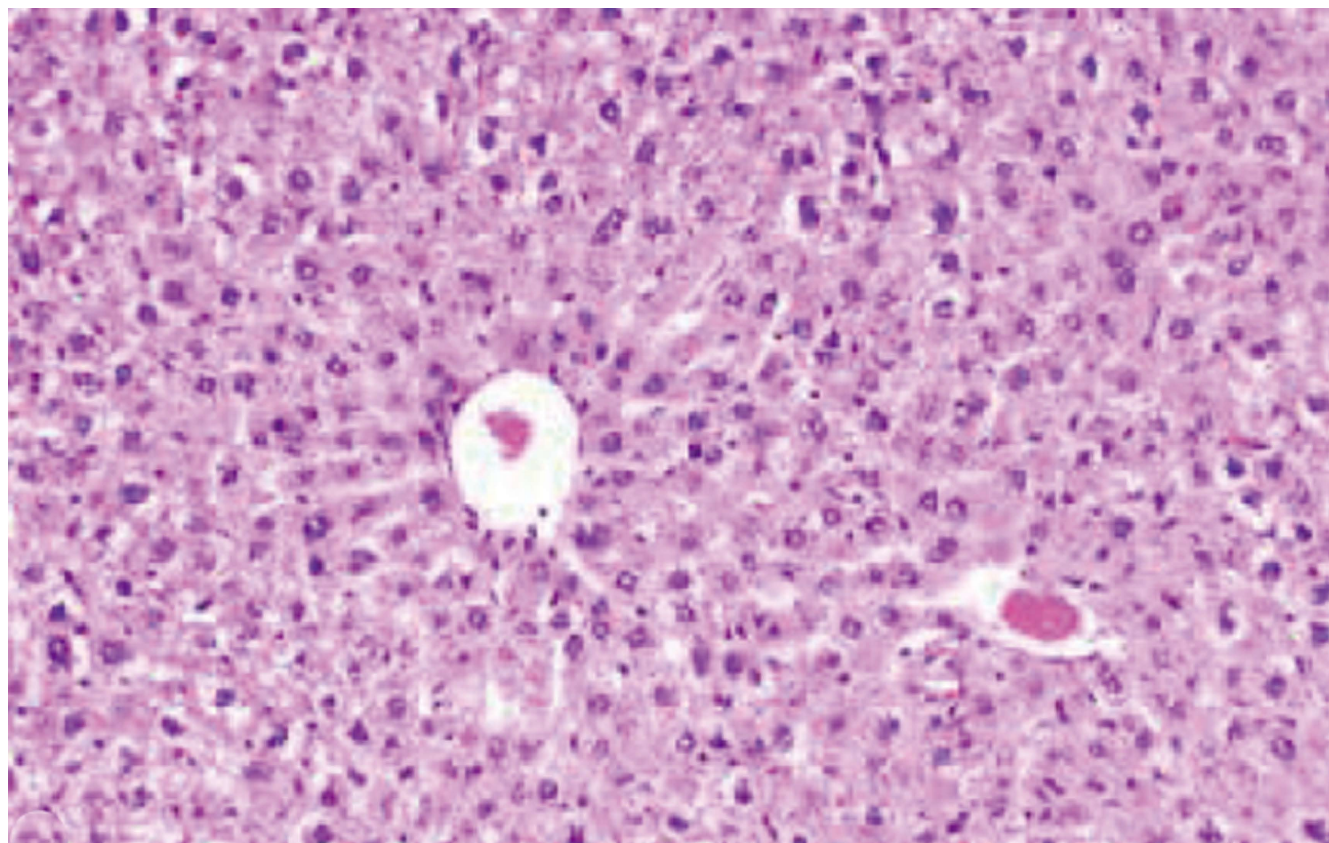


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013年9月8日 第21卷 第25期 (Volume 21 Number 25)



25 / 2013

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(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
王小恩教授
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

消化中医药学

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9月8日 第21卷 第25期 (总第429期)

述 评	2493 血管内皮细胞与胰岛发育和干细胞分化的关系 魏蕊, 杨进, 洪天配
基础研究	2500 循环型miR-141在胆囊癌侵袭转移和复发中的影响及其临床意义 彭丰, 王敏, 江建新, 田锐, 李旭, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义
临床研究	2508 TGF- β 在肝细胞癌转移中的作用 张颖慧, 董向前, 邹玉, 乌剑利, 白丽萍, 刘晶华, 王敏 2515 人大肠癌癌旁不同部位组织中DNA甲基转移酶的表达差异 吴丽云, 文彬, 胡丰良, 刘金元, 付道时 2522 白介素17A在结直肠癌及腺瘤组织中的表达及其意义 刘揆亮, 余瑞金, 吴静, 林香春
文献综述	2530 功能性消化不良患者近端胃适应性功能检测技术的研究进展 徐茜茜, 张艳丽, 姚树坤 2537 重度胃轻瘫治疗方式的研究进展 李君玲, 仝小林, 田佳星, 逢冰, 周强, 李敏 2544 自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测和临床意义 唐劫, 卢洁, 闫惠平 2551 食物不耐受和功能性胃肠病关系的研究进展 谭全会, 李兴华 2557 CD24与结直肠癌多层次关联的研究进展 刘伊雯, 房静远
研究快报	2563 艾灸对 <i>Helicobacter pylori</i> 胃炎大鼠单核细胞NF- κ B、I κ B α 含量的影响 林亚平, 封迎帅, 易受乡, 彭艳, 史冬梅, 侯艳玲 2571 白介素-10基因干预对纤维化大鼠TNF- α 、PDGF- β 和COX-2表达的影响 林颖, 黄月红, 陈治新, 王小众, 张莉娟 2578 十字孢碱对胰腺癌Panc-1细胞增殖和凋亡的影响 彭丰, 李旭, 江建新, 王敏, 田锐, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义 2585 兔肛门直肠三维有限元模型的建立 柯敏辉, 叶玲, 陈立武, 陈日齐, 郑鸣霄
临床经验	2590 胃息肉的临床病理特征分析460例 冯智, 米娜娃儿·阿布都, 古丽巴哈尔·司马义 2594 恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭随机对照试验的Meta分析 马莎莎, 吴继周, 宁秋悦, 钟大妮, 吴健林 2601 血清CEA、CA199、CA125、CA242联合检测在大肠癌诊断中的意义 珠珠, 黄鉴, 李文亮, 洪敏, 殷亮, 杨军, 陈明清, 董坚 2606 胸腺基质淋巴细胞生成素在溃疡性结肠炎患者结肠黏膜组织中的表达 林艳, 林连捷, 崔月, 郑长青 2611 临床常用便秘诊断和疗效评价量表的特征 周思远, 刘婷, 覃海知, 李璵 2617 腹腔淋巴管瘤临床分析18例 李健, 李正荣, 李映良, 刘正人, 涂发妹, 武彪 2620 儿童肠道病毒71型活动性感染与红细胞锌浓度的相关性 刘自刚, 李海波, 王少敏, 徐凤兰
病例报告	2623 肝糖原累积病1例 左丽丽, 吴华美, 杨黎宏, 唐映梅, 杨晋辉

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	2499 《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 2507 《世界华人消化杂志》参考文献要求 2529 《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) 2536 《世界华人消化杂志》正文要求 2543 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 2556 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 2570 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 2584 《世界华人消化杂志》外文字符标准 2605 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 2610 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 2626 《世界华人消化杂志》栏目设置
封面故事	林颖, 黄月红, 陈治新, 王小众, 张莉娟. 白介素-10基因干预对纤维化大鼠TNF- α 、PDGF- β 和COX-2表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2571-2577 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/25/2571.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2571
本期责任人	编务 车鑫鑫; 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 郭鹏; 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 2013-09-08

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

September 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 25

EDITORIAL	2493 Relationship between vascular endothelial cells and pancreatic islet development and stem cell differentiation <i>Wei R, Yang J, Hong TP</i>
BASIC RESEARCH	2500 Effect of circulating miR-141 on invasion and migration of gallbladder cancer cells <i>Peng F, Wang M, Jiang JX, Tian R, Li X, Xu M, Guo XJ, Qin RY</i>
CLINICAL RESEARCH	2508 Role of TGF- β in metastasis of hepatocellular carcinoma <i>Zhang YH, Dong XQ, Zou Y, Wu JL, Bai LP, Liu JH, Wang M</i> 2515 DNMTs are differentially expressed in tissues at different distances from colorectal cancer lesions <i>Wu LY, Wen B, Hu FL, Liu JY, Fu DS</i> 2522 Significance of interleukin 17-A expression in colorectal cancer and adenoma <i>Liu KL, Yu RJ, Wu J, Lin XC</i>
REVIEW	2530 Progress in measurements of proximal gastric accommodation in patients with functional dyspepsia <i>Xu QQ, Zhang YL, Yao SK</i> 2537 Treatments for severe gastroparesis <i>Li JL, Tong XL, Pang B, Tian JX, Zhou Q, Li M</i> 2544 Diagnostic and predictive significance of autoantibody profiles in autoimmune liver disease <i>Tang J, Lu J, Yan HP</i> 2551 Progress in understanding the relationship between food intolerance and functional gastrointestinal disorders <i>Tan QH, Li XH</i> 2557 Advances in understanding the relationship between CD24 and colorectal cancer <i>Liu YW, Fang JY</i>
RAPID COMMUNICATION	2563 Effect of moxibustion treatment on expression of NF- κ B and I κ B α in peripheral blood monocytes of rats with <i>Helicobacter pylori</i> -associated gastritis <i>Lin YP, Feng YS, Yi SX, Peng Y, Shi DM, Hou YL</i> 2571 Effect of intravenous injection of recombinant IL-10 gene vector on expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 in experimental fibrosis in rats <i>Lin Y, Huang YH, Chen ZX, Wang XZ, Zhang LJ</i> 2578 Staurosporine inhibits cell proliferation and induces apoptosis in pancreatic cancer cell line Panc-1 <i>Peng F, Li X, Jiang JX, Wang M, Tian R, Xu M, Guo XJ, Qin RY</i> 2585 Establishment of a 3D finite element model of the rabbit anorectum <i>Ke MH, Ye L, Chen LW, Chen RQ, Zheng MX</i>
CLINICAL PRACTICE	2590 Clinical and pathological features of gastric polyps: An analysis of 460 cases <i>Feng Z, Minawaer•Abudu, Gulibaer•Simayi</i> 2594 Effect of entecavir on survival of patients with HBV-related liver failure: A meta-analysis <i>Ma SS, Wu JZ, Ning QY, Zhong DN, Wu JL</i> 2601 Significance of combined detection of tumor markers CA199, CA242, CEA and CA125 in the diagnosis of colorectal carcinoma <i>Zhu Z, Huang J, Li WL, Hong M, Yin L, Yang J, Chen MQ, Dong J</i> 2606 Expression of thymic stromal lymphopoietin in ulcerative colitis <i>Lin Y, Lin LJ, Cui Y, Zheng CQ</i> 2611 Characteristics of commonly used scales for diagnosis and treatment outcome evaluation in constipation <i>Zhou SY, Liu T, Qin HZ, Li Y</i> 2617 Abdominal lymphangioma: An analysis of 18 cases <i>Li J, Li ZR, Li YL, Liu ZR, Tu FM, Wu B</i> 2620 Correlation between active enterovirus type 71 infection and erythrocyte zinc concentration in children <i>Liu ZG, Li HB, Wang SM, Xu FL</i>

CASE REPORT	2623 Hepatic glycogen storage disease: A case report <i>Zuo LL, Wu HM, Yang LH, Tang YM, Yang JH</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>Lin Y, Huang YH, Chen ZX, Wang XZ, Zhang LJ.</i> Effect of intravenous injection of recombinant IL-10 gene vector on expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 in experimental fibrosis in rats. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(25): 2571-2577 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/25/2571.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2571
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</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>Peng Guo</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 September 8, 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.

血管内皮细胞与胰岛发育和干细胞分化的关系

魏蕊, 杨进, 洪天配

魏蕊, 杨进, 洪天配, 北京大学第三医院内分泌科 北京市 100191

洪天配, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事糖尿病、干细胞分化的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070701, 81000315, 81270858

国家973计划基金资助项目, No. 2012CB517502

高等学校博士学科点新教师基金资助项目, No. 20120001120063, No. 20120001120076

作者贡献分布: 本文设计与指导由洪天配完成; 写作由魏蕊与杨进完成。

通讯作者: 洪天配, 教授, 主任医师, 100191, 北京市海淀区花园北路49号, 北京大学第三医院内分泌科。tpho66@bjmu.edu.cn

电话: 010-82265515 传真: 010-62017700

收稿日期: 2013-06-14 修回日期: 2013-07-12

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Relationship between vascular endothelial cells and pancreatic islet development and stem cell differentiation

Rui Wei, Jin Yang, Tian-Pei Hong

Rui Wei, Jin Yang, Tian-Pei Hong, Department of Endocrinology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070701, 81000315, 81270858; the Major National Basic Research Program of China, No. 2012CB517502; and the Young Scientist Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education, No. 20120001120063, No. 20120001120076

Correspondence to: Tian-Pei Hong, Professor, Chief Physician, Department of Endocrinology, Peking University Third Hospital, 49 Huayuan North Road, Haidian District, Beijing 100191, China. tpho66@bjmu.edu.cn

Received: 2013-06-14 Revised: 2013-07-12

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

As the main components of the pancreatic islet niche, endothelial cells participate in many processes of pancreatic development, including pancreatic cell fate decision, endocrine pancreatic cell differentiation and proliferation, and spatial distribution of the pancreas. On different occasions, endothelial cells play disparate roles by cross-talking with islet cells to influence endocrine pancreatic cell differentiation and islet morphology and function. Cytokines such as hepatocyte growth factor and sphingosine-1-phos-

phate as well as the extracellular matrixes such as laminin and collagen IV, which are produced and/or secreted by endothelial cells, play important roles in the regulation of islet development and function. Furthermore, endothelial cells are involved in the balance between self-renewal and differentiation of stem cells. Application of endothelial cells to induce the differentiation of stem cells into functional islet cells may be one of the most promising approaches to cell replacement therapy for diabetes.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Endothelial cells; Islet development; Stem cell differentiation

Wei R, Yang J, Hong TP. Relationship between vascular endothelial cells and pancreatic islet development and stem cell differentiation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2493-2499 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2493.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2493>

摘要

血管内皮细胞是构成胰岛微环境的重要组成部分。内皮细胞参与胰腺的发生、胰腺内分泌细胞的分化和增殖、胰腺的空间分布等各个方面,其作用贯穿于胰腺的整个发育过程。不同状态的内皮细胞在不同的作用时间窗所起的作用不同,可影响内皮细胞与胰岛细胞之间的信号交互,进而影响胰腺内分泌细胞的分化、胰岛的形态及其功能。内皮细胞可分泌肝细胞生长因子、1-磷酸-鞘氨醇等细胞因子,并且可产生层黏连蛋白、IV型胶原等细胞外基质成分,这些分子在胰岛的发育和功能调控中发挥重要作用。此外,内皮细胞还可参与调控干细胞的自我更新和定向分化。内皮细胞在促进干细胞向胰岛细胞分化方面的作用是糖尿病再生医学领域备受关注的研究方向。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 血管内皮细胞; 胰岛发育; 干细胞分化

核心提示: 内皮细胞参与胰腺的发生、胰岛的分

■背景资料

胰岛的生长发育和功能调控离不开其赖以存在的土壤-微环境的稳定。微环境主要由微循环决定,是胰岛进行物质交换、能量代谢和信息传递的重要场所。组成微循环屏障的胰岛微血管内皮细胞在维持胰岛结构和功能中发挥重要作用。不同状态的内皮细胞在不同的作用时间所起的作用不同,可影响内皮细胞与胰岛细胞之间的信号交互,进而影响胰腺内分泌细胞的分化、胰岛的形态及其功能。

■同行评议者

于璐, 主任医师, 天津医科大学代谢病医院

■ 研发前沿

本文就内皮细胞在胰岛发育和干细胞分化的作用及其可能的机制进行阐述。亟待研究的问题如下：在干细胞分化方面，不同类型、不同状态的内皮细胞的作用、与干细胞共培养的方式和时机等关键技术问题都有待于探讨。在作用机制方面，内皮细胞分泌的其他细胞因子和细胞外基质分子有待分析，他们在胰岛发育、增殖及功能调控中的作用尚需进一步探讨。

化和增殖、胰腺的空间分布等环节，其作用贯穿于胰腺的整个发育过程，还可参与调控干细胞的自我更新和定向分化。内皮细胞产生的细胞因子和细胞外基质成分在胰岛的发育和功能调控中发挥重要作用。

魏磊, 杨进, 洪天配. 血管内皮细胞与胰岛发育和干细胞分化的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2493-2499 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2493.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2493>

0 引言

胰岛的生长发育和功能调控离不开其赖以存在的土壤-微环境的稳定。微环境主要由微循环决定，是胰岛进行物质交换、能量代谢和信息传递的重要场所。组成微循环屏障的胰岛微血管内皮细胞在维持胰岛结构和功能中发挥重要作用。内皮细胞在发育生物学上与胰腺内分泌细胞存在密切的时间和空间联系，并且内皮细胞可影响干细胞向胰岛细胞分化。本文就内皮细胞在胰岛发育和干细胞分化的作用及其可能的机制进行阐述。

1 内皮细胞与胰岛的微循环

胰岛被密集的毛细血管网包绕，形成类似肾小球的高度血管化的微器官^[1,2]，其毛细血管网的密度大约是外分泌腺的5倍。虽然胰岛仅占整个胰腺体积的1%-2%，但其血流量却占胰腺全部血流量的10%-20%^[3]。丰富的血供一方面满足了胰岛自身对氧气和营养物质的需求，另一方面保证了胰岛能够迅速感知体内代谢环境的变化，以便快速分泌各种激素，并通过血液循环分布至相应的靶组织，调节机体的代谢平衡，这意味着胰岛微血管在胰岛生理功能的调节中发挥重要的作用。胰岛微血管内皮细胞是构成微血管组织屏障最主要的成分。胰岛微血管内皮细胞的窗孔样结构是外分泌腺的10倍，故胰岛毛细血管具有高通透性。此外，胰岛微血管内皮细胞与外分泌腺血管内皮细胞之间的表面标志物表达存在高达80%的差别，并且可分泌一些细胞因子^[4,5]。

2 内皮细胞对胰腺发育、胰岛细胞分化和增殖的影响

器官发育与血管发育是协调一致的过程。已有研究表明，源于内胚层的实质细胞与源于中胚层的血管内皮细胞之间相互诱导、相互作用。一方面，内皮细胞向组织细胞发出信号，确定器

官的定位、形态和分化状态^[3]；另一方面，受组织细胞的影响，内皮细胞获得器官特异性的特征，以适应器官的生长发育，并与全身血液循环相连通。胰岛的发育同样也遵循相似的模式：血管内皮细胞诱导与血管邻近的胰岛细胞发育；继而胰岛细胞向内皮细胞发出信号，促使其在胰岛内部创建毛细血管网，并且与循环系统相连通^[6]。胰腺胚胎发育的各个阶段和出生后的胰岛功能调控均需要来自内皮细胞的信号^[7]。

2.1 内皮细胞诱导胰腺的发生 胰腺的发育源于前肠内胚层，在小鼠胚胎E8.5-9.5 d，内胚层上皮在与大血管接触处启动了胰腺发育，其中在与胚胎背侧主动脉接触处长出背侧胰芽，而在与胚胎腹侧卵黄静脉接触处长出两个腹侧胰芽^[8,9]。该阶段的血管仅由内皮细胞组成，缺少平滑肌细胞和其他支持细胞，提示内皮细胞可能对胰腺发育具有重要的诱导作用。研究发现，背侧胰腺中胰腺特异性转录因子1a(pancreas specific transcription factor 1a, Ptf1a)和胰十二指肠同源盒因子1(pancreas duodenal homeobox 1, Pdx1)表达的调控均需要源自主动脉内皮细胞的信号^[9]。在非洲爪蟾的胚胎中，去除背侧主动脉后可阻碍内分泌胰腺的发育^[10]。个案病例报道显示，1例主动脉缩窄的患者伴有胰腺体尾部(背侧胰芽发育而来)特异性缺失，而胰腺头部(腹侧胰芽发育而来)则发育正常，提示背侧胰芽的发育需要来自主动脉内皮细胞的信号^[11]。

2.2 内皮细胞对胰腺空间分布的影响 在胰腺整个发育过程中，胰腺细胞与内皮细胞在空间位置上关系密切^[12]：小鼠胚胎E8.5-9.5 d，大血管的内皮细胞与内胚层上皮接触；E11.5 d，内皮细胞形成不规则的网络结构包绕胰芽周围；E13.5-15.5 d，内皮细胞形成血管结构以密集的蜂房样形式包绕原始上皮分支的底部。血管的分布可影响胰腺的空间分布。在小鼠胚胎发育早期，血管对称排列，背侧胰芽和腹侧胰芽的排列亦对称；E9.5-10.5 d，血管系统变得不对称时，胰芽的对称排列同时发生变化，腹外侧邻近右侧卵黄静脉(门静脉)内皮细胞的胰芽发育成为终末期的腹侧胰腺，而另一个腹侧胰芽随邻近的左侧卵黄静脉一同退化^[10]。随后，内皮细胞作为内脏中胚层的小血管或作为门静脉这样的大血管继续与发育中的胰腺内胚层接触，参与之后胰腺发育各个阶段的调控^[13]。

2.3 内皮细胞对胰岛细胞发育和分化的调控作用 在胰腺发育早期，来自中胚层的脊索可促进胰腺特化^[14,15]，但是脊索对已完成特化的胰腺向

内分泌细胞的分化并无作用. 在非洲爪蟾的胚胎中, 去除背侧主动脉后虽可检测到胰腺前体细胞标志物Pdx1的表达, 但却无内分泌细胞的产生^[10]. 因此, 内皮细胞对于胰腺前体细胞向内分泌细胞的分化可能是不可或缺的.

在Pdx1启动子引导下过表达血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可导致胰腺高度血管化和胰岛增生^[10,13], 而VEGF受体(VEGF receptor, VEGFR)的主要亚型VEGFR2在胰岛中并不表达, 提示胰岛增生是继发于血管新生之后而非VEGF的直接作用^[10,16,17]. 另有研究显示, 过表达VEGF可通过增加内皮细胞总量而抑制腺泡细胞发育; 相反, 在Pdx1启动子引导下敲除VEGF基因则可减少内皮细胞的数量, 进而促进腺泡细胞发育^[12]. 上述结果表明, 内皮细胞可参与调控已经特化的胰腺向胰腺内外分泌腺细胞谱系的分化. 此外, 在Pdx1启动子引导下过表达VEGF的小鼠中, 在胃和十二指肠与异位产生的内皮细胞直接作用的部位中, 可呈现胰芽状的结构, 表达胰岛素基因, 并且胰岛素表达量的高低与血管化程度密切相关^[10], 提示来自内皮细胞的信号也有助于非胰腺谱系的前体细胞分化为胰岛素分泌细胞.

在大鼠胰岛素启动子引导下过表达VEGF, 虽可显著增加内皮细胞总量, 但过多的内皮细胞排列紊乱, 抑制胰岛细胞增殖, 降低胰岛细胞总量, 导致胰岛素和胰高血糖素含量降低, 并且阻碍了内分泌胰腺的分化, 导致 α 和 β 细胞散在分布, 不能聚集形成胰岛团样结构. 上述结果提示, 不同水平的VEGF在不同的作用时间窗可导致内皮细胞的结构、密度、成熟和功能的不同, 可影响胰腺内分泌细胞与内皮细胞之间的信号交联, 进而影响胰岛细胞的分化和胰岛的形态^[18].

2.4 内皮细胞促进胰岛细胞的增殖 在胰腺内分泌前体细胞发育为成熟胰岛细胞的过程中, 伴随着胰岛的高度血管化^[10]. 研究显示, 在体外培养的小鼠胚胎E12.5 d的胰腺组织中, 添加VEGFR抑制剂可抑制内皮细胞的增殖, 从而显著降低胰腺内分泌前体细胞标志物Sox9、神经元素3和配对盒因子6的表达^[12]. 胰腺内分泌细胞与内皮细胞的密切关联持续到出生后, 以调控胰岛细胞的扩增. 大鼠生后1 wk, 胰岛细胞显著增多, 而胰岛内皮细胞增殖则更为显著, 从而导致胰岛内毛细血管的密度显著增加, 并且增殖的胰腺内分泌细胞位于内皮细胞周围^[19], 提示内皮细胞对胰岛细胞增殖可能具有促进作用. 此

外, 在成年期胰岛 β 细胞总量和功能的代偿性增高与内皮细胞的增殖亦密切相关, 例如妊娠大鼠胰岛微血管内皮细胞的增殖可促进胰岛增殖, 以代偿妊娠期对胰岛素需求的增加^[20]. 值得注意的是, 内皮细胞在胰腺早期发育和后期转化过程中的调控作用则有所不同^[21,22]. 因此, 要促进胰腺内分泌细胞的分化和增殖, 必须严格掌握内皮细胞增殖的时机, 合理控制血管的密度.

总之, 内皮细胞与胰腺发育之间在时间和空间上存在密切的联系, 内皮细胞参与调控胰腺的发生、胰腺的空间分布、胰腺前体细胞的维持和扩增、胰腺内分泌细胞的分化成熟和增殖等胰腺发育的各个环节. 内皮细胞在不同的作用时间窗所起的作用不同, 可影响内皮细胞与胰岛细胞之间的信号交联, 进而影响胰腺内分泌细胞的分化、胰岛的形态和功能.

3 内皮细胞对干细胞定向分化的影响

从干细胞获得目的组织细胞类型需将干细胞沿特定方向诱导分化, 各种体外分化方案都是基于对体内器官或组织发育规律的认识, 模拟其胚胎发育的过程, 从而在体外产生具有某种特性的组织细胞类型^[23-25]. 目前体外诱导干细胞定向分化方案均存在分化效率低、分化细胞的成熟度差等问题. 内皮细胞参与器官的发育、成熟和功能调控. 因此, 内皮细胞在改进体外诱导干细胞定向分化方案中可能具有重要的意义.

来自以色列的研究小组将人脐静脉内皮细胞或人胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)来源的内皮祖细胞和小鼠胚胎成纤维细胞与人ESC分化形成的心肌样细胞在体外三维支架上共培养, 可提高心脏组织的血管密度, 形成稳定的血管结构, 显著增加心肌样细胞的增殖能力, 上调心肌细胞分化和成熟相关标记物的表达. 将体外构建的心肌组织移植到大鼠心脏后, 移植植物可以存活, 并可与宿主的心肌整合, 移植植物内的心肌样细胞可进一步成熟, 移植物的血管化程度较高, 形成的血管结构可发挥功能, 并且可与宿主的循环系统整合^[26,27]. 上述结果提示, 内皮细胞在体外和体内均可促进干细胞的定向分化和功能成熟.

另一方面, 血管微环境可促进干细胞的自我更新, 例如, 神经干细胞、脂肪前体细胞、精原细胞等干细胞多潜能状态的维持, 都与局部的血管微环境密切相关^[28]. 内皮细胞的状态可影响干细胞自我更新和分化能力间的平衡, 例如,

■ 创新盘点

胰岛微循环在胰岛的生长发育和功能调控中发挥重要的调控作用, 目前有不少研究报道了在生理和病理状态下胰岛微循环与胰岛功能的关系, 然而, 关于其与胰岛发育和分化的关系则未见报道. 本文阐述了内皮细胞在胰岛发育的不同时期发挥的作用, 总结了内皮细胞在干细胞分化中的作用及可能的作用机制, 该报道有助于明确胰岛的发育过程, 为体外干细胞的定向分化提供理论依据.

■应用要点

理解内皮细胞在胰岛发育中的作用及机制有助于明确胰岛的发育过程,为体外干细胞的定向分化提供理论依据.应用内皮细胞共培养或共移植的策略,可能有助于大量产生成熟的功能性胰岛 β 细胞,有望为糖尿病的治疗奠定基础.

在造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSC)中, Akt-mTOR信号通路激活的内皮细胞可促进HSC长期自我更新,而p42/44 MAPK信号通路激活的内皮细胞则可促进HSC分化为成熟的血细胞^[29];在神经干细胞中, Notch和Pten信号通路激活的内皮细胞可促进神经干细胞的增殖和分化^[30].此外,共培养的内皮细胞可促进神经上皮的相互接触,从而激活Notch和Hes 1信号通路,促进神经干细胞的自我更新^[31].

有关内皮细胞在干细胞向胰岛细胞分化中的作用,迄今报道比较有限.已有研究显示,将小鼠ESC分化来的胰腺内分泌前体细胞与原代大鼠心脏微血管内皮细胞共培养,可上调胰岛素、胰岛淀粉样多肽、葡萄糖转运蛋白2等胰岛 β 细胞特异性基因的表达,促进胰岛素分泌^[32].同样,将人ESC分化来的胰腺内分泌前体细胞与原代大鼠心脏微血管内皮细胞共培养,也可获得类似的结果^[33].此外,将小鼠ESC分化形成的包含3个胚层的拟胚体与人皮肤微血管内皮细胞系共培养,内皮细胞可促进胰腺前体细胞和胰岛细胞标志物的表达,内皮细胞分泌的骨形态形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)等可溶性因子可能在其中扮演重要的角色^[34].然而,关于共培养的方式和时机、内皮细胞的类型等关键技术问题都有待于进一步探讨,可能的作用机制亦需深入研究.

4 可能的作用机制

内皮细胞可促进胰岛细胞发育和分化,刺激胰岛细胞增殖,其作用可能与下列机制有关.

4.1 促进血管形成和改善血供 在成年胰岛中,要满足胰岛自身对氧气和营养物质的需求、感知体内代谢环境的变化、调节机体代谢平衡等功能,必须要保证充足的血流.因此,内皮细胞改善胰岛功能在很大程度上依赖于其改善血供的作用^[35,36].此外,在胰岛发育后期,尤其是出生后的胰岛发育,随着血管密度的增多,内分泌细胞的增殖迅速,且内分泌细胞主要位于内皮细胞周围,提示成血管作用在胰岛发育中的重要性.

然而,在胚胎发育早期,内皮细胞促进血管形成和改善血供的作用就显得并不重要.内皮细胞可表达一些重要信号分子,如成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)家族、转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)家族、Wnt家族、Notch配体、神经营养素以及各种基底膜成分^[13],这些信号分子也可能

参与胰岛细胞与内皮细胞之间的相互作用.

4.2 细胞因子的作用 内皮细胞可分泌生长因子,诱导实质细胞的增殖,例如在肝脏发育和肝损伤后的细胞再生中,内皮细胞均可通过促进血管形成以外的机制而发挥作用^[37,38].因此,内皮细胞可能通过同样的方式参与出生后胰岛 β 细胞总量的动态调节.研究显示,纯化的大鼠胰岛微血管内皮细胞在大鼠胰岛细胞条件培养基中培养,可获得胰岛-内皮条件培养基,其中存在肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF),用后一种条件培养基处理原代大鼠胰岛 β 细胞,可刺激 β 细胞增殖.此外,妊娠大鼠胰岛微血管内皮细胞的增殖要早于胰岛细胞的增殖,内皮细胞HGF的高表达与 β 细胞增殖的高峰相一致,而此时胰岛血流量并无明显变化,提示内皮细胞与 β 细胞之间在体内的相互作用可能是通过HGF介导的^[20].在非人灵长类动物的离体胰岛中过表达HGF后进行移植,可显著改善胰岛移植的疗效^[39].上述结果提示, HGF可促进胰岛细胞增殖并且改善其功能.

结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)可由内皮细胞、胰腺导管细胞和发育中的 β 细胞所分泌,在胰腺内分泌前体细胞向成熟胰岛细胞分化中发挥作用.在CTGF基因敲除小鼠中, β 细胞增殖显著降低,胰腺内分泌细胞的比例失调,胰岛形态学异常^[40].

内皮细胞特异性表达的1-磷酸-鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)对于前肠内胚层来源的器官(如胃、肝脏、胰腺等)的发育是必需的.内皮细胞通过S1P直接或间接发挥作用,诱导间质细胞增殖,促进背侧胰腺细胞的增殖^[41].在S1P基因敲除小鼠中, Pdx1阳性的胰腺前体细胞数量降低,背侧胰腺和腹侧胰腺体积明显减小,提示S1P对胰腺内胚层的增殖具有非常重要的作用.然而S1P对胰腺内分泌细胞的分化则无影响^[22].

4.3 细胞外基质的作用 特定组织的基底膜所分泌的信号分子是构成上皮细胞微环境的重要组成部分,决定上皮细胞的可塑性^[42].在Pdx1启动子引导下敲除VEGF,引起胰岛的内皮细胞全部缺失,导致胰岛不能形成基底膜,提示胰岛 β 细胞基底膜的形成依赖于内皮细胞^[43].内皮细胞是许多细胞外基质蛋白的主要来源.

内皮细胞的层黏连蛋白(laminin, Ln)表达水平比胰岛细胞更高.内皮细胞制备的条件培养基可促进离体大鼠胰岛的胰岛素分泌、提高细

胞内胰岛素含量, 添加Ln抗体后可逆转上述效应, 而添加外源性Ln后, 胰岛素分泌和胰岛素含量的增加则更加显著^[44]. 特定的Ln亚型对胰岛 β 细胞的增殖和分化发挥重要作用. Ln-111表达在发育期的胎儿胰岛中较丰富, 而在成人胰岛中表达则非常有限^[45]. 富含Ln-111的Matrigel对于人胰腺导管细胞向胰岛细胞的分化非常重要^[46,47], 对小鼠胚胎胰腺前体细胞分化也具有促进作用^[48], 并且可促进葡萄糖刺激的胰岛素分泌^[49]. 在成年小鼠血管内皮细胞所产生的基底膜成分中, Ln亚型主要是Ln-411和Ln-511, 其以整合素 $\beta 1$ 依赖性的方式促进小鼠 β 细胞的增殖和胰岛素基因的表达^[49].

胰岛微血管内皮细胞分泌的IV型胶原可作用于 β 细胞的受体整合素 $\alpha 1\beta 1$, 调控胰岛素分泌^[50]. 硫酸乙酰肝素是正常胰岛微血管基底膜组成成分, 对于维持正常胰岛素释放和葡萄糖耐量是必需的^[51]. 此外, 胰岛微血管内皮细胞还可分泌多种其他的细胞外基质分子, 他们在胰岛发育、增殖及功能调控中的作用尚需进一步探讨.

5 结论

内皮细胞与胰腺内分泌细胞存在密切的时间和空间联系, 内皮细胞参与调控胚胎胰腺的发生、胰腺的空间分布、胰岛细胞分化、成熟和增殖等各个方面, 还参与出生后胰岛发育成熟和功能调控. 内皮细胞可分泌HGF、SIP等细胞因子, 还可产生Ln、IV型胶原等细胞外基质成分, 这些分子对于胰岛的发育、分化和功能调控发挥重要作用. 此外, 不同状态的内皮细胞调控干细胞的自我更新和分化潜能之间的平衡. 应用内皮细胞共培养或共移植的策略, 可能有助于大量产生成熟的功能性胰岛 β 细胞, 有望为糖尿病的细胞替代治疗奠定基础.

6 参考文献

- 1 Olsson R, Carlsson PO. The pancreatic islet endothelial cell: emerging roles in islet function and disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38: 492-497 [PMID: 16162421 DOI: 10.1016/j.biocel.2005.06.021]
- 2 Bonner-Weir S, Orci L. New perspectives on the microvasculature of the islets of Langerhans in the rat. *Diabetes* 1982; 31: 883-889 [PMID: 6759221 DOI: 10.2337/diabetes.31.10.883]
- 3 Nikolova G, Lammert E. Interdependent development of blood vessels and organs. *Cell Tissue Res* 2003; 314: 33-42 [PMID: 12898210 DOI: 10.1007/s00441-003-0739-8]
- 4 Zanone MM, Favaro E, Camussi G. From endothelial to beta cells: insights into pancreatic islet micro-endothelium. *Curr Diabetes Rev* 2008; 4: 1-9 [PMID: 18220689 DOI: 10.2174/157339908783502415]
- 5 Lidington EA, Moyes DL, McCormack AM, Rose ML. A comparison of primary endothelial cells and endothelial cell lines for studies of immune interactions. *Transpl Immunol* 1999; 7: 239-246 [PMID: 10638837 DOI: 10.1016/S0966-3274(99)80008-2]
- 6 Konstantinova I, Lammert E. Microvascular development: learning from pancreatic islets. *Bioessays* 2004; 26: 1069-1075 [PMID: 15382139 DOI: 10.1002/bies.20105]
- 7 Villasenor A, Cleaver O. Crosstalk between the developing pancreas and its blood vessels: an evolving dialog. *Semin Cell Dev Biol* 2012; 23: 685-692 [PMID: 22728668 DOI: 10.1016/j.semcdb.2012.06.003]
- 8 Jacquemin P, Yoshitomi H, Kashima Y, Rousseau GG, Lemaigre FP, Zaret KS. An endothelial-mesenchymal relay pathway regulates early phases of pancreas development. *Dev Biol* 2006; 290: 189-199 [PMID: 16386727 DOI: 10.1016/j.ydbio.2005.11.023]
- 9 Yoshitomi H, Zaret KS. Endothelial cell interactions initiate dorsal pancreas development by selectively inducing the transcription factor Ptf1a. *Development* 2004; 131: 807-817 [PMID: 14736742 DOI: 10.1242/dev.00960]
- 10 Lammert E, Cleaver O, Melton D. Induction of pancreatic differentiation by signals from blood vessels. *Science* 2001; 294: 564-567 [PMID: 11577200 DOI: 10.1126/science.1064344]
- 11 Kapa S, Gleeson FC, Vege SS. Dorsal pancreas agenesis and polysplenia/heterotaxy syndrome: a novel association with aortic coarctation and a review of the literature. *JOP* 2007; 8: 433-437 [PMID: 17625295]
- 12 Pierreux CE, Cordi S, Hick AC, Achouri Y, Ruiz de Almodovar C, Prévot PP, Courtoy PJ, Carmeliet P, Lemaigre FP. Epithelial: Endothelial cross-talk regulates exocrine differentiation in developing pancreas. *Dev Biol* 2010; 347: 216-227 [PMID: 20807526 DOI: 10.1016/j.ydbio.2010.08.024]
- 13 Lammert E, Cleaver O, Melton D. Role of endothelial cells in early pancreas and liver development. *Mech Dev* 2003; 120: 59-64 [PMID: 12490296 DOI: 10.1016/S0925-4773(02)00332-5]
- 14 Kim SK, Hebrok M, Melton DA. Notochord to endoderm signaling is required for pancreas development. *Development* 1997; 124: 4243-4252 [PMID: 9334273]
- 15 Hebrok M, Kim SK, Melton DA. Notochord repression of endodermal Sonic hedgehog permits pancreas development. *Genes Dev* 1998; 12: 1705-1713 [PMID: 9620856 DOI: 10.1101/gad.12.11.1705]
- 16 Brissova M, Shostak A, Shiota M, Wiebe PO, Poffenberger G, Kantz J, Chen Z, Carr C, Jerome WG, Chen J, Baldwin HS, Nicholson W, Bader DM, Jetton T, Gannon M, Powers AC. Pancreatic islet production of vascular endothelial growth factor--a is essential for islet vascularization, revascularization, and function. *Diabetes* 2006; 55: 2974-2985 [PMID: 17065333 DOI: 10.2337/db06-0690]
- 17 Christofori G, Naik P, Hanahan D. Vascular endothelial growth factor and its receptors, flt-1 and flk-1, are expressed in normal pancreatic islets and throughout islet cell tumorigenesis. *Mol Endocrinol* 1995; 9: 1760-1770 [PMID: 8614412 DOI: 10.1210/me.9.12.1760]
- 18 Cai Q, Brissova M, Reinert RB, Pan FC, Brahmachary P, Jeansson M, Shostak A, Radhika A, Poffen-

同行评价

本文就糖尿病研究前沿领域-内皮细胞在胰岛发育和干细胞分化的作用进行系统评述, 并阐述了可能的作用机制, 对临床和科研有较强的指导意义.

- berger G, Quaggin SE, Jerome WG, Dumont DJ, Powers AC. Enhanced expression of VEGF-A in β cells increases endothelial cell number but impairs islet morphogenesis and β cell proliferation. *Dev Biol* 2012; 367: 40-54 [PMID: 22546694 DOI: 10.1016/j.ydbio.2012.04.022]
- 19 Johansson M, Andersson A, Carlsson PO, Jansson L. Perinatal development of the pancreatic islet microvasculature in rats. *J Anat* 2006; 208: 191-196 [PMID: 16441563 DOI: 10.1111/j.1469-7580.2006.00520.x]
- 20 Johansson M, Mattsson G, Andersson A, Jansson L, Carlsson PO. Islet endothelial cells and pancreatic beta-cell proliferation: studies in vitro and during pregnancy in adult rats. *Endocrinology* 2006; 147: 2315-2324 [PMID: 16439446 DOI: 10.1210/en.2005-0997]
- 21 Magenheim J, Ilovich O, Lazarus A, Klochendler A, Ziv O, Werman R, Hija A, Cleaver O, Mishani E, Keshet E, Dor Y. Blood vessels restrain pancreas branching, differentiation and growth. *Development* 2011; 138: 4743-4752 [PMID: 21965615 DOI: 10.1242/dev.066548]
- 22 Sand FW, Hörnblad A, Johansson JK, Lorén C, Edsbacke J, Ståhlberg A, Magenheim J, Ilovich O, Mishani E, Dor Y, Ahlgren U, Semb H. Growth-limiting role of endothelial cells in endoderm development. *Dev Biol* 2011; 352: 267-277 [PMID: 21281624 DOI: 10.1016/j.ydbio.2011.01.026]
- 23 陆长富. 发育重演律与干细胞研究. 自然杂志 2009; 31: 285-289
- 24 Zhang D, Jiang W, Liu M, Sui X, Yin X, Chen S, Shi Y, Deng H. Highly efficient differentiation of human ES cells and iPS cells into mature pancreatic insulin-producing cells. *Cell Res* 2009; 19: 429-438 [PMID: 19255591 DOI: 10.1038/cr.2009.28]
- 25 魏蕊, 洪天配. 干细胞技术治疗糖尿病的研究进展与应用前景. 世界华人消化杂志 2011; 19: 441-450
- 26 Caspi O, Lesman A, Basevitch Y, Gepstein A, Arbel G, Habib IH, Gepstein L, Levenberg S. Tissue engineering of vascularized cardiac muscle from human embryonic stem cells. *Circ Res* 2007; 100: 263-272 [PMID: 17218605 DOI: 10.1161/01.RES.0000257776.05673.ff]
- 27 Lesman A, Habib M, Caspi O, Gepstein A, Arbel G, Levenberg S, Gepstein L. Transplantation of a tissue-engineered human vascularized cardiac muscle. *Tissue Eng Part A* 2010; 16: 115-125 [PMID: 19642856 DOI: 10.1089/ten.TEA.2009.0130]
- 28 Cleaver O, Dor Y. Vascular instruction of pancreas development. *Development* 2012; 139: 2833-2843 [PMID: 22833471 DOI: 10.1242/dev.065953]
- 29 Kobayashi H, Butler JM, O'Donnell R, Kobayashi M, Ding BS, Bonner B, Chiu VK, Nolan DJ, Shido K, Benjamin L, Rafii S. Angiocrine factors from Akt-activated endothelial cells balance self-renewal and differentiation of haematopoietic stem cells. *Nat Cell Biol* 2010; 12: 1046-1056 [PMID: 20972423 DOI: 10.1038/ncb2108]
- 30 Sun J, Zhou W, Ma D, Yang Y. Endothelial cells promote neural stem cell proliferation and differentiation associated with VEGF activated Notch and Pten signaling. *Dev Dyn* 2010; 239: 2345-2353 [PMID: 20730910 DOI: 10.1002/dvdy.22377]
- 31 Shen Q, Goderie SK, Jin L, Karanth N, Sun Y, Abramova N, Vincent P, Pumiglia K, Temple S. Endothelial cells stimulate self-renewal and expand neurogenesis of neural stem cells. *Science* 2004; 304: 1338-1340 [PMID: 15060285 DOI: 10.1126/science.1095505]
- 32 Banerjee I, Sharma N, Yarmush M. Impact of co-culture on pancreatic differentiation of embryonic stem cells. *J Tissue Eng Regen Med* 2011; 5: 313-323 [PMID: 20717889 DOI: 10.1002/term.317]
- 33 Jaramillo M, Banerjee I. Endothelial cell co-culture mediates maturation of human embryonic stem cell to pancreatic insulin producing cells in a directed differentiation approach. *J Vis Exp* 2012; (61): 3759 [PMID: 22491132 DOI: 10.3791/3759]
- 34 Talavera-Adame D, Wu G, He Y, Ng TT, Gupta A, Kurtovic S, Hwang JY, Farkas DL, Dafoe DC. Endothelial cells in co-culture enhance embryonic stem cell differentiation to pancreatic progenitors and insulin-producing cells through BMP signaling. *Stem Cell Rev* 2011; 7: 532-543 [PMID: 21298405 DOI: 10.1007/s12015-011-9232-z]
- 35 李新, 袁莉. 胰岛微循环与胰岛功能. 国际内科学杂志 2008; 35: 709-712
- 36 Eberhard D, Kragl M, Lammert E. 'Giving and taking': endothelial and beta-cells in the islets of Langerhans. *Trends Endocrinol Metab* 2010; 21: 457-463 [PMID: 20359908 DOI: 10.1016/j.tem.2010.03.003]
- 37 Matsumoto K, Yoshitomi H, Rossant J, Zaret KS. Liver organogenesis promoted by endothelial cells prior to vascular function. *Science* 2001; 294: 559-563 [PMID: 11577199 DOI: 10.1126/science.1063889]
- 38 LeCouter J, Moritz DR, Li B, Phillips GL, Liang XH, Gerber HP, Hillan KJ, Ferrara N. Angiogenesis-independent endothelial protection of liver: role of VEGFR-1. *Science* 2003; 299: 890-893 [PMID: 12574630 DOI: 10.1126/science.1079562]
- 39 Fiaschi-Taesch NM, Berman DM, Sicari BM, Takane KK, Garcia-Ocaña A, Ricordi C, Kenyon NS, Stewart AF. Hepatocyte growth factor enhances engraftment and function of nonhuman primate islets. *Diabetes* 2008; 57: 2745-2754 [PMID: 18820214 DOI: 10.2337/db08-1085]
- 40 Crawford LA, Guney MA, Oh YA, Deyoung RA, Valenzuela DM, Murphy AJ, Yancopoulos GD, Lyons KM, Brigstock DR, Economides A, Gannon M. Connective tissue growth factor (CTGF) inactivation leads to defects in islet cell lineage allocation and beta-cell proliferation during embryogenesis. *Mol Endocrinol* 2009; 23: 324-336 [PMID: 19131512 DOI: 10.1210/me.2008-0045]
- 41 Edsbacke J, Johansson JK, Esni F, Luo Y, Radice GL, Semb H. Vascular function and sphingosine-1-phosphate regulate development of the dorsal pancreatic mesenchyme. *Development* 2005; 132: 1085-1092 [PMID: 15689381 DOI: 10.1242/dev.01643]
- 42 Otonkoski T, Banerjee M, Korsgren O, Thornell LE, Virtanen I. Unique basement membrane structure of human pancreatic islets: implications for beta-cell growth and differentiation. *Diabetes Obes Metab* 2008; 10 Suppl 4: 119-127 [PMID: 18834439 DOI: 10.1111/j.1463-1326.2008.00955.x]
- 43 Nikolova G, Jabs N, Konstantinova I, Domogatskaya A, Tryggvason K, Sorokin L, Fässler R, Gu G, Gerber HP, Ferrara N, Melton DA, Lammert E. The vascular basement membrane: a niche for insulin gene expression and Beta cell proliferation. *Dev Cell* 2006; 10: 397-405 [PMID: 16516842 DOI: 10.1016/j.devcel.2006.01.015]
- 44 Johansson A, Lau J, Sandberg M, Borg LA, Magnus-

- son PU, Carlsson PO. Endothelial cell signalling supports pancreatic beta cell function in the rat. *Diabetologia* 2009; 52: 2385-2394 [PMID: 19669728 DOI: 10.1007/s00125-009-1485-6]
- 45 Virtanen I, Gullberg D, Rissanen J, Kivilaakso E, Kiviluoto T, Laitinen LA, Lehto VP, Ekblom P. Laminin alpha1-chain shows a restricted distribution in epithelial basement membranes of fetal and adult human tissues. *Exp Cell Res* 2000; 257: 298-309 [PMID: 10837144 DOI: 10.1006/excr.2000.4883]
- 46 Gao R, Ustinov J, Pulkkinen MA, Lundin K, Korsgren O, Otonkoski T. Characterization of endocrine progenitor cells and critical factors for their differentiation in human adult pancreatic cell culture. *Diabetes* 2003; 52: 2007-2015 [PMID: 12882917 DOI: 10.2337/diabetes.52.8.2007]
- 47 Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, Tatarkiewicz K, Song KH, Sharma A, O'Neil JJ. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 7999-8004 [PMID: 10884429 DOI: 10.1073/pnas.97.14.7999]
- 48 Jiang FX, Cram DS, DeAizpurua HJ, Harrison LC. Laminin-1 promotes differentiation of fetal mouse pancreatic beta-cells. *Diabetes* 1999; 48: 722-730 [PMID: 10102687 DOI: 10.2337/diabetes.48.4.722]
- 49 Labriola L, Montor WR, Krogh K, Lojudice FH, Genzini T, Goldberg AC, Eliaschewitz FG, Sogayar MC. Beneficial effects of prolactin and laminin on human pancreatic islet-cell cultures. *Mol Cell Endocrinol* 2007; 263: 120-133 [PMID: 17081683 DOI: 10.1016/j.mce.2006.09.011]
- 50 Kaido T, Yebra M, Cirulli V, Montgomery AM. Regulation of human beta-cell adhesion, motility, and insulin secretion by collagen IV and its receptor alpha1beta1. *J Biol Chem* 2004; 279: 53762-53769 [PMID: 15485856 DOI: 10.1074/jbc.M411202200]
- 51 Takahashi I, Noguchi N, Nata K, Yamada S, Kaneiwa T, Mizumoto S, Ikeda T, Sugihara K, Asano M, Yoshikawa T, Yamauchi A, Shervani NJ, Uruno A, Kato I, Unno M, Sugahara K, Takasawa S, Okamoto H, Sugawara A. Important role of heparan sulfate in postnatal islet growth and insulin secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 383: 113-118 [PMID: 19336225 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.03.140]

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6 448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%。

循环型miR-141在胆囊癌侵袭转移和复发中的影响及其临床意义

彭丰, 王敏, 江建新, 田锐, 李旭, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义

■背景资料

miR-141属于miR-200家族, 被证实多种肿瘤细胞及正常细胞的生长、分化和转移方面发挥重要的调控作用, 已成为最受关注mi-croRNA家族之一。

彭丰, 王敏, 田锐, 李旭, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科中心 湖北省武汉市 430030

江建新, 贵阳医学院附属医院肝胆外科 贵州省贵阳市 550001

彭丰, 主要从事胆道胰腺肿瘤的基础与临床研究。

国家自然科学基金面上资助项目, Nos. 81071775, 81172064, 81160311, 81001068, 81101621

湖北省自然科学基金重点基金资助项目, No. 2011CDA030

中国博士后科学基金面上资助项目, No. 2013M531983

作者贡献分布: 实验设计由彭丰与秦仁义完成; 数据获取由王敏、江建新、田锐及郭兴军完成; 数据统计由李旭与徐盟完成; 论文撰写由彭丰与秦仁义完成; 实验监督由秦仁义完成。

通讯作者: 秦仁义, 教授, 主任医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科中心. ryqin@tjh.tjmu.edu.cn

收稿日期: 2013-06-26 修回日期: 2013-07-22

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Effect of circulating miR-141 on invasion and migration of gallbladder cancer cells

Feng Peng, Min Wang, Jian-Xin Jiang, Rui Tian, Xu Li, Meng Xu, Xing-Jun Guo, Ren-Yi Qin

Feng Peng, Min Wang, Rui Tian, Xu Li, Meng Xu, Xing-Jun Guo, Ren-Yi Qin, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Jian-Xin Jiang, Department of Biliary-Hepatic Surgery, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550001, Guizhou Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81071775, 81101621, 81160311, 81172064, and 81001068; the Key Projects of Science Foundation of Hubei Province, No. 2011CDA030; the China Postdoctoral Science Foundation, No. 2013M531983

Correspondence to: Ren-Yi Qin, Professor, Chief Physician, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Dadao, Wuhan 430030, Hubei Province, China. ryqin@tjh.tjmu.edu.cn

Received: 2013-06-26 Revised: 2013-07-22

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To screen differentially expressed microRNAs in serum and tissues of patients with gallbladder cancer and explore their effect on the migration and invasion ability of gallbladder cancer cells.

■同行评议者

江建新, 副主任医师, 贵阳医学院附属医院肝胆外科

METHODS: The expression of 11 microRNAs was detected in serum of 12 patients with gallbladder cancer and 14 normal controls to screen differentially expressed microRNAs. Differential expression of screened microRNAs in human gallbladder cancer tissues was verified by real-time PCR. The effect of miR-141 mimic transfection on the invasion and migration ability of human gallbladder cancer GBC-SD cells was detected by Transwell assay and wound-healing assay.

RESULTS: Compared to the control group, two microRNAs (miR-141 and miR-200a) were significantly down-regulated, and one up-regulated in serum of patients with gallbladder cancer. The expression of miR-141 in human gallbladder cancer tissues was also significantly lower than that in normal gallbladder tissues ($P < 0.05$). Expression of miR-141 in human gallbladder cancer tissues was related with distant metastasis. The invasion and migration abilities of GBC-SD cells were declined after lentivirus-mediated miR-141 up-regulation.

CONCLUSION: Some microRNAs are differentially expressed in serum and tissues between patients with gallbladder cancer and healthy people. MiR-141 is probably involved in invasion and migration of gallbladder cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gallbladder cancer; MicroRNA; Invasion and metastasis

Peng F, Wang M, Jiang JX, Tian R, Li X, Xu M, Guo XJ, Qin RY. Effect of circulating miR-141 on invasion and migration of gallbladder cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2500-2507 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2500.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2500>

摘要

目的: 检测胆囊癌患者血清及肿瘤组织中microRNA的差异表达, 筛选关键microRNA并阐明其与患者临床特征的相关性及其对胆囊

癌细胞侵袭迁移能力的影响。

方法: 收集2010-09/2012-04于武汉同济医院胆胰外科进行根治性手术的胆囊癌病例12例; 每例患者均采集术前外周血, 术中收集手术切除肿瘤标本。同时收集同期入院的胆囊结石/健康志愿者血清14例。利用Real-time PCR对12例胆囊癌患者及14例对照血清标本中的10条microRNA表达水平进行检测; 在12对胆囊癌和癌旁组织中对筛选出的差异microRNA进行验证; 结合患者临床病例资料进行相关性分析。利用慢病毒载体转染, 验证miR-141上调后在体外对胆囊癌GBC-SD细胞侵袭、迁移能力的影响。

结果: Real-time PCR结果提示, 相对于正常对照组, 胆囊癌患者血清中筛选出3条差异表达循环microRNA, 其中miR-141呈显著低表达, 差异具有统计学意义($P<0.05$); miR-141在胆囊癌组织中表达显著低于正常胆囊及癌旁组织, 胆囊癌中miR-141水平较癌旁组织中低16.68倍 \pm 0.64倍, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 再发或转移胆囊癌患者循环miR-141表达水平较术前明显降低, 差异具有统计学意义($P<0.05$); miR-141上调组GBC-SD细胞侵袭细胞较阴性对照组细胞数下降10.83倍 \pm 0.37倍, 迁移率下降3.48倍 \pm 0.62倍, 差异具有统计学意义($P<0.01$)。

结论: 胆囊癌患者血清中miR-141表达具有差异性, miR-141在胆管癌组织中呈显著低表达, 且其可在体外显著抑制胆管癌细胞侵袭迁移能力, 可作为胆囊癌早期诊断及预后判断的潜在血清标志物。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胆囊癌; MicroRNA; 侵袭转移

核心提示: 胆囊癌患者循环型miR-141表达具有差异性, 且与患者远处转移及复发相关, 其可在体外显著抑制胆管癌细胞侵袭迁移能力, 可作为胆囊癌早期诊断及预后判断的潜在血清标志物。

彭丰, 王敏, 江建新, 田锐, 李旭, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义. 循环型miR-141在胆囊癌侵袭转移和复发中的影响及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2500-2507 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2500.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2500>

0 引言

胆囊癌是胆道系统常见的恶性疾病之一, 由于

其早期易发生肝脏及周围脏器的浸润和远处转移, 导致其确诊后失去根治性手术的机会, 术后5年生存率较低^[1,2]。因此, 探寻胆囊癌早期诊断的方法及标准、提高患者的诊断率对突破现阶段胆囊癌的综合诊疗瓶颈具有非常重要的意义。目前, 国内外学者对胆囊癌发生发展的分子生物学机制进行了深入的探讨, 并探寻可能存在的特异性分子标志或潜在的治疗靶点^[3,4], 但大多数研究仍处于基础阶段, 无法将所得成果向临床应用转化。因此, 寻找将现有基础分子生物学研究与临床应用的联系, 是目前的研究重点之一。

MicroRNA是一类广泛的存在于真核生物中的小分子, 长度约为22个核苷酸。其不直接编码蛋白而通过与目的基因结合, 形成RNA诱导沉默复合体(RNA induced silencing complex, RISC), 降解mRNA和/或抑制其翻译^[5,6]。研究发现miRNA不仅对细胞的增殖、分化、凋亡和周期等生物学行为起到极为重要的调控作用^[7], 而且和肿瘤的多项恶性生物学效应密切相关^[8]。尤其是近来关于分泌型microRNA和循环性microRNA的研究, 更是将microRNA与肿瘤的相关性以及其在肿瘤临床综合诊治中的角色明朗化^[9,10]。但目前胆囊癌相关的microRNA研究仍为数不多^[11], 其研究成果也未能达成共识。我们通过长期在胆道恶性肿瘤中进行microRNA研究后发现, 特定的microRNA在胆囊癌中具有关键的生物学行为调节功能, 因此开展本次研究, 拟筛选出胆囊癌中差异性的循环microRNA并初步阐明其临床相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-09/2012-04于武汉同济医院胆胰外科中心进行根治性切除手术的胆囊癌病例12例设置为实验组, 收集同期入院胆囊结石/健康志愿者14例设置为对照组。12例患者均由术后病理证实为胆囊癌。人胆囊癌细胞系GBC-SD购自中国科学院上海生物化学与生物研究所; 1640培养液、特级胎牛血清、双抗溶液、OPTI-MEM均购自Gibco公司; 逆转录及Real-time PCR试剂均购自TAKARA公司; miR-141逆转录及Real-time PCR引物均由广州锐博生物公司设计并合成; miR-141过表达慢病毒载体由上海吉凯公司设计并合成; Lipo2000试剂购自Invitrogen公司; 基质胶(Matrigel)购自BD公司;

■ 研发前沿

miR-141已被证实实在肿瘤细胞的上皮间质转化过程中起负向调控作用, 但其对肿瘤远处转移的调控作用尚存在一定争议, 循环型miR-141由于其所处环境的特殊性, 其临床相关性及生物学效应尚需进一步研究证明。

■相关报道

有研究证实循环型miR-141可以作为一种新型标志物,与癌胚抗原互补预测结肠癌患者的远处转移及预后。

表 1 胆囊癌组织/癌旁标本中miR-141表达水平的临床相关性分析

临床特征	miR-141		
	<i>n</i>	T	N
性别			
男	5	$P = 0.872$	$P = 0.302$
女	7		
年龄(岁)			
<55	5	$P = 0.742$	$P = 0.531$
≥55	7		
病理分化程度			
低分化	5	$P = 0.0587$	$P = 0.662$
中、高分化	3		
远处转移			
有	5	^a $P = 0.045$	$P = 0.267$
无	7		

^a $P < 0.05$ vs 无远处转移组. T: 胆囊癌组; N: 对照组.

Transwell小室购自Costar公司.

1.2 方法

1.2.1 患者血清及手术标本收集: 每例患者/对照组成员术前均采集外周血2 mL, 迅速转入EDTA抗凝管中, 涡旋混匀, 在1 h内4 °C, 820 g离心10 min. 取约1 mL上清转至洁净的1.5 mL离心管中, 16000 g, 4 °C, 离心10 min, 小心吸取上清到新的离心管中, 并置于-80 °C中储存. 收集手术切除胆囊癌标本12例, 同时收集配对正常胆囊/癌旁组织. 所有标本离体30 min内迅速切至0.5 cm × 0.5 cm × 0.5 cm大小, 并置于液氮中快速冷却, 后置于-80 °C中储存. 12例手术患者中有4例患者在术后3 mo出现肝脏及远处转移再次入院, 按上述方法再次收集血清标本.

1.2.2 RNA提取及Real-time PCR检测: 采用采用mirVana PARIS试剂盒(Ambion)提取血清总RNA. 采用TRIzol法提取12例胆囊癌患者手术切除标本+对应癌旁组织总RNA, 所用microRNA逆转录及Real-time PCR引物均由广州锐博生物设计并合成. 逆转录方法根据引物说明采用两步法完成, 反应条件为: 70 °C 10 min, 冰浴2 min, 42 °C 60 min, 70 °C 10 min. 逆转录所得cDNA暂置于-80 °C冰箱保存. Real-time PCR采用Sybr Green染料法, 以RNU6B为内参. 反应条件为: 95 °C 20 s, 95 °C 10 s, 60 °C 20 s, 70 °C 10 s, 共进行40个循环. 每个实验均重复试验3次.

1.2.3 细胞侵袭及划痕实验: GBC-SD细胞转染miR-141过表达慢病毒载体, 转染前1 d接种适当

细胞于六孔板中, 次日按产品说明进行慢病毒载体转染, 取MOI值为25. 转染完成后3 d于荧光显微镜下观察转染情况并进行定量PCR检测, 转染后稳定细胞株按常规方法进行Transwell及划痕实验, 设置miR-141上调组、阴性对照及空白对照3个组. 所有实验均重复3次.

统计学处理 应用SPSS19.0统计学软件包进行数据分析, 计量资料采用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

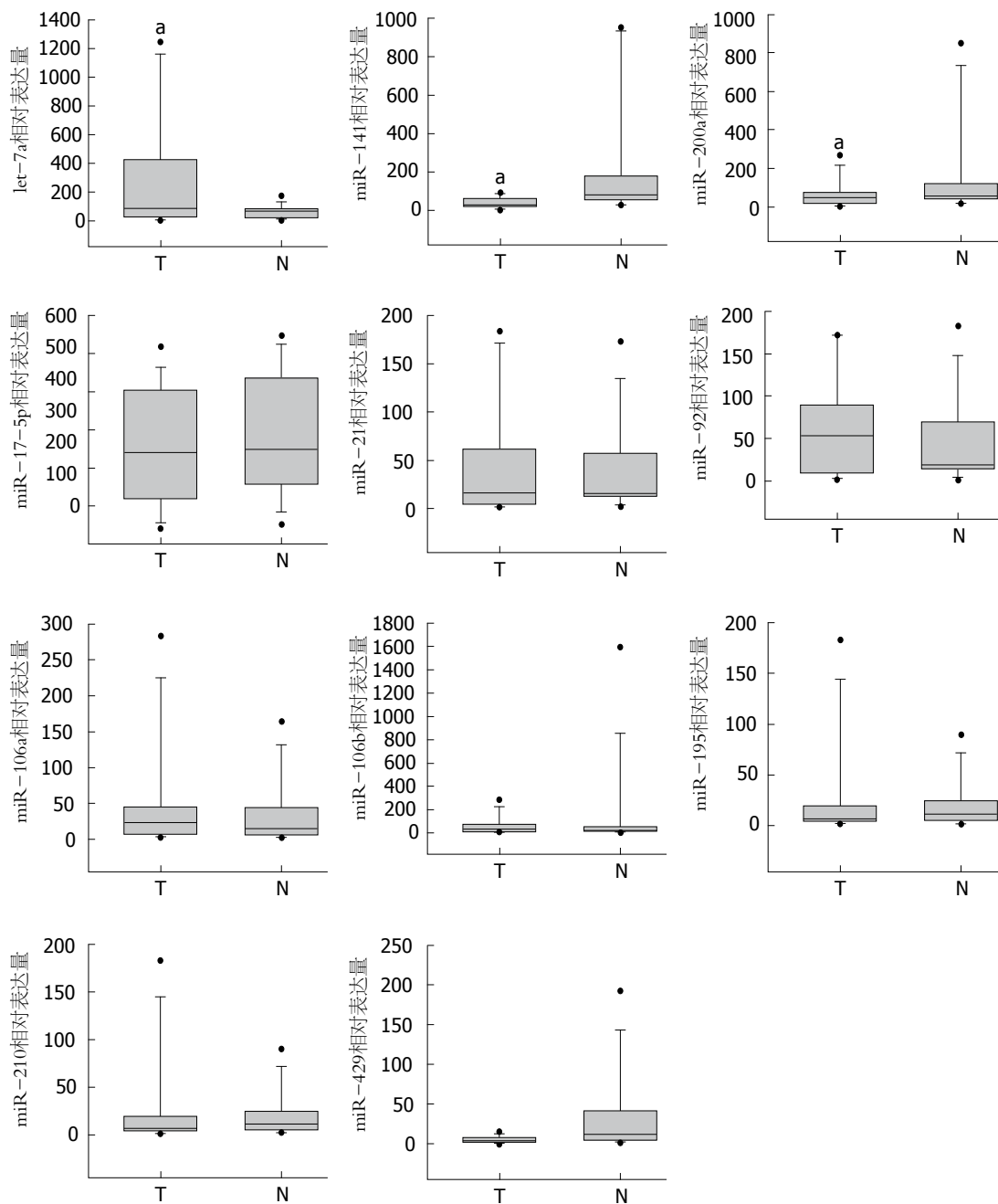
2.1 胆囊癌患者循环型microRNA差异表达水平的检测 对全部12例胆囊癌患者及14例对照组成员血清中循环microRNA进行检测, 检测指标如下: miR-210、miR-21、miR-200a、miR-141、miR-429、let-7a、miR-92、miR-195、miR-17-5p、miR-106a和miR-106b. RT-PCR结果显示, 相对于正常对照组, 胆囊癌组患者血清中let-7a呈显著高表达, miR-200a、miR-141呈显著低表达, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$), 余microRNA表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$, 图1).

2.2 再发及远处转移胆囊癌患者血清差异性循环microRNA表达水平的检测 根据初步筛查结果, 对4例因再发远处转移而再次入院的胆囊癌患者的血清标本进行miR-200a/miR-141/let-7a水平检测, 并与手术前血清标本结果比较, 结果发现再发远处转移胆囊癌患者血清中miR-141水平均较术前有明显降低. 综合4例患者再发远处转移前后血清miR-141水平表达, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), miR-200a、let-7a表达水平较术前差异无统计学意义($P > 0.05$, 图2).

2.3 胆囊癌组织标本及对应癌旁中miR-141表达水平的检测 结合前期研究结果, 对全部12对胆囊癌及对应癌旁标本中miR-141表达水平进行检测, 结果提示miR-141在胆囊癌组织中表达水平显著低于癌旁组织, 其表达较癌旁组织低16.68倍 \pm 0.64倍. 综合全部12对胆囊癌标本及对应癌旁表达情况, miR-141差异具有统计学意义($P < 0.05$, 图3).

2.4 胆囊癌患者临床特征与循环miR-141的相关性分析 根据胆囊癌患者术前循环miR-141表达水平, 进行临床特征的相关性分析, 结果发现, 胆囊癌患者循环型miR-141的表达水平与患者的年龄、性别、病理分化程度无明显相关($P > 0.05$), 而与患者的远处转移相关($P < 0.05$, 表1).

2.5 miR-141对胆囊癌GBC-SD细胞侵袭迁移能



创新盘点
 本文首次证实循环型miR-141是在胆囊癌患者差异表达microRNA, 并初步证实了其临床相关性与生物学的效应调节功能。

图 1 胆囊癌患者术前血清及对照组血清中11条miR表达水平检测结果. T: 胆囊癌组; N: 对照组, * $P < 0.05$ vs N.

力的影响检测 转染miR-141过表达慢病毒载体后RT-PCR结果显示, GBC-SD细胞内miR-141水平上调986.20倍 \pm 2.365倍. 侵袭实验结果表明miR-141过表达干预后, 下室面迁移GBC-SD细胞数明显减少, 对比阴性对照组细胞数差异为10.83倍 \pm 0.37倍, 具有统计学意义($P < 0.05$, 图4). 划痕实验结果表明miR-141过表达干预后, GBC-SD细胞迁移速率明显降低, 对比阴性对照组迁移率差异为3.48倍 \pm 0.62倍, 具有统计学意义($P < 0.05$, 图4).

3 讨论

胆囊癌是常见的胆道系统恶性肿瘤之一, 具有较高的死亡率. 由于胆囊癌具有较强的侵袭性, 往往随着病情的发展产生局部的浸润、淋巴结转移、血管侵犯甚至远处转移等^[12]. 目前手术切除是唯一可治愈胆囊癌的治疗方法. 但胆囊癌患者早期症状不明显, 导致确诊后失去根治性手术的机会^[13]. 因此虽然近年来在外科手术以及辅助放化疗等方面均取得了长足的进步^[14], 但胆囊癌的综合诊治仍处于一个明显的瓶颈阶段.

应用要点

本文为在胆囊癌中进一步探讨循环型miR-141的作用靶点及功能提供了理论基础, 并为其作为胆囊癌患者血清标志物的应用提供了初步的理论依据。

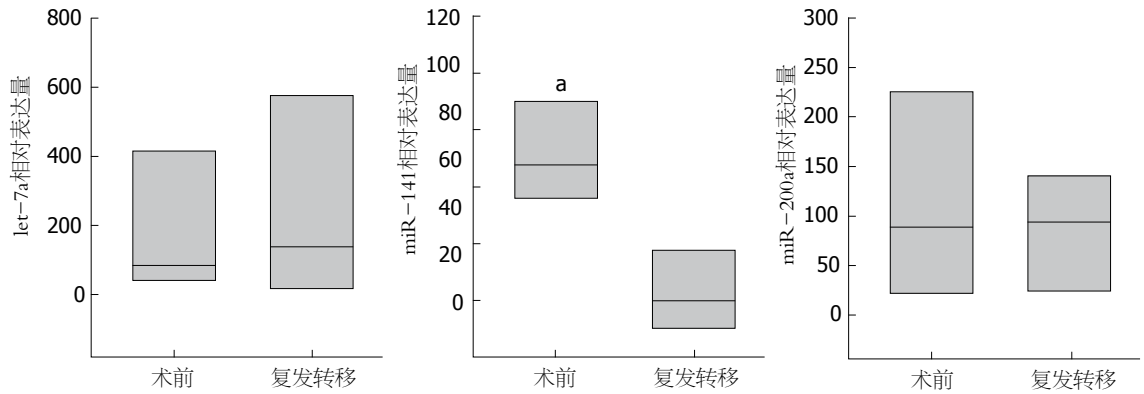


图 2 4例复发/远处转移胆囊癌患者血清中miR-141、miR-200a及let-7a与术前血清表达水平对比结果。^a $P < 0.05$ vs 复发转移组。

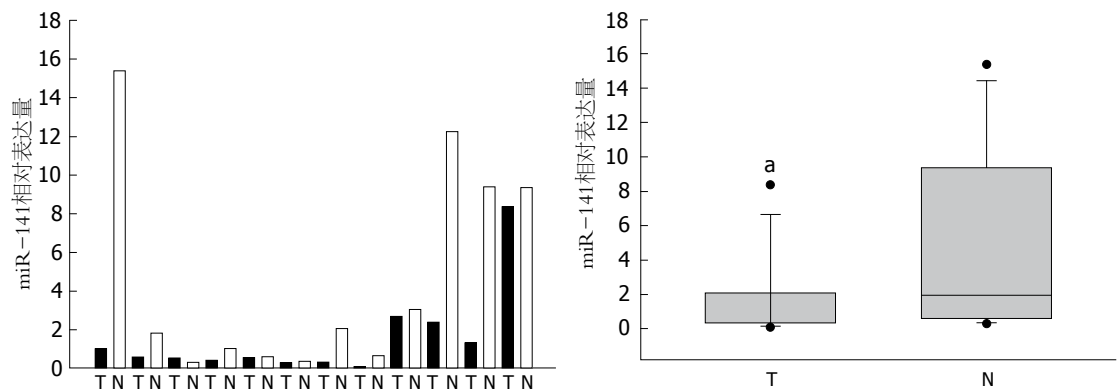
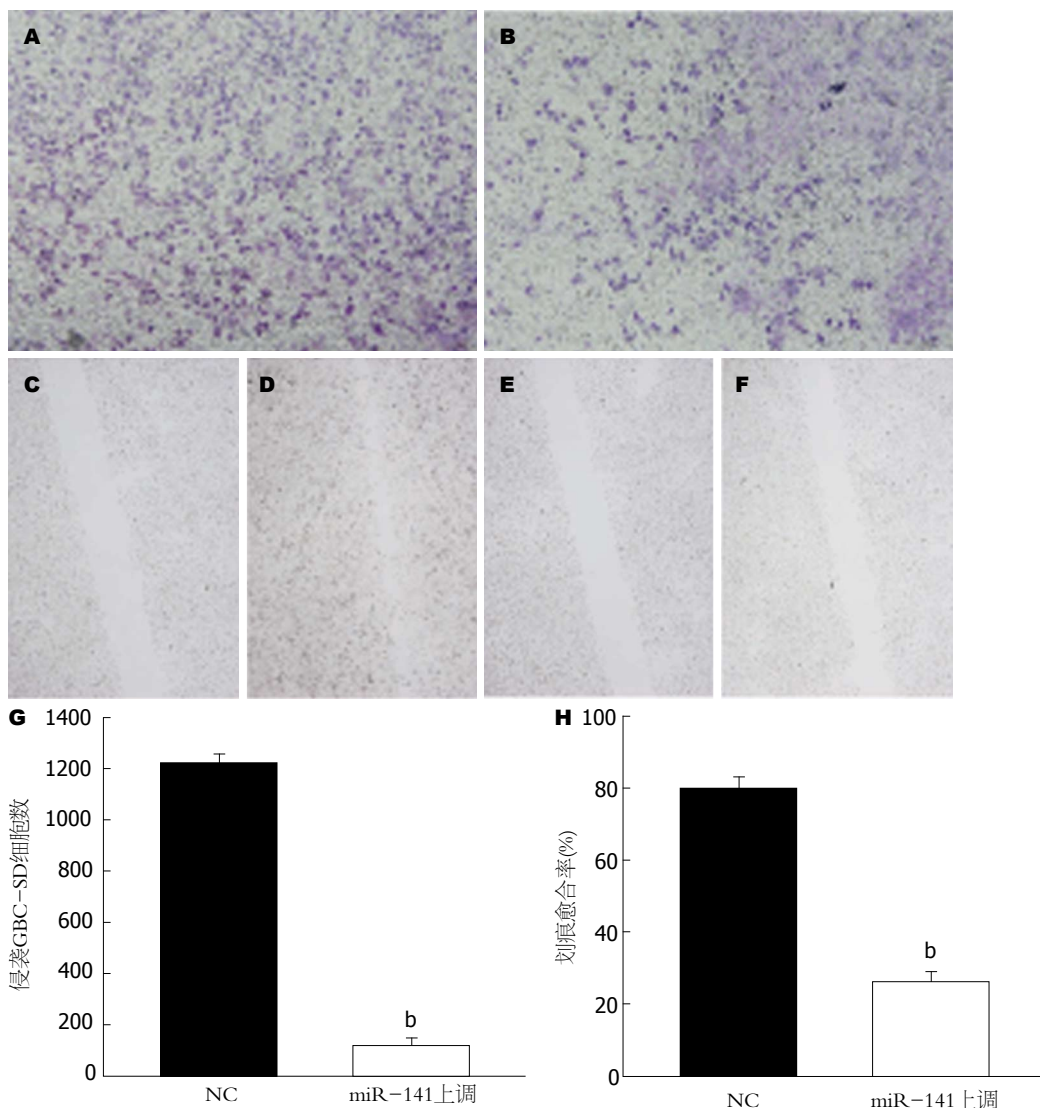


图 3 12例胆囊癌患者手术标本及对应癌旁组织中miR-141表达水平检测结果。T: 胆囊癌组织; N: 对应癌旁组织, ^a $P < 0.05$ vs N。

因此, 探讨胆囊癌发生发展的分子机制, 寻找可能的关键位点和作用靶点, 是突破现有瓶颈的重要途径之一。

近期血浆、血清等体液样本中循环miRNAs(circulating miRNAs, cir-miRNAs)的发现及其作为疾病标志物的潜质引起了广泛的研究兴趣。Ratajczak等^[15]首先证实了miRNA的水平传播。该作者发现来自胚胎干细胞的微泡可通过传递mRNA诱导造血祖细胞的改变。Mitchell等^[16]通过传统的小RNA分子cDNA文库构建及克隆策略, 发现血浆或血清中绝大部分小RNA分子为miRNAs。Chen等^[17]对血清小分子RNA进行了提纯、扩增并检测, 发现血清中大部分分子RNA的长度均为22 nt左右, 恰好与miRNAs的平均长度相符。上述研究证实循环miRNAs是一大类稳定存在于血浆/血清中的新型分子。进一步的研究表明miR-92^[18]、miR-195^[19]、let-7a^[20]、miR-17-5p^[21]、miR-21^[22,23]、miR-106a^[24]、miR-144^[25]和miR-106b^[26]等循环miRNAs的表达水平在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)、乳腺

癌(breast cancer)、胃癌(gastric cancer, GC)等患者的血浆、血清中显著升高。因此, 循环miRNAs的发掘有望为肿瘤的诊断提供新的切入点^[27,28]。针对这一研究现状, 我们拟通过检测胆囊癌患者血清中循环microRNA的表达情况, 结合患者手术切除标本及临床资料, 筛选出胆囊癌特异性循环microRNA。我们首先通过在12例胆囊癌患者的血清中进行相关的microRNA表达水平的筛查, 通过和同期入院胆囊结石患者/健康志愿者对照, 确定了在胆囊癌患者中差异表达的3条microRNA-miR-200a、miR-141及let-7a。我们进而在胆囊癌患者手术组织标本中对筛选出的差异microRNA进行了表达水平的验证, 发现miR-141在胆囊癌患者血清及肿瘤组织中均呈明显的低表达。我们将4例术后复发或发生远处转移的患者血清中miR-141表达水平进行检测, 发现其相对术前表达水平也呈显著降低趋势。综合12例胆囊癌患者临床病例资料分析后发现, 胆囊癌患者循环型miR-141的表达水平与患者的年龄、性别、病理分化程度无明显相关, 而与患者



同行评价
 本文选题较为新颖，实验设计合理，实验数据可靠，具有一定临床指导意义。

图 4 转染miR-141后可显著抑制胆囊癌细胞GBC-SD体外的侵袭及迁移能力. A-B: miR-141上调后GBC-SD细胞侵袭能力明显降低; A: 阴性对照组; B: miR-141上调组; C-F: miR-141上调后GBC-SD细胞迁移能力明显降低; C, E: 0 h; D, F: 24 h; C, D: 阴性对照组; E, F: miR-141上调组; G: miR-141上调后GBC-SD细胞侵袭数较阴性对照组显著减少, ^b*P*<0.01 vs NC. NC: 阴性对照组; H: miR-141上调后GBC-SD细胞划痕愈合率较阴性对照组显著减少, ^b*P*<0.01 vs NC. NC: 阴性对照组.

的转移/再发相关. 我们继而在体外实验中利用慢病毒载体验证, 发现上调细胞内源性miR-141表达水平后, 对胆囊癌GBC-SD细胞的侵袭及迁移能力有明显的抑制作用, 初步证实了我们前期的筛选及验证结果.

总之, 循环型miR-141是胆囊癌患者血清中特异性microRNA之一. miR-141是miR-200家族的成员之一, 其与TGF-β介导的上皮间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)密切相关^[29,30]. 虽然miR-200家族在大多数肿瘤中的表达及其与肿瘤侵袭转移的关系均已被研究证实^[29,31], 但miR-200尤其是循环性miR-200家族和胆囊癌相关的研究目前仍为数不多. 我们通过本次研究证实了miR-141在胆囊癌患者血清中

的差异性表达, 且其表达水平随着患者复发/转移明显降低. 说明循环型miR-141可作为潜在的胆囊癌血清标志物之一, 并可作为判断患者预后及远处转移发生率的标准进行推广; 同时我们的体外实验初步证实了miR-141在胆囊癌中具有抑制侵袭转移的生物学功能, 也为后续的胆囊癌分子生物学研究打下了基础.

4 参考文献

- 1 Jones RS. Carcinoma of the gallbladder. *Surg Clin North Am* 1990; 70: 1419-1428 [PMID: 2247823]
- 2 Yee K, Sheppard BC, Domreis J, Blanke CD. Cancers of the gallbladder and biliary ducts. *Oncology (Williston Park)* 2002; 16: 939-946, 949; discussion 949-950, 952-953, 956-957 [PMID: 12164560]
- 3 Zhai G, Yan K, Ji X, Xu W, Yang J, Xiong F, Su J, McNutt MA, Yang H. LAPT4B allele *2 is a marker

- of poor prognosis for gallbladder carcinoma. *PLoS One* 2012; 7: e45290 [PMID: 22984631 DOI: 10.1371/journal.pone.0045290]
- 4 Liu C, Sun B, An N, Tan W, Cao L, Luo X, Yu Y, Feng F, Li B, Wu M, Su C, Jiang X. Inhibitory effect of Survivin promoter-regulated oncolytic adenovirus carrying P53 gene against gallbladder cancer. *Mol Oncol* 2011; 5: 545-554 [PMID: 22032823 DOI: 10.1016/j.molonc.2011.10.001]
 - 5 Baer C, Claus R, Plass C. Genome-wide epigenetic regulation of miRNAs in cancer. *Cancer Res* 2013; 73: 473-477 [PMID: 23316035 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3731]
 - 6 DeSano JT, Xu L. MicroRNA regulation of cancer stem cells and therapeutic implications. *AAPS J* 2009; 11: 682-692 [PMID: 19842044 DOI: 10.1208/s12248-009-9147-7]
 - 7 He J, Zhang W, Zhou Q, Zhao T, Song Y, Chai L, Li Y. Low-expression of microRNA-107 inhibits cell apoptosis in glioma by upregulation of SALL4. *Int J Biochem Cell Biol* 2013; 45: 1962-1973 [PMID: 23811124 DOI: 10.1016/j.biocel.2013.06.008]
 - 8 Olivieri F, Rippo MR, Monsurrò V, Salvioli S, Capri M, Procopio AD, Franceschi C. MicroRNAs linking inflamm-aging, cellular senescence and cancer. *Ageing Res Rev* 2013 May 17. [Epub ahead of print] [PMID: 23688930 DOI: 10.1016/j.arr.2013.05.001]
 - 9 Eichelser C, Flesch-Janys D, Chang-Claude J, Pantel K, Schwarzenbach H. Deregulated Serum Concentrations of Circulating Cell-Free MicroRNAs miR-17, miR-34a, miR-155, and miR-373 in Human Breast Cancer Development and Progression. *Clin Chem* 2013 Jun 7. [Epub ahead of print] [PMID: 23748853 DOI: 10.1373/clinchem.2013.205161]
 - 10 Li A, Yu J, Kim H, Wolfgang CL, Canto MI, Hruban RH, Goggins M. MicroRNA Array Analysis Finds Elevated Serum miR-1290 Accurately Distinguishes Patients with Low-Stage Pancreatic Cancer from Healthy and Disease Controls. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 3600-3610 [PMID: 23697990 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3092]
 - 11 Kono H, Nakamura M, Ohtsuka T, Nagayoshi Y, Mori Y, Takahata S, Aishima S, Tanaka M. High expression of microRNA-155 is associated with the aggressive malignant behavior of gallbladder carcinoma. *Oncol Rep* 2013; 30: 17-24 [PMID: 23660842 DOI: 10.3892/or.2013.2443]
 - 12 Reid KM, Ramos-De la Medina A, Donohue JH. Diagnosis and surgical management of gallbladder cancer: a review. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 671-681 [PMID: 17468929 DOI: 10.1007/s11605-006-0075-x]
 - 13 Dutta U. Gallbladder cancer: can newer insights improve the outcome? *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 642-653 [PMID: 22168580 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07048.x]
 - 14 Abahssain H, Afchain P, Melas N, Ismaili N, Rahali R, Rabti HM, Errihani H. [Chemotherapy in gallbladder carcinoma]. *Presse Med* 2010; 39: 1238-1245 [PMID: 21074352 DOI: 10.1016/j.lpm.2010.09.002]
 - 15 Ratajczak J, Miekus K, Kucia M, Zhang J, Reca R, Dvorak P, Ratajczak MZ. Embryonic stem cell-derived microvesicles reprogram hematopoietic progenitors: evidence for horizontal transfer of mRNA and protein delivery. *Leukemia* 2006; 20: 847-856 [PMID: 16453000 DOI: 10.1038/sj.leu.2404132]
 - 16 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Briant KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10513-10518 [PMID: 18663219 DOI: 10.1073/pnas.0804549105]
 - 17 Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18: 997-1006 [PMID: 18766170 DOI: 10.1038/cr.2008.282]
 - 18 Gandhi R, Healy B, Gholipour T, Egorova S, Musallam A, Hussain MS, Nejad P, Patel B, Hei H, Khoury S, Quintana F, Kivisakk P, Chitnis T, Weiner HL. Circulating MicroRNAs as Biomarkers for disease staging in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2013; 73: 729-740 [PMID: 23494648 DOI: 10.1002/ana.23880]
 - 19 Long G, Wang F, Duan Q, Yang S, Chen F, Gong W, Yang X, Wang Y, Chen C, Wang DW. Circulating miR-30a, miR-195 and let-7b associated with acute myocardial infarction. *PLoS One* 2012; 7: e50926 [PMID: 23236408 DOI: 10.1371/journal.pone.0050926]
 - 20 Zuo Z, Calin GA, de Paula HM, Medeiros LJ, Fernandez MH, Shimizu M, Garcia-Manero G, Bueso-Ramos CE. Circulating microRNAs let-7a and miR-16 predict progression-free survival and overall survival in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood* 2011; 118: 413-415 [PMID: 21602527 DOI: 10.1182/blood-2011-01-330704]
 - 21 Jia SZ, Yang Y, Lang J, Sun P, Leng J. Plasma miR-17-5p, miR-20a and miR-22 are down-regulated in women with endometriosis. *Hum Reprod* 2013; 28: 322-330 [PMID: 23203215 DOI: 10.1093/humrep/des413]
 - 22 Yamada H, Suzuki K, Ichino N, Ando Y, Sawada A, Osakabe K, Sugimoto K, Ohashi K, Teradaira R, Inoue T, Hamajima N, Hashimoto S. Associations between circulating microRNAs (miR-21, miR-34a, miR-122 and miR-451) and non-alcoholic fatty liver. *Clin Chim Acta* 2013; 424C: 99-103 [PMID: 23727030 DOI: 10.1016/j.cca.2013.05.021]
 - 23 刘建强, 高军, 任艳, 王小玮, 王卫卫, 路华. 血浆 miR-21 对胰腺癌的诊断价值. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 860-863
 - 24 Heegaard NH, Schetter AJ, Welsh JA, Yoneda M, Bowman ED, Harris CC. Circulating micro-RNA expression profiles in early stage nonsmall cell lung cancer. *Int J Cancer* 2012; 130: 1378-1386 [PMID: 21544802 DOI: 10.1002/ijc.26153]
 - 25 桂银莉, 张金平, 李建生, 王静. 血浆中 miR-144 直接扩增在大肠癌非侵入性诊断中的应用. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1066-1070
 - 26 Dickinson BA, Semus HM, Montgomery RL, Stack C, Latimer PA, Lewton SM, Lynch JM, Hullinger TG, Seto AG, van Rooij E. Plasma microRNAs serve as biomarkers of therapeutic efficacy and disease progression in hypertension-induced heart failure. *Eur J Heart Fail* 2013; 15: 650-659 [PMID: 23388090 DOI: 10.1093/eurjhf/hft018]
 - 27 Sun Y, Zhang K, Fan G, Li J. Identification of circu-

- lating microRNAs as biomarkers in cancers: what have we got? *Clin Chem Lab Med* 2012; 50: 2121-2126 [PMID: 23087086 DOI: 10.1515/cclm-2012-0360]
- 28 Allegra A, Alonci A, Campo S, Penna G, Petrun-garo A, Gerace D, Musolino C. Circulating mi-croRNAs: new biomarkers in diagnosis, prognosis and treatment of cancer (review). *Int J Oncol* 2012; 41: 1897-1912 [PMID: 23026890 DOI: 10.3892/ijo.2012.1647]
- 29 Guo L, Chen C, Shi M, Wang F, Chen X, Diao D, Hu M, Yu M, Qian L, Guo N. Stat3-coordinated Lin-28-let-7-HMGA2 and miR-200-ZEB1 circuits initi-ate and maintain oncostatin M-driven epithelial-mesenchymal transition. *Oncogene* 2013 Jan 14. [Epub ahead of print] [PMID: 23318420 DOI: 10.1038/onc.2012.573]
- 30 Feng B, Wang R, Chen LB. Review of miR-200b and cancer chemosensitivity. *Biomed Pharmacother* 2012; 66: 397-402 [PMID: 22795796 DOI: 10.1016/j.biopha.2012.06.002]
- 31 Liu Y, Sánchez-Tilló E, Lu X, Huang L, Clem B, Telang S, Jenson AB, Cuatrecasas M, Chesney J, Postigo A, Dean DC. Sequential inductions of the ZEB1 transcription factor caused by mutation of Rb and then Ras proteins are required for tumor initiation and progression. *J Biol Chem* 2013; 288: 11572-11580 [PMID: 23443660 DOI: 10.1074/jbc.M112.434951]

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。

TGF-β在肝细胞癌转移中的作用

张颖慧, 董向前, 邹玉, 乌剑利, 白丽萍, 刘晶华, 王敏

■背景资料

转化生长因子β(transforming growth factor-β, TGF-β)是一类功能复杂的细胞因子, TGF-β对多种上皮性肿瘤细胞的体外增殖起负调控作用, 导致肿瘤的发生。最近又发现TGF-β在肿瘤进展期能够促进肿瘤侵袭和转移。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)早期临床症状及体征不明显, 大多数患者就诊时已发生转移, 故疗效不理想, 治愈率低, 即使肝癌根治性切除术后5年内仍有60%-70%的患者出现转移复发, 转移性肝癌的早期诊断是提高患者长期生存率的关键之一。TGF-β在肿瘤的浸润转移中扮演何种角色, 目前研究并不清楚。

■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

张颖慧, 邹玉, 白丽萍, 刘晶华, 王敏, 云南省第二人民医院消化内科 云南省昆明市 650021

董向前, 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

乌剑利, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝胆外科 湖北省武汉市 430030

张颖慧, 主治医师, 主要从事肝脏病学相关的研究。

作者贡献分布: 张颖慧与董向前对此文所作贡献均等; 此课题由张颖慧、董向前、王敏及邹玉设计; 病例收集由白丽萍与刘晶华完成; 研究过程由张颖慧与董向前操作完成; 统计数据由乌剑利完成; 图片分析由张颖慧完成; 本论文写作由张颖慧与董向前完成。

通讯作者: 王敏, 主任医师, 650021, 云南省昆明市青年路176号, 云南省第二人民医院消化内科。

wangminhonghui@163.com

收稿日期: 2013-06-09 修回日期: 2013-07-09

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Role of TGF-β in metastasis of hepatocellular carcinoma

Ying-Hui Zhang, Xiang-Qian Dong, Yu Zou, Jian-Li Wu, Li-Ping Bai, Jing-Hua Liu, Min Wang

Ying-Hui Zhang, Yu Zou, Li-Ping Bai, Jing-Hua Liu, Min Wang, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650021, Yunnan Province, China

Xiang-Qian Dong, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Jian-Li Wu, Department of Hepatobiliary Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 650032, Hubei Province, China

Correspondence to: Min Wang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Yunnan Province, 176 Qingnian Road, Kunming 650021, Yunnan Province, China. wangminhonghui@163.com

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

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To investigate the role of transforming growth factor-β (TGF-β) derived from regulatory T cells in metastasis of hepatocellular carcinoma.

METHODS: Forty-eight primary liver cancer patients without metastasis, 32 liver cancer patients with distant metastasis (17 cases of lung metastasis and 15 cases of brain metastasis), and 54 healthy subjects were included in this study. Serum concentrations of interleukin-10 (IL-10), IL-17A, tumor necrosis factor-α (TNF-α) and TGF-β

were measured by ELISA. Levels of TGF-β in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and regulatory T cells were determined by flow cytometry and RT-PCR, respectively.

RESULTS: Serum levels of TNF-α and TGF-β were significantly increased in liver cancer patients with metastasis compared with normal controls. Serum level of TGF-β was significantly higher in liver cancer patients with metastasis than in liver cancer without metastasis and normal controls (both $P < 0.05$). Furthermore, we confirmed that TGF-β in liver cancer patients with metastasis was derived from regulatory T cells by quantitative real-time PCR and flow cytometry.

CONCLUSION: TGF-β has a dual role in tumorigenesis; it acts as a tumor suppressor in early stage but promotes tumor cell invasion and metastasis in advanced stage. High level of TGF-β was found only in liver cancer patients with metastasis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Transforming growth factor-β; Regulatory T cells

Zhang YH, Dong XQ, Zou Y, Wu JL, Bai LP, Liu JH, Wang M. Role of TGF-β in metastasis of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2508-2514 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2508.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2508>

摘要

目的: 探讨外周血中调节性T细胞来源的转化生长因子β(transforming growth factor-β, TGF-β)在肝细胞癌转移中的作用及临床意义。

方法: 选择原发性肝细胞癌无远端脏器转移患者48例, 伴有远端脏器转移的患者32例(其中肺部转移17例、脑部转移15例), 健康对照54例, 通过检测各组患者血清中白介素-10(interleukin-10, IL-10)、IL-17、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、

TGF- β 及外周血中调节性T细胞分泌TGF- β 的水平来分析细胞因子在肝细胞癌转移中作用。

结果:通过酶联免疫实验(ELISA)发现发生转移的肝癌患者血清中TNF- α 、TGF- β 水平明显升高,跟健康对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);同时发现发生转移的肝癌患者血清中TGF- β 水平与未转移的肝癌患者比较差异也具有统计学意义($P < 0.05$)。通过实时定量PCR以及流式细胞仪进一步确认发生转移的肝癌患者血清中高水平TGF- β 主要来源于外周调节性T细胞。

结论:TGF- β 在肿瘤发生、发展中具有双重作用:在肿瘤发生的起始阶段TGF- β 扮演着肿瘤抑制者的角色,而在进展期TGF- β 起着促使肿瘤细胞浸润转移的作用,本研究通过检测外周血中调节性T细胞分泌的TGF- β 水平发现只有在发生转移的肝癌患者体内明显升高,可为肝细胞癌转移的筛选与诊断提供指导信息。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词:肝细胞癌;转化生长因子- β ;调节性T细胞

核心提示:肝细胞癌转移患者外周血中调节性T细胞分泌的转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)水平明显升高,通过流式细胞仪检测外周血中调节性T细胞分泌的TGF- β 水平可作为筛查肝细胞癌转移的一种简便经济方法。

张颖慧,董向前,邹玉,乌剑利,白丽萍,刘晶华,王敏. TGF- β 在肝细胞癌转移中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2508-2514 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2508.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2508>

0 引言

原发性肝癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一,其中以肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)最为常见,约占原发性肝癌的90%-95%^[1-6]。HCC早期临床症状及体征不明显,大多数患者就诊时已发生转移,故疗效不理想,治愈率低,即使肝癌根治性切除术后5年内仍有60%-70%的患者出现转移复发,转移性肝癌的早期诊断和可能的化学干预是提高患者长期生存率的关键之一,术后随访、定期复查必不可少。目前临床上常用方法是B超和定期甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)及甲胎蛋白异质体(lectin-reactive α -fetoprotein, AFP-L3)检测,但诊断与预测的准确性不高,临床尚迫切需要一些生

物学预后指标来监测肝癌患者术后转移复发的可能^[7-15]。转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)是一类功能复杂的细胞因子,TGF- β 对多种上皮性肿瘤细胞的体外增殖起负调控作用,导致肿瘤的发生。随着研究的深入,最近又发现TGF- β 在肿瘤进展期能够促进肿瘤侵袭和转移^[16-22]。目前对TGF- β 的研究主要集中在检测肿瘤组织中的表达以及肿瘤微环境中细胞因子的水平,这种检测方法主要是在给患者手术切除后进行的检测,并不能作为一种简便、经济的方法进行推广^[23-25]。本文通过ELISA法,对患者血清中细胞因子进行筛选,发现发生转移的肝癌患者血清中TGF- β 水平明显升高,通过进一步的研究发现主要是患者外周血中调节性T细胞分泌的TGF- β 升高,因此通过流式细胞仪检测外周血中调节性T细胞胞内TGF- β 的水平能够为肝细胞癌的转移提供指导信息。

1 材料和方法

1.1 材料 研究对象为我院2011-02/2012-02收治的原发性肝细胞癌未见远端脏器转移患者48例,已发生远端脏器转移者32例,其中肺部转移17例,脑部转移15例,正常对照组为健康体检54例。肝癌诊断依据2009年中国抗癌协会肝癌专业委员会制订的标准,所有患者均经病理学确诊。三组受检者的性别、年龄等一般情况间差异无统计学意义($P > 0.05$)(表1),具有可比性。APC-anti-human IL-10 mAbs、APC-anti-human IL-17A mAbs、APC-anti-human TNF- α mAbs、APC-anti-human TGF- β mAbs PE-anti-human CD4、PE-anti-human CD8、PE-anti-human CD14、FITC-anti-human foxp3 mAbs、流式细胞仪用破膜剂、穿孔剂购自eBioscience公司;RPMI 1640、DMEM细胞基础培养基购自Gibco BRL公司;RNA提取试剂盒购自QIAGEN公司;人细胞因子白介素-10(interleukin-10, IL-10)、IL-17A、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和TGF- β 试剂盒购自BioLegend公司;CD4⁺CD25⁺Regulatory T Cell Isolation Kit购自MiltenyiBiotec公司。

1.2 方法

1.2.1 血清采集及细胞因子测定:所有患者均在就医确诊后取30 mL外周静脉血,室温下静置1 h,离心后收集上清血清液贮存于-80 °C冰箱内备用,应用双抗体夹心ELISA法测定IL-10、IL-17A、TNF- α 、TGF- β 。

■ 研发前沿

目前对TGF- β 的研究主要集中在检测肿瘤组织中的表达以及肿瘤微环境中细胞因子的水平,这种检测方法主要是在给患者手术切除后进行的检测,并不能作为一种简便、经济的方法进行推广。

■ 相关报道

在肿瘤发生转移过程中TGF- β 进有利于浸润转移的基质环境形成、促进血管新生和抑制宿主抗肿瘤免疫反应等。已有研究报道如：肝硬化人群血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 、IL-17和IL-10水平增高，提示发生肝癌的可能性大。

表 1 研究对象分组

分组	n	男/女	年龄(岁)	肺转移(n)	脑转移(n)
未转移组	48	32/16	63.0 \pm 8.9	0	0
转移组	32	24/8	65.0 \pm 9.5	17	15
健康组	54	30/24	59.0 \pm 5.9	0	0

1.2.2 外周血单个核细胞的制备和调节性T细胞的分选: 无菌抽取人静脉血20 mL, 肝素抗凝, 将抗凝血加到人淋巴细胞分层液上(保持界面清晰), 室温2000 r/min, 离心20 min; 用毛细吸管轻轻吸出乳白色的单个核细胞, 加入适量PBS, 混匀, 室温1500 r/min, 离心10 min, 弃上清, 重复洗涤1次; 用基础RPMI 1640 1 mL定容, 计数细胞, 调整细胞浓度至 1×10^7 /mL。按照调节性T细胞分选试剂盒说明书, 从制备的单核细胞分离、纯化调节性T细胞。

1.2.3 流式细胞仪检测胞内细胞因子TGF- β 的分泌: 制备的单个核细胞和纯化的调节性T细胞接种到24孔板, 1×10^6 细胞/孔, 加2 mL RPMI 1640 完全培养基。加入PMA(50 ng/mL)、ionomycin(1 μ g/mL)和golgiplug(1 : 1000)培养5 h, 收获细胞然后用PE-anti-human CD4、PE-anti-human CD8、PE-anti-human CD14、APC-anti-human foxp3 mAbs分别与细胞在4 $^{\circ}$ C孵育0.5 h, 洗去未结合的抗体3次。破膜剂37 $^{\circ}$ C孵育20 min, 离心收集细胞, 洗去破膜剂。分别加入穿孔剂稀释的FITC-anti-human TGF- β mAbs孵育30 min, 收集细胞, 洗3次, 上机检测荧光细胞百分比。

1.2.4 RT-PCR检测IL-10、IL-17A、TNF- α 和TGF- β 的表达: 用制备的单个核细胞和调节性T细胞, 依照RNA提取试剂说明书, 提取RNA, 然后逆转录成cDNA, 以合成的cDNA为模板, 进行实时定量PCR检测。细胞因子的引物如下, 同时以GAPDH作为内参: GAPDH-F 5'-AC-CACAGTCCATGCCATCAC-3'; GAPDH-R 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'; IL-17-F 5'-TGCCCCAACTCCTTCCGGCT-3'; IL-17-R 5'-GGGTTCCCTGAGGGGCTGGGT-3'; IL-10-F 5'-TACGGCGCTGTCATCGATTT-3'; IL-10-R 5'-AAGGTTTCTCAAGGGGCTGG-3'; TNF- α -F 5'-CTGGGCAGGTCTACTTTGGG-3'; TNF- α -R 5'-CTGGAGGCCCCAGTTTGAAT-3'; TGF- β -F 5'-TCTTCCCCTCCGAAAATGCC-3'; TGF- β -R 5'-CAATAGGCCGCATCCAAAGC-3'。

统计学处理 采用SPSS11.0统计软件进行统

计学处理, 指标行正态性检验符合近似正态分布。计量资料采用mean \pm SD表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组内两两比较采用 q 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 有转移的肝癌患者, 血清中的细胞因子TNF- α 、TGF- β 显著升高 通过ELISA法检测患者血清中细胞因子水平, 发现在发生转移的肝癌患者血清中TNF- α 、TGF- β 明显增高, 与健康对照组相比有统计学意义, 而抑制性细胞因子IL-10和IL-17的水平并没有明显升高。与未转移的肝癌患者比较, 发现TGF- β 在转移的肝癌患者体内升高的更加明显, 且具有统计学意义(表2)。

2.2 发生转移的肝癌患者外周血单个核细胞中TNF- α 和TGF- β 的表达显著增强 在患者外周血清中发现了TNF- α 和TGF- β 水平升高, 为了进一步明确这些细胞因子是否来源于外周血单个核细胞, 通过分离单个核细胞, 提取RNA, 然后进行实时定量PCR检测, 与ELISA结果相对应, 在发生转移的肝癌患者单个核细胞中TNF- α 、TGF- β 表达明显增高, TGF- β 升高最为明显, 跟未转移和健康对照组比都具有统计学意义(图1)。

2.3 TGF- β 的分泌主要来源于CD4阳性T细胞和单核细胞 通过上述实验发现TGF- β 在发生转移的肝癌患者体内显著增强, 为了进一步明确TGF- β 的细胞来源, 通过流式细胞仪检测外周血单个核细胞不同亚群细胞分泌TGF- β 的水平, 发现主要是CD4阳性T细胞和单核细胞分泌TGF- β , 特别是发生转移的肝癌患者CD4阳性T细胞分泌TGF- β 显著增强(图2)。

2.4 调节性T细胞是发生转移的肝癌患者血清中TGF- β 主要来源 因为CD4阳性T细胞又分为辅助性T细胞和调节性T细胞, 为了进一步弄清TGF- β 的来源, 首先通过流式细胞仪把CD4阳性T细胞圈门, 然后再通过FOXP3确定调节性T细胞, 测定其中TGF- β 的表达, 发现在发生转移的肝癌患者中TGF- β 明显增强(图3A), 而在辅助性T细胞中TGF- β 并未有明显变化(数据未显示)。为了从另一个角度验证试验结果, 我们通过试剂盒分选了调节性T细胞, 然后通过RT-PCR检测TGF- β 的表达, 同流式结果一致, RT-PCR结果再次验证在发生转移的肝癌患者中TGF- β 明显增强, 跟未发生转移的肝癌患者相比有统计学意义(图3B)。

表 2 3组受检者血清中IL-10、IL-17、TNF- α 、TGF- β 的水平(pg/mL)

分组	<i>n</i>	IL-17	IL-10	TNF- α	TGF- β
健康组	54	17 \pm 3.6	47 \pm 4.6	80 \pm 8.6	89 \pm 9.6
未转移组	48	19 \pm 3.2	45 \pm 5.8	117 \pm 10.3	114 \pm 6.2
转移组	32	22 \pm 2.6	48 \pm 6.2	135 \pm 12.6	247 \pm 12.4 ^{ab}
<i>P</i> 值		NS	NS	<0.05	<0.001

^a*P*<0.05 vs 对照组; ^b*P*<0.01 vs 肝癌未转移组. IL: 白介素; TNF: 肿瘤坏死因子; TGF: 转化生长因子; NS: 不显著.

■ 创新盘点

本文通过ELISA法, 对患者血清中细胞因子进行筛选, 发现发生转移的肝癌患者血清中TGF- β 水平明显升高, 创新之处在于首次通过流式细胞仪这种方便经济的方法确定了患者外周血中调节性T细胞分泌的TGF- β 升高与肝癌的转移有一定的联系.

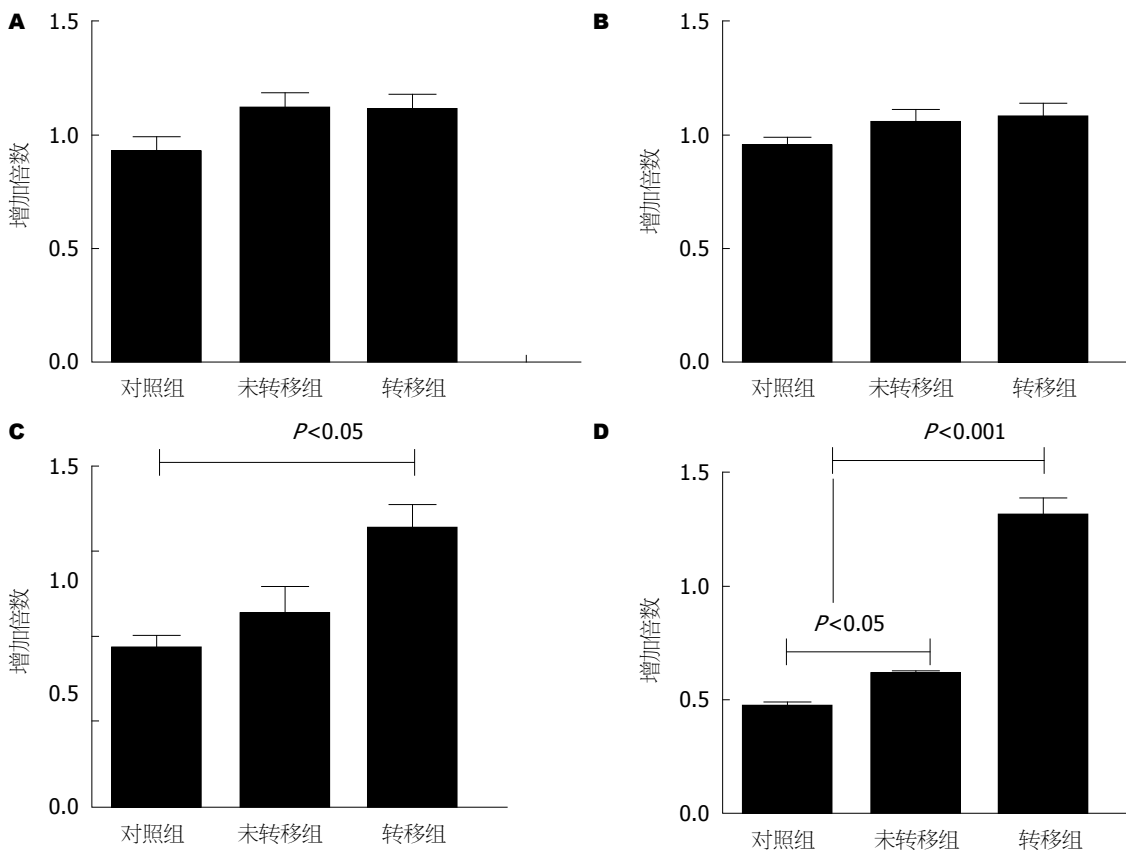


图 1 实时定量PCR检测3组受检者外周血单个核细胞中IL-17、IL-10、TNF- α 和TGF- β 的表达水平. A: 白介素-17; B: 白介素-10; C: 肿瘤坏死因子- α ; D: 转化生长因子- β . IL: 白介素; TNF: 肿瘤坏死因子; TGF: 转化生长因子.

3 讨论

恶性肿瘤之所以成为致命性疾病, 主要是因为肿瘤细胞具有对临近正常组织的浸润和远处转移的能力, 因此如何能早期诊断肿瘤是否转移对于提高患者的生存率具有重要意义. 肝癌为常见的恶性肿瘤, 其中肝细胞癌占肝癌发病率的80%. 肝细胞癌容易复发、转移, 治疗效果差, 其总体5年生存率<5%^[2,17,25-28]. 目前针对肝细胞癌的血清学诊断应用最广泛的肿瘤标志物包括AFP及甲胎蛋白异质体(lectinreactive alpha-fetoprotein, AFP-L3)等. 肿瘤患者免疫防御损伤及免疫功能在疾病的早期已经开始发生变化, 已

发现很多细胞因子的表达都与肿瘤的发生发展有关, 如TNF- α 对肿瘤细胞有高度特异性, 能选择性地抑制其DNA合成; 通过受体介导性细胞内吞作用进入细胞, 然后进入溶酶体, 引起一系列生化反应, 发挥直接细胞毒效应; 损伤或阻塞肿瘤血管, 引起出血性或缺血性坏死; 增强免疫功能, 使辅助T细胞活化和B细胞分化并激活NK细胞作用. 同时也有研究认为TNF- α 在肿瘤患者血清中水平升高, 提示肿瘤已经发生转移^[29-32]; IL-10是一种公认的介导免疫抑制的细胞因子, 以同源二聚体形式发挥效应, 可抑制Th1细胞应答及其细胞因子合成, 抑制巨噬细胞的抗原提

应用要点

本研究通过检测外周血中调节性T细胞分泌的TGF- β 水平发现只有在发生转移的肝癌患者体内明显升高,可为肝癌转移的筛选与诊断提供指导信息.此方法可在临床应用中很快得到推广.

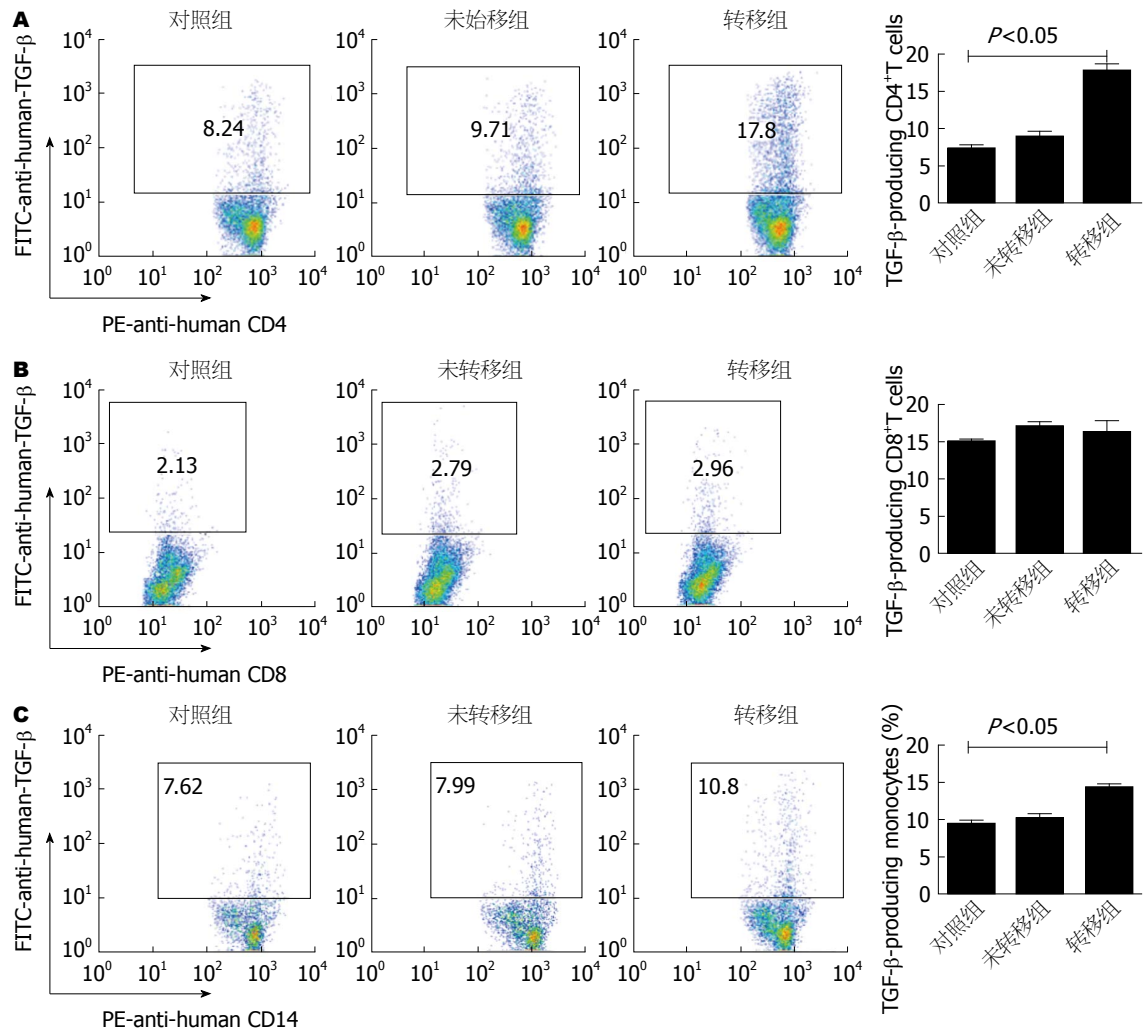


图2 流式细胞仪检测3组受检者外周血中CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞和CD14⁺单核细胞中TGF- β 的水平. A: CD4⁺T细胞; B: CD8⁺T细胞; C: CD14⁺单核细胞. TGF: 转化生长因子.

呈功能及其细胞因子合成,促进B细胞增殖分化及抗体产生. IL-10是某些肿瘤细胞的生长因子,如骨髓瘤细胞,IL-10可维持其生长和增殖.大量研究已证实许多癌组织或细胞均可产生IL-10,如在恶性黑色素瘤、卵巢癌和结肠癌细胞、基底细胞癌、肺癌组织、脑胶质瘤组织、结直肠癌的瘤组织、淋巴结和癌旁组织中,IL-10可能还与肿瘤转移有关^[29,33]. IL-17参与了直肠癌的发生,同时也加剧了肿瘤的临床和病理进展,可能是结直肠癌患者预后较差、死亡率较高和生存期较短的重要影响因素之一.大量文献报道IL-17在肿瘤发生发展过程中发挥双刃剑的作用:一方面,IL-17可以通过促进血管生成和肿瘤细胞的迁移促进肿瘤的生长;另一方面,IL-17亦可促进细胞毒性T细胞的免疫应答抑制肿瘤的生长^[34,35].在肿瘤发生转移过程中TGF- β 有利于浸润转移的基质环境形成、促进血管新生和抑

制宿主抗肿瘤免疫反应等^[21,25,36,37].已有研究报道如:肝硬化患者血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 、IL-17和IL-10水平增高,提示发生肝癌的可能性大^[19,38].本文选择了4种细胞因子进行筛选,发现发生转移的肝癌患者外周血清中TNF- α 和TGF- β 明显升高,特别是TGF- β 在发生转移的肝癌患者外周血中升高更加明显,跟未转移的肝癌和健康对照组相比都具有统计学意义.我们通过实验设计明确了主要是调节性T细胞来源的TGF- β 在发生转移的肝癌患者体内升高,当然我们也发现单核细胞分泌TGF- β 的能力在发生转移的肝癌患者体内也有明显增加,但增加的幅度与调节性T细胞相比不是很明显,因此选择调节性T细胞进行研究,对于发生转移的肝癌患者更具有特异性.因此通过流式细胞仪检测肝癌患者外周血中调节性T细胞分泌的TGF- β 水平,如果发现持续升高,结合其他生物

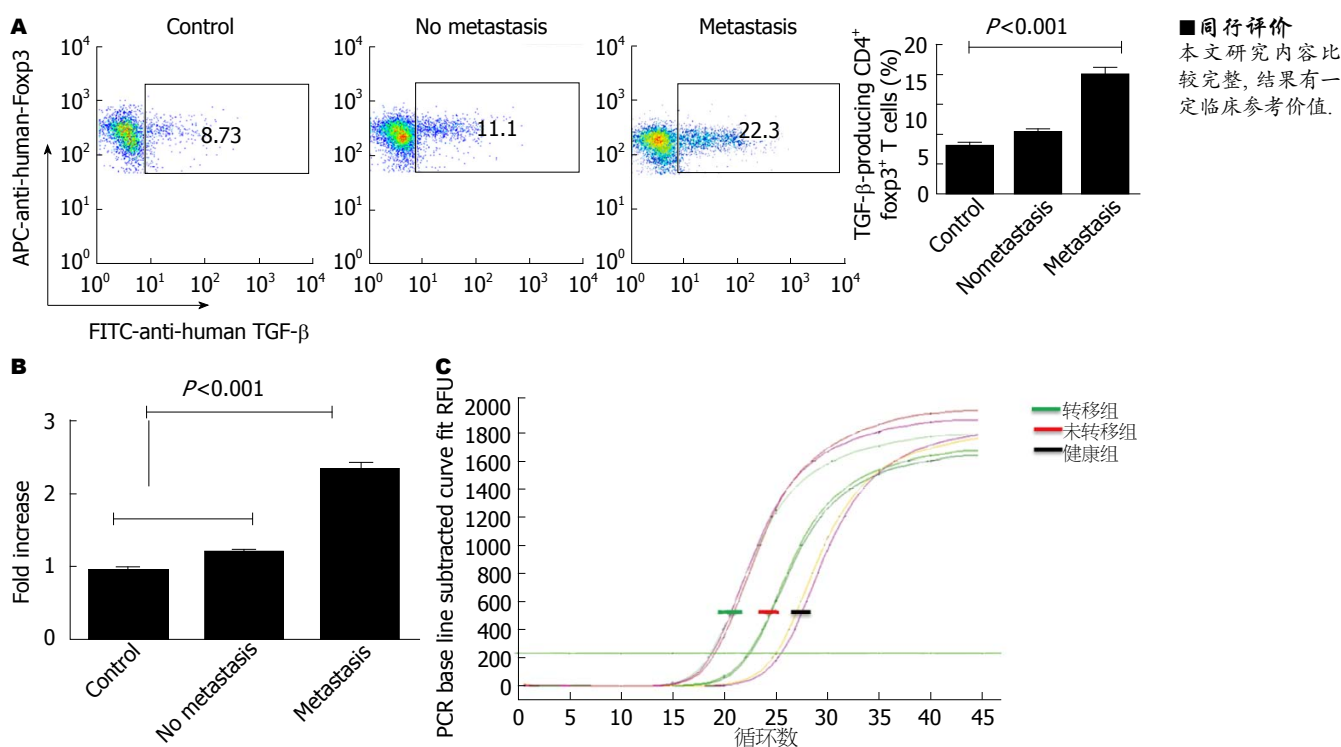


图 3 流式细胞仪和Real-time PCR检测3组受检者调节性T细胞中细胞因子TGF- β 的表达。A: 流式细胞仪; B: Real-time PCR检测不同组别TGF- β 表达扩增倍数; C: Real-time PCR显示不同组别TGF- β 扩增循环数。TGF: 转化生长因子。

学标志物和检查可为肝细胞癌转移的筛选与诊断提供指导信息。

4 参考文献

- 杨学刚, 许国辉, 吴戈. 青年人原发性肝癌诊断的研究进展. *西部医学* 2012; 24: 1412-1414
- 王付强, 尹震宇, 彭友缘, 邓志刚, 王效民. 原发性肝癌并胆管癌栓的诊断和处理. *肝胆外科杂志* 2012; 20: 190-192
- 独建库, 李华信. 联合检测肿瘤标志物早期诊断肝癌. *实用医药杂志* 2012; 29: 502-503
- Hao MZ, Lin HL, Chen Q, Ye YB, Chen QZ, Chen MS. Efficacy of transcatheter arterial chemoembolization combined with cytokine-induced killer cell therapy on hepatocellular carcinoma: a comparative study. *Chin J Cancer* 2010; 29: 172-177 [PMID: 20109346]
- Capone F, Costantini S, Guerriero E, Calemma R, Napolitano M, Scala S, Izzo F, Castello G. Serum cytokine levels in patients with hepatocellular carcinoma. *Eur Cytokine Netw* 2010; 21: 99-104 [PMID: 20478763 DOI: 10.1684/ecn.2010.0192]
- Qiu Y, Xu MB, Yun MM, Wang YZ, Zhang RM, Meng XK, Ou-Yang XH, Yun S. Hepatocellular carcinoma-specific immunotherapy with synthesized α 1,3- galactosyl epitope-pulsed dendritic cells and cytokine-induced killer cells. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 5260-5266 [PMID: 22219594 DOI: 10.3748/wjg.v17.i48.5260]
- 高翔, 卢启明, 孙莹, 魏小果. AFP联合AFP-L3、ALP和AFU检测在原发性肝癌诊断中的价值. *甘肃医药* 2012; 31: 330-333
- 朱薇, 葛君珊, 张利强, 高海峰, 赵秋剑. AFP、CEA、CA199、CA-125联合检测对肝癌、肝硬化诊断的临床价值. *国际检验医学杂志* 2012; 33: 1902-1904
- 徐桂秋, 林伟. 血清AFU、AFP、GGT联合检测在原发性肝癌诊断中的意义. *齐齐哈尔医学院学报* 2012; 33: 2008-2009
- 许忠强, 谢正慧. AFP、AFU、TBA和LDH联合检测对原发性肝癌诊断的价值. *右江民族医学院学报* 2012; (4): 513-515
- 朱瑜. AFP、CEA、CA199诊断乙型肝炎相关肝癌初步研究. *实验与检验医学* 2011; 29: 541-542
- Hsu ML, Chen SW, Lin KH, Liao SK, Chang KS. Cytokine regulation of HIV-1 LTR transactivation in human hepatocellular carcinoma cell lines. *Cancer Lett* 1995; 94: 41-48 [PMID: 7621443]
- Chung RT. Cytokine polymorphisms and hepatocellular carcinoma: to B or not to B. *Cancer* 2005; 103: 654-656 [PMID: 15641028]
- Zhao M, Wu PH, Zeng YX, Xia JC, Zhang FJ, Xian LJ, Zhang YP, Zhou K, Fan WJ, Zhang L, Gao F, Zhou QM. [Cytokine-induced killer cell fusion to lower recurrence of hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization sequentially combined with radiofrequency ablation: a randomized trial]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2006; 86: 1823-1828 [PMID: 17054858]
- Cheng KS, Tang HL, Chou FT, Chou JW, Hsu CH, Yu CJ, Kao ST, Li TC. Cytokine evaluation in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2009; 56: 1105-1110 [PMID: 19760951]
- 张少华, 王红. 肝癌肺部转移的CT诊断. *现代医用影像学* 2012; 21: 140-142
- 赵峰, 许顺良, 林坚, 郑继爱. 26例混合细胞性肝癌的CT和MRI诊断. *中国临床医学影像杂志* 2010; 21: 804-806
- 李洁羽, 黎巧连, 彭峰, 谷伟伟, 黄传钟, 汤志伟, 陈强, 叶韵斌. 流式细胞微球阵列检测肝癌组织中细胞因子水平及其意义. *中华临床医师杂志(电子版)* 2011; 5:

- 6657-6661
- 19 孔丽, 姚树坤, 张瑞星, 殷飞, 王娜. 原发性肝癌患者血清TGF β 1、IL-12、IFN γ 等细胞因子水平及临床演变的关系. *临床肝胆病杂志* 2006; 22: 247-249
- 20 Kiyono K, Suzuki HI, Matsuyama H, Morishita Y, Komuro A, Kano MR, Sugimoto K, Miyazono K. Autophagy is activated by TGF-beta and potentiates TGF-beta-mediated growth inhibition in human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Res* 2009; 69: 8844-8852 [PMID: 19903843 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4401]
- 21 Baek JY, Morris SM, Campbell J, Fausto N, Yeh MM, Grady WM. TGF-beta inactivation and TGF-alpha overexpression cooperate in an in vivo mouse model to induce hepatocellular carcinoma that recapitulates molecular features of human liver cancer. *Int J Cancer* 2010; 127: 1060-1071 [PMID: 20020490 DOI: 10.1002/ijc.25127]
- 22 Yang P, Li QJ, Feng Y, Zhang Y, Markowitz GJ, Ning S, Deng Y, Zhao J, Jiang S, Yuan Y, Wang HY, Cheng SQ, Xie D, Wang XF. TGF- β -miR-34a-CCL22 signaling-induced Treg cell recruitment promotes venous metastases of HBV-positive hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* 2012; 22: 291-303 [PMID: 22975373 DOI: 10.1016/j.ccr.2012.07.023]
- 23 Fransvea E, Mazzocca A, Antonaci S, Giannelli G. Targeting transforming growth factor (TGF)-betaRI inhibits activation of beta1 integrin and blocks vascular invasion in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 839-850 [PMID: 19115199 DOI: 10.1002/hep.22731]
- 24 Lin GH, Wang J, Li SH, Wang J, Xu L, Li SP. Relationship and clinical significance of TGF-beta1 expression with Treg cell infiltration in hepatocellular carcinoma. *Chin J Cancer* 2010; 29: 403-407 [PMID: 20346216]
- 25 Mazzocca A, Antonaci S, Giannelli G. The TGF- β signaling pathway as a pharmacological target in a hepatocellular carcinoma. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 4148-4154 [PMID: 22630081]
- 26 姚登福. 炎症性细胞因子介导的信号通路及肝癌. *南通大学学报(医学版)* 2010; 23: 1-5
- 27 Giannelli G, Mazzocca A, Fransvea E, Lahn M, Antonaci S. Inhibiting TGF- β signaling in hepatocellular carcinoma. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1815: 214-223 [PMID: 21129443 DOI: 10.1016/j.bbcan.2010.11.004]
- 28 Peng BG, Liu SQ, Kuang M, He Q, Totsuka S, Huang L, Huang J, Lu MD, Liang LJ, Leong KW, Ohno T. Autologous fixed tumor vaccine: a formulation with cytokine-microparticles for protective immunity against recurrence of human hepatocellular carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 2002; 93: 363-368 [PMID: 11985784]
- 29 Yang Y, Luo C, Feng R, Bi S. The TNF- α , IL-1B and IL-10 polymorphisms and risk for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 947-952 [PMID: 21107607 DOI: 10.1007/s00432-010-0959-8]
- 30 Chen X, Zhang L, Chang Y, Shen T, Wang L, Zhuang H, Lu F. Association of TNF-alpha genetic polymorphisms with hepatocellular carcinoma susceptibility: a case-control study in a Han Chinese population. *Int J Biol Markers* 2011; 26: 181-187 [PMID: 21928250 DOI: 10.5301/IJBM.2011.8580]
- 31 Babu LH, Perumal S, Balasubramanian MP. Myrtenal, a natural monoterpene, down-regulates TNF- α expression and suppresses carcinogen-induced hepatocellular carcinoma in rats. *Mol Cell Biochem* 2012; 369: 183-193 [PMID: 22763672 DOI: 10.1007/s11010-012-1381-0]
- 32 Yang Y, Qiu XQ, Yu HP, Zeng XY, Bei CH. TNF- α -863 polymorphisms and the risk of hepatocellular carcinoma. *Exp Ther Med* 2012; 3: 513-518 [PMID: 22969921]
- 33 Nieters A, Yuan JM, Sun CL, Zhang ZQ, Stoecklmaier J, Govindarajan S, Yu MC. Effect of cytokine genotypes on the hepatitis B virus-hepatocellular carcinoma association. *Cancer* 2005; 103: 740-748 [PMID: 15643599]
- 34 Kuang DM, Peng C, Zhao Q, Wu Y, Zhu LY, Wang J, Yin XY, Li L, Zheng L. Tumor-activated monocytes promote expansion of IL-17-producing CD8+ T cells in hepatocellular carcinoma patients. *J Immunol* 2010; 185: 1544-1549 [PMID: 20581151]
- 35 Gu FM, Li QL, Gao Q, Jiang JH, Zhu K, Huang XY, Pan JF, Yan J, Hu JH, Wang Z, Dai Z, Fan J, Zhou J. IL-17 induces AKT-dependent IL-6/JAK2/STAT3 activation and tumor progression in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer* 2011; 10: 150 [PMID: 22171994 DOI: 10.1186/1476-4598-10-150]
- 36 Reichl P, Haider C, Grubinger M, Mikulits W. TGF- β in epithelial to mesenchymal transition and metastasis of liver carcinoma. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 4135-4147 [PMID: 22630087]
- 37 Shi M, Yao L, Wang FS, Lei ZY, Zhang B, Li WL, Liu JC, Tang ZR, Zhou GD. [Growth inhibition of human hepatocellular carcinoma xenograft in nude mice by combined treatment with human cytokine-induced killer cells and chemotherapy]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2004; 26: 465-468 [PMID: 15555334]
- 38 王华, 张天一, 朱昌来, 张春辉, 倪启超. 肝癌患者PBMC中TH1/TH2类细胞因子mRNA表达. *肿瘤防治研究* 2006; 33: 26-29

编辑 田滢 电编 鲁亚静



人大肠癌旁不同部位组织中DNA甲基转移酶的表达差异

吴丽云, 文彬, 胡丰良, 刘金元, 付道时

吴丽云, 文彬, 付道时, 广州中医药大学脾胃研究所 广东省广州市 510405
胡丰良, 广州中医药大学第一附属医院肛肠科 广东省广州市 510405
刘金元, 广州中医药大学测试中心 广东省广州市 510405
吴丽云, 在读硕士, 主要从事大肠癌表观遗传学的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81173257
作者贡献分布: 此课题由文彬与吴丽云设计; 吴丽云负责操作与完成论文的撰写; 胡丰良提供组织标本; 刘金元负责免疫组织化学的数据采集; 付道时参与一部分实验的操作。
通讯作者: 文彬, 研究员, 510405, 广东省广州市机场路12号, 广州中医药大学脾胃研究所. wenbin@gzucm.edu.cn
电话: 020-36585077
收稿日期: 2013-05-07 修回日期: 2013-06-11
接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

DNMTs are differentially expressed in tissues at different distances from colorectal cancer lesions

Li-Yun Wu, Bin Wen, Feng-Liang Hu, Jin-Yuan Liu, Dao-Shi Fu

Li-Yun Wu, Bin Wen, Dao-Shi Fu, Piwei Institute, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China
Feng-Liang Hu, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China
Jin-Yuan Liu, Test Center of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173257
Correspondence to: Bin Wen, Researcher, Piwei Institute, Guangzhou University of Chinese Medicine, 12 Jichang Road, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China. wenbin@gzucm.edu.cn
Received: 2013-05-07 Revised: 2013-06-11
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To detect the expression of DNA methyltransferases (DNMTs) in tissues at different distances from colorectal cancer lesions.

METHODS: Immunohistochemistry and Western blot were used to detect the expression of DNMTs in 25 colorectal cancer specimens and matched tumor-adjacent tissues (> 5 cm apart from the tumor and 2 cm apart from the tumor) and normal tissues (> 10 cm apart from the tumor). None

of the patients received preoperative treatments such as radiotherapy or chemotherapy.

RESULTS: The corrected absorbance of DNMT1 detected by immunohistochemistry in tissues > 10, > 5 and 2 cm apart from the tumor was 0.359484 ± 0.037511 , 0.460941 ± 0.032146 and 0.498767 ± 0.021143 , respectively, showing an upward-trend ($P < 0.05$). The corresponding relative expression levels of DNMT1 detected by Western blot were 0.7173, 0.7418 and 0.8296. Expression of DNMT3A in tissues > 5 and > 10 cm apart from the tumor was significantly higher than that in tissues 2 cm apart from the tumor (both $P < 0.05$), although expression of DNMT3A showed no significant difference between tissues > 5 and > 10 cm apart from the tumor ($P > 0.05$). Expression of DNMT3B in the above tissues was similar to that of DNMT3A.

CONCLUSION: Up-regulation of DNMT1, DNMT3A and DNMT3B may play a significant role in the occurrence of colorectal carcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; DNA methyltransferases

Wu LY, Wen B, Hu FL, Liu JY, Fu DS. DNMTs are differentially expressed in tissues at different distances from colorectal cancer lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2515-2521 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2515.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2515>

摘要

目的: 检测DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)在距大肠癌病灶不同距离组织中的表达差异, 以探讨其表达在大肠癌癌变早期的意义。

方法: 实验共取25例中分化结肠癌标本, 从距离大肠癌病灶近端10、5、2 cm获取组织样本, 并分别命名为1、2、3号位组织样本, 用免疫组织化学以及Western blot检测3个部位组织中DNMT的表达及分布情况。

背景资料

近年来, 对肿瘤启动机制的研究认为, 表观遗传在肿瘤的启动中发挥了关键性的作用。DNA甲基化是表观遗传修饰的重要内容, 也是肿瘤发生的早期分子事件。DNA甲基化、组织微环境、组织架构共同决定了肿瘤的发生和生长。

同行评议者

蔡开琳, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

■ 研究前沿

研究发现, 肿瘤的发生常伴随着DNA的异常甲基化, 但不同肿瘤中, DNA甲基化的变化却不相同. DNMT作为DNA甲基化的关键酶, 已经被用作大肠癌临床检测指标.

结果: 免疫组织化学实验显示DNMT1在1、2、3号位中的校正吸光度值(corrected absorbance, CA)分别为 0.359484 ± 0.037511 、 0.460941 ± 0.032146 、 0.498767 ± 0.021143 , 呈递增趋势($P < 0.05$). Western blot实验结果也显示DNMT1在1、2、3号位中的表达依次增加, 其在3个部位的相对表达量分别为0.7173、0.7418、0.8296. DNMT3A在2、3号位的表达均高于1号位($P < 0.05$), 但在2、3号位之间的表达差异无统计学意义($P > 0.05$). DNMT3B的表达变化与DNMT3A相同.

结论: DNMTs在1、2、3号位表达增加, 说明DNMTs在大肠癌的启动及演进过程中发挥了重要作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 大肠癌; DNA甲基转移酶

核心提示: DNA甲基化是肿瘤发生的一条重要机制, 组织架构和微环境的变化对肿瘤的形成至关重要, 本文以大肠的组织架构的基本结构单元-隐窝为基本研究单位, 研究DNA甲基化的关键酶DNMT在大肠癌变过程中的表达变化.

吴丽云, 文彬, 胡丰良, 刘金元, 付道时. 人大肠癌旁不同部位组织中DNA甲基转移酶的表达差异. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2515-2521 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2515.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2515>

0 引言

对于肿瘤, 人类尚无良方, 目前最为行之有效的方法就是: 早发现、早诊断、早治疗. 研究肿瘤恶变前期和早期生物学特征, 寻找早期病变的分子标志、探求肿瘤的启动分子机制, 一直是肿瘤研究领域的重点. 随着后基因组时代的到来, 越来越多的研究表明, DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质异构等表观遗传学转换是细胞增殖分化失衡的早期事件, 早于基因突变和基因组不稳定性的发生^[1].

DNA甲基化是表观遗传学的重要内容, 也是肿瘤发生的一条重要机制^[2]. 机体内所有的DNA甲基化(去甲基化)过程都在DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)催化下完成, DNA异常甲基化的一个潜在机制就是DNMT发生过调节^[3,4].

从组织病理学角度, 肠道隐窝是肠道细胞结

构的基本单元, 也是承载肠道病变的基本单元. 隐窝底部肠道干细胞的增殖、分化是肠黏膜更新的主要细胞学基础^[5]. 肠道干细胞在向上移行的同时不断分化成为成熟的杯状细胞和柱状细胞, 以补充脱落的肠道上皮细胞, 维持肠黏膜细胞的正常更新. 因此本研究通过免疫组织化学和蛋白质印迹法观察不同部位组织中DNA甲基转移酶的表达分布, 进行探讨DNMTs在大肠癌变过程中表达的变化在大肠癌变启动过程中的意义.

1 材料和方法

1.1 材料 标本取自广州中医药大学附属医院及广州军区总医院2012-05/2013-02手术切除的25位中分化结肠癌患者, 其中男性13例, 女性12例, 平均年龄 57.8 ± 10.9 岁. 所有大肠癌患者均为散发性大肠癌, 且术前均未经任何放、化疗, 所有病例均经两位以上病理医师确诊. 标本切取位置如图1所示, 每例依次取距离大肠癌病灶近端10、5、2 cm的组织, 分别标记为1、2和3号位. 结肠癌沿远近两端直接浸润一般不超过2 cm, 但沿结肠旁淋巴结却可向两侧扩展8 cm以上, 1号位距离肿瘤近端10 cm属于手术切除的安全距离, 在本研究中我们视其为正常组织; 3号组织为距离病灶边缘2 cm的癌旁组织样本; 2号位组织为1和3号位之间的组织样本. 兔抗人DNMT1多克隆抗体(批号bs-0678R)、兔抗人DNMT-3A多克隆抗体(批号bs-0497R)、DNMT-3B(批号bs-0301R)均购自北京博奥森生物技术公司. 免疫组织化学检测试剂(SP法)及二氨基联苯胺(3, 3'-diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术公司. PVDF膜(MIL-LIPORE), SDS凝胶加样缓冲液, 三去污剂裂解缓冲液, 脱脂奶粉, 0.1%PBST.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色及结果判定: 所有标本均经4%多聚甲醛固定, 常规石蜡包埋, 采用4 μ m厚连续切片. 常规脱蜡水化, PBS冲洗, 3%过氧化氢灭活内源性过氧化物酶, 微波修复15 min, 加入兔抗人一抗(抗体稀释度为1:300), 4 $^{\circ}$ C过夜; PBS冲洗2 min \times 3次, 滴加相应二抗37 $^{\circ}$ C温箱孵育30 min, 具体步骤按试剂盒说明书操作. DAB显色, 苏木精复染, 常规乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 显微镜下观察结果. 每例标本均用PBS代替一抗作阴性对照. 应用IPP6.0病理图象分析软件测定各组免疫阳性产物的光密度(A)值, 每张切片随机测定6个视野, 同时测

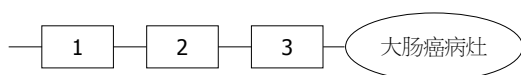


图1 标本取材部位示意图. 1号位: 距离病灶>10 cm; 2号位: 距离病灶>5 cm; 3号位: 距离病灶>2 cm.

定同一张切片上组织的A值作为背景, 免疫反应产物的A值减去背景A值得到校正的A值(CA值), 即为各阳性产物的实际吸光度值, 然后求平均值作为该样本的CA值. 用CA值进行分析和比较, 以避免染色过程中的非特异性染色等导致的误差.

1.2.2 用Western blot方法检测DNMT1、DNMT3A及DNMT3B的表达: 每100 mg组织中加入1 mL蛋白裂解液和10 μ L 100 mmol/L的PMSF. 研磨后将样品转移到1.5 mL离心管, 冰里放置30 min, 然后4 $^{\circ}$ C、12000 r/min高速离心30 min. 取20 μ L的上清液即细胞裂解液, 并加5 μ L 5 \times 电泳上样缓冲液(预染Marker取5 μ L), 沸水浴5 min, 12000 r/min离心3 min, 去除不溶性蛋白, 上样, 电泳约1.5 h, 取分离胶进行转膜, 取出PVDF膜, 去离子水洗涤, 洗液平衡后用5%脱脂奶粉室温封闭90 min, 加已稀释好的兔抗DNMT1(1:500), DNMT3A(1:500), DNMT3B(1:500), 4 $^{\circ}$ C过夜. PBS洗膜, 第1次15 min, 后3次每次5 min. 加5 mL 1:5000稀释的羊抗兔二抗, 室温反应1 h, TBST洗膜后, ECL增强发光, X线曝光5 min. 以 β -actin蛋白作为内参对照. 采用WO-9413B型凝胶成像系统自带软件Gelpro32来分析胶片中的蛋白条带.

统计学处理 各组实验数据以mean \pm SD表示, 采用SPSS16.0统计软件, 计量资料进行均数间比较采用t检验或方差分析. 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 组织形态学观察与分析 1987年Bird和Good^[6]在研究啮齿动物的大肠癌模型中发现了异常隐窝病灶(aberrant crypt foci, ACF). 1991年ACF被确认亦存在于人类结肠中^[7,8]. 多数学者认为ACF可能是大肠癌发生的最早期事件, 并把ACF作为大肠癌早期诊断的观察指标之一^[9-11]. ACF是由单个或一组异常隐窝构成的病灶, 其形态学特征与正常黏膜相比, 有以下特征: 隐窝增大变厚, 呈锯齿状; 裂隙状管腔, 开口呈椭圆状; 上皮细胞层增生染色加深; 细胞核大有异型性^[12,13]. 此后, 许多研究者对ACF发生过程中的遗传和表

观遗传变化进行了研究^[14-16]. 研究表观遗传与遗传的改变, 对于大肠癌早期诊断、预后及个体化的医疗都具有十分重要的意义. 在本研究中, 我们首先比较了3个不同部位组织中ACF的存在情况及形态特征.

通过HE染色, 我们观察到, 在1号位组织中, 隐窝排列整齐, 腺腔直径正常, 隐窝中的细胞呈单层排列且细胞核大小正常, 上皮层无明显改变(图2A, B). 在最靠近病灶的2、3号部位组织中, 依肿瘤恶性程度不同, 隐窝或完全消失或部分残存, 对于残存的ACF, 越接近病灶的组织, 隐窝形态变化越大, 而且ACF数量越多. 在2号位组织中, 我们观察到有的隐窝较大, 管腔呈锯齿状, 细胞核增大拉长, 表现出拥挤、分层的状态, 均属典型的ACF特征(图2C, D). 3号位组织同2号位组织一样, 也有ACF出现, 其隐窝异型增生明显, 腺管染色加深, 隐窝直径异常增大, 上皮层增厚, 隐窝内细胞的细胞核增大, 细胞排列得拥挤, 还出现分层、极性消失的情况(图2E, F), 且ACF数量较2号位组织多. Shpitz等^[17]在对74例散发性大肠癌ACF的分布规律进行研究后也发现大肠癌远端的ACF多于近端部分.

2.2 免疫组织化学结果 我们用免疫组织化学对3个部位组织中DNA甲基转移酶的表达分布进行分析, 结果显示DNMT1表达可见于1、2和3号位组织中. 其中在距离病灶最远的1号位组织中, 隐窝结构清晰、排列整齐, 隐窝内细胞单层排列, DNMT1表达较少, 且表达主要分布在隐窝之间的间质中表达(图3A), 而在2号位中存在ACF, 隐窝口变大, 隐窝内的细胞出现分层而非单层状态, DNMT1在其中的表达较1号位高, 且在隐窝间间质及隐窝中均有表达(图3B); 3号位中(图3C), ACF数量较2号位多, 如图3C中隐窝内细胞密集呈现拥挤、分极性消失的状态, DNMT1这个部位组织中的表达较1、2号位高. 其在3个部位的校正光密度值(CA)分别为 0.359484 ± 0.037511 、 0.460941 ± 0.032146 、 0.498767 ± 0.021143 , 呈逐渐递增的趋势($P<0.05$, 图4). DNMT3A主要表达于隐窝之间的间质中, 在隐窝内表达较少, 其在1、2和3号位中的表达量分别为 0.3512 ± 0.03775 、 0.404684 ± 0.039239 、 0.438148 ± 0.020438 , 其表达依次增高, 在2和3号位的表达都高于1号位(图3D-F, $P<0.05$), 但在2和3号位之间的表达差异没有统计学意义($P>0.05$, 图4).

DNMT3B在隐窝内及隐窝之间的间质中

■ 相关报道

Tamura等研究发现了隐窝异常病灶(aberrant crypt foci, ACF). 许多学者都认为ACF是结肠腺瘤的前体, 是大肠癌的生物标志. 对肿瘤启动的研究发现肿瘤发生的机制之一一是DNMT异常表达从而引起的DNA异常甲基化.

■ 创新盘点

近年来对肿瘤中DNMT异常表达的研究大多以癌组织、癌旁组织和正常组织为研究对象,研究DNMT在3种组织中的表达变化,而本实验在不同组织的基础上以隐窝为基本研究单位,结合组织结构、微环境,研究DNMT在癌变过程中的表达变化。

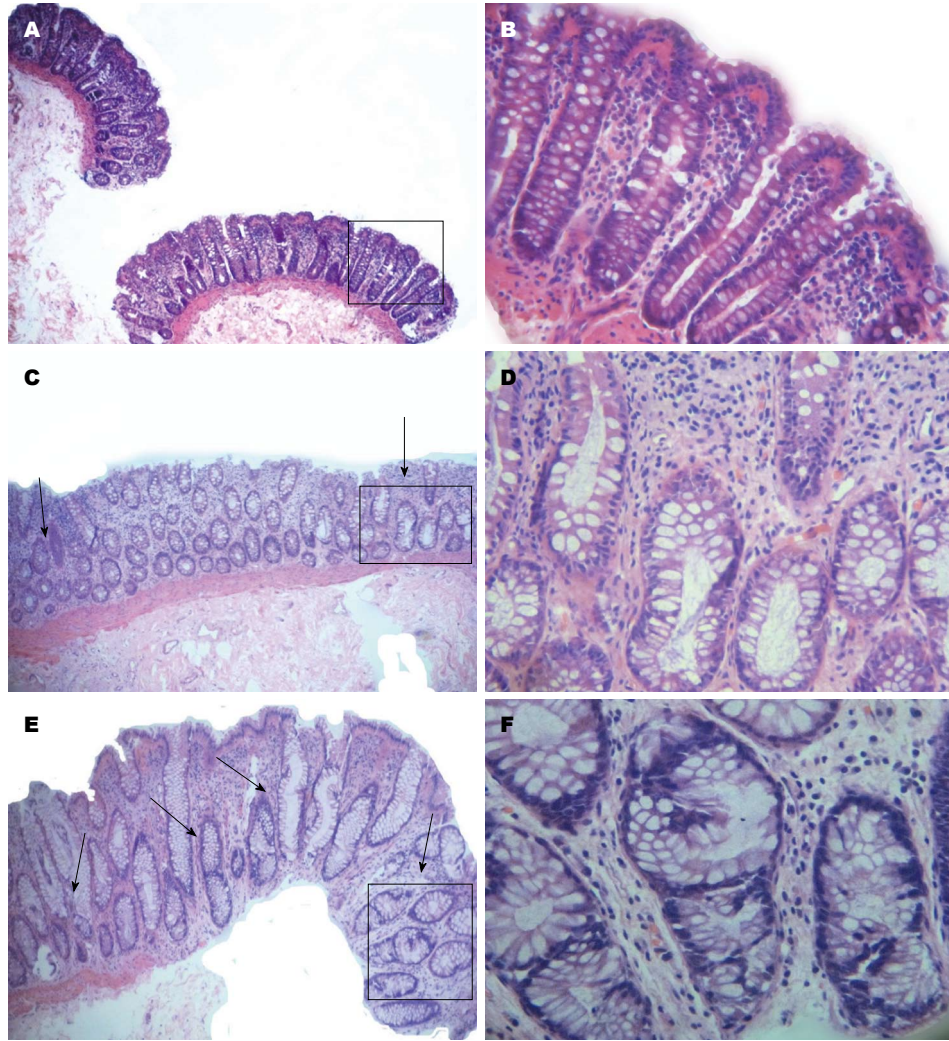


图2 距离大肠癌病灶不同距离组织HE染色结果(箭头处为异常隐窝病灶). A, C, E: 1, 2, 3号位($\times 100$); B, D, F: 1, 2, 3号位($\times 400$).

都有表达,且其在3个部位组织的表达变化与DNMT3A类似,在2和3号位的表达都高于1号位(图3G-I, $P < 0.05$),但在2和3号位之间的表达差异没有统计学意义($P > 0.05$),其在3个部位组织表达量分别为 0.471217 ± 0.026454 、 0.510019 ± 0.032516 、 0.540606 ± 0.036183 。

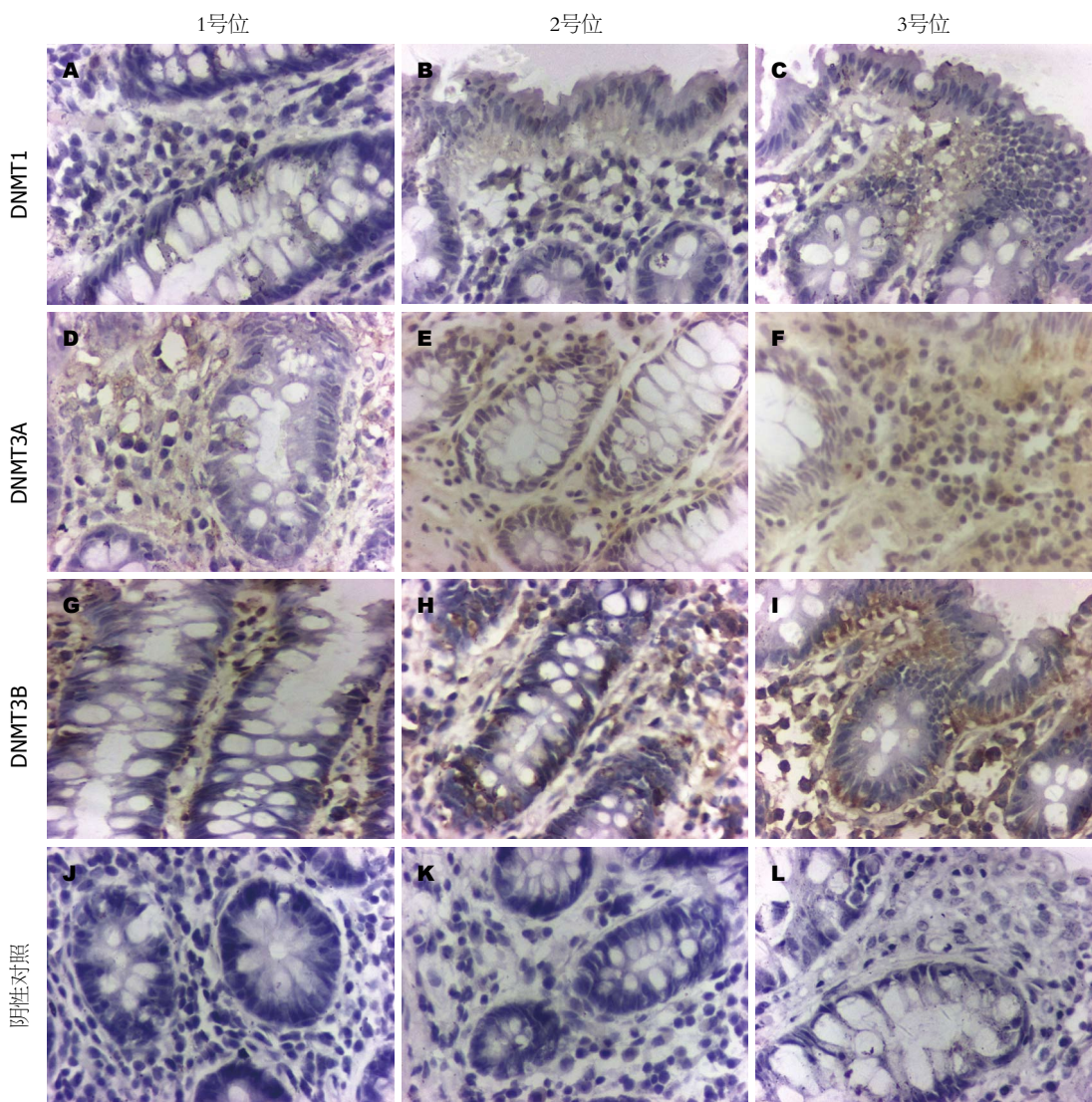
2.3 Western blot结果 分别取3个部位新鲜组织样本,用Western blot检测组织中DNMTs相对表达量,结果表明DNMT1在3个部位的相对表达量分别为0.7173、0.7418、0.8296, DNMT3A和DNMT3B在3个部位的相对表达分别为0.8091、0.8804、0.9051; 0.6405、0.7023、0.8445都呈现依次增加的趋势(图5)。

3 讨论

近十几年来,肿瘤细胞中心观指导下的肿瘤研究模式受到了巨大冲击^[18-20]:首先,以肿瘤相关机制为基础的肿瘤组织原则的构建,使人们意识到

肿瘤其实就是一个不断发展的紊乱器官;正常组织可以精确地产生、释放、控制促进生长信号,以维持正常组织的架构和功能.组织架构和内稳态的转变是肿瘤启动的早期信号^[21-25],其中的机制可能是组织结构的重塑改变了组织微环境.其次,表观遗传调控在肿瘤的发生发展中发挥了关键性的作用,表观遗传调控决定了组织微环境的重塑,而微环境的重塑又转变了组织微架构,反过来,组织结构的重塑又进一步转变了组织微环境,这些都决定了肿瘤的形成和生长^[26].对于大肠,隐窝是上皮组织的基本结构单元,也是装载这一过程的基本单元。

Tamura等^[27]通过扫描电镜观察不同病变状态下的大肠隐窝,发现处于不同病变时期的隐窝形态学上有很大差别,他们的体积、形状、表面光滑程度以及有无分支都与正常隐窝不同.这些异常的隐窝单独或聚集在一起,就形成了ACF. Gupta和Schoen^[28]对ACF与人类大肠癌的



■应用要点
DNMT结合ACF可作为大肠癌临床检查指标, 比二者单独作为检测指标来检测大肠癌更加准确。

图 3 DNMTs免疫组织化学结果(×400)。A-C: DNMT1; D-F: DNMT3A; G-I: DNMT3B。DNMT: DNA甲基转移酶。

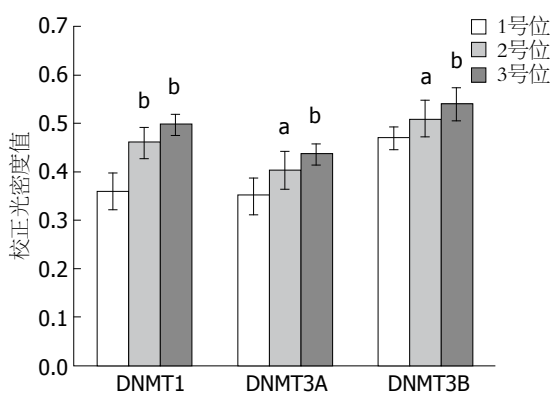


图 4 免疫组织化学检测DNMTs在3个部位表达的差异。^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 1号位。DNMT: DNA甲基转移酶。

我们从距离大肠癌病灶近端不同距离取的标本中也发现了这一点, 我们的研究是以隐窝结构为基础, 在正常组织中, 罕见ACF, 隐窝长度、大小及管腔开口均正常, 隐窝内细胞单层排列, 具有极性。而在2号位及3号位组织中, 都可见ACF, 且3号位组织中的ACF数量较2号位中多, 在这两种组织中, 隐窝可见直径、长度增大, 隐窝开口锯齿状、有分支, 隐窝内细胞排列杂乱拥挤甚至分层而极性消失。我们以ACF为基本研究单元, 在此基础上研究肿瘤的表现遗传转换对促肿瘤微环境进行再教育, 对靶向治疗肿瘤有重要意义。

发生相关文献进行了整理, 认为流行病学和分子生物学的研究都支持ACF是结肠腺瘤的前体, 是大肠癌的生物标识。

表观遗传学是近15年来最令人兴奋, 也是发展最迅速的领域, 许多学者认为表观遗传学可能会从根本上改变我们对肿瘤基础生物学的理解。目前, 我们尚不能对表观机制是否会实质性

同行评价

本文发现结直肠癌病例中,以癌灶为中心,存在一个梯度下降性的DNMT表达及ACF发生率的差异,此结果未见报道,值得深入研究。

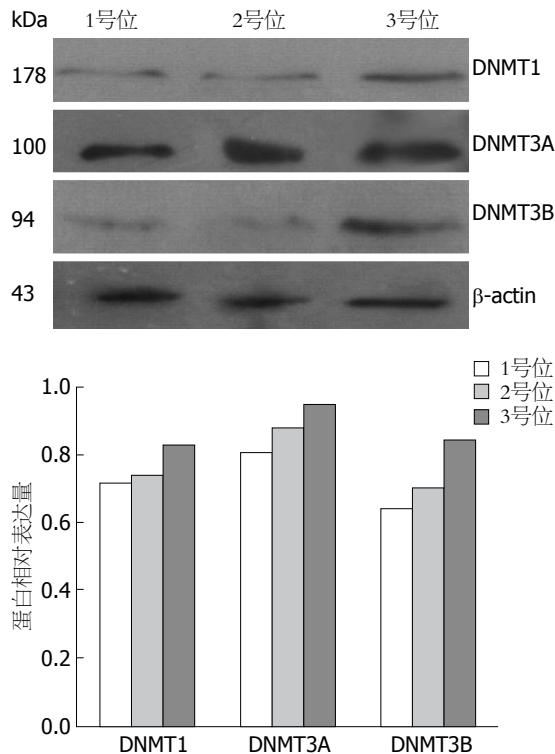


图5 Western blot检测DNMTs在3个部位组织中的表达。DNMT: DNA甲基转移酶。

改变我们对肿瘤基础生物学的理解下一个定论,但表观遗传机制却引发了肿瘤病理机制根本性的转变,至少目前,表观机制对肿瘤与微环境之间的调控使对肿瘤启动机制前移到更加早期的阶段。

表观遗传的改变使癌前细胞具有了选择生长优势^[29,30]。DNA甲基化是表观遗传学修饰的重要内容,是肿瘤发生的一条重要机制,也是肿瘤发生的早期分子事件^[31-33]。对癌旁组织的研究发现,癌基因低甲基化在癌症发生之前就已存在,几乎每种类型肿瘤的启动子甲基化都有其独特的模式,DNA的甲基化和去甲基化都由DNMT催化完成,DNA甲基化异常的一个潜在机制就是DNMT发生过调节。DNMT表达和活性升高是癌细胞的一个特征性的早期分子改变^[34]。

哺乳动物中具有甲基化活性的甲基转移酶有DNMT1、DNMT3A、DNMT3B^[35]。传统上认为DNMT1主要负责维持基因甲基化,而DNMT3A、DNMT3B负责从头甲基化,但最新研究认为三者同时具有重头甲基化和维持甲基化作用^[36]。

DNMTs能维持基因组完整性,基因组的完整性一旦被破坏将会引起染色质不稳定以及肿瘤的发生。其维持基因组稳定性的作用依赖于其在基因的表达调控中起着重要作用。DNMTs的

异常表达暗示了基因表达调控的异常。在癌细胞中,DNMT基因的表达升高往往先于高甲基化变化,因此可认为DNMT表达量增高是癌细胞的一个特征性的早期分子变化^[37]。

我们的研究显示在癌变早期肠组织不仅发生了形态学的变化,出现了隐窝异常病灶,而且在离肠癌病灶不同距离组织中甲基转移酶的表达有差异,DNMTs在越靠近肠癌病灶的组织中表达越高。2、3号位组织中可见ACF,且3号位组织中ACF数量多于2号位组织。DNMTs在这两个部位组织中的表达均高于正常组织($P < 0.05$),且在3号位组织中的表达高于2号位组织,但DNMT3A、DNMT3B在2号位组织和3号位组织中的表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。就表达分布而言,DNMT1、DNMT3A的表达主要分布于隐窝间的间质中,且在2、3号位组织中隐窝间间质的表达量明显增多。DNMT3B在隐窝中和隐窝间的间质中均有表达,且在2、3号位组织的隐窝及隐窝间质中表达均增多。这说明组织结构、微环境的变化即出现ACF与DNMTs的高表达在大肠癌变启动中有重要意义,可将二者结合作为大肠癌变的早期标志,运用于大肠癌的筛查、预防、诊断等方面,但二者之间的相互作用机制仍需探索,我们将把这作为下一步的方向继续深入研究。

4 参考文献

- 1 王先火,赵秀娟,邱立华,王华庆,王玺. 肿瘤发生的表观遗传学: 进展与临床意义. 北京大学学报(医学版) 2012; 44: 701-707
- 2 张丽丽,吴建新. DNA甲基化-肿瘤产生的一种表观遗传学机制. 遗传 2006; 28: 880-885
- 3 Baylin SB, Herman JG, Graff JR, Vertino PM, Issa JP. Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. *Adv Cancer Res* 1998; 72: 141-196 [PMID: 9338076 DOI: 10.1016/S0065-230X(08)60702-2]
- 4 Robertson KD, Uzvolgyi E, Liang G, Talmadge C, Sumegi J, Gonzales FA, Jones PA. The human DNA methyltransferases (DNMTs) 1, 3a and 3b: coordinate mRNA expression in normal tissues and overexpression in tumors. *Nucleic Acids Res* 1999; 27: 2291-2298 [PMID: 10325416 DOI: 10.1093/nar/27.11.2291]
- 5 樊利芳,董卫国. 肠干细胞与结直肠癌干细胞研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 4075-4080
- 6 Bird RP, Good CK. The significance of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. *Toxicol Lett* 2000; 112-113: 395-402 [PMID: 10720758 DOI: 10.1016/S0378-4274(99)00261-1]
- 7 Roncucci L, Stamp D, Medline A, Cullen JB, Bruce WR. Identification and quantification of aberrant crypt foci and microadenomas in the human colon. *Hum Pathol* 1991; 22: 287-294 [PMID: 1706308 DOI: 10.1016/0046-8177(91)90163-J]

- 8 Pretlow TP, Barrow BJ, Ashton WS, O'Riordan MA, Pretlow TG, Jurcisek JA, Stellato TA. Aberrant crypts: putative preneoplastic foci in human colonic mucosa. *Cancer Res* 1991; 51: 1564-1567 [PMID: 1997197]
- 9 Wargovich MJ, Jimenez A, McKee K, Steele VE, Velasco M, Woods J, Price R, Gray K, Kelloff GJ. Efficacy of potential chemopreventive agents on rat colon aberrant crypt formation and progression. *Carcinogenesis* 2000; 21: 1149-1155 [PMID: 10837003 DOI: 10.1093/carcin/21.6.1149]
- 10 Jen J, Powell SM, Papadopoulos N, Smith KJ, Hamilton SR, Vogelstein B, Kinzler KW. Molecular determinants of dysplasia in colorectal lesions. *Cancer Res* 1994; 54: 5523-5526 [PMID: 7923189]
- 11 Siu IM, Pretlow TG, Amini SB, Pretlow TP. Identification of dysplasia in human colonic aberrant crypt foci. *Am J Pathol* 1997; 150: 1805-1813 [PMID: 9137103]
- 12 Pretlow TP, Pretlow TG. Mutant KRAS in aberrant crypt foci (ACF): initiation of colorectal cancer? *Biochim Biophys Acta* 2005; 1756: 83-96 [PMID: 16219426 DOI: 10.1016/j.bbcan.2005.06.002]
- 13 Cheng L, Lai MD. Aberrant crypt foci as microscopic precursors of colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2642-2649 [PMID: 14669304]
- 14 Nucci MR, Robinson CR, Longo P, Campbell P, Hamilton SR. Phenotypic and genotypic characteristics of aberrant crypt foci in human colorectal mucosa. *Hum Pathol* 1997; 28: 1396-1407 [PMID: 9416697]
- 15 Shivapurkar N, Huang L, Ruggeri B, Swalsky PA, Bakker A, Finkelstein S, Frost A, Silverberg S. K-ras and p53 mutations in aberrant crypt foci and colonic tumors from colon cancer patients. *Cancer Lett* 1997; 115: 39-46 [PMID: 9097977 DOI: 10.1016/S0304-3835(97)04709-5]
- 16 Suehiro Y, Hinoda Y. Genetic and epigenetic changes in aberrant crypt foci and serrated polyps. *Cancer Sci* 2008; 99: 1071-1076 [PMID: 18384435 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00784.x]
- 17 Shpitz B, Bomstein Y, Mekori Y, Cohen R, Kaufman Z, Neufeld D, Galkin M, Bernheim J. Aberrant crypt foci in human colons: distribution and histomorphologic characteristics. *Hum Pathol* 1998; 29: 469-475 [PMID: 9596270 DOI: 10.1016/S0046-8177(98)90062-4]
- 18 Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70 [PMID: 10647931 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9]
- 19 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
- 20 Pietras K, Ostman A. Hallmarks of cancer: interactions with the tumor stroma. *Exp Cell Res* 2010; 316: 1324-1331 [PMID: 20211171 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.02.045]
- 21 Polyak K, Haviv I, Campbell IG. Co-evolution of tumor cells and their microenvironment. *Trends Genet* 2009; 25: 30-38 [PMID: 19054589 DOI: 10.1016/j.tig.2008.10.012]
- 22 Egeblad M, Nakasone ES, Werb Z. Tumors as organs: complex tissues that interface with the entire organism. *Dev Cell* 2010; 18: 884-901 [PMID: 20627072 DOI: 10.1016/j.devcel.2010.05.012]
- 23 Moran EM. Epidemiological and clinical aspects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cancer risks. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2002; 21: 193-201 [PMID: 12086406 DOI: 10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.v21.i2.130]
- 24 Weber CE, Kuo PC. The tumor microenvironment. *Surg Oncol* 2012; 21: 172-177 [PMID: 21963199 DOI: 10.1016/j.suronc.2011.09.001]
- 25 Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med* 1986; 315: 1650-1659 [PMID: 3537791 DOI: 10.1056/NEJM198612253152606]
- 26 Allen M, Louise Jones J. Jekyll and Hyde: the role of the microenvironment on the progression of cancer. *J Pathol* 2011; 223: 162-176 [PMID: 21125673 DOI: 10.1002/path.2803]
- 27 Tamura S, Furuya Y, Tadokoro T, Higashidani Y, Yokoyama Y, Araki K, Onishi S. Pit pattern and three-dimensional configuration of isolated crypts from the patients with colorectal neoplasm. *J Gastroenterol* 2002; 37: 798-806 [PMID: 12424563 DOI: 10.1007/s005350200133]
- 28 Gupta AK, Schoen RE. Aberrant crypt foci: are they intermediate endpoints of colon carcinogenesis in humans? *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 59-65 [PMID: 19114775 DOI: 10.1097/MOG.0b013e32831db286]
- 29 Esteller M, Herman JG. Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours. *J Pathol* 2002; 196: 1-7 [PMID: 11748635 DOI: 10.1002/path.1024]
- 30 Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* 2002; 3: 415-428 [PMID: 12042769 DOI: 10.1038/nrg816]
- 31 Esteller M. Relevance of DNA methylation in the management of cancer. *Lancet Oncol* 2003; 4: 351-358 [PMID: 12788407 DOI: 10.1016/S1470-2045(03)01115-X]
- 32 Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 1999; 21: 163-167 [PMID: 9988266 DOI: 10.1038/5947]
- 33 Baylin SB, Herman JG. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics. *Trends Genet* 2000; 16: 168-174 [PMID: 10729832 DOI: 10.1016/S0168-9525(99)01971-X]
- 34 Rhee I, Bachman KE, Park BH, Jair KW, Yen RW, Schuebel KE, Cui H, Feinberg AP, Lengauer C, Kinzler KW, Baylin SB, Vogelstein B. DNMT1 and DNMT3b cooperate to silence genes in human cancer cells. *Nature* 2002; 416: 552-556 [PMID: 11932749 DOI: 10.1038/416552a]
- 35 苏玉, 王溪, 朱卫国. DNA甲基转移酶的表达调控及主要生物学功能. *遗传* 2009; 11: 1087-1093
- 36 Fernandez AF, Huidobro C, Fraga MF. De novo DNA methyltransferases: oncogenes, tumor suppressors, or both? *Trends Genet* 2012; 28: 474-479 [PMID: 22704242 DOI: 10.1016/j.tig.2012.05.006]
- 37 陆嵘, 房静远, 朱红音, 陈紫暄, 程中华, 李恩灵. 重组DNA甲基化酶1表达质粒对结肠癌细胞相关基因表达的影响. *中华消化杂志* 2004; 24: 67-70

编辑 田滢 电编 鲁亚静



白介素17A在结直肠癌及腺瘤组织中的表达及其意义

刘揆亮, 余瑞金, 吴静, 林香春

■背景资料

肿瘤微环境中的炎性细胞因子在肿瘤发生、进展及转移等各个阶段均具有极其重要的作用,“促进肿瘤的炎症”已被列为肿瘤的十大特征之一。

刘揆亮, 余瑞金, 吴静, 林香春, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科 北京市 100038

刘揆亮, 主要从事结肠癌及其癌前病变的基础与临床研究。

首都医科大学附属北京世纪坛医院青年科学基金资助项目, No. 2011-q01

作者贡献分布: 本课题由刘揆亮与吴静设计; 研究过程由刘揆亮、余瑞金、吴静及林香春共同完成; 数据分析及论文写作由刘揆亮完成。

通讯作者: 吴静, 教授, 主任医师, 100038, 北京市海淀区羊坊店铁医院路10号, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科。wujing36@163.com

收稿日期: 2013-06-11 修回日期: 2013-07-11

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Significance of interleukin 17-A expression in colorectal cancer and adenoma

Kui-Liang Liu, Rui-Jin Yu, Jing Wu, Xiang-Chun Lin

Kui-Liang Liu, Rui-Jin Yu, Jing Wu, Xiang-Chun Lin, Beijing Shijitan Hospital, CMU, Beijing 100038, China
Supported by: the Youth Scientific Foundation of Beijing Shijitan Hospital, CMU, No. 2011-q01

Correspondence to: Jing Wu, Professor, Chief Physician, Beijing Shijitan Hospital, CMU, 10 Yangfangdian Tiejieyuan Road, Haidian District, Beijing 100038, China. wujing36@163.com

Received: 2013-06-11 Revised: 2013-07-11

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To investigate the expression and role of interleukin-17 (IL-17) in colorectal cancer and adenoma.

METHODS: Tissue samples taken from patients with colorectal cancer or adenoma who were treated in our gastrointestinal endoscopy unit between 2009 and 2011 were used in this retrospective study. The expression of IL-17A in the above tissue samples was detected by immunohistochemistry. The relationship between IL-17A expression and clinicopathological characteristics and β -catenin localization was analyzed.

RESULTS: The positive rate of IL-17A expression was significantly higher in colorectal cancer, colorectal adenoma and ulcerative colitis than in normal colorectal tissue (54.2%, 45.8%, 50.0%

vs 0.0%, all $P < 0.01$). IL-17A expression was not associated with tumor location, degree of differentiation, Duke's stage, lymph node metastasis, MVD or Ki-67 expression in colorectal cancer (all $P > 0.05$). IL-17A expression was also not associated with histological type, MVD, concomitant colorectal cancer, location, size, color, number or shape of adenomas (all $P > 0.05$) in colorectal adenoma. The expression of IL-17A was higher in adenomas with high-grade dysplasia than in those with mild to moderate dysplasia, but the difference was not significant (29.62 ± 26.77 *vs* 16.98 ± 10.62 , $P > 0.05$). The expression of IL-17A was significantly higher in adenomas with nuclear expression of β -catenin than in those with cytoplasmic or membrane expression of β -catenin (29.11 ± 6.16 *vs* 16.95 ± 7.99 , 15.10 ± 11.46 , $P = 0.038, 0.021$).

CONCLUSION: IL-17A expression is elevated in colorectal cancer and adenomas and may mediate nuclear translocation of β -catenin.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Interleukin-17A; Colorectal carcinoma; β -catenin

Liu KL, Yu RJ, Wu J, Lin XC. Significance of interleukin 17-A expression in colorectal cancer and adenoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2522-2529 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2522.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2522>

摘要

目的: 评价白介素(interleukin, IL)-17A在结直肠癌及腺瘤间质中的表达及意义。

方法: 回顾性收集我院消化内镜室2009-2011年行肠镜检查后诊为结直肠癌与结直肠腺瘤患者的临床病理资料及组织标本,通过免疫组织化学方法评价IL-17A的表达及其意义,同时评价其与腺瘤组织 β -连接素(catenin)表达状态的相关性。

结果: 结直肠癌53例, IL-17A阳性细胞数为

■同行评议者

王阔, 教授, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

21.6±14.4, 高表达率54.2%; 结直肠腺瘤48例, IL-17A阳性细胞数为20.42±17.16, 高表达率45.8%; 溃疡性结肠炎14例, IL-17A阳性细胞数为20.24±12.17, 高表达率50.0%; 正常对照12例, IL-17A阳性细胞数为6.85±4.66, 高表达率0.0%, 癌、腺瘤与溃疡性结肠炎中的表达均显著高于正常对照($P<0.01$), 但三者之间没有统计学差异($P>0.05$). 结直肠癌中, IL-17A的表达与结肠癌的部位、分化程度、Duke's分期、淋巴结转移、微血管密度(microvessel density, MVD)以及Ki-67表达均不相关($P>0.05$). 结直肠腺瘤中, IL-17A的表达与腺瘤组织学类型、MVD、部位、大小、颜色、形态、是否多发及患者是否伴发结直肠癌均不相关($P>0.05$); 重度异型增生的腺瘤组织IL-17A的表达明显高于轻度和中度异型增生的腺瘤组织(29.62±26.77与16.98±10.62), 但差异没有统计学意义($P>0.05$). β -catenin胞核表达的结直肠腺瘤组织中IL-17A计数(29.11±6.16)明显高于胞浆(16.95±7.99)及胞膜(15.10±11.46)表达的结直肠腺瘤(P 值分别为0.038与0.021), 结直肠腺瘤中IL-17A的表达强度与 β -catenin的表达部位显著相关($P=0.002$).

结论: 结直肠腺瘤与结直肠癌间质中存在IL-17A高表达, IL-17A可能具有促进结直肠腺瘤组织中 β -catenin胞核转位的作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 白介素17A; 结直肠癌; β -连接素

核心提示: 本文通过免疫组织化学方法对白介素(interleukin, IL)-17A在结直肠腺瘤-腺癌间质中的表达情况及其与各项临床病理指标以及血管生成、细胞增殖、 β -catenin表达状态之间的关系进行了评价. 证实了IL-17A在结直肠癌及结直肠腺瘤中均存在高表达, 同时发现腺瘤中IL-17A的表达可能与异型增生程度具有一定关系, 且可能影响腺瘤癌变过程中的 β -catenin通路, 提示有必要对于IL-17A在结肠腺瘤癌变过程中的作用进行进一步的研究.

刘揆亮, 余瑞金, 吴静, 林香春. 白介素17A在结直肠癌及腺瘤组织中的表达及其意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2522-2529 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2522.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2522>

0 引言

肿瘤微环境是上皮性恶性肿瘤的主要特征之一,

胃肠道肿瘤的微环境由间质细胞、免疫细胞、肠神经系统以及基质组成, 在肿瘤发生、进展及转移过程中起到重要作用^[1]. 肿瘤间质中的大量炎性细胞因子构成的炎性微环境对于肿瘤的发生发展具有极其重要的促进作用, “促进肿瘤的炎症”已被列为肿瘤的十大特征之一^[2]. 白介素(interleukin, IL)-17A是Th17细胞产生的一种细胞因子, 参与了多种自身免疫性疾病和慢性炎症性疾病的发展^[3], 近年的研究发现其在肿瘤的发病中也可能发挥重要作用, 但其确切作用机制尚未完全阐明. 本研究收集本单位近年来的结直肠癌及结直肠腺瘤的病例, 通过免疫组织化学方法, 对IL-17A在结直肠癌及腺瘤等组织中的表达及其意义进行了初步探讨.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性收集我院消化内镜室于2009-2011年行肠镜检查后发现结肠腺瘤及结肠癌患者行活检或手术及内镜下切除的病理组织石蜡标本, 常规切片备用. 选取肠镜检查提示小增生性息肉的患者的增生性息肉组织作为正常对照, 另选取一部分溃疡性结肠炎患者的活检组织进行比较.

1.2 方法

1.2.1 实验: 免疫组织化学染色采用Envision二步法, IL-17A兔抗人多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司(编号sc-7927, 浓度1:100); CD34鼠抗人单克隆抗体购自丹麦Dako公司(编号M7165, 浓度1:100); β -连接素(catenin)鼠抗人单克隆抗体购自中杉金桥公司(编号ZM-0442, 浓度1:200); 二抗(工作液)购自丹麦Dako公司; 阴性对照以PBS代替一抗进行. 染色方法如下: 切片常规脱蜡置水, pH 6.0枸橼酸缓冲液抗原修复, 3%过氧化氢蒸馏水溶液室温避光封闭, 5%羊血清室温封闭, 滴加一抗和二抗, DAB显色后苏木素复染15 s.

1.2.2 免疫组织化学结果观察及判断标准: IL-17A以黏膜固有层或肿瘤间质内可见棕黄色或褐色颗粒的细胞为阳性细胞, 在400×视野下, 对每个标本选取5个阳性细胞集中的视野(热点区域)摄片^[4,5], 采用Image Pro Plus 6.0软件计数视野中的阳性细胞数, 取其平均值作为该标本的IL-17阳性细胞数, 以 ≥ 20 个(因数据统计显示本课题中IL-17阳性细胞数均值接近20)为高表达; β -catenin的染色以细胞膜、细胞浆或细胞核

■ 研发前沿

炎性细胞因子白介素17A(interleukin 17A, IL-17A)在各种慢性炎症性疾病中具有关键作用. 大量研究显示其在多种肿瘤中均表达增高, 并可能发挥重要的促瘤作用, 但确切作用仍不完全清楚. 其作用有可能与所处微环境和肿瘤不同阶段有关. 对于IL-17A在结直肠腺瘤-腺癌序列中的作用研究较少.

■相关报道

Cui等发现结直肠癌腺瘤-腺癌序列中IL-17A表达逐渐增强,其表达强度也与腺瘤异型增生程度相关,提示IL-17A可能在结直肠癌变化过程中有重要作用。

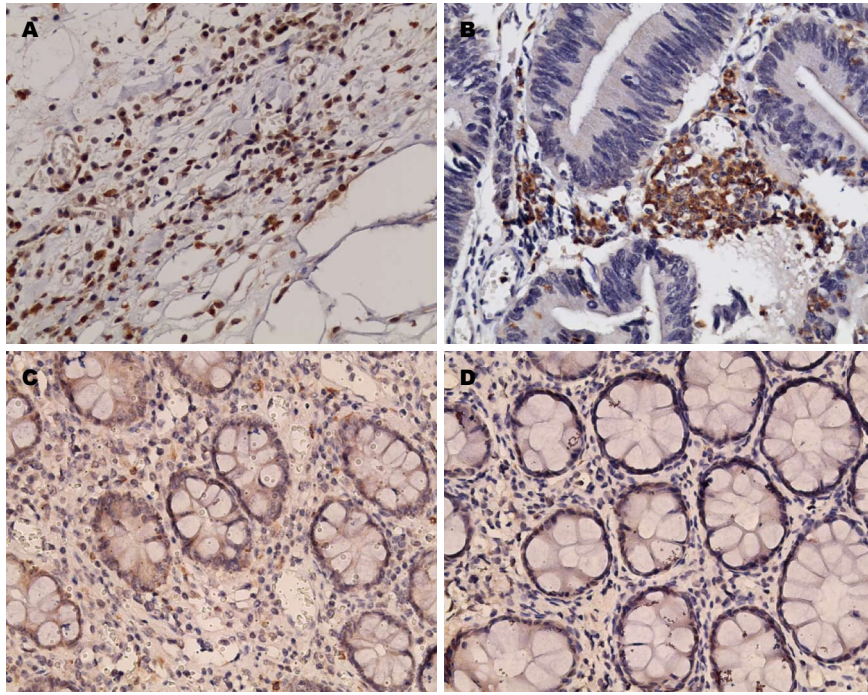


图1 IL-17A在不同组织中的表达情况($\times 400$). A: 结直肠癌; B: 结肠腺瘤; C: 溃疡性结肠炎; D: 正常对照. IL-17A: 白介素17A.

表1 IL-17A在不同组织中的表达情况

表达情况	癌	腺瘤	溃疡性结肠炎	正常对照组
数量	53	48	14	12
IL-17A阳性细胞计数	21.6 ± 14.4^b	20.42 ± 17.16^b	20.24 ± 12.17^b	6.85 ± 4.66
IL-17A高表达率	54.2%	45.8%	50.0%	0.0%

^b $P < 0.01$ vs 正常对照组. IL-17A: 白介素17A.

见棕黄色或褐色颗粒为染色阳性,胞核着色细胞 $>5\%$ 时为胞核表达,胞浆着色细胞 $>10\%$ 时为胞浆表达;对CD34染色后呈现单个内皮或内皮细胞群形成的管状或窄隙状结构均视为微血管,400 \times 视野下,对每个标本选取3个微血管集中的视野摄片计算微血管密度(microvessel density, MVD).

统计学处理 采用SPSS15.0软件进行统计学分析.计数资料以率表示,计量资料以mean \pm SD表示,计数资料的比较采用 χ^2 检验,计量资料的比较采用独立样本 t 检验或方差分析,等级资料的相关性比较采用Spearman相关性分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

IL-17A的表达情况:结直肠癌间质中可见散在或聚集的IL-17A染色为阳性的单个核细胞,部分切片中可见肿瘤细胞着色;结肠腺瘤间质中可见到散在或聚集的IL-17A染色为阳性的单

个核细胞,部分切片中有少许上皮细胞着色;溃疡性结肠炎黏膜固有层中可见到散在或聚集的IL-17A染色为阳性的单个核细胞;正常对照组中黏膜固有层可见少许IL-17A染色阳性的单个核细胞(图1).

不同组织中IL-17A表达的比较:结直肠癌53例,IL-17A阳性表达的单个核细胞计数为 21.6 ± 14.4 ;其中高表达者28例,高表达率54.2%;结肠腺瘤48例,IL-17A阳性表达的单个核细胞计数为 20.42 ± 17.16 ,高表达者22例,高表达率45.3%,溃疡性结肠炎14例,IL-17A阳性表达的单个核细胞计数为 20.24 ± 12.17 ,高表达率50.0%.正常对照12例,IL-17A阳性表达的单个核细胞计数为 6.85 ± 4.66 ,无高表达者.结肠癌、结肠腺瘤及溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)中IL-17A的表达均明显高于正常对照($P < 0.01$),但三组之间相比均无明显差异($P > 0.05$)(图1,表1).

IL-17A在结直肠癌中的表达情况及其临床

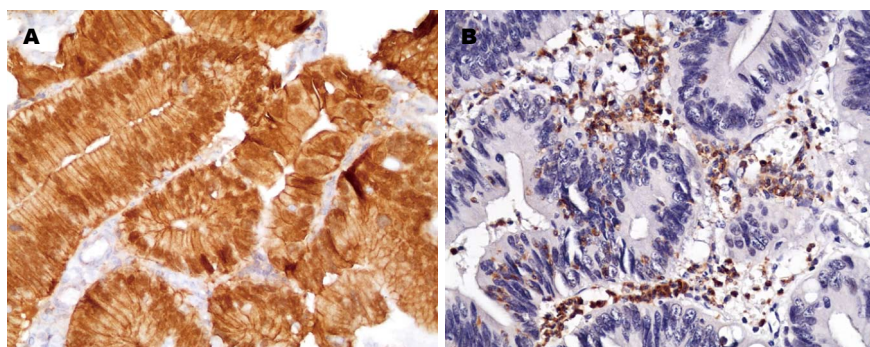


图 2 β-catenin胞核表达的腺瘤间质中IL-17A呈高表达(×400)。A: β-catenin呈胞核表达的腺瘤组织; B: 该腺瘤间质中IL-17A呈高表达。

■创新盘点
 本文重点关注肿瘤间质中IL-17A在结肠腺瘤及结肠癌中的表达情况, 并关注其与各项临床病理指标以及血管生成、细胞增殖及β-catenin表达状态之间的关系, 有助于初步揭示IL-17A在腺瘤癌变过程中的可能作用。

表 2 IL-17A在结肠癌中的表达情况及其临床病理意义

项目	数量	IL-17A计数	P值
部位	53	21.6 ± 14.4	>0.05
右半结肠	13	20.89 ± 11.08	
左半结肠及直肠	40	21.84 ± 15.46	
临床分期			>0.05
Duke's B	6	11.87 ± 10.75	
Duke's C	34	23.07 ± 14.34	
Duke's D	13	22.26 ± 15.27	
分化程度			>0.05
低分化	14	24.04 ± 14.32	
中-高分化	39	20.73 ± 14.53	
淋巴结转移			>0.05
有	17	22.56 ± 15.47	
无	36	21.15 ± 14.09	
Ki-67			>0.05
阳性	43	23.17 ± 14.63	
阴性	10	14.88 ± 11.85	

型增生23例, IL-17阳性细胞计数 18.98 ± 11.76 , 高表达率56.5%; 重度异型增生13例, IL-17A阳性细胞计数 29.62 ± 26.77 , 高表达率61.5%。IL-17A的表达与腺瘤组织学类型、MVD、部位、大小、颜色、形态、是否多发以及患者是否伴发结肠癌均不相关($P > 0.05$), 重度异型增生的腺瘤组织中IL-17A的表达明显高于轻度和中度异型增生的腺瘤组织, 但差异没有统计学意义。β-catenin胞核表达的结直肠腺瘤组织中IL-17A计数(29.11 ± 6.16)明显高于胞浆(16.95 ± 7.99)及胞膜(15.10 ± 11.46)表达的结直肠腺瘤(P 值分别为0.038与0.021, 图2, 表3), 相关性分析显示IL-17A的表达强度与β-catenin的表达部位显著相关($P = 0.002$, 表4)。

3 讨论

IL-17A是由Th17细胞产生的一种细胞因子, 主要通过与上皮细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞等多种细胞表面的IL-17受体结合而发挥作用, 可诱导多种促炎细胞因子及趋化因子的释放, 参与多种慢性炎症的发生与维持过程^[3]。研究表明卵巢癌^[6]、胃癌^[7]、肺癌^[8]、乳腺癌^[9]、前列腺癌^[10]、肝癌^[11]等多种肿瘤组织中IL-17A表达也均有增加, 但其在肿瘤发生发展过程中的确切作用机制仍不十分清楚^[12,13]。有研究发现IL-17A可调节IL-6及STAT3通路^[14]以及基质金属蛋白酶7(matrix metalloproteinase 7, MMP7)^[15], 还可通过血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)促进肿瘤新生血管的形成^[5,16], 可通过影响肿瘤微环境而促进肿瘤生长, 可能主要起到促肿瘤作用; 但也有研究提出IL-17可能具有抗肿瘤免疫作用^[17], 还有研究将肿瘤细胞注入IL-17^{-/-}小鼠体内后肿瘤生长较野生型小鼠加快且肿瘤转移增加^[18]。有人提出IL-17A在不同微环境背景及肿瘤不同生长阶段时可能具有促肿瘤生长或抑制肿瘤生长的不同作用^[12,13]。

IL-17A: 白介素17A。

病理意义: 结直肠癌53例, IL-17A阳性表达的单个核细胞计数为 21.6 ± 14.4 ; MVD为 34.18 ± 7.35 ; Ki-67阳性(>50%)43例。IL-17A的表达与结肠癌的部位、分化程度、Dukes分期以及Ki-67的表达均不相关(表2), IL-17A的表达强度与MVD不相关($P > 0.05$)。

IL-17A在结直肠腺瘤中的表达情况及其临床病理意义: 结直肠腺瘤48例, IL-17A阳性表达的单个核细胞计数为 20.42 ± 17.16 , MVD为 21.92 ± 5.36 ; 其中管状腺瘤15例, IL-17A阳性细胞计数为 15.64 ± 11.00 , 高表达率40.0%; 绒毛管状腺瘤30例, 单个核细胞计数为 23.13 ± 19.75 , 高表达率50.0%; 锯齿状腺瘤3例, 单个核细胞计数为 17.20 ± 10.76 , 高表达者1例。管状腺瘤与绒毛管状腺瘤中, 轻度异型增生9例, IL-17A阳性细胞计数 11.87 ± 3.96 , 高表达率33.3%, 中度异

■应用要点

本文发现炎症性细胞因子IL-17A在结直肠腺瘤中的表达可能与促进β-catenin的胞核转位表达有关,对于IL-17A在腺瘤癌变过程中Wnt/β-catenin通路中的作用有必要进行进一步研究.

表 3 IL-17A在结肠腺瘤中的表达情况及其临床病理意义

项目	数量	IL-17A计数	高表达率(%)	P值
部位	48	20.42 ± 17.16	45.8	>0.05
右半结肠	12	23.37 ± 28.05		
左半结肠及直肠	36	19.43 ± 12.00		
颜色				>0.05
色红	18	21.9 ± 12.6		
色同周围	30	19.53 ± 19.54		
大小(cm)				>0.05
≥1	14	24.04 ± 14.32		
<1	39	20.73 ± 14.53		
形态				>0.05
分叶	26	21.28 ± 20.57		
不分叶	22	19.4 ± 12.38		
是否多发				>0.05
多发	27	22.72 ± 19.89		
单发	21	17.46 ± 12.67		
患者是否伴发结直肠癌				>0.05
是	8	22.82 ± 17.47		
否	40	19.94 ± 17.28		
组织学类型				>0.05
管状	15	15.64 ± 11.00	40.0	
绒毛管状	30	23.13 ± 19.75	50.0	
锯齿状	3	17.20 ± 10.76	33.3	
异型增生程度 ¹				>0.05
轻度	9	11.87 ± 3.96	33.3	
中度	23	18.98 ± 11.76	56.5	
重度	13	29.65 ± 26.73	61.5	
β-catenin表达				<0.05
胞膜	13	15.10 ± 11.46 ^a	23.1	
胞浆	16	16.95 ± 7.99 ^a	37.5	
胞核	16	29.11 ± 6.16	75.0	

¹对不同异型增生程度及β-catenin表达进行比较时剔除了3例锯齿状腺瘤。^aP<0.05 vs 胞核。IL-17A: 白介素17A。

动物实验及临床研究均证实IL-17在炎症性肠病中表达增高^[19,20],而炎症性肠病患者合并结肠炎相关性结肠癌明显增多^[21],另外,IL-17A敲除的小鼠中结肠炎相关结肠癌中明显减轻,这些均提示IL-17可能参与炎症-异型增生-结肠癌途径^[22]。而近年来的研究提示IL-17A在散发性结直肠癌的结肠腺瘤-腺癌癌变途径中可能同样具有重要的作用^[4,23],动物实验表明,在肠内多发新生物(multiple intestinal neoplasia, Min)小鼠(体内*Apc*基因为杂合子)中进一步敲除IL-17A后结肠内肿瘤的形成明显减少^[24];而采用肠中毒性脆弱拟杆菌(*enterotoxigenic bacteroides fragilis*, *ETBF*)诱导IL-17A生成后Min小鼠的结肠肿瘤明

显增加^[25]。临床研究也证实IL-17A在结肠癌患者的血清与结肠癌组织中均存在高表达^[4,5,26,27]。这些结果均提示IL-17A在结直肠癌的发生和发展过程中起到了重要作用,但其确切机制,尤其是在散发性结直肠癌中的作用仍不清楚^[23]。

在本研究中,我们首先证实了IL-17A在散发性结直肠癌组织中存在高表达。温玉婷等报道IL-17A在结肠癌组织的肿瘤细胞及固有层的单个核细胞内表达均有明显升高^[28],但一般认为IL-17A主要表达于结肠黏膜的固有层中,在上皮组织内也可有部分上皮内淋巴细胞散在表达^[4],由于IL-17A在肿瘤间质中的表达可能更能体现其在肿瘤微环境中的作用,我们在本研究中

表 4 IL-17A表达强度与 β -catenin表达位置的相关性

IL-17A表达强度	β -catenin表达位置		
	胞膜表达	胞浆表达	胞核表达
总数	13	16	16
高表达	3	6	9
一般表达	10	10	7

Spearman相关分析显示IL-17A表达强度与 β -catenin表达位置相关($P = 0.002$)。IL-17A: 白介素17A。

选取肿瘤间质内IL-17A阳性的单个核细胞的表达计数作为IL-17A表达强度的评判标准。此前有研究提示结肠癌组织中IL-17A的表达水平与结肠癌的预后相关^[5], 我们对IL-17A表达的病理意义也进行了评价, 但没有发现IL-17A与各临床病理指标的相关性, 这一点与Cui等^[4]的研究结果类似。一些研究提出IL-17A具有促进血管生成以及肿瘤细胞生长的作用^[5,16], 但我们的研究未能证实IL-17A表达与MVD及Ki-67之间的相关性, 这一结果可能与我们的样本量相对不足有关。其次, 本研究证实了结直肠腺瘤组织中IL-17A的高表达, 这一结果与Cui等相符^[4]。Cui等还发现重度异型增生的腺瘤组织中IL-17A表达水平明显高于轻度和中度异型增生的腺瘤^[4], 而我们的研究中, 重度异型增生的腺瘤中IL-17A的表达也明显高于轻中度异型增生的腺瘤, 但差异没有统计学意义, 这可能与Cui等所用的PCR方法较我们所使用的免疫组织化学方法更为精确有关。IL-17A在结肠腺瘤癌变中所起作用尚不清楚^[23], 此前有研究发现Foxp3和IL-17阳性的T细胞具有诱导结肠癌肿瘤干细胞的作用^[29]。我们也对IL-17A在腺瘤癌变中可能的作用进行了初步探讨, 评价了IL-17A的表达强度与腺瘤中MVD及 β -catenin表达状态之间的相关性。与结直肠癌组织中的结果相同, 我们未能证实IL-17A与MVD的相关性。Wnt/ β -catenin是参与结肠腺瘤癌变的关键通路之一, β -catenin是细胞间粘着连接的主要结构成分, 正常情况下主要表达于胞膜, Wnt/ β -catenin通路的突变可导致 β -catenin出现胞浆及胞核内的异位表达, 核内的 β -catenin表达水平是Wnt信号通路激活或结直肠癌启动细胞的重要标志^[30]。 β -catenin的异位表达是腺瘤癌变途径中的关键事件之一^[21]。最近的研究表明, β -catenin的核内表达可能较胞浆表达更具意义。Brand等^[31]发现结肠腺瘤中

β -catenin的核内表达与腺瘤切除后的复发相关; 而Chen等^[30]的一项荟萃分析也发现结肠癌患者肿瘤组织内 β -catenin的核内表达与患者预后相关, 而胞浆表达则不相关。我们在本研究中发现, β -catenin核内表达的腺瘤组织中IL-17A阳性细胞的数量明显高于胞浆和胞膜表达的组织, 相关性分析显示IL-17A的表达强度与 β -catenin的核内表达显著相关($P = 0.002$)。研究表明, 抗炎药物5-氨基水杨酸可通过抑炎作用抑制慢性溃疡性结肠炎患者肠上皮中的 β -catenin激活^[32]; 分泌IL-17A的T辅助细胞17(Th17)上游的模式识别受体Toll样受体-4也可通过激活小鼠肠上皮内的 β -catenin而导致肠道肿瘤^[33], 还有研究显示IL-1 β 可显著增加大鼠正常肠道来源的IEC-18细胞系中 β -catenin的表达水平^[34], 这些结果均提示炎症及炎症细胞因子可能具有影响 β -catenin表达的作用, 因此, 有理由推测IL-17A可能起到了促进 β -catenin胞核转位的作用。

总之, 本研究通过免疫组织化学方法证实了IL-17A在结直肠腺瘤及腺瘤中表达的增加, 并发现IL-17A有可能影响 β -catenin的胞核转位, 这一结果提示IL-17A可能在结肠腺瘤癌变的过程中发挥重要作用, 有必要对IL-17A在结肠腺瘤癌变过程中的作用进行更多的研究。

4 参考文献

- 1 Quante M, Varga J, Wang TC, Greten FR. The gastrointestinal tumor microenvironment. *Gastroenterology* 2013; 145: 63-78 [PMID: 23583733 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.03.052]
- 2 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
- 3 Liu JZ, Pezeshki M, Raffatellu M. Th17 cytokines and host-pathogen interactions at the mucosa: dichotomies of help and harm. *Cytokine* 2009; 48: 156-160 [PMID: 19665391 DOI: 10.1016/j.cyto.2009.07.005]
- 4 Cui G, Yuan A, Goll R, Florholmen J. IL-17A in the tumor microenvironment of the human colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47: 1304-1312 [PMID: 22989213 DOI: 10.3109/00365521.2012.725089]
- 5 Liu J, Duan Y, Cheng X, Chen X, Xie W, Long H, Lin Z, Zhu B. IL-17 is associated with poor prognosis and promotes angiogenesis via stimulating VEGF production of cancer cells in colorectal carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 407: 348-354 [PMID: 21396350 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.03.021]
- 6 Chen JG, Xia JC, Liang XT, Pan K, Wang W, Lv L, Zhao JJ, Wang QJ, Li YQ, Chen SP, He J, Huang LX, Ke ML, Chen YB, Ma HQ, Zeng ZW, Zhou ZW, Chang AE, Li Q. Intratumoral expression of IL-17 and its prognostic role in gastric adenocarci-

■同行评价
本文具有一定指导意义。

- nomia patients. *Int J Biol Sci* 2011; 7: 53-60 [PMID: 21234303]
- 7 Kato T, Furumoto H, Ogura T, Onishi Y, Irahara M, Yamano S, Kamada M, Aono T. Expression of IL-17 mRNA in ovarian cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 282: 735-738 [PMID: 11401524 DOI: 10.1006/bbrc.2001.4618]
 - 8 Li Y, Cao ZY, Sun B, Wang GY, Fu Z, Liu YM, Kong QF, Wang JH, Zhang Y, Xu XY, Li HL. Effects of IL-17A on the occurrence of lung adenocarcinoma. *Cancer Biol Ther* 2011; 12: 610-616 [PMID: 21785272 DOI: 10.4161/cbt.12.7.16302]
 - 9 Chen WC, Lai YH, Chen HY, Guo HR, Su IJ, Chen HH. Interleukin-17-producing cell infiltration in the breast cancer tumour microenvironment is a poor prognostic factor. *Histopathology* 2013; 63: 225-233 [PMID: 23738752 DOI: 10.1111/his.12156]
 - 10 Sfanos KS, Bruno TC, Maris CH, Xu L, Thoburn CJ, DeMarzo AM, Meeker AK, Isaacs WB, Drake CG. Phenotypic analysis of prostate-infiltrating lymphocytes reveals TH17 and Treg skewing. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 3254-3261 [PMID: 18519750 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5164]
 - 11 Zhang JP, Yan J, Xu J, Pang XH, Chen MS, Li L, Wu C, Li SP, Zheng L. Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *J Hepatol* 2009; 50: 980-989 [PMID: 19329213 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.12.033]
 - 12 Murugaiyan G, Saha B. Protumor vs antitumor functions of IL-17. *J Immunol* 2009; 183: 4169-4175 [PMID: 19767566 DOI: 10.4049/jimmunol]
 - 13 Hemdan NY. Anti-cancer versus cancer-promoting effects of the interleukin-17-producing T helper cells. *Immunol Lett* 2013; 149: 123-133 [PMID: 23159638 DOI: 10.1016/j.imlet.2012.11.002]
 - 14 Su X, Ye J, Hsueh EC, Zhang Y, Hoft DF, Peng G. Tumor microenvironments direct the recruitment and expansion of human Th17 cells. *J Immunol* 2010; 184: 1630-1641 [PMID: 20026736 DOI: 10.4049/jimmunol.0902813]
 - 15 Zhang Q, Liu S, Ge D, Zhang Q, Xue Y, Xiong Z, Abdel-Mageed AB, Myers L, Hill SM, Rowan BG, Sartor O, Melamed J, Chen Z, You Z. Interleukin-17 promotes formation and growth of prostate adenocarcinoma in mouse models. *Cancer Res* 2012; 72: 2589-2599 [PMID: 22461511 DOI: 10.1182/blood.V99.6.2114]
 - 16 Numasaki M, Watanabe M, Suzuki T, Takahashi H, Nakamura A, McAllister F, Hishinuma T, Goto J, Lotze MT, Kolls JK, Sasaki H. IL-17 enhances the net angiogenic activity and in vivo growth of human non-small cell lung cancer in SCID mice through promoting CXCR-2-dependent angiogenesis. *J Immunol* 2005; 175: 6177-6189 [PMID: 16237115]
 - 17 Benchetrit F, Ciree A, Vives V, Warnier G, Gey A, Sautès-Fridman C, Fossiez F, Haicheur N, Fridman WH, Tartour E. Interleukin-17 inhibits tumor cell growth by means of a T-cell-dependent mechanism. *Blood* 2002; 99: 2114-2121 [PMID: 11877287 DOI: 10.1182/blood.V99.6.2114]
 - 18 Kryczek I, Wei S, Szeliga W, Vatan L, Zou W. Endogenous IL-17 contributes to reduced tumor growth and metastasis. *Blood* 2009; 114: 357-359 [PMID: 19289853 DOI: 10.1182/blood-2008-09-177360]
 - 19 Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003; 52: 65-70 [PMID: 12477762 DOI: 10.1136/gut.52.1.65]
 - 20 刘揆亮, 吕愈敏, 顾芳. 白介素17在三硝基苯磺酸诱导结肠炎小鼠结肠内的表达及益生菌的作用. *胃肠病学和肝病学杂志* 2011; 20: 363-366, 370
 - 21 Terzić J, Grivennikov S, Karin E, Karin M. Inflammation and colon cancer. *Gastroenterology* 2010; 138: 2101-2114. e5 [PMID: 20420949 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.01.058]
 - 22 Hyun YS, Han DS, Lee AR, Eun CS, Youn J, Kim HY. Role of IL-17A in the development of colitis-associated cancer. *Carcinogenesis* 2012; 33: 931-936 [PMID: 22354874 DOI: 10.1093/carcin/bgs106]
 - 23 Shi Y, Lin H, Cui J, Qi H, Florholmen J, Liu Z, Cui G. The Role of Interleukin-17A in Colorectal Tumorigenesis. *Cancer Biother Radiopharm* 2013; 28: 429-432 [PMID: 23701420]
 - 24 Chae WJ, Gibson TF, Zelterman D, Hao L, Henegariu O, Bothwell AL. Ablation of IL-17A abrogates progression of spontaneous intestinal tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 5540-5544 [PMID: 20212110 DOI: 10.1073/pnas.0912675107]
 - 25 Wu S, Rhee KJ, Albesiano E, Rabizadeh S, Wu X, Yen HR, Huso DL, Brancati FL, Wick E, McAllister F, Housseau F, Pardoll DM, Sears CL. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med* 2009; 15: 1016-1022 [PMID: 19701202 DOI: 10.1038/nm.2015]
 - 26 Radosavljevic G, Ljujic B, Jovanovic I, Srzentic Z, Pavlovic S, Zdravkovic N, Milovanovic M, Bankovic D, Knezevic M, Acimovic LJ, Arsenijevic N. Interleukin-17 may be a valuable serum tumor marker in patients with colorectal carcinoma. *Neoplasma* 2010; 57: 135-144 [PMID: 20099977 DOI: 10.4149/neo_2010_02_135]
 - 27 Wägsäter D, Löfgren S, Hugander A, Dimberg J. Expression of interleukin-17 in human colorectal cancer. *Anticancer Res* 2006; 26: 4213-4216 [PMID: 17201135]
 - 28 温玉婷, 刘伟, 杨爱军, 王晨昱, 李敏, 王金穗. IL-17和STAT3在结直肠癌组织中的表达及临床意义. *第三军医大学学报* 2011; 33: 1812-1815
 - 29 Yang S, Wang B, Guan C, Wu B, Cai C, Wang M, Zhang B, Liu T, Yang P. Foxp3+IL-17+ T cells promote development of cancer-initiating cells in colorectal cancer. *J Leukoc Biol* 2011; 89: 85-91 [PMID: 20952660 DOI: 10.1189/jlb.0910506]
 - 30 Chen Z, He X, Jia M, Liu Y, Qu D, Wu D, Wu P, Ni C, Zhang Z, Ye J, Xu J, Huang J. β -catenin overexpression in the nucleus predicts progress disease and unfavourable survival in colorectal cancer: a meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8: e63854 [PMID: 23717499 DOI: 10.1371/journal.pone.0063854]
 - 31 Brand L, Munding J, Pox CP, Ziebarth W, Reiser M, Hüppe D, Schmiegel W, Reinacher-Schick A, Tannapfel A. β -catenin, Cox-2 and p53 immunostaining in colorectal adenomas to predict recurrence after endoscopic polypectomy. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 1091-1098 [PMID: 23516071]
 - 32 Munding J, Ziebarth W, Pox CP, Ladigan S, Reiser M, Hüppe D, Brand L, Schmiegel W, Tannapfel A, Reinacher-Schick AC. The influence of 5-aminosalicylic acid on the progression of colorectal adenomas via the β -catenin signaling pathway. *Carcinogenesis* 2012; 33: 637-643 [PMID: 22198215 DOI: 10.1093/carcin/bgr306]

- 33 Santaolalla R, Sussman DA, Ruiz JR, Davies JM, Pastorini C, España CL, Sotolongo J, Burlingame O, Bejarano PA, Philip S, Ahmed MM, Ko J, Dirisina R, Barrett TA, Shang L, Lira SA, Fukata M, Abreu MT. TLR4 activates the β -catenin pathway to cause intestinal neoplasia. *PLoS One* 2013; 8: e63298 [PMID: 23691015 DOI: 10.1371/journal.pone.0063298]
- 34 Wang L, Liu Z, Li Y, Pappan L, Galliher-Beckley A, Shi J. Pro-inflammatory cytokine interleukin-1 β promotes the development of intestinal stem cells. *Inflamm Res* 2012; 61: 1085-1092 [PMID: 22706317 DOI: 10.1007/s00011-012-0501-3]

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、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)。

功能性消化不良患者近端胃适应性功能检测技术的研究进展

徐茜茜, 张艳丽, 姚树坤

■背景资料

近端胃适应性受损被认为是功能性消化不良的重要病理生理机制之一, 他的评价方法已受到广泛的关注. 金标准恒压器技术因其有侵入性不适宜临床应用, 因此, 急需发展一些简便无创且能准确评价近端胃适应性的方法, 便于功能性胃肠病的诊治.

徐茜茜, 张艳丽, 姚树坤, 北京中日友好医院消化内科 北京市 100029

徐茜茜, 在读博士, 主要从事功能性胃肠病学的相关研究.

作者贡献分布: 徐茜茜完成论文写作; 张艳丽指导; 姚树坤审核.
通讯作者: 姚树坤, 教授, 主任医师, 100029, 北京市朝阳区樱花东街2号, 中日友好医院消化内科. yaoshukun6@yahoo.com.cn
电话: 010-64222978

收稿日期: 2013-05-12 修回日期: 2013-06-10

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-09-08

Progress in measurements of proximal gastric accommodation in patients with functional dyspepsia

Qian-Qian Xu, Yan-Li Zhang, Shu-Kun Yao

Qian-Qian Xu, Yan-Li Zhang, Shu-Kun Yao, Department of Gastroenterology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

Correspondence to: Shu-Kun Yao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, China-Japan Friendship Hospital, 2 Yinghua East Street, Chaoyang District, Beijing 100029, China. yaoshukun6@yahoo.com.cn

Received: 2013-05-12 Revised: 2013-06-10

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-09-08

Abstract

Since gastric accommodation is an important parameter for investigating the pathophysiology of functional dyspepsia, the measurement of gastric accommodation has aroused widespread interests. Gastric barostat remains the gold standard, but it needs intubation and is invasive. In recent years, emerging modalities including single photon emission computed tomography (SPECT), three-dimensional ultrasound and magnetic resonance imaging have been developed to measure gastric volumes accurately and non-invasively; however, these technologies are sophisticated and expensive, which limits their clinical application. The satiety drinking test is simple and non-invasive and is often used in clinical and research studies, but the differences in the types of meals and the drinking speed among different studies often cause differences in the evaluation of gastric accommodation. The

aim of this review is to summarize the advantages and disadvantages of various measurements of gastric accommodation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric accommodation; Gastric barostat; Ultrasound; Single photon emission computed tomography; Magnetic resonance imaging; Liquid nutrient load test

Xu QQ, Zhang YL, Yao SK. Progress in measurements of proximal gastric accommodation in patients with functional dyspepsia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2530-2536 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2530.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2530>

摘要

近端胃适应性受损作为功能性消化不良的重要病理生理机制之一, 他的评价方法已受到广泛的关注. 胃适应性的金标准方法是恒压器技术, 但该方法需要插管, 为侵入性检查. 近几年, 一些新方法如单光子发射计算机断层显像技术、三维超声及核磁共振成像等能够比较准确评估胃的适应性, 但其操作技术复杂且价格昂贵, 限制了临床应用. 目前临床研究应用较多的饱感负荷试验, 是一种简单无创的方法, 该方法因试餐种类、饮入速度等差异, 对胃适应性的评价有所不同. 本文总结和分析了各种胃适应性检测方法的优缺点, 便于临床和研究中更好地评价功能性消化不良患者的近端胃适应性功能.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃适应性; 恒压器; 超声检查; 单光子发射计算机断层成像术; 核磁共振成像; 液体营养试餐试验

核心提示: 近端胃适应性受损是功能性消化不良重要的病理生理机制之一, 他的评价方法对于更好地诊治疾病有重要意义. 本文全面地总结和分析了各种胃适应性检测方法的优缺点, 尤其是对

■同行评议者

唐世刚, 教授, 湖南省人民医院

液体试餐试验从试餐种类、饮入速度、饮入方式等各个方面进行了探讨分析, 对临床应用和研究有重要的指导意义。

徐茜茜, 张艳丽, 姚树坤. 功能性消化不良患者近端胃适应性功能检测技术的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2530-2536 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2530.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2530>

0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是一种常见的上消化道功能性疾病, 是指存在一种或多种起源于胃十二指肠区域的消化不良症状, 并且缺乏能解释这些症状的任何器质性、系统性或代谢性疾病^[1]. FD的发病机制可能涉及: 胃排空延迟、内脏高敏感性、胃容受性受损、幽门螺杆菌感染、十二指肠空肠运动异常、中枢神经系统功能紊乱、精神心理因素等多个方面^[2]. 近年来, 越来越多的研究发现近端胃适应性受损是FD重要的病理生理机制, 并与症状有一定的相关性。

近端胃作为一个功能性概念, 解剖学上包括胃底和胃体近端的1/3, 起适应性调节的功能. 目前临床和研究中评价近端胃适应性功能的检测方法很多, 本文目的就是全面总结分析各种检测技术的优缺点, 为其更好地应用在FD患者近端胃适应性功能评价的临床研究中。

1 近端胃适应性功能与FD

胃的适应性反射是餐后由迷走神经介导的, 摄入食物导致胃张力的减低和顺应性的增加, 在不增加胃内压的基础上增加胃容积, 进而为食物在近端胃的储存提供足够的容量^[3]. 近端胃的适应性调节包括容受性舒张和适应性舒张. 前者指吞咽动作引起近端胃张力降低, 这种反射不要求食物进入胃, 干咽和机械刺激咽部、食管均可引起, 是由咽部和食管的机械感受器触发^[4]; 而适应性舒张为迷走-迷走反射, 指近端胃对于胃扩张的反射性舒张(胃窦-胃底反射), 由胃壁的机械受体介导, 能够调节胃壁对特殊营养物质产生的张力^[5].

近端胃胃适应性受损与上消化道的多种症状有关, 包括早饱、腹胀、上腹痛、体质量下降、恶心等; 其也与多种疾病相关, 如: 功能性消化不良^[6,7]、糖尿病胃轻瘫^[8]、反刍综合征^[9]、胃底折叠术后^[10]、迷走神经切断术及部分胃切除术后^[11]、慢传输型便秘和肠易激综合征等. 有研

究显示近端胃适应性受损可能存在于40%的FD患者, 并且与FD的多种症状有一定相关性, 如早饱、腹胀、上腹痛、恶心和体质量下降等^[12].

2 近端胃适应性功能检测方法的评价及应用

目前关于胃适应性的检测方法主要有两大类: 侵入性方法以电子恒压器技术为金标准; 非侵入性方法包括影像学方法(超声、核磁共振、单光子发射计算机断层显像技术)和液体营养餐负荷实验等。

2.1 电子恒压器检测技术(electrical barostat) 电子恒压器通过测定恒压状态下气囊内气体量, 反映近端胃容积, 从而评估近端胃敏感性与适应性. 该技术是目前唯一可同时测定胃内压与容量的方法, 被认为是反映近端胃功能、检验其他检测方法有效性的“金标准”. Tack等^[12]应用恒压器评价胃敏感性和容受性的研究发现: 与健康对照相比, FD患者胃容受功能下降, 其中40%的FD患者存在胃适应性受损, 32%的FD患者存在胃高敏感性, 并且胃适应性受损与早饱症状密切相关。

为了证明这个方法是可靠的, Tack还分别在健康人和消化不良的患者中验证了恒压器检测的可重复性^[13]. 结果显示恒压器测定的胃容受性在消化不良患者和健康人中有很好的重复性($R = 0.71$ 和 0.74).

恒压器也被广泛应用于药理学试验的研究中, 如有研究证明5-HT₁受体激动剂舒马曲坦(sumatriptan)能够增加FD患者试餐诱发的胃松弛, 改善早饱症状; 而NOS抑制剂L-NMMA(L-单甲基精氨酸)则损害胃的适应性舒张功能^[14].

恒压器技术的不足之处有: (1)检查需要插入带气囊的导管, 受试者不易接受, 且易产生急性应激反应, 影响内脏敏感性评价^[15,16]; (2)恒压器反映的是空腹状态时的胃部感觉, 而多数FD患者的消化不良症状与进食相关^[17]; 恒压器检查不够符合生理进食情况, 如该检查为机械扩张刺激, 而进食过程除了消化系的机械刺激, 还有化学性质的协同刺激^[18]; 该检查中近端胃局部扩张刺激, 不能代替食物对食管和胃的多处协同刺激^[19,20]; (3)恒压器对近端胃的直接刺激会改变试餐在胃内的分布, 进而导致胃窦的过度松弛, 可能夸大胃容受性^[21,22].

以上均说明恒压器检测不够符合生理情况, 加之有创耗时也不易于为患者接受, 不利于作为常规的临床应用。

■ 研发前沿

目前三维超声、SPECT、MRI等用三维重建测量胃容量进而评估胃容受性的方法成为研究热点, 但这些方法操作复杂、价格昂贵, 很难在临床中广泛应用. 液体负荷试验是简便无创的方法, 但需对液体试餐的种类、饮入速度、饮入方式等方面进行统一, 以便用于大规模的临床研究中。

■相关报道

最近Akihito Iida关于慢速饮入实验评估胃感觉和容受性的研究得出: Barostat气囊内压力导致的严重的不适感与饮水试验引起的最大饱感呈正相关; Barostat测得的胃容受性与饮水试验引起饱胀感的阈值饮入量呈正相关; 且与安慰剂相比, 莫沙必利能够增加引起初始饱胀感容量。

2.2 经腹部的超声研究(transabdominal ultrasound studies) 超声技术已被广泛应用于近端胃适应性的研究中, 目前主要有二维超声(2D ultrasonography, 2DUS)和三维超声(3D ultrasonography, 3DUS)两种方法. Gilja等^[23]首次应用2DUS方法, 测量近端胃面积, 评价餐后近端胃适应性变化, 并提出2DUS在餐后20 min诊断胃容受性受损的敏感性约70%, 特异性约65%. 国内学者黄旭群等^[24]也进行了相关研究, 发现FD患者试餐后近端胃容积明显小于对照组, 48.4%的患者近端胃舒张功能受损, 且FD患者不仅舒张容积减少, 同时舒张持续时间缩短。

3DUS通过创建胃的三维影像, 能够清楚显示全胃图像, 精确测量胃容积, 成为评价近端胃适应性的一种新方法, 已受到广泛地关注^[25,26]. 近期Mundt等^[27]比较3DUS和恒压器对FD患者近端胃适应性评价的一致性, 结果显示三维超声测得的餐后5 min的近端胃容积与恒压器测定值有良好的相关性($r = 0.55, P = 0.002$), 恒压器测得的胃容受性受损的患者占46%, 而3DUS测得的患者占67%, 某些3DUS显示近端胃适应性异常的FD患者并未被恒压器方法发现。

国内应用液体营养餐负荷试验(liquid nutrient load test, LNLTL)分别结合2DUS和3DUS的方法, 评价FD患者与健康对照组的近端胃适应性功能^[28], 结果显示3DUS测量的最大饱感时近端胃容积较2DUS更为准确。

2DUS的成本低、无侵入性和辐射, 使用方便, 故其临床应用广泛; 3DUS检测法分辨率高, 可以更准确地测量胃容积, 也可以对胃排空^[29]、胃窦的运动功能、经幽门的流率及胃的容受性^[30]进行评估。而超声检测的难点主要集中在胃部气体和解剖结构(肋缘)的干扰方面, 故需要接受过专业培训和经验丰富的技术人员才能操作。此外, 胃窦位置较高、检测时胃内气体较多或过于肥胖的患者也不适用该方法。

2.3 核磁共振成像 核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)一种可测量空腹和餐后胃容量的非侵入性方法。受试者在进食标记钆(Gd)的试餐后进行MRI扫描, 采用“自旋回波T1加权成像序列”进行胃区成像及三维重建, 通过测量空腹和餐后胃容积的比值来反映胃容受性。MRI方法也可被用于研究胃内食物或药物分布和胃排空^[31,32]。

de Zwart等^[33]采用MRI及恒压器技术两种方

法测量受试者空腹胃容积, 结果显示MRI测得的空腹胃体积与恒压器测得的结果有很好的相关性。Fidler等^[34]采用MRI和SPECT测量健康志愿者的空腹及餐后胃容量, 结果显示MRI测量胃容量的方法重复性好, 单光子发射计算机断层显像技术(single-photon emission computed tomography, SPECT)测得的胃容量较MRI稍大。考虑主要是因为两种方法测胃容量的原理不同, 故MRI测量胃容积是可行且有效的。

MRI方法无辐射、安全性和准确性高, 并且能够在一次试验中评价胃的多种功能特性, 如胃容积、胃排空、胃内食物的分布和分泌功能等。但其成像要求的体位为仰卧位, 对于需要重力参与的液体胃排空评价可能存在偏差, 在成像过程中受试者需屏气以减少运动造成的虚像。且该方法费用昂贵, MRI数据处理需要特殊软件和特殊专业分析人员, 故很难广泛应用于临床。

2.4 单光子发射计算机断层显像技术 SPECT检测胃容积的原理是胃的壁细胞和非壁细胞均能够从血液循环中吸收和分泌^{99m}Tc放射性高锝酸钠^[35], 静脉注射10-20 m Ci的放射性高得酸钠后, 用 γ 相机进行轴平面断层成像, 进一步行数据的三维重建, 比较空腹和餐后的全胃容积, 从而评估胃容受性, 但不适合测量胃张力的改变及评估胃的感觉。

Kim等^[36]用SPECT测量FD患者和健康人的餐后与空腹胃容积比值, 结果显示41%的患者存在胃适应性受损, 而Tack等^[12]应用恒压器技术也得出类似的结果。也有国外学者Bouras等^[37]同时应用SPECT和恒压器测量胃容积, 发现SPECT测得的液体餐后胃容量与恒压器的测量值相关性好($P = 0.6, R^2 = 0.7$), 而且患者的近远端胃比值明显小于健康人。

Kuiken等^[3]的研究选了10个健康志愿者, 用SPECT测量空腹和餐后的胃容量, 结果显示平均空腹胃容量和平均餐后胃容量有显著差异, 观察者之间及观察者自身的变异系数在空腹及餐后均较小, 因此认为该技术具有可重复性。

国外很多研究已经显示SPECT方法评估胃容受性具有很好的可靠性和重复性^[38,39], 并且其非侵入性及较少影响胃的生理功能也是SPECT优于恒压器的两大特点。SPECT的主要不足之处在于使用放射性同位素, 有电离负荷暴露的风险。且SPECT成像花费较高, 不能单独测量胃的敏感性。另外与MRI相同, 其测量体位为卧位, 对

于受重力影响比较大的液体胃排空造成一定的影响。

2.5 液体营养餐负荷试验 不论是临床还是科研,对功能性胃肠病患者的研究,都应该采用对患者伤害最小的检测技术。因此,符合患者生理状态、敏感性高和可重复性好的LNLNT已发展为一种有潜力的非侵入性研究胃功能的方法。

LNLNT是由Tack等^[12]首先提出的,依据是假定胃适应性障碍导致胃容积受限,并通过最大摄入量反映出来。该方法简便易行、符合进食生理、无侵入性和临床实用价值高等优点,广泛应用于FD患者胃容受性评价的研究中。但目前该方法因试餐种类、饮入速度等差异,使得其对胃适应性的评价结果不尽相同。以下将对影响试验结果的不同因素逐一讨论。

2.5.1 液体试餐种类:目前常用的液体试餐有Nutridrink、肉汤、Ensure等。来自欧洲的研究多采用Nutridrink^[12,40],其热量密度为1.5 kcal/mL,其中碳水化合物48%,蛋白质13%,脂肪39%。而美国的学者多采用Ensure^[41],其热量密度为0.95 kcal/mL,其中碳水化合物65.6%,蛋白质17.2%,脂肪17.2%;此外还有肉汤(meat soup),热量密度为4 kcal/100 mL,其中碳水化合物27.5%,蛋白质45%,脂肪22.5%,其他不溶物质5%^[23]。

2.5.2 液体试餐饮入速度:饮入速度以慢速(15 mL/min)和快速(100 mL/min)最为常用。Tack等^[40]比较慢速饮入法与恒压器方法时发现两种方法有很好的相关性($r = 0.76, P < 0.001$),LNLNT评价近端胃适应性受损的灵敏度(92%)、特异度(86%)均较高。最近Iida等^[42]也同时应用Barostat和慢速LNLNT研究胃感觉和容受性功能,结果显示:受试者的最大耐受压力与最大饱足饮入量呈正相关($r = 0.60, P = 0.02$);Barostat测得的餐后胃容受性与饱胀感时饮入量呈正相关($r = 0.59, P = 0.03$)。

而Boeckxstaens等^[43]采用快速饮入法在健康对照和FD患者中均未发现最大摄入量与近端胃容受性和敏感性之间存在明确相关性。

Boeckxstaens认为慢速饮入试验受胃排空影响较多。但Tack认为胃调节反应是一种慢反射,在快速饮入试验中胃的调节反应未来得及充分发挥,尤其在FD患者中饮入时间更短,不适合用来评估食物诱导的胃适应性反应^[44]。且其另一项研究应用核素胃排空方法,观察了健康人慢速饮入Nutridrink后胃内液体试餐分布情况,发现

即使在LNLNT的后期仍有77%±4%的液体试餐存留于胃内,可见慢速饮入模式并不会受胃排空的明显影响^[45]。

Hjelland等^[46]的研究发现Nutridrink试餐富含脂肪,饮入过程中可能产生较饮入肉汤或纯水更多的不适症状,健康人和患者在快速引入时均难以饮入大量试餐,FD和健康人的胃容受能力差异可能不显著;而较慢的速度饮入时,受试者可以饮入更多的量,更适宜评价胃容受性。

国内学者^[47]比较健康人和FD患者的不同饮入模式时,结果提示慢速饮入法的阈值饮入量能较精确反映胃内脏感觉高敏,而快速模式的饱足饮入量可反映胃适应性调节。

2.5.3 液体试餐饮入方式:除了传统的经口饮入试餐,我国柯美云教授^[48]提出了灌注法液体试餐的饮入方法,即通过鼻胃管将液体营养餐直接灌注进胃内,并将营养液用不透明障碍物遮蔽,从而排除受试者精神心理因素对试验结果的影响,使最大饱足饮入量更可能真实地反映胃适应性。进一步的研究显示灌注法最大饱足饮入量与超声测量的近端胃容积明确相关。但由于P-NLT是通过鼻胃肠管直接向胃内灌注液体,不能提供进食状态时、多部位、多重性质的刺激方式,似乎不符合生理状态下的进食过程,其可靠性和有效性尚需进一步证实。

2.5.4 液体试餐联合胃内压方法:国内有学者^[49]认为胃容受性和敏感性异常均影响液体试餐的最大饮入量,单用最大饮入量改变表示胃容受性受损不合理,故提出LNLNT结合胃内压的方法区别胃容受性和敏感性。

张静等^[48]应用灌注法LNLNT结合胃内压测定的方法,结果显示:43.4%的FD患者胃感觉高敏,33.3%存在胃适应性障碍,而17.4%的患者同时存在胃感觉高敏和胃部适应性障碍,进一步说明LNLNT结合胃内压的方法能够较好地地区分胃感觉高敏和容受性障碍。但是由于胃内压检测并不稳定,尤其是在饮入液体试餐之后,且其并未与金标准恒压器方法进行比较,故其准确性有待证实。

总之,LNLNT方法因其无侵入性、简便易行、价格低廉、符合患者进食病理生理状态、易于被受试者接受等,显示其很好的临床实用价值。但LNLNT饮入量指标变异度较大,不可避免地受到受试者味觉、口味偏好、精神心理等方面的影响。而灌注法液体试餐试验及LNLNT联合

■ 创新盘点

本文系统地总结了当前近端胃适应性功能检测技术,并全面地阐述了不同方法的优缺点。尤其是对简便无创的液体试餐试验从试餐种类、饮入速度、饮入方式等各个方面进行了探讨,并进行了较为深入的分析,对临床应用和研究有较好的参考价值。

■应用要点

“金标准”恒压器技术因其侵入性难以广泛应用于临床,而三维超声、SPECT、MRI等虽然可用三维重建测量胃容量,但其操作复杂、价格昂贵,使其临床应用受到限制。液体负荷试验简便无创,但需对液体试餐的种类、饮入速度、饮入方式等方面进行统一,以便将来用于大规模的临床研究中,为功能性胃肠病的诊治带来新的曙光。

胃内压测定方法的可靠性及有效性尚需进一步证实。另外, LNL T方法尚缺乏统一的标准,如液体试餐种类、饮入速度等,这不利于相关研究结果之间的比较和借鉴。

3 结论

恒压器仍是研究近端胃敏感性及适应性功能的“金标准”,但因其侵入性和不符合患者的生理状态,目前急需发展能够替代他的非侵入性且受试者易于接受的方法。三维超声、SPECT、MRI等虽然可用三维重建测量胃容量进而评估胃容受性,但这些方法操作复杂、价格昂贵,很难在临床中广泛应用。液体负荷试验是简便无创的方法,受试者不可避免地会受到精神、心理、社会等因素的影响,主观性的判断缺乏统一的标准,势必会影响试验结果的准确性和客观性。而PNLT及液体负荷试验结合胃内压等方法的提出,改进了液体负荷试验的不足,但其有效性仍需与金标准恒压器方法比较后证实。且需对液体试餐的种类、饮入速度、饮入方式等方面进行统一,以便将来用于大规模的临床研究及药代动力学研究中,为功能性胃肠病的诊治带来新的曙光。

4 参考文献

- 1 德罗斯曼, 主编; 柯美云, 方秀才, 译. 罗马III: 功能性胃肠病. 北京: 科学出版社, 2008: 373-375
- 2 Tack J, Bisschops R, Sarnelli G. Pathophysiology and treatment of functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2004; 127: 1239-1255 [PMID: 15481001 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.05.030]
- 3 Kuiken SD, Samsom M, Camilleri M, Mullan BP, Burton DD, Kost LJ, Hardyman TJ, Brinkmann BH, O'Connor MK. Development of a test to measure gastric accommodation in humans. *Am J Physiol* 1999; 277: G1217-G1221 [PMID: 10600819]
- 4 Van den Berghe PD, Vos R, Janssens J, Tack J. Site of triggering of the accommodation reflex in man. *Gastroenterology* 2000; 114: A185 [DOI: 10.1016/S0016-5085(00)82816-4]
- 5 Schwizer W, Steingötter A, Fox M, Zur T, Thumshirn M, Bösigler P, Fried M. Non-invasive measurement of gastric accommodation in humans. *Gut* 2002; 51 Suppl 1: i59-i62 [PMID: 12077068 DOI: 10.1136/gut.51.suppl_1.i59]
- 6 Thumshirn M, Camilleri M, Saslow SB, Williams DE, Burton DD, Hanson RB. Gastric accommodation in non-ulcer dyspepsia and the roles of Helicobacter pylori infection and vagal function. *Gut* 1999; 44: 55-64 [PMID: 9862826 DOI: 10.1136/gut.44.1.55]
- 7 Thumshirn M. Pathophysiology of functional dyspepsia. *Gut* 2002; 51 (Suppl 1): i63-i66 [PMID 12077069 DOI: 10.1136/gut.51.suppl_1.i63]
- 8 Samsom M, Salet GA, Roelofs JM, Akkermans LM, Vanberge-Henegouwen GP, Smout AJ. Compliance of the proximal stomach and dyspeptic symptoms

in patients with type I diabetes mellitus. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 2037-2042 [PMID: 7555462 DOI: 10.1007/BF02208676]

- 9 Thumshirn M, Camilleri M, Hanson RB, Williams DE, Schei AJ, Kammer PP. Gastric mechanosensory and lower esophageal sphincter function in rumination syndrome. *Am J Physiol* 1998; 275: G314-G321 [PMID: 9688659]
- 10 Wijnhoven BP, Salet GA, Roelofs JM, Smout AJ, Akkermans LM, Gooszen HG. Function of the proximal stomach after Nissen fundoplication. *Br J Surg* 1998; 85: 267-271 [PMID: 9501833 DOI: 10.1046/j.1365-2168.1998.00505.x]
- 11 Azpiroz F, Malagelada JR. Gastric tone measured by an electronic barostat in health and postsurgical gastroparesis. *Gastroenterology* 1987; 92: 934-943 [PMID: 3556999]
- 12 Tack J, Piessevaux H, Coulie B, Caenepeel P, Janssens J. Role of impaired gastric accommodation to a meal in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 1998; 115: 1346-1352 [PMID: 9834261 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70012-5]
- 13 Sarnelli G, Vos R, Cuomo R, Janssens J, Tack J. Reproducibility of gastric barostat studies in healthy controls and in dyspeptic patients. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1047-1053 [PMID: 11316145 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.03520.x]
- 14 Tack J, Demedts I, Meulemans A, Schuurkes J, Janssens J. Role of nitric oxide in the gastric accommodation reflex and in meal induced satiety in humans. *Gut* 2002; 51: 219-224 [PMID: 12117883 DOI: 10.1136/gut.51.2.219]
- 15 Sun Y, Liu FL, Song GQ, Qian W, Hou XH. Effects of acute and chronic restraint stress on visceral sensitivity and neuroendocrine hormones in rats. *Chin J Dig Dis* 2006; 7: 149-155 [PMID: 16808795 DOI: 10.1111/j.1443-9573.2006.00260.x]
- 16 Fischler B, Tack J, De Gucht V, Shkedy ZI, Persoons P, Broekaert D, Molenberghs G, Janssens J. Heterogeneity of symptom pattern, psychosocial factors, and pathophysiological mechanisms in severe functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2003; 124: 903-910 [PMID: 12671886 DOI: 10.1053/gast.2003.50155]
- 17 Arts J, Caenepeel P, Verbeke K, Tack J. Influence of erythromycin on gastric emptying and meal related symptoms in functional dyspepsia with delayed gastric emptying. *Gut* 2005; 54: 455-460 [PMID: 15753526 DOI: 10.1136/gut.2003.035279]
- 18 Geeraerts B, Van Den Eynden J, Vermaelen P. Regional brain activation during gastric balloon distention and gastric nutrient infusion in healthy volunteers: A PET study. *Gastroenterology* 2005; 128 (Suppl 2): W1480
- 19 Kern MK, Lawal A, Sanjeevi A. Activation topography of the insula and cingulate gyrus during upper and lower gut sensory stimulation. *Gastroenterology* 2005; 128 (Suppl 2): W1482
- 20 Vandenberghe J, Dupont P, Fischler B, Bormans G, Persoons P, Janssens J, Tack J. Regional brain activation during proximal stomach distention in humans: A positron emission tomography study. *Gastroenterology* 2005; 128: 564-573 [PMID: 15765391 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.11.054]
- 21 Mundt MW, Hausken T, Samsom M. Effect of intragastric barostat bag on proximal and distal gastric accommodation in response to liquid meal. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283:

- G681-G686 [PMID: 12181183]
- 22 de Zwart IM, Haans JJ, Verbeek P, Eilers PH, de Roos A, Masclee AA. Gastric accommodation and motility are influenced by the barostat device: Assessment with magnetic resonance imaging. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G208-G214 [PMID: 16891299 DOI: 10.1152/ajp-gi.00151.2006]
- 23 Gilja OH, Hausken T, Wilhelmsen I, Berstad A. Impaired accommodation of proximal stomach to a meal in functional dyspepsia. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 689-696 [PMID: 8674389 DOI: 10.1007/BF02213124]
- 24 黄旭群, 许军英, 侯晓华. B超测定功能性消化不良患者近端胃容纳舒张功能. *实用医学杂志* 2006; 22: 888-890
- 25 Gilja OH, Hausken T, Odegaard S, Berstad A. Three-dimensional ultrasonography of the gastric antrum in patients with functional dyspepsia. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 847-855 [PMID: 8888430 DOI: 10.3109/00365529609051991]
- 26 Gilja OH, Detmer PR, Jong JM, Leotta DF, Li XN, Beach KW, Martin R, Strandness DE. Intra-gastric distribution and gastric emptying assessed by three-dimensional ultrasonography. *Gastroenterology* 1997; 113: 38-49 [PMID: 9207260 DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70078-7]
- 27 Mundt MW, Samsom M. Fundal dysaccommodation in functional dyspepsia: head-to-head comparison between the barostat and three-dimensional ultrasonographic technique. *Gut* 2006; 55: 1725-1730 [PMID: 16439420 DOI: 10.1136/gut.2004.062836]
- 28 张静. 3DUS胃重建评价近端胃适应性功能. *中国协和医科大学*, 2009: 76-80
- 29 Bolondi L, Bortolotti M, Santi V, Calletti T, Gaiani S, Labò G. Measurement of gastric emptying time by real-time ultrasonography. *Gastroenterology* 1985; 89: 752-759 [PMID: 3896910]
- 30 Gilja OH, Hausken T, Odegaard S, Berstad A. Monitoring postprandial size of the proximal stomach by ultrasonography. *J Ultrasound Med* 1995; 14: 81-89 [PMID: 8568967]
- 31 Marciani L, Gowland PA, Spiller RC, Manoj P, Moore RJ, Young P, Fillery-Travis AJ. Effect of meal viscosity and nutrients on satiety, intragastric dilution, and emptying assessed by MRI. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G1227-G1233 [PMID: 11352816]
- 32 Kunz P, Feinle C, Schwizer W, Fried M, Boesiger P. Assessment of gastric motor function during the emptying of solid and liquid meals in humans by MRI. *J Magn Reson Imaging* 1999; 9: 75-80 [PMID: 10030653 DOI: 10.1002/(SICI)1522-2586(199901)9:1<75::AID-JMRI10>3.0.CO;2-I]
- 33 de Zwart IM, Mearadji B, Lamb HJ, Eilers PH, Masclee AA, de Roos A, Kunz P. Gastric motility: comparison of assessment with real-time MR imaging or barostat measurement initial experience. *Radiology* 2002; 224: 592-597 [PMID: 12147861 DOI: 10.1148/radiol.2242011412]
- 34 Fidler J, Bharucha AE, Camilleri M, Camp J, Burton D, Grimm R, Riederer SJ, Robb RA, Zinsmeister AR. Application of magnetic resonance imaging to measure fasting and postprandial volumes in humans. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 42-51 [PMID: 19019018 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2008.01194.x]
- 35 O'Connor MK, O'Connell R, Keane FB, Byrne PJ, Hennessy TP. The relationship between technetium 99m pertechnetate gastric scanning and gastric contents. *Br J Radiol* 1983; 56: 817-822 [PMID: 6313111 DOI: 10.1259/0007-1285-56-671-817]
- 36 Kim DY, Delgado-Aros S, Camilleri M, Samsom M, Murray JA, O'Connor MK, Brinkmann BH, Stephens DA, Lighvani SS, Burton DD. Noninvasive measurement of gastric accommodation in patients with idiopathic nonulcer dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 3099-3105 [PMID: 11721755 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.05264.x]
- 37 Bouras EP, Delgado-Aros S, Camilleri M, Castillo EJ, Burton DD, Thomforde GM, Chial HJ. SPECT imaging of the stomach: comparison with barostat, and effects of sex, age, body mass index, and fundoplication. Single photon emission computed tomography. *Gut* 2002; 51: 781-786 [PMID: 12427776 DOI: 10.1136/gut.51.6.781]
- 38 Breen M, Camilleri M, Burton D, Ziensmeister A. Performance characteristics of the measurement of gastric volume using single photon emission computed tomography. *Neurogastro Motil* 2011; 23: 308-315 [PMID 21210894 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01660.x]
- 39 Vasavid P, Chaiwatanarata T, Gonlachanvit S. The Reproducibility of Tc-Pertechnetate Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) for Measurement of Gastric Accommodation in Healthy Humans: Evaluation of the Test Results Performed at the Same Time and Different Time of the Day. *J Neurogastroenterol Motil* 2010; 16: 401-406 [PMID: 21103421 DOI: 10.5056/jnm.2010.16.4.401]
- 40 Tack J, Caenepeel P, Piessevaux H, Cuomo R, Janssens J. Assessment of meal induced gastric accommodation by a satiety drinking test in health and in severe functional dyspepsia. *Gut* 2003; 52: 1271-1277 [PMID: 12912857]
- 41 Gonne J, Castillo EJ, Camilleri M, Burton D, Thomforde GM, Baxter KL, Zinsmeister AR. Does the nutrient drink test accurately predict postprandial gastric volume in health and community dyspepsia? *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 44-50 [PMID: 15670263 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2004.00588.x]
- 42 Iida A, Konagaya T, Kaneko H, Funaki Y, Kanazawa T, Tokudome K, Hijikata Y, Masui R, Ogasawara N, Sasaki M, Yoneda M, Kasugai K. Usefulness of a slow nutrient drinking test for evaluating gastric perception and accommodation. *Digestion* 2011; 84: 253-260 [PMID: 21952611 DOI: 10.1159/000330843]
- 43 Boeckxstaens GE, Hirsch DP, van den Elzen BD, Heisterkamp SH, Tytgat GN. Impaired drinking capacity in patients with functional dyspepsia: relationship with proximal stomach function. *Gastroenterology* 2001; 121: 1054-1063 [PMID: 11677196 DOI: 10.1053/gast.2001.28656]
- 44 Tack J. Drink tests in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2002; 122: 2093-2094 [DOI: 10.1053/gast.2002.34022]
- 45 Piessevaux H, Dewit O, Tack J, Walrand S, Janssens J, Pauwels S, Geubel A. Intra-gastric distribution pattern of a liquid meal during satiety testing in healthy volunteers. *Gastroenterology* 2000; 118: A670 [DOI: 10.1016/S0016-5085(00)84816-7]
- 46 Hjelland IE, Ofstad AP, Narvestad JK, Berstad A, Hausken T. Drink tests in functional dyspepsia: which drink is best? *Scand J Gastroenterol* 2004; 39:

同行评价

本文较全面的综述了当前功能性消化不良患者近端胃适应性功能检测技术, 并较为全面地阐述了不同方法的优缺点, 对临床应用和研究有较好的参考价值。

- 933-937 [PMID: 15513330 DOI: 10.1080/00365520410003344]
- 47 郑可, 柯美云, 王智凤. 应用液体营养负荷试验评估健康人近端胃功能. 基础医学临床 2007; 27: 319-323
- 48 张静, 孙晓红, 王智凤, 柯美云. 灌注法液体营养餐负荷试验—一种评价近端胃适应性的新方法. 中华消化杂志 2010; 30: 518-521
- 49 宋志强, 柯美云. 液体负荷试验同步胃内压测定评价胃部感觉和容受功能. 中华医学杂志 2010; 90: 547-550

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》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文. 以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … 曲线图可按 ●、○、■、□、▲、△ 顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第 3 套为 ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5 \text{ cm} \times 4.5 \text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

重度胃轻瘫治疗方式的研究进展

李君玲, 仝小林, 逢冰, 田佳星, 周强, 李敏

李君玲, 仝小林, 逢冰, 田佳星, 周强, 李敏, 中国中医科学院广安门医院内分泌科 北京市 100053
李君玲, 田佳星, 北京中医药大学 北京市 100029
李君玲, 主要从事糖尿病及其并发症中医药防治的研究。国家自然科学基金资助项目, No. 81173259
作者贡献分布: 本文综述主要由李君玲完成; 逢冰、田佳星及周强参与文献资料的查阅; 仝小林与李敏审核。
通讯作者: 李敏, 研究员, 100053, 北京市西城区北线阁5号, 中国中医科学院广安门医院。julian1224@126.com
收稿日期: 2013-05-13 修回日期: 2013-06-04
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-09-08

Treatments for severe gastroparesis

Jun-Ling Li, Xiao-Lin Tong, Bing Pang, Jia-Xing Tian, Qiang Zhou, Min Li

Jun-Ling Li, Xiao-Lin Tong, Bing Pang, Jia-Xing Tian, Qiang Zhou, Min Li, Department of Endocrinology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China
Jun-Ling Li, Jia-Xing Tian, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173259
Correspondence to: Min Li, Researcher, Department of Endocrinology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, 5 Beixiang, Xicheng District, Beijing 100053, China. julian1224@126.com
Received: 2013-05-13 Revised: 2013-06-04
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-09-08

Abstract

Severe gastroparesis is a kind of gastroparesis that is refractory to conventional drug therapy and requires nutritional support and frequently emergency hospitalization. The selection of treatment for severe gastroparesis has always been a dilemma for clinicians. Currently, there have been limited reports on the treatment of severe gastroparesis. This article sums up the primary treatments, drug treatments and other kinds of treatments for severe gastroparesis and discusses the prospects for the treatment of this refractory disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Severe gastroparesis; Treatment; Research

Li JL, Tong XL, Pang B, Tian JX, Zhou Q, Li M. Treatments for severe gastroparesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2537-2543 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2537.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2537>

摘要

重度胃轻瘫是对常规治疗胃轻瘫药物无效、需进行营养支持以及频繁需要急诊住院治疗的难治性胃轻瘫。对于重度胃轻瘫治疗方式选择一直是临床医师所面临的难题, 国内外也少见对重度胃轻瘫治疗的文献报道, 本文通过查阅国内外有限的相关重度胃轻瘫治疗文献, 系统阐述了基础治疗、药物治疗以及其他方式治疗重度胃轻瘫的研究进展, 并对重度胃轻瘫治疗方式的研究方向进行了展望。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 重度胃轻瘫; 治疗; 研究

核心提示: 胃电刺激、手术治疗以及内镜下注射肉毒菌素是目前治疗重度胃轻瘫的主要选择方式, 中医中药治疗重度胃轻瘫往往有意想不到的疗效, 积极开展相关研究工作是寻找治疗重度胃轻瘫新的治疗方式的一项重要选择。

李君玲, 仝小林, 逢冰, 田佳星, 周强, 李敏. 重度胃轻瘫治疗方式的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(25): 2537-2543 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2537.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2537>

0 引言

胃轻瘫是一种排除机械性梗阻、以固体胃排空延迟为主要特点的症状群^[1], 临床主要表现为恶心、呕吐、早饱以及餐后饱胀等。特发性胃轻瘫、糖尿病、帕金森氏病、胶原血管病等都是引发胃轻瘫的重要原因^[2]。目前对胃轻瘫的药物治疗主要是促胃动力药物的使用, 如红霉素、胃复安、多潘立酮以及西沙比利等, 疗效证实尚可^[3]。然而, 在胃轻瘫患者当中还存在很多重度胃轻瘫患者, 主要表现为对这些常规治疗药物的无效性, 需进行营养支持以及频繁的

■背景资料

重度胃轻瘫是对常规治疗胃轻瘫药物无效、需进行营养支持以及频繁需要急诊住院治疗的难治性胃轻瘫。目前对于重度胃轻瘫的治疗方式是临床医师所面临的难题, 通过查阅国内外相关重度胃轻瘫治疗文献, 对目前国内外治疗重度胃轻瘫的方式做一综述对于临床医师治疗重度胃轻瘫具有重要参考意义。

■同行评议者

陆伦根, 教授, 上海交通大学附属第一人民医院消化科

■ 研发前沿

胃电刺激、手术治疗以及内镜下注射肉毒菌素是目前治疗重度胃轻瘫的主要选择方式, 中医中药治疗重度胃轻瘫往往有意想不到的疗效, 积极开展相关研究工作是寻找治疗重度胃轻瘫新的治疗方式的一项重要选择。

急诊住院治疗^[4]。作为重度胃轻瘫的主要临床表现, 频繁的恶心呕吐^[5]往往可导致患者电解质紊乱、脱水等, 同时降低工作、生活能力, 给社会和家庭带来沉重的负担^[6,7], 对于糖尿病重度胃轻瘫患者来说, 频繁恶心呕吐更使血糖难于控制, 极容易发生危险状况^[8,9]。然而对于重度胃轻瘫患者的治疗方式一直是临床学者所面临的难题, 目前为止, 国内外亦少见相关文献报道, 因此本文查阅国内外有限的重度胃轻瘫相关文献报道, 并对各学者的研究成果作一综述, 以期对临床有所帮助。

1 基础治疗

对于胃轻瘫患者的饮食建议往往是少食、多餐、低脂低纤维等。而对于难治性症状反复发作入院、影响正常的营养和药物吸收的重度胃轻瘫患者来说, 营养支持往往是必要的^[10]。目前主要的营养支持包括肠内营养和全胃肠外营养。肠内营养相对于全胃肠外营养来说具有价格低廉、较少有感染并发症的优势, 通过肠内营养能够为患者提供足够的营养物质以及药物治疗, 并且当患者可以经口服摄入足够的营养物质时, 内镜下的置管可以很容易取出。Schlüter等^[11]报道, 一例经胃动力药久治无效、几乎不能进食的糖尿病重度胃轻瘫患者, 安放一根永久性鼻-十二指肠管予以管饲, 患者的营养状态明显好转。相对于肠内营养来说, 全胃肠外营养很少是胃轻瘫患者所必要的, 除非是肠内营养失败或者小肠、结肠都出现了功能失调, 而一旦实行全胃肠外营养支持, 则必须对患者进行密切的临床和实验室检测以防止代谢紊乱。

2 血糖控制

对于胃轻瘫患者尤其是糖尿病胃轻瘫患者来说, 控制血糖是至关重要的。有资料证明高血糖本身具有破坏胃排空的作用^[12]。另一方面, 高血糖也可能降低胃对促胃动力药物如红霉素的作用, 有报道高血糖($>15 \text{ mmol/L}$)可以通过减弱红霉素对胃窦运动的动力作用从而降低红霉素促胃动力作用的效果^[13,14], 因此对于每一个胃轻瘫的患者来说, 控制血糖都是一种至关重要的基础治疗方式。同时, 应注意对于糖尿病胃轻瘫患者, 一些影响胃排空的降糖药物也应停用, 如降糖药物二甲双胍、阿卡波糖等均有胃肠道反应, 而醋酸普兰林肽、胰高血糖素样肽-1(glucagon

like peptide-1, GLP-1)本身就有延缓胃排空的作用。

3 药物治疗

多巴胺受体拮抗剂如胃复安、多潘立酮等, 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)受体激动剂如西沙比利等是目前治疗胃轻瘫的常规治疗药物, 同时新的相关药物也正在不断研制, 如舒必利、伊托必利等, 均被许多实验证实具有治疗胃轻瘫的前景^[15-17], 然而对于治疗重度胃轻瘫, 目前只有以下少数几种有过临床报道。

3.1 红霉素 大环内酯类红霉素是一种强大的促胃动力药, 在一项由Sturm等^[18]对目前常用的促胃动力口服药物(D2受体阻滞剂、西沙比利、红霉素)的系统分析中, 红霉素被认为是对于改善胃排空的最有效的治疗药物。同时在一项单中心回顾性研究中, DiBaise等^[19]发现静脉点滴红霉素治疗14例重度胃轻瘫患者, 仅有1例无效, 其余皆有明显效果。但是红霉素属于抗生素, 具有快速耐受性, 长期的口服治疗具有局限性。因此寻找一种具有促胃动力作用而又不具有抗菌性能的红霉素类似物亟待解决。ABT-229是第一种被用于临床实验的胃动素受体激动剂, 遗憾的是, 该实验证实与安慰剂组相比, ABT-229并没有缓解具有胃排空延迟的功能性消化不良患者的临床症状^[20-22]。GM-611是由中外制药(Chugai Pharma)实验室发现的一种由红霉素衍生而来的胃动素受体激动剂, 在一项多中心、随机、双盲、安慰剂对照的糖尿病胃轻瘫研究中, McCallum等^[23]发现GM-611的10 mg, bid用量对于缓解消化系症状有明显效果, 然而对于这些新生药物治疗重度胃轻瘫的效果仍然有待研究。

3.2 胃促生长素 胃促生长素(ghrelin)是一种主要由胃黏膜组织产生的生长激素促分泌素受体(growth hormone secretagogue receptor, GHSR)的内源性配体, 参与调节胃肠道动力^[24,25]。已经证实, 在特发性胃轻瘫以及糖尿病胃轻瘫的患者中, 合理使用胃促生长素具有显著的促进胃排空作用^[26-28]。然而, 外源性的胃促生长素具有较短的半衰期^[29], 因此限制了用于临床治疗的潜力。TZP-101是一种对人类胃促生长素受体具有很强亲和力的选择性胃促生长素受体激动剂^[30], 有研究对23例具有严重恶心呕吐的重度胃轻瘫患者输注不同剂量的TZP-101进行治疗, 通过GCSI进行胃轻瘫疗效评价, 证实TZP-101能够显著改善

重度胃轻瘫患者的临床症状, 预测TZIP-101将成为治疗重度胃轻瘫非常有潜力的药物^[31].

3.3 抗抑郁药 目前越来越多的学者发现心理因素与胃轻瘫疾病之间的重要相关性, 而国外的一些运用抗抑郁药治疗重度胃轻瘫的医案报道也使我们寻找治疗重度胃轻瘫方式之路上眼前一亮.

3.3.1 米氮平: 米氮平是一种具有去甲肾上腺素作用的抗抑郁药, 他同时具有特异性阻滞5-HT₃受体的作用, 因此临床中常用于治疗由癌症放疗后、胃旁路手术后等引起的恶心呕吐的治疗^[32-35]. Kim等^[36]首先报道了一例对红霉素、胃复安、多潘立酮甚至于幽门注射A型肉毒毒素无效的患者, 在接受米氮平治疗后, 恶心呕吐症状迅速好转的病例, 为临床治疗重度胃轻瘫患者提供了光明的前景.

3.3.2 阿瑞吡坦: 阿瑞吡坦是一种神经激肽-1(neurokinin-1, NK-1)受体拮抗药(即P物质拮抗剂), 该物质通过与大脑中NK-1受体结合, 对该受体进行拮抗, 从而治疗由P物质介导的疾患, 如抑郁症、呕吐等. 在一些由化疗引起的恶心呕吐症状中, 该药物被证实具有较高的有效性并被广泛推荐使用^[37,38]. Chong等^[39]首次报道以80 mg, qd的阿瑞吡坦治疗1例对静脉注射以及口服胃促动力药等治疗方式无效的呕吐剧烈的糖尿病重度胃轻瘫患者, 在使用第1次的24 h内即停止了呕吐, 并且在使用4 mo中均未发生呕吐症状. 该报道的出现为治疗重度胃轻瘫指出了一种新的治疗方式, 不过值得指出的是有报道称^[40], 阿瑞吡坦在对正常人的肠道动力方面并没有显示明显的作用, 同时有报道称阿瑞吡坦在治疗化疗后引起的恶心呕吐症状过程中可能会引起一些轻微的不良反, 如打嗝、疲劳、肝功升高、便秘、头痛以及食欲下降.

4 其他治疗方法

4.1 胃电起搏治疗 在寻找重度胃轻瘫的治疗方法中, 胃电起搏治疗是目前临床研究中最为广泛使用的治疗方式. 早在在20世纪70年代初期, 人们就发现胃肠肌电活动与收缩活动之间的密切关系^[41,42], Kelly和La Force^[43]运用犬模型证实胃电刺激可以引发引起胃平滑肌的顺行和逆行传导的慢波活动. Familoni等^[44]则首次对1例糖尿病重度胃轻瘫的患者进行了为期超过1年的胃电刺激治疗, 在缓解恶心呕吐症状上取得了巨大疗效, 该结果为以后胃电刺激治疗的研究

奠定了基础. 2000年, 一种高频、低能量的胃电刺激装置(enterra system)被美国食品与药品管理局(FDA)同意作为具有难治性恶心、呕吐症状的胃轻瘫患者的治疗方式^[45]. 大量临床实验研究从胃排空检查、临床症状、患者生活质量、体质量变化、摄取营养方式等各方面变化证实胃电起搏治疗对于治疗重度胃轻瘫的广阔前景^[46-50]. 然而, 目前为止, 对于胃电起搏治疗胃轻瘫的机制并不明确, 最为广泛的解释是胃电刺激对中枢神经系统的影响^[51-53]. 同时由于胃电刺激属于侵入性治疗方法, 感染成为接受该治疗方式的胃轻瘫患者尤其是糖尿病胃轻瘫患者的主要风险^[54,55]. 在Chu等^[50]的系统评价报告中, 胃电刺激引起的不良反应, 感染占3.87%, 设备迁移占2.69%, 植入部位疼痛占0.67%. 因此对于进行胃电起搏治疗应谨慎从事, 临时的胃电刺激可以检测患者是否适合进行该项治疗^[56]. 此外, 根据胃起搏点的电活动可被外加电流刺激所驱动原理设计的体外胃电起搏为临床提供了一种新的治疗手段^[57].

4.2 内镜治疗 胃窦运动减弱以及由于幽门功能障碍引起的胃出口阻力增加是胃轻瘫患者的一种重要的生理性紊乱^[58-60]. 肉毒菌素A是一种胆碱能神经肌肉传递抑制剂, 通过局部注射, 可以治疗包括平滑肌和横纹肌在内的肌肉痉挛性疾病^[61]. 肉毒毒素A通过不可逆的干扰乙酰胆碱释放而抑制胆碱能神经递质^[62]. 目前, 临床中经常通过在食管下括约肌中注射肉毒毒素A来治疗贲门失弛缓症, 疗效较好^[63]. 同时许多临床研究中也证实将其注射于消化道的其他部位也是十分安全的. 许多研究通过在幽门括约肌处注射A型肉毒菌素治疗胃轻瘫^[64,65]. 有学者采用内镜下注射肉毒杆菌毒素降低幽门张力以增加胃排空, 改善DGP的症状^[10]. Bromer等^[66]更是直接对接受肉毒菌素治疗的63例重度胃轻瘫患者进行了一项回顾性研究. 结果显示43%的患者对于肉毒菌素的治疗是有效果的, 同时男性患者与治疗效果具有相关性, 遗憾的是, 呕吐作为重度胃轻瘫的主要症状缓解并不明显.

4.3 外科手术 目前为止, 对于顽固性胃轻瘫患者多考虑外科手术治疗方法, 常用的手术方法主要有幽门成形术、幽门口扩张术、胃大部切除、胃造口等^[67]. 对于其疗效还是可以肯定的, Watkins等^[68]观察了伴顽固性呕吐的18例DGP患者, 发现全胃或次全胃切除术可以明显缓解严重胃轻瘫导致的难治性呕吐, 有6例患者术后呕

■ 相关报道

2000年, 一种高频、低能量的胃电刺激装置被美国食品与药品管理局(FDA)同意作为具有难治性恶心、呕吐症状的胃轻瘫患者的治疗方式.

■ 创新盘点

本文对国内外散见的治疗重度胃轻瘫的文献报道进行了归纳总结评论。

吐立刻缓解, 随访6年无1例复发, 生活质量显著提高, 然而值得注意的是, 手术治疗需要经过严格的病例选择并且具有术后感染、营养不良以及肾功能不全的危险, 这就限制了手术治疗的使用范围。

4.4 中医药治疗 中医学是祖国传统医学宝库, 具有辨证论治、整体治疗及相对廉价、非侵入性等优点, 从中医药中寻找治疗重度胃轻瘫的方法具有广阔前景。然而目前为止国内尚未有对重度胃轻瘫临床疗效的文献研究, 仅散见对个案治疗的报道, 疗效显著。周强等^[69]报道全小林教授以附子理中汤为主方加减治疗1例呕吐剧烈、西药治疗5月余无效的糖尿病患者, 6剂吐止, 半月体质量增加1 kg。魏玉玲等^[70]报道以枳术丸加减治疗1例使用止吐药腹泻加重, 使用止泻药而呕吐甚的“食入即吐”同时伴腹泻症状的糖尿病胃轻瘫患者, 症状均有改善。黄颖秋^[71]总结认为许多中药具有促胃动力、胃肠动力及双向调节胃肠动力的作用, 此为中医治疗胃轻瘫的作用基础, 然而中医的辨证论治的治疗思路却是取得整体疗效的根本, 值得学者们进行深入的探究。

5 结论

目前对于重度胃轻瘫治疗方式较为局限, 胃电刺激、手术治疗以及内镜下注射肉毒菌素是目前治疗重度胃轻瘫的主要选择方式, 然而亦多有感染、营养不良等手术不良反应, 深入探究重度胃轻瘫的发生机制并以此为出发点研发新的治疗方式具有重要意义。值得注意的是, 中医药治疗重度胃轻瘫往往有意想不到的疗效, 且具有廉价、无明显不良反应的优势, 遗憾的是目前为止国内外尚未有较为完善的中医药治疗重度胃轻瘫的临床报道及研究工作, 积极开展相关研究工作将是寻找治疗重度胃轻瘫新的治疗方式的一项重要选择。

6 参考文献

- 1 Agrawal S, Stollman NH, Rogers AI. University of Miami Division of Clinical Pharmacology therapeutic rounds: update on diagnosis and treatment of gastroparesis. *Am J Ther* 1999; 6: 97-109 [PMID: 10423652 DOI: 10.1097/00045391-199903000-00007]
- 2 Soykan I, Sivri B, Sarosiek I, Kiernan B, McCallum RW. Demography, clinical characteristics, psychological and abuse profiles, treatment, and long-term follow-up of patients with gastroparesis. *Dig Dis Sci* 1998; 43: 2398-2404 [PMID: 9824125 DOI: 10.1023/A:1026665728213]
- 3 Syed AA, Rattansingh A, Furtado SD. Current per-

- spectives on the management of gastroparesis. *J Postgrad Med* 2005; 51: 54-60 [PMID: 15793344]
- 4 Abell TL, Bernstein RK, Cutts T, Farrugia G, Forster J, Hasler WL, McCallum RW, Olden KW, Parkman HP, Parrish CR, Pasricha PJ, Prather CM, Soffer EE, Twillman R, Vinik AI. Treatment of gastroparesis: a multidisciplinary clinical review. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 263-283 [PMID: 16553582 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2006.00760.x]
- 5 Bielefeldt K, Raza N, Zickmund SL. Different faces of gastroparesis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 6052-6060 [PMID: 20027677 DOI: 10.3748/wjg.15.6052]
- 6 Hyett B, Martinez FJ, Gill BM, Mehra S, Lembo A, Kelly CP, Leffler DA. Delayed radionucleotide gastric emptying studies predict morbidity in diabetics with symptoms of gastroparesis. *Gastroenterology* 2009; 137: 445-452 [PMID: 19410575 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.04.055]
- 7 Reddymasu SC, Sarosiek I, McCallum RW. Severe gastroparesis: medical therapy or gastric electrical stimulation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 117-124 [PMID: 19765675 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.09.010]
- 8 Kuo P, Rayner CK, Jones KL, Horowitz M. Pathophysiology and management of diabetic gastropathy: a guide for endocrinologists. *Drugs* 2007; 67: 1671-1687 [PMID: 17683169 DOI: 10.2165/00003495-200767120-00003]
- 9 Ma J, Rayner CK, Jones KL, Horowitz M. Diabetic gastroparesis: diagnosis and management. *Drugs* 2009; 69: 971-986 [PMID: 19496627 DOI: 10.2165/0003495-200969080-00003]
- 10 Camilleri M. Clinical practice. Diabetic gastroparesis. *N Engl J Med* 2007; 356: 820-829 [PMID: 17314341 DOI: 10.1056/NEJMcp062614]
- 11 Schlüter U, Smit JW, Wipkink-Bakker A, Masclee AA. [Diabetic gastroparesis: is tube feeding an alternative?]. *Ned Tijdschr Geneesk* 1997; 141: 2425-2428 [PMID: 9555125]
- 12 Fraser RJ, Horowitz M, Maddox AF, Harding PE, Chatterton BE, Dent J. Hyperglycaemia slows gastric emptying in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1990; 33: 675-780 [DOI: 10.1007/BF00400569]
- 13 Jones KL, Kong MF, Berry MK, Rayner CK, Adamson U, Horowitz M. The effect of erythromycin on gastric emptying is modified by physiological changes in the blood glucose concentration. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2074-2079 [PMID: 10445530 DOI: 10/1111/j.1572-0241.1999.01280.x]
- 14 Rayner CK, Su YC, Doran SM, Jones KL, Malbert CH, Horowitz M. The stimulation of antral motility by erythromycin is attenuated by hyperglycemia. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2233-2241 [PMID: 11007223 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.02250.x]
- 15 Mansi C, Borro P, Giacomini M, Biagini R, Mele MR, Pandolfo N, Savarino V. Comparative effects of levosulpiride and cisapride on gastric emptying and symptoms in patients with functional dyspepsia and gastroparesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 561-569 [PMID: 10792119 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2000.00742.x]
- 16 Mearin F, Rodrigo L, Pérez-Mota A, Balboa A, Jiménez I, Sebastián JJ, Patón C. Levosulpiride and cisapride in the treatment of dysmotility-like functional dyspepsia: a randomized, double-masked tri-

- al. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 301-308 [PMID: 15067624 DOI: 10.1016/S1542-3565(04)00059-X]
- 17 Holtmann G, Talley NJ, Liebrechts T, Adam B, Parow C. A placebo-controlled trial of itopride in functional dyspepsia. *N Engl J Med* 2006; 354: 832-840 [PMID: 16495395 DOI: 10.1056/NEJMoa052639]
- 18 Sturm A, Holtmann G, Goebell H, Gerken G. Prokinetics in patients with gastroparesis: a systematic analysis. *Digestion* 1999; 60: 422-427 [PMID: 10473966 DOI: 10.1159/000007687]
- 19 DiBaise JK, Quigley EM. Efficacy of prolonged administration of intravenous erythromycin in an ambulatory setting as treatment of severe gastroparesis: one center's experience. *J Clin Gastroenterol* 1999; 28: 131-134 [PMID: 10078820 DOI: 10.1097/0004836-199903000-00009]
- 20 Talley NJ, Verlinden M, Snape W, Beker JA, Ducrotte P, Dettmer A, Brinkhoff H, Eaker E, Ohning G, Miner PB, Mathias JR, Fumagalli I, Staessen D, Mack RJ. Failure of a motilin receptor agonist (ABT-229) to relieve the symptoms of functional dyspepsia in patients with and without delayed gastric emptying: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 1653-1661 [PMID: 11121915 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2000.00868.x]
- 21 Talley NJ, Verlinden M, Geenen DJ, Hogan RB, Riff D, McCallum RW, Mack RJ. Effects of a motilin receptor agonist (ABT-229) on upper gastrointestinal symptoms in type 1 diabetes mellitus: a randomised, double blind, placebo controlled trial. *Gut* 2001; 49: 395-401 [PMID: 11511562 DOI: 10.1136/gut.49.3.395]
- 22 Russo A, Stevens JE, Giles N, Krause G, O'Donovan DG, Horowitz M, Jones KL. Effect of the motilin agonist KC 11458 on gastric emptying in diabetic gastroparesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 333-338 [PMID: 15274670 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.02066.x]
- 23 McCallum RW, Cynshi O. Efficacy of mitemincal, a motilin agonist, on gastrointestinal symptoms in patients with symptoms suggesting diabetic gastropathy: a randomized, multi-center, placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 107-116 [PMID: 17555427 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03346.x]
- 24 Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000; 141: 4255-4261 [PMID: 11089560 DOI: 10.1210/en.141.11.4255]
- 25 Fukuda H, Mizuta Y, Isomoto H, Takeshima F, Ohnita K, Ohba K, Omagari K, Taniyama K, Kohno S. Ghrelin enhances gastric motility through direct stimulation of intrinsic neural pathways and capsaicin-sensitive afferent neurones in rats. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39: 1209-1214 [PMID: 15742997 DOI: 10.1080/00365520410007908]
- 26 Binn M, Albert C, Gougeon A, Maerki H, Coulie B, Lemoyne M, Rabasa Lhoret R, Tomasetto C, Poitras P. Ghrelin gastroduodenal action in patients with neurogenic gastroparesis. *Peptides* 2006; 27: 1603-1606 [PMID: 16426704 DOI: 10.1016/j.peptides.2005.12.008]
- 27 Murray CD, Martin NM, Patterson M, Taylor SA, Ghatei MA, Kamm MA, Johnston C, Bloom SR, Emmanuel AV. Ghrelin enhances gastric emptying in diabetic gastroparesis: a double blind, placebo controlled, crossover study. *Gut* 2005; 54: 1693-1698 [PMID: 16085693 DOI: 10.1136/gut.2005.069088]
- 28 Tack J, Depoortere I, Bisschops R, Verbeke K, Janssens J, Peeters T. Influence of ghrelin on gastric emptying and meal-related symptoms in idiopathic gastroparesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 847-853 [PMID: 16225494 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2005.02658.x]
- 29 Vestergaard ET, Hansen TK, Gormsen LC, Jakobsen P, Moller N, Christiansen JS, Jorgensen JO. Constant intravenous ghrelin infusion in healthy young men: clinical pharmacokinetics and metabolic effects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 292: E1829-E1836 [PMID: 17311892 DOI: 10.1152/ajpendo.00682.2006]
- 30 Fraser GL, Hoveyda HR, Tannenbaum GS. Pharmacological demarcation of the growth hormone, gut motility and feeding effects of ghrelin using a novel ghrelin receptor agonist. *Endocrinology* 2008; 149: 6280-6288 [PMID: 18719021 DOI: 10.1210/en.2008-0804]
- 31 Wo JM, Ejskjaer N, Hellström PM, Malik RA, Pezzullo JC, Shaughnessy L, Charlton P, Kosutic G, McCallum RW. Randomised clinical trial: ghrelin agonist TZP-101 relieves gastroparesis associated with severe nausea and vomiting--randomised clinical study subset data. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 679-688 [PMID: 21214610 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04567.x]
- 32 Thompson DS. Mirtazapine for the treatment of depression and nausea in breast and gynecological oncology. *Psychosomatics* 2000; 41: 356-359 [PMID: 10906359 DOI: 10.1176/appi.psy.41.4.356]
- 33 Theobald DE, Kirsh KL, Holtsclaw E, Donaghy K, Passik SD. An open-label, crossover trial of mirtazapine (15 and 30 mg) in cancer patients with pain and other distressing symptoms. *J Pain Symptom Manage* 2002; 23: 442-447 [PMID: 12007762 DOI: 10.1016/S0885-3924(02)00381-0]
- 34 Guclu S, Gol M, Dogan E, Saygili U. Mirtazapine use in resistant hyperemesis gravidarum: report of three cases and review of the literature. *Arch Gynecol Obstet* 2005; 272: 298-300 [PMID: 16007504 DOI: 10.1007/s00404-005-0007-0]
- 35 Teixeira FV, Novaretti TM, Pilon B, Pereira PG, Breda MF. Mirtazapine (Remeron) as treatment for non-mechanical vomiting after gastric bypass. *Obes Surg* 2005; 15: 707-709 [PMID: 15946465 DOI: 10.1381/0960892053923923]
- 36 Kim SW, Shin IS, Kim JM, Kang HC, Mun JU, Yang SJ, Yoon JS. Mirtazapine for severe gastroparesis unresponsive to conventional prokinetic treatment. *Psychosomatics* 2006; 47: 440-442 [PMID: 16959934 DOI: 10.1176/appi.psy.47.5.440]
- 37 Kris MG, Hesketh PJ, Somerfield MR, Feyer P, Clark-Snow R, Koeller JM, Morrow GR, Chinnery LW, Chesney MJ, Gralla RJ, Grunberg SM. American Society of Clinical Oncology guideline for antiemetics in oncology: update 2006. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2932-2947 [PMID: 16717289 DOI: 10.1200/JCO.2006.06.9591]
- 38 National comprehensive cancer Network. NCCN clinical practice guidelines in oncology. Antiemesis, V.2.2009.2008. Available from: URL: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/antiemesis.pdf

■应用要点
本文为临床医师治疗重度胃轻瘫提供了一定的参考依据。

■同行评价

本文系统阐述了基础治疗、药物治疗以及其他方式治疗重度胃轻瘫的研究进展,并对重度胃轻瘫治疗方式的研究方向进行了展望。

- 39 Chong K, Dhatriya K. A case of severe, refractory diabetic gastroparesis managed by prolonged use of aprepitant. *Nat Rev Endocrinol* 2009; 5: 285-288 [PMID: 19444262 DOI: 10.1038/nrendo.2009.50]
- 40 Madsen JL, Fuglsang S. A randomized, placebo-controlled, crossover, double-blind trial of the NK1 receptor antagonist aprepitant on gastrointestinal motor function in healthy humans. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 609-615 [PMID: 18208572 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03618.x]
- 41 Lin Z, Forster J, Sarosiek I, McCallum RW. Treatment of gastroparesis with electrical stimulation. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 837-848 [PMID: 12772777 DOI: 10.1023/A:1023099206939]
- 42 Zhang J, Chen JD. Systematic review: applications and future of gastric electrical stimulation. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 991-1002 [PMID: 16984493 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.03087.x]
- 43 Kelly KA, La Force RC. Pacing the canine stomach with electric stimulation. *Am J Physiol* 1972; 222: 588-594 [PMID: 5022667]
- 44 Familoni BO, Abell TL, Voeller G, Salem A, Gaber O. Electrical stimulation at a frequency higher than basal rate in human stomach. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 885-891 [PMID: 9149038 DOI: 10.1023/A:1018852011857]
- 45 Kashyap P, Farrugia G. Diabetic gastroparesis: what we have learned and had to unlearn in the past 5 years. *Gut* 2010; 59: 1716-1726 [PMID: 20871131 DOI: 10.1136/gut.2009.199703]
- 46 Ejksjaer NT, Bradley JL, Buxton-Thomas MS, Edmonds ME, Howard ER, Purewal T, Thomas PK, Watkins PJ. Novel surgical treatment and gastric pathology in diabetic gastroparesis. *Diabet Med* 1999; 16: 488-495 [PMID: 10391397 DOI: 10.1046/j.1464-5491.1999.00086.x]
- 47 Abell TL, Van Cutsem E, Abrahamsson H, Huizinga JD, Konturek JW, Galmiche JP, Voeller G, Filez L, Everts B, Waterfall WE, Domschke W, Bruley des Varannes S, Familoni BO, Bourgeois IM, Janssens J, Tougas G. Gastric electrical stimulation in intractable symptomatic gastroparesis. *Digestion* 2002; 66: 204-212 [PMID: 12592096 DOI: 10.1159/000068359]
- 48 McKenna D, Beverstein G, Reichelderfer M, Gaumnitz E, Gould J. Gastric electrical stimulation is an effective and safe treatment for medically refractory gastroparesis. *Surgery* 2008; 144: 566-572; discussion 572-574 [PMID: 18847640 DOI: 10.1016/j.surg.2008.06.024]
- 49 Lin Z, Sarosiek I, Forster J, Ross RA, Chen JD, McCallum RW. Two-channel gastric pacing in patients with diabetic gastroparesis. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 912-e396 [PMID: 21806741 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2011.01754.x]
- 50 Chu H, Lin Z, Zhong L, McCallum RW, Hou X. Treatment of high-frequency gastric electrical stimulation for gastroparesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1017-1026 [PMID: 22128901 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06999.x]
- 51 Lin Z, Forster J, Sarosiek I, McCallum RW. Treatment of diabetic gastroparesis by high-frequency gastric electrical stimulation. *Diabetes Care* 2004; 27: 1071-1076 [PMID: 15111523 DOI: 10.2337/diacare.27.5.1071]
- 52 Lin Z, McElhinney C, Sarosiek I, Forster J, McCallum R. Chronic gastric electrical stimulation for gastroparesis reduces the use of prokinetic and/or antiemetic medications and the need for hospitalizations. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 1328-1334 [PMID: 16047482 DOI: 10.1007/s10620-005-2782-7]
- 53 Yiannopoulos A, Shafazand S, Ziedalski T, Berry GJ, Robbins RC, Theodore J, Faul JL. Gastric pacing for severe gastroparesis in a heart-lung transplant recipient. *J Heart Lung Transplant* 2004; 23: 371-374 [PMID: 15019648 DOI: 10.1016/s1053-2498(03)00188-8]
- 54 Forster J, Sarosiek I, Delcore R, Lin Z, Raju GS, McCallum RW. Gastric pacing is a new surgical treatment for gastroparesis. *Am J Surg* 2001; 182: 676-681 [PMID: 11839337 DOI: 10.1016/S0002-9610(01)00802-9]
- 55 Mason RJ, Lipham J, Eckerling G, Schwartz A, De-meester TR. Gastric electrical stimulation: an alternative surgical therapy for patients with gastroparesis. *Arch Surg* 2005; 140: 841-846; discussion 841-846 [PMID: 16172292 DOI: 10.1001/archsurg.140.9.841]
- 56 Ayinala S, Batista O, Goyal A, Al-Juburi A, Abidi N, Familoni B, Abell T. Temporary gastric electrical stimulation with orally or PEG-placed electrodes in patients with drug refractory gastroparesis. *Gastrointest Endosc* 2005; 61: 455-461 [PMID: 15758925 DOI: 10.1016/S0016-5107(05)00076-3]
- 57 Intagliata N, Koch KL. Gastroparesis in type 2 diabetes mellitus: prevalence, etiology, diagnosis, and treatment. *Curr Gastroenterol Rep* 2007; 9: 270-279 [PMID: 17883973 DOI: 10.1007/s11894-007-0030-3]
- 58 Malagelada JR, Rees WD, Mazzotta LJ, Go VL. Gastric motor abnormalities in diabetic and post-vagotomy gastroparesis: effect of metoclopramide and bethanechol. *Gastroenterology* 1980; 78: 286-293 [PMID: 7350052]
- 59 Camilleri M, Brown ML, Malagelada JR. Relationship between impaired gastric emptying and abnormal gastrointestinal motility. *Gastroenterology* 1986; 91: 94-99 [PMID: 3710086]
- 60 Mearin F, Camilleri M, Malagelada JR. Pyloric dysfunction in diabetics with recurrent nausea and vomiting. *Gastroenterology* 1986; 90: 1919-1925 [PMID: 3699409]
- 61 Jankovic J, Brin MF. Therapeutic uses of botulinum toxin. *N Engl J Med* 1991; 324: 1186-1194 [PMID: 2011163 DOI: 10.1056/NEJM199104253241707]
- 62 Schiavo G, Shone CC, Rossetto O, Alexander FC, Montecucco C. Botulinum neurotoxin serotype F is a zinc endopeptidase specific for VAMP/synaptobrevin. *J Biol Chem* 1993; 268: 11516-11519 [PMID: 8505288]
- 63 刘庆森. 内镜下注射A型肉毒菌素治疗贲门失弛缓症的研究. 中国人民解放军军医进修学院, 2004
- 64 Ezzeddine D, Jit R, Katz N, Gopalswamy N, Bhutani MS. Pyloric injection of botulinum toxin for treatment of diabetic gastroparesis. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 920-923 [PMID: 12024156 DOI: 10.1067/mge.2002.124739]
- 65 Miller LS, Szych GA, Kantor SB, Bromer MQ, Knight LC, Maurer AH, Fisher RS, Parkman HP. Treatment of idiopathic gastroparesis with injection of botulinum toxin into the pyloric sphincter muscle. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1653-1660 [PMID: 12135014 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05823.x]
- 66 Bromer MQ, Friedenber F, Miller LS, Fisher RS, Swartz K, Parkman HP. Endoscopic pyloric injection of botulinum toxin A for the treatment of refractory gastroparesis. *Gastrointest Endosc* 2005; 61: 833-839 [PMID: 15933684 DOI: 10.1016/

S0016-5107(05)00328-7]

67 张全义, 高宏凯, 张新国. 糖尿病胃轻瘫的发病机制及治疗新进展. 医学研究杂志 2008; 37: 24- 25

68 Watkins PJ, Buxton-Thomas MS, Howard ER. Long-term outcome after gastrectomy for intractable diabetic gastroparesis. *Diabet Med* 2003; 20: 58-63 [PMID: 12519321 DOI: 10.1046/j.1464-5491.2003.00872.x]

69 周强, 刘超, 李修洋, 仝小林. 仝小林治疗糖尿病胃轻瘫验案. 北京中医药 2010; 2: 137-138

70 魏玉玲, 李豫川. 枳术丸治疗糖尿病胃轻瘫. 中国实用神经疾病杂志 2009; 12: 92-93

71 黄颖秋. 胃轻瘫综合症的中医药治疗. 世界华人消化杂志 2001; 9: 1167-1168

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。



自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测和临床意义

唐 劼, 卢 洁, 闫惠平

■背景资料

自身免疫性肝病是除病毒性肝炎以外的引起肝功能障碍和肝硬化的常见原因之一。血清学自身抗体检测在自身免疫性肝病的诊断、鉴别诊断、疾病预测以及预后判断等方面有重要的应用价值。

唐劼, 卢洁, 北京欧蒙生物技术有限公司 北京市 100101
闫惠平, 首都医科大学附属北京佑安医院感染与免疫研究中心 北京市 100069
唐劼, 主要从事免疫性肝病方面的研究。
首都卫生发展科研专项基金资助项目, No. 首发2011-2018-05
作者贡献分布: 本文综述由唐劼、卢洁及闫惠平共同完成; 所作贡献均等。
通讯作者: 闫惠平, 教授, 博士研究生导师, 100069, 北京市丰台区右安门外西头条8号, 首都医科大学附属北京佑安医院感染与免疫研究中心。yhp503@126.com
电话: 010-63291531
收稿日期: 2013-05-14 修回日期: 2013-07-02
接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-09-08

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Autoimmune hepatitis; Primary biliary cirrhosis; Autoantibody

Tang J, Lu J, Yan HP. Diagnostic and predictive significance of autoantibody profiles in autoimmune liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2544-2550 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2544.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2544>

Diagnostic and predictive significance of autoantibody profiles in autoimmune liver disease

Jie Tang, Jie Lu, Hui-Ping Yan

Jie Tang, Jie Lu, Euroimmun Medical Diagnostics Co., Ltd., Beijing 100101, China
Hui-Ping Yan, Research Centre for Infection and Immunity, Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China
Supported by: the Capital Health Research and Development of Special, No. 2011-2018-05
Correspondence to: Hui-Ping Yan, Professor, Research Centre for Infection and Immunity, Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University, 8 Youan Menwai Xitoutiao, Fengtai District, Beijing 100069, China. yhp503@126.com
Received: 2013-05-14 Revised: 2013-07-02
Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-09-08

Abstract

Autoimmune liver disease (AILD) is a chronic inflammatory disease presumably induced by a disorder of immune homeostasis within the liver, which can lead to damage to or loss of the hepatic parenchyma or bile duct epithelia. Indirect immunofluorescence and antibody specificity assays are important tools for the diagnosis of AILD. Over the last decade, there have been an increasing number of newly characterized target antigens for autoantibodies in AILD. Autoantibodies, as biomarkers, are used not only for disease diagnosis, but also for monitoring disease activity and progression and predicting prognosis and treatment responses.

摘要

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)是一组因为肝脏免疫耐受机制失衡引起的肝细胞或胆管上皮细胞的慢性损伤性炎症,是肝硬化和肝功能障碍的常见原因之一。利用间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)和抗原特异性检测方法,进行自身抗体的筛查和确认,是AILD病因学诊断的重要方法。新的靶抗原的发现和鉴定丰富了AILD自身抗体谱的组成,也拓展了自身抗体检测的临床应用范围。作为生物标记物,自身抗体的临床意义不仅体现在自身免疫性疾病的诊断上,在反映疾病活动性和严重程度、评价病情演进过程、疗效监测和预后判断等方面也发挥着越来越重要的作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 自身免疫性肝炎; 原发性胆汁性肝硬化; 自身抗体

核心提示: 在自身免疫疾病的发展过程中,自身抗体的组成和强度都处于变化之中。我们在丰富检测项目的同时,也要关注时间因素对检测结果的影响。

唐劼, 卢洁, 闫惠平. 自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测和临床意义. *世界华人消化杂志* 2013; 21(25): 2544-2550 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2544.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2544>

0 引言

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease,

■同行评议者
台桂香, 教授, 吉林省长春市吉林大学

AILD)是一组肝脏免疫耐受机制失衡引起的肝细胞或胆管上皮细胞的慢性损伤性炎症,是肝硬化和肝功能障碍的常见原因之一。AILD主要包括,以肝实质细胞进行性损伤为主的自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)^[1]、胆道系统受累的原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)以及原发性硬化型胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)^[2]。

在致病机制尚不明确的情况下,临床医生需要对血清学检测、组织活检、影像学证据和临床背景资料综合评价,同时还要排除病毒性肝炎、药物毒性以及某些代谢性疾病(如Wilson's disease等)后,才能做出正确的诊断。随着肝病免疫学的深入研究,特别是自身抗体及相应靶抗原的发现和鉴定,自身抗体的检测已经成为AILD诊断以及鉴别诊断的重要工具。

作为生物标记物,自身抗体的临床意义不仅体现在疾病诊断上,某些自身抗体在反映疾病活动度、监测病程、评价疗效和预后判断等方面,也是重要的参考指标^[3]。系统性和器官特异性自身免疫疾病(autoimmune disease, AID)的回溯性调查(血清库)和前瞻性研究(随访)均表明,与特定疾病关联的自身抗体在患者有明显临床症状候群出现数月或数年前已经产生,自身抗体可以作为自身免疫疾病的“预警”因子,基于这一事实,在易感人群或疑似患者中开展自身抗体谱的筛查是很有必要的^[4]。

本文主要对AILD相关自身抗体谱的检测方法、组成和临床意义作一较为系统的回顾,旨在强调运用多种抗体指标联合检测的方法,来获取更丰富更全面的信息,为AILD的诊治提供科学依据。另外,对AILD血清学检测临床实践中的常见问题和可能的解决方法,谈一谈作者粗浅的认识。

1 应用间接免疫荧光法筛查AILD相关自身抗体谱
常规筛查AILD自身抗体的方法是间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)。根据2004年国际自身免疫性肝炎协会(International Autoimmune Hepatitis Group, IAIHG)血清学检测委员会提出的AIH自身抗体检测指南,大鼠的肝、肾、胃组织切片组合作为抗体筛查的首选基质^[5]。利用这3种基质可以同时检测抗核抗体(anti-nuclear antibodies, ANA)、抗平滑肌抗体(smooth muscle antibody, SMA)、抗肝-肾微粒体-1抗体(anti-liver kidney microsome-1, anti-

LKM-1)、抗线粒体抗体(anti-mitochondria antibody, AMA)、抗肝细胞胞浆抗体(anti-liver cytosol, anti-LC1)。滴定之前,血清样本的初始稀释倍数分别是,成人1:40;对儿童而言,检测SMA、ANA为1:20, anti-LKM-1为1:10^[5]。实际上,临床标本的检测可能依据不同厂家试剂的要求来决定其初始稀释倍数。

ANA可以较容易在3种基质上鉴别出来。在鼠肝上可以呈现不同的荧光模型,核均质是AIH的典型荧光模型,而核颗粒型不常见。HEp-2细胞是检测ANA的标准基质,但血清样本在较低稀释倍数(1:40)的情况下,健康人群中ANA呈阳性的概率很高,所以在阳性结果的判读上需要谨慎,最好与特异性ANA自身抗体谱检测方法相结合。然而,对于疑似PBC或AIH-PBC重叠综合征的患者,在HEp-2细胞上可能出现PBC特异性的多核点型和核膜型荧光模型,前者与抗核小体抗体相对应,后者的靶抗原是核孔复合物蛋白^[6]。

SMA阳性血清使大鼠肝、肾和胃的动脉血管壁着色。在鼠肾基质上,血管(vessels, V)、肾小球(glomeruli, G)或肾小管(tubules, T)都可以呈现能够加以甄别的荧光模型。与单独出现血管阳性反应相比,血管与肾小球“双阳”和血管、肾小球和肾小管“三阳”对AIH的特异性更高,其中VGT荧光模型最支持AIH-1型的诊断。SMA在鼠肾基质上的VGT荧光模型与在成纤维细胞上的“微丝”荧光反应关联程度很高,两者可视为抗纤维肌动蛋白抗体(anti-F-actin)阳性。近年来,采用大鼠胚胎胸主动脉的细胞系,即血管平滑肌47作为IIF检测基质,与传统基质鼠肝-肾-胃相比,检测SMA的敏感度略低,但特异性相当,且更容易识别anti-F-actin,这种新的基质正在得到广泛的应用^[7]。

Anti-LKM-1以肝细胞胞浆和肾近端小管P3段强荧光染色为特点。在IIF荧光片的判读上,因为anti-LKM-1和AMA在肝脏和肾都呈阳性反应,所以容易混淆,两者的主要区别在于anti-LKM-1的主要抗原分布在肾脏的近端小管,而AMA使富集线粒体的远端肾小管呈现强荧光反应;在鼠胃基质上,AMA使胃黏膜壁细胞呈颗粒型荧光,而anti-LKM-1对壁细胞无反应;在鼠肝组织切片上,AMA表现的肝细胞胞浆荧光强度明显弱于anti-LKM-1。所以,综合肝、肾、胃3种基质的荧光特点应该能够比较准确的区分anti-LKM-1和AMA。虽然HEp-2细胞也能够用来识

■ 研发前沿
在过去的十几年里,自身免疫血清学诊断技术取得了跨越式的发展,如何选择合适的检测方法,运用恰当的检测策略,科学合理的分析和解读多参数检测指标,并服务于临床诊疗实践,是对检验科医师和临床医生的一种挑战,也是循证医学领域的研究热点。

■ 相关报道

国内有关自身免疫性肝病的研究报道近年来呈上升趋势,内容多集中在发病机制的探索和血清学标记物的临床应用方面。

别AMA,但是在HEp-2细胞上AMA阳性与肝-肾-胃3种基质的判读结果并不总是一致,与特异性的AMA-M2检测结果也可能出现偏差,因而单独使用HEp-2检测AMA不可取。

Anti-LC1使肝细胞胞浆染色,荧光呈带状分布,静脉周围的肝细胞荧光染色最为明显,此外,肾小管也可以出现阳性反应。anti-LC1可以单独存在,但是通常与anti-LKM-1并存,在这种情况下,辨认anti-LC1将会比较困难。此时,抗原特异性检测对于准确鉴定anti-LKM-1和anti-LC1显得尤为重要。

抗中性粒细胞胞浆抗体(antineutrophil cytoplasmic antibody, ANCA)在乙醇固定的中性粒细胞上的荧光模型有2种表现形式,胞浆型的c-ANCA和核周染色的p-ANCA。对于AIH和PSC患者,ANCA是一种非典型p-ANCA,与经典的p-ANCA存在明显区别。在甲醛固定的中性粒细胞上,非典型p-ANCA仍能保持核周染色,而与系统性血管炎相关的p-ANCA则转变成c-ANCA荧光模型。这类非典型p-ANCA作用的靶抗原位于核膜,也称作核周型抗中性粒细胞核抗体(perinuclear anti-neutrophil nuclear antibodies, p-ANNA),在AIH-1型患者中的阳性率为50%-96%,而绝大多数AIH-2型患者为阴性。除了AIH外,p-ANNA在PSC(60%-92%)、溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)(60%-87%)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)(5%-25%)也有很高的检出率。

2 AILD相关抗原特异性自身抗体谱组成

2.1 抗核抗体 目前,还没有发现AIH特异性的ANA表达谱。在AIH患者血清中,ANA的抗原谱包括,中心体、组蛋白、dsDNA、染色质、核蛋白体复合物,其中,抗染色质抗体与典型IIF核均质荧光模型相对应。与AIH不同,PBC相关ANA抗体谱的研究已经取得了很大进展。大约50%PBC患者ANA检测呈阳性结果,在AMA阴性PBC患者中的阳性比率可达85%^[8]。目前发现的靶抗原位于细胞核内的Sp100、Sp140、早幼粒白血病蛋白(promyelocytic leukemia protein, PML)和小泛素样修饰蛋白(small ubiquitin-like modifier, SUMO),与多核点荧光模型相对应;核孔复合物(nuclear pore complex, NPC)蛋白gp210、p62(62 kDa nucleoporin)、核纤层蛋白B受体(lamin B receptor, LBR)等,表现为核膜型荧光。Janka等^[9]对PBC患者中抗核小体复合物抗

体的研究表明,anti-Sp100和anti-PML在PBC患者的阳性率分别达到30%和20%,anti-SUMO-1和-2在前两者检测阳性的血清中的检出率分别为15%和42%。在PBC并发尿路感染患者中,有74%的个体血清学检测anti-Sp100呈阳性,而无尿路感染的PBC患者的阳性率仅有4.8%,这种现象提示了某些感染因素可以诱发PBC相关自身抗体的产生^[10]。新近发现的自身抗原Sp140与Sp100、PML同为核小体复合物的组成成份,anti-Sp140在PBC患者的阳性率约为15%,与抗Sp100和PML抗体存在明显的共存关系^[11]。Anti-gp210在PBC患者中的阳性率在10%-25%之间,anti-LBR约为1%,但是两者是PBC高度特异性的标记物(特异性均超过95%)。Bauer等^[12]报道,使用gp210羧基端15个氨基酸肽段作为靶抗原检测anti-gp210,对PBC的特异性达到99%。与anti-gp210在PBC患者中较低的检出率(10%)相比,p62(55%)可能更有优势^[13]。

2.2 抗平滑肌抗体 SMA可以识别包括微管、中间丝和微丝在内的多种细胞骨架成分。F-actin属于微丝的一种,是AIH相关荧光模型针对的主要靶抗原。F-actin-ELISA与IIF检测结果一致率较高,但不完全吻合^[7]。根据IIF典型“anti-actin”荧光模型诊断AIH,仍然是能够获得最佳特异性和敏感度的检测方法^[5]。

2.3 抗肝-肾微粒体-1抗体 Anti-LKM-1的靶抗原是微粒体中的细胞色素P450 II D6(CYP2D6),该抗原的确认,推动了基于CYP2D6重组抗原ELISA方法的建立,这对于鉴别IIF不易区分的AMA与anti-LKM-1两种荧光模型发挥了重要作用。Anti-LKM-1能够识别CYP2D6196-218、CYP2D6254-271和CYP2D6321-351 3个线性表位,这3个线性表位也是免疫优势表位,CYP2D6构象表位位于羧基端部^[14]。在某些HCV感染者中,IIF检测结果为anti-LKM-1阳性,ELISA却呈阴性,这可能是由于ELISA方法本身的局限性,检测不到某些识别CYP2D6构象表位的anti-LKM-1。

2.4 抗肝细胞胞浆抗体 亚胺甲基转移酶环化脱氨酶(formimino-transferase cyclodeaminase, FTCD)已经作为抗原来检测anti-LC1,用于AIH-2型的诊断^[15]。

2.5 抗可溶性肝抗原/抗肝-胰抗体和抗去唾液酸糖蛋白受体抗体 虽然抗可溶性肝抗原/抗肝-胰抗体(anti-soluble liver antigen/anti-liver pancreas, anti-SLA/LP)和抗去唾液酸糖蛋白受体抗体

(anti-asialoglycoprotein receptor, anti-ASGPR)是AIH相关抗体,但目前采用IIF方法检测不到,只能通过ELISA或免疫印迹法来进行检测. Anti-SLA/LP与tRNP(Ser)Sec(一种硒代半胱氨酸合成酶)特异性结合,是AIH-1型特异性抗体,通常与ANA、SMA共存,但是在少数情况下,anti-SLA/LP可以单独阳性,这时其诊断意义显得尤为重要. 新近的研究表明,约58%的AIH患者产生SLA特异性的以CD4⁺ T细胞为主的细胞免疫应答,而且该免疫反应在anti-SLA/LP阳性患者中的强度显著高于anti-SLA/LP阴性者,这类自身反应性T细胞与肝脏的损伤存在紧密的关联^[16]. 此外,在SLA/LP分子上的免疫优势片段与Rickettsia spp. 表面抗原PS120的局部肽段之间存在高度的同源性,而且这两个肽段都可能与HLA-DRB1*03:01结合,这提示分子拟态机制在anti-SLA/LP产生中的作用^[17]. Anti-ASGPR的靶抗原是ASGPR(去唾液酸糖蛋白受体),早期的研究报道约90%AIH患者此种抗体检测呈阳性,可以与ANA、SMA和anti-LKM-1共存^[18]. 但anti-ASGPR的特异性不高,在病毒性肝炎、药物诱导的肝损害、PBC等疾病中也可以检测到.

2.6 抗线粒体抗体 AMA是PBC特异性抗体,阳性率在90%-95%之间. 根据靶抗原的不同,AMA分为9个亚类,即M1-M9,其中,与PBC紧密相关的是M2、M4、M8和M9. M2抗原位于线粒体内膜,而M4、M8、M9抗原在线粒体外膜分布^[19]. AMA-M2与PBC的关联度最高,也是特异性和敏感度最强的诊断指标,他与2-氧酸脱氢酶复合物(2-oxo-acid dehydrogenase complex, 2-OADC)家族的E2亚基硫辛酸结构域结合. 已经鉴定的2-OADC-E2包括丙酮酸脱氢酶复合物E2亚基(pyruvate dehydrogenase complex E2, PDC-E2)、支链2-氧酸脱氢酶复合物E2亚基(branched-chain 2-oxo-acid dehydrogenase complex E2, BCOACD-E2)和2-氧戊二酸脱氢酶复合物E2亚基(2-oxo glutarate dehydrogenase complex E2, OGDC-E2). 运用表位描记和基因重组技术,将PDC-E2、BCOACD-E2、OGDC-E2的免疫优势表位融合,构建成融合蛋白MIT3,用ELISA方法检测血清中的AMA,比IIF和PDC-E2-ELISA具有更高的特异性和敏感性^[20]. 最近, Dähnrich等^[21]用MIT3与纯化的天然PDC混合物检测AMA抗体,与单独使用MIT3或PDC为抗原的ELISA方法或传统的IIF相比,表现出更高的灵敏度.

2.7 非典型p-ANCA TBB5可能是IBD和PSC的

非典型p-ANCA作用的重要靶点,但是TBB5-ELISA检测相应抗体时,对PSC与其他AILD疾病的鉴别能力低于预期^[22].

3 自身抗体检测对AILD的诊断价值

自身抗体检测是AILD诊断的必要血清学检查项目,也是AILD与其他临床症状体征相似的慢性肝脏疾病鉴别诊断的重要依据. 然而,自身抗体检测阳性本身并不能作为AILD的确诊依据,必须结合临床背景资料和诊断标准,进行综合评价,才能做出客观正确的诊断.

对于临床表现、血清生化指标或组织学证据提示AILD的个体,ANA、SMA、anti-LKM-1、AMA和p-ANCA应该是主要的检测指标. 另外,在这5项检测结果为阴性时,进行anti-LC1、anti-SLA/LP和anti-ASGPR的检测,对AIH诊断的评分结果可能有帮助^[23]. 在AIH-1型患者中,ANA和/或SMA阳性者占大多数,这两项为阴性的个体中约有5%的个体anti-SLA/LP检测可能为阳性^[24]. 在有较为典型临床表现的AIH-2型患者中,anti-LKM-1和/或anti-LC1阳性者占到90%以上^[23]. PBC患者中AMA阴性者约占5%^[25],IIF在HEp-2细胞上可以呈“多核点”或“核膜型”荧光模型,需要进一步检测PBC特异性的ANA抗体,anti-Sp100、anti-PML和anti-gp210可作为首选的考察指标.

作为诊断参考依据的自身抗体检测在用于临床诊断时,以下几点需要引起我们的注意. (1)由于抗体滴度在某些疾病演进过程中可能会出现变化,所以不能凭借单次检测的阴性结果排除AILD,应该在合理时间间隔内进行多次检测,分析其变化的趋势和特点; (2)自身免疫病是免疫耐受机制失衡引起的异常免疫应答,是一种系统性疾病,在发病个体通常表现为多种自身抗体并存的情形,自身抗体表达谱的检测对于反映疾病的真实面貌是合理的选择,也是自身抗体血清学检测的发展趋势; (3)对于IIF筛查结果呈阳性者,应该作相应的抗原特异性的检测来确认,例如采用ELISA或免疫印迹法,根据抗体谱的表达特点,对疾病活动度、免疫治疗效果和预后做出判断; (4)由于目前AILD的发病机制不清楚,肝脏的免疫损伤机制涉及复杂的细胞免疫和体液免疫在遗传易感个体中的交互作用,自身抗体是病理损伤的结果还是原因尚无定论,所以自身抗体检测只能作为AILD诊断的参考依据^[26].

■创新盘点

本文旨在通过系统的介绍自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测方法和临床应用价值,让读者对这一领域的现状和问题有较为全面的了解.

■应用要点

自身免疫性肝病自身抗体检测方法需要根据患者的具体情况作出合理的选择,一份科学合理的检测结果报告需要临床医生和检验科医师的沟通和配合。

4 自身抗体对疾病的预测价值

某些自身免疫性疾病,在出现典型的临床症状之前几年甚至数年,相关自身抗体就已经存在,而且某些特异性抗体与疾病之间存在紧密的病因连锁关系,对这些自身抗体的检测对于疾病的预测以及早期诊断和治疗都有重要的指导意义。自身抗体的预测价值主要体现在对自身免疫疾病发病、病情严重程度、疾病演进过程、免疫抑制治疗效果、特定临床表现等方面的预测上。因此,具有疾病预测意义的自身抗体检测,有助于自身免疫疾病的早期发现和早期治疗,这对延缓疾病的进展以及预防严重并发症的发生有重要作用。

4.1 自身免疫性肝炎 一项对99例AIH-1患者的研究表明, anti-actin阳性个体与发病年龄较年轻,免疫抑制治疗效果不佳以及肝功能衰竭有显著的关联,这说明了anti-actin作为血清学筛查指标,除了可以提高AIH诊断的敏感性,对疾病预后也有一定的预测价值^[27]。此外, anti-dsDNA、anti-AS-GPR、anti-SLA/LP和anti-LC1与较严重的病情、高复发率、免疫抑制治疗效果不佳等有关^[28-31]。

4.2 原发性胆汁性肝硬化 对于无症状的且ALP正常的个体, AMA检测同样也是诊断PBC的关键指标。在AMA阳性但是没有胆汁淤积症状患者中,已经出现PBC组织病理改变的比例可达40%,其余个体在随访中发生PBC的风险明显增大^[32]。ALP升高、高滴度AMA-M2和-M4可能是PBC呈急性发展的风险因子^[33]。AMA-IgG3阳性患者发生肝硬化的可能性增大,而且AMA-IgG3滴度与梅奥风险评分(Mayo risk score, MRS)风险指数呈正相关^[34]。国内学者发现, AMA阳性PBC患者如果配合以MRS和血清IgG水平的检测,对疾病预后可以做出更加准确的判断^[35]。由此可见,在慢性肝病中开展AMA的筛查,对于PBC的早期诊断,尽早使用UDCA预防PBC或延缓病情很有意义。

PBC相关ANA中, anti-gp210的疾病预测功能得到了多项研究的支持。Anti-gp210可以作为独立风险因子,与PBC发展成为终末期肝功能衰竭密切相关^[36], anti-gp210滴度变化的测定可用来监测UDCA治疗效果和评估PBC预后^[37]。Nakamura等^[38]对276例PBC确诊患者的PBC相关抗体表达与病情演进方式相关性的研究表明, anti-gp210与肝功能衰竭高度相关,抗中心体抗体(anti-centromere antibody, ACA)的存在提示发生门脉高压的风险。

5 AILD血清学检测中的问题

5.1 IIF初筛与抗原特异性检测 根据IAIHG的建议, ELISA应该作为IIF的补充,而不能替代IIF,两种方法各有其优势,也有其局限性,所以检测结果不能直接进行比较^[5]。由于IIF技术本身的限制性,如IIF检验结果需要训练有素的专业人员判读,难以实现自动化,检测过程费时费力、通量低等,现在的大型医院更多依赖ELISA、多指标免疫印迹等操作便捷、自动化程度高的检测方法。然而,利用特异性检测方法在获得比较满意的敏感度时,特异性因为使用不同供应商的产品而有很大的差别,而这种问题很少在使用鼠肝-肾-胃为标准基质的IIF上发生。因此在自身抗体检测的方法和流程选择方面,目前仍然推荐在IIF筛查的基础上,作特异性检测进行确认;而对出现典型临床表现的疑似AILD患者,即使IIF检测结果为阴性,也有必要作AILD相关特异性自身抗体谱的检测,以提高诊断的准确性。

5.2 自身抗体检测结果的判读 具有诊断和预测价值的新的靶抗原不断被发现,丰富了AILD自身抗体谱的组成,同时也对检测结果的判读带来了新的挑战。(1)不同抗体自身的检验特性。传统的特异性检测指标的敏感度很高,但特异性较低,而大多数新的特异性自身抗体具有很高的特异性,而敏感度较低;(2)不同抗体的临床意义不同。传统的抗体在疾病诊断方面依然是主要的标记物,然而其预测价值往往不及新的指标;(3)血清学诊断结果与临床表现不符者的判读。在两者不符情况下,考虑到抗体的疾病预测功能,对于自身抗体检测阳性的个体,定期监测并适时进行药物干预不失为明智之举。

5.3 自身抗体检测的标准化问题 在过去的十几年中,抗原特异性检测方法在临床实验室中得到了广泛的应用,但是在检测结果的判读上普遍缺乏统一的标准和严格的质控程序(quality assurance program, QAP)。完整的质控(quality assurance, QA)体系需要产品供应商、正式的半官方机构(如卫生部临床检验中心)和检验医/技师共同参与完成。首先,产品在推向市场之前,供应商必需完成室内QA和注册,同时也是QAP的参与者;其次,美国的病理学院(The College of American Pathologist, CAP)、英国的质量评估系统(A National External Quality Assessment Service, NEQAS)、德国的国标(Institute für Standardisierung, INSTAND)定期举行AMA、anti-LKM-1、SMA的“室间”QAP,已经吸引越

来越多的实验室参与, 以验证不同方法学和不同产品的检测效能; 最后, 作为血清学检测“终端用户”的临床医师和检验医/技师, 必需熟悉检测项目的适应症、内容和意义, 各种检测方法的优缺点, 结合临床背景对检测结果进行判读^[39]。由于通过多参数检测技术可以获得一组检测指标的数据, 以往“点对点”的线性分析方法已经无法满足临床应用的需要, 建立新的便捷高效的多参数分析方法已经势在必行。

6 结论

AILD相关自身抗体谱, 在疾病演进过程中, 在种类和强度两个方面不断的发生变化, 这就要求我们在不断丰富检测项目的同时, 也要关注疾病动态变化对检测结果的影响。在今后的研究中, 不同抗体组合与疾病特质的关联性, 以及在疾病发展过程中, 抗体表达谱的变化, 将是循证医学研究的重点。我们希望通过这样的研究, 为防治自身免疫疾病提供科学依据。

7 参考文献

- 1 Krawitt EL. Autoimmune hepatitis. *N Engl J Med* 2006; 354: 54-66 [PMID: 16394302 DOI: 10.1056/NEJMra050408]
- 2 European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J Hepatol* 2009; 51: 237-267 [PMID: 19501929 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.04.009]
- 3 Roep BO, Buckner J, Sawcer S, Toes R, Zipp F. The problems and promises of research into human immunology and autoimmune disease. *Nat Med* 2012; 18: 48-53 [PMID: 22227672 DOI: 10.1038/nm.2626]
- 4 Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, Scofield RH, Dennis GJ, James JA, Harley JB. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 1526-1533 [PMID: 14561795 DOI: 10.1056/NEJMoa021933]
- 5 Vergani D, Alvarez F, Bianchi FB, Cançado EL, Mackay IR, Manns MP, Nishioka M, Penner E. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group. *J Hepatol* 2004; 41: 677-683 [PMID: 15464251 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.08.002]
- 6 Yang Z, Liang Y, Qin B, Li C, Zhong R. Clinical significance of conventional serum autoantibodies for various liver diseases in a Chinese population. *Clin Biochem* 2012; 45: 203-206 [PMID: 21933666 DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2011.08.1146]
- 7 Villalta D, Bizzaro N, Da Re M, Tozzoli R, Komorowski L, Tonutti E. Diagnostic accuracy of four different immunological methods for the detection of anti-F-actin autoantibodies in type 1 autoimmune hepatitis and other liver-related disorders. *Autoimmunity* 2008; 41: 105-110 [PMID: 18176872 DOI: 10.1080/08916930701619896]
- 8 Muratori P, Muratori L, Ferrari R, Cassani F, Bianchi G, Lenzi M, Rodrigo L, Linares A, Fuentes D, Bianchi FB. Characterization and clinical impact of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 431-437 [PMID: 12591064 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07257.x]
- 9 Janka C, Selmi C, Gershwin ME, Will H, Sternsdorf T. Small ubiquitin-related modifiers: A novel and independent class of autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2005; 41: 609-616 [PMID: 15726652 DOI: 10.1002/hep.20619]
- 10 Bogdanos DP, Baum H, Butler P, Rigopoulou EI, Davies ET, Ma Y, Burroughs AK, Vergani D. Association between the primary biliary cirrhosis specific anti-sp100 antibodies and recurrent urinary tract infection. *Dig Liver Dis* 2003; 35: 801-805 [PMID: 14674671 DOI: 10.1016/S1590-8658(03)00466-3]
- 11 Granito A, Yang WH, Muratori L, Lim MJ, Nakajima A, Ferri S, Pappas G, Quarneti C, Bianchi FB, Bloch DB, Muratori P. PML nuclear body component Sp140 is a novel autoantigen in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 125-131 [PMID: 19861957 DOI: 10.1038/ajg.2009.596]
- 12 Bauer A, Habior A. Measurement of gp210 autoantibodies in sera of patients with primary biliary cirrhosis. *J Clin Lab Anal* 2007; 21: 227-231 [PMID: 17621358 DOI: 10.1002/jcla.20170]
- 13 Wesierska-Gadek J, Klima A, Komina O, Ranftler C, Invernizzi P, Penner E. Characterization of autoantibodies against components of the nuclear pore complexes: high frequency of anti-p62 nucleoporin antibodies. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1109: 519-530 [PMID: 17785341 DOI: 10.1196/annals.1398.058]
- 14 Ma Y, Thomas MG, Okamoto M, Bogdanos DP, Nagl S, Kerkar N, Lopes AR, Muratori L, Lenzi M, Bianchi FB, Mieli-Vergani G, Vergani D. Key residues of a major cytochrome P4502D6 epitope are located on the surface of the molecule. *J Immunol* 2002; 169: 277-285 [PMID: 12077255]
- 15 Muratori L, Sztul E, Muratori P, Gao Y, Ripalti A, Ponti C, Lenzi M, Landini MP, Bianchi FB. Distinct epitopes on formiminotransferase cyclodeaminase induce autoimmune liver cytosol antibody type 1. *Hepatology* 2001; 34: 494-501 [PMID: 11526534 DOI: 10.1053/jhep.2001.27179]
- 16 Zhao Y, Zhang Y, Liu YM, Liu Y, Feng X, Liao HY, Vergani D, Ma Y, Yan HP. Identification of T cell epitopes on soluble liver antigen in Chinese patients with auto-immune hepatitis. *Liver Int* 2011; 31: 721-729 [PMID: 21457445 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02487.x]
- 17 Paiardini A, Pascarella S. Structural mimicry between SLA/LP and Rickettsia surface antigens as a driver of autoimmune hepatitis: insights from an in silico study. *Theor Biol Med Model* 2013; 10: 25 [PMID: 23575112 DOI: 10.1186/1742-4682-10-25]
- 18 Strassburg CP, Manns MP. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 2002; 22: 339-352 [PMID: 12447706 DOI: 10.1055/s-2002-35704]
- 19 Hu CJ, Zhang FC, Li YZ, Zhang X. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3616-3629 [PMID: 20677333 DOI: 10.3748/wjg.v16.i29.3616]
- 20 Gabeta S, Norman GL, Liaskos C, Papamichalis PA, Zografos T, Garagounis A, Rigopoulou EI, Dalekos GN. Diagnostic relevance and clinical significance of the new enhanced performance M2 (MIT3) ELI-

■同行评价

本文对自身免疫性肝病的自身抗原谱进行了综述, 并对自身抗体的临床应用价值进行了分析和讨论, 尤其提出了疾病的预测价值, 对于临床检测有指导意义。

- SA for the detection of IgA and IgG antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. *J Clin Immunol* 2007; 27: 378-387 [PMID: 17514501 DOI: 10.1007/s10875-007-9092-0]
- 21 Dähnrich C, Pares A, Caballeria L, Rosemann A, Schlumberger W, Probst C, Mytilinaiou M, Bogdanos D, Vergani D, Stöcker W, Komorowski L. New ELISA for detecting primary biliary cirrhosis-specific antimitochondrial antibodies. *Clin Chem* 2009; 55: 978-985 [PMID: 19264849 DOI: 10.1373/clinchem.2008.118299]
 - 22 Terjung B, Spengler U, Sauerbruch T, Worman HJ. "Atypical p-ANCA" in IBD and hepatobiliary disorders react with a 50-kilodalton nuclear envelope protein of neutrophils and myeloid cell lines. *Gastroenterology* 2000; 119: 310-322 [PMID: 10930366 DOI: 10.1053/gast.2000.9366]
 - 23 Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, Chapman RW, Cooksley WG, Czaja AJ, Desmet VJ, Donaldson PT, Edleston AL, Fainboim L, Heathcote J, Homberg JC, Hoofnagle JH, Kakumu S, Krawitt EL, Mackay IR, MacSween RN, Maddrey WC, Manns MP, McFarlane IG, Meyer zum Büschenfelde KH, Zeniya M. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 929-938 [PMID: 10580593 DOI: 10.1016/S0168-8278(99)80297-9]
 - 24 Bogdanos DP, Invernizzi P, Mackay IR, Vergani D. Autoimmune liver serology: current diagnostic and clinical challenges. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3374-3387 [PMID: 18528935 DOI: 10.3748/wjg.14.3374]
 - 25 Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 2005; 353: 1261-1273 [PMID: 16177252 DOI: 10.1056/NEJMra043898]
 - 26 Conrad K, Roggenbuck D, Reinhold D, Sack U. Autoantibody diagnostics in clinical practice. *Autoimmun Rev* 2012; 11: 207-211 [PMID: 21621008 DOI: 10.1016/j.autrev.2011.05.014]
 - 27 Czaja AJ, Cassani F, Cataleta M, Valentini P, Bianchi FB. Frequency and significance of antibodies to actin in type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1996; 24: 1068-1073 [PMID: 8903377 DOI: 10.1002/hep.510240515]
 - 28 Czaja AJ, Morshed SA, Parveen S, Nishioka M. Antibodies to single-stranded and double-stranded DNA in antinuclear antibody-positive type 1-autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1997; 26: 567-572 [PMID: 9303484 DOI: 10.1002/hep.510260306]
 - 29 Czaja AJ, Pfeifer KD, Decker RH, Vallari AS. Frequency and significance of antibodies to asialoglycoprotein receptor in type 1 autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1733-1740 [PMID: 8794787 DOI: 10.1007/BF02088738]
 - 30 Ma Y, Okamoto M, Thomas MG, Bogdanos DP, Lopes AR, Portmann B, Underhill J, Dürr R, Mieli-Vergani G, Vergani D. Antibodies to conformational epitopes of soluble liver antigen define a severe form of autoimmune liver disease. *Hepatology* 2002; 35: 658-664 [PMID: 11870381 DOI: 10.1053/jhep.2002.32092]
 - 31 McFarlane IG, Hegarty JE, McSorley CG, McFarlane BM, Williams R. Antibodies to liver-specific protein predict outcome of treatment with withdrawal in autoimmune chronic active hepatitis. *Lancet* 1984; 2: 954-956 [PMID: 6149344 DOI: 10.1016/S0140-6736(84)91167-X]
 - 32 Prince MI, Chetwynd A, Craig WL, Metcalf JV, James OF. Asymptomatic primary biliary cirrhosis: clinical features, prognosis, and symptom progression in a large population based cohort. *Gut* 2004; 53: 865-870 [PMID: 15138215 DOI: 10.1136/gut.2003.023937]
 - 33 Flisiak R, Pelszynska M, Prokopowicz D, Rogalska M, Grygoruk U. High concentration of antimitochondrial antibodies predicts progressive primary biliary cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 5706-5709 [PMID: 16237770]
 - 34 Rigopoulou EI, Davies ET, Bogdanos DP, Liaskos C, Mytilinaiou M, Koukoulis GK, Dalekos GN, Vergani D. Antimitochondrial antibodies of immunoglobulin G3 subclass are associated with a more severe disease course in primary biliary cirrhosis. *Liver Int* 2007; 27: 1226-1231 [PMID: 17919234 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2007.01586.x]
 - 35 Zhao DT, Liao HY, Liu YM, Zhao Y, Feng X, Yan HP. Prognostic factors and survival analysis of antimitochondrial antibody-positive primary biliary cirrhosis in Chinese patients. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2750-2757 [PMID: 21409375 DOI: 10.1007/s10620-011-1661-7]
 - 36 Wesierska-Gadek J, Penner E, Battezzati PM, Selmi C, Zuin M, Hitchman E, Worman HJ, Gershwin ME, Podda M, Invernizzi P. Correlation of initial autoantibody profile and clinical outcome in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43: 1135-1144 [PMID: 16628641 DOI: 10.1002/hep.21172]
 - 37 Nakamura M, Shimizu-Yoshida Y, Takii Y, Komori A, Yokoyama T, Ueki T, Daikoku M, Yano K, Matsumoto T, Migita K, Yatsuhashi H, Ito M, Masaki N, Adachi H, Watanabe Y, Nakamura Y, Saoshiro T, Sodeyama T, Koga M, Shimoda S, Ishibashi H. Antibody titer to gp210-C terminal peptide as a clinical parameter for monitoring primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2005; 42: 386-392 [PMID: 15710222 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.11.016]
 - 38 Nakamura M, Kondo H, Mori T, Komori A, Matsuyama M, Ito M, Takii Y, Koyabu M, Yokoyama T, Migita K, Daikoku M, Abiru S, Yatsuhashi H, Takezaki E, Masaki N, Sugi K, Honda K, Adachi H, Nishi H, Watanabe Y, Nakamura Y, Shimada M, Komatsu T, Saito A, Saoshiro T, Harada H, Sodeyama T, Hayashi S, Masumoto A, Sando T, Yamamoto T, Sakai H, Kobayashi M, Muro T, Koga M, Shums Z, Norman GL, Ishibashi H. Anti-gp210 and anti-centromere antibodies are different risk factors for the progression of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2007; 45: 118-127 [PMID: 17187436 DOI: 10.1002/hep.21472]
 - 39 李金明. 我国临床分子诊断质量管理与标准化的现状、问题和对策. *临床检验杂志* 2012; 30: 742-745

编辑 田滢 电编 鲁亚静



食物不耐受和功能性胃肠病关系的研究进展

谭全会, 李兴华

谭全会, 李兴华, 江苏大学附属上海市第八人民医院 上海市 200235

谭全会, 主要从事胃肠动力学的研究.

作者贡献分布: 本综述由谭全会撰写; 李兴华审校.

通讯作者: 谭全会, 200235, 上海市徐汇区漕宝路8号, 江苏大学附属上海市第八人民医院. tanquanhui@sina.cn

电话: 021-34284588-3020

收稿日期: 2013-06-03 修回日期: 2013-07-08

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-09-08

Progress in understanding the relationship between food intolerance and functional gastrointestinal disorders

Quan-Hui Tan, Xing-Hua Li

Quan-Hui Tan, Xing-Hua Li, the Affiliated Shanghai Eighth People's Hospital of Jiangsu University, Shanghai 200235, China

Correspondence to: Quan-Hui Tan, the Affiliated Shanghai Eighth People's Hospital of Jiangsu University, 8 Cao-bao Road, Xuhui District, Shanghai 200235, China. tanquanhui@sina.cn

Received: 2013-06-03 Revised: 2013-07-08

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-09-08

Abstract

Functional gastrointestinal disorders (FGIDs) are a group of conditions characterized by the presence of chronic or recurrent gastrointestinal symptoms. Currently, the exact pathogenesis of FGIDs is still unknown, and their diagnosis relies on the exclusion of organic diseases. A number of studies have found that food intolerances can induce FGIDs and therefore has important implications for the diagnosis and treatment of FGIDs. In this paper, we review the recent progress in understanding the relationship between FGIDs and food intolerances in terms of pathogenesis, diagnosis, treatment, detection, and relationship between food intolerance and other diseases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Functional gastrointestinal disorders; Food intolerance; Specific IgG antibodies

Tan QH, Li XH. Progress in understanding the

relationship between food intolerance and functional gastrointestinal disorders. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2551-2556 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2551.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2551>

摘要

功能性胃肠病是一组表现为慢性或反复发作性的胃肠道综合征, 需经检查排除器质性疾病方可确诊, 但其确切的发病机制仍不清楚. 目前多项研究发现食物不耐受可以诱发功能性胃肠病, 且与功能性胃肠病的诊治有密切关系. 食物不耐受是一组由特异性IgG抗体介导的复杂的免疫反应. 本文在国内外研究的基础上, 从食物不耐受和功能性胃肠病的发病机制、诊断、检测、治疗及与其他疾病的关系等方面, 分析了食物不耐受与功能性胃肠病关系的研究进展. 但到目前为止, 仍然无法彻底地阐述食物不耐受是如何对功能性胃肠病产生影响的, 这一机制有待进一步深入研究.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 功能性胃肠病; 食物不耐受; 特异性IgG抗体

核心提示: 国内外多项研究表明, 食物不耐受对功能性胃肠病的发病机制有密切的关系, 食物不耐受与多种疾病有关系, 通过食物不耐受的检测, 可以改善功能性胃肠病的一些症状, 甚至治愈一些功能性胃肠病, 但是食物不耐受影响功能性胃肠病的机制仍然不清楚, 有待进一步研究.

谭全会, 李兴华. 食物不耐受和功能性胃肠病关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(25): 2551-2556 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2551.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2551>

0 引言

到目前为止, 虽然医学界对功能性胃肠疾病 (functional gastrointestinal disorders, FGIDs) 的发病机制有一定的研究成果, 如: 动力障碍、内脏高敏、菌群紊乱等, 但是还无法彻底地解释清楚其发病机制, 同时还缺乏有效的诊疗方法, 故

■背景资料

目前功能性胃肠病发病率呈现逐年上升的趋势. 有关功能性胃肠病的发病机制目前仍然不能得到明确的答案, 其诊断和治疗也还存在局限, 没有研究出有效的诊断和治疗方法, 这一问题亟待解决. 国内外越来越多的研究报告表明, 食物不耐受在一定程度上影响着功能性胃肠病, 食物不耐受对功能性胃肠病的发病和诊治有很大程度的影响, 故可以根据这些理论, 探讨食物不耐受影响功能性胃肠病的机制.

■同行评议者

陆伦根, 教授, 上海交通大学附属第一人民医院消化科

■ 相关报道

Spanier等的研究表明许多因诊断不明而被归为“功能性”的疾病实际都是由食物过敏所致;国内有研究报道表明食物特异性IgG4抗体指导的限制性,饮食可以改善肠易激综合征症状和直肠顺应性。

给患者带来一定的痛苦和不便。食物不耐受是指人们食入某些食物后,机体免疫系统产生复杂的变态反应,产生食物特异性IgG抗体,这些抗体与食物消化颗粒形成免疫复合物,免疫复合物沉积于机体的各个部位,进而引起各个系统的症状。近几年,越来越多的国内外研究表明,食物不耐受与功能性胃肠病的发病机制及诊治有一定程度的关系,但是对功能性胃肠病产生影响的具体机制仍然没有研究清楚,所以其与功能性胃肠病的关系一直存有争议。本文从国内外对两者的研究现状出发,对FGIDs的发病机制以及其与食物不耐受的关系等方面作了综述。

1 FGIDs概述

FGIDs是指具有慢性及反复性消化系症状,但缺少解剖、生化和病理学变化依据的临床症候群,主要表现为腹痛、腹胀、恶心、早饱、呕吐、腹泻及排便困难等。国外报道本病在普通人群的患病率为34.6%,就诊率为62.11%^[1]。FGIDs是消化界近年来研究的热点和难点,由于此类疾病发病逐年率高,病因不甚清楚,发病机制研究困难,治疗方面目前长期有效或治愈性药物甚少,因此给患者的工作和生活带来严重影响,同时导致社会医疗费用大量浪费。

结合国内外文献,目前主要在以下几个方面对功能性胃肠病的发病机制进行了研究。

1.1 胃肠动力异常 多项研究表明,功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)患者有近端胃的适应性调节异常、胃排空延迟、胃肠的生理电节律障碍等。闻淑军等^[2]通过对实验组肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者的研究,发现IBS患者有胃结肠反应异常和结肠运动障碍。

1.2 内脏敏感性增高 功能性胃肠病发生的病理生理机制有多种,内脏敏感性增高为其中之一。目前关于内脏敏感增高的机制主要包括:(1)一些功能性胃肠病的患者可以感受一些异常的生理刺激,引起一系列消化系症状,而这些生理刺激对正常的人来说是无法感知的;(2)对机体受到的“伤害”反应超敏,比如对疼痛的反应,特别是对一些与慢性疼痛或反复发作疼痛有关的疾病,如慢性腹痛、食管源性胸痛、功能性腹痛综合征等,都与内脏感觉超常有密切的关系^[3]。

1.3 炎症与肠内菌群紊乱 有研究显示,约17%的FD和7%-32%的IBS患者有胃肠道感染史,炎症消退机制存在缺陷可能是感染后胃肠性疾病的主要原因。一方面,炎症的持续存在不仅可以增

加内脏敏感性,还可能导致患者Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal pacemaker cells, ICC)形态的改变以及神经肽含量或其免疫反应神经元数量的增加等,这些改变与患者症状的产生有密切关系^[4]。另一方面,一些IBS患者肠内细菌过度生长,通过改变白介素10(interleukin-10, IL-10)与IL-12的比例,导致局部炎性细胞因子增加,从而引起IBS。

1.4 脑-肠轴调解异常 胃肠道的神经系统由中枢神经、自主神经和肠神经共同组成。他们从不同层次把胃肠道与中枢神经系统结合起来。机体通过对脑-肠轴的调解,可以起到调解胃肠道的功能,这种调解方式称为脑-肠互动^[5]。这种调控不仅精细而且复杂,但是如果其中任何一个环节出现障碍,都有可能引起胃肠功能或结构的损害,进而导致疾病的产生。

1.5 心理社会因素 有研究表明,FGIDs患者中42%-61%伴有心理障碍^[6],相对于其他器质性疾病和正常人群明显偏高。虽然心理社会因素不是诊断功能性胃肠病的必须条件,但是他却影响患者对疾病的自身感受、心理和情绪等,且对临床效果产生一定程度的影响,有研究FGIDs患者心理社会因素特征的学者得出以下3个结论^[7]:(1)心理应激导致胃肠道症状加重;(2)心理紊乱导致疾病体验和疾病行为的改变;(3)FGIDs有相应的心理社会后果。

2 食物不耐受

食物不耐受最早的系统性阐述是由英国的Frances Hare医生在1905年提出的,Frances Hare^[8]在临床工作中发现,很多疾病,如心绞痛、痛风、湿疹等疾病都和患者摄入的食物有关,特别是一些慢性的疾病,患者摄入某种或某些食物后会导致某些症状加重,但是,如果让患者停止摄入该种食物后,该患者的症状明显改善,有的甚至症状消失。这是有关食物不耐受最早的发现和描述。

2.1 食物不耐受的基本概念及发病机制 食物不耐受是一种变态反应性疾病,其过程极其复杂。目前大多学者认为,食物不耐受是人们食入某些物质后,人体的免疫系统把其当作对机体有害物质,为了保护机体免受损害,而对其产生保护性免疫反应;而且反应程度超常,通过免疫反应,机体产生相应抗体,医学把这种抗体称为特异性IgG抗体。IgG抗体通过抗原抗体反应与食物颗粒形成循环免疫复合物,循环免疫复合物

随着血液循环可以沉积于全身各个器官或系统, 如心血管系统、泌尿系统、呼吸系统、消化系统、皮肤等. 如果循环免疫复合物沉积于消化系统, 可累及从口腔至肛门的所有消化器官, 常见症状为腹胀、消化不良、腹泻、腹痛等, 而且这些疾病常因缺乏有效检测方法而延误诊断^[9-11], 导致其病情迁反复. 目前研究证实, 许多因诊断不明而被归类为“功能性”的疾病实际都是由食物过敏所致^[12-14].

目前多项研究表明, 食物不耐受可重复发生, 他是人体免疫系统对特定的食物或食物的特定成分产生的一些不良反应, 这些反应产生的机制并不明确, 目前有关食物不耐受发生机制的研究可归纳如下: (1)免疫反应; (2)酶缺乏; (3)药理作用; (4)激惹反应; (5)毒理反应; (6)其他因素^[15]. 另外, 食物不耐受并不是由于一些常见的致病, 如细菌、真菌、化学毒物、食物中毒性反应以及某种心理反应等引起的. 目前大家公认食物不耐受是存在的, 而且其对患者所造成的结果是需要慎重考虑的^[16].

2.1.1 与食物过敏的区别: 目前临床上认为食物过敏分为速发和迟发两种. 速发型食物过敏反应由免疫球蛋白IgE介导, 大多学者认为其是由天然的蛋白质或其消化产物引起的, 这种反应发生速度很快, 摄入食物几分钟就可以发生; 有的通过皮肤接触后就可发生, 表现为恶心、呕吐、腹泻、腹痛、发热、皮疹等症状, 其本质就是抗原抗体反应介导的快发性超敏反应. 迟发型的食物过敏反应是由细胞介导的迟发性超敏反应. 目前认为食物不耐受主要是由免疫球蛋白IgG介导的迟发性超敏反应, 他一般不会即刻发生过敏反应, 有较长的潜伏期, 潜伏期为几个小时至几年甚至几十年不等, 引起的临床表现也多样, 有的终身不会发病, 有的在很多年以后才发病, 有的在再次摄入某些事物后会致症状加重, 但大多都为慢性疾病的表现. 徐文斌等^[17]通过将某些IBS组与健康对照组的比较, 发现两组实验对象的血清中食物特异性IgG抗体和IgE抗体总阳性率比较有显著差异($P<0.01$ 或 $P<0.05$). 韩立芬等^[18]认为食物不耐受的发病机制复杂, 其产生的抗体即食物特异性IgG抗体可以和sIgE抗体同时存在, 但是由于两者的作用介质相同, 所以导致症状相似.

2.1.2 发病机制: 目前关于食物不耐受发生机制的研究有多种说法, 如免疫反应过激、抗原抗体反应等, 但是并没有一个完整的定论. 多数认

为食物不耐受跟某些疾病有一定程度的关系, 但是具体机制并没有完全研究清楚. 目前德国科学家Fooker博士对食物不耐受的发病机制的论述观点得到广泛认可^[19]. 其观点为: 当患者摄入不耐受的食物后, 机体的免疫系统对进入体内的某些食物或者是食物消化后的某些化学物质产生保护性免疫反应, 机体甚至有时候把摄入的食物当成有害物质, 对其产生超常的免疫反应, 继而在患者血清里有相应的食物特异性IgG抗体产生, IgG抗体可以随着血液循环到达机体的各个器官, 引起相关临床症状.

2.2 食物不耐受与相关疾病 食物不耐受与多种疾病有关, 累及人体各个系统.

2.2.1 食物不耐受与皮炎: 在敏感的人群中, 摄入相关的食物, 可以激发由IgE介导的速发型过敏反应的所有症状, 可累及从口腔到皮肤几乎所有的器官, 累及皮肤时可表现为风疹、红斑、血管神经型水肿等, 同时也可以引起由IgG介导的迟发型过敏反应, 迟发型过敏反应有较长的潜伏期, 有的可无临床症状, 有的可以引起重症皮疹等, 如果再次摄入相关食物, 可以引起急性症状如急性风疹, 或使原有的症状加重. 此外, 食物过敏也可以通过皮肤直接接触引起, 比如一些亲脂性的食物过敏源可以通过皮肤的毛囊或受损的皮肤屏障侵入引起过敏症状.

2.2.2 食物不耐受与慢性荨麻疹: 徐文斌等^[20]一项研究表明, 慢性荨麻疹患者血清中IgG抗体水平相对于对照组显著升高, 对慢性荨麻疹患者禁食相关食物, 大部分患者的临床症状显著改善, 故食物不耐受可能与慢性荨麻疹发病有关. 至于食物不耐受与慢性荨麻疹发病的相关机制目前尚不清楚, 有待进一步研究.

2.2.3 食物不耐受与过敏性紫癜: 过敏性紫癜是一种临床上常见的毛细血管及细小血管炎, 病因复杂, 如感染、药物等. 彭丽等^[21]研究发现过敏性紫癜患儿的血清中食物不耐受血清特异性IgG水平是健康对照组的3倍多, 通过实验组和对照组采用相同的抗过敏治疗, 同时再对实验组进行食物不耐受检测阳性的食物剔除, 发现实验组的患儿临床症状有一定程度的缓解, 而且可以防止疾病的反复发作, 对过敏性紫癜有积极的预防作用.

2.2.4 食物不耐受与儿童慢性腹痛: 近年来, 越来越多的研究表明, 儿童慢性腹痛和食物不耐受有关, 李玉华等^[22]通过酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法

■创新盘点

本文针对食物不耐受与功能性胃肠病的关系这一研究领域, 收集了大量国内外文献资料, 就国内外在该领域的主要研究成果、最新进展、研究动态、前沿问题等进行综合分析而写成的, 能比较全面的反应历史背景、前人工作、争论焦点、研究现状和发展前景等.

■应用要点

本文对食物不耐受和功能性胃肠病的发病机制和诊治提出问题,为食物不耐受和功能性胃肠病的发病机制的进一步研究提供一定的理论基础,对功能性胃肠病诊断和治疗的研究也提出了一种思路。

表 1 食物不耐受等级分类表

程度分级	IgG浓度(U/mL)	敏感度
0	0-50	阴性
+1	50-100	轻度敏感
+2	100-200	中度敏感
+3	>200	高度敏感

对68例慢性腹痛的儿童进行食物不耐受的检测,发现其食物不耐受的阳性率竟然达到了98.5%,其中阳性率最高的为牛奶和鸡蛋,另外还发现,鲑鱼、西红柿不耐受程度在女性患儿明显高于男性,说明食物不耐受还可能有性别差异.通过不耐受食物剔除或轮替疗法,大部分患儿腹痛的症状可以得到明显改善.这一研究结果表明,对于慢性腹痛的患儿应该检测食物不耐受,以明确不耐受物质,从而制定合理的饮食计划,提高患儿生活质量.

2.2.5 食物不耐受与其他慢性疾病:有些研究认为,不耐受食物与偏头痛^[23-27]、哮喘^[28-31]以及乳糖不耐受等有关^[32-36],还有研究认为,食物过敏原特异性IgG抗体测定对IBS的机制的研究以及治疗很有意义^[37-44],另外某些慢性肝炎、肝硬化的患者也应考虑食物不耐受^[45].

3 食物不耐受和功能性胃肠病发病机制的关系

由于食物不耐受发生在消化系时可以累及整个消化系几乎所有的消化器官,所以引起的症状多.另外,这些临床症状的表现程度亦不同,又没有器质性病变,临床诊断困难,所以导致疾病不能得到及时治疗,容易致病情迁延反复,目前将其多归为功能性胃肠病.

功能性胃肠病患者血清中IgG水平显著升高,剔除某些不耐受食物后,症状减轻或消失,且患者血清里IgG水平明显降低.当再次摄入某些不耐受食物后,患者的临床症状加重,并伴随着血清中IgG水平升高.这一发现是饮食干预疗法的理论依据,即通过患者血清中IgG水平的监测,对一些功能性胃肠病患者限制不耐受食物的摄入,从而改善患者临床症状,达到治愈的目的.如董江婷^[46]通过对60例IBS患者进行饮食干预,剔除阳性结果的食物12 wk后,66.7%症状明显改善,21.6%症状有改善,6.7%无效.从这个实验的研究数据我们可以看出,大部分的IBS病人可以通过饮食干预获益.Gray等^[47]认为对于TH1/TH2介导的食物高敏状态,唯一可靠的治疗

方法是限制过敏性食物的摄入.

3.1 食物不耐受的检测目前公认的口服激发试验中的双盲安慰剂对照食物激发试验是诊断食物不耐受的金标准^[48],但是由于本操作临床实际应用较为困难,且基本上无可操作性.因此,临床上很少采用这种方法.临床研究发现,食物不耐受患者的血清中IgG抗体水平显著升高^[49,50],根据这一现象,通过ELISA法检测患者血清中IgG抗体水平,从而间接地对食物不耐受进行检测.

3.2 食物不耐受检测开展项目目前临床常用ELISA法来检测不耐受食物,包括生活中摄入频率最高的14项食物,如肉类、海鲜类、谷类、果蔬类、蛋类、菌类等.另外还可以对包括谷类及薯类、动物性食品、豆类及其制品、蔬菜水果类、纯热能食物等进行进一步的食物不耐受检测,其检测项目多达90项.根据检测得到的特异性IgG抗体浓度的不同,对检测结果进行分级,具体如表1所示.

3.3 食物不耐受检测的局限性食物不耐受的检测有一定的局限性^[49],由于食物种类多,而ELISA检测IgG抗体的方法对食物种类的检测是有限的.目前最常检测的为生活中常见的14种食物,而不能对所有事物进行检测.另外,由于有些食物经过烹调或消化后会发一系列物理、化学变化,因而可能导致假阴性的发生,还有些患者血清抗体的检测结果并不和其病史相吻合,再者,检测试剂的化学变化也有可能对检测的结果产生影响.所以,目前对于食物不耐受的检测还存在很大的不足.

4 结论

目前功能性胃肠病的发病机制仍然不清楚,但是多项研究表明食物不耐受可以导致功能性胃肠病患者临床症状加重,致使患者血清中IgG抗体水平升高,借助这一现象,通过食物干预疗法,可以改善患者的大部分临床症状,但是具体的饮食方案并没有相关的研究结果.另外,目前虽然明确了食物不耐受与功能性胃肠病的产生有一定的联系,但是具体机制仍需进一步的研究.

5 参考文献

- 1 Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. Molecular cloning and expression of the Fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family. *Cell* 1993; 75: 1169-1178 [PMID: 7505205 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05783.x]
- 2 闻淑军, 张志广. 功能性胃肠病. 医学综述 2006; 12: 971-973

- 3 Timmons S, Liston R, Moriarty KJ. Functional dyspepsia: motor abnormalities, sensory dysfunction, and therapeutic options. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 739-749 [PMID: 15089910 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.04086.x]
- 4 刘文忠. 重视炎症在功能性胃肠病中的作用. *中华消化杂志* 2005; 25: 641-642
- 5 张莉华, 方步武. 脑肠轴及其在胃肠疾病机制中的作用. *中国中西医结合外科杂志* 2007; 13: 199-201
- 6 柯美云, 张艳丽. 重视心理因素与功能性胃肠疾病关系的研究. *诊断学理论与实践* 2006; 5: 1-2
- 7 Locke GR, Weaver AL, Melton LJ, Talley NJ. Psychosocial factors are linked to functional gastrointestinal disorders: a population based nested case-control study. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 350-357 [PMID: 15046228 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.04043.x]
- 8 陈雪珍, 李红. 食物不耐受的临床研究进展. *家庭护士* 2010; 8: 906-908
- 9 Bischoff SC, Mayer JH, Manns MP. Allergy and the gut. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 121: 270-283 [PMID: 10828717 DOI: 10.1159/000024340]
- 10 Crowe SE. Gastrointestinal food allergies: do they exist? *Curr Gastroenterol Rep* 2001; 3: 351-357 [PMID: 11470005 DOI: 10.1007/s11894-001-0059-7]
- 11 Read NW. Food and hypersensitivity in functional dyspepsia. *Gut* 2002; 51 Suppl 1: i50-i53 [PMID: 12077065 DOI: 10.1136/gut.51.suppl_1.i50]
- 12 Spanier JA, Howden CW, Jones MP. A systematic review of alternative therapies in the irritable bowel syndrome. *Arch Intern Med* 2003; 163: 265-274 [PMID: 12578506 DOI: 10.1001/archinte.163.3.265]
- 13 Semeniuk J, Kaczmarek M, Wasilewska J. Serum gastrin concentrations in children with primary gastroesophageal reflux and gastroesophageal reflux secondary to cow's milk allergy. *Adv Med Sci* 2011; 56: 186-192 [PMID: 22112435 DOI: 10.2478/v10039-011-0053-8]
- 14 Ikeda K, Ida S, Kawahara H, Kawamoto K, Etani Y, Kubota A. Importance of evaluating for cow's milk allergy in pediatric surgical patients with functional bowel symptoms. *J Pediatr Surg* 2011; 46: 2332-2335 [PMID: 22152876 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2011.09.028]
- 15 David TJ. Adverse reactions and intolerance to foods. *Br Med Bull* 2000; 56: 34-50 [PMID: 10885103 DOI: 10.1258/0007142001902950]
- 16 Schrandt JJ, Marcelis C, de Vries MP, van Santen-Hoeufft HM. Does food intolerance play a role in juvenile chronic arthritis? *Br J Rheumatol* 1997; 36: 905-908 [PMID: 9291861 DOI: 10.1093/rheumatology/36.8.905]
- 17 徐文斌, 祝金泉. 食物特异性IgG、IgE与肠易激综合征的研究. *江西医学院学报* 2008; 48: 68-70
- 18 韩立芬, 李晓鸾, 赵莉. 变态反应性疾病300例食物不耐受检测结果分析. *中国误诊学杂志* 2008; 8: 6702-6703
- 19 谢志贤, 刘倩. 食物不耐受与相关性疾病. *中华内科杂志* 2006; 45: 150-151
- 20 徐文斌, 周虎, 李会平. 慢性荨麻疹与食物不耐受相关性研究. *中国麻风皮肤病杂志* 2007; 23: 701
- 21 彭丽, 常桂芬, 宋丽君, 王朝霞. 过敏性紫癜患儿食物不耐受检测及其意义. *中国实验诊断学* 2011; 15: 285-287
- 22 李玉华, 项立, 肖智辉, 王慧慧. 食物不耐受与儿童慢性腹痛的相关性研究. *中国全科医学* 2012; 15: 2170-2172
- 23 Takeshima T, Ishizaki K, Fukuhara Y, Ijiri T, Kusumi M, Wakutani Y, Mori M, Kawashima M, Kowa H, Adachi Y, Urakami K, Nakashima K. Population-based door-to-door survey of migraine in Japan: the Daisen study. *Headache* 2004; 44: 8-19 [PMID: 14979878 DOI: 10.1111/j.1526-4610.2004.04004.x]
- 24 Savi L, Rainero I, Valfrè W, Gentile S, Lo Giudice R, Pinessi L. Food and headache attacks. A comparison of patients with migraine and tension-type headache. *Panminerva Med* 2002; 44: 27-31 [PMID: 11887088]
- 25 Guariso G, Bertoli S, Cernetti R, Battistella PA, Setari M, Zaccello F. [Migraine and food intolerance: a controlled study in pediatric patients]. *Pediatr Med Chir* 1993; 15: 57-61 [PMID: 8488128]
- 26 Arroyave Hernández CM, Echavarría Pinto M, Hernández Montiel HL. Food allergy mediated by IgG antibodies associated with migraine in adults. *Rev Alerg Mex* 2007; 54: 162-168 [PMID: 18693538]
- 27 Millichap JG, Yee MM. The diet factor in pediatric and adolescent migraine. *Pediatr Neurol* 2003; 28: 9-15 [PMID: 12657413 DOI: 10.1016/S0887-8994(02)00466-6]
- 28 Pacor ML, Marchi G, Cortina P, Nicolis F, Lunardi C, Corrocher R. [Food allergy and asthma]. *Recenti Prog Med* 1992; 83: 64-66 [PMID: 1502420]
- 29 赵凯妹, 成焕吉, 乔红梅, 赵芳兴, 孙明远, 付永文. 儿童哮喘IgE高亲和力和受体p链基因多态性分析. *临床儿科杂志* 2004; 22: 794-797
- 30 Woods RK, Abramson M, Raven JM, Bailey M, Weiner JM, Walters EH. Reported food intolerance and respiratory symptoms in young adults. *Eur Respir J* 1998; 11: 151-155 [PMID: 9543285 DOI: 10.1183/09031936.98.11010151]
- 31 罗虹. 慢性咳嗽病人的食物不耐受检测. *吉林医学* 2008; 29: 189-190
- 32 何梅. 乳糖酶缺乏和乳糖不耐受. *国外医学: 卫生学分册* 1999; 26: 339-342
- 33 杨月欣, 何梅, 崔红梅, 边丽华, 刘建宇, 程五凤, 徐浩烽, 丰维维. 中国儿童乳糖不耐受发生率的调查研究. *卫生研究* 1999; 28: 44-46
- 34 谢志贤. 食物不耐受的研究进展. *科学时报* 2006; (3): 2
- 35 黄伟, 徐齐源, 包云光. 乳糖不耐受病人服用低乳糖牛奶的疗效观察. *浙江医学* 1997; 19: 228-229
- 36 Logan AC, Wong C. Chronic fatigue syndrome: oxidative stress and dietary modifications. *Altern Med Rev* 2001; 6: 450-459 [PMID: 11703165]
- 37 张国军, 吕虹, 周亚莉, 方芳, 王雅杰, 康熙雄. 食物不耐受检测临床意义的探讨. *现代检验医学杂志* 2008; 23: 87-88
- 38 张旭东, 邓敏, 李梅. 食物不耐受与腹泻型肠易激综合征的关系. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3877-3879
- 39 Cremonini F, Talley NJ. Diagnostic and therapeutic strategies in the irritable bowel syndrome. *Minerva Med* 2004; 95: 427-441 [PMID: 15467518]
- 40 King TS, Elia M, Hunter JO. Abnormal colonic fermentation in irritable bowel syndrome. *Lancet* 1998; 352: 1187-1189 [PMID: 9777836 DOI: 10.1016/S0140-6736(98)02146-1]
- 41 Atkinson W, Sheldon TA, Shaath N, Whorwell PJ. Food elimination based on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: a randomised controlled trial. *Gut* 2004; 53: 1459-1464 [PMID: 15361495 DOI: 10.1136/gut.2003.037697]
- 42 Whorwell P, Lea R. Dietary Treatment of the Irritable Bowel Syndrome. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2004; 7: 307-316 [PMID: 15238206 DOI: 10.1007/s11938-004-0017-1]
- 43 Zar S, Mincher L, Benson MJ, Kumar D. Food-specific IgG4 antibody-guided exclusion diet improves

同行评价

本文介绍了食物不耐受和功能性胃肠病关系的研究现状,总结了目前国内外食物不耐受对功能性胃肠病机制、诊断、治疗等方面影响的研究成果,内容全面,基本可取,具有一定指导意义。

- symptoms and rectal compliance in irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 800-807 [PMID: 16109655 DOI: 10.1080/00365520510015593]
- 44 吕晶, 王怡. 饮食指导对肠易激综合征中食物不耐受的影响84例分析. *中国误诊学杂志* 2007; 11: 6624-6625
- 45 杨爽, 李清华, 吕晶. 消化系统疾病病人食物不耐受检测及饮食指导. *护理研究* 2008; 22: 1816-1817
- 46 董江婷. 食物不耐受与肠易激综合征的临床研究. 大连医科大学, 2008
- 47 Gray HC, Foy TM, Becker BA, Knutsen AP. Rice-induced enterocolitis in an infant: TH1/TH2 cellular hypersensitivity and absent IgE reactivity. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004; 93: 601-605 [PMID: 15609772]
- 48 孙改河. 食物不耐受血清特异性IgG抗体检测在临床中的应用. *检验医学与临床* 2007; 4: 591-592
- 49 罗良学, 唐腊梅, 唐发清. 食物变态反应性疾病原因筛查. *实用预防医学* 2008; 15: 541-543
- 50 王圣霞, 周淑华, 刘凤琴. 对食物不耐受的过敏性疾病病人血清特异性IgG的检测. *中国麻风皮肤病杂志* 2007; 23: 866-867

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)。

CD24与结直肠癌多层次关联的研究进展

刘伊雯, 房静远

刘伊雯, 房静远, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化内科上海市 200001

刘伊雯, 房静远, 上海市消化疾病研究所 上海市 200127
刘伊雯, 2010级上海交通大学医学院临床医学硕博士生, 主要从事消化系统肿瘤方面的研究。

作者贡献分布: 本文综述由刘伊雯完成; 房静远审校。

通讯作者: 房静远, 教授, 主任医师, 200001, 上海市黄浦区山东中路145号, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化内科。fangjingyuan_new@163.com

收稿日期: 2013-06-17 修回日期: 2013-07-16

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-09-08

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: CD24; Colorectal cancer; Cancer stem cells

Liu YW, Fang JY. Advances in understanding the relationship between CD24 and colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2557-2562 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2557.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2557>

■背景资料

CD24是一种唾液酸糖蛋白, 被糖基磷脂酰肌醇锚定于细胞表面, 在细胞与细胞、细胞与基质的黏附中起到重要作用, 可能参与肿瘤细胞的浸润、转移, 且与肿瘤的预后密切相关。此外, CD24还是众多系统肿瘤的肿瘤干细胞表面标志物。

Advances in understanding the relationship between CD24 and colorectal cancer

Yi-Wen Liu, Jing-Yuan Fang

Yi-Wen Liu, Jing-Yuan Fang, Department of Gastroenterology, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University; Shanghai Institute of Digestive Disease, Shanghai 200001, China

Correspondence to: Jing-Yuan Fang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, 145 Shandongzhong Road, Huangpu District, Shanghai 200001, China. fangjingyuan_new@163.com

Received: 2013-06-17 Revised: 2013-07-16

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-09-08

摘要

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是美国发病率和死亡率居第3位的恶性肿瘤, 随着饮食的西化, 中国等亚洲国家的CRC发病率也节节升高。寻找一种特异的分子标记作为预后评估指标及治疗靶标是CRC个性化治疗的关键。CD24是一种在CRC中表达上调的细胞表面糖蛋白, 他在CRC的发生、浸润、黏附与转移中均起到了重要的推动作用, 并且与CRC的耐药及差预后密切相关, 此外, CD24为潜在肿瘤干细胞表面标志物, 针对CD24的靶向治疗能根除肿瘤干细胞从而达到从根本上消灭CRC的目的。本篇综述讨论了CD24在CRC发生、发展及预后评估中作用, 回顾了CD24与CRC肿瘤干细胞的相关研究, 并进一步探究了CD24在CRC肿瘤干细胞的鉴定、分离、靶向治疗等研究中的重要意义。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: CD24; 结直肠癌; 肿瘤干细胞

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is the third cause of cancer-related morbidity and mortality in America. In China and other Asian countries, an increasingly westernized diet has led to a high incidence of CRC. There is currently an urgent demand for the discovery of novel biomarkers for CRC prognostic evaluation and molecular targeted therapies. CD24 is a mucin-like glycoprotein that is highly expressed on the surface of CRC cells. It may play a significant role in the multistep process of CRC carcinogenesis, invasion and metastasis and is correlated with therapeutic resistance and poor prognosis of CRC. As one of surface markers for potential cancer stem cells (CSCs), CD24 may be used as an ideal target for curative CRC therapy. In this review, we summarize the role of CD24 in CRC initiation, progression and metastasis. Moreover, we discuss the vital part of CD24 in CSC identification, isolation and complete CRC eradication.

核心提示: CD24在结肠癌细胞中高表达, 且参与其发生、浸润、黏附与转移, 并与差预后密切相关, 且由于其潜在的肿瘤干细胞表面标志物特性, CD24还能作为肿瘤干细胞靶标参与抗肿瘤药物筛选与研发, 从而达到根除肿瘤干细胞进而消灭结直肠癌的目的。

刘伊雯, 房静远. CD24与结直肠癌多层次关联的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(25): 2557-2562 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2557.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2557>

■同行评议者

斯坎德尔·白克力, 教授, 新疆医科大学基础医学院生物化学教研室

■ 研发前沿

CD24在结肠癌细胞中高表达,且参与其发生、浸润、黏附与转移,并与差预后密切相关,且由于其潜在的肿瘤干细胞表面标志物特性,CD24还能作为肿瘤干细胞靶标参与抗肿瘤药物筛选与研发,从而达到根除肿瘤干细胞进而消灭结肠癌(colorectal cancer, CRC)的目的。

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是美国发病率和死亡率居第3的恶性肿瘤^[1],随着饮食的西化,中国等亚洲国家的CRC发病率也节节升高^[2-4]。尽管早期的CRC可以行根治性手术治疗,但由于早期肿瘤患者并无特异的症状使患者发现肿瘤时往往已失去了根治性切除的机会,辅助与新辅助放化疗也是CRC综合治疗方案的重要部分,但其疗效并不尽如人意,此外,因耐药所致的CRC残余和复发也是亟待解决的问题。因此,寻找一种特异的分子标记作为预后评估指标及治疗靶标是CRC个性化治疗的关键。

CD24是一种低分子量高度糖基化的唾液酸糖蛋白,由31个氨基酸组成,被糖基磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidylinositol, GPI)锚定于细胞表面,具有典型的黏蛋白结构,在细胞与细胞、细胞与基质的黏附中起到的重要作用^[5,6]。在正常情况下,CD24仅表达于前B淋巴细胞、T淋巴细胞、中性粒细胞、角质细胞与肾小管细胞^[7-9],在造血过程的细胞选择和成熟中起到重要作用^[10,11]。在恶性肿瘤中,CD24最早报道于血液系统肿瘤,之后又陆续在实体肿瘤如非小细胞肺癌^[12]、尿路上皮癌^[13]、食道鳞癌^[14]、前列腺癌^[15]、卵巢癌^[16]、肾癌^[17]、乳腺癌^[18]、胰腺癌^[19]、胃癌等^[20]中被发现表达显著上调。研究者认为,CD24可能参与肿瘤细胞的浸润^[21]、转移^[7]且与肿瘤的差预后密切相关^[22]。此外,随着近来肿瘤干细胞研究的深入,CD24还被发现是众多系统肿瘤包括CRC的肿瘤干细胞表面标志物,在肿瘤干细胞的鉴定、分离、筛选、药物靶向等众多研究中具有重要意义^[23]。

目前,越来越多的实验证据表明,CD24在结肠癌细胞中高表达,且参与其发生、浸润、黏附与转移,并与差预后密切相关,且由于其潜在的肿瘤干细胞表面标志物特性,CD24还能作为肿瘤干细胞靶标参与抗肿瘤药物筛选与研发,从而达到根除肿瘤干细胞进而消灭CRC的目的。本文将深入阐释CD24在CRC发生、发展及预后评估中作用,并回顾CD24与CRC肿瘤干细胞的相关研究,探讨CD24在CRC肿瘤干细胞的鉴定、分离、靶向治疗等研究中的重要意义。

1 CD24参与结直肠癌肿瘤发生

CRC的发生是一个长时间、多步骤、涉及一系列的癌基因、抑癌基因、miRNA基因突变,进而导致细胞内重要调控分子功能改变的过程^[24]。

众多研究结果证实,CD24的表达改变可能是其中一环。结直肠腺瘤性息肉是CRC的癌前病变早已经得到了学术界的共识^[25],有研究发现,CD24在结直肠腺瘤中的表达阳性率达90.7%,提示CD24的表达改变在CRC的发生发展中是一个比较早的事件^[26]。由于CD24为GPI锚定蛋白,并没有细胞内结构域,因此他可能作为脂筏(lipid raft,细胞膜中富含胆固醇及鞘脂的有序且致密的微结构域,可作为蛋白质停泊平台参与膜的信号转导及蛋白质转运^[27])中蛋白参与信号转导,进而参与肿瘤发生^[28]。有研究团队通过基因表达芯片发现,利用抗CD24单克隆抗体或shRNA技术敲低CD24表达能够下调Ras, MAPK及Bcl-2家族成员等的表达^[29],揭示了CD24的下游信号通路的冰山一角。另外一个研究团队的研究结果也表明CD24能激活Raf-1途径,进而激活ERK1/2及P38 MAPK途径,加快细胞系增殖^[30]。该团队的后续深入研究发现,CD24可以直接或间接作用于MAPK途径的上游调控因子Src家族的Lyn,促进其磷酸化激活及核转移,并促进其在核内激活ERK1/2,进而激活下游信号通路^[31]。另一方面,miRNA可能也参与了CD24的上下游调控网络进而参与肿瘤发生。例如,受抑癌基因*p53*正向调控的miR-34a能在转录后水平靶向CD24及Src的3'UTR,抑制其表达,当miR-34a被表观遗传沉默后,CD24表达上调,因此能通过激活Src进而诱导AP-1家族成员c-Jun和c-Fos上调miR-21表达,从而抑制*Pdcd4*及*PTEN*等抑癌基因或转移抑制基因的表达,参与肿瘤的发生和发展^[32]。CD24的信号通路网络还有待进一步的研究完善,只有透彻的了解CD24在其上下游信号转导通路中的作用及意义才能更透彻的了解CRC发生、发展的分子机制,以更好的设计抗肿瘤方案,实现对CRC的靶向治疗。

2 CD24与结直肠癌浸润、转移及预后密切相关

以往研究者认为,CD24可能作为黏附因子P-选择素的配体参与了CRC的浸润与转移。P-选择素是一种钙离子依赖的内源性凝集素,在炎症、创伤等刺激诱导下能迅速表达于激活的血管内皮细胞及血小板表面,CD24的表达可促进P-选择素依赖的肿瘤细胞与血小板的结合^[33],形成“血小板-肿瘤栓”存在于血流中,从而保护肿瘤细胞免受机体免疫系统清除^[6,33,34]。而且,肿瘤细胞表面的CD24能与远处器官血管内皮细胞表面的P-选择素结合,使该器官实现对肿瘤细胞的

捕获从而形成肿瘤的远处转移^[35]. 近来有研究发现, CRC中 α -1,3-岩藻糖基转移酶VII的miRNA水平及蛋白表达水平均升高, 与患者淋巴结转移及肿瘤分期密切相关, 该酶能促进CD24及路易斯寡糖X的表达, 通过增加CD24的糖基化程度促进CRC体外培养细胞系的趋化与侵袭^[36], 提示除了与P-选择素相关机制外, CD24也可能通过糖基化程度增加而参与CRC的浸润、转移.

一系列的研究证据均提示CD24参与了CRC的浸润过程, 例如, 在体外培养细胞系中敲低CD24表达后, 细胞运动能力明显减退^[29], 过表达CD24后, 细胞侵袭能力明显增加^[31]. 此外, 研究证据也表明CD24的表达与CRC预后相关. Weichert等^[37]发现, CD24在正常结直肠黏膜中不表达, 在CRC中, 胞质表达强度与较晚的肿瘤分期、淋巴结转移、全身转移及平均生存时间相关, 且在无远处转移的患者的生存分析中, 细胞质CD24表达是CRC的独立预后因素. Wang等^[30]和Su等^[31]的研究团队也发现, CD24的表达强度与CRC浸润深度、淋巴结转移、远处转移及肿瘤分期相关, 在一项74例CRC患者的生存分析中, 他们发现, CD24强表达的患者平均生存时间较短, 且CD24是CRC的独立预后因素^[31]. 以上研究结果均提示CD24的表达, 特别是细胞质表达与CRC的进展及预后密切相关. 但是也有研究团队的研究结果不支持这一观点, 例如, Choi等^[38]的研究结果显示, CD24虽然与CRC的分化及侵袭能力相关, 但与平均生存时间无显著性关系, Ahmed等^[39]的研究结果也不支持CD24与CRC患者预后相关. 因此, 为了全面、深入的了解CD24与CRC进展及预后的关系, 探讨将CD24的表达强度作为CRC预后评估指标的可能性, 扩大范围、扩大例数、多中心的系统研究还有待开展.

3 CD24是潜在的CRC肿瘤干细胞表面标志物

CD24之所以影响肿瘤的浸润、转移及预后可能与其是肿瘤干细胞表面蛋白相关. 肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)是肿瘤中数目极少的一个细胞亚群, 他们能自我更新并多向分化产生具有异质性的肿瘤细胞, 与肿瘤的发生、发展及复发密切相关^[40]. CSCs的来源目前仍颇受争议, 尚无确凿证据证明CSCs来源于正常组织的干细胞, 但有研究表明CSCs与Wnt、Hedgehog和Notch等信号通路相关, 吸烟、射线、活性氧等因素可致使正常干细胞积累一定量的基因突变进而发生表观遗传学改变, 从而下调上述信

号通路所涉及的基因导致肿瘤发生^[41]. 稳定的CSCs位于良性腺瘤或者恶性肿瘤分化区域的中心, 当发生上皮间充质转化时, CSCs的迁移不仅能造成病灶延伸, 而且可因其侵犯血管和淋巴管造成远处转移^[42]. 缺少特异性的标志物是目前CSCs研究面临的困难之一, 如何利用一种细胞表面标志物或几种细胞表面标志物组合来识别、分离CSCs进行进一步探究并且靶向CSCs从而达到消除这个细胞亚群进而治愈肿瘤的目的是近来研究的重点. 到目前为止, 研究者们已筛选出包括CD24、CD44、CD29、CD133、CD166等在内的一系列潜在的CSCs表面标志物^[41,43]. 2010年, Yeung等^[44]首先报道了CD24可能在CRC中也扮演着CSCs表面标志物这一角色的发现, 他们证实了SW1222、HT29等CRC细胞系中分离而来的CD24⁺CD44⁺细胞具有自我更新、多向分化及免疫缺陷小鼠上成瘤性等肿瘤干细胞特性. 随后, 另外的研究团队也发现, HT116及SW480等细胞系中分选出的CD24⁺亚群较之CD24⁻亚群有更强的形成肿瘤球的能力、自我更新能力、体外克隆形成能力及免疫缺陷小鼠上成瘤的能力, 且CD24⁺细胞能够在体内分化出CD24⁻的细胞亚群^[45], 以上研究结果均提示在CRC体外培养细胞系中, CD24⁺亚群是潜在的肿瘤干细胞.

值得一提的是, 纵然从肿瘤细胞系中分离CD24⁺CD44⁺等潜在的干细胞亚群比从肿瘤组织中分离更简单方便, 而且不仅能通过基因敲低及过表达的方法行进一步研究还能高通量的筛选单克隆抗体及抗癌药物, 但体外培养细胞系是否是获取CSCs的最佳来源存在着争议. 一方面, 不同的肿瘤类型所含的CSCs比例不同, 越是低分化的肿瘤包含的CSCs比例越高, 且不同的细胞系包含的“干性”细胞亚群比率也不同, 如何匹配细胞系及肿瘤组织中的CSCs比率以提供更好的筛选平台有待进一步研究. 另一方面, 研究者在一项系统而全面的研究中发现, 如果以形成肿瘤球、SP表型、ALDH-1活性、耐药性、免疫缺陷小鼠上的成瘤性等特性作为考量标准, 从目前常用于实验研究的10个结直肠癌细胞系中分离而来的CD133⁺、CD166⁺CD44⁺、CD24⁺CD44⁺等细胞亚群是否能体现出干细胞的特点, 在不同的细胞系中, 不同的细胞亚群有不同的结果^[46]. 研究者认为, 培养基的特殊成分、潜在的感染及微环境差异均可能导致细胞系之间及细胞系与肿瘤组织之间的差异. 失去了细胞外基质, 失去

■ 相关报道

目前国内外关于CD24与消化系统肿瘤相关的报道不少, 这些研究有的侧重于CD24在早期筛查消化系统肿瘤中的意义, 有的侧重于CD24在预测消化系统肿瘤复发中的意义, 更多的研究则是侧重于CD24在肿瘤预后中的意义.

■创新盘点

CD24是潜在的肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)表面标志物,而CSCs的存在是肿瘤细胞耐药、残余、复发和远处转移的基础,CD24不仅在CRC辅助化疗耐药评估及疗效预测上颇有应用价值,而且是非常有前景的结直肠癌CSCs靶向治疗靶标。

了与其他非肿瘤细胞例如成肌纤维细胞的联系,失去了肿瘤组织的“多层次”结构而在体外单层排列生长,种种因素使体外培养的肿瘤细胞失去了“多样性”而趋向均一^[46]。这也提示我们用体外培养细胞系来研究、筛选CSCs甚至筛选靶向CSCs的抗癌药物可能存在局限性。总而言之,多项研究提示CRC中CD24⁺的细胞亚群具有肿瘤干细胞特性,这为CD24在CRC发生、发展、浸润、转移中所起作用的研究提供了新的思考方向,但其研究方法与筛选平台有待进一步改进与开发。

4 CD24与CRC的治疗

目前唯一能治愈CRC的治疗方式为早期行根治性手术切除,对于有局部浸润和远处转移的CRC患者,辅助与新辅助化疗效果并不理想,如何避免肿瘤的残余和复发一直困扰着临床医师与科研人员^[46]。CSCs的发现给研究者带来了新的视角与切入点,使CRC的治疗有了新的方向与靶标。

研究者发现,CRC的残余及耐药可能与CSCs相关,由于CSCs高表达ABC转运蛋白、DNA修复蛋白及ALDH-1等解毒酶,且相对于成熟肿瘤细胞而言有较慢的增殖速率,因此对放疗、化疗都有一定抵抗性,导致了肿瘤耐药的产生^[41,47],例如,有研究报道HCT116及SW480细胞系在抗肿瘤药物处理后,耐药株中CD24⁺亚群比率较原细胞系明显增高^[45];此外,在一项包含50例术前经新辅助化疗的局部晚期直肠癌患者的研究中发现,切除组织标本为CD24⁺CD133⁺的患者对新辅助化疗的敏感度明显较低^[48],这些研究成果提示,CD24⁺肿瘤干细胞参与了CRC对化疗的抵抗,也提示CD24等肿瘤干细胞表面标志物在预测辅助及新辅助化疗疗效中的价值。正因为CD24作为CRC肿瘤干细胞标志物在CRC中高表达,且在正常组织中几乎不表达,利用CD24作为靶标靶向CRC肿瘤干细胞,从而达到彻底消灭CRC的目的是CRC靶向治疗研究的热点,例如有研究团队利用单克隆抗体和基因敲低技术下调CD24表达能有效抑制体外培养CRC细胞系的侵袭与增殖,并能降低该种细胞在免疫缺陷小鼠上的成瘤性^[29]。此外,研究者还发现,如果给CD24的单克隆抗体“武装”上抗肿瘤基团能进一步提高其靶向治疗作用。例如,SWA11-ZZ-PE38,一种利用CD24单克隆抗体及铜绿假单胞菌外毒素衍生物PE38构建而成的免

疫毒素,既具有对CD24的靶向性,又具有PE38的诱导细胞凋亡的特性,该免疫毒素能有效诱导CRC肿瘤细胞凋亡且能有效抑制裸鼠上CD24⁺移植瘤的生长,而对正常组织无不良反应^[49],是一种非常有前景的靶向治疗工具。此外,在其他肿瘤模型中,使用miRNA诱导CSCs向普通成熟肿瘤细胞分化使其对放化疗敏感也是颇有前景的肿瘤治疗方法^[40],其在CRC放化疗中的应用还有待开展。

5 结论

结直肠癌是发达国家的沉重医疗负担,近年来因为饮食的西化,中国CRC发病率也较以往上升。CD24是一种在CRC中高表达的唾液酸糖蛋白,他被GPI锚定于细胞表面,可能作为脂筏中的蛋白平台参与信号转导,进而参与调控细胞的生物学行为,此外CD24是P-选择素的配体,参与细胞与细胞、细胞与基质的黏附,以上两个原因使CD24在CRC发生、发展及远处转移中起到了重要作用,众多研究结果表明,细胞质中CD24的强表达与CRC患者的预后密切相关,这提示CD24作为预后评估指标参与临床决策的可能性。随着肿瘤干细胞研究的逐渐升温,CD24被发现是潜在的CSCs表面标志物,而CSCs的存在是肿瘤细胞耐药、残余、复发和远处转移的基础,因此,CD24不仅在CRC辅助化疗耐药评估及疗效预测上颇有应用价值,而且也是非常具有前景的结直肠癌CSCs靶向治疗靶标。作者相信,目前已报道的CD24上下游信号通路只是CD24调控网络的冰山一角,对其信号网络更加全面细致的研究是探明CD24相关的肿瘤发生机制的基础,也是开发CSCs及其信号通路靶向治疗的关键。此外,既然CD24在CRC发生中是个早期事件,且CD24的表达上调在结直肠腺瘤中已经存在,那么CD24是否可以作为CRC的早期筛查和诊断标志物投入临床应用及是否能从外周血、体液及粪便中检测到以简化筛查与诊断流程也颇具研究空间。

6 参考文献

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- 2 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]
- 3 Ji BT, Devesa SS, Chow WH, Jin F, Gao YT. Colorec-

- tal cancer incidence trends by subsite in urban Shanghai, 1972-1994. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 661-666 [PMID: 9718217]
- 4 Shin HR, Won YJ, Jung KW, Park JG. 2001 annual report of the Korea Central Cancer Registry: based on registered data from 134 hospitals. *Cancer Res Treat* 2004; 36: 19-30 [PMID: 20396562 DOI: 10.4143/crt.2004.36.1.19]
 - 5 Kay R, Takei F, Humphries RK. Expression cloning of a cDNA encoding M1/69-J11d heat-stable antigens. *J Immunol* 1990; 145: 1952-1959 [PMID: 2118158]
 - 6 Kristiansen G, Sammar M, Altevogt P. Tumour biological aspects of CD24, a mucin-like adhesion molecule. *J Mol Histol* 2004; 35: 255-262 [PMID: 15339045 DOI: 10.1023/B:HIJO.0000032357.16261.c5]
 - 7 Baumann P, Cremers N, Kroese F, Orend G, Chiquet-Ehrismann R, Uede T, Yagita H, Sleeman JP. CD24 expression causes the acquisition of multiple cellular properties associated with tumor growth and metastasis. *Cancer Res* 2005; 65: 10783-10793 [PMID: 16322224 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0619]
 - 8 Li O, Zheng P, Liu Y. CD24 expression on T cells is required for optimal T cell proliferation in lymphopenic host. *J Exp Med* 2004; 200: 1083-1089 [PMID: 15477346 DOI: 10.1084/jem.20040779]
 - 9 Nielsen PJ, Lorenz B, Müller AM, Wenger RH, Brombacher F, Simon M, von der Weid T, Langhorne WJ, Mossman H, Köhler G. Altered erythrocytes and a leaky block in B-cell development in CD24/HSA-deficient mice. *Blood* 1997; 89: 1058-1067 [PMID: 9028339]
 - 10 Suzuki T, Kiyokawa N, Taguchi T, Sekino T, Katagiri YU, Fujimoto J. CD24 induces apoptosis in human B cells via the glycolipid-enriched membrane domains/rafts-mediated signaling system. *J Immunol* 2001; 166: 5567-5577 [PMID: 11313396]
 - 11 Kadmon G, von Bohlen und Halbach F, Schachner M, Altevogt P. Differential, LFA-1-sensitive effects of antibodies to nectadrin, the heat-stable antigen, on B lymphoblast aggregation and signal transduction. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 198: 1209-1215 [PMID: 8117278 DOI: 10.1006/bbrc.1994.1171]
 - 12 Lee HJ, Choe G, Jheon S, Sung SW, Lee CT, Chung JH. CD24, a novel cancer biomarker, predicting disease-free survival of non-small cell lung carcinomas: a retrospective study of prognostic factor analysis from the viewpoint of forthcoming (seventh) new TNM classification. *J Thorac Oncol* 2010; 5: 649-657 [PMID: 20354454]
 - 13 Choi YL, Lee SH, Kwon GY, Park CK, Han JJ, Choi JS, Choi HY, Kim SH, Shin YK. Overexpression of CD24: association with invasiveness in urothelial carcinoma of the bladder. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131: 275-281 [PMID: 17284113]
 - 14 Sano A, Kato H, Sakurai S, Sakai M, Tanaka N, Inose T, Saito K, Sohda M, Nakajima M, Nakajima T, Kuwano H. CD24 expression is a novel prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 506-514 [PMID: 19050962 DOI: 10.1245/s10434-008-0252-0]
 - 15 Kristiansen G, Pilarsky C, Pervan J, Stürzebecher B, Stephan C, Jung K, Loening S, Rosenthal A, Dietel M. CD24 expression is a significant predictor of PSA relapse and poor prognosis in low grade or organ confined prostate cancer. *Prostate* 2004; 58: 183-192 [PMID: 14716744 DOI: 10.1002/pros.10324]
 - 16 Surowiak P, Materna V, Kaplenko I, Spaczyński M, Dietel M, Kristiansen G, Lage H, Zabel M. Unfavorable prognostic value of CD24 expression in sections from primary and relapsed ovarian cancer tissue. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16: 515-521 [PMID: 16681720 DOI: 10.1111/j.1525-1438.2006.00555.x]
 - 17 Lee HJ, Kim DI, Kwak C, Ku JH, Moon KC. Expression of CD24 in clear cell renal cell carcinoma and its prognostic significance. *Urology* 2008; 72: 603-607 [PMID: 18384848 DOI: 10.1016/j.urol.2008.01.061]
 - 18 Kristiansen G, Winzer KJ, Mayordomo E, Bellach J, Schlüns K, Denkert C, Dahl E, Pilarsky C, Altevogt P, Guski H, Dietel M. CD24 expression is a new prognostic marker in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4906-4913 [PMID: 14581365]
 - 19 Sagiv E, Kazanov D, Arber N. CD24 plays an important role in the carcinogenesis process of the pancreas. *Biomed Pharmacother* 2006; 60: 280-284 [PMID: 16824727 DOI: 10.1016/j.biopha.2006.06.006]
 - 20 Bektas S, Bahadir B, Ucan BH, Ozdamar SO. CD24 and galectin-1 expressions in gastric adenocarcinoma and clinicopathologic significance. *Pathol Oncol Res* 2010; 16: 569-577 [PMID: 20177845 DOI: 10.1007/s12253-010-9248-8]
 - 21 Mierke CT, Bretz N, Altevogt P. Contractile forces contribute to increased glycosylphosphatidylinositol-anchored receptor CD24-facilitated cancer cell invasion. *J Biol Chem* 2011; 286: 34858-34871 [PMID: 21828044 DOI: 10.1074/jbc.M111.245183]
 - 22 Lee JH, Kim SH, Lee ES, Kim YS. CD24 overexpression in cancer development and progression: a meta-analysis. *Oncol Rep* 2009; 22: 1149-1156 [PMID: 19787233]
 - 23 Yu Z, Pestell TG, Lisanti MP, Pestell RG. Cancer stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44: 2144-2151 [PMID: 22981632 DOI: 10.1016/j.biocel.2012.08.022]
 - 24 Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* 2012; 487: 330-337 [PMID: 22810696 DOI: 10.1038/nature11252]
 - 25 Risio M. The natural history of colorectal adenomas and early cancer. *Pathologe* 2012; 33 Suppl 2: 206-210 [PMID: 22945585 DOI: 10.1007/s00292-012-1640-6]
 - 26 Sagiv E, Memeo L, Karin A, Kazanov D, Jacob-Hirsch J, Mansukhani M, Rechavi G, Hibshoosh H, Arber N. CD24 is a new oncogene, early at the multistep process of colorectal cancer carcinogenesis. *Gastroenterology* 2006; 131: 630-639 [PMID: 16890615 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.04.028]
 - 27 Sonnino S, Prinetti A. Membrane domains and the "lipid raft" concept. *Curr Med Chem* 2013; 20: 4-21 [PMID: 23150999]
 - 28 Baumann P, Thiele W, Cremers N, Muppala S, Krachulec J, Diefenbacher M, Kassel O, Mudduluru G, Allgayer H, Frame M, Sleeman JP. CD24 interacts with and promotes the activity of c-src within lipid rafts in breast cancer cells, thereby increasing integrin-dependent adhesion. *Cell Mol Life Sci* 2012; 69: 435-448 [PMID: 21710320 DOI: 10.1007/s00018-011-0756-9]
 - 29 Sagiv E, Starr A, Rozovski U, Khosravi R, Altevogt P, Wang T, Arber N. Targeting CD24 for treatment of colorectal and pancreatic cancer by monoclonal antibodies or small interfering RNA. *Cancer*

■应用要点
 胞质CD24强表达与CRC患者的预后密切相关, 这提示CD24作为预后评估指标参与临床决策的可能性, 此外CD24是潜在的CSCs表面标志物, 不仅在CRC辅助放化疗耐药评估及疗效预测上颇有应用价值, 而且也是非常具有前景的结直肠癌CSCs靶向治疗靶标。

同行评价

寻找某一种肿瘤特异的分子标记物无论在早期诊断、还是在预后判断及治疗靶标等方面具有重要现实意义。这篇综述对该领域的广大临床和基础研究工作者有一定的帮助。

- Res 2008; 68: 2803-2812 [PMID: 18413748 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6463]
- 30 Wang W, Wang X, Peng L, Deng Q, Liang Y, Qing H, Jiang B. CD24-dependent MAPK pathway activation is required for colorectal cancer cell proliferation. *Cancer Sci* 2010; 101: 112-119 [PMID: 19860845 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01370.x]
- 31 Su N, Peng L, Xia B, Zhao Y, Xu A, Wang J, Wang X, Jiang B. Lyn is involved in CD24-induced ERK1/2 activation in colorectal cancer. *Mol Cancer* 2012; 11: 43 [PMID: 22731636 DOI: 10.1186/1476-4598-11-43]
- 32 Muppala S, Mudduluru G, Leupold JH, Buergy D, Sleeman JP, Allgayer H. CD24 induces expression of the oncomir miR-21 via Src, and CD24 and Src are both post-transcriptionally downregulated by the tumor suppressor miR-34a. *PLoS One* 2013; 8: e59563 [PMID: 23533633 DOI: 10.1371/journal.pone.0059563]
- 33 Aigner S, Sthoeger ZM, Fogel M, Weber E, Zarn J, Ruppert M, Zeller Y, Vestweber D, Stahel R, Sammar M, Altevogt P. CD24, a mucin-type glycoprotein, is a ligand for P-selectin on human tumor cells. *Blood* 1997; 89: 3385-3395 [PMID: 9129046]
- 34 Lim SC. CD24 and human carcinoma: tumor biological aspects. *Biomed Pharmacother* 2005; 59 Suppl 2: S351-S354 [PMID: 16507407 DOI: 10.1016/S0753-3322(05)80076-9]
- 35 Friederichs J, Zeller Y, Hafezi-Moghadam A, Gröne HJ, Ley K, Altevogt P. The CD24/P-selectin binding pathway initiates lung arrest of human A125 adenocarcinoma cells. *Cancer Res* 2000; 60: 6714-6722 [PMID: 11118057]
- 36 Li W, Zhang W, Luo J, Cao A, Zhang Y, Huang D, Sheng W, Cai S, Li J. Alpha1,3 fucosyltransferase VII plays a role in colorectal carcinoma metastases by promoting the carbonylation of glycoprotein CD24. *Oncol Rep* 2010; 23: 1609-1617 [PMID: 20428816]
- 37 Weichert W, Denkert C, Burkhardt M, Gansukh T, Bellach J, Altevogt P, Dietel M, Kristiansen G. Cytoplasmic CD24 expression in colorectal cancer independently correlates with shortened patient survival. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 6574-6581 [PMID: 16166435 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0606]
- 38 Choi D, Lee HW, Hur KY, Kim JJ, Park GS, Jang SH, Song YS, Jang KS, Paik SS. Cancer stem cell markers CD133 and CD24 correlate with invasiveness and differentiation in colorectal adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2258-2264 [PMID: 19437567 DOI: 10.3748/wjg.15.2258]
- 39 Ahmed MA, Al-Attar A, Kim J, Watson NF, Scholefield JH, Durrant LG, Ilyas M. CD24 shows early upregulation and nuclear expression but is not a prognostic marker in colorectal cancer. *J Clin Pathol* 2009; 62: 1117-1122 [PMID: 19946098 DOI: 10.1136/jcp.2009.069310]
- 40 Frank NY, Schatton T, Frank MH. The therapeutic promise of the cancer stem cell concept. *J Clin Invest* 2010; 120: 41-50 [PMID: 20051635 DOI: 10.1172/JCI41004]
- 41 Jaggupilli A, Elkord E. Significance of CD44 and CD24 as cancer stem cell markers: an enduring ambiguity. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 708036 [PMID: 22693526]
- 42 Brabletz T, Jung A, Spaderna S, Hlubek F, Kirchner T. Opinion: migrating cancer stem cells - an integrated concept of malignant tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 744-749 [PMID: 16148886 DOI: 10.1038/nrc1694]
- 43 Kemper K, Grandela C, Medema JP. Molecular identification and targeting of colorectal cancer stem cells. *Oncotarget* 2010; 1: 387-395 [PMID: 21311095]
- 44 Yeung TM, Gandhi SC, Wilding JL, Muschel R, Bodmer WF. Cancer stem cells from colorectal cancer-derived cell lines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 3722-3727 [PMID: 20133591 DOI: 10.1073/pnas.0915135107]
- 45 Ke J, Wu X, Wu X, He X, Lian L, Zou Y, He X, Wang H, Luo Y, Wang L, Lan P. A subpopulation of CD24 cells in colon cancer cell lines possess stem cell characteristics. *Neoplasma* 2012; 59: 282-288 [PMID: 22329848 DOI: 10.4149/neo_2012_036]
- 46 Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, Starling N. Colorectal cancer. *Lancet* 2010; 375: 1030-1047 [PMID: 20304247 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60353-4]
- 47 Muraro MG, Mele V, Däster S, Han J, Heberer M, Cesare Spagnoli G, Iezzi G. CD133+, CD166+CD44+, and CD24+CD44+ phenotypes fail to reliably identify cell populations with cancer stem cell functional features in established human colorectal cancer cell lines. *Stem Cells Transl Med* 2012; 1: 592-603 [PMID: 23197865 DOI: 10.5966/sctm.2012-0003]
- 48 Hiroishi K, Inomata M, Kashima K, Yasuda K, Shiraishi N, Yokoyama S, Kitano S. Cancer stem cell-related factors are associated with the efficacy of pre-operative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. *Exp Ther Med* 2011; 2: 465-470 [PMID: 22977526]
- 49 Shapira S, Shapira A, Starr A, Kazanov D, Kraus S, Benhar I, Arber N. An immunconjugate of anti-CD24 and Pseudomonas exotoxin selectively kills human colorectal tumors in mice. *Gastroenterology* 2011; 140: 935-946 [PMID: 21147107 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.12.004]

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



艾灸对*Helicobacter pylori*胃炎大鼠单核细胞NF-κB、IκBα含量的影响

林亚平, 封迎帅, 易受乡, 彭艳, 史冬梅, 侯艳玲

林亚平, 易受乡, 彭艳, 史冬梅, 侯艳玲, 湖南中医药大学针灸推拿学院经穴脏腑相关重点实验室 针灸生物信息分析重点实验室 湖南省长沙市 410007

封迎帅, 湖南省人民医院康复理疗科针灸室 湖南省长沙市 410005

林亚平, 主要从事针灸治病机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81072867

作者贡献分布: 此课题由林亚平、易受乡及彭艳设计; 研究过程由林亚平、封迎帅、彭艳、史冬梅及侯艳玲操作完成; 研究所用工具由林亚平提供; 数据分析由封迎帅、易受乡及林亚平完成; 本论文写作由封迎帅完成。

通讯作者: 林亚平, 教授, 博士生导师, 410007, 湖南长沙市韶山中路113号, 湖南中医药大学针灸推拿学院。

lyp5381161@126.com

电话: 0731-85381161

收稿日期: 2012-03-17 修回日期: 2013-04-10

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Effect of moxibustion treatment on expression of NF-κB and IκBα in peripheral blood monocytes of rats with *Helicobacter pylori*-associated gastritis

Ya-Ping Lin, Ying-Shuai Feng, Shou-Xiang Yi, Yan Peng, Dong-Mei Shi, Yan-Ling Hou

Ya-Ping Lin, Shou-Xiang Yi, Yan Peng, Dong-Mei Shi, Yan-Ling Hou, Key Laboratory of Correlation between Points on Meridian and Viscera & Key Laboratory of Acupuncture Biological Information Analysis, College of Acupuncture and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China

Ying-Shuai Feng, Department of Rehabilitation and Physiotherapy, the People's Hospital of Hunan Province, Changsha 410007, Hunan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81072867

Correspondence to: Ya-Ping Lin, Professor, College of Acupuncture and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. lyp5381161@126.com

Received: 2012-03-17 Revised: 2013-04-10

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To explore the effect of moxibustion treatment on gastric inflammatory injury and expression of NF-κB and IκBα in peripheral blood

monocytes of rats with *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)-associated gastritis, to reveal the mechanisms underlying the protective effect of moxibustion treatment against gastric inflammatory injury.

METHODS: Fifty healthy rats were randomly divided into five groups, namely, a control group (A), a *H. pylori* model group (B), a moxibustion at acupoints group (C), a moxibustion at non-acupoints group (D) and an electro-acupuncture group (E). Gastritis was induced by oral gavage with live *H. pylori*. The expression of NF-κB and IκBα in peripheral blood monocytes was detected by Western blot.

RESULTS: Compared to group A, gastric mucosal inflammation score and expression of NF-κB in monocytes were significantly increased (0 ± 2.0 vs 2.5 ± 2.5 , $0.54 \pm 0.11/\beta$ -actin vs $0.36 \pm 0.13/\beta$ -actin, both $P < 0.01$), and expression of IκBα in monocytes was significantly decreased in group B ($0.21 \pm 0.03/\beta$ -actin vs $0.65 \pm 0.18/\beta$ -actin, $P < 0.01$). Compared to group B, gastric mucosal inflammation score and expression of NF-κB in monocytes were significantly decreased (2.5 ± 2.5 vs 0 ± 2.00 , $0.36 \pm 0.13/\beta$ -actin vs $0.50 \pm 0.04/\beta$ -actin, both $P < 0.01$), and expression of IκBα in monocytes was significantly increased in group C ($0.65 \pm 0.18/\beta$ -actin vs $0.24 \pm 0.06/\beta$ -actin, $P < 0.01$). Compared to group D, gastric mucosal inflammation score and expression of NF-κB in monocytes were significantly decreased (3.00 ± 2.5 vs 0 ± 2.00 , $0.36 \pm 0.12/\beta$ -actin vs $0.50 \pm 0.04/\beta$ -actin, both $P < 0.01$), and expression of IκBα in monocytes was significantly increased in group C ($0.64 \pm 0.19/\beta$ -actin vs $0.24 \pm 0.06/\beta$ -actin, $P < 0.01$). Compared to group E, gastric mucosal inflammation score and expression of NF-κB in monocytes were significantly decreased (3 ± 2.75 vs 0 ± 2.00 , $0.35 \pm 0.10/\beta$ -actin vs $0.50 \pm 0.04/\beta$ -actin, both $P < 0.01$), and expression of IκBα in monocytes was significantly increased in group C ($0.52 \pm 0.17/\beta$ -actin vs $0.24 \pm 0.06/\beta$ -actin, $P < 0.01$).

■背景资料

本组以往从艾灸对胃黏膜保护作用进行了系统研究,发现艾灸足三里等穴能诱导eHSP72表达,增强机体免疫功能,干预胃黏膜炎症损伤过程;但是艾灸对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)胃炎的干预作用,是否与细胞核因子κB(nuclear factor-κB, NF-κB)、IκBα有关还有待进一步研究。

■同行评议者

郑鹏远, 教授, 主任医师, 郑州大学第二附属医院消化科

■研究前沿

艾灸、NF- κ B与胃黏膜炎性损伤有密切关系, 研究报道艾灸穴位处理能增强机体免疫功能, 干预胃黏膜炎性损伤。艾灸对*H. pylori*所致胃黏膜损伤的保护是否与NF- κ B、I κ B α 有关, 艾灸是否能通过调节NF- κ B、I κ B α 的表达来干预胃黏膜局部炎性细胞的浸润, 是本研究的主要目的。

CONCLUSION: Moxibustion at acupoints can reduce *H. pylori*-induced gastric mucosal inflammatory injury possibly *via* mechanisms associated with reducing NF- κ B expression in monocytes and decreasing the release of inflammatory cytokines.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Moxibustion; *Helicobacter pylori* gastritis; Extracellular heat shock protein 72; NF- κ B; I κ B α

Lin YP, Feng YS, Yi SX, Peng Y, Shi DM, Hou YL. Effect of moxibustion treatment on expression of NF- κ B and I κ B α in peripheral blood monocytes of rats with *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2563-2570 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2563.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2563>

摘要

目的: 探讨艾灸对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)胃炎大鼠胃黏膜HE染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、I κ B α 含量的影响, 初步揭示艾灸干预*H. pylori*胃黏膜炎性损伤, 保护胃黏膜的机制。

方法: 50只健康大鼠随机分为5组, 即A空白组、B模型组、C艾灸组、D艾灸非穴点组和E电针组, 每组10只。采用*H. pylori*灌胃造模, 蛋白免疫印记法检测大鼠外周血单核细胞NF- κ B、I κ B α 的含量。

结果: 与A组比较, B组大鼠胃黏膜HE染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞NF- κ B含量显著升高(0 ± 2.0 vs 2.5 ± 2.5 , $0.54 \pm 0.11/\beta$ -actin vs $0.36 \pm 0.13/\beta$ -actin, $P < 0.01$), I κ B α 含量显著降低($0.21 \pm 0.03/\beta$ -actin vs $0.65 \pm 0.18/\beta$ -actin, $P < 0.01$); 与B组比较, C组大鼠胃黏膜HE染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞NF- κ B含量显著减低(2.5 ± 2.5 vs 0 ± 2.00 , $0.36 \pm 0.13/\beta$ -actin vs $0.50 \pm 0.04/\beta$ -actin, $P < 0.01$), I κ B α 含量显著升高($0.65 \pm 0.18/\beta$ -actin vs $0.24 \pm 0.06/\beta$ -actin, $P < 0.01$); 与D组相比, C组大鼠胃黏膜HE染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞NF- κ B含量明显升高(3 ± 2.75 vs 0 ± 2.00 , $0.35 \pm 0.10/\beta$ -actin vs $0.50 \pm$

$0.04/\beta$ -actin, $P < 0.01$), I κ B α 含量显著降低($0.52 \pm 0.17/\beta$ -actin vs $0.24 \pm 0.06/\beta$ -actin, $P < 0.01$)。

结论: 艾灸穴位可减轻*H. pylori*胃炎胃黏膜炎性损伤, 此作用可能与艾灸诱导单核细胞I κ B α 大量表达, 抑制NF- κ B表达, 减少炎性细胞因子的释放, 减轻胃黏膜炎症损伤有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 艾灸; 幽门螺杆菌相关性胃炎; 胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值; 核因子 κ B; I κ B α

核心提示: 本研究从细胞核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)入手探讨艾灸穴位是否能干预幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)所致胃黏膜炎性损伤, 是否通过调节NF- κ B、I κ B α 的释放来抑制胃黏膜局部炎性细胞的浸润, 减轻胃黏膜炎性损伤, 从而为艾灸防治*H. pylori*胃炎提供理论依据。

林亚平, 封迎帅, 易受乡, 彭艳, 史冬梅, 侯艳玲. 艾灸对*Helicobacter pylori*胃炎大鼠单核细胞NF- κ B、I κ B α 含量的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21(25): 2563-2570 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2563.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2563>

0 引言

研究认为核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)可参与炎症反应, 介导多种炎性细胞因子的生成^[1-4], I κ B α 的降解和磷酸化是NF- κ B活化的关键因素^[5]。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是引起胃黏膜炎性损伤的主要病因^[6], 本组前期研究发现艾灸穴位预处理能增强机体免疫功能^[7], 减轻*H. pylori*胃炎大鼠的胃黏膜炎性损伤^[8], 但是艾灸是否可以通过调节NF- κ B、I κ B α 的释放来干预*H. pylori*胃炎的炎性损伤过程还不明确。因此, 本研究采用*H. pylori*灌胃建立大鼠*H. pylori*胃炎模型, 观察艾灸对*H. pylori*胃炎大鼠NF- κ B、I κ B α 的影响, 初步探讨灸干预*H. pylori*胃黏膜炎性损伤的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠, SPF级, 雌雄各半, 体重180-220 g, 共50只, 由湖南中医药大学实验动物中心提供(合格证号SCXK(湘)2009-2004), 饲养于湖南中医药大学实验动物中心。控制室温20℃-22℃, 相对湿度65%-70%, 大鼠在自然光暗周期的环境中饲养, 所用颗粒饲料和垫料

均由湖南中医药大学动物实验中心提供。施灸材料为苏州东方艾绒厂生产的“神灸300灸”艾炷(型号: 东方一型), 直径0.5 cm, 高0.8 cm。*H. pylori*菌株(由南华大学微生物实验室提供*H. pylori*国际标准菌株SS1菌种, 湖南中医药大学微生物实验室培养*H. pylori*菌株); 小牛血清(上海瑞齐生物科技有限公司), *H. pylori*快速尿素酶试验试剂盒(三明市安信生物技术有限公司), 10%乌拉坦、0.9%NaCl和多聚甲醛(湖南中医药大学针灸推拿实验室配制); 阿莫西林(华北制药); 华佗牌针灸针由苏州医疗用品厂有限公司生产, G6805-2型电针治疗仪(上海医用机器厂); AUE-210电子分析天平(长沙湘仪天平仪器厂); DK-8B电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司); ZLSC-5型不锈钢电热重蒸馏水器(上海申安医疗器械厂); DHG-9246A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); 石蜡切片(美国820型AO切片机); 低温离心机(上海安亭科学医学仪器厂); MDF-U32V超低温冰箱(日本三洋); BCD-216/226STC海尔冰箱(海尔公司); 淋巴细胞的分离(天津市灏洋生物制品科技有限责任公司); NF- κ B抗体(EPI 1546-1)、I κ B α 抗体(EPI 1130-s)、 β -actin(Santa Sc-1616r)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组: 所有大鼠按随机数字表法分为5组: A: 空白组, B: *H. pylori*胃炎模型(模型组), C: 模型+艾灸穴位组(艾灸组), D: 模型+艾灸非穴位组(艾灸对照点组), E: 模型+电针穴位组(电针组), 每组10只。

1.2.2 穴位定位: 动物穴位定位参考李忠仁主编《实验针灸学》常用动物穴位定位法及拟人对照法定位^[9]。足三里: 膝关节后外侧, 腓骨小头下约5 mm处; 中脘: 脐与胸骨剑突连线中点; 关元: 脐与耻骨联合上缘连线上3/5与下2/5交点, 约脐下25 mm处; 脾俞: 第十二胸椎棘突下, 旁开5 mm; 胃俞: 第十三胸椎棘突下, 旁开5 mm; 足三里的对照点: 在足阳明经和足太阳经之间, 平足三里; 中脘、关元的对照点: 分别在平中脘、关元穴的左侧腰部; 脾俞、胃俞的对照点: 在腋后线和肩胛下角的中线上, 分别平胸12、胸13。

1.2.3 动物造模方法: (1)*H. pylori*胃炎造模: 大鼠禁食12 h, 先以NaHCO₃+消炎痛溶液0.5 mL/只灌胃, 禁食6 h后再以*H. pylori*(含量10⁹/mL)1.5 mL/只灌胃, 隔天1次, 连续5次, 灌胃完毕后, 禁食禁水4 h, 之后正常喂养; (2)造模成功指标: 尿素酶试验阳性, 胃黏膜涂片革兰染色发现*H. pylori*,

胃黏膜组织HE染色镜检显示有炎性损伤即胃黏膜上皮细胞脱落并有炎性细胞浸润。

1.2.4 艾灸、电针方法: (1)艾灸方法: 取大鼠双侧足三里、中脘、关元、双侧脾俞和双侧胃俞穴及这些穴位的对照点(非穴点)。局部剪毛, 艾炷粘于穴位或非穴对照点上点燃施灸。单日大鼠仰卧位固定, C组灸足三里、中脘和关元穴, D组灸足三里、中脘和关元穴的对照点; 双日大鼠俯卧位固定, C组灸脾俞和胃俞, D组灸脾俞和胃俞的对照点。采用苏州东方艾绒厂提供的“神灸300灸”艾炷进行施灸, 每个艾灸部位连续艾灸5壮, 总延时约20 min左右, 每日1次, 连续16 d; (2)电针方法: 取大鼠双侧足三里、中脘、关元、双侧脾俞和双侧胃俞穴后穴位局部剪毛、络合碘消毒, 采用1寸、30号的华佗牌针灸针分别进行针刺, 针刺深度约4 mm左右, 针刺后连电针, 其中两侧足三里穴接在G6805-2型电针仪的第一组输出线上, 中脘和关元、两侧脾俞、两侧胃俞分别接在电针仪的第二、三、四组输出线上。单日大鼠仰卧位固定, E组电针足三里、中脘和关元穴; 双日大鼠俯卧位固定, E组电针脾俞和胃俞。一只大鼠每次共接两组输出线, 采用疏密波, 频率4-50 Hz, 脉宽0.5 ms, 输出电压2-4 V, 强度以肢体出现轻微颤抖为度, 电针时间20 min, 1次/d, 连续16 d。

1.2.5 实验步骤: 所有动物分组后予以浓度为2.5 g/L的阿莫西林生理盐水溶液0.5 mL/只灌胃, 2次/d, 连续3 d(杀灭大鼠上消化道可能定植的*H. pylori*); 第4天起每天13点所有大鼠捆绑于鼠板上, A、B组每日仅捆绑不做治疗, C、D组予以艾灸治疗, E组予以电针治疗, 1次/d, 连续16 d; 同时, 从实验第11天(即艾灸的第8天)开始灌胃, 隔天1次, 连续5次(即9 d), 灌胃前所有的大鼠禁食12 h, 上午10点左右A组先予以生理盐水0.5 mL/只灌胃, B、C、D、E组予以NaHCO₃+消炎痛溶液0.5 mL/只灌胃; 再禁食不禁水6 h后, 在下午16:30开始进行第2次灌胃, A组予以生理盐水1.5 mL/只灌胃, B、C、D、E组予以*H. pylori*(1 \times 10⁹)1.5 mL/只灌胃, 灌胃完毕后, 禁食禁水4 h, 之后正常喂养; 于最后一次灌胃(艾灸)结束后的第4周(28 d), 禁食12 h后全部大鼠以10%乌拉坦(1 mL/100 g)麻醉固定取材。胃黏膜处理: 大鼠剖腹取胃, 沿胃大弯剖开, 用冷生理盐水冲洗胃内残留物, 计数胃黏膜损伤指数。血清处理: 腹主动脉采血, 常温放置2-3 h, 4 $^{\circ}$ C 2000 r/min, 离心10 min, 取上清液, EP管分装, -20 $^{\circ}$ C保存, 待测。

■ 相关报道

研究发现艾灸对胃黏膜损伤有保护作用, 灸疗对机体的免疫作用是一切作用的基础, 目前从单核细胞NF- κ B、I κ B α 方面来研究艾灸的免疫调节作用是近年研究的热点。

■创新盘点

本研究结果显示艾灸足三里等穴可降低*H. pylori*胃炎大鼠胃黏膜HE染色镜检胃黏膜炎症积分值,增高单核细胞I κ B α 含量,降低NF- κ B含量.说明艾灸足三里等穴能通过调节单核细胞I κ B α 、NF- κ B含量,达到对胃黏膜的保护作用,并有一定穴位特异性.

1.2.6 观察指标: (1)胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值,根据参考文献[10-13],从下面3个方面对胃组织炎症损伤进行评分: (1)炎症细胞浸润: 无(0分),炎症细胞较少(1分),数量较多(2分),炎症细胞密集(3分); (2)浸润深度: 局限于黏膜浅层不超过黏膜层的1/3(1分),炎症细胞浸入黏膜下层黏膜全层的2/3(2分),浸入黏膜全层或肌层(3分); (3)破损程度: 无(0分),上皮(1分),黏膜固有层(2分),黏膜肌层(3分).将上述分值相加作为炎症损伤总分值进行组间比较.胃黏膜组织HE染色镜检按下面步骤进行HE染色: 组织入4%多聚甲醛固定24 h以上;梯度乙醇脱水: 750 mL/L乙醇(ALC)2-4 h, 80%ALC 2-4 h, 95%ALC 3-4 h, 无水乙醇4 h, 二甲苯透明4 h; 包埋、自然冷却后修整蜡块置低温保存备用; 切片: 切片厚4-5 μ m, 铺片, 60 $^{\circ}$ C温箱中烤片; 染色: 切片脱蜡, 二甲苯2次各10 min, 无水乙醇3-5 min, 950 mL/L乙醇3-5 min, 800 mL/L乙醇5-10 min, 自来水洗约5 min, 苏木素液染色约5-10 min, 自来水洗去多余染液, 入750 mL/L乙醇(100 mL乙醇中加浓盐酸1 mL)分色数秒钟立即水洗并蓝化; 1%伊红水液染色3-5 min水洗; 入750-800 mL/L乙醇分色2-4 min, 950 mL/L乙醇脱水3-5 min, 无水乙醇脱水3-5 min; 二甲苯透明中性树胶封片; 干后镜下观察并显微采图; (2)外周血单核细胞NF- κ B、I κ B α 含量测定: 按照EPI公司的大鼠外周血单核细胞NF- κ B、I κ B α 的测定检测试剂盒的要求, 采用蛋白免疫印记检测, 具体步骤如下: 蛋白提取: 在每 10^6 单核细胞中加250 μ L细胞总蛋白提取试剂(使用前数分钟内加入cooktail、PMSF和磷酸化蛋白酶抑制剂), 振荡. 如果需要提高蛋白浓度, 可以适当减少细胞总蛋白提取试剂体积; 将加有蛋白提取试剂的细胞放在冰上孵育30 min. 其间每5 min用200 μ L移液器反复吹打. 直至悬液清澈、不黏稠; 1200 r/min离心10 min, 上清即为提取的总蛋白. 蛋白浓度测定: 采用Bradford方法测定; 标准曲线制作: 10 mg/mL BSA用生理盐水稀释为1 mg/mL; 样品浓度测定: 900 μ L Bradford加入1 μ L待测蛋白和99 μ L 0.9%生理盐水, 混匀后在595 nm处检测吸光度. 根据标准品做出的标准曲线上计算出各样本蛋白浓度; 测完蛋白含量后, 计算含40 μ g蛋白的溶液体积即为上样量; 在蛋白标本中加入适当体积的蛋白上样缓冲液, 沸水浴5 min; SDS-PAGE电泳: 清洗玻璃板; 灌胶与上样: 将玻璃板对齐后放入夹中卡紧, 操作时要使两玻璃

对齐, 以免漏胶; 按实验安排配制分离胶, 加入TEMED后立即摇匀即可灌胶. 大约45 min后可倒去胶上层水并用吸水纸将剩余水吸干; 按前面方法配5%的浓缩胶, 加入TEMED后立即摇匀即可灌胶. 将剩余空间灌满浓缩胶然后将梳子插入浓缩胶中; 加足够的电泳液后上样电泳: 将样品加入电泳孔中, 电泳; 浓缩胶电压75 V, 分离胶用120 V; 电泳至溴酚蓝刚跑出即可终止电泳, 进行转膜; 转膜: 准备6张7 cm \times 9 cm的滤纸和一张大小适中的0.45 μ m PVDF膜, PVDF膜在使用之前要先用甲醇活化; 在加有转移液的盆里放入转膜用的夹子, 两块海绵垫, 一支玻棒, 滤纸和经过活化的PVDF膜; 将夹子打开使黑的一面保持水平; 在垫子上垫海绵、三层滤纸; 小心剥下分离胶盖于滤纸上, 将膜盖于胶上, 并除气泡; 在膜上盖三张滤纸并除去气泡, 最后盖上另一个海绵垫; 转膜条件: 200 mA, 1 h; 免疫反应: 将转好的膜于室温下脱脂摇床上用5%的脱脂牛奶(0.5%TBST配), 封闭1 h; 稀释一抗(TBST溶解的5%脱脂牛奶), 4 $^{\circ}$ C过夜; 用TBST在室温下脱脂摇床上洗3次, 每次5 min; 将二抗用TBST稀释3000倍, 室温下孵育30 min后, 用TBST在室温下脱脂摇床上洗3次, 每次5 min; 化学发光: 将A和B两种试剂在离心管中等体积混合, 将膜蛋白面朝上与此混合液充分接触, 1-2 min后, 去尽残液, 包好, 放入X-光片夹中曝光; 根据不同的光强度调整曝光条件, 显影、定影; 凝胶图像分析: 将胶片进行扫描存档, Alpha软件处理系统分析目标带的灰度值, 以目的蛋白的灰度值除以内参 β -actin的灰度值以校正上样误差, 最后与对照组比较, 测定其相对光密度值即蛋白表达差异倍数(单位为 β -actin), 其中光密度值高说明表达多, 光密度值低说明表达少.

统计学处理 所有资料进行正态性检验, 符合正态分布的数据用mean \pm SD表示, 多组计量资料采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 方差齐者用LSD法, 方差不齐者用Tamhane's T2法; 非正态分布数据用中位数与四分位数间距[M(Q)]表示, 采用秩和检验. 所有数据使用SPSS19 for Windows软件进行处理, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 胃黏膜涂片革兰氏染色检查 空白组胃黏膜革兰染色后镜检没有发现有红色的弧形或*H. pylori*; 模型组胃黏膜染色后镜检可见大量红

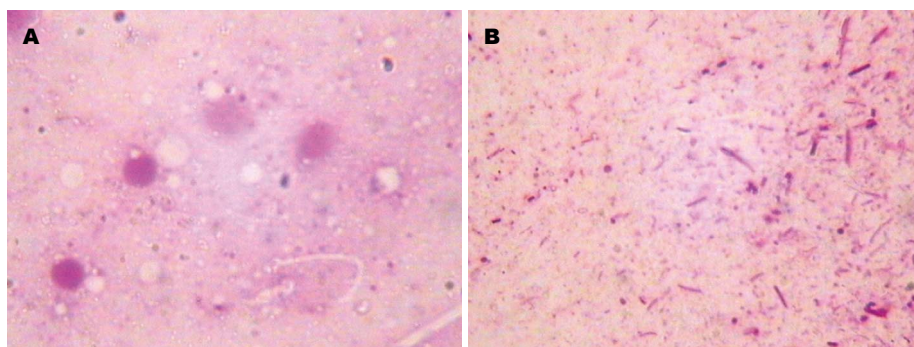


图1 空白组和模型组大鼠胃黏膜涂片革兰氏染色镜检结果. A: 空白组; B: 模型组.

■同行评价
本文设计合理, 实验方法科学, 结论中肯, 具有一定指导意义.

表1 艾灸对*H. pylori*胃炎大鼠胃黏膜炎症程度评分积分值影响 ($n=10$, $M(Q)$)

分组	胃黏膜炎症程度评分积分值
空白组	0(0)
模型组	3(2.5) ^b
艾灸组	0(0) ^{d,h}
艾灸对照点组	3(2.5)
电针组	2.5(2.0)

^b $P<0.01$ vs A组; ^d $P<0.01$ vs B组; ^f $P<0.01$ vs D组; ^h $P<0.01$ vs E组.

色的弧形或*H. pylori*(图1), 说明*H. pylori*灌胃后大鼠感染了*H. pylori*.

2.2 艾灸对各组大鼠HE染色镜检胃组织形态学变化的影响 与A组比较, B、D、E组大鼠胃黏膜上皮明显破损、脱落, 固有层中腺体浅层被破坏, 有少数炎症细胞浸润, 胃黏膜上皮损伤明显; 与B、D、E组比较, C组大鼠胃黏膜破损、脱落较轻, 炎症细胞浸润较少, 说明艾灸预处理对胃黏膜损伤的炎性浸润有抑制作用, 能促进胃黏膜的修复(图2).

2.3 艾灸对*H. pylori*胃炎大鼠胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值影响 与A组比较, B组大鼠胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值升高($P<0.01$); 与B组相比, C组大鼠胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值降低($P<0.01$), D、E组大鼠胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值无明显降低($P>0.05$); 与D、E组相比, C组大鼠胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值明显降低($P<0.01$), 以上结果提示: *H. pylori*灌胃造模后, 胃黏膜受损; 艾灸预处理可降低胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值, 减轻胃黏膜炎性损伤, 且减轻胃黏

膜炎性损伤作用优于艾灸非穴位与电针组(表1).

2.4 艾灸对*H. pylori*胃炎大鼠外周血单核细胞I κ B α 、NF- κ B表达的影响 与A组比较, B组大鼠单核细胞I κ B α 含量降低($P<0.05$); 与B组比较, C组大鼠单核细胞I κ B α 含量增加($P<0.05$), D、E组大鼠单核细胞I κ B α 含量无明显增加($P>0.05$); 与D、E组比较, C组大鼠单核细胞I κ B α 表达增加($P<0.05$), 以上提示: *H. pylori*灌胃造模后, 大鼠单核细胞I κ B α 表达量显著下降, 艾灸穴位组可以使*H. pylori*胃炎大鼠单核细胞I κ B α 表达增加, 而电针穴位和艾灸对照点组不能增加*H. pylori*胃炎大鼠单核细胞I κ B α 含量, 艾灸穴位组增加大鼠单核细胞I κ B α 表达效果优于电针和艾灸非对照点组的效果(表2, 图3). 与A组比较, B组大鼠单核细胞NF- κ B表达量增强($P<0.01$); 与B组比较, C组大鼠单核细胞NF- κ B表达量下降($P<0.01$), D、E组大鼠单核细胞NF- κ B表达量无明显下降($P>0.05$); 与D、E组比较, C组大鼠单核细胞NF- κ B表达降低($P<0.01$), 提示: *H. pylori*灌胃造模后, 大鼠单核细胞NF- κ B表达量显著上升, 艾灸穴位组可以使*H. pylori*胃炎大鼠单核细胞NF- κ B表达降低, 而电针穴位和艾灸对照点预处理不能降低*H. pylori*胃炎大鼠单核细胞NF- κ B表达, 艾灸穴位组降低大鼠单核细胞NF- κ B表达效果优于电针和艾灸非对照点组的效果(表2, 图3).

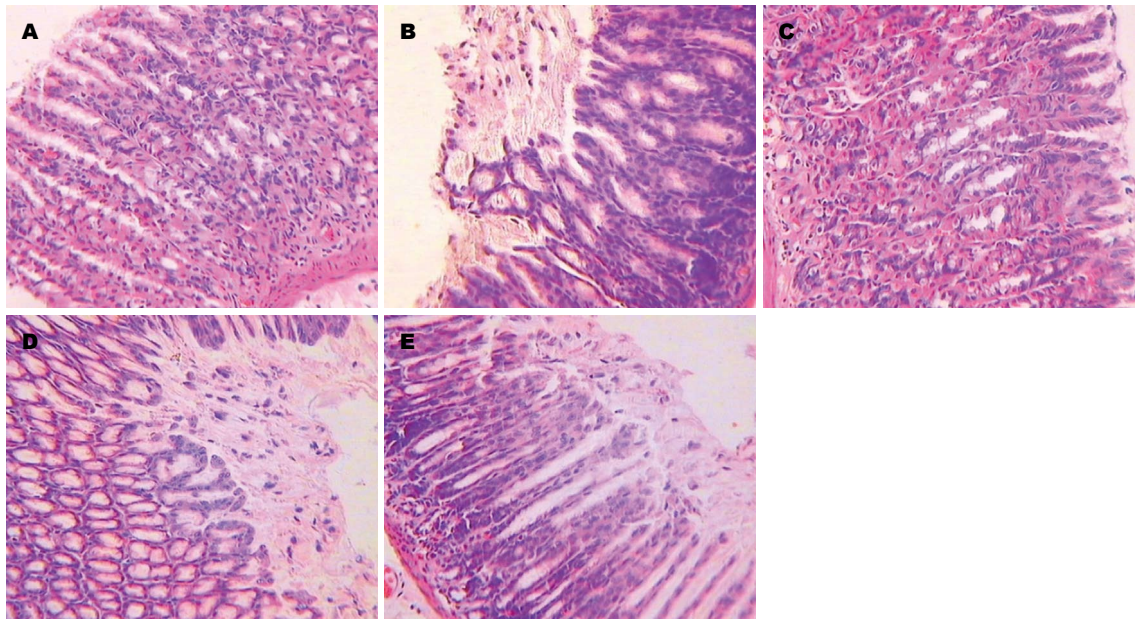
3 讨论

慢性胃炎属于祖国医学“胃脘痛”范围, 临床上约70%-80%的患者可无任何症状, 有症状者主要表现为上腹不适、饱胀、钝痛、烧灼痛等非特异性的消化不良症状^[6]. *H. pylori*感染是导致胃炎的主要原因, *H. pylori*感染活动期胃黏膜固有层、小凹上皮和腺上皮之间可出现中性粒细胞浸润, 炎症的静息期则以淋巴细胞和浆细

表 2 艾灸对 *H. pylori* 胃炎大鼠单核细胞 I κ B α 、NF- κ B 相对光密度值的影响 ($n = 5$, mean \pm SD)

分组	I κ B α (相对光密度值)/ β -actin	NF- κ B(相对光密度值)/ β -actin
空白组	0.54 \pm 0.11	0.21 \pm 0.03
模型组	0.36 \pm 0.13 ^a	0.65 \pm 0.18 ^b
艾灸组	0.50 \pm 0.04 ^{c, e, g}	0.24 \pm 0.06 ^{d, h}
艾灸对照点组	0.36 \pm 0.12	0.64 \pm 0.19
电针组	0.35 \pm 0.10	0.52 \pm 0.17

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 空白组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 模型组; ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ vs 艾灸对照点组;
^g $P < 0.05$, ^h $P < 0.01$ vs 电针组.

图 2 各组胃组织 HE 染色后镜检形态学比较 ($\times 250$)。A: 空白组; B: 模型组; C: 艾灸组; D: 艾灸对照点组; E: 电针组。

胞慢性炎症浸润为主。目前关于 *H. pylori* 相关性慢性胃炎的诊断主要是组织学、尿素酶、细菌培养、¹⁴C-尿素呼气试验任一项阳性证实有 *H. pylori* 现症感染, 病理切片检查有慢性胃炎的组织学改变^[14]。

NF- κ B 命名是因为他是作为 B 细胞细胞核转录因子被发现, 免疫球蛋白 κ 轻链基因是他的结合位点, 他是以 p50/p65 异二聚体形式存在于哺乳动物细胞浆中的转录因子, 在静息状态下, 与抑制性蛋白 I κ B 结合在一起, 以无活性的形式存在于细胞质中。当他被细菌、病毒、LPS、氧化剂和自由基等刺激后^[15-17], I κ B 被磷酸化和降解, 使 NF- κ B 与 I κ B 解离, 游离的 NF- κ B 转入细胞核内, 启动基因转录^[18], 诱导细胞因子的转录。NF- κ B 被认为是最重要的炎症调节信号通路之一^[19,20]。抑制蛋白 I κ B 主要由 I κ B α 、I κ B β 和 I κ B ϵ 3 种分子组成的蛋白家族, 其中 I κ B α 是 NF- κ B

激活途径中主要的调节分子, I κ B 与 NF- κ B 结合可以阻止细胞质中的 NF- κ B 进入细胞核和调控其转录功能, 抑制 NF- κ B 活化^[21]。NF- κ B 信号通路^[22] 参与了感染、炎症、免疫反应和细胞凋亡等病理过程^[23-25], I κ B α 的降解和磷酸化是 NF- κ B 活化的最关键因素。因此, 研究证明可以通过阻止 I κ B α 降解来抑制 NF- κ B 的活化, 从而阻断 NF- κ B 炎性信号转导途径, 缓解组织炎症损伤^[19,20]。

总之, *H. pylori* 灌胃造模后, 大鼠胃黏膜 HE 染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞 NF- κ B 含量显著升高, I κ B α 含量显著降低; 艾灸穴位处理后大鼠胃黏膜 HE 染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞 NF- κ B 含量显著降低, I κ B α 含量显著增加; 电针穴位和艾灸对照点处理后大鼠胃黏膜 HE 染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞 NF- κ B 无明显降低, I κ B α 含量无明显增加; 提示: *H. pylori* 直接灌胃后, 大鼠胃黏膜明显受损; 电

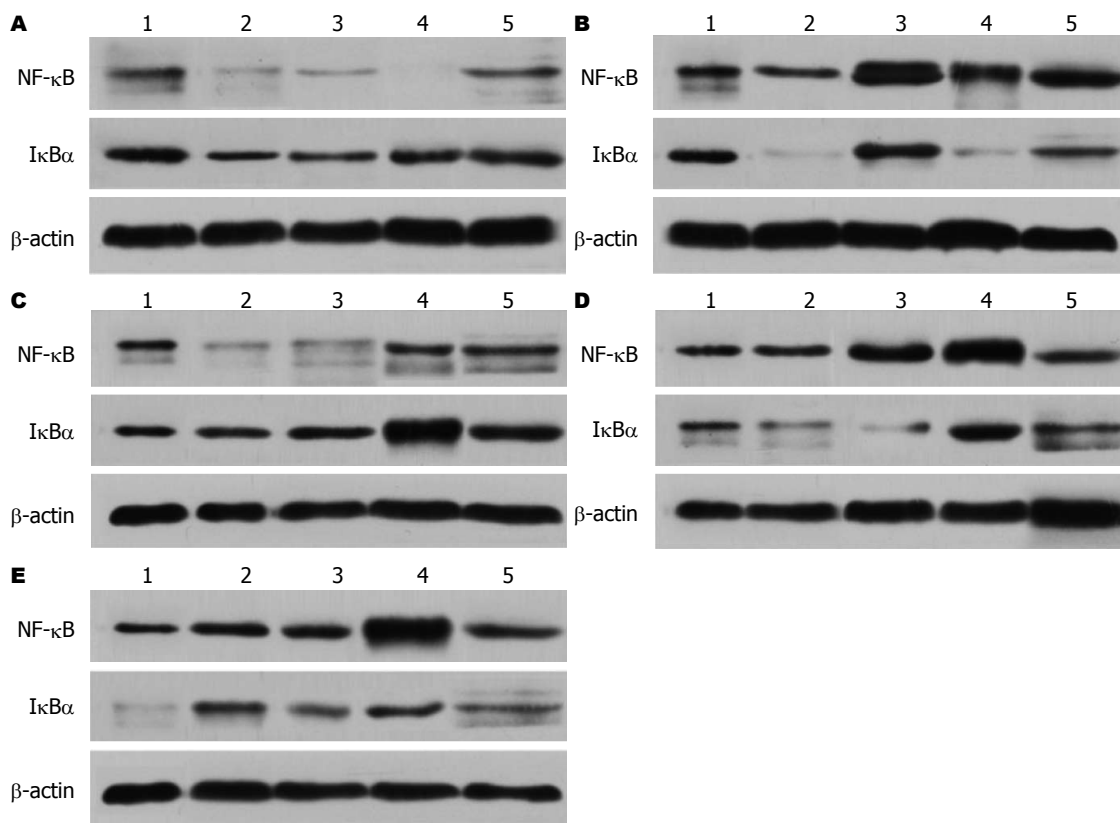


图 3 各组大鼠单核细胞NF- κ B相对光密度值比较. A: 空白组; B: 模型组; C: 艾灸组; D: 艾灸对照点组; E: 电针组.

针穴位和艾灸对照点处理不能减轻对*H. pylori*胃炎的炎性损伤; 艾灸穴位可减轻*H. pylori*胃炎胃黏膜炎性损伤, 此作用可能与艾灸诱导单核细胞I κ B α 大量表达, 抑制NF- κ B表达, 减少炎性细胞因子的释放, 干预胃黏膜局部炎性细胞的浸润, 减轻胃黏膜炎症损伤有关.

4 参考文献

- Mizgerd JP, Spieker MR, Doerschuk CM. Early response cytokines and innate immunity: essential roles for TNF receptor 1 and type I IL-1 receptor during *Escherichia coli* pneumonia in mice. *J Immunol* 2001; 166: 4042-4048 [PMID: 11238652]
- Mizgerd JP, Lupa MM, Hjoberg J, Vallone JC, Warren HB, Butler JP, Silverman ES. Roles for early response cytokines during *Escherichia coli* pneumonia revealed by mice with combined deficiencies of all signaling receptors for TNF and IL-1. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286: L1302-L1310 [PMID: 14966082 DOI: 10.1152/ajplung.00353.2003]
- Jones MR, Simms BT, Lupa MM, Kogan MS, Mizgerd JP. Lung NF-kappaB activation and neutrophil recruitment require IL-1 and TNF receptor signaling during pneumococcal pneumonia. *J Immunol* 2005; 175: 7530-7535 [PMID: 16301661]
- Lee JS, Frevert CW, Matute-Bello G, Wurfel MM, Wong VA, Lin SM, Ruzinski J, Mongovin S, Goodman RB, Martin TR. TLR-4 pathway mediates the inflammatory response but not bacterial elimination in *E. coli* pneumonia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 289: L731-L738 [PMID: 16024722 DOI: 10.1152/ajplung.00196.2005]
- Perkins ND. The Rel/NF-kappa B family: friend and foe. *Trends Biochem Sci* 2000; 25: 434-440 [PMID: 10973057 DOI: 10.1016/S0968-0004(00)01617-0]
- 王吉耀, 廖二元, 胡品津. 内科学. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 414-418
- 张淑君. 试论灸法“治未病”. *中国针灸* 2008; 28: 739-741
- 封迎帅, 易受乡, 林亚平, 彭艳, 史冬梅, 侯艳玲. 艾灸预处理对幽门螺杆菌胃黏膜炎性损伤大鼠血清IgG和eHSP72含量的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1131-1136
- 李忠仁. 实验针灸学. 第1版. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 327-329
- Price AB. The Sydney System: histological division. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6: 209-222 [PMID: 1912431 DOI: 10.1111/j.1440-1746.1991.tb01468.x]
- Nagahata Y, Kawakita N, Azumi Y, Numata N, Yano M, Saitoh Y. Etiological involvement of *Helicobacter pylori* in "reflux" gastritis after gastrectomy. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 2130-2134 [PMID: 8855735]
- 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 慢性胃炎的中西医结合诊治方案(草案). *中国中西医结合杂志* 2005; 25: 172-175
- 陈曦, 杨世忠, 迟宝荣. 大鼠炎症性肠病模型的复制及中药的干预作用. *吉林大学学报(医学版)* 2008; 34: 262-266
- 中华医学会消化病学分会, 全国慢性胃炎研讨会共识意见. *中华消化杂志* 2000; 20: 199-201
- Grumont RJ, Gerondakis S. Rel induces interferon regulatory factor 4 (IRF-4) expression in lymphocytes: modulation of interferon-regulated gene

- expression by rel/nuclear factor kappaB. *J Exp Med* 2000; 191: 1281-1292 [PMID: 10770796 DOI: 10.1084/jem.191.8.1281]
- 16 Chen F, Castranova V, Shi X, Demers LM. New insights into the role of nuclear factor-kappaB, a ubiquitous transcription factor in the initiation of diseases. *Clin Chem* 1999; 45: 7-17 [PMID: 9895331]
- 17 Gugasyan R, Grumont R, Grossmann M, Nakamura Y, Pohl T, Nestic D, Gerondakis S. Rel/NF-kappaB transcription factors: key mediators of B-cell activation. *Immunol Rev* 2000; 176: 134-140 [PMID: 11043773 DOI: 10.1034/j.1600-065X.2000.00615.x]
- 18 May MJ, Ghosh S. Signal transduction through NF-kappa B. *Immunol Today* 1998; 19:80-88 [PMID: 9509763]
- 19 Janssen-Heininger YM, Poynter ME, Baeuerle PA. Recent advances towards understanding redox mechanisms in the activation of nuclear factor kappaB. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 1317-1327 [PMID: 10924851 DOI: 10.1016/S0891-5849(00)00218-5]
- 20 Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogene* 1999; 18: 6853-6866 [PMID: 10602461 DOI: 10.1038/sj.onc.1203239]
- 21 史艳晖, 卢圣栋. 转录因子NFκB的研究现状及其应用前景. *中国生物工程杂志* 2007; 27: 110-112
- 22 Silverman N, Maniatis T. NF-kappaB signaling pathways in mammalian and insect innate immunity. *Genes Dev* 2001; 15: 2321-2342 [PMID: 11562344 DOI: 10.1101/gad.909001]
- 23 Aradhya S, Nelson DL. NF-kappaB signaling and human disease. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 300-306 [PMID: 11377967 DOI: 10.1016/S0959-437X(00)00194-5]
- 24 Tak PP, Firestein GS. NF-kappaB: a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest* 2001; 107: 7-11 [PMID: 11134171 DOI: 10.1172/JCI11830]
- 25 Baldwin AS. Series introduction: the transcription factor NF-kappaB and human disease. *J Clin Invest* 2001; 107: 3-6 [PMID: 11134170 DOI: 10.1172/JCI11891]

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)

白介素-10基因干预对纤维化大鼠TNF- α 、PDGF- β 和COX-2表达的影响

林颖, 黄月红, 陈治新, 王小众, 张莉娟

林颖, 黄月红, 陈治新, 王小众, 张莉娟, 福建医科大学附属协和医院消化内科 福建省福州市 350001
林颖, 硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。
福建省自然科学基金(青年)资助项目, No. 2010J05062, No. 2010J01165
福建省卫生厅青年基金资助项目, No. 2010-1-10
2012福建省临床医学重点专科基金资助项目
作者贡献分布: 此课题由林颖、黄月红、王小众及张莉娟设计; 研究过程由林颖、黄月红及陈治新操作完成; 数据分析与论文写作由林颖完成。
通讯作者: 黄月红, 副主任检验师, 350001, 福建省福州市新权路29号, 福建医科大学附属协和医院消化内科。
2003huangyh@sina.com
电话: 0591-83357896-8482
收稿日期: 2013-06-20 修回日期: 2013-07-11
接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Effect of intravenous injection of recombinant IL-10 gene vector on expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 in experimental fibrosis in rats

Ying Lin, Yue-Hong Huang, Zhi-Xin Chen, Xiao-Zhong Wang, Li-Juan Zhang

Ying Lin, Yue-Hong Huang, Zhi-Xin Chen, Xiao-Zhong Wang, Li-Juan Zhang, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Supported by: the Nature Science Foundation of Fujian Province, No. 2010J05062, No. 2010J01165; the Young Scientific Research Fund of Department of Public Health of Fujian Province, No. 2010-1-10; the Key Clinical Specialty Discipline Construction Program of Fujian, P. R. C
Correspondence to: Yue-Hong Huang, Deputy Director of Clinical Laboratory Examine, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, 29 Xinquan Road, Fuzhou 350001, Fujian Province, China. 2003huangyh@sina.com
Received: 2013-06-20 Revised: 2013-07-11
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To study the effect of intravenous injection of recombinant IL-10 (*rIL-10*) gene vector on the expression of tumor necrosis factor- α (TNF- α), platelet derivative growth factor- β (PDGF- β) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in pig serum-induced experimental liver fibrosis in rats.

METHODS: Thirty SD rats were divided into a normal control and a fibrosis model group. The normal control group was intraperitoneally injected with 0.5 mL of normal sodium twice a week for 8 wk, while the fibrosis model group was injected with equal volume of pig serum for the same duration. At the beginning of the 5th week, the fibrosis model group was further randomly divided into a fibrosis model subgroup, a *rIL-10* gene therapy subgroup and an empty vector control subgroup. Rats in the normal control group and fibrosis model subgroup were injected with Ringer's solution (as a reagent control) *via* the tail vein weekly, the *rIL-10* gene therapy subgroup was injected with *rIL-10* plasmid pcDNA3-*rIL-10*, and the empty vector control subgroup was injected with empty vector pcDNA3. All rats were sacrificed at the end of the 8th week, and liver tissue samples were collected to observe pathological changes in liver tissue by HE staining and to detect the expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 in liver tissue by immunohistochemistry.

RESULTS: Histopathology analysis proved that experimental liver fibrosis was induced successfully with pig serum. Compared with the fibrosis model subgroup and empty vector control subgroup, the *rIL-10* gene therapy subgroup showed mild liver cell degeneration, decreased inflammatory cell infiltration and collagen deposition. Compared with the normal control group, the expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 was significantly increased in the fibrosis model subgroup and empty vector control subgroup (0.2206 ± 0.0434 , 0.2217 ± 0.0518 vs 0.1860 ± 0.0104 ; 0.2891 ± 0.0417 , 0.2818 ± 0.0272 vs 0.2514 ± 0.0228 ; 0.2174 ± 0.0429 , 0.2117 ± 0.0221 vs 0.1987 ± 0.0106 , all $P < 0.01$). Compared with the fibrosis model subgroup and empty vector control subgroup, the expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 was significantly reduced in the *rIL-10* gene therapy subgroup (0.2048 ± 0.0124 vs 0.2206 ± 0.0434 , 0.2217 ± 0.0518 ; 0.2513 ± 0.0165 vs 0.2891 ± 0.0417 , 0.2818 ± 0.0272 ; 0.1961 ± 0.0142 vs 0.2174 ± 0.0429 , 0.2117 ± 0.0221 , all $P < 0.01$).

背景资料
肝纤维化是以细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积为特征的创伤愈合过程, 肝星形细胞(hepatic stellate cell, HSC)是肝纤维化发生发展中的关键细胞, HSC活化受细胞因子和细胞内信号转导途径所调控, 其活化过程中的相关调控因子是抗纤维化治疗的重要靶向目标。肝纤维化分子机制的不断阐明, 将为攻克肝纤维化治疗带来希望。

同行评议者
刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

■ 研究前沿

通过抑制肝组织内促纤维化因子的表达从而抑制HSC的活化,促进I、III型胶原的降解,从而减少ECM沉积,对肝纤维化形成具有一定的拮抗作用.因此如何抑制促肝纤维化因子的表达成为当前研究热点.

CONCLUSION: *rIL-10* gene treatment attenuates pig serum-induced liver fibrosis in rats possibly by reducing the expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 in liver tissue.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Liver fibrosis; Interleukin-10; Rat; Tumor necrosis factor; Platelet derivative growth factor- β ; Cyclooxygenase-2

Lin Y, Huang YH, Chen ZX, Wang XZ, Zhang LJ. Effect of intravenous injection of recombinant *IL-10* gene vector on expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 in experimental fibrosis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2571-2577 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2571.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2571>

摘要

目的: 探讨大鼠白介素-10(rat interleukin-10, *rIL-10*)基因干预对猪血清诱导的大鼠肝纤维化的拮抗作用及其对肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、血小板衍生生长因子- β (platelet derivative growth factor- β , PDGF- β)和环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)表达的影响.

方法: 30只清洁级SD大鼠被随机分为正常对照组(N组)和纤维化模型组, N组每周腹腔注射2次生理盐水, 每次0.5 mL, 共8 wk; 纤维化模型组每周腹腔注射2次猪血清, 每次0.5 mL, 共8 wk. 至造模第5周开始纤维化模型组随机分为纤维化组(M组), *rIL-10*质粒治疗组(I组), 空质粒对照组(P组). N组和M组大鼠尾静脉注射林格氏液作为试剂对照, I组大鼠尾静脉注射pcDNA3-*rIL-10*质粒, P组大鼠尾静脉注射pcDNA3.0空质粒, 1次/wk. 所有大鼠在第8周末处死, 通过HE染色检测各组大鼠肝组织病理改变; SP免疫组织化学检测各组大鼠肝脏TNF- α 、PDGF- β 和COX-2表达的情况.

结果: 肝组织学病理显示猪血清诱导肝纤维化模型造模成功, *rIL-10*基因干预能明显降低大鼠肝纤维化的程度, 与M组和P组相比, I组纤维化程度明显下降. 免疫组织化学结果显示: M组、P组TNF- α 、PDGF- β 和COX-2较N组表达明显增加(0.2206 ± 0.0434 , 0.2217 ± 0.0518 vs 0.1860 ± 0.0104 ; 0.2891 ± 0.0417 , 0.2818 ± 0.0272 vs 0.2514 ± 0.0228 ; 0.2174 ± 0.0429 , 0.2117 ± 0.0221 vs 0.1987 ± 0.0106 , 均 $P < 0.01$); I组TNF- α 、PDGF- β 和COX-2较M组、P组表达显著减低(0.2048 ± 0.0124 vs

0.2206 ± 0.0434 , 0.2217 ± 0.0518 ; 0.2513 ± 0.0165 vs 0.2891 ± 0.0417 , 0.2818 ± 0.0272 ; 0.1961 ± 0.0142 vs 0.2174 ± 0.0429 , 0.2117 ± 0.0221 , 均 $P < 0.01$).

结论: *rIL-10*基因干预能有效拮抗猪血清诱导的大鼠肝纤维化形成, 其机制可能与其抑制肝组织中TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝纤维化; 白介素-10; 大鼠; 肿瘤坏死因子- α ; 血小板衍生生长因子- β ; 环氧合酶-2

核心提示: 肝组织学病理显示猪血清诱导肝纤维化模型造模成功, 大鼠白介素-10(rat interleukin-10, *rIL-10*)基因干预能明显降低大鼠肝纤维化的程度, 免疫组织化学结果显示通过大鼠尾静脉高压注射*rIL-10*质粒显著降低肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、血小板衍生生长因子- β (platelet derivative growth factor- β , PDGF- β)和环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)的表达, 其机制可能为*rIL-10*基因在肝组织中高表达, 高表达的IL-10可能通过直接或间接抑制或下调肝组织内TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达从而发挥抗纤维化作用.

林颖, 黄月红, 陈治新, 王小众, 张莉娟. 白介素-10基因干预对纤维化大鼠TNF- α 、PDGF- β 和COX-2表达的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21(25): 2571-2577 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2571.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2571>

0 引言

肝纤维化是由于肝脏细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成与降解失衡所致, 肝星形细胞(hepatic stellate cell, HSC)是肝脏合成ECM的主要细胞, 其活化与增殖是肝纤维化形成的中心环节^[1], 细胞因子在此环节中起着重要作用. 白介素-10(interleukin-10, IL-10)是一种免疫抑制细胞因子, 具有免疫调节作用及抗炎作用^[2], 但其拮抗肝纤维化的作用机制仍不清楚. 本研究室先期研究证实外源性IL-10具有抑制肝脏的炎症反应、抑制HSC的活化与增殖和抑制ECM的合成等抗纤维化的特性, 为*IL-10*基因治疗肝纤维化提供了一定的理论依据^[3]. 本实验采用猪血清诱导肝纤维化模型, 行大鼠白介素-10(rat interleukin-10, *rIL-10*)基因干预, 通过观察肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、血

小板衍生生长因子- β (platelet derivative growth factor- β , PDGF- β)和环氧酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)在肝组织中的表达情况, 进而探讨*rIL-10*基因干预对肝纤维化形成的拮抗作用及其机制。

1 材料和方法

1.1 材料 δ 清洁级SD大鼠30只, 体质量200-300 g, 中国科学院上海实验动物中心[许可证号SCXK(沪)2003-0003], 清洁级条件喂养, 自由进食进水; pcDNA-rIL-10真核表达质粒由本实验室构建; rIL-10单克隆抗体由美国Biosource公司生产; rIL-10 ELISA试剂盒由美国Biosource公司生产; Qiagen Maxi-Prep试剂盒由美国Qiagen公司生产; Porcine serum由芬兰PAA细胞培养公司生产; 抗体及SP试剂盒由北京中山生物技术有限公司生产; 台式高速离心机(型号: 5417C)为德国Eppendorf公司产品; 相差显微镜(型号: CK2)为日本奥林巴斯公司产品; 显微数码成像系统(型号: BX-41)为日本奥林巴斯公司产品; 酶标仪(型号: ELX-800)为美国宝特BIO-TEK公司产品; 干燥箱(型号: UH-686-101A)为上海实验仪器有限公司产品; 电热恒温水浴箱(型号: HW1)为上海实验仪器有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 分组: 30只 δ 清洁级SD大鼠被随机分为正常对照组(N组, 6只)和纤维化模型组(24只)。N组每周腹腔注射2次生理盐水, 每次0.5 mL, 共8 wk; 纤维化模型组每周腹腔注射2次猪血清, 每次0.5 mL, 共8 wk; 至造模第5周开始, 模型组被随机分为肝纤维化模型组(M组, 8只), pcDNA3-rIL-10质粒治疗组(I组, 8只), pcDNA3.0空质粒对照组(P组, 8只)。N组和M组大鼠尾静脉注射林格氏液作为试剂对照, I组大鼠尾静脉注射pcDNA3-rIL-10质粒, P组大鼠尾静脉注射pcDNA3.0空质粒, 每周1次。所有大鼠在实验第8周末处死, 收集各组大鼠肝组织。

1.2.2 肝组织病理学检查: 分别将各实验组大鼠肝组织用40g/L甲醛固定后石蜡包埋、切片后行HE染色。

1.2.3 免疫组织化学法检测大鼠肝组织TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达: 采用SP免疫组织化学染色, 具体操作按北京中山生物技术有限公司SP试剂盒说明进行。省略一抗和二抗作为空白对照; 以PBS替换一抗, 作为阴性对照。阳性染色者在细胞质或/和细胞核或/和细胞膜有棕黄色

颗粒沉着。染色结果根据染色细胞多少及染色深浅判断各指标表达情况, 使用Image-pro plus 5.0软件检测各组目的蛋白平均光密度。

统计学处理 计量资料以mean \pm SD表示, 组间差异用SPSS17.0统计分析软件包处理, 采用方差分析, $P<0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝脏组织病理学变化 本实验组织病理学结果见文献[4], 如图1所示N组大鼠肝内可见肝小叶结构正常, 肝细胞索排列正常, 仅少量胶原纤维在汇管区中央静脉分布。M组大鼠肝组织发生严重的病理改变: 肝细胞脂肪变性, 中性粒细胞和单核细胞浸润, 大量胶原从汇管区沿肝细胞界板向内延伸形成粗细不等的纤维隔, 小叶结构紊乱, 部分假小叶形成。I组肝细胞变性坏死程度显著减轻, 汇管区及其周围炎性细胞浸润很少, 小叶结构虽有部分紊乱, 但肝纤维化程度较M组明显减轻。P组大鼠肝组织炎症程度与纤维化程度没有明显的改变, 与M组相似。

2.2 免疫组织化学法检测大鼠肝组织TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达

2.2.1 *rIL-10*基因干预后各组大鼠肝组织中TNF- α 的表达情况: 大鼠肝组织免疫组织化学染色结果镜下如图2: TNF- α 棕黄色阳性着色部位主要见于肝细胞等细胞的胞质和胞膜。与N组比较, M组、P组TNF- α 阳性表达明显增强, 差别具有统计学意义($P<0.01$)(表1); 与M组、P组比较, I组TNF- α 阳性着色范围及程度均显著降低, 差别具有统计学意义($P<0.01$)(表1)。

2.2.2 *rIL-10*基因干预后各组大鼠肝组织中PDGF- β 表达情况: 大鼠肝组织免疫组织化学染色结果如图3: PDGF- β 棕黄色阳性着色部位主要见于肝细胞等细胞的胞质和胞膜。与N组比较, M组、P组PDGF- β 阳性表达增强, 差别具有统计学意义($P<0.01$)(表1); 与M组、P组比较, I组PDGF- β 阳性着色范围及程度均显著降低($P<0.01$)(表1)。

2.2.3 *rIL-10*基因干预后各组大鼠肝组织中COX-2表达情况: 大鼠肝组织免疫组织化学染色结果镜下如图4: COX-2棕黄色阳性着色位于肝细胞等细胞的胞质。与N组比较, M组、P组COX-2阳性表达增强, 差别具有统计学意义($P<0.01$)(表1); 与M组、P组比较, I组COX-2阳性着色范围及程度均显著降低, 差别具有统计学意义($P<0.01$)(表1)。

■ 相关报道

近年来Brito等通过研究发现, 在肝纤维化的进展中TNF- α 、PDGF- β 和COX-2扮演重要角色, 是抗纤维化治疗重要靶标。

■ 创新盘点

通过向大鼠尾静脉高压注射白介素-10(rat interleukin-10, rIL-10)质粒使*rIL-10*基因在肝组织中高表达, 而高表达的IL-10可能通过直接或间接抑制或下调肝组织内TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达从而抑制HSC的活化, 进而起到抗纤维化作用.

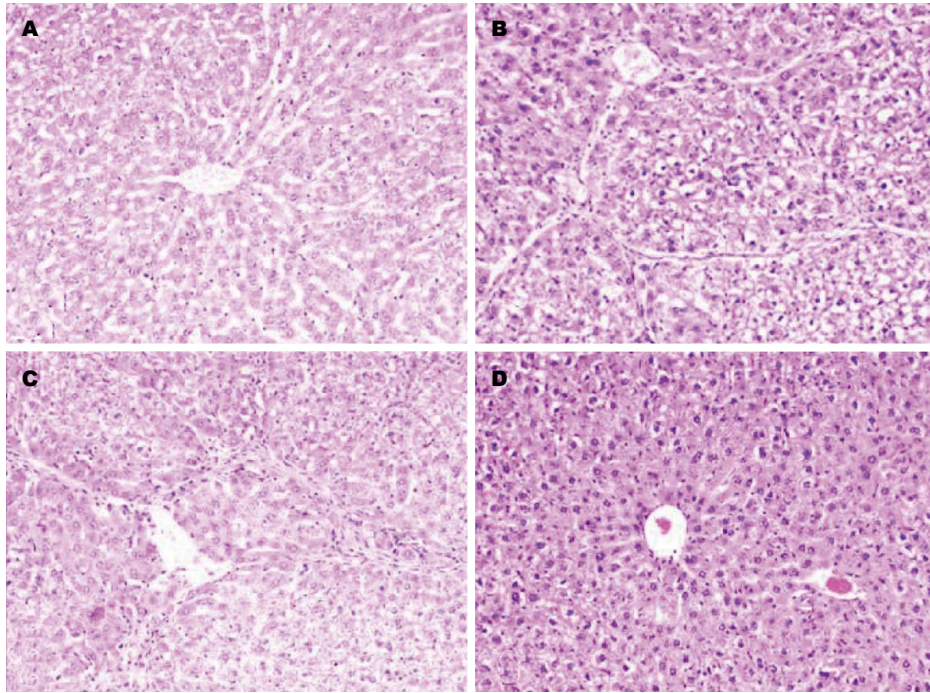


图 1 各组大鼠肝组织病理图片(HE \times 200). A: 正常对照组; B: 肝纤维化型组; C: 空质粒对照组; D: rIL-10质粒治疗组.

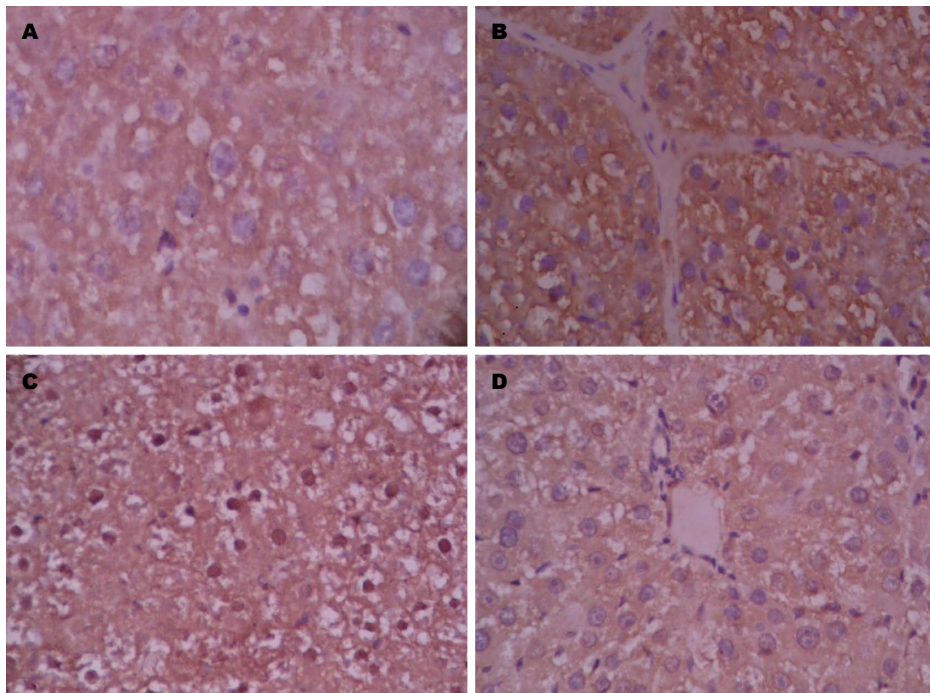


图 2 TNF- α 在各组大鼠肝组织中的表达(\times 400). A: 正常对照组; B: 肝纤维化型组; C: 空质粒对照组; D: rIL-10质粒治疗组. TNF- α : 肿瘤坏死因子- α .

3 讨论

建立合适的动物模型对研究肝纤维化形成的分子机制有着极其重要的作用. 本实验采用猪血清腹腔注射构建肝纤维化动物模型^[5]. 猪血清则是免疫性肝纤维化常用的异种抗原, 其中的白蛋白诱导机体产生相应的抗体, 形成抗原-抗体

复合物, 沉积于汇管区和间质组织, 通过免疫复合物介导的细胞毒反应活化枯否氏细胞(Kupffer cell, KC)而导致肝血管和间质组织结构的变化, 最终导致肝纤维化^[6]. 免疫法造模与临床上慢性肝炎所致肝纤维化和肝硬化在发病机制上较为相似. 本实验肝脏组织病理学结果显示肝细胞

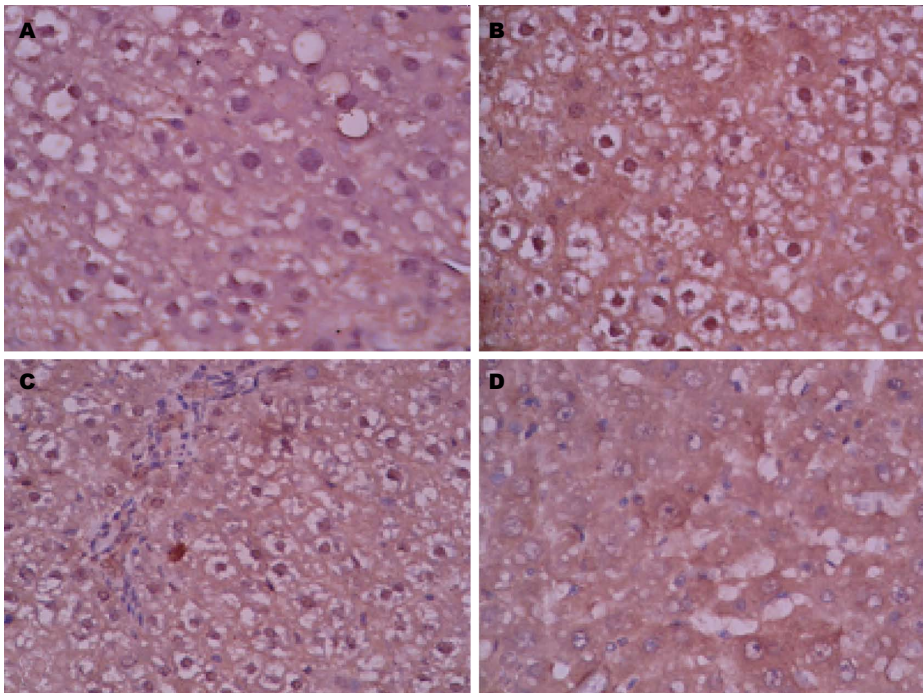


图 3 PDGF- β 在各组大鼠肝组织中的表达($\times 400$). A: 正常对照组; B: 肝纤维化型组; C: 空质粒对照组; D: rIL-10质粒治疗组. PDGF- β : 血小板衍生生长因子- β .

应用要点
rIL-10基因干预能有效拮抗猪血清诱导的大鼠肝纤维化形成, 其机制可能与其抑制肝组织中TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达相关, 为外源性IL-10基因干预治疗肝纤维化提供了一定的理论基础.

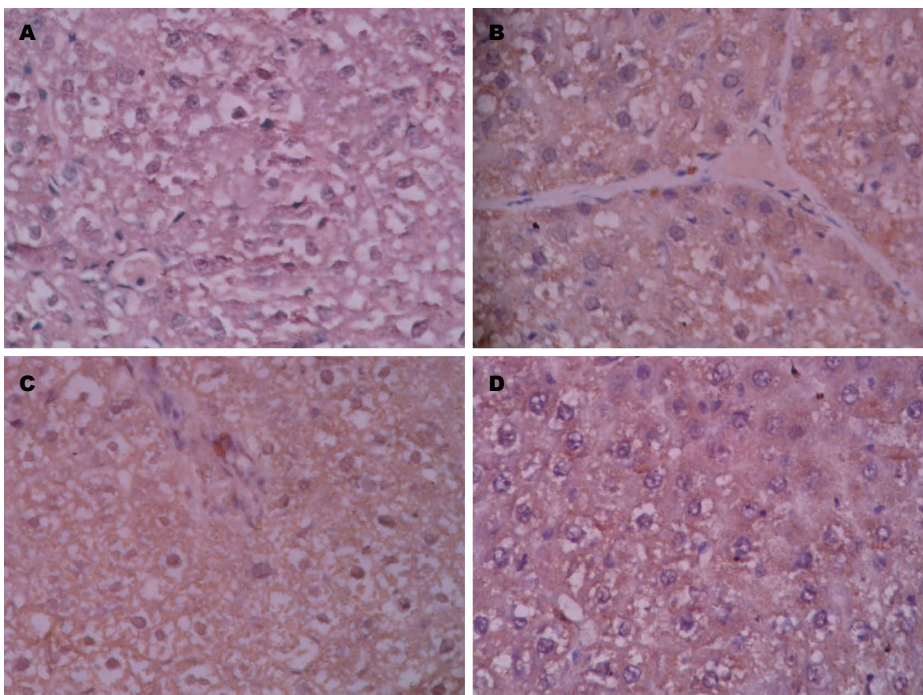


图 4 COX-2在各组大鼠肝组织中的表达($\times 400$). A: 正常对照组; B: 肝纤维化型组; C: 空质粒对照组; D: rIL-10质粒治疗组. COX-2: 环氧合酶-2.

有不同程度变性甚至坏死, 中性粒细胞和单核细胞浸润, 增生的纤维组织从汇管区沿肝细胞界板向内延伸形成粗细不等的纤维隔, 小叶结构紊乱, 假小叶形成, 表明构建猪血清诱导的大鼠肝纤维化模型成功. 与以往经典CCl₄诱导的肝

纤维化模型相比, 猪血清诱导免疫性肝纤维化模型造模操作简单, 大鼠的死亡率低, 所致肝纤维化持久^[7].

IL-10由辅助T细胞亚群Th2细胞、B细胞、单核细胞、巨噬细胞、角质细胞和基质细胞等

■同行评价
本文选题新颖,具
有一定指导意义.

表 1 TNF- α 、PDGF- β 及COX-2在不同组间阳性表达情况的平均光密度值 (mean \pm SD)

分组	TNF- α	PDGF- β	COX-2
正常对照组	0.1860 \pm 0.0104	0.2514 \pm 0.0228	0.1987 \pm 0.0106
肝纤维化组	0.2206 \pm 0.0434 ^{bd}	0.2891 \pm 0.0417 ^{bd}	0.2174 \pm 0.0429 ^{bd}
空质粒对照组	0.2217 \pm 0.0518 ^{bd}	0.2818 \pm 0.0272 ^{bd}	0.2117 \pm 0.0221 ^{bd}
rIL-10质粒治疗组	0.2048 \pm 0.0124	0.2513 \pm 0.0165	0.1961 \pm 0.0142

^bP<0.01 vs N组; ^dP<0.01 vs I组. TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; PDGF- β : 血小板衍生生长因子- β ; COX-2: 环氧化酶-2.

在免疫激活状态下产生. 肝脏KC和活化的HSC也可产生IL-10. IL-10是一种具有多种生物学活性的抗炎性细胞因子, 近来研究显示其与肝纤维化的发生发展密切相关, Roulot等^[8]研究显示肝脏IL-10的表达缺失与肝纤维化的进展密切相关. 本研究生前期实验通过尾静脉高压注射法将rIL-10基因转移至肝纤维化大鼠体内, 结果显示rIL-10基因干预的肝纤维化肝脏组织炎症程度及纤维化程度较肝纤维化对照组明显减轻, 具有良好的拮抗肝纤维化形成的作用, 可能与尾静脉高压注射法可使rIL-10基因在肝组织中高表达IL-10相关^[9], 其具体的作用机制仍需进一步探讨.

肝脏炎症或损伤等因素除直接对肝细胞造成损害外, 损伤的肝细胞、KC、内皮细胞释放细胞因子, 如TNF- α 、转化生长因子 β 1、PDGF- β 、肝细胞生长因子、白细胞介素(IL-1、IL-6)等, 上述因子均能直接或间接地促进HSC的激活^[10]. TNF- α 是一种致纤维化细胞因子, 他可通过多种途径参与纤维化的调控: 一方面TNF- α 可直接促进HSC增殖、合成胶原和蛋白多糖; 另一方面TNF- α 作为炎性细胞因子, 可刺激KC等活化、释放更多的细胞因子如PDGF等, 后者活化HSC, 使其产生过量的ECM, 加重肝纤维化的进展^[11,12]. 本实验结果证实, 在肝纤维化时TNF- α 显著增高, rIL-10基因干预肝纤维化大鼠后, 肝脏组织中TNF- α 的表达明显降低. 其机制可能是肝组织高表达IL-10通过抑制炎性细胞因子TNF- α 的表达, 使后者致炎作用减轻的同时又能减轻对HSC的直接作用, 从而拮抗肝纤维化的进程.

PDGF是重要的促有丝分裂因子, 有 α 、 β 、 γ 等3种异构体, 其中以 β 作用最强, 且肝脏中表达以 β 为主. 在肝纤维化早期, 受到慢性炎症刺激, KC产生并持续释放PDGF- β , 刺激HSC的活化和

增殖, 转化为成纤维细胞, 并促使HSC迁移, 聚集于炎症受损区, 而活化的HSC又能分泌PDGF- β 并过量表达相应的受体, 从而导致ECM过量产生和沉积^[13]. 同时PDGF可上调组织金属蛋白酶抑制物抑制胶原酶的作用, 以减少ECM的降解^[14]. ECM合成和降解失衡的结果促进肝纤维化发生. 本实验结果证实, 在肝纤维化时PDGF- β 表达显著增高, rIL-10基因干预肝纤维化大鼠后, 肝组织中PDGF- β 的表达明显降低. 表明IL-10使肝纤维化的程度明显减轻可能与其显著抑制PDGF- β 的表达有着密切的联系. 其机制可能是IL-10通过抑制促有丝分裂因子PDGF- β 的表达, 从而使HSC的增殖和活化成成纤维细胞受到一定程度的抑制, 减少ECM的产生, 同时减轻对成纤维细胞的趋化作用, 使之无法到达损伤部位.

目前普遍认为COX-1在大多数组织中(胃、肾、血小板和内皮细胞)表达, 参与合成正常细胞活动所需的前列腺素; 而COX-2是经刺激迅速产生的诱导酶, 其催化合成的前列腺素参与炎症反应, 表达在单核、巨噬细胞、滑膜细胞、软骨细胞、成纤维细胞和内皮细胞等. 近来研究表明COX-2可能参与肝损伤的炎性反应, 调节HSC的增殖, 从而促进肝纤维化的形成和发展. Nanji等^[15]通过RT-PCR检测组织中COX的表达情况得出COX-2 mRNA在正常大鼠肝脏不表达, 而在小鼠正常肝组织中有低表达, 在急慢性肝损伤、酒精性脂肪肝中, 肝脏COX-2表达明显增高, 表达的细胞主要有KC、肝细胞、贮脂细胞等, 而KC为肝脏COX-2高表达的主要细胞来源. Guéchet等^[16]研究显示慢性肝炎肝纤维化患者肝组织中COX-2表达明显上调, 血清透明质酸水平升高, 使用选择性COX-2抑制剂后二者水平均明显下降. Nieto等^[17]研究表明TNF- α 可通过COX-2的表达上调单核细胞趋化蛋白1, 促进肝脏损伤后炎性反应, 导致肝纤维化的发生. 本

实验结果证实, 在肝纤维化时COX-2显著增高, *rIL-10*基因干预肝纤维化大鼠后, 肝脏组织中COX-2的表达明显降低. 机制可能是IL-10通过抑制COX-2的表达, 一方面使HSC的增殖和活化受到一定程度的抑制; 另一方面抑制前列腺素E-2生成, 使基质金属蛋白酶组织抑制物合成减少, 进而基质金属蛋白酶能够降解胶原、蛋白多糖等.

总之, 重组*rIL-10*基因真核表达质粒尾静脉高压注射法能有效地抑制肝纤维化的发展, 对肝纤维化形成具有一定的拮抗作用, 此作用可能与*rIL-10*基因在肝组织中高表达有关及肝组织内高表达的IL-10可能通过直接或间接抑制或下调肝组织内TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达从而抑制HSC的活化, 促进I、III型胶原的降解, 从而减少ECM堆积.

4 参考文献

- 姜慧卿, 张晓岚. 肝纤维化的发生机制. 世界华人消化杂志 2000; 8: 687-689
- Jiang J, Yamato E, Miyazaki J. Intravenous delivery of naked plasmid DNA for in vivo cytokine expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289: 1088-1092 [PMID: 11741303 DOI: 10.1006/bbrc.2001.6100]
- 陈运新, 黄月红, 郑伟达, 陈治新, 王小众. 大鼠肝细胞对肝星状细胞增殖与活化的影响及其机制探讨. 胃肠病学和肝病杂志 2008; 17: 933-936
- 黄月红, 陈运新, 郑伟达, 张莉娟, 陈治新, 王小众. 肝脏靶向表达大鼠白介素-10基因对猪血清诱导的大鼠肝纤维化的抑制. 第三军医大学学报 2011; 33: 1353-1357
- Bhunchet E, Eishi Y, Wake K. Contribution of immune response to the hepatic fibrosis induced by porcine serum. *Hepatology* 1996; 23: 811-817 [PMID: 8666336 DOI: 10.1053/jhep.1996.v23.pm0008666336]
- Paronetto F, Popper H. Chronic liver injury induced by immunologic reactions. Cirrhosis following immunization with heterologous sera. *Am J Pathol* 1966; 49: 1087-1101 [PMID: 5297057]
- 刘秀英, 胡怡秀, 胡余明, 丘丰, 周月婵, 臧雪冰, 聂焱. 大鼠四氯化碳和猪血清肝纤维化模型比较. 世界华人消化杂志 2002; 10: 975-977
- Roulot D, Sevcik AM, Coste T, Strosberg AD, Marullo S. Role of transforming growth factor beta type II receptor in hepatic fibrosis: studies of human chronic hepatitis C and experimental fibrosis in rats. *Hepatology* 1999; 29: 1730-1738 [PMID: 10347115 DOI: 10.1002/hep.510290622]
- 黄月红, 陈运新, 陈治新, 王小众. 外源性rIL-10基因质粒静脉注射及其在大鼠体内表达. 中国药理学通报 2008; 24: 834-837
- Brito JM, Mermelstein CS, Tempone AJ, Borojevic R. Mast cells can revert dexamethasone-mediated down-regulation of stem cell factor. *Eur J Pharmacol* 2001; 414: 105-112 [PMID: 11231001 DOI: 10.1016/S0014-2999(01)00783-X]
- Faouzi S, Lepreux S, Bedin C, Dubuisson L, Balaud C, Bioulac-Sage P, Desmoulière A, Rosenbaum J. Activation of cultured rat hepatic stellate cells by tumoral hepatocytes. *Lab Invest* 1999; 79: 485-493 [PMID: 10212001]
- Dooley S, Delvoux B, Lahme B, Mangasser-Stephan K, Gressner AM. Modulation of transforming growth factor beta response and signaling during transdifferentiation of rat hepatic stellate cells to myofibroblasts. *Hepatology* 2000; 31: 1094-1106 [PMID: 10796885 DOI: 10.1053/he.2000.6126]
- Marra F, Gentilini A, Pinzani M, Choudhury GG, Parola M, Herbst H, Dianzani MU, Laffi G, Abboud HE, Gentilini P. Phosphatidylinositol 3-kinase is required for platelet-derived growth factor's actions on hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 1997; 112: 1297-1306 [PMID: 9098016 DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70144-6]
- Herbst H, Schuppan D, Milani S. [Fibrogenesis and fibrolysis in the liver]. *Verh Dtsch Ges Pathol* 1995; 79: 15-27 [PMID: 8600680]
- Nanji AA, Miao L, Thomas P, Rahemtulla A, Khwaja S, Zhao S, Peters D, Tahan SR, Dannenberg AJ. Enhanced cyclooxygenase-2 gene expression in alcoholic liver disease in the rat. *Gastroenterology* 1997; 112: 943-951 [PMID: 9041257 DOI: 10.1053/gast.1997.v112.pm9041257]
- Guéchet J, Serfaty L, Bonnand AM, Chazouillères O, Poupon RE, Poupon R. Prognostic value of serum hyaluronan in patients with compensated HCV cirrhosis. *J Hepatol* 2000; 32: 447-452 [PMID: 10735615 DOI: 10.1016/S0168-8278(00)80396-7]
- Nieto N, Greenwel P, Friedman SL, Zhang F, Dannenberg AJ, Cederbaum AI. Ethanol and arachidonic acid increase alpha 2(I) collagen expression in rat hepatic stellate cells overexpressing cytochrome P450 2E1. Role of H₂O₂ and cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 2000; 275: 20136-20145 [PMID: 10770928 DOI: 10.1074/jbc.M001422200]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



十字孢碱对胰腺癌Panc-1细胞增殖和凋亡的影响

彭丰, 李旭, 江建新, 王敏, 田锐, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义

■背景资料

蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)被证实参与并维持了多种肿瘤的恶性生物学行为, 并已成为药物开发的研究热点之一。

彭丰, 李旭, 王敏, 田锐, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科中心 湖北省武汉市 430030

江建新, 贵阳医学院附属医院肝胆外科 贵州省贵阳市 550001

彭丰, 主要从事胆道胰腺肿瘤的基础与临床研究。

国家自然科学基金面上资助项目, Nos. 81071775, 81172064, 81160311, 81001068, 81101621

湖北省自然科学基金重点基金资助项目, No. 2011CDA030

中国博士后科学基金面上资助项目, No. 2013M531983

作者贡献分布: 实验设计由彭丰与秦仁义完成; 数据获取由李旭、江建新、王敏、田锐及徐盟完成; 数据统计由郭兴军完成; 论文撰写由彭丰与秦仁义完成; 实验监督由秦仁义完成。

通讯作者: 秦仁义, 教授, 主任医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科中心. ryqin@tjh.tjmu.edu.cn

收稿日期: 2013-06-26 修回日期: 2013-07-22

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Staurosporine inhibits cell proliferation and induces apoptosis in pancreatic cancer cell line Panc-1

Feng Peng, Xu Li, Jian-Xin Jiang, Min Wang, Rui Tian, Meng Xu, Xing-Jun Guo, Ren-Yi Qin

Feng Peng, Xu Li, Min Wang, Rui Tian, Meng Xu, Xing-Jun Guo, Ren-Yi Qin, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Jian-Xin Jiang, Department of Biliary-Hepatic Surgery, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550001, Guizhou Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81071775, 81101621, 81160311, 81172064, and 81001068; the Key Project of Science Foundation of Hubei Province, No. 2011CDA030; the China Postdoctoral Science Foundation, No. 2013M5319834

Correspondence to: Ren-Yi Qin, Professor, Chief Physician, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. ryqin@tjh.tjmu.edu.cn

Received: 2013-06-26 Revised: 2013-07-22

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of staurosporine (ST) on cell proliferation and apoptosis in pancreatic cancer cell line Panc-1, and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: After Panc-1 cells were treated with

different concentrations of ST for different durations, cell proliferation was assessed by CCK-8 method, cell apoptosis was detected by Hoechst 33258 staining and flow cytometry, cell cycle distribution was investigated by flow cytometry, and expression of cyclin A, cyclin D1, Cdk4 and P21 proteins was detected by Western blot.

RESULTS: ST significantly inhibited the proliferation of Panc-1 cells ($P < 0.05$) in a concentration- and time-dependent manner. Treatment with ST significantly induced apoptosis of Panc-1 cells, and the apoptosis rate of Panc-1 cells treated with ST increased significantly compared with control cells ($P < 0.05$). Treatment with ST induced cell cycle arrest in G1 phase ($P < 0.05$). Moreover, ST treatment significantly decreased the expression of cyclin D1 and Cdk4 proteins and increased the expression of P21 protein in Panc-1 cells (all $P < 0.05$). Low concentrations of ST raised the expression of cyclin A in Panc-1 cells, while high concentrations of ST reduced the expression of cyclin A ($P < 0.05$).

CONCLUSION: ST significantly inhibits proliferation and induces apoptosis of Panc-1 cells possibly by inducing cell cycle arrest in G1 phase.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; Staurosporine; Cell cycle; Cell apoptosis; Panc-1 cells

Peng F, Li X, Jiang JX, Wang M, Tian R, Xu M, Guo XJ, Qin RY. Staurosporine inhibits cell proliferation and induces apoptosis in pancreatic cancer cell line Panc-1. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2578-2584
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2578.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2578>

摘要

目的: 探讨十字孢碱(staurosporine, ST)对人的胰腺癌细胞株Panc-1增殖和凋亡的影响及其机制。

方法: 采用CCK-8法检测ST对Panc-1细胞的增殖抑制作用; Hoechst 33258荧光染色观察ST对Panc-1细胞凋亡形态的影响; 流式细胞术

■同行评议者
谭晓冬, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

检测不同浓度ST对Panc-1细胞凋亡率和周期分布的影响; 蛋白质印迹法检测不同浓度ST对Panc-1细胞周期蛋白cyclin A、cyclin D1、Cdk4和P21表达的影响。

结果: ST对Panc-1细胞的增殖有明显抑制作用($P<0.05$), 并且这种抑制作用呈浓度和时间依赖性。Hoechst 33258荧光染色观察发现, ST能明显诱导Panc-1细胞出现典型的凋亡形态学改变。流式细胞术检测发现, 与对照组相比, ST可诱导Panc-1细胞凋亡率明显增加($P<0.05$), 并引起细胞周期阻滞于G₁期($P<0.05$)。蛋白质印迹法检测结果显示, Panc-1细胞经ST处理后cyclin D1、Cdk4蛋白表达明显降低($P<0.05$), P21蛋白表达则明显增加($P<0.05$); 低浓度ST上调Panc-1细胞中cyclin A的表达, 而高浓度ST则下调cyclin A的表达($P<0.05$)。

结论: ST可显著抑制胰腺癌Panc-1细胞增殖并诱导其凋亡, 其机制可能是通过阻滞细胞周期于G₁期, 进而抑制肿瘤细胞生长并促进细胞凋亡。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胰腺癌; 十字孢碱; 细胞周期; 细胞凋亡; Panc-1细胞

核心提示: 十字孢碱可通过阻滞胰腺癌Panc-1细胞周期于G₁期, 进而抑制其生长并促进细胞凋亡。

彭丰, 李旭, 江建新, 王敏, 田锐, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义. 十字孢碱对胰腺癌Panc-1细胞增殖和凋亡的影响. 世界华人消化杂志. 2013; 21(25): 2578-2584 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2578.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2578>

0 引言

胰腺癌是恶性程度最高的人类肿瘤之一, 尽管目前临床手术方式和各种综合治疗方法有所改进, 但患者的5年生存率却仍然没有显著提高^[1]。在我国, 胰腺癌的发病率也呈逐年上升趋势, 成为危害国人生命健康的主要疾病之一^[2]。蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员, 其在细胞内参与了广泛的信号传导过程, 对细胞的增殖、分化、血管生成和凋亡等的生物学过程均有一定调节作用^[3]。最近的研究表明, 蛋白激酶C在多种人类肿瘤中高表达, 其参与并维持了肿瘤的多种恶性生物学

特性, 是肿瘤转化中的重要信号分子^[4]。十字孢碱(staurosporine, ST)是由放线菌分离的生物碱, 是一种可以通透细胞膜的蛋白激酶C抑制剂。研究发现, ST可以导致多种肿瘤细胞的凋亡, 但ST对胰腺癌细胞的影响仍不是很清楚, 本研究以人胰腺癌Panc-1细胞为研究对象, 旨在研究ST对胰腺癌细胞增殖、凋亡等的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 人胰腺癌细胞系Panc-1购自中科院上海细胞库; 高糖DMEM培养液和胎牛血清购自美国Gibco公司; CCK-8试剂盒购自日本Dojindo公司; 碘化丙啶(propidium iodide, PI)、RNA酶(RNase A)和ST购自美国Sigma公司; ST用DMSO配制成浓度为1 mmol/L的原液并储存于-20 °C, 实验时根据需要用高糖DMEM培养液将原液稀释成不同浓度的工作液; Annexin V/FITC凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司; Hoechst 33258细胞凋亡检测试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒和RIPA裂解液购自碧云天生物技术有限公司; 鼠抗人cyclin D1、Cdk4、P21和β-actin单克隆抗体购自美国Cell signal公司; 鼠抗人cyclin A单克隆抗体及辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗鼠IgG二抗购自武汉博士德生物工程有限公司; 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: Panc-1细胞用含有10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素的高糖DMEM培养液, 置于37 °C、CO₂体积分数为5%的饱和湿度细胞培养箱中培养, 0.25%胰蛋白酶溶液消化、传代。选用对数生长期的细胞进行实验。

1.2.2 CCK-8法检测细胞增殖抑制率: 取对数生长期的Panc-1细胞, 调整细胞密度为 2.0×10^4 个/mL接种于96孔培养板中, 每孔100 μL, 置于培养箱中培养, 待细胞完全贴壁后吸去培养液, 分别加入200 μL含0.025、0.05、0.10、0.25、0.50和1.00 μmol/L ST的培养液, 同时设立空白对照组及含有同等稀释度DMSO的阴性对照组, 每组设5个复孔。药物分别作用24和48 h后, 每孔加入10 μL CCK-8, 继续培养4 h后, 于酶标仪波长450 nm处读取吸光度(A)值。按公式计算细胞的增殖抑制率。抑制率%(inhibitory rate, IR) = (1-药物处理组平均A值/细胞对照孔平均A值) × 100%。同时根据公式计算细胞的半数抑制浓度(half inhibition concentration, IC₅₀), 以上实验重复3次。

■ 研发前沿
ST作为一种广谱的蛋白激酶C抑制剂, 其已被证实能有效抑制多种肿瘤细胞的生长并促进细胞凋亡, 但其与胰腺癌的相关研究目前仍未达成共识, 其生物学特性尚需要进一步研究证明。

■ 相关报道

Yanyan Wang证实ST可通过介导PKC- α 的抑制,诱导E-钙粘蛋白的表达从而抑制肺癌细胞的粘附、侵袭、迁移及远处转移。

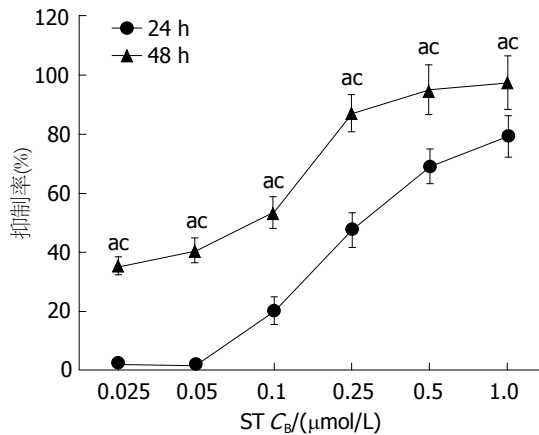


图1 CCK-8法检测不同时间梯度与浓度梯度下ST对Panc-1细胞的增殖抑制作用. $P < 0.05$ vs 相同时间点阴性对照组; $P < 0.05$ vs 相同作用浓度24 h作用组.

1.2.3 Hoechst 33258染色检测细胞凋亡: 将消毒灭菌后的盖玻片置于六孔板内, 接种处于对数生长期的Panc-1细胞 2×10^5 个/孔于盖玻片上. 置于培养箱中培养, 待细胞完全贴壁后吸去培养液, 加入含有不同浓度(0、0.05、0.1、0.25和0.5 $\mu\text{mol/L}$)ST的培养液, 继续培养24 h. 吸除细胞培养液, 并加入1 mL固定液, 固定10 min. 吸除固定液, PBS洗3遍, 每次5 min, 吸尽液体, 加入1 mL Hoechst 33258染色液, 染色5 min后封片, 于正置荧光显微镜下观察细胞形态并拍照. 以上实验重复3次.

1.2.4 Annexin V-FITC/PI双标法检测细胞凋亡: 取对数生长期Panc-1细胞接种于6孔板, 每孔接种 2×10^5 个细胞. 用含ST浓度分别为0、0.05、0.1、0.25和0.5 $\mu\text{mol/L}$ 的培养液处理细胞24 h后, 按照凋亡试剂盒说明书进行以下操作. 消化收集细胞, PBS洗涤细胞2次(2000 r/min, 离心5 min), 每管收集约 1×10^5 个细胞; 加入500 μL 的Binding Buffer重悬细胞后, 再分别加入5 μL Annexin V-FITC和5 μL Propidium iodide染料混匀, 室温避光反应15 min, 于1 h内上流式仪检测细胞凋亡情况并采用CellQuest软件分析实验结果. 以上实验重复3次.

1.2.5 流式细胞术检测细胞周期: 取对数生长期的Panc-1细胞, 按每孔 2×10^5 个细胞密度接种于6孔板中, 培养24 h后换成含有不同浓度(0、0.05、0.1、0.25和0.5 $\mu\text{mol/L}$)ST的培养液, 继续培养24 h; 胰酶消化、收集细胞, 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的PBS洗2次, 用200 μL PBS重悬细胞, 缓慢滴入1 mL预冷的无水乙醇, 于-20 $^{\circ}\text{C}$ 固定过夜; 之后离心(1000 r/min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心5 min)收集细胞, 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷

的PBS洗2次并重悬于500 μL PBS中, 然后加入终浓度为50 $\mu\text{g/mL}$ 的RNA酶(RNase A)及碘化丙啶(PI)于室温避光反应30 min, 流式仪检测细胞周期分布. 采用CellQuest和ModFit软件分析实验结果, 以上实验重复3次.

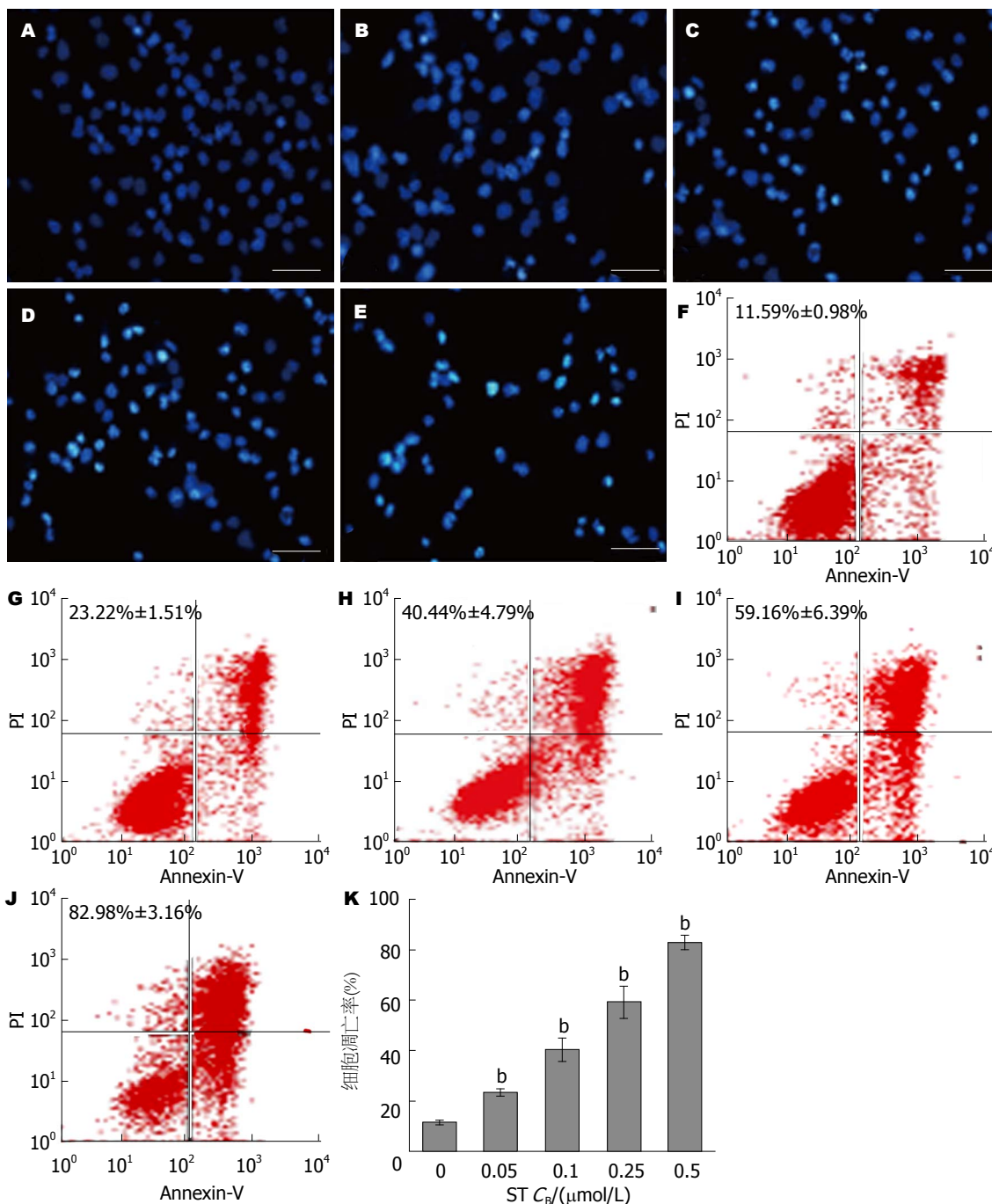
1.2.6 蛋白质印迹法检测相关蛋白的表达: 取对数生长期的Panc-1细胞, 按每孔 2×10^5 个细胞密度接种于6孔板中, 培养24 h后换成含有不同浓度(0、0.05、0.1、0.25和0.5 $\mu\text{mol/L}$)ST的培养液, 继续培养24 h; 胰酶消化、收集细胞, 加入RIPA裂解液及蛋白酶抑制剂, 冰上孵育30 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 12000 g, 离心20 min. 取上清保存于-80 $^{\circ}\text{C}$. BCA法测定蛋白浓度, 以50 μg 蛋白/泳道上样, 12%的SDS-PAGE电泳分离, 电泳结束后将胶上蛋白电转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上; 于5%的脱脂奶粉中室温振荡封闭2 h; 分别加入一抗(稀释比例均为1:500)于杂交袋中4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; 次日用TBS-T洗膜3次, 每次15 min, 室温孵育二抗(1:3000)1 h; TBS-T洗膜3次, 每次10 min; 采用增强化学发光(ECL)法进行显色、曝光. 采集图像后用图像分析软件Quantity One进行灰度分析; 以目的蛋白与内参照蛋白(β -actin)的相对表达量, 即目的蛋白与内参照蛋白的比值进行半定量分析. 以上实验重复3次.

统计学处理 采用SPSS16.0软件作统计处理, 计量数据以mean \pm SD表示. 不同处理组间差异采用单因素方差分析或Dunnnett t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 ST对Panc-1细胞增殖的影响 CCK-8检测结果显示, 随着ST药物浓度的增加, Panc-1细胞的增殖抑制率也逐渐增强, 实验组与对照组相比, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 而同一浓度的ST作用48 h与24 h相比, 细胞增殖抑制率亦逐渐增强, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 提示ST对Panc-1细胞的增殖抑制作用呈浓度依赖性和时间依赖性(图1). 分别计算ST作用24 h和48 h的 IC_{50} 值分别为 $0.31 \mu\text{mol/L} \pm 0.04 \mu\text{mol/L}$ 和 $0.07 \mu\text{mol/L} \pm 0.01 \mu\text{mol/L}$.

2.2 ST对Panc-1细胞凋亡形态学的影响 Hoechst 33258荧光染色结果显示, ST作用24 h后可见Panc-1细胞核边缘不规则, 染色质凝集, 并伴有核固缩、核碎裂等典型的凋亡改变; 而未用ST干预的Panc-1细胞核形态规则、染色质均匀, 未见明显凋亡改变. 因此, 从胞核形态变化及荧光



■创新盘点
 本文首次证实了十字孢碱在胰腺癌细胞增殖凋亡方面的生物学作用, 并初步阐明其是通过阻滞细胞周期于G₁期来发挥其抑制作用。

图 2 十字孢碱对Panc-1细胞凋亡形态及凋亡率的影响. 不同浓度ST作用下panc-1细胞核形态学改变. A: 0 μmol/L; B: 0.05 μmol/L; C: 0.1 μmol/L; D: 0.25 μmol/L; E: 0.5 μmol/L. 不同浓度ST作用下panc-1细胞凋亡率变化. F: 0 μmol/L; G: 0.05 μmol/L; H: 0.1 μmol/L; I: 0.25 μmol/L; J: 0.5 μmol/L. K: panc-1细胞凋亡率量化统计图. ^b*P*<0.01 vs 0 μmol/L浓度组.

强度可看出, 随着ST浓度的增加, 细胞凋亡比例亦逐渐增加(图2A-E).

2.3 ST对Panc-1细胞凋亡率的影响 Annexin V-FITC/PI双标法检测结果显示, 不同浓度的ST(0、0.05、0.1、0.25和0.5 μmol/L)分别作用Panc-1细胞24 h后, 其凋亡率分别为11.59% ± 0.98%、23.22% ± 1.51%、40.44% ± 4.79%、59.16% ± 6.39%和82.98% ± 3.16%, 表明随着药物浓度的增加, 细胞凋亡率亦逐渐上升, 实验组

与对照组比较, 差异有统计学意义(*P*<0.01)(图2F-K).

2.4 ST对Panc-1细胞周期分布的影响 流式细胞术检测结果显示, 作用24 h后, 随着ST药物浓度的升高, Panc-1细胞的S期细胞比例依次下降, 而G₀/G₁期细胞比例依次增加. 与对照组比较, 差异均有统计学意义(*P*<0.01). 表明ST作用24 h后, Panc-1细胞被阻滞于G₁期(图3).

2.5 ST对相关蛋白表达的影响 蛋白质印迹法检

■应用要点

本文为进一步研究十字孢碱对胰腺癌的生物学调控作用提供了理论基础,为进一步的蛋白激酶C相关药物开发提供了理论依据。

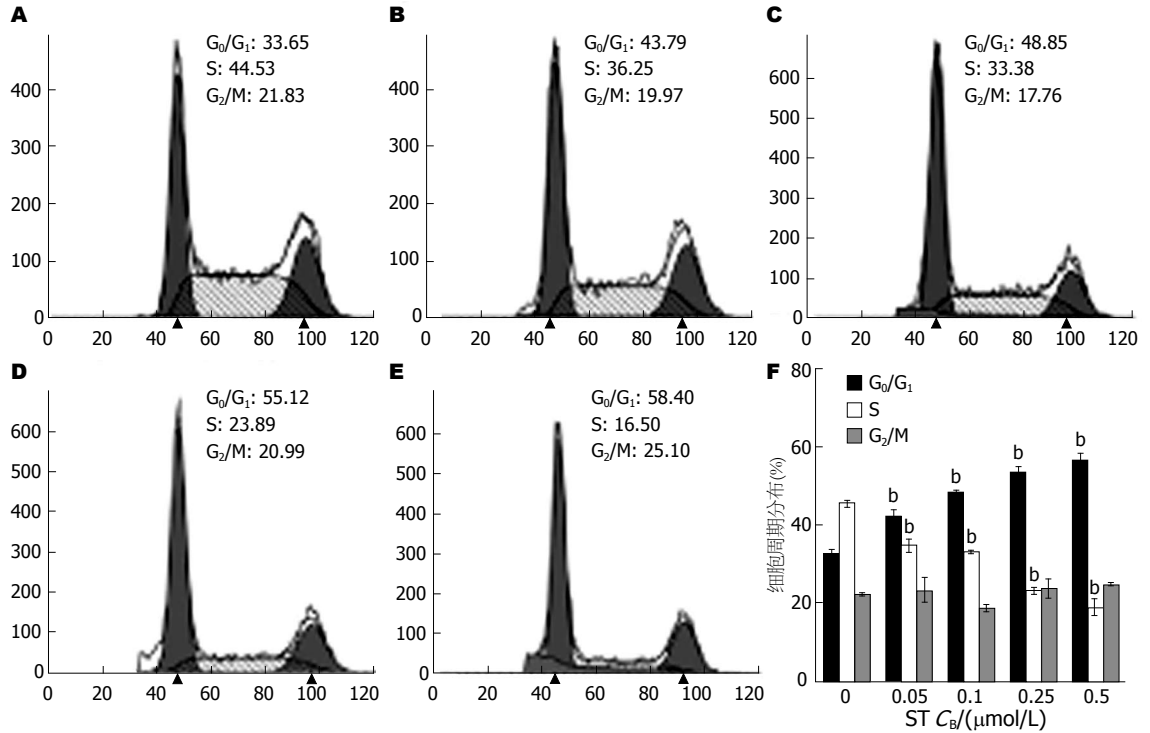


图 3 流式细胞术检测不同浓度ST作用24 h后对Panc-1细胞周期分布的影响. A: 0 μmol/L; B: 0.05 μmol/L; C: 0.1 μmol/L; D: 0.25 μmol/L; E: 0.5 μmol/L; F: 不同浓度ST作用24 h后对Panc-1细胞周期分布的影响量化统计图, ^b*P*<0.01 vs 0 μmol/L浓度组.

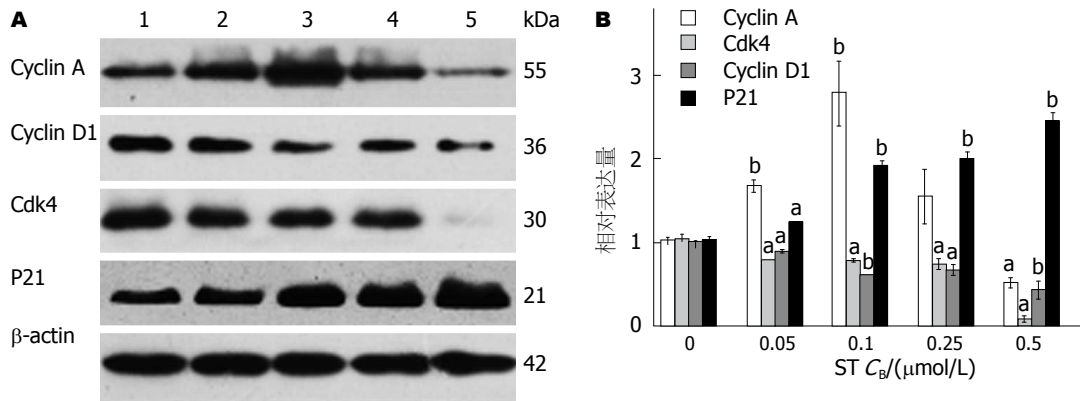


图 4 蛋白质印迹法检测不同浓度ST作用24 h后对panc-1细胞周期相关蛋白表达的影响. A: 泳道1-5分别代表作用浓度0、0.05、0.1、0.25、0.5 μmol/L; B: 蛋白质印迹法量化统计图, ^a*P*<0.05 vs 0 μmol/L浓度组; ^b*P*<0.01 vs 0 μmol/L浓度组.

测结果显示,作用24 h后,随着ST药物浓度的升高,各组内参蛋白β-actin的条带亮度相似,而cyclin D1和Cdk4蛋白表达水平逐渐下降; cyclin A在低浓度ST作用时表达量升高,在高浓度ST作用后表达水平亦显著下降; P21蛋白的表达水平则随着药物浓度的增加而逐渐升高(图4)(*P*<0.05).

3 讨论

胰腺癌是消化系统常见的恶性肿瘤,近年来其发病率呈逐年上升趋势.研究表明,胰腺癌的发

生和发展与多种因素相关,而肿瘤细胞的异常增殖和凋亡抵抗特性在其中起到重要作用^[5,6].

一般当正常细胞受到各种凋亡诱导因素刺激后,可启动多种凋亡途径并激活凋亡相关的蛋白酶,这些蛋白酶可将细胞内的重要蛋白降解,引起细胞凋亡.而在肿瘤细胞中,正常的凋亡通路调控发生紊乱,导致细胞产生凋亡抵抗,从而引起肿瘤细胞的恶性增殖^[5]. 同样,研究表明肿瘤细胞的增殖与其细胞周期之间关系密切.按照细胞周期的概念,增殖细胞包括G₁期、S期、G₂期和M期的所有细胞,而调控这种细胞周

期的过程存在2个关键点, 即G₁/S期转换和G₂/M期转换; 其中G₁/S期转换是控制细胞周期长短的限速期, 而G₂/M期转换则是控制细胞分裂增殖的重要阶段^[6]。包括人类肿瘤在内的所有真核细胞中, 细胞周期蛋白A(cyclin A)是S期和G₂/M期的重要作用蛋白, 他的生成和降解与肿瘤的恶性增殖密切相关^[7]; 细胞周期蛋白D1(cyclin D1)是G₁期到S期的关键调控蛋白, 其异常表达见于多种人类肿瘤中^[8]; 周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent protein kinases, Cdk)能不可逆地引发细胞周期转变, 其中Cdk4与cyclin D1结合形成复合物, 在G₁期的演进中同样起着重要作用^[9]。而P21是细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子(cyclin-dependent kinase inhibitor, CKIs)家族成员之一, 能与cyclin/Cdk复合物结合并抑制其功能, 是G₁期的主要抑制蛋白^[10]。

蛋白激酶C主要由N端的调节区与C端的催化区组成。研究表明, 蛋白激酶C与肿瘤的增殖和凋亡等生物学特性密切相关^[4]。ST是一种广谱的蛋白激酶C抑制剂, 主要作用于C端的催化区, 其与ATP竞争结合蛋白激酶C的ATP结合位点而发挥抑制作用。通过对人类多种肿瘤的研究发现, ST能够有效抑制肿瘤细胞的生长并促进细胞凋亡^[11-13], 然而目前关于ST对胰腺癌细胞增殖、凋亡的影响尚不清楚。本研究通过CCK-8体外增殖实验、细胞凋亡形态学观察、流式细胞术和蛋白质印迹等检测方法, 发现ST对人胰腺癌Panc-1细胞有显著的生长抑制作用, 且这种效应随着药物浓度的增加和作用时间的延长而增强; 同时, 在ST作用后, Panc-1细胞可出现典型的凋亡形态学改变, 凋亡率明显高于未加药组。

有文献报道ST能诱导细胞周期阻滞于G₂/M期或G₁期^[13,14]。本研究发现, 低浓度ST(0.05 μmol/L)作用24 h后即可诱导Panc-1细胞的S期比例下降, 而G₀/G₁期细胞比例增加; 同时, 蛋白质印迹法检测结果也显示低浓度ST(0.05 μmol/L)作用24 h后, cyclin D1和Cdk4蛋白表达水平下降, 而p21蛋白的表达水平升高, 这与细胞周期分布的结果一致, 提示细胞被阻滞于G₁期。随着ST浓度的增加, Panc-1细胞的S期比例依次下降, G₀/G₁期比例依次增加; 而与之相对应, cyclin D1和Cdk4蛋白表达水平亦依次递减, P21蛋白的表达水平依次升高; 但cyclin A蛋白表达水平在低浓度ST作用时表达量升高, 但在高浓度ST作用后表达水平下降, 考虑可能是细胞为通过G₁期

的一种代偿性上调。

总之, 本研究从体外实验证明ST能够有效抑制胰腺癌Panc-1细胞的增殖并诱导其凋亡, 其作用机制可能是通过阻滞细胞周期于G₁期, 进而抑制肿瘤细胞生长并促进其凋亡, 但具体调节机制尚不清楚, 还需进一步研究。目前, 蛋白激酶C已成为抗肿瘤药物研究中的重要靶点, 其抑制剂十字孢碱有可能成为胰腺癌化疗中起重要作用的药物之一^[15]。

4 参考文献

- Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 1605-1617 [PMID: 20427809 DOI: 10.1056/NEJMra0901557]
- 马臣, 姜永晓, 刘曙正, 全培良, 孙喜斌, 郑荣寿, 张思维, 陈万青. 中国胰腺癌发病趋势分析和预测. *中华流行病学杂志* 2013; 02: 160-163
- Deacon EM, Pongracz J, Griffiths G, Lord JM. Isoenzymes of protein kinase C: differential involvement in apoptosis and pathogenesis. *Mol Pathol* 1997; 50: 124-131 [PMID: 9292146]
- Mackay HJ, Twelves CJ. Protein kinase C: a target for anticancer drugs? *Endocr Relat Cancer* 2003; 10: 389-396 [PMID: 14503915]
- Arlt A, Mürköster SS, Schäfer H. Targeting apoptosis pathways in pancreatic cancer. *Cancer Lett* 2013; 332: 346-358 [PMID: 21078544 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.10.015]
- Schwartz GK, Shah MA. Targeting the cell cycle: a new approach to cancer therapy. *J Clin Oncol* 2005; 23: 9408-9421 [PMID: 16361640 DOI: 10.1200/JCO.2005.01.5594]
- Yasmeen A, Berdel WE, Serve H, Müller-Tidow C. E- and A-type cyclins as markers for cancer diagnosis and prognosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2003; 3: 617-633 [PMID: 14510182 DOI: 10.1586/14737159.3.5.617]
- Guo SS, Wu X, Shimoide AT, Wong J, Moatamed F, Sawicki MP. Frequent overexpression of cyclin D1 in sporadic pancreatic endocrine tumours. *J Endocrinol* 2003; 179: 73-79 [PMID: 14529567]
- Ikehara M, Oshita F, Ito H, Ohgane N, Suzuki R, Saito H, Yamada K, Noda K, Mitsuda A, Kameda Y. Expression of cyclin D1 but not of cyclin E is an indicator of poor prognosis in small adenocarcinomas of the lung. *Oncol Rep* 2003; 10: 137-139 [PMID: 12469159]
- Sugimoto M, Martin N, Wilks DP, Tamai K, Huot TJ, Pantoja C, Okumura K, Serrano M, Hara E. Activation of cyclin D1-kinase in murine fibroblasts lacking both p21(Cip1) and p27(Kip1). *Oncogene* 2002; 21: 8067-8074 [PMID: 12444543 DOI: 10.1038/sj.onc.1206019]
- Qiao L, Koutsos M, Tsai LL, Kozoni V, Guzman J, Shiff SJ, Rigas B. Staurosporine inhibits the proliferation, alters the cell cycle distribution and induces apoptosis in HT-29 human colon adenocarcinoma cells. *Cancer Lett* 1996; 107: 83-89 [PMID: 8913270]
- Yamasaki F, Hama S, Yoshioka H, Kajiwara Y, Yahara K, Sugiyama K, Heike Y, Arita K, Kurisu K. Staurosporine-induced apoptosis is independent

同行评价

本文立题有一定新意, 实验设计合理, 数据翔实准确, 论文逻辑性较强, 研究结果有助于进一步明确胰腺癌细胞增殖及凋亡的调控机制, 具有较好的科学价值。

- of p16 and p21 and achieved via arrest at G2/M and at G1 in U251MG human glioma cell line. *Cancer Chemother Pharmacol* 2003; 51: 271-283 [PMID: 12721754 DOI: 10.1007/s00280-002-0562-z]
- 13 Sarkar J, Singh N, Meena S, Sinha S. Staurosporine induces apoptosis in human papillomavirus positive oral cancer cells at G2/M phase by disrupting mitochondrial membrane potential and modulation of cell cytoskeleton. *Oral Oncol* 2009; 45: 974-979 [PMID: 19502099 DOI: 10.1016/j.oraloncology.2009.04.009]
- 14 Zhou W, Lin Y, Wersto R, Chrest J, Gabrielson E. Staurosporine-induced G(1) arrest in cancer cells depends on an intact pRB but is independent of p16 status. *Cancer Lett* 2002; 183: 103-107 [PMID: 12049820]
- 15 El-Rayes BF, Ali S, Philip PA, Sarkar FH. Protein kinase C: a target for therapy in pancreatic cancer. *Pancreas* 2008; 36: 346-352 [PMID: 18437080 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31815ceaf7]

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t_{1/2}或T_{1/2}, 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.

兔肛门直肠三维有限元模型的建立

柯敏辉, 叶玲, 陈立武, 陈日齐, 郑鸣霄

柯敏辉, 叶玲, 陈立武, 郑鸣霄, 福建中医药大学附属第二人民医院肛肠科 福建省福州市 350003

陈日齐, 福州大学 福建省福州市 350108

柯敏辉, 主治医师, 中西医结合临床硕士, 主要从事肛肠疾病防治与研究。

国家自然科学基金面上资助项目, No. 81173272

作者贡献分布: 模型由柯敏辉与叶玲设计; 研究由柯敏辉、叶玲、陈立武及郑鸣霄共同完成; 由陈日齐指导; 论文写作由柯敏辉完成。

通讯作者: 叶玲, 主任医师, 350003, 福建省福州市湖东支路13号, 福建中医药大学附属第二人民医院肛肠科。

yeling0223@163.com

电话: 0591-87878197

收稿日期: 2013-06-06 修回日期: 2013-07-14

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Establishment of a 3D finite element model of the rabbit anorectum

Min-Hui Ke, Ling Ye, Li-Wu Chen, Ri-Qi Chen, Ming-Xiao Zheng

Min-Hui Ke, Ling Ye, Li-Wu Chen, Ming-Xiao Zheng, the Second People's Hospital of Fujian Province, Fuzhou 350003, Fujian Province, China

Ri-Qi Chen, Fuzhou University, Fuzhou 350108, Fujian Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173272

Correspondence to: Ling Ye, Chief Physician, Department of Anorectal Medicine, the Second People's Hospital of Fujian Province, 13 Hudongzhi Road, Fuzhou 350003, Fujian Province, China. yeling0223@163.com

Received: 2013-06-06 Revised: 2013-07-14

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To establish a 3D finite element model of the rabbit anorectum.

METHODS: A one-month male New Zealand rabbit was selected. Anatomical and pathological data were first measured, including the thickness and lumen diameter of the anorectum. Based on the obtained data, the coordinates, the origin and contour line were depicted on the graph. The three-dimensional coordinate (X-, Y-, Z-axes) values for the model of each node were determined. In the coordinate system, the element and node were divided based on the

principles of finite discrete. Subsequently, different parts of the rabbit anorectum tissue were isolated to measure the mechanical parameters (e.g., Young's modulus and Poisson's ratio). A model was finally developed by inputting the above data to SUPER-SAP finite element software.

RESULTS: By measuring the Young's modulus and the Poisson's ratio of different parts of the rabbit anorectum tissue, a 3D finite element model of the rabbit anorectum, which contained 1342 units and 1800 nodes, was successfully established.

CONCLUSION: A 3D finite element model of the rabbit anorectum with realistic appearance and calculation accuracy has been successfully developed, and this model can provide theoretical guidance for studying the etiology, diagnosis and treatment of anorectal diseases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Rabbit; Anorectum; Biomechanics; Finite element model

Ke MH, Ye L, Chen LW, Chen RQ, Zheng MX. Establishment of a 3D finite element model of the rabbit anorectum. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2585-2589 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2585.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2585>

摘要

目的: 建立兔肛门直肠三维有限元模型。

方法: 选取1只1月龄♂新西兰兔。先观测兔直肠肛门的厚度、管径等解剖病理学数据, 根据这些数据, 在模型图上描绘坐标、原点和模型轮廓线, 确定模型的各节点在三维空间的X、Y、Z轴上的坐标值, 在坐标系内按有限离散原则划分单元与节点。然后分离兔肛门直肠不同层面的组织, 运用力学仪器测算各层面的杨氏弹性模量、泊松比等力学参数。最后将这些数值输入SUPER-SAP有限元软件建模。

结果: 测得正常兔肛门直肠不同层面组织的

■背景资料

探求为肛门直肠疾病的诊断和疗效评估提供客观理论指导的方法。有限元模型符合这一需求, 他能够通过虚拟建模直观反映宏观结构的改变。本文将建立兔肛门直肠有限元模型。

■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

■ 研发前沿

将有限元运用于软组织的研究,首次建立兔肛门直肠三维有限元模型,有助于肛门直肠疾病的深入研究.利用兔替代人作为研究对象,具有可重复率高、不受伦理约束以及模型可控性强等优点.

杨氏弹性模量、泊松比,建成含1342个单元、1800个节点的兔肛门直肠有限元模型.

结论: 建立外形和几何结构逼真、生物材料接近正常组织的兔肛门直肠有限元模型,阐述一种建立软组织有限元模型的思路和方法,为肛门直肠疾病的病因、诊断、治疗等提供理论指导.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 兔; 肛门直肠; 生物力学; 有限元模型

核心提示: 运用SUPER-SAP有限元软件,建立兔肛门直肠三维有限元模型,为肛门直肠疾病的病因、诊断、治疗等提供理论指导.测算肛门直肠组织力学参数的方法有助于未来软组织力学参数的研究.

柯敏辉, 叶玲, 陈立武, 陈日齐, 郑鸣霄. 兔肛门直肠三维有限元模型的建立. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2585-2589
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2585.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2585>

0 引言

生物力学的起源要追溯至人类文明之端,在人类对人体解剖尚未深入了解时,已经开始对人体的内部结构进行分析.三维有限元法作为一种有效手段,在生物力学研究中应用越来越广泛^[1].在我国传统应用于口腔医学和骨科学^[2,3].目前有限元分析法对人体软组织的研究在国内外尚处于初级阶段,但发展极其迅速^[4].为精确深入研究肛门直肠疾病,我们首次建立兔肛门直肠三维有限元模型,将肛门直肠疾病的研究带入一个新的领域,加深对肛门直肠疾病在发生发展机制、诊断与治疗方面的认识.

1 材料和方法

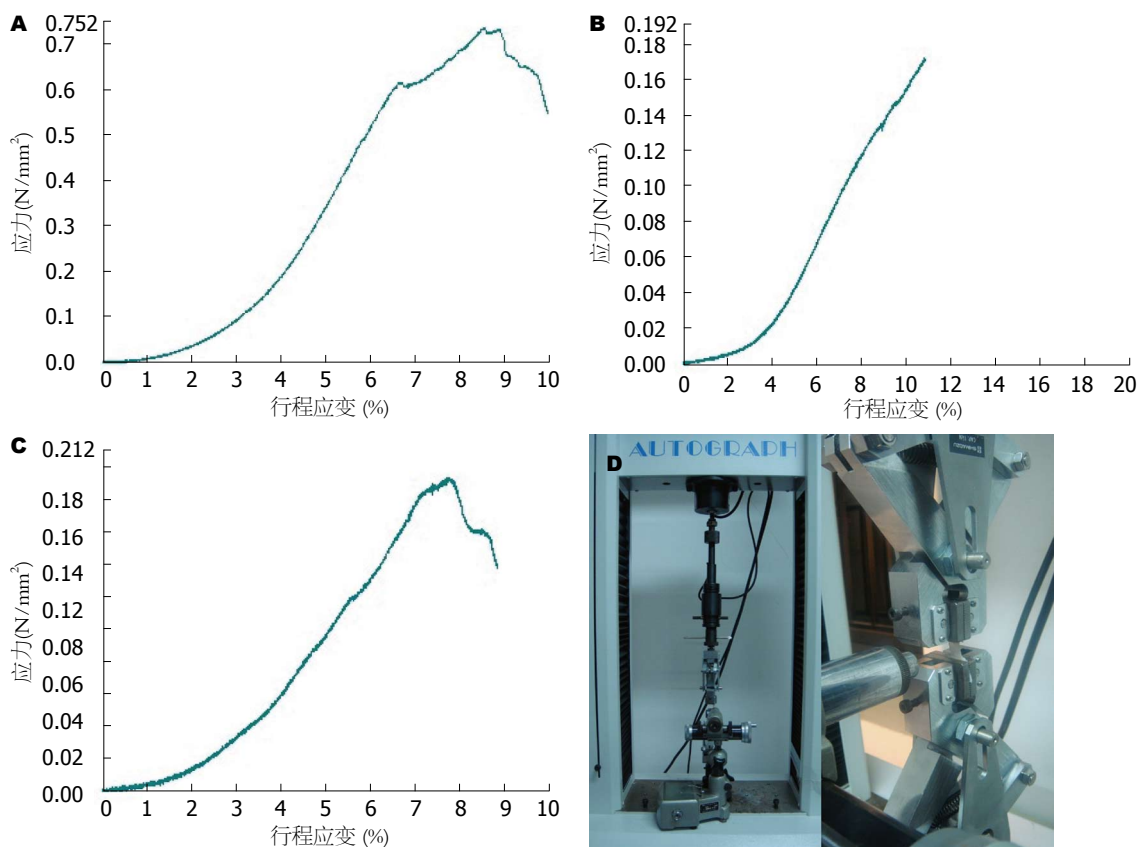
1.1 材料 万能材料试验机(AGIC-50KN,最小感量为1 g)、50倍读数显微镜、SUPER-SAP有限元软件、win7系统计算机:由福建中医药大学骨重建生物力学实验室提供.1月龄♂新西兰兔:由上海松联实验动物养殖场提供,许可证号:scxk(沪)2007-0011.

1.2 方法

1.2.1 数据采集: 鉴于兔肛门直肠壁薄、体积小、成像效果不理想等特殊性质,磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、CT难以显示兔肛门直肠的具体构造.本研究通过解剖1只

1月龄♂新西兰兔掌握其肛门直肠的构造.沿兔耳缘静脉注射水合氯醛麻醉后,用20 mL针筒抽取尚未凝固的口腔科石膏水溶剂10 mL注入兔肛门.石膏在直肠腔内凝固(约10 min)后将兔解剖.以组织剪于肛管直肠外缘周围分离肛管直肠,腹侧分离至坐耻骨合缝下缘,左右两侧分离至坐骨缘,背侧分离至尾骨与荐骨交会处.以刀全程切开坐耻骨合缝至耻骨上缘,钝性分离直肠与髌骨、荐骨之间的组织.平行耻骨上缘切断分离直肠,钝性剥离附着于肛门直肠壁上的组织.取肛门直肠组织进行测量分析.采集数据如下:肛门直肠腔左右对称,兔直肠经石膏固定在腹侧耻骨下缘处有一弯曲,由耻骨约束引起,弯曲角度为145度,直肠上端设置为固定端.直肠壁上取3处,用50倍读数显微镜测量兔直肠壁的厚度分别为2.39、2.41、2.40 mm,取平均值2.40 mm.同法测量肛门的厚度为3.00 mm,肛门直肠的管径为5.20 mm.前期取6只正常兔直肠组织行HE染色,发现兔直肠的显微结构与人类相似,直肠壁分为黏膜层、黏膜下层、肌层、浆膜层四层.其中黏膜层约占直肠壁厚度的3/10,黏膜下层约占2/10,肌层约占4/10,浆膜层约占1/10.

1.2.2 力学参数的测定: (1)取材,受兔直肠组织生理结构的限制,直肠黏膜层与黏膜下层间、肌层与浆膜层间排列紧密,无法分离.本研究取材分为3部分:肛门、直肠黏膜层与黏膜下层、直肠肌层与浆膜层.用特制刀片于兔肛门直肠剖取所需组织后即行力学测试,以便获得准确的数据;(2)测材质,测算所取组织的杨氏弹性模量与泊松比等力学参数.以测算直肠黏膜层与黏膜下层的力学参数为例:在所取组织的纵轴中段上取a、b两点,在a、b两点间组织横向上取c、d两点.先用50倍读数显微镜读取静止状态下a、b两点间直肠黏膜的长度(L1,单位:cm)与c、d两点的宽度(L2,单位:cm),然后用50倍读数显微镜读取直肠黏膜层与黏膜下层的厚度,将上述测量的数据输入万能材料试验机的计算机.组织两端固定于万能材料试验机的夹板上后(该组织较薄可先平铺于薄纸上,待两端固定于夹板后将薄纸于纸中间位置撕断),将组织往两端行最长拉伸,记录最长拉伸所用的力(P,单位:N)与行最长拉伸时黏膜的横截面积(A,单位:cm²),记录拉伸后a、b两点黏膜的长度(L3,单位:cm)与宽度(L4,单位:cm),计算拉伸前后长度的改变 $\Delta L1$ ($\Delta L1 = L3 - L1$,单位:cm)与宽度的改变 Δ



■创新盘点
首次建立兔肛门直肠三维有限元模型, 运用万能材料试验机测得肛门直肠组织的力学参数。

图 1 兔肛门直肠各部分组织应力与应变图及测试所需主要仪器。A: 兔直肠黏膜层与黏膜下层应力与应变图; B: 兔肛门应力与应变图; C: 兔直肠肌层与浆膜层应力与应变图; D: 万能材料试验机与50倍读数显微镜。

L2(ΔL2 = L2-L4, 单位: cm). 实验中万能材料试验机的计算机将实时自动显示应力与应变的关系曲线(如图1A). 将曲线上的值代入公式即可获得力学参数, 公式具体如下: 杨氏弹性模量(E, 单位: MPa): $E = (P/A) \times (\Delta L1/L1)$; 泊松比(μ): $\mu = (\Delta L1/L1) / (\Delta L2/L2)$. 同法测算肛门、直肠肌层与浆膜层的力学参数(他们的应力与应变曲线如图1B, C).

1.2.3 建模: 有限元模型采用6面体8个节点三维计算模式, 每个节点有沿X、Y、Z轴的3个方向平移和绕此三轴3个方向转动的6个自由度, 建立以XY平面为水平面、XZ平面为冠状面、YZ平面为矢状面, X轴由左向右为正方向、Y轴由后向前为正方向、Z轴由下向上为正方向的三维坐标体系. 根据采集的数据, 绘制15张模型平面图(根据研究需要, 目前建立肛门与直肠下段有限元模型). 在模型图上按20倍放大, 描绘坐标、原点和模型轮廓线. 这样模型的各节点在三维空间的X、Y、Z轴上的坐标值即可确定. 在坐标系内按有限离散原则划分单元与节点. 将直肠壁根据比例分为黏膜层、黏膜下层、肌层、浆膜层四层, 肛门为一整体. 然后把每个节

点的X、Y、Z值从下往上输入国内常用的有限元SUPER-SAP软件平台^[5], 同时输入所测得各部分组织的力学参数, 即完成建模(图2).

2 结果

测得兔肛门直肠各部分的力学参数如表1.

建立含1342个单元、1800个节点的兔肛门直肠有限元模型(图3). 图3B中3种颜色代表不同部位的组织, 以便于应力分析. 红色代表直肠肌层与浆膜层, 黄色代表直肠黏膜层与黏膜下层, 绿色代表肛门.

3 讨论

三维有限元模型被认为是模拟软组织形变最经典的方法^[6], 正逐渐应用于肛门直肠疾病的研究. 国外: 2003年, Janda等^[7]利用一具无盆底病变的女性尸体标本, 建立世界上首个基于解剖的盆底肛提肌三维有限元模型和模型数据库. 2007年, Martins等^[8]应用Janda获得的数据库建立肛提肌主动收缩与被动拉伸时的三维有限元模型. 国内: 2008年, 赵惠军等^[9]基于MRI的盆底组织结构三维重建, 其目的是获得女性盆底组织(包

应用要点

兔肛门直肠三维有限元模型的建立,将肛门直肠疾病的研究带入一个新的领域,加深人们对肛门直肠疾病在发生发展机制、诊断与治疗方面的认识。

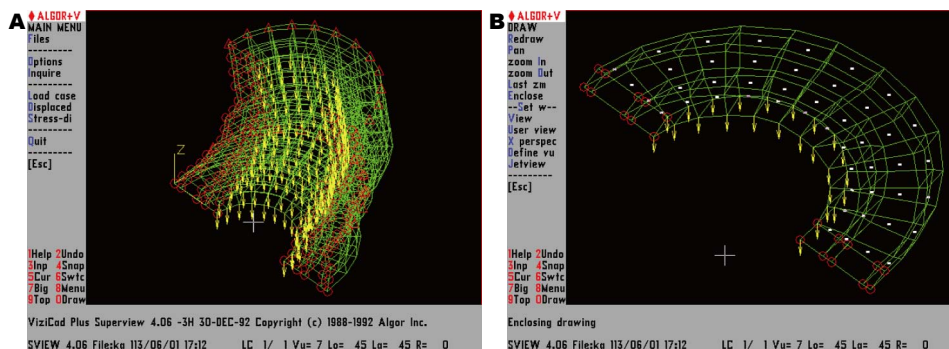


图2 建模中的兔肛门直肠网格图。A: 兔肛门直肠剖面网格图; B: 兔肛门直肠水平面网格图。

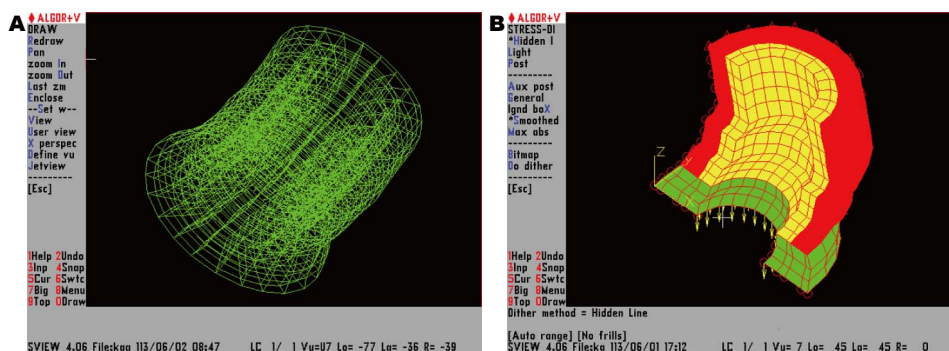


图3 兔肛门直肠有限元模型。A: 兔肛门直肠三维整体网格图; B: 兔肛门直肠材料性质图。

表1 兔肛门直肠各层的力学参数

组织名称	杨氏弹性模量(MPa)	泊松比
肛门	4.00	0.30
直肠黏膜层与黏膜下层	1.50	0.45
直肠肌层与浆膜层	2.30	0.37

括肛提肌及闭孔内肌)的三维模型。2011年宋红芳等^[10]基于磁共振影像学资料,采用有限元软件重构肛提肌的几何结构,采用有限元分析方法仿真计算肛提肌的应力分布。目前未检索到阐述兔肛门直肠有限元建模的文献。

有限元的特点是通过虚拟建模直观反映宏观结构的改变。他的生物力学仿真结果已被证明是准确和可信的^[11-13]。其物理实质是用有限个单元体的组合代替连续域,化无限自由度的问题为有限自由度的问题。主要优点有:(1)能够高度模拟物体结构与材料的特性,进行精确的计算分析;(2)分析研究的重复性好;(3)能够通过模拟分析的方法研究实验方法所不能研究的情况,对感兴趣的组织进行选择,得到客观实体实验法所难以得到的研究结果。

丹麦的Storkholm等^[14]和Gregersen等^[15]在1998年对荷兰猪的生物力学性能进行了拉伸实

验研究,得到荷兰猪小肠的应力和应变符合指数关系。研究证明兔肛门直肠是粘弹性体,但在一定范围内存在线弹性应力-应变关系(如图1A-C)。因此可借用弹性理论的方法处理非线性材料,称为“拟弹性”。本研究将肛门直肠设为拟弹性体,采用研究弹性体的方法来研究,测算杨氏弹性模量与泊松比等力学参数建立兔肛门直肠有限元模型。

杨氏弹性模量是表征在弹性限度内物质材料抗拉或抗压的物理量。根据胡克定律,在物体的弹性限度内,应力与应变成正比,比值被称为材料的杨氏模量,他是表征材料性质的一个物理量,仅取决于材料本身的物理性质。杨氏模量的大小标志材料的刚性,杨氏模量越大,越不容易发生形变。泊松比是材料在单向受拉或受压时,横向正应变与轴向正应变的绝对值的比值,同样能反映物体的刚度。由表1可知,正常的直肠黏膜层与黏膜下层的杨氏弹性模量最小、泊松比最大,说明其最软、最易发生形变,符合临床征象。

兔肛门直肠有限元模型将运用于不同浓度的消痔灵注射治疗兔直肠黏膜内脱垂的疗效评价研究,能形象观察注射前后直肠黏膜内脱垂情况的差异。叶玲等^[16]认为消痔灵注入直肠黏膜

下层, 使直肠黏膜局部组织产生无菌性炎症, 通过组织纤维化使直肠黏膜与肌层粘连形成瘢痕. 正常的黏膜、脱垂的黏膜、消痔灵注射后的黏膜, 三种不同状态的直肠黏膜将测得不同的杨氏弹性模量和泊松比等力学参数. 消痔灵注射后硬化的黏膜, 其杨氏弹性模量将最大, 泊松比最小. 运用测得的力学指标代入兔肛门直肠有限元模型中, 将计算得具体的直肠黏膜脱垂量, 从而直观论证不同浓度的消痔灵注射治疗直肠黏膜内脱垂的疗效.

基于兔肛门直肠有限元模型的建立, 我们获得客观掌握肛门直肠疾病的有效方法, 有助于对此类疾病的深入研究.

4 参考文献

- 1 孙培栋, 陈春, 吴长福, 赵卫东, 张明, 欧阳钧. 有限元分析中软组织力学参数的设定及验证. *医用生物力学* 2012; 27: 27-31
- 2 蔚一博, 朱强, 曹志中. Micro-CT技术结合逆向工程软件建立上颌第一前磨牙的三维有限元模型. *第二军医大学学报* 2011; 32: 745-748
- 3 瞿东滨, 钟世镇. 骨科生物力学的发展及前沿领域. *中华外科杂志* 2010; 48: 311-313
- 4 陈伟, 严志汉, 吴立军. 女性盆底肛提肌的有限元分析. *中国组织工程研究与临床康复* 2010; 14: 8125-8128
- 5 陈灼彬, 万磊. 医学有限元的建模方法. *中国组织工程研究与临床康复* 2007; 11: 6265-6267
- 6 王荣洁, 曾融生, 朱凯. 应用有限元法预测正颌术后三维软组织形变的初步探讨. *中国口腔颌面外科杂志* 2012; 10: 90-95
- 7 Janda S, van der Helm FC, de Blok SB. Measuring morphological parameters of the pelvic floor for finite element modelling purposes. *J Biomech* 2003; 36: 749-757 [PMID: 12742442]
- 8 Martins JA, Pato MP, Pires EB, Jorge RM, Parente M, Mascarenhas T. Finite element studies of the deformation of the pelvic floor. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1101: 316-334 [PMID: 17363435 DOI: 10.1196/annals.1389.019]
- 9 赵惠军, 王波, 马洋. 基于MRI的盆底组织结构三维重建. *第四军医大学学报* 2008; 29: 1317-1318
- 10 宋红芳, 王雪影, 黄跃, 倪成香, 雷玲玲, 马乐. 女性盆底组织病理状态下的三维有限元分析. *中华妇幼临床医学杂志* 2011; 7: 426-429
- 11 Erdemir A, Guess TM, Halloran J, Tadepalli SC, Morrison TM. Considerations for reporting finite element analysis studies in biomechanics. *J Biomech* 2012; 45: 625-633 [PMID: 22236526 DOI: 10.1016/j.jbiomech.2011.11.038]
- 12 Mousavi SR, Khalaji I, Sadeghi Naini A, Raahemifar K, Samani A. Statistical finite element method for real-time tissue mechanics analysis. *Comput Methods Biomech Biomed Engin* 2012; 15: 595-608 [PMID: 21476154 DOI: 10.1080/10255842.2010.550889]
- 13 曹兰菊, 李振新, 高凤梅. 基于有限元的生物力学仿真研究. *河南师范大学学报* 2009; 4: 139-141
- 14 Storkholm JH, Villadsen GE, Jensen SL, Gregersen H. Passive elastic wall properties in isolated guinea pig small intestine. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 976-982 [PMID: 7729287]
- 15 Gregersen H, Emery JL, McCulloch AD. History-dependent mechanical behavior of guinea-pig small intestine. *Ann Biomed Eng* 1998; 26: 850-858 [PMID: 9779958]
- 16 叶玲, 高献明. 消痔灵注射治疗直肠内脱垂型便秘148例临床观察. *中国现代药物应用* 2009; 3: 109-110

同行评价

本文运用SUPER-SAP有限元软件, 建立兔肛门直肠三维有限元模型, 将为肛门直肠疾病的诊断和疗效评估提供理论指导, 具有一定的创新性.

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



胃息肉的临床病理特征分析460例

冯智, 米娜娃儿·阿布都, 古丽巴哈尔·司马义

■背景资料

本文通过对新疆医科大学第一附属医院3年间诊断为胃息肉患者胃镜下表现及病理特点分析, 为胃息肉临床诊断及治疗提供客观依据。

冯智, 米娜娃儿·阿布都, 古丽巴哈尔·司马义, 新疆医科大学第一附属医院消化科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市830000

作者贡献分布: 冯智与古丽巴哈尔·司马义对此文所作贡献均等; 此文章由冯智与古丽巴哈尔·司马义设计; 数据分析由冯智与古丽巴哈尔·司马义完成; 本论文写作由冯智、米娜娃儿·阿布都及古丽巴哈尔·司马义完成。

通讯作者: 古丽巴哈尔·司马义, 副教授, 830000, 新疆乌鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院。xjianggulibahaer@163.com

收稿日期: 2013-06-12 修回日期: 2013-07-24

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Clinical and pathological features of gastric polyps: An analysis of 460 cases

Zhi Feng, Minawaer·Abudu, Gulibahaer·Simayi

Zhi Feng, Minawaer·Abudu, Gulibahaer·Simayi, Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Gulibahaer·Simayi, Associate Professor, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan Road, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. xjianggulibahaer@163.com
Received: 2013-06-12 Revised: 2013-07-24
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To summarize the clinical and pathological features of gastric polyps to provide a basis for the diagnosis and treatment of this disease.

METHODS: Clinical and pathological data for 460 patients with gastric polyps, who were treated at our hospital from January 2011 to January 2013 and had gastroscopy and pathology data, were retrospectively analyzed.

RESULTS: There were 179 (38.9%) males and 281 (61.1%) females. Their age ranged from 22 to 85 years, and 71.7% of them ranged from 40 to 70 years. Of all patients, 263 (57.2%) had single polyp and 197 (42.8%) had multiple ones. Gastric polyps were most commonly seen in the antrum and gastric body (77.2%, 355/460). The diameter of most of the polyps (90.4%) was less than or equal to 0.5 cm. Hyperplastic polyps accounted

for 42.8% of all cases, followed by inflammatory polyps (42.6%). Yamada types I and II polyps accounted for 67.7% of all cases.

CONCLUSION: Most of gastric polyps are small and single, and are more common in women and elderly people. Commonly affected sites are the antrum and gastric body, and hyperplastic and inflammatory polyps account for the majority of cases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastroscopy; Gastric polyps; Pathological

Feng Z, Minawaer·Abudu, Gulibahaer Simayi. Clinical and pathological features of gastric polyps: An analysis of 460 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2590-2593
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2590.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2590>

摘要

目的: 通过对我院胃息肉患者胃镜下表现及病理特点分析, 为胃息肉的临床诊断及治疗提供客观依据。

方法: 对本院2010-01/2013-01消化内镜室检出的460例胃息肉患者的胃镜结果、病理资料进行分析。

结果: 在检出的460例胃息肉病例中, 男性179例(38.9%), 女性281例(61.1%), 年龄在22-85岁之间, 高发年龄段为40-70岁(71.7%, 330/460), 单发息肉263例(57.2%), 多发息肉197例(42.8%); 息肉主要位于胃窦和胃体(77.2%, 355/460), 直径多≤0.5 cm, 共为416例(90.4%); 病理结果显示增生性息肉多见共197例(42.8%), 其次是炎性息肉196例(42.6%)息肉的形态学分型山田分型I、II型共509枚(67.7%)占大多数。

结论: (1)胃息肉内镜下直径较小, 多为单发, 女性多见, 好发人群为中老年人; (2)息肉主要位于胃窦和胃体, 增生性息肉和炎性息肉占大部分, 形态学分型以I、II型多见; (3)胃镜检

■同行评议者

蔡开琳, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

查时除明确诊断息肉外, 还应对息肉标本进行病理检查, 以明确息肉类型, 并指导内镜治疗术式的选择。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胃镜检查; 胃息肉; 病理类型

核心提示: (1)胃息肉内镜下直径较小, 多为单发, 女性多见, 好发人群为中老年人; (2)息肉主要位于胃窦和胃体, 增生性息肉和炎性息肉占大部分, 形态学分型以 I、II 型多见; (3)胃镜检查时除明确诊断息肉外, 还应对息肉标本进行病理检查, 以明确息肉类型, 并指导内镜治疗术式的选择。

冯智, 米娜娃儿·阿布都, 古丽巴哈尔·司马义. 胃息肉的临床病理特征分析460例. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2590-2593
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2590.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2590>

0 引言

息肉是指从黏膜表面突出的异常生长的组织, 生长在胃内的息肉称之为胃息肉, 是临床常见疾病, 临床表现缺乏特异性, 早期诊断不易, 临床上绝大部分胃息肉是在上消化道内镜检查中偶然发现的. 胃息肉有一定的恶变倾向^[1], 本文对新疆医科大学第一附属医院2010-01/2013-01消化内镜室检出门诊、住院的胃息肉460例患者的胃镜、病理资料进行分析, 现总结报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-01/2013-01消化内镜室检出门诊、住院的胃息肉患者460例, 其中男性179例(38.9%), 女性281例(61.1%), 男女比例为: 1: 1.57, 年龄在22-85岁, 平均56.2岁±13.1岁, 高发年龄段为40-70岁(71.7%, 330/460). 胃息肉的年龄分布如表1所示。

1.2 方法

1.2.1 内镜观察: 由内镜医师对受检者的食管、胃底、胃体、胃窦和十二指肠进行全方位观察. 记录检出的胃息肉的数量、形态、大小和部位, 根据山田分类法进行形态分类^[2]. I型: 息肉隆起的起始部平缓, 与周围黏膜无明显境界; II型: 息肉隆起部与周围黏膜有明显境界, 但息肉底部不变细; III型: 息肉底部明显变细, 但不形成蒂; IV型: 息肉有明显的蒂。

1.2.2 病理组织学检查: 将通过钳夹或息肉切除所取得的组织标本固定于40 g/L甲醛溶液, 常规

蜡块包埋, 3 μm切片. 由新疆医科大学第一附属医院病理科医生阅片并参考《诊断病理学》^[3]对息肉进行组织学评价与分类。

统计学处理 数据采用SPSS17.0软件分析. 多个样本率的比较采用 χ^2 检验. 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 内镜检查结果 本组资料中共752枚息肉, 单发息肉263例(57.2%), 多发息肉197例(42.8%), 其中2枚息肉144例(73.1%), 3枚息肉30例(15.2%), 4枚息肉14例(7.1%), 5枚息肉以上9例(4.6%). 息肉主要位于胃窦和胃体(77.2%, 355/460), 其次是胃底(22.8%, 105/460), 贲门(2.8%, 13/460), 胃角(1.7%, 8/460), 胃息肉的部位分布如表2所示(如果患者同时具有两种或两种以上不同位置的息肉, 则重复进入统计). 直径 ≤ 0.5 cm共416例(90.4%), 0.5-2.0 cm共17例(3.7%), ≥ 2.0 cm共27例(5.9%); 息肉的形态学分型按山田分型 I、II 型共509枚(67.7%), III型182枚(24.2%), IV型61枚(8.1%)。

2.2 病理结果 本组资料中增生性息肉占大多数197例(42.8%), 其次是炎性息肉196例(42.6%), 胃底腺息肉32例(7%), 胃癌22例(4.8%), 腺瘤性息肉12例(2.6%), 错构瘤1例(0.2%)。

2.3 统计学分析 本组460例患者中, 女性61.1%, 高于男性38.9%($P<0.05$), 差异有统计学意义; 年龄段为40-70岁人群占总例数的71.7%, 高于其他年龄段人群($P<0.05$), 差异有统计学意义; 直径 ≤ 0.5 cm数目占90.4%, 高于其他直径分布数目($P<0.05$), 差异有统计学意义; 息肉的分布多位于胃窦和胃体77.2%, 高于其他息肉分布部位($P<0.05$), 差异有统计学意义; 组织学分型山田分型 I、II 型67.7%, 高于其他组织学分型($P<0.05$), 差异有统计学意义; 病理类型增生性息肉和炎性息肉85.4%, 高于其他病理类型($P<0.05$), 差异有统计学意义。

3 讨论

胃息肉是临床常见的黏膜隆起性病变, 其检出率呈逐年增高趋势, 胃息肉目前病因不明确, 有人观察到可能是由于胃黏膜损伤或糜烂后的过度再生结果^[4]. 很多研究也认为幽门螺杆菌感染与炎性息肉相关^[5-8]. 胃息肉可发生于胃黏膜的任何部位, 本文发现息肉在胃内的分布以胃窦和胃体多见, 而文献报道不一, 王晶桐等^[9]发现胃息

■研发前沿

胃息肉的发生率随年龄增加而上升. 绝大多数息肉是良性病变, 不会危及生命但也有一部分息肉有癌变的倾向, 故需要积极的治疗. 由于胃息肉一般没有临床症状, 即使有, 症状也没有特异性. 因此胃息肉的诊断主要依赖电子胃镜检查. 通过病理诊断来确诊胃息肉的良恶性, 从而辅助治疗, 治疗上多采用内镜或手术的方法予以切除。

■创新盘点

新疆维吾尔自治区是一个多民族聚居的地区, 本文对新疆医科大学第一附属医院近3年来胃息肉患者的临床病理进行分析, 相较于其他类似文章亮点在于对胃息肉患者民族差异的可能性分析。

应用要点

本文通过对新疆医科大学第一附属医院近3年来胃息肉患者的临床病理进行分析,表明胃镜检查时除明确诊断息肉外,还应对息肉标本进行病理检查,以明确息肉类型,并指导内镜治疗术式的选择。

表 1 胃息肉的年龄分布 (n, %)

年龄(岁)	n	(%)
21-30	9	2.0
31-40	48	10.4
41-50	114	24.8
51-60	107	23.3
61-70	109	23.7
71-80	66	14.3
>80	7	1.5
合计	460	100.0

表 2 胃息肉的部位分布 (n, %)

部位	n	(%)
胃体	163	35.4
胃窦	164	35.7
胃底	95	20.7
贲门	8	1.7
胃角	8	1.7
多部位	22	4.8
合计	460	100.0

肉在胃内分布无明显好发部位, Abraham等^[10]发现胃窦多见,可能与新疆地区的饮食、生活习惯相关,亦可能与新疆为维吾尔族、哈萨克族等少数民族聚居区而本组中收集的资料来自多民族人群有关;本文中息肉的病理类型以增生性息肉和炎性息肉为主,这与国内大多数资料报道一致^[11];但国外学者Genta等^[12]发现胃底腺息肉是常见类型。

本组研究资料显示:胃息肉患者以女性281例(61.1%),高发年龄段为40-70岁(71.7%),提示女性、中老年人作为息肉高发人群;胃息肉好发于胃窦和胃体(77.2%, 355/460);胃息肉以单发为主(57.2%);绝大多数息肉直径<0.5 cm(90.4%);根据山田分类法进行形态分类,大多数息肉为山田分型 I、II型共509枚(67.7%),内镜下肉眼可见外观多光滑、无充血糜烂,颜色与周围黏膜相同,广基息肉呈类圆形或半球样隆起,少部分息肉呈分叶状、条状;依据组织病理学特征,胃息肉可分为增生性、炎性、胃底腺、错构瘤性和腺瘤性,本组资料中胃息肉的最常见组织学类型为增生性息肉197例(42.8%),其次是炎性息肉196例(42.6%),此外,本组有22例病理诊断为胃癌,22例患者中,病理诊断均为腺癌,包括19例中低分化腺癌,1例高分化腺癌,1例胃黏液腺癌,1例黏膜内腺癌,内镜下肉眼多见为溃疡性肿物,切面灰白、质脆,此外,本组中胃底腺息肉32例(7%),腺瘤性息肉12例(2.6%),错构瘤1例(0.2%)。

本组中病理结果诊断为胃癌22例,均提示在常规胃镜检查时除明确诊断息肉外,还应对息肉标本进行常规病理检查,以明确息肉类型,并指导内镜治疗术式的选择。针对息肉是否癌变,一般认为,炎性息肉恶变率较低,但许多研究也发现炎性增生性息肉有癌变倾向^[13,14],有研

究认为单个发生的胃底腺息肉及质子泵抑制剂相关胃底腺息肉是低度恶性的^[15]。胃底腺息肉发育不良往往与家族性腺瘤性息肉病有关^[16]。Han等^[17]发现直径>1 cm的胃增生性息肉发生致瘤性变化的可能性大于小于1 cm的息肉,建议>1 cm的息肉要正确的诊断和处理。由于内镜治疗方法简便、损伤小,因而内镜下胃息肉切除术得到了广泛的应用。内镜下息肉治疗是安全可靠的^[18-20],息肉尽早切除可有效防止其癌变,其治疗方法主要包括内镜下息肉电切术、内镜钳除、内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)、内镜黏膜下剥离(endoscopic submucosal dissection, ESD)甚至胃部分或全部切除术,应根据息肉的部位、大小、形态,有蒂或无蒂等,选用不同的治疗方法。一般来说,对于<0.5 cm的息肉,直接用活检钳钳取切除,对于较大的有蒂和亚蒂息肉,直径2 cm的可直接用接高频电的圈套器套入息肉根部,一次性进行切除。>2 cm的宽基底息肉可分次摘除或用尼龙圈套扎。扁平无蒂息肉可以采用EMR方法切除;ESD技术,可以完整切除5-10 cm的扁平息肉。

总之,胃息肉内镜下直径较小,多为单发,女性多见,好发人群为中老年人;息肉主要位于胃窦和胃体,增生性息肉和炎性息肉占大部分,形态学分型以 I、II型多见;胃镜检查时除明确诊断息肉外,还应对息肉标本进行病理检查,以明确息肉类型,并指导内镜治疗术式的选择。

4 参考文献

- 1 Zhao Y, Zhou T, Li A, Yao H, He F, Wang L, Si J. A potential role of collagens expression in distinguishing between premalignant and malignant lesions in stomach. *Anat Rec (Hoboken)* 2009; 292: 692-700 [PMID: 19306436 DOI: 10.1002/ar.20874]
- 2 山田连哉,福富久之. 胃の隆起性病変. *胃と腸* 1966; 1: 145
- 3 刘彤华. 诊断病理学. 第2版. 北京: 人民卫生出版社,

- 2006; 52
- 4 Park do Y, Lauwers GY. Gastric polyps: classification and management. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 633-640 [PMID: 18384215]
 - 5 王化虹, 胡伏莲, 陈宝雯, 刘新光, 谢鹏雁, 张希全, 白歌. 胃息肉与幽门螺旋杆菌(附111例胃息肉临床分析). *中国内镜杂志* 1997; 3: 11-13, 76-77
 - 6 熊枝繁, 曹仕琼, 谢红英, 陆峰. 126例老年人胃息肉临床、内镜及病理分析. *临床荟萃* 2002; 17: 1436-1438
 - 7 Stolte M, Sticht T, Eidt S, Ebert D, Finkenzeller G. Frequency, location, and age and sex distribution of various types of gastric polyp. *Endoscopy* 1994; 26: 659-665 [PMID: 7859674]
 - 8 Rattan J, Arber N, Tiomny E, Moshkowitz M, Chapsky Y, Baratz M, Rozen P, Gilat T. Gastric polypoid lesions--an eight-year study. *Hepatogastroenterology* 1993; 40: 107-109 [PMID: 8509038]
 - 9 王晶桐, 马丽萍, 黄勇, 刘玉兰. 胃息肉的临床特征总结. *胃肠病学和肝病学杂志* 2005; 14: 181-183
 - 10 Abraham SC, Singh VK, Yardley JH, Wu TT. Hyperplastic polyps of the stomach: associations with histologic patterns of gastritis and gastric atrophy. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 500-507 [PMID: 11257625]
 - 11 仇达, 高善玲, 朱丽, 崔琳. Runx3在不同类型胃息肉和胃癌中的蛋白表达及幽门螺杆菌感染的相关性. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1371-1374
 - 12 Genta RM, Schuler CM, Robiou CI, Lash RH. No association between gastric fundic gland polyps and gastrointestinal neoplasia in a study of over 100,000 patients. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 849-854 [PMID: 19465154 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.05.015.]
 - 13 Murakami K, Mitomi H, Yamashita K, Tanabe S, Saigenji K, Okayasu I. p53, but not c-Ki-ras, mutation and down-regulation of p21WAF1/CIP1 and cyclin D1 are associated with malignant transformation in gastric hyperplastic polyps. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: 224-234 [PMID: 11211611]
 - 14 Yao T, Kajiwara M, Kuroiwa S, Iwashita A, Oya M, Kabashima A, Tsuneyoshi M. Malignant transformation of gastric hyperplastic polyps: alteration of phenotypes, proliferative activity, and p53 expression. *Hum Pathol* 2002; 33: 1016-1022 [PMID: 12395375]
 - 15 Declich P, Ambrosiani L, Bellone S, Tavani E, Ferrara A, Galati F, Caruso S, Baldacci MP. Fundic gland polyps: a not so innocuous entity worth a careful evaluation. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 2641 [PMID: 9860464]
 - 16 Bertoni G, Sassatelli R, Nigrisoli E, Pennazio M, Tansini P, Arrigoni A, Rossini FP, Ponz de Leon M, Bedogni G. Dysplastic changes in gastric fundic gland polyps of patients with familial adenomatous polyposis. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999; 31: 192-197 [PMID: 10379478]
 - 17 Han AR, Sung CO, Kim KM, Park CK, Min BH, Lee JH, Kim JY, Chang DK, Kim YH, Rhee PL, Rhee JC, Kim JJ. The clinicopathological features of gastric hyperplastic polyps with neoplastic transformations: a suggestion of indication for endoscopic polypectomy. *Gut Liver* 2009; 3: 271-275 [PMID: 20431760 DOI: 10.5009/gnl.2009.3.4.271]
 - 18 贺德志, 彭俏, 李建生. 内镜治疗胃息肉653例临床分析. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 345-246
 - 19 赵振涛, 岳园. 内镜下电凝电切术治疗消化道息肉52例分析. *中国误诊学杂志* 2009; 9: 171
 - 20 徐世琴, 王小明, 黄林, 邓树忠. 内镜下治疗胃息肉的疗效观察. *四川医学* 2012; 33: 1411-1413

同行评价

本文总结460例胃息肉临床资料, 分析了其病理特征, 对临床诊治具有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭随机对照试验的Meta分析

马莎莎, 吴继周, 宁秋悦, 钟大妮, 吴健林

■背景资料

乙型肝炎病毒感染引起的肝衰竭目前已成为乙型肝炎病人的主要死因之一,除了内科综合治疗措施,人工肝治疗以及肝移植等治疗手段外,新的治疗手段和药物一直是临床关注热点。

马莎莎, 吴继周, 宁秋悦, 钟大妮, 吴健林, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科 广西壮族自治区南宁市 530021
马莎莎, 硕士, 主要从事肝肝病的发病机制及诊疗方面的研究。
作者贡献分布: 此课题由吴继周与马莎莎共同设计; 研究过程、数据提取及数据分析由马莎莎、宁秋悦、钟大妮及吴健林操作完成; 论文写作由马莎莎、吴继周及宁秋悦共同完成; 由吴继周审核。

通讯作者: 吴继周, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科。
wjz925@163.com

收稿日期: 2013-06-06 修回日期: 2013-07-10

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Effect of entecavir on survival of patients with HBV-related liver failure: A Meta-analysis

Sha-Sha Ma, Ji-Zhou Wu, Qiu-Yue Ning, Da-Ni Zhong, Jian-Lin Wu

Sha-Sha Ma, Ji-Zhou Wu, Qiu-Yue Ning, Da-Ni Zhong, Jian-Lin Wu, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China

Correspondence to: Ji-Zhou Wu, Professor, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Qingxiu District, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China. wjz925@163.com

Received: 2013-06-06 Revised: 2013-07-10

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To evaluate the effect of entecavir on survival of patients with HBV-related liver failure.

METHODS: This meta-analysis collected the randomized control trails that used entecavir to treat liver failure induced by hepatitis B virus from January 2005 to April 2013. All these clinical trials were carried out by comparing entecavir treatment with routine medical treatment for liver failure. Odds ratio (OR) was used to evaluate the effect of entecavir on survival and reduction in HBV-DNA levels in patients with HBV-related liver failure.

RESULTS: A total of 18 studies were included.

OR for the survival rate was 2.17 (95% CI: 1.63-2.89) and OR for reduction in HBV-DNA levels was 20.32 (95%CI: 8.09-51.04).

CONCLUSION: Routine medical treatment in combination with entecavir is more effective than routine medical treatment alone in improving survival and inhibiting HBV replication in patients with HBV-associated liver failure.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Entecavir; HBV-related liver failure; Randomized control trial; Meta-analysis

Ma SS, Wu JZ, Ning QY, Zhong DN, Wu JL. Effect of entecavir on survival of patients with HBV-related liver failure: A Meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2594-2600 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2594.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2594>

摘要

目的: 系统评价恩替卡韦治疗乙型肝炎病毒相关性肝衰竭的疗效。

方法: 检索2005-01/2013-04有关在常规内科治疗基础上使用恩替卡韦后对患者生存率及DNA转阴率影响的随机对照试验,应用Meta分析的方法以比值比(odds ratio, OR)为效应量进行合并分析。

结果: 共纳入18篇RCT,生存率的合并效应量OR值及95%CI: 2.17(95%CI: 1.63-2.89),HBV-DNA转阴率的OR值的合并效应量及95%CI: 20.32(95%CI: 8.09-51.04)。

结论: 与内科常规治疗比较,加用恩替卡韦可显著抑制HBV的复制,明显提高生存率。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 恩替卡韦; HBV相关性肝衰竭; 随机对照试验; Meta分析

■同行评议者

白浪, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心

核心提示: 恩替卡韦可以高效迅速抑制乙型肝炎病毒复制, 血清及肝组织中的病毒负荷降低, 肝细胞表面靶抗原的表达减轻, 使再生肝细胞免受病毒感染, 减轻肝内炎症活动和坏死程度, 减少死亡率。

马莎莎, 吴继周, 宁秋悦, 钟大妮, 吴健林. 恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭随机对照试验的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2594-2600 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2594.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2594>

0 引言

肝衰竭是以肝性脑病、肝肾综合征、凝血功能障碍和黄疸等为主要临床表现的一组临床症候群^[1], 病死率高. 其病理生理改变在于肝炎病毒、药物、乙醇等多种因素导致严重的肝脏功能损害, 合成、解毒、排泄和生物转化等功能发生严重障碍或失代偿. 我国是乙型肝炎病毒感染高发国家之一, 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染引起的肝衰竭目前已成为乙型肝炎患者的主要死因之一. 目前, 肝移植仍被认为是治疗肝衰竭的首选治疗方案, 但是肝源的缺乏以及高昂的治疗费用使得其在临床上的应用受到了极大地限制. 近几年来, 人工肝技术成为肝衰竭患者的重要支持疗法, 但同样受到费用及血源的限制. 恩替卡韦(entecavir, ETV)作为一种强有效而低耐药率的抗病毒药物已被广泛应用于乙型肝炎相关性肝衰竭的治疗中, 虽然相关的临床研究报道较多, 但结论不尽一致, 而且在目前相关的肝衰竭治疗指南中仅作为专家的推荐意见(证据级别仅为III级), 可见, 从循证医学的角度对ETV治疗HBV相关性肝衰竭的临床试验进行系统评价是有必要的. 本研究致力于对ETV是否能提高乙型肝炎相关性肝衰竭患者的生存率及降低HBV-DNA水平的效果进行Meta分析, 以期发现较新的科学、客观的循证医学证据, 用于指导HBV相关性肝衰竭临床治疗.

1 材料和方法

1.1 材料 以“liver failure”、“hepatic failure”、“entecavir”、“Baraclude”、“severe hepatitis B”为主题词, 检索语种为英语, 对在2005-01/2013-04公开发表在Medline, Pubmed, Embase, the Cochrane Center Register of Controlled Trials等数据库的文献进行检索; 对2005-01/2013-04公开发表在重庆维普数据库

(VIP)、中文科技数据库、CNKI全文数据库、万方数据库等的文献, 以“恩替卡韦”、“博路定”、“肝衰竭”、“乙型重型肝炎”、“慢加急性肝衰竭”等为主题词, 以汉语为检索语种进行检索, 同时以文献追述和手工检索的方法为辅助, 纳入相关的参考文献.

1.2 方法

1.2.1 入选标准: (1)研究设计: 随机对照试验(randomized control trial, RCT); (2)研究对象: 符合我国2000年《病毒性肝炎防治方案》或2006年《肝衰竭诊疗指南》诊断标准; 均有急性乙型肝炎、慢性乙型肝炎或乙型肝炎后肝硬化的疾病史; HBV-DNA阳性($>10^3$ copy/mL); (3)纳入研究前发现乙型肝炎表面抗原超过6 mo, 入选前未使用任何抗病毒药物, 或之前使用过, 但已停用至少6 mo以上者; (4)干预措施: 试验组在内科常规综合治疗的基础上加用ETV, 对照组除单纯内科常规综合治疗外不加用任何抗病毒药物, 在年龄、性别、病情等方面的差异无统计学意义; (5)选择最详细、最近发表的重复报道的文献进行分析.

1.2.2 剔除标准: (1)合并其他病毒的感染, 包括甲、丙、丁、戊型肝炎病毒或EB病毒、巨细胞病毒; 或合并其他容易引起肝衰竭的疾病, 如自身免疫性肝炎、药物性肝炎、酒精性肝炎等; (2)合并有严重免疫系统疾病、血液系统疾病、或恶性肿瘤、明显精神病史; (3)存在样本资料交待不清楚、诊断及疗效判定标准不统一等问题; (4)在治疗或随访期间辅助人工肝或糖皮质激素治疗者; (5)在分析时无法转化或应用提供的数据的文献.

1.2.3 质量控制: 2名研究者接受统一培训后对文献进行检索, 并对检索结果防止文献遗漏. 对第一作者、标题、刊物名称、发表时间、患者年龄、性别、治疗方式、治疗时间、结局指标等资料进行提取归纳. 对纳入文献采用Jadad评分标准进行质量评分^[2], 低质量文献 ≤ 2 分, 高质量文献 ≥ 3 分.

统计学处理 采用Cochrane协作网提供的Revman5.0软件包. 比值比(odds ratio, OR)及95%CI作为系统评价的指标. 异质性检验采用 χ^2 检验进行, 根据异质性检验结果评估是否合并效应量及使用哪种模型进行估计; 存在同质性则应用固定效应模型(Mantel-Haenszel), 存在异质性时则用随机效应模型(Dersimonian-Laird). 根据森林图判定结果: OR = 1提示ETV治疗对生

■ 研究前沿

通过Meta分析评估恩替卡韦是否能提高乙型肝炎相关性肝衰竭患者的生存率及降低HBV-DNA水平的效果.

■ 相关报道

抗乙型肝炎病毒药物如拉米夫定、恩替卡韦可以改善乙型肝炎病毒感染相关性肝衰竭患者的生存率。

表 1 纳入文献的特征

文献来源	样本含量		ETV剂量 (mg/d)	疗程	治疗结束时存活例数		Jadad评分
	ETV组	常规组			ETV组	常规组	
郭玉香 ^[3]	37	45	0.5	8 wk	32	30	2
杨海敏等 ^[4]	55	55	0.5	30 d	40	26	3
韩志启等 ^[5]	20	16	0.5	4 wk	20	16	2
赵蕊 ^[6]	40	40	0.5	48 wk	38	27	2
钟旬华等 ^[7]	30	30	0.5	1年	21	13	2
Chen等 ^[8]	55	74	0.5	3 mo	36	55	2
Cui等 ^[9]	33	37	0.5	3 mo	16	15	2
赵红等 ^[10]	63	58	0.5	12 wk	46	39	2
Chen等 ^[11]	42	34	0.5	3 mo	26	12	2
王朝辉 ^[12]	22	20	0.5	12 wk	12	4	2
李芳等 ^[13]	16	14	0.5	6 wk	12	6	2
朱爱红等 ^[14]	23	23	0.5	12 wk	22	21	2
袁锦林等 ^[15]	71	50	0.5	30 d	71	50	2
廖炯 ^[16]	25	25	0.5	12 wk	25	25	2
徐春华 ^[17]	27	25	0.5	6 wk	27	25	2
杨澍等 ^[18]	32	32	0.5	8 wk	32	32	2
林峰等 ^[19]	20	17	0.5	8 wk	20	17	2
郭翔 ^[20]	40	38	0.5	12 wk	22	12	2

ETV组: 在综合治疗基础上加用恩替卡韦。

存率及HBV-DNA降低水平无影响; 当OR<1时提示ETV治疗对生存率及HBV-DNA转阴率无益; 当OR>1时表明ETV治疗有利于提高生存率及降低DNA水平。发表偏倚的评估采用漏斗图, 并对结果进行敏感性分析。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 入选文献的基本情况 根据入选标准及剔除标准进行筛选, 共检索到120篇与ETV治疗乙型肝炎病毒相关性肝衰竭相关的文献。入选文献均以ETV和常规治疗进行分组, 其中有两篇文献分组中包括拉米夫定治疗组, 疗程均在4 wk以上。最终纳入Meta分析的RCT文献共18篇。其中, 英文文献3篇, 中文文献15篇, 所有的RCT均在大陆地区进行, 如表1所示。

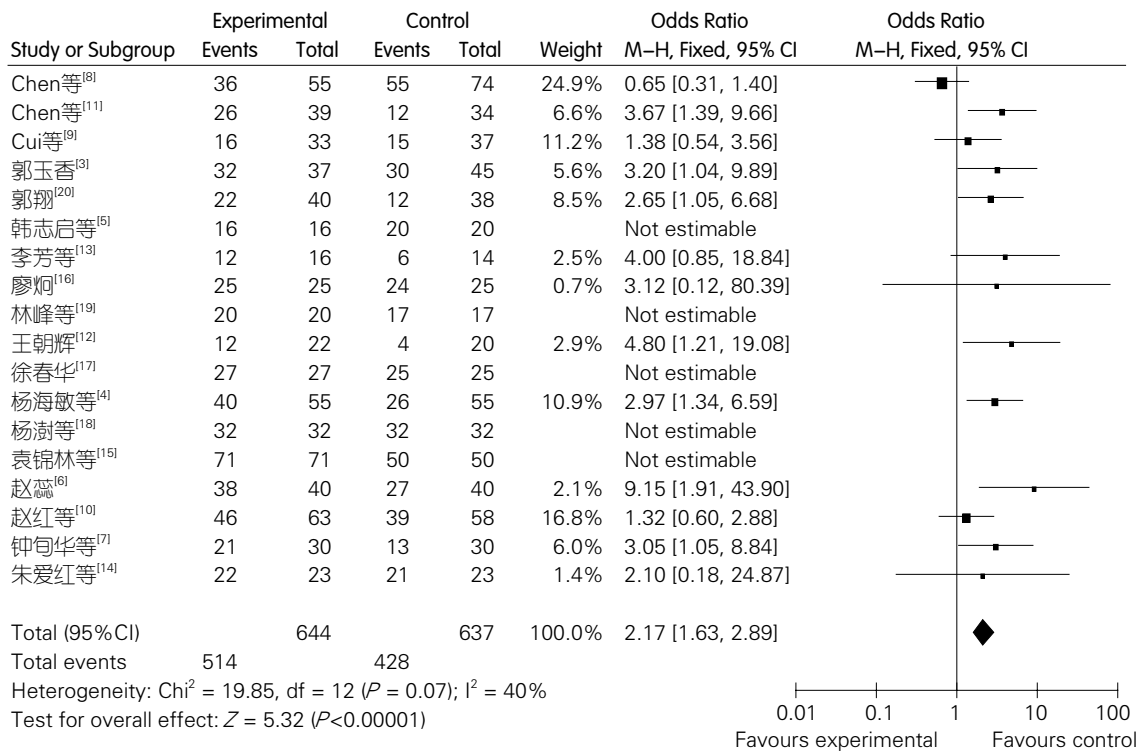
2.2 ETV对HBV相关性肝衰竭患者生存率的影响 共有18篇文献入选, 其中ETV组共纳入644例, 常规治疗组共纳入637例, χ^2 检验提示存在同质性($\chi^2 = 19.85, I^2 = 40%, P = 0.07$), 效应量的合并采用固定效应模型进行, OR值及95%CI为2.17(95%CI: 1.63-2.89), 提示ETV治疗组的生存率是常规治疗组生存率的2.17倍, 存在统计学差异($Z = 5.32, P < 0.00001$, 图1)。

2.3 ETV对HBV相关性肝衰竭患者治疗1 mo(4

wk)的生存率的影响 共有9篇文献涉及ETV治疗1 mo(4 wk)后的生存例数, 其中ETV组共纳入411例, 常规治疗组共纳入413例, 经异质性检验后提示存在同质性($\chi^2 = 2.75, I^2 = 0%, P = 0.06$), 合并效应后OR值及95%CI为2.89(95%CI: 1.81-4.62), 表明ETV治疗组的1 mo生存率相较于常规治疗组升高, 具有统计学意义($Z = 4.46, P < 0.00001$, 图2)。

2.4 ETV对HBV相关性肝衰竭患者治疗2 mo(8 wk)的生存率的影响 共有7篇文献涉及ETV治疗2 mo(8 wk)后的生存例数, 其中ETV组共纳入286例, 常规治疗组共纳入300例, 异质性检验结果认为存在同质性($\chi^2 = 5.68, I^2 = 47%, P = 0.13$), OR值的合并效应量及95%CI为1.69(95%CI: 1.04-2.73), 表明ETV治疗组的2 mo生存率亦高于常规治疗组, 差异具有统计学意义($Z = 2.13, P = 0.03$, 图3)。

2.5 ETV对HBV相关性肝衰竭患者治疗3 mo(12 wk)的生存率的影响 共有9篇文献涉及ETV治疗3 mo(12 wk)后的生存例数, 其中ETV组共纳入340例, 常规治疗组共纳入349例, χ^2 检验表明存在同质性($\chi^2 = 12.20, I^2 = 43%, P = 0.09$), OR值及95%CI为1.64(95%CI: 1.15-2.34), 表明ETV治疗组的3 mo生存率亦明显高于常规治疗组的生存率, 存在统计学差异($Z = 2.72, P = 0.006$, 图4)。



■ 创新盘点
通过文献检索纳入18篇文献进行Meta分析, 结果表明恩替卡韦的治疗可以改善HBV相关性肝衰竭患者的生存率。

图 1 恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭的总体生存率分析。

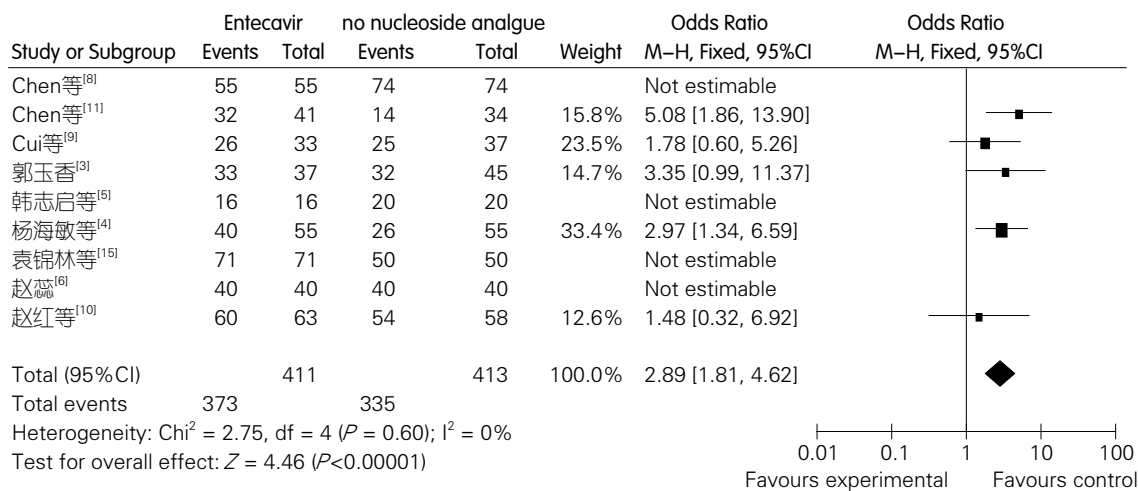


图 2 恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭1 mo(4 wk)的生存率分析。

2.6 ETV对HBV相关性肝衰竭患者HBV-DNA水平的影响 共10篇文献提供了治疗结束时各组HBV-DNA转阴的例数(HBV-DNA $<10^3$ copy/mL), 其中ETV组共纳入288例, 常规治疗组共纳入240例, 文献的异质性检验结果认为各研究之间存在异质性($\chi^2 = 25.18$, $I^2 = 64\%$, $P = 0.003$), 因此采用随机效应模型, OR值的合并效应量及95%CI为20.32(95%CI: 8.09-51.04), 表明ETV治疗组中患者HBV-DNA转阴率显著高于常规治疗组, 差异具有统计学意义($Z = 6.41$, $P < 0.00001$,

图5)。

2.7 文献发表偏倚及敏感性分析 漏斗图分析纳入的研究分布不对称, 提示可能存在较大偏倚(图6)。分别采用固定效应模型和随机效应模型对研究结果进行敏感性分析进一步考察Meta分析的可靠性, 前后两次结论基本一致。

3 讨论

肝衰竭是一组临床症候群, 以凝血机制障碍和黄疸、肝性脑病、肝肾综合征等为主要临床表

■应用要点

对于指导临床治疗, 增强临床应用恩替卡韦抗病毒信心具有重要的指导意义。

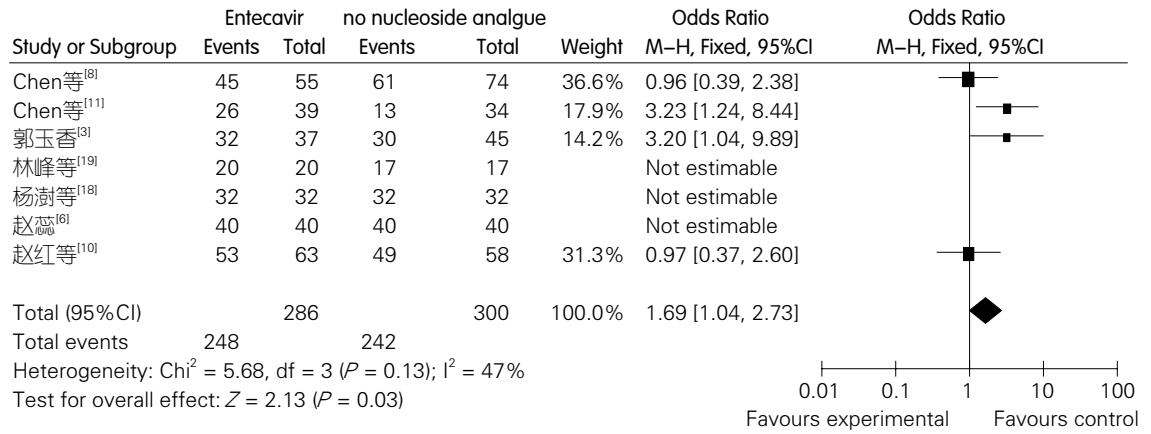


图 3 恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭2 mo(8 wk)的生存率分析.

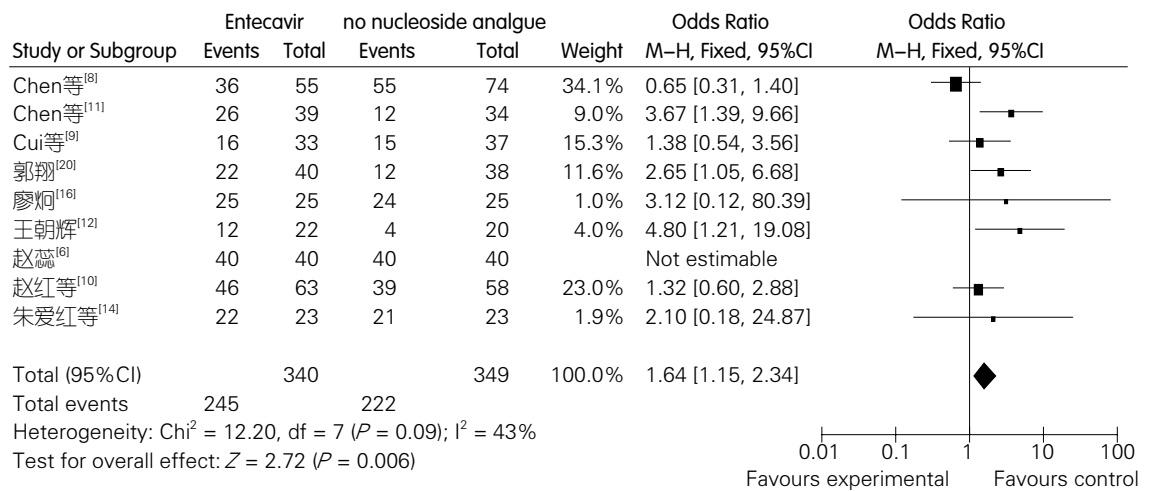


图 4 恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭3 mo(12 wk)的生存率分析.

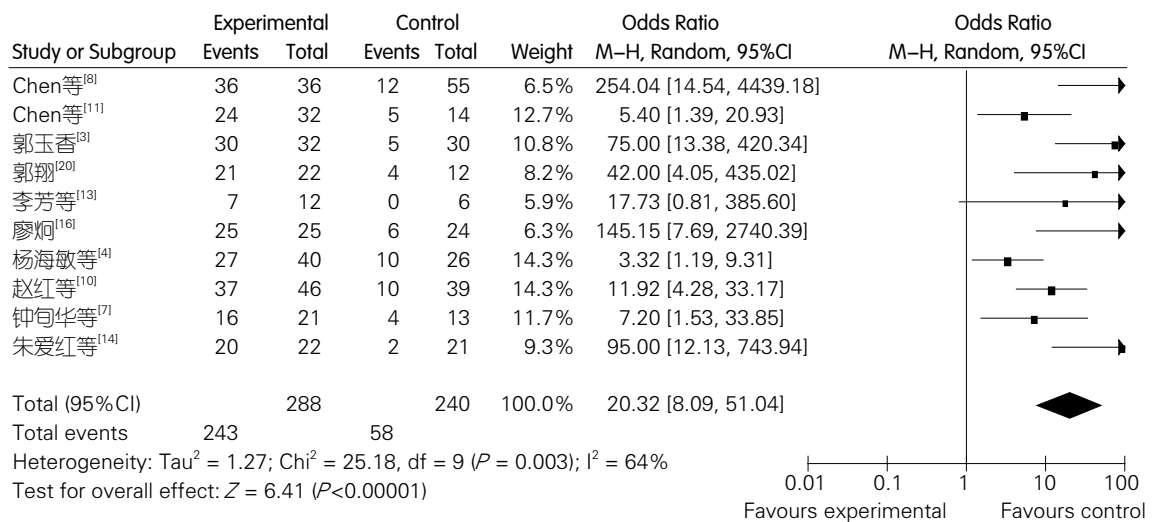


图 5 恩替卡韦治疗对HBV相关性肝衰竭患者HBV-DNA水平的影响.

现. 其病因主要为各种肝炎病毒感染(A、B、C、D)、自身免疫性肝病、酒精性肝病、药物性肝病、Wilson病等, 可以分为急性、亚急性、慢加急性(亚急性)及慢性肝衰竭四型, 其中以慢

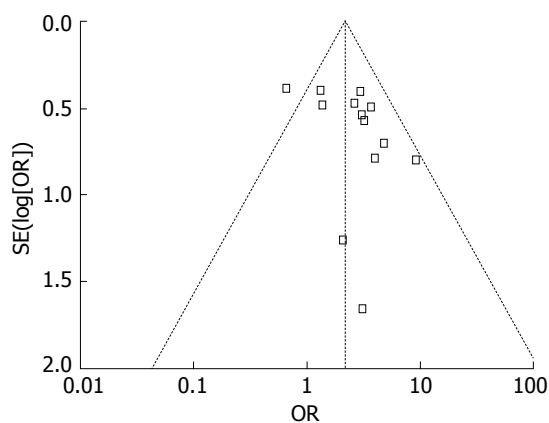


图6 恩替卡韦治疗对患者生存率影响的Meta分析漏斗图。

加急性(亚急性)肝衰竭多见。相较于欧美国家肝衰竭多因药物(乙酰氨基酚类)及酒精所致,乙型肝炎病毒感染是我国肝衰竭主要因素,但HBV相关性肝衰竭的定义目前尚不一致^[21]。发病机制也很复杂,现认为其发生机制以HBV感染引起的肝细胞免疫病理损伤及T淋巴细胞毒性反应为主^[22],HBV的高复制及其蛋白抗原在肝细胞表面的表达,诱发以细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)和迟发型变态反应性T细胞(T delayed type hypersensitivity cell, TD)为主要效应细胞的细胞免疫反应,导致大片肝细胞坏死,是其致病的主要途径之一^[23]。HBV的感染是肝功能损害的始动因素,肝衰竭(重型肝炎)是肝细胞在肝炎基础上再次受病毒特异的免疫攻击后机内毒素血症直接或间接损害肝细胞所致^[24,25]。抗乙型肝炎病毒治疗能使HBV的复制迅速得到抑制,血清及肝细胞中的病毒负荷降低,减轻肝细胞表面靶抗原的表达,降低细胞毒性T淋巴细胞对感染乙型肝炎病毒的肝细胞的攻击,避免了反复多次的免疫损伤,使再生肝细胞免受病毒再感染,从而减轻肝内炎症活动和坏死程度,成为乙型肝炎病毒相关性肝衰竭治疗的关键^[26]。

乙型肝炎病毒相关性肝衰竭的临床治疗现以综合内科治疗为主,肝移植虽仍被认为是治疗肝衰竭的首选治疗方案,但是肝源的缺乏以及高昂的治疗费用使得其在临床上的应用受到了极大地限制。近几年来,人工肝技术成为肝衰竭患者的重要支持疗法,但同样受到费用及血源的限制。这些都促使临床专家去寻求一种新的途径来控制肝衰竭的进展。抗乙型肝炎病毒药物可以使机体病毒载量降低,过强的免疫反应得到缓解,使其成为治疗乙型重型肝炎的一

种方法。

ETV是一种有效的、选择性抑制乙型肝炎病毒复制的脱氧鸟嘌呤核苷类似物,可抑制病毒DNA多聚酶的活性,作用于病毒逆转录的3个环节:多聚酶的启动、前基因组逆转录负链的形成、HBV-DNA正链的合成^[27],掺入到HBV-DNA链上,从而终止DNA链的延伸和病毒的复制。体内外试验^[28,29]均已证明ETV的抗病毒能力强、耐药发生率低,并且能够减轻慢性乙型肝炎及代偿期肝硬化患者的肝纤维化程度,改善预后^[30],因此更适合作为重型乙型肝炎或肝硬化患者的优先选择。目前已有众多文献报道了ETV对HBV相关性肝衰竭的治疗,但对于其能否改善生存率,结论不一。因此,本研究选择ETV治疗HBV相关性肝衰竭的随机对照试验进行Meta分析,以期明确ETV对改善乙型肝炎相关性肝衰竭生存率的影响,为肝衰竭的治疗提供依据。

Meta分析的结果表明,在常规内科治疗基础上加用ETV治疗HBV相关性肝衰竭后的患者生存率明显高于常规内科治疗组,差异具有统计学意义($P < 0.0001$),其合并效应量OR值及95%CI为2.17(95%CI: 1.63-2.89),表明ETV的治疗可以改善HBV相关性肝衰竭患者的生存率。同时,本Meta分析具体分析了ETV治疗对1 mo(4 wk)、2 mo(8 wk)及3 mo(12 wk)生存率的影响,发现ETV治疗组的生存率均明显高于常规治疗组,均具有统计学差异,其OR值分别为2.89、1.69及1.64。此外,针对于HBV-DNA转阴率的分析发现,ETV组HBV-DNA转阴率明显高于常规治疗组,OR值的合并效应量及95%CI为20.32(95%CI: 8.09-51.04),表明ETV治疗组患者的HBV-DNA转阴率显著高于常规治疗组,存在统计学差异($Z = 6.41, P < 0.00001$)。综上可以得出结论,ETV抗病毒治疗能显著提高患者生存率的原因可能在于ETV可以高效迅速抑制HBV复制,血清及肝组织中的病毒负荷降低,肝细胞表面靶抗原的表达减轻,使再生肝细胞免受病毒感染,减轻肝内炎症活动和坏死程度,减少死亡率。因此,ETV应该能够成为除肝移植、人工肝血浆置换术外治疗HBV相关性肝衰竭的主要手段,并应该推荐在疾病的早期尽早使用,降低病毒载量,减轻免疫反应,挽救患者的生命,并为肝移植的进行争取时间。由于Meta分析的客观性和准确性主要依赖于全面而高质量的原始文献的支持,该Meta分析虽将RCT应用在研究中,但由于具体盲法的实施、分配方案隐藏、随机方

■同行评价

本文表明恩替卡韦的治疗可以改善HBV相关性肝衰竭患者的生存率,对指导临床治疗具有重要意义。

法及失访情况等描述的不全面使得Jadad评分普遍不高,此外,本次Meta分析可能存在发表偏倚,其可能的原因为样本量小的研究方法学质量低下以及阴性结果不易发表导致数据偏差.因此,上述结论尚需纳入更多高质量的前瞻性、大样本、多中心的随机对照试验进一步验证.

4 参考文献

- 1 李兰娟. 肝衰竭诊疗指南. 中华内科杂志 2006; 45: 1053-1056
- 2 Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, McQuay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996; 17: 1-12 [PMID: 8721797]
- 3 郭玉香. 恩替卡韦治疗慢性重型乙型肝炎临床观察. 中国慢性病预防与控制 2008; 16: 289-290
- 4 杨海敏, 王燕, 姜娜. 博路定治疗慢性乙型肝炎55例. 实用医技杂志 2008; 15: 1100-1101
- 5 韩志启, 秦波, 张海. 恩替卡韦治疗慢性重型乙型肝炎疗效观察. 临床肝胆病杂志 2009; 25: 188-189
- 6 赵蕊. 慢性重型乙型肝炎患者恩替卡韦治疗效果分析. 中国公共卫生 2009; 25: 758-759
- 7 钟旬华, 袁静, 杨艳, 李炜, 陈晓英. 恩替卡韦治疗乙型肝炎肝衰竭患者临床研究. 临床肝胆病杂志 2009; 25: 331-333
- 8 Chen J, Han JH, Liu C, Yu RH, Li FZ, Li QF, Gong GZ. Short-term entecavir therapy of chronic severe hepatitis B. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 261-266 [PMID: 19502165]
- 9 Cui YL, Yan F, Wang YB, Song XQ, Liu L, Lei XZ, Zheng MH, Tang H, Feng P. Nucleoside analogue can improve the long-term prognosis of patients with hepatitis B virus infection-associated acute on chronic liver failure. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 2373-2380 [PMID: 20512414 DOI: 10.1007/s10620-010-1257-7]
- 10 赵红, 王桂爽, 谢雯, 闫杰, 王艳斌, 程丹颖, 欧蔚妮, 冯亮, 成军. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎肝衰竭的疗效观察. 中华实验和临床感染病杂志(电子版) 2011; 5: 188-194
- 11 Chen T, He Y, Liu X, Yan Z, Wang K, Liu H, Zhang S, Zhao Y. Nucleoside analogues improve the short-term and long-term prognosis of patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure. *Clin Exp Med* 2012; 12: 159-164 [PMID: 22002708 DOI: 10.1007/s10238-011-0160-7]
- 12 王朝辉. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎近期疗效观察. 中国医药指南 2011; 9: 283-285
- 13 李芳, 李幼林. 恩替卡韦治疗慢性重型乙型肝炎临床观察. 宁夏医科大学学报 2009; 31: 796-797.
- 14 朱爱红, 丁苇. 恩替卡韦治疗慢加急性肝衰竭的临床观察. 齐齐哈尔医学院学报 2009; 30: 1690-1691
- 15 袁锦林, 宋晓敏, 史建国, 张雪明. 恩替卡韦治疗慢性重型乙型肝炎71例疗效观察. 苏州大学学报(自然科学版) 2009; 29: 1205-1206
- 16 廖炯. 恩替卡韦治疗慢性重型乙型肝炎早期患者的疗效分析. 中国医药导报 2012; 9: 101-102
- 17 徐春华. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎重症的临床研究. 现代预防医学 2010; 37: 1770-1771
- 18 杨澍, 王洪, 徐强胜, 王雪刚, 曹丽红, 洪婉媚. 恩替卡韦对慢性乙型肝炎抢救作用. 中外医疗 2011; 30: 1-2, 4
- 19 林锋, 吴涛, 符健, 吴彪, 邱平, 许小珍, 蔡笃运, 贾杰. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎重症临床观察. 中国热带医学 2009; 9: 646-662
- 20 郭翔. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎近期疗效观察. 临床肝胆病杂志 2008; 24: 446-447
- 21 Canbay A, Tacke F, Hadem J, Trautwein C, Gerken G, Manns MP. Acute liver failure: a life-threatening disease. *Dtsch Arztebl Int* 2011; 108: 714-720 [PMID: 22114640 DOI: 10.3238/arztebl.2011.0714.Epub]
- 22 段钟平, 陈煜. 重型肝炎及肝衰竭研究的进展与展望. 中华肝脏病杂志 2009; 17: 10-11
- 23 王宇明, 汤影子. 重型乙型肝炎发病机制研究进展. 传染病信息 2008; 21: 68-71
- 24 Leifeld L, Cheng S, Ramakers J, Dumoulin FL, Trautwein C, Sauerbruch T, Spengler U. Imbalanced intrahepatic expression of interleukin 12, interferon gamma, and interleukin 10 in fulminant hepatitis B. *Hepatology* 2002; 36: 1001-1008 [PMID: 12297850]
- 25 Liu Q. Role of cytokines in the pathophysiology of acute-on-chronic liver failure. *Blood Purif* 2009; 28: 331-341 [PMID: 19729901 DOI: 10.1159/000232940. Epub]
- 26 Villeneuve JP, Condreay LD, Willems B, Pomier-Layrargues G, Fenyves D, Bilodeau M, Leduc R, Peltekian K, Wong F, Margulies M, Heathcote EJ. Lamivudine treatment for decompensated cirrhosis resulting from chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000; 31: 207-210 [PMID: 10613747]
- 27 Seifer M, Hamatake RK, Colonna RJ, Standing DN. In vitro inhibition of hepadnavirus polymerases by the triphosphates of BMS-200475 and lobucavir. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 3200-3208 [PMID: 9835515]
- 28 邓中平. 恩替卡韦治疗乙型肝炎的疗效及安全性. 中国新药与临床杂志 2005; 24: 326-329
- 29 罗生强, 张玲霞. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎的最新进展. 中国新药杂志 2006; 15: 1023-1028
- 30 Schiff E, Simsek H, Lee WM, Chao YC, Sette H, Janssen HL, Han SH, Goodman Z, Yang J, Brett-Smith H, Tamez R. Efficacy and safety of entecavir in patients with chronic hepatitis B and advanced hepatic fibrosis or cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2776-2783 [PMID: 18721244 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.02086.x.Epub]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



血清CEA、CA199、CA125、CA242联合检测在大肠癌诊断中的意义

珠珠, 黄鉴, 李文亮, 洪敏, 殷亮, 杨军, 陈明清, 董坚

珠珠, 黄鉴, 李文亮, 殷亮, 杨军, 陈明清, 昆明医科大学附属第一医院肿瘤科 云南省昆明市 650032
洪敏, 董坚, 昆明医科大学附属第一医院肿瘤内科 云南省昆明市 650032
珠珠, 在读博士, 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. 81160245
作者贡献分布: 珠珠、董坚及陈明清对此文所做贡献均等; 此课题设计由董坚、珠珠及黄鉴设计; 数据采集由珠珠、黄鉴、李文亮、洪敏、殷亮及杨军完成; 数据统计由珠珠与黄鉴完成; 本论文写作由珠珠、董坚及黄鉴完成。
通讯作者: 董坚, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学附属第一医院肿瘤内科。
dongjian18@yahoo.com
电话: 0871-65361621 传真: 0871-65361621
收稿日期: 2013-06-17 修回日期: 2013-07-15
接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Significance of combined detection of tumor markers CA199, CA242, CEA and CA125 in the diagnosis of colorectal carcinoma

Zhu Zhu, Jian Huang, Wen-Liang Li, Min Hong, Liang Yin, Jun Yang, Ming-Qing Chen, Jian Dong

Zhu Zhu, Jian Huang, Wen-Liang Li, Liang Yin, Jun Yang, Ming-Qing Chen, Cancer Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Min Hong, Jian Dong, Department of Internal Medicine-Oncology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81160245
Correspondence to: Jian Dong, Professor, Chief Physician, Department of Internal Medicine-Oncology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. dongjian18@yahoo.com
Received: 2013-06-17 Revised: 2013-07-15
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To assess the diagnostic value of combined detection of tumor markers CA199, CA242, CEA and CA125 in colorectal carcinoma.

METHODS: Serum levels of CEA, CA199, CA125 and CA242 were determined in 1628 patients with colorectal cancer, 898 patients with colon

polyps, and 750 healthy persons.

RESULTS: Serum levels of CEA, CA199, CA125 and CA242 were significantly higher in patients with colorectal cancer than in patients with colon polyps and healthy controls. The sensitivity and specificity of combined detection of the four indicators for the diagnosis of colorectal cancer were significantly higher than those of detection of any single indicator. Patients with stage C and D colorectal cancer had significantly higher serum levels of tumor markers than patients with stage A and B disease ($P < 0.05$). The level of serum tumor markers had no significant association with tumor pathological type ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Combined detection of CEA, CA199, CA125 and CA242 can help improve the accuracy of diagnosis of colorectal cancer. Higher serum levels of CEA, CA199, CA125 and CA242 are associated with more advanced stage of colorectal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Colorectal carcinoma; Tumor markers; Combined detection

Zhu Z, Huang J, Li WL, Hong M, Yin L, Yang J, Chen MQ, Dong J. Significance of combined detection of tumor markers CA199, CA242, CEA and CA125 in the diagnosis of colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2601-2605 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2601.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2601>

摘要

目的: 探讨血清癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)、CA199、CA125、CA242联合检测在大肠癌诊断中的临床应用价值。

方法: 分别检测1628例大肠癌患者、898例大肠息肉患者和750例健康者血清中CEA、CA199、CA125、CA242水平, 并对结果进行分析。

背景资料

大肠癌是最常见的恶性肿瘤之一, 早期诊断、早期治疗是提高大肠癌患者生存率的关键。在患者外周血中寻找分子标志物成为目前研究的热点, 临床上常将几种肿瘤标志物联合起来进行检测, 来提高大肠癌诊断的敏感性和特异性。

同行评议者
李革, 副教授, 延边大学附属医院

■ 研究前沿

在我国大肠癌发病率逐年上升, 由于其早期一般无明显症状, 多数患者确诊时已是中晚期, 常已发生转移, 因此患者常失去最佳治疗时机。血清肿瘤标志物检测是一种无创而且有效的诊断方法, 但是, 单项检测在大肠癌诊断方面缺乏足够的敏感性和特异性。

结果: 大肠癌组血清CEA、CA199、CA125、CA242水平显著高于大肠息肉组和健康对照组, 4项指标联合筛查灵敏度和特异度高于单用任何一项指标, 分别为95.8%和98.2%; C期、D期大肠癌患者各血清肿瘤标志物水平显著高于A期和B期患者, 差异有统计学意义($P<0.05$); 不同病理类型中, 各血清肿瘤标志物水平没有显著差异, 无统计学意义($P>0.05$)。

结论: 联合CEA、CA199、CA125、CA242检测大肠癌, 可弥补单项检测的不足, 提高临床诊断的准确性, CEA、CA199、CA125、CA242阳性表达水平高低大肠癌的分期有关, 阳性表达水平越高提示分期越晚, 患者的预后可能越差。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 大肠癌; 肿瘤标志物; 联合检测

核心提示: 联合血清癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)、CA199、CA125、CA242检测大肠癌, 可弥补单项检测的不足, 提高临床诊断的准确性, CEA、CA199、CA125、CA242阳性表达水平高低大肠癌的分期有关, 阳性表达水平越高提示分期越晚, 患者的预后有可能越差。

珠珠, 黄鉴, 李文亮, 洪敏, 殷亮, 杨军, 陈明清, 董坚. 血清CEA、CA199、CA125、CA242联合检测在大肠癌诊断中的意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2601-2605 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2601.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2601>

0 引言

大肠癌包括结肠癌和直肠癌, 是最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率位居第3位。早发现、早诊断、早治疗是提高大肠癌患者生存率的关键。血清肿瘤标志物与肿瘤的发生、发展密切相关, 通过检测血清、血浆或其他体液中肿瘤标志物的存在或量变可以提示肿瘤的性质并对其进行诊断和分类, 有效评估患者的预后或监测患者的治疗反应, 对提高临床肿瘤诊疗水平具有重要的意义。在临床诊断中, 使用肿瘤标志物的关键是合理应用及正确评价, 所以寻找能够用于早期诊断、治疗观察、预后判断且具有高灵敏度和特异度的肿瘤标志物, 成为关注的重点。目前临床最常用的大肠癌肿瘤标志物为癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)、CA199、CA125、CA724等, 但单项检测在大肠癌诊断方面缺乏足够的敏感性和特异性, 大多数报道

认为, 联合使用肿瘤标志物可以提高诊断灵敏性和特异性^[1,2]。因此, 本文联合CEA、CA199、CA125、CA242检测, 探讨其在大肠癌诊断中的应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料 收集昆明医科大学第一附属医院2001-01/2012-12收治的有完整记录、术后组织学确诊的1628例大肠癌患者, 病理分期采用Dukes分期, 分为A期、B期、C期、D期。同时收集同期在我院外科治疗并经病理组织学确诊为大肠息肉的患者898例。健康对照组为在我院体检的正常人群750例, 并经大肠镜检查排除大肠疾病。

1.2 方法 采患者空腹静脉血3 mL, 分离血清, 立即行CEA、CA199、CA125和CA242的测定。其阳性判定标准: CEA>5 ng/mL, CA199>35 U/mL, CA125>35 U/mL, CA242>15 U/mL。

统计学处理 收集资料, 整理得到数据库, 数据处理采用SPSS17.0软件进行统计分析, 资料正态分布, 采用mean±SD描述资料集中趋势, 组间样本均数比较采用两个独立样本t检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组中4种肿瘤标志物的水平比较 大肠癌患者血清中肿瘤标志物CEA、CA199、CA125和CA242的水平明显高于大肠息肉组和健康人群。两组间比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)(表1)。

2.2 CEA、CA199、CA125、CA242单项和联合检测 以4项指标的正常上限值作为临界, 小于临界值为阴性, 大于或等于临界值为阳性, 计算敏感性、特异性(敏感性 = 恶性肿瘤组测定指标的阳性例数/该恶性肿瘤组的例数, 特异性 = 良性疾病组测定指标的阳性例数/该良性疾病组的例数)结果如表2。综合单一肿瘤标志物可以发现CA242的灵敏度和特异度最高, CEA次之。综合分析各种联合检测结果, 发现CEA+CA199+CA125+CA242组合的敏感性和特异性为检测的最佳指标。联合检测可以提高大肠癌诊断的敏感性和特异性。

2.3 大肠癌不同Dukes分期血清CEA、CA199、CA125和CA242检测水平比较 C期、D期大肠癌患者各血清肿瘤标志物水平显著高于A期和B期患者, 差异有统计学意义($P<0.05$)(表3)。

2.4 大肠癌不同病理类型血清CEA、CA199、

表 1 3组疾病中各血清肿瘤标志物水平 (n, mean ± SD)

分组	n	CEA(ng/mL)	CA199(U/mL)	CA125(U/mL)	CA242(U/mL)
大肠癌组	1628	12.35 ± 7.89 ^{bd}	55.74 ± 23.63 ^{bd}	48.48 ± 19.25 ^{bd}	61.37 ± 33.61 ^{bd}
大肠息肉组	898	3.19 ± 1.54 ^a	23.37 ± 10.42 ^b	18.73 ± 8.51 ^b	10.64 ± 8.25 ^a
健康对照组	750	1.67 ± 0.97	13.51 ± 6.36	8.92 ± 3.78	8.43 ± 7.11

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 健康对照组; ^dP<0.01 vs 大肠息肉组. CEA: 血清癌胚抗原.

表 2 各肿瘤标志物单项和联合检测结果 (%)

标志物	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
CEA	63.4	62.9	36.6	37.4
CA199	57.2	71.3	42.8	28.7
CA125	41.5	55.7	58.5	44.3
CA242	72.6	73.1	27.4	26.9
CEA+CA199	81.7	88.3	19.3	11.7
CEA+CA199+CA125	92.5	96.8	7.5	3.2
CEA+CA199+CA125+CA242	95.8	98.2	4.2	1.8

表 3 大肠癌不同Dukes分期各血清肿瘤标志物水平 (n, mean ± SD)

分期	n	CEA(ng/mL)	CA199(U/mL)	CA125(U/mL)	CA242(U/mL)
A期	236	9.27 ± 8.55	32.52 ± 12.76	27.33 ± 13.04	43.58 ± 27.91
B期	372	11.31 ± 8.75 ^a	44.23 ± 20.50 ^b	30.47 ± 19.33 ^a	44.11 ± 23.76 ^b
C期	498	12.56 ± 9.11 ^{bc}	48.27 ± 15.48 ^{bc}	42.51 ± 16.66 ^{bd}	55.43 ± 28.42 ^{bd}
D期	522	13.92 ± 8.78 ^{bce}	62.42 ± 19.22 ^{bdf}	45.83 ± 17.81 ^{bde}	66.83 ± 19.74 ^{bdf}

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs A期; ^cP<0.05, ^dP<0.01 vs B期; ^eP<0.05, ^fP<0.01 vs C期. CEA: 血清癌胚抗原.

表 4 大肠癌不同病理类型各血清肿瘤标志物水平 (n, mean ± SD)

分组	n	CEA(ng/mL)	CA199(U/mL)	CA125(U/mL)	CA242(U/mL)
腺癌	1417	12.03 ± 7.22	56.03 ± 22.11	43.97 ± 17.43	63.22 ± 31.72
黏液癌	192	11.59 ± 8.39	56.27 ± 21.34	44.11 ± 16.52	62.94 ± 32.58
其他癌	19	12.06 ± 6.75	55.95 ± 23.25	44.27 ± 18.21	63.12 ± 30.39

CA125和CA242检测水平比较 腺癌、黏液癌及其他癌中, 各血清肿瘤标志物水平没有显著差异, 无统计学意义(P>0.05)(表4).

3 讨论

大肠癌是常见的消化系恶性肿瘤. 在我国, 随着人民生活饮食习惯的改变、人口老龄化的发展及卫生资源分配的不合理, 大肠癌发病率逐年上升^[3]. Ntouroupi等^[4]应用自动扫描荧光显微镜发现92%大肠癌患者外周血中存在肿瘤细胞. 这

就提示我们, 通过检测外周血合适的肿瘤标志物可以筛查出大肠癌. 癌胚抗原在1965年首先由El-Awady等^[5]从大肠癌中发现, 来源于内胚层. CEA 是大肠癌诊断中最常用的一种肿瘤标志物, 但血清中CEA浓度改变常不具有特异性. 另有报道称, 约90%的结肠癌中其表达增加, 但在其他肿瘤中如胃癌、肺癌、壶腹周围癌、卵巢癌等^[6]表达也增加. CA199是唾液酸化的Lewis a血型抗原, 是由单克隆抗体116NS19-9识别的抗原成分^[7], 在多种恶性肿瘤中都有表达, 包括大

■ 相关报道

朱玉琨、陈恺杰等报道, 血清CA242、CA19-9和CEA的联合检测有利于大肠癌的早期诊断, 也可作为大肠癌治疗药物疗效评价的重要依据. 因此将CEA、CA199、CA125和CA242联合应用筛查大肠癌比单用一种肿瘤标志物效果更好, 可以提高筛查的准确率.

■应用要点

联合CEA、CA199、CA125、CA242检测大肠癌,为大肠癌临床筛查提供早期、可靠、简便、安全、有效的方法,联合检测可提高大肠癌的早期诊断率。

肠癌、胰腺癌、卵巢癌等,因此该抗原不宜作为大肠癌筛查的指标。CA125是1981年由BAST发现的一种大分子量糖蛋白,由鼠抗人乳头状囊性卵巢上皮细胞系OC125制备而成,他是一种分化抗原,在来源于体腔上皮衍生物的胎儿组织中升高;还存在于浆液性卵巢癌细胞和浆液性腺癌的组织中,在胃癌、大肠癌和胰腺癌中也有较高的检出率^[8]。CA242是一种黏蛋白,在正常胰腺和结肠黏膜中存在,但表达很低。目前临床上常用的大肠癌肿瘤标志物有CEA、CA199、CA724等,但没有任何一种肿瘤标志物单独使用有较高的灵敏度和特异度。CEA、CA199、CA125和CA242都属于黏蛋白类物质,联合筛查可以弥补单一肿瘤标志物筛查的很多缺陷,提高灵敏度和特异度。

本研究结果发现:大肠癌患者中CEA、CA199、CA125和CA242水平显著高于大肠息肉组和大肠良性疾病组,差异有统计学意义($P<0.05$)。就单项指标而言,CA242的灵敏度和特异度最高,CEA次之。从联合筛查来看,4项指标联合筛查灵敏度和特异度较高,分别为95.8%和98.2%。朱玉琨等^[9]报道血清CA242、CA19-9和CEA的联合检测有利于大肠癌的早期诊断,也可作为大肠癌治疗药物疗效评价的重要依据。陈恺杰^[10]亦报道了CEA与CA199、CA242联合检测可使其敏感性提高(83.6% vs 46.7%)。因此将CEA、CA199、CA125和CA242联合应用筛查大肠癌比单用一种肿瘤标志物效果更好,可以提高筛查的准确率。而且筛查方法简单、无创,因此我们认为联合这4种肿瘤标志物可以广泛地应用于大肠癌的筛查。在大肠癌的不同Dukes分期中血清CEA、CA199、CA125和CA242检测水平相比较,C期、D期各肿瘤标志物水平显著高于A期和B期,差异有统计学意义($P<0.05$)。这表明血清肿瘤标志物阳性表达水平高低大肠癌的分期有关,阳性表达水平越高提示分期越晚,患者的预后有可能越差。主要原因是由于CA199、CA242、CEA和CA125能起到细胞间黏附分子的作用,这在肿瘤转移过程中具有重要意义。这与吴健雄等^[11]、胡毅等^[12]的研究相一致。也有研究表明^[13]术前血清CEA水平对大肠癌的诊断和预后有意义,CEA会随分期的提高而增加;但CEA、CA199二者联合检测对提示复发和预后更有价值,而在不同病理类型的大肠癌患者中,CEA、CA199、CA125和CA242

的表达水平没有显著差异,差异无统计学意义($P>0.05$)。这与燕世德等的研究一致^[14],但也有些学者认为^[15]血清肿瘤标志物的阳性表达率与病理类型有一定相关性。因此,对于CEA、CA199、CA125和CA242阳性表达水平高低与不同病理类型是否有关,有待进一步商榷。

到目前为止,我们尚未发现一个既敏感又特异的肿瘤标志物可单独应用于临床结直肠癌的检测。因此,联合CEA、CA199、CA125、CA242检测大肠癌,应用多变量分析的方法,可弥补单项检测的不足,提高临床诊断的准确性。而且,以上4种血清肿瘤标志物阳性表达水平高低大肠癌的分期有关,阳性表达水平越高提示分期越晚,患者的预后有可能越差。

4 参考文献

- 1 张会涛,刘晓璐,沈滨,杜雅菊. 大肠癌外周血肿瘤标志物的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 991-995
- 2 贺燕丽,王民宪,李忠廉. 联合检测血清癌胚抗原和糖链抗原-199对消化系统恶性肿瘤的诊断意义. 中华消化杂志 2010; 30: 560
- 3 Zhao P, Dai M, Chen W, Li N. Cancer trends in China. *Jpn J Clin Oncol* 2010; 40: 281-285 [PMID: 20085904 DOI: 10.1093/jjco/hyp187]
- 4 Ntouroupi TG, Ashraf SQ, McGregor SB, Turney BW, Seppo A, Kim Y, Wang X, Kilpatrick MW, Tsipouras P, Tafas T, Bodmer WF. Detection of circulating tumour cells in peripheral blood with an automated scanning fluorescence microscope. *Br J Cancer* 2008; 99: 789-795 [PMID: 18682708 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604545]
- 5 El-Awady S, Lithy R, Morshed M, Khafagy W, Abd Monem H, Waleed O, Badr S, Fekry A, El Nakeeb A, Ghazy H, El Yamany M, Metwally T, El-Arman M, Farid M. Utility of serum preoperative carcinoembryonic antigen in colorectal cancer patients. *Hepatogastroenterology* 2009; 56: 361-366 [PMID: 19579599]
- 6 Lim YK, Kam MH, Eu KW. Carcinoembryonic antigen screening: how far should we go? *Singapore Med J* 2009; 50: 862-865 [PMID: 19787171]
- 7 Rosty C, Goggins M. Early detection of pancreatic carcinoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2002; 16: 37-52 [PMID: 12063828 DOI: 10.1016/S0889-8588(01)00007-7]
- 8 田力,王晓艳,沈守荣. 肿瘤标志物CA199、CA242、CEA、CA125联合检测在胰腺癌诊断中的意义. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3047-3050
- 9 朱玉琨,瞿良,袁荣国,张悦,李雪梅. 大肠癌患者血清CA242、CA19-9和CEA水平测定的临床意义. 肿瘤研究与临床 2004; 16: 227-229
- 10 陈恺杰. 3种血清肿瘤标志物在诊断大肠癌中的价值. 广东医学院学报 2005; 23: 384-385
- 11 吴健雄,余宏滔,绍永乎,韩晓红,张郁. CEA和CA242在大肠癌中的诊断意义. 中华肿瘤杂志 1995; 17: B438
- 12 胡毅,刘兵,杨旭. 血清CEA、CA242、CA19-9及其联检对大肠癌的诊断价值. 中国普外基础与临床杂志

- 2007; 11: 700
- 13 Grotowski M. [Antigens (CEA and CA 19-9) in diagnosis and prognosis colorectal cancer]. *Pol Merkur Lekarski* 2002; 12: 77-80 [PMID: 11957811]
- 14 燕世德, 江鸣, 钱小星. 血清CA125、CA19-9、CEA检测在大肠癌诊断中的临床价值. *安徽医药* 2011; 15: 1404-1406
- 15 Chen C, Chen LQ, Yang GL, Li Y. Value of tumor markers in diagnosing and monitoring colorectal cancer and strategies for further improvement: analysis of 130 cases. *Ai Zheng* 2007; 26: 1221-1226 [PMID: 17991322]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



■同行评价
 本文有一定的创新性和科学性, 立题新颖, 样本多, 设计合理 结论可信, 是一篇有一定学术价值的论文, 对大肠癌的诊断及治疗有一定的临床意义.

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.

胸腺基质淋巴细胞生成素在溃疡性结肠炎患者结肠黏膜组织中的表达

林艳, 林连捷, 崔月, 郑长青

■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种累及直肠和结肠的慢性非特异性炎症性疾病, 该病呈反复发作的慢性病程。目前病因尚未明确, 近年来我国的发病率逐年上升, 但治疗方法无明显进展, 探寻新的治疗方法是其研究的重点。

林艳, 林连捷, 崔月, 郑长青, 中国医科大学附属盛京医院消化内科辽宁省沈阳市 110001

林艳, 主治医师, 主要从事炎症性肠病的基础与临床研究。

沈阳市科学技术基金资助项目, No. F10-205-1-17

作者贡献分布: 此课题由郑长青与林艳设计; 研究过程由林艳、林连捷及崔月完成; 数据分析由林艳与林连捷完成; 本论文写作由林艳完成。

通讯作者: 郑长青, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院消化内科。zhengchangqing88@163.com

电话: 024-96615-26211

收稿日期: 2013-07-03 修回日期: 2013-07-18

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Expression of thymic stromal lymphopoietin in ulcerative colitis

Yan Lin, Lian-Jie Lin, Yue Cui, Chang-Qing Zheng

Yan Lin, Lian-Jie Lin, Yue Cui, Chang-Qing Zheng, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: the Science and Technology Foundation of Shenyang, No. F10-205-1-17

Correspondence to: Chang-Qing Zheng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, 39 Huaxiang Road, Tiexi District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. zhengchangqing88@163.com

Received: 2013-07-03 Revised: 2013-07-18

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To detect the expression of thymic stromal lymphopoietin (TSLP) in ulcerative colitis (UC) and to assess the association of TSLP expression with C reactive protein and erythrocyte sedimentation rate.

METHODS: A total of 30 UC patients and 20 healthy controls were enrolled in the study. TSLP mRNA expression was measured by real-time PCR. Serum levels of CRP were determined by rate nephelometry, and ESR was measured using an automatic ESR analyzer.

RESULTS: TSLP mRNA expression was significantly higher in UC than in control tissue ($55.6 \pm$

3.4 vs 17.6 ± 2.8 , $P < 0.05$). TSLP mRNA expression was positively correlated with CRP and ESR ($r = 0.492$, $P < 0.05$; $r = 0.324$, $P < 0.01$). TSLP mRNA expression in UC was positively related to the extent of disease and disease activity index ($P < 0.05$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: High expression of TSLP mRNA in UC is correlated with disease activity, which suggests that TSLP may play an important role in the pathogenesis of UC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Thymic stromal lymphopoietin; Ulcerative colitis; C reactive protein; Erythrocyte sedimentation rate

Lin Y, Lin LJ, Cui Y, Zheng CQ. Expression of thymic stromal lymphopoietin in ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2606-2610 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2606.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2606>

摘要

目的: 探讨胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)在溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者结肠黏膜组织中的表达, 分析TSLP基因表达水平与C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)的相关性及其临床意义。

方法: 收集30例UC患者和20例健康对照者为研究对象, 采用实时定量PCR法对比UC患者病变部位结肠黏膜和对照组结肠黏膜组织中TSLP mRNA表达水平。速率散射比浊法测定CRP水平, 全自动红细胞沉降系统分析仪测定ESR水平。

结果: UC患者结肠黏膜组织中TSLP mRNA的表达水平为(55.6 ± 3.4), 明显高于对照组(17.6 ± 2.8 , $P < 0.05$)。UC患者结肠黏膜组织中TSLP mRNA的表达与CRP及ESR水平呈正相关($r =$

■同行评议者

刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内科

0.492, $P < 0.05$; $r = 0.324$, $P < 0.01$); TSLP mRNA 的表达与病变范围及疾病活动指数明显相关: 随着疾病活动度的增加, TSLP 的表达增加 ($P < 0.05$), 随着病变范围的扩大 TSLP 表达增加 ($P < 0.01$).

结论: UC 患者结肠组织中 TSLP mRNA 表达水平明显高于对照组, 增高的 TSLP 基因水平与疾病活动度呈正相关, 提示 TSLP 在 UC 的发病中可能起到重要作用.

© 2013 年版权归 Baishideng 所有.

关键词: 胸腺基质淋巴细胞生成素; 溃疡性结肠炎; C 反应蛋白; 红细胞沉降率

核心提示: 本研究显示溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 患者结肠黏膜组织中胸腺基质淋巴细胞生成素 (thymic stromal lymphopoietin, TSLP) mRNA 表达水平增高, 而且增高的 TSLP 水平与疾病活动度呈正相关, 提示 TSLP 参与了 UC 的发生与发展.

林艳, 林连捷, 崔月, 郑长青. 胸腺基质淋巴细胞生成素在溃疡性结肠炎患者结肠黏膜组织中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2606-2610 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2606.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2606>

0 引言

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种病因未明的结肠、直肠慢性非特异性炎症性疾病, 虽然 UC 与克罗恩病 (Crohn's disease, CD) 同属炎症性肠病范畴, 但其发病机制存在差异. 对于 CD 已有比较明确的认识, 认为它是一种 Th1 型反应, 而对于 UC 的免疫学模式目前仍缺乏一致的结论, 研究表明 UC 患者的 T 细胞反应趋于低下, 表现为不典型 Th2 型细胞反应的特征^[1]. 目前认为病理性 Th2 细胞及 Th17 细胞在 UC 的发病过程中起到至关重要的作用^[2,3]. 胸腺基质淋巴细胞生成素 (thymic stromal lymphopoietin, TSLP) 是肠道上皮细胞分泌的重要细胞因子^[4], 研究表明 TSLP 可强烈活化树突状细胞 (dendritic cell, DC), 诱导病理性 Th2 型细胞反应^[5], 进而参与免疫、过敏及炎症过程, 参与肠道黏膜免疫的调节. 由此可见 TSLP 与 UC 可能存在相关性, 为了进一步明确 UC 患者肠道黏膜是否存在 TSLP 的异常表达及 TSLP 是否参与了 UC 的发生与发展, 本研究应用实时定量 PCR 法检测 TSLP 基因在 UC

患者结肠黏膜组织中的表达, 分析 TSLP 与 C 反应蛋白 (C reactive protein, CRP)、红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR) 及 UC 临床特征的相关性, 探讨其临床意义.

1 材料和方法

1.1 材料 收集中国医科大学附属盛京医院就诊的 30 例 UC 患者, 所有病例具备完整的临床资料登记, 经临床、实验室、影像、内镜及病理组织学检查后获得诊断, 诊断标准参照 2007 年中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组提出的《对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见》^[6]. 采用 Mayo 评分标准进行临床疾病活动性评分. 健康对照组 20 例, 来自健康体检者, 均无 UC、CD、肠道肿瘤及其他自身免疫性疾病病史, 所有受试对象均签署知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 获取结肠组织: UC 患者及健康体检者均行结肠镜检查, UC 患者取病变严重部位组织 3 块, 对照组取正常肠黏膜组织 3 块, 于 -80 °C 冰箱保存.

1.2.2 应用 Real-time PCR 方法检测结肠黏膜组织中 TSLP mRNA 的表达: 按试剂盒说明完成结肠黏膜组织总 RNA 的抽提纯化和 cDNA 的合成. TSLP 和内参 GAPDH 的引物由上海生工生物公司合成. 引物序列如下: TSLP 上游引物为 5'-CCCAGGCTATTCGGA AACTCAG-3', 下游引物为 5'-CGCCACAATCCTTGTAATT GTG-3'; GAPDH 上游引物为 5'-TCCCTCAAGATTGT-CAGCAA-3', 下游引物为 5'-AGATCCACAAC-GGATACATT-3'. 冰上配制 PCR 反应液. Taq 酶、dNTP 及缓冲体系采用 2×SYBR Premix Ex Taq™ PCR 混合液. Real-time PCR 反应体系如下: 2×SYBR Premix Ex Taq™ 1 μL, 模板 cDNA 2 μL, 上下游引物各 0.5 μL, 加水至 20 μL. 扩增条件为: TSLP: 94 °C-4 min→(94 °C-60 s→52 °C-30 s→72 °C-60 s)×35→72 °C-10 min; 和 GAPDH: 94 °C-5 min→(94 °C-30 s→55 °C-30 s→72 °C-30 s)×35→72 °C-10 min. 反应结束后分析结果. Q-PCR 结果使用比较阈值法来进行定量分析.

1.2.3 UC 患者 CRP 及 ESR 的测定: 应用自动生化免疫分析仪, 测定 CRP 血清浓度 (mg/L); 应用全自动红细胞沉降系统分析仪测定血清 ESR 浓度 (mm/h).

1.2.4 疾病活动指数的评估: 应用 Mayo 评分方法 (表 1) 对 UC 患者的疾病活动度进行分级. 记录 UC

■ 研发前沿

虽然 UC 的病因和发病机制尚未完全明确, 目前已知肠道黏膜免疫系统异常反应所导致的炎症反应在其发生、发展、转归过程中始终发挥重要作用. 其中以免疫细胞功能异常的研究最为深入, 尤其是辅助性 T 细胞 (Th1、Th2、Th17) 及调节性 T 细胞在 UC 的发病中起到至关重要的作用.

■相关报道

胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)作为过敏性炎症的重要启动因子,其在过敏性疾病如哮喘、过敏性鼻炎、过敏性皮炎等疾病中的研究已很深入,已有研究显示肠道上皮细胞分泌TSLP, TSLP通过与肠道黏膜树突状细胞的相互作用参与肠道黏膜免疫反应的调节。

表 1 溃疡性结肠炎患者疾病活动指数评分

项目	0分	1分	2分	3分
腹泻	正常	1-2次/d	3-4次/d	>5次/d
出血	无	微量	明显	大量
黏膜外观	正常	轻度炎症、易脆	中度炎症、易脆	渗出、自发出血
医师总体评价	正常	轻度	中度	重度

3-5分轻度; 6-10分中度; 11-12分重度。

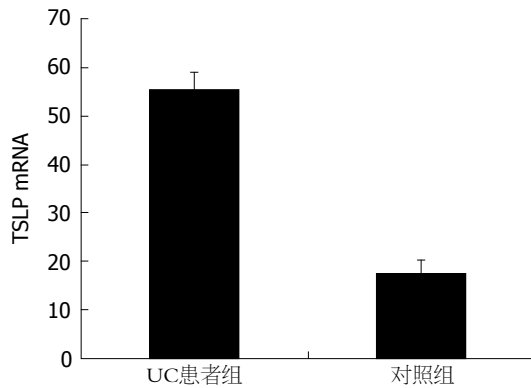


图 1 溃疡性结肠炎患者和对照组结肠黏膜组织中TSLP mRNA表达水平. TSLP: 胸腺基质淋巴细胞生成素; UC: 溃疡性结肠炎。

患者大便性状和便血情况,结肠镜下黏膜外观由经验丰富的内镜医师评估,医师总体评价由3名主治医师共同评价。

统计学处理 数据采用SPSS13.0软件包进行处理,各组数据以mean±SD表示,两组间比较采用t检验,两组间相关分析采用方差分析;相关性分析采用Spearman相关分析方法, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TSLP在UC患者和对照组结肠黏膜组织中的表达 UC患者结肠黏膜组织中TSLP mRNA的表达水平为(55.6±3.4)明显高于对照组(17.6±2.8, $P<0.05$,图1)。

2.2 TSLP mRNA表达水平与CRP及ESR的关系 入组UC患者中,活动期患者22例,缓解期患者8例,活动期患者血清CRP及ESR的水平分别为(11.2 mg/L±1.96 mg/L和38.6 mm/h±2.29 mm/h),均高于缓解期UC患者(5.12 mg/L±1.54 mg/L和28.7 mm/h±5.41 mm/h, $P<0.01$)。UC患者结肠黏膜组织中TSLP mRNA的表达水平与CRP及ESR的相关性分析表明, TSLP与CRP及ESR呈正相关($r = 0.492, P<0.05; r = 0.324, P<0.01$)。

2.3 TSLP mRNA表达水平与UC患者临床特征的关系 UC患者结肠黏膜组织中TSLP的基因表达水平与患者年龄、性别无关,但与疾病活动度及病变范围具有相关性。应用Mayo评分标准将UC的疾病活动度分为轻、中、重3组,随着疾病活动度的增加, TSLP的表达增加,各组间比较TSLP的表达存在差异($P<0.05$); UC患者内镜下病变范围与TSLP表达的相关性分析提示随着病变范围的扩大TSLP表达增加,直肠与左半结肠组相较无差别($P>0.05$),而与广泛型、全结肠型相比较,差异有统计学意义($P<0.01$,表2)。

3 讨论

UC的病因尚未明确,免疫功能紊乱是其重要的发病机制, $CD4^+$ 辅助T细胞其亚型Th1、Th2、Th17和他们分泌的细胞因子在UC发病中起到重要的作用^[7]。传统观念认为UC患者T细胞功能反应趋于低下,主要是由白介素-4(interleukin-4, IL-4)和IL-13促进分化的Th2细胞占优势,随着研究的不断深入, Th17细胞的发现拓宽了对UC免疫发病机制的认识。目前认为Th1/Th2及Th17/Treg平衡转化关系的变化在UC的形成过程中起重要作用^[8]。同样参与该平衡转化调节的细胞因子如转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、IL-23、IL-17、IL-10、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)也逐渐成为炎症性肠病研究领域的热点^[9],相关细胞因子的研究为UC的治疗提供了新的靶点。

除了肠道免疫细胞,肠上皮细胞在UC发病过程中的作用受到越来越多的关注。研究表明肠上皮细胞具有丰富的生物学功能,他不仅是黏膜屏障的主要组成部分,而且直接参与内外信息转导,在维持机体内环境的稳态,参与免疫防御及维持损伤修复平衡等方面发挥重要作用^[10]。肠上皮细胞可分泌多种细胞因子包括TSLP、TGF- β 、IL-10、维甲酸、前列腺素E2

表 2 溃疡性结肠炎患者结肠黏膜组织中TSLP mRNA水平与临床特征的相关性 (n, mean ± SD)

临床特征	n	TSLP mRNA表达
性别		
男	12	55.84 ± 4.59
女	18	54.92 ± 5.28
年龄(岁)		
≤60	18	55.7 ± 4.81
>60	12	54.78 ± 4.16
临床活动度(Mayo评分)		
轻度	14	49.61 ± 2.16
中度	10	53.4 ± 2.62
重度	6	59.74 ± 2.12
病变范围		
直肠炎	8	50.88 ± 1.26
左半结肠炎	11	51.58 ± 1.45
广泛结肠炎	6	58.2 ± 1.31
全结肠炎	5	60.53 ± 2.31

TSLP: 胸腺基质淋巴细胞生成素.

等, 他们是促进肠道免疫耐受, 维持肠道内环境稳态所必需的细胞因子^[11]. 虽然TGF-β及IL-10等细胞因子在UC中的作用已有深入研究, 但TSLP与UC的相关性研究鲜有报道, TSLP是否参与UC的发病尚未明确.

TSLP由Brandt等^[12]于1994年从胸腺基质细胞中首次分离鉴定, 随着研究的深入, TSLP在免疫应答中的作用引起了人们的广泛关注. TSLP可直接活化DCs, 微弱上调DCs表面的HLA-DR和CD86的表达^[13], 强烈诱导共刺激分子CD40和CD80的表达, 并选择性激活病理性Th2型细胞反应, 从而在过敏、炎症及免疫疾病中扮演重要的角色^[14,15]. UC作为肠道慢性炎症性疾病, 其发生发展与免疫、炎症及过敏反应密切相关, 目前TSLP在UC发病中的作用尚未明确, 已有研究表明与过敏性疾病中TSLP的致病性不同, TSLP对于肠道炎症具有保护作用^[16], Reardon等^[17]应用TSLPR基因敲除小鼠建立的炎性肠病动物模型, 获得了较正常对照组更为严重的肠道炎症反应, 进一步提示TSLP参与了肠道炎症的发生, 并发挥下调炎症反应的作用.

为进一步明确TSLP与UC的相关性, 我们采用Real-time PCR法检测UC患者及健康对照者结肠黏膜组织中TSLP mRNA表达水平, 结果发现UC患者结肠黏膜中TSLP的表达显著高于健康对照组, 提示TSLP在炎症肠道黏膜中存在异常

表达. 我们进一步评估了TSLP的表达水平与反应UC患者疾病活动状态的指标CRP及ESR的相关性, 数据显示其与CRP及ESR呈正相关, 且与CRP水平的相关性更高.

UC患者结肠黏膜组织中TSLP的表达与患者临床特征的相关性研究表明, 患者的年龄、性别与TSLP表达水平无相关性, 而与疾病的活动指数及内镜下病变范围明显相关, 随着UC病变范围的扩大, 病变炎症程度的加重, TSLP的表达增加.

总之, UC患者结肠黏膜组织中TSLP mRNA表达水平增高, 增高的TSLP水平与疾病活动度呈正相关, 提示TSLP参与了UC的发生与发展, 深入研究TSLP在UC发病中的作用可能为UC提供新的治疗靶点. 而TSLP在UC黏膜组织中的异常表达发挥的是促炎作用还是抑制炎症反应作用还有待于进一步的研究.

4 参考文献

- Bamias G, Kaltsa G, Ladas SD. Cytokines in the pathogenesis of ulcerative colitis. *Discov Med* 2011; 11: 459-467 [PMID: 21616044]
- Latinne D, Fiasse R. New insights into the cellular immunology of the intestine in relation to the pathophysiology of inflammatory bowel diseases. *Acta Gastroenterol Belg* 2006; 69: 393-405 [PMID: 17343083]
- Dong Z, Du L, Xu X, Yang Y, Wang H, Qu A, Qu X, Wang C. Aberrant expression of circulating Th17, Th1 and Tc1 cells in patients with active and inactive ulcerative colitis. *Int J Mol Med* 2013; 31: 989-997 [PMID: 23446770 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1287]
- Eri RD, Adams RJ, Tran TV, Tong H, Das I, Roche DK, Oancea I, Png CW, Jeffery PL, Radford-Smith GL, Cook MC, Florin TH, McGuckin MA. An intestinal epithelial defect conferring ER stress results in inflammation involving both innate and adaptive immunity. *Mucosal Immunol* 2011; 4: 354-364 [PMID: 21107311 DOI: 10.1038/mi.2010.74]
- Han H, Headley MB, Xu W, Comeau MR, Zhou B, Ziegler SF. Thymic stromal lymphopoietin amplifies the differentiation of alternatively activated macrophages. *J Immunol* 2013; 190: 904-912 [PMID: 23275605 DOI: 10.4049/jimmunol.1201808]
- 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *胃肠病学* 2007; 12: 488-495
- Brand S. Crohn's disease: Th1, Th17 or both? The change of a paradigm: new immunological and genetic insights implicate Th17 cells in the pathogenesis of Crohn's disease. *Gut* 2009; 58: 1152-1167 [PMID: 19592695 DOI: 10.1136/gut.2008.163667]
- Raza A, Yousaf W, Giannella R, Shata MT. Th17 cells: interactions with predisposing factors in the immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Expert Rev Clin Immunol* 2012; 8: 161-168 [PMID: 22288454 DOI: 10.1586/eci.11.96]
- Múzes G, Molnár B, Tulassay Z, Sipos F. Changes

■创新盘点

目前关于TSLP与UC的相关性研究很少, 相关报道主要集中于实验动物及细胞水平的研究, 本研究对象为UC患者, 通过检测患者肠黏膜组织中TSLP的表达更直接地判定TSLP与疾病的相关性.

■应用要点

探讨TSLP在UC患者结肠黏膜组织中的表达具有重要意义, 该研究结果可能为UC的治疗提供新的治疗靶点.

■同行评价

针对UC的免疫机制研究意义重大,不仅可以揭示疾病的发病机制,而且可以探究新的治疗靶点,为临床提供新治疗手段.

- of the cytokine profile in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5848-5861 [PMID: 23139600 DOI: 10.3748/wjg.v18.i41.5848]
- 10 Arakawa T, Watanabe T, Tanigawa T, Tominaga K, Fujiwara Y, Morimoto K. Quality of ulcer healing in gastrointestinal tract: its pathophysiology and clinical relevance. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4811-4822 [PMID: 23002355]
- 11 Lee MJ, Lee JK, Choi JW, Lee CS, Sim JH, Cho CH, Lee KH, Cho IH, Chung MH, Kim HR, Ye SK. Interleukin-6 induces S100A9 expression in colonic epithelial cells through STAT3 activation in experimental ulcerative colitis. *PLoS One* 2012; 7: e38801 [PMID: 22962574 DOI: 10.1371/journal.pone.0038801]
- 12 Brandt EB, Sivaprasad U. Th2 Cytokines and Atopic Dermatitis. *J Clin Cell Immunol* 2011; 2: 110 [PMID: 21994899]
- 13 Liu YJ, Soumelis V, Watanabe N, Ito T, Wang YH, Malefyt Rde W, Omori M, Zhou B, Ziegler SF. TSLP: an epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 193-219 [PMID: 17129180]
- 14 Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 789-815 [PMID: 15032597]
- 15 Ziegler SF. Thymic stromal lymphopoietin and allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 845-852 [PMID: 22939755 DOI: 10.1016/j.jaci.2012.07.010]
- 16 Tanaka J, Saga K, Kido M, Nishiura H, Akamatsu T, Chiba T, Watanabe N. Proinflammatory Th2 cytokines induce production of thymic stromal lymphopoietin in human colonic epithelial cells. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1896-1904 [PMID: 19757042 DOI: 10.1007/s10620-009-0979-x]
- 17 Reardon C, Lechmann M, Brüstle A, Gareau MG, Shuman N, Philpott D, Ziegler SF, Mak TW. Thymic stromal lymphopoietin-induced expression of the endogenous inhibitory enzyme SLPI mediates recovery from colonic inflammation. *Immunity* 2011; 35: 223-235 [PMID: 21820333 DOI: 10.1016/j.immuni.2011.05.015]

编辑 黄新珍 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)

临床常用便秘诊断和疗效评价量表的特征

周思远, 刘婷, 覃海知, 李瑛

周思远, 刘婷, 覃海知, 李瑛, 成都中医药大学针灸推拿学院
四川省成都市 610075
周思远, 主要从事针刺治疗功能性胃肠病的效应和机制研究。
国家重点基础研究发展计划(973计划)基金资助项目, No.
2011CB505200
四川省教育厅科研基金资助项目, No. 12TD002
作者贡献分布: 此文文献分析、写作由周思远与刘婷完成; 文献
检索由周思远与覃海知完成; 李瑛审核。
通讯作者: 李瑛, 教授, 610075, 四川省成都市金牛区十二桥路
37号, 成都中医药大学针灸推拿学院. jiale@mail.sc.cninfo.net
电话: 028-66875819
收稿日期: 2013-06-23 修回日期: 2013-07-16
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Characteristics of commonly used scales for diagnosis and treatment outcome evaluation in constipation

Si-Yuan Zhou, Ting Liu, Hai-Zhi Qin, Ying Li

Si-Yuan Zhou, Ting Liu, Hai-Zhi Qin, Ying Li, College of
Acupuncture and Tuina, Chengdu University of Traditional
Chinese Medicine, Chengdu 610075, Sichuan Province,
China

Supported by: the Major State Basic Research Development
Program of China (973 Program), No. 2011CB505200;
and the Scientific Foundation of Department of Education
of Sichuan Province, No. 12TD002

Correspondence to: Ying Li, Professor, College of Acu-
puncture and Tuina, Chengdu University of Traditional
Chinese Medicine, 37 Shierqiao Road, Jinniu District, Chengdu
610075, Sichuan Province, China. jiale@mail.sc.cninfo.net
Received: 2013-06-23 Revised: 2013-07-16
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To evaluate the contents, reliability, validity and responsiveness of commonly used scales for diagnosis and treatment outcome evaluation in constipation.

METHODS: A search of the CNKI database and PubMed database was performed to find the scales about the symptoms and quality of life of constipation. The contents, reliability, validity and responsiveness of these scales were evaluated.

RESULTS: A total of 11 commonly used constipation scales were screened out, including 7

scales associated with constipation symptoms, 3 scales about constipation related quality of life, and 1 scale about stool form. The items of symptom scales included frequency of bowel movement, evacuation difficulty, feeling of incomplete evacuation, stool form, and type of management methods. The items of quality of life scales were associated with physiology, psychology and social function. These scales could be evaluated by the patient himself/herself or by the doctor. The number of the items was between 3 and 28, and the lookback time was between 1 week and several years. Only a few scales mentioned the time needed to finish it. Most of the scales had Cronbach's α greater than 0.7 and ICC value greater than 0.7. The score between different subjects or between pre-and post-treatment was different significantly.

CONCLUSION: Commonly used scales for constipation are designed reasonably, with satisfying reliability, validity and responsiveness. Suitable scales should be chosen based on different conditions.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Constipation; Clinical effect; Scale

Zhou SY, Liu T, Qin HZ, Li Y. Characteristics of commonly used scales for diagnosis and treatment outcome evaluation in constipation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2611-2616 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2611.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2611>

摘要

目的: 评价临床常用的便秘诊断和疗效相关量表的内容、信度、效度和反应度。

方法: 通过检索中国知网全文数据库和PubMed数据库中便秘相关的诊断和疗效评价量表, 进行评价。

结果: 筛选出了目前常用的便秘相关量表11个, 包括便秘相关症状量表7个, 便秘相关生

■背景资料

功能性便秘是功能性胃肠病的一种, 由于缺乏明确的器质性病变和证据支持, 其临床诊断和疗效的评价多依赖于症状进行判定。因此能够真实、敏感的反映功能性便秘患者症状和生活质量的量表对疾病的诊疗具有重要意义。

■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

■ 研发前沿

临床量表的选择是疾病诊疗和临床研究中的关键问题。一个好的量表,其条目设计能够反映疾病特点,有一定的特异性;有较好的信效度、反应度;且容易理解,便于应用。选取与研究对象、研究目的最为吻合的量表尤为重要。

活质量量表3个,大便性状量表1个。症状量表的条目设置主要包括排便频率、排便困难程度、排便不尽感、大便性状和排便时需要帮助的类型等;生活质量的评价条目主要涉及生理、心理和社交功能。量表的评价方式分为自评和他评,条目数目从3条到28条不等,回顾时间1 wk到数年不等,少量量表提及了完成时间。量表测试显示多数量表的信度Cronbach's α 系数 >0.7 ,效度ICC值 >0.7 ,不同测试人群及患者治疗前后的测量结果存在统计学意义。

结论: 临床常用便秘量表的设计合理,信度、效度和反应度较好,后续研究者应根据实际情况选择量表。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 便秘; 临床疗效; 量表

核心提示: 本文分析了目前常用的便秘症状和生活质量评分量表,多数量表的条目设计合理,信效度和反应度较好。由于设计初衷和文化背景的不同,后续研究者在使用量表时应根据情况选择,并在必要时进行量表测试,以适用不同的人群。

周思远,刘婷,覃海知,李瑛. 临床常用便秘诊断和疗效评价量表的特征. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2611-2616 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2611.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2611>

0 引言

功能性便秘是消化内科的常见疾病,属于功能性胃肠病的一种,以持续的排便减少或排便不尽感为主要临床特征。近年来,随着生活方式和饮食结构的改变,其发病率呈逐年增加的趋势,全球发病率为1.9%-27.2%不等,平均约为14.8%^[1]。功能性便秘患者可以表现出明显的疑病和癔病型人格特征,而过度治疗又可能加重患者的精神负担,强化不良个性,加重和恶化病情,严重影响生活质量^[2-4]。功能性便秘缺乏明确的器质性病变和其他证据支持,临床诊断和疗效评价多根据其症状判定,能够真实、敏感的反映患者病情的疾病相关量表在诊疗中的价值较大。因此本文对目前较为常用的便秘相关量表进行述评,以期后续功能性便秘临床研究中疗效评价量表的选择提供思路。

1 材料和方法

1.1 材料 本文以“便秘”、“评价”、

“量表”、“问卷”和“constipation”、“scale”、“assessment”、“questionnaire”作为中英文检索词在中国知网期刊全文数据库和PubMed数据库进行检索。时间设定为1980-2013年,语种设定为中文和英文。手工排除临床疗效研究,便秘发病因素研究及综述类文章,共纳入中外文献17篇。

1.2 方法 依次分析纳入文献中所涉及量表的条目数量、内容、评价方式、计分法则、追溯时间、完成时间、量表得分意义、获取方式以及量表的信度、效度和反应度。

2 结果

2.1 便秘相关的症状评价量表 本文纳入与便秘症状评价量表相关的论文11篇,量表7个(表1)。

2.1.1 便秘评估量表(constipation assessment scale, CAS): CAS包含8个条目,预计在2 min以内完成评价,可以快速判断患者有无便秘以及便秘的严重程度^[5]。该量表分别对腹部腹胀或胀气、排气数量的变化、排便频率降低、稀便、直肠梗阻和压迫感、排便时伴直肠疼痛、粪量较少、排便费力、排便不尽感、排便失败共8个与便秘紧密相关的症状进行评估,总分为0-16分。其中稀便这个条目,虽然在便秘患者中发生率不高,但是总体得分较高的患者常出现该症状,因此该量表的设计者仍然保留这个条目。由CAS还扩展出了孕妇便秘评估量表(constipation assessment scale for pregnancy),专门用于孕妇的相关情况评价。包括CAS的所有条目,但积分采用5分法,可以用于评估孕妇是否出现了便秘^[6]。

2.1.2 便秘评分系统(constipation scoring system, CSS/cleveland clinic score, CCS): 研究者通过对232例患者进行便秘问卷的评估和客观检查,包括结肠传输时间、直肠肛门测压、排粪造影等。将便秘评分中的症状与客观检查结果进行皮尔森相关系数分析,筛选出8个与便秘有显著相关性的条目,分别为: 排便频率、排便困难程度、排便不尽感、腹痛、排便时间、需要帮助的类型、每24 h有便意而解不出来的次数及便秘病程。量表总分最低为0分,最高为30分,得分超过15分可判定为便秘^[7]。

2.1.3 Knowles-Eccersley-Scott症状评分(knowles-eccersley-scott-symptom, KESS): KESS是基于CSS的优化版本,不仅可以评估患者的便秘病情,还可对患者进行分型。该量表包含11个条目,预计在5 min内完成,最高分39分,得分越高,

病情越严重. 评价的项目包括便秘病程、泻药的使用、排便频率、是否出现有便意而排便失败的情况、排便不尽感、腹部疼痛、腹胀、灌肠或者用手帮助的次数、排便时间、排便困难程度以及不用泻药时的粪便性状. 根据量表中的症状, 可以将便秘患者分为慢性传输型便秘 (slow-transit constipation, STC)、直肠排出失调型便秘 (rectal evacuated disorder, RED) 和混合型便秘, 其中对直肠排出失调型的识别率最高^[8].

2.1.4 便秘患者症状自评问卷(patient assessment of constipation symptom, PAC-SYM): PAC-SYM 由粪便性状、直肠症状和腹部症状3个部分共12个条目构成. 该量表采用5分法进行评价, 按症状严重程度由无到非常严重分别计为0-4分. 对排便次数减少、排便费力、排便疼痛、排便不尽感、粪质坚硬、粪量少、胃痛、腹部痉挛疼痛、腹部胀满、有便意而难以排出、直肠出血或撕裂、直肠烧灼感等症状进行评估^[9]. 近年来, 国内学者经过该量表开发机构的授权, 获得了中文版的PAC-SYM, 并对其进行了信效度的测试^[10].

2.1.5 出口梗阻综合征评分(obstructed defaecation syndrome score, ODS score): 出口梗阻综合征评分由8个条目组成, 总分为0-31分. 量表评价的内容包括排便时间、每天有便意的次数、是否需要用手帮助排便、使用泻剂的次数、灌肠的次数、排便不尽感、排便费力程度和大便性状. 健康人的得分多在2分以下, 而ODS患者的得分多在10分以上^[11].

2.1.6 肠道功能指数(bowel function index, BFI): BFI只有3个条目, 包括排便困难程度、排便不尽感和患者的自我判断. 医生需要患者根据过去1 wk的排便情况对以上3个条目进行评分, 没有感觉为0分, 非常困难为100分, 每个问题的得分在0-100之间, 3个问题的平均得分为BFI的最后得分, 分数越高提示病情越重. 非便秘患者的BFI得分在28.8以下, 判断疗效时, BFI的改变大于12分, 提示有临床意义, 而小于5分时可以认为无变化^[12-14].

2.1.7 华人便秘问卷: 由于文化背景的不同, 在量表的使用过程中可能存在因理解差异而导致的信度效度降低, 对此香港大学的研究者们设计了一款专门针对华人的功能性便秘诊断和评估问卷. 该问卷从24个条目中最终筛选出6个最有价值的条目, 分别为有便意而不能解便的严重程度; 周大便次数小于3次的频率; 解便不尽感

的严重程度; 大便干硬的严重程度; 泻剂的使用次数以及腹胀的严重程度. 总分超过5分即可认为是便秘^[15].

2.2 便秘相关的生活质量评价量表 本文筛选出便秘生活质量评价相关论文5篇, 涉及3个量表(表1).

2.2.1 便秘患者生活质量自评问卷(patient assessment of constipation quality of life questionnaire, PAC-QOL): PAC-QOL是对慢性便秘患者生活质量进行评估的一个特异性量表, 既可与PAC-SYM联合使用, 也可单独使用. PAC-QOL包含28个条目, 分为担心和关注的事件(11个条目)、躯体不适(4个条目)、心理不适(8个条目)和满意度(5个条目)4个维度. 每个条目采用5分法计分, 病情越严重, 得分越高^[16]. 国内研究者经授权后引进了中文版的PAC-QOL量表. 中文版的基本结构与原量表一致, 分为28个条目, 生理、社会心理、担忧和满意度4个维度, 但是对于条目4“感觉要排便, 但解不出来”归入了担忧维度而不是原版量表的生理维度, 其次对部分条目的语言表达进行了修改, 以帮助国人理解^[17,18].

2.2.2 便秘相关生活质量评分(constipation related quality of life, CRQOL): 便秘相关生活质量评分同样是一款针对便秘的疾病特异性生活质量评估工具, 从易受便秘影响的形象、饮食、情绪和与他人的关系等方面筛选出18个条目, 分为4个维度. 社交障碍包括5个条目: 与亲人相处、与同事相处、与朋友相处、与陌生人相处和交新朋友的影响. 忧虑包括6个条目: 因症状不能改善而气馁; 对不能解决肠道问题而感到无助; 因治疗无效而泄气; 担心症状会一直存在; 因肠道问题影响生活而感到沮丧; 担心症状可能意味着更严重的身体问题. 饮食习惯包括3个条目: 你所吃的食物种类有限; 你所吃的食物总量有限; 不吃不喜欢的食物. 如厕态度包括4个条目: 因不在家使用卫生间感到尴尬; 对使用公用卫生间感到焦虑; 对远离卫生间感到焦虑; 对如厕时间过长感到尴尬. 所有条目均采用5分法评分, 得分越高, 对生活质量影响越大^[19].

2.2.3 便秘相关残疾量表(constipation related disability scale, CRDS): 便秘相关残疾量表主要评估便秘对于患者日常生活的影响, 分为工作/休闲能力和日常生活能力两大块进行, 包含以下13个条目: 从事需要久坐的活动; 从事需要弯腰的活动; 购物或者干杂活; 保护家人和朋友; 同子女或者孙辈一同活动; 参与社交活动、聚会或庆祝; 在家中待客; 到朋友或亲人家中做客;

■ 相关报道

宋玉磊, 金洵等是少有的针对外文原版的便秘问卷PAC-SYM和PAC-QOL, 进行了汉化版本的信度、效度和反应度检测, 并对部分条目的表达进行了文化调适, 以方便国人理解. 研究结果表明中文版本的PAC-SYM和PAC-QOL满足量表设计的要求, 可以用于临床.

■创新盘点

本文针对不同的便秘症状和生活质量评分量表,分析其主要目的、条目内容、计分方式、量表回顾时间、完成时间、获取方式、得分意义、信效度、反应度等,是目前少有的针对便秘量表进行系统梳理的文章。

表 1 便秘相关量表描述

分类	名称	评价方式	评价条目	与罗马 III 标准重合的条目	回顾时间	完成时间
症状评分量表	CAS	自评	8	排便频率、困难程度、不尽感、直肠梗阻感	1 wk	2 min
	CSS	他评	8	排便频率、困难程度、不尽感、需要帮助的类型	20年	不详
	KESS	他评	11	排便频率、困难程度、不尽感、需要帮助的类型、大便性状	20年	5 min
	PAC-SYM	自评	12	排便困难程度、不尽感、大便性状	2 wk	不详
	ODS score	他评	8	排便困难程度、不尽感、需要帮助的类型、大便性状	1 mo	不详
	BFI 华人便秘问卷	他评	3 6	排便苦难程度、不尽感 排便频率、不尽感、大便性状	1 wk 3 mo	不详 不详
生活质量评分量表	PAC-QOL	自评	28	/	2 wk	11 min
	CRQOL	他评	18	/	1年	不详
	CRDS	自评	13	/	1 wk	不详

散步;专注于某件事;外出旅游;参加文体活动,如自行车、游泳、散步;参加休闲活动,如看电影、俱乐部活动。每个条目从没有困难到不可能完成,分别积0-4分,总分为0-39分,得分越高提示完成事件的难度越大,患者丧失的生活能力越多^[20]。

2.3 大便性状相关量表 经过检索仅获得1个与大便性状相关的量表, Bristol粪便性状评分(Bristol stool form scale, BSFS)。该量表将粪便性状分为7种: 1分为分离的硬团; 2分为团块状; 3分为干裂的香肠便; 4分为柔软的香肠便; 5分为软的团块; 6分为泥浆状; 7分为水样便。不同的粪便性状可以反映不同的肠道传输时间,得分越低,传输时间越长;得分越高,传输时间越短。比较正常、服用番泻叶及服用洛哌丁胺3种不同状态下,排便频率、排便重量、BSFS得分与肠道传输时间的关系,结果提示三者均能反映肠道传输时间的改变,但BSFS得分改变最为敏感^[21]。

2.4 便秘相关量表的信效度和反应度 信度指的是量表的稳定性和一致性;效度代表了量表能够准确测试所需测量事物的程度,即测量结果的有效性;反应度又称为敏感性,是指若被测对象随内外环境变化时,测量结果必须对此做出反应。对于临床量表,除了对信度和效度有要求以外,反应度也是需要考虑的问题。本文所涉及的量表也进行了相关测试(表2),提示这些量表的信效度可靠,反应度灵敏,可以用于临床。

3 讨论

功能性便秘是临床上常见的功能性胃肠病,目前国际上公认的诊断标准为罗马III标准,但是

该标准仅用于诊断,不能判定疾病的严重程度和治疗效果。因此多种与便秘相关的评分量表被用于功能性便秘的诊断和治疗之中。

从本文检索的情况看,有7个量表涉及到便秘相关症状的评价,这些量表的评价条目从3条到12条不等。罗马III诊断标准中涉及到的便秘相关因素包括排便费力程度、大便性状、排便不尽感、直肠梗阻或阻塞感、需要用手帮助的情况及周排便次数共6个方面,而所检索到的评价量表中没有一个量表能够涵盖所有的条目。出现这一情况可能与量表设计的初衷有关,比如CAS和BFI量表最初都用于判断使用阿片类止痛药物的患者是否出现了药物所致的便秘;KESS主要用于区别不同的便秘类型;ODS得分则针对的是出口梗阻综合征的患者。其次,与量表设计者对疾病的认识态度也有关系。比如PAC-SYM中缺乏对排便频率的评价,量表设计者认为排便频率存在较大的个体差异,使用排便的绝对次数判断患者的症状轻重可能存在缺陷,因此将排便频率放在配套量表PAC-QOL的满意度这一维度中更为合适。

近年来,医学模式由传统的生物医学模式向生物-心理-社会医学模式转变,疾病疗效评价的主体也从“病”发展到“人”,更为关注患者的生存质量。本文检索到3个与便秘相关的特异性生活质量评分量表,分别从躯体功能、生理功能、满意度、担忧、日常生活习惯、社会交往能力等多个角度对患者进行了评估,可以更为全面的评估患者的整体状态和治疗的效果。和普通性的量表相比,这些量表更关注便秘直接相关维度的改变,更具有特异性和敏感性,但

表 2 便秘相关量表的信度、效度和反应度测试

名称	测试人群	测试结果
CAS	32例使用止痛药的癌症患者, 32例健康人	Cronbach's α 系数 ^a 为0.7; ICC ^b 为0.98; 可以区分便秘和非便秘人群 ($P<0.001$), 及便秘的严重程度($P<0.01$) ^[6]
CAS孕妇版	30例孕妇, 16例没有怀孕女性	Cronbach's α 系数为0.82; ICC为0.84–0.92; CVI ^c 为0.75 ^[6]
CSC	232例便秘患者	8个条目的皮尔森线性相关测试 $P<0.05$ ^[7]
KESS	71例便秘患者, 20例健康人	得分与CSC量表得分具有显著的相关性($r = 0.9$)可以有效区分便秘和非便秘患者; 对疾病分型的正确预测率为55%, 其中对RED的预测准确率高 ^[8]
PAC-SYM	216例便秘患者	Cronbach's α 系数为0.89; ICC为0.75; CVI为0.68–0.72; 可以有效识别不同严重程度患者 ($P<0.001$), 判断治疗是否有效($P<0.001$) ^[9]
PAC-SYM 中文版	155例便秘患者	Cronbach's α 系数为0.81–0.89, ICC为0.79–0.91, CVI为0.82. 量表总分和各维度得分与SF-36、PAC-QOL、SAS/SDS得分相关($P<0.01$), 得分可以反映治疗效果($P<0.01$) ^[10]
ODS Score	76例ODS患者, 30例健康人,	Cronbach's α 系数为0.513, ICC为0.89, 可以区别健康人和患者 ($P<0.001$) ^[11]
BFI	985例肠易激综合征患者	Cronbach's α 系数 >0.7 , 每个条目得分和总分均与排便频率具有相关性 ^[12]
华人便秘问卷	111例便秘患者, 110例健康人	Cronbach's α 系数为0.792, ICC为0.7; 得分与SF-36中除精力以外的7个维度的得分具有相关性; 得分可以反映治疗效果 ^[15]
PAC-QOL	260例便秘患者	Cronbach's α 系数为0.8; ICC为0.7(满意维度为0.66); 得分与腹痛程度 ($P<0.001$)和便秘严重程度($P<0.05$)呈显著相关; 经过治疗后, 量表总分效应量为1.77 ^[16]
PAC-QOL 中文版	152例便秘患者	Cronbach's α 系数为0.69–0.93, ICC为0.68–0.89, CVI为0.84; 得分与SF-36具有相关性($r = 0.56$); 经治疗后患者各维度及总分均下降 ^[17]
PAC-QOL 中文版	283例便秘患者, 90例健康人	各领域及总分Cronbach's α 系数为0.7(生理维度 = 0.69), 能够反映便秘患者和正常人的差异($P<0.01$), 也可反映治疗前后的差异($P<0.01$) ^[18]
CRQOL	240例便秘患者, 103例健康人	Cronbach's α 系数为0.89, ICC为0.87, 可以区别便秘患者和健康人 ($P<0.001$); 得分与IBS生活质量评分和SF-36评分相关($P<0.001$), 与社会期望量表无关 ^[19]
CRDS	240例便秘患者, 103例健康人	Cronbach's α 系数 >0.87 , ICC >0.85 ; 能够区别便秘患者和健康人($P<0.001$). 得分与SF-36的得分呈现负相关关系($P<0.001$), 而与埃普沃斯嗜睡量表和社会期望量表无明显相关性 ^[20]

^aCronbach's系数, 信度系数; ^bICC, 组内相关系数; ^cCVI, 内容效度指数.

三者在使用上也有所不同. PAC-QOL多和PAC-SYM配合使用, 两者在条目上具有互补性, 同时评价患者的症状和生活质量. CRQOL和CRDS是一个团队开发的两个量表, 其中CRQOL侧重于便秘对患者整个生活方式的影响, 而CRDS则倾向于评价患者所丧失的日常生活能力.

本文所检索的量表均进行了相关的信度、效度和反应度的检测, 以确保其临床使用的有效性, 但是值得注意的是某些量表其设计初衷并不是用于功能性便秘, 在针对功能性便秘患者使用时, 应该进行信效度的测试. 其次, 除了华人便秘问卷, 其他的问卷均为非中文原版的量表, 对于非中文量表的翻译过程中应当注意文化调适, 避免因文化差异所引起的歧义, 确保汉化版本和原版的一致性, 并重新测量信效度. 遗憾的是, 目前除了PAC-SYM和PAC-QOL引进了中文版本并重新进行了信效度的检测, 尚未

见到其他量表中文版的信效度测试.

作为临床量表, 还需要考虑到其评价回顾的时间段和使用的方便性. 本文检索的文献中有的明确指出了对过去某一段时间内的情况进行评估, 有的则未能明确说明, 作者根据其量表条目的设定和量表的产生过程得出了每个量表回顾的时间段, 以供后续研究者参考. 当量表在使用的时候, 希望可以快速有效的判定患者的状况, 因此完成量表所需的时间也是量表实用性的一个方面, 但是目前只有3个量表给出了大致所需的时间, 其他量表没有见到相关报道. 从获得量表的难易程度来看, 除了PAC-SYM和PAC-QOL需要授权才能获得量表的完整版本, 其他量表均可从相关的文献中直接获得.

总之, 目前已经有研究者设计出了针对便秘的特异性的症状评分量表和生活质量量表, 但每个量表的目的有所不同, 本文简述了每个量

应用要点

本文分析了目前临床常用的便秘症状和生活质量评价量表的特征, 为不同类型的便秘患者, 不同目的研究者, 选用何种量表提供了较为详实的参考资料.

■同行评价

本文设计科学合理,文献较全面,数据可靠,分析得当,结论客观,对临床具有一定有指导意义。

表的特点,以期后续研究者选择合适的量表提供参考。值得提醒的是由于量表设计初衷和文化背景的不同,在必要时需要进行信度、效度和反应度的测试,以确保适用于不同人群。

4 参考文献

- Stein P, Weber M, Prüfer S, Schmid B, Schmitt E, Probst HC, Waisman A, Langguth P, Schild H, Radsak MP. Regulatory T cells and IL-10 independently counterregulate cytotoxic T lymphocyte responses induced by transcutaneous immunization. *PLoS One* 2011; 6: e27911 [PMID: 22114725]
- Bongers ME, Benninga MA, Maurice-Stam H, Grootenhuis MA. Health-related quality of life in young adults with symptoms of constipation continuing from childhood into adulthood. *Health Qual Life Outcomes* 2009; 7: 20 [PMID: 19254365 DOI: 10.1186/1477-7525-7-20]
- Koloski NA, Jones M, Wai R, Gill RS, Byles J, Talley NJ. Impact of persistent constipation on health-related quality of life and mortality in older community-dwelling women. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1152-1158 [PMID: 23670115 DOI: 10.1038/ajg.2013.137]
- 陈諳, 宋佳, 刘文. 北京中医医院消化中心对慢性便秘患者生存质量的调查报告. *中国中西医结合消化杂志* 2009; 17: 322-325
- McMillan SC, Williams FA. Validity and reliability of the Constipation Assessment Scale. *Cancer Nurs* 1989; 12: 183-188 [PMID: 2743302 DOI: 10.1097/0002820-198906000-00012]
- Broussard BS. The constipation assessment scale for pregnancy. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 1998; 27: 297-301 [PMID: 9620822 DOI: 10.1111/j.1552-6909.1998.tb02652.x]
- Agachan F, Chen T, Pfeifer J, Reissman P, Wexner SD. A constipation scoring system to simplify evaluation and management of constipated patients. *Dis Colon Rectum* 1996; 39: 681-685 [PMID: 8646957 DOI: 10.1007/BF02056950]
- Knowles CH, Eccersley AJ, Scott SM, Walker SM, Reeves B, Lunniss PJ. Linear discriminant analysis of symptoms in patients with chronic constipation: validation of a new scoring system (KESS). *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 1419-1426 [PMID: 11052520 DOI: 10.1007/BF02236639]
- Frank L, Kleinman L, Farup C, Taylor L, Miner P. Psychometric validation of a constipation symptom assessment questionnaire. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 870-877 [PMID: 10522604 DOI: 10.1080/003655299750025327]
- 宋玉磊, 林征, 林琳, 王美峰. 中文版便秘患者症状自评量表的信度与效度研究. *护理学杂志* 2012; 27: 73-76
- Altomare DF, Spazzafumo L, Rinaldi M, Dodi G, Ghiselli R, Piloni V. Set-up and statistical validation of a new scoring system for obstructed defecation syndrome. *Colorectal Dis* 2008; 10: 84-88 [PMID: 17441968 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2007.01262.x]
- Rentz AM, Yu R, Müller-Lissner S, Leyendecker P. Validation of the Bowel Function Index to detect clinically meaningful changes in opioid-induced constipation. *J Med Econ* 2009; 12: 371-383 [PMID: 19912069 DOI: 10.3111/13696990903430481]
- Ueberall MA, Müller-Lissner S, Buschmann-Kramm C, Bosse B. The Bowel Function Index for evaluating constipation in pain patients: definition of a reference range for a non-constipated population of pain patients. *J Int Med Res* 2011; 39: 41-50 [PMID: 21672306 DOI: 10.1177/147323001103900106]
- Rentz AM, van Hanswijck de Jonge P, Leyendecker P, Hopp M. Observational, nonintervention, multicenter study for validation of the Bowel Function Index for constipation in European countries. *Curr Med Res Opin* 2011; 27: 35-44 [PMID: 21083515 DOI: 10.1185/00307995.2010.535270]
- Chan AO, Lam KF, Hui WM, Hu WH, Li J, Lai KC, Chan CK, Yuen MF, Lam SK, Wong BC. Validated questionnaire on diagnosis and symptom severity for functional constipation in the Chinese population. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 483-488 [PMID: 16128687 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2005.02621.x]
- Marquis P, De La Loge C, Dubois D, McDermott A, Chassany O. Development and validation of the Patient Assessment of Constipation Quality of Life questionnaire. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 540-551 [PMID: 16036506 DOI: 10.1080/00365520510012208]
- 赵贞贞, 林征, 王美峰, 张红杰, 王燕. 中文版患者便秘状况评估量表在应用评价中的信效度研究. *中华护理杂志* 2010; 45: 1124-1126
- 金洵, 丁义江, 丁曙晴, 江滨, 张华, 黄新, 王丽雯, 王静. 便秘患者生存质量自评量表PAC-QOL中文版的信度、效度和反应度. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 209-213
- Wang JY, Hart SL, Lee J, Berian JR, McCrea GL, Varma MG. A valid and reliable measure of constipation-related quality of life. *Dis Colon Rectum* 2009; 52: 1434-1442 [PMID: 19617757 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181a51196]
- Hart SL, Albiani JJ, Crangle CJ, Torbit LA, Varma MG. Development and assessment of the constipation-related disability scale. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 183-192 [PMID: 22093056 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04910.x]
- Lewis SJ, Heaton KW. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 920-924 [PMID: 9299672 DOI: 10.3109/00365529709011203]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



腹腔淋巴管瘤临床分析18例

李健, 李正荣, 李映良, 刘正人, 涂发妹, 武彪

李健, 李正荣, 李映良, 刘正人, 涂发妹, 武彪, 南昌大学第一附属医院普外科 江西省南昌市 330006
李健, 硕士, 住院医师, 主要从事普外科疾病的基础及临床研究。
国家自然科学基金资助项目, No.30901429
作者贡献分布: 此课题由李健与李正荣设计; 研究过程由武彪与李正荣指导; 李健、李正荣、李映良、刘正人、涂发妹及武彪完成; 数据分析与论文写作由李健与李正荣完成。
通讯作者: 武彪, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院普外科。
cdyfyxk@126.com
电话: 0791-88692573
收稿日期: 2013-06-05 修回日期: 2013-07-26
接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Abdominal lymphangioma: An analysis of 18 cases

Jian Li, Zheng-Rong Li, Ying-Liang Li, Zheng-Ren Liu, Fa-Mei Tu, Biao Wu

Jian Li, Zheng-Rong Li, Ying-Liang Li, Zheng-Ren Liu, Fa-Mei Tu, Biao Wu, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30901429
Correspondence to: Biao Wu, Professor, Chief Physician, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwai Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. cdyfyxk@126.com
Received: 2013-06-05 Revised: 2013-07-26
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To analyze the clinical manifestations, imaging features, diagnosis and treatment of abdominal lymphangioma.

METHODS: Clinical data for 18 patients with abdominal lymphangioma who received treatment at our hospital from January 2008 to December 2012 were retrospectively analyzed.

RESULTS: Most of the tumors had clear boundaries and were round, oval or lobulated. All patients with tumors ranging from 7 to 19 cm underwent operation. Pathological analysis showed that the tumor was composed of irregular and expanded lymphatic vessels. Postoperative recovery was good in all patients, and no recurrence occurred.

CONCLUSION: Abdominal lymphangioma is a rare clinical abdominal disease, whose diagnosis relies on preoperative comprehensive physical and imaging examinations. The prognosis for abdominal lymphangioma treated by surgery is good.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Abdominal lymphangioma; Treatment

Li J, Li ZR, Li YL, Liu ZR, Tu FM, Wu B. Abdominal lymphangioma: An analysis of 18 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2617-2619 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2617.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2617>

摘要

目的: 初步探讨腹腔淋巴管瘤的临床表现、影像学特点及诊断治疗方法。

方法: 回顾分析我院2008-01/2012-12收治的18例腹腔淋巴管瘤患者的临床资料。

结果: 腹腔淋巴管瘤形状多规则, 界限大多清晰, 成圆形、椭圆形或分叶状, 直径7-19 cm不等。18例患者均行手术治疗, 病理检查示肿瘤由形态不规则的、扩张的淋巴管构成, 术后恢复良好, 均无复发。

结论: 腹腔淋巴管瘤是临床少见的腹腔疾病, 术前需借助体检、影像学检查综合分析, 手术治疗预后较好。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 腹腔淋巴管瘤; 治疗

核心提示: 回顾分析18例腹腔淋巴管瘤患者的临床资料, 初步探讨腹腔淋巴管瘤的临床表现、影像学特点及诊断治疗方法。及时正确行手术治疗, 取得了良好的疗效。

李健, 李正荣, 李映良, 刘正人, 涂发妹, 武彪. 腹腔淋巴管瘤临床分析18例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(25): 2617-2619 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2617.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2617>

■背景资料

淋巴管瘤是淋巴源性良性病变, 可发生在任何包含有淋巴组织的部位, 但腹腔淋巴管瘤是非常少见腹部良性肿瘤。研究腹腔淋巴管瘤的发病情况、临床及影像学特点及诊断治疗方法, 对于临床治疗腹腔淋巴管瘤具有重要意义。

■同行评议者
张国梁, 主任医师, 天津市第一中心医院消化内科

■研发前沿

临床上及时诊断腹腔淋巴瘤, 对疗效及安全性进行全面评价, 及时行手术治疗, 术后进行长期随访, 使患者最大范围内受益, 是目前研究的重点及热点。

0 引言

淋巴瘤是淋巴源性良性病变, 可发生在任何包含有淋巴组织的部位, 但腹腔淋巴瘤是非常少见腹部良性肿瘤。我院普外科2008-01/2012-12共收治18例腹腔淋巴瘤, 均经手术和病理证实, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本组18例患者中, 男性11例, 女性7例, 男性: 女性为1.57: 1, 年龄28-73岁, 中位年龄为47.5岁。其中肠后腹膜淋巴瘤7例(38.9%), 系膜淋巴瘤5例(27.8%), 小肠淋巴瘤4例(22.2%), 结、直肠淋巴瘤2例(11.1%)。

1.2 方法 影像学检查方法及检查结果: 所有病例均行腹部CT平扫检查, 部分病例行腹部超声、核磁共振成像或消化内镜检查, 大多数影像学检查表现为: 腹部囊肿形状多规则, 成圆形、椭圆形或分叶状, 直径7-19 cm不等, 单房囊肿或多房囊肿, 形态多规则, 界限大多清晰, 部分病例肿块压迫临近组织如肾脏、胃壁、脾门等。

2 结果

2.1 临床表现 本组病例中, 单纯腹痛3例(16.7%), 单纯腹胀2例(11.1%), 单纯腹腔内包块5例(27.8%), 腹腔包块+腹痛2例(11.1%), 腹痛+腹胀5例(27.8%), 而体检发现者1例(5.5%)。病程4 d-7年不等。

2.2 治疗效果 所有病例均行手术治疗, 予单纯腹腔肿块切除或连同部分或全部周围组织切除, 同时做病理检查予以确诊, 病理检查示肿瘤由形态不规则的、扩张的淋巴管构成。所有患者术后恢复良好, 随访至今均未发现复发, 疗效满意。

3 讨论

淋巴瘤系淋巴管源性罕见的良性病变, 并非真性肿瘤, 按Harkine法^[1]分为5型: (1)单纯性淋巴瘤; (2)海绵状淋巴瘤; (3)囊性淋巴瘤; (4)淋巴管血管瘤; (5)淋巴管肉瘤。其中以囊性淋巴瘤多见。95%的淋巴瘤发生于颈部和腋窝, 5%可发生于纵隔、脾、骨等器官, 腹腔淋巴瘤临床较少见^[2-4]。腹腔淋巴瘤以囊性多见, 又称为乳糜囊肿或乳糜管瘤, 其病理改变是一种衬以内皮细胞的多个腔体所构成的异常淋巴积液^[5,6]。其病因至今仍未取得一致性意见。Colovic等^[7]学者依据淋巴管系统的发展过程认为由于淋巴管系统胚胎组织缺陷, 淋巴管发育

不全、错构致淋巴管增生, 在逐渐积聚淋巴液的压力影响下致淋巴管扩展而形成。Rieker等、Ryu等及Ozdemir等^[8-10]学者基于临床病例观察总结其病因可能与继发性感染有关, 推断既往手术、外伤、放射治疗等损伤致淋巴管损伤造成淋巴引流受阻。淋巴瘤的生长具有侵袭性^[11,12], 能侵犯周围肠管及实质性脏器, 进而造成邻近组织推压移位, 影响正常生理功能。早期可无症状, 大部分是受累部位症状而发现, 临床症状无特异性, 如腹部不适、腹痛、腹胀、腹泻或便秘, 或仅表现为腹围增加, 部分患者可并发感染及出血, 引起急腹症表现^[13-15]。

淋巴瘤的影像学检查方法主要为超声、CT等, 影像学检查^[16-18]可初步判定肿瘤性质和来源, 了解病变大小、范围及与周围组织关系, 对诊断有一定的特异性, 结合超声及CT检查有助于提高诊断的准确性, 以利于手术方式的确定。淋巴瘤超声多表现为边界光滑的单个或多个囊性包块, 多伴有强回声厚壁分隔光带, 肿块呈均匀无回声液性暗区伴后方增强回声。淋巴瘤CT多表现为单房或多房弥漫性分布, 形态不规则, 沿疏松结缔组织间隙生长形成跨区浸润是淋巴瘤的特点。CT由于能提供其解剖位置、相互毗邻关系、病灶大小及内容物及CT值等更多有价值的信息, 因此对其诊断和鉴别诊断具有重要意义, 应与一些腹部囊性疾病如胰腺假性囊肿、胰腺源性囊性瘤、肿卵巢源性囊性肿瘤等相鉴别, 但腹部淋巴瘤的确诊仍需病理组织学检查。

腹腔淋巴瘤尽管是良性病变, 但其具有侵袭性, 随进展会侵犯周围组织引起周围组织萎缩和功能异常。由于放射治疗等其他治疗方法效果欠佳, 但至今仍以手术切除为首选治疗方案, 手术的难点在于必须完全切除囊肿壁, 否则容易复发。我们的经验是应根据肿瘤大小、侵犯周围情况, 切除的难度和操作的危险性来决定手术方式, 对于感染病例, 应先控制感染后再行手术治疗。根据淋巴瘤浸润性生长的特性, 在术中尽可能一次完整切除瘤体。若肿瘤体积不大或与周围脏器无粘连者, 可行单纯性肿瘤完整切除, 若肿瘤与肠管粘连明显不易完整切除者, 则在切除肿瘤时应切除受累肠管, 若肿瘤同时累及周围脏器者, 必要时连同受累脏器部分或全部切除必要时部分或全部切除受累脏器, 同时结扎周围的淋巴管道, 防止淋巴管漏和肿瘤复发。术中应细心操作, 以防瘤体破裂, 应

■相关报道

施伟斌、全志伟、王雪峰等学者对腹腔淋巴瘤的诊断及治疗等方面进行报道总结了一系列的治疗经验及体会, 取得了很好的治疗疗效。

仔细检查网膜、胃结肠韧带、肝胃韧带、及肠系膜, 以免遗漏多发的小囊肿。本组所有患者均采用手术治疗, 术后恢复良好, 随访至今均无复发, 疗效满意。

4 参考文献

- 1 Leung TK, Lee CM, Shen LK, Chen YY. Differential diagnosis of cystic lymphangioma of the pancreas based on imaging features. *J Formos Med Assoc* 2006; 105: 512-517 [PMID: 16801041]
- 2 Abid M, Loukil I, Feriani N, Mzali R, Khabir A, Frikha MF, Beyrouti MI. [Cystic lymphangioma of the pancreas: an exceptional location]. *Arch Pediatr* 2010; 17: 1546-1549 [PMID: 20943353 DOI: 10.1016/j.arcped.2010.08.017]
- 3 Kasza J, Brody FJ, Khambaty F, Vaziri K, Wallace B. Laparoscopic resection of a retroperitoneal cystic lymphangioma in an adult. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2010; 20: e114-e116 [PMID: 20551789 DOI: 10.1097/SLE.0b013e3181db79a7]
- 4 施伟斌, 全志伟, 王雪峰. 腹腔脏器淋巴管瘤的诊断和治疗20例. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 437-439
- 5 郭学军, 刘鹏程, 王成林, 赵艳, 冯飞, 赵洋. 淋巴管瘤的影像学诊断与病理相关性分析. *临床放射学杂志* 2006; 40: 523-525
- 6 段刚, 许乙凯, 戴琳. 淋巴管瘤的影像学及病理学对照研究. *广东医学* 2007; 28: 449-450
- 7 Colovic RB, Grubor NM, Micev MT, Atkinson HD, Rankovic VI, Jagodic MM. Cystic lymphangioma of the pancreas. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6873-6875 [PMID: 19058318]
- 8 Rieker RJ, Quentmeier A, Weiss C, Kretschmar U, Amann K, Mechtersheimer G, Bläker H, Herwart OF. Cystic lymphangioma of the small-bowel mesentery: case report and a review of the literature. *Pathol Oncol Res* 2000; 6: 146-148 [PMID: 10936792]
- 9 Ryu WS, Kwak JM, Seo UH, Kim SH, Park SS, Kim CS, Lee CH, Mok YJ. Laparoscopic treatment of a huge cystic lymphangioma: partial aspiration technique with a spinal needle. *J Laparosc Adv Surg Tech A* 2008; 18: 603-605 [PMID: 18721013 DOI: 10.1089/lap.2007.0145]
- 10 Ozdemir H, Kocakoc E, Bozgeyik Z, Cobanoglu B. Recurrent retroperitoneal cystic lymphangioma. *Yonsei Med J* 2005; 46: 715-718 [PMID: 16259073]
- 11 Detry B, Bruyère F, Erpicum C, Paupert J, Lamaye F, Maillard C, Lenoir B, Foidart JM, Thiry M, Noël A. Digging deeper into lymphatic vessel formation in vitro and in vivo. *BMC Cell Biol* 2011; 12: 29 [PMID: 21702933 DOI: 10.1186/1471-2121-12-29]
- 12 Kwag E, Shim SS, Kim Y, Chang JH, Kim KC. CT features of generalized lymphangiomatosis in adult patients. *Clin Imaging* 2013; 37: 723-727 [PMID: 23391872 DOI: 10.1016/j.clinimag.2012.12.003]
- 13 Goh BK, Tan YM, Ong HS, Chui CH, Ooi LL, Chow PK, Tan CE, Wong WK. Intra-abdominal and retroperitoneal lymphangiomas in pediatric and adult patients. *World J Surg* 2005; 29: 837-840 [PMID: 15951926]
- 14 Erdem S, Iskender C, Avsar AF, Altundag OB, Ustunyurt E. Benign cystic lymphangioma presenting as a pelvic mass. *J Obstet Gynaecol Res* 2006; 32: 628-630 [PMID: 17100830]
- 15 李建军, 郭怀虎, 刘小平, 陈凛, 李荣. 腹部淋巴管瘤的诊断和治疗. *临床肿瘤学杂志* 2003; 8: 427-430
- 16 毕纯龙, 潘鑫, 万霞, 张蔚, 杨立国. 淋巴管瘤的CT诊断. *放射学实践* 2008; 23: 157-160
- 17 杨冠英, 陈王坚, 黎家强. 10例淋巴管瘤的CT诊断及鉴别诊断. *广东医学院学报* 2011; 29: 270-272
- 18 何勇, 梁锐, 高振明, 王立明. 腹膜后囊性淋巴管瘤的CT诊断及治疗(附5例报道). *中国普外基础与临床杂志* 2010; 17: 1304-1305

■创新盘点

及时正确诊断腹腔淋巴管瘤, 正确的手术治疗及随访, 使患者最大范围内受益。

■同行评价

本文回顾性总结分析18例腹腔淋巴管瘤的临床资料, 讨论充实, 对临床有一定的指导意义和临床参考价值。

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



儿童肠道病毒71型活动性感染与红细胞锌浓度的相关性

刘自刚, 李海波, 王少敏, 徐凤兰

■背景资料

手足口病(hand foot and mouth disease, HFMD)是由多种肠道病毒(多见肠道病毒71型, EV71)引起的常见传染性疾病, 以婴幼儿多见, 其发病涉及小儿营养、免疫等内部因素及病原微生物、环境等外部因素, 二者相互作用决定了病情的发生, 而机体免疫功能的高低又在病情的发展中具有重要作用; 锌与体内200多种酶的活性有关直接参与核酸和蛋白质的合成。锌缺乏可导致细胞免疫和体液免疫功能低下。而红细胞锌浓度的测定干扰因素少, 结果可靠, 在反映人体锌的营养状态时比血浆锌浓度更适合。

■同行评议者

吴泰璜, 教授, 山东省立医院肝胆外科

刘自刚, 李海波, 王少敏, 徐凤兰, 孝感市中心医院 湖北省孝感市 432000

刘自刚, 副主任技师, 主要从事临床生化的检验及质量控制的研究。

湖北省自然科学基金资助项目, No. 2011CDB324

作者贡献分布: 刘自刚负责检验项目检测、数据整理、资料完善及项目主持; 李海波负责临床对象的收集和临床症状的查实; 王少敏为项目负责人和联络者, 项目开展的指导者和组织者; 徐凤兰负责检验项目检测和数据分析。

通讯作者: 王少敏, 主任技师, 432000, 湖北省孝感市广场路6号, 孝感市中心医院。wsm2320@sina.com

收稿日期: 2013-06-24 修回日期: 2013-08-07

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Correlation between active enterovirus type 71 infection and erythrocyte zinc concentration in children

Zi-Gang Liu, Hai-Bo Li, Shao-Min Wang, Feng-Lan Xu

Zi-Gang Liu, Hai-Bo Li, Shao-Min Wang, Feng-Lan Xu, Central Hospital of Xiaogan, Xiaogan 432000, Hubei Province, China

Supported by: the Hubei Provincial Natural Science Foundation, No. 2011 CDB324

Correspondence to: Shao-Min Wang, Chief Technician, Central Hospital of Xiaogan, 6 Guangchang Road, Xiaogan 432000, Hubei Province, China. wsm2320@sina.com

Received: 2013-06-24 Revised: 2013-08-07

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To explore the correlation between active enterovirus type 71 (EV71) infection and erythrocyte zinc concentration in children.

METHODS: Three hundred and ninety-two children who had hand foot and mouth disease were included in this study. Twenty normal children were used as controls. EV71-IgM was detected in the children using the gold standard method. Erythrocyte zinc concentration was measured using flame atomic absorption spectrometry. The correlation between active EV71 infection and erythrocyte zinc concentration was then analyzed.

RESULTS: The erythrocyte zinc concentration was significantly lower in the EV71-IgM(+)

group than in the EV71-IgM(-) group ($83.7 \mu\text{mol/L} \pm 30.1 \mu\text{mol/L}$ vs $100.6 \mu\text{mol/L} \pm 40.2 \mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$). The negative conversion of EV71-IgM (+) was positively correlated with erythrocyte zinc concentration ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Erythrocyte zinc concentration has a significant effect on susceptibility to and treatment of active EV71 infection in children.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: EV71; Active infection; Erythrocyte zinc concentration

Liu ZG, Li HB, Wang SM, Xu FL. Correlation between active enterovirus type 71 infection and erythrocyte zinc concentration in children. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2620-2622 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2620.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2620>

摘要

目的: 探讨儿童肠道病毒71型(enterovirus type 71, EV71)活动性感染与患儿红细胞锌浓度的关系。

方法: 用金标法筛查儿童感染EV71-IgM阳性率, 并用火焰原子吸收光谱法对患儿红细胞锌浓度进行测定, 并对实验数据进行相应的统计分析。

结果: EV71-IgM(+)组红细胞锌($83.7 \mu\text{mol/L} \pm 30.1 \mu\text{mol/L}$)低于EV71-IgM(-)组($100.6 \mu\text{mol/L} \pm 40.2 \mu\text{mol/L}$)($P < 0.05$), EV71-IgM(+)治愈率与红细胞锌浓度值呈正相关($P < 0.05$), 均有显著差异。

结论: 人体红细胞锌水平对EV71病毒活动性感染儿童的发病和疗效均有显著影响。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肠道病毒71型; 活动性感染; 红细胞锌

核心提示: 肠道病毒71型(EV71)是引起手足口病

(hand foot and mouth disease, HFMD)最常见的病毒之一, 临床表现差异很大, 严重影响儿童健康. 锌是机体必需的微量元素之一, 参与机体核酸、蛋白质和多种酶的合成, 能量代谢和氧化还原等过程. 锌在免疫系统的形成、稳定调节及维持机体正常免疫功能方面有重要作用, 锌的缺乏导致机体免疫力低下, 是引起儿童易患感染性疾病的主要原因之一. 本文提示, EV71-IgM(+)HFMD患儿红细胞锌浓度明显低于EV71-IgM(-)患儿, EV71-IgM(+) HFMD患儿红细胞锌浓度偏低者治疗效果差.

刘自刚, 李海波, 王少敏, 徐凤兰. 儿童肠道病毒71型活动性感染与红细胞锌浓度的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2620-2622 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2620.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2620>

0 引言

肠道病毒71型(enterovirus type 71, EV71)是引起手足口病(hand foot and mouth disease, HFMD)最常见的病毒之一, 临床表现差异很大, 严重影响儿童健康. 锌是机体必需的微量元素之一, 参与机体核酸、蛋白质和多种酶的合成, 能量代谢和氧化还原等过程. 锌在免疫系统的形成、稳定调节及维持机体正常免疫功能方面有重要作用, 锌的缺乏导致机体免疫力低下, 是引起儿童易患感染性疾病的主要原因之一. 本文通过对我院在2010-03/2011-08诊治的392例HFMD患儿EV71-IgM和红细胞锌检测结果的分析, 探讨儿童肠道病毒71型活动性感染与红细胞锌浓度关系.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-03/2011-08我院门诊及住院HFMD患儿, 共392例, 男241例, 女151例, 年龄1-3岁, 平均年龄1.92岁±0.81岁, 正常对照组(正常组)20例, 为同一时期来我院健康体检儿童, 其中男12例, 女8例, 年龄1-3岁, 平均年龄1.91岁±0.73岁, 近期内无病毒感染史. 所有男女患者一般资料对比无统计学差异($P>0.05$).

1.2 方法 手足口病患儿及正常对照组儿童均清晨空腹抽2 mL静脉血注入肝素管中送检. 4 h内检测完成, EV71-IgM检测方法为金标法, 检测试剂由北京万泰生物药业股份有限公司提供, 严格按照说明书进行操作. 用原子吸收分光光度法检测红细胞锌浓度, 取肝素抗凝全血约1 mL,

表1 392例HFMD患儿EV71-IgM和红细胞锌浓度检测结果 (n , mean ± SD)

分组	n	红细胞锌($\mu\text{mol/L}$)
EV71-IgM(+)	115	83.7 ± 30.1
EV71-IgM(-)	277	100.6 ± 40.2 ^a
正常对照组	20	100.9 ± 31.3 ^a

^a $P>0.05$ vs EV71-IgM(+). HFMD: 手足口病.

在低速离心机上4000 r/min(相对离心力3648 g)离心10 min, 用微量进样器小心的取下层红细胞40 μL , 加入到样本处理液1.2 mL中, 混匀, 按原子吸收光谱仪的操作说明上机测定, 对照标准曲线, 取得红细胞锌浓度的结果, 检测试剂和仪器均由北京博晖创新公司提供.

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件进行分析, 计量资料采用mean±SD表示, 统计学方法分别采用 t 检验和 χ^2 检验. 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 392例HFMD患儿EV71-IgM阳性率及男女比例 EV71-IgM(+)为115例, 占总数的29.3%, 其中男性患儿74例, 占男性总数的30.7%, 女性患儿41例, 占女性总数的27.2%.

2.2 392例HFMD患儿EV71-IgM及红细胞锌浓度比较 EV71-IgM(+)组的HFMD患儿红细胞锌浓度明显低于EV71-IgM(-)组和正常对照组, 经统计学分析, 均有显著性差异($P<0.05$). EV71-IgM(-)患儿红细胞锌浓度和正常对照组比较相差不多, 统计学分析, 结果无显著性差异($P>0.05$, 表1).

2.3 红细胞锌浓度对EV71-IgM(+)治疗后转阴的影响 将115例EV71-IgM(+)的HFMD患儿, 按红细胞锌浓度的均值分为两组, 治疗后观察EV71-IgM转阴情况(表2). 红细胞锌浓度低于83.7 $\mu\text{mol/L}$ 组治疗后EV71-IgM(+)转阴率低于红细胞锌浓度高于83.7 $\mu\text{mol/L}$ 组, 经统计学分析, 两组之间有显著性差异($P<0.05$).

3 讨论

锌是人体多种酶的组成部分, 在细胞生物学中发挥着重要的作用, 他直接参与了核酸、蛋白质的合成、细胞的分化和增殖以及许多重要的代谢, 是人体生长发育、生殖遗传、免疫、内分泌等重要生理过程中必不可少的物质^[1], 人

■ 研发前沿

对手足口病所涉及的病原微生物研究较多, 临床上对手足口病患儿的治疗和护理也非常重视, 但对患儿的营养状态和微量元素的研究还有待深入.

■ 创新盘点

我们采取测定红细胞锌浓度方法, 可减少外界因素的影响, EV71-IgM(+)HFMD患儿红细胞锌浓度降低与病毒感染有一定的关系, EV71-IgM(+)HFMD患儿红细胞锌浓度的高低与病情的发展有一定关系.

■应用要点

建立对HFMD患儿EV71-IgM和红细胞锌浓度的检测,可以反映HFMD患儿EV71活动性感染的发生发展及转归情况,因此可以作为HFMD患儿的临床治疗及提高疗效的新考量指标。

表 2 红细胞锌浓度对EV71-IgM(+)治疗后转阴的影响 (n)

分组(μmol/L)	治疗后阳性	治疗后阴性	治疗前阳性
<83.7	32 ^a	29	61
>83.7	17	37	54

^aP<0.05 vs >83.7 μmol/L治疗后阳性。

体内锌总量减少时,会引起免疫组织受损以及免疫功能缺陷^[2,3]。血液中80%以上的血锌在细胞内,主要在红细胞内,白细胞在血液中更替快,含锌量比红细胞多25倍,理论上对体内微量元素的变化更为敏感,但白细胞分离手续较繁^[4]。头发是容易取得的组织,发锌在一定程度上可反映一个人的锌营养状态,但毛发蛋白质结构可吸收和贮存来自自来水、洗发膏、环境灰等所含的锌,测定易受外来因素影响^[5,6]。因此我们采取测定红细胞锌浓度方法,经过离心后采集红细胞样本,可减少外界因素的影响。

本实验表明, EV71-IgM(+)HFMD患儿红细胞锌浓度明显低于EV71-IgM(-)患儿,一定范围内锌水平的降低,其机制可能与锌参与各种蛋白的合成、促进病变细胞凋亡、保护细胞抵御病毒的侵袭有关^[7,8], Glaser等^[9]发现给予锌螯合剂可抑制病毒的复制,可明显地保护细胞抵御病毒的侵袭;国内也有学者发现,轮状病毒肠炎患儿血锌明显低于正常儿童血锌水平,在常规治疗的基础上佐以补锌对于提高RV肠炎的疗效有良好的作用^[10,11]。

本实验还发现,随着红细胞锌浓度的降低, EV71-IgM(+)的HFMD患儿治疗转阴率也明显降低,说明红细胞锌浓度与EV71-IgM(+)的HFMD患儿治疗转阴率呈正相关,这提示体内锌水平对EV71感染的治疗方面有重要作用,可能与缺锌导致机体免疫功能下降有关。有资料显示,锌缺乏时,可使Cu/Zn-SOD的活性降低,组织抗氧化能力降低, Cu/Zn-SOD作为核修复酶的必须成分,可减轻自由基对DNA的损伤,当体内锌水平下降后, Cu/Zn过氧化物歧化酶活性下降,细胞受损伤后不易修复,自由基生成增多,从而促进淋巴细胞损伤^[12,13]。红细胞内富含锌,研究

发现,锌与红细胞免疫功能有较大的关系。红细胞的免疫功能是清除循环免疫复合物,促进和增强吞噬作用,识别和储存抗原及递呈抗原,增强T细胞免疫依赖性反应,锌缺乏可导致红细胞免疫粘附功能降低,从而导致机体免疫能力下降。除了特异性的体液免疫和细胞免疫外,锌还对非特异性免疫系统也有着重要的调控作用^[14,15]。

总之,通过建立对HFMD患儿EV71-IgM和红细胞锌浓度的检测,可以反映HFMD患儿EV71活动性感染的发生发展及转归情况,因此可以作为HFMD患儿的临床治疗及提高疗效的新的考量指标。

4 参考文献

- Powell SR. The antioxidant properties of zinc. *J Nutr* 2000; 130: 1447S-1454S [PMID: 10801958]
- 罗治彬, 吴嘉惠, 徐采朴. 中毒剂量锌对大鼠小肠粘膜抗体产生的影响. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 363-364
- 张萍, 张奕奕. 儿童血锌钙铁水平及其与儿童疾病和健康的关系. *中国全科医学* 2010; 13: 3096-3098
- 陈善昌, 胡静云, 陈栋, 彭小媚. 肝炎后肝硬化患者血清、红细胞和白细胞的锌、铜、铁含量变化及其临床观察. *国际检验医学杂志* 2011; 32: 1910-1910
- 刘立志. 浅谈儿童发锌检测结果分析. *中国现代药物应用* 2010; 4: 54-55
- 黄弋石, 季莘, 李春建, 丁亦清. 南通市1118例患儿发锌、铅含量与分析. *广东微量元素科* 2010; 17: 9-11
- Hambidge KM. Zinc and pneumonia. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 991-992 [PMID: 16685039]
- 钟喜标. 影响小儿反复呼吸道感染危险因素研究. *国际医药卫生导报* 2012; 18: 3290-3292
- Glaser W, Triendl A, Skern T. The processing of eIF4GI by human rhinovirus type 2 2A(pro): relationship to self-cleavage and role of zinc. *J Virol* 2003; 77: 5021-5025 [PMID: 12663811]
- 康春华, 叶毅桦, 赵伟. 小儿轮状病毒肠炎血锌水平变化及补锌治疗. *昆明医学院学报* 2010; 31: 109-113
- 刘俊峰, 高峰, 王东颖, 黄军华, 任瑞峰. 轮状病毒肠炎儿童血锌水平变化及其与体液免疫的相关性研究. *中国医药导报* 2012; 09: 142-43
- Kondoh M, Kamada K, Kuronaga M, Higashimoto M, Takiguchi M, Watanabe Y, Sato M. Antioxidant property of metallothionein in fasted mice. *Toxicol Lett* 2003; 143: 301-306 [PMID: 12849690]
- 王育强, 任仲轩. 慢性病毒性肝炎患者红细胞C3b受体活性与血锌含量的关系. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 95-95
- 韩军花, 杨月欣, 何梅. 锌对红细胞膜ATP酶活性影响的研究. *卫生研究* 2001; 30: 47-49
- King LE, Fraker PJ. Zinc deficiency in mice alters myelopoiesis and hematopoiesis. *J Nutr* 2002; 132: 3301-3307 [PMID: 12421843]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



■同行评价

本文设计合理,资料完整,图表清晰,创新性较好,有一定指导意义。

肝糖原累积病1例

左丽丽, 吴华美, 杨黎宏, 唐映梅, 杨晋辉

左丽丽, 吴华美, 杨黎宏, 唐映梅, 杨晋辉, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科 云南省肝病中心 云南省昆明市 650101

左丽丽, 在读硕士, 主要从事肝脏疾病的研究。

作者贡献分布: 本文由左丽丽完成; 吴华美、杨黎宏、唐映梅及杨晋辉审核。

通讯作者: 杨晋辉, 主任医师, 650101, 云南省昆明市昆瑞路112号, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科, 云南省肝病中心。zll_2011321@163.com

电话: 0871-65351281-2288

收稿日期: 2013-07-09 修回日期: 2013-08-06

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Hepatic glycogen storage disease: A case report

Li-Li Zuo, Hua-Mei Wu, Li-Hong Yang, Ying-Mei Tang, Jin-Hui Yang

Li-Li Zuo, Hua-Mei Wu, Li-Hong Yang, Ying-Mei Tang, Jin-Hui Yang, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Medicine, Center for Liver Diseases, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Correspondence to: Jin-Hui Yang, Chief Physician, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Medicine, Center for Liver Diseases, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 112 Kunrui Road, Kunming 650101, Yunnan Province, China. zll_2011321@163.com

Received: 2013-07-09 Revised: 2013-08-06

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

A 14-year-old male patient was admitted due to recurrent epistaxis for twelve years and growth retardation for more than five years. Physical examination revealed that he had hepatosplenomegaly, mild liver function abnormalities and fasting hypoglycemia. He was diagnosed with hepatic glycogen storage disease by a liver biopsy. Glycogen storage disease is a rare clinical entity whose prognosis greatly relies on early diagnosis and reasonable treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Glycogen storage disease; Hepatomegaly; Diagnosis; Treatment

Zuo LL, Wu HM, Yang LH, Tang YM, Yang JH. Hepatic glycogen storage disease: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2623-2626 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2623.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2623>

www.wjgnet.com/1009-3079/21/2623.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2623>

摘要

患儿, 男, 14岁, 主因反复鼻出血12年, 生长发育迟缓5年余入院。入院后检查发现患儿肝脾肿大、肝功能轻度异常、空腹血糖低, 经肝穿刺活检确诊为肝糖原累积病。肝糖原累积病临床少见, 早期诊断及合理治疗对本病预后非常重要。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 糖原累积病; 肝肿大; 诊断; 治疗

核心提示: 肝糖原累积病作为一种遗传代谢性疾病, 临床少见, 临床医师应提高对本病的认识, 以减少漏诊、误诊, 从而做到早发现、早诊断和早治疗, 这对本病的预后非常重要。同时需长期随访了解疾病的进展, 指导临床治疗, 改善预后。

左丽丽, 吴华美, 杨黎宏, 唐映梅, 杨晋辉. 肝糖原累积病1例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(25): 2623-2626 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2623.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2623>

0 引言

糖原累积病(glycogen storage disease, GSD)是一种罕见的由先天性酶缺陷所导致的糖代谢障碍疾病, 由于糖原代谢的酶缺陷, 以致过量的糖原或异常分子的糖原、中间代谢产物贮存于组织器官内如肝脏、肌肉、心脏、肾脏等而引起临床病变。本病临床少见, 临床表现各异, 早期诊断困难, 而早期诊断及合理治疗对本病预后非常重要。本病国内报道极少, 现将我院1例典型病例并文献复习报道如下。

1 病例报告

患儿, 男, 14岁, 因反复鼻出血12年, 生长发育迟缓5年余于2012-11-04入院。患儿12年前无明显诱因反复出现鼻出血, 时为单侧, 时为双侧, 需

■背景资料

糖原累积病 I 型是由于基因突变导致葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G6Pase)缺失或活性缺乏而引起的肝细胞微粒体膜缺陷的遗传代谢性疾病。由于糖原代谢的酶缺陷, 以致过量的糖原或异常分子的糖原、中间代谢产物贮存于组织器官内如肝脏、肌肉、心脏、肾脏等而引起临床病变。本病临床少见, 早期诊断及合理治疗对本病预后非常重要。

■同行评议者

徐迅迪, 教授, 中南大学湘雅二医院肝胆胰外科

■ 研发前沿

目前糖原累积病 I 型(glycogen storage disease type I, GSD-I) 的诊断方法和治疗措施虽已日渐成熟, 早期诊断、合理的饮食、辅助治疗虽可改善生活质量、延缓病情、减少并发症的发生, 但都属于对症治疗, 基因治疗成为研究的热点, 未来有望成为根治GSD-I 型的方法。

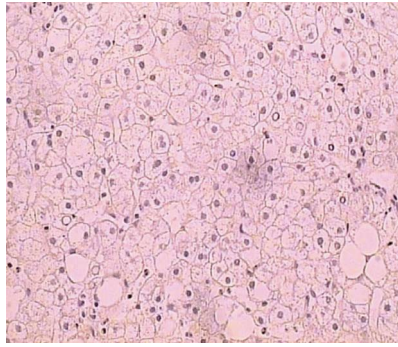


图 1 肝组织HE染色($\times 200$). 肝细胞轻度肿胀, 似植物细胞, 伴大泡性脂肪变性。

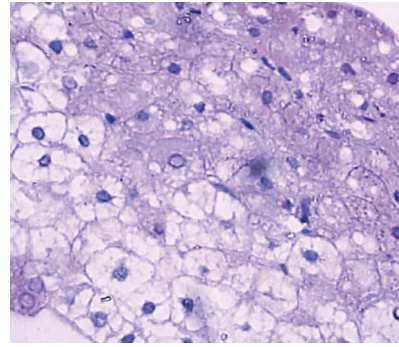


图 2 肝组织PAS染色($\times 400$). 部分细胞内充满红色阳性物质, Dpas(+).

用药物止血, 否则出血持续3-4 d, 偶感活动后气促、心慌, 无呕血、黑便、牙龈出血, 无恶心、呕吐、腹痛、腹胀、皮肤巩膜黄染, 无发热、咳嗽、咳痰、晕厥等症状, 反复在当地医院(丽江市人民医院、鹤庆县中医院、大理州人民医院等)就诊, 行相关检查发现肝脾双肾肿大、肝功异常, 予保肝等对症支持治疗, 症状无好转。于近5年发现发育迟缓, 身高增长7 cm, 体质量增加4-5 kg, 遂至我市儿童医院就诊, 发现胰岛素样生长因子结合蛋白和胰岛素样生长因子均减低, 又至我院耳鼻喉科住院, 均未明确诊断, 现为行进一步诊治门诊以“肝脾肿大查因”收住我科。自患病以来精神、饮食、睡眠欠佳, 小便正常, 自幼大便质稀、黄色, 2-3次/d, 体质量如前述。患儿系足月顺产, 父母非近亲结婚, 其妹患有先心病, 否认其他家族遗传病史。既往史无特殊。查体: 体温 36.5°C , 脉搏100次/min, 呼吸20次/min, 血压105/60 mmHg。无特殊面容, 体质量26 kg, 身高125 cm, 轻度营养不良, 五官端正, 无畸形, 意识清楚, 精神欠佳, 智力正常。皮肤、黏膜无黄染, 浅表淋巴结不大, 颈软。心率100次/min, 律齐, 心音有力, 于三尖瓣听诊区可闻及舒张期吹风样2/6级杂音, 双肺听诊未闻及异常。腹部膨隆, 软, 肝右肋下3 cm, 剑突下5 cm可触及, 质软, 表面光滑, 边缘钝, 无压痛及叩击痛。脾于左肋下4 cm可触及, 质软, 边缘钝, 无压痛。移动性浊音阴性, 肠鸣音正常, 双下肢不肿。外生殖器发育不成熟, 无阴毛, 阴茎及阴囊均小。生理反射存在, 病理反射未引出。我市儿童医院(2010-05-26)G-6PD酶活性: 10.60 U/gHb(参考值5.9-12.0 U/gHb); 胰岛素样生长因子结合蛋白3: 2.01 mg/L(参考值2.7-8.9 mg/L), 胰岛素样生长因子 I: 25.00 ng/mL(参考值143-693 ng/mL); 生长激素正常; 手掌骨龄测算片示: 骨龄约相当于

10.9岁骨龄(实际年龄为约12.5岁)。入院后我院检查资料示: 凝血功能正常; 血常规: 白细胞 $1.94 \times 10^9/\text{L}$, 中性粒细胞绝对值 $0.32 \times 10^9/\text{L}$, 红细胞 $4.16 \times 10^{12}/\text{L}$, 血红蛋白107 g/L, 血小板 $459 \times 10^9/\text{L}$; OGTT试验: 空腹葡萄糖3.10 mmol/L, 餐后1 h葡萄糖7.50 mmol/L, 餐后2 h葡萄糖6.80 mmol/L; 血生化: 白蛋白43.5 g/L, 球蛋白43.2 g/L, A/G比值1.01, 丙氨酸氨基转氨酶45 U/L, 天门冬氨酸氨基转氨酶70 U/L, 碱性磷酸酶157 U/L, 尿素氮2.03 mmol/L, 肌酐 $20 \mu\text{mol/L}$, 尿酸 $432 \mu\text{mol/L}$, 甘油三酯3.44 mmol/L, 葡萄糖3.55 mmol/L, 铁3.7 mmol/L; 甲、乙、丙、戊型肝炎、艾滋病、梅毒病毒血清标志物均阴性; 铜蓝蛋白: 0.700 g/L(正常值为0.2-0.6 g/L); 骨髓检查示: 粒、红、巨三系明显增生, 各系细胞形态未见明显异常。B超示: (1)肝大、脾大声像; (2)双肾体积增大声像; (3)胆、肝外显示段、胰未见明显异常声像; (4)腹主动脉旁未见异常声像。心电图检查示: (1)窦性心动过速; (2)部分导联T波轻度改变; (3)左心室高电压。心脏彩超示: 轻度三尖瓣返流。MRI示肝脾肿大, 脂肪肝。肝穿组织病检查结果回示: 肝细胞广泛透明变性, 胞浆空淡, 细胞轻度肿胀, 似植物细胞, 伴大泡性脂肪变性(图1)、Dpas(+), 部分细胞内充满红色阳性物质(图2), 小叶内未见明显坏死灶, 窦周纤维化。门管区未见明显病变。免疫组织化学染色: CK19和CK7显示胆管正常。HbsAg(-)。其符合糖原累积症。结合患儿临床表现诊断为糖原累积病 I 型。本例诊断明确后主经少食多餐(高蛋白、低脂和富含维生素饮食)、口服生玉米淀粉、保肝、升白细胞等治疗后患儿精神、饮食、睡眠情况较前明显改善, 心情也大为改观。后因其白细胞及中性粒细胞低下考虑可能为患儿脾大、脾功能亢进所致, 经与其家属沟通后, 其愿意选择部分脾

■ 相关报道

王彦丽等研究国人肝糖原累积症的临床特点显示其首诊误诊率为33.3%。故对其认识仍有待提高。

动脉栓塞术, 术后多次查血常规: 白细胞基本为 $2.72 \times 10^9/L$, 中性粒细胞绝对值 $0.39 \times 10^9/L$, 血小板 $444 \times 10^9/L$, 较前有所改善, 病情好转后出院. 随后多次返院复查, 父母代述每天保证1-2餐生玉米淀粉, 辅以牛奶等加餐后患儿一般情况较前有显著改善, 课堂效率明显提高, 身高增加1 cm, 体质量增加1 kg, 出院至今未再发生鼻出血. 复查血常规: 白细胞基本保持在 $2.71 \times 10^9/L$, 中性粒细胞绝对值 $0.37 \times 10^9/L$, 血小板 $424 \times 10^9/L$ 左右. 凝血功能正常. B超示: 肝大, 轻度脂肪肝声像. 脾脏及双肾脏大小正常. 患儿的一般情况及生活质量明显改善说明我们的治疗是有效的, 但白细胞及中性粒细胞水平升高不明显, 说明部分脾动脉栓塞术效果有限, 选择何种方案解决这个问题以及怎样最大限度改善患儿的长期预后是我们下一步需要做的.

2 讨论

糖原累积病(glycogen storage disease, GSD)是一种罕见的由先天性酶缺陷所导致的糖代谢障碍疾病, 大多为常染色体隐性遗传, 少数属x连锁隐性遗传. 根据酶缺陷不同和糖原在体内沉积部位的不同分为14个型, 其中 I、III、IV、VI、IX型以肝脏病变为主, V、VII型以肌肉组织受损为主. 临床上以糖原累积病 I 型(glycogen storage disease type I, GSD-I)最常见, 其发病率约为1/10万^[1]. GSD-I型是由于基因突变导致葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G6Pase)缺失或活性缺乏而引起的肝细胞微粒体膜缺陷的遗传代谢性疾病. 主要有GSD-I a和GSD-I b两种亚型, 其中 I a型约占80%, I b型约占20%^[2].

GSD-I型多发生于婴儿、幼儿和青少年儿童, 近些年来国外报道较多, 国内偶见报道. 由于其临床表现、影像学检查及检验结果缺乏特异性, 早期诊断困难, 本例患儿先后到多家医院就诊, 均未明确诊断, 对患者的生理、心理及家庭经济造成了极大的伤害. 为明确诊断在知情同意下并签定肝穿刺活检手术同意书后行肝穿刺活检术, 病检结果回示符合糖原累积症. 结合患儿反复鼻出血、身材矮小、发育迟缓、空腹低血糖、高尿酸血症、高脂血症、肝脾肾脏增大等, 临床诊断为GSD-I型. 由于本院条件有限尚不能行该病的基因测定, 结合中性粒细胞水平低下^[3,4], 考虑为糖原累积病 I b型. 本病治疗的总目标是维持血糖正常, 抑制低血糖所继发

的各种代谢紊乱, 从而减轻临床症状、延缓并发症的出现, 以提高生活质量、改善长期预后. 本病目前尚无特效治疗, 其中饮食治疗是本病的主要治疗手段, 主要通过少食多餐、口服生玉米淀粉治疗, 在疾病的早期, 合理的饮食治疗可以改善生活质量、延缓病情、减少并发症的发生; 由于许多病例发现时已有很多不可逆转的并发症, 故需采用其他辅助治疗措施以改善症状及长期预后. 例如本例患儿予以还原型谷胱甘肽保肝治疗及重组人粒细胞集落刺激因子升白细胞治疗等. 脾大脾功能亢进者, 亦可像本例患儿一样选择部分脾动脉栓塞术, 但其效果因人而异. 有条件者(特别是并发肝腺瘤者)可选择肝移植^[5], 而干细胞移植^[6]也可为本病提供一种新的治疗手段; 未来的基因治疗有望成为根治GSD-I型的方法^[7], 为患者带来了一丝曙光. 当然本病是一种需要终身治疗的疾病, 不治疗和不正确治疗都会造成严重后果.

GSD-I型的诊断方法和治疗措施虽已日渐成熟, 患儿的平均生存年龄也有明显提高, 但随着年龄增长, 各种并发症也日益突出, 其中肝腺瘤恶变和进行性肝肾功能不全是主要的死亡原因. 因此, 需长期随访了解疾病的进展, 指导临床治疗, 改善预后.

总之, 本病罕见, 临床上常由于对其缺乏认识而导致无法确诊甚至误诊误治, 王彦丽等^[8]研究国人肝糖原累积症的临床特点显示其首诊误诊率为33.3%. 早期诊断及合理治疗对本病预后非常重要. 结合本例我们有如下体会: (1)临床上发现反复鼻出血、生长发育迟缓、空腹低血糖、高尿酸血症、高脂血症、肝脾肾脏增大等要考虑GSD可能; (2)GSD可有肝脾肿大、肝酶学轻度异常, 如本例ALT、AST轻度升高, 但这些变化为非特异性的, 应注意与能引起同样表现的疾病相鉴别, 如脂肪性肝炎、酒精性肝病、肝豆状核变性以及肝淀粉样变等; (3)由于本病影像学表现无特异性, 实验室指标个体差异大, 病理学检查或基因检测^[9]成为确诊依据, 本例在当地多家医院及本市多家医院虽行系列检查, 但因未行肝穿刺活检, 故均未能明确诊断. 入住我科后, 经查阅大量文献并作为疑难病例讨论后, 予行肝穿刺活检而明确诊断, 同时提高了本科医师对该病的认识; (4)本病目前虽无特效治疗, 但合理的饮食治疗可以改善患者的生活质量、延缓病情、减少并发症的发生; (5)早发现、早诊断、早治疗对本病的预后也有重要

■创新盘点

本文介绍1例经肝穿活检明确诊断的肝糖原累积病, 详细描述了其诊治经过, 同时结合相关文献复习, 概括了本病的病因、临床表现、诊断及治疗现状.

■应用要点

本文报道了1例典型的肝糖原累积病病例并结合相关文献从多个方面阐述本病, 有助于临床医师了解本病. 同时表明对不明原因的肝损伤患者, 肝穿刺活检占有重要地位.

■同行评价

本文以1例报告为基础结合复习文献,从病因、临床表现、诊断以及治疗现状等诸方面进行了总结、分析和阐述,对临床工作有一定指导意义。

的意义。需长期随访了解疾病的进展,指导临床治疗,改善预后。

3 参考文献

- Ozen H. Glycogen storage diseases: new perspectives. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2541-2553 [PMID: 17552001]
- 王霞, 邱文娟. 糖原累积病 I 型研究进展. *国际儿科学杂志* 2008; 35: 436-438
- D'Eufemia P, Finocchiaro R, Celli M, Zambrano A, Tetti M, Ferrucci V, Lenti L. Absence of severe recurrent infections in glycogen storage disease type Ib with neutropenia and neutrophil dysfunction. *J Inherit Metab Dis* 2007; 30: 105 [PMID: 17187242]
- Chou JY, Jun HS, Mansfield BC. Neutropenia in type Ib glycogen storage disease. *Curr Opin Hematol* 2010; 17: 36-42 [PMID: 19741523 DOI: 10.1097/MOH.0b013e328331df85]
- Maheshwari A, Rankin R, Segev DL, Thuluvath PJ. Outcomes of liver transplantation for glycogen storage disease: a matched-control study and a review of literature. *Clin Transplant* 2012; 26: 432-436 [PMID: 22066793 DOI: 10.1111/j.1399-0012.2011.01549.x]
- Pierre G, Chakrapurakal G, McKiernan P, Hendriksz C, Lawson S, Chakrapani A. Bone marrow transplantation in glycogen storage disease type 1b. *J Pediatr* 2008; 152: 286-288 [PMID: 18206704 DOI: 10.1016/j.jpeds]
- Koeberl DD, Kishnani PS, Bali D, Chen YT. Emerging therapies for glycogen storage disease type I. *Trends Endocrinol Metab* 2009; 20: 252-258 [PMID: 19541498 DOI: 10.1016/j.tem.2009.02.003]
- 王彦丽, 崔巍, 刘沛. 国人肝糖原累积症的临床特点研究. *中国全科医学* 2012; 8: 2531-2532
- Fingerman M, Fingerman SW. The effects of 5-hydroxytryptamine depletors and monoamine oxidase inhibitors on color changes of the fiddler crab, *Uca pugnator*: further evidence in support of the hypothesis that 5-hydroxytryptamine controls the release of red pigment-dispersing hormone. *Comp Biochem Physiol C* 1975; 52: 55-59 [PMID: 205 DOI: 10.1515/CCLM.2010.244]

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。

《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 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^a P < 0.05$, $^b P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^c P < 0.05$, $^d P < 0.01$; 第三套为 $^e P < 0.05$, $^f P < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如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: wcyj@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!

卜平 教授
扬州大学医学院, 苏北人民医院消化内科308病区

陈炳官 教授
上海东方国际医院普外科; 上海东方医院消化医学部; 同济大学附属东方医院

陈洪 副教授
东南大学附属中大医院消化科

丁惠国 教授
首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

范恒 教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科

傅晓辉 副教授
东方肝胆外科医院

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

韩天权 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

何向辉 教授
天津医科大学总医院普通外科

何晓顺 教授
中山大学附属第一医院

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆外科

姜慧卿 教授
河北医科大学第二医院消化科

李胜 研究员
山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

刘炳亚 研究员
上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

刘海林 主任医师
上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

马欣 主任医师
甘肃省人民医院消化科

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

秦建民 主任医师
上海中医药大学附属普陀医院普外科

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

孙诚谊 教授
贵阳医学院附属医院院长办

万军 教授
中国人民解放军总医院南楼老年消化科

汪思应 教授
安徽医科大学

魏继福 研究员
江苏省人民医院

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

肖秀英 副主任医师
上海市徐汇区中心医院肿瘤科

颜宏利 教授
中国人民解放军第二军医大学医学遗传学教研室

杨建民 教授
浙江省人民医院消化内科

余日胜 主任医师
浙江大学医学院附属第二医院放射科

喻春钊 教授
南京医科大学第二附属医院普通外科九区

郑鹏远 教授
郑州大学第二附属医院消化科

《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>

