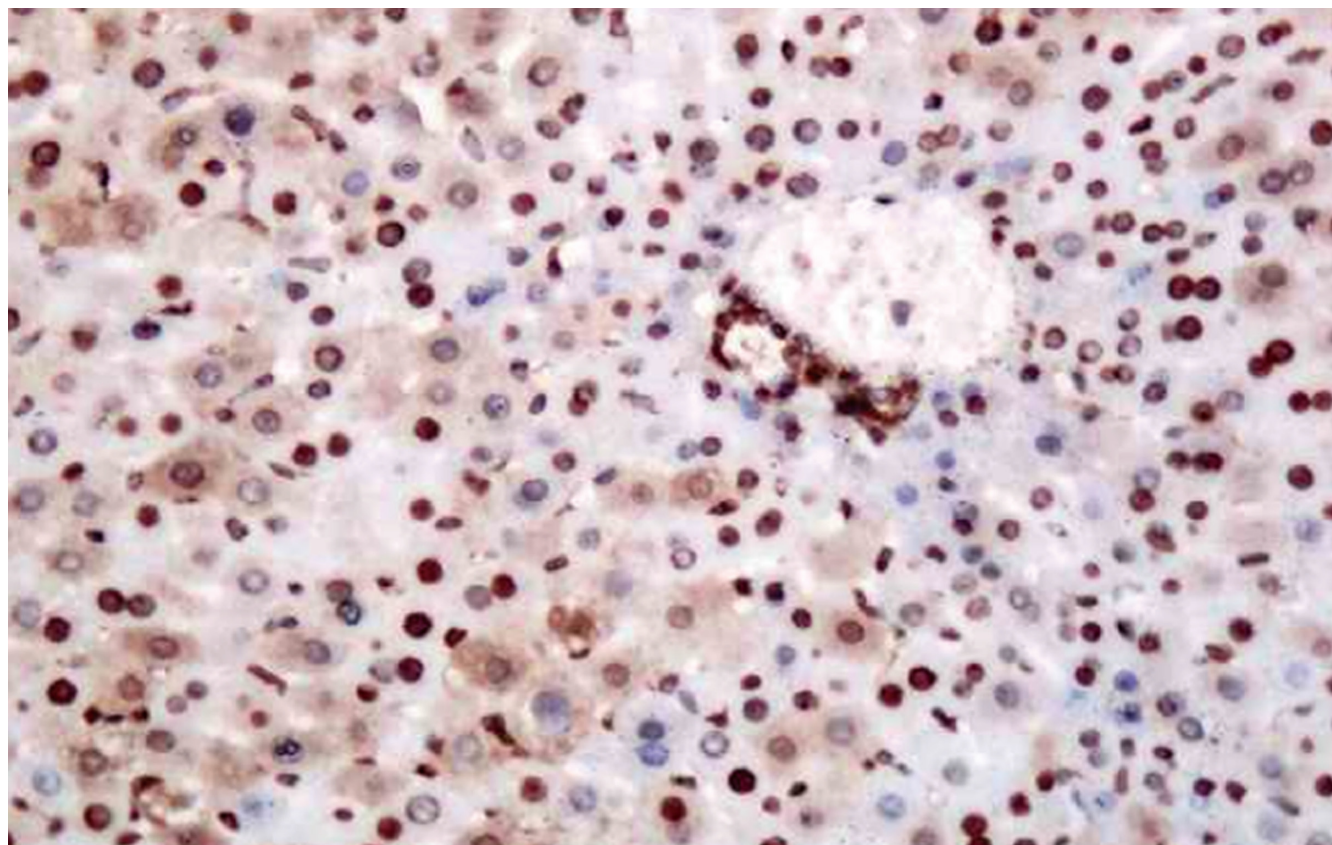


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013年7月28日 第21卷 第21期 (Volume 21 Number 21)



21 / 2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》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《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》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

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员，由485位专家组成，分布在30个省市，自治区，特别行政区。其中，上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪刚教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授

冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
甘华田教授
高凌副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
关晓辉主任医师
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
何继满教授
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
李国忠教授
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
刘亮明副教授
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
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
度必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
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

白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师

陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凜教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅思源副教授
傅晓辉副教授
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
何向辉教授
何晓顺教授
何裕隆教授
胡安斌副教授
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
康春博副主任医师
孔静副教授
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师

李升平教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李小荣教授
李旭副教授
李永翔教授
李正荣副教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘宏鸣副教授
刘建教授
刘亮副主任医师
刘颖斌主任医师
卢军华教授
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕凌副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
崔清波副教授
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
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙文兵教授
孙星副教授
孙学英教授
邵升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王健生教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张伟辉主任医师
赵刚副教授
赵青川主任医师
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
邹小明教授

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
林潮双副教授
刘正稳教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周陶友副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
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
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师

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
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李苏宜教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
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
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

范恒教授
唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
刘钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赅宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
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
莫发荣副教授
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 ● 2013年7月28日 第21卷 第21期 (总第425期)

基础研究	2009 骨髓间充质干细胞分泌因子抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位 雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群 2016 pHbX-EGFP载体构建及其在肝癌Bel 7402细胞中的表达 李伟, 朱明月, 鲁琰, 朱丽琴, 董棚, 陈穆, 李孟森
临床研究	2023 胰腺癌放疗对胃、十二指肠黏膜损伤的胃镜观察31例 薛安静, 周平, 王济东, 夏廷毅 2031 血管内皮生长因子及其受体KDR在疣状胃炎及胃癌组织中的表达及意义 陈洁, 朱海杭, 徐永居, 顾湘, 朱萍 2038 RASSF1A与CyclinA2在肝内胆管细胞癌中的表达与相关性 吴军卫, 李潼, 李锦锦, 孟元普, 柴新群
文献综述	2045 中国汉族人群食管癌遗传易感基因多态性的研究进展 莫赛军, 柯少瑞, 张佳彤, 杨胜利 2051 JAK-STAT信号通路在肝癌发生发展中作用的研究进展 王建强, 黄缘 2057 促凋亡基因PUMA与肿瘤 彭松林, 戴朝六
研究快报	2063 联合基因治疗体系pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK对胃癌细胞增殖的影响 陈逸民, 叶玲, 冷爱民, 刘震 2070 LPS通过p38/MAPK调控胆管癌细胞系ICBD的上皮间质转化 李航宇, 李岩, 刘丹, 孙宏治, 刘金钢
临床经验	2076 降逆汤治疗复发反流性食管炎的临床疗效 陈昱倩, 杨璐, 王光铭, 刘万里 2081 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白的表达与食管鳞状细胞癌患者临床特征的关系 高杨, 李岩, 周海英, 闫继东, 吴爱萍 2086 幽门螺杆菌根除对胃黏膜萎缩和肠上皮化生的影响 周颖, 周忠杰, 许琦华 2091 人慢性胃炎相关TTV病毒的体外培养与鉴定 张娜, 刘学芳, 李建国 2096 急诊胃镜下药物喷洒与药物注射治疗非静脉曲张性上消化道出血的疗效 黄妍, 曾昆, 肖政, 陈艳 2100 异丙酚联合芬太尼在无痛胃镜麻醉中的应用 赵峰, 庞留成, 赵彦芬, 张振华, 毛轲 2104 拉萨地区社区人群的胃癌流行病学特征 旦增, 李康, 王中华, 向巴泽西, 刚组, 赤列旺姆, 蒋秀英, 巴桑, 旺加, 次仁扎西, 次旦伦珠, 德吉 2109 两种方法检测乙型肝炎患者血清HBV-DNA的应用价值 叶儒军, 郑培锐, 区宇洁, 魏威 2113 腹腔镜下低位直肠癌手术中保留盆腔自主神经的临床价值 侯雷, 刘志满, 张学敏, 赵明明
病例报告	2117 血管活性肠肽瘤1例 张丽平, 吴会超, 罗兰

附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	2030 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 2037 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 2050 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 2056 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 2062 《世界华人消化杂志》修回稿须知 2069 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 2075 《世界华人消化杂志》外文字符标准 2080 《世界华人消化杂志》参考文献要求 2085 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 2090 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 2095 《世界华人消化杂志》栏目设置
封面故事	雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群. 骨髓间充质干细胞分泌因子抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2009-2015 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2009.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2009
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 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 2013-07-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

田滢, 主任

《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: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

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: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《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。

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

July 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 21

BASIC RESEARCH	<p>2009 Mesenchymal stem cell-derived molecules attenuate cytoplasmic translocation of HMGB1 in hepatocytes in a mouse model of acute liver failure <i>Lei YC, Liang Q, Luo P, Xiao YQ</i></p> <p>2016 Construction and identification of a green fluorescent protein expression vector carrying the HBx gene (pHBx-EGFP) and its expression in hepatocellular carcinoma cell line Bel 7402 <i>Li W, Zhu MY, Lu Y, Zhu LQ, Dong X, Chen Y, Li MS</i></p>
CLINICAL RESEARCH	<p>2023 Gastric or duodenal injury induced by radiotherapy for pancreatic carcinoma: An analysis of 31 cases <i>Xue AJ, Zhou P, Wang JD, Xia TY</i></p> <p>2031 Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor KDR in verrucose gastritis and gastric cancer <i>Chen J, Zhu HH, Xu YJ, Gu X, Zhu P</i></p> <p>2038 Expression of RASSF1A and Cyclin A2 in intrahepatic cholangiocarcinoma <i>Wu JW, Li T, Li JJ, Meng YP, Chai XQ</i></p>
REVIEW	<p>2045 Progress in research of polymorphisms of genes associated with susceptibility to esophageal cancer in Chinese Han population <i>Mo SJ, Ke SR, Zhang JT, Yang SL</i></p> <p>2051 Role of the JAK-STAT signal pathway in the development and progression of liver cancer <i>Wang JQ, Huang Y</i></p> <p>2057 Pro-apoptosis gene PUMA and cancer <i>Peng SL, Dai CL</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>2063 Combined gene therapy system pcDNA 3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK inhibits proliferation of gastric cancer cells <i>Chen XM, Ye L, Leng AM, Liu T</i></p> <p>2070 LPS regulates epithelial-mesenchymal transition in cholangiocarcinoma cell line ICBD via the p38/MAPK signaling pathway <i>Li HY, Li Y, Liu D, Sun HZ, Liu JG</i></p>
CLINICAL PRACTICE	<p>2076 Efficacy of Jiangni Decoction in treatment of recurrent reflux esophagitis <i>Chen YQ, Yang L, Wang GM, Liu WL</i></p> <p>2081 Correlation between SPARC expression and clinical characteristics of esophageal squamous cell carcinoma <i>Gao Y, Li Y, Zhou HY, Yan JD, Wu AP</i></p> <p>2086 Effect of <i>Helicobacter pylori</i> eradication on gastric atrophy and intestinal metaplasia in patients with atrophic gastritis <i>Zhou Y, Zhou ZJ, Xu QH</i></p> <p>2091 Culture and identification of TTV virus associated with human chronic gastritis <i>Zhang N, Liu XF, Li JG</i></p> <p>2096 Efficacy of emergency endoscopic drug spraying vs injection in treatment of non-variceal upper gastrointestinal bleeding <i>Huang Y, Zeng K, Xiao Z, Chen Y</i></p> <p>2100 Application of fentanyl and propofol in painless gastroscopy <i>Zhao F, Pang LC, Zhao YF, Zhang ZH, Mao K</i></p> <p>2104 Epidemiological features of gastric cancer in a community population in Lhasa <i>Dan Z, Li K, Wang ZH, Xiangba ZX, Gang Z, Chilie WM, Jiang XY, Ba S, Wang J, Ciren ZX, Cidan LZ, De J</i></p> <p>2109 PCR-EB qualitative analysis versus amp-lisensor quantitative assay for detection of HBV-DNA in serum in patients with hepatitis B <i>Ye RJ, Zheng PR, Ou YJ, Wei W</i></p> <p>2113 Clinical value of pelvic autonomic nerve preservation during laparoscopic surgery for low rectal cancer <i>Hou L, Liu ZM, Zhang XM, Zhao MM</i></p>

CASE REPORT	2117 Pancreatic vasoactive intestinal polypeptide-secreting tumor: A case report <i>Zhang LP, Wu HC, Luo L</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Lei YC, Liang Q, Luo P, Xiao YQ.</i> Mesenchymal stem cell-derived molecules attenuate cytoplasmic translocation of HMGB1 in hepatocytes in a mouse model of acute liver failure. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(21): 2009-2015 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2009.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2009
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Xin-Zhen Huang</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date July 28, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

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, Hang-zhou 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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2013 Baishideng. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

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.

骨髓间充质干细胞分泌因子抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位

雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群

雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群, 南昌大学附属感染病医院 江西省南昌市 330006
雷延昌, 主任医师, 主要从事病毒性肝炎肝衰竭免疫发病机制的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81160065
江西省科技支撑基金资助项目, No. 2009JX0096
南昌市科技局重点基金资助项目, No. 洪财政[2012]37号社会发展支撑计划-10
作者贡献分布: 课题设计由雷延昌主持; 研究过程由梁青、罗盼、肖影群及雷延昌实施; 论文写作由雷延昌与罗盼完成。
通讯作者: 雷延昌, 主任医师, 330006, 江西省南昌市洪都中大道167号, 南昌大学附属感染病医院。yclleihust@sina.com
电话: 0791-88499615
收稿日期: 2013-05-26 修回日期: 2013-06-24
接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Mesenchymal stem cell-derived molecules attenuate cytoplasmic translocation of HMGB1 in hepatocytes in a mouse model of acute liver failure

Yan-Chang Lei, Qing Liang, Pan Luo, Ying-Qun Xiao

Yan-Chang Lei, Qing Liang, Pan Luo, Ying-Qun Xiao, Infectious Diseases Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160065; the Foundation of Jiangxi Science and Technology Department, No. 2009JX0096; and the Foundation of Nanchang Science and Technology Division, No. 2012-37-10
Correspondence to: Yan-Chang Lei, Chief Physician, Infectious Diseases Hospital, Nanchang University, 167 Hongdu Middle Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. yclleihust@sina.com
Received: 2013-05-26 Revised: 2013-06-24
Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To explore the influence of mesenchymal stem cell-derived molecules (MSC-CM) on cytoplasmic translocation of HMGB1 in hepatocytes in an animal model of acute liver failure.

METHODS: D-galactosamine (D-GalN) and lipopolysaccharide (LPS) were used to induce acute liver failure in Balb/c mice. BMSCs were cultured,

purified and passaged to 2-3 generations, and the medium was replaced with DMEM containing 0.05% fetal bovine serum. After further culture for 24 h, the medium containing MSC-CM was obtained. Thirty-six healthy Balb/c mice were randomly divided into two groups: an acute liver failure group (control group) and a MSC-CM treatment group. The Kaplan-Meier method was used for survival analysis. Serum ALT/AST levels were measured at different time points, and liver tissue pathological examination was performed. Serum levels of HMGB1, interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α), IL-6 and IL-10 were detected by ELISA. HMGB1 expression and cytoplasmic translocation in hepatocytes were detected by immunohistochemistry.

RESULTS: The survival rate was significantly higher in the MSC-CM treatment group than in the control group (89.9% vs 50%, $P < 0.05$). MSC-CM treatment decreased the peak levels of AST/ALT at 24 h compared to the control group ($P < 0.01$). Serum levels of HMGB1 at 6, 12, and 24 h and TNF- α , IL-1 β , IL-6 at 24 h were also decreased in the MSC-CM treatment group (all $P < 0.01$); however, IL-10 level was increased in MSC-CM treatment group ($P < 0.01$). Inflammation or necrosis in liver tissue and cytoplasm translocation of HMGB1 in hepatocytes were decreased in the MSC-CM treatment group compared to the control group (both $P < 0.01$).

CONCLUSION: MSC-CM treatment decreases cytoplasm translocation of HMGB1 in hepatocytes and attenuates liver inflammation and mortality in acute liver failure.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Mesenchymal stem cell-derived molecules; High mobility group box 1; Cytoplasm translocation; Acute liver failure

Lei YC, Liang Q, Luo P, Xiao YQ. Mesenchymal stem cell-derived molecules attenuate cytoplasmic translocation of HMGB1 in hepatocytes in a mouse

■背景资料
髓间充质干细胞分泌因子(mesenchymal stem cell-derived molecules, MSC-CM)可以逆转小鼠急性肝功能衰竭, 后期炎症因子高迁移率族蛋白1(high mobility group box 1, HMGB1)及其肝细胞内移位在急性肝衰竭的发生中有重要作用。然而, MSC-CM治疗急性肝衰竭的机制尚不十分清楚。

■同行评议者
刘亮明, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科

■ 研发前沿

相关研究表明, MSC-CM下调肿瘤坏死因子- α 、白介素-1 β (interleukin, I-L-1 β)、IL-6和上调抗炎因子IL-10等抑制过激的炎症反应, MSC-CM是否影响肝细胞HMGB1的胞浆移位, 值得进一步探讨。

model of acute liver failure. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2009-2015 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2009.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2009>

摘要

目的: 骨髓间充质干细胞分泌的因子(mesenchymal stem cell-derived molecules, MSC-CM)对急性肝衰竭小鼠高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)肝细胞胞浆移位和释放的影响。

方法: D-氨基半乳糖(D-galactosamine, D-GaIN)和脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导建立Balb/c小鼠急性肝衰竭模型; 贴壁筛选法培养纯化小鼠BMSCs, 传至第2-3代更换0.05%胎牛血清培养液24 h获得MSC-CM。36只健康Balb/c小鼠随机均分为肝衰竭对照组和MSC-CM治疗组。Kaplan-meier法进行生存分析, 生化检测1 wk内不同时间点各实验组丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)/谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST), 24 h取肝脏进行肝脏病理检测。ELISA检测血清HMGB1、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6和IL-10水平, 免疫组织化学分析HMGB1的肝细胞表达和胞浆移位。

结果: MSC-CM治疗组1 wk生存率为88.9%, 显著高于对照组的16.7%($P < 0.05$), MSC-CM治疗组24 h的ALT/AST峰值显著低于对照组($P < 0.01$)。MSC-CM治疗组在6、12和24 h HMGB1水平以及24 h的TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平显著低于肝衰竭对照组($P < 0.01$), 而抗炎因子IL-10显著高于对照组($P < 0.01$)。MSC-CM治疗组肝脏炎症坏死和肝细胞HMGB1胞浆移位较对照组明显减轻。

结论: MSC-CM治疗抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1胞浆移位和释放, 减轻肝脏炎症反应, 降低死亡率。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 骨髓间充质干细胞分泌因子; 高迁移率族蛋白B-1; 胞浆移位; 急性肝衰竭

核心提示: 本研究发现, 骨髓间充质干细胞分泌因子(mesenchymal stem cell-derived molecules)治疗抑制急性肝衰竭肝细胞高迁移率族蛋白B-1(high mobility group box 1)胞浆移位和释放, 减轻肝脏炎症反应, 降低死亡率。进一步阐明骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem

cells)治疗急性肝衰竭的分子机制, 具有重要的基础和临床应用价值。

雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群. 骨髓间充质干细胞分泌因子抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位. *世界华人消化杂志* 2013; 21(21): 2009-2015 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2009.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2009>

0 引言

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)具有高度自我更新和多向分化潜能, 已经用于多种组织器官损伤的修复。急性肝衰竭是各种诱因导致肝细胞短期大量坏死, 出现肝功能严重受损和多脏器功能衰竭的临床综合症, 病情凶险, 目前的人工肝和抗病毒护肝综合内科治疗有效降低病死率, 其死亡率仍高达60%以上, 严重患者除非实施紧急肝移植无其他特效治疗措施。因肝移植难以普遍开展, BMSCs给急性肝衰竭治疗开辟新的思路。研究显示, BMSCs能在特定环境下分化为类肝细胞样细胞^[1-3], 并能够抑制肝脏炎症反应和促进受损肝细胞再生降低肝衰竭动物死亡率^[4,5]。后来又发现BMSCs分泌的因子(mesenchymal stem cell-derived molecules, MSC-CM)可减轻肝衰竭动物肝细胞坏死, 促进肝细胞再生, 从而提高动物生存率^[6,7], 其作用机制目前知之较少。高迁移率族蛋白B-1(high mobility group box 1, HMGB1)是一种非组蛋白核内结构蛋白, 因比其他促炎因子出现相对较晚、持续时间长, 因此被称为晚期炎症介质^[8]。临床和实验研究表明肝衰竭时HMGB1水平显著升高, 参与急性肝衰竭的炎症反应综合症病理生理过程^[9-11]。最近的研究发现, 脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)刺激肝细胞HMGB1从胞核转移至胞浆, 发生HMGB1的胞浆内移位, 肝衰竭患者和D-GaIN/LPS动物模型同样发生HMGB1的肝细胞内移位^[12]。我们前期的研究发现BMSCs移植降低肝衰竭动物模型血清HMGB1水平, 提高生存率^[13], 其作用机制尚不明了。本研究探讨MSC-CM治疗对急性肝衰竭肝细胞HMGB1胞浆移位的影响, 进一步了解BMSCs对急性肝衰竭HMGB1释放和参与的炎症反应的机制, 为BMSCs对抗肝衰竭炎症反应提供新的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 2-3周龄Balb/c小鼠, 体质量10 g \pm 2 g(清

洁级)用于MSCs提取和培养上清MSC-CM获取。6-8周龄♂ Balb/c小鼠, 体重 $20 \pm 2 \text{ g}$, 用于D-GaIN/LPS诱导急性肝衰竭模型。上述动物由南昌大学医学院动物科学部提供, 动物饲养和处理严格按照美国国立卫生研究院实验动物饲养和使用指南。主要试剂及仪器: 胎牛血清、胰蛋白酶(GIBCO公司, 美国), DMEM低糖培养基(Hyclone公司, 美国), 细菌脂多糖(Sigma公司, 美国), D-氨基半乳糖(Solarbio公司, 中国), HMGB1兔抗鼠单抗(ABGENT公司, 美国), HMGB1和白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6和IL-10试剂盒(NEB公司, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 MSCs提取纯化和MSC-CM获取: 拉颈处死2-3周龄♂ Balb/c小鼠, 放入750 mL/L的乙醇中浸泡, 消毒5-10 min。无菌条件下取双股骨和胫骨, 用生理盐水冲洗, 剔除骨表面的组织, 用手术剪从股骨或胫骨的中间剪断, 暴露骨髓腔, DMEM培养基冲洗骨髓腔和骨骺端。吸管将骨髓组织吹打成细胞悬液, 离心 $1000 \text{ r/min} \times 10 \text{ min}$, 去上清, 用10%胎牛血清DMEM培养液重悬细胞接种于 25 cm^2 塑料培养瓶中。48 h全量更换培养液, 弃去悬浮细胞, 倒置显微镜下观察细胞生长状态。贴壁法培养法获得MSCs, 每2-3 d换液1次, 直至长至80%-90%融合时, 用0.25%胰酶消化1:2传代。取第二或三代MSCs弃去完全培养基, 无血清培养基洗涤3次, 更换为含有0.05%胎牛血清培养液培养24 h, 上清为MSC-CM用于本研究。

1.2.2 小鼠MSCs的鉴定: 细胞盖玻片风干后用4%多聚甲醛固定细胞15 min, 0.01 mol/L PBS液洗3遍, 每次5 min; 风干后滴加1%BSA封闭抗原, 于 37°C 下孵育30 min; 滴加CD34/CD29抗体(1:200), 37°C 下孵育1.5 h后用0.01 mol/L PBS液洗3遍, 每次5 min; 滴加FITC标记的山羊抗兔IgG(1:400), 37°C 下避光孵育40 min后用0.01 mol/L PBS液洗3遍, 每次5 min。用50%甘油缓冲液封片, 置于荧光显微镜下观察。

1.2.3 动物模型及分组: 将36只6-8周龄♂ Balb/c小鼠, 体重 $20 \pm 2 \text{ g}$, 常规喂养2 d, 实验前禁食12 h, 不禁水。将动物随机分为2组: 急性肝衰竭组(对照组, $n = 18$)给予 600 mg/kg D-氨基半乳糖和 $40 \mu\text{g/kg}$ 细菌脂多糖, 0.9%氯化钠稀释至 0.2 mL 腹腔注射。MSC-CM治疗组($n = 18$)在腹腔注射D-GaIN/LPS前后1 h分别尾静脉注射来源于 1×10^7 个细胞的24 h培养上清1 mL, 对照组在相

应时间点尾静脉注射等量生理盐水。

1.2.4 标本收集: 二组分别于腹腔注射D-GaIN/LPS后12、24、48 h至1 wk眼眶采血分离血清置于 -80°C 保存。24 h处死, 肝组织用 40 g/L 的甲醛固定, 进行HE染色和免疫组织化学检测。

1.2.5 血清生化和细胞因子检测: 全自动生化分析仪检测丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)。血清HMGB1和细胞因子检测按照生产厂家说明书进行, 根据标准曲线计算结果。

1.2.6 免疫组织化学: 肝组织切片常规脱蜡, 3%过氧化氢室温孵育10 min, 清除内源性过氧化氢酶, PBS洗3次, 3 min/次。10%山羊血清封闭30 min, PBS稀释一抗(HMGB1, 1:100), 甩掉封闭液, 每片滴加 $100 \mu\text{L}$ 一抗, 4°C 过夜, PBS洗3次, 滴加羊抗兔辣根过氧化物酶标记二抗室温孵育20 min, PBS振洗后滴加DAB显色剂充分显色, 自来水洗终止反应, 苏木素复染细胞核, 再脱水、透明、晾干中性树胶封片。

统计学处理 所有数据用SPSS18.0软件作统计学分析, 数据资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, SPSS18.0绘制生存曲线, 生存率比较采用Log-rank检验, 两组样本均数的比较应用 t 检验, 两个样本率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为统计学显著性差异。

2 结果

2.1 MSC-CM治疗提高D-GaIN/LPS肝衰竭小鼠生存率和降低血清ALT/AST水平 D-GaIN/LPS腹腔注射肝衰竭组小鼠1 wk生存率为50%, 死亡集中发生在腹腔注射后12-24 h之间, 而MSC-CM治疗组小鼠1 wk生存率为88.9%。Kaplan-Meier法对小鼠生存率分析, Log-rank检验结果显示, MSC-CM治疗组生存率显著高于肝衰竭对照组($P < 0.05$, 图1A)。肝衰竭小鼠血清ALT/AST水平在12 h开始升高, 24 h达高峰, 48 h开始下降, 并逐渐恢复正常, MSC-CM治疗组血清ALT/AST水平在12 h和24 h较对照组降低, 其中24 h水平有显著性差异($P < 0.01$, 图1B, C)。

2.2 MSC-CM治疗对肝衰竭小鼠血清HMGB1、炎症因子和抗炎因子水平的影响 近年来发现HMGB1在急性肝衰竭炎症反应中十分重要, 研究者前期发现BMSC移植降低肝衰竭小鼠HMGB1水平, 提高生存率。ELISA检测不同时间点血清HMGB1水平发现, D-GaIN/LPS诱导肝衰竭Balb/c小鼠血清HMGB1在6 h已开始升

■ 相关报道

近来发现, MSC-CM与骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)同样可以逆转急性肝衰竭, 作者前期的研究发现BMSCs抑制急性肝衰竭HMGB1水平, 减轻肝脏炎症反应, 其作用机制待进一步研究。

■ 创新盘点

MSC-CM抑制急性肝衰竭炎症反应的机制众多, 本文从MSC-CM能抑制HMGB1水平入手, 探讨MSC-CM对急性肝衰竭小鼠肝细胞HMGB1胞浆移位的作用进行研究, 为BMSCs治疗急性肝衰竭提供新的理论基础。

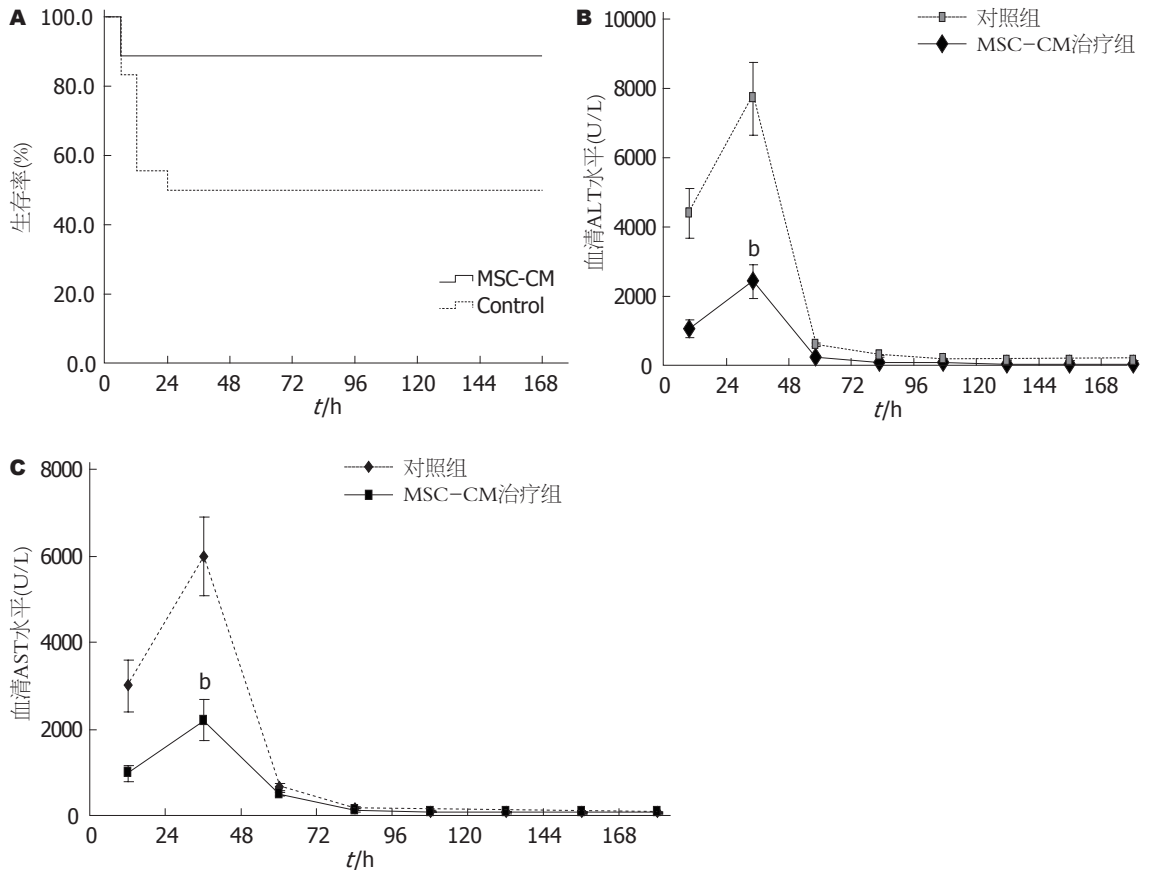


图1 MSC-CM治疗提高D-GalN/LPS肝衰竭小鼠生存率和降低血清ALT/AST水平。A: Kaplan-Meier生存分析小鼠生存率, $P = 0.016$ (Log-rank test, $F = 5.631$); B, C: MSC-CM治疗组和急性肝衰竭对照组血清ALT和AST在12、24、48、73、96、120、144和168 h的水平, $^b P < 0.01$ vs 对照组。ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 谷草转氨酶; MSC-CM: 骨髓间充质干细胞分泌的因子。

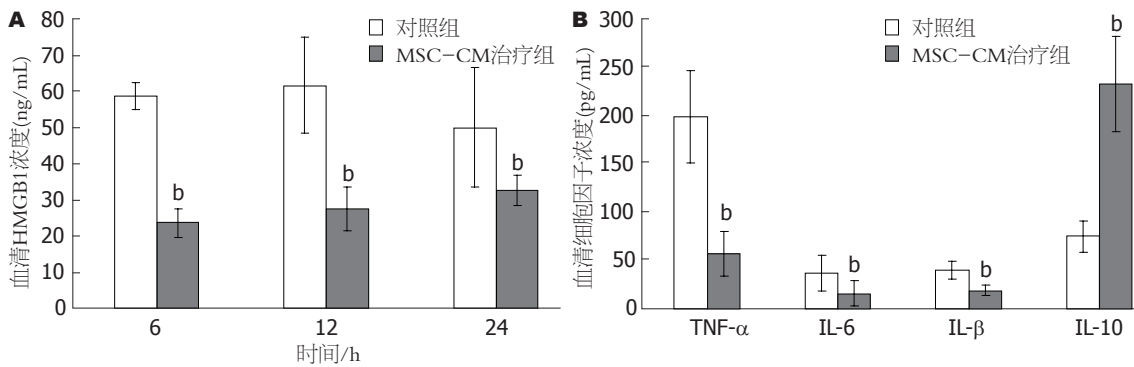
高, 12 h达高峰, 24 h开始下降, 48 h接近正常水平。为了解MSC-CM治疗对肝衰竭HMGB1的影响, 比较6、12和24 h血清HMGB1水平, 结果显示MSC-CM治疗组在上述3个时间点HMGB1水平显著低于肝衰竭对照组($P < 0.01$) (图2A)。为了解MSC-CM治疗对急性肝衰竭炎症因子的影响, ELISA检测血清不同时间点炎症性细胞因子和抗炎因子水平的结果显示, MSC-CM治疗组TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平显著低于肝衰竭对照组($P < 0.01$) (图2B), 而抗炎因子IL-10显著高于对照组($P < 0.01$) (图2B)。

2.3 MSC-CM治疗减轻肝衰竭小鼠肝组织炎症坏死和肝细胞HMGB1胞浆移位 肝衰竭对照组有大量肝细胞片状坏死, 肝索断裂, 坏死区域大量炎细胞浸润, HMGB1不仅在胞核表达, 大量肝细胞胞浆有明显表达(图3A, C)。MSC-CM治疗组肝小叶结构基本完整, 局灶性炎细胞浸润, HMGB1胞浆表达肝细胞较少(图3B, D)。图像分析对照组HMGB1肝细胞移位率显著高于MSC-CM治疗组($P < 0.01$, 图3E)。

3 讨论

本研究应用♂ Balb/c小鼠腹腔注射D-GalN/LPS建立急性肝衰竭模型, 小鼠1 wk生存率为50%, 动物死亡发生在给药后12-24 h, 与作者之前的研究一致^[13]。MSC-CM治疗组小鼠1 wk生存率为88.9%显著高于肝衰竭对照组。检测外周血ALT/AST水平可反映肝脏损伤程度, 肝衰竭小鼠血清ALT/AST水平在12 h开始升高, 24 h达高峰, 48 h开始下降并逐渐恢复正常。与国外的研究一致^[6,7], MSC-CM治疗组血清ALT/AST水平24 h峰值较对照组显著降低, 表明MSC-CM治疗减轻肝细胞损伤, 对肝衰竭保护作用 and BMSCs相似。

肝衰竭大面积肝组织损伤引起局部甚至全身炎症反应综合征, 最终导致多器官功能衰竭。近年来发现HMGB1在急性肝衰竭炎症反应中十分重要, 研究者前期发现BMSC移植降低肝衰竭小鼠HMGB1水平, 提高生存率。肝衰竭小鼠血清HMGB1在6 h已开始升高, 12 h达高峰, 24 h开始下降, MSC-CM治疗组在6、12和24 h 3个时间点HMGB1水平显著低于对照组。与之相一致, MSC-CM治疗组血清TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平显著低于肝衰竭对照组, 而抗炎因子IL-10显著



应用要点
自体BMSCs移植对急性肝衰竭患者具有治疗作用, 本研究显示MSC-CM具有逆转急性肝衰竭作用, 值得进一步临床研究. 由于MSC-CM可反复大量获得, 直接通过静脉注射而不需移植, 具有较好的应用前景.

图2 MSC-CM治疗对肝衰竭小鼠血清炎症因子水平的影响($n=18$). A: MSC-CM治疗组和对照组血清6、12和24 h血清HMGB1水平有显著性差异, $^bP<0.01$ vs 对照组; B: MSC-CM治疗组和对照组血清24 h TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-10水平有显著性差异, $^bP<0.01$ vs 对照组. IL: 白介素; TNF: 肿瘤坏死因子; MSC-CM: 骨髓间充质干细胞分泌的因子; HMGB1: 高迁移率族蛋白B-1.

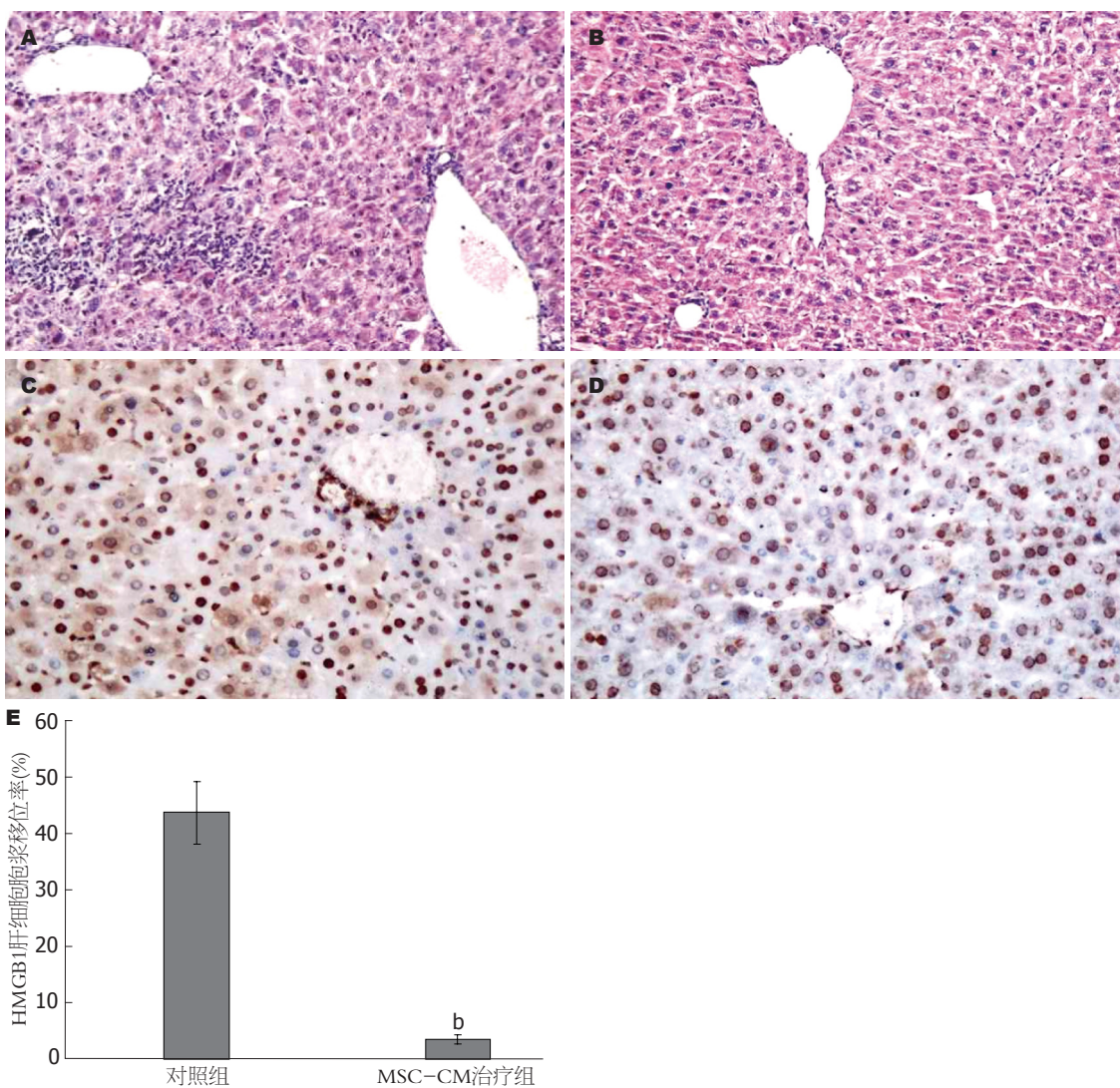


图3 MSC-CM减轻肝衰竭小鼠肝组织炎症坏死和肝细胞HMGB1胞浆移位. A: 肝衰竭对照组小鼠肝细胞片状坏死, 肝索断裂, 坏死区大量炎细胞浸润($\times 100$); B: MSC-CM治疗组肝小叶结构基本完整, 局灶性炎细胞浸润($\times 100$); C: 肝衰竭对照组 HMGB1不仅在胞核表达, 大量肝细胞胞浆有明显表达($\times 100$); D: MSC-CM治疗组HMGB1胞浆表达的肝细胞较少($\times 100$); E: MSC-CM治疗组和对照组HMGB1肝细胞移位率的比较, $\chi^2=12.81$, $^bP<0.01$. MSC-CM: 骨髓间充质干细胞分泌的因子; HMGB1: 高迁移率族蛋白B-1.

高于对照组. 此外, MSC-CM治疗组肝脏炎症坏死程度较对照组明显减轻. 提示MSC-CM治疗

增加抗炎因子IL-10水平, 降低HMGB1和多种炎症因子水平减轻肝脏炎症坏死.

■同行评价
本文具有一定的
基础和临床应用
价值。

目前认为,内毒素血症和巨噬细胞活化释放的HMGB1和TNF- α 等炎症因子在急性肝衰竭发病中具有重要作用。急性肝衰竭枯否细胞对内毒素灭活能力降低,内毒素血症发生率可高达90%-100%。研究显示,急性肝衰竭Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)在各种免疫细胞表达增加^[14]。内毒素,主要是革兰氏阴性菌的LPS,与TLR4结合,通过活化核转录因子NF- κ B,刺激大量炎症因子释放,导致继发性全身性炎症反应综合症,导致肝衰竭发生发展^[15,16]。HMGB1被证明为是一个炎症因子^[17,18],既可以通过活化的单核细胞/巨噬细胞,中心粒白细胞和内皮细胞主动释放,也可以通过坏死的细胞被动释放^[19,20]。HMGB1可以直接促进炎症因子的释放(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-8等)和外周血单核细胞释放趋化因子^[20-22],募集更多炎症细胞放大炎症反应,加重肝组织损伤。动物模型和临床研究显示, HMGB1与急性肝衰竭发生和疾病的严重程度密切相关^[23,24]。在本研究中, MSC-CM治疗降低HMGB1和炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 和IL-6)水平,有效抑制炎症反应和肝组织损伤,表现为血清ALT/AST水平下降、肝脏炎症坏死减轻和生存率提高。

研究证明, MSCs治疗下调肾脏和肺缺血再灌注损伤局部炎症因子和上调抗炎因子IL-10水平对抗组织炎症坏死^[25,26]。最近的结果显示, MSCs分泌的因子上调IL-10水平逆转急性肾损伤^[27]。表明, MSC-CM有可能通过上调IL-10水平对抗急性肝衰竭肝脏炎症反应,发挥治疗效应。本研究显示, MSC-CM同时具有上调抗炎因子IL-10水平和下调包括HMGB1在内的促炎因子水平,可能是MSC-CM治疗急性肝衰竭的机制之一。

最近研究显示^[12], LPS刺激肝细胞HMGB1从胞核转移至胞浆,发生HMGB1的细胞内移位并主动释放HMGB1,但与肝细胞坏死被动释放有显著差别,该过程并不依赖肝细胞坏死。与之相一致,肝衰竭患者和D-GaIN/LPS急性肝衰竭模型都存在HMGB1的肝细胞胞浆移位。我们前期的研究发现BMSCs移植降低肝衰竭动物模型血清HMGB1水平,提高生存率^[13]。本研究发现, MSC-CM治疗减轻急性肝衰竭肝组织炎症坏死,同时伴有HMGB1的胞浆移位减少,从而降低肝细胞释放HMGB1。在正常情况下,虽然肝细胞不是释放HMGB1的主要细胞,但由于肝细胞数量巨大,在急性肝损伤情况下, LPS等刺激肝细

胞HMGB1移位和主动释放,进一步加重肝损伤。MSC-CM治疗降低肝细胞HMGB1胞浆移位可达到及早对抗急性肝衰竭炎症反应和疾病进展。

总之, MSC-CM治疗与BMSCs移植同样可以降低急性肝衰竭HMGB1和TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等炎症因子水平,减轻肝脏炎症坏死,提高生存率。抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位减少HMGB1释放,可能是MSC-CM治疗急性肝衰竭的机制之一。上述结果为BMSCs抗肝衰竭炎症反应治疗提供了新的理论基础,具有重要的理论和应用价值。

4 参考文献

- Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, Jiang Y, Blackstad M, Lund T, Lenvik T, Johnson S, Hu WS, Verfaillie CM. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* 2002; 109: 1291-1302 [PMID: 12021244]
- Mohamadnejad M, Namiri M, Bagheri M, Hashemi SM, Ghanaati H, Zare Mehrjardi N, Kazemi Ashtiani S, Malekzadeh R, Baharvand H. Phase 1 human trial of autologous bone marrow-hematopoietic stem cell transplantation in patients with decompensated cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3359-3363 [PMID: 17659676]
- Anzalone R, Lo Iacono M, Corrao S, Magno F, Loria T, Cappello F, Zummo G, Farina F, La Rocca G. New emerging potentials for human Wharton's jelly mesenchymal stem cells: immunological features and hepatocyte-like differentiative capacity. *Stem Cells Dev* 2010; 19: 423-438 [PMID: 19958166 DOI: 10.1089/scd.2009.0299]
- Kuo TK, Hung SP, Chuang CH, Chen CT, Shih YR, Fang SC, Yang VW, Lee OK. Stem cell therapy for liver disease: parameters governing the success of using bone marrow mesenchymal stem cells. *Gastroenterology* 2008; 134: 2111-2121, 2111-2121 [PMID: 18455168]
- Campard D, Lysy PA, Najimi M, Sokal EM. Native umbilical cord matrix stem cells express hepatic markers and differentiate into hepatocyte-like cells. *Gastroenterology* 2008; 134: 833-848 [PMID: 18243183 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.12.024]
- van Poll D, Parekkadan B, Cho CH, Berthiaume F, Nahmias Y, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules directly modulate hepatocellular death and regeneration in vitro and in vivo. *Hepatology* 2008; 47: 1634-1643 [PMID: 18395843 DOI: 10.1002/hep.22236]
- Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, Carter EA, Berthiaume F, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One* 2007; 2: e941 [PMID: 17895982 DOI: 10.1371/journal.pone.0000941]
- Erlandsson Harris H, Andersson U. Mini-review: The nuclear protein HMGB1 as a proinflammatory mediator. *Eur J Immunol* 2004; 34: 1503-1512 [PMID: 15162419 DOI: 10.1002/eji.200424916]
- Zhou RR, Liu HB, Peng JP, Huang Y, Li N, Xiao MF, Wang H, Fan XG. High mobility group box chromosomal protein 1 in acute-on-chronic liver

- failure patients and mice with ConA-induced acute liver injury. *Exp Mol Pathol* 2012; 93: 213-219 [PMID: 22609241 DOI: 10.1016/j.yexmp.2012.05.006]
- 10 刘洪波, 范学工, 黄建军, 李宁, 彭建萍, 李沙陵. 乙型肝炎患者血清高迁移率族蛋白1含量的检测及临床意义. *中华肝脏病杂志* 2007; 11: 812-815
- 11 刘婷, 贺永文. 高迁移率族蛋白B1在急性肝功能衰竭小鼠中的表达变化. *中华传染病杂志* 2010; 28: 209-213
- 12 Zhou RR, Zhao SS, Zou MX, Zhang P, Zhang BX, Dai XH, Li N, Liu HB, Wang H, Fan XG. HMGB1 cytoplasmic translocation in patients with acute liver failure. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 21 [PMID: 21406085 DOI: 10.1186/1471-230X-11-21]
- 13 易珍, 孙水林, 刘翠云, 雷延昌. 同种异体骨髓间充质干细胞对急性肝衰竭HMGB1的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1396-1401
- 14 陈煜, 时红波, 张帆, 丁美, 赵军, 刘旭华, 段钟平. TLR2、TLR4和TLR9在慢性重型肝炎患者及肝衰竭大鼠中的表达. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1320-1325
- 15 段美丽, 王彦军, 韩德五. 急性肝功能衰竭时肠黏膜屏障损伤的研究. *中国病理生理杂志* 1999; 15: 906-908
- 16 Rolando N, Wade J, Davalos M, Wendon J, Philpott-Howard J, Williams R. The systemic inflammatory response syndrome in acute liver failure. *Hepatology* 2000; 32: 734-739 [PMID: 11003617 DOI: 10.1053/jhep.2000.17687]
- 17 Tsung A, Sahai R, Tanaka H, Nakao A, Fink MP, Lotze MT, Yang H, Li J, Tracey KJ, Geller DA, Billiar TR. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 2005; 201: 1135-1143 [PMID: 15795240 DOI: 10.1084/jem.20042614]
- 18 Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakat JM, Ombrellino M, Che J, Frazier A, Yang H, Ivanova S, Borovikova L, Manogue KR, Faist E, Abraham E, Andersson J, Andersson U, Molina PE, Abumrad NN, Sama A, Tracey KJ. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 1999; 285: 248-251 [PMID: 10398600 DOI: 10.1126/science.285.5425.248]
- 19 Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 2002; 418: 191-195 [PMID: 12110890 DOI: 10.1038/nature00858]
- 20 Bonaldi T, Talamo F, Scaffidi P, Ferrera D, Porto A, Bachi A, Rubartelli A, Agresti A, Bianchi ME. Monocytic cells hyperacetylate chromatin protein HMGB1 to redirect it towards secretion. *EMBO J* 2003; 22: 5551-5560 [PMID: 14532127 DOI: 10.1093/emboj/cdg516]
- 21 Andersson U, Wang H, Palmblad K, Aveberger AC, Bloom O, Erlandsson-Harris H, Janson A, Kokkola R, Zhang M, Yang H, Tracey KJ. High mobility group 1 protein (HMG-1) stimulates proinflammatory cytokine synthesis in human monocytes. *J Exp Med* 2000; 192: 565-570 [PMID: 10952726 DOI: 10.1084/jem.192.4.565]
- 22 Raucci A, Palumbo R, Bianchi ME. HMGB1: a signal of necrosis. *Autoimmunity* 2007; 40: 285-289 [PMID: 17516211 DOI: 10.1080/08916930701356978]
- 23 赵中夫, 韩德五, 张芸, 王锋, 刘明社. 高迁移率族蛋白-1在实验性急性肝衰竭中的作用. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 388-389
- 24 彭建平, 范学工, 刘洪波. 慢性乙型肝炎患者高迁移率族蛋白-1 mRNA的表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 167-172
- 25 Tögel F, Hu Z, Weiss K, Isaac J, Lange C, Westenfelder C. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: F31-F42 [PMID: 15713913 DOI: 10.1152/ajprenal.00007.2005]
- 26 Ortiz LA, Dutreil M, Fattman C, Pandey AC, Torres G, Go K, Phinney DG. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the antiinflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 11002-11007 [PMID: 17569781 DOI: 10.1073/pnas.0704421104]
- 27 Milwid JM, Ichimura T, Li M, Jiao Y, Lee J, Yarmush JS, Parekkadan B, Tilles AW, Bonventre JV, Yarmush ML. Secreted factors from bone marrow stromal cells upregulate IL-10 and reverse acute kidney injury. *Stem Cells Int* 2012; 2012: 392050 [PMID: 23319959]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



pHBx-EGFP载体构建及其在肝癌Bel 7402细胞中的表达

李伟, 朱明月, 鲁琰, 朱丽琴, 董栩, 陈彬, 李孟森

■背景资料

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发生在世界性多发肿瘤中排第5位, 其致死率居致死性肿瘤的第3位。乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染在肝癌的发生发展过程中发挥重要作用, 但是HBV没有直接诱导肝细胞恶变的功能, 目前, 认为HBV基因组编码产物HBx蛋白与HCC发生密切相关。

李伟, 朱明月, 鲁琰, 朱丽琴, 董栩, 陈彬, 李孟森, 海南医学院肿瘤发生和干预重点实验室 海南省海口市 571199

李伟, 朱明月, 鲁琰, 董栩, 陈彬, 李孟森, 海南医学院分子生物学重点实验室 海南省海口市 571199

朱丽琴, 海南医学院基础医学院生物科学 海南省海口市 571199

李伟, 助理研究员, 主要从事肿瘤分子生物学方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81260306, 81160261, 31060164

教育部新世纪优秀人才基金资助项目, No. NCET-10-0124

教育部重点科技基金资助项目, No. 211146

海南省重点科技基金资助项目, No. DZXM20110038

海南省自然科学基金资助项目, Nos. 811208, 310044

海南省教育厅高等学校科学研究基金资助项目, No. Hjkj2011-30

海南医学院科研培育基金资助项目, No. HY2010-021

作者贡献分布: 李伟负责构建载体并转染细胞、检测蛋白质表达; 朱明月负责载体序列的测定和载体在细胞定位的观测; 鲁琰负责细胞培养, 检测载体的表达; 朱丽琴负责构建载体和转染细胞, 检测载体的表达; 董栩负责PCR引物的设计, 扩增载体的DNA以及酶切电泳; 陈彬负责细胞培养和数据分析; 李孟森负责研究内容的设计与数据分析; 本论文写作由李伟与李孟森完成。

通讯作者: 李孟森, 研究员, 571199, 海南省海口市龙华区学院路3号, 海南省肿瘤发生和干预重点实验室, 海南医学院分子生物学重点实验室. mengsenli@163.com

电话: 0898-66893780

收稿日期: 2013-05-22 修回日期: 2013-06-09

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Construction and identification of a green fluorescent protein expression vector carrying the HBx gene (pHBx-EGFP) and its expression in hepatocellular carcinoma cell line Bel 7402

Wei Li, Ming-Yue Zhu, Yan Lu, Li-Qin Zhu, Xu Dong, Yi Chen, Meng-Sen Li

Wei Li, Ming-Yue Zhu, Yan Lu, Li-Qin Zhu, Xu Dong, Yi Chen, Meng-Sen Li, Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China

Wei Li, Ming-Yue Zhu, Yan Lu, Xu Dong, Yi Chen, Meng-Sen Li, Hainan Key Laboratory of Molecular Biology, Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China

Li-Qin Zhu, Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81260306, 81160261, and 31060164; the Program for New Century Excellent Talents in University of China, No. NCET-10-0124; the Key Program of Science and Technology, Ministry of Education of China, No. 211146; the Key Program of Science and Technology of Hainan Province, No. DZXM20110038; the Natural Science

Foundation of Hainan Province, Nos. 811208 and 310044; the Scientific Research Project of Education Department of Hainan Province, No. Hjkj2011-30; the Research Cultivation Fund of Hainan Medical College, No. HY2010-021

Correspondence to: Meng-Sen Li, Professor, Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, Hainan Medical College, 3 Xueyuan Road, Longhua District, Haikou 571199, Hainan Province, China. mengsenli@163.com

Received: 2013-05-22 Revised: 2013-06-09

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To construct an eukaryotic expression vector carrying hepatitis B virus X (*HBx*) gene and enhanced green fluorescent protein gene (pHBx-EGFP), and to express it transiently in hepatocellular carcinoma (HCC) Bel 7402 cells for observing the expression and cellular localization of HBx-EGFP fusion protein and providing an experimental tool for investigating the function of *HBx* gene.

METHODS: pcDNA3.1-HBx was used to amplify the *HBx* gene fragment by polymerase chain reaction (PCR). Recombinant DNA technology was used to insert the HBx gene into the eukaryotic expression vector pEGFP to obtain a recombinant vector pHBx-EGFP. After the recombinant vector or pEGFP was transfected into Bel 7402 cells for 24 h, the expression and subcellular location of HBx-EGFP was detected under an inverted fluorescence microscope, and the expression of HBx protein in total cellular proteins was detected by Western blot.

RESULTS: Restriction digestion and DNA sequence analyses verified that the recombinant plasmid was constructed successfully. After the HBx-EGFP recombinant plasmid was transfected into Bel 7402 cells, it was found that HBx-EGFP was present in the perinuclear region, while EGFP was distributed throughout the cells. Western blot analysis demonstrated that EGFP and HBx were expressed efficiently.

CONCLUSION: A recombinant eukaryotic fluorescent expression vector carrying the *HBx* gene (pHBx-EGFP) has been constructed suc-

■同行评议者

于颖彦, 教授, 瑞金医院消化外科研究所与器官移植中心

cessfully, which could express EGFP and HBx in Bel 7402 cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma cells; Hepatitis B virus X gene; EGFP

Li W, Zhu MY, Lu Y, Zhu LQ, Dong X, Chen Y, Li MS. Construction and identification of a green fluorescent protein expression vector carrying the HBx gene (pHBx-EGFP) and its expression in hepatocellular carcinoma cell line Bel 7402. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2016-2022 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2016.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2016>

摘要

目的: 构建乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)-X蛋白(hepatitis B virus x protein, HBx)和增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)真核融合蛋白表达载体(pHBx-EGFP), 转染肝癌Bel 7402细胞, 观察其表达和定位, 为进一步研究HBx功能提供工具。

方法: 以pcDNA3.1-HBx为模板, 应用PCR和DNA重组技术构建增强型绿色荧光蛋白HBx-EGFP融合蛋白表达载体pHBx-EGFP, 经脂质体转染Bel 7402细胞, 应用倒置荧光显微镜观察融合蛋白表达和定位; 同时提取转染pHBx-EGFP 24 h后的Bel 7402细胞总蛋白, 应用Western blot技术, 鉴定HBx在细胞的表达情况。

结果: 成功扩增HBx片段插入pEGFP载体, 经酶切验证后测序正确; pHBx-EGFP转染Bel 7402细胞24 h后, 荧光显微镜下观察显示HBx-EGFP存在于细胞核周区域, 而EGFP则弥散分布于整个细胞; Western blot得到HBx-EGFP、EGFP和HBx目的条带。

结论: 成功构建pHBx-EGFP真核重组蛋白表达载体, 通过检测绿色荧光蛋白标记显示其在Bel 7402细胞中表达及定位, 并证实pHBx-EGFP载体能在Bel 7402细胞正确表达。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝癌细胞; 乙型肝炎病毒x基因; 增强型绿色荧光蛋白

核心提示: 本研究成功构建pHBx-EGFP真核重组蛋白表达载体, 通过检测绿色荧光蛋白标记显示其在Bel 7402细胞中表达及定位, 并通过Western blot证实pHBx-EGFP载体能在Bel 7402细胞内正

确表达. 将为研究HBx在肝癌发生过程中的作用机制奠定前期的工作基础。

李伟, 朱明月, 鲁琰, 朱丽琴, 董棚, 陈彬, 李孟森. pHbX-EGFP载体构建及其在肝癌Bel 7402细胞的表达. *世界华人消化杂志* 2013; 21(21): 2016-2022 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2016.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2016>

0 引言

慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是导致肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发生的主要危险因素之一, 据统计HCC中有55%的病例与HBV感染相关, 并且发病呈逐年上升趋势^[1]. 虽然HBV的确切致癌机制尚未完全阐明, 但目前认为HBV-X基因及其产物X蛋白(hepatitis B virus X, HBx)在HCC的发生过程中起着至关重要的作用^[2,3]. 在慢性HBV感染携带者的肝细胞中经常可检测到HBV DNA整合宿主染色体中^[4], 但是HBV没有直接诱导肝细胞恶变的功能, 其可通过HBx转录本的积累诱导多种与肿瘤相关基因的异常表达, 这些基因涉及细胞信号转导、细胞周期控制以及细胞迁徙和转移等功能^[5-7], 提示HBx在肝癌发生过程中扮演重要角色. 为了简单直观的了解HBx在HCC发生发展中的生物学功能, 本研究根据EGFP蛋白的特殊性质, 将HBx与EGFP构建融合蛋白, 导入肝癌细胞中观察HBx在细胞中的表达和定位, 为进一步研究HBx在HCC发生过程中的作用机制提供基础。

1 材料和方法

1.1 材料 肝癌细胞系Bel 7402细胞和pcDNA3.1-HBx质粒本实验室保存; pEGFP质粒购自长沙赢润生物技术有限公司; DH5 α 感受态细胞购自北京全式金生物技术有限公司; 限制性内切酶Hind III和EcoR I购自New England Biolabs公司; pMD18-T Simple载体和PCR TaqTM购自TaKaRa公司; GFP单克隆抗体购自碧云天生物技术研究; 细胞培养基DMEM为GIBCO干粉, 胎牛血清购自索莱宝科技有限公司; 转染试剂LIPO-FECTAMINETM 2000购自Invitrogen公司; HBx单克隆抗体购自Abcom公司。

1.2 方法

1.2.1 pHbX-EGFP载体构建: 设计包含有酶切位点的引物, 上游引物含有Hind III酶切位点

■ 研发前沿

HBV基因组编码产物HBx蛋白与HCC的发生发展密切相关. HBx是一种多功能蛋白, 通过蛋白间的相互作用或反式激活功能而作用于宿主细胞的增殖、凋亡、侵袭和转移等. 但其参与HCC发生的具体机制还有待进一步阐明。

■ 创新盘点

本文在保证不发生移码突变的前提下,将HBx基因插入EGFP的前端,因HBx紧靠启动子,后接绿色荧光蛋白(enhance green fluorescent protein, EGFP),只要观察到绿色荧光,说明插入EGFP前端的HBx一定已经表达;为进一步验证HBx蛋白表达正确,我们又应用两种抗体通过Western blot检测出现正确的目的条带。

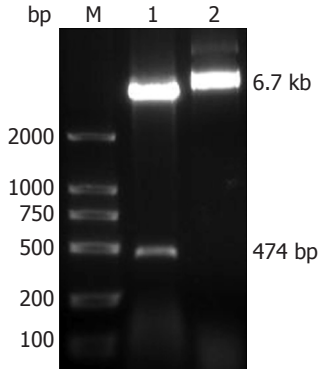


图1 pHBx-EGFP真核表达载体酶切鉴定。M: DNA Marker; 1: pHBx-EGFP载体用Hind III+EcoR I消化; 2: pEGFP载体用Hind III+EcoR I消化。EGFP: 增强型绿色荧光蛋白; HBx: 乙型肝炎病毒-X蛋白。

5'-AAGCTTATGGCTGCTAGGCTGTGCTG-3', 下游引物含有EcoR I酶切位点5'-GAATTC-GGGCAGAGGTGAAAAAGTTG-3'。将HBx基因开放读码框(open read frame, ORF)中的TAA终止密码子去除,保持pEGFP载体中的三联密码子阅读框不发生移位。引物由上海生工生物工程有限公司合成。PCR体系为50 μ L,以pcDNA3.1-HBx质粒1 μ L为模板,PCR反应条件95 $^{\circ}$ C预变性5 min,循环开始于95 $^{\circ}$ C变性30 s,56 $^{\circ}$ C退火30 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s,共30个循环,72 $^{\circ}$ C延伸5 min。PCR产物胶回收,插入pMD18-simple载体构建TA克隆,PCR验证。构建好的TA克隆和pEGFP质粒各自以Hind III和EcoR I双酶切,分别将胶回收的小片段和大片段进行连接,连接产物转化大肠杆菌DH5 α 感受态细胞。菌落PCR验证插入片段,挑选3株扩增出目的片段的菌株,摇菌扩增提取质粒Hind III和EcoR I双酶切,产物电泳出现目的片段的菌株,扩增送上海生工生物工程有限公司测序。将测序结果进行BLAST比对。将已鉴定质粒在DH5 α 中扩增,并用无内毒素质粒大试剂盒制备转染用重组载体。

1.2.2 Bel 7402细胞的培养及重组载体的脂质体转染: Bel 7402细胞在含10%FBS的DMEM培养液(高糖)(10万U/L的青霉素和链霉素)中,置于37 $^{\circ}$ C、5%CO₂培养箱中培养,每2-3 d换液或传代1次。转染前24 h,以3 \times 10⁵细胞接种6孔板。转染步骤参照LipofectamineTM 2000说明书进行,每孔DNA用量为4 μ g, LipofectamineTM 2000用10 μ L。以不转染载体细胞组为对照,分别转染pEGFP空载体和pHBx-EGFP融合载体,转染后培养24 h。

1.2.3 倒置荧光显微镜观察: 将消化后Bel 7402

细胞悬液接种至6孔板,待转染pEGFP或pHBx-EGFP的Bel 7402细胞在6孔板中培养24 h,以倒置荧光显微镜进行细胞观察,激发光的波长488 nm。将细胞产生的荧光以冷CCD成像,并以彩色(绿色)显示荧光。

1.2.4 Western blot: 预冷的PBS洗细胞,1 mL PBS刮下收集细胞,离心收集,使用RIPA裂解液提取转染24 h细胞总蛋白,Bradford法定量,取60 μ g蛋白上样,8%SDS-PAGE胶电泳,40 V转膜3 h, PBS洗膜10 min,洗3次,5%脱脂奶粉封闭2 h, PBST洗膜3次,每次10 min, HBx或GFP一抗4 $^{\circ}$ C过夜孵育,同样方法洗膜,二抗室温孵育2 h, PBST洗膜3次, ECL发光仪成像。

2 结果

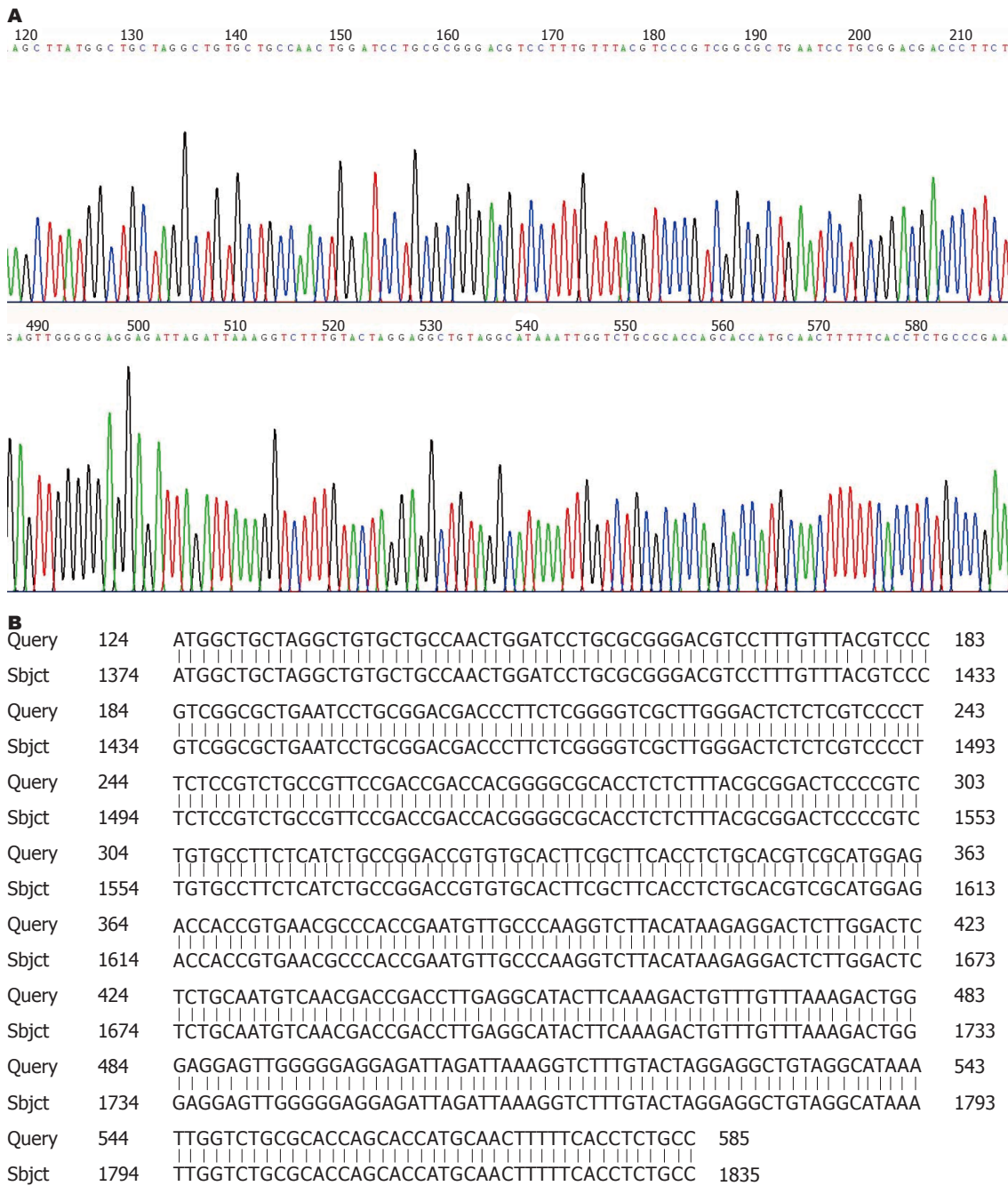
2.1 pHBx-EGFP重组载体双酶切及测序 从转化pHBx-EGFP的DH5 α 菌液中提取重组子质粒,通过Hind III+EcoR I双酶切后,0.8%琼脂糖TBE电泳可见线性化质粒约为6.7 kb的质粒条带和474 bp的目的条带(图1)。选取酶切鉴定出现目的片段的转化子进行测序,对测序结果进行BLAST,序列分析证实,所克隆的DNA序列为已去除TAA终止密码子的HBx基因编码区全长序列(图2),该基因GenBank登录号为AB210819,结果显示成功构建了pHBx-EGFP重组质粒。

2.2 HBx-EGFP融合蛋白在Bel 7402中的表达及亚细胞定位 将空质粒pEGFP和重组质粒pHBx-EGFP分别转染人肝癌Bel 7402细胞,转染24 h后倒置荧光显微镜观察转染情况,并以未转染的细胞做空白对照。如图3E和H所示,转染空质粒pEGFP和重组质粒pHBx-EGFP的细胞中均出现绿色荧光蛋白表达,可见pEGFP空载体转染表达的绿色荧光蛋白在Bel 7402细胞中弥散、均匀分布(图3F),而重组载体pHBx-EGFP表达的融合蛋白在Bel 7402细胞中主要分布于细胞核区域,并在核周(膜)边缘上有不连续分布现象(图3I)。

2.3 Western blot分析HBx-EGFP融合蛋白在Bel 7402中的表达 融合蛋白分子量约44 kDa,EGFP分子量为27 kDa。应用GFP抗体检测的结果如图4A所示,转染HBx-EGFP融合载体的条带明显与对照EGFP的条带大小不同,与预期结果相同;应用HBx抗体结果如图4B所示,只有转染HBx-EGFP融合载体的细胞蛋白有条带出现,大小与预期相同。

3 讨论

HCC的发生在世界性多发肿瘤中排第5位,其



应用要点
 本研究成功构建的融合载体, 不仅在探索HBV诱导肝癌发生过程中可应用载体分析HBx对肝细胞恶性转化的作用, 而且携带EGFP载体对细胞转染效率和表达带来很大的方便, 成功构建pHBx-EGFP融合载体将为研究HBx在肝癌发生过程中的作用机制奠定了前期的工作基础。

图 2 重组载体HBx部分测序图及BLAST比对结果. A: 构建的载体经基因测序的HBx部分序列; B: 基因库里的HBx序列与测序结果进行BLAST比对. HBx: 乙型肝炎病毒-X蛋白.

致死率仅次于肺癌和胃癌, 居致死性肿瘤的第3位^[8]. HBV感染在肝癌的发生发展过程中发挥重要作用^[9-11]. 其基因组编码产物之一HBx蛋白, 在HCC患者血清和组织中检测到抗HBx抗体和抗原, 表明其与HCC的发生发展密切相关^[12]. HBx直接导致HCC的实验证据较少, 只有少数实验证实, 在转基因鼠研究中, 导入HBx基因可直接诱导HCC的发生^[13]. 新近研究报道, HBx与aflatoxin B1转基因斑马鱼模型中协同导致肝炎、脂肪变性 and 过度增生^[14]. 多数研究认为, HBx是一种

多功能蛋白, 可以通过多种途径诱导肝癌形成, 通过蛋白间的相互作用影响目的蛋白在细胞内的正常功能^[15,16], 或者通过反式激活功能影响基因表达而作用于宿主细胞的增殖、凋亡、侵袭和转移等^[5-7]. HBx除了对蛋白功能及基因表达的影响, 近期报道发现HBx还可以影响小RNA(miRNA)的表达, 进而导致其下游靶分子功能异常, 如HBx能够介导miRNA-21的上调从而抑制抑癌因子的功能^[17], 而HBx通过表观修饰抑制miR-132的表达介导肝癌的发生^[18], 因此, 影响

同行评价

本文思路清晰, 研究步骤详尽, 对于从事肝脏疾病研究、病毒研究以及肿瘤基础研究具有一定的参考价值。

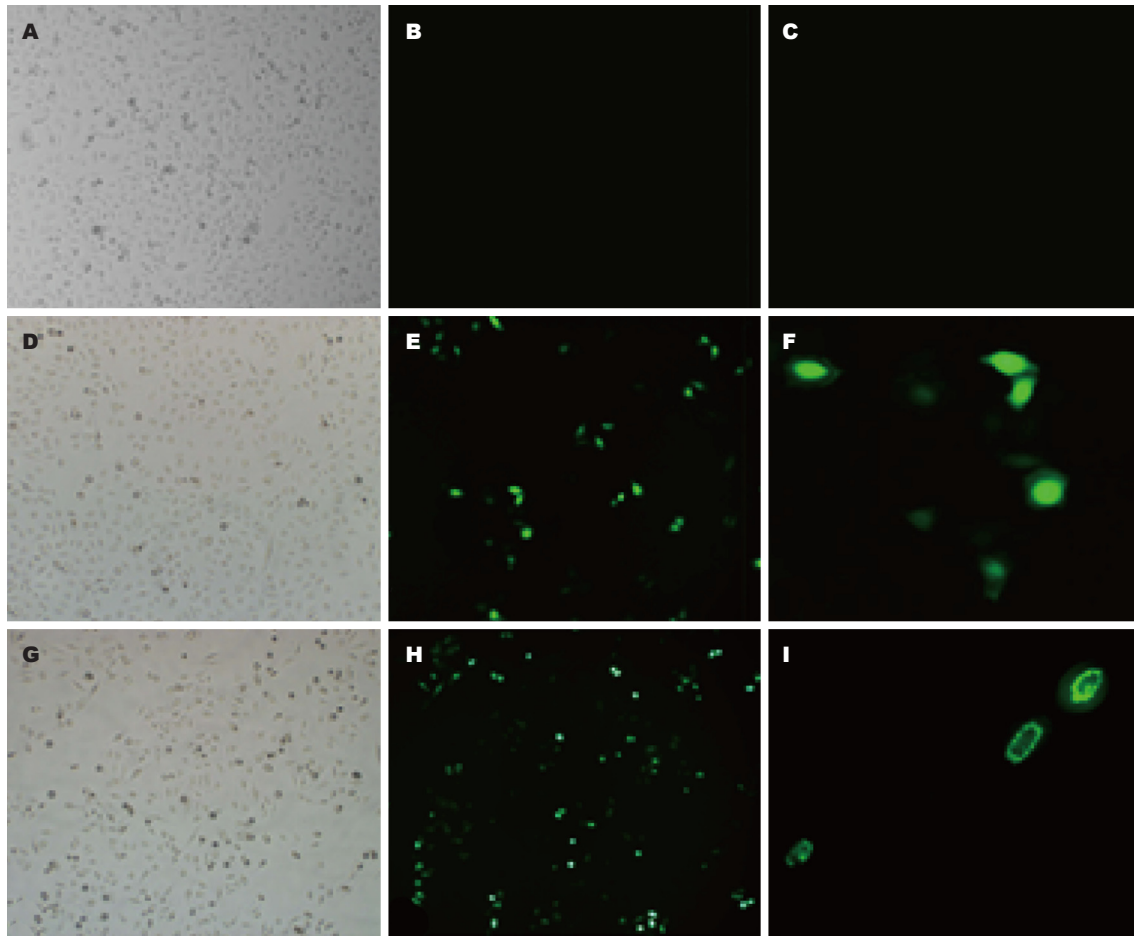


图3 pEGFP和pHBx-EGFP转染Bel 7402细胞的倒置荧光显微镜观察. A, D, G: 可见光下观察的细胞; B, C, E, F, H, I: 荧光下观察的细胞; A-C: 没有转染载体的Bel 7402(空白对照); D-F: Bel 7402转染pEGFP载体; G-I: Bel 7402转染pHBx-EGFP融合基因载体. A, B, C, D, E, G, H($\times 100$); F, I分别是E和H的放大图像($\times 400$), $n = 3$. EGFP: 增强型绿色荧光蛋白; HBx: 乙型肝炎病毒-X蛋白.

miRNA表达调控可能是HBx参与HCC发生的又一途径. 虽然, HBx与肝癌的发生密切相关, *HBV X*基因及其产物HBx在HCC的发生过程中起着至关重要的作用, 但是, 其具体的作用机制还不十分明确. 因此, 进一步研究HBx的功能及在肝癌细胞中的作用, 有助于理解HBV影响肝癌发生发展的机制, 为HBV相关性肝癌的预防和治疗提供线索.

HBx蛋白不同的细胞定位可能使它具有不同的功能^[19,20]. HBx低表达时, HBx主要定位于核内, 在核内起着辅助反式激活转录因子的作用; 高水平表达时聚集在胞质中, 与蛋白质相互作用激活信号传导通路. 绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)是最早发现并应用的荧光蛋白, 其突变体荧光强度比野生型GFP强, 增强型绿色荧光蛋白EGFP就是其突变体的一种^[21], 其荧光强度高, 表达稳定, 构建载体和检测方便, 表达调控简单, 生物安全性好, 是目前应用最广泛

的荧光蛋白之一. HBx是一种由154氨基酸组成的约有17 kDa大小的小分子病毒基因产物, 在分子检测方面存在一定的困难, 为方便快捷的明确HBx在细胞中的表达和定位, 在本研究中, 我们根据EGFP的特点, 将HBx插入EGFP之前, 保证不发生移码突变, 构建HBx-EGFP融合蛋白, 酶切结果和测序结果显示在构建的融合表达载体中, 确实有HBx基因序列的存在; 在Bel 7402细胞转染pHBx-EGFP载体后, 发现转染重组质粒的细胞中有绿色荧光, 说明质粒成功转入细胞并有蛋白质的表达. 本研究结果显示, HBx-EGFP定位明显与EGFP不同, 融合蛋白24 h多表达于核周, 与彭亮等^[22]的研究结果相一致, 但48 h后趋向于全细胞不连续点状分布(结果未提供). 应用Western blot的方法进一步验证HBx-EGFP表达, 我们先用可识别EGFP抗原的GFP抗体杂交, 得到分子量不同的目的条带, 显示在EGFP的位置不仅能检测到EGFP条带, 也能检测到融合蛋白发生断裂

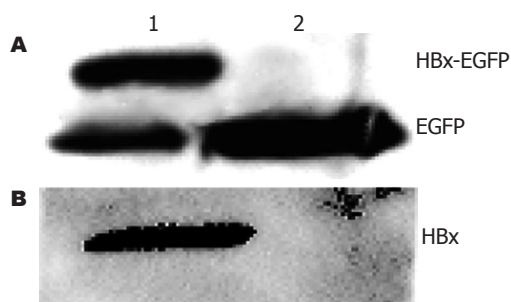


图 4 HBx-EGFP融合蛋白在Bel 7402细胞中的表达。A: 应用GFP一抗检测蛋白质的表达; B: 应用HBx一抗检测蛋白质的表达。1: 转染pHBx-EGFP融合载体的蛋白质; 2: 转染pEGFP空载体的蛋白。EGFP: 增强型绿色荧光蛋白; HBx: 乙型肝炎病毒-X蛋白。

的EGFP条带; 但使用HBx特异性抗体识别融合蛋白中的HBx结果中, 显示只有HBx蛋白条带出现, 说明构建的载体不仅有融合蛋白表达, 更重要的是HBx蛋白的表达能单独、完整的出现, 提示构建的载体能准确的表达HBx。

HBx对肝细胞的增殖和凋亡存在双向作用^[23,24]。HBx可通过抑制细胞凋亡导致HCC发生^[25,26], 但其他多项研究也表明HBx能诱导和促进细胞凋亡^[27,28], 并且凋亡率与HBx表达量呈正相关^[29]。HBx基因在肝细胞凋亡方面发挥着不同的作用^[30,31]。在早期阶段, 可能抑制凋亡, 促进肝细胞的增生; 在后期, 促进凋亡, 加速病毒的复制与播散。在本实验中我们发现, 与转染空载体的细胞相比, 转染HBx-EGFP融合质粒的细胞折光增强, 变圆变小, 随时间增加转入融合质粒的细胞生长状态更差, 说明HBx-EGFP融合蛋白对细胞存在一定的毒性作用, 但这种机制是否由于HBx自身的作用导致并不清楚, 这是值得进一步探讨的问题。本研究结果显示我们构建的载体能准确的表达HBx, 由于HBx在HBV相关性肝癌中发挥重要作用, 而且HBV感染后通过HBx诱导肝细胞恶性转化, 所以本研究成功构建的融合载体, 不仅在探索HBV诱导肝癌发生过程中可应用载体分析HBx对肝细胞恶性转化的作用, 而且携带EGFP载体对细胞转染效率和表达带来很大的方便和直观; 目前研究发现, 微生物有诱导成熟体细胞自然重编程现象, 乙型肝炎病毒也有诱导肝细胞重编程促使细胞向恶性方向转化的可能, 所以成功构建pHBx-EGFP融合载体将为研究HBx在肝癌发生过程中的作用机制奠定了前期的工作基础。

4 参考文献

- 1 Kew MC. Epidemiology of chronic hepatitis B virus infection, hepatocellular carcinoma, and hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *Pathol Biol (Paris)* 2010; 58: 273-277 [PMID: 20378277 DOI: 10.1016/j.patbio.2010.01.005]
- 2 Benhenda S, Cougot D, Buendia MA, Neuveut C. Hepatitis B virus X protein molecular functions and its role in virus life cycle and pathogenesis. *Adv Cancer Res* 2009; 103: 75-109 [PMID: 19854353 DOI: 10.1016/S0065-230X(09)03004-8]
- 3 Kew MC. Hepatitis B virus x protein in the pathogenesis of hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 144-152 [PMID: 21199526 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06546.x]
- 4 Ng RK, Lau CY, Lee SM, Tsui SK, Fung KP, Waye MM. cDNA microarray analysis of early gene expression profiles associated with hepatitis B virus X protein-mediated hepatocarcinogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 322: 827-835 [PMID: 15336538 DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.07.188]
- 5 邵冰, 杨佳琦, 曹博, 王巨, 张华萍, 王滨有. HBx在原发性肝细胞癌致病机制中的作用. *中华疾病控制杂志* 2011; 15: 241-245
- 6 Ng SA, Lee C. Hepatitis B virus X gene and hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol* 2011; 46: 974-990 [PMID: 21647825 DOI: 10.1007/s00535-011-0415-9]
- 7 Matsuda Y, Ichida T. Impact of hepatitis B virus X protein on the DNA damage response during hepatocarcinogenesis. *Med Mol Morphol* 2009; 42: 138-142 [PMID: 19784739 DOI: 10.1007/s00795-009-0457-8]
- 8 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2557-2576 [PMID: 17570226 DOI:10.1053/j.gastro.2007.04.061]
- 9 Pan CQ, Zhang JX. Natural History and Clinical Consequences of Hepatitis B Virus Infection. *Int J Med Sci* 2005; 2: 36-40 [PMID: 15968338 DOI: 10.7150/ijms.2.36]
- 10 Kim BK, Han KH, Ahn SH. Prevention of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Oncology* 2011; 81 Suppl 1: 41-49 [PMID: 22212935 DOI: 10.1159/000333258]
- 11 Fallot G, Neuveut C, Buendia MA. Diverse roles of hepatitis B virus in liver cancer. *Curr Opin Virol* 2012; 2: 467-473 [PMID: 22722078 DOI: 10.1016/j.coviro.2012.05.008]
- 12 Hwang GY, Lin CY, Huang LM, Wang YH, Wang JC, Hsu CT, Yang SS, Wu CC. Detection of the hepatitis B virus X protein (HBx) antigen and anti-HBx antibodies in cases of human hepatocellular carcinoma. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 5598-5603 [PMID: 14662947 DOI: 10.1128/JCM.41.12.5598-5603.2003]
- 13 Kim CM, Koike K, Saito I, Miyamura T, Jay G. HBx gene of hepatitis B virus induces liver cancer in transgenic mice. *Nature* 1991; 351: 317-320 [PMID: 2034275 DOI: 10.1038/351317a0]
- 14 Lu JW, Yang WY, Lin YM, Jin SL, Yuh CH. Hepatitis B virus X antigen and aflatoxin B1 synergistically cause hepatitis, steatosis and liver hyperplasia in transgenic zebrafish. *Acta Histochem* 2013 Mar 14. [Epub ahead of print] [PMID: 23499292 DOI: 10.1016/j.acthis.2013.02.012]
- 15 Lim KH, Choi HS, Park YK, Park ES, Shin GC, Kim DH, Ahn SH, Kim KH. HBx-induced NF- κ B signaling in liver cells is potentially mediated by the ternary complex of HBx with p22-FLIP and NEMO. *PLoS One* 2013; 8: e57331 [PMID: 23483900 DOI: 10.1371/journal.pone.0057331]

- 10.1371/journal.pone.0057331]
- 16 Song K, Han C, Zhang J, Lu D, Dash S, Feitelson M, Lim K, Wu T. Epigenetic regulation of miR-122 by PPAR γ and hepatitis B virus X protein in hepatocellular carcinoma cells. *Hepatology* 2013 May 23. [Epub ahead of print] [PMID: 23703729 DOI: 10.1002/hep.26514]
- 17 Qiu X, Dong S, Qiao F, Lu S, Song Y, Lao Y, Li Y, Zeng T, Hu J, Zhang L, Zhang L, Fan H. HBx-mediated miR-21 upregulation represses tumor-suppressor function of PDCD4 in hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2013; 32: 3296-3305 [PMID: 23604124 DOI: 10.1038/onc.2013.150]
- 18 Wei X, Tan C, Tang C, Ren G, Xiang T, Qiu Z, Liu R, Wu Z. Epigenetic repression of miR-132 expression by the hepatitis B virus x protein in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Cell Signal* 2013; 25: 1037-1043 [PMID: 23376496 DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.01.019]
- 19 Henkler F, Hoare J, Waseem N, Goldin RD, McGarvey MJ, Koshy R, King IA. Intracellular localization of the hepatitis B virus HBx protein. *J Gen Virol* 2001; 82: 871-882 [PMID: 11257193]
- 20 Ma J, Sun T, Park S, Shen G, Liu J. The role of hepatitis B virus X protein is related to its differential intracellular localization. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2011; 43: 583-588 [PMID: 21693548 DOI: 10.1093/abbs/gmr048]
- 21 邓超, 黄大昉, 宋福平. 绿色荧光蛋白及其应用. *中国生物工程杂志* 2011; 31: 96-102
- 22 彭亮, 张瑞, 赵晶, 闵婕, 蒲长宇, 周后龙, 杨安钢, 冯英明. 不同结构形式的HBX蛋白对其在肝细胞癌HepG2中分布的影响. *细胞与分子免疫学杂志* 2011; 27: 611-614
- 23 Assrir N, Soussan P, Kremsdorf D, Rossignol JM. Role of the hepatitis B virus proteins in pro- and anti-apoptotic processes. *Front Biosci* 2010; 15: 12-24 [PMID: 20036802 DOI: 10.2741/3601]
- 24 Lee WP, Lan KH, Li CP, Chao Y, Lin HC, Lee SD. Pro-apoptotic or anti-apoptotic property of X protein of hepatitis B virus is determined by phosphorylation at Ser31 by Akt. *Arch Biochem Biophys* 2012; 528: 156-162 [PMID: 22982405 DOI: 10.1016/j.abb.2012.08.008]
- 25 Liu H, Yuan Y, Guo H, Mitchelson K, Zhang K, Xie L, Qin W, Lu Y, Wang J, Guo Y, Zhou Y, He F. Hepatitis B virus encoded X protein suppresses apoptosis by inhibition of the caspase-independent pathway. *J Proteome Res* 2012; 11: 4803-4813 [PMID: 22871131 DOI: 10.1021/pr2012297]
- 26 Wang X, Yang L, She JJ, Fan HM, Zhang FC, Chen YM, Xie QF. [Hepatitis B virus X protein suppresses adriamycin-induced apoptosis of hepatocellular carcinoma cells and expression of p53 and PTEN]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2010; 30: 1775-1778 [PMID: 20813662]
- 27 张生君, 王小众. HBx对肝细胞凋亡的双向调控及机制. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 2424-2428
- 28 He P, Zhang D, Li H, Yang X, Li D, Zhai Y, Ma L, Feng G. Hepatitis B virus X protein modulates apoptosis in human renal proximal tubular epithelial cells by activating the JAK2/STAT3 signaling pathway. *Int J Mol Med* 2013; 31: 1017-1029 [PMID: 23483208 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1295]
- 29 Yang CH, Cho M. Hepatitis B virus X gene differentially modulates cell cycle progression and apoptotic protein expression in hepatocyte versus hepatoma cell lines. *J Viral Hepat* 2013; 20: 50-58 [PMID: 23231084 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2012.01625.x]
- 30 Rawat S, Clippinger AJ, Bouchard MJ. Modulation of apoptotic signaling by the hepatitis B virus X protein. *Viruses* 2012; 4: 2945-2972 [PMID: 23202511 DOI: 10.3390/v4112945]
- 31 Wei Y, Neuveut C, Tiollais P, Buendia MA. Molecular biology of the hepatitis B virus and role of the X gene. *Pathol Biol (Paris)* 2010; 58: 267-272 [PMID: 20483545 DOI: 10.1016/j.patbio.2010.03.005]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



胰腺癌放疗对胃、十二指肠黏膜损伤的胃镜观察31例

薛安静, 周平, 王济东, 夏廷毅

薛安静, 周平, 王济东, 夏廷毅, 中国人民解放军空军总医院
肿瘤放疗科 北京市 100142

薛安静, 在读硕士, 主要从事消化系肿瘤的研究.

作者贡献分布: 主要实验、病例选择、数据分析及文章起草由
薛安静完成; 课题设计、文章修改及审阅由周平、王济东及夏
廷毅完成.

通讯作者: 周平, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30
号, 中国人民解放军空军总医院肿瘤放疗科.

zhouping4946@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-05-03 修回日期: 2013-05-28

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Gastric or duodenal injury induced by radiotherapy for pancreatic carcinoma: An analysis of 31 cases

An-Jing Xue, Ping Zhou, Ji-Dong Wang, Ting-Yi Xia

An-Jing Xue, Ping Zhou, Ji-Dong Wang, Ting-Yi Xia,
Department of Radiotherapy, Air Force General Hospital,
Beijing 100142, China

Correspondence to: Ping Zhou, Associate Chief Physi-
cian, Department of Radiotherapy, Air Force General Hos-
pital, 30 Fucheng Road, Haidian District,
China. zhouping4946@yahoo.com.cn

Received: 2013-05-03 Revised: 2013-05-28

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To observe gastric or duodenal mucosal injury induced by radiotherapy in patients with pancreatic carcinoma and to analyze possible influencing factors.

METHODS: Thirty-one patients with pancreatic carcinoma who underwent gastroscopy after radiotherapy were included. Their clinical symptoms were graded according to RTOG/EORTC. Gastroscopic findings were graded as I-IV. All patients underwent endoscopic biopsy for histopathological examination. Factors influencing radiotherapy-induced gastric or duodenal mucosal injury were analyzed.

RESULTS: Main clinical symptoms included abdominal distension, anorexia, acid reflux, nausea, vomiting, and abdominal pain. Endoscopic analysis indicated that 4 cases were classified as

grade I (no gastric or duodenal mucosa injury), 6 cases as grade II (mild gastric or duodenal mucositis), 3 cases as grade III (erosive gastritis), and 17 cases as grade IV (including 6 with gastric ulcer, 1 with gastric ulcer and gastric antral deformation, 5 with duodenal ulcer, 1 with anastomotic ulcer, and 4 with duodenal ulcer and narrowing). Endoscopic biopsy and histopathological analysis proved that all cases had inflammatory or ulcerative changes. The rates of detection of gastric or duodenal mucosa injury by γ -ray, 3-D, TOMO or gastroscopy were: γ -ray therapy vs 3-D (80.0% vs 80.0%, $P > 0.0167$), γ -ray therapy vs TOMO (80.0% vs 72.7%, $P > 0.0167$), and 3-D vs TOMO (80.0% vs 72.7%, $P > 0.0167$). When γ -ray radiotherapy dose was 51 Gy (10 cases), 48 Gy (3 cases) and 45 Gy (2 cases), the rates of gastric or duodenal mucosal injury were 90%, 100% and 100%, respectively. The rate of gastric or duodenal mucosal injury did not differ significantly between patients who underwent surgery ($n = 16$) and those who did not undergo ($n = 15$) (87.5% vs 66.7%, $P > 0.05$), between patients receiving concurrent chemoradiotherapy ($n = 9$) and those not receiving ($n = 22$) (66.7% vs 91.9%, $P > 0.05$), between those receiving amifostine during radiotherapy ($n = 10$) and not receiving ($n = 15$) (85.7% vs 82.4%, $P > 0.05$), or between patients having co-morbidities (e.g., diabetes mellitus, hypertension, or inflammatory bowel disease) ($n = 14$) and those not having ($n = 17$) (78.6% vs 76.5%, $P > 0.05$). In contrast, the rate of gastric or duodenal mucosal injury differed significantly between patients given gastrointestinal mucosal protective agents during radiotherapy ($n = 16$) and those not given ($n = 15$) (68.7% vs 100%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Gastroscopy is a preferred modality for the detection of gastric or duodenal injury induced by radiotherapy in patients with pancreatic carcinoma. High radiation dose is associated with a higher incidence of gastric or duodenal mucosal injury. The use of gastric or duodenal mucosal protective agents is a favorable factor for radiotherapy-induced gastric or duodenal mucosal injury. Radiotherapy techniques, amifostine, abdominal surgery or chronic com-

■背景资料

胰腺癌发病率逐渐升高, 且手术切除率低, 术后复发率高, 对于失去手术切除机会及术后复发的中晚期胰腺癌, 放化疗是其主要治疗手段, 近年来放疗技术的发展, 使得越来越多的胰腺癌患者接受放疗, 但由于胰腺癌本身的解剖关系, 以及对放疗剂量较高的要求, 使得放疗引起的胃、十二指肠黏膜损伤不可避免, 既往由于缺乏客观的观察指标, 对放疗引起的胃、十二指肠黏膜损伤关注不足, 因此我们期望寻求一种客观的观察指标以直观观察胃、十二指肠黏膜损伤.

■同行评议者

潘阳林, 副主任医师, 副教授, 中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

■ 研发前沿

目前对放疗导致的胃、十二指肠黏膜损伤的研究集中在对损伤的治疗,以改善患者生活质量。

plications have no significant impact on gastric or duodenum injury induced by radiation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic carcinoma; Radiotherapy-induced injury; Gastroscopy

Xue AJ, Zhou P, Wang JD, Xia TY. Gastric or duodenal injury induced by radiotherapy for pancreatic carcinoma: An analysis of 31 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2023-2030 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2023.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2023>

摘要

目的: 探讨胰腺癌放疗导致胃、十二指肠黏膜放射性损伤及其影响因素。

方法: 收集我院胰腺癌放疗后行胃镜检查的31例患者,临床症状根据RTOG/EORTC进行分期,胃镜观察采用内镜分级分为I级-IV级,所有病例均行内镜下组织病理学活检。对胰腺癌放疗导致的胃、十二指肠黏膜放射性损伤的影响因素进行统计学分析。

结果: 临床症状观察主要以腹胀、恶心、呕吐、腹痛、出血等急性期胃肠道反应为主。胃镜观察: I级胃、十二指肠黏膜正常4例; II级轻度胃、十二指肠黏膜炎6例; III级糜烂性胃炎3例; IV级病变包括: 单纯胃溃疡6例,胃溃疡伴胃窦变形1例; 单纯十二指肠溃疡5例,吻合口溃疡1例,十二指肠溃疡合并狭窄4例。所有病例均经胃镜下组织病理学活检,符合炎症或溃疡性改变。 γ -刀、3-D、TOMO 3种不同放疗技术对比结果显示: γ -刀对比3-D总病变率(80.0% vs 80.0%, $P>0.0167$); γ -刀对比TOMO总病变率(80.0% vs 72.7%, $P>0.0167$); 3-D对比TOMO总病变率(80.0% vs 72.7%, $P>0.0167$)。 γ -刀不同放疗剂量对比,总病变率为(90% vs 100% vs 100%), 3组结果分别比较 $P<0.0167$ 。放疗前手术组16例,非手术组15例,总病变率(87.5% vs 66.7%, $P>0.05$)。同步GEM化疗9例,非同步化疗22例,总病变率(66.7% vs 91.9%, $P>0.05$)。预防应用胃肠黏膜保护药物16例,未预防应用胃肠黏膜保护药物15例,总病变率为(68.7% vs 100%, $P<0.05$)。放疗期间使用氨磷汀14例,未使用氨磷汀17例,总病变率为(85.7% vs 82.4%, $P>0.05$)。有慢性合并症患者14例,无慢性合并症患者17例,总病变率为(78.6% vs 76.5%, $P>0.05$)。

结论: 本研究胃镜观察结果显示胰腺癌放疗

后胃、十二指肠黏膜放射性损伤发生率高,病变以胃黏膜糜烂、溃疡,十二指肠黏膜溃疡、狭窄等中重度病变为主。对影响放射性胃、十二指肠黏膜损伤因素分析显示: 随着放疗剂量的增加,胃、十二指肠黏膜损伤加重; 预防使用胃肠黏膜保护药物可以减少放射性胃、十二指肠黏膜损伤的病变率,差异有统计学意义; 但不同放疗技术、是否应用氨磷汀、是否有腹部手术史、是否有慢性合并症对放射性胃、十二指肠黏膜放射性损伤病变率比较无统计学差异。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胰腺癌; 放疗损伤; 胃镜

核心提示: 以胃镜客观评估放疗引起的胃、十二指肠黏膜损伤,分析影响放射性损伤的影响因素,以进一步指导治疗,减少放射性损伤的发生。

薛安静, 周平, 王济东, 夏廷毅. 胰腺癌放疗对胃、十二指肠黏膜损伤的胃镜观察31例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(21): 2023-2030 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2023.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2023>

0 引言

胰腺癌是一种恶性程度很高的消化系肿瘤,近年来发病率及病死率也呈逐年上升趋势^[1-3],但由于其位置隐匿,缺乏早期的临床表现,发现时80%以上已失去手术切除机会,而对于可切除胰腺癌术后复发率也高达50%-86%^[4]。对于已失去手术切除机会及术后局部复发的中晚期胰腺癌,放疗无疑是重要的治疗手段。尤其是近年来立体定向放疗(γ -stereotactic radiotherapy, γ -SBRT)、三维适形放射治疗(three dimensional conformal radiation therapy, 3D-CRT)、自适应放疗(adaptive radiation therapy, ART)如螺旋断层放射治疗等放射治疗技术在我国的发展应用,使得放疗成为中晚期胰腺癌治疗的主要手段之一^[4]。由于胰腺癌本身的生物学行为对放疗不敏感,达到根治肿瘤剂量要求 >45 Gy,但邻近胰腺的胃、十二指肠接受 >40 Gy的照射剂量就会出现不同程度的胃肠道反应。由于既往胰腺癌放疗应用局限,由其引起的胃、十二指肠黏膜放射性损伤的研究报道较少。再者由于缺乏客观的观察指标,对于胰腺癌放疗后出现的放射性胃、十二指肠黏膜病变普遍关注不足,常误认为胰腺癌相关症状,直至出现出血、梗阻、穿孔等严重的胃肠道症状

表 1 胰腺癌放疗后胃肠道反应情况

	急性期反应(n)	发生率(%)	晚期反应(n)	发生率(%)
0级	9	29.0	3	15.0
1级	7	22.6	3	15.0
2级	9	29.0	10	50.0
3级	4	12.9	2	10.0
4级	2	6.5	2	10.0
合计	31		20 ¹	
发病率	22	71.0	17	85.0

¹晚期返院随访病例数为20例。

才就诊并行胃镜检查。胃镜在诊断和治疗胰腺癌放疗导致的胃、十二指肠黏膜损伤中具有重要的价值, 现就对我院胰腺癌放疗后行胃镜检查患者的胃镜观察结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院2008-01/2013-01胰腺癌放疗后返院复查, 行胃镜检查的31例患者, 既往均无胃、十二指肠炎症、溃疡病史。其中男18例, 女13例, 年龄在44-75岁之间, 平均年龄59岁, 所有病例均经实验室检查、影像学(CT、MRI、PET等)或病理学诊断为胰腺癌。其中9例为胰体尾癌, 22例为胰头癌。分期: II B期5例, III期19例, IV期7例。

1.2 方法

1.2.1 放疗: 均采用现代放疗技术: γ -刀、三维适形放疗(3-D)、螺旋断层放射治疗(TOMO), 其中 γ -刀治疗15例, 三维适形放疗5例, TOMO治疗10例。 γ -刀处方剂量: 周边50%剂量线, GTV: 45 Gy/15 f-51 Gy/17 f, 单次剂量GTV: 3 Gy/f, 三维适形放疗处方剂量: 周边90%等剂量线处, CTV/GTV: 50 Gy/60 Gy/25 f, 单次剂量CTV/GTV: 2 Gy/2.4 Gy/f; TOMO处方剂量: 周边95%等剂量线处, CTV/GTV: 50 Gy/60 Gy/20 f。单次平均剂量为CTV/GTV: 2.5 Gy/3 Gy/f。治疗均采用常规分割, 1 f/1 d, 5 f/1 wk。

1.2.2 其他治疗: 31例患者中, 16例放疗前已行Whipple手术、剖腹探查术或ERCP及支架植入术; 9例放疗期间予吉西他滨1.0 g同步放化疗; 15例放疗期间给予抑酸及胃肠黏膜保护剂, 主要为质子泵抑制剂(奥美拉唑、兰索拉唑类)+胃肠黏膜保护剂(康复新液、硫糖铝、胶体果胶铋); 13例放疗期间给予氨磷汀防辐射治疗。

1.2.3 评价指标: (1)临床观察: 根据RTOG/

表 2 胰腺癌放疗后胃镜观察结果 (n = 31)

	n	发生率(%)
I级	4	12.9
II级	6	19.4
III级	3	9.7
IV级	18	58.1
合计病变	27 ¹	87.1

¹其中1例患者胃镜下观察: 胃黏膜未见充血、水肿, 黏膜完整, 十二指肠狭窄考虑为肿瘤侵犯十二指肠壁引起, 经组织病理学检查证实为肿瘤浸润十二指肠, 非放疗引起的肠腔狭窄。实际放疗后胃、十二指肠黏膜损伤观察例数为27例。

EORTC急、慢性期胃肠道反应分级标准进行分级^[4]。急性反应多发生在放疗期间及放疗后1-3 mo, 临床表现为不同程度的腹痛、腹胀、恶心、呕吐、胃肠出血等。慢性期, 起始于放疗后3 mo以上, 除了急性期症状, 还可表现为肠腔狭窄、肠梗阻、肠痿等; (2)胃镜观察: 胃镜观察胰腺癌放疗对胃、十二指肠的损伤直观改变为胃肠黏膜损伤, 表现为黏膜充血水肿、糜烂, 溃疡形成, 或肠腔狭窄。评价标准: 胃、十二指肠表现: 内镜下表现为 I 级: 黏膜光滑, 无变形, 绒毛好; II 级: 黏膜轻度充血、肿胀, 血管网显露, 绒毛感不明显; III 级: 黏膜充血、肿胀, 伴组织脆性增加, 接触性出血; IV 级: 黏膜质脆出血、糜烂, 溃疡形成, 肠腔狭窄。所有病例均行内镜下组织病理学活检。

统计学处理 对胰腺癌放疗导致的胃、十二指肠黏膜放射性损伤的影响因素(放疗技术、放疗剂量、放疗前腹部手术、同步化疗、预防应用胃肠黏膜保护药物、预防应用氨磷汀、慢性合并症)进行表格统计, 对所得样本率用确切概率法计算, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。所有统计数据均采用SPSS12.0统计软件分析。

2 结果

2.1 临床症状观察 临床症状观察结果如表1所示: 该组病例急性期反应发生在开始放疗后3 d到放疗结束后50 d, 中位时间为30 d。晚期反应发生在放疗结束后3-18 mo, 中位时间为7 mo。急性期胃肠道反应发生率为71.0%, 中重度(3-4级)胃肠道反应发生率: 急性期为19.4%, 慢性期为20.0%。一般情况下1-2级胃肠道反应一般不需特殊治疗; 3-4级胃肠道反应常需要药物治疗, 必要时住院治疗。

■ 相关报道

Andreyev等对256例接受盆腔放疗后出现胃肠道症状的患者进行肠镜检查发现34%的患者与放疗无关; 12%的患者则是由于盆腔肿瘤复发引起的胃肠道反应, 只有54%的患者为放疗后引起的胃肠道反应, 说明了建立客观的观察指标的必要性。Theis等指出, 患者体质量下降、合并(高血压、糖尿病、炎症性肠病等)并发症、吸烟、既往行腹部手术、放疗的总剂量以及联合化疗可能影响放射性胃肠损伤的发生, 与本文所述的相关因素一致, 探讨影响放射损伤的因素对治疗有一定的临床意义。

■ 创新盘点

率先建立以胃镜评估胰腺癌放疗导致的胃、十二指肠黏膜损伤情况,分析其影响因素,以指导进一步治疗。

表 3 不同放疗技术、剂量的胃镜观察结果 $n(\%)$

	γ -刀	3-D	TOMO
I 级	3(20.0)	1(20.0)	3(27.3)
II 级	2(13.3)	2(40.0)	1(9.1)
III 级	-	1(20.0)	1(9.1)
IV 级	10(66.7)	1(20.0)	6(54.6)
合计	15	5	11

3-D: 三维适形放疗; TOMO: 螺旋断层放射治疗。

表 5 同步GEM化疗与非同步化疗的胃镜观察结果 $n(\%)$

	同步GEM化疗	非同步化疗
I 级	3(33.3)	2(9.1)
II 级	1(11.1)	4(18.2)
III 级	1(11.1)	3(13.6)
IV 级	4(44.5)	13(59.1)
合计	9	22

2.2 胃镜观察 胃镜观察结果如表2所示: 胃镜观察时间为放疗结束至放疗后18 mo, 中位时间为3 mo. 胃镜下表现为(图1): I 级胃、十二指肠黏膜正常4例; II 级轻度胃、十二指肠黏膜炎症6例, 包括为胃、十二指肠黏膜充血、水肿, 慢性萎缩性胃炎; III 级糜烂性胃炎3例; IV 级病变包括: 单纯胃溃疡6例, 包括胃底、胃体、胃角、胃窦溃疡以及胃多发溃疡, 胃溃疡伴胃窦变形1例; 单纯十二指肠溃疡5例, 包括十二指肠球部和十二指肠降段溃疡以及多发十二指肠溃疡, 吻合口溃疡1例, 十二指肠溃疡合并狭窄4例; 无同时合并胃、十二指肠溃疡患者, 部分患者为胃溃疡合并十二指肠球部炎症或十二指肠溃疡合并胃部炎症. 所有病例均经胃镜下组织病理学活检, 符合炎症或溃疡性改变. 胃镜下观察: 总病变率为87.1%, II 级病变率为19.4%, III-IV 级病变率为67.8%; II 级病变一般不需要特殊诊治; III-IV 级病变需药物治疗, 对于十二指肠溃疡合并狭窄的患者需行支架植入治疗。

表3-8为可能影响放射性胃、十二指肠黏膜损伤的因素, 在胃镜观察下的不同结果, 除外1例为肿瘤侵犯致十二指肠狭窄. 观察指标主要包括放疗技术、放疗总剂量(表3), 放疗前腹部手术史(表4), 同步化疗(表5), 是否预防应用胃肠黏膜保护药物(表6), 应用氨磷汀(表7), 慢性合并症(如慢性肠病、高血压、糖尿病等)(表8)对放射性胃肠损伤的影响。

表 4 手术与非手术治疗的胃镜观察结果 $n(\%)$

	手术史	无手术史
I 级	2(12.5)	5(33.3)
II 级	3(18.7)	2(13.3)
III 级	1(6.3)	1(6.7)
IV 级	10(62.5)	7(46.7)
合计	16	15

表 6 是否预防使用胃肠黏膜保护药物对比胃镜观察结果 $n(\%)$

	预防用药	未预防用药
I 级	5(31.3)	-
II 级	3(18.7)	2(13.3)
III 级	1(6.3)	3(20.0)
IV 级	7(43.7)	10(66.7)
合计	16	15

2.3 不同放疗技术治疗后胃镜观察 结果如表3所示, 其中 γ -刀放疗剂量为GTV: 45 Gy/15 f-51 Gy/17 f, 单次剂量为3 Gy; 3-D放疗剂量为CTV/GTV: 50 Gy/ 60 Gy/25 f, 单次平均剂量为CTV/GTV: 2 Gy/2.4 Gy/f; TOMO放疗CTV/GTV: 50 Gy/60 Gy/20 f, 单次平均剂量为CTV/GTV: 2.5 Gy/3 Gy/f. 表3显示 γ -刀、3-D、TOMO不同技术治疗后胃镜观察结果: 3组结分别比较, γ -刀对比3-D总病变率(80.0% vs 80.0%, $P>0.0167$), III-IV 级病变率(66.7% vs 40.0%, $P<0.0167$); γ -刀对比TOMO总病变率(80.0% vs 72.7%, $P>0.0167$), III-IV 级病变率(66.7% vs 63.7%, $P<0.0167$); 3-D对比TOMO总病变率(80.0% vs 72.7%, $P>0.0167$), III-IV 级病变率(40.0% vs 63.7%, $P<0.0167$).

γ -刀治疗剂量51 Gy(10例), 48 Gy(3例), 45 Gy(2例), 总病变率为(90% vs 100% vs 100%), 3组结果分别比较 $P<0.0167$.

2.4 既往有手术史与非手术治疗史的患者胃镜观察结果对比如表4所示: 本组资料中腹部手术史为: 胰十二指肠切除术1例(胃镜检查黏膜正常), 剖腹探查术9例, 减黄术6例. 表4胃镜观察结果显示: 放疗前手术组患者16例, 非手术组患者15例, 总病变率(87.5% vs 66.7%, $P>0.05$).

2.5 同步GEM化疗与非同步化疗患者胃镜观察结果对比如表5所示: 该亚组显示同步GEM化疗方案中, GEM用量为1.0 g/m², 最高用量1.5 g, 化疗2个周期, 化疗前后均给予预防恶心、呕吐等

表 7 使用氨磷汀与不用氨磷汀对比胃镜观察结果 $n(\%)$

	氨磷汀	未用氨磷汀
I 级	2(14.3)	3(17.6)
II 级	3(21.4)	2(11.8)
III 级	2(14.3)	2(11.8)
IV 级	7(50.0)	10(58.8)
合计	14	17

表 8 既往是否有慢性合并症患者对比胃镜观察结果 $n(\%)$

	有慢性合并症	无慢性合并症
I 级	3(21.4)	4(23.5)
II 级	2(14.3)	3(17.6)
III 级	1(7.1)	1(5.9)
IV 级	8(57.1)	9(52.9)
合计	14	17

■应用要点

根据胃镜观察结果对病变情况进行治疗, 同时避免误诊; 分析其影响因素, 进一步预防和治疗放射性损伤的发生发展。

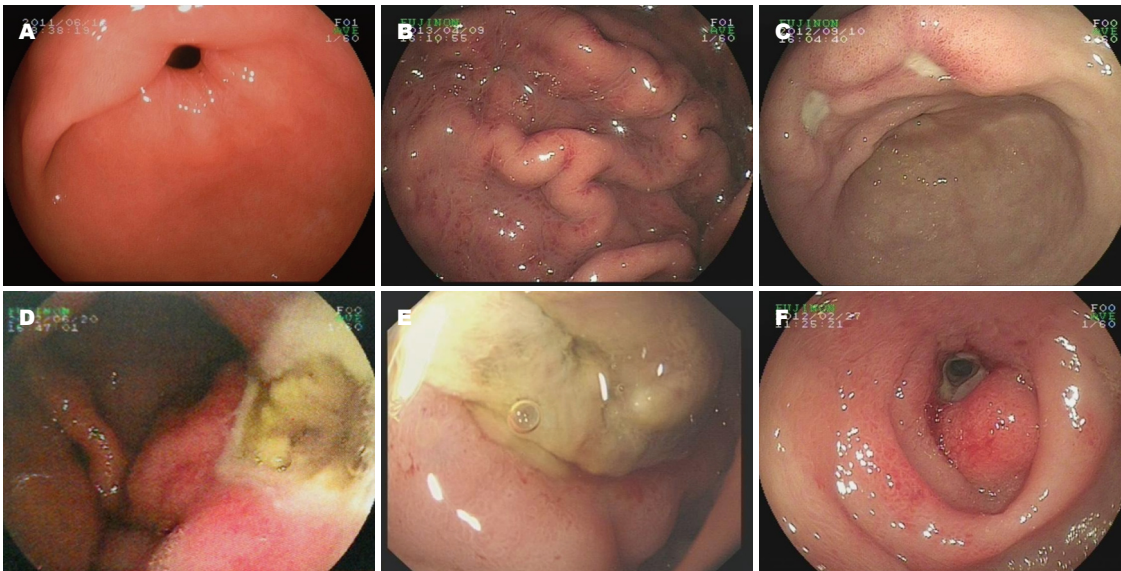


图 1 胃镜下黏膜损伤情况. A: 正常黏膜; B: 黏膜弥漫充血; C: 胃角溃疡; D: 胃体溃疡; E: 十二指肠溃疡; F: 十二指肠溃疡伴狭窄。

药物, 化疗期间出现胃肠道反应与血液学毒性反应症状, 给予对症治疗. 如表5胃镜观察结果所示: 同步GEM方案9例, 非同步GEM方案22例, 总病变率(66.7% vs 91.9%, $P>0.05$).

2.6 放疗期间是否预防应用胃肠黏膜保护药物患者胃镜观察 如表6所示, 该组患者预防使用胃肠黏膜保护药物为抑酸剂(奥美拉唑、雷贝拉唑或泮托拉唑)+胃肠黏膜保护剂(康复新液、硫糖铝或胶体果胶铋)的组合用药. 表6胃镜观察结果所示: 放疗期间预防用药16例, 放疗期间未预防用药15例, 总病变率为(68.7% vs 100%, $P=0.04$).

2.7 使用氨磷汀与未使用氨磷汀患者胃镜观察 如表7所示: 氨磷汀4 mg溶于100 mL 0.9%氯化钠溶液中, 于每次放疗前30 min静滴. 表8胃镜观察结果所示: 放疗期间使用氨磷汀14例, 放疗期间未使用氨磷汀17例, 总病变率为(85.7% vs 82.4%, $P>0.05$).

2.8 既往是否有慢性病史(慢性腹泻、高血压、糖尿病等)患者胃镜观察结果对比 慢性合并症指放疗期间合并有如慢性胃、十二指肠黏膜病

变(如炎症、溃疡)、高血压、糖尿病等慢性病史的患者, 本组资料的患者主要指高血压、糖尿病, 无慢性胃肠病患者. 表8胃镜观察结果显示: 有慢性合并症患者14例, 无慢性合并症患者17例, 总病变率为(8.6% vs 76.5%, $P>0.05$).

3 讨论

伦琴于1895年发现了X射线, 为恶性肿瘤开创了新的有效的治疗方法, 但不到2年时间就有了关于盆腹部放射治疗后发生急性胃肠道并发症的报道^[5]. 放疗可以直接通过电子能量转换辐射损伤DNA, 也可以通过间接作用产生氧自由基, 引起单链或双链DNA断裂, 阻止DNA的转录和复制, 从而导致细胞的裂解和凋亡. 放射线还可以直接破坏细胞膜, 导致细胞的裂解死亡^[6-8]. 由于细胞对放疗的敏感性取决于所处的细胞周期, 处在G₂和M期的细胞对放疗最为敏感. 因此, 增生较快的组织如小肠隐窝细胞和上皮细胞对放疗尤为敏感^[8]. 栗永萍等^[9]动物实验研究表明, 小鼠12 Gy全身照射后24 h, 小肠隐窝即出现大量

■同行评价

本文整体质量较高,具有一定指导意义。

变性坏死和凋亡细胞, 18-26 Gy则极少或全无再生隐窝出现。生理情况下, 胃肠黏膜由机械屏障、化学屏障、免疫屏障、生物屏障组成, 维持肠道正常的消化和吸收功能, 同时阻止致病微生物和毒素越过肠黏膜屏障侵入肠道, 持肠道功能、保护肠道环境^[10-13]。放疗通过直接及间接破坏各个胃肠道屏障功能^[14-17], 从而引起链式反应, 导致胃肠黏膜屏障功能障碍, 引起放射性胃肠炎。

放疗的病理学变化从放射治疗刚开始就已经发生, 但发展到组织学变化和出现临床症状可能需要几周, 几个月甚至数年^[18]。根据发病缓急及病理组织学变化, 放射性胃肠炎可分为2个阶段: (1)急性期, 发生于放疗辐射期间或放疗后3 mo内, 主要病变在黏膜层, 多表现为浆细胞和多核型粒细胞浸润、肠黏膜变薄、绒毛缩短, 毛细血管扩张, 同时由于干细胞缺失和隐窝有丝分裂的减少, 上皮细胞变性脱落, 形成隐窝微脓肿和黏膜溃疡。由于上皮细胞功能障碍, 导致营养素和水分的缺失, 临床表现为腹痛、腹胀、腹泻、黏液血便、胃肠出血等; (2)慢性期, 起始于照射后3 mo以上, 也有报道放射治疗15年之后发生放射性损伤^[19]。主要损伤黏膜下层及其脉管, 常见的组织病理学特征为进行性闭塞性脉管炎和间质纤维化。闭塞性脉管炎导致组织缺血、坏死, 淋巴管扩张, 导致小肠黏膜萎缩变薄, 肠管长期缺血坏死, 肠蠕动减弱。同时间充质细胞激活和胶原沉积导致黏膜下层致密纤维化, 小肠无规则黏连和萎缩狭窄, 肠管间正常间隙缺失, 相邻肠管黏连、融合, 改变了小肠正常解剖关系^[20]。临床表现为幽门变形狭窄、肠道狭窄、肠梗阻、肠痿等。

由于胰腺组织对射线不敏感, 其所需治疗剂量高达(50-70 Gy), 与胰腺周围组织如胃、十二指肠的最小最大耐受剂量(45-55 Gy)、(50-65 Gy)非常接近。因此, 胰腺癌放疗后的胃肠道反应发生率较高。虞晓林等^[21]报道行立体定向放疗的156例患者, 出现以恶心、呕吐为主的急性消化道反应发生率为66.67%, 少数伴腹泻。高宏等^[22]报道的112例患者接受立体定向放疗, 其中106例出现返酸、恶心、乏力、上腹部不适等情况, 胃肠道反应发生率高达94.6%。孙曙光等^[23]报道的接受立体定向放疗的患者, 治疗过程中均有不同程度恶心、呕吐等胃肠反应, 对症处理后完全缓解。3例患者于放疗后2-4 mo出现腹痛, 胃

镜检查显示存在十二指肠溃疡。张洪珍等^[24]与杨小文等^[25]也报道胃肠道反应发病率高于50%, 本组资料统计显示急性胃肠道反应发生率为71.0%, 晚期胃肠道反应发生率为85.0%, 急性期胃肠道反应发生率与文献报道相符。由于本组资料的患者多半由于出现相应胃肠道症状来院就诊并行胃镜检查, 因此晚期胃肠道反应发生率要高于文献报道。

既往由于胰腺癌放疗应用局限, 加上缺乏对放射性胃肠损伤的客观评价指标, 人们对放射性胃肠损伤关注较少。因此胃镜在胰腺癌放疗引起胃、十二指肠黏膜损伤的报道较少。Andreyev等^[26]收集的256例接受盆腔放疗后出现胃肠道症状的患者中, 经肠镜检查显示发现34%的患者与放疗无关; 12%的患者则是由于盆腔肿瘤复发引起的胃肠道反应, 只有54%的患者为放疗后引起的胃肠道反应。Pasha等^[27]应用双气囊内镜对放疗后引起的胃肠道出血进行了诊治。这也证明了胃镜检查在放射性胃十二指肠黏膜病变诊断和治疗中的重要作用。本组资料中31例患者通过胃镜观察胰腺癌放疗后胃、十二指肠黏膜的变化, 结果显示胃、十二指肠黏膜总病变率为87.1%, 高于单纯临床观察的急慢性胃肠道反应率(71.0%, 85.0%); III-IV级病变21例, 病变率为67.8%, 而临床实际出现中重度(3-4级)胃肠道反应病例数及发生率: 急性期6例, 发生率19.4%, 慢性期4例, 发生率20.0%; 1例患者为肿瘤浸润致十二指肠狭窄, 引起恶心、呕吐等胃肠道症状, 发生比率为3.2%。当患者出现胃肠道症状再行胃镜检查, 病变主要以III-IV病变为主, 胃镜下表现不同, 主要有胃糜烂、溃疡(胃体、胃角、胃窦等)、出血, 十二指肠溃疡(球部、降段)、狭窄等。研究表明胃镜观察到的病例数要高于临床实际就诊的患者, 部分患者虽然已形成糜烂性或溃疡性病变等, 但由于临床症状轻微, 缺乏客观的诊断依据, 从而延误治疗。部分患者虽然出现较严重的临床症状, 可能为原发肿瘤浸润或转移所致, 但由于缺乏客观诊断依据及病理学活检, 使得部分患者过度治疗胃肠道症状而延误肿瘤的诊治。因此对于胰腺癌放疗后行胃镜检查观察胃、十二指肠病变必要可行, 以便根据病变采取针对性治疗措施。胃镜检查能直接观察到胃、十二指肠黏膜的病变情况, 同时可以通过胃镜对可疑病变部位进行病理活检及细胞学检查, 以进一步明确诊断,

对于出血、梗阻也可直接进行内镜下止血、放置支架等治疗. 通过胃镜检查可以直观的观察放疗前后胃、十二指肠黏膜的变化, 对于放疗前已经存在胃、十二指肠病变的患者及时治疗, 以预防更严重的胃肠道反应发生, 使患者顺利完成放疗. 同时通过胃镜观察放疗后胃、十二指肠黏膜的变化, 分析影响放射性胃、十二指肠病变的因素.

据文献报道^[28,29]放射性胃肠炎的发生、发展与放疗的技术、剂量、放疗时程及剂量分割、患者的营养状态、是否有手术治疗及化疗等有关. Theis等^[30]也指出, 患者有并发症(高血压、糖尿病、炎症性肠病等)、吸烟、既往行腹部手术、放射治疗的总剂量以及联合化疗等因素可能影响放射性胃肠损伤的发生. 本组资料中, 对影响放射性胃、十二指肠黏膜损伤的因素进行单因素分析, 结果显示放疗技术、放疗剂量影响放射性胃、十二指肠黏膜损伤的发生. 3种放疗技术比较, TOMO对放射性胃、十二指肠黏膜损伤的程度最小, 而3-D引起的放射性胃、十二指肠黏膜损伤程度最大. 本研究对比了 γ -刀不同剂量放疗后胃、十二指肠黏膜变化, 结果显示随着放疗剂量的增加, 胃、十二指肠黏膜损伤发生率增高, 差异有统计学意义. 根据本资料显示, 由于腹部手术史包括胰十二指肠切除术、剖腹探查术和胆肠吻合的减黄术, 由于胰十二指肠切除术后, 胃肠解剖结构改变, 放疗后胃肠黏膜损伤与剖腹探查术胃镜观察结果可能存在差异, 但目前鲜见相关文献报道, 本资料中胰十二指肠切除患者1例, 胃镜观察放疗后胃、十二指肠黏膜正常, 预防使用胃肠黏膜保护药物可以减少放射性胃、十二指肠黏膜损伤的发生, 差异有统计学意义; 本组结果表明放疗期间使用氨磷汀并没有减少放射性胃、十二指肠黏膜损伤的发生, 由于本组资料为回顾性分析, 存在一定的资料偏差, 且样本量较小, 有一定局限性, 因此尚需要多中心、大样本量的临床资料观察放疗引起的胃、十二指肠黏膜损伤情况并分析影响放射性胃、十二指肠黏膜损伤发生的因素, 为胃、十二指肠道黏膜损伤的预防和治疗提供依据.

4 参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*

- 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 2 张思维, 陈万青, 郑荣寿, 李霓, 曾红梅, 李光琳, 魏文强, 赵平. 2003-2007年中国癌症死亡分析. *中国肿瘤* 2012; 21: 171-178
- 3 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 71-96 [PMID: 18287387 DOI: 10.3322/CA.2007.0010]
- 4 谷铎之, 殷蔚伯. 肿瘤放射治疗学. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2009: 1-2, 222
- 5 Walsh D. Deep Tissue Traumatism from Roentgen Ray Exposure. *Br Med J* 1897; 2: 272-273 [PMID: 20757183]
- 6 Hall EJ. Radiobiology for the radiologist. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000: 165-167
- 7 Bismar MM, Sinicrope FA. Radiation enteritis. *Curr Gastroenterol Rep* 2002; 4: 361-365 [PMID: 12228037 DOI: 10.1007/s11894-002-0005-3]
- 8 Nguyen NP, Antoine JE, Dutta S, Karlsson U, Salalah S. Current concepts in radiation enteritis and implications for future clinical trials. *Cancer* 2002; 95: 1151-1163 [PMID: 12209703 DOI: 10.1002/cncr.10766]
- 9 粟永萍, 程天民. 放射损伤及放烧复合伤对小肠上皮损害的量效研究. *第三军医大学学报* 1994; 16: 313-315
- 10 Liboni KC, Li N, Scumpia PO, Neu J. Glutamine modulates LPS-induced IL-8 production through I κ B/NF- κ B in human fetal and adult intestinal epithelium. *J Nutr* 2005; 135: 245-251 [PMID: 15671221]
- 11 马涛, 尤胜义. 淋巴细胞凋亡, 免疫抑制和脓毒症. *国外医学·外科学分册* 2005; 32: 35-38
- 12 Arrieta MC, Bistritz L, Meddings JB. Alterations in intestinal permeability. *Gut* 2006; 55: 1512-1520 [PMID: 16966705 DOI: 10.1136/gut.2005.085373]
- 13 Barrett KE. New ways of thinking about (and teaching about) intestinal epithelial function. *Adv Physiol Educ* 2008; 32: 25-34 [PMID: 18334565 DOI: 10.1152/advan.00092.2007]
- 14 杨书良, 李兰梅, 陈育民. 肠黏膜屏障的构成与功能研究进展. *临床荟萃* 2008; 23: 1809-1811
- 15 Freeman SL, MacNaughton WK. Ionizing radiation induces iNOS2 mediated epithelial dysfunction in the absence of an inflammatory response. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 278: 243-250
- 16 Freeman SL, MacNaughton WK. Nitric oxide inhibitable isoforms of adenylate cyclase mediate epithelial secretory dysfunction following exposure to ionising radiation. *Gut* 2004; 53: 214-221 [PMID: 14724153]
- 17 高金生, 时志民, 韩转叶, 李校天, 杨书良. 肝硬化肠黏膜屏障损伤患者血浆D-乳酸、二胺氧化酶及内毒素的变化. *临床荟萃* 2009; 24: 219-221
- 18 Stone HB, Coleman CN, Anscher MS, McBride WH. Effects of radiation on normal tissue: consequences and mechanisms. *Lancet Oncol* 2003; 4: 529-536 [PMID: 12965273]
- 19 Galland RB, Spencer J. The natural history of clinically established radiation enteritis. *Lancet* 1985; 1: 1257-1258 [PMID: 2860452 DOI: 10.1016/S0140-6736(85)92322-0]
- 20 朱化强, 代文杰. 腹茧症的外科诊治现状. *中国普通外科杂志* 2007; 16: 375-377
- 21 虞晓林, 罗卫华, 李昌林, 蒙荣钦, 张光宇, 王阳, 周国

- 懿. 体部伽玛刀治疗中晚期胰腺癌156例临床疗效观察. *现代肿瘤医学* 2011; 19: 1379-1380
- 22 高宏, 张虹, 邵秋菊, 吴淑娟, 梁军. 立体定向放射治疗胰腺癌112例疗效观察. *现代肿瘤医学* 2010; 18: 112-113
- 23 孙曙光, 刘菲. X线立体定向放射治疗胰腺癌38例. *现代诊断与治疗* 2005; 16: 208-209
- 24 张洪珍. 胰腺癌放射治疗. *国际肿瘤学杂志* 2006; 33: 147-150
- 25 杨小文, 朱惠东, 孙杨安. 125碘粒子近距离治疗晚期胰腺癌12例疗效分析. *实用癌症杂志* 2008; 23: 645-649
- 26 Andreyev HJ, Vlavianos P, Blake P, Dearnaley D, Norman AR, Tait D. Gastrointestinal symptoms after pelvic radiotherapy: role for the gastroenterologist? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 62: 1464-1471 [PMID: 15927411 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2004.12.087]
- 27 Pasha SF, Harrison ME, Leighton JA. Obscure GI bleeding secondary to radiation enteritis diagnosed and successfully treated with retrograde double-balloon enteroscopy. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 552-554 [PMID: 17321268 DOI: 10.1016/j.gie.2006.10.007]
- 28 Chon BH, Loeffler JS. The effect of nonmalignant systemic disease on tolerance to radiation therapy. *Oncologist* 2002; 7: 136-143 [PMID: 11961197 DOI: 10.1634/theoncologist.7-2-136]
- 29 Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rödel C, Wittekind C, Fietkau R, Martus P, Tschmelitsch J, Hager E, Hess CF, Karstens JH, Liersch T, Schmidberger H, Raab R, German Rectal Cancer Study Group. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 1731-1740 [PMID: 15496622 DOI: 10.1056/NEJMoa040694]
- 30 Theis VS, Sripadam R, Ramani V, Lal S. Chronic radiation enteritis. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2010; 22: 70-83 [PMID: 19897345 DOI: 10.1016/j.clon.2009.10.003]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 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 0.775

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07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, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。

血管内皮生长因子及其受体KDR在疣状胃炎及胃癌组织中的表达及意义

陈洁, 朱海杭, 徐永居, 顾湘, 朱萍

陈洁, 朱海杭, 徐永居, 顾湘, 朱萍, 江苏省扬州市苏北人民医院消化内科 江苏省扬州市 225001

陈洁, 主治医师, 主要从事胃肠道肿瘤的研究。

作者贡献分布: 此课题由陈洁与朱海杭设计; 样本采集由徐永居完成; 研究过程由陈洁、顾湘及朱萍共同操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由朱萍提供; 数据分析由陈洁完成; 本论文写作由陈洁与朱海杭完成。

通讯作者: 朱海杭, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 225001, 江苏省扬州市南通西路98号, 江苏省苏北人民医院消化内科。 zhuhaihang@medmail.com.cn

收稿日期: 2013-04-25 修回日期: 2013-06-27

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor KDR in verrucous gastritis and gastric cancer

Jie Chen, Hai-Hang Zhu, Yong-Ju Xu, Xiang Gu, Ping Zhu

Jie Chen, Hai-Hang Zhu, Yong-Ju Xu, Xiang Gu, Ping Zhu, Department of Gastroenterology, Subei People's Hospital, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Hai-Hang Zhu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Subei People's Hospital, 98 Nantong West Road, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China. zhuhaihang@medmail.com.cn

Received: 2013-04-25 Revised: 2013-06-27

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between verrucous gastritis and gastric cancer.

METHODS: The expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and kinase insert domain-containing receptor (KDR) in chronic superficial gastritis, verrucous gastritis and gastric cancer was detected by immunohistochemistry. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection was detected by the ¹³C breath test.

RESULTS: The rates of *H. pylori* infection in patients with verrucous gastritis and gastric cancer were both higher than that in patients with chronic superficial gastritis ($\chi^2 = 26.4, 29.697$, both $P < 0.01$), but there was no significant dif-

ference in the rate of *H. pylori* infection between patients with verrucous gastritis and those with gastric cancer ($\chi^2 = 2.229, P > 0.05$). The positive rates of VEGF and KDR expression in verrucous gastritis and gastric cancer were significantly higher than those in chronic superficial gastritis ($\chi^2 = 20.008, 29.697; 15.428, 24.300$, all $P < 0.01$), but there were no significant differences in the positive rates of VEGF and KDR expression between verrucous gastritis and gastric cancer ($\chi^2 = 3.461, 3.793$, both $P > 0.05$). The positive rates of VEGF and KDR expression in mature verrucous gastritis were significantly higher than those in non-mature verrucous gastritis ($\chi^2 = 6.084, 10.026$, both $P < 0.05$), but there were no significant differences between matured verrucous gastritis and gastric cancer ($\chi^2 = 0.728, 0.080$, both $P > 0.05$). The positive rates of VEGF and KDR expression were significantly higher in verrucous gastritis patients with *H. pylori* infection than in those without *H. pylori* infection ($\chi^2 = 5.637, 5.398$, both $P < 0.05$), but there were no significant differences between verrucous gastritis patients with *H. pylori* infection and patients with gastric cancer ($\chi^2 = 0.839, 1.006$, both $P > 0.05$).

CONCLUSION: *H. pylori* infection is involved in the formation of verrucous gastritis. Expression of VEGF and KDR in verrucous gastritis is similar to that in gastric cancer, suggesting that both VEGF and KDR may be involved in the evolution of verrucous gastritis to gastric cancer. The observation that expression of VEGF and KDR in mature verrucous gastritis and patients with *H. pylori* infection was higher may imply that mature verrucous gastritis and *H. pylori* infection increase the risk of malignant transformation of verrucous gastritis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Vascular endothelial growth factor; Kinase insert domain-containing receptor; Verrucous gastritis; Gastric cancer

Chen J, Zhu HH, Xu YJ, Gu X, Zhu P. Expression of

背景资料

疣状胃炎(verru-cose gastritis, VG)是临床上较为常见的一种特殊类型的慢性胃炎,尽管在第十届世界胃肠病大会上, VG已被列为具有高度癌变倾向的疾病之一,但临床上确切观察到疣状胃炎转化为胃癌的病例相对较少,仅见个案报道,缺乏大规模的动态随访观察,缺乏相关基因改变的基础研究证据,其癌变诱因及分子机制尚不明确。

同行评议者

傅春彬, 主任医师, 吉化集团公司总医院一院消化内科

■ 研发前沿

目前针对VG的研究和报道主要局限在临床治疗方面, 尽管已经有临床报道观察到其癌变的过程, 但由于缺乏大规模的随访观察及分子生物学的基础研究支持, 对于其癌变的可能并没有引起广大临床医师的重视。

vascular endothelial growth factor and its receptor KDR in verrucose gastritis and gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(21): 2031-2037 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2031.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcj.v21.i21.2031>

摘要

目的: 研究血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及其受体2(kinase insert domain-containing receptor, KDR)在疣状胃炎(verrucose gastritis, VG)与胃癌中的表达的关系。

方法: 用免疫组织化学方法检测30例慢性浅表性胃炎、80例VG和30例胃癌组织中VEGF和KDR的表达; 通过¹³C呼气试验判断所有入组患者有无幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染。

结果: VG、胃癌患者的*H. pylori*感染率显著高于慢性浅表性胃炎患者($\chi^2 = 26.4, 29.697; P < 0.01$), 而两者之间比较差异无统计学意义($\chi^2 = 2.229, P > 0.05$)。VG和胃癌组织中VEGF和KDR的表达与慢性浅表性胃炎组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 20.008, 29.697; 15.428, 24.300, P < 0.01$); VEGF和KDR在疣状胃炎及胃癌组织中的表达差异无统计学意义($\chi^2 = 3.461, 3.793; P > 0.05$); 成熟型的疣状胃炎组织中VEGF和KDR的表达与非成熟型的疣状胃炎比较差异有统计学意义($\chi^2 = 6.084, 10.026; P < 0.05$), 而与胃癌组织比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.728, 0.080; P > 0.05$); *H. pylori* + 的疣状胃炎组织中VEGF和KDR的表达与*H. pylori* - 的疣状胃炎组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 5.637, 5.398; P < 0.05$), 而与胃癌组织比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.839, 1.006; P > 0.05$)。

结论: *H. pylori*参与了VG的形成过程。VEGF和KDR在疣状胃炎中的表达与在胃癌中的表达相似, 提示VG与胃癌之间可能存在相关性, VEGF和KDR可能参与了疣状胃炎癌变的过程。VEGF和KDR在成熟型和*H. pylori* + 的疣状胃炎中的高表达提示成熟型的VG和*H. pylori* 感染可能存在增加VG癌变的风险。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 血管内皮生长因子; 血管内皮生长因子受体; 疣状胃炎; 胃癌

核心提示: 疣状胃炎(verrucose gastritis, VG)是胃癌的癌前病变之一, 具有癌变的潜能。成熟型的

VG更易癌变。幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*)感染是形成疣状胃炎的重要因素之一, 并且可能是诱发其癌变的诱因之一。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)和血管内皮生长因子受体2(kinase insert domain-containing receptor)的异常表达, 新生血管的异常增生可能是其癌变的分子机制之一。

陈洁, 朱海杭, 徐永居, 顾湘, 朱萍. 血管内皮生长因子及其受体KDR在疣状胃炎及胃癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2031-2037 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2031.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcj.v21.i21.2031>

0 引言

疣状胃炎(verrucose gastritis, VG)又称痘疹状胃炎(varioliform gastritis)、慢性糜烂性胃炎(chronic erosive gastritis), 是胃炎的一种特殊类型, 内镜下分为成熟型和未成熟型两型。尽管在第十届世界胃肠病大会上, VG已被列为具有高度癌变倾向的疾病之一^[1], 但临床上确切观察到疣状胃炎转化为胃癌的病例相对较少, 缺乏相关基因改变的基础研究证据, 其癌变的诱因及分子机制尚不明确, 未能引起广大临床医师的重视。本实验通过研究血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及其受体2(kinase insert domain-containing receptor, KDR)在疣状胃炎和胃癌组织中的表达, 探讨疣状胃炎和胃癌的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-01/2012-03我院内镜中心收集的慢性浅表性胃炎标本30例, 成熟型和未成熟型疣状胃炎标本各40例, 胃癌组织标本30例。所有病例均为首次发现, 未经过质子泵抑制剂及抗幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)治疗。主要试剂为即用型血管内皮生长因子兔抗人多克隆抗体, 购自福建迈新生物技术开发有限公司; KDR兔抗人多克隆抗体, 购自武汉博士德生物工程有限公司; 即用型快速免疫组织化学MaxVision™试剂盒(兔)和DAB显色试剂盒均购自福建迈新生物技术开发有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验: 所有入组患者行¹³C呼气试验, 所有标本均经过4%甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μm厚连续切片, 免疫组织化学法采用EliVision法。操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。DAB显色, 苏木

表 1 比较3组不同组织中 *H. pylori* 的表达

分组	n	<i>H. pylori</i>		χ^2	P值
		+	-		
慢性浅表性胃炎组	30	3	27	26.4	0.000
疣状胃炎组	80	52 ^b	28 ^b	2.229	0.129
胃癌组	30	24 ^b	6 ^b	29.697	0.000

^b $P < 0.01$ vs 慢性浅表性胃炎组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

表 2 比较3组不同组织中VEGF和KDR的表达

分组	n	VEGF		P值	KDR		P值
		+	-		+	-	
慢性浅表性胃炎	30	2	28	0.000	1	29	0.000
疣状胃炎	80	43 ^b	37 ^b	0.063	34 ^d	46 ^d	0.051
胃癌	30	22 ^b	8 ^b	0.000	19 ^d	11 ^d	0.000

^b $P < 0.01$, ^d $P < 0.01$ vs 慢性浅表性胃炎组. VEGF: 血管内皮生长因子; KDR: 血管内皮生长因子受体2.

精复染, PBS代替一抗做阴性对照.

1.2.2 结果判定: (1)*H. pylori* 的诊断, 通常以30 min时样品中所测¹³C-CO₂的 $\delta\%$ 减去零时的呼气样品的 $\delta\%$ 值的差表示, 即检测值 = $\delta\%(30 \text{ min}) - \delta\%(0 \text{ min})$. 阳性判断值 $\geq 4.0 \pm 0.4$ 时, 可判定受试者为*H. pylori*+; (2)VEGF和KDR均表达于均表达于血管内皮细胞和腺上皮细胞的胞浆中和细胞膜上. 免疫组织化学染色结果判定采用Remmele和Stegner提出的免疫反应积分(immune response scores, IRS)打分法, 是染色强度(staining intensity, SI)和阳性细胞百分比(percentage of positive cells, PP)的乘积, 即 $IRS = SI \times PP$. SI可分为4级, 即0级为未见阳性细胞, 1级为弱阳性, 2级为中等阳性, 3级为强阳性. PP可分为5级, 即0级为阴性, 1级 $\leq 10\%$, 2级11%-50%; 3级51%-80%, 4级 $> 80\%$. 当SI与PP的乘积 > 3 分才算免疫反应(+)^[2].

统计学处理 采用一般描述性统计分析、 χ^2 检验、Spearman等级相关性分析. 数据库构建及数据分析均在SPSS17.0统计软件包上实现, 检验标准为 $P < 0.05$ 有统计学意义.

2 结果

慢性浅表性胃炎、疣状胃炎、胃癌患者*H. pylori*感染率分别为10%、65%、80%, 比例依次增

表 3 比较不同类型疣状胃炎之间VEGF和KDR的表达及与胃癌的关系

	n	VEGF		P值	KDR		P值
		+	-		+	-	
疣状胃炎组							
未成熟型	40	16 ^b	24 ^b	0.014	10 ^d	30 ^d	0.002
成熟型	40	27	13		24	16	
<i>H. pylori</i> -	28	10 ^b	18 ^b	0.018	7 ^d	21 ^d	0.020
<i>H. pylori</i> +	52	33	19		27	25	
胃癌组	30	22	8	^b $P < 0.01$	19	11	^d $P < 0.01$

^b $P < 0.01$, ^d $P < 0.01$ vs 胃癌组. VEGF: 血管内皮生长因子; KDR: 血管内皮生长因子受体2.

高. 疣状胃炎患者的*H. pylori*感染率与慢性浅表性胃炎患者比较有显著差异($P < 0.01$), 与胃癌患者相比无明显差异($P > 0.05$)(表1).

疣状胃炎组及胃癌组VEGF和KDR的表达阳性率与慢性浅表性胃炎组比较差异有统计学意义($P < 0.01$); 疣状胃炎组和胃癌组VEGF和KDR的表达阳性率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(表2).

未成熟型疣状胃炎中VEGF和KDR的表达阳性率与成熟型疣状胃炎及胃癌组比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 而成熟型疣状胃炎中VEGF和KDR的表达阳性率与胃癌组比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 未成熟型疣状胃炎中VEGF和KDR的表达阳性率与胃癌组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)(表3).

H. pylori-疣状胃炎中VEGF和KDR的表达阳性率与*H. pylori*+疣状胃炎及胃癌组比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 而*H. pylori*+疣状胃炎中VEGF和KDR的表达阳性率与胃癌组比较差异无统计学意义($P > 0.05$), *H. pylori*-疣状胃炎中VEGF和KDR的表达阳性率与胃癌组比较差异有统计学意义($P < 0.05$). 疣状胃炎中*H. pylori*的感染与VEGF的表达呈正相关($r = 0.265$, $P < 0.05$), 与KDR的表达呈正相关($r = 0.26$, $P < 0.05$)(表3).

VEGF和KDR主要表达于腺上皮细胞及血管内皮细胞的胞浆及细胞膜中. VEGF分别在慢性浅表性胃炎、未成熟型疣状胃炎、成熟型疣状胃炎、胃癌中的表达阳性率依次为: 6.7%、40%、67.5%、73.3%, 比例依次增高(图1); KDR分别在慢性浅表性胃炎、未成熟型疣状胃炎、成熟型疣状胃炎、胃癌中的表达阳性率依次为: 3.33%、42.5%、60%、63.3%, 比例依次增高(图2).

■ 创新盘点

本实验通过研究幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染以及VEGF和KDR在VG和胃癌组织中的表达, 对照慢性浅表性胃炎比较, 探讨VG、胃癌之间的关系及其可能存在的癌变的分子机制, 为将来VG的研究提供方向, 为VG及胃癌的预防与治疗提供更多的依据.

■应用要点

本文旨在加强临床医生对疣状胃炎治疗时抗*H. pylori*治疗的意识, 加强动态内镜随访观察.

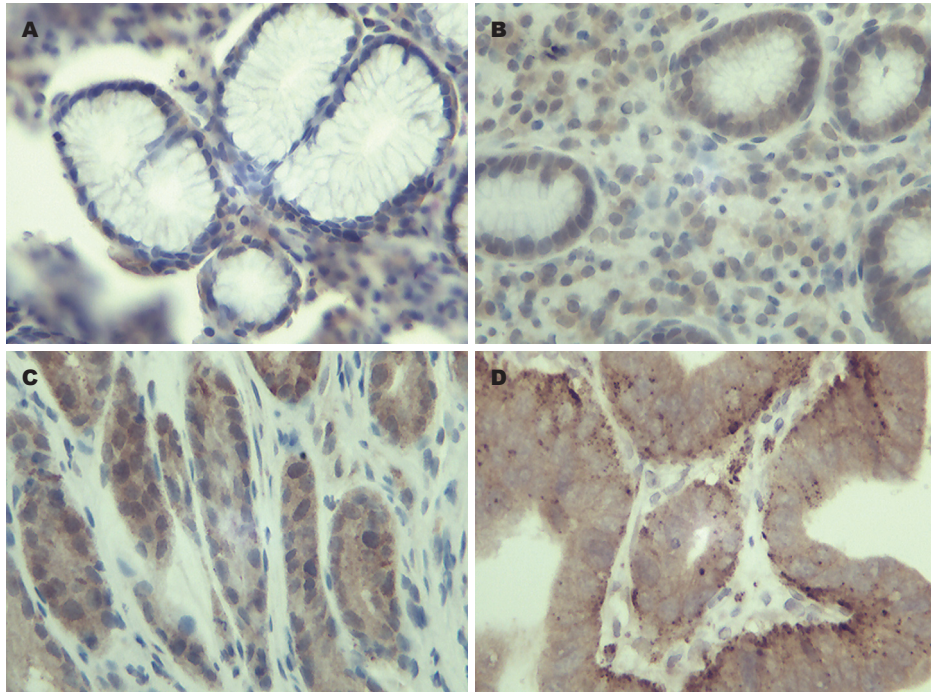


图 1 VEGF的表达($\times 400$). A: 慢性浅表性胃炎; B: 未成熟型疣状胃炎; C: 成熟型疣状胃炎; D: 胃癌. VEGF: 血管内皮生长因子.

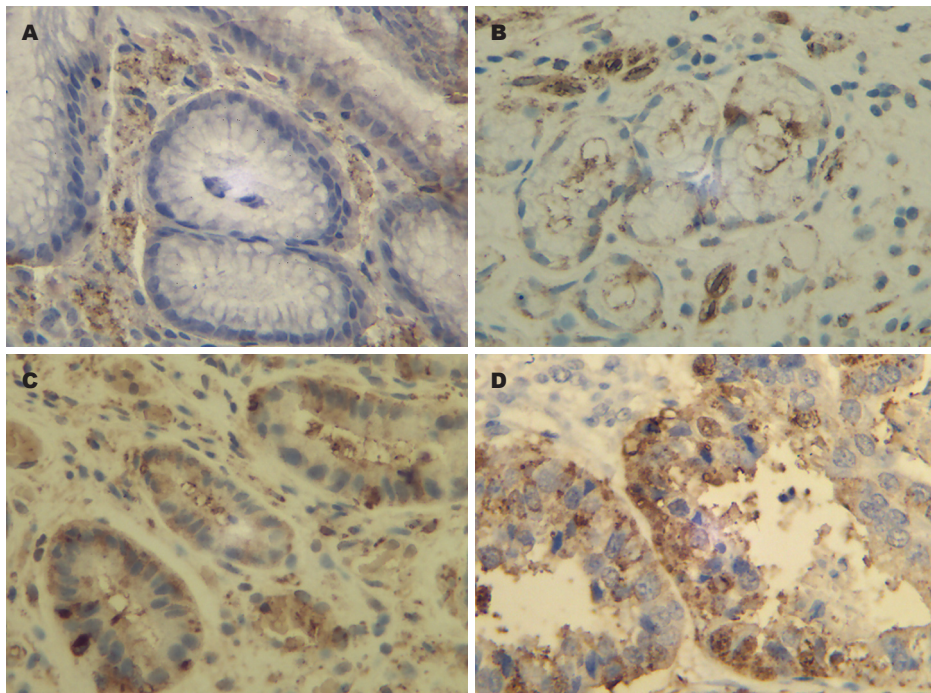


图 2 KDR的表达($\times 400$). A: 慢性浅表性胃炎; B: 未成熟型疣状胃炎; C: 成熟型疣状胃炎; D: 胃癌. KDR: 血管内皮生长因子受体2.

3 讨论

胃癌的形成和发展是多病因、多基因作用的共同结果, 过程复杂, 至今未能完全明了. 早在1994年世界卫生组织国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)已经将*H. pylori*感染作为胃癌的 I 类致病因

子, 很多研究已经证明其*H. pylori*感染与胃癌的发生密切相关^[3-7]. 随着对疣状胃炎关注的增加, 陆续出现针对VG和*H. pylori*关系的报道. 如周殿元等^[8]报道VG患者的*H. pylori*感染率为51.7%-92.5%, 说明疣状胃炎多数伴有*H. pylori*感染. 白歌等^[9]观察到大部分病例经抗*H. pylori*

治疗, 临床症状消失, 说明疣状胃炎治疗效果与清除*H. pylori*呈正相关, 同时也进一步支持*H. pylori*与疣状胃炎关系密切的观点. 并且李庭赞等^[10]提出疣状胃炎尤其是成熟型疣状胃炎的胃黏膜肠上皮化生的发生率及上皮内瘤变的发生率高于对照组, 说明疣状胃炎有癌变倾向.

基于以上基础, 本研究观察到疣状胃炎的*H. pylori*感染率为65%, 较慢性浅表性胃炎*H. pylori*感染显著升高, 提示与慢性浅表性胃炎相比, *H. pylori*感染在疣状胃炎的形成过程中起重要作用, 是其发病的一个重要致病因素. 其机制可能是*H. pylori*在胃内定植后, 由于其具有螺旋状的体形以及多根鞭毛产生动力, 穿过胃表面黏液屏障, 定居在胃黏膜上皮细胞的表面, 通过释放一些致病因子, 使胃黏膜发生损伤、充血、水肿、局部隆起增生、点状坏死、片状糜烂等病理改变, 亦可能使胃黏膜对*H. pylori*产生免疫反应进一步引起糜烂处的黏膜腺管及腺体数增加和腺颈部延长, 从而形成周边隆起中央脐样糜烂坏死凹陷的疣状物. 但其确切的机制有待进一步研究. 与胃癌的*H. pylori*感染率比较无显著差异性, 得出两点推论: (1)是否能够因此推断疣状胃炎具有癌变的潜能, 是癌前的一种病理形态; (2)除了*H. pylori*感染, 尚有其他未知因素促使疣状胃炎进展为胃癌.

但作为实体瘤, 与肿瘤的血管生成关系密切是毋庸置疑的^[11]. VEGF是目前公认的最强力、最能够直接刺激血管内皮细胞产生增殖效应及促进新生血管生成的因子^[12]. 其生物学效应的实现主要通过与其受体KDR结合后产生^[13]. 二者结合后通过一系列的调节机制, 启动新生血管的生成, 促使血管内皮细胞大量增殖, 诱导新生血管的形成, 并且增加血管通透性, 导致肿瘤细胞逐渐生长、渗出及扩散转移^[14,15].

VEGF又称血管通透因子, 他是内皮细胞具有显著特异性的有丝分裂源, 也是一种有效的促进新生血管形成和通透性增加的诱导因子. 与受体结合后, 可增加细胞内Ca²⁺浓度, 通过磷酸肌醇特异性的磷脂酶C途径, 使细胞内的IP3水平增高从而传导细胞内信号, 进而改变细胞形态、促进细胞进行有丝分裂、进一步构建迁移新生血管^[16]. 还能增强血浆酶原活化因子的生物学活性, 从而使血浆酶原活化因子以及血浆酶原活化因子抑制因子的水平发生增长, 通过这两个因子的活化, 诱导基质胶原酶、蛋白

水解酶和组织因子在血管内皮细胞中充分表达, 从而逐步出现细胞外基质降解, 内皮细胞发生迁移和浸润, 新生血管逐渐形成^[17]. KDR是VEGF发挥其促血管生成作用的高亲和力的特异性膜受体, 具有明显的趋化性和促分裂活性. KDR主要分布在血管内皮细胞上, 起着趋化细胞分裂、诱导内皮细胞增殖和迁移的作用. 并能通过阻止内皮细胞的凋亡, 维持内皮细胞的存活. VEGF/KDR对肿瘤新生血管的生成影响极为重要, 大量研究均证实这一观点^[18-23]. 其在胃癌组织中的表达也得到了较多关注^[24-27], 认为VEGF及其受体KDR的异常表达在促使胃癌的形成、浸润和扩散转移的过程中起重要作用. 国外研究^[28,29]甚至提出VEGF不仅能促进肿瘤的新生血管形成, 还能通过旁分泌和胃癌细胞自分泌两种途径来实现促进胃癌的形成和转移的作用. 另外Boocock等^[16]还发现VEGF可以通过激活肿瘤细胞上的KDR受体, 直接促进肿瘤的生长. 高岩等^[30]研究发现KDR在维持癌细胞生长过程中发挥重要作用.

本研究显示: VEGF和KDR在慢性浅表性胃炎、未成熟型疣状胃炎、成熟型疣状胃炎、胃癌中的表达阳性率比例依次增高. VEGF和KDR在慢性浅表性胃炎中已有表达, 在疣状胃炎和胃癌中表达呈现递增趋势, 说明在胃癌形成之前, 已有新生血管的形成, 随着新生血管的增加, 细胞癌变的几率越高, 癌变与血管形成有显著关系. 因此血管生成可以作为判断疣状胃炎发生发展及癌变的重要因素之一. VEGF和KDR在疣状胃炎及胃癌组织中的阳性表达率差异无统计学意义($P>0.05$), 但与慢性浅表性胃炎比较差异有统计学意义($P<0.01$). 表明疣状胃炎中已经有VEGF和KDR的高表达, 具有发展为胃癌的可能. 本实验还发现: VEGF及KDR在成熟型疣状胃炎中阳性表达率显著高于未成熟型疣状胃炎($P<0.05$), 而与胃癌比较差异无统计学意义($P>0.05$). 同时, 其在伴随*H. pylori*感染的疣状胃炎中阳性表达率显著高于无*H. pylori*感染的疣状胃炎($P<0.05$), 而与胃癌比较差异无统计学意义($P>0.05$). 提示成熟型疣状胃炎及伴随*H. pylori*感染的疣状胃炎可能更易转化为胃癌. *H. pylori*感染可能为疣状胃炎转变为胃癌的诱发因素. 研究结果还表明, *H. pylori*的感染与VEGF及KDR表达呈明显正相关($r = 0.265, 0.26, P<0.05$), 说明在疣状胃炎的癌变过程中, 血管生成与

同行评价

本文对内镜工作者及临床医生针对VG的治疗有较好的借鉴意义.

*pylori*感染起协同作用,共同促进疣状胃炎的发生发展及癌变,其具体机制有待进一步研究。

总之,通过本实验,可以认为疣状胃炎是胃癌的癌前病变,具有癌变的潜能。而成熟型及*H. pylori*的疣状胃炎可能更易转化为胃癌。*H. pylori*感染可能是疣状胃炎癌变的诱因之一。VEGF和KDR的高表达可能是其分子机制之一。故而在针对疣状胃炎的治疗时需要加强抗*H. pylori*治疗意识,加强动态内镜随访观察。

4 参考文献

- 樊代明, 陈强. 第十届世界胃肠病学大会报道. 中华消化杂志 1995; 15: 171
- Friedrichs K, Gluba S, Eidtmann H, Jonat W. Overexpression of p53 and prognosis in breast cancer. *Cancer* 1993; 72: 3641-3647 [PMID: 8252480 DOI: 10.1002/1097-0142(19931215)72:12<3641]
- Conteduca V, Sansonno D, Lauletta G, Russi S, Ingravallo G, Dammacco F. *H. pylori* infection and gastric cancer: state of the art (review). *Int J Oncol* 2013; 42: 5-18 [PMID: 23165522 DOI: 10.3892/ijo.2012.1701]
- Pimentel-Nunes P, Gonçalves N, Boal-Carvalho I, Afonso L, Lopes P, Roncon-Albuquerque R, Henrique R, Moreira-Dias L, Leite-Moreira AF, Dinis-Ribeiro M. *Helicobacter pylori* induces increased expression of Toll-like receptors and decreased Toll-interacting protein in gastric mucosa that persists throughout gastric carcinogenesis. *Helicobacter* 2013; 18: 22-32 [PMID: 23061653 DOI: 10.1111/hel.12008]
- Uehara T, Ma D, Yao Y, Lynch JP, Morales K, Ziober A, Feldman M, Ota H, Sepulveda AR. *H. pylori* infection is associated with DNA damage of Lgr5-positive epithelial stem cells in the stomach of patients with gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 140-149 [PMID: 22945475 DOI: 10.1007/s10620-012-2360-8]
- Huang LM, Cheng Y, Yu DK, Zhai K, Tan W, Lin DX. [Association between HLA-DQA1 gene copy number polymorphisms and susceptibility to gastric cancer]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2012; 34: 269-271 [PMID: 22781038 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766]
- Ly SY, Yoo SD, Chun SK. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in preliminary stage gastric cancer cells. *Pathology* 2012; 44: 251-254 [PMID: 22186672 DOI: 10.1097/PAT.0b013e32834e3395]
- 周殿元, 张万岱, 王继德, 徐克强. 中华医学会第二届全国幽门螺杆菌专题学术研讨会纪要. 中华消化杂志 1997; 17: 286-287
- 白歌, 胡伏莲. 疣状胃炎与幽门螺杆菌的关系及其治疗的研究. 中国内镜杂志 1997; 3: 14-15, 18
- 李庭赞, 陈志坦, 朱晓蕾, 颜兆寰, 孙希芹, 周艳, 刘冬冬. 对疣状胃炎与幽门螺杆菌的关系及临床对策的探讨. 临床和实验医学杂志 2009; 8: 9-11, 13
- Gunningham SP, Currie MJ, Han C, Robinson BA, Scott PA, Harris AL, Fox SB. The short form of the alternatively spliced flt-4 but not its ligand vascular endothelial growth factor C is related to lymph node metastasis in human breast cancers. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4278-4286 [PMID: 11106244]
- Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407: 249-257 [PMID: 11001068 DOI: 10.1038/35025220]
- Zolota V, Tsamandas AC, Aroukatos P, Panagiotopoulos V, Maraziotis T, Poulos C, Scopa CD. Expression of cell cycle inhibitors p21, p27, p14 and p16 in gliomas. Correlation with classic prognostic factors and patients' outcome. *Neuropathology* 2008; 28: 35-42 [PMID: 18181833 DOI: 10.1111/j.1440-1789.2007.00844.x]
- Du JR, Jiang Y, Zhang YM, Fu H. Vascular endothelial growth factor and microvascular density in esophageal and gastric carcinomas. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1604-1606 [PMID: 12854174]
- Ren J, Dong L, Xu CB, Pan BR. The role of KDR in the interactions between human gastric carcinoma cell and vascular endothelial cell. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 596-601 [PMID: 12174363]
- Boocock CA, Charnock-Jones DS, Sharkey AM, McLaren J, Barker PJ, Wright KA, Twentymann PR, Smith SK. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors flt and KDR in ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 506-516 [PMID: 7707437]
- Iruela-Arispe ML, Dvorak HF. Angiogenesis: a dynamic balance of stimulators and inhibitors. *Thromb Haemost* 1997; 78: 672-677 [PMID: 9198237]
- Hayashibara T, Yamada Y, Miyanishi T, Mori H, Joh T, Maeda T, Mori N, Maita T, Kamihira S, Tomonaga M. Vascular endothelial growth factor and cellular chemotaxis: a possible autocrine pathway in adult T-cell leukemia cell invasion. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2719-2726 [PMID: 11555584]
- von Marschall Z, Cramer T, Höcker M, Burde R, Plath T, Schirner M, Heidenreich R, Breier G, Riecken EO, Wiedenmann B, Rosewicz S. De novo expression of vascular endothelial growth factor in human pancreatic cancer: evidence for an autocrine mitogenic loop. *Gastroenterology* 2000; 119: 1358-1372 [PMID: 11054395 DOI: 10.1053/gast.2000.19578]
- de Jong JS, van Diest PJ, van der Valk P, Baak JP. Expression of growth factors, growth inhibiting factors, and their receptors in invasive breast cancer. I: An inventory in search of autocrine and paracrine loops. *J Pathol* 1998; 184: 44-52 [PMID: 9582526]
- Meister B, Grünebach F, Bautz F, Brugger W, Fink FM, Kanz L, Möhle R. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors in human neuroblastoma. *Eur J Cancer* 1999; 35: 445-449 [PMID: 10448297 DOI: 10.1016/S0959-8049(98)00387-6]
- Masood R, Cai J, Zheng T, Smith DL, Hinton DR, Gill PS. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is an autocrine growth factor for VEGF receptor-positive human tumors. *Blood* 2001; 98: 1904-1913 [PMID: 11535528 DOI: 10.1182/blood.V98.6.1904]
- Takahama M, Tsutsumi M, Tsujiuchi T, Kido A, Sakitani H, Iki K, Taniguchi S, Kitamura S, Konishi Y. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors during lung carcinogenesis by *N-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine* in rats. *Mol Carcinog* 1999; 24: 287-293 [PMID: 10326865 DOI: 10.1002/(SICI)1098-2744(199904)24:4<287::AID-MC6>3.0.CO;2-T]
- 刘东屏, 王炳元, 姜若兰. 胃癌组织内血管内皮生长因子及其受体flt、KDRmRNA的表达. 中华消化杂志 2000; 20: 252-254
- 张频, 狄建忠, 郭明高, 汪昱. 内分泌源性血管内皮生

- 长因子表达对胃癌侵袭性的影响. 中国现代医学杂志 2006; 16: 3381-3383, 3387
- 26 Ding S, Lin S, Dong X, Yang X, Qu H, Huang S, Liu W, Zhou L, Liu D. Potential prognostic value of circulating levels of vascular endothelial growth factor-A in patients with gastric cancer. *In Vivo* 2005; 19: 793-795 [PMID: 15999551]
- 27 Zhang H, Wu J, Meng L, Shou CC. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors KDR and Flt-1 in gastric cancer cells. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 994-998 [PMID: 12439912]
- 28 Liu DP, Wang BY, Jiang RL. Expression of VEGF and its receptors Flt and KDR in gastric cancer. *Chinese Journal of Digestive Diseases* 2001, 2: 171-173 [DOI: 10.1046/j.1443-9573.2001.00032.x]
- 29 Tian X, Song S, Wu J, Meng L, Dong Z, Shou C. Vascular endothelial growth factor: acting as an autocrine growth factor for human gastric adenocarcinoma cell MGC803. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 286: 505-512 [PMID: 11511087 DOI: 10.1006/bbrc.2001.5409]
- 30 高岩, 钟志红, 刘志辉, 王欣彦, 王郡, 王敏, 张淑兰. KDR蛋白在卵巢浆液性肿瘤组织中的表达及临床意义. *肿瘤预防与治疗* 2008; 21: 365-367, 380, 493

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 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. (《世界华人消化杂志》编辑部)

RASSF1A与CyclinA2在肝内胆管细胞癌中的表达与相关性

吴军卫, 李 潼, 李锦锦, 孟元普, 柴新群

■背景资料

RASSF1A是一个新型的抑癌基因, 是属于RASSF1家族(Ras association domain family 1)(RASSF1A-RASSF1H)的一个亚型, 位于染色体3p21.3区域, 编码由340个氨基酸组成的蛋白质。最先因其在人肺癌中常有纯合型缺失而被发现并被Dammann等克隆出来。其失活可以导致多种恶性肿瘤的发生, 其失活方式有突变、杂合性缺失、纯合性缺失及启动子甲基化, 其中以启动子甲基化最为常见。RASSF1A作为抑癌基因, 可通过多种不同的途径如促进细胞凋亡、调节染色体和微管的稳定性和调控细胞周期等发挥作用。

■同行评议者

韩天权, 教授, 上海交通大学医学院附属瑞金医院附属上海消化外科研究所

吴军卫, 李潼, 李锦锦, 孟元普, 柴新群, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科 湖北省武汉市 430022
吴军卫, 主要从事肝胆疾病的基础与临床研究。

作者贡献分布: 此论题由柴新群与吴军卫设计; 数据分析由李潼、李锦锦及孟元普完成; 本论文写作由吴军卫与柴新群完成。
国家自然科学基金资助项目, No. 81070059

通讯作者: 柴新群, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1227号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科。
xinqunc@hotmail.com

电话: 027-85351623

收稿日期: 2013-04-27 修回日期: 2013-06-08

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Expression of RASSF1A and Cyclin A2 in intrahepatic cholangiocarcinoma

Jun-Wei Wu, Tong Li, Jin-Jin Li, Yuan-Pu Meng, Xin-Qun Chai

Jun-Wei Wu, Tong Li, Jin-Jin Li, Yuan-Pu Meng, Xin-Qun Chai, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070059

Correspondence to: Xin-Qun Chai, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, 1277 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. xinqunc@hotmail.com

Received: 2013-04-27 Revised: 2013-06-08

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To detect the expression of RASSF1A and CyclinA2 in intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) and to analyze their relationship with the biological behavior of ICC.

METHODS: Thirty ICC specimens and 18 tumor-adjacent tissue specimens were collected from January 2010 to September 2011 in Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology. The expression of RASSF1A and CyclinA2 in these specimens was detected by immunohistochemistry. The relationship between the expression of RASSF1A and CyclinA2 and clinicopathologic parameters of ICC was then analyzed.

RESULTS: The positive rate of expression of RASSF1A in ICC was significantly lower than that in tumor-adjacent tissue (36.67% vs 83.33%, $P < 0.05$), while the positive rate of expression of Cyclin A2 in ICC was significantly higher than that in tumor-adjacent tissue (73.33% vs 11.11%, $P < 0.05$). There was a negative correlation between the expression of RASSF1A and that of Cyclin A2 in ICC ($P < 0.01$, $r = 0.54$).

CONCLUSION: RASSF1A and CyclinA2 may be involved in the occurrence and development of ICC. Inactivation of RASSF1A may contribute to the invasion and metastasis of ICC. CyclinA2 may play a significant role in the tumor inhibition mechanism mediated by RASSF1A.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: RASSF1A; CyclinA2; Intrahepatic cholangiocarcinoma; Immunohistochemistry

Wu JW, Li T, Li JJ, Meng YP, Chai XQ. Expression of RASSF1A and Cyclin A2 in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2038-2044 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2038.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2038>

摘要

目的: 探讨RASSF1A与CyclinA2在肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)的表达情况、与临床生物学行为的关系及二者的相关性。

方法: 收集2010-01/2011-09华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科中心手术切除的30例ICC组织与18例癌旁组织, 利用免疫组织化学两步法, 检测RASSF1A与CyclinA2分别在上述组织中的表达, 并分析其表达的意义及相关性。

结果: RASSF1A在ICC组织中的表达明显低于癌旁组织中的表达, 其在ICC组织中阳性表达率为36.67%(11/30), 在癌旁组织中阳性表达率为83.33%(15/18)($P < 0.05$); CyclinA2在ICC组织中的表达明显高于癌旁组织中的表达, 其在

ICC组织中阳性表达率为73.33%(22/30), 在癌旁组织中阳性表达率为11.11%(2/18)($P < 0.05$); RASSF1A失活与CyclinA2高表达在ICC的发生过程具有相关性($P < 0.01$, $r = 0.54$).

结论: RASSF1A基因与CyclinA2蛋白可能参与ICC的发生发展过程, RASSF1A基因失活可能参与ICC的浸润转移过程, 且二者的作用机制可能存在一定的相关性.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: RASSF1A; 细胞周期蛋白A2; 肝内胆管细胞癌; 免疫组织化学

核心提示: 本研究表明RASSF1A的失活参与了肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)的发生, 其作用机制可能与细胞周期蛋白A2(CyclinA2)有紧密的相关性, 而且发现RASSF1A失活的ICC患者更易发生淋巴结的转移, 临床分期也较晚, 可能预示着预后不良.

吴军卫, 李潼, 李锦锦, 孟元普, 柴新群. RASSF1A与CyclinA2在肝内胆管细胞癌中的表达与相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2038-2044 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2038.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2038>

0 引言

肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)是指发生于二级胆管以上的末梢侧肝内小胆管的胆管细胞癌, 起源于肝内胆管上皮细胞, 约占胆管细胞癌的5%-20%^[1]. 与肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)相比, ICC更容易发生早期淋巴结转移与术后复发^[2]. 但是其与肝门胆管癌(hilar cholangiocarcinoma)相比也有不同^[3], 肝门胆管癌比ICC更容易侵犯周围神经及淋巴结^[1]. 近30年来, 在全世界范围内, 有数据表明: ICC的发病率和死亡率呈不断上升趋势^[4,5]. RASSF1A是一个新型的抑癌基因, 其失活可以导致多种恶性肿瘤的发生, 其失活方式以启动子甲基化最为常见. RASSF1A作为抑癌基因, 可通过多种不同的途径发挥作用, 包括促进细胞凋亡、调节染色体和微管的稳定性和调控细胞周期等. 本文主要探讨RASSF1A基因与细胞周期蛋白A2(CyclinA2)在ICC组织与癌旁组织中的表达与临床意义, 并分析RASSF1A发挥抑癌作用是否同CyclinA2具有相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 收集华中科技大学同济医学附属协和医院肝胆外科2010-01/2011-09手术切除的ICC标本30例及癌旁组织18例, 所有标本的患者术前均未经过化疗和其他抗肿瘤治疗. 其中男性15例, 女性15例; 有血管癌栓者5例, 无癌栓者25例; 高、中分化胆管细胞癌20例, 低分化胆管细胞癌10例; 有淋巴结转移者11例, 无淋巴结转移者19例; 周围脏器转移者6例, 无转移者24例; Nathan分期^[6] I期、II期17例, III期、IV期13例. 所有组织均经脱水、石蜡包埋、4 μm 连续切片后进行实验. RASSF1A兔抗人多克隆抗体、CyclinA2兔抗人多克隆抗体均购自北京博奥森生物公司, 即用型SV两步法试剂盒、DAB显色液均购自武汉博士德公司.

1.2 方法 采用SV(Super Vision)免疫组织化学两步法的方法分别检测ICC组织和癌旁组织中的RASSF1A和CyclinA2的表达, 具体步骤严格按照说明书上进行. 兔抗人RASSF1A一抗及CyclinA2一抗的工作浓度均为1:100, RASSF1A和CyclinA2均用已知的正常乳腺组织阳性切片作为阳性对照; 用0.01 mol/L PBS(pH7.4)代替RASSF1A和CyclinA2的一抗做阴性对照. 判断标准: RASSF1A染色阳性主要定位于细胞质, CyclinA2染色阳性主要定位于细胞核. 用Mattern积分法^[7]染色指数评定染色结果: 阳性细胞百分率: 每例标本中, 随机选择10个含有阳性细胞的高倍视野($\times 400$), 每个视野计数100个肿瘤细胞, 取染色阳性细胞数的平均值计算阳性细胞百分率. 无阳性细胞定为0; 阳性细胞 $\leq 25\%$ 定为1; 阳性细胞 $\leq 50\%$ 定为2; 阳性细胞 $> 50\%$ 定为3. 染色强度: 阴性定为0; 浅黄色定为1; 深黄色定为2; 棕黄色定为3. 以染色强度和阳性细胞百分率之和为染色指数, 0为最小值, 6为最大值. 染色阳性定为阳性表达指数 > 3 , 染色阴性定为阳性表达指数 ≤ 3 .

统计学处理 所有数据采用SPSS15.0进行统计学分析, 两组组间率的比较用 χ^2 检验, 相关性比较用配对 χ^2 检验, 看其是否具有的一致性, 按 $\alpha = 0.05$ 检验标准, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 RASSF1A在ICC组织和癌旁组织中的表达 RASSF1A蛋白定位处染色呈棕黄或棕褐色, 主要表达于细胞质中, 细胞核中也有少量表达(图1A, B). 在18例癌旁组织中, RASSF1A阳性表达

■ 研发前沿

在ICC发生发展过程中, 有许多分子机制参与其中, 但分子生物学研究并未能完全解释其发生发展浸润转移的过程, 故立足于每种细胞因子的体内或体外的研究, 仍有助于去揭示这些细胞因子在ICC发生发展中的作用, 并为今后临床上基因治疗提供新的思路.

■ 相关报道

国内外对RASS-F1A作用研究多集中在肺癌与泌尿系统的肿瘤,对肝内胆管细胞癌也有报道,但对其在肝内胆管细胞癌的表达及作用机制则少见报道。

表 1 RASSF1A在肝内胆管细胞癌组织和癌旁组织中的表达

组织类型	n	阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)	χ^2 值	P值
肝内胆管癌	30	11	19	36.67		
癌旁组织	18	15	3	83.33	9.869	0.002

表 2 RASSF1A的表达与肝内胆管细胞癌组织的临床病理特征的关系

病理资料	n	阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)	χ^2 值	P值
年龄(岁)					0.287	>0.05
<60	20	8	12	40.00		
≥60	10	3	7	30.00		
性别					1.292	>0.05
男	15	7	8	46.67		
女	15	4	11	26.67		
CA199(U/mL)					0.578	>0.05
<100	19	6	13	31.58		
≥100	11	5	6	45.45		
周围脏器转移					4.342	<0.05
有	6	0	6	0.00		
无	24	11	13	45.83		
胆管癌分化程度					4.593	<0.05
高中分化	20	10	10	50.00		
低分化	10	1	9	10.00		
有无淋巴结					5.687	<0.05
有	11	1	10	9.09		
无	19	10	9	52.63		
有无血管癌栓					0.781	>0.05
有	5	1	4	20.00		
无	25	10	15	40.00		
Nathan分期					4.474	<0.05
I-II期	17	9	8	52.94		
III-IV期	13	2	11	15.38		

率为83.33%(15/18);在30例ICC组织中,其阳性表达率为36.67%(11/30),二者结果比较差异具有统计学意义($P<0.05$,表1)。

2.2 RASSF1A在ICC组织中的表达与其临床生物学行为的关系 在30例ICC患者中,RASSF1A的表达与年龄、性别、CA199水平、有无血管癌栓等无相关性($P>0.05$)。而与有无周围脏器转移、胆管癌分化程度、有无淋巴结转移、Nathan分期有关($P<0.05$,表2)。

2.3 CyclinA2在ICC中的表达 CyclinA2蛋白定位处染色呈棕黄或棕褐色,主要表达于细胞核中,细胞质也有少量分布(图1C)。在30例ICC组织中,CyclinA2阳性表达率为73.33%(22/30);在18例癌旁组织中,其阳性率为11.11%(2/18),二者结果比

较差异具有统计学意义($P<0.01$)(表3)。

2.4 RASSF1A与CyclinA2在ICC中表达的相关性 在30例ICC组织中,RASSF1A失活与CyclinA2高表达的有18例,RASSF1A表达阳性与CyclinA2表达阴性有7例(表4)。经配对 χ^2 检验,两者比较 $\chi^2 = 12.139$, $P<0.01$ (表4),表明RASSF1A失活和CyclinA2高表达在ICC中表达情况一致,其相关性有统计学意义。且 $r = 0.54$,其值 >0.5 ,表明RASSF1A发挥抑癌作用的过程可能同紧密CyclinA2相关。

3 讨论

2000年,Dammann等^[8]利用酵母双杂交筛选方法,在染色体3p21.3区域克隆出一种新型的Ras因子-RASSF1A。他属于RASSF1家族(Ras asso-

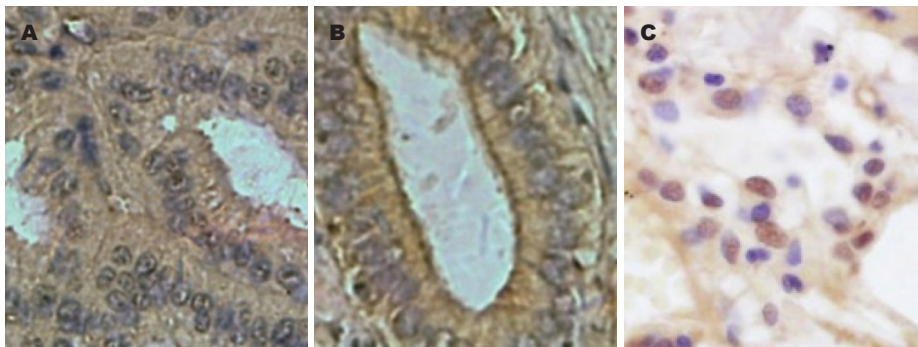


图 1 RASSF1A和CyclinA2的表达(×400). A: RASSF1A在ICC组织中的阳性表达; B: RASSF1A在癌旁组织中的阳性表达; C: CyclinA2在ICC组织中的阳性表达. ICC: 肝内胆管细胞癌.

应用要点
 本研究表明ICC患者RASSF1A存在较高的失活率, RASSF1A失活或低表达的ICC组织多伴有CyclinA2的高表达, 二者表达可能存在负相关, 表明二者存在某种调节机制, 这给以后ICC的基因治疗提供了一个新的靶点.

表 3 CyclinA2在肝内胆管细胞癌组织和癌旁组织中的表达

组织类型	n	阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)	χ^2 值	P值
肝内胆管癌	30	22	8	73.33		
癌旁组织	18	2	16	11.11	17.422	0.000

表 4 RASSF1A和CyclinA2在肝内胆管细胞癌中表达比较(n)

RASSF1A失活	CyclinA2高表达		合计(n)	χ^2 值	P值
	是(n)	否(n)			
是(n)	18	1	19		
否(n)	4	7	11		
合计(n)	22	8	30	12.139	0.000

ciation domain family 1)(RASSF1A-RASSF1H)的一个亚型, 其cDNA全长1873 bp, 编码由340个氨基酸组成的蛋白质, 其表达蛋白的N'末端与一个富含半胱氨酸的甘油二酯/佛波酯(DAG)结合区高度同源, 即蛋白激酶C的保守域1, RASSF1A表达多肽链的氨基酸的第125到138位可能是ATM的磷酸化位点. 很多实验都表明RASSF1A的过量表达可以促进细胞凋亡、细胞周期停滞和减少癌细胞的发生. RASSF1A的减少会导致细胞周期失去控制, 增强基因的不稳定性, 增强细胞的移动性, 抵抗K-ras和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)诱导的细胞凋亡^[9-14]. 目前已有研究者证实RASSF1A失活参与了多种人类肿瘤如肺癌^[15,16]、胃癌^[17]、贲门癌与食管癌^[18]、膀胱癌^[19]、肾癌^[20]、肝细胞癌^[21]、宫颈癌与子宫内膜癌^[22]等的发生, 但是目前国内外对RASSF1A与肝内胆管细胞癌关系的研究较少.

在人体内CyclinA2主要表达于人体的胚胎细胞和性腺生殖细胞(如精原细胞、精母细胞等)^[23], 也常见于人类肿瘤^[24,25], 在DNA合成以及

细胞周期G₁-S期与G₂-M期的转换过程中起重要作用^[11]. RASSF1A是否通过CyclinA2发挥抑癌作用一直是研究的热点, 但是其机制也存在诸多争议. Fenton等^[26]研究表明RASSF1A可以通过与转录因子p120E4F相互作用而影响G₁期的过渡. p120E4F可以通过下调CyclinA2的转录, 导致细胞周期停滞在G₁期^[27]. RASSF1A可以加强p120E4F抑制CyclinA2的能力并与p120E4F协同诱导细胞周期的停滞^[12]. 所以若RASSF1A失活其抑制CyclinA2的能力减弱, 则CyclinA2会显著增多, 进而促进DNA的合成以及加速细胞有丝分裂的进程. 但是有研究表明RASSF1A也可以控制细胞分裂停滞在G₂-M期. 2004年Song等^[28]报道了RASSF1A通过细胞周期相关蛋白Cdc20抑制后期促进复合物(anaphase-promoting complex, APC), 诱导细胞停滞在G₂向M期过渡的前中期. Cdc20可以绑定和激活大分子APC的泛素连接酶, 继而促进细胞周期蛋白CyclinA2和B的泛素化和降解. 与RASSF1A作用后, Cdc20激活APC泛素连接酶的作用被抑制, 因此APC不能降解CyclinA2和B, 稳定的CyclinA2和B会阻止细胞分裂的进行. 失活的RASSF1A导致细胞分裂的加速. 由此可以看出RASSF1A在CyclinA2的调节中的角色是极其复杂的, Fenton等^[26]的实验发现RASSF1A的作用是减少CyclinA2蛋白的水平, 但是Song等^[28]的实验却表明他可以稳定乃至增加CyclinA2蛋白的水平. 这种矛盾的现象有待于我们进一步研究去证实其发挥作用的真

■同行评价

本文研究对象为30例肝内胆管细胞癌和18例癌旁组织,用免疫组织化学检测方法发现,RASSF1A在肝内胆管癌的表达降低,CyclinA2的表达升高,并发现两者的表达相关,具有一定指导意义。

正机制,本实验的目的之一就是探求RASSF1A同CyclinA2是否存在关联,亦或是二者是相互独立的因素。

RASSF1A蛋白还是一种微管结合蛋白,可以通过微管相关蛋白(microtubule-associated proteins, MAPs)与微管相互作用。有研究表明RASSF1A可以通过调控微管蛋白的动力使其可以控制细胞的运动性和侵袭性。Dalloi等^[29]通过研究非小细胞肺癌发现过量表达RASSF1A可以抑制癌细胞的迁移,改变癌细胞的形态。通过研究敲除RASSF1A基因的鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts, MEFs)及HeLa细胞的特性,发现上述类型细胞与细胞之间的粘附力被弱化,且细胞的变形能力增强,这与微管分枝扩展增多和张力纤维肌动蛋白的形成有关。因此,上述实验表明RASSF1A功能的缺失可能在肿瘤的发生、发展阶段都起作用。

2002年Wong等^[30]第一次发现13例肝外胆管癌(extrahepatic cholangiocarcinoma, ECC)中RASSF1A失活的概率为69%,而且发现RASSF1A失活与ECC的发生、发展存在很大的相关性。Kim等^[31]发现RASSF1A启动子甲基化的概率在ECC中高于其癌前病变胆管上皮内瘤变($P<0.05$),在正常胆管上皮、胆管上皮内瘤变、ECC中,其甲基化的概率是逐渐增加的。

国内Chen等^[32]采用RT-PCR方法发现RASSF1A基因与ECC的淋巴结转移、TNM分期相关,也与其分化程度存在相关性。他们用DNA甲基转移酶抑制剂5-氮-2-脱氧胞苷(5-Aza-CdR)对人胆管癌细胞株QBC-939进行干预后,发现5-Aza-CdR能够诱导已经甲基化的RASSF1A基因启动子区域去甲基化,并通过该机制诱导RASSF1A基因在人胆管癌细胞系QBC-939中重新表达,这也充分说明了RASSF1A基因与ECC的发生存在很大相关性。这也为胆管癌的基因治疗开辟一个新的方向,因为在胆管癌中,RASSF1A基因是完整的,因为甲基化而休眠,如果通过对其启动子进行脱甲基化使其重新表达,这将是一个新的肿瘤治疗方法。

以上研究结果表明,RASSF1A作为一种新型抑癌基因,其失活与癌症的发生、发展有着必然联系,与ECC的发生、发展、治疗、预后也息息相关。但是RASSF1A怎样通过相关机制调控CyclinA2的表达来调节细胞周期的进程还存在争议;RASSF1A失活与人非小细胞肺癌侵

袭性增强有关,但是其与ICC的侵袭力是否相关尚未见报道;RASSF1A失活与ECC的发生、发展、预后相关已被国内外许多研究证实,但是其与ICC的关系却罕见报道。本实验旨在通过研究RASSF1A的失活是否与ICC的发生相关,若存在相关性其表达与CyclinA2的表达在ICC中是否有关联,且其失活是否也与ICC侵袭力增强、分期较晚、预后较差相关。

本实验的研究结果表明RASSF1A在ICC和癌旁组织中的阳性表达率分别为36.67%、83.33%,在癌旁组织中的表达率明显高于癌组织,其差异具有显著性意义($P<0.05$);CyclinA2在ICC和癌旁组织的阳性表达率分别为73.33%、11.11%,在ICC组织中的表达强于癌旁组织,其差异同样具有显著性($P<0.05$);而且二者在ICC的表达紧密相关($P<0.01, r = 0.54$)。由此可以得出RASSF1A在ICC中的失活率为63.33%,其在ICC中的表达减弱或消失,而且发现RASSF1A失活或低表达的ICC组织中常伴有CyclinA2的高表达,可以推测,二者之间可能存在抑制表达的机制,RASSF1A发挥抑癌作用的机制可能与CyclinA2增多有关,这与Fenton等^[26]的研究结果相一致。

我们还发现RASSF1A蛋白的表达水平与年龄、性别、CA199水平及有无血管浸润无关,与肿瘤分化程度、有无周围脏器转移、有无淋巴结转移、Nathan分期有关。低分化、有淋巴结转移、有周围脏器转移、Nathan分期晚的ICC患者,其RASSF1A的失活率较高,提示RASSF1A的表达失活可能与ICC的分化低、侵袭力强及预后较差相关,这与相关文献报道的结果相一致,这在以后可能会作为判断胆管癌预后的一个指标。

总之,在ICC患者中RASSF1A低表达与CyclinA2的高表达同ICC的发生发展相关;RASSF1A的失活可能参与了ICC的浸润转移过程。进一步的研究需要证实RASSF1A与CyclinA2的作用机制,如何利用RASSF1A启动子去甲基化的方法使RASSF1A在人体内重新表达,从而发挥其抑癌作用,抑制肿瘤的转移和复发,并有望为ICC的基因治疗提供一个新的研究方向或靶点。

4 参考文献

- 1 Sirica AE. Cholangiocarcinoma: molecular targeting strategies for chemoprevention and therapy. *Hepatology* 2005; 41: 5-15 [PMID: 15690474 DOI: 10.1002/

- hep.20537]
- 2 Yang J, Yan LN. Current status of intrahepatic cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6289-6297 [PMID: 19009641 DOI: 10.3748/wjg.14.6289]
 - 3 Berthiaume EP, Wands J. The molecular pathogenesis of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 127-137 [PMID: 15192786 DOI: 10.1055/s-2004-828890]
 - 4 Patel T. Worldwide trends in mortality from biliary tract malignancies. *BMC Cancer* 2002; 2: 10 [PMID: 11991810 DOI: 10.1186/1471-2407-2-10]
 - 5 Khan SA, Thomas HC, Davidson BR, Taylor-Robinson SD. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005; 366: 1303-1314 [PMID: 16214602 DOI: 10.1016/S0140-6736(05)67530-7]
 - 6 Nathan H, Aloia TA, Vauthey JN, Abdalla EK, Zhu AX, Schulick RD, Choti MA, Pawlik TM. A proposed staging system for intrahepatic cholangiocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 14-22 [PMID: 18987916 DOI: 10.1245/s10434-008-0180-z]
 - 7 Bittner M, Meltzer P, Chen Y, Jiang Y, Seftor E, Hendrix M, Radmacher M, Simon R, Yakhini Z, Bendor A, Sampsas N, Dougherty E, Wang E, Marincola F, Gooden C, Lueders J, Glatfelter A, Pollock P, Carpten J, Gillanders E, Leja D, Dietrich K, Beaudry C, Berens M, Alberts D, Sondak V. Molecular classification of cutaneous malignant melanoma by gene expression profiling. *Nature* 2000; 406: 536-540 [PMID: 10952317 DOI: 10.1038/35020115]
 - 8 Dammann R, Li C, Yoon JH, Chin PL, Bates S, Pfeifer GP. Epigenetic inactivation of a RAS association domain family protein from the lung tumour suppressor locus 3p21.3. *Nat Genet* 2000; 25: 315-319 [PMID: 10888881 DOI: 10.1038/77083]
 - 9 Vos MD, Martinez A, Elam C, Dallol A, Taylor BJ, Latif F, Clark GJ. A role for the RASSF1A tumor suppressor in the regulation of tubulin polymerization and genomic stability. *Cancer Res* 2004; 64: 4244-4250 [PMID: 15205337 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0339]
 - 10 Ortiz-Vega S, Khokhlatchev A, Nedwidek M, Zhang XF, Dammann R, Pfeifer GP, Avruch J. The putative tumor suppressor RASSF1A homodimerizes and heterodimerizes with the Ras-GTP binding protein Nore1. *Oncogene* 2002; 21: 1381-1390 [PMID: 11857081 DOI: 10.1038/sj.onc.1205192]
 - 11 Rabizadeh S, Xavier RJ, Ishiguro K, Bernabeortiz J, Lopez-Illasaca M, Khokhlatchev A, Mollahan P, Pfeifer GP, Avruch J, Seed B. The scaffold protein CNK1 interacts with the tumor suppressor RASSF1A and augments RASSF1A-induced cell death. *J Biol Chem* 2004; 279: 29247-29254 [PMID: 15075335 DOI: 10.1074/jbc.M401699200]
 - 12 Dallol A, Cooper WN, Al-Mulla F, Agathangelou A, Maher ER, Latif F. Depletion of the Ras association domain family 1, isoform A-associated novel microtubule-associated protein, C19ORF5/MAP1S, causes mitotic abnormalities. *Cancer Res* 2007; 67: 492-500 [PMID: 17234756 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3604]
 - 13 Song MS, Chang JS, Song SJ, Yang TH, Lee H, Lim DS. The centrosomal protein RAS association domain family protein 1A (RASSF1A)-binding protein 1 regulates mitotic progression by recruiting RASSF1A to spindle poles. *J Biol Chem* 2005; 280: 3920-3927 [PMID: 15546880 DOI: 10.1074/jbc.M409115200]
 - 14 Vos MD, Dallol A, Eckfeld K, Allen NP, Donninger H, Hesson LB, Calvisi D, Latif F, Clark GJ. The RASSF1A tumor suppressor activates Bax via MOAP-1. *J Biol Chem* 2006; 281: 4557-4563 [PMID: 16344548 DOI: 10.1074/jbc.M512128200]
 - 15 Tan S, Sun C, Wei X, Li Y, Wu Y, Yan Z, Feng F, Wang J, Wu Y. Quantitative assessment of lung cancer associated with genes methylation in the peripheral blood. *Exp Lung Res* 2013; 39: 182-190 [PMID: 23614702 DOI: 10.3109/01902148.2013.790096]
 - 16 Ko E, Lee BB, Kim Y, Lee EJ, Cho EY, Han J, Shim YM, Park J, Kim DH. Association of RASSF1A and p63 with poor recurrence-free survival in node-negative stage I-II non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 1204-1212 [PMID: 23319821 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2848]
 - 17 Zheng-Hao D, Ji-Fang W, De-Sheng X, Jian-Hua Z. Galectin-1 is up-regulated by RASSF1A gene in human gastric carcinoma cell line SGC7901. *APMIS* 2012; 120: 582-590 [PMID: 22716213 DOI: 10.1111/j.1600-0463.2012.02874.x]
 - 18 Zhou SL, Cui J, Fan ZM, Li XM, Li JL, Liu BC, Zhang DY, Liu HY, Zhao XK, Song X, Wang R, Yan ZC, Yi HX, Wang LD. Polymorphism of A133S and promoter hypermethylation in Ras association domain family 1A gene (RASSF1A) is associated with risk of esophageal and gastric cardia cancers in Chinese population from high incidence area in northern China. *BMC Cancer* 2013; 13: 259 [PMID: 23705663 DOI: 10.1186/1471-2407-13-259]
 - 19 Zhong X, Isharwal S, Naples JM, Shiff C, Veltri RW, Shao C, Bosompem KM, Sidransky D, Hoque MO. Hypermethylation of genes detected in urine from Ghanaian adults with bladder pathology associated with *Schistosoma haematobium* infection. *PLoS One* 2013; 8: e59089 [PMID: 23527093 DOI: 10.1371/journal.pone.0059089]
 - 20 Kawai Y, Sakano S, Suehiro Y, Okada T, Korenaga Y, Hara T, Naito K, Matsuyama H, Hinoda Y. Methylation level of the RASSF1A promoter is an independent prognostic factor for clear-cell renal cell carcinoma. *Ann Oncol* 2010; 21: 1612-1617 [PMID: 20038516 DOI: 10.1093/annonc/mdp577]
 - 21 Mohamed NA, Swify EM, Amin NF, Soliman MM, Tag-Eldin LM, Elsherbiny NM. Is serum level of methylated RASSF1A valuable in diagnosing hepatocellular carcinoma in patients with chronic viral hepatitis C? *Arab J Gastroenterol* 2012; 13: 111-115 [PMID: 23122451 DOI: 10.1016/j.ajg.2012.06.009]
 - 22 Kim GE, Kweon SS, Lee JS, Lee JH, Nam JH, Choi C. Quantitative assessment of DNA methylation for the detection of cervical and endometrial adenocarcinomas in liquid-based cytology specimens. *Anal Quant Cytol Histol* 2012; 34: 195-203 [PMID: 23016466]
 - 23 Ravnik SE, Wolgemuth DJ. The developmentally restricted pattern of expression in the male germ line of a murine cyclin A, cyclin A2, suggests roles in both mitotic and meiotic cell cycles. *Dev Biol* 1996; 173: 69-78 [PMID: 8575639 DOI: 10.1006/dbio.1996.0007]
 - 24 Haferlach T, Bacher U, Haferlach C, Kern W, Schnittger S. Insight into the molecular pathogenesis of myeloid malignancies. *Curr Opin Hematol* 2007; 14: 90-97 [PMID: 17255785 DOI: 10.1097/MOH.0b013e3280168490]
 - 25 Schick V, Majores M, Fassunke J, Engels G, Simon

- M, Elger CE, Becker AJ. Mutational and expression analysis of CDK1, cyclinA2 and cyclinB1 in epilepsy-associated glioneuronal lesions. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2007; 33: 152-162 [PMID: 17359356 DOI: 10.1111/j.1365-2990.2006.00788.x]
- 26 Fenton SL, Dallol A, Agathangelou A, Hesson L, Ahmed-Choudhury J, Baksh S, Sardet C, Dammann R, Minna JD, Downward J, Maher ER, Latif F. Identification of the E1A-regulated transcription factor p120 E4F as an interacting partner of the RASSF1A candidate tumor suppressor gene. *Cancer Res* 2004; 64: 102-107 [PMID: 14729613 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-2622]
- 27 Fajas L, Paul C, Vié A, Estrach S, Medema R, Blanchard JM, Sardet C, Vignais ML. Cyclin A is a mediator of p120E4F-dependent cell cycle arrest in G1. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 2956-2966 [PMID: 11283272 DOI: 10.1128/MCB.21.8.2956-2966.2001]
- 28 Song MS, Song SJ, Ayad NG, Chang JS, Lee JH, Hong HK, Lee H, Choi N, Kim J, Kim H, Kim JW, Choi EJ, Kirschner MW, Lim DS. The tumour suppressor RASSF1A regulates mitosis by inhibiting the APC-Cdc20 complex. *Nat Cell Biol* 2004; 6: 129-137 [PMID: 14743218 DOI: 10.1038/ncb1091]
- 29 Dallol A, Agathangelou A, Tommasi S, Pfeifer GP, Maher ER, Latif F. Involvement of the RASSF1A tumor suppressor gene in controlling cell migration. *Cancer Res* 2005; 65: 7653-7659 [PMID: 16140931]
- 30 Wong N, Li L, Tsang K, Lai PB, To KF, Johnson PJ. Frequent loss of chromosome 3p and hypermethylation of RASSF1A in cholangiocarcinoma. *J Hepatol* 2002; 37: 633-639 [PMID: 12399230 DOI: 10.1016/S0168-8278(02)00269-6]
- 31 Kim BH, Cho NY, Shin SH, Kwon HJ, Jang JJ, Kang GH. CpG island hypermethylation and repetitive DNA hypomethylation in premalignant lesion of extrahepatic cholangiocarcinoma. *Virchows Arch* 2009; 455: 343-351 [PMID: 19763613 DOI: 10.1007/s00428-009-0829-4]
- 32 Chen YJ, Tang QB, Zou SQ. Inactivation of RASSF1A, the tumor suppressor gene at 3p21.3 in extrahepatic cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1333-1338 [PMID: 15761971]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



中国汉族人群食管癌遗传易感基因多态性的研究进展

莫赛军, 柯少瑞, 张佳彤, 杨胜利

莫赛军, 柯少瑞, 张佳彤, 杨胜利, 郑州大学基础医学院基础
肿瘤学教研室 河南省郑州市 450001

莫赛军, 讲师, 主要从事肿瘤病因及治疗机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81101686

河南省教育厅科学技术研究重点基金资助项目, No. 12A310
008

作者贡献分布: 本文综述由莫赛军、柯少瑞及张佳彤完成; 杨胜
利负责审核。

通讯作者: 杨胜利, 教授, 450001, 河南省郑州市科学大道100
号, 郑州大学基础医学院基础肿瘤学教研室。

shlyang@zzu.edu.cn

电话: 0371-66658189

收稿日期: 2013-05-08 修回日期: 2013-05-30

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Progress in research of polymorphisms of genes associated with susceptibility to esophageal cancer in Chinese Han population

Sai-Jun Mo, Shao-Rui Ke, Jia-Tong Zhang,
Sheng-Li Yang

Sai-Jun Mo, Shao-Rui Ke, Jia-Tong Zhang, Sheng-Li
Yang, Department of Basic Oncology, Basic Medical Col-
lege of Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, Henan
Province, China

Supported by: Natural Science Foundation of China, No.
81101686; the Foundation of Henan Educational Commit-
tee, No. 12A310008

Correspondence to: Sheng-Li Yang, Professor, Depart-
ment of Basic Oncology, Basic Medical College of Zheng-
zhou University, 100 of Science Road, Zhengzhou 450001,
Henan Province, China. shlyang@zzu.edu.cn

Received: 2013-05-08 Revised: 2013-05-30

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

Esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) is one of most common malignant tumors in China, and the polymorphisms of genes associated with susceptibility to ESCC are important factors affecting individual tumor susceptibility. Genes associated with susceptibility to ESCC in Chinese Han population mainly contain metabolizing enzyme-associated genes, nucleotide excision repair genes, methylenetetrahydrofolate reductase gene, tumor suppressor genes, oncogenes, and cytokines. The genotypes of genes associated with susceptibility to ESCC have obvious regional distribution in Chinese

Han population. This review aims to summarize and analyze the polymorphisms of genes associated with susceptibility to ESCC, including tumor suppressor genes and genes encoding oncogenes and cytokines, in Chinese Han population.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Inherited susceptible gene; Polymorphism; Regional distribution; Chinese Han population

Mo SJ, Ke SR, Zhang JT, Yang SL. Progress in research of polymorphisms of genes associated with susceptibility to esophageal cancer in Chinese Han population. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2045-2050 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2045.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2045>

摘要

食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是我国常见的恶性肿瘤之一, 其易感基因的遗传多态性是影响个体食管癌易感性的重要因素。中国汉族人群食管癌遗传易感基因主要包括代谢酶相关基因、DNA切除修复相关基因、相关的抑癌基因、癌基因和细胞因子基因等。本文主要对近年研究的中国汉族人群食管癌易感相关的抑癌基因、癌基因及细胞因子等进行总结和分析。结果表明上述ESCC遗传易感基因的多态基因型在中国汉族人群中具有明显的地域分布, 这为食管癌的区域诊断、监测及早期筛查提供了重要的理论基础。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 食管鳞癌; 遗传易感基因; 多态性; 地域分布; 中国汉族人群

核心提示: 基因的遗传多态性很大程度上影响我国汉族人群食管癌的发病危险。我国食管癌及其易感基因多态基因型的分布具有显著的地域性, 这对于食管癌的区域预防、监测、早期筛查乃至预后判断有着非常重要的指导意义。

■背景资料

食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是我国高发恶性肿瘤。遗传易感基因多态性在ESCC发生过程中起着非常重要的作用。深入研究这些基因的突变型与ESCC发生之间的关系, 可为预防、监测、早期筛查乃至预后判断提供更为合理的科学依据。

■同行评议者

张力为, 副教授, 新疆医科大学第一附属医院胸外科

■ 研发前沿

食管癌易感基因的遗传多态性很大程度上影响我国汉族人群食管癌的发病危险。但由于各地科学研究水平的差异, 所研究的我国ESCC易感基因实验数据并不完整。因此, 非常有必要加强我国各食管癌高发区食管癌易感基因的研究。

莫赛军, 柯少瑞, 张佳彤, 杨胜利. 中国汉族人群食管癌遗传易感基因多态性的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2045-2050 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2045.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2045>

0 引言

近年的分子生物学研究表明, 遗传基因的多态性可导致某些人群在同样环境条件下, 更容易发生某一类疾病。通过对基因多态性与疾病易感性的联系研究, 可阐明人体对疾病、毒物和应激的易感性。食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是我国常见恶性肿瘤之一, 严重危害民众的身心健康。越来越多的证据表明, 与ESCC发生相关的遗传易感基因除了与外源化合物的活化和解毒有关的代谢酶和DNA损伤修复基因外, 还包括癌基因、抑癌基因及细胞因子等。目前对代谢酶和DNA修复相关的食管癌遗传易感基因的研究和综述很多, 在此不一一赘述。本文主要对近年研究较多的与我国汉族人群ESCC易感相关的癌基因和抑癌基因、细胞因子等基因多态性进行总结和分析, 以期对ESCC预防和治疗提供新的研究领域。

1 相关抑癌基因和癌基因

食管癌的发生发展涉及到许多癌基因和抑癌基因的改变。已知与我国ESCC相关的具有多态性的抑癌基因和癌基因包括*p53*、*p16*、*p21*、*Rb*、第10染色体同源丢失性磷酸酶-张力蛋白基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, *PTEN*)、*cyclinD1*、小鼠双微体基因(murine double minute 2, *MDM2*)等。

*p53*基因是与肿瘤关系最密切的抑癌基因, 其72位密码子Arg/Pro突变在包括食管癌在内的所有肿瘤中最为常见。该密码子纯合突变Pro/Pro为河南林州、四川盐亭及广东潮汕等地人群ESCC易感因素^[1-3], 但亦有研究表明该多态位点并不影响江苏淮安及河北磁县、涉县等地人群ESCC患病率^[4,5]。除72 Arg/Pro突变外, 河南林州食管癌高发区人群*p53*基因1、2、4、5、6、7、8外显子均存在突变^[1], 且第5外显子突变频率与饮食密切相关^[6]。研究发现河南林州人群患ESCC的风险还与抑癌基因*PTEN* rs2735343 C/G多态相关, 且该位点可与P53 72Arg/Pro相互作用, 共同影响该人群患ESCC风险^[7]。*Rb*基因是一个研究较早的显性抑癌基因, 其突变与食管癌发生密切相关。如陕西人群*Rb*基因第17内含

子存在2个等位基因片段即945、630加315 bp, 二者在食管正常和癌组织中的基因型频率分布具有显著差异^[8]。此外, 细胞周期抑制因子P21 3'UTR 20位核苷酸在北方人群中存在突变, 且携带T/T基因型的吸烟个体对ESCC更为易感^[9]; 另外其密码子31 Ser/Arg突变位点中, Ser/Ser纯合基因型可以显著增加宁夏汉族患ESCC风险^[10]。但亦有研究表明, P21 31Ser/Arg突变并不影响江苏淮安等地人群的ESCC易感性^[11]。食管癌相关基因1和2(esophageal cancer related gene 1 and 2, *ECRG1*和*ECRG2*)在体内外均可以抑制肿瘤细胞的生长。Li等^[12]对北京及周边人群的研究发现, 携带*ECRG1* 290 Gln/Gln及290 Arg/Gln基因型位点的个体ESCC发生风险显著高于携带290 Arg/Arg基因型的个体。*ECRG2*外显子4存在短串联重复序列多态性, 研究发现新疆汉族和河南林州等地人群中携带TCA3/TCA3基因型个体食管癌发生和转移的风险增加^[13]。

除上述抑癌基因外, 癌基因突变在很大程度上亦影响我国汉族人群ESCC易感性, 如*cyclinD1*和*MDM2*等。*cyclinD1*是与细胞周期相关的癌基因之一, 对该基因870G/A多态性与食管癌的关系报道不一。Zhang等^[14]对我国北方人群的研究结果显示GG基因型ESCC患病风险显著降低, 但Yu等^[15]认为870G/A与ESCC患病风险无关。此外, *MDM2* 309T/G多态性亦可能是食管癌重要的遗传易感因素, 其309GG基因型可增加鲁西南汉族人群ESCC发病风险^[16]。

2 相关细胞因子及其受体

细胞因子(cytokine, CK)是一类能在细胞间传递信息、具有免疫调节和效应功能的蛋白质或小分子多肽, 包括白介素(interleukin, IL)、干扰素(interferon, IFN)、肿瘤坏死因子超家族(tumor necrosis factor, TNF)、生长因子等。

微环境中免疫相关基因水平的变化与食管癌的发生发展密切相关。研究发现*IL-6*、*IL-18*、*IL-12*及*IL-23R*(receptor)等基因的多态性与我国人群食管癌易感性相关。如广西右江人群存在*IL-6*基因-634C/G位点多态, 且携带G等位基因的个体食管癌的发病风险升高^[17]。河南人群存在*IL-18*启动子多态性和*IL-12*基因SNP位点: *IL-18*启动子-137 GC和CC基因型比GG基因型个体易患食管癌^[18]; *IL-12A* rs568408 G/A、*IL-12B* rs3212227 A/C以及*IL-12Rβ1* 378 C/G多态位点均与该地区人群ESCC相关^[19]。此外, *IL-*

23R rs6682925 TC/CC和rs1884444 TG/GG多态基因型与江苏淮安人群食管癌的高发有关^[20].

IFN具有抗肿瘤效应. 研究发现IFN- γ 874 AT基因型可增加大汶河流域人群食管癌易感性, 且T等位基因与饮酒指数、霉变食品摄入和三餐时间不规律存在交互作用^[21]; 另外, 其调节因子3(interferon regulatory factor 3, *IRF-3*)基因427位密码子多态可增加河南安阳人群食管癌发病风险^[22]. 其他具有抗肿瘤效应的细胞因子如人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)和细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene, CTLA4)多态性亦发现与ESCC发生有关. 如HLA-A和HLA-B、CTLA4+49A/G和-1661A/G位点多态性分别与广东潮汕人群、河南安阳人群ESCC易感相关^[23,24].

生长因子突变往往导致肿瘤易感性的产生. 如转化生长因子(transforming growth factor beta 1, TGF- β 1), 该基因915G/C和启动子-509C/T多态性均与我国北方人群ESCC发病相关. TGF- β 1 915C和-509T等位基因可能是食管癌发病的遗传易感基因^[25,26]. 但对河南、江苏淮安等地人群研究发现, 携带突变基因型-509CT/TT的个体患食管癌风险显著降低^[27]. 此外, *TGF- β 1*基因869T/C多态性在广西食管癌组和正常人群中的分布差异无统计学意义; 但在河南人群中, 携带TC和CC基因型的个体患食管癌的风险明显增加^[28]. 同样, TGF- β 受体多态性也与食管癌发生相关. 如转化生长因子 β I型受体(transforming growth factor-beta receptor type 1 gene, TGF β R1)内含子7存在24G/A位点突变, 北方汉族人群中携带A等位基因的个体食管鳞癌的发病风险升高^[29]. 江苏淮安人群中, TGF- β R2 -875G/A突变位点可显著降低该人群ESCC发病率^[27]. 此外有研究表明, 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)和胰岛素样生长因子1基因(insulin-like growth factor- I, *IGF- I*)多态性也与ESCC发生相关. 如EGF 61G/A和IGF rs7965399 T/C位点突变分别与四川人群和江苏镇江等地人群ESCC易感相关^[30,31].

TNF亦是与ESCC易感相关的重要因子, 研究发现其家族成员Fas和Fas配体(Fas ligand, FasL)基因多态性影响ESCC发生. 如Fas -1377G/A、Fas -670A/G和FasL -844T/C多态位点与北京及其附近人群食管癌易感相关, 该人群中携带Fas -1377AA、Fas -670GG和FasL -844的个体ESCC发生危险增加^[32]. 新近发现的TNF超家族

成员, 即诱骗受体3(decoy receptor 3, DcR3, 又称肿瘤坏死因子受体6B), 其147C/T突变与重庆及周边的人群易感相关, 携带CC基因型的个体患ESCC的危险明显升高^[33].

3 新近发现的食管癌易感相关基因

全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)是目前搜寻复杂疾病易感基因的最新技术, 目前利用该技术已发现不少与我国汉族人群相关的食管癌易感基因, 如磷脂酶基因(phospholipase C epsilon 1, *PLCE1*)和核黄素转运基因C20orf54(chromosome 20 open reading frame 54, 又称*RFT2*, human riboflavin transporter 2)等^[34]. 进一步的研究发现*PLCE1*和*C20orf54*基因突变与ESCC发生危险密切相关. 不少研究表明, *PLCE1* SNP rs2274223 A/G突变与我国ESCC发生相关^[35-37], 如Zhou等^[36]发现河北磁县等地*PLCE1* rs2274223 G突变型可导致ESCC危险率升高. *C20orf54*基因有3个SNP位点与ESCC发生相关, 即1172C/A(rs3746803)、1246A/G(rs3746802)和rs3746804 1139C/T位点, 其中rs3746803和rs3746802不同基因型虽然在山西长治地区ESCC患者和健康人群中的分布具有显著差异, 但rs3746803突变基因型并没有表现出与ESCC发病危险率的相关性, 而rs3746802和rs3746804位点, 其携带突变基因型的个体其ESCC发病危险显著降低^[38,39]. 此外, 利用GWAS技术, 还先后在染色体4q23、16q12.1、17q21、22q12、3q27、17p13、18p11、5q11、6p21、10q23、12q24和21q22上鉴定了多个中国汉族食管癌易感位点^[40-43].

值得注意的是, 新近发现微小RNA(microRNA, miRNA)多态性也可影响我国汉族人群食管癌易感性. 对重庆及周边地区人群进行ESCC易感相关研究, 结果显示miR-146a前体G/C(rs2910164)多态性与食管癌易感有关, 与突变基因型CC相比, 携带基因型GG的个体患食管癌的危险升高(OR = 2.39), 而且在吸烟人群中, 该基因型的作用更为显著(OR = 3.17)^[44]. 这一研究结果表明miRNA在食管癌发生发展中起着非常重要作用.

4 结论

研究表明暴露于相同环境因素的人群却只有少数人发生食管癌, 提示个体的基因易感性因素在食管癌的发生或发展中起着非常重要的作用. 通过对我国汉族人群食管癌遗传易感基因

■ 相关报道

最近通过全基因组关联研究(genome-wide association studies)鉴别了多个全新的中国人群ESCC易感位点, 进一步表明ESCC的发生是环境和遗传因素共同作用的结果. 因此通过研究食管癌遗传易感基因多态性及其地域分布来揭示导致食管癌发生的个人遗传因素具有重要的意义.

■创新盘点

目前对代谢酶和DNA修复相关的食管癌遗传易感基因的研究和综述很多。本文主要对近年研究的与我国汉族人群ESCC易感相关的癌基因和抑癌基因、细胞因子等基因多态性进行总结和分析,以期ESCC预防和治疗提供新的研究领域。

的分析发现,基因的遗传多态性很大程度上影响我国汉族人群食管癌的发病危险。已知我国食管癌具有明显的地域分布^[45],本文的分析结果显示不少ESCC易感基因多态基因型的分布也具有显著的地域性。如p53基因72位密码子纯合突变Pro/Pro为河南林州、四川盐亭及广东潮汕等地人群ESCC易感基因型,但并不影响江苏淮安及河北磁县、涉县等地人群ESCC患病率^[1-5]; *TGF-β1*启动子-509C/T位点,其-509T等位基因是我国北方人群ESCC发病危险因素,但却可降低河南、江苏淮安等地人群ESCC患病风险^[25-27]。此外,河南太行山和广东潮汕地区人群具有非常相似的ESCC易感基因多态位点,如CYP1A1 Ile462Val、CYP2E1 Dra I、MGMT Leu84Phe、P53 Arg72pro、6个Y染色体段串联重复序列和线粒体单倍群D5等^[2,46-49]。这一结果进一步证实了河南太行山人群与潮汕地区人群具有共同的遗传背景,这亦可能是潮汕人群为食管癌高危人群的原因之一^[50,51]。

值得注意的是,由于各地科学研究水平的差异,所研究的我国ESCC易感基因实验数据并不完整。因此,加强我国各食管癌高发区食管癌易感基因的研究非常重要,这将为食管癌的区域预防、监测、早期筛查乃至预后判断提供更为合理、科学的依据。

5 参考文献

- 何保昌,段广才,蔡琳,代敏.食管癌与p53突变和人乳头状肉瘤病毒感染.中国公共卫生 2007; 23: 915-917
- 张静. p53 Pro72Arg多态与中国南北食管/贲门癌遗传易感性的关联研究.汕头大学, 2008
- 寇瑛琳,张俭荣,陈国弟,伍仁,杨俊杰,蒋光亮,赵雍凡.食管上皮癌前期病变细胞p53基因的突变.四川大学学报(医学版) 2003; 34: 306-309
- Cao YY, Ge H, Chen LQ, Chen ZF, Wen DG, Li Y, Zhang JH. [Correlation of 53BP1 and p53 polymorphisms to susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma and gastric cardiac adenocarcinoma]. *Ai Zheng* 2007; 26: 1052-1057 [PMID: 17927872]
- Zhou L, Yuan Q, Yang M. A functional germline variant in the P53 polyadenylation signal and risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Gene* 2012; 506: 295-297 [PMID: 22800615 DOI: 10.1016/j.gene.2012.07.007]
- 王波,张艳,徐德忠,王安辉,张磊,孙长生,李良寿.食管癌p53基因第5外显子突变影响因素的病例对照研究.世界华人消化杂志 2004; 12: 2478-2480
- Ma J, Zhang J, Ning T, Chen Z, Xu C. Association of genetic polymorphisms in MDM2, PTEN and P53 with risk of esophageal squamous cell carcinoma. *J Hum Genet* 2012; 57: 261-264 [PMID: 22336889 DOI: 10.1038/jhg.2012.15]
- 舒青,马群凤,秦鸿雁,张宁.陕西汉族人群和食管癌患者Rb基因的多态性.第四军医大学学报 2001; 22: 86-87

- 马玉泉,杨晓光,刘晖,李保庆,刘俊峰. P21基因多态性与华北食管癌的相关性.第四军医大学学报 2007; 28: 2256-2258
- 齐奇,梁寒梅,章恒,吕怀盛,陈志强,叶晓锋,贾伟,裴秀英,高平,张艳丽,杨文君.宁夏汉族人群p21WAF1/CIP1基因codon31多态性与食管癌的关联研究.中华临床医师杂志(电子版) 2012; 6: 5153-5157
- 刘莎,孙桂菊,胡旭,刘兰亭,徐华珠,开海涛. p21 WAF1基因第2外显子突变与食管癌病理特征相关性研究.山西医学杂志 2007; 36: 573-576
- Li Y, Zhang X, Huang G, Miao X, Guo L, Lin D, Lu SH. Identification of a novel polymorphism Arg-290Gln of esophageal cancer related gene 1 (ECRG1) and its related risk to esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis* 2006; 27: 798-802 [PMID: 16267096 DOI: 10.1093/carcin/bgi258]
- Yue CM, Bi MX, Tan W, Deng DJ, Zhang XY, Guo LP, Lin DX, Lu SH. Short tandem repeat polymorphism in a novel esophageal cancer-related gene (ECRG2) implicates susceptibility to esophageal cancer in Chinese population. *Int J Cancer* 2004; 108: 232-236 [PMID: 14639608 DOI: 10.1002/ijc.11560]
- Zhang J, Li Y, Wang R, Wen D, Sarbia M, Kuang G, Wu M, Wei L, He M, Zhang L, Wang S. Association of cyclin D1 (G870A) polymorphism with susceptibility to esophageal and gastric cardiac carcinoma in a northern Chinese population. *Int J Cancer* 2003; 105: 281-284 [PMID: 12673692 DOI: 10.1002/ijc.11067]
- Yu C, Lu W, Tan W, Xing D, Liang G, Miao X, Lin D. Lack of association between CCND1 G870A polymorphism and risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 176 [PMID: 12582032]
- 李睿,张林,刘湛,候翠萍,张业霞,王宗军,朱树国. MDM2基因多态性与鲁西南汉族人群食管鳞癌风险关联.中国热带医学 2011; 11: 1066-1068
- Tang RG, Wei YS, Chen HM, Fang WZ, Long XK, Yuan XH. [Serum level and genotype of interleukin-6 in patients with esophageal cancer]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2007; 87: 1126-1128 [PMID: 17672997]
- Wei YS, Lan Y, Liu YG, Tang H, Tang RG, Wang JC. Interleukin-18 gene promoter polymorphisms and the risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Acta Oncol* 2007; 46: 1090-1096 [PMID: 17851835 DOI: 10.1080/02841860701373595]
- Tao YP, Wang WL, Li SY, Zhang J, Shi QZ, Zhao F, Zhao BS. Associations between polymorphisms in IL-12A, IL-12B, IL-12Rβ1, IL-27 gene and serum levels of IL-12p40, IL-27p28 with esophageal cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138: 1891-1900 [PMID: 22740240 DOI: 10.1007/s00432-012-1269-0]
- Chu H, Cao W, Chen W, Pan S, Xiao Y, Liu Y, Gu H, Guo W, Xu L, Hu Z, Shen H. Potentially functional polymorphisms in IL-23 receptor and risk of esophageal cancer in a Chinese population. *Int J Cancer* 2012; 130: 1093-1097 [PMID: 21484795 DOI: 10.1002/ijc.26130]
- 杜卫萍. 干扰素-γ、白介素-10基因多态性和环境因素联合作用与食管癌关系的研究.泰山医学院, 2010
- Zhang CF, Cao BW, Lu ZM, Xing HP, Cui JG, Ning T, Ke Y. [Relationship between polymorphism of IRF-3 gene codon 427 and esophageal cancer in Anyang population of China]. *Beijing Daxue Xuebao* 2004; 36: 345-347 [PMID: 15303122]
- Hu SP, Zhou GB, Luan JA, Chen YP, Xiao DW, Deng YJ, Huang LQ, Cai KL. Polymorphisms of

- HLA-A and HLA-B genes in genetic susceptibility to esophageal carcinoma in Chaoshan Han Chinese. *Dis Esophagus* 2010; 23: 46-52 [PMID: 19392852 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2009.00965.x]
- 24 程晓丽, 陈自平, 徐昌青, 宁涛. 食管癌易感性与细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4基因多态性的关系. *中华实验外科杂志* 2011; 28: 1264-1267
- 25 唐任光, 韦叶生, 韦彩成, 陈宏明, 黄艳青, 李燕飞. 转化生长因子 β 1基因多态性与食管癌的关系. *中国实验诊断学杂志* 2010; 14: 415-417
- 26 唐任光, 龙显科, 袁锡华, 陆启峰. TGF- β 1基因启动子-800G/A、-509C/T多态性与食管癌的研究. *中国免疫学杂志* 2005; 21: 124-126
- 27 Jin G, Deng Y, Miao R, Hu Z, Zhou Y, Tan Y, Wang J, Hua Z, Ding W, Wang L, Chen W, Shen J, Wang X, Xu Y, Shen H. TGF β 1 and TGF β 2 functional polymorphisms and risk of esophageal squamous cell carcinoma: a case-control analysis in a Chinese population. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008; 134: 345-351 [PMID: 17680270 DOI: 10.1007/s00432-007-0290-1]
- 28 Wei YS, Xu QQ, Wang CF, Pan Y, Liang F, Long XK. Genetic variation in transforming growth factor-beta1 gene associated with increased risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Tissue Antigens* 2007; 70: 464-469 [PMID: 17990985 DOI: 10.1111/j.1399-0039.2007.00935.x]
- 29 董稚明, 郭炜, 王珩, 郭艳丽, 王士杰, 杨植彬. 转化生长因子 β I型受体多态性与食管鳞状细胞癌发病风险的关联. *癌变·畸变·突变* 2011; 23: 16-20
- 30 Cui L, Pan XM, Ma CF, Shang-Guan J, Yu HB, Chen GX, Wang J. Association between epidermal growth factor polymorphism and esophageal squamous cell carcinoma susceptibility. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 40-45 [PMID: 19172394 DOI: 10.1007/s10620-008-0700-5]
- 31 董长青, 刘超, 马少君, 顾海勇. 胰岛素样生长因子1基因多态性与食管癌遗传易感性的关系. *江苏大学学报(医学版)* 2011; 21: 535-537
- 32 Sun T, Miao X, Zhang X, Tan W, Xiong P, Lin D. Polymorphisms of death pathway genes FAS and FASL in esophageal squamous-cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1030-1036 [PMID: 15240787 DOI: 10.1093/jnci/djh187]
- 33 Xiong G, Guo H, Wang K, Hu H, Wang D, Xu X, Guan X, Yang K, Bai Y. Polymorphisms of decoy receptor 3 are associated with risk of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese Han. *Tumour Biol* 2010; 31: 443-449 [PMID: 20567955 DOI: 10.1007/s13277-010-0053-5]
- 34 Wang LD, Zhou FY, Li XM, Sun LD, Song X, Jin Y, Li JM, Kong GQ, Qi H, Cui J, Zhang LQ, Yang JZ, Li JL, Li XC, Ren JL, Liu ZC, Gao WJ, Yuan L, Wei W, Zhang YR, Wang WP, Sheyhidin I, Li F, Chen BP, Ren SW, Liu B, Li D, Ku JW, Fan ZM, Zhou SL, Guo ZG, Zhao XK, Liu N, Ai YH, Shen FF, Cui WY, Song S, Guo T, Huang J, Yuan C, Huang J, Wu Y, Yue WB, Feng CW, Li HL, Wang Y, Tian JY, Lu Y, Yuan Y, Zhu WL, Liu M, Fu WJ, Yang X, Wang HJ, Han SL, Chen J, Han M, Wang HY, Zhang P, Li XM, Dong JC, Xing GL, Wang R, Guo M, Chang ZW, Liu HL, Guo L, Yuan ZQ, Liu H, Lu Q, Yang LQ, Zhu FG, Yang XF, Feng XS, Wang Z, Li Y, Gao SG, Qige Q, Bai LT, Yang WJ, Lei GY, Shen ZY, Chen LQ, Li EM, Xu LY, Wu ZY, Cao WK, Wang JP, Bao ZQ, Chen JL, Ding GC, Zhuang X, Zhou YF, Zheng HF, Zhang Z, Zuo XB, Dong ZM, Fan DM, He X, Wang J, Zhou Q, Zhang QX, Jiao XY, Lian SY, Ji AF, Lu XM, Wang JS, Chang FB, Lu CD, Chen ZG, Miao JJ, Fan ZL, Lin RB, Liu TJ, Wei JC, Kong QP, Lan Y, Fan YJ, Gao FS, Wang TY, Xie D, Chen SQ, Yang WC, Hong JY, Wang L, Qiu SL, Cai ZM, Zhang XJ. Genome-wide association study of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese subjects identifies susceptibility loci at PLCE1 and C20orf54. *Nat Genet* 2010; 42: 759-763 [PMID: 20729853 DOI: 10.1038/ng.648]
- 35 Hu H, Yang J, Sun Y, Yang Y, Qian J, Jin L, Wang M, Bi R, Zhang R, Zhu M, Sun M, Ma H, Wei Q, Jiang G, Zhou X, Chen H. Putatively functional PLCE1 variants and susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma (ESCC): a case-control study in eastern Chinese populations. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 2403-2410 [PMID: 22203178 DOI: 10.1245/s10434-011-2160-y]
- 36 Zhou RM, Li Y, Wang N, Liu BC, Chen ZF, Zuo LF. PLC- ϵ 1 gene polymorphisms significantly enhance the risk of esophageal squamous cell carcinoma in individuals with a family history of upper gastrointestinal cancers. *Arch Med Res* 2012; 43: 578-584 [PMID: 23079034 DOI: 10.1016/j.arcmed.2012.09.006]
- 37 Wang LD, Bi X, Song X, Pohl NM, Cheng Y, Zhou Y, Shears S, Ansong E, Xing M, Wang S, Xu XC, Huang P, Xu L, Wang L, Fan Z, Zhao X, Dong H, Meltzer SJ, Ding I, Yang W. A sequence variant in the phospholipase C epsilon C2 domain is associated with esophageal carcinoma and esophagitis. *Mol Carcinog* 2013 Feb 6. [Epub ahead of print] [PMID: 23390063 DOI: 10.1002/mc.22016]
- 38 Ji A, Wang J, Yang J, Wei Z, Lian C, Ma L, Ma L, Chen J, Qin X, Wang Ld, Wei W. Functional SNPs in human C20orf54 gene influence susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 3207-3212 [PMID: 22471455]
- 39 Ji AF, Wei W, Yang JZ, Wang JS, Zhao L, Wei ZB, Lian CH, Ma L, Ma L, Wang HL, Qin XQ, Wang LD. [The relationship between C20orf54 gene rs3746804 position single nucleotide polymorphism and susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma]. *Zhonghua Neike Zazhi* 2012; 51: 982-986 [PMID: 23327963]
- 40 Wu C, Hu Z, He Z, Jia W, Wang F, Zhou Y, Liu Z, Zhan Q, Liu Y, Yu D, Zhai K, Chang J, Qiao Y, Jin G, Liu Z, Shen Y, Guo C, Fu J, Miao X, Tan W, Shen H, Ke Y, Zeng Y, Wu T, Lin D. Genome-wide association study identifies three new susceptibility loci for esophageal squamous-cell carcinoma in Chinese populations. *Nat Genet* 2011; 43: 679-684 [PMID: 21642993 DOI: 10.1038/ng.849]
- 41 Wu C, Kraft P, Zhai K, Chang J, Wang Z, Li Y, Hu Z, He Z, Jia W, Abnet CC, Liang L, Hu N, Miao X, Zhou Y, Liu Z, Zhan Q, Liu Y, Qiao Y, Zhou Y, Jin G, Guo C, Lu C, Yang H, Fu J, Yu D, Freedman ND, Ding T, Tan W, Goldstein AM, Wu T, Shen H, Ke Y, Zeng Y, Chanock SJ, Taylor PR, Lin D. Genome-wide association analyses of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese identify multiple susceptibility loci and gene-environment interactions. *Nat Genet* 2012; 44: 1090-1097 [PMID: 22960999 DOI: 10.1038/ng.2411]
- 42 Gao Y, He Y, Xu J, Xu L, Du J, Zhu C, Gu H, Ma H, Hu Z, Jin G, Chen X, Shen H. Genetic variants at 4q21, 4q23 and 12q24 are associated with esophageal squamous cell carcinoma risk in a Chinese population. *Hum Genet* 2013; 132: 649-656 [PMID: 23430454]

■应用要点
我国食管癌及其易感基因多态基因型的分布具有显著的地域性, 这对于食管癌的区域预防、监测、早期筛查乃至预后判断有着非常重要的指导意义。

同行评价

本文主要针对近年中国汉族人群食管癌易感相关癌基因、抑癌基因和细胞因子等进行归纳、总结和分析,内容相对全面,有一定的科学价值。

- 43 Jin G, Ma H, Wu C, Dai J, Zhang R, Shi Y, Lu J, Miao X, Wang M, Zhou Y, Chen J, Li H, Pan S, Chu M, Lu F, Yu D, Jiang Y, Dong J, Hu L, Chen Y, Xu L, Shu Y, Pan S, Tan W, Zhou B, Lu D, Wu T, Zhang Z, Chen F, Wang X, Hu Z, Lin D, Shen H. Genetic variants at 6p21.1 and 7p15.3 are associated with risk of multiple cancers in Han Chinese. *Am J Hum Genet* 2012; 91: 928-934 [PMID: 23103227 DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.09.009]
- 44 Guo H, Wang K, Xiong G, Hu H, Wang D, Xu X, Guan X, Yang K, Bai Y. A functional variant in microRNA-146a is associated with risk of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese Han. *Fam Cancer* 2010; 9: 599-603 [PMID: 20680470 DOI: 10.1007/s10689-010-9370-5]
- 45 谭家驹, 徐致祥. 改水预防食管癌、胃癌、肝癌研究. 北京: 中国华侨出版社, 2008
- 46 Wang D, Su M, Tian D, Liang S, Zhang J. Associations between CYP1A1 and CYP2E1 polymorphisms and susceptibility to esophageal cancer in Chaoshan and Taihang areas of China. *Cancer Epidemiol* 2012; 36: 276-282 [PMID: 22088806 DOI: 10.1016/j.canep.2011.10.008]
- 47 刘淑慧, 苏敏, 程璐, 孙蓓丽, 陆祖宏. 潮汕地区食管癌患者O6-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶基因多态性的分析. *癌变·畸变·突变* 2006; 18: 102-104
- 48 Huang H, Su M, Li X, Li H, Tian D, Gao Y, Guo Y. Y-chromosome evidence for common ancestry of three Chinese populations with a high risk of esophageal cancer. *PLoS One* 2010; 5: e11118 [PMID: 20559544 DOI: 10.1371/journal.pone.0011118]
- 49 Li XY, Guo YB, Su M, Cheng L, Lu ZH, Tian DP. Association of mitochondrial haplogroup D and risk of esophageal cancer in Taihang Mountain and Chaoshan areas in China. *Mitochondrion* 2011; 11: 27-32 [PMID: 20601191 DOI: 10.1016/j.mito.2010.06.005]
- 50 李晓昀, 苏敏, 黄海花, 李辉, 田东萍, 高玉霞. 潮汕人与广府、客家人母系遗传背景差异的分析. *西安交通大学学报(医学版)* 2010; 31: 664-668
- 51 Li XY, Su M, Huang HH, Li H, Tian DP, Gao YX. mtDNA evidence: genetic background associated with related populations at high risk for esophageal cancer between Chaoshan and Taihang Mountain areas in China. *Genomics* 2007; 90: 474-481 [PMID: 17689918 DOI: 10.1016/j.ygeno.2007.06.006]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

JAK-STAT信号通路在肝癌发生发展中作用的研究进展

王建强, 黄缘

王建强, 黄缘, 南昌大学第二附属医院消化内科 江西省南昌市 330006

王建强, 在读硕士, 主要从事肝脏疾病的基础与临床研究.

作者贡献分布: 此课题由黄缘设计; 文献收集与写作由王建强完成; 黄缘负责审校.

通讯作者: 黄缘, 教授, 主任医师, 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. huang9815@yahoo.com

收稿日期: 2013-05-14 修回日期: 2013-06-02

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Role of the JAK-STAT signal pathway in the development and progression of liver cancer

Jian-Qiang Wang, Yuan Huang

Jian-Qiang Wang, Yuan Huang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Yuan Huang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. huang9815@yahoo.com

Received: 2013-05-14 Revised: 2013-06-02

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

Primary liver cancer is a kind of malignant tumor that occurs in liver cells and bile duct epithelial cells. There is a great difference in the incidence of liver cancer among different countries and regions. In China, liver cancer is one of the most common malignant tumors and has the third highest mortality rate. About 110 thousand people die of liver cancer in China each year, accounting for 45% of worldwide deaths caused by liver cancer. The research on the biological behavior of liver cancer has been widely carried out, and the relationship between the janus kinase-signal transducers and activators of transcription (JAK-STAT) signal pathway, which is activated in many types of human malignant tumors and involved in the occurrence and development of tumors, and liver cancer has attracted wide attention. In this paper we will discuss the relationship between the JAK-STAT signal pathway and biological behavior of liver cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: JAK-STAT signal pathway; Liver cancer

Wang JQ, Huang Y. Role of the JAK-STAT signal pathway in the development and progression of liver cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2051-2056 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2051.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2051>

摘要

原发性肝癌是指由肝细胞或肝内胆管上皮细胞发生的恶性肿瘤, 简称肝癌. 其发生率在各国和地区间差异很大, 是我国常见的恶性肿瘤之一, 死亡率高, 在消化系统恶性肿瘤中仅次于胃、食管而居第3位. 我国每年约有11万人死于肝癌, 占全球肝癌死亡数的45%. 于是针对肝癌生物学行为的研究迅速开展起来, 其中JAK酪氨酸蛋白激酶-信号传导和转录激活因子(janus kinase-signal transducers and activators of transcription, JAK-STAT)信号通路在大量人类恶性肿瘤中被激活, 参与肿瘤的发生、发展, 成为目前肿瘤信号传导通路研究的热点. 本文就此信号通路在肝癌生物学行为相关性的研究进展进行简要综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: JAK-STAT信号通路; 肝癌

核心提示: 本文综述了JAK酪氨酸蛋白激酶-信号传导和转录激活因子(janus kinase-signal transducers and activators of transcription, JAK-STAT)信号通路在肝癌发生、发展及侵袭转移中作用的研究进展, 简要阐述了针对JAK-STAT信号传导通路的肝癌治疗策略, 为肝癌的发生发展机制提供了理论基础, 为肝癌的治疗提供了新的方向.

王建强, 黄缘. JAK-STAT信号通路在肝癌发生发展中作用的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(21): 2051-2056 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2051.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2051>

0 引言

肝癌是常见的消化系统恶性肿瘤, 可发生于任何年

■背景资料

原发性肝癌是一种常见的消化系统恶性肿瘤. 临床资料显示, 其发生率和死亡率呈上升趋势. 目前, 早期肝癌尽量手术切除, 中晚期采取综合治疗模式虽可以提高患者的5年生存率, 但仍不能有效降低肝癌的复发. 明确原发性肝癌发生、发展的机制可为靶基因治疗提供保障.

■同行评议者

王蒙, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗科

■ 研发前沿

至今, JAK酪氨酸蛋白激酶-信号传导和转录激活因子(janus kinase-signal transducers and activators of transcription, JAK-STAT)信号通路如何促进肝癌发生、发展的机制尚未被完全认识, 有待我们进一步去探索. 后续展望包括基因敲除动物模型的建立, 不同信号通路相互交叉的研究, 靶基因治疗新药物的开发等可为明确肝癌的发生机制及治疗奠定基础.

龄, 以40-49岁为最多, 多见于男性, 男女比例为2-5:1. 越来越多的临床资料显示, 肝癌的发病率呈上升趋势, 年轻化趋势. 目前, 早期肝癌尽量手术切除, 中晚期采取综合治疗模式仍是肝癌的主要治疗策略. 这虽然可以提高患者的5年生存率, 但仍不能有效降低肝癌的复发. 众多的基础和临床研究提示, 在不久的将来, 靶基因治疗将成为肝癌的主要治疗策略. 因此, 明确肝癌的发生发展及其相关信号通路是目前的首要任务.

1 JAK-STAT信号传导通路

JAK酪氨酸蛋白激酶-信号传导和转录激活因子(janus kinase-signal transducers and activators of transcription, JAK-STAT)途径, 于1994年由Darnell等^[1]发现, 其为一条新的极为快速的信号通路, 可以将细胞外信号传递到细胞核, 是通过受体-酪氨酸激酶-信号传导和转录激活因子-靶基因的激活来实现, 最终引发生物学效应.

1.1 JAK-STAT信号传导通路的组成及功能 JAKs家族属于非受体型酪氨酸激酶, 迄今为止发现4个家族成员: JAK1、JAK2、JAK3和TYK2, 大小各异, 分子量在120-140 kDa之间, 在进化中高度保守. 分子结构中有7个JH结构域, 包括具有催化功能的JH1, 与催化功能相关的JH2, 而JH3-JH7则可能在受体与JAKs偶联过程中发挥作用. JAK1、JAK2和TYK2在大多数组织中都有表达, 而JAK3仅仅在淋巴组织中表达^[2-4].

信号传导和转录激活因子(signal transducers and activators of transcription, STATs)是一类胞质蛋白, 于1992年首次被鉴定, 可与靶基因结合, 是JAKs的下游底物. 迄今发现7个成员: STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b和STAT6, 一般具有750-850个氨基酸. 具有7个结构域: 羧基末端转录活化结构域, DNA结合结构域, 酪氨酸磷酸化位点结构域, SH2结构域, 连接结构域, 螺旋-螺旋结构域(coiled-coil结构域), 氨基末端结构域^[2]. 其中DNA结合域和SH2结构域的高度相似性, 有助于STATs的活化和二聚体的形成. 不同的细胞外信号决定了氨基酸序列和组织分布的特异性. 一般情况下, 处于细胞质中的非活化的STATs和处于细胞核中的活化的STATs处于动态平衡中, 一旦细胞受到刺激, 这种平衡就被打破, 结果是STATs活化并转入细胞核. 不同的STATs常有相同的DNA结合活性基序, 但最佳的结合位点存在差异.

生理情况下, JAK-STAT信号通路在细胞

生长、分化^[5], 组织器官形成, 免疫防御屏障完善等方面起着决定性作用, 其激活是短暂迅速的. 目前, 在人类多种实体肿瘤(如乳腺癌、结肠癌、前列腺癌等^[6-8])和血液病(如淋巴瘤^[9,10])的研究中发现, JAK-STAT信号通路组成性激活, 参与了肿瘤的发生、发展、浸润和转移.

1.2 JAK-STAT信号传导通路的激活 经典的JAK-STAT信号通路最初由配体与细胞膜上的受体结合所激活. 受体与配体结合后, 可导致受体二聚化, 从而激活与受体相结合的JAK激酶, 进而磷酸化受体上的酪氨酸位点, 使其产生与STATs结合的区域. 结合后的STATs最终在C端大概700个氨基酸的位点被JAK磷酸化. 磷酸化的STATs蛋白通过SH2结构域形成二聚体, 进而转入细胞核, 与靶基因DNA调控区域结合, 最终发挥信号传导作用. STATs的转录活性是由STATs的内在性质所决定, 主要表现在共活化因子的招募和染色质的修饰上. 常见的细胞外信号包括: 细胞因子[如干扰素- α (interferon- α , IFN- α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)]、受体酪氨酸激酶[胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)等]、非受体型酪氨酸激酶(Abl、Src等)^[11-16].

1.3 JAK-STAT信号传导通路的调节 JAK-STAT信号通路涉及诸多环节, 一般是指从受体和配体结合直至靶基因的转录. 任何环节的调节异常都会影响整条通路的传导.

1.3.1 正性调节: JAK-STAT信号通路的正性调节可以使该通路处于异常活化状态, 影响机体细胞正常的生理代谢功能. 如在受体水平, 当其与相应的配体结合并使自身活化后, 可通过交互磷酸化作用使邻近受体活化, 进而加强通路传导; 或通过下调非特异性抑制因子使信号通路传导加强. 另外, 对于STATs分子, 翻译后的修饰可使其核内转录活性得以加强, 如STAT3分子, 其第727位丝氨酸残基的磷酸化可使得STAT3分子的核内转录活性上调^[17]. 相似报道指出, 索拉非尼可以通过减少STAT3在727位置上的翻译后修饰而降低其转录活性, 最终抑制癌细胞的增殖^[18].

1.3.2 负性调节: JAK-STAT信号通路的负性调节对于机体细胞维持正常生理代谢是必不可少的. 正常细胞中, 存在3类负性调节蛋白, 即SOCS(suppressors of cytokine signaling)、PIAS(protein inhibitors of activated stats)和PTP(protein tyrosine phosphatases).

SOCS家族有8个成员(SOCS1-7、CIS), 分

子结构中都包含一个C端SOCS盒和一个SH2结构域. 当细胞因子信号激活JAK-STAT信号通路的同时, 又可通过STAT依赖途径诱导SOCS蛋白高表达, 进而使该通路受到特异性抑制, 从而构成一负反馈调节环, 致使JAKs失活, 阻碍STATs在受体结合位点与受体结合, 最终使该信号通路介导的生物学效应处于动态平衡. 如SOCS1的SH2结构域与JAKs结合后, 可抑制JAK活化, 而SOCS3在Tyr203和221位点被JAKs激活后, 可与活化的细胞因子受体胞浆内组分结合, 从而抑制JAKs的募集; CIS蛋白则是通过与STATs竞争磷酸化受体上的酪氨酸结合位点发挥抑制作用. 在癌细胞的研究中发现, SOCS蛋白的过表达, 可以抑制STATs的活性, 从而诱导细胞凋亡. 相反, SOCS蛋白的缺失, 则可导致STAT3过表达, 从而导致恶性肿瘤(如肝癌)的发生^[11,19,20].

PIAS家族有4个成员, PIAS1、PIAS2(PIASx)、PIAS3和PIAS4(PIASy), 一般具有507-650个氨基酸. 有4个共同的结构域: N端SAP结构域及LXXLL调节基序, “PINIT”结构域, RING型锌指结构域和AD结构域. PIAS2和PIAS3可分别与STAT4和STAT3结合, 而PIAS1和PIAS4可与STAT1结合. PIAS1和PIAS3分别与激活的STAT1和STAT3相互作用, 作为构架蛋白, 与STAT1及STAT3二聚体特异性结合形成复合物, 遮蔽他们与DNA的结合功能, 从而抑制转录. 这种阻断转录因子与靶DNA结合的方式不依赖SUMO化. PIAS2和PIAS4则是通过募集抑制分子(如组蛋白脱乙酰基酶类)来抑制STAT4及STAT1的转录活性^[21-25].

PTP包括SHP1、SHP2、CD45、PTP1B、T-cell(TC-PTP)、PTPRT、PTPBL. 其中SHP-1最具代表性, 他可与磷酸化的受体或JAK结合而使这些活化的分子去磷酸化, 阻断信号通路的活化. SHP2可通过对STAT1的脱磷酸化发挥对INF诱导的JAK-STAT信号通路的负性调节作用; 同样, SHP2的过表达可以加速STAT5的脱磷酸化作用. 也有研究提示, SHP2可以对STAT3的活性进行负向调节^[26].

此外, 受体内存作用也参与了JAK-STAT信号传导通路的负向调节. 此作用是通过受体与配体结合后, 受体发生一系列磷酸化而实现, 或是直接实现^[27].

2 JAK-STAT信号传导通路于肝癌

近来, 越来越多的研究报道发现肝癌的生物学行

为与JAK-STAT信号通路的异常激活密切相关.

2.1 肝癌中JAK-STAT信号传导通路的异常激活 研究者通过对大量肝癌组织样本研究发现, 其中60%存在STAT3高表达^[28]. 同样, Calvisi、有研究^[29-31]指出, 人肝癌组织中STAT1、STAT3、STAT5的活化水平明显高于癌旁组织, 表达增强的STAT3蛋白与肝癌的病理分级和临床分期正相关, 磷酸化STAT3(p-STAT3)水平越高, 预后越差. 相似报道指出, p-STAT3的阳性表达与肝癌多结节的发生相关.

2.2 JAK-STAT信号传导通路对细胞凋亡的影响 JAK/STAT3信号通路异常激活后, p-STAT3可与核内特异的DNA结合, 直接或间接地上调抑制凋亡基因的表达, 从而调控细胞增殖和凋亡. 如生存素(Survivin), 凋亡抑制蛋白家族的新成员, 是目前发现最强的凋亡抑制因子, STAT3可通过与其启动子结合, 介导后者的活性, 促进Survivin的表达, 从而发挥细胞增殖和凋亡抑制作用^[32-34]. 侯静等^[35]发现, STAT3抑制剂Piceatannol可以通过阻断JAK-STAT3信号途径抑制人原发性肝癌细胞(HepG2和Huh7)的增殖和诱导凋亡. 同样, NSC74859(STAT3抑制剂)可以使二乙基亚硝胺诱导的肝癌小鼠模型中癌细胞凋亡, 从而抑制肿瘤的发生发展^[31].

2.3 JAK-STAT信号传导通路对细胞周期的影响 研究发现, 在原B(proB)细胞系(BAF/B03)中, STAT3的缺失并不影响细胞的生长, 但可阻止细胞从G₁期进入S期, 这与c-myc不能被STAT3上调有关^[36]. 相关研究还发现STAT3可以上调细胞周期素D2, D3以及下调P21等一系列细胞周期相关蛋白.

另外, 原癌基因Pim家族是促进肿瘤细胞的增殖和浸润方面的关键调控分子, 具有加速细胞周期进程的效应, 可能与激活STAT3信号途径, 促进细胞G₁/S周期的进程有关^[37,38].

STAT5是IGF-1的上游基因, STAT5基因的突变, 可导致IGF-1缺失, 从而引起肝脏脂肪变性, 肝纤维化, 最终导致肝癌的发生, 而此过程与STAT5缺失导致细胞周期紊乱密切相关^[39,40].

2.4 JAK-STAT信号传导通路于肝癌的浸润、转移 肿瘤细胞通过粘附、降解和移动3个过程完成邻近侵袭和远处转移, 而此过程与JAK-STAT信号通路密切相关.

随着细胞外基质的降解, 肿瘤细胞开始浸润正常组织和转移. 而此过程依赖基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP), 尤其是

■ 相关报道

AG490是选择性JAK酪氨酸激酶抑制剂, 可通过阻断JAK激酶活化, 影响STAT激活, 进而抑制肿瘤细胞生长, 诱导细胞凋亡. 肝癌小鼠模型中, NSC74859(STAT3抑制剂)可以诱导的癌细胞凋亡, 抑制肿瘤发生发展.

■创新盘点

以往的研究提示, JAK-STAT信号通路与人类很多肿瘤存在相关性, 但与肝癌的报道较少. 本文从肝癌的发生、发展及治疗等方面分析其与JAK-STAT信号通路之间存在的联系, 为明确肝癌的生物学行为提供了较为全面的理论依据.

MMP-2和MMP-9^[41]. MMPs具有转录激活蛋白-1结合位点, 表达主要受JAK/STAT3信号传导通路的调节. 研究发现, 原发性肝癌中活化的STAT3蛋白能够上调MMP-2, 从而使MMP-2处于高表达状态^[42,43]. 相反, 刘波等^[44]用AG490(STAT3抑制剂)处理肝癌细胞(SMMC-7721), 结果发现AG490可通过抑制STAT3蛋白的激活下调MMP-2的表达而降低肿瘤的侵袭能力.

细胞外基质降解后, 肿瘤细胞运动能力开始成为影响肿瘤浸润转移的重要因素, 且两者常常表现出正相关. 已有研究提示, JAK-STAT3信号通路的过度激活有利于细胞伸出突起和伪足, 从而加速细胞迁移^[45]. 研究发现, STAT3参与斑马鱼发育早期原肠运动中细胞迁移的调控^[46].

肿瘤的生长需要大量的氧气和营养物质. 随着肿瘤的生长, 如果没有新生血管长入, 肿瘤组织将会发生退化. 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可刺激血管内皮细胞增殖、迁移、诱导血管形成, 在恶性肿瘤的浸润和转移中有重要意义. 现已经证实, STAT3可与VEGF启动子相结合, 促进VEGF的转录表达. 邱伟华等^[47]研究发现, S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAME)通过抑制STAT3的组成性活化而降低VEGF的高表达状态.

因此, 肿瘤中组成性激活的JAK-STAT信号通路可以通过降解细胞外基质, 增强细胞运动能力及促进新生血管形成等方式以提高肿瘤侵袭和转移能力.

3 针对JAK-STAT信号传导通路的肝癌治疗策略

目前抑制JAK-STAT信号通路活化的策略主要有: (1)酪氨酸激酶抑制剂: 研究证实, AG490是选择性JAK酪氨酸激酶抑制剂, 可通过阻断JAK激酶活化, 影响STAT激活, 进而抑制肿瘤细胞生长, 诱导细胞凋亡; (2)显性负性蛋白: 如STAT3B, 因缺乏转录激活区(transcriptional activation domain, TAD), 故不能促进靶基因的转录, 但可与活化的STAT3竞争相应的反应元件^[48]; (3)寡核苷酸: 反义寡核苷酸: 含有12-25个碱基, 能与STAT3 mRNA结合阻止STAT3的翻译; 诱饵寡核苷酸: STAT3诱饵寡核苷酸, 是指一段双链寡核苷酸, 能竞争性结合活化的STAT3, 从而阻断STAT3信号途径; (4)RNA干扰: RNA干扰(RNA interference, RNAi)是由双链RNA引发的转录后基因沉默, 可针对信号通路的多个基因或者基因簇的共有序列来同时抑制多个基因的表达, 最

终抑制肿瘤生长. 目前RNAi技术的相关研究已取得了良好的效果^[49,50]; (5)氨基酸核酸适配体: 一种大小为20个氨基酸的短肽, 可选择性的阻断靶蛋白的功能区域, 如可阻断STAT3的磷酸化、二聚化或DNA结合域从而抑制其传导功能^[27]; (6)受体拮抗剂: 现已知多种细胞外信号是通过与其受体结合后激活JAK-STAT信号传导通路, 因此, 理论上应用受体拮抗剂可以阻断该信号通路的激活.

4 结论

JAK-STAT及其相关研究取得了重大的进展. 研究发现, JAK-STAT信号传导通路的组成性激活特别是其中STAT3的异常活化, 与肝癌的发生、发展、侵袭和转移密切相关. 所以正确认识JAK-STAT信号通路的激活、正向和负性调节及其对于肝癌的影响将对研究肝癌的发生、发展机制及治疗具有重要意义.

5 参考文献

- 1 Darnell JE, Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 1994; 264: 1415-1421 [PMID: 8197455 DOI: 10.1126/science.8197455]
- 2 Schindler C, Plumlee C. Interferons pen the JAK-STAT pathway. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19: 311-318 [PMID: 18765289 DOI: 10.1016/j.semcdb.2008.08.010]
- 3 Saharinen P, Takaluoma K, Silvennoinen O. Regulation of the Jak2 tyrosine kinase by its pseudokinase domain. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 3387-3395 [PMID: 10779328 DOI: 10.1128/MCB.20.10.3387-3395.2000]
- 4 Pellegrini S, Dusanter-Fourt I. The structure, regulation and function of the Janus kinases (JAKs) and the signal transducers and activators of transcription (STATs). *Eur J Biochem* 1997; 248: 615-633 [PMID: 9342212 DOI: 10.1111/j.1432-1033.1997.00615.x]
- 5 Williams JG. STAT signalling in cell proliferation and in development. *Curr Opin Genet Dev* 2000; 10: 503-507 [PMID: 10980427 DOI: 10.1016/S0959-437X(00)00119-2]
- 6 Proietti C, Salatino M, Rosembliht C, Carnevale R, Pecci A, Kornbliht AR, Molinolo AA, Frahm I, Charreau EH, Schillaci R, Elizalde PV. Progestins induce transcriptional activation of signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3) via a Jak- and Src-dependent mechanism in breast cancer cells. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 4826-4840 [PMID: 15923602 DOI: 10.1128/MCB.25.12.4826-4840.2005]
- 7 Lin Q, Lai R, Chirieac LR, Li C, Thomazy VA, Grammatikakis I, Rassidakis GZ, Zhang W, Fujio Y, Kunisada K, Hamilton SR, Amin HM. Constitutive activation of JAK3/STAT3 in colon carcinoma tumors and cell lines: inhibition of JAK3/STAT3 signaling induces apoptosis and cell cycle arrest of colon carcinoma cells. *Am J Pathol* 2005; 167: 969-980 [PMID: 16192633 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)61187-X]

- 8 Abdulghani J, Gu L, Dagvadorj A, Lutz J, Leiby B, Bonuccelli G, Lisanti MP, Zellweger T, Alanen K, Mirtti T, Visakorpi T, Bubendorf L, Nevalainen MT. Stat3 promotes metastatic progression of prostate cancer. *Am J Pathol* 2008; 172: 1717-1728 [PMID: 18483213 DOI: 10.2353/ajpath.2008.071054]
- 9 Derenzini E, Younes A. Targeting the JAK-STAT pathway in lymphoma: a focus on pacritinib. *Expert Opin Investig Drugs* 2013; 22: 775-785 [PMID: 23442043 DOI: 10.1517/13543784.2013.775244]
- 10 Mitchell TJ, John S. Signal transducer and activator of transcription (STAT) signalling and T-cell lymphomas. *Immunology* 2005; 114: 301-312 [PMID: 15720432 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2005.02091.x]
- 11 Morales JK, Falanga YT, Depcrynski A, Fernando J, Ryan JJ. Mast cell homeostasis and the JAK-STAT pathway. *Genes Immun* 2010; 11: 599-608 [PMID: 20535135 DOI: 10.1038/gene.2010.35]
- 12 Li WX. Canonical and non-canonical JAK-STAT signaling. *Trends Cell Biol* 2008; 18: 545-551 [PMID: 18848449 DOI: 10.1016/j.tcb.2008.08.008]
- 13 李焱. EGFR及其下游通路在胶质瘤治疗中的研究进展. *肿瘤防治研究* 2011; 38: 1204-1206
- 14 Horvath CM, Darnell JE. The state of the STATs: recent developments in the study of signal transduction to the nucleus. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 233-239 [PMID: 9069254 DOI: 10.1016/S0955-0674(97)80067-1]
- 15 Guarino M. Src signaling in cancer invasion. *J Cell Physiol* 2010; 223: 14-26 [PMID: 20049846 DOI: 10.1002/jcp.22011]
- 16 Wasyluk C, Schlumberger SE, Criqui-Filipe P, Wasyluk B. Sp100 interacts with ETS-1 and stimulates its transcriptional activity. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 2687-2702 [PMID: 11909962 DOI: 10.1128/MCB.22.8.2687-2702.2002]
- 17 Yang E, Henriksen MA, Schaefer O, Zakharova N, Darnell JE. Dissociation time from DNA determines transcriptional function in a STAT1 linker mutant. *J Biol Chem* 2002; 277: 13455-13462 [PMID: 11834743 DOI: 10.1074/jbc.M112038200]
- 18 Gu FM, Li QL, Gao Q, Jiang JH, Huang XY, Pan JF, Fan J, Zhou J. Sorafenib inhibits growth and metastasis of hepatocellular carcinoma by blocking STAT3. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3922-3932 [PMID: 22025881 DOI: 10.3748/wjg.v17.i34.3922]
- 19 Croker BA, Kiu H, Nicholson SE. SOCS regulation of the JAK/STAT signalling pathway. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19: 414-422 [PMID: 18708154 DOI: 10.1016/j.semcdb.2008.07.010]
- 20 Darnell JE. Validating Stat3 in cancer therapy. *Nat Med* 2005; 11: 595-596 [PMID: 15937466 DOI: 10.1038/nm0605-595]
- 21 Shuai K, Liu B. Regulation of gene-activation pathways by PIAS proteins in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 593-605 [PMID: 16056253 DOI: 10.1038/nri1667]
- 22 张露萍, 马彬, 郑英. PIAS蛋白家族的研究进展. *生命科学* 2010; 22: 959-964
- 23 Liu B, Gross M, ten Hoeve J, Shuai K. A transcriptional corepressor of Stat1 with an essential LXXLL signature motif. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 3203-3207 [PMID: 11248056 DOI: 10.1073/pnas.051489598]
- 24 Arora T, Liu B, He H, Kim J, Murphy TL, Murphy KM, Modlin RL, Shuai K. PIASx is a transcriptional co-repressor of signal transducer and activator of transcription 4. *J Biol Chem* 2003; 278: 21327-21330 [PMID: 12716907 DOI: 10.1074/jbc.C300119200]
- 25 Palvimo JJ. PIAS proteins as regulators of small ubiquitin-related modifier (SUMO) modifications and transcription. *Biochem Soc Trans* 2007; 35: 1405-1408 [PMID: 18031232 DOI: 10.1042/BST0351405]
- 26 Xu D, Qu CK. Protein tyrosine phosphatases in the JAK/STAT pathway. *Front Biosci* 2008; 13: 4925-4932 [PMID: 18508557 DOI: 10.2741/3051]
- 27 Groner B, Lucks P, Borghouts C. The function of Stat3 in tumor cells and their microenvironment. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19: 341-350 [PMID: 18621135 DOI: 10.1016/j.semcdb.2008.06.005]
- 28 He G, Karin M. NF- κ B and STAT3 - key players in liver inflammation and cancer. *Cell Res* 2011; 21: 159-168 [PMID: 21187858 DOI: 10.1038/cr.2010.183]
- 29 Calvisi DF, Ladu S, Gorden A, Farina M, Conner EA, Lee JS, Factor VM, Thorgeirsson SS. Ubiquitous activation of Ras and Jak/Stat pathways in human HCC. *Gastroenterology* 2006; 130: 1117-1128 [PMID: 16618406 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.01.006]
- 30 Zhang B, Zhong DW, Wang QW, Miao XY, Dai WD, Liu C, Pan KH. [Study on correlation of JAK/STAT signal pathway with progression and prognosis in hepatocellular carcinoma]. *Xibao Yu Fenzi Mianyixue Zazhi* 2010; 26: 368-370, 373 [PMID: 20368117]
- 31 Wu WY, Li J, Wu ZS, Zhang CL, Meng XL. STAT3 activation in monocytes accelerates liver cancer progression. *BMC Cancer* 2011; 11: 506 [PMID: 22136659 DOI: 10.1186/1471-2407-11-506]
- 32 潘颖, 叶新青, 潘聪慧, 陈述政. 乳腺癌组织Survivin和Ki-67的表达情况及其临床意义. *放射免疫学杂志* 2009; 22: 522-524
- 33 Gu L, Chiang KY, Zhu N, Findley HW, Zhou M. Contribution of STAT3 to the activation of survivin by GM-CSF in CD34+ cell lines. *Exp Hematol* 2007; 35: 957-966 [PMID: 17533050 DOI: 10.1016/j.exphem.2007.03.007]
- 34 Delvaeye M, De Vriese A, Zwerts F, Betz I, Moons M, Autiero M, Conway EM. Role of the 2 zebrafish survivin genes in vasculo-angiogenesis, neurogenesis, cardiogenesis and hematopoiesis. *BMC Dev Biol* 2009; 9: 25 [PMID: 19323830 DOI: 10.1186/1471-213X-9-25]
- 35 侯静, 唐大年, 许媛, 贺修文, 韦军民. STAT3抑制剂对人原发性肝癌细胞生长的影响. *中华实验外科杂志* 2010; 27: 1822-1824
- 36 Fukada T, Ohtani T, Yoshida Y, Shirogane T, Nishida K, Nakajima K, Hibi M, Hirano T. STAT3 orchestrates contradictory signals in cytokine-induced G1 to S cell-cycle transition. *EMBO J* 1998; 17: 6670-6677 [PMID: 9822610 DOI: 10.1093/emboj/17.22.6670]
- 37 Shirogane T, Fukada T, Muller JM, Shima DT, Hibi M, Hirano T. Synergistic roles for Pim-1 and c-Myc in STAT3-mediated cell cycle progression and antiapoptosis. *Immunity* 1999; 11: 709-719 [PMID: 10626893 DOI: 10.1016/S1074-7613(00)80145-4]
- 38 Bachmann M, Möröy T. The serine/threonine kinase Pim-1. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 726-730 [PMID: 15694833 DOI: 10.1016/j.biocel.2004.11.005]
- 39 Yu JH, Zhu BM, Wickre M, Riedlinger G, Chen W, Hosui A, Robinson GW, Hennighausen L. The transcription factors signal transducer and activator of transcription 5A (STAT5A) and STAT5B negatively regulate cell proliferation through the activation of cyclin-dependent kinase inhibitor 2b (Cdkn2b) and

■应用要点
JAK-STAT信号通路与肝癌的发生、发展、侵袭等生物学行为存在明显的相关性.因此,抑制JAK-STAT信号通路及明确JAK-STAT信号通路的调节将为肝癌的治疗提供新方向.

■同行评价

本文描述JAK-STAT信号传导通路的组成性激活特别是STAT3的异常活化,与肝癌的发生、发展、侵袭和转移的相关性。JAK-STAT信号通路的激活、正向和负性调节对于肝癌的发生、发展机制及治疗,具有重要指导意义。

- Cdkn1a expression. *Hepatology* 2010; 52: 1808-1818 [PMID: 21038417 DOI: 10.1002/hep.23882]
- 40 Baik M, Yu JH, Hennighausen L. Growth hormone-STAT5 regulation of growth, hepatocellular carcinoma, and liver metabolism. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1229: 29-37 [PMID: 21793836 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2011.06100.x]
- 41 Zhou L, Wang DS, Li QJ, Sun W, Zhang Y, Dou KF. Downregulation of the Notch signaling pathway inhibits hepatocellular carcinoma cell invasion by inactivation of matrix metalloproteinase-2 and -9 and vascular endothelial growth factor. *Oncol Rep* 2012; 28: 874-882 [PMID: 22736202 DOI: 10.3892/or.2012.1880]
- 42 Xie TX, Wei D, Liu M, Gao AC, Ali-Osman F, Sawaya R, Huang S. Stat3 activation regulates the expression of matrix metalloproteinase-2 and tumor invasion and metastasis. *Oncogene* 2004; 23: 3550-3560 [PMID: 15116091 DOI: 10.1038/sj.onc.1207383]
- 43 Ogasawara S, Yano H, Momosaki S, Nishida N, Takemoto Y, Kojiro S, Kojiro M. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in cultured hepatocellular carcinoma (HCC) cells and surgically resected HCC tissues. *Oncol Rep* 2005; 13: 1043-1048 [PMID: 15870919]
- 44 刘波, 王洪林, 宋立文. Janus激酶抑制剂AG490对人肝癌SMMC-7721细胞侵袭转移的影响. *第三军医大学学报* 2011; 33: 1960-1963
- 45 Sano S, Itami S, Takeda K, Tarutani M, Yamaguchi Y, Miura H, Yoshikawa K, Akira S, Takeda J. Keratino-cyte-specific ablation of Stat3 exhibits impaired skin remodeling, but does not affect skin morphogenesis. *EMBO J* 1999; 18: 4657-4668 [PMID: 10469645 DOI: 10.1093/emboj/18.17.4657]
- 46 Yamashita S, Miyagi C, Carmany-Rampey A, Shimizu T, Fujii R, Schier AF, Hirano T. Stat3 Controls Cell Movements during Zebrafish Gastrulation. *Dev Cell* 2002; 2: 363-375 [PMID: 11879641 DOI: 10.1016/S1534-5807(02)00126-0]
- 47 邱伟华, Bingsen Zhou, Dana Darwish, Peiguo G.Chu, Frank Luh, 陈皓, 杨卫平, 李宏为, Yun Yen. STAT3在SAME抑制HepG2细胞VEGF表达中的作用. *上海交通大学学报(医学版)* 2006; 26: 576-580
- 48 Caldenhoven E, van Dijk TB, Solari R, Armstrong J, Raaijmakers JA, Lammers JW, Koenderman L, de Groot RP. STAT3beta, a splice variant of transcription factor STAT3, is a dominant negative regulator of transcription. *J Biol Chem* 1996; 271: 13221-13227 [PMID: 8675499]
- 49 Klosek SK, Nakashiro K, Hara S, Goda H, Hamakawa H. Stat3 as a molecular target in RNA interference-based treatment of oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2008; 20: 873-878 [PMID: 18813829]
- 50 Wang Y, Weng T, Gou D, Chen Z, Chintagari NR, Liu L. Identification of rat lung-specific microRNAs by microRNA microarray: valuable discoveries for the facilitation of lung research. *BMC Genomics* 2007; 8: 29 [PMID: 17250765 DOI: 10.1186/1471-2164-8-29]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

促凋亡基因PUMA与肿瘤

彭松林, 戴朝六

彭松林, 戴朝六, 中国医科大学附属盛京医院肝胆脾外科 辽宁省沈阳市 110004
彭松林, 副教授, 主要从事肝脏肿瘤和门脉高压症的相关研究。
盛京医院基金资助项目, No. MA70
作者贡献分布: 彭松林完成综述; 戴朝六负责审核。
通讯作者: 戴朝六, 教授, 博士生导师, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院肝胆脾外科。
daicl@sj-hospital.org
电话: 024-9661531511
收稿日期: 2013-04-28 修回日期: 2013-05-29
接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Pro-apoptosis gene PUMA and cancer

Song-Lin Peng, Chao-Liu Dai

Song-Lin Peng, Chao-Liu Dai, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Supported by: the Shengjing Hospital Fund, No. MA70
Correspondence to: Chao-Liu Dai, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. daicl@sj-hospital.org
Received: 2013-04-28 Revised: 2013-05-29
Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

The dysfunction of cell apoptosis signaling is involved in carcinogenesis. P53 up-regulated modulator of apoptosis (PUMA), a pro-apoptosis gene that has been found for a decade, encodes a protein that is one of Bcl-2 members and can induce apoptosis *via* the mitochondrial pathway. It is considered that mutation of the PUMA gene is not involved in carcinogenesis, because mutation of the PUMA gene has not been found in many types of tumors until now. The expression of PUMA protein is regulated transcriptionally *via* ER stress, p53, JNK, FOXO3a and E2F1 signaling or post-translationally by phosphorylation. Several studies have showed that the down-regulation of PUMA protein in cancer tissue is associated with carcinogenesis, lymph node metastasis and tumor prognosis, and that up-regulation of PUMA induces the inhibition of

cancer cell proliferation. Increasing new findings on the precise role of PUMA in the regulation of cancer development provide new insights into the potential use of PUMA as a target for the prevention and treatment of cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cancer; P53 up-regulated modulator of apoptosis; Apoptosis

Peng SL, Dai CL. Pro-apoptosis gene PUMA and cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2057-2062
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2057.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2057>

摘要

细胞凋亡信号通路和机制的异常是肿瘤得以发生发展的原因之一。p53上调凋亡调控因子(p53 up-regulated modulator of apoptosis, PUMA)是近十多年来新发现的一个促凋亡基因,其编码的PUMA蛋白是Bcl-2家族成员之一,经线粒体途径诱导细胞凋亡。目前在多种肿瘤中未发现PUMA基因的突变,提示PUMA基因突变与肿瘤的发生并无直接关联。PUMA蛋白的表达受到p53、内质网应激、JNK、FOXO3a、E2F1等多个信号通路的转录调控和翻译后的磷酸化调节。一些研究表明PUMA蛋白在肿瘤中的表达下降与肿瘤的形成、淋巴结转移、及预后有关,而增加PUMA在肿瘤中的表达具有抑制肿瘤的作用。随着对PUMA在肿瘤中表达异常的机制的深入研究,PUMA有望成为一个具有重要治疗价值的肿瘤治疗靶点。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肿瘤; p53上调凋亡调控因子; 细胞凋亡

核心提示: 目前研究表明p53上调凋亡调控因子(p53 up-regulated modulator of apoptosis, PUMA)基因突变与肿瘤的发生并无直接关联。PUMA蛋白的表达受到p53、内质网应激、JNK、FOXO3a、E2F1等多个信号通路的转录调控和翻

背景资料

肿瘤细胞凋亡机制研究是目前肿瘤发生发展机制研究的一个热点之一,而p53上调凋亡调控因子(p53 up-regulated modulator of apoptosis, PUMA)是细胞凋亡信号通路的一个重要因子,在组织损伤、肿瘤发生发展过程中具有重要的作用。

同行评议者

王阁, 教授, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

■ 研发前沿

目前关于PUMA研究的热点包括PUMA基因表达和蛋白功能的调控机制和PUMA表达对肿瘤的影响,且一些研究已初步阐述了其中机制;但不同肿瘤以及肿瘤在不同环境中PUMA的调控可能存在不同的机制,以及PUMA在肿瘤治疗中的价值,还有待进一步研究。

译后的磷酸化调节,而且PUMA蛋白的表达下降与肿瘤的形成、淋巴结转移、及预后密切相关。

彭松林, 戴朝六. 促凋亡基因PUMA与肿瘤. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2057-2062 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2057.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2057>

0 引言

肿瘤细胞凋亡机制的异常是导致肿瘤逃脱免疫细胞的攻击,产生免疫豁免,使肿瘤得以生存和发展的重要原因^[1-3],亦是导致肿瘤耐药性的重要因素之一^[4,5]。现已阐明细胞凋亡途径有3条:一条是通过死亡受体和caspase8的激活,称为外源途径/死亡受体途径^[6,7];一条是线粒体中细胞色素C的释放及接头蛋白Apaf21的激活,称为内源性途径/线粒体途径^[7],另一条是近年来发现的内质网途径^[8-10]。以上3种途径最后汇聚到同一通路,即活化的caspase8、caspase9、caspase12均切割激活caspase3,最终致细胞凋亡。p53上调凋亡调控因子(p53 up-regulated modulator of apoptosis, PUMA)是细胞凋亡内源性途径(线粒体途径)中的一个重要蛋白,一些研究已经证实其在肿瘤形成和肿瘤抑制中具有重要作用。本文重点对PUMA基因及其表达产物在肿瘤的作用与调控进行综述。

1 PUMA基因及其表达产物

PUMA是2001年发现的一种促凋亡基因,最早发现于结肠癌细胞中^[11,12],该基因位于染色体19q13.3-q13.4,因其可以被p53快速诱导转录及其编码的蛋白具有强大促凋亡作用而得名。PUMA蛋白也称为BBC3(Bcl-2 binding component 3),是Bcl-2相关蛋白家族中仅含一个BH3结构域的一种蛋白,定位于线粒体外膜^[11],通过与Bcl-2/Bcl-xL和Bax/Bak相互作用发挥其促凋亡作用^[13],一是通过BH3结构域中的 α 螺旋与线粒体膜上抑制凋亡的Bcl-2/Bcl-xL表面的BH1和BH2结构域形成的大沟结合,从而解除Bcl-2/Bcl-xL对Bax/Bak的抑制作用;其二是直接和线粒体膜上的Bax/Bak作用,使Bax/Bak发生构象变化,从细胞质转位至线粒体外膜并寡聚化,进而形成PTP或改变原有的“膜通道蛋白”。以上途径最终均可导致线粒体膜通透性增加并释放细胞色素C,激活Caspase级联效应,启动细胞凋亡。Nakano等^[12]研究发现PUMA有4种不

同的转录本:PUMA- α 、PUMA- β 、PUMA- γ 、PUMA- δ 。其中PUMA- β 缺少外显子2,功能与PUMA- α 类似。PUMA- γ 和PUMA- δ 因缺少BH3结构域,不具有诱导凋亡功能。同时,4种转录本在肿瘤的发生和分化过程中的作用也可能不尽相同^[14]。

2 PUMA基因及其产物的调控

2.1 PUMA的转录调控 在细胞生命过程中,每一种蛋白的表达都受到严格的转录调控和翻译后修饰。PUMA是p53诱导细胞凋亡的关键靶基因,可以通过p53依赖途径诱导表达。PUMA上游启动子序列中含p53的结合位点,受到凋亡信号刺激后,p53可以直接与其靶位点结合从而促进PUMA转录和蛋白表达。一些研究表明p53家族成员p63和p73也可以通过与PUMA启动子上的p53反应元件结合调控PUMA的转录^[15-17];但是p63和p73不同的亚型对PUMA的作用不同,TAp63和TAp73可以诱导PUMA的表达,而且这种诱导作用并不依赖于p53的存在,而DeltaNp63和DeltaNp73抑制PUMA及其他p53靶基因的激活^[16,17]。

PUMA还可以通过p53非依赖途径诱导基因表达。PUMA可以通过内质网应激、JNK、FOXO3a、E2F1等途径激活^[10,18-22]。CHOP(C/EBP homologous protein, 或称为GADD153, 基因名Ddit3)是内质网应激时诱导的一个关键转录因子^[19,23],内质网应激诱导PUMA表达主要通过CHOP途径。PUMA基因启动子序列中并不存在CHOP的结合位点,内质网应激时CHOP通过与FOXO3a相互作用或与激活蛋白-1(activator protein 1, AP-1)结合促进PUMA的转录^[24,25]。E2F1转录因子是抑癌基因pRB下游的一个靶基因,PUMA基因启动子中存在E2F1的结合位点,E2F1转录因子可以直接与这些位点结合启动PUMA基因的转录^[26]。还有研究表明c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)的缺失或抑制削弱PUMA的诱导表达^[18],JNK信号通路的激活,使c-Jun磷酸化与AP-1形成复合物直接结合到PUMA基因启动子,促进PUMA的表达^[27]。

2.2 PUMA的翻译后修饰 PUMA蛋白通过翻译后的修饰改变蛋白构象,使其易于与Bcl-2家族抗凋亡蛋白结合。Fricker等^[28]研究证实PUMA通过翻译后的磷酸化调节其蛋白功能。PUMA蛋白的

10、96、106位丝氨酸均可以被磷酸化, 而影响蛋白功能的最主要的部位是第10位丝氨酸的磷酸化, 10位丝氨酸的磷酸化促进PUMA蛋白的翻折; 而IKK α/β (I κ B kinase)促进了PUMA的磷酸化, 磷酸化PUMA虽然仍保持与Bcl-2家族抗凋亡蛋白结合的特性, 但其易被蛋白酶体降解, 从而抑制PUMA的促凋亡功能^[29]。

3 PUMA与肿瘤

3.1 PUMA在肿瘤发生中的作用 由于PUMA在细胞凋亡中的重要作用, 其在肿瘤发生的作用也日益受到人们的重视。但是对头颈部肿瘤、肺部肿瘤、头颈部鳞癌细胞株、原发性肝癌的PUMA编码区序列进行检测发现, 所有标本中均未见PUMA基因出现突变^[30,31], 提示PUMA基因突变与肿瘤的发生并无直接关联, 因此其功能改变可能主要是由于转录调控和翻译后修饰导致的蛋白表达异常。Hemann等^[32]应用短发夹RNAs(shRNAs)干扰PUMA表达并对PUMA在肿瘤发生过程中的作用进行评价, 结果显示shRNAs能够抑制PUMA蛋白表达, 并可作为潜在诱导剂使共表达E1A/ras的小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryo fibroblast, MEFs)出现转化; 此外, PUMA丢失还可加速E μ -Myc转基因小鼠淋巴瘤的形成。上述结果提示, 在E1A/ras介导的原代培养MEFs转化实验和Myc诱导的淋巴瘤形成过程中, 抑制PUMA的作用接近p53丢失的效应, 因此Hemann认为PUMA是p53肿瘤抑制网络中的重要组分之一, 而Garrison等^[33]同样用E μ -Myc小鼠研究淋巴瘤发生机制时发现PUMA缺失加速了淋巴瘤的形成, 而且在E μ -Myc小鼠形成的淋巴瘤中约75%的淋巴瘤出现PUMA蛋白低表达, 40%的人原发性B细胞淋巴瘤PUMA表达下降到检测不到的水平, 同时还发现淋巴瘤中PUMA表达下降与PUMA基因外显子2的甲基化有关。

其他的一些研究也证实PUMA在人类其他的恶性肿瘤表达下降。张克君等^[34]发现在胰腺癌中PUMA蛋白阳性率低于正常组织, 在PUMA阴性肿瘤组织中肿瘤细胞凋亡低于PUMA阳性肿瘤。在肝细胞癌的研究中发现只有50%(10/20)肝癌组织PUMA蛋白表达高于周围肝硬化组织^[31]。在喉癌中, PUMA表达阳性率(62.5%)低于癌旁组织(87.5%)^[35]。因此推测PUMA也表达下降可能是各种恶性肿瘤发生发展的原因之一。

3.2 PUMA在肿瘤发展中的作用及对预后的影响 PUMA不仅在肿瘤发生过程中具有重要作用, 而且一些研究表明其与肿瘤的侵袭转移及预后有关。江河等^[35]发现喉鳞癌中PUMA的表达与患者的颈淋巴结转移及预后有关。而Coutinho-Camillo等^[36]在口腔鳞癌的研究中发现PUMA和另一个Bcl-2家族蛋白Bim是影响口腔鳞状上皮细胞癌预后的独立影响因素。在表皮黑色素瘤中PUMA表达明显减弱且转移灶中PUMA表达比原发灶更低, PUMA表达减弱与黑色素瘤5年生存率较低相关^[37]。在早期卵巢癌中只有43%的卵巢癌PUMA表达强阳性, 而p53阳性同时PUMA弱表达的卵巢癌患者具有更短的无病生存期^[38]。在结肠癌的相关研究中也显示了类似的结果, PUMA表达增强的结肠癌患者5年总生存率更高, 多因素分析显示PUMA是评估结肠癌预后的独立因子^[39]。这些实验和临床研究结果表明PUMA不仅在肿瘤的发生中具有重要作用, 而且对肿瘤的侵袭转移和预后具有重要影响。

3.3 PUMA与肿瘤治疗 鉴于PUMA在肿瘤的影响和其促凋亡的功能, 一些研究也探讨了PUMA对肿瘤的抑制作用及其在肿瘤治疗中价值。由于许多肿瘤中PUMA表达下降, 因此如何通过调控PUMA表达诱导肿瘤细胞凋亡成为肿瘤治疗的一个思路。已知大约超过50%的人类肿瘤中发现p53基因突变或缺失, p53基因突变或失活后失去诱导下游凋亡基因PUMA表达的功能, 从而丧失抑制肿瘤的作用^[35,40,41], 因此通过增强p53的表达或导入野生型p53基因可促进PUMA表达从而诱导肿瘤细胞凋亡、达到抑制肿瘤的作用^[42-44]。

也有研究直接向肿瘤细胞导入PUMA基因或恢复PUMA表达诱导肿瘤细胞的凋亡或增强肿瘤对放化疗的敏感性。将携带PUMA的重组脂质体载体转染头颈部鳞癌JHU-012和JHU-013细胞后发现, PUMA可显著抑制癌细胞克隆的形成^[30]; 用腺病毒介导或脂质体转染PUMA后促进Bax寡聚化和转位到线粒体及线粒体膜电位降低、细胞色素C的释放, 增加胰腺癌、肝癌、胃癌细胞的凋亡^[45-48]。恶性肿瘤化疗耐药是肿瘤治疗的难题之一, PUMA诱导的细胞凋亡机制在化疗耐药中起着关键作用^[49], 研究表明在结肠癌、胃癌、肝癌、绒癌细胞中通过转染PUMA基因可以增强5-氟尿嘧啶、多柔比星、紫杉醇等化疗药物对肿瘤细胞的抑制作用^[50,51]。这些结

■ 相关报道

已有一些文献综述了关于PUMA的研究现状, 但综述的重点主要是PUMA基因结构、在细胞凋亡中的作用机制, 以及在肿瘤基因治疗中的评价。

■创新盘点

本文重点综述了PUMA基因转录和蛋白功能的调控机制,以及近十年来PUMA在肿瘤发生中的作用和对肿瘤发展及预后的影响。

果证明PUMA很有可能成为一个潜在的具有重要治疗价值的肿瘤治疗靶点。

4 结论

PUMA作为Bcl-2相关蛋白家族中的成员之一,其蛋白表达受到严格的转录调控,其功能也受到翻译后修饰的调节。在许多肿瘤中PUMA表达异常,可能是这些肿瘤发生发展的机制之一,但是不同的肿瘤处于不同的内环境中,PUMA表达在不同的肿瘤内环境中的调控机制目前并不十分清楚。随着对PUMA在肿瘤中的作用及其机制的深入研究,PUMA有望成为一个具有重要治疗价值的肿瘤治疗靶点。

5 参考文献

- Maher S, Toomey D, Condrón C, Bouchier-Hayes D. Activation-induced cell death: the controversial role of Fas and Fas ligand in immune privilege and tumour counterattack. *Immunol Cell Biol* 2002; 80: 131-137 [PMID: 11940113 DOI: 10.1046/j.1440-1711.2002.01068.x]
- Hug H. Fas-mediated apoptosis in tumor formation and defense. *Biol Chem* 1997; 378: 1405-1412 [PMID: 9461339]
- Bernstorff WV, Glickman JN, Odze RD, Farraye FA, Joo HG, Goedegebuure PS, Eberlein TJ. Fas (CD95/APO-1) and Fas ligand expression in normal pancreas and pancreatic tumors. Implications for immune privilege and immune escape. *Cancer* 2002; 94: 2552-2560 [PMID: 12173320 DOI: 10.1002/cncr.10549]
- Yin F, Liu X, Li D, Wang Q, Zhang W, Li L. Tumor suppressor genes associated with drug resistance in ovarian cancer (Review). *Oncol Rep* 2013; 30: 3-10 [PMID: 23660957 DOI: 10.3892/or.2013.2446]
- Zahreddine H, Borden KL. Mechanisms and insights into drug resistance in cancer. *Front Pharmacol* 2013; 4: 28 [PMID: 23504227 DOI: 10.3389/fphar.2013.00028]
- Lee EW, Seo J, Jeong M, Lee S, Song J. The roles of FADD in extrinsic apoptosis and necroptosis. *BMB Rep* 2012; 45: 496-508 [PMID: 23010170 DOI: 10.5483/BMBRep.2012.45.9.186]
- Guzzo MF, Carvalho LR, Bronstein MD. Apoptosis: its role in pituitary development and neoplastic pituitary tissue. *Pituitary* 2013 Mar 20. [Epub ahead of print] [PMID: 23512699 DOI: 10.1007/s11102-013-0481-5]
- Zou XJ, Yang L, Yao SL. Endoplasmic reticulum stress and C/EBP homologous protein-induced Bax translocation are involved in angiotensin II-induced apoptosis in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Exp Biol Med* (Maywood) 2012; 237: 1341-1349 [PMID: 23239445 DOI: 10.1258/ebm.2012.012041]
- Liu D, Zhang M, Yin H. Signaling pathways involved in endoplasmic reticulum stress-induced neuronal apoptosis. *Int J Neurosci* 2013; 123: 155-162 [PMID: 23134425 DOI: 10.3109/00207454.2012.746974]
- Nickson P, Toth A, Erhardt P. PUMA is critical for neonatal cardiomyocyte apoptosis induced

by endoplasmic reticulum stress. *Cardiovasc Res* 2007; 73: 48-56 [PMID: 17107669 DOI: 10.1016/j.cardiores.2006.10.001]

- Yu J, Zhang L, Hwang PM, Kinzler KW, Vogelstein B. PUMA induces the rapid apoptosis of colorectal cancer cells. *Mol Cell* 2001; 7: 673-682 [PMID: 11463391 DOI: S1097-2765(01)00213-1]
- Nakano K, Vousden KH. PUMA, a novel proapoptotic gene, is induced by p53. *Mol Cell* 2001; 7: 683-694 [PMID: 11463392 DOI: S1097-2765(01)00214-3]
- Yu J, Wang Z, Kinzler KW, Vogelstein B, Zhang L. PUMA mediates the apoptotic response to p53 in colorectal cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 1931-1936 [PMID: 12574499 DOI: 10.1073/pnas.2627984100]
- 陈鑫, 张尤历, 乌慧玲, 孔梅, 邵长江, 宋永站. PUMA基因在胃癌组织及细胞中的表达. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1227-1231
- Ming L, Sakaida T, Yue W, Jha A, Zhang L, Yu J. Sp1 and p73 activate PUMA following serum starvation. *Carcinogenesis* 2008; 29: 1878-1884 [PMID: 18579560 DOI: 10.1093/carcin/bgn150]
- Fricker M, Papadia S, Hardingham GE, Tolkovsky AM. Implication of TAp73 in the p53-independent pathway of Puma induction and Puma-dependent apoptosis in primary cortical neurons. *J Neurochem* 2010; 114: 772-783 [PMID: 20477944 DOI: 10.1111/j.1471-4159.2010.06804.x]
- Mundt HM, Stremmel W, Melino G, Krammer PH, Schilling T, Müller M. Dominant negative (DeltaN) p63alpha induces drug resistance in hepatocellular carcinoma by interference with apoptosis signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 396: 335-341 [PMID: 20403333 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.04.093]
- Qiu W, Wang X, Leibowitz B, Yang W, Zhang L, Yu J. PUMA-mediated apoptosis drives chemical hepatocarcinogenesis in mice. *Hepatology* 2011; 54: 1249-1258 [PMID: 21725994 DOI: 10.1002/hep.24516]
- Ray RM, Bhattacharya S, Johnson LR. Mdm2 inhibition induces apoptosis in p53 deficient human colon cancer cells by activating p73- and E2F1-mediated expression of PUMA and Siva-1. *Apoptosis* 2011; 16: 35-44 [PMID: 20812030 DOI: 10.1007/s10495-010-0538-0]
- Bean GR, Ganesan YT, Dong Y, Takeda S, Liu H, Chan PM, Huang Y, Chodosh LA, Zambetti GP, Hsieh JJ, Cheng EH. PUMA and BIM are required for oncogene inactivation-induced apoptosis. *Sci Signal* 2013; 6: ra20 [PMID: 23532334 DOI: 10.1126/scisignal.2003483]
- Reimertz C, Kögel D, Rami A, Chittenden T, Prehn JH. Gene expression during ER stress-induced apoptosis in neurons: induction of the BH3-only protein Bbc3/PUMA and activation of the mitochondrial apoptosis pathway. *J Cell Biol* 2003; 162: 587-597 [PMID: 12913114 DOI: 10.1083/jcb.200305149]
- Amente S, Zhang J, Lavadera ML, Lania L, Avvedimento EV, Majello B. Myc and PI3K/AKT signaling cooperatively repress FOXO3a-dependent PUMA and GADD45a gene expression. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 9498-9507 [PMID: 21835778 DOI: 10.1093/nar/gkr638]
- He D, Li J, Zhao J, Fei J, Zhang X. C/EBP homologous protein induces mesangial cell apoptosis

- under hyperglycemia. *Mol Med Rep* 2013; 7: 445-448 [PMID: 23241730 DOI: 10.3892/mmr.2012.1234]
- 24 Ghosh AP, Klocke BJ, Ballestas ME, Roth KA. CHOP potentially co-operates with FOXO3a in neuronal cells to regulate PUMA and BIM expression in response to ER stress. *PLoS One* 2012; 7: e39586 [PMID: 22761832 DOI: 10.1371/journal.pone.0039586]
- 25 Cazanave SC, Elmi NA, Akazawa Y, Bronk SF, Mott JL, Gores GJ. CHOP and AP-1 cooperatively mediate PUMA expression during lipoapoptosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G236-G243 [PMID: 20430872 DOI: 10.1152/ajp-gi.00091.2010]
- 26 Hershko T, Ginsberg D. Up-regulation of Bcl-2 homology 3 (BH3)-only proteins by E2F1 mediates apoptosis. *J Biol Chem* 2004; 279: 8627-8634 [PMID: 14684737 DOI: 10.1074/jbc.M312866200]
- 27 Cazanave SC, Mott JL, Elmi NA, Bronk SF, Werneburg NW, Akazawa Y, Kahraman A, Garrison SP, Zambetti GP, Charlton MR, Gores GJ. JNK1-dependent PUMA expression contributes to hepatocyte lipoapoptosis. *J Biol Chem* 2009; 284: 26591-26602 [PMID: 19638343 DOI: 10.1074/jbc.M109.022491]
- 28 Fricker M, O'Prey J, Tolkovsky AM, Ryan KM. Phosphorylation of Puma modulates its apoptotic function by regulating protein stability. *Cell Death Dis* 2010; 1: e59 [PMID: 21364664 DOI: 10.1038/cddis.2010.38]
- 29 Sandow JJ, Jabbour AM, Condina MR, Daunt CP, Stomski FC, Green BD, Riffkin CD, Hoffmann P, Guthridge MA, Silke J, Lopez AF, Ekert PG. Cytokine receptor signaling activates an IKK-dependent phosphorylation of PUMA to prevent cell death. *Cell Death Differ* 2012; 19: 633-641 [PMID: 21997190 DOI: 10.1038/cdd.2011.131]
- 30 Hoque MO, Begum S, Sommer M, Lee T, Trink B, Ratovitski E, Sidransky D. PUMA in head and neck cancer. *Cancer Lett* 2003; 199: 75-81 [PMID: 12963126 DOI: 10.1016/S0304-3835(03)00344-6]
- 31 Ahn CH, Jeong EG, Kim SS, Lee JW, Lee SH, Kim SH, Kim MS, Yoo NJ, Lee SH. Expression and mutational analysis of pro-apoptotic Bcl-2 member PUMA in hepatocellular carcinomas. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1395-1399 [PMID: 17934815 DOI: 10.1007/s10620-007-9987-x]
- 32 Hemann MT, Zilfou JT, Zhao Z, Burgess DJ, Hannon GJ, Lowe SW. Suppression of tumorigenesis by the p53 target PUMA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 9333-9338 [PMID: 15192153 DOI: 10.1073/pnas.0403286101]
- 33 Garrison SP, Jeffers JR, Yang C, Nilsson JA, Hall MA, Rehg JE, Yue W, Yu J, Zhang L, Onciu M, Sample JT, Cleveland JL, Zambetti GP. Selection against PUMA gene expression in Myc-driven B-cell lymphomagenesis. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 5391-5402 [PMID: 18573879 DOI: 10.1128/MCB.00907-07]
- 34 张克君, 李德春, 朱东明. puma蛋白在胰腺癌中的表达及临床意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 488-492
- 35 江河, 江孝清, 周绪红, 吴曙辉. 喉鳞状细胞癌中 PUMA、P53 基因的表达及其临床意义. *武汉大学学报(医学版)* 2006; 27: 57-59
- 36 Coutinho-Camillo CM, Lourenço SV, Nishimoto IN, Kowalski LP, Soares FA. Expression of Bcl-2 family proteins and association with clinicopathological characteristics of oral squamous cell carcinoma. *Histopathology* 2010; 57: 304-316 [PMID: 20716171 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2010.03621.x]
- 37 Karst AM, Dai DL, Martinka M, Li G. PUMA expression is significantly reduced in human cutaneous melanomas. *Oncogene* 2005; 24: 1111-1116 [PMID: 15690057 DOI: 10.1038/sj.onc.1208374]
- 38 Skírnisdóttir I, Seidal T. The apoptosis regulators p53, bax and PUMA: Relationship and impact on outcome in early stage (FIGO I-II) ovarian carcinoma after post-surgical taxane-based treatment. *Oncol Rep* 2012; 27: 741-747 [PMID: 22159712 DOI: 10.3892/or.2011.1578]
- 39 Sinicrope FA, Rego RL, Okumura K, Foster NR, O'Connell MJ, Sargent DJ, Windschitl HE. Prognostic impact of bim, puma, and noxa expression in human colon carcinomas. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 5810-5818 [PMID: 18794091 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5202]
- 40 Azmi AS, Philip PA, Aboukameel A, Wang Z, Banerjee S, Zafar SF, Goustin AS, Almhanna K, Yang D, Sarkar FH, Mohammad RM. Reactivation of p53 by novel MDM2 inhibitors: implications for pancreatic cancer therapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2010; 10: 319-331 [PMID: 20370686 DOI: 10.2174/156800910791190229]
- 41 胡煜, 张阳德, 朱勤, 彭健, 潘一峰, 王吉伟. PUMA在结肠癌细胞中的表达及诱导细胞凋亡中的作用. *现代生物医学进展* 2007; 7: 1058-1060
- 42 Wang H, Ma X, Ren S, Buolamwini JK, Yan C. A small-molecule inhibitor of MDMX activates p53 and induces apoptosis. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 69-79 [PMID: 21075910 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0581]
- 43 Thakur VS, Ruhul Amin AR, Paul RK, Gupta K, Hastak K, Agarwal MK, Jackson MW, Wald DN, Mukhtar H, Agarwal ML. p53-Dependent p21-mediated growth arrest pre-empts and protects HCT116 cells from PUMA-mediated apoptosis induced by EGCG. *Cancer Lett* 2010; 296: 225-232 [PMID: 20444544 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.04.012]
- 44 Gu J, Zhang L, Swisher SG, Liu J, Roth JA, Fang B. Induction of p53-regulated genes in lung cancer cells: implications of the mechanism for adenoviral p53-mediated apoptosis. *Oncogene* 2004; 23: 1300-1307 [PMID: 14676844 DOI: 10.1038/sj.onc.1207239]
- 45 莫小恒, 李军, 张克君, 李德春. PUMA基因对胰腺癌细胞BxPC-3的促凋亡作用及其可能机制. *中国肿瘤生物治疗杂志* 2009; 16: 353-357
- 46 郝强, 陈松, 杨生生, 陈欢, 焦炳华, 蔡在龙. 促凋亡蛋白PUMA对小鼠肝细胞凋亡的影响及其分子机制. *第四军医大学学报* 2009; 30: 2726-2730
- 47 Wang H, Pei W, Luan Q, Ma F, Zhou S, Zhao Z, Meng X, Zhang X, Liang X, Chen Y, Zhan Q, Lin C, Qian H, Zhao P. A feasibility study on gene therapy of pancreatic carcinoma with Ad-PUMA. *Cancer Biol Ther* 2012; 13: 712-719 [PMID: 22617775 DOI: 10.4161/cbt.20552]
- 48 张宇雯, 刘兴汉, 马洪星, 曲天舒, 李冀红, 栗亚. Puma基因转染对胃癌SGC-7901细胞的促凋亡作用及机制. *中国肿瘤* 2008; 17: 137-141
- 49 Zhao Z, Wang J, Tang J, Liu X, Zhong Q, Wang F, Hu W, Yuan Z, Nie C, Wei Y. JNK- and Akt-mediated Puma expression in the apoptosis of cisplatin-resistant ovarian cancer cells. *Biochem J* 2012; 444: 291-301 [PMID: 22394200 DOI: 10.1042/BJ20111855]

■应用要点
对PUMA在肿瘤发生发展中的作用和机制的阐述, 及其在肿瘤治疗中的评价, 有助于人们对肿瘤发生发展机制的理解和对肿瘤治疗靶点的探索。

■同行评价

本文系统论述 PUMA 基因及其与肿瘤的关系, 具有一定的学术价值.

50 Dvory-Sobol H, Sagiv E, Kazanov D, Ben-Ze'ev A, Arber N. Targeting the active beta-catenin pathway to treat cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 2861-2871 [PMID: 17121933 DOI: 10.1158/1535-7163.

MCT-06-0122]
51 陈燕, 向阳, 钱海利, 马妍, 詹启敏, 林晨. PUMA 基因对耐药绒癌化疗敏感性的影响. *生殖医学杂志* 2008; 17: 474-479

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

联合基因治疗体系pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK对胃癌细胞增殖的影响

陈选民, 叶玲, 冷爱民, 刘霆

陈选民, 南华大学附属第一医院消化科 湖南省衡阳市 421001
叶玲, 中南大学湘雅二医院老年病科 湖南省长沙市 410008
冷爱民, 刘霆, 中南大学湘雅医院消化科 湖南省长沙市 410008
陈选民, 主要从事胃肠道肿瘤的基础与临床研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81272735
教育部博士点新教师基金资助项目, No. 200805331090
作者贡献分布: 此课题由刘霆与陈选民设计; 冷爱民负责联合基因载体构建; 实验操作由陈选民与叶玲完成; 论文写作由刘霆与陈选民完成。
通讯作者: 刘霆, 主治医师, 410008, 湖南省长沙市湘雅路87号, 中南大学湘雅医院消化科. liuting818@126.com
收稿日期: 2013-04-14 修回日期: 2013-05-26
接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Combined gene therapy system pcDNA 3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK inhibits proliferation of gastric cancer cells

Xuan-Min Chen, Ling Ye, Ai-Min Leng, Ting Liu

Xuan-Min Chen, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nan-Hua University, Hengyang 421001, Hunan province, China
Ling Ye, Department of Geriatrics, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, Hunan province, China
Ai-Min Leng, Ting Liu, Department of Gastroenterology, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, Hunan Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81272735; and the Doctoral Program Foundation of Ministry of Education of China, No. 200805331090
Correspondence to: Ting Liu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Xiangya Hospital of Central South University, 87 Xiangya Road, Changsha 410008, Hunan Province, China. liuting818@126.com
Received: 2013-04-14 Revised: 2013-05-26
Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To observe the effect of combined gene therapy system pcDNA 3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK, which is mediated by calcium phosphate nanoparticles, on the proliferation of human gastric cancer cells.

METHODS: Expression plasmid vectors pcD-

NA3.1(-) NULL, pGenesil-1-hVEGF4-shRNA, pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK, or pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK were transfected into human gastric cancer cell line SGC7901. The mRNA and protein expression of yCDglyTK and VEGF was detected by RT-PCR and Western blot, respectively. The proliferation of transfected cells was analyzed by MTT assay. Apoptosis of SGC7901 cells was analyzed by flow cytometry.

RESULTS: After transfection with plasmid pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK, yCDglyTK mRNA and protein was detectable, and expression of VEGF was decreased by 30.3%. Compared to cells transfected with plasmid pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK, cells treated with the combined gene therapy system showed more significant proliferation inhibition ($P < 0.05$) and apoptosis (apoptosis rate: $67.9\% \pm 4.78\%$).

CONCLUSION: The combined gene therapy system pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK has stronger killing effect on gastric cancer cells than RNA interference or suicide gene alone.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Combined gene therapy; Suicide gene; RNA interference; Vascular endothelial growth factor; Gastric carcinoma

Chen XM, Ye L, Leng AM, Liu T. Combined gene therapy system pcDNA 3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK inhibits proliferation of gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2063-2069 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2063.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2063>

摘要

目的: 观察由磷酸钙纳米颗粒介导的联合基因治疗体系pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK对胃癌细胞增殖的影响。

方法: 以磷酸钙纳米颗粒为载体, 介导

背景资料

肿瘤的发生是复杂的多因素、多步骤、涉及多基因事件发生的过程, 针对单一环节的转基因治疗常常不能达到满意的治疗效果, 大多数学者研究认为, 联合基因治疗都存在协同效应, 能够加强对肿瘤的杀伤作用。

同行评议者

李孟森, 教授, 海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室; 刘亮明, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科

■ 研发前沿

本项目构建以血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)基因为靶向的RNA干扰质粒与肿瘤特异性启动子调控的融合自杀基因yCDglyTK相结合的治疗体系,并以磷酸钙纳米为载体,将该基因治疗体系靶向导入胃癌细胞中,达到增强基因治疗靶向性及安全性的目的。

pcDNA3.1(-)Null, pGenesil-1-hVEGF4-shRNA, pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK, pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK转染胃癌细胞SGC7901, RT-PCR检测细胞中yCDglyTK及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)mRNA的表达情况. Western blot分析yCDglyTK及VEGF蛋白的改变. MTT法检测融合基因对转染细胞的杀伤作用. 流式细胞术检测转染细胞的凋亡情况.

结果: SGC7901细胞转染pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK质粒后有yCDglyTK mRNA及相关蛋白表达, VEGF表达受抑制达30.3%. 相对于转染pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK质粒组, 联合基因体系对胃癌细胞的抑制作用更强($P < 0.05$). pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组细胞凋亡率达到67.9% \pm 4.78%.

结论: 联合基因治疗体系pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK较单独的RNA干扰或自杀基因可更有效的杀伤胃癌细胞.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 联合基因; 自杀基因; RNA干扰; 血管内皮生长因子; 胃癌

核心提示: 磷酸钙纳米颗粒介导的pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK联合基因治疗比单一的基因治疗更有优势, 将该基因治疗体系靶向导入胃癌细胞中, 能显著降低胃癌关键促癌基因的表达, 促进其凋亡.

陈选民, 叶玲, 冷爱民, 刘霆. 联合基因治疗体系pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK对胃癌细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2063-2069 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2063.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2063>

0 引言

胃癌是人类常见的恶性肿瘤之一, 在全球范围内, 居恶性肿瘤的第4位, 病死率居恶性肿瘤的第2位^[1]. 目前手术治疗、化疗等治疗方式效果有限, 胃癌的预后很差, 胃癌的5年生存率不足20%. 从恶性转化和肿瘤发展的分子遗传学来看, 胃癌是一种获得性的多阶段的基因病, 他的生长、侵袭、凋亡都和基因相关. 60%的临床实验证明, 基因治疗的最普遍的适应症是肿瘤^[2]. 因此, 胃癌的基因治疗是当前的研究热点.

在胃癌的基因治疗策略中, 自杀基因治疗颇具临床应用潜力. RNA干扰(RNA interference, RNAi)是近几年来发现和发展起来的一门新兴的在转录水平上的基因阻断技术. 在联合基因治疗肿瘤研究中, 石华等^[3]的研究显示, HPV-16 E6 siRNA与*hIL-24*基因分别转染宫颈癌Ca Ski细胞后, 均能抑制CaSki细胞中HPV-16 E6癌基因的表达, 使抑癌蛋白p53恢复活性, 诱导宫颈癌CaSki细胞凋亡; 两者联合则具有协同效应, 能显著提高肿瘤细胞凋亡率. 杨晓红等^[4]的研究表明: RNA干扰技术可成为有效抑制非小细胞肺癌的治疗新方法, 联合抑癌基因*p53*可增强其对肺癌细胞的抑制作用. 为此, 本研究利用磷酸钙纳米颗粒为载体, 研究联合基因治疗体系pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK对胃癌细胞增殖的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞株SGC7901由中南大学湘雅医院医学实验研究中心保存, 培养于含10%小牛血清的RPMI 1640培养液中. 真核表达质粒pcDNA3.1(-)Null, pGenesil-1-hVEGF4-shRNA, pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK, pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK均为本科室前期实验所构建^[5]. 磷酸钙纳米颗粒为本科室前期实验所合成. TRIzol购自Promega公司, 逆转录试剂盒购自TOYOBO, 鼠抗 β -actin购自Sigma公司, 兔抗yCDglyTK、鼠抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及鼠二抗购自Sants Cruz, 兔二抗购自Amersham. 5-氟胞嘧啶(5-fluorocytosine, 5-FC), 二甲基亚砜(DMSO)等购自Sigma公司; 改良型RPMI 1640、小牛血清均购自Hyclone.

1.2 方法

1.2.1 转染: 转染共分5组: (1)未转染的SGC7901组; (2)pcDNA3.1(-)Null组; (3)pGenesil-1-hVEGF4-shRNA组; (4)pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK组; (5)pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组. 按照磷酸钙纳米转染法进行转染^[4]. 6孔板中, 每孔接种细胞 2×10^5 个, 待细胞生长至融合度为70%-80%时, 按照质粒DNA: 纳米颗粒 = 1 μ g : 15 μ g混合, 用0.05 mol/L CaCl₂修饰, 混合20 min后, 加入孔板中转染, 转染6 h后更换为含10%小牛血清的完全培养基, 转染48 h后收集细胞用于RT-PCR, 转染72 h后收集细胞用于Western blot检测.

1.2.2 RT-PCR检测 转染后5组SGC7901细胞中

表 1 5组SGC7901细胞的VEGF mRNA水平及蛋白水平与细胞凋亡率 ($n = 3$, mean \pm SD)

分组	VEGF/ β -actin mRNA	VEGF/ β -actin蛋白	细胞凋亡率(%)
SGC7901	0.41 \pm 0.04 ^a	0.66 \pm 0.05 ^a	3.24 \pm 0.40
pcDNA3.1(-)Null	0.41 \pm 0.03 ^a	0.60 \pm 0.03 ^a	4.56 \pm 0.71
pGenesil-shVEGF	0.17 \pm 0.03	0.36 \pm 0.04	21.6 \pm 1.11
pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK	0.37 \pm 0.05 ^a	0.61 \pm 0.03 ^a	56.2 \pm 2.59
pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK	0.15 \pm 0.03	0.41 \pm 0.04	67.9 \pm 4.78 ^a

^a $P < 0.05$ vs pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK. VEGF: 血管内皮生长因子.

*yCDglyTK*基因及*VEGF* mRNA的水平变化: 两步法进行RT-PCR. 第一步逆转录: 提取总RNA, 紫外分光光度仪测浓度, 取1 μ g作为模板, 反应体系为20 μ L: 5 \times RT-buffer 4 μ L, dNTP(各10 mmol/L) 2 μ L, RNase Inhibitor 1 μ L, Reretra Ace 1 μ L, 用ddH₂O补足体积至20 μ L. 反应参数为: 42 $^{\circ}$ C 20 min, 85 $^{\circ}$ C 5 min, 4 $^{\circ}$ C 5 min. 第二步PCR扩增: 取cDNA 2 μ L作为PCR反应模板, 反应体系为25 μ L: Master Mix 12.5 μ L, 上、下游引物(10 pmol/ μ L)各1 μ L, ddH₂O补足体积至25 μ L; 所用引物如下: *yCDglyTK*基因引物: p1 5'-GGGAGATTAGAGGGAAAGTGT-3'; p2 5'-ACGGCGTCGGTCACGGCATAA-3', PCR产物长度707 bp. VEGF引物: p1 5'-TCTTCAAGC-CATCCTGTGTG-3'; p2 5'-ATCCGCATAATCT-GCATGGT-3', 产物长度112 bp. 内参 β -actin引物: p1 5'-AGCGAGCATCCCCAAAGTT-3'; p2 5'-GGGCACGAAGGCTCATCATT-3', 产物长度285 bp. 反应参数为: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 98 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C(其中*VEGF*基因退火温度为53 $^{\circ}$ C)30 s, 72 $^{\circ}$ C 60 s, 32个循环; 72 $^{\circ}$ C 7 min. PCR产物进行1.5%琼脂糖凝胶电泳, 使用BandScan图像分析软件计算两个基因条带与内参条带光密度比值, 以其表示相应基因含量的相对强度.

1.2.3 Western blot分析转染后5组SGC7901细胞中*yCDglyTK*及*VEGF*基因表达水平的变化: 分别收集转染后72 h的SGC7901细胞裂解液, BCA法测定蛋白浓度, 15%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 电转移至PVDF膜上, 室温封闭1 h, 4 $^{\circ}$ C孵育一抗过夜, 二抗室温孵育1 h, 显色. 实验中以 β -actin为内参, 用BandScan图像分析软件分析结果.

1.2.4 MTT法测细胞相对存活率: (1)取对数生长期SGC7901细胞, 胰酶消化, 以每孔 8×10^3 个细胞接种于96孔培养板, 设4个复孔; (2)待细胞

融合度达到70%-80%时, 以4种质粒转染之, 以不转染的SGC7901为对照, 转染6 h后更换为完全培养基; (3)24 h后更换为含5-FC终浓度为200 μ g/mL的完全培养基; (4)分别于加药后第1、2、3、4、5和6天行MTT法检测细胞活力(每孔加入5 mg/mL的MTT 20 μ L, 继续培养4 h后移去上清, 加DMSO 200 μ L/孔, 避光振荡10 min后即在酶联免疫检测仪上测定吸光值). 以时间为横坐标, 吸光值为纵坐标绘制细胞生长曲线.

1.2.5 流式细胞仪分析转染后5组SGC7901细胞凋亡情况: 按 2×10^5 /孔将细胞种植于6孔板, 待细胞融合度达90%时, 用4种质粒转染6 h, 经200 μ g/mL的5-FC作用48 h后, 收集上清及细胞, 离心, PBS漂洗后, 75 mL/L预冷乙醇固定24 h以上, 采用流式细胞仪检测细胞凋亡率.

统计学处理 应用SPSS13.0软件进行处理, 采用单因素方差分析, 对样本进行方差齐性检验, 方差齐时组间比较采用方差分析及LSD-*t*检验, 方差不齐时组间比较采用Kruskal-Wallis H检验及Nemenyi检验, $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 5组SGC7901细胞中*yCDglyTK*基因及*VEGF* mRNA水平变化 RT-PCR产物经琼脂糖凝胶电泳, 发现转染pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK, pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组有*yCDglyTK*基因表达, 未转染SGC7901组, 转染pcDNA3.1(-)Null组无表达; 转染pGenesil-1-hVEGF4-shRNA组及pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组VEGF mRNA水平下降, 与未转染SGC7901组, 转染pcDNA3.1(-)Null组相比有统计学差异($P < 0.05$)(表1, 图1).

2.2 5组SGC7901细胞中*yCDglyTK*及*VEGF*基因表达水平的变化 pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK

■ 相关报道

研究证明, 以PEG介导VEGF siRNA治疗体系, 能明显抑制前列腺肿瘤细胞中VEGF的表达, 显示很好的抗肿瘤活性. Schrijver等应用RNAi技术, 高度特异地沉默前列腺腺癌细胞中FASE的表达, FASE的沉默抑制了前列腺癌细胞的生长, 最终导致其凋亡.

■ 创新盘点

以生物纳米材料磷酸钙纳米颗粒为载体与带有特异性启动子的pcDNA3.1(-)CVyCDglyTK/siRNA-VEGF基因治疗系统结合导入胃癌的治疗,克服病毒载体的安全性差及肿瘤治疗靶向性差的缺点,选择性杀伤肿瘤细胞,达到胃癌靶向基因治疗的目的。

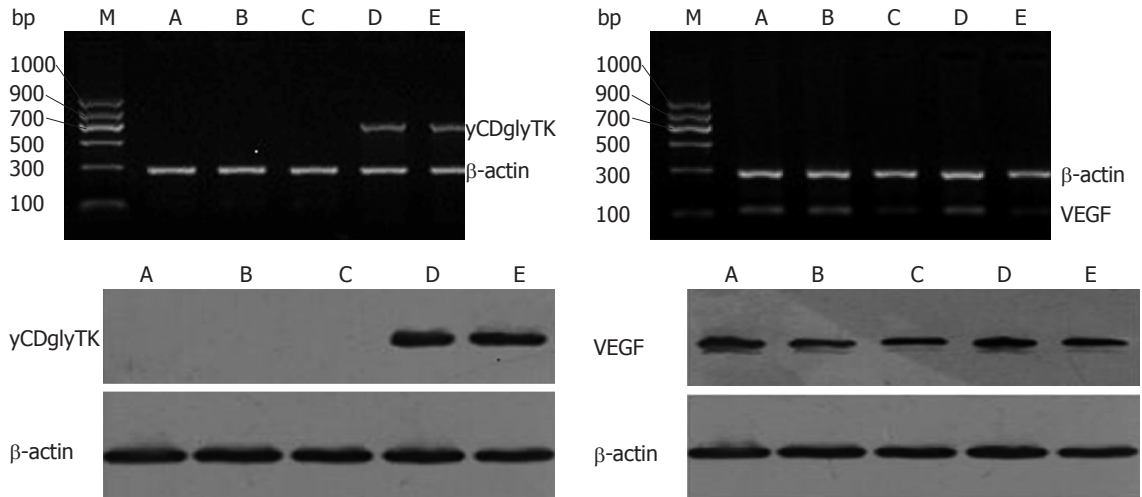


图1 yCDglyTK基因及VEGF基因在5组细胞中的表达。A: SGC7901; B: pcDNA3.1(-)Null; C: pGenesil-1-hVEGF4-shRNA; D: pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK; E: pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK。VEGF: 血管内皮生长因子。

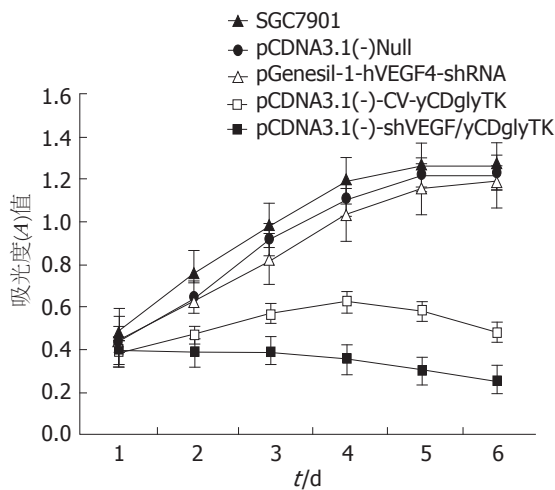


图2 5-FU对5组细胞增殖的抑制作用。VEGF: 血管内皮生长因子; 5-FU: 5-氟胞嘧啶。

组和pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组表达yCDglyTK蛋白,未转染的SGC7901组,转染pcDNA3.1(-)Null组中无表达,pGenesil-1-hVEGF4-shRNA组VEGF组及pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组VEGF蛋白的水平下降,与其余3组相比有统计学差异($P < 0.05$)(表1,图1)。

2.3 生长曲线(MTT法) 如图2所示,5-FU对pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK组、pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组均有抑制作用,但是对于后者的作用更强,有统计学差异($P < 0.05$)。其余3组仍随时间推移而生长,有相似的生长曲线。

2.4 5组SGC7901细胞凋亡情况 pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组细胞凋亡率达到72.4%,高于其余4组,有显著统计学差异($P < 0.05$)(表1,图3)。

3 讨论

胃癌的基因治疗中,自杀基因是研究较多的一类抗肿瘤基因,如自杀基因CD/5-FC、HSV-TK/GCV系统具有强大的杀伤肿瘤细胞,抑制肿瘤生长的作用^[6-9]。融合基因yCDglyTK被转染进入细胞,通过靶向表达启动子CEA的作用后,能够对细胞无毒性作用的前药5-FC转化为5-FU,通过干扰细胞DNA的形成及旁观者效应等机制,抑制肿瘤细胞增殖。自Tsumoto等^[10]提出肿瘤的生长具有血管形成依赖以来,对实体瘤的血管形成及其相关微循环的研究及抗肿瘤血管生成已成为当今肿瘤研究的热点之一,VEGF已经被证实具有促进血管生成的作用,研究表明,VEGF在包括胃癌在内的多种实体肿瘤中存在过度表达,并且其表达水平与肿瘤的浸润性,微血管的密度,肿瘤的转移与复发等密切相关^[11]。RNA干扰,是近几年来发现和发展起来的一门新兴的在转录水平上的基因阻断技术,是一种双链RNA(double-stranded RNA, dsRNA)分子在mRNA水平上关闭相应序列基因的表达或使其沉默的过程^[12,13],他能与一种具有dsRNA特异性的RNA酶III内切核酸酶Dicer结合为酶-dsRNA复合物,随即被切割成21-23 nt的RNA片段,即小干扰RNA(small interference RNA, siRNA)。研究表明,VEGF的RNA干扰技术是一种有效的抑制肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭和血管生成的策略^[14]。为了探索更强大的胃癌治疗体系,我们在pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK骨架基础上,将来自pGenesil-1-hVEGF4-shRNA的U6-shRNA

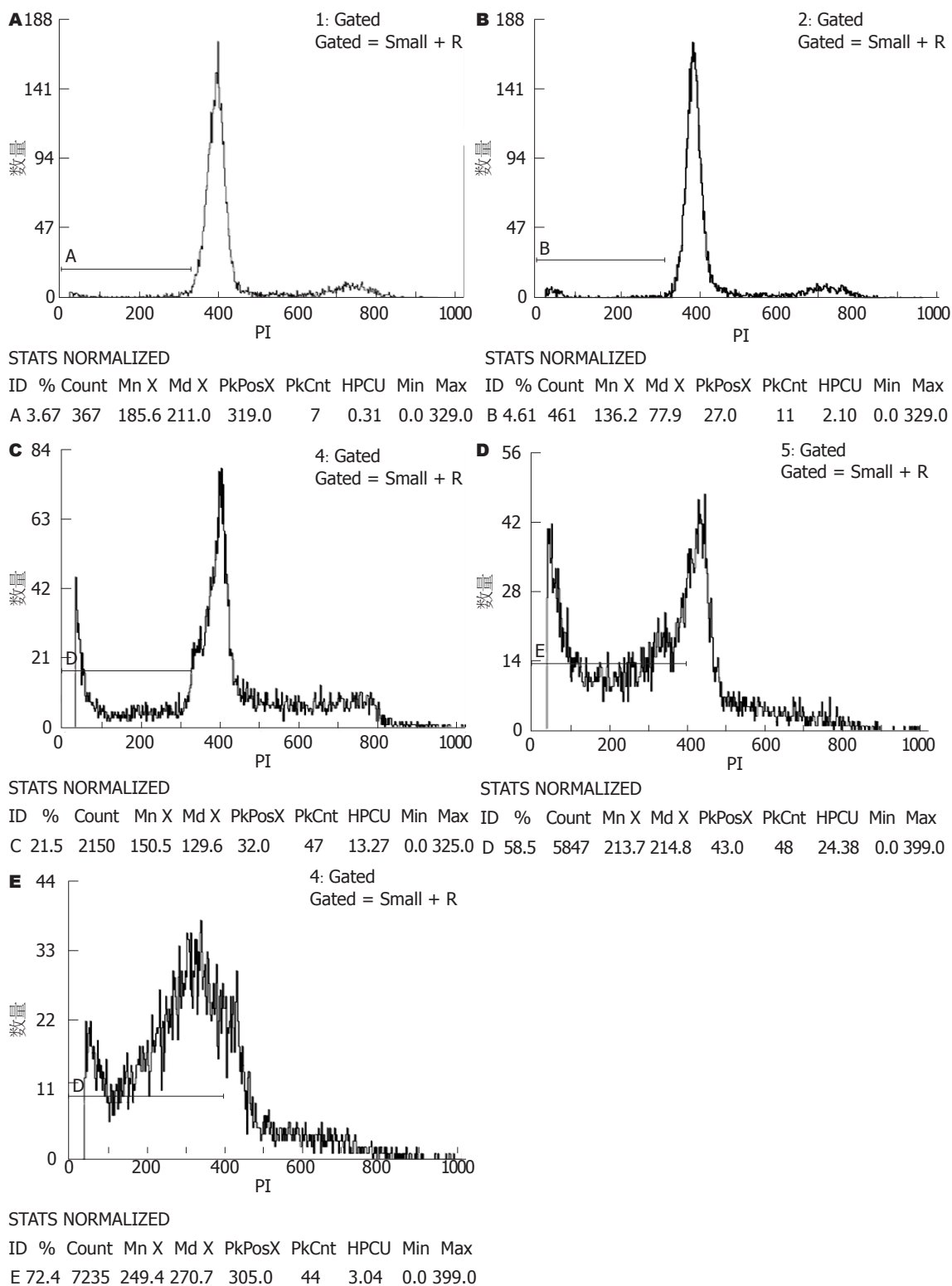


图 3 5组SGC7901细胞凋亡情况. A: SGC7901; B: pcDNA3.1(-)Null; C: pGenesil-1-hVEGF4-shRNA; D: pcDNA3.1(-)CV-yCDglyTK; E: pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK.

表达框亚克隆至该骨架载体上, 通过两种机制的联合基因治疗体系, 达到我们的实验目的. 实验证实真核表达质粒pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK能够在磷酸钙纳米颗粒的介导下, 成

功转染胃癌细胞SGC7901, 使其表达融合自杀基因yCDglyTK, 抑制其VEGF的表达30.3%, 在5-FU作用下, SGC7901细胞在48 h内凋亡率达到72.4%, 相比单纯转染质粒pGenesil-1-hVEGF4-

■同行评价

本文的技术和结果有一定的创新性,具有一定指导意义。

shRNA, pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK组, 联合质粒显示了更强的抑制作用, 证实该联合基因治疗系统存在协同作用, 能够增强疗效。这与国内其他联合基因治疗的研究结果一致^[3,4]。

载体是基因治疗的关键。目前载体可分为病毒载体和非病毒载体。病毒载体主要包括腺病毒, 逆转录病毒, 腺相关病毒等, 但病毒载体在安全性方面存在潜在的危险, 如免疫原性比较强, 注射到机体后很快会被机体的免疫系统排斥; 非病毒载体目前常用的有脂质体及多聚阳离子聚合物。但脂质体和阳离子聚合物介导基因转移缺乏组织的特异性和靶向性, 易被网状内皮系统吞噬, 基因表达时间短等缺点。本研究采用的磷酸钙纳米颗粒, 成功介导联合基因转染, 利用了该类载体毒性低, 转染效率高, 保护目标DNA等特点^[6], 使我们的联合基因治疗体系更有优势。

为了增强基因治疗的靶向性, 我们构建联合基因治疗体系时, 采用了具有靶向表达的pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK骨架, 其由CEA启动子驱动, 能够使5-FU仅在CEA表达阳性的细胞中转化为5-FU^[15,16], 对于高表达CEA的胃癌细胞来说, 这种杀伤作用具有专一性。由于U6启动子缺乏靶向性, 使我们的联合基因不能专一抑制胃癌细胞VEGF的表达, 这是我们的联合基因的限制性, 也是下一步实验要重点攻克的问题。虽然VEGF可以通过VEGF/VEGFR2自分泌环对肿瘤细胞的存活产生一定影响^[17], 而我们的实验也证实转染pGenesil-1-hVEGF4-shRNA组胃癌细胞生长曲线不同于转染pcDNA3.1(-)Null组, 流式细胞仪也证实该组有21.5%的凋亡率。但其主要作用还是在肿瘤组织刺激肿瘤血管的生成, 为肿瘤组织生长提供必要的血液供应, 从而促进肿瘤的进展。因为在细胞实验中不存在对血管的抑制, 因此VEGF的RNA干扰效应有待动物实验进一步验证。

总之, 磷酸钙纳米颗粒介导的联合基因治疗比单一的基因治疗更有优势, 他能够通过不同的作用机制抑制肿瘤细胞的增殖, 促进其凋亡, 将为胃癌的基因治疗提供新的思路。

4 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 2 Zhu X, Su D, Xuan S, Ma G, Dai Z, Liu T, Tang D,

Mao W, Dong C. Gene therapy of gastric cancer using LIGHT-secreting human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Gastric Cancer* 2013; 16: 155-166 [PMID: 22850801 DOI: 10.1007/s10120-012-0166-1]

- 3 石华, 杨俊霞, 袁成福. HPV-16 E6 siRNA与hIL-24基因联合诱导人宫颈癌CaSki细胞的凋亡. *肿瘤* 2007; 5: 346-351
- 4 杨晓红, 万福生, 潘泽政. RNA干扰单独及联合p53基因对肺癌细胞增殖的抑制作用. *江西医学院学报* 2006; 46: 1-4
- 5 叶玲, 张桂英, 刘霆, 陈选民, 易红, 肖志强, 冷爱民, 彭杰. 表达血管内皮生长因子-siRNA及双自杀基因yCDglyTK的联合基因载体构建及其应用研究. *生物化学与生物物理进展* 2010; 37: 503-509
- 6 Liu T, Tang A, Zhang G, Chen Y, Zhang J, Peng S, Cai Z. Calcium phosphate nanoparticles as a novel nonviral vector for efficient transfection of DNA in cancer gene therapy. *Cancer Biother Radiopharm* 2005; 20: 141-149 [PMID: 15869447 DOI: 10.1089/cbr.2005.20.141]
- 7 Li XH, Zhou P, Wang LH, Tian SM, Qian Y, Chen LR, Zhang P. The targeted gene (KDRP-CD/TK) therapy of breast cancer mediated by SonoVue and ultrasound irradiation in vitro. *Ultrasonics* 2012; 52: 186-191 [PMID: 21906771 DOI: 10.1016/j.ultras.2011.08.002]
- 8 Duarte S, Carle G, Faneca H, de Lima MC, Pierre-fite-Carle V. Suicide gene therapy in cancer: where do we stand now? *Cancer Lett* 2012; 324: 160-170 [PMID: 22634584 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.05.023]
- 9 Boucher PD, Im MM, Freytag SO, Shewach DS. A novel mechanism of synergistic cytotoxicity with 5-fluorocytosine and ganciclovir in double suicide gene therapy. *Cancer Res* 2006; 66: 3230-3237 [PMID: 16540675 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3033]
- 10 Isomoto H, Ohtsuru A, Braiden V, Iwamatsu M, Miki F, Kawashita Y, Mizuta Y, Kaneda Y, Kohno S, Yamashita S. Heat-directed suicide gene therapy mediated by heat shock protein promoter for gastric cancer. *Oncol Rep* 2006; 15: 629-635 [PMID: 16465423]
- 11 Holland EJ. Clinical and immunohistological studies of corneal rejection in the rat penetrating keratoplasty model. *Cornea* 1991; 10: 374-379 [DOI: 10.1097/00003226-199109000-00003]
- 12 Rosen LS. VEGF-targeted therapy: therapeutic potential and recent advances. *Oncologist* 2005; 10: 382-391 [PMID: 15967832 DOI: 10.1634/theoncologist.10-6-382]
- 13 Kurth EG, Peremyslov VV, Prokhnevsky AI, Kasschau KD, Miller M, Carrington JC, Dolja VV. Virus-derived gene expression and RNA interference vector for grapevine. *J Virol* 2012; 86: 6002-6009 [PMID: 22438553]
- 14 Yan SD, Fu J, Soto C, Chen X, Zhu H, Al-Mohanna F, Collison K, Zhu A, Stern E, Saido T, Tohyama M, Ogawa S, Roher A, Stern D. An intracellular protein that binds amyloid-beta peptide and mediates neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Nature* 1997; 389: 689-695 [PMID: 9338779 DOI: 10.1038/39522]
- 15 Wang S, Liu H, Ren L, Pan Y, Zhang Y. Inhibiting colorectal carcinoma growth and metastasis by blocking the expression of VEGF using RNA interference. *Neoplasia* 2008; 10: 399-407 [PMID: 18392139]
- 16 Ting L, Guiying Z, Yongheng C, Yu Xiang C, Jie P. Inhibition of Gastric Carcinoma Growth Mediated by Nanoparticles Delivered Tissue Specific Expres-

sion of yCDglyTK genes. *Cancer Biology&Therapy* 2006; 5: 1683-1690 [DOI: 10.4161/cbt.5.12.3379]
17 Dias S, Hattori K, Zhu Z, Heissig B, Choy M, Lane W, Wu Y, Chadburn A, Hyjek E, Gill M, Hicklin DJ,

Witte L, Moore MA, Rafii S. Autocrine stimulation of VEGFR-2 activates human leukemic cell growth and migration. *J Clin Invest* 2000; 106: 511-521 [PMID: 10953026 DOI: 10.1172/JCI8978]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 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), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/*World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

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

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

LPS通过p38/MAPK调控胆管癌细胞系ICBD的上皮间质转化

李航宇, 李岩, 刘丹, 孙宏治, 刘金钢

■背景资料

在我国,胆管癌是死亡率很高的恶性肿瘤之一,导致患者预后差、死亡率高的主要原因是肿瘤的侵袭转移。上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞失去极性和上皮表型,通过特定程序转化为间质细胞的生物学过程,与恶性肿瘤的浸润转移密切相关。因此研究胆管癌的EMT过程对于改善预后、降低患者死亡率至关重要,并为临床胆管癌的治疗寻找新靶点。

李航宇, 李岩, 刘丹, 刘金钢, 中国医科大学附属盛京医院普通外科 辽宁省沈阳市 110004
孙宏治, 辽宁医学院附属第一医院普通外科 辽宁省锦州市 121001
李航宇, 副教授, 主要从事以肝胆胰为主的消化系统肿瘤及腹壁疝外科的临床和实验室研究。
国家自然科学基金面上资助项目, No. 81071955
辽宁省教育厅科技项目计划基金资助项目, No. L2010634
作者贡献分布: 此课题由李航宇与刘金钢设计; 研究过程由李岩完成; 数据分析由孙宏治完成; 论文书写由刘丹完成。
通讯作者: 刘金钢, 教授, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院普通外科。
liujg@sj-hospital.org
电话: 024-96615-31611
收稿日期: 2013-04-17 修回日期: 2013-06-26
接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

LPS regulates epithelial-mesenchymal transition in cholangiocarcinoma cell line ICBD via the p38/MAPK signaling pathway

Hang-Yu Li, Yan Li, Dan Liu, Hong-Zhi Sun, Jin-Gang Liu

Hang-Yu Li, Yan Li, Dan Liu, Jin-Gang Liu, Department of Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Hong-Zhi Sun, Department of Surgery, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical College, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81071955; the Scientific Research Foundation of Educational Department of Liaoning Province, No. L2010634
Correspondence to: Jin-Gang Liu, Professor, Department of Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. liujg@sj-hospital.org
Received: 2013-04-17 Revised: 2013-06-26
Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of LPS on epithelial-mesenchymal transition (EMT) of cholangiocarcinoma ICBD cells and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: ICBD cells were randomly divided into four groups: a control group, a LPS (final

concentration, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) group, a LPS + siRNA group, and a LPS + SB203580 group. The expression of epithelial cell surface marker E-Cadherin, stromal cell surface marker Vimentin, TLR4 and p38 was examined by real-time RT-PCR and Western blot.

RESULTS: LPS promoted the initiation of EMT of ICBD cells. The expression of TLR4 and p38 significantly increased in the process of EMT of ICBD cells. SiRNA-mediated blockage of TLR4 inhibited the occurrence of EMT and the up-regulation of p38 in ICBD cells. When p38 was blocked by SB-203580, the expression of TLR4 was still up-regulated, but EMT of ICBD cells did not occur compared to the control group.

CONCLUSION: LPS may activate TLR4 and promote EMT of cholangiocarcinoma cells via the p38/MAPK signaling pathway.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Epithelial-mesenchymal transition; Cholangiocarcinoma cells; Lipopolysaccharide; Toll-like receptor 4; P38; P38/MAPK

Li HY, Li Y, Liu D, Sun HZ, Liu JG. LPS regulates epithelial-mesenchymal transition in cholangiocarcinoma cell line ICBD via the p38/MAPK signaling pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2070-2075
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2070.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2070>

摘要

目的: 探讨脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)对胆管癌细胞上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的影响和可能机制。

方法: 将胆管癌ICBD细胞分为4组: 正常对照组、LPS诱导实验组(终浓度10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、LPS+siRNA转染组和LPS+SB-203580诱导实验组。应用Real-time RT-PCR与Western blot法检测上皮细胞表面标志E-钙黏蛋白(E-cadherin)和间质细胞表面标志波形蛋白

■同行评议者

宋振顺, 教授, 西京医院肝胆外科; 康春博, 副主任医师, 北京大学航天临床医院普通外科

(Vimentin)的表达变化以及Toll样受体4(Toll-like receptors 4, TLR4)和p38的表达变化。

结果: LPS促进胆管癌细胞系ICBD的EMT发生; ICB细胞EMT过程伴随TLR4、p38表达增加; 应用siRNA阻断TLR4后, ICB细胞的EMT消失, LPS导致p38的上调表达作用也消失; 应用SB-203580阻断p38后, 与正常对照组相比, TLR4的表达增加, 与LPS诱导实验组相比无明显变化, 但ICBD细胞的EMT消失。

结论: LPS可以激活TLR4, 并通过p38/MAPK促进胆管癌细胞ICBD的上皮间质转化。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 上皮间质转化; 胆管癌细胞; 脂多糖; Toll样受体4; p38; p38/MAPK

核心提示: 本研究证实脂多糖(lipopolysaccharides)能够通过TLR4/p38/MAPK信号通路调控胆管癌细胞上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的发生, 这对胆管癌侵袭和转移机制的研究及治疗具有一定的价值。如果能够使具有间质特性的细胞恢复上皮细胞特性, 就有可能逆转EMT, 阻止癌细胞的侵袭和转移, 这为临床上胆管癌的治疗提供了新的思路。

李航宇, 李岩, 刘丹, 孙宏治, 刘金钢. LPS通过p38/MAPK调控胆管癌细胞系ICBD的上皮间质转化. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2070-2075 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2070.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2070>

0 引言

上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞失去极性和上皮表型, 通过特定程序转化为间质细胞的生物学过程^[1]。EMT的主要分子特征是: 上皮细胞标记物(如细胞角蛋白, cytokeratin; E-钙黏蛋白, E-cadherin)表达下调, 间质表型标志物[如 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)]; 波形蛋白(Vimentin)表达上调, 从而获得迁移与侵袭的能力, 这一过程与恶性肿瘤的浸润转移密切相关^[2]。近年来研究发现在胆管癌中也存在EMT现象^[3], 但目前关于胆管癌中EMT发生的机制尚不明确。

Toll样受体家族(Toll-like receptors, TLRs)是最重要的模式识别受体之一, 通过识别病原微生物的病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)介导免疫反应, 另外, TLRs还能够识别某些内源性配体, 这些配体称

之为损伤相关分子模型(damage-associated molecular patterns, DAMPs)^[4]。在肿瘤的侵袭和转移过程中, 有大量的DAMPs和PAMPs释放。越来越多的证据表明, TLRs通过识别肿瘤组织中的DAMPs和PAMPs参与多种肿瘤的发生和发展^[5]。在肿瘤微环境中, 脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)作为一种PAMPs发挥作用, 最初研究认为是被免疫细胞表面的TLRs识别, 近年来发现肿瘤细胞表面的TLRs也能够识别LPS, 调控肿瘤的生物行为。但在胆管癌中LPS如何调控胆管癌的发生发展尚不清楚。

LPS是革兰氏阴性杆菌外膜的重要组成部分, 作为TLR4的重要配体参与信号的跨膜转导。LPS激活TLRs信号转导通路, 活化下游的多种效应蛋白, 进而激活多种信号通路, 包括MAPK通路、PI3K通路等^[6,7]。p38是丝裂素活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPK)家族的成员之一, 他能感受外界刺激信号, 并将转导至细胞及其核内, 引起细胞的增殖、分化、侵袭和凋亡等细胞生物学反应^[8]。我们的前期实验已证实在胆管癌中TLR4表达水平明显高于癌旁组织, 那么LPS能否通过激活TLR4, 活化p38/MAPK通路, 进而介导胆管癌细胞EMT的发生有待于进一步研究。本研究应用LPS对胆管癌细胞ICBD进行体外干预, 探讨其对胆管癌EMT发生的影响及其机制, 并为临床胆管癌的治疗寻找新的靶点。

1 材料和方法

1.1 材料 人胆管癌细胞系ICBD购自上海艾研生物科技有限公司, LPS购自Sigma公司, p38与p-p38抗体购自Santa Cruz公司(Santa Cruz, CA, USA), E-cadherin、Vimentin抗体购自Abcam公司, HRP标记的羊抗鼠IgG和HRP标记的羊抗兔IgG购自武汉博士德生物有限公司, RNA提取试剂盒购自大连宝生物工程有限公司, RNA PCR Kit购自Promega公司, p38抑制剂SB-203580购自Sigma公司, siRNA由Sigma公司提供。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人胆管癌细胞系ICBD于10%胎牛血清DMEM培养液中, 37 °C, 5%CO₂培养, 2-3 d用0.25%胰酶消化传代。取对数生长期的细胞进行试验。

1.2.2 实验分组: ICB细胞培养方式同前。细胞分成4组: 正常对照组、LPS诱导实验组(终浓度10 μ g/mL)、LPS+siRNA转染组和LPS+SB-203580

■ 研发前沿
胆管癌的侵袭转移机制非常复杂, EMT对胆管癌侵袭转移的机制日益引起人们的关注。对于胆管癌EMT过程的调控是目前研究的热点问题。

■ 相关报道

EMT与恶性肿瘤的浸润转移密切相关, 以往的研究发现在多种肿瘤组织存在EMT现象. Antoon等最新研究发现p38/MAPK通路能够调控多种肿瘤的EMT过程.

表 1 Real-time RT-PCR引物序列

引物名称		扩增片段(bp)
E-cadherin	F: 5'-CCGCCATCGCTTACA-3'	262
	R: 5'-GGCACCTGACCCCTTGTA-3'	
Vimentin	F: 5'-ACAGGCTTTAGCGAGTTATT-3'	296
	R: 5'-AAGAGGCGAACGAGGG-3'	
Toll样受体4	F: 5'-AGCTCTGCCTTCACTAC-3'	191
	R: 5'-GATGATACCAGCACGAC-3'	
p38	F: 5'-GCTGAAGATTCTGGATTTTG-3'	173
	R: 5'-GTTCTTCCAGTCAACAGCTC-3'	
GAPDH	F: 5'-GGATTTGGTCGTATTGGG-3'	312
	R: 5'-TCGCTCCTGGAAGATGG-3'	

诱导实验组.

1.2.3 Western blot检测E-cadherin、Vimentin、TLR4、p38、p-p38蛋白的表达: 按分子克隆方法提取细胞总蛋白, 经Bradford法测定蛋白浓度; 各组取60-100 g总蛋白进行10%SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电泳后转膜, 5%脱脂奶粉于室温封闭1 h, 加入相应一抗, 4 °C孵育过夜, 辣根过氧化物酶二抗(1:3000)于室温孵育2 h, ECL显色后以GAPDH为内参照, 用Image J图像分析软件进行灰度分析.

1.2.4 Real-time RT-PCR检测E-cadherin、Vimentin、TLR4、p38 mRNA的表达: LPS刺激24 h后, 分别收集各组细胞, 提取总RNA, 测定 $A_{260/280}$ 为1.75-1.95. 取2 μ g RNA, 应用逆转录试剂盒按20 μ L逆转录体系合成cDNA. PCR引物由应用软件Prima5.0设计(表1), 由北京鼎国合成. 荧光定量PCR反应体系为25 μ L, 内含500 ng cDNA模板, 终浓度为250 nmol/L的上下游引物及SYBR Green Real-time PCR Master Mix 12.5 μ L. 反应条件为95 °C 60 s; 95 °C 15 s; 退火15 s; 72 °C 45 s, 荧光收集, 40个循环. 每个样本重复3次. 以相对Ct值(即 $2^{-\Delta\Delta Ct}$)表示目的基因的相对表达量, 以空白细胞为对照.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件, 对上述检测结果进行t检验和方差分析, 检验水准 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 LPS可以促进胆管癌细胞系ICBD的EMT发生 Western blot结果显示, 与对照组细胞相比, 经过LPS诱导的胆管癌细胞ICBD中上皮细胞标志物E-cadherin蛋白的表达显著降低, 而间皮细胞的标志物Vimentin蛋白的表达显著升高(图1A).

Real-time RT-PCR结果显示: LPS诱导实验组E-cadherin mRNA的表达显著降低, 而间皮细胞的标志物Vimentin mRNA的表达显著升高(图1B). 以上结果提示: 经过LPS处理后, ICBD细胞中上皮细胞标志物表达逐渐消失, 而间质细胞标志物表达逐渐增加, LPS可以促进ICBD细胞EMT的发生.

2.2 ICBD细胞EMT过程中伴随有TLR4、p-p38表达增加 Western blot结果显示(图2A), 与对照组细胞相比, LPS诱导发生EMT的ICBD细胞中TLR4与p-p38蛋白表达显著增加($P < 0.05$), p38总蛋白的表达无明显变化($P > 0.05$). Real-time PCR结果显示(图2B), TLR4、p38 mRNA水平的表达情况与蛋白水平一致($P < 0.05$).

2.3 LPS通过激活TLR4/p38/MAPK通路调控胆管癌ICBD细胞EMT 如图3所示, 应用siRNA阻断TLR4后, LPS刺激ICBD细胞, 与对照组相比, E-cadherin、Vimentin以及p-p38的表达无明显变化, 说明没有发生EMT. 经过SB-203580预处理后的ICBD细胞, 与对照组相比, 在LPS的作用下TLR4的表达仍上调, 但E-cadherin和Vimentin的表达无明显变化, 也没有发生EMT. 此结果说明, LPS促进ICBD细胞EMT是通过TLR4和p38来实现的, 而且p38位于TLR4的下游, 可以通过阻断TLR4抑制LPS对p38表达的影响.

3 讨论

EMT是指某些生理或者病理刺激下上皮细胞失去其上皮特征, 获得间质特性的过程, 如组织修复, 伤口愈合和器官发育等生理过程^[9,10], 而病理刺激包括组织纤维化以及肿瘤发生发展的过程, 是导致肿瘤发生侵袭转移的重要机制之一^[11,12]. 肿瘤细胞发生EMT后, 最重要的标志性变化是

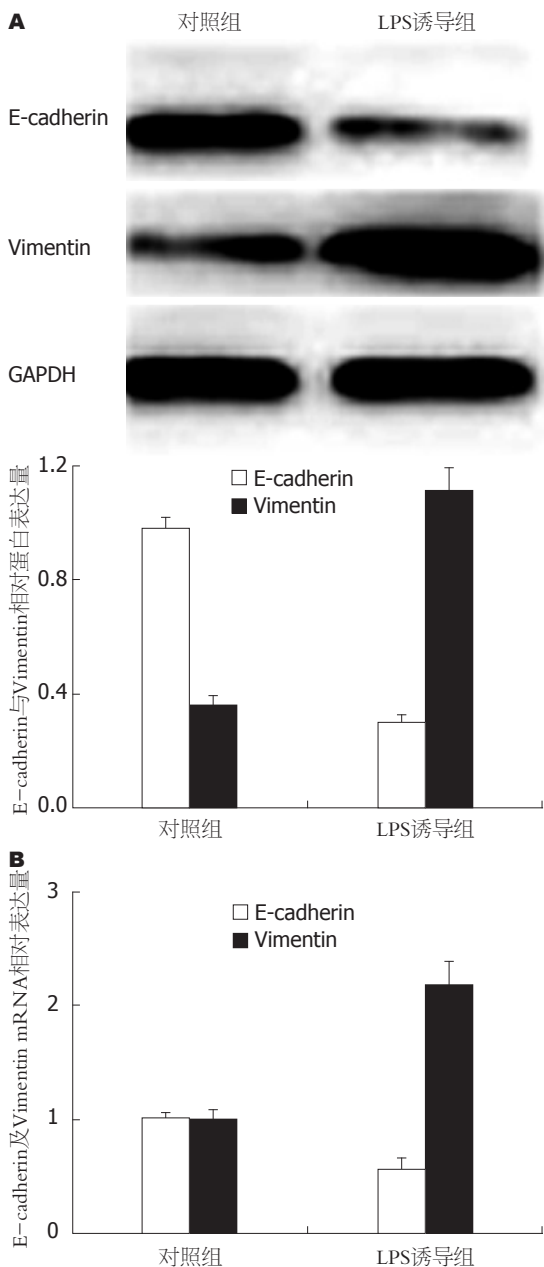


图 1 对照组与LPS诱导组E-cadherin及Vimentin的表达变化. A: Western blot检测E-cadherin及Vimentin蛋白表达变化; B: Real-time RT-PCR检测E-cadherin及Vimentin mRNA表达的变化. LPS: 脂多糖.

上皮细胞标志物E-cadherin的缺失, 这也是上皮肿瘤细胞侵袭的前提条件, 同时也伴有间质细胞表型Vimentin表达的上调^[13], 因此可以通过检测这两类细胞表面的特异性标志物来鉴定EMT的发生.

胆管癌的发生发展过程极其复杂, 一般认为对胆道的长期炎症刺激导致胆管壁慢性增生性炎症, 继而引起胆管黏膜上皮的不典型增生, 这种不典型增生是胆管癌的癌前病变, 所以胆管癌多伴有胆道感染, 胆道感染与其解剖学位

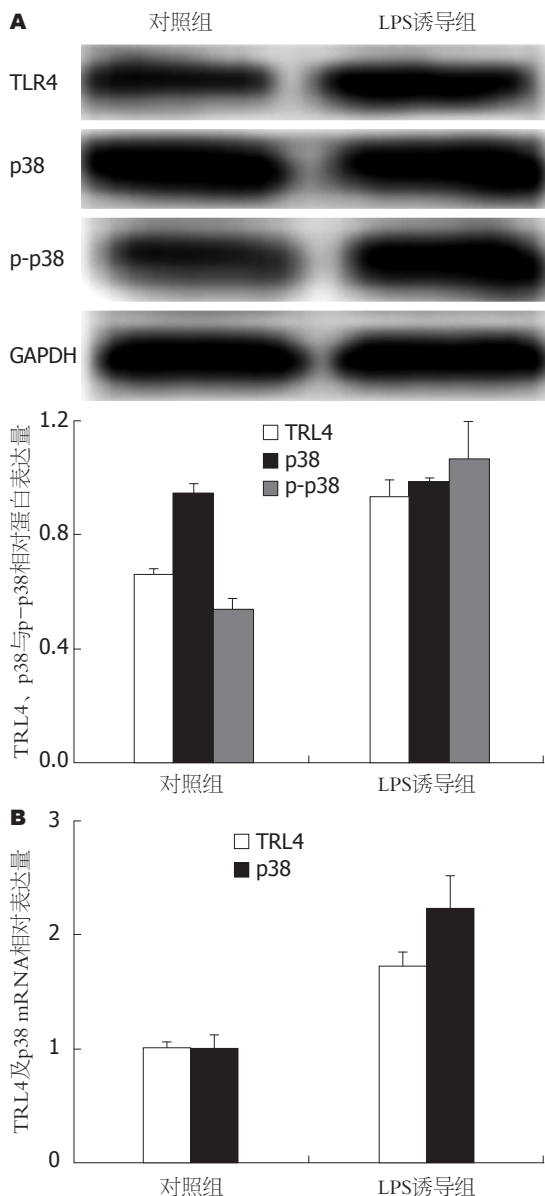


图 2 对照组与LPS诱导组TLR4、p38的表达变化. A: Western blot检测TLR4、p38及p-p38蛋白表达变化; B: Real-time RT-PCR检测TLR4及p38 mRNA表达的变化. TLR4: Toll样受体4; LPS: 脂多糖.

置有关, 细菌经胆胰壶腹逆行进入胆道, 主要以革兰阴性菌感染为主. LPS即革兰阴性菌内毒素(endotoxin), 是革兰阴性细菌的细胞壁组成成分, 具有广泛的生物学活性. 那么, 在胆管癌细胞的微环境中存在LPS, 并可能对胆管癌的发生发展起重要作用. 我们的实验发现, 在LPS的刺激下胆管癌细胞ICBD上皮细胞标志E-cadherin消失, 间质细胞标志Vimentin的表达上调, 使其获得间质化表型, 也就说胆管癌细胞ICBD在LPS的诱导下发生EMT.

LPS是通过何种方式调控胆管癌细胞EMT发生的呢? 以往的研究发现, p38/MAPK通路能

■ 创新盘点
本研究应用脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)对胆管癌细胞ICBD进行体外干预, 探讨LPS对胆管癌细胞上皮间质转化的影响和可能机制, 旨在为将来组织水平研究胆管癌的浸润转移机制提供理论基础, 并为胆管癌的治疗打开一个新的思路. 截至目前, 有关EMT在胆管癌浸润转移中的研究鲜见报道.

■应用要点

本研究结果表明LPS促进胆管癌细胞系ICBD的EMT发生; LPS激活TLR4, 通过p38/MAPK促进胆管癌细胞ICBD的EMT过程. 这对胆管癌浸润转移机制的阐明和治疗提供理论基础.

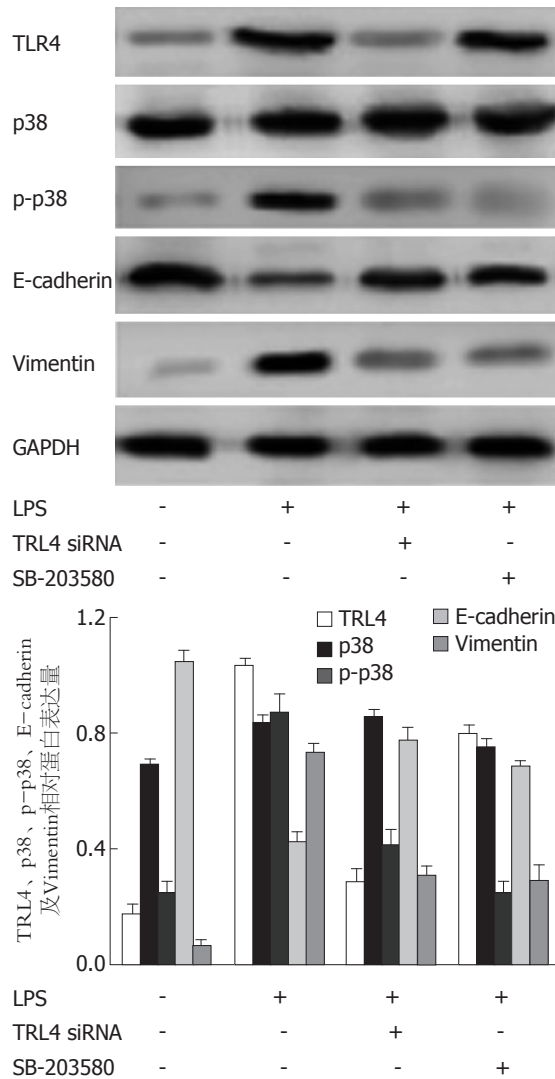


图3 TLR4 siRNA及阻断p-p38后对LPS诱导的EMT的影响. TLR4: Toll样受体4; EMT: 上皮间质转化; LPS: 脂多糖.

够调控多种肿瘤的EMT发生^[14]. MAPK是细胞内重要的信号转导通路之一, 其信号转导异常可导致恶性肿瘤快速增殖、无限生长, 并参与调控肿瘤细胞的基因表达、分化、凋亡、侵袭和转移等生物学效应^[15]. p38是MAPK家族成员之一, 研究发现, 在肿瘤细胞中细胞外多种应激如低氧、一些促炎细胞因子(如肿瘤坏死因子- α 、白介素-6)、脂多糖和革兰氏阳性菌的细胞壁成分等均可激活p38/MAPK通路^[16,17]. TLRs属于I型跨膜受体, 它能够感受肿瘤微环境的改变, 将信号转导至细胞内, 启动一系列免疫反应, 进而促进肿瘤的增殖、侵袭等. LPS作为TLR4的一种主要配体, 能够激活TLR4信号转导通路, 导致下游的多种效应蛋白表达上调, 进而活化MAPK通路, 调控肿瘤的发生发展. 我们通过Western blot与Real-time RT-PCR法证实, 在LPS诱导

ICBD细胞EMT的同时, TLR4、p38的表达明显上调, 说明TLR4、p38可能参与了LPS诱导胆管癌细胞EMT的过程. 进一步的阻断实验发现, 阻断TLR4, EMT消失, p38的表达上调消失, 说明LPS是通过TLR4调控胆管癌细胞的EMT; 阻断p38, EMT消失, 与对照组相比, TLR4的表达仍增加, 说明LPS通过TLR4和p38调控胆管癌细胞的EMT, 而且p38位于TLR4的下游. 该结果提示LPS诱导胆管癌细胞EMT改变是通过TLR4/p38/MAPK发挥作用.

总之, 我们的实验证实了LPS能够诱导胆管癌细胞EMT的发生, 这一过程是通TLR4/p38/MAPK信号通路调控, 这对胆管癌侵袭和转移机制的研究及治疗具有一定的价值. 如果能够使具有间质特性的细胞恢复上皮细胞特性, 就有可能逆转EMT, 阻止细胞的侵袭和转移, 这为临床上胆管癌的治疗提供了新的思路.

4 参考文献

- Gheldof A, Berx G. Cadherins and epithelial-to-mesenchymal transition. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2013; 116: 317-336 [PMID: 23481201 DOI: 10.1016/B978-0-12-394311-8.00014-5]
- Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. *Curr Opin Cell Biol* 2003; 15: 740-746 [PMID: 14644200 DOI: 10.1016/j.jbbr.2011.03.031]
- Araki K, Shimura T, Suzuki H, Tsutsumi S, Wada W, Yajima T, Kobayahi T, Kubo N, Kuwano H. E/N-cadherin switch mediates cancer progression via TGF- β -induced epithelial-to-mesenchymal transition in extrahepatic cholangiocarcinoma. *Br J Cancer* 2011; 105: 1885-1893 [PMID: 22068819 DOI: 10.1038/bjc.2011.452]
- Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol* 2005; 17: 1-14 [PMID: 15585605 DOI: 10.1093/intimm/dxh186]
- Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Toll-like receptors and cancer. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 57-63 [PMID: 19052556 DOI: 10.1038/nrc2541]
- Sato Y, Goto Y, Narita N, Hoon DS. Cancer Cells Expressing Toll-like Receptors and the Tumor Microenvironment. *Cancer Microenviron* 2009; 2 Suppl 1: 205-214 [PMID: 19685283 DOI: 10.1007/s12307-009-0022-y]
- Krishnan J, Selvarajoo K, Tsuchiya M, Lee G, Choi S. Toll-like receptor signal transduction. *Exp Mol Med* 2007; 39: 421-438 [PMID: 17934330 DOI: 10.1038/emmm.2007.47]
- 邱建武, 郭薇, 申丽. p38MAPK在肝细胞癌中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 503-509
- Klymkowsky MW, Savagner P. Epithelial-mesenchymal transition: a cancer researcher's conceptual friend and foe. *Am J Pathol* 2009; 174: 1588-1593 [PMID: 19342369 DOI: 10.2353/ajpath.2009.080545]
- 张志发, 秦仁义, 朱峰, 王敏, 李旭, 石程剑. TGF- β 1诱导的上皮间质转化对人胆囊癌细胞系GBC-SD中侧群细胞表达的影响. *世界华人消化杂志* 2011; 19:

- 1680-1685
- 11 Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119: 1420-1428 [PMID: 19487818 DOI: 10.1172/JCI39104]
- 12 Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009; 139: 871-890 [PMID: 19945376 DOI: 10.1016/j.cell.2009.11.007]
- 13 Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest* 2009; 119: 1429-1437 [PMID: 19487819 DOI: 10.1172/JCI36183]
- 14 Antoon JW, Nitzschke AM, Martin EC, Rhodes LV, Nam S, Wadsworth S, Salvo VA, Elliott S, Collins-Burow B, Nephew KP, Burow ME. Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase alters microRNA expression and reverses epithelial-to-mesenchymal transition. *Int J Oncol* 2013; 42: 1139-1150 [PMID: 23403951 DOI: 10.3892/ijo.2013.1814]
- 15 Lawrence MC, Jivan A, Shao C, Duan L, Goad D, Zaganjor E, Osborne J, McGlynn K, Stippec S, Earnest S, Chen W, Cobb MH. The roles of MAPKs in disease. *Cell Res* 2008; 18: 436-442 [PMID: 18347614 DOI: 10.1038/cr.2008.37]
- 16 Kiemer AK, Weber NC, Fürst R, Bildner N, Kuhlhanek-Heinze S, Vollmar AM. Inhibition of p38 MAPK activation via induction of MKP-1: atrial natriuretic peptide reduces TNF-alpha-induced actin polymerization and endothelial permeability. *Circ Res* 2002; 90: 874-881 [PMID: 11988488 DOI: 10.1161/01.RES.0000017068.58856.F3]
- 17 Jiang Y, Gram H, Zhao M, New L, Gu J, Feng L, Di Padova F, Ulevitch RJ, Han J. Characterization of the structure and function of the fourth member of p38 group mitogen-activated protein kinases, p38delta. *J Biol Chem* 1997; 272: 30122-30128 [PMID: 9374491 DOI: 10.1074/jbc.272.48.30122]

■同行评价

本课题设计合理, 研究过程严谨, 数据分析方法正确, 立题新颖, 具有一定的科研价值, 为胆管癌的临床治疗提供了一个新的思路。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min) ÷ E%(仪器效率) ÷ 60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}¹, V_{max}不能写Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et Arn. var. glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中表明取代位的元素、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}, V_d, 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.

降逆汤治疗复发反流性食管炎的临床疗效

陈昱倩, 杨璐, 王光铭, 刘万里

■背景资料

反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)在西方国家较常见,随着中国人民生活条件的改变,RE在中国的发病率呈上升趋势。RE可治愈,但容易复发,严重影响患者的生活质量,且反复发作可并发严重并发症,如食管溃疡出血、食管狭窄、Barrett食管,甚至食管癌。

陈昱倩, 杨璐, 王光铭, 刘万里, 南京市中西医结合医院消化内科 江苏省南京市 210014

陈昱倩, 主治医师, 讲师, 主要从事反流性食管炎的诊治及内镜下消化系早癌防治的研究。

作者贡献分布: 此课题由陈昱倩与杨璐设计; 研究过程由陈昱倩与王光铭操作完成; 数据分析由陈昱倩与杨璐完成; 本论文写作由陈昱倩、杨璐及王光铭完成, 刘万里拟定降逆汤组方, 协助课题设计, 修改论文并最终审定论文。

通讯作者: 刘万里, 副教授, 210014, 江苏省南京市玄武区孝陵卫179号, 南京市中西医结合医院消化内科。liutianwu2001@163.com
电话: 025-84446038-8322

收稿日期: 2013-05-05 修回日期: 2013-05-29

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Efficacy of Jiangni Decoction in treatment of recurrent reflux esophagitis

Yu-Qian Chen, Lu Yang, Guang-Ming Wang, Wan-Li Liu

Yu-Qian Chen, Lu Yang, Guang-Ming Wang, Wan-Li Liu, Department of Gastroenterology, Nanjing Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanjing 210014, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Wan-Li Liu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Nanjing Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, 179 Xiaolingwei, Xuanwu District, Nanjing 210014, Jiangsu Province, China. liutianwu2001@163.com

Received: 2013-05-05 Revised: 2013-05-29

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To evaluate the clinical efficacy of Jiangni Decoction in treatment of recurrent reflux esophagitis (RE).

METHODS: Ninety patients with recurrent RE were randomly divided into three groups: a Jiangni Decoction group, an omeprazole group, and a Jiangni Decoction plus omeprazole group. Overall response and endoscopic response were observed 8 wk after treatment, and relapse at 6 mo after drug withdrawal was also recorded.

RESULTS: (1) Overall response: Overall response was significantly higher in the Jiangni Decoction plus omeprazole group than in the

omeprazole group and Jiangni Decoction group (96.7% vs 90.0%, 86.7%, both $P < 0.05$), but showed no significant difference between the omeprazole group and Jiangni Decoction group ($P > 0.05$); (2) Endoscopic response: In the Jiangni Decoction group, 8 patients were cured, 12 patients showed significant response, 5 patients showed no response, and the total response rate was 83.3%. In the Jiangni Decoction plus omeprazole group, 12 patients were cured, 10 patients showed significant response, 3 patients showed no response, and the total response rate was 90.0%. In the omeprazole group, 10 patients were cured, 9 patients showed significant response, 4 patients showed no response, and the total response rate was 86.7%. There was no significant difference in the total endoscopic response rate among the three groups ($P > 0.05$); (3) Relapse: The number of patients developing relapse at 6 mo after drug withdrawal was 4 (15.4%) in the Jiangni Decoction group, 4 (13.8%) in the Jiangni Decoction plus omeprazole group, and 12 (44.4%) in the omeprazole group. The relapse rate was significantly higher in the omeprazole group than in the Jiangni Decoction plus omeprazole group and Jiangni Decoction group ($P < 0.05$), but showed no significant difference between the latter two groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Jiangni Decoction has similar effect to omeprazole in the treatment of RE in terms of overall response and endoscopic response. Jiangni Decoction plus omeprazole can not only improve clinical efficacy but also reduce relapse in patients with recurrent RE.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Reflux esophagitis; Jiangni Decoction; Efficacy; Relapse rate

Chen YQ, Yang L, Wang GM, Liu WL. Efficacy of Jiangni Decoction in treatment of recurrent reflux esophagitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2076-2080
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2076.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2076>

■同行评议者
邵先玉, 教授, 泰山医学院附属医院消化内科

摘要

目的: 运用降逆汤治疗复发反流性食管炎(reflux esophagitis, RE), 评价其临床疗效及远期疗效。

方法: 将90例治疗后复发的RE患者随机分为3组, A组给予降逆汤治疗, B组给予降逆汤联合奥美拉唑治疗, 对照组给予奥美拉唑治疗。观察3组治疗8 wk后综合疗效、内镜疗效以及停药6 mo后复发情况。

结果: (1)综合疗效: A组、B组、对照组总有效率分别为86.7%、96.7%、90.0%, A组、对照组差异无统计学意义($P>0.05$), B组与A组、对照组差异有统计学意义($P<0.05$); (2)内镜疗效: A组治愈8例, 显效5例, 有效12例, 无效5例, 总有效率为83.3%; B组治愈12例, 显效10例, 有效5例, 无效3例, 总有效率为90.0%; 对照组治愈10例, 显效9例, 有效7例, 无效4例, 总有效率为86.7%, 3组比较无显著差异($P>0.05$); (3)远期疗效: 停药6 mo后, A组有效病例中有4例复发, B组有效病例中有4例复发, 对照组有效病例中有12例复发, 3组的复发率分别为15.4%、13.8%、44.4%, 与对照组比较, A组与对照组有显著差异($P<0.05$), B组与对照组有显著差异($P<0.05$), A、B组两组间差异性比较无统计学意义($P>0.05$)。

结论: 降逆汤治疗复发反流性食管炎与奥美拉唑治疗具有相似的好转率, 并具有更低的半年复发率。降逆汤联合奥美拉唑治疗不仅能够提高复发反流性食管炎的临床疗效, 还能降低复发反流性食管炎患者的再次复发率。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 反流性食管炎; 降逆汤; 临床疗效; 复发率

核心提示: 降逆汤能够有效修复食道黏膜, 促进食管蠕动, 增强抗反流机制, 符合中医辨证论治及治病必求于本的要求, 明显改善了不适症状, 若联合质子泵抑制剂(proton pump inhibitors)使用, 则具有更好的临床疗效和远期疗效。

陈昱倩, 杨璐, 王光铭, 刘万里. 降逆汤治疗复发反流性食管炎的临床疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2076-2080
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2076.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2076>

0 引言

反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)是由胃

和/或十二指肠内容物, 特别是酸性胃液和胆汁反流至食管, 引起食管黏膜炎症、糜烂、溃疡所致^[1]。RE在西方国家较常见, 随着中国人民生活条件的改变, RE在中国的发病率呈上升趋势^[2]。RE可治愈, 但容易复发, 严重影响患者的生活质量, 且反复发作可并发严重并发症, 如食管溃疡出血、食管狭窄、Barrett食管, 甚至食管癌。目前, 质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)是公认的治疗RE的有效药物, 其治愈率可达到80%-90%, 但停药半年后其复发率达到80%^[3]。若使用PPI维持治疗, 存在治疗费用高, 不良反应多的问题。近年来, 一些学者在中医药治疗RE方面进行了探索、研究, 发现其在改善RE患者症状、抑制胃食管反流、促进食管受损黏膜修复等方面显示了良好的疗效, 使运用中医药治疗RE的研究有较大进展^[4], 具有广阔的应用前景。在前期研究中我们亦发现^[5], 中西医结合治疗RE不仅能改善患者的不适症状, 而且较单一使用中药或西药具有较低的复发率。因此, 本研究我们将继续采用我院治疗RE协定方-降逆汤联合奥美拉唑对复发RE的干预作用及远期疗效进行临床观察, 并探讨其治疗机制。

1 材料和方法

1.1 材料 来源于2010-04/2012-09南京市中西医结合医院消化内科门诊。符合西医诊断标准反流性食管炎诊断纳入标准, 且中医辨证属肝胃郁热证, 经西医规范治疗8-12 wk停药后复发的患者90例, 分为A组、B组、对照组各30例。A组男10例, 女20例, 平均年龄52.86岁±11.37岁, 平均病程13.12 mo±11.90 mo; B组男11例, 女19例, 平均年龄51.28岁±12.08岁, 平均病程12.26 mo±10.82 mo; 对照组男12例, 女18例, 平均年龄52.82岁±12.47岁, 平均病程3.14 mo±11.91 mo。各组患者性别、年龄、病程无显著差异($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 西医诊断标准: 根据中华医学会消化内镜学分会制定的《反流性食管炎诊断及治疗指南(2003年)》, 分级 I a-III级(0级: 正常(可有组织学改变); I a点状或条状发红、糜烂<2处; I b点状或条状发红、糜烂≥2处; II级: 有条状发红、糜烂, 并有融合, 但并非全周性, 融合<75%; III级: 病变广泛, 发红、糜烂融合呈全周性, 融合≥75%)。同时具有以下反流性食管炎典型症状之

■ 研发前沿

目前, PPI是公认的治疗RE的有效药物, 其治愈率可达到80%-90%, 但停药半年后其复发率达到80%。近年来, 一些学者发现中医药在改善RE患者症状、抑制胃食管反流、促进食管受损黏膜修复等方面显示了良好的疗效, 使运用中医药治疗RE的研究有较大进展, 具有广阔的应用前景。

■ 创新盘点

利用中药疗效单一或联合西医治疗RE, 提高治疗效果, 降低复发率, 同时降低治疗成本, 减少长期服药的不良反应, 提高患者治疗依从性。

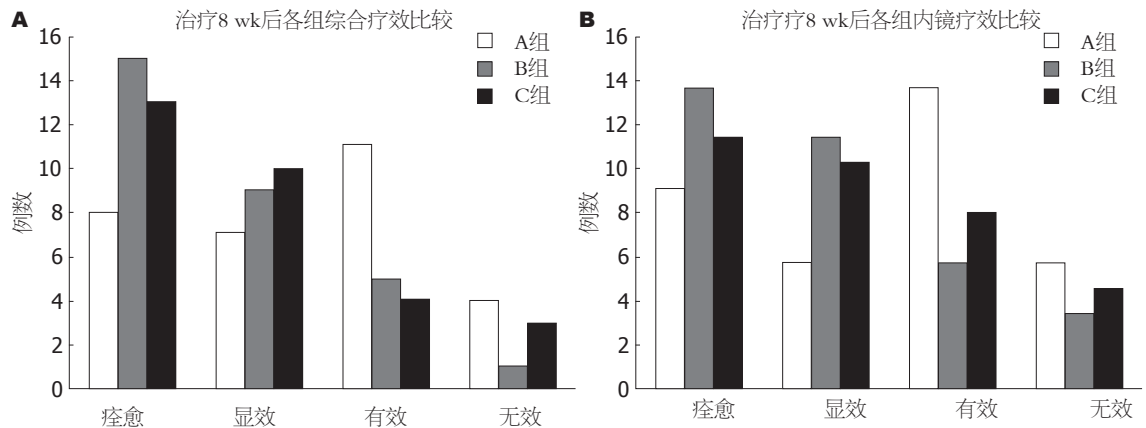


图 1 降逆汤、降逆汤联合奥美拉唑、奥美拉唑治疗反流性食管炎疗效的比较. A: 综合疗效; B: 内镜疗效. A组: 降逆汤; B组: 降逆汤联合奥美拉唑; C组: 奥美拉唑.

一: 烧心、反酸、胸骨后灼痛等。

1.2.2 中医诊断标准: 参照《国家中医病证分类与代码》和《中医内科学》(王永炎主编). 肝胃郁热证主症为胃灼热、泛酸; 次症包括胸痛连胁、胃脘灼痛、脘腹胀满、嗝气或反胃、心烦易怒、饥饿感6项; 舌脉为舌红、苔黄, 脉弦数. 主症必备, 次症具备2项以上, 结合舌脉即可诊断. 纳入标准: 符合反流性食管炎诊断标准及中医胃食管反流病肝胃郁热证; 经西医规范治疗8-12 wk停药后复发; 年龄在18-75岁之间, 性别不限; 受试者知情同意。

1.2.3 排除标准: 妊娠和哺乳期妇女; 消化性溃疡; 癌性溃疡和未能排除癌变可能的溃疡(中重度异常增生者要排除); 有明确的降低胃酸手术史或食管或胃手术史; 食管或胃底静脉曲张; 卓-艾综合征; 有严重并发症, 如食管狭窄或Barrett's食管; 有消化系统其他严重疾病, 如克罗恩病、溃疡性结肠炎等; 有严重的心、肝、肺、肾、血液、内分泌系统疾病; 入选前4 wk内服用其他影响胃肠道功能的药物; 需长期服用降低食管下括约肌(low esophageal sphincter, LES)张力或影响胃肠动力的药物。

1.2.4 治疗方案: A组: 降逆汤(黄连3 g、吴茱萸1 g、竹茹10 g、炒枳壳10 g、煅乌贼骨15 g、大贝母12 g、白芨10 g)水煎服, 2次/d, 空腹服用; B组: 降逆汤2次/d, 奥美拉唑20 mg, 2次/d, 空腹服用; 对照组: 奥美拉唑20 mg 2次/d, 空腹服用, 疗程为8 wk。

1.2.5 疗效评定标准: (1)RDQ评分: 参考中国胃食管反流病研究协作组的《反流性疾病问卷在胃食管反流病诊断中的价值》^[6]; (2)发作频率评分: 按烧心、胸骨后疼痛、泛酸、反食等

4种为统计症状, 无症状为0分, 症状出现频度< 1 d/wk、1、2-3、4-5以及6-7 d/wk分别记为1、2、3、4及5分; (3)按症状程度评分: 症状不明显, 在医师提醒下发现为1分; 症状明显, 影响日常生活, 偶尔服药为3分; 症状非常明显, 影响日常生活, 需长期服药治疗为5分. 症状介于1分和3分之间为2分, 介于3分和5分之间为4分. 症状改善率 = (治疗前积分-治疗后积分)/治疗前积分 × 100%; 症状消失为痊愈; 症状改善 ≥ 80%为显效; 50% ≤ 症状改善 < 80%为有效; 症状改善 < 50%为无效; 症状改善率负值时为恶化; (4)综合疗效根据痊愈、显效和有效病例数之和计算总有效率; (5)内镜疗效: 痊愈: 病变完全消失; 显效: 分级减轻2个级别; 有效: 分级有所减轻, 但未达2个级别; 无效: 镜下无改善或分级加重. 根据痊愈、显效和有效例数之和计算总有效率; (6)远期疗效: RDQ评分较治疗前降低 ≤ 50%判为复发; RDQ评分较治疗前降低 > 50%判为未复发。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件包进行统计处理, 计量资料采用配对t检验或方差分析, 等级资料采用秩和检验. 3组率比较用 χ^2 检验, 两组率比较必要时选用四格表的Fisher精确概率法; $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 综合疗效 A组、B组与对照组总有效率分别为86.7%、96.7%、90.0%. 经秩和检验, A组、对照组差异无统计学意义($P > 0.05$), B组与A组、对照组差异有统计学意义($P < 0.05$, 图1)。

2.2 内镜疗效 A组、B组与对照组总有效率分别为83.3%、90.0%、86.7%, 3组间差异无统计学意义($P > 0.05$, 图1)。

表 1 停药6 mo后各组复发率比较 (n)

分组	有效	复发	未复发	复发率(%)
降逆汤	26	4	22	15.4
降逆汤联合奥美拉唑	29	4	25	13.8
奥美拉唑	27	12	15	44.4

2.3 远期疗效 停药6 mo后A组、B组及对照组复发率分别为15.4%、13.8%、44.4%(表1)。A组与对照组比较有统计学意义($P<0.05$); B组与对照组比较有统计学意义($P<0.05$); A、B两组间比较无统计学意义($P>0.05$, 表2)。

3 讨论

反流性食管炎可归于中医学中的“胸痛”、“吐酸”、“胃脘痛”、“噎膈”等病证范畴。目前对于本病还没有一个统一、公认的中医辨证分型方法和标准, 临床常见证型分肝胃郁热、肝胃不和、痰气郁阻、脾胃虚弱、脾胃湿热、胃阴不足6型即可覆盖临床96.2%的病例^[7], 其中以肝胃郁热、肝胃不和证所占比例最大。我们认为, 肝胃不和及肝胃郁热两型只是疾病发展过程中的不同阶段而已, 实属同一病理机制。前者一般认为是疾病发展的早期阶段。两者在症状表现及治疗上亦有相通之处, 故二者在临床上界限不易分清。两者共同的病机在于肝气不疏, 横逆犯胃, 胃气不降, 上逆为病, 久则气机郁滞, 郁而化热, 所谓“气有余便是火”, 出现“郁热”表现, 此所谓“肝胃郁热”证。两型都表明肝气不疏, 横逆犯胃, 胃失和降, 胃气上逆为RE的主要病机, 治疗当主要以疏肝和胃, 理气通降为法治疗。降逆汤系我院治疗反流性食管炎的经验方。方中黄连苦寒, 泻心清火, 又善清胃降逆, 制酸止呕; 吴茱萸辛热, 入肝经, 调和肝胃, 降逆止呕, 行气解郁, 又能引热下行, 以为反佐。一寒一热, 寒者正治, 热者从治。竹茹清热降逆止呕, 枳壳疏肝理气, 升降相因有助于气血运行。乌贼骨、大贝母制酸和胃止痛; 白芨降逆止呕, 收敛消肿。全方有疏肝理气、和胃降逆、辛开苦降、抑酸止痛之功。

反流性食管炎发病机制目前国内研究已比较完善, 主要与抗反流屏障功能降低、食管酸廓清能力降低、食管黏膜屏障破坏、胃十二指肠功能异常等有关。因此, 治疗原则以抑制胃酸分泌、抗反流以及增强食管防御功能为主。

表 2 停药6 mo后各组复发率差异性比较

分组	有效(n)	未复发n(%)	复发n(%)
降逆汤	26 ^a	22(84.6) ^a	4(15.4)
降逆汤联合奥美拉唑	29 ^c	25(86.2) ^c	4(13.8)
奥美拉唑	27	15(55.6)	12(44.4)

^a $P<0.05$ vs 奥美拉唑; ^c $P<0.05$ vs 奥美拉唑。

现代药理研究表明, 黄连具有抗菌、抗病毒及解痉、调整胃肠平滑肌收缩等功能^[8], 吴茱萸中所含的吴茱萸苦素为苦味质, 有苦味健胃作用, 其所含的挥发油又具有芳香健胃作用^[9,10]。乌贼骨所含的胶质成分可在糜烂或溃疡面形成保护膜, 有利于食管黏膜的修复和溃疡面的愈合^[11], 白芨降逆止呕, 收敛消肿, 抑菌止血, 具有高度黏性, 含有胶体状成分, 能在受损黏膜表面形成一层保护膜, 可防护黏膜受损^[12,13], 与乌贼骨配合, 可使药液黏滞, 覆于黏膜, 增强屏障作用^[14,15]。说明本方可以通过保护食道黏膜, 促进受损食道黏膜修复, 调整胃肠功能, 防止反流等多种途径来发挥治疗作用。我们观察发现, 经降逆汤治疗复发性RE肝胃郁热证的患者, 综合疗效总有效率约86.7%, 与对照组相比, 无明显差异($P>0.05$)。若运用降逆汤联合奥美拉唑治疗, 综合疗效总有效率可达96.7%, 与对照组相比, 有显著差异($P<0.05$), 而3组间内镜疗效比较无显著差异($P>0.05$)。停药6 mo后, 降逆汤组以及降逆汤联合奥美拉唑组复发率均明显低于单独使用奥美拉唑组, 经统计比较有显著差异($P<0.05$), 但两组间比较无统计学差异($P>0.05$)。

总之, 降逆汤能够有效修复食道黏膜, 促进食管蠕动, 增强抗反流机制, 符合中医辨证论治及治病必求于本的要求, 明显改善了不适症状, 其治疗复发反流性食管炎与奥美拉唑治疗具有相似的好转率, 并具有更低的半年复发率。若联合奥美拉唑使用, 不仅能够提高复发反流性食管炎的临床疗效, 还能降低复发反流性食管炎患者的再次复发率。

4 参考文献

- 中华医学会消化内镜学会. 反流性食管炎诊断及治疗指南. 中华消化内镜杂志 2004; 21: 221
- 郭文娟, 张艳丽. 食管反流病的诊治. 中国临床医生 2011; 39: 23-26
- 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组. 食管反流病治疗共识意见. 现代消化及介入诊疗 2008; 13:

■应用要点

利用中药的疗效单一或联合西药治疗RE, 提高治疗效果, 降低复发率。随着人民生活水平的不断提高, 现代生活节奏加快, 饮食结构的改变, RE在中国的发病率呈上升趋势。利用中药的疗效单一或联合西药治疗RE, 疗效可靠, 复发率低, 应用简单, 有良好的临床应用前景。

■同行评价

降逆汤治疗复发反流性食管炎临床疗效及远期疗效观察有较好的临床指导意义。

- 71-72
- 4 王学, 王金玲. 自拟通降安胃汤治疗反流性食管炎50例. 中国中医药信息杂志 2010; 17: 63-64
- 5 陈昱倩, 李学良, 刘万里. 降逆汤治疗反流性食管炎150例. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2664-2667
- 6 中国胃食管反流病研究协作组. 反流性疾病问卷在胃食管反流病诊断中的价值. 中华消化杂志 2003; 23: 651-654
- 7 上杉宁幸, 中村真一. 逆流性食管炎の病理诊断. 胃と肠 1999; 34: 1001-1007
- 8 王捷虹, 秋增超. 对药在治疗脘腹痛中的运用. 河南中医 2010; 30: 88-89
- 9 郭惠, 杨云云, 王昌利. 吴茱萸碱药理研究进展. 陕西中医 2010; 31: 1685-1686
- 10 姚东英. 和胃降逆法治疗反流性食管炎60例. 浙江中医杂志 2009; 44: 493-493
- 11 朱炳良. 海螵蛸大贝母治疗反流性食管炎32例. 世界华人消化杂志 2001; 9: 1098-1099
- 12 王磊, 杨立娟. 白芨治疗胃溃疡临床应用与进展. 黑龙江医药 2010; 23: 789-790
- 13 陈培琼, 陈慧, 黄德平. 乌贝散加味联合西沙必利治疗反流性食管炎. 广东医学 2000; 21: 435-436
- 14 国家中医药管理局. 中华本草. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 2386
- 15 黄泰康. 常用中药成分与药理手册. 第1版. 北京: 中国医药科技出版社, 1994: 879

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 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.

酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白的表达与食管鳞状细胞癌患者临床特征的关系

高杨, 李岩, 周海英, 闫继东, 吴爱萍

高杨, 李岩, 周海英, 闫继东, 河北唐山工人医院胸外科 河北省唐山市 063000
吴爱萍, 河北联合大学病理教研室 河北省唐山市 063000
高杨, 副主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的外科治疗与研究。
作者贡献分布: 此课题由高杨设计; 研究过程由高杨、吴爱萍、李岩及周海英实施完成; 数据分析由高杨、周海英及李岩完成; 本论文写作由高杨、吴爱萍、李岩、周海英及闫继东共同完成。
通讯作者: 吴爱萍, 讲师, 063000, 河北唐山市路北区建设南路57号, 河北联合大学病理教研室。chan99@163.com
收稿日期: 2013-06-20 修回日期: 2013-07-06
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-07-28

Correlation between SPARC expression and clinical characteristics of esophageal squamous cell carcinoma

Yang Gao, Yan Li, Hai-Ying Zhou, Ji-Dong Yan, Ai-Ping Wu

Yang Gao, Yan Li, Hai-Ying Zhou, Ji-Dong Yan, Tangshan Worker's Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China
Ai-Ping Wu, Department of Pathology, Hebei United University, Tangshan 063000, Hebei Province, China
Correspondence to: Ai-Ping Wu, Lecturer, Department of Pathology, Hebei United University, 57 Jianshe South Road, Lubei District, Tangshan 063000, Hebei Province, China. chan99@163.com
Received: 2013-06-20 Revised: 2013-07-06
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To assess the correlation between the expression of secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) and clinical characteristics of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC).

METHODS: Ninety patients with ESCC were included in this study. Immunohistochemistry was performed to detect the expression of SPARC in ESCC specimens and tumor-adjacent tissue specimens collected from the above patients. Correlation between SPARC expression and clinical characteristics of patients with ESCC was then analyzed.

RESULTS: Of 90 ESCC specimens, 73 were posi-

tive for SPARC expression, and 17 were negative. In contrast, SPARC expression was not detected in all tumor-adjacent tissue samples. The positive rate of SPARC expression was significantly higher in ESCC than in tumor-adjacent tissue ($P < 0.05$). Positive SPARC signal was located mainly in the intercellular space (65 cases) and occasionally in the cytoplasm (8 cases). SPARC expression in tumor tissues was closely related to tumor stage and metastasis (both $P < 0.05$).

CONCLUSION: SPARC expression can be used as a predictor of ESCC stage and prognosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Secreted protein acidic and rich in cysteine; Immunohistochemistry; Survival

Gao Y, Li Y, Zhou HY, Yan JD, Wu AP. Correlation between SPARC expression and clinical characteristics of esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2081-2085 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2081.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2081>

摘要

目的: 观察食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织中酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白(secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC)的表达与患者临床特征的关联。

方法: 收集90例诊断为ESCC患者的肿瘤组织及癌旁组织, 采用免疫组织化学检测肿瘤组织及癌旁组织中SPARC的表达, 并探讨其表达与食管癌患者临床特征的关系。

结果: 肿瘤组织中有73例SPARC表达阳性, 阳性率81.11%, 癌旁组织中SPARC表达均为阴性。肿瘤组织与癌旁组织SPARC表达阳性率差异有统计学意义($P < 0.05$)。72.22%(65例)SPARC阳性表达均位于细胞间质, 少量(8.89%, 8例)位于

背景资料

食管癌在我国的发病率较高, 是影响居民生命与健康的重要疾病之一。目前对于食管癌的临床治疗, 早期多以手术为主, 中晚期以放化疗为主。食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是食管癌中比较常见的一种病理类型。目前认为, 引起食管癌的相关危险因素主要有: 进食含亚硝胺类较多的食物(如喜欢腌制酸菜)或霉变食品、长期喜进烫食(如潮汕人食管癌发病率可能与长期喝功夫茶有关)、不良嗜好(如吸烟、饮酒)等。我国是食管癌高发地区, 位居肿瘤死亡第4位。

同行评议者

王建明, 副教授, 南京医科大学公共卫生学院流行病学与卫生统计学系

■ 研发前沿

酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白(secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC)又被称为骨连接蛋白,主要参与胚胎发育、血管生成、组织重塑、细胞更新及组织修复等。SPARC被认为与临床多种肿瘤的发生、发展和预后密切相关。

细胞质。肿瘤组织中SPARC表达与肿瘤分期、转移与否密切相关($P<0.05$)。

结论: 对ESCC患者进行SPARC检查,可以作为预测食管鳞癌分期、转移的重要指标。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 食管鳞状细胞癌; 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白; 免疫组织化学; 生存

核心提示: 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白(secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC)在肿瘤患者肿瘤组织内存在较高的表达,特别在组织修复与侵袭性恶性肿瘤相关的组织中,SPARC的表达量更高。对食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)患者进行SPARC检查,可以作为预测食管鳞癌分期、转移的重要指标。可以为临床诊断、治疗ESCC提供新的思路和方法,同时也为食管癌的诊治提供了特异性更高的分子标志物。

高杨, 李岩, 周海英, 闫继东, 吴爱萍. 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白的表达与食管鳞状细胞癌患者临床特征的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2081-2085 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2081.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2081>

0 引言

食管癌在我国的发生率较高,是影响居民生命与健康的重要疾病之一。目前对于食管癌的临床治疗,早期多以手术为主,中晚期以放化疗为主^[1]。食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是食管癌中比较常见的一种病理类型^[2]。酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白(secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC)又被称为骨连接蛋白,主要参与胚胎发育、血管生成、组织重塑、细胞更新及组织修复等^[3]。SPARC被认为与临床多种肿瘤的发生、发展和预后密切相关。已有文献表明^[4,5],在ESCC患者的肿瘤组织中,能见到明显的SPARC表达,但SPARC表达量高低与食管癌临床特征和预后的研究较少,因此,笔者进行了研究。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入我院2010-01/2012-12诊断为ESCC的患者90例。其中男58例,女32例,年龄46-77岁,平均年龄59.1岁±13.2岁。患者均已经手术治疗,术后病理确诊为ESCC。收集手术切除的肿瘤组织标本和肿瘤组织边缘4 cm左

右处的癌旁组织,并用甲醛溶液固定。患者在术前均未进行过放化疗或其他形式,如分子靶向治疗等治疗。本研究在实施前已得到我院伦理委员会的批准。同时亦取得患者及家属充分理解、知情,研究实施前均已签署知情同意书。SPARC鼠抗人单克隆抗体(Abcam公司),二氨基联苯胺(DAB),枸橼酸盐缓冲液,赖氨酸白乳胶,磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L)等。

1.2 方法

1.2.1 检测: 分别取肿瘤组织与癌旁组织,进行常规固定、脱水、石蜡包埋、切片、HE染色以及封片等工作。SPARC的阳性表达检查采用免疫组织化学PV法检测。PV试剂盒购自北京中山金桥生物技术有限公司。SPARC抗体首先进行稀释,倍数为1:50,所有操作均按试剂盒说明书进行。

1.2.2 结果判定: 免疫组织化学结果的判定由2位至少工作10年以上的病理科医师进行,使用半定量评分系统对SPARC表达阳性的强度进行评定。对ESCC肿瘤组织中以及癌旁组织中细胞间质染色的阳性颗粒进行观察。染色评定标准如下:(1)阴性(-),细胞间质无阳性颗粒表达;(2)阳性(+),细胞间质有阳性颗粒表达,阳性颗粒<30%;(3)强阳性(++),细胞间质有阳性颗粒表达,阳性颗粒≥30%。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析,计数资料用百分率表示,组间计数资料的比较采用 χ^2 检验,全部统计方法均采用双侧检验,将以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

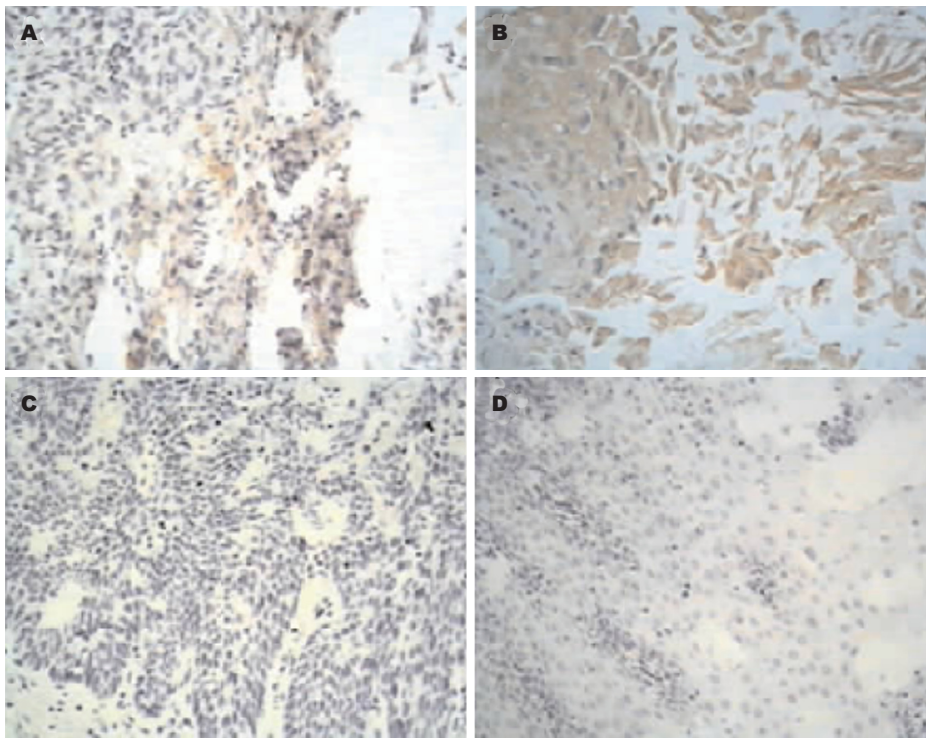
2 结果

2.1 ESCC肿瘤组织中与癌旁组织中SPARC的表达分析 经免疫组织化学检测,SPARC阳性颗粒的表达大多位于肿瘤组织细胞间质(图1A),仅有8例样本中SPARC阳性颗粒的表达位于肿瘤组织细胞质(图1B)。肿瘤组织中大部分SPARC表达阳性(+、++),小部分呈阴性(-)(图1C)。癌旁组织中,SPARC表达均为阴性(-)(图1D)。ESCC肿瘤组织中与癌旁组织中SPARC的阳性表达率差异有统计学意义($P<0.05$)(表1)。

2.2 SPARC表达与临床特征的关联分析 我们对患者的性别、年龄、肿瘤分化程度、肿瘤分期、肿瘤转移与否、饮食喜好(饮酒,腌制食品)、家族(食管癌)病史等情况进行关联研究。结果显示,SPARC的表达与患者的性别、年龄、肿瘤分化程度、饮食喜好、家族病史等因

■ 相关报道

有学者曾对36例食管癌患者的肿瘤组织进行免疫组织化学检测,发现绝大多数组织样本中SPARC阳性颗粒表达均位于癌细胞的细胞胞质中,只有极少数的标本SPARC阳性颗粒位于癌细胞的细胞核内。国外的研究亦证明,在食管癌与乳腺癌患者中,大部分SPARC阳性颗粒表达位于癌细胞的细胞间质,少量表达于肿瘤细胞内。在本研究中的结果与既往报道一致。



■创新盘点
SPARC表达量高低与食管癌临床特征和预后的研究较少, 因此, 笔者进行了研究。

图 1 SPARC在食管鳞状细胞癌细胞与正常细胞中的表达(HE × 200). A: SPARC在基质中的阳性表达; B: SPARC在肿瘤细胞及基质中的阳性表达; C: SPARC在肿瘤细胞中的阴性表达; D: SPARC在正常细胞中的阴性表达. SPARC: 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白。

表 1 ESCC肿瘤组织中与癌旁组织中SPARC的表达分析 ($n = 90$, mean ± SD)

分组	阳性表达(n)	阴性表达(n)	阳性表达率(%)
肿瘤组织	73	17	81.11 ^a
癌旁组织	0	90	0

^a $P < 0.05$ vs 癌旁组织组. SPARC: 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白; ESCC: 食管鳞状细胞癌。

素的关联无统计学意义($P > 0.05$). SPARC的表达与肿瘤分期、肿瘤转移与否等因素的关联有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

3 讨论

随着实验研究已经证实, SPARC在肿瘤患者肿瘤组织内存在较高的表达, 特别在组织修复与侵袭性恶性肿瘤相关的组织中, SPARC的表达量更高^[6]. 有学者曾对36例食管癌患者的肿瘤组织进行免疫组织化学检测, 发现绝大多数组织样本中SPARC阳性颗粒表达均位于癌细胞的细胞胞质中, 只有极少数的标本SPARC阳性颗粒位于癌细胞的细胞核内^[7]. 国外的研究亦证明^[8], 在食管癌与乳腺癌患者中, 大部分SPARC阳性颗粒表达位于癌细胞的细胞间质, 少量表达于肿瘤细胞内. 本研究中的结果与既往报道一致。

ESCC患者的肿瘤细胞中可观察到与增生、凋亡、分化与转移相关的多种基因的表达发生变化^[9]. SPARC是正常细胞恶变和肿瘤发生发展过程中一个重要的分子, SPARC可以调控多种肿瘤相关细胞因子及其受体的相互作用和多种信号传导通路以及蛋白水解酶的表达水平, 并且具有调节肿瘤组织内血管生成、促进上皮间叶细胞转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)转变的作用^[10,11]. 但是, SPARC对肿瘤的影响具有组织特异性, 原因可能包括^[12,13]: (1)特定肿瘤内的蛋白水解酶对SPARC蛋白进行了特异性的剪切, 而不同的蛋白水解片段对肿瘤产生的影响不同; (2)不同肿瘤的细胞因子及其受体的表达情况不同, 细胞因子的亲和力也不同; (3)SPARC蛋白的表达对一系列细胞因子及其受体的表达有调控作用. 进一步研究SPARC在不

■应用要点

对ESCC患者进行SPARC检查, 可以作为预测食管鳞癌分期、转移的重要指标. 可以为临床诊断、治疗ESCC提供新的思路和方法, 同时也为食管癌的诊治提供了特异性更高的分子标志物.

表 2 SPARC表达与临床特征的关联分析 (n)

相关因素	n	阳性(+ / ++)	阴性	χ^2 值	P值
性别				0.225	0.984
男	58	47	11		
女	32	26	6		
年龄(岁)				2.896	0.105
<60	53	40	13		
≥60	37	33	4		
肿瘤分化程度				0.545	0.800
低分化	16	14	2		
中分化	53	45	8		
高分化	21	14	7		
肿瘤分期				34.12	0.002
I	8	2	6		
II	39	31	8		
III/IV	43	40	3		
肿瘤转移				7.79	0.001
有	40	38	2		
无	50	34	16		
饮食喜好				0.89	0.867
有	25	20	5		
无	65	53	12		
家族病史				0.10	0.186
有	8	5	3		
无	82	68	14		

同肿瘤内的作用机制及调节机制将有助于深入理解SPARC及其亚基对恶性肿瘤侵袭转移、血管形成的病理生理过程, 并能为癌症的治疗提供新的思路.

研究认为^[14], 与ESCC有密切联系的蛋白质如果出现改变, 会在肿瘤组织中、血液或体液中留下可以查找的证据, 临床上称为肿瘤标志物. 近几年来, 关于食管癌肿瘤标志物的寻找在持续进行, 发现了一些可能作为潜在的食管癌肿瘤标志物的相关蛋白或基因, 如: 人体抑癌基因53(*p53*)、鳞癌细胞抗原(SCC-Ag)、细胞角蛋白19片段(CYFR21-1)等. 但是随着研究的不断深入, 发现真正能够应用于临床诊断、预测食管癌发生、发展的肿瘤标志物较少. 如*p53*与SCC-Ag的敏感度较差, 用于预测食管癌转移与否的意义较小. CYFR21-1对中晚期患者, 特别是出现肿瘤复发或转移的患者具有较高的敏感性, 能够提示食管癌患者是否存在肿瘤的复发或转移. 但是, 一些文献报道, CYFR21-1对于病灶较大的肿瘤有较好的敏感性, 但是对于小肿瘤特别在微小肿瘤, 效果不理想^[15].

SPARC是近年来研究的一个新热点, 已

有一些报道认为SPARC可能与多种肿瘤的发生、发展、预后密切相关. 本研究对SPARC在ESCC患者肿瘤组织内的表达进行了观察, 发现SPARC在ESCC患者肿瘤组织内的表达率较高, 达到了81.11%, 在癌旁组织中表达均呈阴性, 提示SPARC可能作为临床预测食管癌的一种潜在的生物标志物. 进一步对SPARC表达与否和食管癌临床特征进行了关联分析, 发现SPARC的表达与ESCC患者的肿瘤分期、肿瘤转移存在关联, 说明SPARC有可能用来预测ESCC患者的肿瘤分期, 并能对判断是否出现肿瘤转移提供证据. SPARC的表达受到的影响因素较少, 能够较为客观在反应ESCC患者的检测结果. 此外, SPARC在ESCC患者肿瘤组织内出现明显的上调且又为分泌蛋白, 这就为通过检测SPARC蛋白来预测食管癌的转移、预后指明了研究方向.

总之, 对ESCC患者进行SPARC检查, 可以作为预测食管鳞癌分期、转移的重要指标. 可以为临床诊断、治疗ESCC提供新的思路和方法, 同时也为食管癌的诊治提供了特异性更高的分子标志物.

4 参考文献

- 1 郁婷婷, 李硕, 傅敏根, 曹日昇, 朱宏, 施瑞华. miR-130b在食管鳞癌中的表达及对食管鳞癌细胞增殖和迁移的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1685-1692
- 2 许牧, 曹毅, 蒋蒙蒙, 揭志刚, 李正荣. miR495、miR551a靶向干扰PRL-3表达抑制胃癌腹膜转移. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1693-1700
- 3 韩伟, 杨迷玲, 翟丽丽, 单丽辉, 柴翠翠, 齐蕾, 胡成乙, 王立峰. 胃癌中SPARC、TGF β 1和Ki-67的表达及意义. 临床与实验病理学杂志 2011; 27: 594-597, 602
- 4 庞霞, 李晟磊, 赵志华, 张红新, 高冬玲. TGF- β 1、TIEG1和Stathmin蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21: 327-331
- 5 杨迷玲, 翟丽丽, 马丽华, 齐蕾, 单丽辉, 柴翠翠, 胡成乙, 王立峰. SPARC和VEGF在胃癌组织中的表达及与血管生成的关系. 诊断病理学杂志 2012; 19: 52-55
- 6 瞿文娟, 陈德智, 李志勇. 富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白的研究进展. 国际内分泌代谢杂志 2012; 32: 94-96
- 7 冯丹, 蔡建, 张颖一, 卫子然, 王雅杰. SPARC在恶性肿瘤中的研究进展. 医学研究杂志 2011; 40: 13-16
- 8 杨万广, 王万鹏, 张谢夫. ALDH1A2、MMP2和E-cadherin在结肠癌组织中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21: 362-366
- 9 郑秋青, 凌志强, 李沛, 程蕾, 毛伟敏. RASSF1A在食管鳞癌组织中的表达、甲基化状态及其与预后之间的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3134-3139
- 10 刘方方, 葛军辉, 刘惠敏, 何金, 袁振刚, 王良哲, 马小梅. 核转录因子- κ B在原发性胃肠道弥漫性大B细胞淋巴瘤中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1476-1482
- 11 董明霞, 杨彦华, 于建宪. 胃癌组织SPARC表达及其意义. 齐鲁医学杂志 2011; 26: 105-107, 110
- 12 张剑, 吴敏, 王丽娟, 张红巧, 师广勇, 巴楠, 张自森, 闫琳, 郑晓珂. SLP-2 siRNA对裸鼠胃癌移植瘤细胞增殖

- 13 及凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1740-1744
尹杰, 陈国卫, 刘斯, 刘玉村. SPARC对胃癌细胞系 HGC27体内侵袭能力及MMP-2表达的影响. 中国医药导刊 2010; 12: 1387-1388
- 14 杨筱瑶, 宋海燕, 王爽, 李婷婷. 富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白在糖尿病及其并发症的研究进展. 临床荟萃 2012; 27: 1917-1920
- 15 邵颖敏, 李静, 陈英, 杨春敏, 范勤, 唐合兰, 贾敏, 王建昌, 辛益妹. 正加速度暴露下急性胃黏膜损伤胃组织中MDA、SOD水平的变化. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1733-1739

编辑 田滢 电编 鲁亚静



■同行评价
本文可以为临床诊断、治疗ESCC提供新的思路和方法, 同时也为食管癌的诊治提供了特异性更高的分子标志物, 值得临床推广, 具有一定临床实用价值.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07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, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71.

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊). 根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号.

幽门螺杆菌根除对胃黏膜萎缩和肠上皮化生的影响

周颖, 周忠杰, 许琦华

■背景资料

胃癌是严重危害人类健康最常见的恶性肿瘤之一。人群感染幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)可能增加罹患胃癌的风险。理论上, 根除*H. pylori*作为干预预防手段, 有可能阻断胃黏膜萎缩和肠上皮化生的进一步发展, 减少胃癌发生的危险性。但迄今为止, 根除*H. pylori*能否改善胃黏膜萎缩和肠上皮化生尚不确定。

周颖, 周忠杰, 许琦华, 上海市第七人民医院消化科 上海市 200137

周颖, 2011年中国人民解放军第二军医大学硕士, 主治医师, 主要从事消化内镜的相关工作。

浦东新区卫生系统优秀青年医学人才培养基金资助项目

作者贡献分布: 数据分析与论文写作由周颖完成; 研究过程由周颖、周忠杰及许琦华操作完成。

通讯作者: 周颖, 主治医师, 200137, 上海市浦东新区大同路358号, 上海市第七人民医院消化科内镜室。loverabbi@hotmail.com

收稿日期: 2013-04-28 修回日期: 2013-05-30

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Effect of *Helicobacter pylori* eradication on gastric atrophy and intestinal metaplasia in patients with atrophic gastritis

Ying Zhou, Zhong-Jie Zhou, Qi-Hua Xu

Ying Zhou, Zhong-Jie Zhou, Qi-Hua Xu, Department of Gastroenterology, Shanghai 7th People's Hospital, Shanghai 200137, China

Supported by: the Foundation for Excellent Young Medical Talents in Health System of Pudong New District

Correspondence to: Ying Zhou, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Shanghai 7th People's Hospital, 358 Datong Road, Pudong Xinqu, Shanghai 200137, China. loverabbi@hotmail.com

Received: 2013-04-28 Revised: 2013-05-30

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) eradication on gastric atrophy and intestinal metaplasia in patients with atrophic gastritis.

METHODS: Three hundred and ninety-two patients with atrophic gastritis and intestinal metaplasia who were treated from August 2009 to December 2009 at Shanghai 7th People's Hospital were enrolled, of whom 300 were followed for 1 and 3 years by narrow band imaging-magnifying endoscopy (NBI-ME) and histopathological analysis after *H. pylori* eradication.

RESULTS: In patients with successful eradication, grades of disease activity and chronic inflammation significantly decreased at 1 year (in the antrum: 1.41 ± 0.64 vs 1.21 ± 0.65 , 1.83 ± 0.59

vs 1.43 ± 0.50 ; in the corpus: 1.36 ± 0.67 vs 1.18 ± 0.67 , 1.71 ± 0.46 vs 1.35 ± 0.48 , all $P < 0.005$) and 3 years (in the antrum: 1.51 ± 0.62 vs 1.31 ± 0.69 , 1.97 ± 0.60 vs 1.46 ± 0.50 ; in the corpus: 1.48 ± 0.65 vs 1.26 ± 0.69 , 1.90 ± 0.56 vs 1.46 ± 0.50 , all $P < 0.005$). The grade of corpus atrophy also significantly decreased at 1 year (1.54 ± 0.65 vs 1.36 ± 0.68 , $P < 0.005$) and 3 years (1.68 ± 0.65 vs 1.50 ± 0.69 , $P < 0.005$) after successful eradication. However, there was no significant change in intestinal metaplasia in both the antrum and corpus.

CONCLUSION: Eradication of *H. pylori* results in the alleviation of the severity of gastritis and the reversion of gastric atrophy in the corpus.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Eradication; Atrophic gastritis; Intestinal metaplasia

Zhou Y, Zhou ZJ, Xu QH. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on gastric atrophy and intestinal metaplasia in patients with atrophic gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2086-2090 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2086.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2086>

摘要

目的: 探讨根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)对胃黏膜萎缩和肠上皮化生的影响。

方法: 选取2009-08/2009-12上海市第七人民医院392例萎缩性胃炎患者, 进行*H. pylori*检测及根除治疗后, 其中300例患者进行为期1年及3年的窄带成像放大内镜(narrow band imaging-magnifying endoscopy, NBI-ME)和组织病理学结果随访。

结果: *H. pylori*根除成功患者第1年随访, 活动性及慢性炎症(胃窦部分别由 1.41 ± 0.64 降至 1.21 ± 0.65 , 1.83 ± 0.59 降至 1.43 ± 0.50 ; 胃体部分别由 1.36 ± 0.67 降至 1.18 ± 0.67 , 1.71 ± 0.46 降至 1.35 ± 0.48 , $P < 0.005$)均明显改善; 第3年随访, 活动性及慢性炎症(胃窦部分别由

■同行评议者
陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科

1.51±0.62降至1.31±0.69, 1.97±0.60降至1.46±0.50; 胃体部分别由1.48±0.65降至1.26±0.69, 1.90±0.56降至1.46±0.50, $P<0.005$)均明显改善; 胃体部萎缩评分明显下降(第1年由1.54±0.65降至1.36±0.68, 第3年由1.68±0.65降至1.50±0.69, $P<0.005$). 胃窦及胃体部黏膜肠上皮化生评分均无明显改变。

结论: 根除*H. pylori*能明显改善胃黏膜炎症, 并且减轻胃体部黏膜萎缩。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 幽门螺杆菌; 根除; 萎缩性胃炎; 肠上皮化生

核心提示: 本研究使用窄带成像放大内镜(narrow band imaging-magnifying endoscopy)提高肠上皮化生的检出率, 通过3年随访来对比根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)前后不同部位胃黏膜萎缩及肠上皮化生程度的变化。研究提示, 根除*H. pylori*能明显改善胃黏膜炎症, 并且减轻胃体部黏膜萎缩。

周颖, 周忠杰, 许琦华. 幽门螺杆菌根除对胃黏膜萎缩和肠上皮化生的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2086-2090
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2086.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2086>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是人类最常见、感染率最高的慢性感染之一。*H. pylori*感染后胃癌发生遵循“*H. pylori*感染-慢性胃炎-胃黏膜萎缩-肠上皮化生-异型增生-肠型胃癌”的疾病模式已被普遍接受。萎缩性胃炎及胃黏膜肠上皮化生是该过程中的重要环节, 是公认的癌前状态^[1]。许多研究表明, 根除*H. pylori*能改善胃黏膜炎症、减少细胞增殖, 但根除*H. pylori*能否改善黏膜萎缩及肠上皮化生尚存在争论。本研究通过3年随访来对比根除*H. pylori*前后不同部位胃黏膜萎缩及肠上皮化生程度的变化, 结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 根据2006年中国慢性胃炎共识意见^[2]诊断标准, 连续纳入2009-08/2009-12上海市第七人民医院经胃镜和病理检查明确有胃窦或胃体黏膜萎缩患者392例, 所有患者经¹⁴C尿素呼气试验(¹⁴C-UBT)检查*H. pylori*感染情况。排除标准: 胃、十二指肠溃疡; 胃黏膜萎缩伴肠上皮化生

取自糜烂、溃疡灶者; 胃癌及胃手术史; 伴有出血性疾病、肝硬化、肾功能衰竭者; 入选前4 wk内服用过质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)、抑酸药或抗生素者; 长期服用非甾体类抗炎药者; 萎缩伴有上皮内瘤变者。本研究方案通过上海市第七人民医院伦理委员会审批, 所有患者受检前签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 内镜诊断: 采用Olympus GIF-Q260Z放大内镜、CV-260SL电子处理器和CLV-260SL内镜灯光明系统行胃镜随访检查。检查当天患者空腹, 检查前口服利多卡因胶浆, 所有内镜操作均由同一名内镜医师完成。对内镜下胃窦及胃体显示的灰色结节型、弥漫型或鱼鳞型可疑肠上皮化生区域、窄带成像放大内镜(narrow band imaging-magnifying endoscopy, NBI-ME)浅蓝色锯齿状结构(light blue crest, LBC)下活检取材2-4块。

1.2.2 组织病理学检查: 活检标本甲醛固定, 常规脱水、石蜡包埋, 行HE染色, 由不知内镜检查结果的同一病理医师行病理诊断。诊断标准按2006年中国慢性胃炎共识意见制定的病理诊断和分类方法。胃体及胃窦部标本分别进行诊断, 慢性炎症、活动性、萎缩和肠上皮化生按无、轻、中、重分别计分为0、1、2、3分。若活检组织萎缩及肠上皮化生程度不同, 则以重者作为该部位评分值。

1.2.3 *H. pylori*根除方法和随访: *H. pylori*根除方案为以质子泵抑制剂为主的三联疗法: 埃索美拉唑每次20 mg, 2次/d; 克拉霉素每次500 mg, 2次/d; 阿莫西林每次1.0 g, 2次/d; 或甲硝唑400 mg/次, 2次/d, 疗程10 d。治疗结束1 mo后进行¹⁴C-UBT评价*H. pylori*根除情况。分别于1年(入组后12-13 mo)、3年(入组后36-37 mo)随访复查, 胃镜检查依然在先前胃窦及胃体的相同部位取2-4块组织进行病理组织学检查, 同时行¹⁴C-UBT。

统计学处理 应用SPSS10.0统计软件。组织学评分结果以mean±SD表示, 组织学评分比较采用*t*检验; 计数资料的比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 392例患者, 第1年有300例完成随访, 其中224例入选时*H. pylori*阳性, 行*H. pylori*根除治疗后192例*H. pylori*阴性(*H. pylori*根除成功), 32例根除治疗失败呈持续*H. pylori*感染(*H.*

■ 研究前沿

目前关于根除*H. pylori*是否可改善甚至逆转胃黏膜萎缩及肠上皮化生尚无定论, 不同的研究结果存在较大分歧。可能与不同人种、病例数较少、取材部位不固定、肠化病变始于灶性分布且由点向面发展以及内镜医生对病变的认识水平的不同有一定关系。亟待制定统一随访方案以得到详实、确切的研究结果。

■ 相关报道

研究表明根除 *H. pylori* 能改善胃体部萎缩, 但胃窦部萎缩无明显改善; 也有研究指出根除 *H. pylori* 能减轻胃窦部萎缩。有研究表明, *H. pylori* 根除后, 胃窦及胃体部黏膜肠上皮化生均无明显改善。相反的, 也有研究指出, 根除 *H. pylori* 能有效改善甚至逆转肠上皮化生。周丽雅等研究发现 *H. pylori* 感染持续存在时, 明显增加胃体部黏膜萎缩发生率。

表 1 *H. pylori* 根除治疗后第1年胃黏膜组织学评分

	<i>H. pylori</i> 阴性		<i>H. pylori</i> 根除成功		<i>H. pylori</i> 根除失败	
	入组时	1年	入组时	1年	入组时	1年
<i>n</i>	76	76	192	192	32	32
胃窦部						
炎症	1.62 ± 0.49	1.56 ± 0.50	1.83 ± 0.59	1.43 ± 0.50 ^a	1.79 ± 0.65	1.73 ± 0.50
活动性	1.05 ± 0.61	1.03 ± 0.71	1.41 ± 0.64	1.21 ± 0.65 ^a	1.42 ± 0.67	1.35 ± 0.70
萎缩	1.41 ± 0.57	1.39 ± 0.63	1.58 ± 0.57	1.47 ± 0.67	1.56 ± 0.57	1.57 ± 0.68
肠化	1.42 ± 0.37	1.37 ± 0.76	1.64 ± 0.54	1.52 ± 0.70	1.61 ± 0.53	1.66 ± 0.55
胃体部						
炎症	1.57 ± 0.50	1.50 ± 0.50	1.71 ± 0.46	1.35 ± 0.48 ^a	1.75 ± 0.67	1.65 ± 0.68
活动性	1.07 ± 0.70	1.04 ± 0.66	1.36 ± 0.67	1.18 ± 0.67 ^a	1.35 ± 0.68	1.39 ± 0.50
萎缩	1.45 ± 0.53	1.37 ± 0.65	1.54 ± 0.65	1.36 ± 0.68 ^a	1.56 ± 0.65	1.62 ± 0.57
肠化	1.15 ± 0.53	1.25 ± 0.71	1.36 ± 0.64	1.34 ± 0.68	1.41 ± 0.50	1.48 ± 0.67

^a*P* < 0.05 vs *H. pylori* 根除成功入组时. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

表 2 *H. pylori* 根除治疗后第3年胃黏膜组织学评分

	<i>H. pylori</i> 阴性 (<i>n</i> = 54)		<i>H. pylori</i> 根除成功 (<i>n</i> = 108)		<i>H. pylori</i> 根除失败 (<i>n</i> = 28)	
	入组时	3年	入组时	3年	入组时	3年
<i>n</i>	54	54	108	108	28	28
胃窦部						
炎症	1.78 ± 0.42	1.67 ± 0.48	1.97 ± 0.60	1.46 ± 0.50 ^a	1.82 ± 0.62	1.78 ± 0.50
活动性	1.31 ± 0.61	1.43 ± 0.36	1.51 ± 0.62	1.31 ± 0.69 ^a	1.54 ± 0.65	1.60 ± 0.68
萎缩	1.50 ± 0.61	1.63 ± 0.39	1.72 ± 0.60	1.74 ± 0.59	1.71 ± 0.60	1.74 ± 0.59
肠化	1.39 ± 0.66	1.46 ± 0.56	1.73 ± 0.56	1.68 ± 0.62	1.81 ± 0.50	1.84 ± 0.61
胃体部						
炎症	1.70 ± 0.46	1.65 ± 0.48	1.90 ± 0.56	1.46 ± 0.50 ^a	1.92 ± 0.65	1.95 ± 0.66
活动性	1.28 ± 0.66	1.26 ± 0.38	1.48 ± 0.65	1.26 ± 0.69 ^a	1.58 ± 0.62	1.50 ± 0.50
萎缩	1.43 ± 0.29	1.48 ± 0.64	1.68 ± 0.65	1.50 ± 0.69 ^a	1.70 ± 0.69	1.74 ± 0.64
肠化	1.44 ± 0.44	1.41 ± 0.66	1.65 ± 0.65	1.65 ± 0.63	1.69 ± 0.65	1.68 ± 0.50

^a*P* < 0.05 vs *H. pylori* 根除成功入组时. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

pylori 根除失败). 第3年有190例完成随访, 其中136例入选时 *H. pylori* 阳性, *H. pylori* 根除成功108例, *H. pylori* 根除失败28例.

2.2 胃黏膜组织学改变 *H. pylori* 根除成功患者第1及第3年随访, 胃窦及胃体慢性炎症、活动性均明显改善 (*P* < 0.05), *H. pylori* 阴性及 *H. pylori* 根除失败患者胃窦及胃体部慢性炎症及活动性无明显改变.

H. pylori 根除成功患者第1及第3年随访, 胃体部萎缩评分明显下降 (*P* < 0.05), 胃窦部萎缩评分未见明显改变. *H. pylori* 阴性及 *H. pylori* 根除失败患者胃窦及胃体部萎缩评分均无明显改变.

H. pylori 根除成功、*H. pylori* 阴性及 *H. pylori* 根除失败患者胃窦及胃体部肠上皮化生评分均无明显改变.

H. pylori 根除治疗后第1、3年胃黏膜组织学评分(表1, 2).

3 讨论

胃癌是严重危害人类健康最常见的恶性肿瘤之一. 流行病学证据表明, 人群感染 *H. pylori* 可能增加罹患胃癌的风险^[3,4]. 感染 *H. pylori* 后, 可引起胃黏膜长期慢性炎症反应, 产生氧自由基, 胃黏膜上皮细胞增殖和凋亡程度也发生改变, 易引发腺体萎缩和肠上皮化生, 诱导DNA发生突

变, 最终发生癌变. *H. pylori*感染被认为是癌变的起始阶段, 发挥着启动因子的作用. 因此, 理论上, 根除*H. pylori*作为干预预防手段, 有可能阻断胃黏膜萎缩和肠上皮化生的进一步发展, 减少胃癌发生的危险性.

研究表明^[5-8], 根除*H. pylori*能改善胃体部萎缩, 但胃窦部萎缩无明显改善, 而国内外也有研究指出^[9,10]根除*H. pylori*能减轻胃窦部萎缩. 关于根除*H. pylori*是否可改善甚至逆转胃黏膜肠上皮化生尚无定论, 不同的研究结果存在较大分歧. 有研究表明^[10-13], *H. pylori*根除后, 胃窦及胃体部黏膜肠上皮化生均无明显改善. 相反的, 也有研究指出^[14-18], 根除*H. pylori*能有效改善甚至逆转肠上皮化生. 不同研究得出的不同结果, 可能与不同人种、病例数较少、取材部位不固定、肠化病变始于灶性分布且由点向面发展以及内镜医生对病变的认识水平不同有一定关系.

本研究在普通白光内镜检查的基础上使用NBI-ME提高肠上皮化生的检出率^[19], 减少取材部位不准确造成的试验数据误差. 研究结果显示, 在根除*H. pylori*后第1年及第3年随访提示胃窦及胃体部慢性炎症及活动性均明显减轻($P<0.05$), 说明根除*H. pylori*能有效治疗组织学炎症. 根除*H. pylori*成功患者第1年及第3年胃体部萎缩评分降低($P<0.05$), 但胃窦部萎缩未见明显改变, 胃体及胃窦部黏膜肠上皮化生评分未见明显改变, 考虑肠上皮化生的逆转常需很长时间, 延长随访时间是否会出现不同的结果, 尚需进一步的随访研究.

周丽雅等^[20]对121例根除*H. pylori*感染后一直未再发的患者和160例*H. pylori*持续感染患者进行了为期8年的随访观察, 研究发现*H. pylori*感染持续存在时, 明显增加胃体部黏膜萎缩发生率. 本研究中, *H. pylori*根除失败呈持续感染患者第1及第3年胃窦及胃体部慢性炎症、活动性、萎缩及肠上皮化生均无明显改变, 考虑可能与纳入患者例数较少, 且随访时间较短有关.

总之, *H. pylori*已被世界卫生组织定义为一类致癌因子, 但至今就根除*H. pylori*可预防胃癌发生这一结论还未达成共识. 作为一种无益的微生物定植于胃黏膜, *H. pylori*是胃炎、消化性溃疡的最主要致病因素. 根除*H. pylori*能明显改善黏膜炎症, 并且减轻胃体部黏膜萎缩, 如能在胃黏膜炎症阶段根除*H. pylori*则能使病变逆转, 因此对感染*H. pylori*者行根除治疗是必要的.

4 参考文献

- Sipponen P. Gastric cancer: pathogenesis, risks, and prevention. *J Gastroenterol* 2002; 37 Suppl 13: 39-44 [PMID: 12109664 DOI: 10.1007/BF02990098]
- 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见. *胃肠病学* 2006; 11: 674-683
- Huang JQ, Sridhar S, Chen Y, Hunt RH. Meta-analysis of the relationship between *Helicobacter pylori* seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology* 1998; 114: 1169-1179 [PMID: 9609753 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70422-6]
- Eslick GD, Lim LL, Byles JE, Xia HH, Talley NJ. Association of *Helicobacter pylori* infection with gastric carcinoma: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2373-2379 [PMID: 10483994 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01360.x]
- Kokkola A, Sipponen P, Rautelin H, Härkönen M, Kosunen TU, Haapiainen R, Puolakkainen P. The effect of *Helicobacter pylori* eradication on the natural course of atrophic gastritis with dysplasia. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 515-520 [PMID: 11876705 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01214.x]
- Yamada T, Miwa H, Fujino T, Hirai S, Yokoyama T, Sato N. Improvement of gastric atrophy after *Helicobacter pylori* eradication therapy. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36: 405-410 [PMID: 12702982 DOI: 10.1097/00004836-200305000-00009]
- Wang J, Xu L, Shi R, Huang X, Li SW, Huang Z, Zhang G. Gastric atrophy and intestinal metaplasia before and after *Helicobacter pylori* eradication: a meta-analysis. *Digestion* 2011; 83: 253-260 [PMID: 21282951 DOI: 10.1159/000280318]
- Kang JM, Kim N, Shin CM, Lee HS, Lee DH, Jung HC, Song IS. Predictive factors for improvement of atrophic gastritis and intestinal metaplasia after *Helicobacter pylori* eradication: a three-year follow-up study in Korea. *Helicobacter* 2012; 17: 86-95 [PMID: 22404438 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00918.x]
- 陆一峰, 宓晓鸣, 戴晓波. 根治幽门螺杆菌对胃黏膜萎缩和肠上皮化生的影响. *苏州大学学报* 2010; 30: 851-852
- Rokkas T, Pistiolas D, Sechopoulos P, Robotis I, Margantinis G. The long-term impact of *Helicobacter pylori* eradication on gastric histology: a systematic review and meta-analysis. *Helicobacter* 2007; 12 Suppl 2: 32-38 [PMID: 17991174 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2007.00563.x]
- Sung JJ, Lin SR, Ching JY, Zhou LY, To KF, Wang RT, Leung WK, Ng EK, Lau JY, Lee YT, Yeung CK, Chao W, Chung SC. Atrophy and intestinal metaplasia one year after cure of *H. pylori* infection: a prospective, randomized study. *Gastroenterology* 2000; 119: 7-14 [PMID: 10889149 DOI: 10.1053/gast.2000.8550]
- Annibale B, Di Giulio E, Caruana P, Lahner E, Capurso G, Bordi C, Delle Fave G. The long-term effects of cure of *Helicobacter pylori* infection on patients with atrophic body gastritis. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1723-1731 [PMID: 12269964 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01336.x]
- Correa P, Piazuelo MB, Wilson KT. Pathology of gastric intestinal metaplasia: clinical implications. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 493-498 [PMID: 20203636 DOI: 10.1038/ajg.2009.728]
- Kim N, Lim SH, Lee KH, Choi SE, Jung HC, Song IS, Kim CY. Long-term effects of *Helicobacter py-*

■创新盘点

本研究在普通白光内镜检查的基础上使用窄带成像放大内镜(narrow band imaging-magnifying endoscopy)提高肠上皮化生的检出率, 减少取材部位不准确造成的试验数据误差. 通过3年随访来对比根除*H. pylori*前后不同部位胃黏膜萎缩及肠上皮化生程度的变化.

■同行评价

本文可读性较好, 具有一定指导意义.

- lori eradication on intestinal metaplasia in patients with duodenal and benign gastric ulcers. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 1754-1762 [PMID: 11052316 DOI: 10.1023/A:1005534328511]
- 15 Ohkusa T, Fujiki K, Takashimizu I, Kumagai J, Tanizawa T, Eishi Y, Yokoyama T, Watanabe M. Improvement in atrophic gastritis and intestinal metaplasia in patients in whom *Helicobacter pylori* was eradicated. *Ann Intern Med* 2001; 134: 380-386 [PMID: 11242498 DOI: 10.7326/0003-4819-134-5-200103060-00010]
- 16 Ito M, Haruma K, Kamada T, Mihara M, Kim S, Kitadai Y, Sumii M, Tanaka S, Yoshihara M, Chayama K. *Helicobacter pylori* eradication therapy improves atrophic gastritis and intestinal metaplasia: a 5-year prospective study of patients with atrophic gastritis. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1449-1456 [PMID: 12182744 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01311.x]
- 17 吕宾, 王慧萍, 陈明涛, 范一宏, 孟立娜. 根除幽门螺杆菌对胃黏膜萎缩和肠化影响的随访研究. *中华内科杂志* 2004; 43: 299-301
- 18 王锐, 姜葵, 王邦茂, 章明放, 张彦敏. 根除幽门螺杆菌后胃黏膜肠上皮化生的变化. *天津医药* 2011; 39: 322-323
- 19 周颖, 周忠杰, 赵佳宏. 窄带成像放大内镜在胃黏膜肠上皮化生随访中的应用. *胃肠病学* 2012; 17: 36-38
- 20 周丽雅, 林三仁, 丁士刚, 黄雪彪, 郭长吉, 张莉, 崔荣丽, 金珠, 孟灵梅, 张静. 根除幽门螺杆菌对胃癌患病率及胃黏膜组织学变化的八年随访研究. *中华消化杂志* 2005; 25: 324-327

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 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. (《世界华人消化杂志》编辑部)

人慢性胃炎相关TTV病毒的体外培养与鉴定

张娜, 刘学芳, 李建国

张娜, 刘学芳, 李建国, 河南中医学院科研实验中心 河南省郑州市 450008

张娜, 讲师, 主要从事病毒学的相关研究。

河南中医学院“博士科研基金”资助项目, No. BSJJ2010-33
作者贡献分布: 此课题由张娜设计; 研究过程由张娜与刘学芳共同操作完成; 研究用试剂及相关仪器由刘学芳提供; 图片分析由李建国完成; 本论文写作由张娜完成。

通讯作者: 张娜, 讲师, 450008, 河南省郑州市金水区金水路1号, 河南中医学院科研实验中心。nana821024@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-05-07 修回日期: 2013-05-29

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Culture and identification of TTV virus associated with human chronic gastritis

Na Zhang, Xue-Fang Liu, Jian-Guo Li

Na Zhang, Xue-Fang Liu, Jian-Guo Li, Scientific Research and Experimental Center, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, Henan Province, China

Supported by: the Doctoral Research Fund of Henan Chinese Medicine, No. BSJJ2010-33

Correspondence to: Na Zhang, Lecturer, Scientific Research and Experimental Center, Henan University of Traditional Chinese Medicine, 1 Jinshui Road, Jinshui District, Zhengzhou 450008, Henan Province, China. nana821024@yahoo.com.cn

Received: 2013-05-07 Revised: 2013-05-29

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To develop a suitable proliferative cell culture system for chronic gastritis-related tiny virus, and to identify the type of this virus.

METHODS: The gastric adenocarcinoma cell line SGC-7901 was used to culture the tiny virus, and cells were observed by inverted microscopy and transmission electron microscopy (TEM). The primers for transfusion transmitted virus (TTV) and human parvovirus B19 were used to amplify DNA from the tiny virus.

RESULTS: After three blind passages in SGC-7901 cells, the tiny virus could proliferate *in vitro* and produce obvious CPE. TEM analysis showed that TTV was distributed in the nucleus and cytoplasm. The virions were globular, approximately 20 nm in size. PCR analysis showed

that the tiny virus specimens were TTV DNA amplification-positive.

CONCLUSION: SGC-7901 cells can be used as a proliferation system for tiny virus. The tiny virus and TTV virus belong to the same genus.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Tiny virus; Gastric adenocarcinoma cells; Transfusion transmitted virus

Zhang N, Liu XF, Li JG. Culture and identification of TTV virus associated with human chronic gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2091-2095 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2091.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2091>

摘要

目的: 建立适合慢性胃炎相关微小病毒增殖的细胞培养体系, 并鉴定该病毒的类型。

方法: 制备人胃腺癌SGC-7901传代细胞, 对微小病毒进行传代培养, 并使用倒置显微镜和透射电镜观察; 使用输血传播病毒(transfusion transmitted virus, TTV)病毒、人细小病毒B19引物扩增微小病毒模板DNA。

结果: 盲传3代后, 微小病毒即可在SGC-7901细胞上传代增殖, 并产生明显的细胞病变; 透射电镜结果显示, 微小病毒在细胞核和胞质内均有分布, 病毒呈球形, 直径20 nm左右; PCR结果显示, 微小病毒标本显示为TTV病毒DNA阳性。

结论: SGC-7901细胞可以作为微小病毒体外增殖培养体系, 微小病毒属于TTV病毒科成员。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 微小病毒; 胃腺癌细胞; TTV病毒

核心提示: 本试验在慢性胃炎患者的组织标本中检测到输血传播病毒(transfusion transmitted virus, TTV)病毒核酸, 证实了TTV病毒可以在人胃黏膜

■背景资料

输血传播病毒(transfusion transmitted virus, TTV), 1997年, 由日本学者首次报道, 认为是一种与输血后肝炎相关的病原, 现在世界范围内流行, 在健康人群中具有较高的感染率, 但发病率较低, 临床表现为非甲-庚型肝炎, 近期TTV病毒DNA也在胃炎患者的血清和粪便中相继检出, 证实其在粪口传播的途径, 临床上表现与胃炎的相关性。

■同行评议者

马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

■ 研发前沿

TTV病毒的感染与人类疾病的联系,一直是学者们争论的重点内容,尽管TTV病毒感染在肝病中的作用仍然存在争论,但是TTV病毒最早是一种新型肝炎病毒的候选病毒。自TTV在首次在各类肝炎患者中被确诊以来,之后在肝癌、传染性胃肠炎、女性生殖系统疾病、输血性传播疾病以及结肠癌等多种疾病患者中均检测到TTV病毒的高感染率,使其成为值得我们关注一种病原。

层细胞进行定植,使用人胃腺癌SGC-7901传代细胞成功增殖了该病毒,建立了该病毒的体外培养体系,使用电子显微镜技术在受感染细胞中成功观察到TTV子代病毒。

张娜, 刘学芳, 李建国. 人慢性胃炎相关TTV病毒的体外培养与鉴定. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2091-2095 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2091.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2091>

0 引言

2008-07河南中医学院教授李建国等从慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎和胃腺癌患者胃黏膜上皮细胞中观察到一种微小病毒感染(暂名为微小病毒),初步研究显示,该病毒直径较小(22.18-22.63 nm),在细胞浆和细胞核内均可复制,形态学表现不同于人类非洲淋巴细胞瘤病毒(Epstein-Barr virus, EBV)、人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)以及人类免疫缺陷综合症病毒(human immunodeficiency virus, HIV)病毒^[1]。为了确定该病原,我们采用人细小病毒B19和输血传播病毒(transfusion transmitted virus, TTV)的引物进行检测,同时将病料同步接种于人胃腺癌细胞进行病毒培养,为进一步的研究提供病毒培养手段。

1 材料和方法

1.1 材料 微小病毒组织标本由河南中医学院病理实验中心在液氮中保存。人胃腺癌细胞SGC-7901,由河南中医学院细胞培养室液氮保存。细胞DNA抽提试剂盒购自百泰克;PCR反应试剂盒购自天根生物;MEM培养液购自GIBCO;胎牛血清购自民海血清;胰酶购自索来宝生物;引物合成由Invitrogen公司完成,引物序列如下:引物1(TTV病毒)上游引物: 5'-GCT ACG TCA CTA ACC ACG TG-3';下游引物: 5'-CTB CGG TGT GTA AAC TCA CC-3'^[2];引物2(人细小病毒B19)上游引物: 5'-ATA AAT CCA TAT ACT CAT T-3';下游引物: 5'-CTA AAG TAT CCT GAC CTT G-3'^[3]。

1.2 方法

1.2.1 样品制备:用灭菌的磷酸盐缓冲液(PBS)分别将病料清洗干净,剪碎,按1:5(W/V)的比例加入pH 7.4的PBS进行研磨,充分混匀,反复冻融3次后,再加入青霉素1000 U/mL,链霉素1000 μg/mL。置4℃冰箱过夜,翌日5000 r/min离

心20 min,吸取上清液,无菌检验合格后,备用。

1.2.2 病毒接种与培养:将长满单层传代细胞,用少量PBS液洗涤两次,取上述病料接种细胞,接毒量与维持液的比例为1:5-1:10,置37℃ 5%CO₂细胞培养箱中吸附1 h,再加入维持液(含2%犊牛血清的MEM营养液),同时设正常对照细胞。置37℃培养,逐日在镜下观察,若无细胞病变(cytopathic effect, CPE),培养5 d收获进行盲传,若出现细胞病变,当出现80%细胞病变时收获,连续传至第8代,同时设未接毒细胞作为对照^[4]。

1.2.3 透射电镜观察:当CPE达80%时收集细胞病毒,将细胞从细胞瓶中轻轻刮下,4℃ 3000 r/min离心10 min,取出细胞团,包埋于2%的低熔点琼脂糖内,按照文献方法进行电镜样品制备,步骤如下:(1)固定:将细胞团浸入25 mL/L戊二醛溶液中,4℃固定2 h以上;(2)洗涤:将细胞团取出使用磷酸盐缓冲液洗涤3次,每次15 min;(3)后固定:将细胞团浸入20 mL/L锇酸溶液中,4℃固定2 h;(4)洗涤:将细胞团取出使用磷酸盐缓冲液洗涤3次,每次15 min;(5)脱水:依次使用30%丙酮、50%丙酮、70%(加醋酸铀)丙酮、80%丙酮对细胞样品脱水,每次5 min;(6)置换、浸透和包埋:将细胞团包埋入环氧树脂中;(7)切片和染色:细胞样品切片,厚度为80 nm左右,使用醋酸铀和柠檬酸铅双染。细胞样品制备完毕后,使用奥林巴斯透射电镜进行观察。

1.2.4 PCR鉴定:取制备的病毒样品,按照DNA抽提试剂盒的步骤提取总DNA,分别使用2对引物进行PCR反应,反应体系为20 μL,其中含上、下游引物各0.2 μmol/L、DNA模板5 μL,PCR mix 10 μL,加水至20 μL,瞬时离心。引物1反应条件^[2]:95℃预变性10 min、94℃变性20 s、60℃退火20 s、72℃延伸30 s,共55个循环,最后72℃延伸5 min。引物2反应条件^[3]:95℃预变性10 min、94℃变性2 min、37℃退火2 min、72℃延伸3 min,共55个循环,最后72℃延伸5 min。配制1%琼脂糖凝胶,每孔加样5 μL,设定标准DNA Marker,100V电泳30-40 min,然后在凝胶成像系统中记录条带。

2 结果

2.1 病毒细胞培养结果 胃腺癌细胞首次接种病毒后,96 h内细胞病变不典型,仅出现细胞圆缩,折光性增强、悬浮细胞增多等变化,盲传3代后,细胞病变稳定,更加典型,接毒后24-48 h细

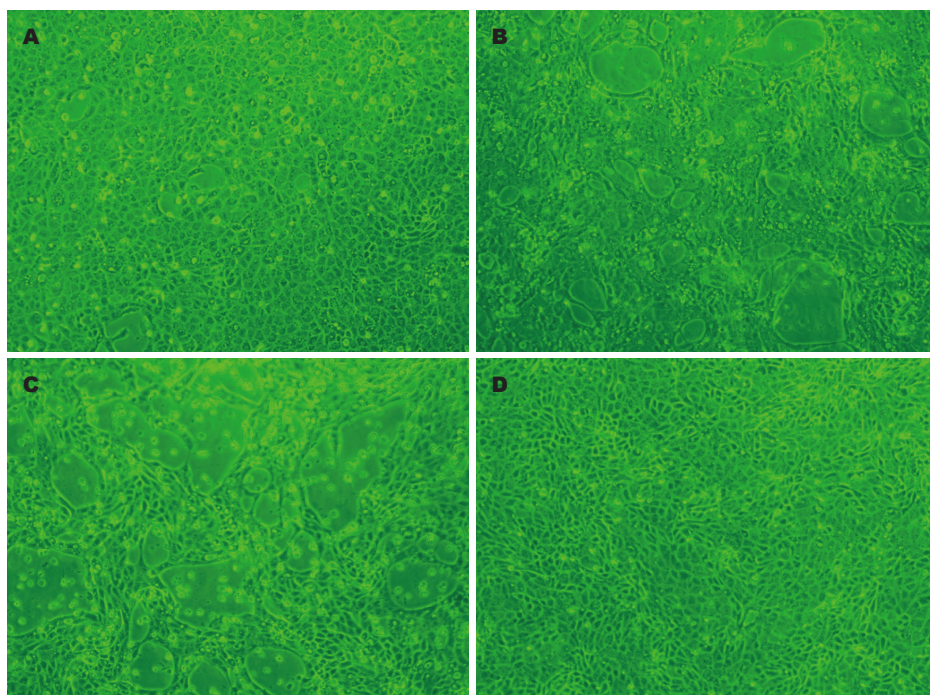


图1 胃腺癌细胞SGC-7901接毒后的形态学变化($\times 400$)。A: 接毒24-48 h的SGC-7901细胞, 细胞变圆、脱落、形成小噬斑; B: 接毒48-72 h的SGC-7901细胞, 脱落细胞数量明显增多, 形成较大噬斑; C: 接毒96 h的SGC-7901细胞, CPE比例高达80%以上; D: 96 h, 对照组SGC-7901细胞形态。

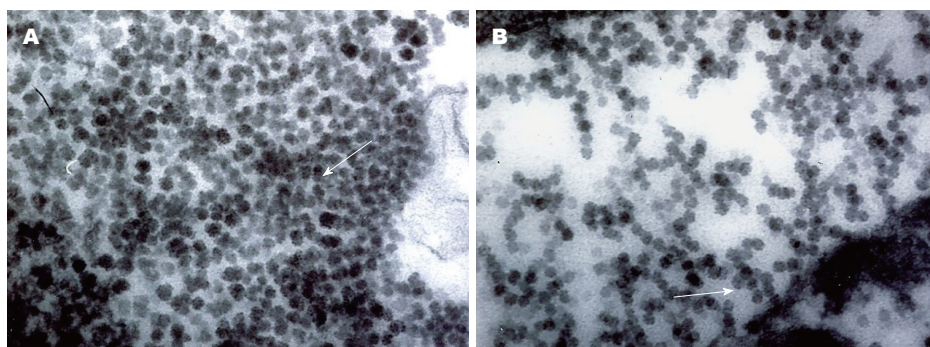


图2 微小病毒超微形态观察($\times 100000$)。A: 病毒粒子堆积分布在SGC-7901细胞的胞浆内(箭头); B: 病毒粒子在SGC-7901细胞的细胞核膜附近以串珠状形式进行出芽(箭头)。

胞出现变圆、皱缩、脱落、形成小噬斑(图1A); 48-72 h, 脱落细胞数量明显增多, 形成较大噬斑(图1B); 至96 h时细胞病变比例高达80%以上(图1C)。同时对对照组细胞贴壁生长, 呈多边形外观, 细胞胞质清亮, 细胞界限明显, 培养96 h不出现细胞病变(图1D)。

2.2 透射电镜观察 在感染SGC-7901细胞的胞浆和细胞核均观察到大量新生的病毒粒子, 病毒呈现致密球形外观, 直径20 nm左右, 无囊膜, 在胞浆内呈聚集分布, 如图2A箭头所示; 病毒也在细胞核内复制, 并且以串珠状的形式向核外进行扩散, 如图2B左侧箭头所示。

2.3 PCR反应结果 如图3所示, 引物1扩增结果阳

性, 条带大小为198 bp, 与报道结果一致, 引物2扩增结果阴性, PCR检测结果显示微小病毒标本TTV病毒DNA检测阳性。

3 讨论

慢性胃炎是临床较为常见的一种消化系统疾病, 与消化性溃疡、胃癌和淋巴瘤等有密切的相关性, 根据病理表现又进一步分为慢性浅表性胃炎和慢性萎缩性胃炎。许多因素都与慢性胃炎有关, 如幽门螺杆菌菌感染^[5]、EB病毒感染^[6]、压力情绪、胆汁回流、酗酒甚至环境因素等。本次试验中检测的标本均为幽门螺杆菌、EB病毒感染阴性^[1]。

■ 相关报道

近期关于TTV病毒在胃肠炎患者体内分离的文献较多, 如2009年英国学者Braham等对胃肠炎患者的粪便样品进行病毒浓缩和纯化, 获得TTV病毒的全基因序列。2011年巴西学者Pinho-Nascimento对135名巴西胃肠炎患者的粪便样品进行TTV病毒DNA检测, 结果显示样品阳性率高达91.1%, 本文参考相关文献, 设计了针对TTV病毒的特异性引物, 对慢性胃炎患者的组织标本检测, 结果呈阳性。

■创新盘点

本试验使用PCR检测法检测慢性胃炎患者的组织标本,结果显示TTV病毒核酸阳性,证实了TTV病毒在感染者胃粘膜组织内存在,此外,本试验采用病毒在人胃腺癌SGC-7901传代细胞上传代的方法,成功增殖了该病毒,获得了适应体外培养的毒株。

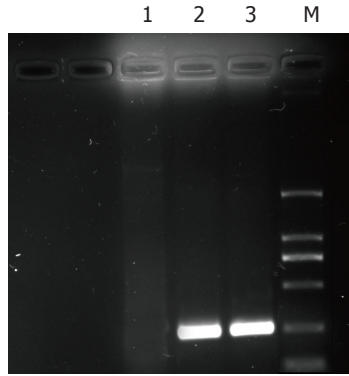


图3 引物扩增结果. 1: 阴性对照组; 2: 阳性对照组; 3: 微小病毒组; M: Marker I (100、200、300、400、500、600 bp)。

TTV是细颈圈病毒属(Anellovirus)主要成员之一^[7], 1997年首次报道于日本, 随后多个国家的学者在肝炎患者体内均分离出TTV病毒, 确定该病毒在世界范围内流行^[8,9]. TTV病毒是一种环状、单股、负链DNA病毒, 病毒基因组全长3739-3853 bp, 无囊膜, 氯化铯中的浮密度1.31-1.35 g/cm³, 病毒直径20 nm左右^[10], 与本试验中微小病毒大小基本一致. 由于TTV病毒本身体积小, 在环境中的抵抗力强, 并且能够通过消化道传播, 具有在自然界中广泛存在, 流行无明显季节性的特点. 在健康人群中具有较高的感染率, 但发病率较低, 临床表现为非甲-庚型肝炎^[11,12]. 急性肝炎期, TTV弥漫分布于肝小叶内, 慢性肝炎则主要分布于汇管附近, 所以一般认为TTV为一种嗜肝病毒^[13]. 我国学者骆抗先报道了一种新型肠传病毒性肝炎, 患者临床症状轻微, 病理学表现为肝脏汇管区炎症, 作者使用TTV病毒的引物成功检测到血清和粪便中的病毒核酸^[14]. 2009年英国学者Braham等^[15]对胃肠炎患者的粪便样品进行病毒浓缩和纯化, 然后使用序列非依赖性单引物扩增法进行扩增, 结果显示通过基因移动(genome walking)的方法可以获得TTV病毒的全基因序列3260 bp. 2011年巴西学者Pinho-Nascimento等^[16]对135例巴西胃肠炎患者的粪便样品进行TTV病毒DNA检测, 结果显示样品阳性率高达91.1%. 多项实验结果显示TTV病毒可经粪-口途径进行传播, 本试验使用TTV病毒引物检测慢性浅表性胃炎患者的组织标本, PCR结果显示, 组织标本为TTV病毒DNA阳性, 证实了TTV病毒在人胃黏膜上皮细胞内存在, 并且在临床上表现出与慢性胃炎的相关性.

病毒的体外培养是研究病毒相关特性的基

础, 本次试验采用的是胃腺癌细胞进行病毒增殖, 盲传3代后, 并取得了良好的增殖效果. 在前期试验过程中, 我们采用了人胃黏膜上皮细胞进行病毒增殖, 但效果不理想, TTV病毒表现出对人胃腺癌细胞的偏爱性. 我们使用电镜观察的方法在F3代细胞毒中观察到了TTV病毒粒子, 说明此时的病毒已经适应在胃腺癌细胞中增殖, 此外, 我们对该病毒的病原特性实验、超微结构观察以及基因组分析等相关工作正在进行.

4 参考文献

- 1 李宁宁, 李建国, 徐玉芳, 李瑞琴. 慢性浅表性、萎缩性胃炎及胃腺癌中微小病毒的电镜技术、原位杂交法检测. 河南中医学院, 2008: 1-30
- 2 Abe K, Inami T, Asano K, Miyoshi C, Masaki N, Hayashi S, Ishikawa Ki, Takebe Y, Win KM, El-Zayadi AR, Han KH, Zhang DY. TT virus infection is widespread in the general populations from different geographic regions. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2703-2705 [PMID: 10405426]
- 3 Koch WC, Adler SP. Detection of human parvovirus B19 DNA by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 65-69 [PMID: 2153700]
- 4 傅继华, 张静, 李文, 尹爱红, 黄涛, 王少军, 王玫, 王晓云, 赵明远, 康殿民. 病毒学实用实验技术. 第1版. 济南: 山东科学技术出版社, 2001: 50-80
- 5 Enomoto S, Oka M, Ohata H, Mukoubayashi C, Watanabe M, Moribata K, Muraki Y, Shingaki N, Deguchi H, Ueda K, Inoue I, Maekita T, Iguchi M, Yanaoka K, Tamai H, Fujishiro M, Mohara O, Ichinose M. Assessment of gastroesophageal reflux disease by serodiagnosis of Helicobacter pylori-related chronic gastritis stage. *World J Gastrointest Endosc* 2011; 3: 71-77 [PMID: 21603035 DOI: 10.4253/wjge.v3.i4.71]
- 6 Hisamatsu A, Nagai T, Okawara H, Nakashima H, Tasaki T, Nakagawa Y, Hashinaga M, Kai S, Yokoyama S, Murakami K, Fujioka T. Gastritis associated with Epstein-Barr virus infection. *Intern Med* 2010; 49: 2101-2105 [PMID: 20930436 DOI: 10.2169/internalmedicine.49.3789]
- 7 Biagini P. Classification of TTV and related viruses (anelloviruses). *Curr Top Microbiol Immunol* 2009; 331: 21-33 [PMID: 19230555 DOI: 10.1007/978-3-540-70972-5_2]
- 8 Hino S, Miyata H. Torque teno virus (TTV): current status. *Rev Med Virol* 2007; 17: 45-57 [PMID: 17146841 DOI: 10.1002/rmv.524]
- 9 Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 241: 92-97 [PMID: 9405239 DOI: 10.1006/bbrc.1997.7765]
- 10 Mushahwar IK, Erker JC, Muerhoff AS, Leary TP, Simons JN, Birkenmeyer LG, Chalmers ML, Pilot-Matias TJ, Dexai SM. Molecular and biophysical characterization of TT virus: evidence for a new virus family infecting humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 3177-3182 [PMID: 10077657 DOI: 10.1073/pnas.96.6.3177]
- 11 Okamoto H, Akahane Y, Ukita M, Fukuda M, Tsu-

- da F, Miyakawa Y, Mayumi M. Fecal excretion of a nonenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A-G hepatitis. *J Med Virol* 1998; 56: 128-132 [PMID: 9746068 DOI: 10.1002/(SICI)1096-9071(199810)56:2<128::AID-JMV5>3.0.CO;2-A]
- 12 Asim M, Singla R, Gupta RK, Kar P. Clinical & amp; molecular characterization of human TT virus in different liver diseases. *Indian J Med Res* 2010; 131: 545-554 [PMID: 20424306]
- 13 杭双荣, 王永忠, 陈敏, 沈翔科. 苏南地区TTV DNA病毒的临床观察. *放射免疫学杂志* 2006; 19: 440-441
- 14 骆抗先, 章廉, 王珊珊, 聂军, 葛娅, 陈志英, 俞守义, 刘银燕, 杨守昌, 梁蔚芳, 何海棠, 焦成松. 一种新型肠传染性病毒性肝炎的流行病学、临床、病理和病毒学的初步研究. *第一军医大学学报* 1998; 18: 87-90
- 15 Braham S, Iturriza-Gómara M, Gray J. Detection of TT virus by single-primer sequence-independent amplification in multiple samples collected from an outbreak of gastroenteritis. *Arch Virol* 2009; 154: 981-985 [PMID: 19407928 DOI: 10.1007/s00705-009-0387-8]
- 16 Pinho-Nascimento CA, Leite JP, Niel C, Diniz-Mendes L. Torque teno virus in fecal samples of patients with gastroenteritis: prevalence, genogroups distribution, and viral load. *J Med Virol* 2011; 83: 1107-1111 [PMID: 21503927 DOI: 10.1002/jmv.22024]

■同行评价

本文整体阐述条理分明, 有系统的理论分析和有价值的科学结论. 文章的科学性、创新性和可读性能较好地反映我国或国际胃肠病学临床和基础研究的先进水平.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 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.

急诊胃镜下药物喷洒与药物注射治疗非静脉曲张性上消化道出血的疗效

黄妍, 曾昆, 肖政, 陈艳

■背景资料

急性非静脉曲张性上消化道出血发生、发展较快, 临床病死率较高。随着研究的深入, 临床发现传统保守治疗效果较差, 而且对于出血量较多的患者, 往往起不到有效作用。随着胃镜技术的发展, 目前止血多采用去甲肾上腺素喷洒。虽然与以往的止血药静脉注射比较, 其止血效率有了一定的提高, 但是与预期的效果相比, 还是存在一定的差距。

黄妍, 曾昆, 肖政, 华中科技大学附属武汉市普爱医院西院区急诊内科 湖北省武汉市 430034

陈艳, 华中科技大学附属武汉市普爱医院西院区消化内科 湖北省武汉市 430034

黄妍, 主治医师, 主要从事内科急症的临床工作。

作者贡献分布: 本文由黄妍、曾昆、肖政及陈艳共同完成。

通讯作者: 黄妍, 主治医师, 430034, 湖北省武汉市硚口区古田三路, 华中科技大学附属武汉市普爱医院西院区急诊内科。riverhuangyan@hotmail.com

收稿日期: 2013-06-09 修回日期: 2013-07-04

接受日期: 2013-07-05 在线出版日期: 2013-07-28

Efficacy of emergency endoscopic drug spraying vs injection in treatment of non-variceal upper gastrointestinal bleeding

Yan Huang, Kun Zeng, Zheng Xiao, Yan Chen

Yan Huang, Kun Zeng, Zheng Xiao, Department of Emergency Medicine, Puai Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430034, Hubei Province, China

Yan Chen, Department of Gastroenterology, Puai Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430034, Hubei Province, China

Correspondence to: Yan Huang, Attending Physician, Department of Emergency Medicine, Puai Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Gutian San Road, Qiaokou District, Wuhan 430034, Hubei Province, China. riverhuangyan@hotmail.com

Received: 2013-06-09 Revised: 2013-07-04

Accepted: 2013-07-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To compare the clinical efficacy of emergency endoscopic drug spraying versus injection in the treatment of acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding (ANVUGIB).

METHODS: Clinical data for ANVUGIB patients treated at our hospital from January 2010 to January 2013 were retrospectively analyzed. These patients were randomly and equally divided into two groups: a control group and an observation group. The observation group underwent emergency endoscopic injection of adrenalin,

while the control group underwent emergency endoscopic spraying of adrenalin. The hemostatic effect and side effects were compared between the two groups.

RESULTS: The total hemostasis rate was significantly higher in the observation group than in the control group (88.0% vs 78.0%, $P < 0.05$). The rate of adverse reactions was significantly lower in the observation group than in the control group (9.0% vs 32.0%, $P < 0.05$). Compared with pre-treatment values, hemoglobin levels rose in both groups, and the rise was more significant in the observation group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Emergency endoscopic injection of adrenalin is associated with a better hemostatic effect and fewer side effects in the treatment of ANVUGIB.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Emergency endoscopy; Drug spraying; Drug injected; Acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding

Huang Y, Zeng K, Xiao Z, Chen Y. Efficacy of emergency endoscopic drug spraying vs injection in treatment of non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2096-2099 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2096.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2096>

摘要

目的: 观察急诊胃镜下药物喷洒与药物注射两种不同方法在急性非静脉曲张性上消化道出血(acute non-variceal upper gastro intestinal bleeding, ANVUGIB)中的作用以及临床疗效。

方法: 2010-01/2013-01华中科技大学附属武汉市普爱医院西院区收治入院的ANVUGIB患者200例进行分组研究, 予以不同的治疗方式, 其中观察组100例, 采取急诊胃镜下病灶处肾上腺素注射治疗; 对照组100例, 采用急诊胃

■同行评议者

阴赓宏, 研究员, 首都医科大学附属北京友谊医院感染与急救医学; 张庆瑜, 教授, 主任医师, 天津医科大学总医院科研处

镜下病灶处去甲肾上腺素喷洒治疗. 观察两组药物的临床止血作用, 并详细记录止血的时间以及不良反应等观察指标.

结果: 观察组止血总有效率为88.0%, 显著高于对照组的78.0% ($P < 0.05$). 此外, 观察组治疗期间不良反应比例为9.0%, 亦低于对照组的32.0% ($P < 0.05$). 与治疗前相比, 两组患者血红蛋白水平均有一定程度的上升, 其中以观察组上升更为显著, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$).

结论: 急诊胃镜下注射肾上腺素治疗ANVUGIB疗效确切, 止血效果好, 不良反应少, 值得临床推广.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 急诊胃镜; 药物喷洒; 药物注射; 非静脉曲张性上消化道出血

核心提示: 本研究对经急诊胃镜下药物喷洒及药物注射两组不同治疗方案进行了临床观察. 发现经急诊胃镜下肾上腺素止血总有效率达到88.0%, 较对照组的78.0%有了明显的上升. 此外, 就平均止血时间而言, 内镜下止血亦能起到缩短止血时间的效果.

黄妍, 曾昆, 肖政, 陈艳. 急诊胃镜下药物喷洒与药物注射治疗非静脉曲张性上消化道出血的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2096-2099 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2096.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2096>

0 引言

急性非静脉曲张性上消化道出血(acute non-variceal upper gastro intestinal bleeding, ANVUGIB)是急诊科及消化科日常工作中较常见到的一类急性消化系统疾病, 其中呕血、便血是本病的主要临床特征^[1]. 本病的发生、发展较快, 临床病死率较高. 药物静脉止血是临床较为常用的止血方法之一, 用于出血不大, 尚不需要物理止血或手术止血的患者. 但随着研究的深入, 临床发现传统保守治疗效果较差, 而且对于出血量较多的患者, 往往起不到有效作用^[2,3]. 随着胃镜技术的发展, 目前已有直接胃镜下止血报道, 止血多采用去甲肾上腺素喷洒^[4]. 虽然与以往的止血药静脉注射比较, 其止血效率有了一定的提高, 但是与预期的效果相比, 还是存在一定的差距. 华中科技大学附属武汉市普爱医院西院区对200例ANVUGIB患者, 采用急诊胃镜下肾

上腺素注射进行临床治疗, 发现药物注射的止血效果明显优于药物喷洒, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-01/2013-01于华中科技大学附属武汉市普爱医院西院区行急诊内镜检查, 确诊为ANVUGIB的患者200例. 对200例ANVUGIB分为观察组及对照组各100例, 对照组采用急诊胃镜下病灶处去甲肾上腺素喷洒治疗; 观察组采用急诊胃镜下病灶处肾上腺素注射治疗. 对患者的一般资料进行统计, 对照组男61例、女39例, 年龄29-63岁, 平均年龄43.2岁±12.1岁. 观察组男59例、女41例, 年龄31-66岁, 平均年龄42.9岁±12.3岁. 对两组患者的年龄、性别等临床资料进行对比, 发现差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者入院后均禁食, 并给予适当的营养进行静脉补充. (1)对照组: 患者入院后即给予40 mg奥美拉唑加入100 mL生理盐水中进行静脉滴注. 同时, 进行急诊胃镜下去甲肾上腺素喷洒. 治疗前, 将去甲肾上腺素配置成8.00%去甲肾上腺素溶液. 对出血病灶进行喷洒, 最大剂量不超过40 mL; (2)观察组: 患者入院后即给予40 mg奥美拉唑加入100 mL生理盐水中进行静脉滴注. 同时, 进行急诊胃镜下用注射针注射肾上腺素. 治疗前, 将肾上腺素配置成1:10000的肾上腺素溶液. 注射前, 先使用金属钛夹夹住裸露的大血管进行止血. 对于小血管引发的出血, 在病灶部周围1-3 mm处进行肾上腺素的分点注射, 每个位置剂量约为1-2 mL左右, 直至病灶处无活动性出血为止, 注射总剂量不超过10 mL.

1.2.2 疗效标准: 根据临床疗效可分为显效、有效以及无效. 患者呕血或便血症状消失, 大便隐血转阴, 血常规示血红蛋白未再有进行性下降, 则临床提示消化道出血已经停止. 如患者24 h内止血, 为显效; 如24-72 h内止血, 为有效; 如>72 h仍未见明显止血倾向, 为无效.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件, 计量资料以mean±SD表示, 均数比较采用 t 检验、方差因素分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者药物止血情况比较 观察组在治疗

■ 研发前沿

临床研究证明, 去甲肾上腺素对于小血管、微小血管等引发的出血、渗血等具有较强的止血作用. 但对于消化系溃疡等一些出血较多的患者, 去甲肾上腺素的止血作用甚微. 即使能够起到止血的效果, 但是再出血的几率明显提升.

■ 相关报道

研究报道, 对于因大血管出血, 常规药物无法起到短时间内完全止血效果的, 金属钛夹提供了一种新型的治疗方案.

■应用要点

胃镜下注射肾上腺素治疗急性非静脉曲张性上消化道出血疗效确切,能够有效提高止血有效率,缩短止血时间,降低治疗期间各类不良反应的发生,值得在临床上应用与进一步研究。

表 1 两组患者药物止血情况比较 ($n = 100$, mean \pm SD)

分组	24 h	48 h	72 h	治疗无效	平均止血时间(h)	总有效率(%)
观察组	41 ^a	29	18	12	22.7 \pm 7.6 ^a	88.0 ^a
对照组	28	22	28	22	30.1 \pm 9.7	78.0

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

表 2 两组患者不良反应比较 (n)

分组	不良反应	n	比例(%)	不良反应率(%)
对照组				32.0
	腹部不适	8	8.0	
	闷气	3	3.0	
	大便频繁	17	17.0	
	血压不稳	4	4.0	
观察组	腹部不适	9	9.0	9.0 ^a

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

表 3 两组患者治疗前后Hb水平比较 ($n = 100$, mean \pm SD)

分组	治疗前	治疗后
观察组	85.2 \pm 20.1	106.9 \pm 15.5 ^{ac}
对照组	85.9 \pm 19.9	96.5 \pm 14.6 ^a

^a $P < 0.05$ vs 同组治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组。Hb: 血红蛋白。

后,患者24、48 h的止血率明显高于对照组,且平均止血时间,观察组亦明显短于对照组。两组比较差异有统计学差异($P < 0.05$)(表1)。

2.2 两组患者不良反应比较 观察组治疗期间发生不良反应的比例为8.33%,较对照组的30.0%,有明显的下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

2.3 两组患者治疗前后血红蛋白水平比较 两组患者经治疗后,血红蛋白水平较治疗前有明显的上升,两组治疗后比较,以观察组上升更为明显,差异有统计学差异($P < 0.05$)(表3)。

3 讨论

ANVUGIB的病因较多,临床上较为常见的病因有肿瘤、消化系溃疡等,特别肿瘤引起的消化系大出血,约占出血的50%^[5]。胃镜下止血由于能够对出血病灶进行直接处理,因此,逐渐被各级医疗机构采用。去甲肾上腺素是胃镜下最常用的止血药物,研究表明^[6],其具有很强的收缩血管的能力,因此能够在短时间内起到止血

的目的。但是,临床研究亦证明^[7],去甲肾上腺素对于小血管、微小血管等引发的出血、渗血等具有较强的止血作用。但对于消化系溃疡等一些出血较多的患者,去甲肾上腺素的止血作用甚微。即使能够起到止血的效果,但是再出血的几率明显提升。与去甲肾上腺素喷洒不同,肾上腺素注射后可以使得出血病灶周围的血管发生痉挛,同时加强血小板凝集^[8,9]。因此,在药物注射后可以有助于出血血管的血栓形成^[10]。此外,药物注射后,会引发病灶周围组织等出现一定的肿胀,而这些肿胀能够起到压迫血管的作用,进一步起到止血的疗效^[11]。目前的研究认为^[12],胃酸在ANVUGIB过程中扮演了一个重要的角色,而抑制胃酸的分泌能够有效起到止血的效果。其机制在于当胃酸分泌过多时,pH值下降,血凝块能够被胃酸消化,从而不能起到止血的效果。而当pH>6.0时,血小板聚集才能起到止血的效果。但目前临床治疗而言,药物治疗往往存在止血时间长,疗效不佳等缺点。特别在一些危重患者方面,如不进行积极抢救,严重时可以导致患者出现生命危险。而奥美拉唑有较强的抑酸护胃作用,能够起到一定的调节pH效果。

胃镜下止血是当前临床上使用较多的新型止血方案,其可以对病灶直接干预,因此止血时间短,疗效优。在我院对ANVUGIB患者的临床治疗中,特别使用了金属钛夹,因为其能够直接夹闭出现破裂的血管,因此可以立即起到止血

的效果. 有研究显示^[13], 金属钛夹对<3 mm直径的血管破裂出血及局灶性出血效果最优. 研究认为^[14], 金属钛夹通过较强的物理作用力将病灶以及周围组织紧箍, 起到夹闭血管止血的作用. 而且, 一旦当病灶愈合, 金属钛夹可以自行脱离, 并随粪便排出. 因此, 对于因大血管出血, 常规药物无法起到短时间内完全止血效果的, 金属钛夹提供了一种新型的治疗方案^[15].

本研究对经急诊胃镜下药物喷洒及药物注射两组不同治疗方案进行了临床观察. 可以发现, 经急诊胃镜下肾上腺素止血总有效率达到了88.0%, 较对照组的78.0%有了明显的上升. 此外, 就平均止血时间而言, 内镜下止血亦能起到缩短止血时间的效果. 此外, 我们对两组患者治疗期间相关不良反应情况进行了临床观察. 结果发现观察组患者治疗不良反应为9.0%, 较对照组的32.0%有了较为明显的下降. 说明胃镜下进行肾上腺素注射止血, 不但能够提高治疗的有效率, 还能一定程度上减少各类不良反应的发生. 其机制可能在于内镜下止血, 术后各类止血药物服用较少, 从而避免此类药物相关不良反应的出现. 另外, 我们对两组患者治疗前后的血红蛋白水平进行了观察. 由于出血, 两组患者治疗前血红蛋白水平均较正常水平明显的下降. 经过治疗, 两组患者血红蛋白水平均出现一定程度的上升. 说明两组治疗方案均有一定的提高血红蛋白的能力. 但通过对比两组治疗后的血红蛋白水平, 可以发现, 观察组上升的程度是明显优于对照组的. 另一方面说明其止血的效果是优于对照组的, 能够在操作后有效减少渗血的可能.

总之, 胃镜下注射肾上腺素治疗ANVUGIB疗效确切, 能够有效提高止血有效率, 缩短止血时间, 降低治疗期间各类不良反应的发生, 值得临床的应用与进一步研究.

4 参考文献

- 1 辛磊, 彭国林, 廖专, 胡良峰, 常雪娇, 朱明华, 郑建明, 潘春树, 沈茜, 李兆申. 大剂量质子泵抑制剂治疗消化性溃疡出血的研究进展. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 478-480
- 2 张静, 张佳莹, 丁士刚, 王晔, 周丽雅. 内镜止血在急性非静脉曲张性上消化道出血治疗中的临床价值. *北京大学学报(医学版)* 2012; 44: 582-587
- 3 原强, 白旭明, 程龙, 顾星石, 靳勇. 生物蛋白胶栓塞治疗门脉高压性上消化道出血30例. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3397-3402
- 4 Targownik LE, Murthy S, Keyvani L, Leeson S. The role of rapid endoscopy for high-risk patients with acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. *Can J Gastroenterol* 2007; 21: 425-429 [PMID: 17637943]
- 5 饶正伟, 冯轶, 冯刚, 刘蓉, 何璞, 方传达. 氩离子凝固术联合药物治疗急性非静脉曲张性上消化道出血的疗效及安全性研究. *中国全科医学* 2011; 14: 3468-3470
- 6 阮国永, 史薇, 姜英杰, 梁爱霞, 邱桂梅. 急性非静脉曲张性上消化道出血内镜止血成功后再出血的危险因素分析. *现代消化及介入诊疗* 2012; 17: 323-326
- 7 索宝军, 周丽雅, 丁士刚, 郭长吉, 顾芳, 郑亚安. 急性消化道出血的病因及其相关因素分析. *中华医学杂志* 2011; 91: 1757-1761
- 8 杨欣艳, 李京雨, 刘涛, 赵晓军, 李娜, 左富义, 李恕军, 盛剑秋. 急性非静脉曲张性上消化道出血临床分析. *胃肠病学和肝病学杂志* 2012; 21: 727-729
- 9 Targownik LE, Nabalamba A. Trends in management and outcomes of acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding: 1993-2003. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 1459-1466 [PMID: 17101296]
- 10 孙富强, 张鸿欣, 李娜, 陈鑫, 张恩杰. 急诊胃镜检查诊治上消化道出血临床研究. *武警后勤学院学报(医学版)* 2012; 21: 103-105
- 11 《中华内科杂志》编委会, 《中华消化杂志》编委会, 《中华消化内镜杂志》编委会. 急性非静脉曲张性上消化道出血诊治指南(2009, 杭州). *中华消化杂志* 2009; 29: 682-686
- 12 雷天霞, 史美娜, 雷晓毅, 徐桂华, 黄玉林. 老年上消化道出血210例. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3164-3166
- 13 Holster IL, Kuipers EJ. Management of acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding: current policies and future perspectives. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1202-1207 [PMID: 22468083 DOI: 10.3748/wjg.v18.i11.1202]
- 14 张文礼. 胃镜下注射肾上腺素联合钛夹治疗急性非静脉曲张上消化道出血. *中国基层医药* 2010; 17: 2020-2021
- 15 Yang JY, Lee TC, Montez-Rath ME, Paik J, Chertow GM, Desai M, Winkelmayer WC. Trends in acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 495-506 [PMID: 22266666 DOI: 10.1681/ASN.2011070658]

同行评价

本文针对急性非静脉曲张性上消化道出血患者进行回顾性分组研究, 发现急诊胃镜下注射肾上腺素疗效确切, 值得临床推广, 具有一定的临床实用价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



异丙酚联合芬太尼在无痛胃镜麻醉中的应用

赵峰, 庞留成, 赵彦芬, 张振华, 毛轲

■背景资料

胃镜检查术时间多在10 min以内, 异丙酚起效快, 清除快, 适用于胃镜检查术。异丙酚用于胃镜检查术时用量大, 患者苏醒时间长。由于异丙酚镇痛作用弱, 术中患者体动发生率高, 不仅严重影响手术质量, 还可能导致消化道黏膜出血或胃穿孔等并发症的发生。瑞芬芬太尼起效快, 清除快, 镇痛作用较强, 用于胃镜检查术是可行的, 但其对呼吸和循环系统的抑制作用呈剂量依赖性。

赵峰, 庞留成, 赵彦芬, 张振华, 毛轲, 河南省中医院麻醉科
河南省郑州市 450002

赵峰, 主治医师, 主要从事临床麻醉学的研究。

作者贡献分布: 本文研究设计由赵峰完成; 手术中麻醉由庞留成完成; 赵彦芬、张振华及毛轲共同参与本研究。

通讯作者: 赵峰, 主治医师, 450002, 河南省郑州市东风路6号, 河南省中医院麻醉科。q25789611@163.com

收稿日期: 2013-05-13 修回日期: 2013-06-26

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Application of fentanyl and propofol in painless gastroscopy

Feng Zhao, Liu-Cheng Pang, Yan-Fen Zhao, Zhen-Hua Zhang, Ke Mao

Feng Zhao, Liu-Cheng Pang, Yan-Fen Zhao, Zhen-Hua Zhang, Ke Mao, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, Henan Province, China
Correspondence to: Feng Zhao, Attending doctor, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, 6 Dongfeng Road, Zhengzhou 450002, Henan Province, China. q25789611@163.com

Received: 2013-05-13 Revised: 2013-06-26

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To investigate the clinical efficacy and safety of use of propofol and fentanyl in painless gastroscopy.

METHODS: One hundred and sixty patients who underwent painless gastroscopy were randomly and equally divided into either a control group or an observation group. The control group was intravenously injected with midazolam (0.05 mg/kg) and propofol (2.5 mg/kg), while the observation group received fentanyl (1 µg/kg) and propofol (2.5 mg/kg). Mean arterial pressure (MAP), venous oxygen saturation (SPO₂) and heart rate (HR) were compared between the two groups.

RESULTS: The rate of excellent analgesic effect was higher in the observation group than in the control group (100% vs 92.5%, $Z = 2.14$, $P = 0.03$). MAP, SPO₂ and HR declined significantly after treatment in both groups compared to pre-treatment values (all $P < 0.01$).

CONCLUSION: Application of fentanyl and propofol in painless gastroscopy is safe and effective and can alleviate the suffering of patients effectively.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Fentanyl; Propofol; Painless gastroscopy; Midazolam

Zhao F, Pang LC, Zhao YF, Zhang ZH, Mao K. Application of fentanyl and propofol in painless gastroscopy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2100-2103 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2100.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2100>

摘要

目的: 探讨芬太尼和异丙酚在无痛胃镜中的麻醉镇痛效果和安全性。

方法: 将进行无痛胃镜检查的患者随机分为对照组和观察组各80例, 对照组患者先经静脉注入芬太尼1 µg/kg, 随后缓慢推注异丙酚2.5 mg/kg; 治疗组先静脉推注咪唑安定0.05 mg/kg, 再缓慢注入异丙酚2.5 mg/kg, 患者意识和睫毛反射消失后开始检查。比较两组的镇痛效果和检查前、中、后平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、静脉血氧饱和度(venous oxygen saturation, SPO₂)和心率(heart rate, HR)的变化。

结果: 观察组麻醉镇痛效果的优良率为100%, 明显高于对照组($Z = 2.14$, $P = 0.03$)的92.5%, 麻醉后两组患者术中的MAP、HR和SPO₂与术前相比均有所下降, 观察组术后恢复情况较好, 其中HR和SPO₂与对照组有极显著差异($P > 0.01$)。

结论: 应用芬太尼和异丙酚进行无痛胃镜检查安全有效, 可有效减轻患者痛苦。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 芬太尼; 异丙酚; 无痛胃镜; 咪唑安定

核心提示: 单纯使用异丙酚对无痛胃镜检查术患

■同行评议者

钱林学, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院; 马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

者呼吸循环影响大, 胃镜刺激引起的咽部反应和肢体活动多见, 镇静作用维持时间短, 遗忘效果不完善, 常需与其他麻醉镇痛药物联合使用以降低不良反应. 本文对芬太尼和异丙酚在无痛胃镜麻醉中联用进行了临床观察, 为临床应用提供了参考.

赵峰, 庞留成, 赵彦芬, 张振华, 毛轲. 异丙酚联合芬太尼在无痛胃镜麻醉中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2100-2103
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2100.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2100>

0 引言

胃镜作为消化系统疾病的辅助检查手段应用广泛, 但检查时患者常有咽部不适、恶心、咳嗽等不良反应, 使得一些患者术前常感焦虑不安, 甚至拒绝检查而延误病情诊断. 因此, 选择良好的麻醉方法可以消除患者胃镜检查过程中的痛苦, 使患者可以在无痛状态下完成^[1]. 异丙酚以其麻醉效果好、恢复迅速、体内无蓄积的特点, 已在各医院麻醉科广泛使用, 单纯使用异丙酚对无痛胃镜检查患者呼吸循环影响大, 胃镜刺激引起的咽部反应和肢体活动多见, 镇静作用维持时间短, 遗忘效果不完善, 常需与其他麻醉镇痛药物联合使用以降低不良反应^[2]. 本文对芬太尼和异丙酚在无痛胃镜麻醉中联用进行了临床观察, 为临床应用提供参考.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-06/2012-06在本院进行无痛胃镜检查的患者160例, 均为ASA分级 I - II级, 采用双盲随机试验, 使用随机数字表法将入选患者分为对照组80例和观察组80例. 其中, 对照组患者年龄31-69岁, 平均年龄45.2岁±9.8岁, 男52例, 女28例, 初次胃镜检查者62例, 再次检查者18例; 观察组患者年龄34-71岁, 平均年龄47.2岁±10.6岁, 男49例, 女31例, 初次胃镜检查者57例, 再次检查者23例; 两组患者均排除麻醉药物过敏史和麻醉禁忌症, 患者年龄、性别、体质量等差异无统计学意义($P>0.05$), 有可比性. 所有患者于术前签署肠镜及经静脉药物麻醉知情同意.

1.2 方法

1.2.1 手术: 观察组患者先建立静脉通路, 经静脉注入芬太尼1 μg/kg, 随后缓慢推注异丙酚2.5 mg/kg, 患者意识和睫毛反射消失后开始检查;

表 1 镇痛效果对比 (mean ± SD)

分组	镇痛效果n(%)			优良率(%)
	优	良	差	
观察组	72(90.0)	8(10.0)	0(0)	100
对照组	57(71.25)	17(21.25)	6(7.5)	92.5

治疗组患者先静脉推注咪唑安定0.05 mg/kg, 再缓慢注入异丙酚2.5 mg/kg; 于术前、静注异丙酚2 min后(术中)和术后监测平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、静脉血氧饱和度(venous oxygen saturation, SPO₂)和心率(heart rate, HR)的变化, 并与麻醉前相比较, 记录不良反应.

1.2.2 疗效评定标准: 两组患者的镇痛效果评分为: 优, 表情安静, 患者无肢体活动, VAS视觉模拟评分<1分; 良, 表情稍痛苦, 肢体活动幅度较小, 患者较安静, VAS视觉模拟评分1-5分; 差, 表情痛苦、焦虑, 肢体活动幅度大, VAS视觉模拟评分>5分, 检查无法进行. 优+良均计入优良率^[2].

统计学处理 数据采用SPSS13.0统计学软件进行处理. 计量资料以mean±SD表示, 组间比较采用独立样本t检验, 等级资料采用Ridit分析, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

观察组镇痛效果评分为优的患者72例, 良8例, 总优良率100%; 对照组优良率为92.5%, 评分差6例, 其中体动2例, 头晕1例, 呛咳3例. 观察组镇痛效果评分明显高于对照组, 差异有统计学意义($Z = 2.14, P = 0.03$, 表1).

麻醉后两组患者MAP、HR和SPO₂与术前相比均有所下降, 术后均恢复正常. 观察组术后恢复情况较好, 其中HR和SPO₂与对照组有极显著差异($P>0.01$), 表明观察组药物对患者血压和呼吸系统的抑制较小(表2, 3).

3 讨论

常规胃镜检查时患者需忍受插镜引起的咽部不适、恶心、呕吐等痛苦, 极大地影响了诊疗质量^[3]; 无痛胃镜检查使用镇静剂使患者于浅睡眠状态下完成检查, 整个过程患者痛苦较少, 有效降低了患者的应激反应, 稳定机体血液动力学状态, 降低了危险性, 扩大了胃镜诊疗范围, 避免胃穿孔以及减少心理阴影^[4].

异丙酚是一种非巴比妥类短效静脉麻醉药, 具有起效迅速、苏醒快等优点, 特别适合胃

■研发前沿
胃镜检查患者芬太尼复合异丙酚麻醉的效果较好, 但是芬太尼的适宜剂量有待进一步探讨.

■相关报道
徐志勇等的随机、双盲、多中心研究表明, 联用芬太尼, 与单用异丙酚组比较, 同样显示出较好的麻醉效果.

■应用要点

芬太尼和异丙酚联用进行无痛胃镜检查减轻了患者的生理不适和痛苦,避免了心血管呼吸骤停等意外,能提高诊疗准确性,增加复查率,给胃镜检查带来了方便,是有效、安全的检查方法。

表 2 两组患者术前、中和后平均动脉压和静脉血氧饱和度的变化 ($n = 80$, mean \pm SD)

分组	平均动脉压(mmHg)			静脉血氧饱和度(%)		
	术前	术中	术后	术前	术中	术后
对照组	85.3 \pm 12.5	81.7 \pm 14.6	82.1 \pm 10.5	98.5 \pm 2.2	95.7 \pm 3.2	96.2 \pm 2.2
观察组	86.1 \pm 13.1	80.4 \pm 13.5	85.2 \pm 13.8 ^b	98.2 \pm 2.5	96.5 \pm 3.7	98.5 \pm 2.7 ^a
<i>t</i> 值	0.21	0.58	1.67	1.05	1.46	5.90
<i>P</i> 值	0.42	0.27	0.04	0.14	0.07	0.01

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

表 3 两组患者术前、术中和术后心率的变化 ($n = 80$, mean \pm SD)

分组	心率(min ⁻¹)		
	术前	术中	术后
对照组	89.2 \pm 14.7	73.3 \pm 12.5	82.3 \pm 14.5
观察组	88.7 \pm 14.2	75.5 \pm 14.3	86.8 \pm 13.7 ^b
<i>t</i> 值	0.22	1.03	2.02
<i>P</i> 值	0.41	0.15	0.02

^b $P < 0.01$ vs 对照组.

镜、肠镜检查等的麻醉^[5]。但异丙酚镇痛作用较弱,大剂量使用时可能会对心血管功能产生抑制。咪唑安定可在海马区阻止信息从第一级记忆(短时记忆)进入第二级(长时记忆),从而产生顺行性遗忘,起到麻醉作用。芬太尼是阿片类的强效镇痛剂,有良好的镇痛效果,可维持心血管功能稳定^[6],与麻醉药物联合应用,可取长补短,增强异丙酚的致意识消失作用并改善麻醉效果,能明显的减轻患者术后的疼痛和焦虑不适,降低不良反应,同时还可减少药物用量。镇静剂量的异丙酚或复合芬太尼能明显的抑制纤维胃镜检查时硬质纤维镜对咽喉、食管的强烈刺激,可明显抑制患者血压和心率的变化^[7]。

金华等^[8]研究结果表明,胃镜检查术中异丙酚复合咪唑安定、芬太尼可使人睡眠时间缩短,苏醒时间和定向力恢复时间延长,呛咳、流泪、肢体活动、人镜有阻力等胃镜操作反应的发生率较低,需要追加异丙酚率也较低,检查术后完全遗忘率较高,术中血液动力学平稳,提示胃镜检查术中异丙酚复合咪唑安定、芬太尼麻醉时,不仅可以增强催眠作用,而且可以抑制对伤害性刺激的反应。徐志勇等^[9]的随机、双盲、多中心研究结果表明,联用芬太尼,与单用异丙酚组比较,同样显示出较好的麻醉效果。

本研究观察结果显示:观察组麻醉镇痛效

果的优良率达到了100%,明显高于对照组,差异有统计学意义($Z = 2.14$, $P = 0.03$),表明芬太尼和异丙酚联用能更好地减轻患者痛苦;两组术后监测MAP、SPO₂和HR的变化均低于术前,其中观察组术后恢复情况较好,HR和SPO₂与对照组比较,差异有显著统计学差异($P < 0.01$),表明患者术后的心血管功能和呼吸系统稳定,无不良反应。结果表明,无痛胃镜检查安全有效,但在检查中仍要严格监测患者的生命体征,静脉用药时要缓慢,以免引起严重的呼吸抑制。本研究结果与以往研究^[10-15]结果一致。

本研究结果表明,芬太尼和异丙酚联用进行无痛胃镜检查减轻了患者的生理不适和痛苦,避免了心血管呼吸骤停等意外,能提高诊疗准确性,增加复查率,给胃镜检查带来了方便,是有效、安全的检查方法。

4 参考文献

- 侯守琳, 张燕, 李滔, 何春华. 老年患者无痛胃镜检查的不良反应及处理. 临床麻醉学杂志 2009; 25: 826
- Zeppetella G, Messina J, Xie F, Slatkin NE. Consistent and clinically relevant effects with fentanyl buccal tablet in the treatment of patients receiving maintenance opioid therapy and experiencing cancer-related breakthrough pain. *Pain Pract* 2010; 10: 287-293 [PMID: 20230447 DOI: 10.1111/j.1533-2500.2010.00359.x]
- 杨文燕, 李小燕. 80岁以上老年人无痛胃镜检查的评估及对策. 昆明医学院学报 2010; (4): 138-139
- Holdgate A, Cao A, Lo KM. The implementation of intranasal fentanyl for children in a mixed adult and pediatric emergency department reduces time to analgesic administration. *Acad Emerg Med* 2010; 17: 214-217 [PMID: 20070272 DOI: 10.1111/j.1553-2712.2009.00636.x]
- Osinaike BB, Akere A, Olajumoke TO, Oyebamiji EO. Cardiorespiratory changes during upper gastrointestinal endoscopy. *Afr Health Sci* 2007; 7: 115-119 [PMID: 17594289]
- 黎永军, 齐翠花, 田江, 吴秀玲. 异丙酚及其联合芬太尼应用于老年无痛胃镜30例. 世界华人消化杂志 2013; 21: 690-693
- Cicero TJ, Ellis MS, Paradis A, Ortbal Z. Determi-

- nants of fentanyl and other potent μ opioid agonist misuse in opioid-dependent individuals. *Pharmacoevidemiol Drug Saf* 2010; 19: 1057-1063 [PMID: 20597128 DOI: 10.1002/pds.1989]
- 8 金华, 衡新华, 李德亮, 唐天云, 李勇军, 唐晓丹. 胃镜检查术患者异丙酚复合咪唑安定、芬太尼麻醉的效果. *中华麻醉学杂志* 2006; 26: 375-376
 - 9 徐志勇, 王晓, 黄景峰, 杨静, 刘进, 曹剑, 易斌, 陶国才, 张涛, 罗爱林, 田玉科, 华震, 左明章, 刘翔. 胃镜检查术患者不同剂量瑞芬太尼复合异丙酚麻醉效果的比较随机、双盲、多中心研究. *中华麻醉学杂志* 2008; 28: 86-87
 - 10 杨静, 罗俊, 王晓, 刘进. 胃镜检查术患者乳化依托咪酯-芬太尼咪唑安定麻醉的效果. *中华麻醉学杂志* 2008; 28: 293-296
 - 11 徐志勇, 王晓, 李杰, 思永玉, 刘进. 瑞芬太尼在无痛胃镜中的应用研究. *临床麻醉学杂志* 2006; 22: 58-59
 - 12 Egan TD, Kern SE, Muir KT, White J. Remifentanyl by bolus injection: a safety, pharmacokinetic, pharmacodynamic, and age effect investigation in human volunteers. *Br J Anaesth* 2004; 92: 335-343 [PMID: 14970134 DOI: 10.1093/bja/ae075]
 - 13 张艺沈, 米卫东, 张宏咪唑安定和丙泊酚复合应用对术中患者遗忘作用的研究. *临床麻醉学杂志* 2002; 18: 332-333
 - 14 孟彤, 岳云, 贾宝森. 术前口服咪唑安定的遗忘作用与内隐记忆的关系. *临床麻醉学杂志* 2001; 17: 177-179
 - 15 Clarke AC, Chiragakis L, Hillman LC, Kaye GL. Sedation for endoscopy: the safe use of propofol by general practitioner sedationists. *Med J Aust* 2002; 176: 158-161 [PMID: 11913915]

■同行评价

本文方法科学, 设计合理, 统计学处理方法使用恰当, 科学结论明确, 有一定的参考价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



拉萨地区社区人群的胃癌流行病学特征

旦增, 李康, 王中华, 向巴泽西, 刚组, 赤列旺姆, 蒋秀英, 巴桑, 旺加, 次仁扎西, 次旦伦珠, 德吉

■背景资料

胃癌是西藏地区最常见的恶性肿瘤之一, 但胃癌的发病状况并不十分明确, 为明确胃癌流行特征, 进一步提高高原地区胃癌的预防及诊治水平, 我们开展了以拉萨地区社区人群为研究现场的胃癌流行病学调查。

旦增, 李康, 王中华, 向巴泽西, 刚组, 赤列旺姆, 蒋秀英, 巴桑, 旺加, 西藏自治区人民医院消化内科 西藏自治区拉萨市 850000

次仁扎西, 次旦伦珠, 德吉, 西藏自治区拉萨市堆龙德庆县乃琼镇社区卫生所 西藏自治区拉萨市 850002

旦增, 主任医师, 主要从事高原消化系统疾病的基础研究及临床诊治。

国家自然科学基金资助项目2010, No. 81060206

作者贡献分布: 本文由旦增负责课题设计和文章撰写; 李康负责课题实施、资料收集及文章校对; 王中华、旺加、刚组、向巴泽西、赤列旺姆、蒋秀英及巴桑负责胃镜筛查; 次旦伦珠、次仁扎西及德吉负责流行病学调查。

通讯作者: 李康, 副主任医师, 850000, 西藏自治区拉萨市林廓北路18号, 西藏自治区人民医院消化内科。

likang820@aliyun.com

收稿日期: 2013-03-01 修回日期: 2013-07-03

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-07-28

Epidemiological features of gastric cancer in a community population in Lhasa

Zeng Dan, Kang Li, Zhong-Hua Wang, Ze-Xi Xiangba, Zu Gang, Wang-Mu Chilie, Xiu-Ying Jiang, Sang Ba, Jia Wang, Zha-Xi Ciren, Lun-Zhu Cidan, Ji De

Zeng Dan, Kang Li, Zhong-Hua Wang, Ze-Xi Xiangba, Zu Gang, Wang-Mu Chilie, Xiu-Ying Jiang, Sang Ba, Jia Wang, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Tibet Autonomous Region, Lhasa 850000, China
Zha-Xi Ciren, Lun-Zhu Cidan, Ji De, Healthcare Center of Naiqiong Community, Duilongdeqing County, Lhasa, Tibet Autonomous Region, Lhasa 850002, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060206

Correspondence to: Kang Li, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Tibet Autonomous Region, 18 Linkuo North Road, Lhasa 850000, Tibet, China. likang820@aliyun.com

Received: 2013-03-01 Revised: 2013-07-03

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To analyze the epidemiological features of gastric cancer in a community population in Lhasa to provide a theoretical basis for comprehensive prevention and treatment of gastric cancer in the plateau region.

METHODS: This survey was designed to investigate the incidence and prevalence of gastric cancer in a population in Naiqiong community, which is located in Duilongdeqing county, Lha-

sa. A total of 9423 subjects participated in this survey on 1 July, 2010. All the participants had an age above 35 years. They selectively underwent either sequence mass screening program for gastric cancer for high-risk population or sequence mass screening program for fecal occult blood test by filling out questionnaires. Disease and death registries were conducted.

RESULTS: The rough incidence of gastric cancer was 64.8/100000 (79.1/100000 for males and 52.0/100000 for females), the rough prevalence was 96.7/100000 (123.9/100000 for males and 72.2/100000 for females), and the rough mortality rate was 31.8/100000 (44.8/100000 for males and 20.2/100000 for females).

CONCLUSION: The incidence of gastric cancer in Lhasa community population is significantly higher than national average level. Effective measures catering to epidemiological features in the plateau region should be implemented to prevent and treat gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Epidemiology; Community population; Lhasa

Dan Z, Li K, Wang ZH, Xiangba ZX, Gang Z, Chilie WM, Jiang XY, Ba S, Wang J, Ciren ZX, Cidan LZ, De J. Epidemiological features of gastric cancer in a community population in Lhasa. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2104-2108 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2104.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2104>

摘要

目的: 应用流行病学的方法探讨拉萨地区社区人群胃癌流行特征, 为高原地区胃癌的综合防治提供科学依据。

方法: 选择拉萨市堆龙德庆县乃琼镇社区作为调查研究现场, 取2010-07-01时间截面的全人口9423人, 以35岁以上人群作为调查对象, 通过问卷调查选择“高危人群胃癌序贯筛检方案和“大便隐血试验序贯筛检方案”, 并进

■同行评议者

黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

行疾病登记和死亡登记, 从而探讨拉萨地区一个完整社区人群胃癌的患病和发病情况。

结果: 拉萨地区社区人群胃癌粗发病率为64.8/10万(男性79.1/10万, 女性52.0/10万); 粗患病率为96.7/10万(男性123.9/10万, 女性72.2/10万); 粗死亡率为31.8/10万(男性44.8/10万, 女性20.2/10万)。

结论: 拉萨地区社区人群胃癌发病明显高于全国平均水平, 应结合高原地区发病特点因地制宜积极做好综合防控工作。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胃癌; 流行病学; 社区人群; 拉萨地区

核心提示: 本文以拉萨地区社区人群为研究现场, 通过问卷调查选择“高危人群”联合“大便隐血试验”的胃癌序贯筛查方案。结果显示, 拉萨地区社区人群胃癌发病明显高于全国平均水平, 应结合高原地区胃癌发病特点因地制宜积极做好综合防控工作。

旦增, 李康, 王中华, 向巴泽西, 刚组, 赤列旺姆, 蒋秀英, 巴桑, 旺加, 次仁扎西, 次旦伦珠, 德吉. 拉萨地区社区人群的胃癌流行病学特征. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2104-2108 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2104.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2104>

0 引言

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 病死率高, 对人类健康和生命构成严重威胁。据2000年资料统计, 全球每年新发胃癌占有新发癌症病例的9%, 仅次于肺癌、乳腺癌和肠癌之后, 位居第4位^[1]。尽管胃癌其发病率在全球呈普遍下降趋势, 但在中国、日本和拉丁美洲地区仍维持较高的发病率^[2]。据估计, 2002年全球新发胃癌病例92.3万, 其中42%的病例发生在中国^[3,4]。2005年统计结果显示我国胃癌发病率在男性中达37.1/10万, 女性中为17.4/10万^[5]。在中国, 胃癌的死亡率为男性: 40.8/10万, 女性: 18.6/10万, 分别是欧美发达国家的4.2-7.9倍和3.8-8.0倍, 并且有明显的地区和城乡差异, 农村是城市的1.6倍^[6,7]。

胃癌的病因和危险因素很复杂, 是环境和遗传因素综合作用的结果, 流行病学研究认为, 胃癌的发生主要与环境、饮食、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染、吸烟、饮酒等因素关系密切^[8,9]。西藏地区是全国胃癌高发区之

一^[10], 已严重威胁到高原人民群众的生命健康, 对胃癌的流行病学研究已成为当前高原医学工作的重要课题之一。为掌握高原地区胃癌的发病状况、明确胃癌流行特征, 进一步提高胃癌的预防及诊治水平, 从而为各级卫生部门制定胃癌的综合防治策略提供科学依据。因此, 本课题拟在以往工作的基础上, 结合国内外胃癌普查经验, 以西藏拉萨地区社区人群为研究现场, 开展了高原地区胃癌的流行病学研究。

1 材料和方法

1.1 材料 选择拉萨市堆龙德庆县乃琼镇社区作为调查研究现场, 来探讨西藏高原地区一个完整社区人群胃癌的患病及发病情况。乃琼镇地处西藏中部青藏高原腹地, 拉萨河畔, 平均海拔3650-4000 m左右, 距拉萨市区13公里。全镇共有6个行政村, 当地主要以农业为主, 气候特点呈现冬季寒冷干燥, 夏季温暖湿润, 干湿季分明, 昼夜温差大, 无霜期较短。农作物以青稞、小麦、土豆、油菜花等为主, 2010年全镇人口2880户, 共9423人。采用整群抽样的方法选取拉萨市堆龙德庆县乃琼镇社区6个自然行政村35岁以上世居藏族人群作为调查对象。符合下列条件者为胃癌高危人群: (1)家族一级亲属中患有胃癌病史者, 年龄 \geq 亲属胃癌诊断年龄-10岁; (2)有长期慢性萎缩性胃炎史, 尤其是伴肠化、不典型增生者; (3)有胃溃疡病史; (4)胃手术史; (5)患有胃息肉病史等。有下列一项或一项以上者为症状人群: (1)长期反复腹痛、腹胀、反酸、嗝气、恶心、呕吐; (2)不明原因食欲减退、贫血、消瘦、黑便; (3)不明原因上腹部不适; (4)不明原因上腹部包块。

1.2 方法

1.2.1 调查方法: 根据高原地区藏族人群人口特征, 生活特点等设计问卷调查表, 主要内容包括患者一般情况、消化系统症状及体征、既往疾病史及个人史(包括消化疾病史及肿瘤家族史); 生活方式及饮食情况等。问卷调查采取面访的方式亲自深入到调查人群家中调查, 结束后当场收回调查问卷。调查之前对社区调查员(社区医生、乡村医生)进行培训, 了解流行病学的基本方法和原则, 使社区医生掌握调查方法, 并能独立完成问卷调查。

发病率的调查采取现况调查的研究设计方案, 随机整群抽样拉萨市堆龙德庆县乃琼镇社区6个自然行政村进行胃癌筛查。通过借鉴国内

■研发前沿
胃癌已成为严重威胁西藏高原地区人民群众健康的消化系肿瘤, 预后差, 病死率高。本文通过高原地区一个完整社区人群进行胃癌筛查, 从而了解西藏地区胃癌患病及发病情况。

■相关报道
科学的筛查方案应该是可靠、简便、较为实用易于群众所接受。在胃癌筛查方面我国林三仁教授根据我国国情, 提出以胃镜检查为最终手段的胃癌序贯筛查法的研究, 通过对该方法进行有效性的评价, 认为该筛查方法切实可行, 可在我国加以广泛推广应用。

■ 创新盘点

该研究课题首次
在西藏地区进行
了基于社区人群
为基础的“高危
人群胃癌序贯筛
检联合“大便隐
血试验序贯筛
检”的胃癌流行
病学筛查方案,对
于高原地区采取
科学的综合预防
策略有重要意义。

胃癌筛查经验^[11-14],结合西藏高原地区实际情况,本次普查我们同时使用两种筛检方案:(1)“高危人群胃癌筛检方案”:问卷调查→高危人群和症状人群→电子胃镜检查;(2)“大便隐血试验(FOBT)筛检方案”:FOBT检测试纸法阳性→电子胃镜检查。大便隐血试验现场进行,使用的单克隆抗体由艾博生物医药(杭州)有限公司提供(生产批号为201006173/3)。对调查发现高危人群、症状人群和大便隐血试验阳性者发放胃镜检查卡,定期安排到西藏自治区人民医院(拉萨)消化内镜中心进行电子胃镜检查。同时对该5个镇进行疾病登记和死因登记,调查该地区胃癌的患病和死亡情况。胃癌发病率锁定时间为2010-01-01/2010-12-31。6个村社区人口数锁定时间为2010-07-01。在调查中要求认真做好质量控制措施,并在规定时间内完成。

1.2.2 操作步骤:拉萨市堆龙德庆县乃琼镇6个自然行政村全人口→问卷调查+大便隐血实验→高危人群、症状人群和粪便潜血实验阳性者→电子胃镜检查。胃镜检查前签署知情同意书,所有病变诊断及转归的判定均以组织病理学检测为依据,病理诊断采用WHO的病理学标准。

统计学处理 所有普查结果均由双人独立输入计算机,用EpiData3.1建立数据库,并进行一致性检验。数据分析均在SPSS15.0统计学软件包完成。

2 结果

2.1 问卷调查结果 社区6个行政村常住世居藏族人口共9423人(男性4463人,女性4960人),本次调查选取35岁以上人群作为调查对象,经统计共约4512人。问卷调查采取面访形式进行,共1843人参加调查问卷,剔除不合格问卷调查12份,共1831人完成有效调查问卷,占该社区6个行政村常住35岁常住人口的40.6%,涉及藏族农户1238个家庭。调查符合高危人群254例,症状人群442例,高危人群及症状人群合计共约696人,检出率为38.0%(696/1831)。

2.2 大便隐血检查结果 总共完成大便隐血试验检查1281例,阳性36例,阳性率2.8%。高危人群254例中,阳性9例,阳性率3.5%。442例症状人群中,阳性27例,阳性率6.1%。

2.3 内镜检查结果 需内镜检查696人(所有免疫法粪隐血试验阳性者+高危人群隐血试验阴性者+症状人群隐血试验阴性者),实际镜检447人(男性203例,女性244例),镜检应答率为64.2%。

镜检结果:胃癌2例,胃癌检出率0.29%(2/696),分别发现早期胃癌1例,进展期胃癌1例。同时,胃镜检出其他上消化道疾病包括:复合型溃疡2例、胃溃疡17例、幽门管溃疡1例、贲门口溃疡2例、幽门口息肉1例、幽门口炎1例、十二指肠球部溃疡8例、反流性食管炎10例、食管静脉曲张2例、食管糖原沉积症1例、高山食管胃黏膜像5例、霉菌性食管炎1例、巴雷特食管4例、贲门口炎6例、贲门失弛缓症1例、慢性浅表性胃炎99例、糜烂性胃炎159例、胆汁反流性胃炎66例、慢性萎缩性胃炎30例、胃底静脉曲张1例、胃窦痘疹5例、胃窦息肉4例、胃窦异位胰腺1例、十二指肠痘疹1例、十二指肠球炎14例、残胃炎1例、吻合口炎2例。

2.4 胃癌登记结果 2010-07-01社区常住世居藏族人口为9423人,2010-01-01/2010-12-31 2例(男性2例,女性1例)在筛检时间前被诊断为胃癌,另有3例死于胃癌(其中男2例,女1例)。

2.5 胃癌发病率、患病率和死亡率 本次调查乃琼镇社区人群接受内镜检查者共447人(男性203例,女性244例),检出胃癌两例(男性1例、女性1例),推算需内镜检查696人(男性311例,女性385例)中可检出胃癌男性:($1/203 \times 311$) = 1.53,女性:($1/244 \times 385$) = 1.58。换言之,样本区1831人可检出胃癌男性1.53例,女性1.58例,加上2010年1月1日-2010年12月31日登记的胃癌病例(男性2例,女性1例),共计男性3.53例,女性2.58例。因此,乃琼镇社区人群男性胃癌粗发病率: $3.53/4463 \times 10^5 = 79.1/10$ 万;女性胃癌粗发病率: $2.58/4960 \times 10^5 = 52.0/10$ 万。社区人口胃癌粗发病率为:($3.53+2.58$)/9423 $\times 10^5 = 64.8/10$ 万。

问卷调查1831例中,有胃癌病史3例(男性2例,女性1例),因此胃癌粗患病率为($3.53+2.58+3$)/9423 $\times 10^5 = 96.7/10$ 万。男性胃癌粗患病率:($3.53+2$)/4463 $\times 10^5 = 123.9/10$ 万;女性胃癌粗患病率:($2.58+1$)/4960 $\times 10^5 = 72.2/10$ 万。

社区全人口9423人中胃癌死亡3例(其中男性2例,女性1例),胃癌粗死亡率为3/9423 $\times 10^5 = 31.8/10$ 万。男性胃癌粗死亡率:2/4463 $\times 10^5 = 44.8/10$ 万;女性胃癌粗死亡率:1/4960 $\times 10^5 = 20.2/10$ 万。

3 讨论

科学的筛检方案应该是可靠、简便、费用少,较为实用易于群众所接受,通过筛查通常可以发现早期胃癌。目前认为早期胃癌预后好,其5

年及10年生存率均在90%以上, 而晚期胃癌的5年生存率仅有20%左右^[15].

由于胃癌的症状无特异性, 我国超过90%的胃癌患者常规诊断时已是中晚期, 从而失去了治疗疾病的最佳时机, 预后差. 因此, 加强胃癌筛查是早期诊断与治疗的基础, 也是降低胃癌死亡率的关键一环. 近几十年来发达国家胃癌的发病率和死亡率在有显著下降, 其中以日本最为显著^[16,17]. 自20世纪60年代以来, 日本政府就开展了以胃气钡双重对比造影结合内镜检查的全民普查方法, 大大提高了早期胃癌的检出率. 在日本, 胃癌死亡率持续下降主要归功于早诊早治方法的改进, 并在社区水平上进行干预. 而根据我国国情在胃癌筛查方面, 目前倾向于对胃癌高危人群的重点筛查工作, 通过胃镜检查从而达到早诊断、早治疗, 从而降低胃癌死亡率^[18,19].

拉萨市堆龙德庆县乃琼镇位于西藏自治区青藏高原腹地, 当地常住人口均为世居藏族, 主要以农业为主, 属于典型的高原农业居住区生活习惯及饮食结构特点, 居住地人口较为集中, 可基本代表西藏高原农村地区社区基本状况. 通过借鉴国内胃癌筛查经验, 结合西藏地区实际情况, 总结我们以往本地区工作经验, 本次普查我们采取社区人群问卷调查, 筛出高危人群、症状人群以及大便隐血试验阳性者进一步进行电子胃镜检查.

本次普查的数据表明, 拉萨地区社区藏族人群胃癌的粗发病率为64.8/10万, 明显高于全国总体水平^[5]及世界平均水平^[3], 处于我国胃癌高发地区, 成为影响本地区社区人群的最主要恶性肿瘤. 同时我们在本次电子胃镜筛查中发现, 内镜检出最多的胃部疾病是糜烂性胃炎, 比例高达35.6%(159/447), 而胃癌癌前疾病包括慢性萎缩性胃炎、胃溃疡分别达到6.7%(30/447)、4.9%(22/447), 分别在检出各种胃部疾病位列第四、五位. 各种类型胃炎合计占胃镜检出各种疾病总人数高达81.4%(364/447), 表明本地区患慢性胃炎, 消化性溃疡等消化系统疾病十分普遍, 成为本地区最常见的上消化道疾病, 可能为胃癌的进一步发生提供了前提条件.

胃癌的发生是多因素、多阶段、多环节作用的结果, 目前发病机制还不甚清楚. 国内与胃癌相关的危险因素包括环境和饮食、不良的生活方式、*H. pylori*、遗传和癌前状态等^[20,21].

青藏高原特殊的自然环境条件下, 由于气候环境、地理条件、生活习惯等因素的差异, 高原藏族人群饮食中肉、动物油脂比重大, 而蔬菜水果相对偏少, 日常饮料以茶(盐茶、酥油茶)、和酒(青稞酒)为主. 饮食结构中食物普遍较为粗糙、坚硬、高钠、高脂, 具有喜食生硬、辛辣食物的特点, 人群*H. pylori*感染率高, 服用非甾体类解热镇痛药物较为普遍, 患消化系统疾病十分普遍^[22]. 以往我们进行的一项有关高原地区胃癌危险因素病例-对照的研究中, 已经证实高原藏族人群经常进食坚硬食物、高钠摄入、长期患慢性萎缩性胃炎、胃溃疡以及*H. pylori*感染成为高原人群患胃癌的主要危险因素^[23]. 本次胃镜筛查人群患胃溃疡, 慢性萎缩性胃炎等癌前疾病所占比例较高, 也印证了这一点. 在保护因素方面, 由于高原地区属于高寒缺氧地区, 受地理环境及气候条件影响, 广大农村地区蔬菜、水果生长种类及产量本身较少, 再加上生活习惯等原因, 本地区人群较平原地区摄入量明显不足. 另外, 有研究认为高原缺氧条件下可造成机体胃黏膜缺血缺氧, 细胞凋亡增加^[24], 以及低氧环境人体胃动力异常, 胃腔的生理功能发生改变, 使得胃黏膜屏障受损, 其自身修复能力减弱, 易导致各种有害因子的侵袭, 胃部病变长期不愈或反复发作, 从而可能造成各种胃癌癌前疾病、癌前病变在高原地区高发.

通过本次普查, 我们确定了样本区胃癌的高危人群, 为今后胃癌的筛查和监控(随访)提供了目标人群, 同时也为西藏高原地区进行更大规模的普查奠定了基础, 积累了宝贵的筛查经验. 通过本次调查, 针对高原地区胃癌及癌前疾病高发的状况, 应当引起当地各级政府及医疗卫生部门的高度重视, 通过普及胃镜检查手段, 进一步提高上消化道疾病诊治水平, 积极开展各种胃癌癌前疾病、癌前病变的早诊早治成为当务之急. 与此同时, 要积极做好本地区胃癌常见病因及相关危险因素的预防工作, 尤其在广大农村、牧区, 对广大农牧民群众进行广泛健康教育, 大力宣传胃癌防治知识, 提高防癌意识, 倡导健康科学的生活方式. 我们相信, 此举将对于降低本地区胃癌的发病, 提高西藏地区人民群众的健康水平, 造福于高原各族人民具有重要意义.

志谢 本次胃癌流行病学调查得到当地拉萨市堆

应用要点

拉萨地区胃癌序贯筛查方案的实施, 为今后高原地区胃癌的筛查和监控(随访)提供了目标人群, 同时也为西藏高原地区进行更大规模的普查奠定了基础, 积累了宝贵的筛查经验.

同行评价

本文对拉萨地区社区人群的胃癌流行病学特点进行了初步调查,为高原地区胃癌的综合防治提供了科学依据。

龙德庆县卫生局、拉萨市堆龙德庆县乃琼镇政府、乃琼镇社区卫生所、各乡村医务室、乡村医生、村官给予的全力支持和密切配合,是本项目得以顺利完成的基础和保证。在此,我们表示衷心的感谢!

4 参考文献

- Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol* 2001; 2: 533-543 [PMID: 11905707 DOI: 10.1016/S1470-2045(01)00486-7]
- Terry MB, Gaudet MM, Gammon MD. The epidemiology of gastric cancer. *Semin Radiat Oncol* 2002; 12: 111-127 [PMID: 11979413 DOI: 10.1053/srao.30814]
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]
- Ferlay J, Bray, Pisani P. GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide [CP]. IARC Cancer Base, No 5, version 2.0. Lyon: IARC Press, 2004
- 杨玲, 李连弟, 陈育德, Parkin DM. 中国2000年及2005年恶性肿瘤发病死亡的估计与预测. *中国卫生统计杂志* 2005; 4: 218-221
- 孙秀娣, 牧人, 周有尚, 戴旭东, 张思维, 皇甫小梅, 孙杰, 李连弟, 鲁凤珠, 乔友林. 中国胃癌死亡率20年变化情况及其发展趋势预测. *中华肿瘤杂志* 2004; 1: 4-9
- 李连弟, 鲁凤珠, 张思维. 1990-1992年中国恶性肿瘤死亡流行分布情况分析. *中华肿瘤杂志* 1996; 6: 403-407
- Forman D. The etiology of gastric cancer. *IARC Sci Publ* 1991; (105): 22-32 [PMID: 1855854]
- Zhang ZF, Kurtz RC, Sun M, Karpeh M, Yu GP, Gargon N, Fein JS, Georgopoulos SK, Harlap S. Adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia: medical conditions, tobacco, alcohol, and socioeconomic factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5: 761-768 [PMID: 8896886]
- 李康, 旦增, 张亚历. 西藏地区肿瘤住院患者构成分析. *中国公共卫生* 2008; 24(Suppl): 55-57
- 丘新尧, 史奎雄, 施榕, 屠基陶, 陈浩泉. 胃癌的筛检-模式识别程序建立及现场应用. *中国卫生统计杂志* 1994; 5: 47-50
- 樊代明, 吴开春. 胃癌的生物学研究进展. *中国肿瘤杂志* 1995; 2: 12-14
- 丁士刚, 王觉生, 林三仁, 赵一鸣, 周丽雅. 胃癌序贯筛查法对降低胃癌死亡率的作用. *中国肿瘤临床与康复* 2001; 3: 38-40
- 孙远杰, 柳燕, 鲍晓蕾, 刘志忠, 杨丽, 曹霞, 徐涛. 早期胃癌序贯筛查的流行病学结果分析. *中国临床研究* 2010; 7: 560-562
- Vornovitskiĭ EG, Ignat'eva VB, Gollash M, Kulikov VI, Lipatkina LIu. [Cardiodepressive effect of platelet activating factor]. *Biull Eksp Biol Med* 1989; 107: 27-30 [PMID: 2914168 DOI: 10.1007/BF00837050]
- Miki K, Ichinose M, Ishikawa KB, Yahagi N, Matsushima M, Kakei N, Tsukada S, Kido M, Ishihama S, Shimizu Y. Clinical application of serum pepsinogen I and II levels for mass screening to detect gastric cancer. *Jpn J Cancer Res* 1993; 84: 1086-1090 [PMID: 8226283 DOI: 10.1111/j.1349-7006.1993.tb02805.x]
- Pisani P, Parkin DM. Screening for gastric cancer. *Cancer Treat Res* 1996; 86: 113-119 [PMID: 8886441 DOI: 10.1007/978-1-4613-1265-9_8]
- 林三仁, 王润田. 胃癌的早期诊断与胃癌普查. *中国肿瘤杂志* 1994; 3: 3-5
- 林三仁, 王润田. 胃癌早期诊断及筛查方法的研究(上). *内镜杂志* 1991; 1: 5-6
- 孙喜文, 姜景山, 戴旭东, 刘明, 石于波. 胃癌可疑危险因素病例对照研究. *中国慢性病预防与控制* 2000; 5: 259-262
- 刘新民, 王庆生, 马俊, 林小萍, 白广义, 吴树欣. 胃癌危险因素的病例对照研究. *中国慢性病预防与控制* 2001; 1: 10-12
- 黄跃, 蒋泗元. 世居高原藏族膳食营养及卫生习惯与疾病的关系. 拉萨: 首届西藏地区消化及内窥镜学术研讨会会议论文集, 2005: 38-42
- Li K, Zhang YL, Dan Z, Zhaxi CM, Nie J. Risk factors for the gastric cancer: a case-control study in Tibet. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 78-79 [PMID: 18632315 DOI: 10.1016/j.dld.2008.06.003]
- 张翠萍, 谢印芝, 尹昭云. 高原低氧对消化系统生理功能影响及病理性损伤. *解放军预防医学杂志* 2003; 3: 229-231

编辑 田滢 电编 鲁亚静



两种方法检测乙型肝炎患者血清HBV-DNA的应用价值

叶儒军, 郑培锐, 区宇洁, 魏威

叶儒军, 梁平县人民医院检验科 重庆市梁平县 405211
郑培锐, 区宇洁, 中山大学达安基因股份有限公司 广东省广州市 510000
魏威, 南方医科大学生物技术学院 广东省广州市 510515
叶儒军, 主管检验师, 主要从事临床检验方面的研究。
作者贡献分布: 此课题由魏威设计; 研究过程由叶儒军实施完成; 数据分析及病理支持由区宇洁与郑培锐完成; 本论文写作由叶儒军、魏威及区宇洁共同完成。
通讯作者: 魏威, 讲师, 510515, 广东省广州市广州大道北1838号, 南方医科大学生物技术学院. www.wei20052005@163.com
收稿日期: 2013-06-09 修回日期: 2013-07-04
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-07-28

PCR-EB qualitative analysis versus amp-lisensor quantitative assay for detection of HBV-DNA in serum in patients with hepatitis B

Ru-Jun Ye, Pei-Rui Zheng, Yu-Jie Ou, Wei Wei

Ru-Jun Ye, People's Hospital of Liangping County, Chongqing 405211, China
Pei-Rui Zheng, Yu-Jie Ou, Ann Gene Co., LTD, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510000, Guangdong Province, China
Wei Wei, College of Biotechnology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Correspondence to: Wei Wei, College of Biotechnology, Southern Medical University, 1838 Guangzhou Road, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. www.wei20052005@163.com
Received: 2013-06-09 Revised: 2013-07-04
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To compare the application value of PCR-EB qualitative analysis versus amp-lisensor quantitative assay in the detection of HBV-DNA in serum in patients with hepatitis B.

METHODS: PCR-EB qualitative analysis or amp-lisensor quantitative assay was used to detect serum HBV-DNA levels in patients with hepatitis B who were positive for both HBsAg and anti-HBs (group A), those positive for HBsAg alone (group B), those positive for anti-HBs alone (group C), or those negative for both HBsAg and anti-HBs (group D). The detection rate of serum HBV-DNA was compared between the two groups.

RESULTS: HBsAg (S/N) value was significantly higher in group than in group A ($P < 0.05$), and anti-HBs value was significantly higher in group C than in group A ($P < 0.05$). The detection rate of serum HBV-DNA by Amp-lisensor quantitative assay was significantly higher than that by PCR-EB qualitative analysis ($P < 0.05$). For amp-lisensor quantitative assay, the positive rate of serum HBV-DNA was lowest in patients of group C ($P < 0.05$). Serum HBV-DNA rose significantly in patients with hepatitis B. HBV-DNA levels were significantly higher in groups A and B than in groups C and D (all $P < 0.05$), but showed no significant differences between groups A and B ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Amp-lisensor quantitative assay has a high sensitivity in the detection of serum HBV-DNA and is even able to detect HBV-DNA in patients who are positive for anti-HBs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: PCR-EB; Amp-lisensor; Hepatitis B virus; HBV-DNA

Ye RJ, Zheng PR, Ou YJ, Wei W. PCR-EB qualitative analysis versus amp-lisensor quantitative assay for detection of HBV-DNA in serum in patients with hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2109-2112 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2109.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2109>

摘要

目的: 观察两种不同方法检测乙型肝炎患者血清中的乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)-DNA的应用价值比较。

方法: 分别使用PCR-EB定性及Amp-lisensor定量法对HBV患者, 乙型肝炎表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)与抗-HBs同时阳性、HBsAg阳性、抗-HBs阳性、HBsAg与抗-HBs同时阴性进行血清HBV-DNA检查, 观察2组患者阳性检测率。

结果: B组(HBsAg阳性)患者HBsAg(S/N)

背景资料

目前, 临床上用于HBV-DNA检测的方式方法较多, 从曾经的HBV-DNA的定性检测, 发展为目前HBV-DNA的定量检测。曾经常用的HBV-DNA检测方式有夹心斑点杂交法、PCR-EB定性检查等。但是临床资料表明, 上述2种检查方法存在阳性检测率低的缺陷。当前, 对于HBV-DNA检测灵敏度的要求越来越高, 正因如此, Amp-lisensor定量法检测HBV-DNA得到了较大的发展。与传统的定性检查不同, 其能直接反应病毒复制的程度, 指导临床治疗。

同行评议者

林潮双, 副教授, 中山大学附属第三医院感染科

■ 研发前沿

目前,临床上用于检测血清HBV DNA的方法较多,随着研究的进一步深入以及检验技术的迅速发展,新的HBV DNA检查手段不断出现。

值高于A组($P<0.05$), C组抗-HBs值高于A组(HBsAg与抗-HBs同时阳性)($P<0.05$), Amp-lisensor定量检测下,患者HBV-DNA阳性率明显高于PCR-EB定性组($P<0.05$)。Amp-lisensor定量检测中, C组(抗-HBs阳性)患者的阳性检测率最低($P<0.05$), 乙型肝炎患者血清中HBV-DNA对数值均有明显的上升, 与E组(乙型肝炎两对半全阴性)比较均有统计学意义($P<0.05$)。A组与B组HBV-DNA对数值明显高于C组与D组(HBsAg与抗-HBs同时阴性)($P<0.05$), A组与B组HBV-DNA对数值比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

结论: Amp-lisensor定量法检测血清HBV-DNA的灵敏度较高, 在抗-HBs阳性患者中仍可以检测到HBV-DNA。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: PCR-EB; Amp-lisensor; 乙型肝炎病毒; 乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸

核心提示: 通过对比PCR-EB定性及Amp-lisensor定量法检查HBV患者血清中HBV-DNA的阳性率以及含量, 阐述两种方法在临床中的应用价值。Amp-lisensor定量法检测血清HBV-DNA的灵敏度较高, 而在抗-HBs阳性患者中仍可以检测到HBV-DNA, 为HBV患者的治疗与预后提供了直接的证据。

叶儒军, 郑培锐, 区宇洁, 魏威. 两种方法检测乙型肝炎患者血清HBV-DNA的应用价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2109-2112 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2109.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2109>

0 引言

乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸(hepatitis B virus, HBV-DNA)是反映乙型肝炎患者是否存在HBV复制的一个经典指标, 具有较高的准确性^[1]。目前, 临床上用于HBV-DNA检测的方式方法较多, 从曾经的HBV-DNA的定性检测, 发展为目前HBV-DNA的定量检测^[2]。曾经常用的HBV-DNA检测方式有夹心斑点杂交法、PCR-EB定性检查等^[3,4]。但是临床资料表明, 上述两种检查方法存在阳性检测率低的缺陷。当前, 对于HBV-DNA检测灵敏度的要求越来越高, 正因如此, Amp-lisensor定量法检测HBV-DNA得到了较大的发展。与传统的定性检查不同, 其能直接反应病毒复制的程度, 指导临床治疗。笔者通过对比PCR-EB定性及Amp-lisensor定量法检查HBV患者血

清中HBV-DNA的阳性率及含量, 阐述两种方法在临床中的应用价值, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入研究对象125例, 均为我院2012-01/2012-12门诊或住院治疗的HBV患者或寄往曾明确诊断为HBV的患者。根据患者检测指标进行临床分组。其中A组患者为乙型肝炎表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)与抗-HBs同时阳性; B组为HBsAg阳性; C组为抗-HBs阳性; D组为HBsAg与抗-HBs同时阴性; E组为乙型肝炎两对半全阴性, 肝功能正常的健康体检者。各组病例均为25例。HBV临床诊断标准参考2000-2001年《病毒性肝炎防治方案》, 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、中华医学会肝病学分会联合修订。

1.2 方法

1.2.1 标本采集: 清晨空腹采取肘静脉血10 mL, 经4 °C离心机5000 r/min离心15 min分理出血清, -20 °C冰箱中保存。

1.2.2 HBV 5M检测: 使用1 Mx自动免疫分析仪进行, 采用微粒子酶免分析法HBV 5M试剂盒, 仪器与试剂盒均购自Abbott公司, 实验操作按说明书进行。

1.2.3 PCR-EB定性检测: (1)实验步骤: 将5 μL 25 mmol/L MgCl₂加入50 μL血清中, 98 °C变性15 min, 然后进行离心, 变性裂解液5 μL加入标准反应液15 μL中, 密封94 °C变性5 min, 进行45个循环。所有反应在ABI Prism 7300型荧光定量PCR仪(Applied Biosystems, 美国)上进行。

1.2.4 Amp-lisensor定量法检测: 使用AG-9600荧光检测仪进行检测, 并采用HBV-DNA定量试剂盒以及ASAP软件, 实验操作根据试剂盒说明书进行。实验设立阴性及阳性对照组以及最大信号对照组, 同时严格参考Kwork等提出的预防污染措施, 阳性截止值 $\geq 2 \times 10^3$ copy/mL。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析, 计量资料用mean±SD表示, 计数资料用百分率表示, 组间计量资料比较采用两样本t检验, 组间计数资料的比较采用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者HBV 5M检测结果比较 B组患者HBsAg(S/N)值高于A组($P<0.05$), C组抗-HBs值高于A组($P<0.05$)(表1)。

2.2 2种方法检测血清HBV-DNA阳性率比较

表 1 各组患者HBV 5M检测结果比较 ($n = 25$, mean \pm SD)

分组	HBsAg(S/N)值	抗-HBs值(IU/L)	HBeAg	抗-HBe	抗-HBc
A组: HBsAg与抗-HBs同时阳性	98.3 \pm 69.0	92.9 \pm 202.4	11	8	25
B组: HBsAg阳性	104.2 \pm 73.9 ^a		10	8	25
C组: 抗-HBs阳性		115.2 \pm 187.1 ^a	4	11	25
D组: HBsAg与抗-HBs同时阴性			5	13	25

^a $P < 0.05$ vs A组. HBsAg: 乙型肝炎表面抗原; HBV: 乙型肝炎病毒.

表 2 2种方法检测血清HBV-DNA阳性率比较 ($n = 25$)

分组	PCR-EB定性		Amp-lisensor定量	
	阳性数(n)	阳性率(%)	阳性数(n)	阳性率(%)
A组: HBsAg与抗-HBs同时阳性	17	68.0	23	92.0 ^{ac}
B组: HBsAg阳性	14	56.0	19	76.0 ^{ac}
C组: 抗-HBs阳性	6	24.0	13	52.0 ^a
D组: HBsAg与抗-HBs同时阴性	10	40.0	20	80.0 ^{ac}
总计	47	47.0	75	75.0 ^a

^a $P < 0.05$ vs PCR-EB组; ^c $P < 0.05$ vs C组. HBsAg: 乙型肝炎表面抗原; HBV: 乙型肝炎病毒.

表 3 Amp-lisensor定量检测各组血清HBV-DNA含量比较 ($n = 25$, mean \pm SD)

分组	HBV-DNA(对数值)	P值			
		与对照组比较	与A组比较	与B组比较	与C组比较
A组: HBsAg与抗-HBs同时阳性	6.13 \pm 1.88	< 0.05			
B组: HBsAg阳性	6.09 \pm 1.79	< 0.05	> 0.05		
C组: 抗-HBs阳性	4.09 \pm 1.38	< 0.05	< 0.05	< 0.05	
D组: HBsAg与抗-HBs同时阴性	5.08 \pm 1.19	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
E组: 乙型肝炎两对半全阴性	1.99 \pm 0.55				

HBsAg: 乙型肝炎表面抗原; HBV: 乙型肝炎病毒; HBV-DNA: 乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸.

Amp-lisensor定量检测下, 患者HBV-DNA无论在A、B、C、D组, 阳性率均明显高于PCR-EB定性组($P < 0.05$). Amp-lisensor定量检测中, C组患者的阳性检测率最低($P < 0.05$)(表2).

2.3 Amp-lisensor定量检测各组血清HBV-DNA含量比较 除E组(健康体检者)外, 乙型肝炎患者血清中HBV-DNA对数值均有明显的上升, 与E组比较均有统计学意义($P < 0.05$). A组与B组HBV-DNA对数值明显高于C组与D组($P < 0.05$), A组与B组HBV-DNA对数值比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(表3).

3 讨论

目前, 临床上用于检测血清HBV-DNA的方法较多, 随着研究的进一步深入以及检验技术的迅速发展, 新的HBV-DNA检查手段不断出现^[5]. Zaijier

等^[6]曾经使用斑点杂交法、分支链DNA信号扩增、Abbott液相杂交、PCR、Amp-lisensor定量等对HBV患者进行血清HBV-DNA灵敏度的检测. 结果发现, 各组灵敏度分别为 2.5×10^7 copy/mL、 2.5×10^6 copy/mL、 2.5×10^7 copy/mL、 2.5×10^2 copy/mL、50 copy/mL. 提示Amp-lisensor定量对于临床检查HBV患者血清HBV-DNA的灵敏度较高. 本研究对PCR与Amp-lisensor定量两种目前临床虫咬的检验HBV-DNA方法进行了观察, 可以发现, 无论在HBsAg与抗-HBs同时阳性、HBsAg阳性、抗-HBs阳性、HBsAg与抗-HBs同时阴性的患者中, Amp-lisensor检测的阳性检测率均明显高于PCR-EB. 这与Zaijier等^[6]的研究结果较为相似, 说明Amp-lisensor检测在检测HBV-DNA阳性率方面, 具有较高的检查灵敏度.

■ 相关报道

Zaijier等曾经使用斑点杂交法、分支链DNA信号扩增、Abbott液相杂交、PCR、Amp-lisensor定量等对HBV患者进行血清HBV-DNA灵敏度的检测. 结果发现, 各组灵敏度分别为 2.5×10^7 、 2.5×10^6 、 2.5×10^7 、 2.5×10^2 、50 copy/mL.

■同行评价

本文对比PCR-EB定性及Amplisensor定量法检查乙肝患者血清中HBV-DNA的阳性率及含量,研究两种方法在临床中的应用价值,研究选题具有一定科学和临床意义。

本研究显示, HBsAg与抗-HBs同时阳性的HBV患者,和普通的HBV患者一样,其血清HBV-DNA的含量均较高,且两组之间无统计学差异。但是,在抗-HBs阳性患者以及抗-HBc阳性患者方面,两组血清HBV-DNA含量明显低于A组与B组。然而,进行Amp-lisensor检测可以发现,两组的HBV-DNA阳性率仍达到52.0%(13/20)、80.0%(20/25),并且处于阳性截止值之上。传统的理解认为,如果HBV感染者血液中抗-HBs出现阳性,即表示患者体内的HBV病毒被清除,意味着HBV传染性的消失以及病情好转、康复^[7-9]。但是,通过本研究的结果,发现即使抗-HBs出现阳性,患者血清HBV-DNA含量仍然处于较高水平。因此,临床对于该类抗-HBs出现阳性的患者,需要进行进一步的研究,重新认识这个问题。随着检测手段的丰富,目前临床研究已经发现^[10,11],在一些抗-HBs阳性的HBV患者中,仍可以在血清或肝脏组织中发现较大量的HBV-DNA。有学者对1355例HBV慢性携带者进行了跟踪随访检测,在进行为期23 mo的检查后,发现有55例患者HBsAg发生自然转阴,32例患者出现抗-HBs阳性^[12]。对抗-HBs阳性的患者进行进一步观察,发现有近20%的患者,血清HBV-DNA检测阳性。而对55例HBsAg自然转阴的患者进行观察,能够发现18例患者出现肝癌、肝硬化以及亚急性重型肝炎。研究认为^[13,14],HBsAg自然转阴,甚至抗-HBs出现阳性,并不一定属于病情好转的标志,相反,在一些患者中,甚至出现病情恶化的可能。该情况的发生与体内仍存在一定量的HBV-DNA有关。因此,临床上定性检测HBV 5M,可能存在较大的误差,影响HBV患者的预后判断。而Amp-lisensor定量检测恰恰可以弥补各类定性检测方法可能带来的误差,精准得出患者血清HBV-DNA的含量,判断是否存在传染性或病情恶化^[15]。该技术与PCR的主要差别在于Amp-lisensor采用的是复合探针。一个探针上标以荧光报告基团,另一个探针上标以荧光淬灭基团,两探针之间能因碱基互补而结合。此时,两基团靠近而形成FRET结构,报告基团的荧光信号被

淬灭基团吸收。当两探针分开后,其间的FRET关系受到破坏,淬灭基团的抑制作用解除,报告基团的荧光信号得到释放。因此,Amp-lisensor的结果较为可靠,出现假阳性的情况相对较低。

总之,Amp-lisensor定量法检测血清HBV-DNA的灵敏度较高,在抗-HBs阳性患者中仍可以检测到HBV-DNA,为HBV患者的治疗与预后提供了直接的证据。

4 参考文献

- 1 马俊骥,冯丽英,冯志杰,姜慧卿,孙泽明,赵丽梅. HBeAg阳性和阴性慢性乙型肝炎患者肝组织病理结果分析158例. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1766-1771
- 2 张磊,张淑云. 乙型肝炎病毒的基因变异及其临床意义. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1644-1652
- 3 董爱爱,赵洁,贾建伟,袁桂玉. HBsAg定量检测在慢性HBV感染患者肝脏储备功能评价中的作用. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3033-3036
- 4 王秋平,陈斌,张琼,雷秀霞,周小棉,匡艳华. 临床研究中3种免核酸提取PCR试剂盒检测乙型肝炎患者血清中HBV DNA的比较. 广东医学 2011; 32: 2251-2253
- 5 秦望森,沈立萍,张爽,尹文娇,王锋. 乙肝患者HBV感染指标、病毒复制水平与基因分型的关系分析. 中华实验和临床病毒学杂志 2012; 2: 328-330
- 6 Zaaijer HL, ter Borg F, Cuypers HT, Hermus MC, Lelie PN. Comparison of methods for detection of hepatitis B virus DNA. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2088-2091 [PMID: 7814529]
- 7 李珉珉,洪丹妮,朱勤爱,朱德兰. PreS1抗原与HBeAg联合检测用于预测HBV-DNA的水平. 暨南大学学报(自然科学与医学版) 2011; 32: 637-640
- 8 黄清衡,陈文思. 乙型肝炎病毒DNA载量与HBeAg及ALT联合检测的意义. 实用医学杂志 2011; 27: 4308-4310
- 9 裴彦祯,韩涛,马晓艳,李莹,邢晶,宋佐莉. HBsAg及HBV DNA定量水平在慢性乙型肝炎、肝硬化和肝癌患者中的变化. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 743-746
- 10 王美容,邱宁,卢实春,修典荣,于建国,李彤,刘学恩,庄辉. 肝组织中HBV cccDNA荧光定量聚合酶链反应检测法的建立. 中华流行病学杂志 2011; 32: 504-509
- 11 蒋素贞,鲁凤民,庄辉. 慢性乙型肝炎病毒DNA定量检测的临床意义. 中华检验医学杂志 2012; 35: 117-121
- 12 黄玉梅. 酶联免疫法检测乙肝二对半与PCR法检测HBV DNA的关系. 中国实验诊断学 2011; 15: 1090
- 13 朱锦宏,吴晓蔓. 乙肝患者血清HBV cccDNA的临床意义. 实用医学杂志 2013; 29: 395-397
- 14 刘伟平,殷明刚,阮艳秋. HBV DNA检测在血清HBsAg与HBsAb共存模式中的临床价值. 医学研究杂志 2012; 41: 136-139
- 15 胡惠萍,袁晓华,詹传华. 乙肝患者血清标志物模式与HBV DNA检测结果分析. 国际检验医学杂志 2012; 33: 2269-2270

编辑 田滢 电编 鲁亚静



腹腔镜下低位直肠癌手术中保留盆腔自主神经的临床价值

侯雷, 刘志满, 张学敏, 赵明明

侯雷, 刘志满, 张学敏, 赵明明, 承德医学院附属医院肿瘤外科 河北省承德市 067000

侯雷, 主治医师, 主要从事胃肠肿瘤方面的研究.

作者贡献分布: 本文由侯雷写作; 刘志满、张学敏及赵明明共同参与本研究.

通讯作者: 侯雷, 主治医师, 067000, 河北省承德市南营子大街36号, 承德医学院附属医院肿瘤外科. hbcdcyfhl@126.com

收稿日期: 2013-05-22 修回日期: 2013-06-08

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Clinical value of pelvic autonomic nerve preservation during laparoscopic surgery for low rectal cancer

Lei Hou, Zhi-Man Liu, Xue-Min Zhang, Ming-Ming Zhao

Lei Hou, Zhi-Man Liu, Xue-Min Zhang, Ming-Ming Zhao, Department of Surgical Oncology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Correspondence to: Lei Hou, Attending Physician, Department of Surgical Oncology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, 36 Nanyingzi Street, Chengde 067000, Hebei Province, China. hbcdcyfhl@126.com

Received: 2013-05-22 Revised: 2013-06-08

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To observe the function of pelvic autonomic nerve preservation (PANP) during laparoscopic surgery for low rectal cancer.

METHODS: Seventy-six elderly patients who underwent laparoscopic surgery for low rectal cancer were included in this study. These patients were divided into either an observation group ($n = 40$) or a control group ($n = 36$). The observation group underwent PANP, while the control group did not undergo PANP. After treatment, the short-term and long-term micturition function was observed. In addition, a three-year follow-up was performed, and the quality of life was scored at the last follow-up.

RESULTS: The percentage of patients who had improved short-term and long-term micturition function was significantly higher in the observation group than in the control group (17.50% vs

47.22%, 0% vs 5.56%, both $P < 0.05$). Psychological state (SAS, SDS) and self esteem (SES) scores were significantly better in the observation group than in the control group (36.64 ± 4.27 vs 42.37 ± 4.35 , 32.84 ± 3.21 vs 39.43 ± 3.92 , 24.45 ± 4.20 vs 18.54 ± 3.20 , all $P < 0.01$).

CONCLUSION: PANP during laparoscopic surgery for low rectal cancer can improve micturition function and patient's quality of life.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic; Low rectal cancer; Pelvic autonomic nerve

Hou L, Liu ZM, Zhang XM, Zhao MM. Clinical value of pelvic autonomic nerve preservation during laparoscopic surgery for low rectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2113-2116 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2113.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2113>

摘要

目的: 观察腹腔镜下低位直肠癌手术中保留盆腔自主神经(pelvic autonomic nerve, PANP)的作用.

方法: 对76例腹腔镜下中低位直肠癌手术进行回顾性临床研究, 其中40例PANP(观察组), 36例非PANP(对照组). 观察两组近期、远期排尿情况, 同时对患者进行了为期3年的临床随访, 并在最后一次随访时进行生活质量评分调查.

结果: 观察组患者近期、远期排尿功能的恢复均好于对照组(17.50% vs 47.22%, 0% vs 5.56%, $P < 0.05$). 心理状态[焦虑自评量表(self-rating anxiety scale)、抑郁量表(self-rating depression scale)、自尊评价(self esteem)等相关生活质量评分, 观察组亦显著好于对照组(36.64 ± 4.27 vs 42.37 ± 4.35 , 32.84 ± 3.21 vs 39.43 ± 3.92 , 24.45 ± 4.20 vs 18.54 ± 3.20 , 均 $P < 0.01$).

结论: 腹腔镜下中低位直肠癌手术中保留

■背景资料

伴随人们饮食习惯以及饮食结构的改变, 直肠癌发病率呈逐年上升的趋势. 对于早期直肠癌的患者, 临床上主要以手术治疗为主. 目前, 随着腹腔镜广泛应用于直肠癌手术的治疗过程中, 关于是否保留盆腔自主神经, 国内外学者均有着不同看法.

■同行评议者

李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

■ 创新盘点

本次结果发现, PANP患者近期、远期排尿功能均未受到明显干预, 患者自主排尿功能均能在较短时间内恢复。

PANP对患者排尿功能影响较小, 提高患者的生活质量。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 腹腔镜; 低位直肠癌; 盆腔自主神经

核心提示: 目前, 随着腹腔镜的广泛应用, 为直肠癌手术中保留盆腔自主神经创造了更好的条件。腹腔镜手术创伤小, 解剖精准, 减小副损伤, 提高术后生存质量及远期生存率。

侯雷, 刘志满, 张学敏, 赵明明. 腹腔镜下低位直肠癌手术中保留盆腔自主神经的临床价值. 世界华人消化杂志. 2013; 21(21): 2113-2116 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2113.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2113>

0 引言

直肠癌的发病率仅次于胃癌与食道癌, 属于恶性程度较高消化系恶性肿瘤^[1], 统计发现, 伴随人们饮食习惯以及饮食结构的改变, 其发病率呈逐年上升的趋势^[2]. 对于早期直肠癌的患者, 临床上主要以手术治疗为主^[3]. 目前, 随着腹腔镜广泛应用于直肠癌手术的治疗过程中, 关于是否保留盆腔自主神经(pelvic autonomic nerve, PANP), 国内外学者均有着不同看法^[4], 本研究就腹腔镜下中低位直肠癌手术中是否保留盆腔自主神经在观察组与对照组间进行了分组观察, 探讨其与患者预后的关系. 现报告如下:

1 材料和方法

1.1 材料 对我院2007-05/2010-05腹腔镜手术治疗的76例中低位直肠癌患者进行回顾性研究. 患者术前均已被病理证明为直肠癌; 术前未进行放、化疗; 术前无前列腺增生症、神经源性膀胱、尿道狭窄等影响排尿的疾病; 肿瘤直径 ≤ 5 cm, 肿瘤下缘距离肛门7-12 cm; 不合并肠梗阻, 为非急诊手术. 根据患者手术类型进行临床分组, 其中观察组手术中PANP, 对照组手术中非PANP. 观察组40例, 男性26例、女性14例, 年龄62-81岁, 平均年龄68.7岁 ± 11.4 岁. 采用Ducks肿瘤分期, 其中A期5例、B期26例、C期9例. 患者平均肿瘤直径2.7 cm ± 0.8 cm; 对照组36例, 男性25例、女性11例, 年龄60-79岁, 平均年龄68.2岁 ± 11.6 岁. 采用Ducks肿瘤分期, 其中A期3例、B期29例、C期4例. 患者平均肿瘤直径3.0 cm ± 1.1 cm. 对两组患者的性别、年龄、肿瘤分期等

表 1 两组患者术后排尿功能情况比较

分组	n	近期排尿异常		远期排尿异常	
		n	%	n	%
观察组	40	7	17.50 ^a	0	0 ^a
对照组	36	17	47.22	2	5.56

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

一般资料进行比较, 发现两组间差异并无统计学意义($P > 0.05$), 说明两组患者具有临床可比性.

1.2 方法 观察指标: (1)排尿功能: 排尿功能异常可分为近期以及远期异常^[5], 若患者术后1 wk还不能进行自主排尿, 即可诊断为近期排尿异常; 若患者术后6 wk还未能恢复自主排尿, 则可诊断为远期排尿异常; (2)术后随访: 每位患者出院后均进行跟踪随访, 随访每1年1次, 总期限为3年或至患者死亡. 记录1年、3年患者的肿瘤复发率以及死亡率; (3)生活质量评估采用抑郁量表(self-rating depression scale, SDS), 其中轻度抑郁: 53-62分; 中度抑郁: 63-72分; 重度抑郁: > 72 分; 焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS), 其中轻度焦虑: 50-59分; 中度焦虑60-69分; 重度焦虑 ≥ 70 分; 自尊评价(self esteem, SES), 总分范围为10-40分, 分值越高, 表明自尊程度越高. 于最后1次随访时由患者进行评分.

统计学处理 应用SPSS14.0软件. 计量资料以mean \pm SD表示, 均数比较采用 t 检验、方差因素分析, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者术后排尿功能情况比较 观察组患者近期排尿异常率为17.50%, 远期排尿异常率为0%. 而对照组患者近期排尿异常率为47.22%, 远期排尿异常率为5.56%. 两组患者进行统计学分析, 发现近期、远期排尿异常率均有统计学意义($P < 0.05$, 表1).

2.2 两组患者的SAS、SDS、SES评分比较 SAS、SDS得分越低, 说明心理状态越好; SES得分越高, 说明自尊水平越高. 观察组的平均SAS、SDS、SES评分均优于对照组($P < 0.01$, 表2).

3 讨论

直肠癌的发病呈快速上升趋势, 晚期直肠癌会引起癌细胞的广泛转移以及肠梗阻等症状的出现,

表 2 两组患者的焦虑自评量表、抑郁量表、自尊评价评分比较 (mean ± SD)

分组	n	焦虑自评量表	抑郁量表	自尊评价
观察组	40	36.64 ± 4.27 ^a	32.84 ± 3.21 ^a	24.45 ± 4.2 ^a
对照组	36	42.37 ± 4.35	39.43 ± 3.92	18.54 ± 3.2

^aP<0.05 vs 对照组.

影响机体的各项生理功能^[6,7]. 饮食中脂肪成分增多而粗纤维成分减少是大肠癌重要的诱因^[8]. 手术治疗是本病治疗的重要方式, 在根治肿瘤的同时, 又要尽可能地保留盆腔脏器的功能. 目前, 随着腹腔镜的广泛应用, 为直肠癌手术中保留PANP创造了更好的条件. 腹腔镜手术创伤小, 解剖精准, 减小副损伤, 提高术后生存质量及远期生存率^[9]. 盆腔内的自主神经主要分为交感神经、副交感神经两类^[10-12], 在大脑皮层的控制之下, 盆腔内的自主神经主要参与排尿功能与性功能的调控^[13,14].

本次结果发现, PANP患者近期、远期排尿功能均未受到明显干预, 患者自主排尿功能均能在较短时间内恢复. 当术后6 wk时, 患者的自主排尿功能均自行恢复. 而在非PANP患者中, 有近一半的患者(47.83%)的术后1 wk内自主排尿功均受到了不同程度的影响, 虽然大多数患者自主排尿功能逐渐出现好转, 但仍有5.80%的患者长期排尿功能恢复欠佳. 本研究结果验证了保留盆腔自主神经功能对排尿功能的重要影响^[15]. 因此, 在手术中, 如患者情况允许, 应该尽量对盆腔自主神经进行保留, 以减少术后排尿功能等并发症的出现. 具体注意: (1)髂前间隙以及男性的精囊后方, 是手术操作过程中最易损伤神经丛的部位. 因此, 在处理上述部位时, 当在盆筋膜的浅面进行操作时注意不要将盆筋膜从骶骨上掀起; (2)在男性患者的手术过程中, 特别需要在分离到膀胱直肠间隙时, 保留前列腺包膜的完整性; (3)处理直肠侧韧带时, 尽量远离骨盆的侧壁, 防止手术对盆神经丛的损伤. 由于盆腔自主神经主要由上腹下神经丛、腹下神经和下腹下神经丛(即盆丛)3部分组成, 实施手术时如何进行神经保护性处理非常关键. 具体为: 对于上腹下神经丛主干的保护, 要于结扎处理肠系膜下动脉时, 离开根部1 cm左右. 对于腹下神经的保护, 在脏层筋膜和壁层筋膜的疏松间隙中实施分离则可防止对于两侧腹下神经损伤. 而对于下腹下神经丛(即盆丛)的保护, 应让施术者或

者其助手用力适度, 以防止过度牵拉从而将盆丛牵离盆壁变形从而误认为是直肠侧韧带切断或者导致神经撕裂.

本研究对两组患者的SAS、SDS、SES得分进行分析, 观察组患者SAS、SDS平均得分均显著低于对照组(P<0.05), SES平均得分均显著高于对照组(P<0.01). 充分说明观察组患者的心理情绪明显好于对照组, 提示观察组患者的生存质量好于对照组. 这从另一个方面说明, PANP患者明显提高了心理满意度, 从而一定程度上改善生活质量.

总之, 腹腔镜下中低位直肠癌手术中PANP能够降低患者术后排尿功能异常, 有效的改善患者生存质量, 有广阔的临床推广前景.

4 参考文献

- 1 Kauff DW, Kempinski O, Huppert S, Koch KP, Hoffmann KP, Lang H, Kneist W. Total mesorectal excision--does the choice of dissection technique have an impact on pelvic autonomic nerve preservation? *J Gastrointest Surg* 2012; 16: 1218-1224 [PMID: 22450951 DOI: 10.1007/s11605-012-1870-1]
- 2 张军, 丁海涛, 韩智君. 保留盆腔自主神经对老年男性直肠癌TME术后性功能和泌尿功能的影响. *中国老年学杂志* 2012; 32: 2512-2513
- 3 王亚国, 钱军. 保留盆腔自主神经对男性直肠癌TME术后性功能和排尿功能的影响. *蚌埠医学院学报* 2012; 37: 920-922, 924
- 4 Heald B. Autonomic nerve preservation in rectal cancer surgery --the forgotten part of the TME message a practical "workshop" description for surgeons. *Acta Chir Iugosl* 2008; 55: 11-16 [PMID: 19069687 DOI: 10.2298/ACI0803011H]
- 5 孙庆旭, 严茂军. 保留盆腔植物神经直肠癌根治术对术后性功能和排尿功能的影响. *中外医疗* 2011; 30: 18-19
- 6 张佳佳, 赵雯红. 腹腔镜保留盆腔自主神经的宫颈癌根治性手术的研究进展. *腹腔镜外科杂志* 2012; 17: 313-316
- 7 牛鸣, 朱军民, 郭广敏. 保留盆腔自主神经的全直肠系膜切除术与双吻合器技术在低位直肠癌患者保肛手术中的临床应用. *中国老年学杂志* 2011; 31: 693-695
- 8 Kauff DW, Koch KP, Somerlik KH, Heimann A, Hoffmann KP, Lang H, Kneist W. Online signal processing of internal anal sphincter activity during pelvic autonomic nerve stimulation: a new method to improve the reliability of intra-operative neuromonitoring signals. *Colorectal Dis* 2011; 13: 1422-1427 [PMID: 21087387 DOI: 10.1111/

同行评价

本文对照研究40例PANP和36例非PANP的3年疗效(包括复发率、死亡率和生活质量等), 有一定工作量, 具有一定指导意义.

- j:1463-1318.2010.02510.x]
- 9 耿长辉, 王锡山, 张雅芳, 陈英罡, 候海峰. 功能性直肠癌扩大根治术对男性性功能的影响. 中华实验外科杂志 2011; 28: 1492-1494
- 10 马晓龙, 刘庆国, 顾全凯, 袁庆鑫. 腹腔镜保留盆腔自主神经直肠癌根治术对排尿及性功能的影响. 现代预防医学 2012; 39: 1855-1856, 1858
- 11 刘伟, 安杰, 张超, 侯会池, 李志. 腹腔镜下直肠癌D3根治术中保留盆腔自主神经的临床研究. 中国现代普通外科进展 2012; 15: 12-14, 21
- 12 陈斌, 林奎生, 陈进渠, 蒲斌, 洪慧东. 保留盆腔自主神经在男性直肠癌根治术的临床研究. 中国综合临床 2011; 27: 1316-1318
- 13 惠希增, 宋世德, 郑海燕, 秦朝阳, 李龙, 郑志伟, 解涛, 刘显宾. 男性直肠癌直肠系膜切除术中保留盆腔自主神经对排尿及性功能影响的研究. 中华泌尿外科杂志 2010; 31: 489-492
- 14 Kneist W, Kauff DW, Koch KP, Schmidtman I, Heimann A, Hoffmann KP, Lang H. Selective pelvic autonomic nerve stimulation with simultaneous intraoperative monitoring of internal anal sphincter and bladder innervation. *Eur Surg Res* 2011; 46: 133-138 [PMID: 21311193 DOI: 10.1159/000323558]
- 15 张超, 王攀, 余佩武. 腹腔镜保留盆腔自主神经直肠癌根治术的发展现状. 腹腔镜外科杂志 2011; 16: 794-796

编辑 田滢 电编 鲁亚静



血管活性肠肽瘤1例

张丽平, 吴会超, 罗兰

张丽平, 吴会超, 罗兰, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省遵义市 563099

张丽平, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究工作。

贵州省科技厅社会攻关计划基金资助项目, No. SY[2010]3085

作者贡献分布: 本文写作和查阅相关文献由张丽平完成; 诊断思路及指导修改文章由吴会超完成; 罗兰协助治疗。

通讯作者: 吴会超, 主任医师, 563099, 贵州省遵义市, 遵义医学院附属医院消化内科. wuhuichao985@163.com

收稿日期: 2013-05-30 修回日期: 2013-06-24

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Pancreatic vasoactive intestinal polypeptide-secreting tumor: A case report

Li-Ping Zhang, Hui-Chao Wu, Lan Luo

Li-Ping Zhang, Hui-Chao Wu, Lan Luo, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563099, Guizhou Province, China

Supported by: the Science and Technology Project of Guizhou Province, No. SY[2010]3085

Correspondence to: Hui-Chao Wu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563099, Guizhou Province, China. wuhuichao985@163.com

Received: 2013-05-30 Revised: 2013-06-24

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

Vasoactive intestinal polypeptide-secreting tumor (VIPoma) of the pancreas is a rare type of pancreatic endocrine neoplasm. The main clinical features of VIPoma include large amount of watery diarrhea, hypokalemia and achlorhydria. Due to extreme rarity of this disease, it is easily misdiagnosed. Here we report such a case to raise the awareness of this clinical entity. We also performed a review of the literature to summarize its clinical manifestations, diagnosis and treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: VIPoma; Watery diarrhea; Hypokalemia; Diagnosis

Zhang LP, Wu HC, Luo L. Pancreatic vasoactive intestinal polypeptide-secreting tumor: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2117-2120 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2117.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2117>

www.wjgnet.com/1009-3079/21/2117.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2117>

摘要

血管活性肠肽瘤(vasoactive-intestinal polypeptide-secreting tumors, VIPomas)是罕见的胰腺内分泌肿瘤。临床上以大量水样腹泻, 顽固性低血钾, 胃酸缺乏为主要特征性表现。此病非常罕见, 临床上较易误诊。本文报道血管活性肠肽瘤1例, 通过病史及实验室、影像学、内镜学、组织学检查结合相关文献进行分析讨论, 提高对该病的认识。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 血管活性肠肽瘤; 水样腹泻; 低钾血症; 诊断

核心提示: 本文报道血管活性肠肽瘤1例, 通过病史及实验室、影像学、内镜学、组织学检查结合相关文献进行分析讨论, 提高对该病的认识。

张丽平, 吴会超, 罗兰. 血管活性肠肽瘤1例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(21): 2117-2120 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2117.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2117>

0 引言

血管活性肠肽瘤(vasoactive-intestinal polypeptide-secreting tumors, VIPomas)是一组定义明确的罕见的胰腺内分泌肿瘤, 该病每年的发病率为千万分之一。平均发病年龄为49岁。该病也称为胰性霍乱、Verner-Morrison综合征, 其典型临床表现是水样腹泻、低钾血症、低/无胃酸, 因此也称为WHDA综合症[Watery (secretory) diarrhea, hypokalemia, and achlorhydria]。下面就本院收治的1例VIPoma患者做简要的诊断分析, 旨在提高临床医生对该病的认识。

1 病例报告

本院病例资料, 48岁女性患者, 因“反复腹泻

■背景资料

血管活性肠肽瘤(vasoactive-intestinal polypeptide-secreting tumor, VIPoma)是一种临床上罕见的疾病, 发病率低, 大量水样腹泻、低血钾、低/无胃酸综合征为其典型表现, 极易误诊。

■同行评议者

肖文华, 主任医师, 中国人民解放军总医院第一附属医院肿瘤科

■ 相关报道

VIPoma在全世界已报道800多例,人群中发病率为千万分之一,病变主要位于胰尾部,50%-60%的患者发现时已转移,最常见转移至肝脏。

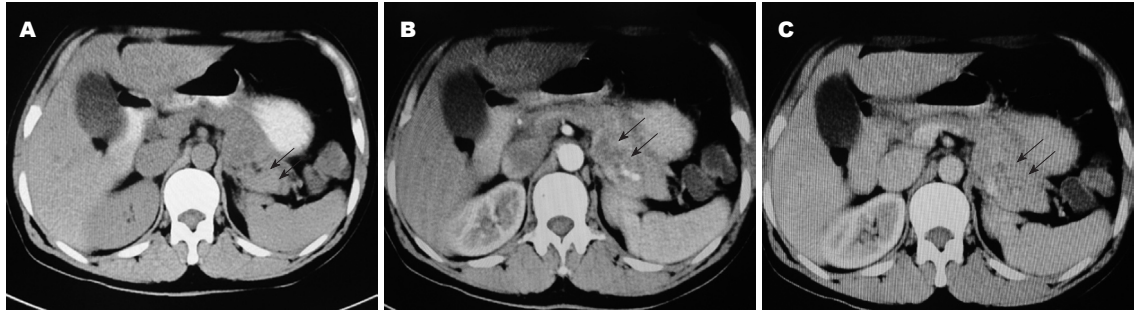


图1 上腹CT平扫+增强。A: 下腹CT平扫胰腺尾部占位, 箭头所示胰腺尾部边缘清晰, 与正常胰腺组织密度接近, 内部密度不均匀的肿块; B: 下腹部增强CT动脉期胰腺占位, 箭头所示动脉期肿块不均匀增强, 明显高于正常胰腺组织; C: 下腹部增强CT静脉期胰腺占位, 箭头所示静脉期肿瘤组织与正常胰腺组织密度接近。

2年”入院, 2年来无明显诱因出现腹泻, 黄稀便, 2-3次/d, 量少, 无腹痛腹胀, 无恶心呕吐, 有自愈倾向, 无关节疼痛。于多家医院以“慢性胃肠炎”对症治疗可好转, 期间病情间断发作。2012-12-30上述症状再发加重, 腹泻次数增至10次/d, 黄稀便, 无黏液脓血便, 伴纳差, 恶心呕吐, 反酸、嗝气、乏力。无皮肤潮红、瘙痒, 无腰背部疼痛, 无呕血, 黑便, 无胸闷胸痛, 对症治疗无明显好转, 后以“慢性结肠炎、慢性胃炎”收入我院消化科。患者精神, 饮食, 睡眠欠佳。自发病起体重减轻5 kg, 小便正常。否认“肝炎, 结核, 伤寒”等传染疾病史, 否认“高血压, 糖尿病, 高血脂”等病史。查体: 全身皮肤黏膜干燥, 口唇脱皮。腹软, 无压痛, 反跳痛及肌紧张, 肝脾未触及, 未扪及包块, 肠鸣音正常。实验室检查: 血常规: WBC $10.27 \times 10^9/L$, RBC $4.34 \times 10^{12}/L$, HGB 137 g/L, PLT 344×10^9 。电解质: 钾2.23 mmol/L, 磷0.77 mmol/L, 血糖7.34 mmol/L; 肝肾功能未见异常。每日监测电解质: 钾2.28-4.16 mmol/L(3.5-5.5 mmol/L)之间, 磷0.38-1.18 mmol/L(0.84-1.82 mmol/L)之间。复查空腹及餐后血糖分别为: 4.42 mmol/L(3.89-6.11 mmol/L)和7.00 mmol/L(3.89-7.8 mmol/L)。CA199、CEA、NSE、AFP、CA125均在正常范围。游离三碘甲状腺原氨酸、游离甲状腺素、促甲状腺激素正常。大便常规+潜血, 大便细菌培养阴性。全段甲状旁腺激素8.5 pmol/L(0.7-8.5 pmol/L), 昼夜皮质醇, 醛固酮, 人生长激素, 泌乳素L均未见异常。24 h尿微量白蛋白: 6 mg/24 h。放免法测得腹泻时查血浆血管活性肠肽: 260.6 pg/mL, 腹泻间歇期35.625 pg/mL(正常2.0-36.8 pg/mL)。影像学检查: 胸部平片、腹部彩超未见异常。上腹CT平扫+增强(图1): 肝左外叶侧段见约30 mm×27 mm稍低密度影, 增强扫描动脉期未见强化, 静

脉期边缘结节状强化, 余肝内见多个小类圆形无强化低密度区。胰尾后部见一大小约27 mm×31 mm密度不均肿块, 增强扫描不均匀强化。意见: (1)肝左外叶侧段血管瘤, 肝内多发小囊肿; (2)胰尾肿瘤(胃泌素瘤?); (3)双侧少量胸腔积液。心电图提示ST-T改变。心脏彩超: 左房左室饱满; 二尖瓣, 三尖瓣轻度返流, 心包微量积液, 左心室功能正常, 心包积液。内镜学表现: 胃镜: 慢性浅表性胃炎。肠镜: 所见回肠末端、结肠黏膜未见明显器质性病变。超声内镜(endoscopic ultrasound, EUS)(图2): 胰腺尾部可见2.55 cm×3.32 cm类圆形低回声区, 边界清楚, 内部回声均匀。胰腺头体部未见异常, 胰管不扩张。血管分布走向清晰, CDFI低回声区内可见条点状血流信号。治疗: 入院后予常规蒙脱石散、复方消化酶等止泻药物、纠正低钾血症等对症治疗, 仍出现顽固性低钾不能纠正, 结合CT及EUS结果, 顽固性低钾考虑血管活性肠肽瘤可能性大。予生长抑素类似物奥曲肽0.1 mg皮下注射Q 12 h试验性治疗, 腹泻停止, 血钾纠正。停用奥曲肽2 d后, 再次出现腹泻, 3次/d, 为水样便。待患者低钾纠正后, 2013-01-28于我院行胰尾切除+脾切除术+肝左外叶血管瘤切除术, 术中胰体尾部可触及一包块, 直径约5 cm, 活动, 与周围组织无粘连。术后患者即停止腹泻, 查电解质未见异常。术后第3天查血浆血管活性肠肽131.7 pg/mL。病理结果(图3A): (1)肝海绵状血管瘤; (2)脾脏呈淤血性改变, 部分区域被膜下淋巴管扩张; (3)胰腺高分化内分泌肿瘤>2 cm, 行为不确定性高分化内分泌肿瘤。免疫组织化学CD10(-), CD56(弱+), CK7(-), CK8(+), CgA(个别+), NSE(+); Syn(+), VIP(++)(图3B)。术后患者即停止腹泻, 查电解质未见异常。术后第3天查血浆血管活性肠肽131.7 pg/mL。随访: 术后2 mo因多浆膜腔(心包, 胸腔,

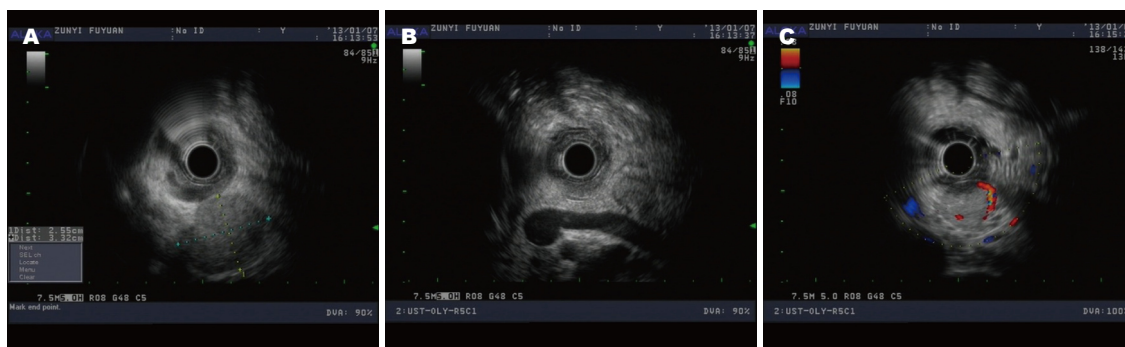


图2 超声内镜. A: 超声内镜下胰腺内分泌肿瘤; B: 肿块位于胰腺尾部, 箭头所示胰腺尾部低回声团块, 边缘清晰, 与周围组织界线清楚; C: 胰腺肿块血流图.

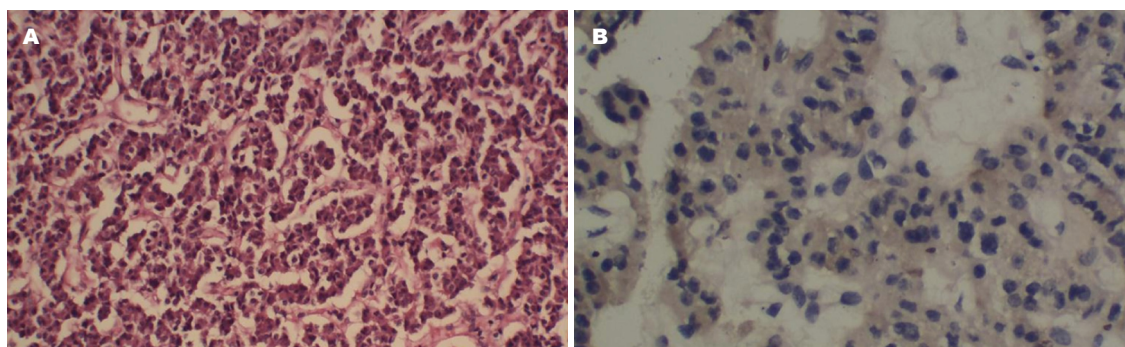


图3 病理结果及免疫组织化学结果. A: 血管活性肠肽瘤(HE×200); B: 免疫组织化学提示VIP表达在血管活性肠肽瘤细胞胞浆(×400).

腹腔)积液再次就诊于我院, 查白蛋白33.3 g/L, 血钾4.16 mmol/L. 复查胸部CT及腹部CT平扫+增强可见多浆膜腔积液, 未见转移病灶. ECT未见骨转移, 多浆膜腔积液原因考虑术后低蛋白血症所致.

2 结果

第1例VIPoma是1958年由Verner和Morrison首次报道的, 迄今全世界已报道有800多例^[1]. 血管活性肠肽(vasoactive-intestinal polypeptide, VIP)可促进胰液、小肠液的产生和分泌, 大量VIP分泌解释了水样腹泻, 脱水, 低血钾, 酸中毒等症状. VIP亦可抑制胃酸分泌, 致低/无胃酸. 刺激肝糖原的释放, 导致血糖增高; 舒张外周血管, 致血压降低, 脸色潮红. 部分患者出现高血钙, 低磷血症与VIP促进甲状旁腺激素分泌有关^[2].

VIPoma术前较难诊断, 易与导致腹泻的全身性、炎症性及器质性疾病混淆, 本院该患者即以肠炎治疗2年之久, 但入院后查甲状腺功能, 血糖, 胃肠镜、腹部CT及大便培养、血清CEA、CA125等实验室检查已予排斥. 根据该病的典型临床表现结合放免法测血浆VIP是术前最重要

的定性依据, 腹泻时超过正常值上限2倍即可诊断, 但因VIP为非持续性分泌, 因此需点多多次检测. 本院该患腹泻时测得血管活性肠肽260.6 pg/mL(可能与腹泻不严重有关), 但仍高于腹泻间隙35.625 pg/mL. 术后第3天血管活性肠肽131.7 pg/mL, 已缓慢下降. 血浆VIP也是评价术后是否复发、手术是否彻底的重要指标. 术后病理学及免疫组织化学也是另一重要的定性方法, 并且现今在病理学的基础上对评价内分泌肿瘤的性质及预后有了重要发展. 使用免疫组织化学KIT/CK19进行危险度分级, 低度危险(KIT-/CK19-), 中度危险(KIT+/CK19-), 高度危险(KIT+/CK19+). Zhang等^[3]对于97例有完整资料的胰腺内分泌肿瘤进行病理形态学和临床结果分析; 高度危险组中肿瘤的大小, 核分裂像, 肿瘤性坏死和肿瘤边缘情况等参数均高于低度危险组. 该作者提出了新的3级分级系统(1级: 0和1分、2级2分、3级3和4分)评价胰腺内分泌肿瘤, 根据核分裂像(0分: 0/50 HPE、1分1-3个/50 HPE、>4个/50 HPE)、肿瘤性坏死(0分: 无坏死、1分: 有坏死)、肿瘤边缘浸润(0分: 无浸润、1分: 有浸润). 结合KIT/CK19免疫组织化学结果, 能更好地评价胰腺内

应用要点

对于禁食72 h腹泻仍不能缓解的大量水样腹泻, 难治性低钾血症, 糖耐量异常的患者应高度怀疑该病, 同时结合血浆血管活性肠肽(vasoactive-intestinal polypeptide, VIP)水平, 影像学、内镜检查明确诊断, 并予以手术治疗, 可降低误诊率.

■同行评议

该病例也叫胰腺内分泌肿瘤, 发病率较低, 其临床表现较特殊, 应该引起临床医师, 特别是消化科医师的高度重视。

分泌肿瘤的性质。不过遗憾的是, 本患者的病理学检查没有进一步的描述。

B超和CT是VIPoma术前定位的主要方法, 大部分胰腺内分泌肿瘤是高度富血管性的, 主要位于胰尾部, 与正常组织分界清, 增强CT扫描强化明显, 少数为少血管性; 而胰腺癌是少血管性肿瘤, CT增强扫描密度增加不明显, 因此CT对于两者的鉴别有重要价值。同时CT还可了解肿块的大小, 数量, 及周围组织浸润, 远处转移及淋巴结侵犯等情况。B超对于<2 cm的胰腺占位诊断不明, 该患者行B超检查即未发现胰尾部占位, 可能与肠腔气体干扰有关。EUS对于诊断<2.5 cm的内分泌肿瘤的敏感性为82%, 发现最小的病变为2 mm, 是目前定位诊断最有效的手段^[4]。生长抑素闪烁成像依赖于生长激素受体表达, 80%-90%该受体表达阳性, 因此在大部分患者中有效。

外科手术切除是治疗本病的根本方法。生长抑素类似物(奥曲肽)是缓解症状的最有效手段, 且对于发生远处转移的患者, 也可减小肿块体积, 改善体内激素水平和症状。生长抑素类似物也用于术前诊断及术前准备, 但长久应用将会导致耐药性产生。干扰素- α 、糖皮质激素也可改

善治疗效果。

虽然VIPoma的主要治疗方式是外科手术, 但该病误诊率极高, 该患者从出现症状到明确诊断长达2年。因此, 临床医生在碰到难治性, 反复发作性腹泻, 伴有顽固性低钾血症, 糖耐量异常的患者应警惕该病, 早期诊断可明显提高该病的生存率与预后。

3 参考文献

- 1 Peng SY, Li JT, Liu YB, Fang HQ, Wu YL, Peng CH, Wang XB, Qian HR. Diagnosis and treatment of VIPoma in China: (case report and 31 cases review) diagnosis and treatment of VIPoma. *Pancreas* 2004; 28: 93-97 [PMID: 14707737]
- 2 Ghaferi AA, Chojnacki KA, Long WD, Cameron JL, Yeo CJ. Pancreatic VIPomas: subject review and one institutional experience. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 382-393 [PMID: 17510774]
- 3 Zhang L, Lohse CM, Dao LN, Smyrk TC. Proposed histopathologic grading system derived from a study of KIT and CK19 expression in pancreatic endocrine neoplasm. *Hum Pathol* 2011; 42: 324-331 [PMID: 21190722 DOI: 10.1016/j.humpath.2010.09.002]
- 4 Rösch T, Lightdale CJ, Botet JF, Boyce GA, Sivak MV, Yasuda K, Heyder N, Palazzo L, Dancygier H, Schusdzarra V. Localization of pancreatic endocrine tumors by endoscopic ultrasonography. *N Engl J Med* 1992; 326: 1721-1726 [PMID: 1317506]

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology, WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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, 循证医学, 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

《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期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

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Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max} , C_{max} , Vd, $T_{1/2}$ CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如 $37.6\text{ }^\circ\text{C} \pm 1.2\text{ }^\circ\text{C}$, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 应为 $3.56\text{ ng/L} \pm 0.27\text{ ng/L}$. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $1 \times 10^9/\text{L}$, 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 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 与 $5 \times 10^{-7}\text{ g}$ 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, 95 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检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数±标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之1的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1 000$, 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1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《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: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcj@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《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。

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. wcyj@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在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/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天. 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.

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, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 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>

《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.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会
会议地点: 美国旧金山
联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia
会议地点: 美国
联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周
(CNW 2013)
会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城
联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会
会议地点: 美国休斯顿
联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议
会议地点: 美国
联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七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: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)
会议地点: 加拿大
联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议
会议地点: 新加坡
联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛
会议地点: 深圳市
联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会
会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛
联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)
会议地点: 北京市
联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛
会议地点: 瑞士
联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会
会议地点: 西安市
联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会
会议地点: 西安市
联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会
会议地点: 美国芝加哥
联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤
营养与支持治疗学术会议
会议地点: 武汉市
联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学学术论坛
会议地点: 张家界市
联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 银川市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会
会议地点: 西班牙
联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会
会议地点: 天津市
联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白雪 副主任医师
中国人民解放军北京军区总医院普通外科

陈洪 主任医师
东南大学附属中大医院消化科

陈汝福 教授
中山大学第二附属医院肝胆胰外科

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

崔莲花 副教授
青岛大学医学院公共卫生系

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

杜祥 教授
上海复旦大学附属肿瘤医院

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

郭俊明 教授
宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

姜波健 教授
上海交通大学医学院附属第三人民医院普通外科

李华 副教授
中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

刘长征 副教授
中国医学科学院基础医学研究所

刘成海 研究员
上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病研究所

刘连新 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

彭亮 副主任医师
中山大学附属第三医院感染科

任粉玉 教授
延边大学附属医院消化内科

沈薇 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

石毓君 副研究员
四川大学华西医院移植工程与移植免疫实验室

汤朝晖 副主任医师
上海交大医学院附属新华医院普外科

王德盛 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

王娅兰 教授
重庆医科大学基础医学院病理教研室

吴建兵 教授
南昌大学第二附属医院肿瘤科

徐健 副主任医师
深圳市慢性病防治中心

徐庆 教授
桂林医学院药理教研室

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

张进祥 副教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：



2012年1月

图书馆



百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

