈新谦, 金有豫, 汤光. 新编药理学. 北京: 人民卫生出

■应用要点

本研究发现茴香有降低机体胰岛素抵抗的作用,为茴香在临床上的开发、利用提供实验依据。

■同行评价

本研究设计合理,方法可靠,数据可信,有一定的新意及应用前景.

- 版社, 2007: 667
- 12 王威, 刘传斌, 修志龙. 高山红景天苷提取新工艺. 中草药 1999; 30: 824-826
- 13 李光伟, 胡英华, 杨文英, 姜亚云, 曹辉碧, 王金平, 萧建中, 胡泽溪, 潘孝仁. 胰岛素抵抗、胰岛素分泌功能对 II 型糖尿病发生的影响. 中华内科杂志 1998; 37: 600-604
- 14 Yki-Järvinen H, Westerbacka J. Insulin resistance, arterial stiffness and wave reflection. *Adv Cardiol* 2007; 44: 252-260
- 15 Barazzoni R, Gortan Cappellari G, Zanetti M, Guarneri G. Ghrelin and muscle metabolism in chronic uremia. *J Ren Nutr* 2012; 22: 171-175
- 16 Guarneri G, Zanetti M, Vinci P, Cattin MR, Barazzoni R. Insulin resistance in chronic uremia. *J Ren Nutr* 2009; 19: 20-24

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》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版权转让给本刊编辑部.

2 稿件修改

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

3 版权

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

乙肝肝硬化血清透明质酸与HBV DNA的相关性

金宏慧, 李仲平

金宏慧, 李仲平, 南华医院肝病科 上海市 201399
金宏慧, 主治医师, 主要从事各种肝病诊治的研究。
作者贡献分布: 本论文由金宏慧负责数据收集与论文写作; 李仲平负责指导和修改。
通讯作者: 金宏慧, 主治医师, 201399, 上海市浦东新区, 南华医院肝病科. jtz1975@163.com
收稿日期: 2011-10-23 修回日期: 2011-11-21
接受日期: 2012-01-19 在线出版日期: 2012-01-28

Correlation between serum hyaluronic acid and HBV DNA levels in patients with hepatitis B-associated cirrhosis

Hong-Hui Jin, Zhong-Ping Li

Hong-Hui Jin, Zhong-Ping Li, Department of Hepatology, Nanhua Hospital, Shanghai 201399, China
Correspondence to: Hong-Hui Jin, Attending Physician, Department of Hepatology, Nanhua Hospital, Pudong District, Shanghai 201399, China. jtz1975@163.com
Received: 2011-10-23 Revised: 2011-11-21
Accepted: 2012-01-19 Published online: 2012-01-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between serum hyaluronic acid (HA) and hepatitis B virus (HBV) DNA levels in patients with hepatitis B-associated cirrhosis.

METHODS: The clinical data for 144 patients diagnosed with hepatitis B-associated cirrhosis were analyzed. There were 42 females and 102 males, and their average age was 54.42 ± 11.53 years. These patients were divided into three groups based on Child-Pugh grade: A, B, and C. Serum HA was determined by radioimmunoassay and serum HBV DNA was determined by fluorescent quantitative PCR. The relationship between serum HA levels and HBV DNA levels was analyzed.

RESULTS: Serum levels of HA increased significantly in patients with hepatitis B-associated cirrhosis and positively correlated with the Child-Pugh grade ($174.10 \mu\text{g/L} \pm 127.98 \mu\text{g/L}$ vs $421.35 \mu\text{g/L} \pm 176.96 \mu\text{g/L}$ vs $903.58 \mu\text{g/L} \pm 212.02 \mu\text{g/L}$, all $P < 0.01$). There were no significant differences in serum HBV DNA levels

among the three groups of patients ($P > 0.05$). Serum HA levels had no significant correlation with serum HBV DNA levels in patients with hepatitis B-associated cirrhosis ($P > 0.05$).

CONCLUSION: HA is a promising marker for hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis B. Serum HBV DNA levels had no significant correlation with liver cirrhosis grade or serum HA levels in patients with hepatitis B-associated cirrhosis. Anti-virus and anti-cirrhosis treatments are equally important for patients with hepatitis B-associated cirrhosis.

Key Words: Hepatitis B-associated cirrhosis; Serum hyaluronic acid; Hepatitis B virus DNA

Jin HH, Li ZP. Correlation between serum hyaluronic acid and HBV DNA levels in patients with hepatitis B-associated cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 229-232

摘要

目的: 探讨乙肝肝硬化患者血清透明质酸与HBV DNA水平的相关性。

方法: 收集乙肝肝硬化患者144例, 其中女性42例, 男性102例, 平均年龄(54.42 ± 11.53)岁, Child pugh A级42例, Child pugh B级40例, Child pugh C级62例, 采用放射免疫法检测血清透明质酸, 荧光定量PCR检测血清HBV DNA水平, 对血清透明质酸、血清HBV DNA水平进行统计并分析两者之间的关系。

结果: 随着乙肝肝硬化Child分级的加重, 患者的血清透明质酸水平也增高, 不同分级之间的差异有统计学意义($174.10 \mu\text{g/L} \pm 127.98 \mu\text{g/L}$ vs $421.35 \mu\text{g/L} \pm 176.96 \mu\text{g/L}$ vs $903.58 \mu\text{g/L} \pm 212.02 \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$)。不同Child pugh分级患者的血清HBV DNA水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。不同Child pugh分级患者的血清HBV DNA和透明质酸水平无显著相关性($P > 0.05$)。

结论: 随着患者的Child pugh分级升高, HA水平显著增高, 说明HA是反映肝硬化程度的敏感指标; 乙肝肝硬化患者HBV DNA与肝硬化

■背景资料

HBV DNA不断复制诱导机体免疫反应导致肝脏炎症坏死, 进而发生肝纤维化和肝硬化。透明质酸在肝纤维化及肝硬化患者血清中升高, 是反映肝纤维化最敏感的指标之一。正确认识HBV DNA与透明质酸的关系对肝硬化治疗措施的采取非常重要。

■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院第二附属医院感染科

■研发前沿

近年HBV DNA与透明质酸在慢性乙型肝炎中的相关性研究较热门,但结果各异.乙型肝炎肝硬化不同Child pugh分级患者中血清HBV DNA水平意义与透明质酸的关系尚不十分明确,而两者在乙型肝炎肝硬化中相关性研究较少.

程度无显著相关,血清透明质酸与HBV DNA水平之间也无显著相关性,因此抗病毒和抗纤维化治疗对乙型肝炎肝硬化患者同等重要.

关键词: 乙型肝炎肝硬化;血清透明质酸;乙型肝炎病毒DNA

金宏慧,李仲平.乙型肝炎肝硬化血清透明质酸与HBV DNA的相关性.世界华人消化杂志 2012; 20(3): 229-232
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/229.asp>

0 引言

HBV DNA在体内的持续复制是导致乙型肝炎慢性化的主要原因之一,肝纤维化是各种慢性肝病共同病理改变,且为肝硬化的前期表现,而乙型肝炎肝硬化是慢性乙型肝炎进展的主要结果.血清透明质酸作为肝纤维化或肝硬化的无创性指标有其临床应用价值,是反映肝纤维化最敏感的指标之一^[1].透明质酸在肝纤维化及肝硬化患者血清中升高,其与血清HBV DNA水平在乙型肝炎肝硬化患者不同Child pugh分级中的关系如何,为此本研究对144例乙型肝炎肝硬化患者血清透明质酸与HBV DNA水平进行回顾性分析,现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择本院2008-12/2009-12住院的乙型肝炎肝硬化患者144例,男性102例,女性42例,平均(54.42±11.53)岁;Child pugh A级42例,Child pugh B级40例,Child pugh C级62例,诊断均符合中华医学会肝病学会、感染病学分会2005年制定的“慢性乙型肝炎防治指南”,所有患者近6 mo内未服用抗病毒药,排除合并酒精性肝炎、非酒精性脂肪肝、自身免疫性肝病、遗传代谢性肝病等其他病因,无合并其他型病毒性肝炎、无合并糖尿病、冠心病、肾脏疾病、风湿病、肺纤维化等疾病.

1.2 方法 住院次日清晨空腹抽取静脉血,及时分离血清放置-70℃备检,HBV DNA定量检测采用荧光定量PCR,操作按试剂盒说明书进行.采用放射免疫法检测血清透明质酸,严格按说明书方法进行.

统计学处理 本研究数据属计量资料,用mean±SD表示.对患者的血清HBV DNA水平(拷贝/mL)取Log值后进行统计学分析,对所有患者血清HBV DNA水平和透明质酸的关系进行相关性分析,肝硬化不同Child pugh分级患者的

血清HBV DNA及透明质酸水平间比较采用单因素方差分析(两两比较采用SNK-q检验进行统计分析),数据处理后用Spss13.0统计软件完成, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

乙型肝炎肝硬化不同Child分级各组患者的年龄和男女性别比例差异无统计学意义($P>0.05$).随着乙型肝炎肝硬化Child分级的加重,患者的血清透明质酸水平也增高,不同分级之间的差异有统计学意义($P<0.01$).不同Child分级患者的血清HBV DNA水平差异无统计学意义($P>0.05$).不同Child分级患者的血清HBV DNA和透明质酸水平无显著相关性($P>0.05$,表1).

3 讨论

慢性乙型肝炎严重危害人类健康,HBV DNA在体内的持续复制是导致乙型肝炎慢性化及肝炎肝硬化的主要原因之一,高水平的HBV DNA是随后发生肝硬化甚至肝癌的独立风险因素^[2],慢性乙型肝炎患者HBV DNA不断复制,诱导机体免疫反应导致肝脏炎症坏死,进而可以发生肝纤维化和肝硬化.最新研究表明肝纤维化的关键步骤为某些因素导致肝星状细胞活化及随之发生的肝脏细胞外间质合成增加和(或)降解减少从而导致细胞外间质过度沉积.就目前实验室诊断肝纤维化的血清指标(血清透明质酸、层粘蛋白、IV型胶原、III型前胶原)而言还是能够较好地反映肝纤维化的发生与发展的,刘杰等^[3]为此曾做过研究. Tran等^[4]发现,血清透明质酸是预测严重肝纤维化的最好标志物,诊断准确率达91.1%.透明质酸是由间质细胞合成,经淋巴循环入血,大多数由肝血窦内皮细胞摄取并降解^[5],慢性肝损害时透明质酸合成增加,降解减少,血中透明质酸升高,肝脏是摄取与降解透明质酸的主要场所,故血清透明质酸检测可用于早期诊断进行性肝损害^[6,7].

目前关于慢性乙型肝炎血清HBV DNA水平与纤维化指标间关系的研究较多,但有不同结论:孙涌^[8]、陈然峰^[9]、骆子义^[10]等学者认为,慢性乙型肝炎血清HBV DNA水平与纤维化指标间曾显正相关;而张春兰^[11]、姜湘宁^[12]、曹碧红^[13]等学者则认为,慢性乙型肝炎血清HBV DNA水平与纤维化指标间无相关性.那么在肝炎肝硬化患者血清HBV DNA水平与纤维化指标间关系如何,本文为此进行了研究.

■相关报道

张静等研究显示,在S₀-S₃期,随着肝纤维化程度的加重,血清肝纤维化标志物水平依次递增,HBV DNA含量有升高趋势,而在S₄期,患者的HBV DNA含量则逐渐降低.

表 1 不同Child pugh分级患者的透明质酸和HBV DNA水平

分组	n	年龄	透明质酸($\mu\text{g/L}$) ^b	HBVDNA (Log)
Child pugh A级	42	51.52 \pm 10.48	174.10 \pm 127.98	5.53 \pm 2.06
Child pugh B级	40	54.12 \pm 10.41	421.35 \pm 176.96	5.35 \pm 2.08
Child pugh C级	62	56.56 \pm 12.58	903.58 \pm 212.02	5.68 \pm 1.87

组间两两比较, ^b $P < 0.01$.

本研究观察发现乙肝肝硬化不同Child pugh分级各组患者的年龄和男女性别比例差异无统计学意义($P > 0.05$), 也就是说, 乙肝肝硬化病情的严重程度与年龄、性别无关。

随着乙肝肝硬化Child pugh分级的加重, 患者的血清透明质酸水平也呈增高趋势, 组间两两比较, 不同分级之间的差异有显著统计学意义($P < 0.01$), 也就是说, 肝硬化病情越重, 血清透明质酸水平就越高, 说明血清透明质酸水平升高可协助肝纤维化和肝硬化的诊断, 并可能有助于协助判断患者的肝硬化严重程度及预后, 这与李红艺等研究一致^[14]。

蔡文品等^[15]研究发现, HBV DNA与血清透明质酸结果显示无论HBV DNA水平高低, 其血清透明质酸的指标都高于正常值上限, 提示肝纤维化的发生、发展与病毒持续感染有关, 同时发现HBV DNA水平与肝纤维化指标间不存在直线相关性, 表明病毒持续存在及复制只是免疫病理损伤的启动因子。一项研究显示, 在S0-S3期, 随着肝纤维化程度的加重, 血清肝纤维化标志物水平依次递增, HBV DNA含量有升高趋势, 而在S₄期, 患者的HBV DNA含量则逐渐降低^[16]。唐振华等^[17]报道, 随着肝纤维化分期的上升, 慢性乙型肝炎患者血清HBV DNA含量和HBeAg阳性率逐渐下降。本研究发现随着乙肝肝硬化Child pugh分级的不断加重, 血清HBV DNA水平并无平行升高, 组间差异无统计学意义, 血清HBV DNA和透明质酸水平无显著相关性, 说明乙肝病毒复制程度与肝纤维化不是相一致的, 也就是说乙肝病毒复制程度越高肝脏的纤维化程度不一定也就越高, 病情不一定越重。可能原因如下: (1)肝硬化患者其肝细胞数量逐渐减少, 从而使HBV失去了部分复制场所; (2)血清中HBV DNA含量反映的是血清游离型HBV DNA, 不反映肝细胞中的整合状态; (3)与HBV前C区18961位点变异有关, HBeAg(-)/HBeAb(+)系统虽然HBV DNA水平较低, 病毒复制减弱, 但其变异发生率较高, 而导致临床病变的活动和加

重^[18]; (4)HBV变异使病情加重同时, 又可使病毒逃避机体免疫而持续感染^[19]; (5)慢性乙型肝炎肝脏损伤主要是HBV介导的免疫损伤, 而免疫反应在造成肝脏损伤的同时也不断清除体内的HBV, 使HBV的复制程度降低。

总之, 本研究证明血清透明质酸是反映肝硬化程度的敏感指标, 乙肝肝硬化患者血清透明质酸与HBV DNA水平之间没有相关性, HBV的持续复制只是肝脏炎症、损伤、纤维化的启动因子, 因此慢性乙型肝炎患者在抗病毒治疗的过程中也应同时加强抗纤维化的治疗, 抗病毒治疗和抗纤维化治疗对其同等重要。

4 参考文献

- Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Deydier R, Renou C, Botta-Fridlund D, Tran A, Portal I, Allemand I, Rosenthal-Allieri A, Ouzan D. Accuracy of hyaluronic acid level for predicting liver fibrosis stages in patients with hepatitis C virus. *Comp Hepatol* 2005; 4: 6
- 慢性乙型肝炎抗病毒治疗专家委员会. 慢性乙型肝炎抗病毒治疗专家共识. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)* 2010; 4: 36-43
- 刘杰, 王吉耀, 陆晔. 血清肝纤维化指标对肝纤维化诊断价值的研究. *中华内科杂志* 2006; 45: 475-477
- Tran A, Hastier P, Barjoan EM, Demuth N, Pradier C, Saint-Paul MC, Guzman-Granier E, Chevallier P, Tran C, Longo F, Schneider S, Piche T, Hebuterne X, Benzaken S, Rampal P. Non invasive prediction of severe fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *Gastroenterol Clin Biol* 2000; 24: 626-630
- Guéchet J, Serfaty L, Bonnand AM, Chazouillères O, Poupon RE, Poupon R. Prognostic value of serum hyaluronan in patients with compensated HCV cirrhosis. *J Hepatol* 2000; 32: 447-452
- Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, Hubscher S, Roskams T, Pinzani M, Arthur MJ. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology* 2004; 127: 1704-1713
- Murawaki Y, Ikuta Y, Okamoto K, Koda M, Kawasaki H. Diagnostic value of serum markers of connective tissue turnover for predicting histological staging and grading in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* 2001; 36: 399-406
- 孙涌, 张晓慧, 崔劲. 慢性肝炎中乙肝病毒复制与肝脏纤维化血清学标志物的相关性. *中原医刊* 2006; 33: 42-43
- 陈然峰, 陈国军, 黄晓文, 董长林, 朱贤. HBV DNA的表达与肝纤维化形成的相关性研究. *临床肝胆病杂志* 2002; 18: 354-355

■创新盘点

研究HBV DNA与血清透明质酸在肝硬化中的相关性为核苷(酸)类似物抗病毒治疗同时是否需要加强抗纤维化治疗提供实验室依据。

■应用要点

乙肝肝硬化患者血清透明质酸与HBV DNA水平之间无相关性, 因此在抗乙肝病毒治疗的过程中也应同时加强抗纤维化的治疗, 抗病毒治疗和抗纤维化治疗对其同等重要。

■同行评价

论文设计结合临床, 统计分析合理, 结果对临床治疗肝硬化有一定指导作用。

- 10 骆子义, 袁静, 黄慧谦. 慢性乙型肝炎患者血清HBV DNA载量与肝组织炎症活动度及纤维化的相关性研究. 医师进修杂志 2004; 27: 31-32
- 11 张春兰, 石亚玲. 肝纤维化指标与病毒含量及病理的关系. 临床肝胆病杂志 2000; 16: 220-221
- 12 姜湘宁, 王功遂, 尹建军. 慢性乙型肝炎患者血清HBeAg和HBV DNA水平与肝组织病理关系的探讨. 实用肝脏病杂志 2004; 7: 86-88
- 13 曹碧红, 温帆渊, 叶彩丽. 慢性肝炎患者乙型肝炎病毒复制与肝纤维化标志物的关系. 临床医学与临床 2008; 5: 398-399
- 14 李红艺, 董忠, 马红. 乙肝肝硬化患者血清HBV DNA与透明质酸的关系. 中华实验和临床病毒学杂志 2007; 21: 256-257
- 15 蔡文品, 赵春, 吴惠洁. 慢性乙型肝炎患者血清HBV DNA水平与肝纤维化的相关性. 实用医学杂志 2009; 25: 72-73
- 16 张静, 王青, 张卓然. 乙肝患者血清肝纤维化标志物与HBV DNA含量分析. 中华微生态学杂志 2005; 17: 464-465
- 17 唐振华, 高勇, 张金良. 透明质酸、LN、CIV、PCⅢ与HBV DNA含量联合检测在肝纤维化诊断中的临床意义. 安徽医学 2002; 23: 38-40
- 18 李文清, 陈玉丽, 王承党, 林经安. 等位基因差异特异性PCR检测HBV DNA的前C区1896突变位点及临床意义. 临床肝胆病杂志 2002; 18: 23-24
- 19 马达, 王万相, 郭乃洲, 蒋玲, 王惠民, 张冬雷, 赵建龙, 孙悦. 引物标记与掺入标记在HBV基因多态性芯片检测中的应用研究. 中华实验和临床病毒学杂志 2002; 16: 166-167

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 •

2011年度《世界华人消化杂志》发文情况

本刊讯 2011-01-01/2011-12-31,《世界华人消化杂志》共收到稿件1576篇,退稿932篇,退稿率59.13%,发表文章644篇,所有文章均经过编委专家同行评议.其中,发表述评35篇(5.43%),基础研究135篇(20.96%),临床研究71篇(11.02%),焦点论坛17篇(2.64%),文献综述111篇(17.24%),研究快报58篇(9.01%),临床经验189篇(29.35%),病例报告24篇(3.73%);文章作者分布遍及全国各地,绝大多数来自高等院校及附属医院.在此,特别感谢为《世界华人消化杂志》进行同行评议的各位编委专家,你们的同行评价对文章发表质量做出了重要贡献;也希望各位编委踊跃为《世界华人消化杂志》继续撰写高质量的评论性文章,为科学知识的传播做出贡献!(编辑部主任:李军亮 2012-01-01)

非酒精性脂肪性肝病显著肝纤维化的无创诊断

李爽

李爽, 天津市传染病医院 天津市 300192
李爽, 硕士, 主要从事慢性肝炎、肝硬化诊断及治疗的研究。
通讯作者: 李爽, 硕士, 300192, 天津市南开区苏堤路75号, 天津市传染病医院肝病II科. ronnie112233@163.com
电话: 022-27468207
收稿日期: 2011-11-21 修回日期: 2012-01-04
接受日期: 2012-01-19 在线出版日期: 2012-01-28

Noninvasive diagnosis of advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease

Shuang Li

Shuang Li, Tianjin Infectious Disease Hospital, Tianjin 300192, China
Correspondence to: Shuang Li, Department of Hepatology (Division II), Tianjin Infectious Disease Hospital, 75 Sudi Road, Nankai District, Tianjin 300192, China. ronnie112233@163.com
Received: 2011-11-21 Revised: 2012-01-04
Accepted: 2012-01-19 Published online: 2012-01-28

Abstract

AIM: To compare the diagnostic performance of multiple simple non-invasive tests in identifying advanced fibrosis in patients with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD).

METHODS: Twenty-nine patients with biopsy-proven NAFLD were included in the study. The AST/ALT ratio, AST to platelet ratio index, and BARD score were calculated in these patients. The diagnostic performance of non-invasive tests was assessed by using the receiver operating characteristic (ROC) curves.

RESULTS: Of 29 patients, 17 were males (58.9%) and 12 were females; 15 (51.7%) had diabetes; 6 (20.6%) had advanced fibrosis (S₃-S₄). Their mean age was 51 ± 12 years, and their mean body mass index was (27 ± 5) kg/m². The AST/ALT ratio had the best diagnostic accuracy for advanced fibrosis (AUROC = 0.83), followed by BARD score (AUROC = 0.77) and AST to platelet ratio index (AUROC = 0.67). The AST/ALT ratio and BARD score had negative predictive values greater than 90% (93% and 95%, respectively). Positive

predictive values were modest. To exclude advanced fibrosis, liver biopsy could potentially be avoided in 68.9% of patients with AST/ALT ratio, and in 37.9% patients with BARD score.

CONCLUSION: Non-invasive tests, especially the ALT/AST ratio and BARD score, can reliably exclude advanced fibrosis in patients with NAFLD.

Key Words: Noninvasive diagnosis; Non-alcoholic fatty liver disease; Fibrosis

Li S. Noninvasive diagnosis of advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 233-237

摘要

目的: 通过对非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)患者多个肝纤维化非创伤性诊断模型的验证和分析比较, 评价其诊断价值。

方法: 选取29例NAFLD患者, 进行肝组织活检和病理学分期, 并检测血清指标, 用受试者操作特征(ROC)曲线等方法评估APRI指数、AST/ALT比率、BARD评分等模型的诊断价值。

结果: 29例病例中17例(58.9%)为男性, 平均年龄(51 ± 12)岁, 平均体质量指数为(27 ± 5) kg/m², 糖尿病患者15(51.7%); 病理肝纤维化分级提示显著纤维化S₃-S₄: 6例(20.6%)。各诊断模型对肝脏显著纤维化程度都具有一定诊断价值, 其中AST/ALT比率表现最佳[其曲线下面积(AUROC)为0.83], 其次为BARD评分(AUROC 0.77)和APRI指数(AUROC 0.67)。AST/ALT比率和BARD评分模型的阴性预测值均大于90%(分别为93%和95%)。阳性预测值均处于中低等水平。AST/ALT比率和BARD评分模型分别可使68.9%和37.9%的患者避免肝活检。

结论: 肝纤维化非创伤性诊断模型能较好地地区分存在显著肝纤维化的NAFLD患者, 其中以AST/ALT比率、BARD评分模型较为有效,

背景资料

目前肝病理活检仍是评估NAFLD以及其他慢性肝病肝纤维化进展的金标准, 但毕竟是有创的检查存在一定的风险, 而且单纯组织学并不能完全显示细胞外基质的动态演变过程。故临床上迫切需要寻找简单且易推广的非创伤性诊断方法来诊断和评估肝纤维化。

同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝病科; 高泽立, 主任医师, 上海交通大学医学院附属第九人民医院周浦分院消化科

■研发前沿

近年来国内外提出了一系列肝纤维化非创伤性诊断模型,其中针对NAFLD提出了包括APRI指数、AST/ALT比率、BARD评分等在内的多种模型,但这些模型在国内NAFLD患者中尚未得到有效验证。

■相关报道

近年来国内外提出了一系列肝纤维化非创伤性诊断模型,国内学者亦对大量慢性乙型肝炎的无创诊断模型进行了大量研究,研究结果提示这些无创诊断模型可较准确的评估肝脏纤维化程度。

可以避免部分患者行肝穿刺检查。

关键词: 无创诊断; 非酒精性脂肪性肝病; 纤维化

李爽. 非酒精性脂肪性肝病显著肝纤维化的无创诊断. 世界华人消化杂志 2012; 20(3): 233-237
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/233.asp>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除酒精和其他明确的损肝因素所致的,以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床病理综合征,包括单纯性脂肪肝以及由其演变的脂肪性肝炎(non-alcoholic fatty hepatitis, NASH)和肝硬化,胰岛素抵抗和遗传易感性与其发病关系密切。NAFLD已成为世界范围内肝病最常见的原因^[1-3],随着肥胖和糖尿病的发生率增加,NAFLD也成了我国常见的慢性肝病之一^[4],近10年NAFLD患病率增长迅速,上海、广州等发达地区普通成人NAFLD的患病率现已高达15%。尽管80%以上的NAFLD为单纯性脂肪肝且预后良好^[5-8],但NAFLD患者同样也存在着进展为肝纤维化、肝硬化,甚至肝癌的风险^[8-11]。当由肝炎进展为肝硬化时,患者生存率明显下降,预后不佳^[12,13]。正确评估NAFLD患者疾病的严重程度,有助于制定相应的治疗方案、监控病程进展,并判断疾病预后。

肝活检是判断肝脏炎症及纤维化分级的“金标准”,但这种损伤性检查具有许多不足之处,如具有创伤性、难以反复检查、有一定的并发症,而且病变在肝脏内分布不均匀,观察者自身及观察者间偏差,标本长度不够易出现评判结果偏低等^[14,15]。临床上迫切需要寻找简单且易推广的非创伤性诊断方法来诊断和评估肝纤维化。近年来国内外学者提出了一系列肝纤维化非创伤性诊断模型,这些模型包括:APRI指数^[16]、AST/ALT比率^[17]、BARD评分^[18]等。但这些模型在国内NAFLD患者中尚未得到有效验证。本研究收集了29例NAFLD行肝穿刺患者的临床资料,评价上述各肝纤维化非创伤模型的诊断价值,旨在为NAFLD肝纤维化临床诊断和疗效考核提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 材料 2005-2011年入住天津市传染病医院行肝穿刺活检术病理证实为非酒精性脂肪肝病者29例。入选标准:按我国2006/2中华医学会

《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》^[4],肝活体组织检查组织学改变符合脂肪性肝病的病理学诊断标准。排除标准:(1)无饮酒史或饮酒折合乙醇量男性每周<140 g,女性每周<70 g;(2)除外病毒性肝炎、药物性肝病、全胃肠外营养、肝豆状核变性等可导致脂肪肝的特定疾病。

1.2 方法

1.2.1 实验室检查:受检对象均于肝穿刺前1 wk内取清晨空腹静脉血,检测血清指标。

1.2.2 肝活检组织病理学检查:所有病例均于入院后在B超定位下行肝穿刺活检。肝组织标本长度不小于1.0 cm,汇管区数量不小于6个。肝组织甲醛固定,石蜡包埋、切片,常规HE染色和网状染色,按国际上常用的Scheuer系统标准(炎症坏死分级G₀₋₄,纤维化程度分期S₀₋₄),由1位病理学专家独立阅片。将肝穿刺纤维化程度S₀-S₂者定为无显著肝纤维化,S₃-S₄者定为有显著肝纤维化。

1.2.3 入选模型的计算公式:APRI指数=AST(IU/L)/(正常值上限)/血小板计数($\times 10^9/L$) $\times 100$ ^[16]。AST/ALT比率=AST(IU/L)/ALT(IU/L)^[17]。BARD评分是3个指标评分的总和(BMI>28=1分,AST/ALT>0.8=2分,糖尿病=1分)^[18]。

统计学处理 连续分布变量采用mean \pm SD表示;绝对值和非正态变量用中位数和范围总结;分类变量采用 χ^2 检验进行组间比较。应用灵敏度等诊断试验评价指标及受试者操作特征(ROC)曲线分析方法评价模型的诊断价值。采用SPSS17.0统计学软件进行统计处理。

2 结果

2.1 入选病例的统计学资料 平均年龄为(51 \pm 12)岁;其中17例(58.9%)为男性;平均体质指数为(27 \pm 5) kg/m²,其中20例肥胖(68.9%,体质指数 ≥ 30),8例超重(27.5%,体质指数25-29.9),1例正常(3.4%,体质指数<25);糖尿病患者15例(51.7%);实验室指标:ALT: 94 IU/L \pm 63 IU/L,AST: 63 IU/L \pm 44 IU/L,PLT: 255 $\times 10^9/L$ \pm 91 $\times 10^9/L$;病理肝纤维化分级: S₀: 7例(24.1%), S₁: 12例(41.3%), S₂: 4例(13.8%), S₃: 3例(10.3%), S₄: 3例(10.3%);肝活检标本长度: 19 mm \pm 5 mm;经计算APRI评分: 0.7 \pm 0.5, AST/ALT比率: 0.73 \pm 0.3, BARD评分: 0分1例, 1分10例, 2分9例, 3分4例, 4分5例。

2.2 肝脏纤维化程度与临床、实验室参数的关系 本研究将肝活检提示无显著纤维化(S₀₋₂)与

表 1 肝脏纤维化程度与临床、实验室参数的关系

患者特征	无显著纤维化(S ₀₋₂)	显著纤维化(S ₃₋₄)	P值
年龄	49 ± 12	61 ± 8	<0.001 ^(a)
性别(%男性)	65%	41%	0.02 ^(b)
BMI(kg/m ²)	26 ± 5	28 ± 7.6	0.13 ^(a)
BMI ≥ 25	96.4%	100%	0.58 ^(b)
糖尿病	49%	56%	0.54 ^(b)
ALT (IU/l)	101 ± 66	68 ± 40	0.001 ^(a)
AST (IU/l)	63 ± 44	67 ± 43	0.65 ^(a)
血小板 (10 ⁹ /L)	267 ± 90	204 ± 78	0.001 ^(a)
APRI	0.65 ± 0.52	0.94 ± 0.58	0.01 ^(a)
AST/ALT比率	0.67 ± 0.23	1.05 ± 0.39	<0.001 ^(a)
BARD评分	2(0-4)	3(1-4)	<0.001 ^(c)

^aP: t检验; ^bP: χ^2 检验; ^cP: u检验。

表 2 各类模型在评价显著肝纤维化方面的比较

无创诊断模型	AUROC(95%CI)	Cut-off	敏感度(%)	特异度(%)	PPV(%)	NPV (%)
AST/ALT比率	0.83(0.74-0.91)	0.8	74	78	44	93
APRI指数	0.67(0.54-0.8)	1	27	89	37	84
BARD评分	0.77(0.68-0.87)	2	89	44	27	95

显著纤维化(S_{3,4})患者分为两组, 并将其相关临床及实验室参数进行统计学分析, 结果提示显著纤维化在年龄、血小板、ALT水平及APRI指数、AST/ALT比率、BARD评分方面与无显著纤维化相比具有明显统计学差异。通过表1可以看出显著肝纤维化更多见于老年人($P < 0.001$), 其血小板($P = 0.001$)及ALT水平($P = 0.001$)明显低于无显著纤维化患者, 而其APRI指数($P = 0.01$)、AST/ALT比率($P < 0.001$)、BARD评分($P < 0.001$)明显高于无显著纤维化患者(表1)。

2.3 各类模型在评价显著肝纤维化方面的验证和比较 本研究入选的无创诊断模型均可以比较准确地将有无显著肝纤维化区分开(表1)。为进一步明确哪种模型在显著纤维化的评估上更具优势, 下面我们采用了受试者操作特征(ROC)曲线分析方法评价模型的诊断价值。结果显示: 对于显著肝纤维化AST/ALT比率与其相关程度最高(AUROC 0.83), 其次为BARD评分(AUROC = 0.77), 最后为APRI指数(AUROC = 0.67, 图1)。运用文献中提供的cut-off值计算出上述无创诊断模型的敏感度、特异度、阳性预测值及阴性预测值(表2)。结果提示, 当AST/ALT比率cut-off值<0.8, BARD评分cut-off值<2时, 其阴性预测值可>90%, 可用于临床排除那些尚未到达重度肝纤

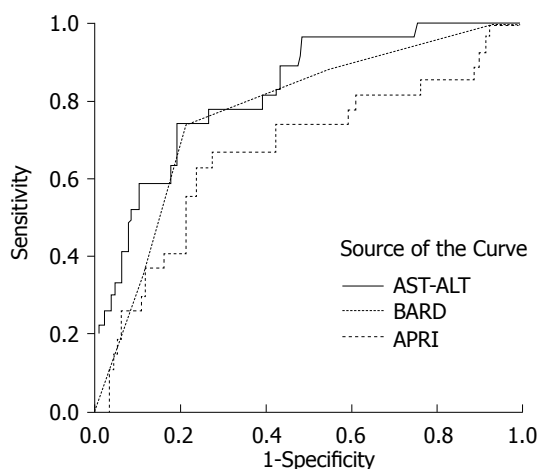


图 1 各类模型评价显著肝纤维化的受试者操作特征(ROC)曲线。ALT_AST: AST/ALT比率; BARD: BARD指数; APRI: APRI指数。

维化水平的患者。运用此方法可使相当一部分患者避免掉肝活检(表3)。而所有模型的阳性预测值均处于中、低等水平(27%-55%), 尚不足以替代肝活检判断肝纤维化程度。

3 讨论

近年来, 通过对大量临床和血清学指标的研究, 国内外建立了多个肝纤维化非创伤性综合指标的诊断预测模型, 并已成为研究热点之一。这

■创新盘点

本研究收集了29例NAFLD行肝穿刺患者的临床资料, 评价上述各肝纤维化非创伤模型的诊断价值, 为NAFLD肝纤维化的临床诊断和疗效考核提供了参考依据。

■应用要点

本研究结果提示肝纤维化非创伤性诊断模型能较好地地区分存在显著肝纤维化的NAFLD患者, 并可以避免部分患者行肝穿刺检查. 广大临床医师可以此结果作为判断NAFLD肝纤维化程度及治疗疗效的参考.

表 3 应用无创评估模型可使NAFLD患者避免掉活检的比率 $n(\%)$

无创评估模型	Cut-off	可避免掉活检	假阴性结果
AST/ALT比率	<0.8	20/29 (68.9)	2 (6.8)
BARD 评分	<2	11/29 (37.9)	1 (3.4)

些模型具备一些共同特点, 即ROC曲线下面积(AUC)>0.8; 指标易从临床实践中获取; 先后经临床病理验证有一致性较高的诊断准确性、敏感性、特异性、阳性预测值及阴性预测值; 对判别有或无明显纤维化具有较可靠的参考价值. 血清学检测只需患者提供少量血清, 操作简便, 具有相对无创性, 同时不受肥胖、腹水等因素影响, 可在病程中动态观察, 对病程的演变及疗效判断有较好的指导作用. 因此以血清学检测为基础的肝纤维化无创诊断模型在肝纤维化诊断中具有十分重要的地位. 这些预测模型大多数是针对慢性病毒性肝炎患者的, 我国的慢性肝病病因以慢性病毒性肝炎为主, 由于病因的不同, 对于慢性病毒性肝炎患者建立的预测模型是否适合我国的非酒精性脂肪肝患者, 目前尚无定论.

在国内外提出的一系列肝纤维化非创伤性诊断模型中, 仅包含常规指标的非创伤性诊断模型有APRI指数、Forns指数、S指数、APAG指数和AST/ALT比率等. APRI模型最初用于预测慢性丙型肝炎显著性肝纤维化. 有学者得出APRI对诊断丙肝患者显著肝纤维化的AUC为0.76^[19]. 本研究根据原始文献提供的计算公式得出APRI模型的AUC为0.67, 低于国外报道水平. 本研究发现基于慢性丙型肝炎患者建立的APRI模型在NAFLD患者中虽具有一定诊断价值, 但其预测准确性较低. 比较各个模型间的AUC之间的差异, 我们发现AST/ALT比率和BARD评分模型预测NAFLD患者肝纤维化的准确性较高. AST/ALT比率模型判断显著肝纤维化时的AUC为0.83. BARD评分模型判断显著肝纤维化时的AUC为0.77.

目前, 所有通过血清指标组合建立的非创伤性诊断模型均不能够精确预测患者的肝纤维化属于哪一个分期, 他们的主要价值在于区分部分患者有无显著性肝纤维化或肝硬化的存在, 从而减少肝活检的需要^[20]. 在本研究中29例NAFLD患者, AST/ALT比率<0.8判断为无显著肝纤维化, 如果只对AST/ALT比率 \geq 0.8的患者行肝活检, 则共有20例(68.9%)患者可免于肝活

检, 其中18例判断准确, 仅2例判断错误, 准确率为90%(18/20). BARD评分<2判断为无显著肝纤维化, 如果只对BARD评分 \geq 2的患者行肝活检, 则共有11例(37.9%)患者可免于肝活检, 其中10例判断准确, 仅1例判断错误, 准确率为90.9%(10/11). 如果两者联合应用, 应能避免更多患者免于肝穿刺活检.

总之, 肝纤维化非创伤性诊断模型能较好地地区分存在重度肝纤维化的NAFLD患者, 减少肝活检的必要性, 但尚不能完全取代肝穿刺活检. 而2种或2种以上非创伤性检测方法和模型的联合应用将更有助于提高显著肝纤维化的诊断准确率.

4 参考文献

- Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, Crocè LS, Brandi G, Sasso F, Cristanini G, Tiribelli C. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med* 2000; 132: 112-117
- Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004; 40: 1387-1395
- Fan JG, Zhu J, Li XJ, Chen L, Li L, Dai F, Li F, Chen SY. Prevalence of and risk factors for fatty liver in a general population of Shanghai, China. *J Hepatol* 2005; 43: 508-514
- 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 161-163
- Day CP. Natural history of NAFLD: remarkably benign in the absence of cirrhosis. *Gastroenterology* 2005; 129: 375-378
- Teli MR, James OF, Burt AD, Bennett MK, Day CP. The natural history of non alcoholic fatty liver: a follow up study. *Hepatology* 1995; 22: 1714-1719
- Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, Angulo P. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2005; 129: 113-121
- Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-1419
- Fassio E, Alvarez E, Domínguez N, Landeira G, Longo C. Natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a longitudinal study of repeat liver biopsies. *Hepatology* 2004; 40: 820-826
- Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, Kechagias S. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated

- liver enzymes. *Hepatology* 2006; 44: 865-873
- 11 Argo CK, Northup PG, Al-Osaimi AM, Caldwell SH. Systematic review of risk factors for fibrosis progression in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2009; 51: 371-379
 - 12 Ratziu V, Bonyhay L, Di Martino V, Charlotte F, Cavallaro L, Sayegh-Tainturier MH, Giral P, Grimaldi A, Opolon P, Poynard T. Survival, liver failure, and hepatocellular carcinoma in obesity-related cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 2002; 35: 1485-1493
 - 13 Hui JM, Kench JG, Chitturi S, Sud A, Farrell GC, Byth K, Hall P, Khan M, George J. Long-term outcomes of cirrhosis in nonalcoholic steatohepatitis compared with hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 420-427
 - 14 Al Knawy B, Shiffman M. Percutaneous liver biopsy in clinical practice. *Liver Int* 2007; 27: 1166-1173
 - 15 Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, Grimaldi A, Capron F, Poynard T. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2005; 128: 1898-1906
 - 16 Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok AS. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 518-526
 - 17 Williams AL, Hoofnagle JH. Ratio of serum aspartate to alanine aminotransferase in chronic hepatitis. Relationship to cirrhosis. *Gastroenterology* 1988; 95: 734-739
 - 18 Harrison SA, Oliver D, Arnold HL, Gogia S, Neuschwander-Tetri BA. Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. *Gut* 2008; 57: 1441-1447
 - 19 Shaheen AA, Myers RP. Diagnostic accuracy of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review. *Hepatology* 2007; 46: 912-921
 - 20 刘妮妮, 顾文君, 沈锡中. 血清生化指标对慢性乙型肝炎肝纤维化及炎症程度的诊断价值. *中国临床医学* 2005; 12: 65-66

■同行评价

本研究内容新颖, 设计合理, 实验结果可信, 文章论述清晰, 紧扣当前脂肪肝, 肝纤维化研究热点, 密切联系临床, 对非酒精性肝纤维化的非创伤性诊断方法评价和对临床医生具有很好的参考价值, 值得广大临床和基础研究者阅读。

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》入选北京大学图书馆 2008年版《中文核心期刊要目总览》

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》(2008年版)采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达80余种, 统计文献量达32 400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12 400余种。本版还加大了专家评审力度, 5 500多位学科专家参加了核心期刊评审工作。经过定量评价和定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1 980余种核心期刊, 分属七大编73个学科类目。《世界华人消化杂志》入选本版核心期刊库(见R5内科学类核心期刊表, 第66页)。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

吉西他滨联合奥沙利铂经肝动脉化疗栓塞防治肝癌术后复发

肖运平, 刘惕生, 阮天羽, 潘光栋, 肖 亿

■背景资料

手术切除是治疗肝细胞癌的主要手段, 但术后高复发率是影响其生存期的主要原因之一。TACE预防肝癌术后复发的疗效仍存在一定分歧。目前, 肝癌术后TACE尚无统一、规范的化疗药物方案, 寻求更敏感有效、不良反应更低的抗肿瘤药物十分重要。

肖运平, 刘惕生, 阮天羽, 广西医科大学第五附属医院 柳州市人民医院放射科 广西壮族自治区柳州市 545006

潘光栋, 肖亿, 广西医科大学第五附属医院 柳州市人民医院肝胆外科 广西壮族自治区柳州市 545006

肖运平, 硕士, 副主任医师, 主要从事腹部疾病影像诊断与介入治疗的研究。

广西壮族自治区卫生厅科研基金资助项目, No. Z2008411、Z2009310

广西柳州市应用技术与开发计划基金资助项目, No. 2010030718

作者贡献分布: 课题设计由肖运平与潘光栋完成; 病例选择、临床资料整理由阮天羽与肖亿完成; 主要实验数据分析和文章起草由肖运平与刘惕生完成。

通讯作者: 肖运平, 副主任医师, 545006, 广西壮族自治区柳州市, 广西医科大学第五附属医院, 柳州市人民医院放射科。xyp22133@sina.com

电话: 0772-2663075 传真: 0772-2662017

收稿日期: 2011-11-08 修回日期: 2011-12-05

接受日期: 2012-01-19 在线出版日期: 2012-01-28

Value of transcatheter arterial chemoembolization with gemcitabine plus oxaliplatin in preventing postoperative recurrence of hepatocellular carcinoma in high-risk patients

Yun-Ping Xiao, Ti-Sheng Liu, Tian-Yu Ruan, Guang-Dong Pan, Yi Xiao

Yun-Ping Xiao, Ti-Sheng Liu, Tian-Yu Ruan, Department of Radiology, the Fifth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Guang-Dong Pan, Yi Xiao, Department of Hepatobiliary Surgery, the Fifth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Scientific Research Foundation of Health Bureau of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. Z2008411, Z2009310; the Application Technology Research and Exploitation Project of Liuzhou City, Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 2010030718

Correspondence to: Yun-Ping Xiao, Associate Chief Physician, Department of Radiology, the Fifth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. xyp22133@sina.com
Received: 2011-11-08 Revised: 2011-12-05
Accepted: 2012-01-19 Published online: 2012-01-28

Abstract

AIM: To investigate the value of transcatheter arterial chemoembolization (TACE) with gem-

citabine plus oxaliplatin (GEMOX) in preventing postoperative recurrence of hepatocellular carcinoma (HCC) in high-risk patients.

METHODS: The clinical data for 120 HCC patients with high risk factors for postoperative recurrence were analyzed retrospectively. Eighty-eight patients (TACE group) received TACE 3-6 weeks postoperatively, of them 43 (GEMOX group) received new chemotherapeutics including gemcitabine and oxaliplatin and 45 (control group) received conventional chemotherapeutics. Thirty-two patients (operation group) did not receive TACE. The recurrence rate of HCC was compared between these groups within 6 months and 1 year of follow-up.

RESULTS: The recurrence rate of HCC was significantly lower in the TACE group than in the operative group within either 6 months (20.5% vs 37.5%) or 1 year (43.8% vs 59.4%) after operative. The recurrence rate of HCC was significantly lower in the GEMOX group than in the control group within 6 months after operation, but showed no significant difference within 1 year of follow-up. The incidence rates of hyperleukocytosis, nausea and emesis in the GEMOX group were significantly lower than those in the control group.

CONCLUSION: Prophylactic TACE contributes to reducing or postponing the short-term recurrence of HCC in patients with high risk factors for postoperative recurrence, and the chemotherapy regimen including gemcitabine and oxaliplatin shows better effects than conventional ones.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Hepatectomy; Neoplasm recurrence; Transcatheter arterial chemoembolization

Xiao YP, Liu TS, Ruan TY, Pan GD, Xiao Y. Value of transcatheter arterial chemoembolization with gemcitabine plus oxaliplatin in preventing postoperative recurrence of hepatocellular carcinoma in high-risk patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 238-242

■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

摘要

目的: 探讨吉西他滨联合奥沙利铂经肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)在防治肝癌高危患者术后复发中的价值。

方法: 回顾性分析肝癌术后复发高危患者120例, 88例术后3-6 wk接受TACE治疗为TACE组, 其中43例采用吉西他滨联合奥沙利铂组成的GEMOX方案(GEMOX组), 45例使用传统化疗药物方案(对照组); 32例因其他原因未接受TACE治疗作为单纯手术组。通过6 mo、12 mo的随访, 比较各组6 mo、12 mo术后复发率。

结果: TACE组术后6 mo、12 mo肝内复发率(20.5%、43.8%)明显低于单纯手术组(37.5%、59.4%), 两者均有统计学意义($\chi^2 = 6.512$ 、 4.573 , $P < 0.05$)。在TACE组中, GEMOX组6 mo术后复发率(11.6%)较对照组(28.9%)低, 差异有统计学意义($\chi^2 = 4.026$, $P < 0.05$), 两组12 mo术后复发率无明显差异($\chi^2 = 0.876$, $P > 0.05$); 在TACE不良反应中, GEMOX组白细胞减少及恶心、呕吐发生率较对照组低, 差异有统计学意义($Z = -2.156$ 、 -2.295 , $P < 0.05$)。

结论: 对肝癌术后复发高危患者进行预防性TACE有助于减少或延缓术后近期复发率, 吉西他滨联合奥沙利铂方案疗效更佳。

关键词: 肝细胞癌; 肝切除术; 肿瘤复发; 经皮肝动脉化疗栓塞

肖运平, 刘锡生, 阮天羽, 潘光栋, 肖亿. 吉西他滨联合奥沙利铂经肝动脉化疗栓塞防治肝癌术后复发. 世界华人消化杂志 2012; 20(3): 238-242

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/238.asp>

0 引言

手术切除是治疗肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的主要手段, 但术后高复发率是影响其生存期的主要原因之一^[1]。肝癌术后经肝动脉化疗栓塞(transcatheterarterial chemoembolization, TACE)预防肝癌术后复发的疗效已得到较多学者认可^[2-4], 但仍存在一定分歧^[5,6], 我们采用吉西他滨联合奥沙利铂方案(GEMOX)经TACE防治高危肝癌术后复发, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 2005-10/2010-10, 在柳州市人民医院接受根治性肝切除术、病理证实为HCC并伴有术后复发高危因素患者共120例, 男93例, 女27

例, 中位年龄50.2岁。88例患者术后3-6 wk接受TACE治疗作为TACE组, 其中43例使用吉西他滨联合奥沙利铂组成的化疗药物方案(GEMOX组), 45例使用传统化疗药物方案(对照组)。GEMOX组化疗药物包括奥沙利铂(艾恒, 江苏恒瑞医药股份有限公司生产)100-120 mg/m², 吉西他滨(泽菲, 江苏豪森制药公司生产)1.0-1.2 g/m², 盐酸多柔比星40 mg/m²; 对照组化疗药物包括顺铂40 mg/m², 氟尿嘧啶0.5-0.75 g/m²(或丝裂霉素6-8 mg/m²), 盐酸多柔比星40 mg/m²; 碘油0-10 mL。32例因其他原因术后未接受TACE治疗做为单纯手术组。肝癌术后复发高危患者入选标准: (1)术后病理证实脉管癌栓; (2)多结节或多结节融合型肝细胞癌; (3)术前AFP增高(>200 μg/L), 经根治性肝癌切除术后1-2 mo AFP仍>200 μg/L; (4)大肝癌(直径≥5 cm)。

1.2 方法

1.2.1 肝切除: 全部病例实施了肉眼根治性切除术。120例患者中, 行肝癌不规则性切除82例, 规则性切除38例, 其中左外叶切除9例, 左半肝切除13例, 右半肝切除16例。

1.2.2 TACE治疗: 采用Seldinger法将导管置入肝固有动脉, 先经导管缓慢灌注大部分化疗药物, 再注入混有化疗药物(盐酸多柔比星10 mg)的碘油乳剂4-6 mL。如有复发或残留病灶进一步超选择性插管行化疗栓塞。其中行1次TACE患者46例; 2次26例, 3次及以上16例, 再次TACE者仍使用原化疗药物方案, 两次间隔1-2 mo。

1.2.3 复查和随访: TACE术后不良反应按照WHO抗癌药急性与亚急性毒性表现及分级标准观察评价, 分为0-IV度。患者TACE术后1 wk常规复查血象、肝肾功能, 每3 mo常规复查血清AFP、肝脏B超和胸部X线检查, 随访6 mo、12 mo。术后B超、CT、MRI或肝动脉造影等任何一项检查发现肝占位性病变, 符合原发性肝癌特征, 即认为肝内复发。如影像学检查均未发现肝占位性病变, 但术后血清AFP持续上升超过400 μg/L, 排除活动性肝病、肝外复发或妊娠, 也认为肝内复发。

统计学处理 采用SPSS13.0软件包进行分析处理, 采用 χ^2 检验及Wilcoxon秩和检验。

2 结果

各组临床资料差异无统计学意义, 具有可比性(表1, 2)。

2.1 术后复发率 TACE组术后6 mo、12 mo肝

■ 研究前沿

目前探索肝癌术后复发的防治研究主要集中在以下两方面, 其一是研究肝癌复发转移的分子机制, 至今虽屡有重要发现, 但据此形成广泛应用的临床靶向治疗还有甚多困难; 另一方面是研究已存在或新的综合治疗措施在防治肝癌术后复发中的作用, 对近期内提高肝癌外科疗效具有实用价值。

■相关报道

实验研究表明一定浓度的奥沙利铂可抑制人肝癌细胞增殖,诱导其凋亡,且对各种顺铂耐药的肿瘤株无交叉耐药.临床研究显示吉西他滨联合奥沙利铂治疗晚期肝癌取得较好的疗效.

表 1 各组肝癌术后患者一般资料比较 (n)

分组	n	年龄(岁, mean ± SD)	性别		血清AFP(ng/mL)		乙肝病史		Child-Pugh分级	
			男	女	< 200	≥ 200	有	无	A级	B级
TACE组										
GEMOX组	43	49.4 ± 10.4	35	8	29	14	40	3	41	2
对照组	45	51.2 ± 9.6	36	9	28	17	39	6	42	3
P值	> 0.05	> 0.05	> 0.05		> 0.05		> 0.05		> 0.05	
单纯手术组										
P值	> 0.05	> 0.05	> 0.05		> 0.05		> 0.05		> 0.05	

表 2 各组肝癌术后患者TNM分期、脉管癌栓、肿瘤大小、数目及病理分级比较 (n)

分组	TNM分期				脉管癌栓		肿瘤大小(cm)		肿瘤数目		病理分级		
	I期	II期	III期	IV期	有	无	< 5	≥ 5	单个	多个	高分化	中分化	低分化
TACE组													
GEMOX组	11	18	14	0	7	38	19	24	28	15	3	33	7
对照组	9	23	12	1	9	36	23	22	26	19	4	32	9
P值	> 0.05				> 0.05		> 0.05		> 0.05		> 0.05		
单纯手术组													
P值	> 0.05				> 0.05		> 0.05		> 0.05		> 0.05		

表 3 各组患者术后肿瘤复发情况比较 (n)

随访时间	TACE组				x ² 值	P值	单纯手术组		x ² 值	P值
	GEMOX组		对照组				复发	未复发		
	复发	未复发	复发	未复发						
累计6 mo	5	38	13	32	4.026	0.045 ^a	14	18	6.512	0.011 ^a
累计12 mo	14	29	19	26	0.876	0.349	19	13	4.573	0.032 ^a

^aP<0.05.

内复发率(20.5%、43.8%)明显低于单纯手术组(37.5%、59.4%),两者均有统计学意义($\chi^2 = 6.512$ 、4.573, $P < 0.05$).在TACE组中,GEMOX组术后6 mo复发率(11.6%)较对照组(28.9%)低,差异有统计学意义($\chi^2 = 4.026$, $P < 0.05$),两组术后12 mo肝内复发率无明显差异($\chi^2 = 0.876$, $P > 0.05$,表3).

2.2 TACE不良反应 TACE不良反应以I-II度为主.GEMOX组白细胞减少及恶心、呕吐反应发生率(37.2%、44.2%)较对照组低(55.6%、64.4%),差异有统计学意义($Z = -2.156$ 、 -2.295 , $P < 0.05$).两组肝、肾功能损害、心电图改变、末梢神经炎(外周神经异常)发生率GEMOX组与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$,表4).末梢神经炎只发生在GEMOX组,与接触冷物质有关.

3 讨论

手术切除是肝癌首选治疗方法,由于肝癌的多中心起源,手术不能切除肉眼不可见到的和不能用医学影像诊断到的微小癌灶,由于肿瘤破裂使癌细胞脱落种植于肝脏切缘以及手术后残留的肿瘤组织、细胞继续生长形成复发病灶等原因,肝癌手术切除后仍较高的复发率^[1],消灭上述可能微小病灶对降低术后复发将起到积极作用.TACE已广泛用于不可手术切除肝癌的治疗,近年来应用TACE预防肝癌术后复发的临床研究较多^[2-7],但术后TACE是否作为常规预防复发的手段尚有争议.王庆新等^[5]在260例肝癌术后回顾性研究结果中显示预防性TACE未能明显减少复发,说明术后常规行预防性TACE并不能使多数患者受益,反而可能导致肝功能损害,给后续治疗的选择带来限

表 4 TACE患者治疗后不良反应比较 (n)

不良反应	GEMOX组(n = 43)						对照组(n = 45)						Z值	P值
	0度 (n)	I度 (n)	II度 (n)	III度 (n)	IV度 (n)	发生率 (%)	0度 (n)	I度 (n)	II度 (n)	III度 (n)	IV度 (n)	发生率 (%)		
白细胞减少	27	11	4	1	0	37.2	20	10	12	3	0	55.6	-2.156	0.031
恶心、呕吐	24	15	4	0	0	44.2	16	17	11	1	0	64.4	-2.295	0.022
肝功能损害	23	17	3	0	0	46.5	20	18	6	1	0	55.5	-1.120	0.263
肾功能损害	42	1	0	0	0	2.3	42	2	1	0	0	6.7	-0.983	0.326
心电图改变	42	1	0	0	0	2.3	43	2	0	0	0	4.5	-0.544	0.586
外周神经异常	40	3	0	0	0	7.0	45	0	0	0	0	0	-1.793	0.073

■应用要点
 本文对肝癌术后复发高危患者是否进行预防性TACE以及使用不同化疗药物方案对其复发率的影响进行回顾性分析, 进一步探讨预防性TACE在防治肝癌高危患者术后复发中的价值以及对化疗药物方案的选择。

制. 多数学者认为术后TACE有助于减少或延缓肿瘤复发, 提高生存期, Meta分析揭示术后TACE可以提高生存和累积无复发率^[2], 术后TACE对消灭手术残留病灶、子灶、脉管癌栓和及时发现、治疗术后复发发挥积极作用^[7]. 亦有文献报道^[6]通过对不同临床分期中预防性TACE的疗效分析发现, 对于早期肝癌术后应用TACE并不能起到延缓复发、延长生存期的作用, 而对中期肝癌术后TACE能起到积极有效的抗复发效果, 晚期肝癌伴有血管癌栓或远处转移时, 如其远处转移病灶不能得到有效治疗时术后TACE预防肝内复发的作用亦显得较弱. 导致不同结论的原因, 可能与纳入这些研究对象的不一致有关. 有研究表明^[5,8,9]术前血清AFP水平、肿瘤大小、肿瘤数目、有无子灶、有无血管癌栓等是影响术后早期复发的重要因素, 这些因素体现了肿瘤的生物学特性. 本研究针对有上述复发高危因素患者进行预防性TACE, 以进一步明确TACE防治肝癌高危患者术后复发的影响, 结果发现高危患者术后接受预防性TACE者1年内复发率明显低于未接受TACE患者, 这表明对高危患者术后常规TACE对降低早期复发率有重要意义. 本组较多患者术后各种常规影像学检查未发现明确复发灶, 但TACE后CT(碘油CT)复查肝内见微小碘油沉积灶, 提示这些患者术后肝内已有微小转移或复发病灶. 所以, 其机制可能为此类患者术前多数肝内已存在微小转移灶, 术后TACE可抑制可能的微转移和未能切除干净的微小病灶, 起到预防复发作用.

肝癌是一种对化疗药物相对不敏感的肿瘤, 由于肝癌细胞对化疗药物的先天抵抗及继发耐药等问题, 在很大程度上影响了TACE治疗的疗效. 目前, 肝癌术后TACE尚无统一的规范化疗方案, 传统的化疗药物为氟尿嘧啶、顺铂、丝

裂霉素、盐酸多柔比星等几种药物联合应用, 尤其单纯灌注时疗效欠佳, 化疗后患者不良反应较大, 寻求更敏感有效的抗肿瘤药物十分重要^[10]. 吉西他滨作为一种新型细胞周期特异性嘧啶类抗代谢药物, 可与DNA末端结合并有自我增强机制, 具有较强的亲脂性, 容易穿透细胞膜和被细胞摄取, 进入细胞后代谢成为有活性的二磷酸盐, 并在细胞内聚集较长时间, 对多种实体瘤具有独特的抗癌活性. 同时因其固有的抑制DNA复制和修复的特征, 适于与破坏DNA的药物联合. 铂类药物的主要靶点正是增殖细胞的DNA, 奥沙利铂作为第三代铂类药物, 其在体内与DNA结合的速率较顺铂快10倍以上, 而且结合牢固, 有更强的细胞毒和抗肿瘤活性. 实验研究^[11,12]表明一定浓度的奥沙利铂可抑制人肝癌细胞增殖, 诱导其凋亡, 且对各种顺铂耐药的肿瘤株无交叉耐药. 临床研究^[13,14]显示吉西他滨联合奥沙利铂治疗晚期肝癌取得较好的疗效, 两者联用有协同作用, 疗效更佳, 且患者耐受性较好, 未见严重不良反应. 但两者联合经TACE途径治疗肝癌, 特别是防治肝癌术后复发, 临床报道少见. 本研究结果显示GEMOX方案较传统化疗方案疗效更优, 不良反应轻, 特别是消化系反应及对白细胞计数减少程度明显减轻, 有助于提高肝癌术后患者TACE后的生存质量. 奥沙利铂特殊的外周神经毒性是短暂可逆的, 即使不作任何处理, 一些症状也可迅速逆转, 在治疗期间要避免任何冷刺激, 这样可有效地减少症状的发生.

总之, 对于大肝癌、多结节或多结节融合型肝癌、病理证实有脉管癌栓、术前AFP显著升高术后不能降至正常等肝癌高危复发患者, 术后进行预防性TACE有助于减少或延缓术后近期复发率, 以吉西他滨联合奥沙利铂化疗方案疗效更佳. 由于本研究随访时间不长, 其远期疗效有待进一步研究总结.

■同行评价

本文设计合理,对临床应用有较好的指导作用。

4 参考文献

- 1 Shah SA, Greig PD, Gallinger S, Cattral MS, Dixon E, Kim RD, Taylor BR, Grant DR, Vollmer CM. Factors associated with early recurrence after resection for hepatocellular carcinoma and outcomes. *J Am Coll Surg* 2006; 202: 275-283
- 2 Mathurin P, Raynard B, Dharancy S, Kirzin S, Falik D, Pruvot FR, Roumilhac D, Canva V, Paris JC, Chaput JC, Naveau S. Meta-analysis: evaluation of adjuvant therapy after curative liver resection for hepatocellular carcinoma. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 1247-1261
- 3 张坤, 江艺, 张绍庚, 谢海英, 谢志红. 肝动脉化疗栓塞对原发性肝癌患者术后生存及肿瘤复发的影响. *中国普通外科杂志* 2007; 16: 206-208
- 4 黄帆, 耿小平, 刘付宝, 赵红川, 王国斌, 赵义军. 肝癌术后复发高危患者行TACE的意义. *中华普通外科杂志* 2010; 25: 490-492
- 5 王庆新, 晏建军, 周飞国, 沈军, 严以群. 肝癌术后行预防性肝动脉化疗栓塞适应证的初步探讨. *中华外科杂志* 2009; 47: 748-751
- 6 奚韬, 闰振林, 王葵, 李俊, 夏勇, 沈锋, 吴孟超. 术后经导管动脉化疗栓塞对不同病理特征肝癌的抗复发作用. *中华外科杂志* 2007; 45: 587-590
- 7 Eguchi S, Matsumoto S, Hamasaki K, Takatsuki M, Hidaka M, Tajima Y, Sakamoto I, Kanematsu T. Re-evaluation of lipiodolized transarterial chemoembolization therapy for intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after curative liver resection. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2008; 15: 627-633
- 8 Shah SA, Cleary SP, Wei AC, Yang I, Taylor BR, Hemming AW, Langer B, Grant DR, Greig PD, Gallinger S. Recurrence after liver resection for hepatocellular carcinoma: risk factors, treatment, and outcomes. *Surgery* 2007; 141: 330-339
- 9 Hubert C, Sempoux C, Rahier J, Horsmans Y, Geubel A, Van Beers BE, Annet L, Zech F, Leonard D, Gigot JF. Prognostic risk factors of survival after resection of hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1791-1797
- 10 李锦清. 肝癌术后复发高危病例的预测和防治. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 445-446
- 11 刘利珍, 简捷, 吴建兵, 黄龙璋, 史芳. Nimesulide联合奥沙利铂对人肝癌细胞增殖与凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 4041-4045
- 12 张燕, 左国庆, 汤为学. 奥沙利铂对人肝癌细胞株HepG2体外增殖的影响. *中华肝脏病杂志* 2004; 12: 374-375
- 13 Li S, Niu Z, Tian H, Zhang B, Wang F, Yi LH, Yu J. Treatment of advanced hepatocellular carcinoma with gemcitabine plus oxaliplatin. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 218-223
- 14 Louafi S, Boige V, Ducreux M, Bonyhay L, Mansourbakht T, de Baere T, Asnacios A, Hannoun L, Poynard T, Taïeb J. Gemcitabine plus oxaliplatin (GEMOX) in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC): results of a phase II study. *Cancer* 2007; 109: 1384-1390

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》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)

ERCP术中并发上消化道穿孔11例

曹友红, 姚玉玲, 吴毓麟, 孔文涛, 王福根

曹友红, 孔文涛, 王福根, 江苏省高淳县人民医院消化内科
江苏省高淳县 211300

姚玉玲, 吴毓麟, 南京市鼓楼医院消化内科 江苏省南京市
210008

曹友红, 主治医师, 主要从事消化内科内镜ERCP技术的研究。

作者贡献分布: 此文资料总结及论文撰写由曹友红完成; 姚玉玲
与吴毓麟负责内镜操作及全文理论指导; 数据分析及图片收集
由孔文涛与王福根完成。

通讯作者: 曹友红, 主治医师, 211300, 江苏省高淳县淳溪镇淳
中路9号, 江苏省高淳县人民医院消化科。

dayouhong@163.com

电话: 025-57301696

收稿日期: 2011-12-16 修回日期: 2012-01-05

接受日期: 2012-01-19 在线出版日期: 2012-01-28

ERCP-related upper gastrointestinal perforation: an analysis of 11 cases

You-Hong Cao, Yu-Ling Yao, Yu-Lin Wu,
Wen-Tao Kong, Fu-Gen Wang

You-Hong Cao, Wen-Tao Kong, Fu-Gen Wang, Department of Gastroenterology, Gaochun People's Hospital, Gaochun 211300, Jiangsu Province, China

Yu-Ling Yao, Yu-Lin Wu, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Correspondence to: You-Hong Cao, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Gaochun People's Hospital, Gaochun 211300, Jiangsu Province, China. dayouhong@163.com

Received: 2011-12-16 Revised: 2012-01-05

Accepted: 2012-01-19 Published online: 2012-01-28

Abstract

AIM: To analyze the causes and treatments of upper gastrointestinal perforation associated with endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP).

METHODS: The clinical data for 2 399 patients who underwent ERCP in Nanjing Drum Tower Hospital from August 31, 2008 to August 31, 2011 were analyzed retrospectively.

RESULTS: Of 2 399 patients, 11 (0.46%) developed upper gastrointestinal perforation. Of these 11 patients, 1 developed esophageal perforation, 1 had cardia perforation, 2 had duodenal bulb perforation, 5 had perforation in the descending duodenum and duodenal papilla; 2 underwent Birroth II gastrectomy; 7 received con-

servative treatment, and 4 underwent surgical treatment.

CONCLUSION: ERCP-related upper gastrointestinal perforations are mainly iatrogenic. Early diagnosis and conservative treatment are essential for optimal outcome in patients with ERCP-related upper gastrointestinal perforations.

Key Words: Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Upper gastrointestinal perforation; Complications

Cao YH, Yao YL, Wu YL, Kong WT, Wang FG. ERCP-related upper gastrointestinal perforation: an analysis of 11 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 243-247

摘要

目的: 探讨内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)并发上消化道穿孔的原因及穿孔的处理防治。

方法: 收集整理南京市鼓楼医院近3年(2008-08-31/2011-08-31)ERCP术中并发上消化道穿孔患者2 399例, 依据一定标准进行穿孔原因诊断分析, 并针对患者的实际情况采取保守治疗和手术治疗相结合的方法进行穿孔治疗。

结果: 2 399例ERCP术中发现上消化道穿孔共11例, 发生率0.46%(其中食管穿孔1例, 贲门口穿孔1例, 十二指肠球部穿孔2例, 十二指肠降部及乳头周围穿孔5例, 毕Ⅱ式胃术后穿孔2例)。11例上消化道穿孔中7例为保守治疗成功, 4例为手术治疗成功。

结论: ERCP并发上消化道穿孔原因较多, 主要为医源性, 处置方法是在早期发现的基础上, 采取保守治疗能取得良好的效果。

关键词: 内镜逆行胰胆管造影; 上消化道穿孔; 并发症

曹友红, 姚玉玲, 吴毓麟, 孔文涛, 王福根. ERCP术中并发上消化道穿孔11例. *世界华人消化杂志* 2012; 20(3): 243-247
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/243.asp>

■背景资料

内镜逆行胰胆管造影(ERCP)相关技术已成为诊断治疗胆胰疾病的一个重要且不可替代的手段, 其重要性不言而喻; 但操作不当, 会带来相应的如上消化道穿孔等并发症, 如何尽量避免其发生, 目前成为关注焦点。

■同行评议者

欧希龙, 副教授, 东南大学南京中大医院消化科

■ 相关报道

内镜下逆行胰胆管造影并发穿孔的诊断一般不难, 治疗绝大部分经引流后可自行闭合, 对未能闭合者可经内镜下钛夹封闭, 极少数采取创伤较大的外科手术治疗。

0 引言

目前, 内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)及乳头括约肌切开术(EST)等相关系列技术的开展越来越广泛, 很多的县级基层医院亦在开展此项技术, 但ERCP及相关技术有一定的风险性及并发症发生, 最直接及常见的并发症为ERCP相关穿孔。本文回顾性分析复习南京市鼓楼医院近3年(2008-08-31/2011-08-31)的共2 399例ERCP术中发现11例穿孔患者的原因及相关处治方式, 旨在探讨吸取经验教训, 尽量减少ERCP并发上消化道穿孔的发生, 从而间接减少医疗纠纷的发生。

1 材料和方法

1.1 材料 收集江苏省南京市鼓楼医院ERCP室电脑内镜报告系统中ERCP操作详细记录, 时间范围为(2008-08-31/2011-08-31); 所需设备Olympus EVIS240型电子内镜系统, 十二指肠镜TJF240/TJF260, 高频电发生器、乳头切开刀、碎石网篮、取石气囊等相关ERCP附件为Olympus公司及Boston公司产品。

1.2 方法 ERCP术中穿孔的诊断方法依据以下方面: (1)患者临床腹痛腹胀表现; (2)操作中镜下直视见黏膜穿孔样变及上消化道腔外组织; (3)患者出现皮下气肿; (4)X线下透视见肾影显示、腹膜后、膈下游离气体或造影剂外泄改变。第(1)项合并(2, 3, 4)项中任1项者即诊断为上消化道穿孔。

穿孔处理方法: 11例上消化道穿孔中为7例为保守治疗; 4例为手术治疗。平均住院时间为8-43 d; 7例保守治疗中第1例及第2例予金属大钛夹(Olympus公司生产)夹毕后, 周边予正常钛夹再次封闭小切口(正常ERCP操作未能进一步操作); 2例予金属小钛夹夹毕后, 再放入鼻胆管引流保守治疗; 另外3例因破口较小, 直接放置鼻胆管引流后保守治疗。

2 结果

期间共操作2 399例ERCP术, 术中发现上消化道穿孔共11例, 患者具体情况统计见表1, 发生率为0.46%; 其中食管穿孔1例(修补过程见图1), 贲门口穿孔1例, 十二指肠球部穿孔2例, 十二指肠降部及乳头周围穿孔5例, 毕Ⅱ式术后输入袢穿孔2例。具体治疗方案见表2。

穿孔后处理7例为保守治疗, 其中1例在保守8 d后出现腹膜后脓肿, 予以转至外科行穿孔修

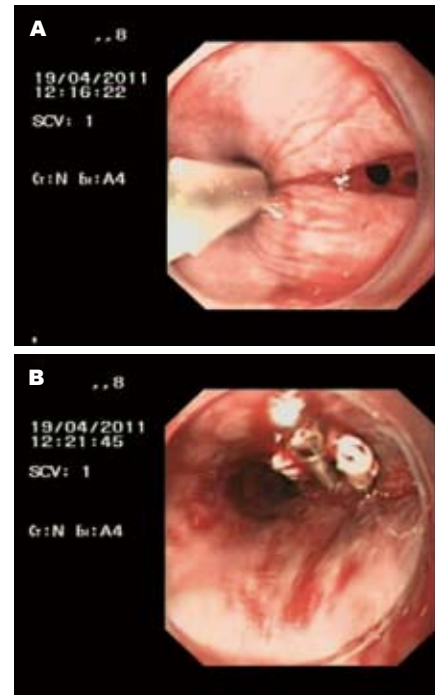


图1 食管壁穿孔手术修补。A: 修补前; B: 钛夹修补术后。

补术+脓肿置管引流术+空肠造口术+腹腔冲洗术+腹腔引流术。3例直接手术穿孔者, 愈合尚可, 但平均住院日明显加长, 为37.8 d; 另1例直接老年手术者(基础疾病有心功能不全及高血压、糖尿病)外科手术修补后死于多脏器功能衰竭。

3 讨论

ERCP经过近40余年的发展, 已成为一项较为成熟的微创介入手术, 在诊治胆胰疾病方面的具有很高的价值; 但其本身为具有一定风险的侵入性操作, 上消化道穿孔即为其常见并发症之一。具有关数据统计, ERCP并发上消化道穿孔的发生率为0.5%-1.8%, 国外相关报道为0.3%-0.6%^[1]。Ennis等^[2]报道 9314例ERCP发生穿孔发33例, 发生率约0.3%; 对于ERCP术中出现上消化道穿孔需及时做出诊断及给予合理的治疗方案, 否则患者术后疾病愈合率会明显下降, 死亡率会明显增加。

ERCP穿孔的因素分析: 本文11例ERCP并发上消化道穿孔中, 穿孔原因分析为: (1)操作者直接作用, 进十二指肠镜时操作暴力, 违反操作常规; (2)在摆放乳头位置时, 反复拉镜调整, 肠壁收到外力牵拉撕裂; (3)患者自身条件较差, 如低蛋白血症导致肠壁水肿, 或食管、胃腔、十二指肠球部溃疡、十二指肠球部憩室、乳头旁憩室的解剖异常, 易导致操作时出现穿孔; (4)插管

表 1 ERCP并发上消化道穿孔患者情况记录

性别/年龄	基础疾病	诊断穿孔方式	与穿孔有直接关系相关操作	治疗手段	预后
男/63岁	胆总管结石	镜下直接见食管黏膜穿孔及腔外组织	未遵循循腔进镜原则, 暴力操纵	保守治疗	治愈
女/77岁	慢性胰腺炎	镜下直接见贲门口黏膜撕裂穿孔	视野不清, 反复进退镜	保守治疗	治愈
女/90岁	阻塞性黄疸	镜下见球部憩室破裂	进入憩室内继续进镜后穿孔	手术治疗	治愈
女/74岁	胆总管扩张	X透视下见肾影, 乳头周围造影剂外泄	患者操作过程中剧烈呕吐	保守治疗	治愈
男/81岁	胆总管结石	取石后见乳头切开处破口	乳头周边较大憩室网篮取石时暴力	保守治疗	治愈
女/62岁	胆管癌	扪及皮下气肿	反复插管不成功, 予以针状刀预切开	保守治疗	穿孔治愈
女/65岁	阻塞性黄疸	镜下直视下见黏膜破口	弓形刀乳头切开过大	手术治疗	治愈
女/53岁	胆总管扩张	X透视下见肾影	经胰管预切开	保守治疗	治愈
男/29岁	胰管结石	X透视下见肾影	留置胰管支架过长嵌入肠壁形成溃疡	保守治疗	治愈
男/80岁	胆总管结石	镜下见乳头对侧肠腔黏膜破口穿孔	乳头柱状球囊扩张牵拉后	手术治疗	治愈
男/81岁	胆总管狭窄	镜下见输入袢腔外组织	毕 II 式术后, 肠腔弯曲度大进镜困难	手术治疗	死亡

■创新盘点

本文较系统地总结了ERCP合并上消化道穿孔的原因, 同时对穿孔后处理做了较深刻的分析。

表 2 ERCP并发上消化道穿孔具体处置方法

穿孔部位	穿孔后治疗方案
食管	Olympus公司生产专用金属大钛夹+普通钛夹封闭穿孔处
贲门口	Olympus公司生产专用金属大钛夹+普通钛夹封闭穿孔处
十二指肠球部	一般考虑外科手术修补, 破口很小可尝试钛夹修补
十二指肠乳头旁	鼻胆管引流保守治疗, 见明显破口时予钛夹修补
乳头球囊扩张后	鼻胆管引流保守治疗, 失败后考虑外科手术修补治疗
毕 II 式术后输入袢	考虑外科手术修补治疗

困难, 行针形刀开窗术(needle-knife fenestration, NKF)剖开乳头时位置深浅把握不准; (5)乳头狭窄时予扩张球囊扩张时, 球囊内气压过大, 导致乳头处黏膜及Oddi括约肌撕裂; (6)取石时, 因石头过大, 网篮拉出时受阻, 外力使用过大导致胆总管下端壶腹部撕裂; (7)毕 II 式胃切除术后, 正常肠腔道位置走向改变, 弯曲度及自由度明显增加, 操作难度增加。对于ERCP合并穿孔的原因, 麻树人教授^[3]统计认为: ERCP术中穿孔并发症的发生均与操作方法有关, 技术不熟练、操作不规范是并发症发生的主要原因。故为减少穿孔并发的可能, 需注意以下几点: 加强技术培训, 掌握娴熟的操作技巧; 严格掌握ERCP适应证和禁忌证; 制定严格的ERCP操作规范; 进行大规模、多中心的前瞻性或回顾性临床研究分析并发症发生原因是极其必要的。

ERCP穿孔的术前、术中预测因素分析: ERCP术前预测穿孔的因素有患者高血压、糖尿病史、Oddi括约肌功能不良、Oddi括约肌功能障碍(sphincter of oddi dysfunction, SOD)、胆

总管扩张、严重低蛋白血症、消化性溃疡(包括食管溃疡, 胃溃疡, 十二指肠球部溃疡, 十二指肠降部溃疡)、胃肠道憩室、肠易激综合征以及更年期妇女; ERCP术中预测穿孔的因素有手术时间的延长, 球囊扩张胆道狭窄时的压力, 取石网篮兜住石头往外拉时的阻力和行内括约肌切开术的深度以及预切开(pre-cut)。

ERCP穿孔的诊断及穿孔分型: ERCP穿孔的诊断为: 患者腹痛腹胀体征; 十二指肠镜下见明显腔外组织; 出现皮下气肿; X线透视下见肾影、膈下游离气体; 造影剂外泄于非正常腔道内, 在Vater壶腹及胆管周围扩散, 腹腔内及腹膜后造影剂外渗^[4-7]; ERCP并发十二指肠球部穿孔诊断分型^[8]: I型, 十二指肠内、外侧壁穿孔, 常由于内镜操作不当直接造成, 这一类型的穿孔通常较大, 引起腹腔内或腹膜后持续大量的外漏, 临床上常需立即手术; II型是壶腹周围的损伤, 需根据上消化道造影或CT以观察其损伤外漏程度; III型损伤涉及远端胆管的损伤, 多由于导丝或网篮器械损伤所致, 穿孔往往较小; IV型

同行评价

本研究有一定的新颖性, 结论较为可靠, 对临床医师有一定的参考价值。

损伤仅表现为腹膜后积气, 实质上不是真正穿孔或微小穿孔, 原则上可行非手术治疗。

ERCP穿孔的治疗分析: 对于ERCP合并上消化道穿孔的治疗, 上述11例穿孔中, 7例为保守治疗, 4例为手术治疗。结合病例治疗及相关文献经验, 保守治疗措施应针对以下情况: 对于食管及贲门口的穿孔应予金属大钛夹夹闭后, 周边缝隙再予正常小钛夹封闭; 对于乳头口因操作不当(如取石网篮或取石气囊过乳头口时, 因石头过大或切开过小, 导致取出困难, 而采取外力进行强制牵拉时; 扩张球囊扩张胆道及乳头时; 行EST时速度过快)造成的小穿孔, 采取放置鼻胆管引流, 禁食, 胃肠减压负压吸引等保守治疗方式; 手术治疗措施情况: 采取钛夹封闭失败, 仍然见明显穿孔灶; 十二指肠球部穿孔的分型中 I 型者, II、III型保守失败者; 毕 II 式胃术后输入袢。

避免ERCP操作时出现穿孔需注意以下几个方面: (1)术前充分评估行ERCP的必要性, 严格把握ERCP适应证。避免不必要的ERCP术是减少ERCP并发上消化道穿孔发生最有效的方法之一^[9]。Cottont曾提出“最不能从ERCP中获益者, 最容易发生并发症”。故术前需充分评估患者是否为上消化道穿孔的高危人群, 如严重低蛋白血症者, 糖尿病者, 消化道多发憩室者等; (2)十二指肠镜进镜时需尽量暴露视野, 依照“循腔进镜”原则进镜, 尽管十二指肠镜为侧视镜, 但仍需充分暴露视野, 切勿盲进, 尤其是镜头前端有明显阻力时, 更应看清视野, 这样可避免误入憩室内或直接顶入溃疡面可能, 从而直接因肠壁的过薄被顶穿导致消化道穿孔; (3)胆总管结石大小是否需要碎石的提前判断, 对于一些较大的胆总管结石, 需要有提前做好碎石的准备思想, 否则石头较大时, 网篮套取石头后强行拉经过乳头时, 会造成局部乳头撕裂而继发穿孔^[10]; (4)EST术引起的ERCP相关消化管道穿孔是最常见的穿孔原因之一, 故施行EST术时, 在避免“拉链式”切开的前提下^[6], 可考虑行乳头“小切开, 大柱状气囊扩张”, 这样安全系数明显提高, 既能有效达到扩张乳头口的直接目的, 同时能有效防止乳头切开过大过深穿孔, 或行网篮取出时局部破裂穿孔的可能; (5)行胆管胰管支架置入后, 如暴露于十二指肠段较长或置入后支架移位, 远端顶入十二指肠乳头对侧肠壁时间较长时, 需注意是否形成溃疡面, 拔支架前需充分评估拔除后是否会因溃疡牵拉

而穿孔, 最好提前钛夹或尼龙绳固定局部根基黏膜; (6)对于毕 II 式手术的患者行ERCP时, 由于胃与空肠吻合后肠道走向改变, 屈氏韧带处相对固定, 侧视镜通过时角度锐, 弯曲度大, 难以顺利通过, 故需考虑行前视镜如胃镜谨慎小心操作, 前端加用透明帽^[11,12]。切乳头时宜采取下方垫以塑料胆管支架, 后予针状刀在支架上方操作切开; (7)对于胆总管或1、2级肝内胆管狭窄时, 拟行扩张前, 最好先予IDUS腔内超声对周边组织进行超探, 采取扩张探条进行扩张时必要从小直径开始逐渐递增, 切勿直接使用大直径扩张探条进行胆管扩张, 否则容易局部胆管过度撕裂穿孔。

总之, ERCP目前已发展为诊断治疗胆道、胰腺疾病的一个重要且不可替代的手段, 其重要性不言而喻, 但可引起一些如上消化道穿孔的并发症。故严格掌握ERCP治疗的指征、提高操作者自身技术水平, 及穿孔发生后及时的判断处理均为减少发生穿孔事件的重要环节。ERCP并发上消化道穿孔后处治原则是在早期发现的基础上, 大部分采取保守治疗能取得较好的效果; 保守策略包括^[13-15]: 胃肠减压、禁食、抑酸, 抑制胆胰液分泌, 抗生素和静脉营养支持等对症治疗, 内镜下钛夹夹闭, 鼻胆管置管引流等, 保守失败及预测保守不能成功时需行外科手术修补治疗。

4 参考文献

- 1 智发朝. ERCP并发症及其防治策略. 中华消化内镜杂志 2009; 26: 229-230
- 2 Enns R, Eloubeidi MA, Mergener K, Jowell PS, Branch MS, Pappas TM, Baillie J. ERCP-related perforations: risk factors and management. *Endoscopy* 2002; 34: 293-298
- 3 麻树人. ERCP发展历史回顾与应用现状. 中华消化内镜杂志 2009; 26: 225-226
- 4 张筱凤. 内镜下逆行胰胆管造影并发穿孔的诊断与治疗. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 543-544
- 5 苏秉忠, 陈平, 黄应龙, 于金华, 马丽丽. ERCP术后相关并发症分析及处理. 中国消化内镜 2007; 1: 16-18
- 6 陈杰, 张新民, 严想元, 宋劲松, 张斌, 张永波. ERCP致胆总管十二指肠损伤的诊治分析. 腹部外科 2010; 23: 179-180
- 7 吴传良. ERCP常见并发症及防治策略. 医学研究杂志 2009; 38: 92-93
- 8 Mallery JS, Baron TH, Dominitz JA, Goldstein JL, Hirota WK, Jacobson BC, Leighton JA, Raddawi HM, Varg JJ, Waring JP, Fanelli RD, Wheeler-Harborough J, Eisen GM, Faigel DO. Complications of ERCP. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 633-638
- 9 中华医学会消化内镜分会ERCP学组. ERCP诊治指南(2010版). 中华消化内镜杂志 2010; 27: 3-5
- 10 张澍田, 王拥军. 胆总管结石的内镜治疗. 中国实用内科杂志 2007; 27: 836-838
- 11 曹杰, 刘芳, 施进, 辛毅, 许乃山, 文卫. 透明帽在胃大

- 部切除毕II式吻合术后胆总管结石内镜取石中的应用. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 698-699
- 12 Lee TH, Bang BW, Jeong JI, Kim HG, Jeong S, Park SM, Lee DH, Park SH, Kim SJ. Primary endoscopic approximation suture under cap-assisted endoscopy of an ERCP-induced duodenal perforation. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2305-2310
- 13 宋丽亚, 赵清喜, 孔心涓, 田字彬, 张琪. ENBD预防胆管多发结石ERCP术后急性胰腺炎及高淀粉酶血症65例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1724-1727
- 14 缪林, 范志宁. ERCP并发症防治现状. 中国医疗器械信息 2009; 15: 15-17, 24
- 15 张啸, 张筱凤, 杨建锋. ERCP术后并发腹膜后穿孔二例. 中华消化内镜杂志 2008; 25: 660-661

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》出版流程

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

重症急性胰腺炎合并消化道瘘16例

陈修涛, 何铁英, 邹德平, 苏力担卡扎·仇曼, 林海, 韩玮, 陈启龙

■背景资料

重症急性胰腺炎(SAP)合并消化道瘘屡见不鲜, 已经引起了人们的高度重视, 其病因复杂, 且其治疗原则仍存在争议, 缺乏公认的临床路径, 在预防及处理消化道瘘方面缺乏共识。

陈修涛, 何铁英, 邹德平, 苏力担卡扎·仇曼, 林海, 韩玮, 陈启龙, 新疆医科大学第一附属医院胰腺外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

作者贡献分布: 此课题由陈启龙设计; 研究过程由陈修涛、何铁英、邹德平、苏力担卡扎·仇曼、林海及韩玮共同完成; 数据整理由陈修涛与陈启龙完成; 数据分析由陈修涛与何铁英完成; 本论文写作由陈修涛与陈启龙完成。

通讯作者: 陈启龙, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市, 新疆医科大学第一附属医院胰腺外科, chenqilong651003@sohu.com

收稿日期: 2011-11-15 修回日期: 2011-12-05

接受日期: 2012-01-19 在线出版日期: 2012-01-28

Alimentary tract fistula associated with severe acute pancreatitis: an analysis of 16 cases

Xiu-Tao Chen, Tie-Ying He, De-Ping Zou, Sulidankaz-ha·Chouman, Hai Lin, Wei Han, Qi-Long Chen

Xiu-Tao Chen, Tie-Ying He, De-Ping Zou, Sulidankazha·Chouman, Hai Lin, Wei Han, Qi-Long Chen, Department of Pancreatic Surgery, the First Affiliated Hospital Of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Qi-Long Chen, Professor, Department of Pancreatic Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. chenqilong651003@sohu.com

Received: 2011-11-15 Revised: 2011-12-05

Accepted: 2012-01-19 Published online: 2012-01-28

Abstract

AIM: To investigate the risk factors, diagnosis and treatment of alimentary tract fistulas after severe acute pancreatitis (SAP) to improve the cure rate of SAP and reduce the morbidity and mortality of alimentary tract fistula.

METHODS: A retrospective study was made on 16 SAP cases complicated with alimentary tract fistula, which were treated at our hospital from January 2006 to August 2011, to analyze its risk factors, location, time, influence on the body, and clinical diagnosis and treatment.

RESULTS: Colonic fistulas occurred in 37.5% (6/16) of patients, duodenal fistulas in 31.25% (5/16), gastric fistulas in 18.75% (3/16), duode-

nal fistula + colonic fistula in 6.25% (1/16), and duodenal fistula + intestinal fistula in 6.25% (1/16). Alimentary tract fistulas were mostly found 3-9 weeks postoperatively. All patients had peripancreatic infection and were diagnosed accurately by X-ray. Early surgery was performed in 2 cases (<2 wk) and late operation in 14 patients (>2 wk). Intraoperative placement of drainage tubes (2-11) and postoperative drainage for >2 wk were performed in all patients. Fifteen cases underwent intraoperative prophylactic gastrostomy/jejunostomy and early enteral nutrition. Fourteen cases were cured, and the cure rate was 87.5% (14/16). One patient developed duodenal fistula and abandoned therapy because of abdominal cavity hemorrhage, and one patient who developed colonic fistula died of serious systematic infection and multiple organ failure.

CONCLUSION: Alimentary tract fistula after SAP is related to pancreatic juice corrosion, infection, operation timing and mode, and quantity, position, and placement time of drainage tubes. X-ray is a reliable and safe method for diagnosis of alimentary tract fistulas.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Alimentary tract fistula; Intestinal fistula; Colonic fistula; Minimally invasive surgery

Chen XT, He TY, Zou DP, Sulidankazha·C, Lin H, Han W, Chen QL. Alimentary tract fistula associated with severe acute pancreatitis: an analysis of 16 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 248-252

摘要

目的: 探讨重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)合并消化道瘘的危险因素、临床诊治经验, 其目的提高SAP治愈率, 降低消化道瘘的发生率及病死率。

方法: 对2006-01/2011-08我科收治的16例SAP合并消化道瘘的临床资料进行回顾性研究, 分析其发生的高危因素、发生部位、时间及对机体的影响, 并对其临床诊断和治疗进行总结。

■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

结果: 本组16例中结肠瘘6例, 占37.5%(6/16), 十二指肠瘘5例, 占31.25%(5/16), 胃瘘3例, 占18.75%(3/16), 十二指肠瘘+结肠瘘1例, 占6.25%(1/16), 十二指肠瘘+小肠瘘1例, 占6.25%(1/16); 消化道瘘发生的时间多在SAP术后3-9 wk内, 16例均有胰外侵犯(胰腺假性囊肿1例, 假性囊肿合并感染出血4例, 胰周脓肿5例, 合并胰腺坏死2例, 细菌合并真菌感染3例), 16例均经引流管造影确诊; 早期手术2例(<2 wk), 晚期手术14例(>2 wk); 术中均放置引流管(2-11不等)且术后行冲洗引流, 放置时间均>2 wk; 15例术中预防性行胃空肠造瘘并早期恢复肠内营养. 本组治愈14例, 治愈率为87.5%(14/16), 因十二指肠瘘合并腹腔大出血自行放弃治疗1例, 因结肠瘘合并全身感染并多发脏器功能衰竭而死亡1例.

结论: SAP合并消化道瘘与胰液腐蚀、感染、手术时机及方式、引流管数量、位置、放置时间、早期恢复肠内营养等相关; 经引流管及窦道造影检查是诊断消化道瘘的一种简便可靠的方法; 防治的重点在于有效选择手术方式如微创并建立充分有效的引流, 同时早期建立肠内营养支持治疗并积极控制感染.

关键词: 重症急性胰腺炎; 消化道瘘; 肠瘘; 结肠瘘; 微创手术

陈修涛, 何铁英, 邹德平, 苏力坦卡扎仇曼, 林海, 韩玮, 陈启龙. 重症急性胰腺炎合并消化道瘘16例. 世界华人消化杂志 2012; 20(3): 248-252
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/248.asp>

0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)合并消化道瘘屡见不鲜, 已经引起了人们的高度重视, 其病因复杂, 且其治疗原则仍存在争议, 缺乏公认的临床路径, 在预防及处理消化道瘘方面缺乏共识. 因此, 本文通过对我院16例SAP合并消化道瘘的临床资料进行回顾性研究, 以期提高对SAP合并消化道瘘的认识, 降低其病死率及消化道瘘的发生率.

1 材料和方法

1.1 材料 2006-01/2011-08我科收治的SAP患者108例, 诊断符合2007年中华医学会制定的《重症急性胰腺炎诊治指南》的诊断标准, 且APACHE II评分均>8分. 本组手术60例, 术后发现合并消化道瘘16例, 均经线消化道及窦道造影证实, 其中男12例, 女4例, 年龄24-79岁, 平

均47岁, 汉族11例, 维吾尔族4例, 回族1例. 合并MODS 5例, 病因(高脂血症2例、外伤1例、自身免疫性1例, 其余为胆源性), 结肠瘘6例(横结肠瘘3例, 结肠脾区瘘2例, 降结肠瘘1例), 十二指肠瘘5例, 胃瘘3例, 十二指肠瘘+结肠瘘1例, 十二指肠瘘+小肠瘘1例, 2例合并胰瘘. 16例均有胰外炎症侵犯(胰腺假性囊肿1例, 假性囊肿合并感染出血4例, 胰周脓肿5例, 胰腺坏死2例, 细菌合并真菌感染3例). 早期手术2例(<2 wk), 晚期手术14例(>2 wk); 术中均放置引流管(2-11根不等)且术后行冲洗引流, 放置时间均>2 wk, 术中行预防性胃空肠造瘘15例.

1.2 方法 16例患者均给予常规对症支持治疗, 早期处理急性炎症反应期保护重要脏器功能, 后期预防SAP并发症(感染、出血、消化道瘘), 尽快恢复肠内营养(术后2-3 d), 并适当减少静脉液体入量; 首选微创引流(B、CT定位下行胰腺假性囊肿及胰周脓肿坏死组织引流术)缓解症状; 严格把握适应证后开腹(胰床减压引流、经后上腰清创引流术)并置管冲洗引流; 有效利用微创+开腹综合治疗. 1例(发病5 d)因胰腺坏死组织感染合并出血紧急行开腹清创引流术, 术中发现胃后壁受损给予行修补术, 并预防性行胃空肠造瘘术、胰周及左侧结肠旁沟放置冲洗管(4根); 1例(发病23 d)因胰腺假性囊肿破裂合并感染出血紧急行开腹手术并置管引流(9根)并行预防性胃肠造瘘. 术后待腹部症状明显好转后给予行肠内营养, 早期恢复肠道功能, 重点在于局部有效置管冲洗引流.

2 结果

本组消化道瘘发生率14.8%(结肠瘘5.6%, 十二指肠瘘5.5%, 胃瘘2.8%, 合并瘘各占0.9%), 术后消化道瘘发生率26.7%(结肠瘘10%, 十二指肠瘘8.3%, 胃瘘5%, 合并瘘各占1.6%), 治愈14例, 治愈率为87.5%(14/16), 结肠瘘、十二指肠瘘治愈率分别为83.3%、80%, 3例胃瘘均治愈. 因结肠瘘合并全身感染并多发脏器功能衰竭而死亡1例. 4例十二指肠瘘均行局部冲洗并随临床症状的改善逐渐退管而治愈, 1例十二指肠瘘因合并腹腔大出血自行放弃治疗; 2例结肠瘘长期不愈(>1年). 其中1例行手术治疗术中发现胰体尾粘连严重、引流管末端位于结肠内行肠切除肠吻合, 并再次置管引流治愈, 1例因反复引流少量肠液且无明显临床症状后行瘘口补片封堵治愈.

■ 相关报道

Kriwanek等总结4篇文献发现肠瘘与积极的治疗手术时机是其重要的影响因素. Doberneck提出上消化道瘘的愈合是时间问题.

■同行评价

文献回顾性研究SAP伴发消化道瘘的病例,总结其可能的临床特征及诊治经验,以期对将来诊治带来益处。病例尚少,但仍可说明一定问题,对临床有潜在指导意义。

3 讨论

早期在原有的急性胰腺炎症状或胰周脓肿、感染的基础上,感染进一步加重,出现寒战、持续高热^[1];电解质紊乱、能量失衡;腹部出现持久不愈的脓肿,术后腹腔引流管有粪样物质或肠液、胆汁、食物等引出。本组皆术后发现10例高热、6例反复低热,3例胃瘘引流管有食物残渣,5例十二指肠瘘引流胆汁及胃液,6例结肠瘘患者引流管均见粪便。本组16例消化道瘘均是低流量瘘(<500 mL/d)引流液呈乳白色,且引流液均见造影剂,引流液细菌培养阳性。

SAP并发消化道瘘有其自身的因素、炎症发生发展的结果,手术时机、手术方式、引流管数量及位置,以及术后的非直视下的换药、冲洗,更是胃肠瘘相关因素中不可忽视的问题。Kriwanek等^[2]总结4篇文献发现肠瘘与积极的治疗有关。在不强求完全清创的原则下本组16例无术中损伤。

腹腔粘连可分为炎性粘连、膜性粘连和瘢痕性粘连。肠管呈炎性粘连时,无论是锐性分离还是钝性分离极易损伤肠管,而膜性粘连则较易分离。炎性粘连至膜性粘连的演化平均需3 mo左右的时间,所以有了确定性手术需等待3 mo的原则。目前公认早期手术(<2 wk)较之后期手术的肠瘘发生机会增加^[3]($P<0.05$)。Kriwanek等^[2]研究发现:手术时机是其重要的影响因素,认为延迟手术可减少并发症发生率,但对影响愈后生存的多因素分析结果发现其相对危险度1.01,95%CI 0.89-1.32, $P=0.89$ 。说明手术时机的选择需根据临床具体病例具体分析,本组1例因感染合并出血发病5 d即行手术,术后合并结肠瘘;1例在等待合适手术时机过程中因囊肿破裂合并感染出血(发病31 d)行紧急手术处理,后因结肠瘘并多器官功能衰竭死亡。余病例均>2 wk手术,微创1例、微创+开腹1例、余开腹,说明胰外炎症侵犯程度是消化道瘘的高危因素。

SAP的手术原则^[4]主要以清除坏死组织、胰床松动、腹腔冲洗及腹腔引流为主,引流分开放引流和闭合引流2种术式,必要时反复多次开腹清除腹腔坏死组织,并保持引流通畅,辅予胃空肠造瘘、胆囊造瘘。在损伤控制原则的理论下首选微创,本组13例行预防性胃空肠造瘘术,1例行横结肠造瘘,起到了胃肠道减压及早期恢复肠内营养的作用。早在1989年Doberneck^[5]提出多次手术可增加胰腺炎相关肠瘘的发生率,1991年Egidio^[6]研究对于结肠并发症的

高发生率提出了医源性的病因学,同样也是小肠瘘的高发因素,1995年Gregory等^[7]提出瘘或许是医源性造成的。本组胃瘘1例与胃造瘘管拔除过早有关,1例结肠瘘系引流管损伤,放置引流管2-11根不等,在保证引流充分的情况下引流管及冲洗管数量以少为优,且放置不应压迫肠管,保证低位短距离引流,以利于充分引流及术后必要时的换管,且负压吸引尽量小以免肠管及网膜系膜贴近引流管导致引流不畅。近年我科在术式的选择以微创为主可明显降低开腹机会同样为后续的开腹赢得时间。有学者^[3]分析82例胰腺炎病例中采用以下3种方式:胰床引流术8例(仅适用于网膜囊积液和脓肿);开放蝶式引流术20例;经后上腰引流术48例。发现蝶式引流术较经后上腰引流术的肠瘘发生机会增高($P<0.05$)。有学者^[4]持反对意见:开放式引流与闭合式引流肠瘘的发生率差异无显著性意义($P>0.05$),随着手术次数的增加发生肠瘘的机会也增加。正确的外科技术可降低肠瘘的发生率如避免损伤肠管、塑料薄膜纱布保护肠管、仔细的引流定位^[2]。术后换药需及时,换管尤为重要,1例胃瘘患者因引流不畅导致间断低热,常规抗生素治疗效果欠佳,给予更换冲洗管(其中1天达3次)发现反复脓栓及血凝块堵塞冲洗管侧孔导致引流不畅,并行导管尖端培养+药敏,3次均培养I-绿假单胞菌,给予敏感抗生素及有效的局部引流效果明显。降钙素原(procalcitonin PCT)测定可预测SAP合并感染和系统并发症,同样可预测其愈合情况^[8]。

胰外炎症侵犯包括:感染性液体积聚、胰腺假性囊肿、胰周脓肿及坏死组织积聚。伴有胰外炎症侵犯较无胰外侵犯的SAP发生肠瘘的机会增高($P<0.05$)^[3],本组16例均有胰外炎症侵犯,胰腺假性囊肿1例,假性囊肿合并感染出血4例,胰周脓肿5例,胰腺坏死2例,细菌合并真菌感染3例。

胰腺感染包括胰腺及胰周坏死组织感染、急性感染性液体积聚和脓肿。SAP并发感染较无感染的肠瘘发生的机会增高^[3]($P<0.05$)。严重的感染可加重肠损害,造成肠瘘^[1],本组16例消化道瘘均合并感染,2例合并胰腺坏死。Van Minna等^[9]对16例SAP合并结肠并发症的患者进行回顾性分析发现胰酶扩散和坏死是结肠病理变化的主要原因。胰腺坏死与结肠病变相关,结肠并发症在急性胰腺炎患者中约占1%^[10],而在坏死性胰腺炎中达6%-40%^[11]。

早期认识: 胰腺炎、腹部包块、直肠出血三联征应考虑结肠瘘^[11], 后来Suzuki等^[12]总结迁延过长的胰腺炎病程、腹部肿块、血便称为胰结肠瘘三联症. 直肠出血和经皮外漏是急性胰腺炎结肠并发症明显的标志, 但通常是后期临床表现, 而早期的基于胰腺炎的结肠病理诊断是很好的临床怀疑指标, 此诊断基于增强CT联合临床症状体征^[13,14]. 发现出血、肠外漏后诊断非常容易, 但往往是后期的临床表现, 早期腹部平片可发现结肠截断征和结肠梗阻或假性梗阻, 而CT的诊断价值更高, 但CT、超声对结肠并发症的诊断仍缺乏特异性^[15], Van Minnena等^[9]总结3篇文献发现侵袭性操作如结肠镜检查、腹腔动脉造影检查对诊断有价值, 但考虑到相关风险侵袭性操作就不合适了. Tüney等^[15]使用CT联合直肠水溶性造影剂对比发现胰腺相关性结肠瘘1例, 认为此种方法可增加CT对胰腺相关性结肠瘘的敏感性. Falconi等^[16]总结对肠瘘的诊断: 检测瘘出液的量、性质、水电解质平衡、生化分析、感染及营养状况, 亚甲蓝实验, 水溶性对比增强X线, 水溶性造影剂瘘管造影, CT, MRI. 本组16例(3例胃瘘引流管有食物残渣, 5例十二指肠瘘引流胆汁及胃液, 6例结肠瘘患者引流管均见粪便)均经亚甲蓝实验证实, B超、CT并为提示明显消化道瘘征象, 考虑可能与低流量瘘有关, 且16例均置管冲洗局部无明显液体滞留即影像学无明显提示. 说明经消化道及引流管亚甲蓝实验在诊断瘘方面显得尤为重要.

结肠瘘大多需手术治疗, 而小肠瘘多经保守治疗如通畅引流、营养支持治愈. 在瘘不能自愈时应考虑手术治疗^[1], 手术时机的选择决定于: 胰腺炎的病变是否已完全消退; 胰周脓肿、感染以及其他并发症是否已被控制; 患者全身情况是否已得到改善; 胃肠道功能是否已恢复. 手术多在瘘发生后3 mo或更长时间进行, 确定性肠瘘手术的方式主要包括肠瘘肠段切除吻合术、肠瘘肠段旷置术、瘘口缝合及带血管肠浆肌层覆盖修补术, 这主要由病变部位及术中情况决定. 早在1995年Tsiotos等^[7]发现胃肠道瘘和胰瘘是坏死性重症胰腺炎的常见并发症, 且可控的胃瘘、胰瘘、小肠瘘在很大程度上可自愈, 而十二指肠瘘、结肠瘘可能需要外科干预进行控制或修复. 1989年Doberneck^[5]提出上消化道瘘的愈合是时间问题. 本组胃瘘3例经鼻肠管饮食及局部有效引流自行愈合, 与文献报告一致无需手术干预.

术中如发现结肠壁损伤或血运障碍时应直接切除肠吻合, 近端造瘘, 并在吻合口旁放置引流管. 术后发现肠瘘是不需急于修补或切除吻合, 而是保持瘘口周围的引流通畅^[3]. 术后结肠瘘的再次手术中发现广泛的结肠坏死需行切除术^[11], 当术中发现失活的肠断行切除术可避免行结肠造瘘或回肠造瘘和黏膜瘘及Hartmann转流, Tsiotos等^[7]对3例没有临床症状、可控、低流量的结肠瘘采用非手术治疗, 其中1例死于败血症合并多器官功能衰竭; 另外5例采用手术处理, 2例行几乎全结肠切除+近端转流, 3例仅行近端转流, 其中2例死于多器官功能衰竭. Van Minnena等^[9]认为通过术中探查发现结肠局部缺血或是早期穿孔征象是不可靠的, 要预防结肠并发症需降低结肠切除标准的门槛. Mohamed等^[17]总结43篇文献后提出对于病情稳定的结肠瘘经保守治疗瘘仍有可能自愈, 但对于已并发严重感染、脓毒血症及胃肠道出血患者手术治疗是其主要手段. Mohamed等^[17]也认为耐心的保守治疗可促进结肠瘘的自发愈合. 本组6例结肠瘘中1例因合并MODS死亡, 1例行肠切除肠吻合并置管引流治愈, 1例行瘘口补片封堵治愈, 余在加强营养支持及局部间断冲洗引流下自行愈合.

本组4例十二指肠瘘在经非手术治愈. 在保证有效引流的情况下, 根据临床症状给予逐步退管并营养支持、控制感染, 则无需早期手术. 我们的方法是建立有效的引流, 经口禁食水并胃肠减压, 早保证有效引流的情况下控制感染, 同时积极补液并维持内环境稳定、保护重要脏器功能, 早期为保证能量供应给予全胃肠外营养(total parenteral nutrition, TPN), 并逐渐过渡到场内营养, 此间不必等待完全胃肠功能恢复, 只要无明显临床症状即可开始场内营养(enteral nutrition, EN), 可置入鼻肠管越过瘘口恢复EN^[18](24 h内), 以有效抑制胃肠液的分泌, 促进瘘口的自然愈合. 本组15例术中预防性给予行空肠造瘘, 可更早恢复肠内营养, 对于十二指肠瘘的处理显得尤为重要, 也是我们采用非手术治疗有效的关键. 而预防性使用抗生素不会降低感染率及死亡率^[19].

总之, SAP合并消化道瘘应引起临床工作者的高度重视, 从病因着手预防消化道瘘的发生, 并有效选择合适的处理措施以降低SAP合并消化道瘘的发生率及死亡率, 但Tsiotos等^[7]认为SAP合并肠瘘的死亡率24%(6/25)与非肠瘘者28%(10/36)无明显差异.

4 参考文献

- 1 赵允召, 黎介寿. 肠外瘘-重症胰腺炎的严重并发症. 普外临床 1994; 9: 289-292
- 2 Kriwanek S, Gschwantler M, Beckerhinn P, Armbruster C, Roka R. Complications after surgery for necrotising pancreatitis: risk factors and prognosis. *Eur J Surg* 1999; 165: 952-957
- 3 胡伟明, 张肇达, 田伯乐, 韩方海. 重症急性胰腺炎术后并发肠瘘的原因和治疗. 四川医学 2002; 23: 28-29
- 4 张新俊, 莫一我, 孙志为, 王彦坤, 金焰. 重症急性胰腺炎之并发症对预后的影响. 中国普外基础与临床杂志 2003; 10: 551-553
- 5 Doberneck RC. Intestinal fistula complicating necrotizing pancreatitis. *Am J Surg* 1989; 158: 581-583; discussion 581-584
- 6 D'Egidio A, Schein M. Surgical strategies in the treatment of pancreatic necrosis and infection. *Br J Surg* 1991; 78: 133-137
- 7 Tsiotos GG, Smith CD, Sarr MG. Incidence and management of pancreatic and enteric fistulas after surgical management of severe necrotizing pancreatitis. *Arch Surg* 1995; 130: 48-52
- 8 Frigerio I, Bassi C, Gumbs A, Giardino A, Muselli P, Barugola G, Kempainen E, Buchler MW, Wegscheider K, Puolakkainen P, Beger HG, Schilling MK, Rau B. The Role of Procalcitonin in Predicting Complications and Prognosis in Severe Acute Pancreatitis: A Prospective European Trial. *Journal of the Pancreas* 2004; 5(5 Suppl): 405-453
- 9 Van Minnen LP, Besselink MG, Bosscha K, Van Leeuwen MS, Schipper ME, Gooszen HG. Colonic involvement in acute pancreatitis. A retrospective study of 16 patients. *Dig Surg* 2004; 21: 33-38; discussion 39-40
- 10 Abcarian H, Eftaiha M, Kraft AR, Nyhus LM. Colonic complications of acute pancreatitis. *Arch Surg* 1979; 114: 995-1001
- 11 Russell JC, Welch JP, Clark DG. Colonic complications of acute pancreatitis and pancreatic abscess. *Am J Surg* 1983; 146: 558-564
- 12 Suzuki A, Suzuki S, Sakaguchi T, Oishi K, Fukumoto K, Ota S, Inaba K, Takehara Y, Sugimura H, Uchiyama T, Konno H. Colonic fistula associated with severe acute pancreatitis: report of two cases. *Surg Today* 2008; 38: 178-183
- 13 Puri Y, Rahman SH. Successful management of gastrointestinal haemorrhage associated with ischaemic colonic ulceration in acute pancreatitis with video assisted retroperitoneal debridement. *JOP* 2011; 12: 271-273
- 14 Balthazar EJ. Complications of acute pancreatitis: clinical and CT evaluation. *Radiol Clin North Am* 2002; 40: 1211-1227
- 15 Tüney D, Altun E, Barlas A, Yegen C. Pancreaticocolonic fistula after acute necrotizing pancreatitis. Diagnosis with spiral CT using rectal water soluble contrast media. *JOP* 2008; 9: 26-29
- 16 Falconi M, Pederzoli P. The relevance of gastrointestinal fistulae in clinical practice: a review. *Gut* 2001; 49 Suppl 4: iv2-iv10
- 17 Mohamed SR, Siriwardena AK. Understanding the colonic complications of pancreatitis. *Pancreatology* 2008; 8: 153-158
- 18 Bakker OJ, van Santvoort HC, van Brunschot S, Ahmed Ali U, Besselink MG, Boermeester MA, Bollen TL, Bosscha K, Brink MA, Dejong CH, van Geenen EJ, van Goor H, Heisterkamp J, Houdijk AP, Jansen JM, Karsten TM, Manusama ER, Nieuwenhuijs VB, van Ramshorst B, Schaapherder AF, van der Schelling GP, Spanier MB, Tan A, Vecht J, Weusten BL, Wittman BJ, Akkermans LM, Gooszen HG. Pancreatitis, very early compared with normal start of enteral feeding (PYTHON trial): design and rationale of a randomised controlled multicenter trial. *Trials* 2011; 12: 73
- 19 Wittau M, Mayer B, Scheele J, Henne-Bruns D, Dellinger EP, Isenmann R. Systematic review and meta-analysis of antibiotic prophylaxis in severe acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 261-270

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》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》

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

APPL1表达与结直肠癌发生发展的关系及意义

张嫣, 宋敏, 陈新峰, 孟宇

张嫣, 宋敏, 陈新峰, 孟宇, 郑州大学第一附属医院肿瘤科 河南省郑州市 450052
张嫣, 陈新峰, 河南省高等学校临床医学重点学科开放实验室 河南省郑州市 450052
张嫣, 硕士, 主要从事恶性肿瘤的内科治疗及应用基础的研究。
作者贡献分布: 此课题由张嫣与宋敏设计; 研究过程由张嫣、陈新峰及孟宇完成; 数据分析、论文写作由张嫣与宋敏完成。
通讯作者: 宋敏, 教授, 450052, 河南省郑州市二七区建设东路1号, 郑州大学第一附属医院肿瘤科. s.m8899@yahoo.cn
电话: 0371-66295532
收稿日期: 2011-11-18 修回日期: 2012-01-02
接受日期: 2012-01-19 在线出版日期: 2012-01-28

Expression of adaptor protein containing PH domain, PTB domain and leucine zipper motif 1 in colorectal carcinogenesis

Yan Zhang, Min Song, Xin-Feng Chen, Yu Meng

Yan Zhang, Min Song, Xin-Feng Chen, Yu Meng, Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Yan Zhang, Xin-Feng Chen, Institute of Clinical Medicine, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Correspondence to: Min Song, Professor, Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 East Jianshe Street, Erqi District, Zhengzhou, 450052, Henan Province, China. s.m8899@yahoo.cn
Received: 2011-11-18 Revised: 2012-01-02
Accepted: 2012-01-19 Published online: 2012-01-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between expression of adaptor protein containing PH domain, PTB domain and leucine zipper motif 1 (APPL1) and clinicopathological parameters of colorectal cancer.

METHODS: Expression of APPL1 protein and mRNA in 35 surgical specimens of colorectal carcinoma (CRC) and 27 normal colorectal tissue specimens was detected by immunohistochemistry and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), respectively.

RESULTS: The expression of APPL1 in CRC was significantly higher than that in normal mucosa.

APPL1 expression was correlated with histological differentiation, lymph node metastasis and TNM stage (all $P < 0.05$), but not with sex, age, or tumor size (all $P > 0.05$) in patients with CRC.

CONCLUSION: The expression of APPL1 protein is increased in CRC. APPL1 protein expression is closely related with tumor differentiation, lymph node metastasis and TNM stage in patients with colorectal cancer. APPL1 may be a novel therapeutic target for CRC.

Key Words: APPL1; Colorectal cancer; Immunohistochemistry; RT-PCR

Zhang Y, Song M, Chen XF, Meng Y. Expression of adaptor protein containing PH domain, PTB domain and leucine zipper motif 1 in colorectal carcinogenesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 253-258

摘要

目的: 研究APPL1蛋白在人结直肠癌组织中的表达情况与临床病理参数的关系。

方法: 收集35例新鲜结直肠癌及27例正常直肠黏膜组织, 采用免疫组织化学SP法和RT-PCR法检测APPL1在结直肠癌组织及正常直肠黏膜组织中的表达。采用半定量积分分级对该蛋白的表达强弱进行评分。

结果: 免疫组织化学和RT-PCR结果显示, APPL1蛋白在结直肠癌组织以及正常直肠黏膜组织中普遍表达, 但该蛋白和相应的mRNA在癌组织中的表达高于对照组($P < 0.05$)。在35例结直肠癌组织中, APPL1表达与分化程度、淋巴结转移、TNM分期相关($P < 0.05$), 与性别、年龄、肿瘤大小、组织学类型无明显相关($P > 0.05$)。

结论: APPL1蛋白在结直肠癌组织中的表达上调, 且该蛋白表达与患者肿瘤的分化程度、淋巴结转移情况以及TNM分期有关。APPL1有可能成为结直肠癌治疗的一个新靶点。

关键词: APPL1; 结直肠癌; 免疫组织化学; 逆转录

■背景资料

APPL1作为一种细胞内转接蛋白, 广泛存在于人体的各个组织, 他不仅是与糖脂代谢相关通路上的关键分子, 而且可能参与细胞增殖与凋亡相关的多个通路。已有报道其可能参与了多种肿瘤的发生, 但APPL1蛋白及其mRNA在结肠癌中的表达情况却鲜有报道。

■同行评价

高国全, 教授, 中山大学中山医学院生化系

■ 研发前沿

目前,脂联素与结直肠癌的关系已成为国内外研究的热点,和该分子相关的信号转导通路研究成为肿瘤学研究的热点。APPL1作为与脂联素受体结合的第1个信号转导蛋白,越加受到研究者关注。

聚合酶链式反应

张嫣,宋敏,陈新峰,孟宇. APPL1表达与结直肠癌发生发展的关系及意义. 世界华人消化杂志 2012; 20(3): 253-258

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/253.asp>

0 引言

结直肠癌发生发展是一个多基因改变和多阶段致癌的复杂过程,信号转导异常在此过程中占主要地位,针对胞内信号转导蛋白进行靶向治疗已经成为抗癌治疗的一个重要方法。APPL1(Adaptor protein containing PH domain, PTB domain and leucine zipper motif)又称APPL, DIP13a, 是1999年Mitsuuchi等^[1]应用酵母双杂交技术发现与AKT2相互作用的一种细胞内转接蛋白,他利用不同的结构域与其他多种蛋白分子结合,如DCC、AR、FSHR、AKT2、Rab5a、脂联素受体(AdipoR1 and AdipoR2)等,将细胞外信号转导到细胞内,具有重要的细胞内功能^[2-6]。研究发现,APPL1在结直肠癌^[2]、前列腺癌^[3]、卵巢癌^[5]等细胞株中的表达与肿瘤细胞的生长、凋亡密切相关,但在不同的细胞株中APPL1发挥的作用不十分一致,是促癌因子还是抑癌因子存在争议。目前尚无实验证实APPL1在人结直肠癌组织中的表达情况以及APPL1与结直肠癌发生发展的相关性。本研究通过分析APPL1蛋白在结直肠癌中表达情况与结直肠癌临床病理参数的关系,初步探讨其在结直肠癌发生发展中的作用以及可能作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 收集郑州大学第一附属医院2011-03/12期间手术切除、经病理证实为结直肠癌的标本35例,其中结肠癌18例,直肠癌17例;男25例,女10例,平均年龄57.8岁±11.9岁(39岁-82岁);组织学类型:管状腺癌27例、乳头状腺癌3例、黏液腺癌3例、印戒细胞癌2例;分化程度:高分化4例、中分化23例、低分化8例;TNM分期: I期8例、II期22例、III期5例、IV期0例;淋巴结转移7例,无淋巴结转移28例;术前未经过放、化疗;选取27例痔疮患者的正常大肠黏膜组织标本作为正常对照,平均年龄42.0岁±8.7岁(26-57岁)。所有标本一分为二,一组经4%甲醛液固定、石蜡包埋,5 μm连续切片用于免疫组织化学,另一组于术后30 min内取出立即投入液氮中用于RT-PCR。兔抗人APPL1多克隆抗体购自BBI公司;SP免疫组织化学试剂盒购于Invitrogen公

司;DAB显色试剂盒购自北京中衫公司;RNA柱式抽提试剂盒购自BBI公司;逆转录试剂盒来自Fermentas公司。

1.2 方法

1.2.1 引物设计及序列: APPL1(350 bp): 上游5'-CATCCAGAAAGAAACAACACCA-3'; 下游5'-CATTAAGGTATCCAGCCTTTTCG-3'; β-actin (205 bp): 上游5'-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3'; 下游5'-CTGGAAGGTGGACAGCGAGG-3'。引物由上海生工生物工程有限公司设计合成。

1.2.2 免疫组织化学染色: 常规脱蜡和水化后PBS洗片;滴加3% H₂O₂在每张切片上,室温静置10 min后PBS洗涤;抗原修复10 min; PBS洗片后滴加APPL1抗体40 μL(1:100), 4 °C过夜;第2天PBS洗片后滴加二抗(1:1500)40 μL, 37 °C 1 h, PBS洗片, DAB显色, 自来水冲洗10 min, 苏木素复染10 s; 常规洗片、脱水、透明、封片, 进行镜检。每次染色同时设置阴性对照片子(以PBS代替一抗)。

1.2.3 结果判断: APPL1阳性表达为细胞浆染色, 即胞浆内出现棕黄色颗粒。结果判读采用半定量积分分级, 积分 = 染色细胞比例 × 染色强度。染色细胞比例: <5%阴性, 0分; 6-20%弱阳性, 1分; 21-50%阳性, 2分; >50%强阳性, 3分; 染色强度: 无色, 阴性0分; 淡黄色, 弱阳性1分; 棕黄色, 阳性2分; 棕褐色, 强阳性3分; 2种计分相乘, 0分阴性, 1-3分弱阳性, 4-6阳性, 7-9强阳性。

1.2.4 总RNA提取: 采用RNA动物组织柱式一步提取法, 提取大肠癌组织及正常组织细胞内的总RNA; 取3 μL RNA在Nanovue检测仪上测量RNA样本在波长260/280处的吸光度值(以1.8-2.0之间最佳)及RNA的浓度。

1.2.5 逆转录反应: 应用Fermentas逆转录试剂盒, 20 μL体系: 总RNA 1 μg, Oligo-dT 1 μL, 5 × Reaction Buffer 4 μL, RiboLock™-RNase Inhibitor 1 μL, 10 mM dNTP Mix 2 μL, RevertAid™ M-MuLV Reverse Transcriptase 1 μL, 加Nuclease-free Water至20 μL。反应条件: 65 °C 5 min, 42 °C 60 min, 70 °C 5 min。逆转录cDNA于-20 °C保存备用。

1.2.6 聚合酶链式反应: 取逆转录产物cDNA行PCR反应, 应用Fermentas RT-PCR试剂盒, 50 μL体系: DreamTaq™ Green PCR Master Mix(2 ×) 25 μL, Forward primer 1 μL, Reverse primer 1 μL, cDNA 2 μL, 加Nuclease-free Water至50 μL。反

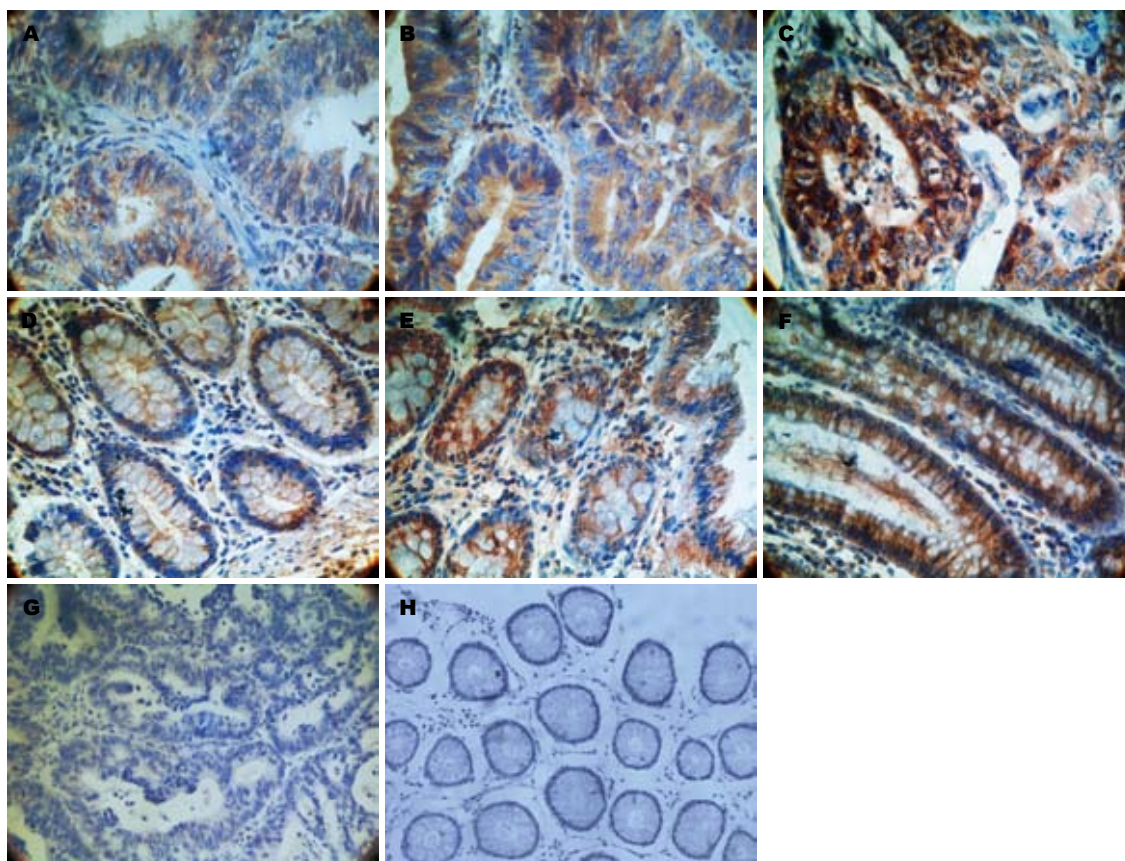


图1 免疫组织化学法检测APPL1在不同组织中的表达. A-C: 结直肠癌组织中可见棕色染色, 为阳性染色($\times 400$), A-弱阳性, B-阳性, C-强阳性; D-F: 正常组织中可见棕色染色, 为阳性染色($\times 400$), D-弱阳性, E-阳性, F-强阳性; G: 结直肠癌组织阴性对照($\times 200$); H: 正常组织阴性对照, 未见棕色染色($\times 200$).

■ 相关报道
Schenck等发现APPL1可以和Akt结合增加其对底物的敏感性, 促进细胞存活, 下调APPL1, 细胞凋亡数量增加; Lee等发现APPL1参与脂联素受体介导的通过Src/Ras激活ERK1/2促进细胞增殖的过程; 下调APPL1, 脂联素受体诱导ERK1/2活化程度降低.

表1 免疫组织化学法检测APPL1在不同组织中的表达

分组	n	阳性(%)			P
		+	++	+++	
结直肠癌组织	35	5(14.3) ^b	21(60.0) ^b	9(28.7) ^b	0.002
正常组织	27	13(48.1)	11(40.7)	3(11.1)	

^b $P < 0.01$, $Z = -3.065$ vs 正常组织.

应参数: 引物94 °C 预变性3 min, 94 °C 变性30 s; 62 °C 退火30 s, 72 °C 延伸30 s(β -actin 94 °C 30 s, 76 °C 30 s, 72 °C 30 s), 进行35个循环, 于72 °C 延伸5 min.

1.2.7 PCR产物鉴定: 取APPL1和 β -actin的PCR扩增产物各5 μ L行1.5%琼脂糖凝胶电泳, 100 V 30-40 min, 在紫外光下自显影, 用Gel Pro Analyzer软件进行密度半定量分析. 目的基因条带积分吸光度值与内参的比值即为APPL1 mRNA的相对表达量.

统计学处理 所有数据均采用SPSS17.0统计软件包完成, 2组及3组等级定性资料的分析, 用秩和检验; 计量资料的检测结果以mean \pm SD表

示, 两组间mRNA的比较采用独立样本t检验, 若不符合方差齐性或正态性, 则按照非参数检验(Kruskal-Wallis test). $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 认为有极显著性差异.

2 结果

2.1 免疫组织化学结果 APPL1蛋白在所有结直肠癌腺体细胞以及正常直肠腺体细胞中均有表达, 主要定位于细胞质, 呈淡黄色、棕黄色、棕褐色颗粒状(表1, 2, 图1). 35例结直肠癌组织中APPL1蛋白阳性表达率(包括阳性和强阳性)是88.7%(30/35), 20例正常直肠黏膜组织中APPL1蛋白阳性表达率是51.8%(14/27), 两者差异有统

■创新盘点

本实验首次证实了APPL1蛋白和mRNA在结直肠癌组织以及正常结肠黏膜组织中的表达情况,为进一步深入研究结直肠癌的发病机制提供实验依据,为结直肠癌的分子靶向治疗提高可能的作用靶点。

表 2 RT-PCR法检测结直肠癌组织及正常组织中APPL1 mRNA的表达

分组	平均T/P	n	值	P值
结直肠癌组织	0.928 ± 0.252 ^a	35		
正常组织	0.795 ± 0.227	27	-2.157	0.035

T/P(灰度值): 目的条带/ β -actin; 结直肠癌组织灰度值/正常组织灰度值, ^a $P = 0.035 < 0.05$ vs 正常组。

计学意义($P < 0.01$)。

2.2 APPL1表达与结直肠癌临床病理参数的关系 APPL1蛋白与结直肠癌的分化程度($Z = 12.991$, $P = 0.002$)、淋巴结转移情况($Z = -2.264$, $P = 0.024$)及临床TNM分期($Z = -2.264$, $P = 0.024$)相关,与性别、年龄、肿瘤大小、组织学类型无关($P > 0.05$, 表3)。

2.3 RT-PCR结果 APPL1 mRNA在35例结直肠癌组织以及27例正常结肠黏膜组织中阳性表达率均为100%,且在癌组织中的表达水平高于正常结肠黏膜组织,差异具有统计学意义($t = -2.157$, $P = 0.035$, 表2, 图2)。

3 讨论

在结直肠癌治疗中针对细胞信号的靶向治疗是一个重要方面。胞内信号蛋白将信号传递到细胞核内的级联通讯网络蛋白产生生物效应,包括细胞增殖、凋亡以及血管生成,当这些蛋白发生突变时信号通路失调,导致细胞发生变化。因此,抑制胞内信号蛋白的靶向治疗可以作用于多重靶点,提高结直肠癌的疗效。2006年Mao等^[6]发现APPL1是脂联素通路上与脂联素受体特异性结合的第1个信号转导分子,他不仅是与糖脂代谢相关通路上的关键分子,包括胰岛素通路、脂联素通路、胰岛素与脂联素交互通路,而且可能参与细胞增殖与凋亡相关的多个通路,包括AMPK、PI3K-AKT以及EGFR通路等。因此本实验通过对结直肠癌组织中APPL1蛋白及mRNA的表达进行检测,初步探讨其与临床病理参数的关系,为进一步深入研究结直肠癌的发病机制提供实验依据,为结直肠癌的诊断、治疗以及分子靶向药物的应用提供新的思路。

RT-PCR结果显示,在结直肠癌组织和正常结肠黏膜组织中APPL1 mRNA表达水平差异具有统计学意义,这表明APPL1在结直肠癌中的表达差异在转录水平上。免疫组织化学结果显示,在人所有结直肠癌细胞以及正常黏膜细胞中APPL1

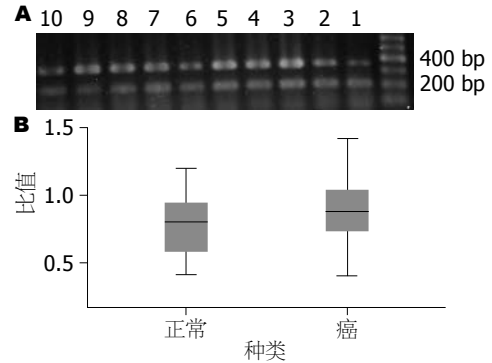


图 2 RT-PCR及灰度值分析结直肠癌组织及正常组织中APPL1 mRNA的表达。A: RT-PCR检测。1, 3, 5, 7, 9: 癌组织; 2, 4, 6, 8, 10: 正常组织; B: 灰度值分析。

蛋白均有表达,并且在癌组织中表达高于正常结肠黏膜组织。进一步比较APPL1蛋白表达水平与结直肠癌临床病理参数的关系发现,APPL1表达高低与肿瘤分化程度、淋巴结转移、TNM分期相关。上述结果提示APPL1可能与结直肠癌恶性程度、转移以及预后密切相关。

目前关于APPL1基因的研究还相对较少,而与其与结直肠癌的相关研究尚无报道。既往研究发现,磷脂酰肌醇激酶3-激酶(PI3K)激活蛋白激酶B(Akt)(PI3K/Akt)途径信号传导通路在结直肠癌发生发展中发挥重要作用,他可以诱导肿瘤细胞增殖^[7]、调节细胞生长周期^[8]、促进血管形成^[9]以及促进结直肠癌的侵袭和转移^[10]。徐怡顺等^[11]证实,在结直肠癌组织中,PI3K、Akt表达阳性率明显高于癌旁组织; Schenck等^[12]证实: APPL1可以和Akt结合增加其对底物的敏感性,促进细胞存活,下调APPL1,细胞凋亡数量增加;因此,结合本实验结果我们推测结直肠癌中过表达的APPL1可能与过表达的Akt蛋白相互作用,通过PI3K/Akt途径促进肿瘤细胞增殖。近年来脂联素(Adiponectin, 脂肪细胞分泌的一种生物活性因子)与结直肠癌的关系已成为国内外研究的热点。研究发现,脂联素在结直肠癌患者循环血液中表达明显低于正常人^[13],并且与结直肠癌的发生发展密切相关,因此可能成为治疗结直肠癌新的靶点^[14]。脂联素通过调控脂联素受体表达抑制细胞增殖^[15]或者通过某些信号分子抑制肿瘤血管生成^[16]。APPL1是与脂联素受体结合的信号转导蛋白,他参与脂联素对腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路的调节^[6,17]。MAPK/ERK信号转导通路是细胞内重要的促增殖和抗凋亡通路,在细胞的增殖、分化和凋亡中起着重要

表 3 APPL1表达与结直肠癌临床病理参数的关系

临床病理因素	n	APPL1蛋白的表达情况			Z值	P值
		+	++	+++		
		5	21	9		
年龄(岁)	35				-0.566	0.571
<60	18	3	9	6		
≥60	17	2	12	3		
性别						
男	25	4	15	6	-0.064	0.949
女	10	1	7	2		
组织学分型						
管状、乳头状癌	30	3	19	8	-1.132	0.258
黏液癌、印戒细胞癌	5	2	2	1		
分化程度						
高分化	4	2	2	0	12.991	0.002
中分化	23	3	17	3		
低分化	8	0	2	6		
有无淋巴结转移						
有	7	1	1	5	-2.264	0.024
无	28	4	20	4		
肿瘤大小						
<5 cm	26	3	16	7	-0.604	0.546
≥5 cm	9	2	5	2		
TNM分期						
I期+II期	28	4	20	4	-2.264	0.024
III期+IV期	7	1	1	5		

作用^[18]。Lee等^[19]发现APPL1参与脂联素受体通过Src/Ras激活ERK1/2促进细胞增殖过程;下调APPL1,脂联素受体诱导ERK1/2活化程度降低;Williams等^[20]证实脂联素受体在结直肠癌组织中表达明显高于正常直肠黏膜组织,脂联素可能通过调节脂联素受体数量发挥抑癌作用;徐怡顺等^[11]证实:ERK1/2在结直肠癌组织中表达明显高于癌旁组织;Baba等^[21]证实:ERK1/2在激活状态下AMPK抑制肿瘤生成作用消失;因此,结合以上研究提示,在结直肠癌组织中过表达APPL1可能通过与过表达的脂联素受体通过某种机制相互作用,激活ERK1/2抑制AMPK磷酸化从而促进肿瘤细胞增殖。最近,Guo等^[22]发现表皮生长因子受体(EGFR)在结直肠癌中表达水平高于正常肠黏膜组织, Lee等^[23]发现,过表达的APPL1蛋白可以增强EGFR在细胞内的稳定性,延缓EGFR蛋白在胞内降解,从而促进细胞增殖。因此,结合本实验结果推测结直肠癌中EGF激活EGFR信号通路后,过表达的APPL1蛋白可能通过提高EGFR胞内的蛋白表达水平,刺激结直肠癌细胞的生长与增殖。

总之,本实验首次证实了APPL1 mRNA以及蛋白水平在人结直肠癌组织及正常直肠黏膜组织中的表达情况,研究结果初步证实APPL1蛋白与结直肠癌的发生发展相关,他可能通过PI3K/Akt、AMPK-ERK、Ras-ERK、EGFR等通路在结直肠癌的发生发展中发挥潜在的致癌作用,可能成为治疗结直肠癌的新靶点,具体机制有待进一步研究。

4 参考文献

- Mitsuuchi Y, Johnson SW, Sonoda G, Tanno S, Golemis EA, Testa JR. Identification of a chromosome 3p14.3-21.1 gene, APPL, encoding an adaptor molecule that interacts with the oncoprotein-serine/threonine kinase AKT2. *Oncogene* 1999; 18: 4891-4898
- Liu J, Yao F, Wu R, Morgan M, Thorburn A, Finley RL, Chen YQ. Mediation of the DCC apoptotic signal by DIP13 alpha. *J Biol Chem* 2002; 277: 26281-26285
- Yang L, Lin HK, Altuwajiri S, Xie S, Wang L, Chang C. APPL suppresses androgen receptor transactivation via potentiating Akt activity. *J Biol Chem* 2003; 278: 16820-16827
- Nechamen CA, Thomas RM, Cohen BD, Acevedo G, Poulidakos PI, Testa JR, Dias JA. Human follicle-

■应用要点

本文检测了APPL1在结直肠癌组织及正常肠黏膜组织中的表达情况,分析其与结直肠癌临床病理特征的关系,为信号转导蛋白在结直肠癌发生发展中的作用提供理论依据,并为结直肠癌的诊断及治疗提供了新的思路。

■名词解释

脂联素:是近年来发现一种脂肪细胞分泌的生物活性因子,具有降糖、增加胰岛素敏感性、抗炎、抗动脉粥样硬化以及抗血管生成等作用。他可能通过抑制巨噬细胞分泌TNF- α 或者调节癌基因和抑癌基因的表达抑制肿瘤生长,也可能通过重要信号分子抑制肿瘤细胞的增殖以及肿瘤血管的生成。

■同行评价

本研究设计较为合理并得出较为可靠的结论,具有一定的临床研究意义。

- stimulating hormone (FSH) receptor interacts with the adaptor protein APPL1 in HEK 293 cells: potential involvement of the PI3K pathway in FSH signaling. *Biol Reprod* 2004; 71: 629-636
- 5 Zhao Z, Liu XF, Wu HC, Zou SB, Wang JY, Ni PH, Chen XH, Fan QS. Rab5a overexpression promoting ovarian cancer cell proliferation may be associated with APPL1-related epidermal growth factor signaling pathway. *Cancer Sci* 2010; 101: 1454-1462
 - 6 Mao X, Kikani CK, Riojas RA, Langlais P, Wang L, Ramos FJ, Fang Q, Christ-Roberts CY, Hong JY, Kim RY, Liu F, Dong LQ. APPL1 binds to adiponectin receptors and mediates adiponectin signalling and function. *Nat Cell Biol* 2006; 8: 516-523
 - 7 Johnson SM, Gulhati P, Arrieta I, Wang X, Uchida T, Gao T, Evers BM. Curcumin inhibits proliferation of colorectal carcinoma by modulating Akt/mTOR signaling. *Anticancer Res* 2009; 29: 3185-3190
 - 8 Wang L, Cao XX, Chen Q, Zhu TF, Zhu HG, Zheng L. DIXDC1 targets p21 and cyclin D1 via PI3K pathway activation to promote colon cancer cell proliferation. *Cancer Sci* 2009; 100: 1801-1808
 - 9 Greijer AE, Delis-van Diemen PM, Fijneman RJ, Giles RH, Voest EE, van Hinsbergh VW, Meijer GA. Presence of HIF-1 and related genes in normal mucosa, adenomas and carcinomas of the colorectum. *Virchows Arch* 2008; 452: 535-544
 - 10 Liao CH, Sang S, Ho CT, Lin JK. Garcinol modulates tyrosine phosphorylation of FAK and subsequently induces apoptosis through down-regulation of Src, ERK, and Akt survival signaling in human colon cancer cells. *J Cell Biochem* 2005; 96: 155-169
 - 11 徐怡顺, 周建平, 袁联文. PI3K、Akt、ERK1/2在结肠癌中的表达及其临床意义. *湖南师范大学学报(医学版)* 2009; 6: 27-32
 - 12 Schenck A, Goto-Silva L, Collinet C, Rhinn M, Giner A, Habermann B, Brand M, Zerial M. The endosomal protein Appl1 mediates Akt substrate specificity and cell survival in vertebrate development. *Cell* 2008; 133: 486-497
 - 13 Wei EK, Giovannucci E, Fuchs CS, Willett WC, Mantzoros CS. Low plasma adiponectin levels and risk of colorectal cancer in men: a prospective study. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1688-1694
 - 14 Gialamas SP, Petridou ET, Tseleni-Balafouta S, Spyridopoulos TN, Matsoukis IL, Kondi-Pafiti A, Zografos G, Mantzoros CS. Serum adiponectin levels and tissue expression of adiponectin receptors are associated with risk, stage, and grade of colorectal cancer. *Metabolism* 2011; 60: 1530-1538
 - 15 Kim AY, Lee YS, Kim KH, Lee JH, Lee HK, Jang SH, Kim SE, Lee GY, Lee JW, Jung SA, Chung HY, Jeong S, Kim JB. Adiponectin represses colon cancer cell proliferation via AdipoR1- and -R2-mediated AMPK activation. *Mol Endocrinol* 2010; 24: 1441-1452
 - 16 Man K, Ng KT, Xu A, Cheng Q, Lo CM, Xiao JW, Sun BS, Lim ZX, Cheung JS, Wu EX, Sun CK, Poon RT, Fan ST. Suppression of liver tumor growth and metastasis by adiponectin in nude mice through inhibition of tumor angiogenesis and downregulation of Rho kinase/IFN-inducible protein 10/matrix metalloproteinase 9 signaling. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 967-977
 - 17 Sugiyama M, Takahashi H, Hosono K, Endo H, Kato S, Yoneda K, Nozaki Y, Fujita K, Yoneda M, Wada K, Nakagama H, Nakajima A. Adiponectin inhibits colorectal cancer cell growth through the AMPK/mTOR pathway. *Int J Oncol* 2009; 34: 339-344
 - 18 Maemura K, Shiraishi N, Sakagami K, Kawakami K, Inoue T, Murano M, Watanabe M, Otsuki Y. Proliferative effects of gamma-aminobutyric acid on the gastric cancer cell line are associated with extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 688-696
 - 19 Lee MH, Klein RL, El-Shewy HM, Luttrell DK, Luttrell LM. The adiponectin receptors AdipoR1 and AdipoR2 activate ERK1/2 through a Src/Ras-dependent pathway and stimulate cell growth. *Biochemistry* 2008; 47: 11682-11692
 - 20 Williams CJ, Mitsiades N, Sozopoulos E, Hsi A, Wolk A, Nifli AP, Tseleni-Balafouta S, Mantzoros CS. Adiponectin receptor expression is elevated in colorectal carcinomas but not in gastrointestinal stromal tumors. *Endocr Relat Cancer* 2008; 15: 289-299
 - 21 Baba Y, Noshio K, Shima K, Meyerhardt JA, Chan AT, Engelman JA, Cantley LC, Loda M, Giovannucci E, Fuchs CS, Ogino S. Prognostic significance of AMP-activated protein kinase expression and modifying effect of MAPK3/1 in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2010; 103: 1025-1033
 - 22 Guo GF, Cai YC, Zhang B, Xu RH, Qiu HJ, Xia LP, Jiang WQ, Hu PL, Chen XX, Zhou FF, Wang F. Overexpression of SGLT1 and EGFR in colorectal cancer showing a correlation with the prognosis. *Med Oncol* 2011; 28 Suppl 1: S197-S203
 - 23 Lee JR, Hahn HS, Kim YH, Nguyen HH, Yang JM, Kang JS, Hahn MJ. Adaptor protein containing PH domain, PTB domain and leucine zipper (APPL1) regulates the protein level of EGFR by modulating its trafficking. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 415: 206-211

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

UQCRC1在结直肠癌及转移淋巴结中的表达

王宁, 陈洋, 姜奕

王宁, 中国医科大学附属第一医院普通外科 辽宁省沈阳市 110001

陈洋, 姜奕, 中国医科大学附属第一医院中心实验室 辽宁省沈阳市 110001

辽宁省教育厅一般基金资助项目, No. L2010600

作者贡献分布: 本研究由王宁与姜奕设计; 陈洋完成实验操作; 王宁、陈洋及姜奕收集、分析数据; 王宁与陈洋共同完成论文撰写。

通讯作者: 王宁, 副教授, 110001, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属第一医院普通外科. wn232@hotmail.com

收稿日期: 2011-11-01 修回日期: 2011-11-20

接受日期: 2012-01-19 在线出版日期: 2012-01-28

Expression of UQCRC1 in primary colorectal cancer and lymph node metastases

Ning Wang, Yang Chen, Yi Jiang

Ning Wang, Department of General Surgery, the First Hospital of China Medical University. Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Yang Chen, Yi Jiang, Central Laboratory, the First Hospital of China Medical University. Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: the Foundation of the Department of Education of Liaoning Province, No. L2010600

Correspondence to: Ning Wang, Associate Professor, Department of General Surgery, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. wn232@hotmail.com

Received: 2011-11-01 Revised: 2011-11-20

Accepted: 2012-01-19 Published online: 2012-01-28

Abstract

AIM: To screen new biomarkers for colorectal cancer (CRC) by identifying differentially expressed proteins between CRC and matched normal mucosa using proteomic technology and to analyze the association of identified biomarkers with colorectal carcinogenesis, development and lymph node metastasis.

METHODS: Six pairs of fresh samples of CRC and matched normal mucosa were analyzed by two-dimensional differential gel electrophoresis (2D-DIGE) followed by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS). The expression of the identified differential protein ubiquinol-cytochrome c reductase core protein 1 (UQCRC1) was validated in 78 cases of CRC, matched

normal mucosa and lymph node metastases. The immunostaining intensity of UQCRC1 was scored. Wilcoxon signed rank test and Kruskal-Wallis test were used for statistical analysis.

RESULTS: 2D-DIGE analysis showed that the intensity of a protein spot was significantly increased by 2.14 folds ($P < 0.001$) in CRC. This spot was confirmed to be UQCRC1 by MALDI-TOF-MS. Immunohistochemistry analysis revealed that the immunostaining intensity of UQCRC1 was significantly higher in CRC than in matched normal mucosa (2.28 ± 0.95 vs 1.81 ± 0.88 , $P < 0.001$). However, the expression of UQCRC1 had no correlation with differentiation, TNM stage or tumor location (all $P > 0.05$). The intensity of UQCRC1 was significantly lower in primary CRC than in lymph node metastases ($P < 0.05$).

CONCLUSION: UQCRC1 may play an important role in colorectal carcinogenesis and lymph node metastases.

Key Words: Colorectal cancer; UQCRC1; Lymph node metastasis; Proteomics; Immunohistochemistry

Wang N, Chen Y, Jiang Y. Expression of UQCRC1 in primary colorectal cancer and lymph node metastases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(3): 259-263

摘要

目的: 分析结直肠癌(colorectal cancer, CRC)与正常黏膜间的蛋白质表达差异, 筛选新的肿瘤标志物; 并对兴趣蛋白进行验证, 分析其与CRC的发生、发展及淋巴结转移的关系。

方法: 对6对新鲜的CRC与正常黏膜组织进行以二维差异凝胶电泳(2D differential gel electrophoresis, 2D DIGE)及基质辅助激光解吸飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)分析。以免疫组织化学法验证兴趣蛋白泛醌细胞色素c还原酶核心蛋白1(ubiquinol cytochrome-c reductase core protein 1, UQCRC1)在78例CRC与正常黏

■背景资料

UQCRC1是一种核编码的线粒体蛋白。Kulawiec等首先报道了其在乳腺和卵巢癌中高表达, 之后Liu等又报道了其在骨肉瘤中高表达。但关于UQCRC1在结直肠癌(CRC)中的表达情况国内外未见报道。

■同行评议者

郝立强, 副教授, 上海长海医院普外二科

■ 研究前沿

UQCRC1表达是否
与CRC有关,与CRC的分化、分期、转移及预后的关系都有待于进一步研究。

膜组织,和24个转移淋巴结中的表达。对染色
的强弱评分为阴性:0,弱阳性:1,中阳性:2,
强阳性:3。

结果: 2D DIGE分析显示在CRC中一个蛋白点
丰度平均显著增高2.14倍($P<0.001$)。MALDI-
TOF-MS分析证实该蛋白为UQCRC1。免疫
组织化学法分析显示UQCRC1在CRC与正
常黏膜组织中表达分别为 2.28 ± 0.95 和 1.81 ± 0.88 ,
有显著差异($P<0.001$)。UQCRC1表达的
强弱与分化、分期及部位均无关($P>0.05$)。
UQCRC1在转移淋巴结与配对的原发灶中表
达分别为 2.79 ± 0.51 和 2.33 ± 0.96 ,有显著差
异($P<0.05$)。

结论: UQCRC1在结直肠癌变和淋巴结转移过
程中发挥一定的作用。

关键词: 结直肠癌; 泛醌细胞色素c还原酶核心蛋白
1; 淋巴结转移; 蛋白质组学; 免疫组织化学

王宁, 陈洋, 姜奕. UQCRC1在结直肠癌及转移淋巴结中的表
达. 世界华人消化杂志 2012; 20(3): 259-263
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/259.asp>

0 引言

为筛选新的CRC肿瘤标志物,我们对6对新鲜的
结直肠癌(colorectal cancer, CRC)组织与正常黏
膜组织进行以二维差异凝胶电泳(2D differential
gel electrophoresis, 2D DIGE)及基质辅助激光
解吸飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorp-
tion/ionization-time of flight mass spectrometry,
MALDI-TOF-MS)质谱分析。分析结果显示
UQCRC1在CRC中显著增高,这一现象引起了
我们极大的兴趣。UQCRC1是一种核编码的线粒体
蛋白,是线粒体呼吸链内复合体III的亚基。有报
道UQCRC1在乳腺癌和卵巢癌中表达增高^[1]。为
进一步验证和研究其在结直肠癌中的表达情况,
我们进行如下研究。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院普通外科2008-03/2011-05
术前未经放疗化疗的CRC患者组织标本78例。患
者平均年龄(61.2 ± 12.6)岁,其中男40例、女38
例,术后病理证实均为腺癌。高分化18例,中分
化40例,低分化20例; TNM分期 I 期4例, II 期39
例, III 期31例, IV 期4例。配对的正常黏膜70个取
自距肿瘤10 cm以上肉眼观察正常的组织。以上
组织行甲醛溶液固定,石蜡包埋,连续切片。其

中1张切片行苏木精-伊红染色供病理诊断,其
余切片供免疫组化研究。6对新鲜标本从上述病
例中随机抽取,手术切除后立即-80℃保存备
用。2D DIGE用蛋白提纯、定量试剂盒, Cy2、
Cy3、Cy5荧光染料, IPG胶条(pH3-10 NL 24 cm)
及电泳仪(Ettan IPGphor III apparatus), 荧光扫描
仪(Typhoon TRIO), 分析软件(DeCyder 6.5), 自
动挖点机器人(Ettan-Picker robot)等均购自GE
Healthcare公司。MALDI-TOF质谱仪(Autoflex)
及分析软件(MS BioTools program)均购自Bruker
Daltonics公司。质谱结果搜索用Matrix Science
的Mascot 软件搜索Swiss-Prot数据库。UQCRC1
鼠抗人多克隆抗体购自Abcam公司。三步法免疫
组化试剂盒购自福州迈新公司。

1.2 方法

1.2.1 2D DIGE: 取约50 mg新鲜组织超声破碎、
裂解后进行蛋白提纯、定量。取50 μg CRC、正
常黏膜组织蛋白,分别以Cy3、Cy5避光,冰上标
记30 min。全部6对CRC、正常黏膜组织蛋白,每
个样品取25 μg,以Cy2标记做内标。配对的50 μg
CRC、正常黏膜组织蛋白和内标于一个胶条内
电泳。6个胶条之一做Master胶,另加入600 μg不
标记的内标蛋白以备后染色和挖点。Ettan IPG-
phor III apparatus电泳仪等电聚焦电泳,再进行
SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳。最后Typhoon™多功
能扫描仪进行图像扫描, DeCyder 6.5软件分析
蛋白点丰度差异^[2,3]。

1.2.2 MALDI-TOF质谱分析: 比对2D DIGE结果,
有显著差异的蛋白点以机器人从Master胶挖出,
胰蛋白酶消化、还原,再烷基化,最后置于基质
上,以阳离子反射模式进行MALDI-TOF质谱分
析。Matrix Science的Mascot软件搜索Swiss-Prot
数据库鉴定蛋白^[2,3]。

1.2.3 免疫组织化学: 石蜡切片以二甲苯脱蜡、
梯度乙醇水化。3% H_2O_2 溶液去除内源性过氧化
酶,高温高压修复。羊非免疫血清室温封闭1 h,
滴加一抗1:100, 4℃孵育过夜。滴加生物素标
记的羊抗鼠IgG,室温20 min。滴加链霉菌抗生
物素蛋白-过氧化物酶,室温20 min。对氨基联苯
胺(DAB)显色,苏木素复染。光学显微镜下观察,
依信号的强弱分为无着色-, +<10%细胞着色,
++10-50%, +++>50%, 分别评分为0-3分^[1]。

统计学处理 均数以mean±SD表示。2D
DIGE分析软件以t检验和ANOVA进行统计学分
析。免疫组化结果以秩和检验进行统计学分析,
对有配对标本者一律进行配对检验。以 $P<0.05$ 为

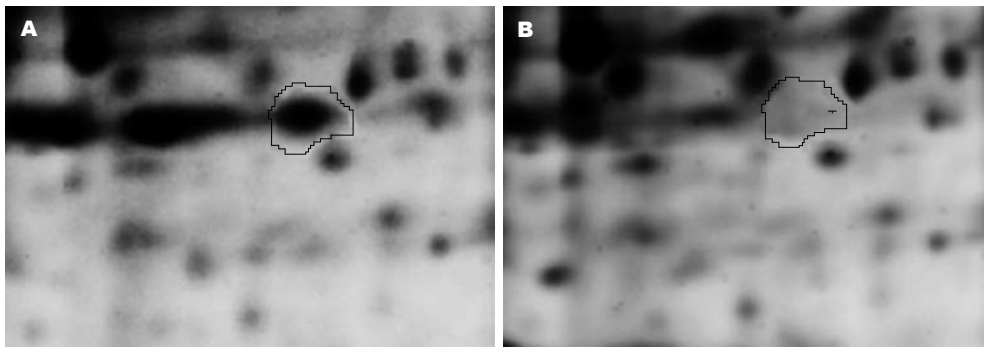


图 1 2D DIGE分析显示1例患者结直肠黏膜组织的蛋白质电泳图中有一蛋白点丰度在癌中明显上调. A: 癌组织; B: 正常黏膜.

■ 相关报道
Kulawiec等首先报道了UQCRC1在74%的乳腺和34%的卵巢癌中高表达并与COX II呈正相关. Liu等报道了其在骨肉瘤中高表达, 并认为其参与恶性肿瘤的发生.

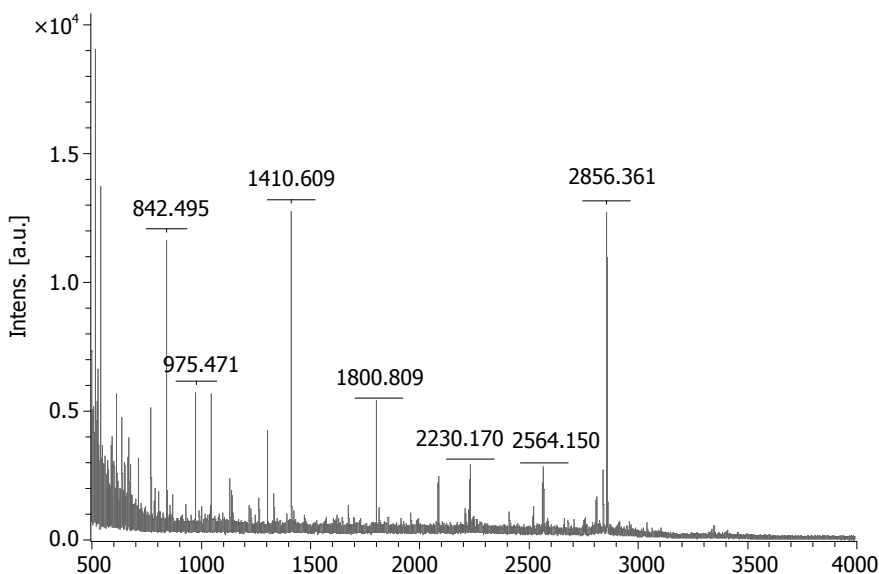


图 2 MALDI-TOF质谱分析Swiss-Prot 数据库搜索后鉴定该蛋白为UQCRC1.

有统计学差异.

2 结果

2.1 蛋白质组学分析 2D DIGE分析显示, CRC组织中有30多个蛋白点平均丰度大于正常黏膜1.5倍以上($P < 0.05$), 且经MALDI-TOF质谱分析Swiss-Prot数据库搜索后, 评分在64分以上. 2D DIGE分析显示在CRC中有一个蛋白点(图1)丰度平均显著增高2.14倍($P < 0.001$), 后经MALDI-TOF-MS分析证实该蛋白为UQCRC1, 搜索评分102(图2). 显著增高的蛋白还有14-3-3 Zeta, 丙酮酸激酶同工酶(Pyruvate kinase isozymes M1/M2), 锰过氧化物歧化酶(Manganese superoxidase dismutase), 结合蛋白(Desmin), 膜联蛋白(Annexin)A1、A3, 热休克蛋白27(HSP27), 角蛋白1、10(Cytokeratin), 血清淀粉酶样P成分(serum amyloid p component)等. 因UQCRC1引起了我们的极大兴趣, 所以我们以免疫组化法, 对其在CRC中的表达进行了进一步的验证和分析.

2.2 免疫组织化学 免疫组织化学信号着色主要位于胞浆, 大多数癌细胞及正常腺细胞均有着色. UQCRC1在CRC与正常黏膜组织中表达评分分别为 2.28 ± 0.95 和 1.81 ± 0.88 , 有显著差异($P < 0.001$, 图3). 70例配对的CRC与正常黏膜组织中癌细胞着色强度高于正常腺细胞者占51.43%(36/70), 相近者占37.14%(26/70). UQCRC1在高、中、低分化的CRC中表达分别为 2.17 ± 0.99 , 2.40 ± 0.87 , 2.15 ± 1.09 , 无显著差异($P > 0.05$). I/II期和III/IV期CRC中表达分别为 2.42 ± 0.82 和 2.11 ± 1.08 , 无显著差异($P > 0.05$). 结肠癌和直肠癌中表达分别为 2.24 ± 0.98 和 2.33 ± 0.92 , 无显著差异($P > 0.05$). 腺癌、黏液腺癌中表达分别为 2.40 ± 0.89 和 1.80 ± 1.08 , 有显著差异($P < 0.05$). UQCRC1在配对的转移淋巴结中表达(2.79 ± 0.51)显著高于原发癌(2.33 ± 0.96), $P < 0.05$ (图3). 其中37.5%(9/24)的转移淋巴结中表达评分高于原发癌, 58.33%(14/24)表达评分相同.

■ 创新盘点

本研究不仅证实了UQCRC1在CRC中表达显著高于正常黏膜,还详细分析了UQCRC1的表达与结肠癌变,分化、分期及淋巴结转移间的关系。

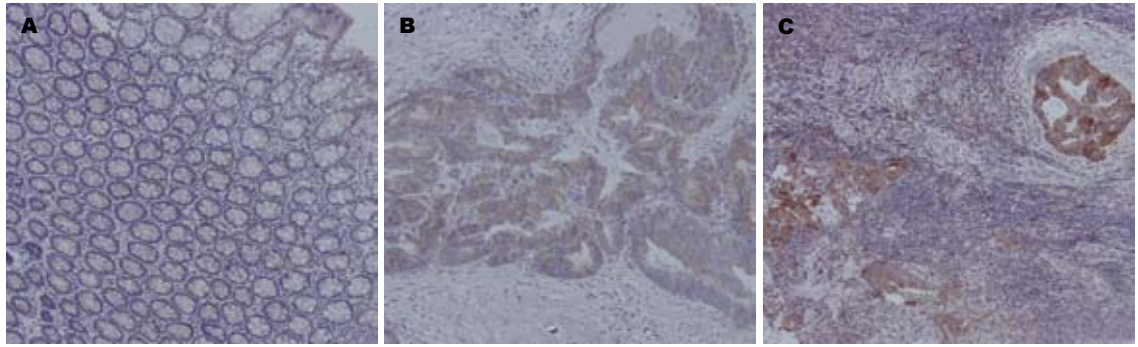


图3 IHC分析UQCRC1在同1例患者不同组织中的表达(DAB染色, 苏木素复染, $\times 100$)。A: 正常黏膜; B: 癌组织; C: 转移淋巴结。

3 讨论

CRC在全球范围内的发病率在恶性肿瘤中排第4位, 每年约有100万以上新发病例, 50万以上死于CRC。医学工作者们尽管在早期诊断, 早期治疗方面取得了很大进步, 但仍有许多患者死于CRC的发展与转移。究其原因主要在于对其分子生物学机制不甚清楚。开发新的肿瘤标志物对将有利于开展对CRC的个体化诊断, 和开发个体化治疗的新靶点^[4]。

蛋白质组学研究以二维电泳、质谱分析加数据库搜索为手段, 近年来已被广泛用于新肿瘤标志物的筛选^[5-11]。尤其是荧光标记的2D DIGE, 由于引入了内标显著减少了胶间差异和工作量, 明显提高了检测差异蛋白的灵敏度、准确率和可重复性^[2,3,7-9]。

UQCRC1是一种核编码的线粒体蛋白, 他位于线粒体内膜, 是线粒体呼吸链内复合体III的亚基。关于UQCRC1在恶性肿瘤中的表达, Kulawiec等^[1]首先报道了其在乳腺和卵巢癌中高表达, 之后Liu等^[5]又报道了其在骨肉瘤中高表达, 并认为其参与恶性肿瘤的发生。Feng等^[11]在肝癌细胞株SMMC-7721也检测到UQCRC1的高表达。但据我们所知, 关于UQCRC1在CRC中的表达情况国内外尚未见报道。

本研究中2D DIGE分析显示, 6对组织标本中5对癌组织中UQCRC1的含量明显高于正常黏膜, 蛋白丰度平均增加了2.14倍。我们的免疫组织化学研究显示UQCRC1在癌细胞及正常黏膜上皮细胞均有表达, 但在癌细胞中显著增高, 这也进一步证实了蛋白质组学的结果。众所周知, 癌细胞代谢增高, 线粒体通过氧化磷酸化等而发挥细胞动力工厂的作用, UQCRC1是线粒体呼吸链内重要组成部分, 故在癌细胞中呈高表达。Kulawiec等^[1]认为几乎所有肿瘤均存在线粒体基因突变^[1,12-15], 而线粒体与细胞核间存在

信息交流(cross talking), UQCRC1即是信息交流中重要蛋白之一。UQCRC1是一种核编码, 胞浆内合成, 在分子伴侣的协助下转运进入线粒体的蛋白^[1], 所以免疫组化呈胞浆着色。

Kulawiec等^[1]免疫组织化学结果显示UQCRC1表达与乳腺癌分级呈正相关($r = 0.18, P = 0.26$), 而与卵巢癌分级呈负相关($r = -0.22, P = 0.24$)。然而, 本研究未发现UQCRC1在CRC中表达与分化程度有关, 而且与病程早晚、癌所在部位均无关。有限的15例黏液腺癌UQCRC1表达显著低于腺癌, 对此现象的机制我们尚未找出合理的解释, 也需要扩大样本量来进一步证实。在转移淋巴结中UQCRC1表达显著高于配对的原发癌, 分析原因, 可能是转移的癌细胞需要维持更高的代谢所致。

虽然UQCRC1在CRC中表达显著高于正常黏膜, 在转移淋巴结中表达显著高于原发灶, 但显著增高的比例仅占51.43%和37.5%。因此我们推测, UQCRC1参与结肠上皮癌变及淋巴结转移, 但并不发挥主要作用。

4 参考文献

- 1 Kulawiec M, Arnouk H, Desouki MM, Kazim L, Still I, Singh KK. Proteomic analysis of mitochondria-to-nucleus retrograde response in human cancer. *Cancer Biol Ther* 2006; 5: 967-975
- 2 Alfonso P, Núñez A, Madoz-Gurpide J, Lombardia L, Sánchez L, Casal JI. Proteomic expression analysis of colorectal cancer by two-dimensional differential gel electrophoresis. *Proteomics* 2005; 5: 2602-2611
- 3 Friedman DB, Hill S, Keller JW, Merchant NB, Levy SE, Coffey RJ, Caprioli RM. Proteome analysis of human colon cancer by two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics* 2004; 4: 793-811
- 4 Li T, Yang W, Li M, Byun DS, Tong C, Nasser S, Zhuang M, Arango D, Mariadason JM, Augenlicht LH. Expression of selenium-binding protein 1 characterizes intestinal cell maturation and predicts survival for patients with colorectal cancer. *Mol Nutr*

- Food Res* 2008; 52: 1289-1299
- 5 Liu X, Zeng B, Ma J, Wan C. Comparative proteomic analysis of osteosarcoma cell and human primary cultured osteoblastic cell. *Cancer Invest* 2009; 27: 345-352
 - 6 Foster CR, Robson JL, Simon WJ, Twigg J, Cruikshank D, Wilson RG, Hutchison CJ. The role of Lamin A in cytoskeleton organization in colorectal cancer cells: a proteomic investigation. *Nucleus* 2011; 2: 434-443
 - 7 Meleady P. 2D gel electrophoresis and mass spectrometry identification and analysis of proteins. *Methods Mol Biol* 2011; 784: 123-137
 - 8 王宁, 陈洋, 乔莹, 李莉, 王若梅, 于爽, 董明, 姜奕. 结直肠癌组织的二维荧光差异凝胶电泳分析. *中国医科大学学报* 2009; 38: 913-915
 - 9 沙慧芳, 孙强玲, 杨晓华, 储天晴, 谢银银, 鲁静, 包国良, 冯久贤, 龚乐罗. 应用差异凝胶电泳及质谱技术筛选肺癌患者血浆差异蛋白. *上海交通大学学报(医学版)* 2010; 30: 399-403
 - 10 张雪梅, 沈影, 鲜于志群. 肺癌骨转移血清蛋白质组学研究. *中华肿瘤防治杂志* 2010; 17: 673-676
 - 11 Feng Y, Tian ZM, Wan MX, Zheng ZB. Protein profile of human hepatocarcinoma cell line SMMC-7721: identification and functional analysis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2608-2614
 - 12 Radpour R, Fan AX, Kohler C, Holzgreve W, Zhong XY. Current understanding of mitochondrial DNA in breast cancer. *Breast J* 2009; 15: 505-509
 - 13 Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B. Mitochondria in cancer cells: what is so special about them? *Trends Cell Biol* 2008; 18: 165-173
 - 14 崔海宏, 王滨, 韩英, 李爱民, 魏伟, 张宝燕. 线粒体基因在大肠癌组织中缺失突变的检测. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2934-2937
 - 15 阎丽, 肖冰, 宋卫兵, 叶方鹏, 赖卓胜. 大肠癌细胞线粒体DNA D-环区的突变. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 97-99

■同行评价
UQCRC1可作为一参考的CRC肿瘤标志物及治疗靶点。

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》参考文献要求

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

《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》(2008年版)内科学类的核心期刊、《中国学术期刊评价研究报告-RCCS权威、核心期刊排行榜与指南》

和中国知识资源总库收录。《中国科技期刊引证报告(核心板)》统计显示,2010年《世界华人消化杂志》总被引频次3 458次,影响因子0.694,综合评价总分60.6分,分别位居内科学类49种期刊的第5位、第7位、第6位,分别位居1 998种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第79位、第320位、第190位;其他指标:他引率0.83,被引半衰期4.9,来源文献量712,文献选出率0.90,参考文献量17 963,平均引文数25.23,平均作者数4.35,地区分布数29,机构分布数349,基金论文比0.45,海外论文比0.01。

1.2 栏目 述评,基础研究,临床研究,焦点论坛,文献综述,研究快报,临床经验,病例报告,会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性,重点突出,文字简练,数据可靠,写作规范,表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式,GB6447文摘编写规则,GB7714文后参考文献著录规则,GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求;同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化,前后统一,如原词过长且多次出现者,可于首次出现时写出全称加括号内注简称,以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准,药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准,国家食品药品监督管理局批准的新药,采用批准的药名;创新性新药,请参照我国药典委员会的“命名原则”,新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称),如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP,

PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家

标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/L$, WBC数用 $1 \times 10^9/L$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r 明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 1×10^{-3} g与 5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英

《世界华人消化杂志》为中国科技论文统计源核心期刊(2010年)和中文核心期刊要目总览(北京大学图书馆, 2008年版)收录的学术期刊.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-5908-0035, 传真: 010-8538-1893, Email: wcyj@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

文大写*F*; (3)卡方检验用希腊小写 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希腊小写*v*; (6)样本数用英文小写*n*; (7)概率用英文斜体大写*P*. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01; 第三套为^e*P*<0.05, ^f*P*<0.01等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿

号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾

病研究所。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一

律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

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

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。北京报刊发行局发行, 邮发代号: 82-262。

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28 d. 所有的来

稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审. 接受后的稿件作者需缴纳稿件发表费, 文章发表后可获得1本样刊及10套单行本(稿酬).

6 修回稿须知

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

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

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-5908-0035
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

2012年国内国际会议预告

2012-01-04/10

2011年全国中医药创新发展学术交流大会

会议地点: 南宁市

联系方式: yxhy2000@163.com

2012-03-16/19

第三十二届全国超声诊断新进展暨介入超声高级研修班

会议地点: 北京市

联系方式: 13311335788@163.com

2012-03-22/25

2012年北京第六届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: cmameeting@163.com

2012-03-23/25

国际肝胆胰协会中国分会第五届全国学术研讨会

会议地点: 武汉市

联系方式: lilu19870509@163.com

2012-03-31

第二届国际消化道内镜活检和病理学诊断研讨会

会议地点: 杭州市

联系方式: fyanfei@sina.com

2012-04-06/08

2012年脂质代谢与器官损害国际学术研讨会

会议地点: 重庆市

联系方式: islt2012@yahoo.com.cn

2012-04-27/30

中华医学会2012年第十三届中华肝胆胰脾外科专业学术论坛

会议地点: 九江市

联系方式: zhgdwkzz@vip.163.com

2012-04-20/22

中国医学影像技术研究会第二十六次全国学术大会

会议地点: 济南市

联系方式: camit@vip.163.com

2012-05-26/31

2012年世界医学物理与生物医学工程大会

会议地点: 北京市

联系方式: info@wc2012.org

2012-06-01/03

2012中国北京超声医师学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: zhumin301@163.com

2012-06-15/17

第一届糖尿病大会、第二届内分泌与代谢大会

会议地点: 北京市

联系方式: medical585@163.com

2012-06-15/17

第九届全国抗菌药物临床药理学术会议

会议地点: 北京市

联系方式: doctorzhengbo@163.com; liyun1907@sina.com

2012-06-29/07-01

第二十四次全国中西医结合消化学术会议

会议地点: 宁波市

联系方式: qgzxyjhxh@163.com

2012-06-30/07-01

中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 哈尔滨市

联系方式: lilyjia@163.com

2012-07-01/31

第一届全国普通外科青年医师学术论坛

会议地点: 北京市

联系方式: cmacjs@cma.org.cn

2012-07-01/31

第二届全国普通外科手术技术学术会议

会议地点: 青岛市

联系方式: lining@126.com

2012-08-25/29

第八届世界华人药物化学研讨会暨第九届IUPAC化学生物学国际研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: liangren@bjmu.edu.cn

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

2012-09-14/16

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

2012-10-25/28

第13届亚太临床微生物暨感染病会议(APCCMI)

会议地点: 北京市

联系方式: bianxiaoxue@mpco.cn

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授

南昌大学第一附属医院消化内科

蔡三军 主任医师

复旦大学附属肿瘤医院腹部外科

陈国忠 副主任医师

广西中医学院第一附属医院消化内科

陈贻胜 教授

福建省立医院消化内科

陈治水 主任医师

中国人民解放军第二一一医院中医科

程英升 教授

同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

丁惠国 主任医师

首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

董蕾 教授

西安交通大学第二附属医院消化内科

杜奕奇 副教授

中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

樊晓明 主任医师

复旦大学附属金山医院消化科

高泽立 主任医师

上海交通大学医学院附属第九人民医院周浦分院消化科

葛海燕 教授

同济大学附属东方医院普通外科

韩天权 教授

上海交通大学医学院附属瑞金医院外科、上海消化外科研究所

黄培林 教授

东南大学

季加孚 教授

北京大学临床肿瘤学院北京肿瘤医院外科

江米足 教授

浙江大学医学院附属儿童医院儿科

金瑞 教授

首都医科大学附属北京佑安医院消化科

靳雪源 副主任医师

中国人民解放军第302医院消化内科

李华 副教授

中山大学附属第三医院肝脏外科

谭晓冬 副教授

中国医科大学盛京医院胰腺甲状腺外科

唐南洪 教授

福建医科大学附属协和医院省肝胆外科研究所

唐世刚 教授

湖南省人民医院

王健生 教授

西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤外科

吴军 研究员

中国人民解放军军事医学科学院生物工程研究所

肖恩华 教授

中南大学湘雅二医院放射教研室

徐宁志 研究员

中国医学科学院肿瘤医院研究所细胞生物与分子生物学实验室

颜宏利 教授

中国人民解放军第二军医大学遗传学教研室

于聪慧 教授

中国人民解放军北京军区总医院肝胆外科

郁卫东 副研究员

北京大学人民医院临床分子生物学研究所/中心实验室

周素芳 教授

广西医科大学科技处