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

世界华人消化杂志

世界华人消化杂志®

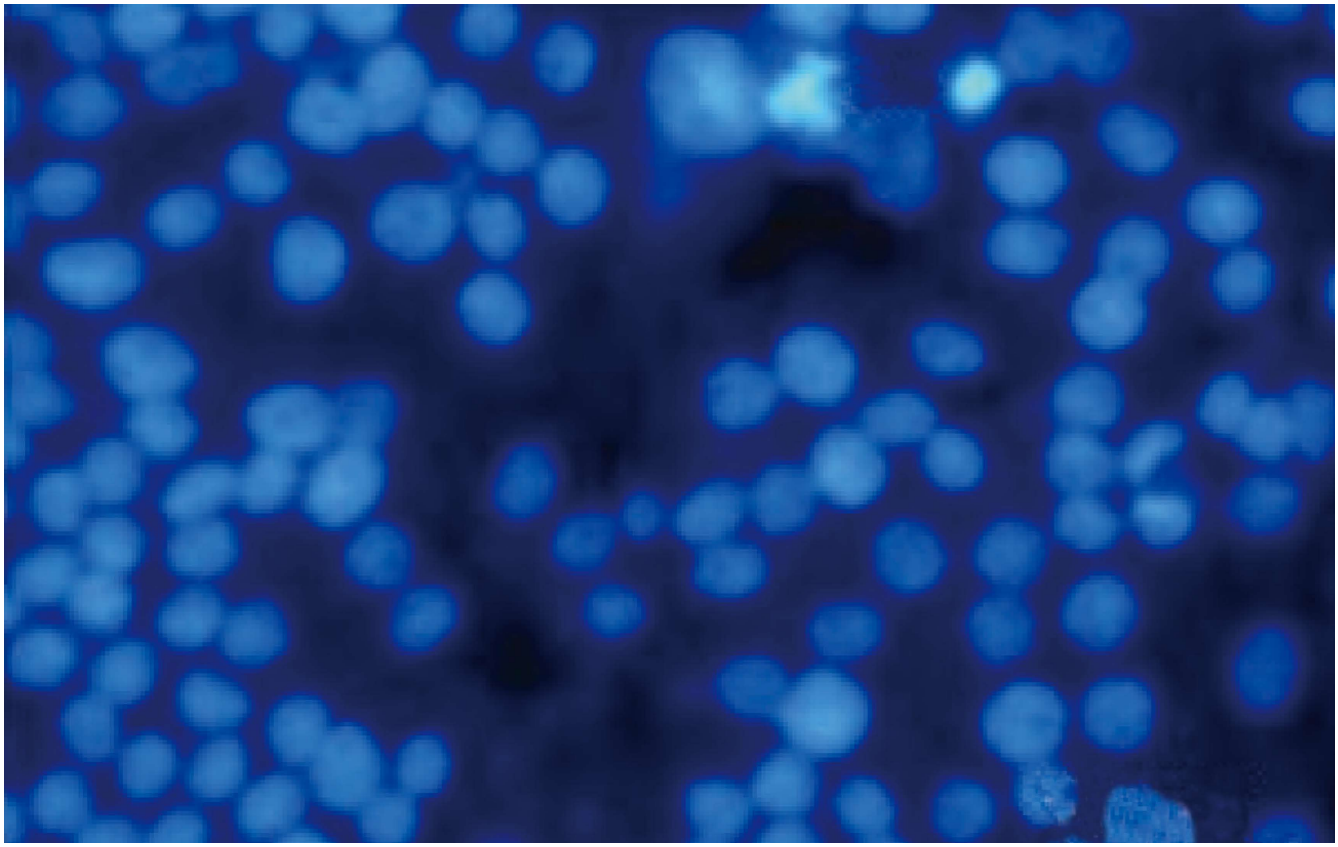
WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 12 月 28 日　第 21 卷　第 36 期　(Volume 21 Number 36)

www.wjgnet.com

二零一三年十二月二十八日　第二十一卷　第三十六期



36/2013

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
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
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
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
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
庹必光教授
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
陈凛教授
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
英卫东教授
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
邰升副教授
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
侯凤刚副教授
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
宁钧宇副研究员
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
阴赖宏研究员
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 18 日　第 21 卷　第 26 期　(总第430期)

述　评

2627 从生存质量角度评估永久性结肠造口对直肠癌患者的影响
宋新明, 李欣欣

基础研究

2633 氯膦酸二钠脂质体对重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜Akt、MAPK(ERK1/2)活性的影响
陈吉祥, 刘彬, 党胜春, 陈敏, 姜德立, 王坤, 王平江, 张建新

临床研究

2641 胃肠道常见的B细胞淋巴瘤中CARMA1与NF-κB表达的关系
裴媛媛, 杨文秀, 孟青, 陈琴, 李品浩

2649 原发性肝细胞癌CDC25A的表达与多普勒超声影像特征的关联性分析
郭艳, 王茜, 杨志杰

文献综述

2655 糖尿病参与肝炎病毒相关性肝癌发生的研究进展
张慧, 张庆

2661 肾素-血管紧张素系统在急性胰腺炎中的调控作用
黄元龙, 邓明明

2668 梗阻性黄疸肠黏膜屏障损伤病理生理机制的研究进展
王娜, 姜慧卿

2674 幽门螺杆菌免疫根除的研究与治疗
朱振红, 唐旭东, 王凤云, 郭朋

2679 循环肿瘤细胞分子鉴定与个体化肿瘤诊疗
李军, 殷正丰

研究快报

2685 TLR9在脂多糖诱导的急性胰腺炎体外细胞模型中的作用
张露艺, 唐国都, 唐曦平, 梁志海, 詹媛, 李维维

2690 白术内酯对小鼠结肠癌细胞增殖能力的影响
高小玲, 汪保英, 陈玉龙, 宰炎冰, 白明

临床经验

2694 食管静脉曲张套扎术和口服普萘洛尔治疗肝硬化食管静脉曲张的疗效对比
芦永福, 郜茜, 王韵, 蒋汉梅

2698 丙氨酰谷氨酰胺在食管癌术后的应用与护理
黄春珍, 王芳, 许梦玫, 汤琴, 刘丽英

2702 胆囊切除后胆汁反流对胃窦黏膜上皮细胞病理学影响
黎永军, 胡咏泉, 陈卫刚, 李睿, 陈云昭, 田德安

2708 熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎疗效的系统评价
赵振飞, 高鸿亮, 姚萍

2717 胃癌弱差异基因表达谱建立的生物学意义
孙伟, 高芳, 龙启福, 王晓龙, 朱德锐, 顾存林, 安娟, 党国全, 吴穹

2724 抑癌基因*p16*与胃腺癌患者XELOX方案化疗预后的关系
高平, 高亚杰

2728 肝移植受者早期EC-MPS药代动力学的临床特点
李鹏飞, 谢俊杰, 陈冰, 金佳斌, 邓侠兴, 陈皓, 沈柏用, 彭承宏

2734 腹腔镜胆囊切除术治疗“高危”胆囊结石93例
蔡治方, 兑丹华, 兰天罡, 刘尧, 黄辉

2739 原发性十二指肠腺瘤的手术方式
周兵, 刘斌, 汪正伟, 王飞通, 魏鑫, 牛坚

2743 促胃肠动力药在便秘患者结肠镜检查前肠道清洁中的作用
曾捷, 王秋女, 冯维智, 何和钦

2748 信号转导与转录活化因子3与胃癌上皮间质转化的关系及意义
卢书明, 陈美如, 宣金燕, 刘丽娜, 吕申, 李岩

2754 儿童消化性溃疡小剂量克拉霉素治疗的疗效
张晴, 宋家英, 胡绍举, 程洁, 敖仇波

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

2632 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊
2640 《世界华人消化杂志》正文要求
2648 《世界华人消化杂志》出版流程
2654 《世界华人消化杂志》修回稿须知
2667 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
2673 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
2689 《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
2693 《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)
2707 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
2733 百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录
2738 《世界华人消化杂志》外文字符标准
2742 *WJG*总被引频次排名位于第174名
2747 《世界华人消化杂志》参考文献要求
2758 《世界华人消化杂志》栏目设置

封面故事

《世界华人消化杂志》编委, 宋新明, 教授, 510080, 广东省广州市, 中山大学附属第一医院胃肠胰外科

本期责任人

编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 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; 最终清样审核总编辑 马连生

世界華人消化雜志

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 2013-09-18
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编
程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

制作
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

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

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

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流.

特别声明
本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价
每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

September 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 26

EDITORIAL

2627 Impact of permanent stoma on health-related quality of life in patients with rectal cancer
Song XM, Li XX

BASIC RESEARCH

2633 Liposomal clodronate reduces Akt and mitogen-activated protein kinase expression in the intestinal mucosa of rats with severe acute pancreatitis
Chen JX, Liu B, Dang SC, Chen M, Jiang DL, Wang K, Wang PJ, Zhang JX

CLINICAL RESEARCH

2641 Correlation between expression of CARMA1 and NF-κB proteins in common subtypes of gastrointestinal B cell lymphoma
Pei YY, Yang WX, Meng Q, Chen Q, Li PH

2649 Correlation between expression of CDC25A and Doppler ultrasound features in primary hepatocellular carcinoma
Guo Y, Wang Q, Yang ZJ

REVIEW

2655 Progress in understanding role of diabetes mellitus in the development of hepatitis virus-related hepatocellular carcinoma
Zhang H, Zhang Q

2661 Regulatory role of the rennin-angiotensin system in acute pancreatitis
Huang YL, Deng MM

2668 Pathogenesis of intestinal barrier dysfunction in obstructive jaundice
Wang N, Jiang HQ

2674 Immune factors affecting eradication of *Helicobacter pylori*: Implications for immunotherapy
Zhu ZH, Tang XD, Wang FY, Guo P

2679 Molecular characterization of circulating tumor cells and individualized cancer diagnosis and therapy
Li J, Yin ZF

RAPID COMMUNICATION

2685 Role of TLR9 in pathogenesis of lipopolysaccharide-induced acute pancreatitis in an *in vitro* model
Zhang LY, Tang GD, Tang XP, Liang ZH, Zhan Y, Li WW

2690 Atractylenolide II significantly reduces proliferation of mouse colon cancer cells
Gao XL, Wang BY, Chen YL, Zai YB, Bai M

CLINICAL PRACTICE

2694 Curative effect of endoscopic variceal ligation versus oral propranolol in management of esophageal varices
Lu YF, Gao Q, Wang Y, Jiang HM

2698 Clinical effect of alanyl-glutamine in patients with esophageal carcinoma after surgery
Huang CZ, Wang F, Xu MM, Tang Q, Liu LY

2702 Bile reflux after cholecystectomy affects histology of gastric antral epithelial cells
Li YJ, Hu YQ, Chen WG, Li R, Chen YZ, Tian DA

2708 Ursodeoxycholic acid for treatment of bile reflux gastritis: A systematic review
Zhao ZF, Gao HL, Yao P

2717 Biological significance of profiling of weakly differentially expressed genes in gastric cancer
Sun W, Gao F, Long QF, Wang XL, Zhu DR, Gu CL, An J, Dang GQ, Wu Q

2724 Relationship between p16 protein expression and prognosis in patients with gastric adenocarcinoma treated with XELOX chemotherapy
Gao P, Gao YJ

2728 Pharmacokinetic characteristics of enteric-coated mycophenolate sodium in liver transplant recipients early after transplantation
Li PF, Xie JJ, Chen B, Jin JB, Deng XX, Chen H, Shen BY, Peng CH

2734 Treatment of gallstones in high-risk patients using laparoscopic cholecystectomy: Analysis of 93 cases
Cai ZF, Dui DH, Lan TG, Liu Y, Huang H

2739 Surgical treatments for primary duodenal adenoma
Zhou B, Liu B, Wang ZW, Wang FT, Wei X, Niu J

2743 Role of mosapride in improvement of bowel preparation before colonoscopy in patients with constipation
Zeng J, Wang QN, Feng WZ, He HQ

2748 Relationship between STAT3 activation and epithelial-mesenchymal transition in gastric carcinoma
Lu SM, Chen MR, Xuan JY, Liu LN, Lv S, Li Y
2754 Clinical effect of small dose clarithromycin-based triple therapy in treatment of children peptic ulcer
Zhang Q, Song JY, Hu SJ, Cheng J, Ao CB

APPENDIX
Ⅰ－Ⅴ Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology*
Ⅰ Meeting events calendar in 2013

ACKNOWLEDGMENT
Ⅰ Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*

COVER
Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Xin-Ming Song, Professor, Department of GI Surgery, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE
Assistant Editor: *Xin-Xin Che* Review Editor: *Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu* Electronic Page Editor: *Jin-Li Yan*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Peng Guo* Proof Editor: *Ying Tian*
Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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 18, 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 Publishing Group Co., Limited. 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.

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2627-2632
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

从生存质量角度评估永久性结肠造口对直肠癌患者的影响

宋新明, 李欣欣

宋新明, 中山大学附属第一医院胃肠胰外科 广东省广州市 510080
李欣欣, 汕头大学医学院第一附属医院胃肠外科 广东省汕头市 515041
宋新明, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事结直肠癌的外科临床和基础研究.
作者贡献分布: 宋新明选题并指导论文的撰写; 李欣欣检索资料并撰写论文.
通讯作者: 宋新明, 教授, 510080, 广东省广州市中山二路58号, 中山大学附属第一医院胃肠胰外科. songxm2010@163.com
电话: 020-87755766
收稿日期: 2013-06-21 修回日期: 2013-07-13
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-18

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Rectal neoplasms; Stoma; Quality of life

Song XM, Li XX. Impact of permanent stoma on health-related quality of life in patients with rectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2627-2632 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2627.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2627

■**背景资料**
直肠癌是我国最常见的恶性肿瘤之一. 直肠癌患者术后常要面对排便、泌尿、性功能及社会、心理等各方面的损害. 其中永久性肠造口给患者带来多大的影响一直是最受关注的问题之一.

Impact of permanent stoma on health-related quality of life in patients with rectal cancer

Xin-Ming Song, Xin-Xin Li

Xin-Ming Song, Department of GI Surgery, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China
Xin-Xin Li, Department of GI Surgery, the First Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, Shantou 515041, Guangdong Province, China
Correspondence to: Xin-Ming Song, Professor, Department of GI Surgery, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, 58 Zhongshan Er Road, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China. songxm2010@163.com
Received: 2013-06-21 Revised: 2013-07-13
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-18

Abstract
Colorectal cancer is the third most common malignancy in China, with the incidence rising year by year. Despite major improvement in treatment of rectal cancer over the past two decades, surgery is still the preferred curative treatment. As a traumatic procedure, resection of the rectum compromises psychological aspects, defecation, micturition and sexual function. Of all factors that possibly influence the patient's quality of life, permanent stoma is always one of the biggest concerns. Health-related quality of life (HRQoL) provides an important instrument to judge this problem from the view of patients. This article will review the progress in research of quality of life in rectal cancer patients with permanent stoma and analyze the QoL domains affected by stoma and the factors which can affect the QoL assessment.

摘要
在我国, 结直肠癌的发病率已经上升至恶性肿瘤的第3位, 目前根治性手术仍是直肠癌的首选治疗方式. 但直肠癌患者术后常要面对排便、泌尿、性功能及社会、心理等各方面的损害. 其中永久性肠造口给患者带来多大的影响一直是最受关注的问题之一. 生存质量测评为医疗工作者提供了一个从患者的角度看待这个问题的工具. 本文就直肠癌永久性肠造口患者的生存质量研究进展、肠造口对患者生存质量影响的主要领域以及影响评估的因素做一述评.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 直肠癌; 造口; 生活质量

核心提示: 本文就直肠癌永久性肠造口患者的生存质量研究进展、肠造口对患者生存质量影响的主要领域以及影响评估的因素作一述评.

宋新明, 李欣欣. 从生存质量的角度评估永久性结肠造口对直肠癌患者的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2627-2632 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2627.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2627

0 引言
直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一, 我国低位直肠癌约占全部直肠癌的3/4[1,2]. 相对于高位直肠癌, 低位直肠癌患者术后生存质量受损更为严重[3-5], 其中永久性腹壁肠造口的影响无疑是最受关注的因素之一. 临床工作中, 医生们经常要

■**同行评议者**
肖秀英, 副主任医师, 上海市徐汇区中心医院肿瘤科

■研发前沿
生存质量测评提供了一个工具, 使医疗工作者得以从另一个角度去评价造口给患者造成多大的影响.

思考的重要问题是永久性肠造口给患者的生存质量(health-related quality of life, HRQoL), 简称QoL, 带来多大的损害? 生存质量测评提供了一个工具, 使医疗工作者得以从患者的角度去看待这个问题.

1 直肠癌术后永久性肠造口的生存质量研究

生存质量研究起源于20世纪30年代的美国, 在80年代形成医学领域的研究热潮[6]. 1993年在日内瓦召开的世界卫生组织生存质量研讨会上将生存质量概念界定为: 不同文化和价值体系中的个体, 对与他们的目标、期望、标准以及所关心的事情有关的生存状况的体验[7]. 由于很多肿瘤难以治愈, 生存质量评估在肿瘤治疗中更被重视和强调, 在一定程度上甚至决定着手术或其他治疗的决策[8], 直肠癌就是一个典型例子. 直肠癌术后患者常要面对排便、泌尿、性功能及社会、心理等各方面功能损害. 当前的医疗模式对外科医师提出更高的要求, 需达到“功能”与“根治”两者的紧密结合, 提高术后生活质量[9]. 这其中, 造口对生存质量的影响一直是被讨论最多的.

永久性肠造口患者生存质量研究始于20世纪70年代, 早期研究毫无例外的都指出造口对生存质量的恶劣影响: 得分严重下降[10-13], 身体形象恶化, 社会隔绝增加[14]等等. 但医学全面的进步、生存质量研究的深入和对造口认识的加深使得研究结论逐渐产生变化, 一些研究[5,15,16]发现经腹会阴联合切除术(abdominoperineal resection, APR)患者的生存质量并不比直肠前切除术(anterior resection, AR)患者的低, 在有些领域的生存质量造口患者甚至更好. Pachler等[17]在2010年综述了包括3675例患者的26篇临床研究文献, 发现有10项研究结果显示APR或者Hartmannn手术患者术后生存质量并不逊于AR手术患者, 其余的研究结果也仅在部分领域的生存质量上认为保肛优于造口手术. 到了2012年, 这个系列综述再次更新[18], 纳入的研究增加到了35项, 病例数达到5127例, 但是结论依然相同. 从这个Cochrane系列综述可以看到, 永久性造口给患者带来的影响仍有进一步研究的空间, 而对于永久性造口与保留肛门的低位直肠癌患者术后生活质量孰优孰劣的问题仍然没有定论.

2 永久性肠造口对生存质量影响的主要领域

2.1 肠道和排便功能 肠道和排便功能一直是直肠癌术后医生与患者关注的主要领域. 保肛患者术后常见症状包括肠蠕动活跃、便秘、腹胀、便频、便急甚至大便失禁等, 尤其是低位前切除术后出现大便失控的几率更高. 而造口患者除了排便控制问题, 更困扰他们的还有排气和身体异味.

早期的一些研究[13,19]多显示造口患者排便方面的生存质量得分比行前切除术者差, 造口者几乎100%不能控便, 并且因为造口排气和身体异味容易造成患者及身边人的不快, 对饮食的限制明显多于保肛者. 后来的研究结果有所不同, Grumann等[5]与Frigell等[20]的研究显示对此领域的生存质量, 造口的影响与保肛者并无明显差异. 到了近年, 又有Jess等[21]和Pucciarelli等[22]的研究证明肠造口对此领域的生存质量影响很小, 而低位前切除术后的排便失禁则影响严重[23]. 可以看到, 造口患者在肠道和排便功能方面的生存质量随着医学进步在逐渐改善, 我们认为, 这与造口治疗、护理方面的研究发展以及造口护理材料的研制开发是密不可分的.

2.2 性功能 直肠癌术后患者较易出现性功能障碍, 随着直肠全系膜切除结合盆腔自主神经保护(pelvic autonomic nerve preservation, PANP)手术技术的开展和推广, 可使盆腔神经得到仔细辨认并加以保护, 减少了术后性功能障碍发生率, 但PANP术后勃起功能障碍发生率仍达32.7%, 射精功能障碍发生率也有44.2%[24]. 从生存质量测量的结果来看, 男性APR术后的勃起和射精障碍发生率非常高, 为18%-92%[13,19,25], AR术后较低为9%-30%[3,26,27]. 这与两者手术方式和切除范围不同不无关系, 但必须强调的是, 其中也存在由于造口导致心理障碍的因素. 张华等[28]的研究提示部分患者担心造口不卫生, 担心性生活会有害于配偶及影响病情, 导致对性生活冷淡, 甚至性障碍. 说明心理障碍确实存在于一部分患者群体中, 像这样因康复知识缺乏引起的心理障碍是可以通过术前术后的健康教育和知识宣讲来有效纠正的. 而有些患者的心理障碍则是由疾病带来的压抑情绪、身体感觉的改变和造口引起的视觉及心理不适造成, 继而引起性功能障碍, 这种障碍则需要更专业的心理辅导治疗.

2.3 心理功能 既往的研究多显示造口术后患者发生心理障碍者明显高于保肛术者[19,29]. 研究显示造口患者因造瘘口的存在而在身体形象和完整性的评估上明显差于保肛患者, 再加上臭味

及大便失禁等给患者带来的社会隔绝增加和心理影响, 都导致造口患者更容易出现心理障碍. 直肠癌术后心理障碍主要表现为压抑、孤独、自杀倾向、耻辱感、自卑感及焦虑. 年龄和性别是重要的影响因素, 年轻患者心理障碍明显多于老年患者, 而女性多于男性[30]. 但近年的一些研究显示造口组与保肛组间并无显著差异. 在Sideris等[31]的研究中除欧洲癌症研究与治疗组织生存质量量表外加行了焦虑症和抑郁症的量表调查, 结果发现造口组与保肛组间并无显著性差异. Campos-Lobato等[32]用测量心理功能的mSF-36量表调查发现, 术前APR比LAR组患者得分明显降低, 而术后6、12、36 mo则两组差异没有统计学意义. 可见随着社会的进步和人们对疾病和造口认识水平的逐步提高, 造口造成的心理障碍正在逐渐减少.

2.4 社会功能 造口术后患者因造瘘口的存在、臭味和大便失禁而不愿接触社会, 而保肛术后患者也因为大便失禁、便频等排便功能障碍而限制了社会活动[20]. 生存质量的研究中多发现前者的社会功能全面差于后者. Frigell等[20]和William等[19]报道, 保肛者术后重新工作者为79%, 而造口者仅为20%. 造口者发生社会关系恶化显著多于保肛者, 并且出现婚姻问题者更多[30], 但是大多数患者与亲人朋友的关系并无损害[20]. 大多数直肠癌患者术后社会活动减少, 而造口患者减少的程度更加严重[19].

社会功能领域的生存质量多与患者年龄和性别密切相关. Macdonald等[30]报道, 在造口者中, 女性比男性差, 年轻患者差于老年患者. 国内的一些研究也得到了相近的结果, 许勤等[33]对直肠癌造口患者用造口患者社会心理适应量表OAI-23进行研究, 发现女性患者的社会心理适应水平较男性患者低. 这些结果提示随访人员在术后随访时应该更加关注女性和年轻造口患者.

3 影响永久性肠造口生存质量评估的因素

3.1 术后时间 直肠癌术后随着患者机体创伤的逐渐修复、功能锻炼的开展和对日常生活的适应, 生存质量各领域得分随着时间能逐渐恢复. Camilleri-Brennan等[34]和陈静等[35]的研究显示直肠癌术后3 mo内, 大多数生存质量指标比术前明显下降, 3-6 mo后, 逐渐回升到术前的水平, 患者自我评价的总体生存质量得分和情感功能得分明显高于术前. Ramsey等[36]的研究也显示术后5年以上的直肠癌术后患者总体生存质量均很高, 大部分患者对自己的生活质量“很满意”.

但是, 有的学者[31]认为永久性造口会是直肠癌患者一个无法抹除的大伤疤, 尽管手术造成的其他创伤可以修复, 肠造口带来的身体形象的损害却永远无法消除. 但更多的研究显示在长期生存的患者中, 造口与保肛手术患者的生存质量没有明显区别. 日本的Hamashima等[37]报道, 在术后5年以上的患者中, 影响生存质量的主要因素是生活方式、肠道症状和日常活动, 而造瘘口对生存质量已没有明显影响. 得到类似结果的还有Campos-Lobato等和Arndt等[32,38]的研究. 术后需要多长的时间肠造口对患者的影响才能逐渐消褪仍无定论.

3.2 性别与年龄 生存质量作为一个反映主观感受的多维指标, 很多领域都与性别、年龄密切相关. 在造口与保肛问题上, 也有很多研究显示男性与女性的术后生存质量存在差别, 除了少数研究[39], 大多数结果[37,31,41,42]显示男性造口患者的生存质量好于女性. 分析其原因, Marquis等[40]认为很多直肠癌男性患者年纪较大和已经退休, 不会因为工作而影响造口的护理. Pérez Lara等[42]认为是女性比男性有更多的健康和生理问题, 有更长的生存时间. Sideris等[31]则发现女性有更多的疲劳和食欲丧失的问题. Krouse等[41]设计的直肠癌术后永久性造口与非造口患者生存质量临床配对实验, 结果显示只有女性在总体生存质量和心理感受等项目上才有差异, 而男性没有. 而且, 造口对于年龄<75岁的女性影响更为明显, 由此强调需重点关注<75岁女性造口患者术后生存质量情况.

3.3 经济状况与教育程度 造口患者每个月需要有固定的支出来维持造口设备的消耗和更新, 有些还要支付造口护理和治疗费, 长期积累下来, 在手术及放化疗费用之外也是一笔不小的支出. 因此在社会底层的患者群体中, 会出现因为经济状况影响造口护理而导致生存质量下降的情况. 另外, 教育程度低对于理解及配合造口护理也是一个障碍. 在Kuzu等[4]在穆斯林人群的研究里, 来自于社会较穷苦、收入较低和教育程度较低的老百姓, 因为经济原因对造口无法进行适当、积极的护理及康复治疗, 使得造口对生存质量的影响大于其他阶层患者. 来自发达国家的研究也得到同样的结果, Coons等[43]对美国退伍军人造口患者进行了生存质量调查, 发现因为经济困难难以负担造口设备与总体生存质量低下相关. 法国的研究[31]也有相似的结

■相关报道
从Cochrane的系列综述可以看到, 永久性造口与保留肛门的低位直肠癌患者术后生活质量孰优孰劣的问题到目前仍无定论.

■**创新盘点**
永久性肠造口对生存质量影响的主要领域包括肠道和排便功能、性功能、心理功能和社会功能. 影响直肠癌患者对永久性肠造口生存质量评估的因素包括术后时间、性别与年龄、经济状况与教育程度、地理位置与宗教信仰、造口护理与健康教育和所用的生存质量量表等.

果. 在我国, 张华等[28]对直肠癌永久性结肠造口患者术后6 mo内的生存质量用C30和CR38进行了调查, 发现经济困难得分随时间的延长也在增加, 认为购买造口用品以及治疗所需的费用给患者的经济带来一定的压力. 要提高造口患者的生存质量, 需要采取措施减少患者因造口带来的经济负担.

3.4 地理位置与宗教信仰 生存质量测定强调了个体的主观体验、文化背景和价值观念, 他根植于患者所处的文化和社会环境中. 患者的宗教信仰、地理位置、社会环境都会对生存质量产生影响. Holzer等[44]进行了一个包括了欧洲与地中海地区的11个国家13个中心的直肠癌术后生存质量多中心前瞻性研究, 发现生存质量呈由北欧、中欧、南欧到阿拉伯和亚洲地区的由北向南的逐步下降, 生存质量最差的数据来自穆斯林人群. 作者分析认为除了宗教, 气候也是原因之一, 在气候温暖的地区, 造口对患者的影响显得更突出, 而地处北方的国度, 患者可以把造口“藏”到厚重的衣服里. 在其中一个中心, Kuzu[4]对穆斯林人群进行了研究, 发现造口患者因为排便等使生存质量受到了显著的影响, 有些患者甚至因此影响了日常祷告和斋戒, 从而对社会功能领域的生存质量影响巨大. 对不同地域、文化背景及宗教信仰的造口患者生存质量进行研究和分析可以更具体的指导康复治疗和心理辅导.

3.5 造口护理与健康教育 术后造口护理技术和造口相关并发症防治水平的提高都能有效减轻造口给患者带来的身体痛苦和生活不便, 提高生活质量. 刘珊[45]通过对造口患者进行包括造瘘口护理、心理疏导、增加家庭及社会关爱和出院后护理的干预措施, 发现比仅进行常规护理的患者生活质量多个领域都有明显改善. Shibata等[46]也认为对造口护理与结肠灌洗等进行正确的指导, 可以有效减少造口带来的问题, 提高患者生存质量. 除了造口护理, 心理辅导及健康教育等也能减轻患者的心理压力, 减少社会隔绝, 路潜等[47,48]的研究发现参加造口联谊会的患者在心理功能和减轻负性情绪方面要好于未参加者.

从一些研究我们可以看到造口护理技术水平和覆盖范围较大的地区造口患者的生存质量要好于较落后地区, 造口护理技术水平较高的年代造口患者的生存质量要好于较落后的年代. Holzer等[44]的多中心研究结果显示欧洲造口患者术后生存质量比阿拉伯地区高, 与欧洲大陆术后造口护理覆盖范围较广也有关系, 造口师的指导和咨询对改善造口患者的生活质量起到了很大的作用. 在专业造口师指导下, 患者较容易克服造口带来的问题, 甚至能自己采用一些工具或措施如造口灌洗等改善排便功能.

3.6 生存质量量表 生存质量测定量表按照使用对象分为普适量表、疾病专表和领域专表. 因为单用普适量表和癌症专用量表都不能涵括直肠癌的症状维度, 不够全面和敏感, 因此近年来直肠癌患者术后生存质量测定多采用包括了癌症专用量表及结直肠癌专用量表的组合式量表, 但选用哪一份量表并无规则标准可依. 有研究发现, 即使对于同一人群, 用不同的量表得到的生存质量测定结果也存在差异.

Jess等[21]在2002年用了普适量表SF-36测量发现APE患者除心理健康外的所有领域生存质量差于AR患者, 但差异无统计学意义. 而用疾病特异性量表FIQL测量却发现在绝大多数领域的生存质量APE差于AR患者, 且差异有统计学意义. 同样在2002年, Kuzu等[4]与Camilleri-Brennan等[49]也用了SF-36量表进行研究, 结果与Jess的研究又有所不同. Kuzu等发现APE患者生存质量明显差于AR患者. 而Camilleri的研究显示APE除了身体形象方面得分差于AR外, 其余得分差异无统计学意义. 也许只有像这样应用同一量表进行的研究, 才更有可比性, 得到的结果才有足够说服力. 因此, 在研究目的和方案相近的研究中应该尽量规范使用相同的经过验证的生存质量量表.

4 结论

从以上的生存质量研究可以看到, 造口对于直肠癌患者的影响根据年龄、性别、经济、教育、宗教、地域等有所区别, 也会随着时代的变动、医学的进步不断变化. 生存质量评估为医疗工作者提供了另一个看待这个问题的角度, 让我们可以更客观、全面的去评价造口对患者的影响, 更具体更有针对性的进行随访、后续治疗和健康教育, 甚至协助医师制订手术方案. 从现有的研究来看, 造口对直肠癌患者带来的影响或许并不如大多数人想象中那么可怕.

展望未来的直肠癌生存质量研究, 如果能将直肠癌患者术后生存质量测评结果标准化及量化, 与人口学和临床因素等综合分析, 解答诸如具备什么样特征的患者术后更能承受永久性造口带来的不良影响的实际问题, 甚至总结、

研发“直肠癌术后生存质量风险评估(评分)系统”, 将可以协助外科医生高度个体化的量身定做中下段直肠癌患者的手术方案.

5 参考文献

1 Steward B W KP. World Cancer Report. Lyon: IARC Press, 2003

2 吴菲, 林国桢, 张晋昕. 我国恶性肿瘤发病现状及趋势. 中国肿瘤 2012; 21: 81-85

3 Engel J, Kerr J, Schlesinger-Raab A, Eckel R, Sauer H, Hölzel D. Quality of life in rectal cancer patients: a four-year prospective study. *Ann Surg* 2003; 238: 203-213 [PMID: 12894013 DOI: 10.1097/01.sla.0000080823.38569.b0]

4 Kuzu MA, Topçu O, Uçar K, Ulukent S, Unal E, Erverdi N, Elhan A, Demirci S. Effect of sphincter-sacrificing surgery for rectal carcinoma on quality of life in Muslim patients. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 1359-1366 [PMID: 12394435 DOI: 10.1097/01.DCR.0000027033.51575.21]

5 Grumann MM, Noack EM, Hoffmann IA, Schlag PM. Comparison of quality of life in patients undergoing abdominoperineal extirpation or anterior resection for rectal cancer. *Ann Surg* 2001; 233: 149-156 [PMID: 11176118]

6 郑良成, 田辉荣, 谢培增. 医学生存质量评估. 北京: 军事医学科学出版社, 2005

7 WHO. Development of the WHO Quality of Life Assessment Instrument. In: WHO, ed. Geneva, 1993

8 Avery K, Blazeby JM. Quality of life assessment in surgical oncology trials. *World J Surg* 2006; 30: 1163-1172 [PMID: 16794901 DOI: 10.1007/s00268-006-0075-8]

9 郁宝铭. 当前直肠癌治疗的策略. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2371-2376

10 Sprangers MA, Taal BG, Aaronson NK, te Velde A. Quality of life in colorectal cancer. Stoma vs. non-stoma patients. *Dis Colon Rectum* 1995; 38: 361-369 [PMID: 7720441]

11 Küchenhoff J, Wirsching M, Drüner HU, Herrmann G, Köhler C. Coping with a stoma - a comparative study of patients with rectal carcinoma of inflammatory bowel diseases. *Psychother Psychosom* 1981; 36: 98-104 [PMID: 7342166]

12 Zieren HU, Jacobi CA, Zieren J, Müller JM. [Assessment of quality of life after resection of colorectal carcinoma]. *Chirurg* 1996; 67: 703-708; discussion 709 [PMID: 8925699]

13 Camilleri-Brennan J, Steele RJ. Quality of life after treatment for rectal cancer. *Br J Surg* 1998; 85: 1036-1043 [PMID: 9717993 DOI: 10.1046/j.1365-2168.1998.00808.x]

14 Keltikangas-Järvinen L, Loven E, Möller C. Psychic factors determining the long-term adaptation of colostomy and ileostomy patients. *Psychother Psychosom* 1984; 41: 153-159 [PMID: 6729011]

15 Vironen JH, Kairaluoma M, Aalto AM, Kellokumpu IH. Impact of functional results on quality of life after rectal cancer surgery. *Dis Colon Rectum* 2006; 49: 568-578 [PMID: 16583289 DOI: 10.1007/s10350-006-0513-6]

16 Harisi R, Bodoky G, Borsodi M, Flautner L, Weltner J. Rectal cancer therapy: decision making on basis of quality of life? *Zentralbl Chir* 2004; 129: 139-148 [PMID: 15106048 DOI: 10.1055/s-2004-818743]

17 Pachler J, Wille-Jørgensen P. Quality of life after rectal resection for cancer, with or without permanent colostomy. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; (2): CD004323 [PMID: 15846707 DOI: 10.1002/14651858.CD004323.pub3]

18 Pachler J, Wille-Jørgensen P. Quality of life after rectal resection for cancer, with or without permanent colostomy. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 12: CD004323 [PMID: 23235607 DOI: 10.1002/14651858.CD004323.pub4]

19 Williams NS, Johnston D. The quality of life after rectal excision for low rectal cancer. *Br J Surg* 1983; 70: 460-462 [PMID: 6871635]

20 Frigell A, Ottander M, Stenbeck H, Påhlman L. Quality of life of patients treated with abdominoperineal resection or anterior resection for rectal carcinoma. *Ann Chir Gynaecol* 1990; 79: 26-30 [PMID: 2357050]

21 Jess P, Christiansen J, Bech P. Quality of life after anterior resection versus abdominoperineal extirpation for rectal cancer. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 1201-1204 [PMID: 12408526]

22 Pucciarelli S, Del Bianco P, Toppan P, Serpentini S, Efficace F, Pasetto LM, Friso ML, De Salvo GL, Nitti D. Health-related quality of life outcomes in disease-free survivors of mid-low rectal cancer after curative surgery. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1846-1854 [PMID: 18459006 DOI: 10.1245/s10434-008-9923-0]

23 马骏, 冯勇, 丛进春, 刘恩卿. 低位直肠癌保肛术后的吻合口水平对排便功能及生活质量的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17: 221-224

24 汪建平, 杨祖立, 唐远志, 王磊. 直肠癌根治术中盆腔自主神经保留对男性性功能的影响. 中国实用外科杂志 2003; 23: 46-48

25 Hojo K. [Treatment of colorectal cancer]. *Gan To Kagaku Ryoho* 1986; 13: 192-202 [PMID: 3947103]

26 Filiberti A, Audisio RA, Gangeri L, Baldini MT, Tamburini M, Belli F, Parc R, Leo E. Prevalence of sexual dysfunction in male cancer patients treated with rectal excision and coloanal anastomosis. *Eur J Surg Oncol* 1994; 20: 43-46 [PMID: 8131868]

27 Heald RJ, Karanjia ND. Results of radical surgery for rectal cancer. *World J Surg* 1992; 16: 848-857 [PMID: 1462619]

28 张华, 李峥. 永久性结肠造口患者生存质量的调查分析. 中华护理杂志 2006; 41: 594-597

29 Wirsching M, Drüner HU, Herrmann G. Results of psychosocial adjustment to long-term colostomy. *Psychother Psychosom* 1975; 26: 245-256 [PMID: 1234660]

30 MacDonald LD, Anderson HR. Stigma in patients with rectal cancer: a community study. *J Epidemiol Community Health* 1984; 38: 284-290 [PMID: 6512480]

31 Sideris L, Zenasni F, Vernerey D, Dauchy S, Lasser P, Pignon JP, Elias D, Di Palma M, Pocard M. Quality of life of patients operated on for low rectal cancer: impact of the type of surgery and patients' characteristics. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 2180-2191 [PMID: 16228842 DOI: 10.1007/s10350-005-0155-0]

32 Campos-Lobato LF, Alves-Ferreira PC, Lavery IC, Kiran RP. Abdominoperineal resection does not decrease quality of life in patients with low rectal cancer. *Clinics* (Sao Paulo) 2011; 66: 1035-1040 [PMID: 21808871]

33 许勤, 程芳, 戴晓冬, 杨宁琍. 永久性结肠造口患者社会心理适应及相关因素分析. 中华护理杂志 2010; 45: 883-885

■应用要点

生存质量评估为医疗工作者提供了另一个看待这个问题的角度, 让我们可以更客观、全面的去评价造口对患者的影响, 更具体更有针对性的进行随访、后续治疗和健康教育, 甚至协助医师制订手术方案. 从现有的研究来看, 造口对直肠癌患者带来的影响或许并不如大多数人想象中那么可怕.

■同行评价
本文不仅为肿瘤学专业医师提供指导，也为直肠癌患者造口后生活质量评估提供依据.

34 Camilleri-Brennan J, Steele RJ. Prospective analysis of quality of life and survival following mesorectal excision for rectal cancer. *Br J Surg* 2001; 88: 1617-1622 [PMID: 11736975 DOI: 10.1046/j.0007-1323.2001.01933.x]

35 陈静, 赵嫚, 谢强, 孙玉华, 梁健. 直肠癌手术后患者48例生存质量评定. 世界华人消化杂志 2006; 14: 819-822

36 Ramsey SD, Andersen MR, Etzioni R, Moinpour C, Peacock S, Potosky A, Urban N. Quality of life in survivors of colorectal carcinoma. *Cancer* 2000; 88: 1294-1303 [PMID: 10717609]

37 Hamashima C. Long-term quality of life of postoperative rectal cancer patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 571-576 [PMID: 12084031]

38 Arndt V, Merx H, Stegmaier C, Ziegler H, Brenner H. Restrictions in quality of life in colorectal cancer patients over three years after diagnosis: a population based study. *Eur J Cancer* 2006; 42: 1848-1857 [PMID: 16829069 DOI: 10.1016/j.ejca.2006.01.059]

39 Grundmann R, Said S, Krinke S. [Quality of life after rectal resection or extirpation. A comparison using different measurement parameters]. *Dtsch Med Wochenschr* 1989; 114: 453-457 [PMID: 2924698 DOI: 10.1055/s-2008-1066617]

40 Marquis R, Lasry JC, Heppell J, Potvin C, Falardeau M, Robidoux A. [Quality of life of patients after restorative surgery for cancer of the rectum]. *Ann Chir* 1992; 46: 830-838 [PMID: 1299163]

41 Krouse RS, Herrinton LJ, Grant M, Wendel CS, Green SB, Mohler MJ, Baldwin CM, McMullen CK, Rawl SM, Matayoshi E, Coons SJ, Hornbrook MC. Health-related quality of life among long-term rectal cancer survivors with an ostomy: manifestations by sex. *J Clin Oncol* 2009; 27: 4664-4670 [PMID: 19720920 DOI: 10.1200/JCO.2008.20.9502]

42 Pérez Lara FJ, Navarro Piñero A, de la Fuente Perucho A. Study of factors related to quality of life in patients with locally advanced rectal cancer. *Rev Esp Enferm Dig* 2004; 96: 746-757 [PMID: 15584848 DOI: 10.4321/S1130-01082004001100002]

43 Coons SJ, Chongpison Y, Wendel CS, Grant M, Krouse RS. Overall quality of life and difficulty paying for ostomy supplies in the Veterans Affairs ostomy health-related quality of life study: an exploratory analysis. *Med Care* 2007; 45: 891-895 [PMID: 17712260 DOI: 10.1097/MLR.0b013e318074ce9b]

44 Holzer B, Matzel K, Schiedeck T, Christiansen J, Christensen P, Rius J, Richter P, Lehur PA, Masin A, Kuzu MA, Hussein A, Oresland T, Roche B, Rosen HR. Do geographic and educational factors influence the quality of life in rectal cancer patients with a permanent colostomy? *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 2209-2216 [PMID: 16228820 DOI: 10.1007/s10350-005-0194-6]

45 刘珊. 护理干预对结直肠癌造口患者生活质量影响的临床研究. 中国实用医药 2009; 4: 188-190

46 Shibata D, Guillem JG, Lanouette N, Paty P, Minsky B, Harrison L, Wong WD, Cohen A. Functional and quality-of-life outcomes in patients with rectal cancer after combined modality therapy, intraoperative radiation therapy, and sphincter preservation. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 752-758 [PMID: 10859073]

47 路潜, 郭蕾蕾, 王静. 直肠癌结肠造口病人生活质量的研究. 中华护理杂志 2002; 37: 8-11

48 郭蕾蕾, 路潜, 王静. 直肠癌结肠造口患者自我护理状况及健康需求的调查. 解放军护理杂志 2006; 23: 26-27

49 Camilleri-Brennan J, Steele RJ. Objective assessment of morbidity and quality of life after surgery for low rectal cancer. *Colorectal Dis* 2002; 4: 61-66 [PMID: 12780658]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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)

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2633-2640
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

氯膦酸二钠脂质体对重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜Akt、MAPK(ERK1/2)活性的影响

陈吉祥, 刘 彬, 党胜春, 陈 敏, 姜德立, 王 坤, 王平江, 张建新

陈吉祥, 刘彬, 党胜春, 王坤, 王平江, 张建新, 江苏大学附属医院普外科 江苏省镇江市 212001
陈敏, 姜德立, 江苏大学化学化工学院 江苏省镇江市 212013
陈吉祥, 主任医师, 主要从事胰腺疾病及胃肠道肿瘤方面的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81070287
江苏省自然科学基金资助项目, Nos. BK2011044, 2012026
作者贡献分布: 本研究由陈吉祥、刘彬、党胜春、陈敏、姜德立、王坤、王平江及张建新共同完成.
通讯作者: 张建新, 教授, 212001, 江苏省镇江市解放路438号, 江苏大学附属医院普外科. zhangjx@ujs.edu.cn
电话: 0511-85082208 传真: 0511-85082208
收稿日期: 2013-06-21 修回日期: 2013-07-21
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-18

Liposomal clodronate reduces Akt and mitogen-activated protein kinase expression in the intestinal mucosa of rats with severe acute pancreatitis

Ji-Xiang Chen, Bin Liu, Sheng-Chun Dang, Min Chen, De-Li Jiang, Kun Wang, Ping-Jiang Wang, Jian-Xin Zhang

Ji-Xiang Chen, Bin Liu, Sheng-Chun Dang, Kun Wang, Ping-Jiang Wang, Jian-Xin Zhang, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China
Min Chen, De-Li Jiang, School of Chemistry and Chemical Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, Jiangsu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070287; the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, Nos. BK2011044 and 2012026
Correspondence to: Jian-Xin Zhang, Professor, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, 438 Jiefang Road, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China. zhangjx@ujs.edu.cn
Received: 2013-06-21 Revised: 2013-07-21
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To study the effect of liposomal clodronate on the expression of protein kinase B (Akt) and mitogen-activated protein kinase [MAPK (ERK1/2)] in the intestinal mucosa of rats with severe acute pancreatitis (SAP), and to investigate the mechanism behind the therapeutic effect of liposomal clodronate on SAP-associated intestinal mucosal injury.

METHODS: Liposomal clodronate was prepared by means of thin film. Forty-eight SD rats were randomly divided into a model control group (C), a liposome control group (P), and a liposomal clodronate group (T). SAP was induced in rats of groups P and T by injection of sodium taurocholate under the pancreatic capsule, while group C received equal volume of normal saline. Serum levels of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor-α (TNF-α) and AMS were measured 2 and 6 h after SAP induction. Pathological alterations in the intestinal mucosa were observed.

RESULTS: Serum levels of AMS, IL-6 and TNF-α were significantly elevated in group P compared to group C (all $P < 0.01$). Compared with group P, serum levels of AMS, IL-6 and TNF-α were significantly decreased in group T (all $P < 0.01$). Pathological alterations (scores) in the intestinal mucosa were significantly attenuated in group T compared to group P. The expression of Akt and MAPK (ERK1/2) was significantly decreased in group T compared to group P.

CONCLUSION: Macrophages play an important role in the pathogenesis of intestinal mucosal injury in SAP. Macrophages can be depleted via phagocytosis of liposome encapsulated clodronate. Liposomal clodronate alleviates intestinal mucosal injury in SAP rats possibly by decreasing the expression of Akt and MAPK (ERK1/2).

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Liposomal clodronate; Intestinal mucosa injury; Macrophages; Akt; MAPK; ERK1/2

Chen JX, Liu B, Dang SC, Chen M, Jiang DL, Wang K, Wang PJ, Zhang JX. Liposomal clodronate reduces Akt and mitogen-activated protein kinase expression in the intestinal mucosa of rats with severe acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2633-2640

■背景资料
重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是普外科常见的急腹症之一, 发病机制复杂, 病死率高. 炎性介质的过度释放引起全身炎症反应, 从而导致远处器官发生功能障碍, 受到广泛关注. 有研究表明约1/3 SAP患者早期并发肠黏膜损伤, 目前尚缺乏有效的治疗手段, 巨噬细胞在其中发挥着重要作用, 其分泌的多种炎性介质及细胞因子促进了炎症反应的发生. 本文利用氯膦酸二钠脂质体(liposomal clodronate, LC), 抑制巨噬细胞功能, 减轻肠黏膜损伤, 为临床治疗SAP等提供理论依据.

■同行评议者
黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

■研发前沿
目前国内外治疗SAP大都以抗炎、抑制胰酶分泌为主. 本研究利用脂质体包裹氯膦酸二钠进入肠黏膜巨噬细胞内发挥作用, 诱导巨噬细胞凋亡, 阻断了Akt、MAPK的信号传导通路, 减少炎性介质的释放, 减轻胰腺炎症状, 在国内外的研究均不多见. 伴随着越来越多的脂质体药物面世, 该领域的研究受到广泛关注.

URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2633.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2633

摘要

目的: 研究氯膦酸二钠脂质体(liposomal clodronate, LC)对重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)大鼠肠黏膜蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)和丝裂原活化蛋白激酶1/2[mitogen-activated protein kinase, MAPK(ERK1/2)]活性的影响, 探讨LC治疗SAP肠黏膜损伤的保护作用.

方法: 利用薄膜法制备LC. SD大鼠48只, 随机分为3组: 对照组(C组)、SAP+空白脂质体治疗组(P组)、SAP+Clodronate脂质体治疗组(T组). P组和T组采用胰腺被膜下均匀注射5%牛磺胆酸钠制作SAP模型后, 分别经尾静脉注射空白脂质体和Clodronate脂质体, C组仅注射等量生理盐水. 制模后2、6 h分别取肠系膜上静脉血液, 检测各组大鼠血清中淀粉酶(amylase, AMS)的含量, 同时检测各组大鼠血清中白介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)的含量, 观察各组肠黏膜的病理学变化及病理评分, 采用免疫组织化学方法检测肠黏膜巨噬细胞Akt和MAPK(ERK1/2)的表达情况.

结果: P组大鼠在制模后2、6 h的血清AMS水平较C组明显升高($P<0.01$). 与P组比较, T大鼠各时相的血清AMS水平均显著降低($P<0.01$). P组较C组2、6 h血清IL-6和TNF-α明显升高($P<0.01$). T组各时相较P组血清IL-6和TNF-α显著降低($P<0.01$). T组大鼠的肠黏膜病理变化均较P组明显减轻, 病理学评分明显降低($P<0.01$). T组肠黏膜Akt和MAPK(ERK1/2)的表达较P组明显减少.

结论: 巨噬细胞在SAP大鼠肠黏膜损伤中起重要作用, LC可选择性清除巨噬细胞, 减少肠黏膜Akt、MAPK(ERK1/2)的表达, 对肠黏膜损伤有一定的保护作用.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 重症急性胰腺炎; 肠黏膜损伤; 氯膦酸二钠脂质体; 巨噬细胞; 蛋白激酶B; MAPK(ERK1/2)

核心提示: 本研究表明氯膦酸二钠脂质体(liposomal clodronate)能导致巨噬细胞选择性凋亡, 减少重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)大鼠血清中的炎性介质的产生和释放, 减轻肠黏膜损伤, 阻止了SAP多器官损伤的进一步发展. 为SAP和SAP并发的肠黏膜损伤提供了新的有价值的治疗策略. 同时蛋白激酶B(protein kinase B)和MAPK(ERK1/2)可作为SAP的新的治疗靶点, 为SAP的治疗提供新的前景.

陈吉祥, 刘彬, 党胜春, 陈敏, 姜德立, 王坤, 王平江, 张建新. 氯膦酸二钠脂质体对重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜Akt、MAPK(ERK1/2)活性的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2633-2640 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2633.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2633

0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是普外科常见的急腹症之一, 病死率高. 炎性介质的过度释放引起全身炎症反应, 从而导致远处器官发生功能障碍, 受到广泛关注[1]. SAP常诱发肠黏膜损伤, 其机制尚未完全阐明. 目前的研究表明, 肠黏膜损伤是一个复杂的病理生理过程, 牵涉到很多因素, 如微循环障碍、缺血再灌注损伤、炎症介质的过度释放等[2,3]. 肠黏膜损伤后细菌易位和内毒素释放, 可以引起肠源性内毒素血症及继发感染, 导致全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和多器官系统功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS), 是SAP的严重程度和死亡率的重要影响因素.

近年来的研究已经表明, 巨噬细胞在SAP的病程发展中发挥重要的作用, 其通过识别受体检测致病物质, 继而引发和调节炎症反应[4]. 激活的巨噬细胞可以大量分泌炎症细胞因子[如肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)和白介素-1(interleukin-1, IL-1)], 导致SIRS, 诱导脂质过氧化反应, 损害细胞膜的结构, 造成胰腺和其他器官的损伤, 并最终导致MODS[5,6]. 目前大多认为肠黏膜屏障损伤后细菌/内毒素易位, 过度激活巨噬细胞释放一系列促炎介质和细胞因子(如TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-12), 诱导细胞因子在全身循环出现第二个高峰. 这些过度释放的炎性介质和细胞因子会加重全身炎症反应, 并增加死亡率. 调节巨噬细胞功能, 已成为SAP治疗的主要方向.

氯膦酸二钠(clodronate)是一种人工合成的双磷酸酯, van Rooijen等[7]研究发现, 静脉注射含有氯膦酸二钠的脂质体可以选择性地清除体内巨噬细胞. 运用其这一特性, 可用于一

些炎症疾病的治疗. 在本研究中, 将氯膦酸二钠脂质体(liposomal clodronate, LC)注入SAP大鼠体内, 观察其对肠黏膜损伤及蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)、MAPK(ERK1/2)活性的影响, 讨论其对SAP大鼠肠黏膜损伤的保护效应.

1 材料和方法

1.1 材料 SD大鼠(体质量350-400 g)由江苏大学动物中心提供; 氯膦酸二钠购自上海伟进生物科技有限公司; 牛磺胆酸钠购自美国Sigma公司; IL-6、TNF-α ELISA试剂盒购自美国Invitrogen公司; p-Akt、p-p44/42 MAPK(ERK1/2)试剂盒购自美国Cell Signaling公司.

1.2 方法

1.2.1 LC的制备: 参照文献[8]制备脂质体的方法加以改进. 获得的4 mL LC悬液大约含有20 mg的氯膦酸二钠. 同法制备空白脂质体. 应用紫外分光光度法测定脂质体中氯膦酸二钠的浓度及包封率, 测定包封率约为6%.

1.2.2 动物分组及处理: 大鼠48只, 随机分为3组: 对照组(C组), SAP+空白脂质体组(P组), SAP+LC组(T组). 各组又分为术后2、6 h组, 每组8只. 大鼠术前12 h禁食, 自由饮水. 按体质量肌肉注射氯胺酮(2 mg/kg)进行麻醉. P组及T组麻醉后参照文献制作SAP模型[9]; C组予以开腹后胰腺包膜下均匀注射等量生理盐水. P组于造模后立即大鼠尾静脉注射空白脂质体(4 mL/kg); T组于造模后尾静脉注射LC(4 mL/kg); C组予以尾静脉注射生理盐水(4 mL/kg); 注射过程缓慢, 脂质体注射时予以常温下静置3 h, 注射前摇晃均匀. 2、6 h后处死动物.

1.2.3 标本测定: (1)血清淀粉酶(amylase, AMS)含量: 3组分别于制模后2、6 h肠系膜上静脉取血4 mL, 3000 r/min离心10 min, 取上层血清-20 ℃保存, 自动生化分析仪测定血清AMS含量; (2)血清IL-6和TNF-α含量测定: 取上述血清, 严格按照ELISA试剂盒说明测定2、6 h血清IL-6和TNF-α含量; (3)肠黏膜组织形态学观察: 2、6 h距末端回肠5 cm取回肠组织标本2 cm左右, 4%甲醛溶液固定, 修剪、脱脂、石蜡包埋和切片, 苏木精-伊红(HE)染色, 光镜下观察肠黏膜病理改变, 评分标准见文献[10]; (4)免疫组织化学检测肠黏膜Akt、MAPK(ERK1/2)的表达: 采用链霉素抗生物素蛋白过氧化酶(SP)免疫组织化学方法染色, 兔抗人P-Akt单克隆抗体和兔抗人P-p44/42 MAPK(ERK1/2)单克隆抗体购于Cell Signaling公司, 工作浓度为1∶200. 操作过程按照试剂盒说明书进行.

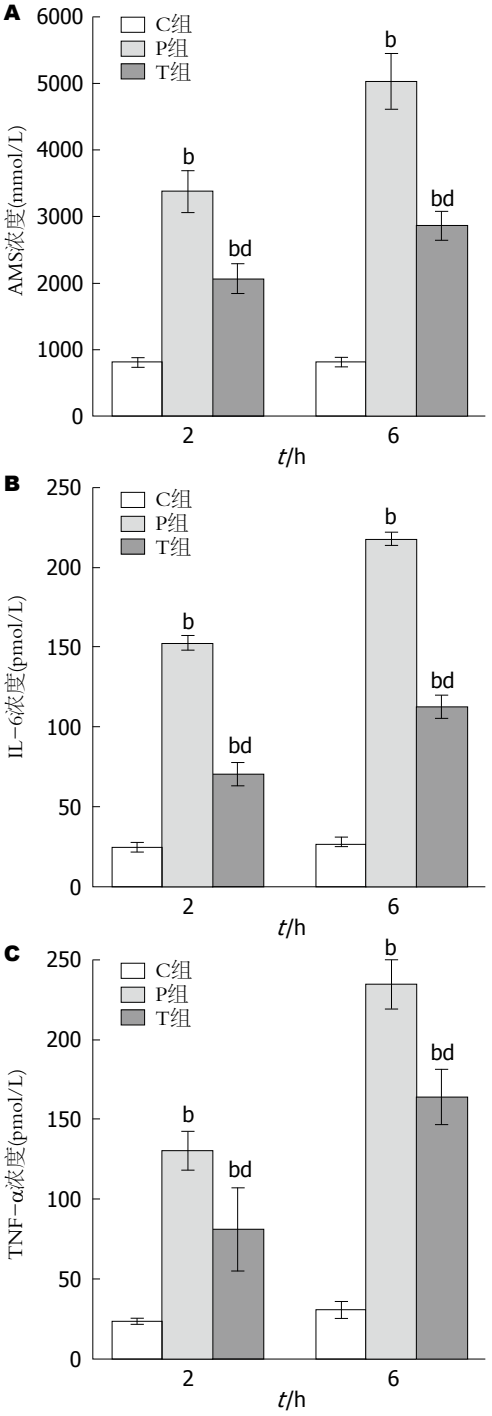


图 1 各组大鼠血清生化检测指标变化. A: 各组大鼠血清AMS变化, $^{b}P<0.01$ *vs* C组; $^{d}P<0.01$ *vs* P组; B: 各组大鼠血清IL-6变化, $^{b}P<0.01$ *vs* C组; $^{d}P<0.01$ *vs* P组; C: 各组大鼠血清TNF-α变化, $^{b}P<0.01$ *vs* C组; $^{d}P<0.01$ *vs* P组. C组: 对照组; P组: SAP+空白脂质体组; T组: SAP+氯膦酸二钠脂质体组. AMS: 血清淀粉酶; IL: 白介素; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; SAP: 重症急性胰腺炎.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行数据分析, 所有数据均用mean±SD表示, 采用

■相关报道

van Rooijen等报道, 经大鼠尾静脉注射LC, 巨噬细胞通过吞噬作用摄取脂质体, 其膦脂酶破坏脂质体的膦脂双分子层, 药物在细胞内释放从而诱导了巨噬细胞的凋亡, 减轻了炎症反应综合征.

■创新盘点

本研究通过脂质体包裹特异性巨噬细胞清除剂氯膦酸二钠来抑制巨噬细胞功能，阻断了Akt、MAPK的信号传导通路，从巨噬细胞增殖、凋亡及巨噬细胞分泌自由基、炎性介质等方面入手研究，为临床治疗SAP及多器官功能损伤等提供新的理论依据.

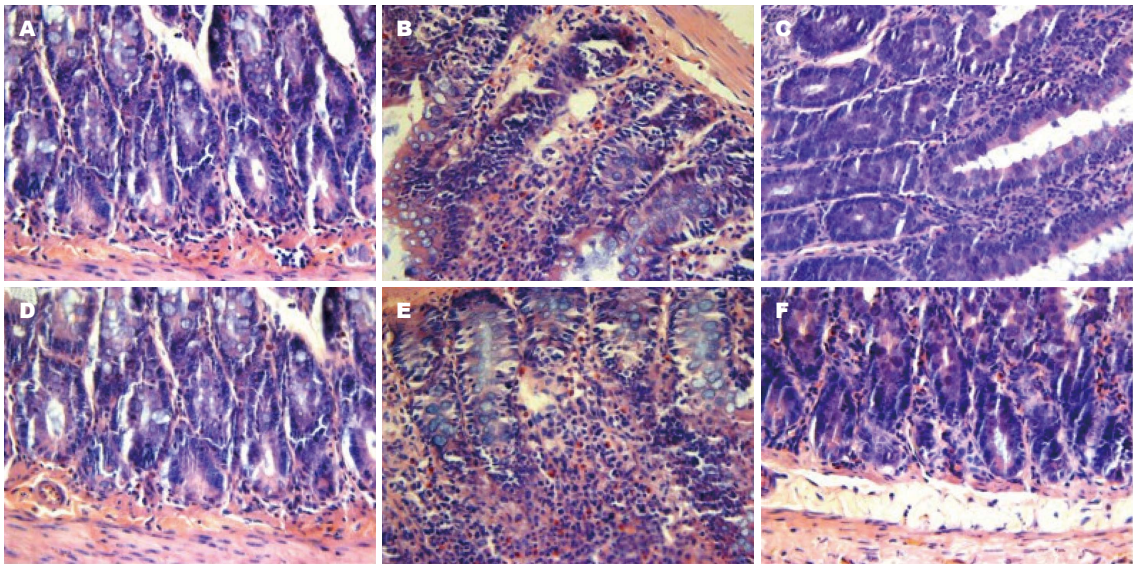


图 2 光镜下回肠组织病理变化(×200). A: 对照组2 h; B: SAP+空白脂质体治疗组2 h; C: SAP+Clodronate脂质体治疗组2 h; D: 对照组6 h; E: SAP+空白脂质体治疗组6 h; F: SAP+Clodronate脂质体治疗组6 h. SAP: 重症急性胰腺炎.

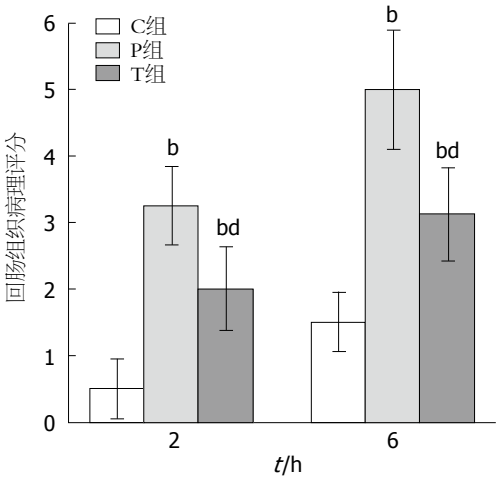


图 3 回肠组织病理评分变化. $^{b}P<0.01$ *vs* C组; $^{d}P<0.01$ *vs* P组. C组: 对照组; P组: SAP+空白脂质体组; T组: SAP+氯膦酸二钠脂质体组. SAP: 重症急性胰腺炎.

ANOVA程序进行单因素方差分析，方差不齐采用Kruskal-Wallis检验，以$P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 LC预处理对SAP大鼠血清AMS的影响 和C组比较，P组和T组血清AMS含量在2、6 h明显升高. T组各时相血清AMS含量较P组显著降低($P<0.01$)(图1A).

2.2 LC预处理对SAP大鼠血清IL-6和TNF-α的影响 SAP大鼠模型诱导成功后，P组2、6 h血清IL-6和TNF-α浓度较C组明显升高($P<0.01$)，和P组比较，T组各时相血清IL-6和TNF-α浓度显著下降($P<0.01$)(图1B, C).

2.3 肠黏膜的大体及微观病理变化

2.3.1 肠黏膜组织病理学检查：C组肠黏膜完整，无炎性细胞浸润及出血现象. P组2 h肠黏膜轻度水肿伴炎性细胞浸润，部分绒毛坏死脱落；6 h组出现黏膜层及黏膜下层明显充血水肿，大量炎性细胞浸润，固有层绒毛脱落，片状坏死. T组各时相肠黏膜损伤较P组明显减轻(图2).

2.3.2 各组肠黏膜病理评分：在P和T组与C组相比存在显著性差异($P<0.01$). T组较P组明显好转($P<0.01$)(图3).

2.4 免疫组织化学检测肠黏膜Akt和MAPK(ERK1/2)的表达情况 Akt的表达定位于细胞质，呈棕黄色颗粒状，与C组比较，P组和T组的Akt表达明显增多，T组较P组的表达明显减少. MAPK(ERK1/2)的表达主要定位于细胞质，呈淡黄色颗粒状，P组和T组的MAPK(ERK1/2)表达较C组明显增多，与P组比较，T组的表达明显减少(图4, 5).

3 讨论

SAP容易诱发SIRS和MODS，其死亡率为15%-30%，仍是临床上难以攻克的疾病之一[11]. 氧自由基和多种炎症介质的大量释放是SAP从胰腺局部的炎症向全身性炎症发展的主要因素[12]. SAP患者及动物模型血浆中，存在大量炎症介质和细胞因子，包括TNF-α、IL-1和IL-6等，通过产生级联瀑布效应，造成全身多个脏器的损伤[13]. 多项研究表明，SAP常并发肠黏膜损伤，并且发生在1/3患者的病程早期，在此阶段巨噬细胞被激活，释放大量的炎性介质

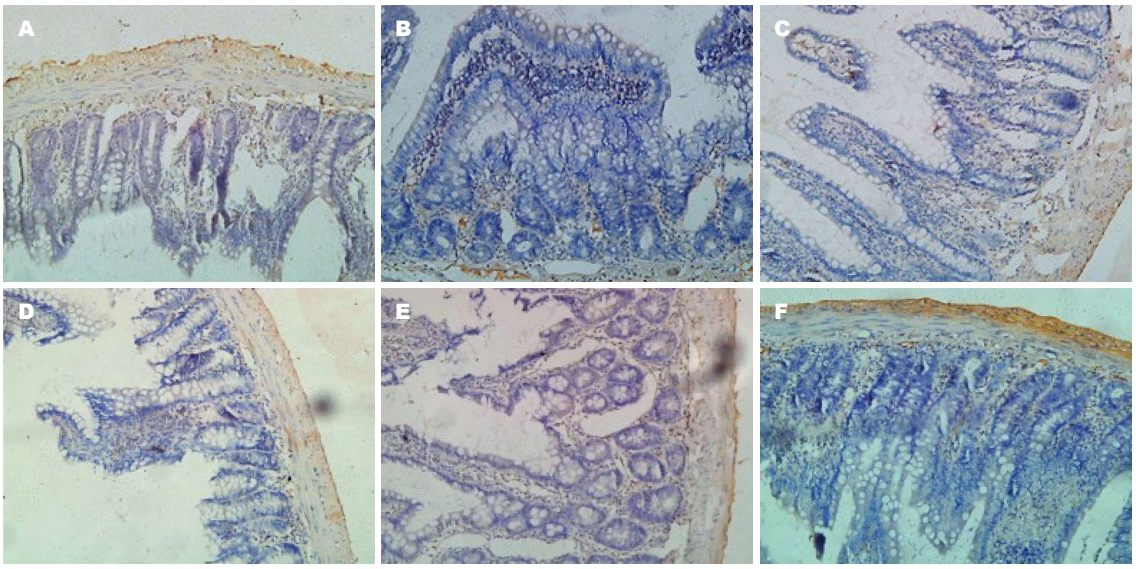


图 4 Akt在回肠组织中的表达(×200). A: 对照组2 h; B: SAP+空白脂质体治疗组2 h; C: SAP+Clodronate脂质体治疗组2 h; D: 对照组6 h; E: SAP+空白脂质体治疗组6 h; F: SAP+Clodronate脂质体治疗组6 h. SAP: 重症急性胰腺炎.

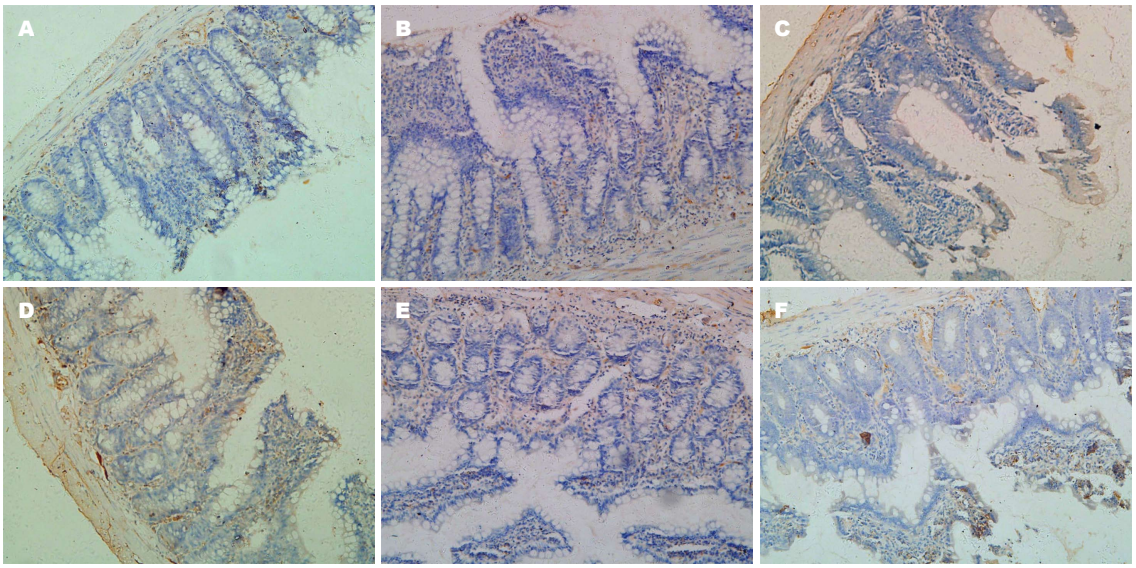


图 5 MAPK(ERK1/2)在回肠组织中的表达(×200). A: 对照组2 h; B: SAP+空白脂质体治疗组2 h; C: SAP+Clodronate脂质体治疗组2 h; D: 对照组6 h; E: SAP+空白脂质体治疗组6 h; F: SAP+Clodronate脂质体治疗组6 h. SAP: 重症急性胰腺炎.

■应用要点

国外目前已有多种脂质体药物面世(如紫杉醇脂质体等), 其应用价值已经得到了业内人士的好评. 本研究从一个新的方面着手治疗SAP及并发肠黏膜损伤.

和细胞因子, 肠黏膜屏障功能被破坏, 通透性增加, 管腔细菌移位, 引起炎症反应, 最终导致MODS[14,15].

巨噬细胞的浸润和活化不但是SAP发生的始动因素, 而且是导致MODS的一个重要的病理生理过程[16,17]. 巨噬细胞来源的促炎细胞因子(IL-1、IL-6和TNF-α等)发挥了至关重要的作用, 他们促进炎症的扩散, 增强中性粒细胞弹性蛋白酶的活性, 产生自由基, 破坏内皮细胞, 引起内皮肿胀和循环淤滞. 炎性细胞因子和抗炎细胞因子的自稳失衡是SAP病程进展的关键因素[18-20]. 然而, 正常的肠黏膜储存着大量的巨噬细胞, 在SAP病程中, 其被大量激活, 通过以上机制诱发肠黏膜损伤. 通过抑制巨噬细胞的活化, 可在一定程度上减轻胰腺及其他组织、脏器的病理损害并改善预后.

氯膦酸二钠临床上常被用于治疗骨质疏松等疾病. 其主要机制是形成有毒的ATP类似物, 诱导破骨细胞凋亡, 从而减少破骨细胞对骨质的吸收[21]. 当注入体内的LC被巨噬细胞吞噬后, 导致巨噬细胞选择性凋亡[22]. 在体循环中, 游离的氯膦酸二钠有一个很短的半衰期, 不能渗透细胞, 也不会对巨噬细胞以外的细胞产生影响[23].

■同行评价
本文选题新颖，研究方法科学，内容详实，结论客观，写作规范，可读性好. 为SAP及其肠黏膜损伤的治疗提供了实验依据和新的思路.

Akt，又称蛋白激酶B是一种丝氨酸/苏氨酸激酶，在巨噬细胞的增殖、分化中起重要作用. 细胞因子介导的Akt活化，通常是通过磷酸肌醇3-激酶(phosphatidylinositide 3-kinase, PI-3K)途径实现的. PI-3K/Akt通路通过抑制凋亡蛋白的活性和炎性介质激活发挥抗细胞凋亡作用[24]. Akt的Ser473位点被磷酸肌醇依赖激酶1磷酸化，激活PI-3K/Akt通路的核心蛋白Akt，进而促进巨噬细胞增殖、分化[25,26]. MAPKs又称丝裂素活化的蛋白激酶，是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，由ERK1/2、p38和c-Jun-N-终端激酶组成，是连接细胞内和细胞外调节蛋白信号通路的重要组成部分，负责将细胞外的刺激信号传递给细胞核[27]. 细胞外刺激信号通过对苏氨酸和酪氨酸双位点磷酸化而激活MAPKs[28]. MAPKs的家族成员ERK1/2和p38 MAPK活化后，参与巨噬细胞的增殖，促进炎性介质及细胞因子的产生，MAPK(ERK1/2)和Akt的活化是巨噬细胞中信号转导的一个标志，检测活化的MAPK(ERK1/2)和Akt水平可反应炎症的程度[29-31]. Akt和MAPK(ERK1/2)在一些炎症反应中的机制也得到许多学者的关注. 有研究表明，脂多糖诱导的腹腔巨噬细胞活化后，通过其共同的抑制剂可阻断PI-3K/Akt和MAPK-ERK1/2信号通路，能够下调Akt和MAPK(ERK1/2)的表达，减少IL-1β和IL-6等细胞因子的产生，减轻炎症反应及组织病理损害，改善疾病预后[32]. 因此，为了进一步确认LC减轻肠黏膜损伤的机制，我们运用LC干预巨噬细胞前后，采用免疫组织化学的方法，观察SAP大鼠肠黏膜巨噬细胞Akt和MAPK(ERK1/2)的表达情况. 与C组相比，P组Akt和MAPK(ERK1/2)的表达增多，提示Akt和MAPK(ERK1/2)在SAP大鼠发病过程中发挥着重要作用，可能通过激活PI-3K/Akt和MAPK-ERK1/2信号通路，上调Akt和MAPK(ERK1/2)的表达，促进巨噬细胞增殖，产生TNF-α、IL-6、IL-12等炎性细胞因子，加重了SAP的发展. T组较P组Akt和MAPK(ERK1/2)的表达明显减少，表明LC可能参与抑制PI-3K/Akt和MAPK-ERK1/2信号通路，进而抑制Akt和MAPK(ERK1/2)的活化，下调其表达，减轻炎症反应.

本实验检测了SAP大鼠肠黏膜组织中Akt和MAPK(ERK1/2)的活性及AMS、IL-6、IL-12和TNF-α的水平变化，反映了给予LC治疗前后，肠黏膜损伤后Akt和MAPK(ERK1/2)的活性及AMS、IL-6、IL-12和TNF-α水平的变化. 结果显示，给予LC治疗后，血清IL-6、IL-12和TNF-α水平的明显下降. AMS含量明显降低. 胰腺及肠黏膜的病理损害显著减轻，病理评分明显降低. 本研究表明LC能导致巨噬细胞选择性凋亡，减少SAP大鼠血清中的炎性介质及细胞因子的产生和释放，减轻肠黏膜炎症反应，阻止了SAP多器官损伤的进一步发展，从而改善SAP的预后. 为SAP和SAP并发的肠黏膜损伤提供了新的有价值的治疗策略. 同时Akt和MAPK(ERK1/2)可作为SAP的新的治疗靶点，为SAP的治疗提供新的前景.

4 参考文献

1 Singh VK, Wu BU, Bollen TL, Repas K, Maurer R, Mortele KJ, Banks PA. Early systemic inflammatory response syndrome is associated with severe acute pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 1247-1251 [PMID: 19686869 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.08.012]

2 Rahman SH, Ammori BJ, Holmfield J, Larvin M, McMahon MJ. Intestinal hypoperfusion contributes to gut barrier failure in severe acute pancreatitis. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 26-35; discussion 35-36 [PMID: 12559182 DOI: 10.1016/S1091-255X(02)00090-2]

3 Xiping Z, Hua T, Hanqing C, Li C, Binyan Y, Jing M. Effects of Baicalin on inflammatory mediators and pancreatic acinar cell apoptosis in rats with sever acute pancreatitis. *J Res Med Sci* 2009; 14: 19-27 [PMID: 21772857]

4 Akbarshahi H, Menzel M, Posaric Bauden M, Rosendahl A, Andersson R. Enrichment of murine CD68+ CCR2+ and CD68+ CD206+ lung macrophages in acute pancreatitis-associated acute lung injury. *PLoS One* 2012; 7: e42654 [PMID: 23110041 DOI: 10.1371/journal.pone.0042654]

5 Gutierrez PT, Folch-Puy E, Bulbena O, Closa D. Oxidised lipids present in ascitic fluid interfere with the regulation of the macrophages during acute pancreatitis, promoting an exacerbation of the inflammatory response. *Gut* 2008; 57: 642-648 [PMID: 18203805 DOI: 10.1136/gut.2007.127472]

6 Mikami Y, Takeda K, Shibuya K, Qiu-Feng H, Shimamura H, Yamauchi J, Egawa S, Sunamura M, Yagi H, Endo Y, Matsuno S. Do peritoneal macrophages play an essential role in the progression of acute pancreatitis in rats? *Pancreas* 2003; 27: 253-260 [PMID: 14508132 DOI: 10.1097/00006676-200310000-00011]

7 van Rooijen N, Sanders A, van den Berg TK. Apoptosis of macrophages induced by liposome-mediated intracellular delivery of clodronate and propamidine. *J Immunol Methods* 1996; 193: 93-99 [PMID: 8690935 DOI :10.1016/0022-1759(96)00056-7]

8 van Rooijen N, van Kesteren-Hendrikx E. "In vivo" depletion of macrophages by liposome-mediated "suicide". *Methods Enzymol* 2003; 373: 3-16 [PMID: 14714393 DOI: 10.1016/S0076-6879(03)73001-8]

9 Zhang JX, Dang SC, Qu JG, Wang XQ. Preventive effect of tetramethylpyrazine on intestinal mucosal

injury in rats with acute necrotizing pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6386-6390 [PMID: 17072967]

10 Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970; 101: 478-483 [PMID: 5457245 DOI: 10.1001/archsurg.1970.01340280030009]

11 Merza M, Wetterholm E, Zhang S, Regner S, Thorlacius H. Inhibition of geranylgeranyltransferase attenuates neutrophil accumulation and tissue injury in severe acute pancreatitis. *J Leukoc Biol* 2013; 94: 493-502 [PMID: 23744643 DOI: 10.1189/jlb.1112546]

12 Lima PR, de Melo TS, Carvalho KM, de Oliveira ÍB, Arruda BR, de Castro Brito GA, Rao VS, Santos FA. 1,8-cineole (eucalyptol) ameliorates cerulein-induced acute pancreatitis via modulation of cytokines, oxidative stress and NF-κB activity in mice. *Life Sci* 2013; 92: 1195-1201 [PMID: 23702424 DOI: 10.1016/j.lfs.2013.05.009]

13 Kimura Y, Hirota M, Okabe A, Inoue K, Kuwata K, Ohmuraya M, Ogawa M. Dynamic aspects of granulocyte activation in rat severe acute pancreatitis. *Pancreas* 2003; 27: 127-132 [PMID: 12883260 DOI: 10.1097/00006676-200308000-00004]

14 Rychter JW, van Minnen LP, Verheem A, Timmerman HM, Rijkers GT, Schipper ME, Gooszen HG, Akkermans LM, Kroese AB. Pretreatment but not treatment with probiotics abolishes mouse intestinal barrier dysfunction in acute pancreatitis. *Surgery* 2009; 145: 157-167 [PMID: 19167970 DOI: 10.1016/j.surg.2008.09.011]

15 Wang G, Wen J, Xu L, Zhou S, Gong M, Wen P, Xiao X. Effect of enteral nutrition and ecoimmunonutrition on bacterial translocation and cytokine production in patients with severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 2013; 183: 592-597 [PMID: 23726433 DOI: 10.1016/j.jss.2012.12.010]

16 Khomiak IV. [Ultrastructural peculiarities of mononuclear macrophages of the demarcation zone in an acute necrotic pancreatitis and elaborating of methods for the disease course prognosis and treatment]. *Klin Khir* 2012; (5): 27-31 [PMID: 22888547]

17 Saeki K, Kanai T, Nakano M, Nakamura Y, Miyata N, Sujino T, Yamagishi Y, Ebinuma H, Takaishi H, Ono Y, Takeda K, Hozawa S, Yoshimura A, Hibi T. CCL2-induced migration and SOCS3-mediated activation of macrophages are involved in cerulein-induced pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 2012; 142: 1010-1020. e9 [PMID: 22248664 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.12.054]

18 Ukhanova IIu, Karaulov AV, Konoplia AI, Loktionov AL, Suniaĭkina OA. [Functional activity of peritoneal macrophages in acute destructive pancreatitis: evaluation, implication]. *Klin Lab Diagn* 2011; (6): 42-44 [PMID: 21851011]

19 Shrivastava P, Bhatia M. Essential role of monocytes and macrophages in the progression of acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3995-4002 [PMID: 20731012 DOI: 10.3748/wjg.v16.i32.3995]

20 Sailai Y, Yu X, Baiheti P, Tang H, Li Y, Xu M. Influence of nuclear factor kappaB activation on inflammatory mediators of alveolar macrophages in rats with acute necrotizing pancreatitis. *J Investig Med* 2010; 58: 38-42 [PMID: 19730128 DOI: 10.231/JIM.0b013e3181b91bd6]

21 Russell RG, Rogers MJ. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone* 1999; 25: 97-106 [PMID: 10423031 DOI: 10.1016/S8756-3282(99)00116-7]

22 Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, Frith JC. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer* 2000; 88: 2961-2978 [PMID: 10898340 DOI: 10.1002/1097-0142(20000615)88:12+<2961::AID-CNCR12>3.0.CO;2-L]

23 Van Rooijen N, Sanders A. Liposome mediated depletion of macrophages: mechanism of action, preparation of liposomes and applications. *J Immunol Methods* 1994; 174: 83-93 [PMID: 8083541 DOI: 10.1016/0022-1759(94)90012-4]

24 Song ZF, Chen DY, DU B, Ji XP. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor reduces heart ischaemia/reperfusion injury via inflammation and Akt signalling in rats. *Chin Med J* (Engl) 2013; 126: 1913-1917 [PMID: 23673109]

25 Minhajuddin M, Bijli KM, Fazal F, Sassano A, Nakayama KI, Hay N, Platanias LC, Rahman A. Protein kinase C-delta and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt activate mammalian target of rapamycin to modulate NF-kappaB activation and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in endothelial cells. *J Biol Chem* 2009; 284: 4052-4061 [PMID: 19074768 DOI: 10.1074/jbc.M805032200]

26 Marchbank T, Mahmood A, Playford RJ. Pancreatic secretory trypsin inhibitor causes autocrine-mediated migration and invasion in bladder cancer and phosphorylates the EGF receptor, Akt2 and Akt3, and ERK1 and ERK2. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013; 305: F382-F389 [PMID: 23698120 DOI: 10.1152/ajprenal.00357.2012]

27 Feng Z, Fei J, Wenjian X, Jiachen J, Beina J, Zhonghua C, Xiangyi Y, Shaoying W. Rhubarb attenuates the severity of acute necrotizing pancreatitis by inhibiting MAPKs in rats. *Immunotherapy* 2012; 4: 1817-1821 [PMID: 23240749 DOI: 10.2217/imt.12.131]

28 Wei S, Huang Q, Li J, Liu Z, You H, Chen Y, Gong J. Taurine attenuates liver injury by downregulating phosphorylated p38 MAPK of Kupffer cells in rats with severe acute pancreatitis. *Inflammation* 2012; 35: 690-701 [PMID: 21833764 DOI: 10.1007/s10753-011-9362-0]

29 Park HY, Han MH, Park C, Jin CY, Kim GY, Choi IW, Kim ND, Nam TJ, Kwon TK, Choi YH. Anti-inflammatory effects of fucoidan through inhibition of NF-κB, MAPK and Akt activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglia cells. *Food Chem Toxicol* 2011; 49: 1745-1752 [PMID: 21570441 DOI: 10.1016/j.fct.2011.04.020]

30 Zhu R, Huang YH, Tao Y, Wang SC, Sun Ch, Piao HL, Wang XQ, Du MR, Li DJ. Hyaluronan up-regulates growth and invasion of trophoblasts in an autocrine manner via PI3K/AKT and MAPK/ERK1/2 pathways in early human pregnancy. *Placenta* 2013; 34: 784-791 [PMID: 23806178 DOI: 10.1016/j.placenta.2013.05.009]

31 Jang SE, Hyam SR, Han MJ, Kim SY, Lee BG, Kim DH. Lactobacillus brevis G-101 ameliorates colitis in mice by inhibiting NF-κB, MAPK and AKT pathways and by polarizing M1 macrophages to M2-like

macrophages. *J Appl Microbiol* 2013; 115: 888-896 [PMID: 23742179 DOI: 10.1111/jam.12273]
32 Park SY, Park GY, Ko WS, Kim Y. Dichroa febrifuga Lour. inhibits the production of IL-1beta and IL-6 through blocking NF-kappaB, MAPK and Akt activation in macrophages. *J Ethnopharmacol* 2009; 125: 246-251 [PMID: 19607899 DOI: 10.1016/j.jep.2009.07.003]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃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 cm×4.5 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.

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2641-2648
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床研究 CLINICAL RESEARCH

胃肠道常见的B细胞淋巴瘤中CARMA1与NF-κB表达的关系

裴媛媛, 杨文秀, 孟 青, 陈 琴, 李品浩

裴媛媛, 杨文秀, 孟青, 陈琴, 李品浩, 贵阳医学院病理学教研室 贵州省贵阳市 550004
裴媛媛, 住院医师, 主要从事肿瘤病理学的研究.
贵州省社会发展攻关项目基金资助项目, No. 黔科合SY[2010]3054号
作者贡献分布: 此课题由杨文秀、裴媛媛、孟青、陈琴及李品浩共同设计完成; 研究过程由裴媛媛、孟青、陈琴及李品浩操作完成; 研究所用试剂由杨文秀提供; 数据分析由裴媛媛、陈琴及李品浩完成; 本论文写作由杨文秀与裴媛媛共同完成.
通讯作者: 杨文秀, 教授, 550004, 贵州省贵阳市云岩区北京路9号, 贵阳医学院病理学教研室. ypq1964@163.com
收稿日期: 2013-05-06 修回日期: 2013-07-20
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-18

Correlation between expression of CARMA1 and NF-κB proteins in common subtypes of gastrointestinal B cell lymphoma

Yuan-Yuan Pei, Wen-Xiu Yang, Qing Meng, Qin Chen, Pin-Hao Li

Yuan-Yuan Pei, Wen-Xiu Yang, Qing Meng, Qin Chen, Pin-Hao Li, Department of Pathology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China
Supported by: the Foundation of Science and Technology Department of Guizhou Province, No. [2010]3054
Correspondence to: Wen-Xiu Yang, Professor, Department of Pathology, Guiyang Medical College, 9 Beijing Road, Yunyan District, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. ypq1964@163.com
Received: 2013-05-06 Revised: 2013-07-20
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To investigate the relationship between the expression of CARMA1 and nuclear factor κB (NF-κB) proteins in common subtypes of gastrointestinal B cell lymphoma.

METHODS: Fifty-four specimens of lymphomas, including 34 cases of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and 20 cases of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma, and 21 specimens of gastrointestinal reactive lymphoid hyperplasia (GRLH) were selected for H&E staining and immunohistochemical staining. The mRNA and protein expression of CARMA1 was detected by Real-time PCR and immunohistochemistry, respectively. Expression of NF-κB proteins was assayed by immunohistochemistry.

RESULTS: The positive rates of CARMA1, NF-κB/p65 and NF-κB/p50 proteins were significantly higher in lymphomas than in GRLH (75.9% *vs* 47.6%, 48.2% *vs* 14.3%, 38.9% *vs* 9.5%; P = 0.042, 0.007, 0.013). The expression levels of CARMA1 mRNA and protein were significantly higher in DLBCL than in MALT lymphoma (P = 0.019, 0.020). There were significant differences in CARMA1 protein expression between lymphomas which were positive and negative for NF-κB/p65 or NF-κB/p50 (84.6% *vs* 67.9%, 71.4% *vs* 78.8%, P = 0.030, 0.031). CARMA1 mRNA expression was significantly higher in advanced cases than in early disease (P = 0.011). Expression of CARMA1 protein was significantly higher in cases which infiltrated through the wall than in those which did not (91.7% *vs* 66.7%, P = 0.003). The levels of CARMA1 mRNA and protein were significantly higher in cases with a high proliferation rate (P = 0.035, 0.006). Expression of NF-κB/p65 and NF-κB/p50 proteins was obviously increased in cases with a later TNM stage or a high proliferation rate (P = 0.015, 0.05, 0.018, 0.001). The type of lymphoma, stage, CARMA1 and NF-κB/p65 protein expression were independent factors affecting the prognosis of lymphomas. Survival was poor in cases with strong expression of CARMA1 protein than in those without (P = 0.02).

CONCLUSION: Expression of CARMA1 was correlated with that of NF-κB in gastrointestinal MALT lymphoma and DLBCL. CARMA1 expression may induce activation of NF-κB and thereby participate in the pathogenesis and progression of gastrointestinal MALT lymphoma and DLBCL.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Lymphoma; CARMA1; Nuclear factor-κB

■背景资料
弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)和黏膜相关淋巴组织结外边缘区B细胞淋巴瘤(extranodal marginal zone B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue, MALT淋巴瘤)是常见的B细胞淋巴瘤类型. 惰性发展的MALT淋巴瘤有一部分可以转化为侵袭性的DLBCL. MALT淋巴瘤的发生和向大细胞淋巴瘤转化的过程及其机制目前还不太清楚, 有研究表明NF-κB信号通路的激活和MALT淋巴瘤的发生和发展机制密切相关.

■同行评议者
陈云昭, 副教授, 新疆维吾尔自治区石河子市北四路, 新疆石河子大学医学院/一附院病理科

■研发前沿
含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1(CARMA1)是淋巴细胞特异性的膜相关鸟苷酸激酶家族成员. 研究报道CARMA1蛋白阳性表达率在不伴有低恶性MALT淋巴瘤成分的DLBCL病例中表达较高, 推测CARMA1与淋巴瘤的发生和高恶性转化有关. CARMA1表达是否通过激活NF-κB通路参与MALT淋巴瘤和DLBCL的发生发展, 有待进一步研究.

Pei YY, Yang WX, Meng Q, Chen Q, Li PH. Correlation between expression of CARMA1 and NF-κB proteins in common subtypes of gastrointestinal B cell lymphoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2641-2648 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2641.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2641

摘要

目的: 了解胃肠道常见的B细胞淋巴瘤中含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1(caspase recruitment domain-containing membrane-associated guanylate kinase protein 1, CARMA1)表达与核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)表达的关系及其对淋巴瘤的影响.

方法: 筛选54例胃肠B细胞淋巴瘤, 其中弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)34例、黏膜相关淋巴组织结外边缘区B细胞淋巴瘤(extranodal marginal zone B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue, MALT淋巴瘤)20例及21例胃肠淋巴组织反应性增生病例. Real-time PCR检测CARMA1 mRNA, 免疫组织化学染色检测肿瘤细胞的CARMA1、NF-κB/p65和NF-κB/p50蛋白表达.

结果: CARMA1、NF-κB/p65和NF-κB/p50蛋白表达率在淋巴瘤组较淋巴组织反应性增生组病例明显增高(淋巴瘤: 淋巴组织反应性增生CARMA1为75.9%：47.6%, NF-κB/p65为48.2%：14.3%, NF-κB/p50为38.9%：9.5%, P = 0.042, 0.007, 0.013). 与MALT淋巴瘤比较, DLBCL病例中CARMA1 mRNA和蛋白高表达(DLBCL：MALT淋巴瘤CARMA1 mRNA $2^{-\triangle\triangle Ct}$为3.073：1, CARMA1蛋白为88.2%：55.0%), P值为0.019和0.020. CARMA1蛋白表达与NF-κB/p65和NF-κB/p50蛋白核表达有正相关关系(NF-κB/p65阴性组：阳性组为67.9%：84.6%, NF-κB/p50阴性组：阳性组为78.8%：71.4%), P值分别为0.030和0.031. CARMA1 mRNA在晚分期(Ⅲ和Ⅳ期)病例中表达水平高于早分期(Ⅰ和Ⅱ期)病例(晚分期：早分期CARMA1 mRNA $2^{-\triangle\triangle Ct}$ = 4.416：1), P = 0.011, 在消化管壁内浸润病例中CARMA1蛋白表达低于浸润至管壁外的病例(管壁内: 管壁外66.7%：91.7%), P = 0.003. 肿瘤细胞高增殖活性病例中CARMA1 mRNA和蛋白表达都显著升高(高增殖活性：低增殖活性CARMA1 mRNA $2^{-\triangle\triangle Ct}$ = 2.885：1 CARMA1蛋白为88.6%：52.6%), P值分别为0.035, 0.006. NF-κB/p65、NF-κB/p50蛋白在晚分期病例、肿瘤细胞高增殖活性病例中表达水平明显高于相应的比较组病例(晚分期：早分期NF-κB/p65为68.2%：34.4%, NF-κB/p50为54.5%：28.1%, 高增殖活性: 低增殖活性NF-κB/p65为60.0%：26.3%, NF-κB/p50为51.4%：15.8%), P值分别为0.015和0.05, 0.018和0.001. 生存分析: 淋巴瘤类型、临床分期、CARMA1蛋白及NF-κB/p65蛋白表达都是淋巴瘤独立的预后影响因子, 4种因素的相对风险度接近. CARMA1蛋白强阳性表达的所有淋巴瘤和DLBCL病例的生存状况较阴性和一般阳性表达(<50%)的相应病例差(P值为0.020, 0.045).

结论: 胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL中NF-κB持续活化可能与CARMA1蛋白高表达相关, 推测CARMA1高表达通过活化NF-κB参与相关淋巴瘤的发生发展过程.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 淋巴瘤; CARMA1; 核因子κB

核心提示: 本研究发现胃肠道黏膜相关淋巴组织结外边缘区B细胞淋巴瘤(extranodal marginal zone B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue)淋巴瘤和弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma)中核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)蛋白表达与CARMA1 mRNA表达无明显相关, 但随着CARMA1蛋白表达增加而增强. 且发现CARMA1和NF-κB/p65、NF-κB/p50的表达对上述淋巴瘤的临床病理特征有一定的影响.

裴媛媛, 杨文秀, 孟青, 陈琴, 李品浩. 胃肠道常见的B细胞淋巴瘤中CARMA1与NF-κB表达的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2641-2648 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2641.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2641

0 引言

目前研究认为肿瘤细胞生存的关键取决于核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)的持续活化. 研究报道淋巴瘤中也存在NF-κB的持续活化[1,2]. 黏膜相关淋巴组织结外边缘区B细胞淋巴瘤(extranodal marginal zone B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue, MALT淋巴瘤)和弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)是常见的胃肠道B细胞淋巴瘤类型. 含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1(caspase recruitment domain-containing membrane-associated guanylate kinase protein 1, CARMA1)是淋巴细胞特异性的膜相关鸟苷酸激酶家族成员. 研究报道[3-10]CARMA1作为衔接蛋白,

与B细胞淋巴瘤10(B cell lymphoma 10, BCL10)及黏膜相关淋巴瘤易位基因1(mucosa-associated lymphoma translocation gene 1, MALT1)形成CARMA1/BCL10/MALT1复合物(CBM complex), 可活化NF-κB. 本研究就CARMA1表达与NF-κB蛋白的关系进行分析, 进一步研究MALT淋巴瘤和DLBCL的发生发展的机制.

1 材料和方法

1.1 材料 收集贵阳医学院附属医院病理科1999-01/2011-03诊断的胃肠道B细胞非霍奇金淋巴瘤. 通过HE切片复习及肿瘤细胞免疫表型检查, 按照2008年WHO淋巴造血组织肿瘤分类[11]筛选出54例具有完整病理和临床资料的病例(包括34例DLBCL和20例MALT淋巴瘤), 其中Ⅰ期17例, Ⅱ期15例, Ⅲ期6例, Ⅳ期16例. 同时收集21例胃肠淋巴组织反应性增生病例做对照研究. 淋巴瘤的分期参照修改的Ann arbor分期. 多克隆一抗CARMA1购自美国BETHYL; NF-κB/p65、NF-κB/p50购自Santa Cruz; 免疫组织化学检测试剂盒购自中杉金桥公司; 二乙基焦磷酰胺(DEPC)、蛋白酶K购自Sigma公司; TRIzol、 dNTP、RNA酶抑制剂购自TIANGEN公司; AMV逆转录酶、SYBR Premix Ex Taq购自Takara; 三羟甲基氨基甲烷(Tris碱)、十二烷基硫酸钠(SDS)及乙二胺四乙酸二钠(EDTA)购自上海申博化工有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色: 采用SP三步法, 据抗体要求进行枸橼酸盐或高pH的EDTA缓冲液进行抗原热修复. 一抗包括: NF-κB/p65(1∶100)、多克隆抗体CARMA1(1∶400)、NF-κB/p50 (1∶100). 以pH7.4的PBS代替一抗作空白对照, 并以胃肠淋巴组织反应性增生病例做CARMA1、NF-κB/p65及NF-κB/p65标记的实验对照. 结果判断: CARMA1、NF-κB/p65及NF-κB/p50阳性信号定位于细胞浆和/或细胞核. CARMA1蛋白每张切片观察10个400倍视野, 计数棕黄色细胞数占细胞总数的均值, 低于20%记为阴性, 20%-49%的肿瘤细胞阳性记为阳性, 50%及以上的肿瘤细胞阳性计为强阳性. NF-κB蛋白阳性信号定位于细胞核是其活化状态的标志, 因此以出现细胞核内表达统计分析NF-κB的表达情况.

1.2.2 CARMA1 mRNA的检测: (1)石蜡组织中RNA提取: 据参考文献[12]并改进, 实验用品均经DEPC水或180 ℃高温烘烤灭活RNA酶. 切5 μm厚石蜡切片, 据组织大小选取石蜡组织切片10-15片, 二甲苯脱蜡、无水乙醇清洗并干燥; 加入裂解缓冲液及蛋白酶K(终浓度为400-500 μg/mL), 震荡并在55 ℃过夜消化组织; 加入TRIzol, 室温孵育后加入氯仿分离RNA; 吸取水相在-20 ℃以异丙醇沉淀RNA, 乙醇洗涤后以0.1%DEPC消毒水溶解RNA, 测定浓度后-85 ℃冻存备用; (2)Real-time PCR检测: RT-PCR: 取总RNA 2 μg用AMV逆转录酶转录合成cDNA, 逆转录体系及条件按说明书进行. Real-time PCR扩增体系: 照SYBR Premix Ex Taq试剂盒进行. 根据CARMA1 mRNA基因序列设计引物, 引物序列如下: 上游引物为5'-CCATCACCAACTCCTTCAC-3'; 下游引物5'-TCCTCCTTGTAGCGTCTG-3', 产物长短112 bp. 以GAPDH为内对照, 引物序列如下: 上游引物为5'-TGAAGGTCGGAGTCAACGG-3', 下游引物为5'-CCTGGAAGATGGTGATGGGA-3', 产物长短225 bp. 扩增条件: 50 ℃ 2 min, 95 ℃ 10 min预变性, 95 ℃ 15 s变性, 60 ℃ 1 min, 循环40次. Stepone实时荧光定量PCR仪采集待测*CARMA1*基因及内参照GAPDH扩增荧光信号. 分析其△Ct、△△Ct值、相对定量(relative quantity, RQ)值, RQ值 = $2^{-\triangle\triangle Ct}$.

1.2.3 随访: 采用电话随访和信访, 以患者初次住院为随访开始时间, 以2011-11为随访结束时间.

统计学处理 采用SPSSl7.0统计软件进行分析. 等级资料采用秩和检验, 计量资料采用独立样本*t*检验, 生存分析采用Kaplan-Meier方法绘制生存曲线, 生存曲线的比较采用对数秩检验(Log-rank test), 影响生存的多种因子分析采用Cox回归分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 CARMA1、NF-κB表达情况及其相互关系 42例胃肠淋巴瘤全部检测出GAPDH mRNA表达, 提示提取的RNA可以满足检测CARMA1 mRNA的需要. CARMA1 mRNA与蛋白表达一致($2^{-\triangle\triangle Ct}$ = 2.739, P = 0.046), 且在DLBCL中CARMA1 mRNA表达显著高于MALT淋巴瘤(P = 0.019), CARMA1蛋白表达(图1): 淋巴瘤组75.9%(强阳性12/54, 阳性29/54), 胃肠淋巴组织反应性增生组47.6%(强阳性3/21, 阳性7/21), 两组病例之间CARMA1蛋白表达具有统计学差异(P = 0.042); NF-κB/p65和NF-κB/p50蛋白胞核

■相关报道

NF-κB异常持续活化是DLBCL, 尤其是ABC型DLBCL的重要特征之一, 这一特点越来越受到广泛的关注. 有研究发现: DLBCL中存在*CARMA1*基因的突变和表达异常. 当邻近抗原受体信号使CARMA1募集于细胞膜, 并导致其蛋白激酶C调节区域的磷酸化, 使其能够与BCL10结合, 并自身寡聚化, 形成CARMA1/BCL10/MALT1复合物(CBM complex), 信号最终汇集于IκK复合物, 降解IκB从而调节NF-κB. CARMA1是淋巴细胞特异性的膜相关鸟苷酸激酶家族成员, 抑制CARMA1可能抑制肿瘤中NF-κB通路的异常活化. 因此对于ABC-DLBCL, CARMA1成为有吸引力的治疗靶标.

■创新盘点

本研究发现胃肠道MALT淋巴瘤和DLBCL中CARMA1, NF-κB/p65和NF-κB/p50蛋白表达率显著高于淋巴组织反应性增生组病例. CARMA1 mRNA和蛋白表达与淋巴瘤类型、临床分期、浸润深度、肿瘤细胞增殖活性相关. NF-κB/p65、NF-κB/p50蛋白在晚分期病例、肿瘤细胞高增殖活性病例中表达水平明显高于相应的比较组病例. NF-κB蛋白表达与CARMA1 mRNA表达无明显相关, 但随着CARMA1蛋白表达增加而增强. 生存分析发现淋巴瘤类型、临床分期、CARMA1蛋白及NF-κB/p65蛋白表达都是淋巴瘤独立的预后影响因子. CARMA1蛋白强阳性表达的所有淋巴瘤和DLBCL病例的生存状况较阴性和一般阳性表达的相应病例差.

表 1 NF-κB蛋白表达与CARMA1表达的关系

	n	NF-κB/P65蛋白		*P*值	NF-κB/P50		*P*值
		阴性	阳性		阴性	阳性	
CARMA1蛋白	54			0.030			0.031
阴性		9	4		7	6	
阳性		16	13		25	4	
强阳性		3	9		1	11	
CARMA1 mRNA	42			0.694			0.862
△Ct mean ± SD		3.574 ± 1.850	3.09 ± 1.724		3.519 ± 1.956	3.206 ± 1.620	
$2^{-\triangle\triangle Ct}$		1	1.393		1	1.243	

NF-κB: 核因子κB.

表 2 CARMA1及NF-κB表达与胃肠道MALT淋巴瘤及DLBCL病理特征关系

参数	CARMA1蛋白 *n* = 54			*P*值	CARMA1mRNA *n* = 42		*P*值	NF-κB/P65 *n* = 54		*P*值	NF-κB/P50 *n* = 54		*P*值
	阴性	阳性	强阳性		△Ct(mean ± SD)	$2^{-\triangle\triangle Ct}$		核阴	核阳		核阴	核阳	
淋巴瘤类型				0.020			0.019			0.138			0.635
MALToma	9	8	3		4.105 ± 1.745	1		13	7		13	7	
DLBCL	4	21	9		2.485 ± 1.333	3.073		15	19		20	14	
临床分期				0.341			0.011			0.015			0.050
I和II	7	21	4		4.400 ± 1.650	1		21	11		23	9	
III和IV	6	8	8		2.291 ± 1.118	4.416		7	15		10	12	
Ki-67				0.006			0.035			0.018			0.001
≤40%	9	8	2		4.096 ± 1.766	1		14	5		16	3	
>40%	4	21	10		2.568 ± 1.385	2.885		14	21		17	18	
淋巴结累及(*n* = 42)				0.542			0.355			0.126			0.028
无	3	7	4		3.049 ± 1.763	1		9	5		11	3	
有	8	14	6		3.566 ± 1.715	0.700		11	17		12	16	
浸润深度(*n* = 42)				0.003			0.668			0.063			0.078
管壁内	10	17	3		3.338 ± 1.703	1		17	13		19	11	
管壁外	1	4	7		3.405 ± 1.906	0.955		3	9		4	8	

NF-κB: 核因子κB; CARMA1: 含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1; DLBCL: 弥漫大B细胞淋巴瘤.

或核浆阳性率依次为: 淋巴瘤组48.2%(26/54)、38.9%(21/54), 胃肠淋巴组织反应性增生组14.3%(3/21)、9.5%(2/21). 两种蛋白表达在两组病例之间均有统计学差异(*P*值分别为0.007, 0.013, 表1).

2.2 CARMA1和NF-κB表达对淋巴瘤临床病理特征的影响 CARMA1和NF-κB表达对淋巴瘤临床病理特征的影响如表2所示.

2.3 随访 54例淋巴瘤病例中29例获得随访(包括11例MALT淋巴瘤和18例DLBCL), 获访率53.7%. 治疗方案上6例单纯手术切除, 2例用CHOP方案化疗, 17例手术后辅以其他治疗(12例行CHOP方案, 4例行R-CHOP方案, 1例行其他治疗), 2例用其他治疗方案, 2例放弃治疗. Cox多因素回归分析结果如表3所示, 根据淋巴瘤中CARMA1表达情况绘制生存率曲线如图2、3所示.

3 讨论

NF-κB是一类能与多种基因启动子或增强子的κB位点发生特异性结合并促进其转录的信号分子. 迄今已发现有5种NF-κB家族成员[13-15], 他们以同源二聚体或异源二聚体的蛋白质结构存在于大多数细胞中. 最常见的NF-κB二聚体由p65和p50组成. 在静息状态下, NF-κB二聚体与NF-κB的抑制蛋白(inhibitory κB, IκB)结合, 以无活性的三聚体形式存在于细胞浆中. 当机体面临生存危机时, 在各种因素的作用下, NF-κB进入核内开始转录, 从而调控多种细胞因子、黏附

表 3 对淋巴瘤生存的影响多种因素分析

	淋巴瘤类型	分期	CARMA1 mRNA	CARMA1蛋白	NF-κB/p65	NF-κB/p50	淋巴结累及	Ki-67
RR	7.801	5.601	0.648	6.135	5.889	0.515	0.127	0.550
*P*值	0.017	0.043	0.208	0.035	0.034	0.424	2.324	0.358

NF-κB: 核因子κB; CARMA1: 含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1.

■应用要点
CARMA1表达可能参与了胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL的发生和发展过程, 使NF-κB的异常持续活化可能是其作用的重要机制. CARMA1和NF-κB/p65、NF-κB/p50蛋白的表达与两种淋巴瘤的临床病理特征和预后有关, 可能是其预后估计的相关因子, 可能成为相关淋巴瘤治疗的新靶点.

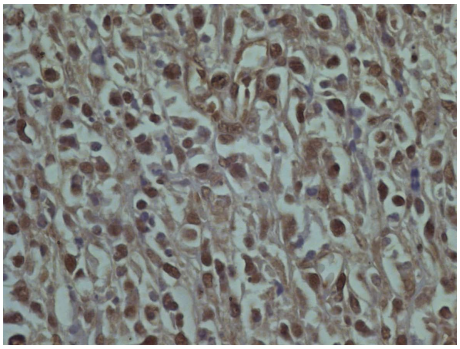


图 1 DLBCL中的CARMA1蛋白表达(SP, ×400). CARMA1: 含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1; DLBCL: 弥漫大B细胞淋巴瘤.

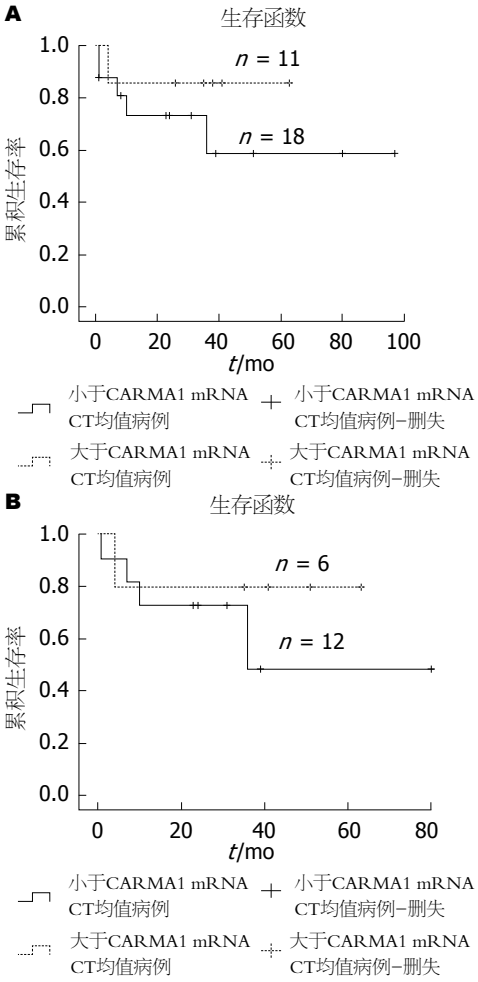


图 2 根据CARMA1 mRNA表达均值分组的生存曲线比较. A: 获访的29例病例生存分析(P = 0.351); B: 获访的18例DLBCL生存分析(P = 0.482). CARMA1: 含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1.

分子、转录因子等编码基因的转录, 不仅能促进细胞增殖, 他还可以上调抗凋亡基因*BCL2*及凋亡蛋白抑制因子家族成员survivin的表达, 使肿瘤细胞逃避凋亡, 成为肿瘤细胞生存的关键因素[16-20]. Davis等[21]发现, 活化的B细胞来源样DLBCL细胞株中存在NF-κB的异常持续活化, IκB激酶(IκB kinase, IκK)活性增强, IκB降解加速, 而在GCB样DLBCL中未能见到这种情况. 并有研究报道NF-κB蛋白在ABC型DLBCL、伴有EBV感染DLBCL病例高表达, 体外抑制NF-κB, 其靶基因*BCL2*、*survivin*表达下降而使细胞凋亡[22,23]. 2008年新的WHO分类也提到NF-κB在ABC样DLBCL中有异常活化, 而GCB亚型中未发现该异常[11].

CARMA1能有效地整合来自细胞膜的信号系统, 对于多种刺激引起的NF-κB活化有调节作用[24-26]. 有研究报道: CARMA1在B细胞受体和T细胞受体刺激下引发IκK复合物信号, 使NF-κB信号通路活化, 从而调控淋巴细胞的增生并维持淋巴细胞生存[27,28]. 当邻近抗原受体信号使CARMA1募集于细胞膜时, 导致其蛋白激酶C调节区域的磷酸化, 使其能够与BCL10和MALT1结合, 并自身寡聚化形成CARMA1/ BCL10/MALT1复合物(CBM complex), 降解IκB从而调节NF-κB的活化[29]. 对T细胞分化的研究表明, CARMA1位于BCL10的上游, 在T细胞受体介导的NF-κB活化过程中是必须的. CARMA1仅限于淋巴组织, 抑制CARMA1信号通路, 理论上产生效应仅限于淋巴系统, 因此对于ABC-DLBCL, CARMA1成为有吸引力的治疗靶标[30-32].

本研究通过Real-time PCR检测淋巴瘤组织中CARMA1 mRNA的表达水平, 用免疫组织化学染色检测CARMA1蛋白和NF-κB蛋白中的两个主要亚型NF-κB/p65、NF-κB/p50. 结果发现在淋巴瘤组和淋巴组织反应性增生组病例之间, CARMA1、NF-κB/p65、NF-κB/p50

■同行评价
本文整体方法得当，结果可靠，很好的达到了预期的研究目的.

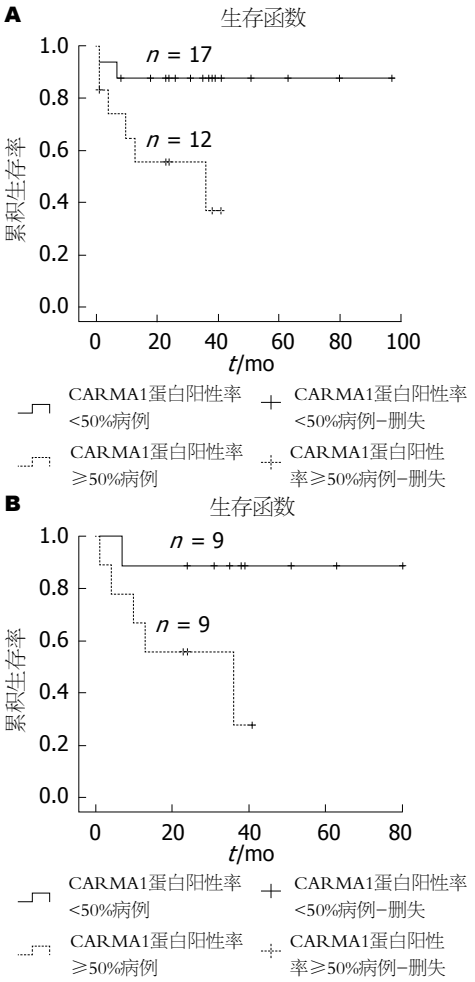


图 3 根据CARMA1蛋白表达分组的生存曲线比较. A: 获访的29例病例生存分析(P = 0.020); B: 获访的18例DLBCL生存分析(P = 0.045).

蛋白表达水平均有明显的差异，淋巴瘤组均明显高于淋巴组织反应性增生组病例. NF-κB分子的定位与NF-κB在细胞内的状态有关，即在细胞浆内的无活性状态和细胞核内的活化状态，故我们将NF-κB的细胞核表达作为NF-κB活化状态的标志. 我们发现在淋巴瘤病例中虽然CARMA1 mRNA表达水平与NF-κB/p65、NF-κB/p50表达无明显相关，但CARMA1蛋白表达却与这两种NF-κB亚型均有明显的正相关关系. 静息状态下，NF-κB主要定位于细胞浆，活化后NF-κB从细胞浆迅速转运至细胞核，并在短暂活化后被降解. MALT淋巴瘤和DLBCL中CARMA1的表达致使肿瘤细胞中NF-κB的异常持续活化，加上其负调节因子A20的失活等因素，引起NF-κB表达水平的增加. 这可能是CARMA1参与胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL发生和演进的重要机制. 同时肿瘤中*CARMA1*基因可能存在转录后的表达调控. 与MALT淋巴瘤比较，DLBCL病例中CARMA1 mRNA和蛋白高表达，差异具有统计学意义. 提示上述蛋白分子在淋巴瘤中的表达可能与其发生和发展过程有关. 然而，两种淋巴瘤中NF-κB/p65、NF-κB/p50蛋白表达未见统计学差异，这提示CARMA1可能还通过其他的机制参与了MALT淋巴瘤向DLBCL转化的过程，有待于进一步的研究.

本组病例的临床病理资料和随访资料分析发现：CARMA1 mRNA和蛋白表达水平在DLBCL组和高增殖活性组明显升高，与相应比较组之间有统计学差异. CARMA1 mRNA在晚分期(Ⅲ和Ⅳ期)病例中表达水平高于早分期(Ⅰ和Ⅱ期)病例，在消化管壁内浸润病例中CARMA1蛋白表达低于浸润至管壁外的病例(均P<0.05). NF-κB/p65、NF-κB/p50蛋白在晚分期病例，肿瘤细胞高增殖活性组病例中表达水平明显高于相应的比较组病例，差异均有统计学意义. Cox回归分析发现：淋巴瘤类型、临床分期、CARMA1蛋白及NF-κB/p65蛋白表达都是胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL独立的预后影响因子，4种因素的相对风险度接近. 生存曲线比较，CARMA1蛋白强阳性表达的所有淋巴瘤病例及DLBCL病例的生存状况明显较阴性和一般阳性表达(<50%)的相应病例差(P值分别为0.020和0.045). 分析结果表明CARMA1和NF-κB/p65、NF-κB/p50蛋白分子表达对胃肠MALT和DLBCL的临床病理特征和预后可能有一定影响.

总之，CARMA1表达可能参与了胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL的发生和发展过程，使NF-κB的异常持续活化可能是其作用的重要机制. CARMA1和NF-κB/p65、NF-κB/p50蛋白的表达与两种淋巴瘤的临床病理特征和预后有关，可能是其预后估计的相关因子.

4 参考文献

1 Mathas S, Jöhrens K, Joos S, Lietz A, Hummel F, Janz M, Jundt F, Anagnostopoulos I, Bommert K, Lichter P, Stein H, Scheidereit C, Dörken B. Elevated NF-kappaB p50 complex formation and Bcl-3 expression in classical Hodgkin, anaplastic large-cell, and other peripheral T-cell lymphomas. *Blood* 2005; 106: 4287-4293 [PMID: 16123212 DOI: 10.1182/blood-2004-09-3620]

2 Lam LT, Davis RE, Pierce J, Hepperle M, Xu Y, Hottelet M, Nong Y, Wen D, Adams J, Dang L, Staudt LM. Small molecule inhibitors of IkappaB kinase are selectively toxic for subgroups of diffuse large B-cell lymphoma defined by gene expression profiling. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 28-40 [PMID: 15671525]

3 Gaide O, Martinon F, Micheau O, Bonnet D, Thome M, Tschopp J. Carma1, a CARD-containing binding partner of Bcl10, induces Bcl10 phosphorylation and NF-kappaB activation. *FEBS Lett* 2001; 496: 121-127 [PMID: 11356195 DOI: 10.1016/S0014-5793(01)02414-0]

4 Thome M, Charton JE, Pelzer C, Hailfinger S. Antigen receptor signaling to NF-kappaB via CARMA1, BCL10, and MALT1. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2: a003004 [PMID: 20685844 DOI: 10.1101/cshperspect.a003004]

5 Blonska M, Lin X. CARMA1-mediated NF-kappaB and JNK activation in lymphocytes. *Immunol Rev* 2009; 228: 199-211 [PMID: 19290929 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00749.x]

6 Egawa T, Albrecht B, Favier B, Sunshine MJ, Mirchandani K, O'Brien W, Thome M, Littman DR. Requirement for CARMA1 in antigen receptor-induced NF-kappa B activation and lymphocyte proliferation. *Curr Biol* 2003; 13: 1252-1258 [PMID: 12867038 DOI: 10.1016/S0960-9822(03)00491-3]

7 Lucas PC, McAllister-Lucas LM, Nunez G. NF-kappaB signaling in lymphocytes: a new cast of characters. *J Cell Sci* 2004; 117: 31-39 [PMID: 14657271 DOI: 10.1242/jcs.00904]

8 Compagno M, Lim WK, Grunn A, Nandula SV, Brahmachary M, Shen Q, Bertoni F, Ponzoni M, Scandurra M, Califano A, Bhagat G, Chadburn A, Dalla-Favera R, Pasqualucci L. Mutations of multiple genes cause deregulation of NF-kappaB in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature* 2009; 459: 717-721 [PMID: 19412164 DOI: 10.1038/nature07968]

9 Lamason RL, McCully RR, Lew SM, Pomerantz JL. Oncogenic CARD11 mutations induce hyperactive signaling by disrupting autoinhibition by the PKC-responsive inhibitory domain. *Biochemistry* 2010; 49: 8240-8250 [PMID: 20799731 DOI: 10.1021/bi101052d]

10 Bu R, Bavi P, Abubaker J, Jehan Z, Al-Haqawi W, Ajarim D, Al-Dayel F, Uddin S, Al-Kuraya KS. Role of nuclear factor-κB regulators TNFAIP3 and CARD11 in Middle Eastern diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2012; 53: 1971-1977 [PMID: 22397314 DOI: 10.3109/10428194.2012.668286]

11 Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri S, Hea S. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th Edition. Lyon: IARC Press; 2008: 214-217

12 杨文秀, 李甘地, 周桥, 刘卫平, 张杰, 何小金. 肺原发性MALT型淋巴瘤API2-MALT1融合基因的检测及意义. 中华病理学杂志 2004; 33: 233-237

13 Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling. *Cell* 2008; 132: 344-362 [PMID: 18267068 DOI: 10.1016/j.cell.2008.01.020]

14 Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 225-260 [PMID: 9597130 DOI: 10.1146/annurev.immunol.16.1.225]

15 Ruland J, Mak TW. Transducing signals from antigen receptors to nuclear factor kappaB. *Immunol Rev* 2003; 193: 93-100 [PMID: 12752674 DOI: 10.1034/j.1600-065X.2003.00049.x]

16 Karin M, Cao Y, Greten FR, Li ZW. NF-kappaB in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 301-310 [PMID: 12001991 DOI: 10.1038/nrc780]

17 Karin M. Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. *Nature* 2006; 441: 431-436 [PMID: 16724054 DOI: 10.1038/nature04870]

18 Inoue J, Gohda J, Akiyama T, Semba K. NF-kappaB activation in development and progression of cancer. *Cancer Sci* 2007; 98: 268-274 [PMID: 17270016 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00389.x]

19 Rayet B, Gélinas C. Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. *Oncogene* 1999; 18: 6938-6947 [PMID: 10602468]

20 Chiao PJ, Na R, Niu J, Sclabas GM, Dong Q, Curley SA. Role of Rel/NF-kappaB transcription factors in apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer* 2002; 95: 1696-1705 [PMID: 12365017 DOI: 10.1002/cncr.10829]

21 Davis RE, Brown KD, Siebenlist U, Staudt LM. Constitutive nuclear factor kappaB activity is required for survival of activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma cells. *J Exp Med* 2001; 194: 1861-1874 [PMID: 11748286 DOI: 10.1084/jem.194.12.1861]

22 Bavi P, Uddin S, Bu R, Ahmed M, Abubaker J, Balde V, Qadri Z, Ajarim D, Al-Dayel F, Hussain AR, Al-Kuraya KS. The biological and clinical impact of inhibition of NF-κB-initiated apoptosis in diffuse large B cell lymphoma (DLBCL). *J Pathol* 2011; 224: 355-366 [PMID: 21506127 DOI: 10.1002/path.2864]

23 陈玉梅, 杨文秀, 孟青, 钟愉. 弥漫大B细胞淋巴瘤CARMA1基因与MUM1表达的关系及其意义. 中华血液学杂志 2011; 32: 236-240

24 Ruefli-Brasse AA, French DM, Dixit VM. Regulation of NF-kappaB-dependent lymphocyte activation and development by paracaspase. *Science* 2003; 302: 1581-1584 [PMID: 14576442 DOI: 10.1126/science.1090769]

25 Wang D, You Y, Case SM, McAllister-Lucas LM, Wang L, DiStefano PS, Nuñez G, Bertin J, Lin X. A requirement for CARMA1 in TCR-induced NF-kappa B activation. *Nat Immunol* 2002; 3: 830-835 [PMID: 12154356 DOI: 10.1038/ni824]

26 Gaide O, Favier B, Legler DF, Bonnet D, Brissoni B, Valitutti S, Bron C, Tschopp J, Thome M. CARMA1 is a critical lipid raft-associated regulator of TCR-induced NF-kappa B activation. *Nat Immunol* 2002; 3: 836-843 [PMID: 12154360 DOI: 10.1038/ni830]

27 Schmitz ML, Bacher S, Dienz O. NF-kappaB activation pathways induced by T cell costimulation. *FASEB J* 2003; 17: 2187-2193 [PMID: 14656980 DOI: 10.1096/fj.02-1100rev]

28 Streubel B, Lamprecht A, Dierlamm J, Cerroni L, Stolte M, Ott G, Raderer M, Chott A. T(14; 18)(q32; q21) involving IGH and MALT1 is a frequent chromosomal aberration in MALT lymphoma. *Blood* 2003; 101: 2335-2339 [PMID: 12406890 DOI: 10.1182/blood-2002-09-2963]

29 Du MQ. MALT lymphoma: many roads lead to nuclear factor-κb activation. *Histopathology* 2011; 58: 26-38 [PMID: 21261681 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2010.03699.x]

30 Lenz G, Davis RE, Ngo VN, Lam L, George TC, Wright GW, Dave SS, Zhao H, Xu W, Rosenwald A, Ott G, Muller-Hermelink HK, Gascoyne RD, Connors JM, Rimsza LM, Campo E, Jaffe ES, Delabie J, Smeland EB, Fisher RI, Chan WC, Staudt LM. Oncogenic CARD11 mutations in human diffuse large B cell lymphoma. *Science* 2008; 319: 1676-1679

[PMID: 18323416 DOI: 10.1126/science.1153629]
31 McCully RR, Pomerantz JL. The protein kinase C-responsive inhibitory domain of CARD11 functions in NF-kappaB activation to regulate the association of multiple signaling cofactors that differentially depend on Bcl10 and MALT1 for association. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 5668-5686 [PMID: 18625728 DOI: 10.1128/MCB.00418-08]
32 Thome M. CARMA1, BCL-10 and MALT1 in lymphocyte development and activation. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 348-359 [PMID: 15122200 DOI: 10.1038/nri1352]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2649-2654
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床研究 CLINICAL RESEARCH

原发性肝细胞癌CDC25A的表达与多普勒超声影像特征的关联性分析

郭 艳, 王 茜, 杨志杰

郭艳, 王茜, 杨志杰, 南昌市中西医结合医院医学超声科 江西省南昌市 330003
郭艳, 主治医师, 主要从事超声影像的研究.
南昌市指导性科技计划基金资助项目, No. (2012)120号-9
作者贡献分布: 此课题由杨志杰设计; 研究过程由郭艳、王茜及杨志杰操作完成; 研究所需标本由郭艳收集; RT-PCR和Western blot由王茜完成; 多普勒超声检查由杨志杰完成; 数据收集和分析由郭艳完成; 本论文写作由杨志杰完成.
通讯作者: 杨志杰, 主任医师, 333003, 江西省南昌市八一大道90号, 南昌市中西医结合医院医学超声科. lufen6677@163.com
收稿日期: 2013-07-23 修回日期: 2013-08-12
接受日期: 2013-08-28 在线出版日期: 2013-09-18

Correlation between expression of CDC25A and Doppler ultrasound features in primary hepatocellular carcinoma

Yan Guo, Qian Wang, Zhi-Jie Yang

Yan Guo, Qian Wang, Zhi-Jie Yang, Department of Medical Ultrasound, Nanchang Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanchang 330003, Jiangxi Province, China
Supported by: Nanchang Guidance Technology Projects, No. (2012)120-9
Correspondence to: Zhi-Jie Yang, Chief Physician, Department of Medical Ultrasound, Nanchang Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, 90 Bayi Avenue, Nanchang 330003, Jiangxi Province, China. lufen6677@163.com
Received: 2013-07-23 Revised: 2013-08-12
Accepted: 2013-08-28 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of cell division cycle 25A (CDC25A) in primary hepatocellular carcinoma (PHC) and to explore its relationship with Doppler ultrasound imaging features.

METHODS: The expression of CDC25A in 86 PHC specimens and matched tumor-adjacent tissue specimens was detected by RT-PCR and Western blot. The imaging features of PHC was analyzed by Doppler ultrasound.

RESULTS: CDC25A was found to be overexpressed in 75.58% (65/86) of PHC cases ($P < 0.05$). The expression of CDC25A protein was significantly correlated with Doppler ultrasound imaging features including tumor size, blood flow grade, resistance index (RI) and portal vein invasion (all $P < 0.05$), but not with the number of liver tumor nodes ($P > 0.05$).

CONCLUSION: CDC25A may play an important role in the development and metastasis of PHC. Detection of CDC25A expression combined with ultrasound imaging may be used clinically for evaluation of treatment response and prognosis in PHC patients.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: CDC25A; Primary hepatocellular carcinoma; Ultrasonography

Guo Y, Wang Q, Yang ZJ. Correlation between expression of CDC25A and Doppler ultrasound features in primary hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2649-2654 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2649.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2649

摘要

目的: 检测细胞分裂周期蛋白25A(cell division cycle 25A , *CDC25A*)基因在原发性肝细胞癌组织中的表达, 探讨其与肝癌多勒超声影像特征的关联.

方法: 运用RT-PCR和Western blot的方法检测86例肝癌组织及对应癌旁组织中*CDC25A*基因的表达; 用B超观察肝癌患者肝脏肿瘤影像学特征.

结果: 在86例肝癌病例中, 75.58%(65/86)的肝癌组织*CDC25A* mRNA和蛋白表达明显高于对应癌旁组织($P<0.05$); 肝癌组织中CDC25A的表达与多普勒超声影像特征如肿瘤的大小、血流分级、血流阻力指数及门静脉侵袭情况明显相关($P<0.05$), 与肝脏肿瘤结节的个

■背景资料
CDC25A是CDC25家族的重要成员之一, 近年研究发现CDC25A在G_1/S、G_2/M期转换过程中发挥关键调节作用, 并且证实在多种恶性肿瘤中表达上调, 且与肿瘤的侵袭和不良预后相关.

■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.

■研发前沿
彩色多普勒超声具有廉价、无创伤、无辐射、可重复检查等优点. 分析与肝癌密切相关蛋白的表达联合术前超声多普勒技术可以用于初步评估肿瘤的发生和发展, 对临床治疗方案的选择和预后的评估具有指导意义.

■相关报道
研究发现CDC25A细胞周期转换过程中发挥重要作用, 并且证实在肝癌等多种恶性肿瘤中表达增加, 然而其与肝细胞癌影像学特征之间的关联还不清楚.

数无关(P>0.05).

结论: *CDC25A*基因可能在肝癌的发生及转移过程中发挥重要作用, 肝癌组织中*CDC25A*基因的表达与超声影像相结合可为肝癌临床治疗及预后判断提供理论依据.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: CDC25A; 原发性肝细胞癌; 超声

核心提示: 肝癌组织中CDC25A表达呈过表达且与多普勒超声影像特征如肿瘤的大小、血流分级、血流阻力指数(resistance index)及门静脉侵袭情况明显相关.

郭艳, 王茜, 杨志杰. 原发性肝细胞癌CDC25A的表达与多普勒超声影像特征的关联性分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2649-2654 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2649.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2649

0 引言

原发性肝细胞性肝癌(primary hepatocellular carcinoma, PHC)是我国乃至世界上恶性程度最高的肿瘤之一, 其发生发展是一个多步骤多阶段的复杂过程, 每一个过程都受多个基因或蛋白的精确调节[1-8]. 细胞分裂周期蛋白25A(cell division cycle 25A, CDC25A)是CDC25家族的重要成员之一, 近年研究发现CDC25A在G_1/S、G_2/M期转换过程中发挥关键调节作用, 并且证实在肺癌、乳腺癌和结肠癌等多种恶性肿瘤中表达上调[9-20], 且与肿瘤的侵袭和不良预后相关[21]. 总之, CDC25A在恶性肿瘤的发生发展中起重要作用. 本研究采用RT-PCR及Western blot的方法检测*CDC25A*基因在肝癌组织中的表达, 运用彩色多普勒超声观察肿瘤的影像学特征, 探讨其相互关联及其意义.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2008-09/2012-12南昌市中西医结合医院86例肝癌及对应癌旁组织手术标本, 所有标本均经病理学检查确诊, 其中男49例, 女37例, 年龄33-64岁, 平均46.1岁. 其中肿瘤直径<5 cm患者47例, ≥5 cm患者39例; 单个肿瘤的57例, ≥2个肿瘤的29例; 超声血流分级: Ⅰ级12例, Ⅱ级34例, Ⅲ级40例. 有门静脉侵袭38例, 无门静脉侵袭48例. 所有患者术前均未接受放化疗. RNA提取试剂盒(美国Invitrogen公司); 总蛋白提取试剂盒(北京普利莱)、兔抗人CDC25A单克隆抗体(美国Santa Cruz公司)、β-actin二抗(北京中杉金桥公司); 彩色蛋白Marker(北京普利来公司); BCA蛋白定量试剂盒(江苏碧云天公司); 1kb plus Marker(北京TIANGEN公司); 西门子中狮王彩色多普勒超声诊断仪(德国西门子公司).

1.2 方法

1.2.1 RT-PCR检测CDC25A mRNA的表达: 采用RNA提取试剂盒提取瘤组织及对应癌旁组织中总RNA, 测定浓度, -80 ℃保存. 首先取2 μg总RNA为反应模板与3 μL逆转录酶相互混合, 反应体系为20 μL, 反应条件为: 16 ℃ 30 min, 45 ℃ 30 min, 85 ℃ 5 min. 反应结束后, 收集cDNA. 进行PCR扩增反应. 反应条件: 95 ℃ 5 min; 94 ℃ 30 s, 60 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 共40个循环, 最后72 ℃延伸7 min. 琼脂糖凝胶电泳, 拍照. 以β-actin作为内参. 实验重复3次. CDC25A上游引物: 5'-GAGGAGTCTCACCTGGAAGTACA-3', 下游引物: 5'-GCCATTCAAAACCAGATGCCATAA-3'.

1.2.2 Western blot检测CDC25A蛋白表达: 运用总蛋白提取试剂盒提取肝癌组织及癌旁组织中的总蛋白, 经10%SDS-PAGE电泳后转膜, 将膜放在含5%脱脂奶粉的TBST缓冲液中37 ℃封闭2 h, 加一抗稀释液1∶500稀释兔抗人CDC25A单克隆抗体在4 ℃孵育过夜, 1×TBST缓冲液3次(每次10 min), 加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG(1∶5000稀释), 置于37 ℃孵育2 h, 1×TBST缓冲液3次(每次10 min), 运用ECL化学发光法检测目的蛋白条带. 以β-actin作为内参.

1.2.3 肝脏的彩色多普勒成像: 运用德国西门子中狮工彩超仪. 3.5兆探头, 观察整个肝脏及其周围器官的回声, 记录肝脏肿块的大小及个数; 调整多普勒血流参数至瘤体血流显示最佳状态, 然后行血流分级, Ⅰ级: 瘤体内及周边见稀疏星点状血流信号; Ⅱ级: 肿瘤体内及周边见3条以上线状血流信号; Ⅲ级: 瘤体内及周边见密集的彩色血流信号. 查找瘤体内波动性血流, 测其最高收缩期峰值流速所对应的血流阻力指数(resistance index, RI)为记录值. 同时观察记录门静脉癌栓大小形态及彩色血流的特点.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件包进行分析. 计量资料以mean±SD表示, 癌及癌旁组织比较采用配对样本t检验; 两样本均数间的比较采用t检验; χ^2检验用于多组间率或百分比的比较; P<0.05为差异有统计学意义.

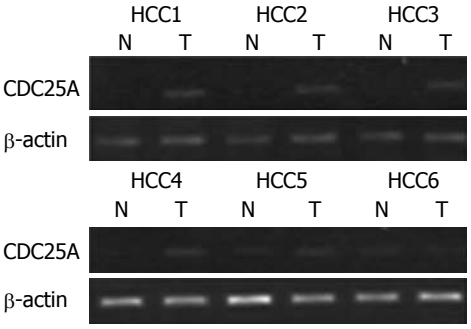


图 1 RT-PCR检测86例肝癌组织及对应的癌旁组织中CDC25A mRNA的表达. T: 癌组织; N: 癌旁组织. HCC1-6表示部分典型病例. HCC: 肝细胞癌; CDC25A: 细胞分裂周期蛋白25A.

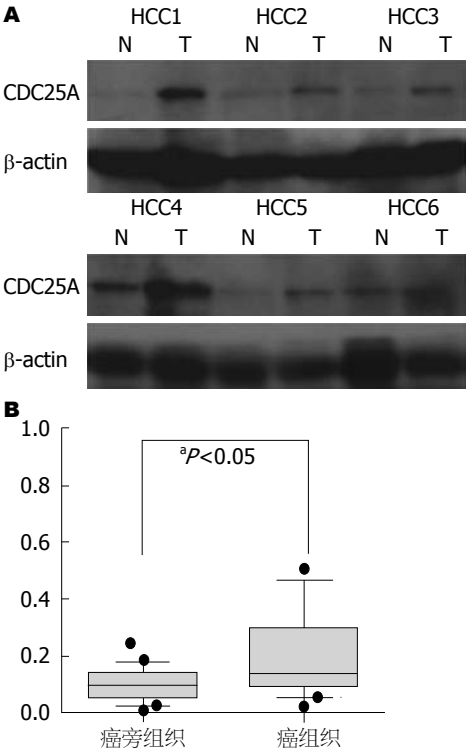


图 2 86例患者肝癌及对应的癌旁组织CDC25A蛋白的表达. A: Western blot结果; B: 盒状图. T: 癌组织; N: 癌旁组织. HCC: 肝细胞癌; CDC25A: 细胞分裂周期蛋白25A.

2 结果

2.1 肝癌组织CDC25A mRNA的表达情况 运用RT-PCR检测86例肝癌患者癌及癌旁组织中CDC25A mRNA的表达情况, 结果发现: 75.58%(65/86)的病例肝癌组织CDC25A mRNA的表达明显高于相对应的癌旁组织中的表达, 结果有统计学意义($t = 23.54$, $P<0.05$)(图1). 其他24.42%(21/86)的病例肝癌组织CDC25A mRNA的表达与癌旁比无明显差别($t = 0.86$, $P>0.05$).

2.2 肝癌组织CDC25A蛋白的表达情况 进一步运用Western blot的方法检测86例肝癌患者癌及癌旁组织中CDC25A蛋白的表达情况, 结果发现: CDC25A蛋白在癌和癌旁组织的表达与CDC25A mRNA一致, 75.58%(65/86)的病例肝癌组织CDC25A蛋白的表达明显高于相对应的癌旁组织中的表达($t = 27.32$, $P<0.05$)(图2).

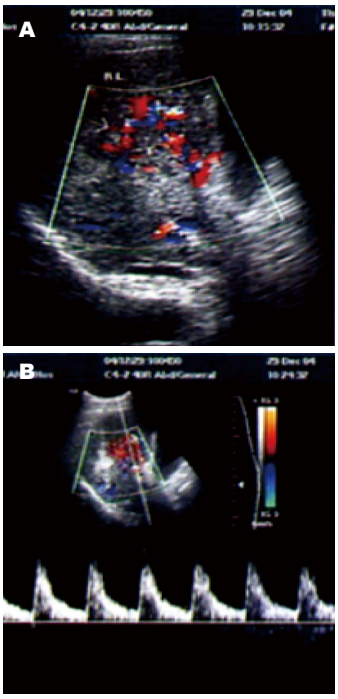


图 3 肝细胞癌彩色多普勒血流信号. A: 星点状及线状血流信号; B: 血流阻力测量.

2.3 CDC25A蛋白的表达与肝癌超声影像特征的关联 彩色多普勒显示肝细胞癌瘤体内为星点状及线状血流信号(图3). 肝癌组织中CDC25A蛋白的表达与肝癌超声影像特征如肿瘤的大小、血流的分级、RI及门静脉侵袭情况明显相关(CDC25A蛋白表达越高, 瘤体的直径越大, 血流分级及RI越高, 门静脉侵袭越多)($P<0.05$)(表1, 2). 而CDC25A蛋白的表达与肿瘤结节的个数无关($P>0.05$). 另外, 研究发现肿瘤直径增大, RI值也增高($P<0.05$)(表2).

3 讨论

原发性肝细胞癌是全球发病率最高的恶性肿瘤之一, 具有生长快、容易发生侵袭和转移等特点. 肝癌的发生发展是一个多步骤、多阶段、多途径、多个因素共同调控的复杂生物学过程[22-28]. 研究报道CDC25A肝癌等在多种恶性肿瘤中过表达[9-21]. 我们利用RT-PCR和Western blot方法也发现*CDC25A* mRNA和蛋白在肝癌组织中的表达明显高于癌旁组织, 结果有统计学意义. 说明*CDC25A*基因可能在肝癌中起着非常重要的作用.

彩色多普勒超声具有廉价、无创伤、无辐

■创新盘点

本研究首次分析肝癌组织中CDC25A的表达与肝细胞癌影像学特征之间的关联.

■应用要点
肝癌组织中CDC25A的表达联合术前超声多普勒技术可以用于初步评估肿瘤的临床病理进展.

表 1 CDC25A的表达与肝癌超声征象的关联

超声征象	*n*	CDC25A		χ^2值	*P*值
		过表达	非过表达		
肿瘤大小(cm)				14.39	<0.001
<5	47	28	19		
≥5	39	37	2		
肿瘤结节个数				0.33	0.57
1	57	42	15		
≥2	29	23	6		
血流分级					
I	12	4	8		
II	34	24	10	5.17[a]	0.02[a]
III	40	37	3	19.37[b]	<0.001[b]
门静脉侵袭				21.02	<0.001
(+)	38	36	2		
(−)	48	29	19		

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* I 级. CDC25A: 细胞分裂周期蛋白25A.

表 2 CDC25A的表达及肿瘤直径与血流阻力指数的关系

	n	血流阻力指数	*t*值	*P*值
CDC25A			3.24	0.01
过表达	65	0.84 ± 0.09		
非过表达	31	0.62 ± 0.08		
肿瘤大小(cm)			2.92	0.02
<5	47	0.68 ± 0.08		
≥5	39	0.82 ± 0.09		

CDC25A: 细胞分裂周期蛋白25A.

射、可重复检查等优点, 对病变的诊断和随访具有重要的临床应用价值. 我们采用彩色多普勒技术术前检测患者的瘤体大小、个数以及门静脉侵袭情况, 分析其与CDC25A蛋白表达的关联, 结果发现肝癌组织中CDC25A蛋白的表达与肿瘤的大小及门静脉侵袭情况密切相关. 这与Xu等[21]报道发现肝癌中CDC25A高表达与肿瘤的门静脉侵袭显著相关的结果一致. 研究已经证实瘤体的血流参数与肿瘤的一些基本生物学特征有关联, 通过了解瘤体内的血流信号参数可以估计肿瘤的生物学行为. 我们利用多普勒技术观察肝细胞癌肿块内的血流信号, 以评估瘤体内的血供以并分析其与*CDC25A*基因表达的关系, 结果发现CDC25A蛋白表达与瘤体内血流分级显著相关. 以上结果表明说明CDC25A高表达在促进肝癌的血管侵袭方面起重要作用.

RI是评价动脉血流阻力的主要参数之一, 因RI值不会受测量角度因素的干扰, 故其测量的结果较客观. 我们研究发现肝脏瘤体直径增大, RI值也高. 我们分析其原因可能为随着肿瘤直径的增大, 肝固有动脉的直径及最大流速都明显高于正常值, 血管分支增多, 走向异常, 并具有收缩和波动性的高速动脉血流[29]. 因瘤体内的血管管壁无平滑肌, 韧性差, 此外加上门静脉癌栓生成、肿瘤假包膜的破坏及动、静脉瘘生成, 所以肿瘤内的血管形成窦腔, 从而舒张末期的血流速度变慢, 导致RI升高[30]. 另外, 我们还发现RI值与*CDC25A*基因的表达显著相关, 随着RI的增高, *CDC25A*基因表达也逐渐增多. 这进一步表明CDC25A的表达与肝癌的血管生成情况相关. 所以检测肝癌组织中CDC25A蛋白的表达及肿瘤的血管情况将有助于提高肿瘤血管侵袭的阳性率.

总之, CDC25A蛋白的表达与肝癌的多普勒超声影像特征显著相关, 分析肝癌组织中CDC25A蛋白的表达联合术前超声多普勒技术可以用于初步评估肿瘤的发生和发展, 对临床治疗方案的选择和预后的评估具有指导意义.

4 参考文献

1 Lin YS, Wang TY, Lin JC, Wang HY, Chou KF, Shih SC, Chen MJ. Hepatic carcinosarcoma: clinicopathologic features and a review of the literature. *Ann Hepatol* 2013; 12: 495-500 [PMID: 23619269]
2 Suh SJ, Yim HJ. [Current status of molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma]. *Korean J Gastroenterol* 2013; 61: 136-146 [PMID: 23575232]
3 Zheng Z, Zhou L, Gao S, Yang Z, Yao J, Zheng S.

Prognostic role of C-reactive protein in hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Int J Med Sci* 2013; 10: 653-664 [PMID: 23569429 DOI: 10.7150/ijms.6050]
4 Liu L, Dai Y, Chen J, Zeng T, Li Y, Chen L, Zhu YH, Li J, Li Y, Xie D, Yuan YF, Guan XY. Maelstrom promotes hepatocellular carcinoma metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition via Akt/GSK-3β/snail signaling. *Hepatology* 2013 Aug 8. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23929794 DOI: 10.1002/hep.26677]
5 Chang HF, Wu CH, Yang LL. Antitumour and free radical scavenging effects of γ-mangostin isolated from Garcinia mangostana pericarps against hepatocellular carcinoma cell. *J Pharm Pharmacol* 2013; 65: 1419-1428 [PMID: 23927480 DOI: 10.1111/jphp.12111]
6 Takeda A, Sanuki N, Eriguchi T, Kobayashi T, Iwabutchi S, Matsunaga K, Mizuno T, Yashiro K, Nisimura S, Kunieda E. Stereotactic ablative body radiotherapy for previously untreated solitary hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2013 Aug 8. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23927053 DOI: 10.1111/jgh.12350]
7 Xu HS, Li SY, Liang X, Shou JD, Xu K, He YT. Hepatocellular Carcinoma Presenting as a Wandering Abdominal Lump with Atypical CEUS. *Ultraschall Med* 2013; 34: 388-390 [PMID: 23929380]
8 Hata S, Miki Y, Saito R, Ishida K, Watanabe M, Sasano H. Aromatase in human liver and its diseases. *Cancer Med* 2013; 2: 305-315 [PMID: 23930207 DOI: 10.1002/cam4.85]
9 Younis RH, Cao W, Lin R, Xia R, Liu Z, Edelman MJ, Mei Y, Mao L, Ren H. CDC25A(Q110del): a novel cell division cycle 25A isoform aberrantly expressed in non-small cell lung cancer. *PLoS One* 2012; 7: e46464 [PMID: 23071577 DOI: 10.1371/journal.pone.0046464]
10 Brunetto E, Ferrara AM, Rampoldi F, Talarico A, Cin ED, Grassini G, Spagnuolo L, Sassi I, Ferro A, Cuorvo LV, Barbareschi M, Piccinin S, Maestro R, Pecciarini L, Doglioni C, Cangi MG. CDC25A protein stability represents a previously unrecognized target of HER2 signaling in human breast cancer: implication for a potential clinical relevance in trastuzumab treatment. *Neoplasia* 2013; 15: 579-590 [PMID: 23730206]
11 Jin Y. 3,3'-Diindolylmethane inhibits breast cancer cell growth via miR-21-mediated Cdc25A degradation. *Mol Cell Biochem* 2011; 358: 345-354 [PMID: 21761201 DOI: 10.1007/s11010-011-0985-0]
12 Chang HY, Shih MH, Huang HC, Tsai SR, Juan HF, Lee SC. Middle infrared radiation induces G2/M cell cycle arrest in A549 lung cancer cells. *PLoS One* 2013; 8: e54117 [PMID: 23335992 DOI: 10.1371/journal.pone.0054117]
13 Feng X, Wu Z, Wu Y, Hankey W, Prior TW, Li L, Ganju RK, Shen R, Zou X. Cdc25A regulates matrix metalloprotease 1 through Foxo1 and mediates metastasis of breast cancer cells. *Mol Cell Biol* 2011; 31: 3457-3471 [PMID: 21670150 DOI: 10.1128/MCB.05523-11]
14 Jin Y, Zou X, Feng X. 3,3'-Diindolylmethane negatively regulates Cdc25A and induces a G2/M arrest by modulation of microRNA 21 in human breast cancer cells. *Anticancer Drugs* 2010; 21: 814-822 [PMID: 20724916 DOI: 10.1097/CAD.0b013e32833e53ea]
15 Naderi A, Liu J. Inhibition of androgen receptor and Cdc25A phosphatase as a combination targeted therapy in molecular apocrine breast cancer. *Cancer Lett* 2010; 298: 74-87 [PMID: 20605569 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.06.005]
16 Mehdipour P, Pirouzpanah S, Sarafnejad A, Atri M, Shahrestani ST, Haidari M. Prognostic implication of CDC25A and cyclin E expression on primary breast cancer patients. *Cell Biol Int* 2009; 33: 1050-1056 [PMID: 19555767 DOI: 10.1016/j.cellbi.2009.06.016]
17 Wang P, Zou F, Zhang X, Li H, Dulak A, Tomko RJ, Lazo JS, Wang Z, Zhang L, Yu J. microRNA-21 negatively regulates Cdc25A and cell cycle progression in colon cancer cells. *Cancer Res* 2009; 69: 8157-8165 [PMID: 19826040 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1996]
18 Yun HJ, Hyun SK, Park JH, Kim BW, Kwon HJ. Widdrol activates DNA damage checkpoint through the signaling Chk2-p53-Cdc25A-p21-MCM4 pathway in HT29 cells. *Mol Cell Biochem* 2012; 363: 281-289 [PMID: 22160829 DOI: 10.1007/s11010-011-1180-z]
19 de Oliveira PE, Zhang L, Wang Z, Lazo JS. Hypoxia-mediated regulation of Cdc25A phosphatase by p21 and miR-21. *Cell Cycle* 2009; 8: 3157-3164 [PMID: 19738433]
20 Sørensen CS, Melixetian M, Klein DK, Helin K. NEK11: linking CHK1 and CDC25A in DNA damage checkpoint signaling. *Cell Cycle* 2010; 9: 450-455 [PMID: 20090422]
21 Xu X, Yamamoto H, Sakon M, Yasui M, Ngan CY, Fukunaga H, Morita T, Ogawa M, Nagano H, Nakamori S, Sekimoto M, Matsuura N, Monden M. Overexpression of CDC25A phosphatase is associated with hypergrowth activity and poor prognosis of human hepatocellular carcinomas. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1764-1772 [PMID: 12738732]
22 Chen YL, Wang TH, Hsu HC, Yuan RH, Jeng YM. Overexpression of CTHRC1 in Hepatocellular Carcinoma Promotes Tumor Invasion and Predicts Poor Prognosis. *PLoS One* 2013; 8: e70324 [PMID: 23922981 DOI: 10.1371/journal.pone.0070324]
23 He SL, Shen J, Sun XJ, Zhu XJ, Liu LM, Dong JC. Efficacy of capecitabine and oxaliplatin regimen for extrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma following local treatments. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4552-4558 [PMID: 23901232 DOI: 10.3748/wjg.v19.i28.4552]
24 Yan H, Dong X, Zhong X, Ye J, Zhou Y, Yang X, Shen J, Zhang J. Inhibitions of epithelial to mesenchymal transition and cancer stem cells-like properties are involved in miR-148a-mediated anti-metastasis of hepatocellular carcinoma. *Mol Carcinog* 2013 Jul 17. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23861222 DOI: 10.1002/mc.22064]
25 Wang F, Qiao Y, Yu J, Ren X, Wang J, Ding Y, Zhang X, Ma W, Ding Y, Liang L. FBX8 Acts as an Invasion and Metastasis Suppressor and Correlates with Poor Survival in Hepatocellular Carcinoma. *PLoS One* 2013; 8: e65495 [PMID: 23826080]
26 Vega FM, Fruhwirth G, Ng T, Ridley AJ. RhoA and RhoC have distinct roles in migration and invasion by acting through different targets. *J Cell Biol* 2011; 193: 655-665 [PMID: 21576392 DOI: 10.1083/

■名词解释
肿瘤血流阻力指数: 评价肿瘤血管血流阻力的主要参数之一, 可反映肿瘤的血液供应情况.

■同行评价
本文能利用肝细胞癌CDC25A蛋白表达与多普勒超声影像的关联性, 分析CDC25A蛋白表达对肝细胞癌的转移与影象学的吻合性. 研究结果有较好的创新性, 是影象学和分子生物研究肿瘤的一个较好的例子.

jcb.201011038]
27 Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 453-458 [PMID: 12778135]
28 Steeg PS. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. *Nat Med* 2006; 12: 895-904 [PMID: 16892035]
29 欧亚平, 陈玉桂, 李勇军. 彩色多普勒血流显像对原发性肝癌的诊断分析. 中国医药导报 2007; 4: 121-123
30 Yang ZF, Poon RT. Vascular changes in hepatocellular carcinoma. *Anat Rec* (Hoboken) 2008; 291: 721-734 [PMID: 18484619 DOI: 10.1002/ar.20668]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (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.

2 稿件修改

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

3 版权

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

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2655-2660
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

糖尿病参与肝炎病毒相关性肝癌发生的研究进展

张 慧, 张 庆

张慧, 张庆, 中国人民武装警察部队总医院 北京市 100039
张慧, 主要从事消化系肿瘤的研究.
作者贡献分布: 本文综述由张慧完成; 张庆负责审校.
通讯作者: 张庆, 副主任医师, 硕士生导师, 100039, 北京市海淀区永定路69号, 中国人民武装警察部队总医院. zqy6920@sina.com
电话: 010-57976854
收稿日期: 2013-05-02 修回日期: 2013-05-28
接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-18

Progress in understanding role of diabetes mellitus in the development of hepatitis virus-related hepatocellular carcinoma

Hui Zhang, Qing Zhang

Hui Zhang, Qing Zhang, the General Hospital of the Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100039, China
Correspondence to: Qing Zhang, Associate Chief Physician, the General Hospital of the Chinese People's Armed Police Forces, 69 Yongding Road, Haidian District, Beijing 100039, China. zqy6920@sina.com
Received: 2013-05-02 Revised: 2013-05-28
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-18

Abstract
Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common malignant tumors. Hepatitis B or hepatitis C virus infection has been considered the most important etiologic factor for human HCC. Recently, it has been suggested that diabetes mellitus is a risk factor for HCC, and that insulin resistance as a critical component of diabetes mellitus pathogenesis may be involved in the occurrence of hepatitis virus-related HCC. Since IRS-1-Ser312 is a molecule that is involved in the pathogenesis of both hepatitis C virus and diabetes mellitus, IRS-1 or ROS may play a role in the development of HCC associated with diabetes mellitus and hepatitis B virus. Hence, diabetes mellitus and hepatitis virus not only are independent risk factors for HCC but also interact with each other to contribute to the development of this malignancy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Diabetes mellitus; Hepatitis B virus; Hepatitis C virus

Zhang H, Zhang Q. Progress in understanding role of diabetes mellitus in the development of hepatitis virus-related hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2655-2660 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2655.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2655

摘要
肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是临床上最常见的恶性肿瘤之一, 肝炎病毒感染(乙型肝炎病毒与丙型肝炎病毒)是肝癌的主要致病因素. 近年研究发现糖尿病也是肝癌发生的高危因素之一. 胰岛素抵抗可能是糖尿病引发肝癌的关键环节, 糖尿病可能与肝炎病毒协同作用参与肝癌的发生. 这些研究认为糖尿病可能与丙型肝炎病毒存在共同的作用分子胰岛素受体底物1(insulin receptor substrate-1, IRS-1)-Ser312诱发肿瘤生长; 糖尿病与乙型肝炎病毒可能通过IRS-1、过量反应氧体系共同发挥致癌作用; 糖负荷可以增加胰岛素抵抗, 诱导肝癌产生. 因此, 糖尿病与肝炎病毒感染不仅作为独立病因诱发肝癌, 两者也可能协同作用促进肝癌发生.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝细胞癌; 糖尿病; 乙型肝炎病毒; 丙型肝炎病毒

核心提示: 本文提出糖尿病诱发肝癌的关键环节是胰岛素抵抗, 糖尿病与肝炎病毒通过胰岛素抵抗中的关键分子胰岛素受体底物1(insulin receptor substrate-1)共同诱发肝癌, 并提出乙型肝炎病毒与糖尿病可以通过过量反应氧体系(reactive oxygen species)与增加糖负荷诱发肝癌.

张慧, 张庆. 糖尿病参与肝炎病毒相关性肝癌发生的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2655-2660 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2655.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2655

■背景资料
乙型肝炎与丙型肝炎病毒感染是肝癌的主要致病因素. 糖尿病是肝癌发生的高危因素之一, 胰岛素抵抗可能是糖尿病引发肝癌的关键环节. 本文对糖尿病与肝炎病毒的相关关系与诱发肝癌的相关机制进行分析, 提出糖尿病与肝炎病毒二者可作为独立因素诱发肝癌, 也可协同作用促进肝癌发生.

0 引言
肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC), 简称肝癌, 是临床上最常见的恶性肿瘤之一[1], 其发

■同行评议者
傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

■研发前沿
目前世界上大多研究丙型肝炎病毒与糖尿病之间的关系及其相关分子机制, 乙型肝炎病毒与糖尿病之间的关系以及肝炎病毒与糖尿病共同诱发肝癌的相关机制, 糖尿病对于肝癌发生的基因层面的影响仍是该领域研究的重点和难点.

病率与病死率在近10年中持续增长[2]. 肝癌大部分发生在慢性肝病患者中, 持续的乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)或丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染是HCC的主要致病因素[3]. 据统计, 全球范围内将近3%的世界人口感染HCV, 约20亿人感染HBV[4]. 中国是HBV高发国家, 约80%以上的肝癌患者与慢性HBV感染有关. 此外, 随着糖尿病发病率的逐年增高, 近年来大量研究发现糖尿病也是肝癌发生的高危因素之一[5-7]. 据国际糖尿病协会报道, 2011年糖尿病患者将增长到3.6亿人, 占全球成人总数的3%[8]. 糖尿病患者中HCC的发生率达37%[7]. 目前认为肝炎病毒感染与糖尿病作为肝癌发生的两大高危因素严重威胁国民健康[1,7], 并且两者可共同作用促进肝癌发生[5]. 然而, 糖尿病与肝炎病毒共同参与HCC的发生机制尚不明确. 本文现就糖尿病与肝炎病毒的协同作用及其诱发肝癌机制的研究进展作一综述.

1 糖尿病与HCC的发生

1.1 糖尿病与肝癌的关系 1986年Lawson等[9]在对105例肝癌患者与105例大肠癌患者进行长期的抗惊厥类药物应用比较中, 意外发现HCC患者中糖尿病的发生率超过了大肠癌患者的4倍. Jha等[10]将200例HCC患者与250例非肝癌对照组进行比较, 发现糖化血红蛋白在肝癌组中的比率(7.6%)高于非肝癌对照组(6.8%), 糖尿病在HCC中的发生率(34%)明显高于非肝癌组(10%), 且存在统计学意义(OR = 4.63, P<0.001), 提示肝癌发生与糖尿病相关. El-Serag等[6]通过对13个HCC相关研究进行系统回顾与Meta分析, 结果发现在HCC的高危因素(肝炎、酒精、性别、种族等)中糖尿病是HCC发生的独立风险因素. 此外, 糖尿病患者中脂肪肝发生率高达54.5%[5], 而许多研究发现非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)与HCC之间存在相关性[6,10]. 据统计约有4%-27%NAFLD的终末期疾病脂肪肝性肝炎后肝硬化患者发展为肝癌[11]. NAFLD是胰岛素抵抗在肝脏的临床表现[10]. 因此目前认为糖尿病是HCC发生的高危因素之一[12].

1.2 糖尿病诱发肝癌的相关机制 糖尿病中的胰岛素抵抗是胰岛素敏感性降低的结果. 由于不同原因导致胰岛素对于葡萄糖清除减少, 机体为保持正常代谢功能, 促使胰岛素分泌增加, 引起代偿性高胰岛素血症, 以维持血糖稳定[13]. 胰岛素抵抗是糖尿病的早期表现, 其通过激活胰岛素受体底物1(insulin receptor substrate-1, IRS-1), 可产生肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α), 白介素(interleukin 6, IL-6)增强肿瘤细胞因子炎性活动, 并可通过修饰DNA甲基化改变肿瘤细胞基因型及表观遗传变异. 此外高胰岛素血症能够促进肝星状细胞增生加速肝纤维化, 进而诱发肝癌[14]. 目前认为糖尿病诱发肝癌的作用机制如下: 胰岛素抵抗通过激活IRS-1, 促进促有丝分裂, 加速肿瘤细胞的增殖和转移[15,16]. El-Serag等[6]用肝菌素治疗糖尿病小鼠进行胰岛抑制从而建立一种肝癌的内分泌模型, 结果观察到从癌前病变至肝癌的发展受到胰岛素驱使. 胰岛素抵抗造成胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF-1与IGF-2)与胰岛素样生长因子1受体(insulin-like growth factor-1 receptor, IGF-1R)过表达并激活IRS-1[17-20], 后者作为细胞转化和癌变的调节因子, 激活磷酸酶和张力蛋白同源磷酸酶肿瘤/磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)信号通路、多种肿瘤细胞株和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-ativated protein kinase kinase, MAPK)信号通路, 加速细胞周期, 促进有丝分裂, 诱导细胞增生、转化和抗凋亡, 促进肿瘤细胞增殖和转移[21,22].

胰岛素抵抗产生过量反应氧体系(reactive oxygen species, ROS), 促进肿瘤细胞的增殖以及DNA突变诱发癌变. 胰岛素抵抗通过多元醇和蛋白糖基化途径, 刺激糖尿病患者的血浆中产生过量ROS[23,24]. 一方面ROS激活肝脏非实质细胞(肝星状细胞等)导致肝硬化, 并通过自分泌与旁分泌形式激活肝星状细胞. 后者增加肝细胞胶原间质沉积, 肝细胞炎性坏死, Mallory小体形成, 促进肝硬化及肿瘤形成[25,26]; 另一方面持续的ROS通过活化的丝氨酸-苏氨酸激酶级联反应削弱胰岛素效应, 促进胰岛素抵抗. 并通过修饰DNA甲基化, 导致DNA突变, 诱发癌变[27].

胰岛素抵抗诱发NAFLD, 导致肝硬化进而促进肝癌发生. NAFLD发生的关键步骤是胰岛素抵抗, 后者造成胰岛素对脂肪代谢调节功能减弱[28,29], 血浆游离脂肪酸增加使肝脏合成三酰甘油(triglyceride, TG)增加, TG在肝脏组织中沉积, 肝细胞溶酶体稳定性降低, 肝细胞发生脂肪样变[30]. 游离脂肪酸引发促炎性细胞因子(TGF-α、IL-6、IL-8)过度表达, 使肝脏进一步发展为脂肪性肝炎. 肝脏脂肪样变进一步导致线粒体损伤, 产生氧化应激, 使ROS增加, 促使肝脏向炎症, 纤维化, 硬化与癌变发展[31,32].

2 糖尿病与肝炎病毒相关性HCC

2.1 糖尿病与HCV相关性HCC

2.1.1 糖尿病与HCV的关系: Wang等[33]对4958例肝炎病毒血清学阳性与阴性患者进行7年研究, 发现474例发展为糖尿病, HCV抗体阳性患者糖尿病累积发生风险最高(14.7%, 秩和检验 $P<0.0001$), 而性别、HBV表面抗原阳性等因素发生风险均无统计学意义, 提示HCV感染是糖尿病发生的独立风险因素. Hung等[34]将81例持续慢性非糖尿病的HCV患者与健康人群分别对血清学细胞因子与胰岛素抵抗稳态模型(HOMA-IR)的水平进行比较, 结果发现慢性HCV感染患者中胰岛素抵抗水平与TNF-α、IL-6、IL-10水平均高于正常人群, 并通过增加TNF-α、IL-6等细胞炎性因子加速慢性HCV感染肝脏的组织学进程. Ko等[35]发现在感染基因型1型的HCV患者中, 超过75%的患者出现一种与胰岛素抵抗高度相关的代谢性肝脂肪样变; 在感染HCV基因型3型的患者中, 脂肪变性与病毒载量相关, 且被称为病毒性脂肪样变. 可见HCV感染与糖尿病导致的胰岛素抵抗相关的肝脂肪样变关系密切. 由于糖尿病导致肝癌发生的相关机制目前已逐渐明确, 由此推断HCV感染与糖尿病之间可能存在某种共同致癌的代谢途径, 诱发肝癌的发生与发展.

2.1.2 糖尿病与HCV的协同作用: HCV核心蛋白能够抑制AKt-Thr308位点磷酸化诱发胰岛素抵抗. Akt即蛋白激酶B, 是一种丝氨酸(Ser)/苏氨酸(Thr)蛋白激酶. HCV核心蛋白通过抑制AKt-Thr308位点磷酸化诱导胰岛素抵抗, Akt信号转导通路与胰岛素受体关系密切, 负责来自于胞膜到细胞内胰岛素受体对于代谢, 转录, 与转化的指令, 并作为生长因子受体下游通路的一部分被激活. AKt激活需要磷脂酰肌醇-3激酶产生的磷脂酰肌醇三磷酸盐, 以及上游磷酸肌醇依赖激酶进行独立位点磷酸化. 并直接作用于糖酵解途径和线粒体功能, 被认为是代谢的早期快速应答. Akt激活能够引起生长因子与原癌基因应答, 从而增加葡萄糖载体的膜定位与转录. AKt信号长期改变, 破坏循环葡萄糖与器官寿命的稳定. HCV核心蛋白能破坏AKt-Thr308位点激活, 抑制胰岛素, 阻碍葡萄糖摄取, 诱发胰岛素抵抗[21,32]. HCV核心蛋白通过上调IRS-1-Ser312位点磷酸化水平削弱胰岛素信号的传导能力, 诱发胰岛素抵抗. Banerjee等[32]将HepG2与Huh-7细胞进行HCV转染, 利用永生化人体肝细胞(immortalized human hepatocytes, IHH)进行HCV繁殖, 结果发现HCV核心蛋白不仅能够激活MAPK, 而且可以上调IRS-1-Ser312位点磷酸化水平. 另外, IRS-1的Ser残基磷酸化(主要为Ser-312位点), 可以削弱胰岛素信号传导的能力, 从而抑制外周组织对葡萄糖的正常摄取, 诱发胰岛素抵抗[36].

HCV核心蛋白通过PA28γ独立通路诱发胰岛素抵抗. PA28γ与HCV核心蛋白密切相关, 一方面PA28γ可以通过蛋白酶体独立通路加速HCV核心蛋白降解; 另一方面, HCV核心蛋白与PA28γ在细胞核中共同作用也同样是肝脏脂肪变与癌变的前提[32]. Moriya等[37]在转基因PA28γ(+/+)CoreTg小鼠中发现HCV核心蛋白通过PA28γ独立通路抑制IRS-1酪氨酸磷酸化以及产生IRS-2, 诱发胰岛素抵抗.

HCV核心蛋白直接损伤胰岛B细胞的功能, 引起胰岛素抵抗. 胰岛可以在HCV感染后出现形态变化, 引起葡萄糖刺激胰岛素释放紊乱. HCV核心蛋白直接损伤临近组织, 包括胰岛B细胞的功能损伤, 由此限制胰岛素对于高糖血症的应答, 最终发展为胰岛素抵抗[38]. 胰岛素抵抗是引发糖尿病的关键环节以及促进肝癌发生的主要因素. 由此推测HCV感染可诱发糖尿病, 并可能与糖尿病共同促进肝癌发生

2.2 糖尿病与HBV相关性肝癌

2.2.1 糖尿病与HBV的关系: 当前全球约有35000万HBV慢性携带者[5]. Iroezindu等[39]对204例持续HBsAg>6 mo且无糖尿病的患者进行交叉研究, 发现52(25.5%)例出现空腹血糖受损, 且空腹血糖受损是糖尿病的独立预测因素(OR = 8.23, 95%CI: 2.78-24.31). Huo等[40]对239例肝癌切除术后的患者进行分析发现, 糖尿病组中HBV相关性肝癌切除术后5年的生存率是40%, 明显低于非糖尿病组73%的生存率, 并发现较糖尿病组中肝脏出现更频繁且持续性的炎症反应. 该研究提出糖尿病是HBV相关性肝癌术后复发的独立预测因素. Ko等[35]将359例肝癌患者与1536例非肝癌患者进行比较分析, 结果发现HBV与糖尿病对于肝癌的协同作用(SI = 3.19, 95%CI: 1.50-6.80)高于HBV本身的单独作用. 因此, 目前认为糖尿病是HBV相关性肝癌发生、发展的风险因素之一, 并且糖尿病与HBV可能存在某种协同作用促进肝癌的发生.

2.2.2 糖尿病与HBV的协同作用: IRS-1与HBx的双重表达协同作用于肝脏组织诱发癌变. *HBx*基

■相关报道
与该研究有关的相关研究报道了糖尿病与肝炎病毒相关性肝癌的关系, 并从不同层面分析胰岛素抵抗, 糖耐量异常, 糖负荷水平增加与肝炎病毒的关系, 研究范围系统且全面.

■**创新盘点**
本文分别对丙型肝炎病毒、乙型肝炎病毒与糖尿病之间的相关关系及其诱发肝癌的可能相关机制进行综合性阐述，这是之前该领域报道中不曾有过的，让读者对糖尿病诱发病毒相关性肝癌的发生有更全面更新的认识.

因在*HBV*基因中是最小的开放阅读框，包含154个氨基酸. HBx具备多种功能，包括转录、激活信号转导，以及干扰线粒体和DNA修复功能. 对病毒感染与复制起到重要作用. HBx往往整合到肝癌细胞基因组中发挥作用[41]. Longato等[42]在HBV感染的肝脏不典型增生中观察到有25%的小鼠基因表达HBx与IRS-1，其中有3个病例出现肝癌，在单独表达IRS-1与HBx中却没有发现肝癌，HBx或IRS-1单独表达并不能充分引起肝脏肿瘤的发生. IGF/IRS-1/Ras/Raf/ErK MAPK是肝癌发生的持续性信号激活的主要途径之一，IRS-1的持续表达通过激活IGF-1/IRS-1/ErKMAPK途径引起生长和生存信号增加，从而诱发癌变[43]. 高胰岛素血症时，胰岛素信号通路中IRS-1过表达[44]. 因此，可以推断糖尿病与HBV作为肝癌发生的两种独立因素存在时，二者通过HBx与IRS-1共同表达诱发肝癌.

糖尿病与HBV感染均可通过激活ROS引发癌变. HBV感染引起活性氧体系ROS增加导致氧化应激和DNA损伤[25,45]. 胰岛素抵抗可以诱发糖尿病患者产生过量ROS. ROS能够激活与脂质过氧化相关的肝星状细胞促进炎症发生，并伴随着线粒体损伤，促进肝癌发展[31]. 因此糖尿病与HBV二者均可通过激活ROS引发癌变.

糖负荷增加胰岛素抵抗，与HBV共同增加肝癌发生风险. 糖负荷的提出体现了碳水化合物数量对血糖的影响. 糖负荷是血糖应答和由食物引起的胰岛素需求的应答. 高糖负荷水平可以引起慢性胰岛素水平升高，增加胰岛素抵抗诱发肿瘤[46]. Lagiou等[47]对333例HCC患者与369例非HCC患者进行半定量食物频率问卷评估糖负荷水平，结果发现糖负荷同HBV相关性肝癌的发生正相关且存在统计学意义，并提出减少糖负荷能够减少肝癌发生风险. Rossi等[48]对186例HCC患者与412例对照组进行3年食物频率问卷，结果发现糖负荷与HCC正相关，在HBV病毒感染组中OR = 3.25(95%CI: 1.46-7.22)，高于非病毒感染组OR = 2.45(95%CI: 0.69-8.64).

2.3 糖尿病与隐匿性HBV

隐匿性HBV感染可以解释为HBV DNA在肝脏组织中敏感性升高，但却不存在可观察到的表面抗原. 确切的隐匿性HBV感染在生物学中和临床上并不能完全被检测出来. 但HBV DNA在感染和宿主细胞中均能够被发现. HBV通过增加DNA的插入从而发挥其潜在的致癌潜能. 较高的HBV DNA水平可以增加肝癌的发生危险[49]. Demir等[46]对100例HBcAb阳性糖尿病患者与100例HBcAb阳性健康人的血液进行检测，结果发现糖尿病组中HBV-DNA检出率为11%，高于对照组3%检出率. Nagaoki等[5]对1374例肝癌患者进行了14年肝癌临床特征调查，结果发现隐匿性HBV感染可以存在于非肝炎病毒相关性肝癌的患者中，并可以增加非肝炎病毒相关性肝癌的发生风险. 由此推断隐匿性HBV感染可能增加糖尿病诱发肝癌的发生风险.

3 结论

糖尿病与肝炎病毒均是肝癌发生的高危因素之一，二者可作为独立病因诱发肝癌，也可协同作用促进肝癌发生. 阐明糖尿病与肝炎病毒感染协同诱发肝癌机制有助于早期、及时地进行肝癌防治. 感染HBV或HCV的肝炎患者应该注重改善生活方式和膳食控制代谢，并加强糖尿病的早期诊断及治疗. 未来的研究重点应该放在糖尿病对于肝脏肿瘤基因层面的影响.

4 参考文献

1 Ye JZ, Miao ZG, Wu FX, Zhao YN, Ye HH, Li LQ. Recurrence after anatomic resection versus nonanatomic resection for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 1771-1777 [PMID: 22901120 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.5.1771]

2 Dogan E, Yalcin S, Koca D, Olmez A. Clinicopathological characteristics of hepatocellular carcinoma in Turkey. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2985-2990 [PMID: 22938494 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.6.2985]

3 Shima T, Uto H, Ueki K, Takamura T, Kohgo Y, Kawata S, Yasui K, Park H, Nakamura N, Nakatou T, Tanaka N, Umemura A, Mizuno M, Tanaka J, Okanoue T. Clinicopathological features of liver injury in patients with type 2 diabetes mellitus and comparative study of histologically proven nonalcoholic fatty liver diseases with or without type 2 diabetes mellitus. *J Gastroenterol* 2013; 48: 515-525 [PMID: 22911170 DOI: 10.1007/s00535-012-0653-5]

4 Gao J, Xie L, Yang WS, Zhang W, Gao S, Wang J, Xiang YB. Risk factors of hepatocellular carcinoma--current status and perspectives. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 743-752 [PMID: 22631642 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.3.743]

5 Nagaoki Y, Hyogo H, Aikata H, Tanaka M, Naeshiro N, Nakahara T, Honda Y, Miyaki D, Kawaoka T, Takaki S, Hiramatsu A, Waki K, Imamura M, Kawakami Y, Takahashi S, Chayama K. Recent trend of clinical features in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2012; 42: 368-375 [PMID: 22151896 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00929.x]

6 El-Serag HB, Hampel H, Javadi F. The association between diabetes and hepatocellular carcinoma: a systematic review of epidemiologic evidence. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 369-380 [PMID: 16527702 DOI: 10.1016/j.cgh.2005.12.007]

7 Polesel J, Zucchetto A, Montella M, Dal Maso L,

Crispo A, La Vecchia C, Serraino D, Franceschi S, Talamini R. The impact of obesity and diabetes mellitus on the risk of hepatocellular carcinoma. *Ann Oncol* 2009; 20: 353-357 [PMID: 18723550 DOI: 10.1093/annonc/mdn565]
8 Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]
9 Lawson DH, Gray JM, McKillop C, Clarke J, Lee FD, Patrick RS. Diabetes mellitus and primary hepatocellular carcinoma. *Q J Med* 1986; 61: 945-955 [PMID: 2819932]
10 Jha DK, Mittal A, Gupta SP, Pandeya DR, Sathian B. Association of type II diabetes mellitus with hepatocellular carcinoma occurrence--a case control study from Kathmandu Valley. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 5097-5099 [PMID: 23244117 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.10.5097]
11 Siegel AB, Zhu AX. Metabolic syndrome and hepatocellular carcinoma: two growing epidemics with a potential link. *Cancer* 2009; 115: 5651-5661 [PMID: 19834957 DOI: 10.1002/cncr.24687]
12 Porepa L, Ray JG, Sanchez-Romeu P, Booth GL. Newly diagnosed diabetes mellitus as a risk factor for serious liver disease. *CMAJ* 2010; 182: E526-E531 [PMID: 20566726 DOI: 10.1503/cmaj.092144]
13 Höpfner M, Huether A, Sutter AP, Baradari V, Schuppan D, Scherübl H. Blockade of IGF-1 receptor tyrosine kinase has antineoplastic effects in hepatocellular carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 2006; 71: 1435-1448 [PMID: 16530734 DOI: 10.1016/j.bcp.2006.02.006]
14 Ma HB, Huang T, Han F, Chen WY. Association between MDM2 promoter SNP309 T/G polymorphism and liver cancer risk - a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2841-2846 [PMID: 22938470 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.6.2841]
15 Morss AS, Edelman ER. Glucose modulates basement membrane fibroblast growth factor-2 via alterations in endothelial cell permeability. *J Biol Chem* 2007; 282: 14635-14644 [PMID: 17327226 DOI: 10.1074/jbc.M608565200]
16 Chen CL, Yang HI, Yang WS, Liu CJ, Chen PJ, You SL, Wang LY, Sun CA, Lu SN, Chen DS, Chen CJ. Metabolic factors and risk of hepatocellular carcinoma by chronic hepatitis B/C infection: a follow-up study in Taiwan. *Gastroenterology* 2008; 135: 111-121 [PMID: 18505690 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.07]
17 Kaji K, Yoshiji H, Kitade M, Ikenaka Y, Noguchi R, Yoshii J, Yanase K, Namisaki T, Yamazaki M, Moriya K, Tsujimoto T, Kawaratani H, Akahane T, Uemura M, Fukui H. Impact of insulin resistance on the progression of chronic liver diseases. *Int J Mol Med* 2008; 22: 801-808 [PMID: 19020779 DOI: 10.3892/ijmm_00000088]
18 Lam CS, Chen MH, Lacey SM, Yang Q, Sullivan LM, Xanthakis V, Safa R, Smith HM, Peng X, Sawyer DB, Vasan RS. Circulating insulin-like growth factor-1 and its binding protein-3: metabolic and genetic correlates in the community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 1479-1484 [PMID: 20378848 DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.203943]
19 Clemmons DR. Role of insulin-like growth factor iin maintaining normal glucose homeostasis. *Horm Res* 2004; 62 Suppl 1: 77-82 [PMID: 15761237 DOI: 10.1159/000080763]
20 Nussbaum T, Samarin J, Ehemann V, Bissinger M, Ryschich E, Khamidjanov A, Yu X, Gretz N, Schirmacher P, Breuhahn K. Autocrine insulin-like growth factor-II stimulation of tumor cell migration is a progression step in human hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 2008; 48: 146-156 [PMID: 18537183 DOI: 10.1002/hep.22297]
21 Boissan M, Beurel E, Wendum D, Rey C, Lécluse Y, Housset C, Lacombe ML, Desbois-Mouthon C. Overexpression of insulin receptor substrate-2 in human and murine hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol* 2005; 167: 869-877 [PMID: 16127164]
22 Bugianesi E, McCullough AJ, Marchesini G. Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology* 2005; 42: 987-1000 [PMID: 16250043 DOI: 10.1002/hep.20920]
23 Bolukbas C, Bolukbas FF, Horoz M, Aslan M, Celik H, Erel O. Increased oxidative stress associated with the severity of the liver disease in various forms of hepatitis B virus infection. *BMC Infect Dis* 2005; 5: 95 [PMID: 16262897 DOI: 10.1186/1471-2334-5-95]
24 Tessari P, Coracina A, Cosma A, Tiengo A. Hepatic lipid metabolism and non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009; 19: 291-302 [PMID: 19359149 DOI: 10.1016/j.numecd]
25 Hsu MC, Huang CC, Chang HC, Hu TH, Hung WC. Overexpression of Jab1 in hepatocellular carcinoma and its inhibition by peroxisome proliferator-activated receptor{gamma} ligands in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 4045-4052 [PMID: 18593980 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5040]
26 Roberts RA, Ganey PE, Ju C, Kamendulis LM, Rusyn I, Klaunig JE. Role of the Kupffer cell in mediating hepatic toxicity and carcinogenesis. *Toxicol Sci* 2007; 96: 2-15 [PMID: 17122412 DOI: 10.1093/toxsci/kfl173]
27 Aronis A, Madar Z, Tirosh O. Mechanism underlying oxidative stress-mediated lipotoxicity: exposure of J774.2 macrophages to triacylglycerols facilitates mitochondrial reactive oxygen species production and cellular necrosis. *Free Radic Biol Med* 2005; 38: 1221-1230 [PMID: 15808420 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62058-5]
28 Mohan V, Farooq S, Deepa M, Ravikumar R, Pitchumoni CS. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in urban south Indians in relation to different grades of glucose intolerance and metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract* 2009; 84: 84-91 [PMID: 19168251 DOI: 10.1016/j.diabres.2008.11.039]
29 Kim SK, Kim HJ, Ahn CW, Park SW, Cho YW, Lim SK, Lee HC, Cha BS. Hyperleptinemia as a robust risk factor of coronary artery disease and metabolic syndrome in type 2 diabetic patients. *Endocr J* 2008; 55: 1085-1092 [PMID: 18724043 DOI: 10.1507/endocrj]
30 Ertle J, Dechêne A, Sowa JP, Penndorf V, Herzer K, Kaiser G, Schlaak JF, Gerken G, Syn WK, Canbay A. Non-alcoholic fatty liver disease progresses to hepatocellular carcinoma in the absence of apparent cirrhosis. *Int J Cancer* 2011; 128: 2436-2443 [PMID: 21128245 DOI: 10.1002/ijc.25797]
31 Luedde T, Beraza N, Kotsikoris V, van Loo G, Nenci A, De Vos R, Roskams T, Trautwein C, Pasparakis M. Deletion of NEMO/IKKgamma in liver parenchymal cells causes steatohepatitis and hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* 2007; 11: 119-132 [PMID: 17292824 DOI: 10.1016/j.ccr.2006.12.016]
32 Banerjee S, Saito K, Ait-Goughoulte M, Meyer K,

■应用要点

本文对糖尿病与肝炎病毒的相关关系及其协同诱发肝癌的相关机制等方面进行综述，通过对肝癌高危因素相互关系的深入了解，才能对肝癌进行早期、及时的预防与治疗.

■同行评价
本文综述糖尿病与肝炎病毒相关性肝癌发生的相关性的研究进展. 选题切中临床需要, 紧扣前沿, 具有一定指导意义.

Ray RB, Ray R. Hepatitis C virus core protein up-regulates serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and impairs the downstream akt/protein kinase B signaling pathway for insulin resistance. *J Virol* 2008; 82: 2606-2612 [PMID: 18160431 DOI: 10.1128/JVI.01672-07]

33 Wang CS, Yao WJ, Chang TT, Wang ST, Chou P. The impact of type 2 diabetes on the development of hepatocellular carcinoma in different viral hepatitis statuses. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 2054-2060 [PMID: 19549812 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-08-1131]

34 Hung CH, Lee CM, Wang JH, Hu TH, Chen CH, Lin CY, Lu SN. Impact of diabetes mellitus on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients treated with interferon-based antiviral therapy. *Int J Cancer* 2011; 128: 2344-2352 [PMID: 20669224 DOI: 10.1002/ijc.25585]

35 Ko WH, Chiu SY, Yang KC, Chen HH. Diabetes, hepatitis virus infection and hepatocellular carcinoma: A case-control study in hepatitis endemic area. *Hepatol Res* 2012; 42: 774-781 [PMID: 22469194 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2012.00979.x]

36 Haruta T, Uno T, Kawahara J, Takano A, Egawa K, Sharma PM, Olefsky JM, Kobayashi M. A rapamycin-sensitive pathway down-regulates insulin signaling via phosphorylation and proteasomal degradation of insulin receptor substrate-1. *Mol Endocrinol* 2000; 14: 783-794 [PMID: 10847581 DOI: 10.1210/me.14.6.783]

37 Miyamoto H, Moriishi K, Moriya K, Murata S, Tanaka K, Suzuki T, Miyamura T, Koike K, Matsuura Y. Involvement of the PA28gamma-dependent pathway in insulin resistance induced by hepatitis C virus core protein. *J Virol* 2007; 81: 1727-1735 [PMID: 17135326 DOI: 10.1128/JVI.01683-06]

38 Gutiérrez-Grobe Y, Ponciano-Rodríguez G, Méndez-Sánchez N. Viral hepatitis infection and insulin resistance: a review of the pathophysiological mechanisms. *Salud Publica Mex* 2011; 53 Suppl 1: S46-S51 [PMID: 21877073 DOI: 10.1590/S0036-36342011000700009]

39 Iroezindu MO, Isiguzo GC, Young EE. Prevalence and predictors of impaired fasting glucose among Nigerian patients with hepatitis B virus infection. *Diabetes Res Clin Pract* 2012; 98: 338-345 [PMID: 22995732 DOI: 10.1016/j.diabres.2012.08.006]

40 Huo TI, Wu JC, Lui WY, Lee PC, Huang YH, Chau GY, Tsay SH, Chang FY, Lee SD. Diabetes mellitus is a recurrence-independent risk factor in patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma undergoing resection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 1203-1208 [PMID: 14560154]

41 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2557-2576 [PMID: 17570226 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.04.061]

42 Longato L, de la Monte S, Kuzushita N, Horimoto M, Rogers AB, Slagle BL, Wands JR. Overexpression of insulin receptor substrate-1 and hepatitis Bx genes causes premalignant alterations in the liver. *Hepatology* 2009; 49: 1935-1943 [PMID: 19475691 DOI: 10.1002/hep.22856]

43 Jones RA, Campbell CI, Gunther EJ, Chodosh LA, Petrik JJ, Khokha R, Moorehead RA. Transgenic overexpression of IGF-IR disrupts mammary ductal morphogenesis and induces tumor formation. *Oncogene* 2007; 26: 1636-1644 [PMID: 16953219 DOI: 10.1038/sj.onc.1209955]

44 Nishiyama M, Wands JR. Cloning and increased expression of an insulin receptor substrate-1-like gene in human hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 183: 280-285 [PMID: 1311924]

45 Hagen TM, Huang S, Curnutte J, Fowler P, Martinez V, Wehr CM, Ames BN, Chisari FV. Extensive oxidative DNA damage in hepatocytes of transgenic mice with chronic active hepatitis destined to develop hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 12808-12812 [PMID: 7809125]

46 Demir M, Serin E, Göktürk S, Ozturk NA, Kulaksizoglu S, Ylmaz U. The prevalence of occult hepatitis B virus infection in type 2 diabetes mellitus patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 668-673 [PMID: 18679070 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3282f55e1e]

47 Lagiou P, Rossi M, Tzonou A, Georgila C, Trichopoulos D, La Vecchia C. Glycemic load in relation to hepatocellular carcinoma among patients with chronic hepatitis infection. *Ann Oncol* 2009; 20: 1741-1745 [PMID: 19528361 DOI: 10.1093/annonc/mdp059]

48 Rossi M, Lipworth L, Maso LD, Talamini R, Montella M, Polesel J, McLaughlin JK, Parpinel M, Franceschi S, Lagiou P, La Vecchia C. Dietary glycemic load and hepatocellular carcinoma with or without chronic hepatitis infection. *Ann Oncol* 2009; 20: 1736-1740 [PMID: 19549710]

49 Nordenstedt H, White DL, El-Serag HB. The changing pattern of epidemiology in hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2010; 42 Suppl 3: S206-S214 [PMID: 20547305 DOI: 10.1016/S1590-8658(10)60507-5]

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2661-2667
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

肾素–血管紧张素系统在急性胰腺炎中的调控作用

黄元龙, 邓明明

黄元龙, 邓明明, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000
黄元龙, 在读硕士, 主要从事胃肠与胰腺病学方面的研究.
作者贡献分布: 本文综述由黄元龙完成; 邓明明负责审校.
通讯作者: 邓明明, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市江阳区太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科.
793070544@qq. com
电话: 0830–3165331
收稿日期: 2013–06–03 修回日期: 2013–07–26
接受日期: 2013–07–31 在线出版日期: 2013–09–18

Regulatory role of the rennin-angiotensin system in acute pancreatitis

Yuan-Long Huang, Ming-Ming Deng

Yuan-Long Huang, Ming-Ming Deng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Correspondence to: Ming-Ming Deng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Road, Jiangyang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 793070544@qq. com
Received: 2013-06-03 Revised: 2013-07-26
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-18

Abstract
The renin-angiotensin system (RAS) is known as a circulating or hormonal system regulating blood pressure, electrolyte and fluid homeostasis. Recent studies have found that, in addition to the circulating RAS, local renin-angiotensin systems also exist in several tissues and organs. Pancreatic renin-angiotensin system can not only regulate exocrine and endocrine function but also, via paracrine and (or) autocrine mechanisms, participate in the pathology and pathophysiology of pancreas-related diseases such as acute pancreatitis, diabetes, and pancreatic cancer. Acute pancreatitis (AP) is a common acute abdominal disease of the digestive system, which is often complicated with many other serious diseases and is therefore associated with a high overall mortality. At present, the etiology and pathogenesis of AP have not been fully elucidated yet. Thus, the proposed concept of a local RAS in the pancreas may provide a new avenue for the development of new treatments for AP.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Acute pancreatitis; Renin-angiotensin system

Huang YL, Deng MM. Regulatory role of the rennin-angiotensin system in acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2661-2667 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2661.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2661

摘要
肾素-血管紧张素系统(renin angiotensin system, RAS)是一种在调节血压、维持水电解质平衡的循环或内分泌系统. 近年来研究发现, 除循环系统的RAS, 很多组织器官也存在局部RAS. 胰腺组织RAS不仅参与胰腺内外分泌功能的调节, 而且通过旁分泌和/或自分泌方式参与胰腺相关疾病如急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)、糖尿病、胰腺癌、胰岛移植的病理和病理生理过程. AP为消化系统常见的急腹症. 由于其病情重, 并发症多, 导致死亡率高, 其病因和发病机制尚未完全阐明且一直为研究的焦点. 因此, 胰腺局部RAS的提出, 为缺乏特异性治疗方法的AP提供了新的思路. 本文对RAS的不同分轴在AP中的调控作用做一综述, 为胰腺炎的治疗提供了一条新思路.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 急性胰腺炎; 肾素–血管紧张素系统

核心提示: 急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)时肾素-血管紧张素系统的两大轴血管紧张素转换酶-血管紧张素Ⅱ-血管紧张素Ⅱ 1型受体轴与血管紧张素转换酶2-血管紧张素(1-7)-Mas轴激活, 前者主要起病理生理作用, 而后者可拮抗前者起到一定保护作用, 通过对两大轴的调控可以减轻AP所致的损伤.

黄元龙, 邓明明. 肾素–血管紧张素系统在急性胰腺炎中的调控作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2661–2667 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2661.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2661

■背景资料
急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常见的急腹症, 其病因和发病机制尚不明确, 缺乏特异性的治疗. 肾素血管紧张素系统这一多元系统的不同分轴的不同组分在AP时表达程度不同, 因此以该系统作为靶点治疗AP可能具有重要的临床意义.

■同行评议者
陈其奎, 教授, 广东省广州市, 中山大学附属第二医院消化内科

■研发前沿
胰腺组织内肾素-血管紧张素系统(renin angiotensin system, RAS)的激活在AP的发病机制中为一研究焦点. 但胰腺炎局部RAS激活后不同分支RAS组分的改变及其调控的上下游炎症途径尚需进一步研究阐明, 从而为AP的治疗奠定新的理论和方法.

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常见的急腹症之一, 尤其是重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP), 病程进展快, 并发症多, 临床常并发全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和多器官功能衰竭(multiple organ failure, MOF), 导致病情严重, 死亡率增高. AP的发病机制目前尚不完全清楚, 有多种学说和观点. 近年来, 研究发现肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)还广泛存在于大脑、心脏、肾脏、性腺、肾上腺、消化系统等多种组织和器官, 局部的RAS通过自分泌和旁分泌及胞内分泌途径在各自组织器官的生理和病理生理的调节中起着重要作用[1-3]. 因此RAS与AP关系亦得到重视. 越来越多研究发现, 较循环系统中的RAS, 胰腺组织局部RAS通过旁分泌和/或自分泌方式在AP的病理和病理生理过程中有着更为重要的作用. 随着对RAS的深入研究和RAS组分的新发现, 近年来将RAS系统分为两大轴, 即血管紧张素转换酶(angiotensin-coverting enzyme, ACE)-血管紧张素Ⅱ(angiotensinⅡ, AngⅡ)-血管紧张素Ⅱ 1型受体(angiotensin Ⅱ receptor type 1, AT1R)轴与血管紧张素转换酶2(angiotensin-coverting enzyme 2, ACE2)-血管紧张素(1-7)[angiotensin(1-7), Ang(1-7)]-Mas受体轴, 两轴系统的平衡主要集中两种效应分子AngⅡ与Ang(1-7)的平衡上, 前者主要起病理生理作用, 而后者可拮抗前者起到一定保护作用, 本文就这两大轴与AP的关系作一综述.

1 ACE-AngⅡ-AT1R轴与AP

1.1 ACE-AngⅡ-AT1R轴的组成 ACE-AngⅡ-AT1R轴为经典的RAS组成链, 即肾素酶切血管紧张素原(angiotensinogen, AGT)生成十肽的血管紧张素Ⅰ(angiotensin Ⅰ, AngⅠ), AngⅠ随后被血管紧张素转换酶(angiotensin-coverting enzyme, ACE)酶切去除两个氨基酸后产生8肽有活性的AngⅡ. AngⅡ为一线状小肽, 是ACE-AngⅡ-AT1R轴主要的效应成分[4]. AngⅡ除由ACE作用产生外, 还可通过其他途径产生, 如糜蛋白酶催化AngⅠ转化为AngⅡ[5], 组织蛋白酶G、组织型纤溶酶原激活剂(tissue type plasminogen activator, tPA)直接催化AGT形成AngⅡ; 前肾素/肾素受体广泛分布于局部器官组织[6], 通过与前肾素结合并内化后不但刺激细胞内AngⅡ的大量合成, 同时可以不依赖于AngⅡ直接激活细胞内丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)磷酸化[7]. 来源于多条途径的AngⅡ作用于其不同受体发挥不同的特定作用.

1.2 ACE-AngⅡ-AT1R轴在胰腺的表达 在过去十几年, 局部RAS在胰腺内外分泌腺的存在逐渐得以证实[8-10]. Chappell等[11,12]首先在狗的胰腺组织中证实AGT、AngⅡ的表达, 随后亦首次报道大鼠胰腺泡细胞AR42J细胞系表达ACE-AngⅡ-AT1R轴的全部组分, 包括: AGT、肾素、ACE和AT1a、AT1b、AT2受体. 1999年Leung等[13]在大鼠胰腺组织中也发现肾素、血管紧张素原等RAS组分的表达及AT1a、AT1b、AT2受体亚型的表达, 且主要位于胰腺导管上皮细胞、血管内皮细胞、胰岛细胞, 而胰腺腺泡细胞相对较少. Lam等[14]发现人类胰腺的胰岛细胞表达AGT、导管细胞表达AT1和AT2受体, 在胰腺肿瘤时上述组分表达上调; 随后Ramrancheya等[15]发现胰岛素的分泌直接由AngⅡ调控. 进一步研究显示AngⅡ及其受体AT1、AT2在啮齿类动物及人的胰腺中主要位于胰腺导管上皮细胞、血管内皮细胞等导管系统中[16]. AngⅡ受体亚型有4种: AT1、AT2、AT3、AT4受体. AT1受体是其中的最为重要的受体. 在啮齿类动物中, AT1受体亚型又分为两种异构型: AT1a和AT1b, 特别是AT1a在胰腺炎时表达增加, 而AT1b表达无明显变化. AT1受体主要介导AngⅡ的经典生物学活性, 包括血管收缩、钠的重吸收、细胞增殖、胞外间质形成、炎症反应及氧化应激等[17]. AT2受体主要存在于人胚胎组织、脑组织等, 其也定位于啮齿类动物的胰腺导管上皮细胞和血管内皮细胞等[13]. AT2受体激活一方面拮抗ATI受体来阻断血管收缩, 促进细胞凋亡等效应; 另一方面, 过度激活时则导致心肌肥大、纤维化、动脉粥样硬化、炎性因子活化等病理状态. AT3、AT4受体的分布和所介导的功能目前尚不十分清楚.

1.3 ACE-AngⅡ-AT1R轴在AP中的作用机制 AP是以胰腺组织水肿、腺泡细胞坏死以及受损腺体的出血和炎症为特点的一种炎症性疾病. AP时ACE-AngⅡ-AT1轴激活上调, 胰腺组织中肾素、血管紧张素原、AngⅡ及其受体等RAS组分明显增加[13,18]. AP损伤结局与胰腺RAS活化密切相关. RAS可能在以下几个方面参与AP的发病机制: (1)微循环障碍. 胰腺小叶微动脉为终末动脉, 其间无吻合支, AP时RAS激活产生

的AngⅡ与其受体结合后产生强烈的缩血管作用, 引起胰腺组织缺血, 毛细血管淤血, 氧分压下降, 这些因素相互作用使胰腺微血管持续痉挛导致微循环处于恶性循环状态. 微循环障碍既是AP发生的使动因子, 同时AP又能损伤胰腺自身和全身微循环[19]. AngⅡ亦可通过激活酪氨酸激酶Jak2/Rho转化因子Arhgef1/RhoA途径来介导血管收缩, 调节血管紧张度[20]. 因此抑制AngⅡ的作用可以减弱胰腺局部RAS的激活, 减轻微循环障碍所致的损伤. Carlsson等[21]用微球技术发现AngⅡ呈剂量依赖性的减少胰岛血液灌注和胰岛素的分泌, 给以ACE抑制剂enalaprilate能够改善上述情况. Tsang等[22]在雨蛙素诱导的AP模型中应用AT1受体亚型拮抗剂Losartan与血管平滑肌AT1受体结合而拮抗AngⅡ的血管收缩作用, 降低末梢血管阻力, 改善胰腺微循环障碍, 减轻胰腺损伤. Ip等[23]研究发现ACE抑制剂Captopril能够减低胰腺炎时ACE的蛋白表达量, 对胰腺炎病变起到保护作用, 其机制可能与降低应激反应程度, 改善微血管内皮功能, 保护胰腺微循环有关; (2)促进炎症介质产生. RAS参与了像黏附分子、趋化因子、细胞因子、转化因子等前炎症因子的产生[24]. 肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)是发生AP时体内重要的前炎症因子之一, 其水平变化与AP的严重程度密切相关[25]. AngⅡ促进黏附分子(胞间黏附分子-1、E-选择素等)和细胞因子[TNF-α、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-1等]的合成和释放, 其机制可能是激活炎症信号转导通路核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB), 继而调节细胞因子、黏附分子、趋化因子的等基因表达, 同时上述前炎症因子刺激各种炎症细胞, 形成炎症瀑布, 使炎症反应不断放大失控, 从而参与SIRS发病机制. 由于NF-κB在AngⅡ介导的炎症损伤中起着关键作用, 故抑制AngⅡ可降低NF-κB活性, 减少其调控的炎症因子的表达, 减轻炎症反应[26]. Oruc等[27]证实在大鼠AP模型中应用TNF-α拮抗剂英夫利昔能够明显降低血清淀粉酶、胰腺组织病理评分以及抑制炎细胞的浸润和改善AP时所致相关脏器的功能障碍. Pupilli等和Williams等[28,29]研究表明AngⅡ可以有效促进血管渗透因子/血管内皮生长因子(vascularpermeability factor/vascular endothelial growth factor, VPF/VEGF)合成分泌, 并呈剂量、时间依赖性, 从而导致血管通透性的增加, 导致胰腺组织局部炎细胞浸润和血管内大分子物质的渗出, 促进组织炎性水肿, 这种作用是通过AT1受体介导的. AT1拮抗剂络沙坦可以可以阻断其作用改善AP的病理变化及减轻肺部炎症等全身炎症反应[30]; (3)大量氧自由基的产生. 自由基的释放和清除机制的紊乱与AP的发病以及发展进程有关. AP时的"缺血-再灌注"损伤产生大量氧自由基. Schieffer等[31]证实血管紧张素Ⅱ可增加氧自由基, 活化炎症信号传导通路JAK激酶/信号传导和转录激活因子[(janus kinase, JAK)/(signal transducer and activator of transcription, STAT)]. Leung等[32]通过研究发现, AngⅡ可通过增加还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶或黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)的活性刺激血管内皮细胞和平滑肌细胞大量合成活性氧(reactive oxygen species, ROS). 大量氧自由基的产生引起细胞膜脂质过氧化而导致细胞毒效应, 他是机体内细胞损伤的分子机制中重要一环[33]. Mervaala等[34]在双转基因大鼠试验研究中, 用ATI受体拮抗剂缬沙坦可恢复AngⅡ引起的黄嘌呤氧化酶活性增加和氧化应激所致的血管内皮细胞功能失调. 因此急性胰腺时ACE-AngⅡ-AT1R轴的组分表达增加, 阻断该轴显示对胰腺损伤起到保护性作用.

2 ACE2-Ang(1-7)-Mas轴与AP

2.1 ACE2-Ang(1-7)-Mas轴的组成 ACE2是ACE家族中第一个被发现的ACE同系物, 其为一单羧肽多底物金属蛋白酶, 也是SARS冠状病毒感染易感细胞必需的功能性受体[35]. ACE2存在于胃肠、心脏、肾脏、睾丸、胰腺和子宫内膜等处[36]. Ang-(1-7)是RAS中重要的活性七肽, 其产生有3条途径: (1)由脯氨酸内肽酶(prolyl endopeptidase, PE)、脯氨酸羧基肽酶、ACE2水解AngⅡ产生, 这条途径也是Ang-(1-7)产生的主要途径[37]; (2)PE、中性肽链内切酶(neprilysin, NEP)水解AngⅠ直接产生; (3)AngⅠ经ACE2代谢生成血管紧张素(1-9)[angiotensin(1-9), Ang(1-9)], 再经ACE作用产生. Mas受体是一种原癌基因编码的7次跨模G蛋白偶联受体[38]. Ang(1-7)是该受体的内源性结合物, Mas转染可增加Ang(1-7)的活性. Mas受体在体内可以对抗AT1R的作用[39].

2.2 ACE2-Ang(1-7)-Mas轴在胰腺的表达 Chappell等[11]在发现犬胰腺局部AngⅡ、血管紧张素原时, 亦检测到发现胰腺组织局部AngⅡ、Ang

■相关报道
Wang等的研究显示在雨蛙素诱导的小鼠重症AP模型中胰腺局部ACE2- Ang(1-7)-Mas轴的各组分的表达显著上调. 这是该轴在AP表达的较新报道.

■创新盘点
本文从肾素血管紧张素系统两大轴与AP的关系入手. 综述了其对AP调控作用, 探讨抑制亦或上调该系统两大轴对AP的所产生的保护作用.

Ⅲ及Ang-(1-7)的表达高于血浆浓度数倍. Bindom等[40,41]研究也证实ACE2和Mas受体亦存在小鼠胰腺中, 且胰腺局部ACE、ACE2表达失衡与胰岛β细胞功能障碍和糖代谢紊乱相关. 郭丽敏等[42]用免疫电镜方法检测到ACE2在大鼠胰腺内、外分泌腺均有表达, ACE2在胰腺内分泌腺表达非常弱, 在胰腺外分泌腺呈较强表达. 周琳等[43]在研究ACE2和ACE在人胰腺癌组织中的表达情况及相互关系时, 发现ACE2和ACE蛋白均主要表达于胰腺导管细胞或胰腺导管癌细胞胞浆, ACE2在胰腺癌中的转录和蛋白水平均明显下调, 且与ACE呈负相关. Wang等[44]近期在小鼠重症AP模型观察到胰腺局部ACE2-Ang(1-7)-Mas轴的各组分ACE2、Ang(1-7)、Mas受体的表达明显升高, 血浆Ang(1-7)的水平在造模后也明显升高.

2.3 ACE2-Ang(1-7)-Mas轴在急性胰腺中的作用机制 越来越多的证据表明ACE2-Ang(1-7)-Mas轴的众多保护性生物学作用是通过对ACE-AngⅡ-AT1R轴的负性调节表现出来的[45]. ACE2水解AngⅡ的产物Ang(1-7)能拮抗AngⅡ的作用, 因此ACE2是RAS中起负调节作用的金属螯合蛋白酶. 研究证明ACE2的高表达可负向调节AngⅡ导致的NADPH氧化酶的活性、炎症和单核细胞的黏附表达[46-48]. Sampaio等[49]的研究也证实Ang-(1-7)通过其特异性

Mas受体介导了依赖蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)途径磷酸化, 刺激一氧化氮的产生, 拮抗AngⅡ引起的外周缩血管效应. Ang-(1-7)与Mas结合后亦可抑制AngⅡ引起的MAPK磷酸化来发挥保护作用[50]. da Silveira等[51]研究发现Mas受体激动剂AVE0991可以减轻关节炎大鼠的炎性细胞的聚集, TNF-α、IL-1β等细胞因子的产生. 张雪莲等[52]发现肥胖自发性糖尿病大鼠(otsuka long-evans tokushima fatty, OLETF)大鼠胰岛细胞Mas在mRNA及蛋白水平均显著低于同种系同龄糖耐量正常(long-evans tokushima otsuka, LETO)大鼠, ACE2 mRNA及蛋白水平仅呈现下降趋势, 说明Mas缺失导致大鼠出现葡萄糖耐量异常和胰岛素敏感性下降, 提示Mas受体在胰岛素抵抗发生和发展中的作用. 近年有报道应用Mas受体阻断剂可观察到第一时相胰岛素分泌缺失, Mas缺失小鼠呈现内皮细胞功能受损NO产生减少[53]. Wang等[44]在小鼠重症AP中发现ACE2、Mas受体基因及蛋白表达上调, 故推测ACE2-Ang(l-7)-Mas轴在AP的发生发展过程中也起到一定的保护作用, 能对抗RAS经典轴ACE-AngⅡ-AT1R的损伤作用. 因此Ang(l-7)是AngⅡ天然的拮抗剂, 在机体内大多数通过作用于特异性受体Mas从而引起其下游一些细胞因子如缓激肽、前列腺素、转化生长因子-β、巨噬细胞迁移抑制因子(macrophage migration inhibitory, MIF)、葡萄糖转运子-4等表达量和活性变化来发挥舒张血管、抗纤维化、抗炎、利钠利尿、降血压、改善心脏功能、保护血管内皮、增加胰岛素敏感性等生物学效应[54]. 但目前ACE2-Ang(1-7)-Mas轴在AP的研究报道相对较少, 需要进一步深入通过基因敲除、转导等生物技术或运用该轴激动剂及拮抗剂等方法来深入研究ACE2-Ang(1-7)-Mas轴对胰腺炎损伤保护作用潜能.

3 结论

近年来通过新的生物技术方法发现胰腺RAS组分在不同物种和离体细胞表达情况不甚相同. 随着对胰腺等局部组织器官RAS的深入研究, 其新成员的不断增加, 形成了一多元系统, 其不同分支点在RAS的不同位点发挥着不同作用, 从而在AP等胰腺相关疾病的发生发展过程中发挥着相应的保护或加重损伤作用. 那么, 可从蛋白基因水平对RAS的缺陷或过度作用进行调控, 同时亦可应用RAS抑制剂或激动剂作用于其不同位点发挥抑制或促进作用, 如: (1)血管紧张素转换酶抑制减少血管紧张素Ⅰ向血管紧张素Ⅱ转化; (2)血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂阻断血管紧张素Ⅱ的作用; (3)肾素抑制剂则从源头上阻断RAS, 有效减少AngⅠ、AngⅡ的生成, 亦抑制肾素或前肾素与前肾素/肾素受体结合后的催化活性[55]; (4)Ang(1-7)非肽类似物如AVE0991作用于MAS受体, 起到与Ang(1-7)同样的保护作用; (5)糜蛋白酶抑制剂减少依赖糜蛋白酶的AngⅡ生成途径. 因此, 针对胰腺RAS不同分轴的调控, 将为胰腺炎的治疗提供一条新的思路.

4 参考文献

1 Danser AH. Local renin-angiotensin systems: the unanswered questions. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 759-768 [PMID: 12676161 DOI: 10.1016/S1357-2725(02)00178-4]

2 Leung PS, Chappell MC. A local pancreatic renin-angiotensin system: endocrine and exocrine roles. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 838-846 [PMID: 12676170 DOI: 10.1016/S1357-2725(02)00179-6]

3 Leung PS, Carlsson PO. Tissue renin-angiotensin system: its expression, localization, regulation and

potential role in the pancreas. *J Mol Endocrinol* 2001; 26: 155-164 [PMID: 11432370 DOI: 10.1677/jme.0.0260155]
4 Thatcher S, Yiannikouris F, Gupte M, Cassis L. The adipose renin-angiotensin system: role in cardiovascular disease. *Mol Cell Endocrinol* 2009; 302: 111-117 [PMID: 19418627 DOI: 10.1016/j.mce.2009.01.019]
5 Miyazaki M, Takai S, Jin D, Muramatsu M. Pathological roles of angiotensin II produced by mast cell chymase and the effects of chymase inhibition in animal models. *Pharmacol Ther* 2006; 112: 668-676 [PMID: 16837049 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2006.05.008]
6 Saris JJ, 't Hoen PA, Garrelds IM, Dekkers DH, den Dunnen JT, Lamers JM, Jan Danser AH. Prorenin induces intracellular signaling in cardiomyocytes independently of angiotensin II. *Hypertension* 2006; 48: 564-571 [PMID: 16940215 DOI: 10.1161/01.HYP.0000240064.19301.1b]
7 Feldt S, Batenburg WW, Mazak I, Maschke U, Wellner M, Kvakan H, Dechend R, Fiebeler A, Burckle C, Contrepas A, Jan Danser AH, Bader M, Nguyen G, Luft FC, Muller DN. Prorenin and renin-induced extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation in monocytes is not blocked by aliskiren or the handle-region peptide. *Hypertension* 2008; 51: 682-688 [PMID: 18212269 DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.101444]
8 Cheng Q, Leung PS. An update on the islet renin-angiotensin system. *Peptides* 2011; 32: 1087-1095 [PMID: 21396973 DOI: 10.1016/j.peptides.2011.03.003]
9 Leung PS. The physiology of a local renin-angiotensin system in the pancreas. *J Physiol* 2007; 580: 31-37 [PMID: 17218353 DOI: 10.1113/jphysiol.2006.126193]
10 Batlle D, Jose Soler M, Ye M. ACE2 and diabetes: ACE of ACEs? *Diabetes* 2010; 59: 2994-2996 [PMID: 21115782 DOI: 10.2337/db10-1205]
11 Chappell MC, Millsted A, Diz DI, Brosnihan KB, Ferrario CM. Evidence for an intrinsic angiotensin system in the canine pancreas. *J Hypertens* 1991; 9: 751-759 [PMID: 1655885 DOI: 10.1097/00004872-199108000-00008]
12 Chappell MC, Diz DI, Gallagher PE. The renin-angiotensin system and the exocrine pancreas. *JOP* 2001; 2: 33-39 [PMID: 11862020]
13 Leung PS, Chan WP, Wong TP, Sernia C. Expression and localization of the renin-angiotensin system in the rat pancreas. *J Endocrinol* 1999; 160: 13-19 [PMID: 9854172 DOI: 10.1677/joe.0.1600013]
14 Lam KY, Leung PS. Regulation and expression of a renin-angiotensin system in human pancreas and pancreatic endocrine tumours. *Eur J Endocrinol* 2002; 146: 567-572 [PMID: 11916627 DOI: 10.1530/eje.0.1460567]
15 Ramracheya RD, Muller DS, Wu Y, Whitehouse BJ, Huang GC, Amiel SA, Karalliedde J, Viberti G, Jones PM, Persaud SJ. Direct regulation of insulin secretion by angiotensin II in human islets of Langerhans. *Diabetologia* 2006; 49: 321-331 [PMID: 16416272 DOI: 10.1007/s00125-005-0101-7]
16 Shimizu K. Mechanisms of pancreatic fibrosis and applications to the treatment of chronic pancreatitis. *J Gastroenterol* 2008; 43: 823-832 [PMID: 19012035 DOI: 10.1007/s00535-008-2249-7]
17 Chan YC, Leung PS. Acute pancreatitis: animal models and recent advances in basic research. *Pancreas* 2007; 34: 1-14 [PMID: 17198179 DOI: 10.1097/01.mpa.0000246658.38375.04]
18 Leung PS, Chan WP, Nobiling R. Regulated expression of pancreatic renin-angiotensin system in experimental pancreatitis. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 166: 121-128 [PMID: 10996430 DOI: 1016/S0303-7207(00)00275-6]
19 Cuthbertson CM, Christophi C. Disturbances of the microcirculation in acute pancreatitis. *Br J Surg* 2006; 93: 518-530 [PMID: 16607683 DOI: 10.1002/bjs.5316]
20 Guilluy C, Brégeon J, Toumaniantz G, Rolli-Derkinderen M, Retailleau K, Loufrani L, Henrion D, Scalbert E, Bril A, Torres RM, Offermanns S, Pacaud P, Loirand G. The Rho exchange factor Arhgef1 mediates the effects of angiotensin II on vascular tone and blood pressure. *Nat Med* 2010; 16: 183-190 [PMID: 20098430 DOI: 10.1038/nm.2079]
21 Carlsson PO, Berne C, Jansson L. Angiotensin II and the endocrine pancreas: effects on islet blood flow and insulin secretion in rats. *Diabetologia* 1998; 41: 127-133 [PMID: 9498644 DOI: 10.1007/s001250050880]
22 Tsang SW, Ip SP, Leung PS. Prophylactic and therapeutic treatments with AT 1 and AT 2 receptor antagonists and their effects on changes in the severity of pancreatitis. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 330-339 [PMID: 14643897 DOI: 10.1016/S1357-2725(03)00257-7]
23 Ip SP, Kwan PC, Williams CH, Pang S, Hooper NM, Leung PS. Changes of angiotensin-converting enzyme activity in the pancreas of chronic hypoxia and acute pancreatitis. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 944-954 [PMID: 12676178 DOI: 10.1016/S1357-2725(02)00181-4]
24 Suzuki Y, Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Ruperez M, Esteban V, Egido J. Inflammation and angiotensin II. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 881-900 [PMID: 12676174 DOI: 10.1016/S1357-2725(02)00271-6]
25 倪银, 吴建胜, 方佩佩, 吴秀玲, 孙学成, 贾国葆, 张仁再. 重症急性胰腺炎大鼠肝损伤机制及褪黑素保护. 中华医学杂志 2008; 88: 2867-2871
26 Brasier AR, Recinos A, Eledrisi MS. Vascular inflammation and the renin-angiotensin system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1257-1266 [PMID: 12171785 DOI: 10.1161/01.ATV.0000021412.56621.A2]
27 Oruc N, Ozutemiz AO, Yukselen V, Nart D, Celik HA, Yuce G, Batur Y. Infliximab: a new therapeutic agent in acute pancreatitis? *Pancreas* 2004; 28: e1-e8 [PMID: 14707742 DOI: 10.1097/00006676-200401000-00020]
28 Pupilli C, Lasagni L, Romagnani P, Bellini F, Mannelli M, Misciglia N, Mavilia C, Vellei U, Villari D, Serio M. Angiotensin II stimulates the synthesis and secretion of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in human mesangial cells. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 245-255 [PMID: 10215323]
29 Williams B, Baker AQ, Gallacher B, Lodwick D. Angiotensin II increases vascular permeability factor gene expression by human vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1995; 25: 913-917 [PMID: 7737726 DOI: 10.1161/01.HYP.25.5.913]
30 Chan YC, Leung PS. AT1 receptor antagonism ameliorates acute pancreatitis-associated pulmonary injury. *Regul Pept* 2006; 134: 46-53 [PMID: 16443293 DOI: 10.1016/j.regpep.2005.12.001]

■应用要点

肾素-血管紧张素系统为一多元系统, 在AP的发生发展过程中, 其不同分支点的组分与不同受体结合对胰腺起着保护或加重损伤的作用. 因此, 应用该系统不同分支位点的抑制剂或激动剂作用于其受体, 为AP的治疗提供了一条新思路.

■同行评价
本文总结了肾素-血管紧张素系统两大分支轴与AP的关系. 对AP的发生发展提出了新的发病机制, 同时为胰腺炎的治疗提供了新靶点, 有理论意义与临床价值.

31 Schieffer B, Luchtefeld M, Braun S, Hilfiker A, Hilfiker-Kleiner D, Drexler H. Role of NAD(P)H oxidase in angiotensin II-induced JAK/STAT signaling and cytokine induction. *Circ Res* 2000; 87: 1195-1201 [PMID: 11110778 DOI: 10.1161/01.RES.87.12.1195]

32 Leung PS. Local renin-angiotensin system in the pancreas: the significance of changes by chronic hypoxia and acute pancreatitis. *JOP* 2001; 2: 3-8 [PMID: 11862015]

33 Yasar M, Yildiz S, Mas R, Dundar K, Yildirim A, Korkmaz A, Akay C, Kaymakcioglu N, Ozisik T, Sen D. The effect of hyperbaric oxygen treatment on oxidative stress in experimental acute necrotizing pancreatitis. *Physiol Res* 2003; 52: 111-116 [PMID: 12625815]

34 Mervaala EM, Cheng ZJ, Tikkanen I, Lapatto R, Nurminen K, Vapaatalo H, Müller DN, Fiebeler A, Ganten U, Ganten D, Luft FC. Endothelial dysfunction and xanthine oxidoreductase activity in rats with human renin and angiotensinogen genes. *Hypertension* 2001; 37: 414-418 [PMID: 11230310 DOI: 10.1161/01.HYP.37.2.414]

35 Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, Somasundaran M, Sullivan JL, Luzuriaga K, Greenough TC, Choe H, Farzan M. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature* 2003; 426: 450-454 [PMID: 14647384 DOI: 10.1038/nature02145]

36 Vaz-Silva J, Carneiro MM, Ferreira MC, Pinheiro SV, Silva DA, Silva-Filho AL, Witz CA, Reis AM, Santos RA, Reis FM. The vasoactive peptide angiotensin-(1-7), its receptor Mas and the angiotensin-converting enzyme type 2 are expressed in the human endometrium. *Reprod Sci* 2009; 16: 247-256 [PMID: 19164480 DOI: 10.1177/1933719108327593]

37 Schindler C, Bramlage P, Kirch W, Ferrario CM. Role of the vasodilator peptide angiotensin-(1-7) in cardiovascular drug therapy. *Vasc Health Risk Manag* 2007; 3: 125-137 [PMID: 17583183]

38 Santos RA, Simoes e Silva AC, Maric C, Silva DM, Machado RP, de Buhr I, Heringer-Walther S, Pinheiro SV, Lopes MT, Bader M, Mendes EP, Lemos VS, Campagnole-Santos MJ, Schultheiss HP, Speth R, Walther T. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 8258-8263 [PMID: 12829792 DOI: 10.1073/pnas.1432869100]

39 Kostenis E, Milligan G, Christopoulos A, Sanchez-Ferrer CF, Heringer-Walther S, Sexton PM, Gembardt F, Kellett E, Martini L, Vanderheyden P, Schultheiss HP, Walther T. G-protein-coupled receptor Mas is a physiological antagonist of the angiotensin II type 1 receptor. *Circulation* 2005; 111: 1806-1813 [PMID: 15809376 DOI: 10.1161/01.CIR.0000160867.23556.7D]

40 Bindom SM, Lazartigues E. The sweeter side of ACE2: physiological evidence for a role in diabetes. *Mol Cell Endocrinol* 2009; 302: 193-202 [PMID: 18948167 DOI: 10.1016/j.mce.2008.09.020]

41 Bindom SM, Hans CP, Xia H, Boulares AH, Lazartigues E. Angiotensin I-converting enzyme type 2 (ACE2) gene therapy improves glycemic control in diabetic mice. *Diabetes* 2010; 59: 2540-2548 [PMID: 20660625 DOI: 10.2337/db09-0782]

42 郭丽敏, 林珊珊, 杨金奎. 血管紧张素转换酶2在鼠胰腺组织中的表达. 实用医学杂志 2010; 26: 2708-2710

43 周琳, 张连峰, 姚玮艳, 赵阿红, 袁耀宗. 血管紧张素转化酶Ⅱ与血管紧张素转化酶在胰腺癌组织中的表达水平变化及相互关系. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 671-674

44 Wang Y, Wang J, Liu R, Qi H, Wen Y, Sun F, Yin C. Severe acute pancreatitis is associated with upregulation of the ACE2-angiotensin-(1-7)-Mas axis and promotes increased circulating angiotensin-(1-7). *Pancreatology* 2012; 12: 451-457 [PMID: 23127535 DOI: 10.1016/j.pan.2012.07.017]

45 Santos RA, Ferreira AJ, Simões E Silva AC. Recent advances in the angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin(1-7)-Mas axis. *Exp Physiol* 2008; 93: 519-527 [PMID: 18310257 DOI: 10.1113/expphysiol.2008.042002]

46 Tikellis C, Bernardi S, Burns WC. Angiotensin-converting enzyme 2 is a key modulator of the renin-angiotensin system in cardiovascular and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2011; 20: 62-68 [PMID: 21099686 DOI: 10.1097/MNH.0b013e328341164a]

47 Oudit GY, Kassiri Z, Patel MP, Chappell M, Butany J, Backx PH, Tsushima RG, Scholey JW, Khokha R, Penninger JM. Angiotensin II-mediated oxidative stress and inflammation mediate the age-dependent cardiomyopathy in ACE2 null mice. *Cardiovasc Res* 2007; 75: 29-39 [PMID: 17499227 DOI: 10.1016/j.cardiores.2007.04.007]

48 Dong B, Zhang YH, Dong QL, Yu QT, Zhu L, Li SY, Yang YP, Zhang C, Feng JB, Liu CX, Song HD, Pan CM, Zhang Y. [Overexpression of angiotensin converting enzyme 2 inhibits inflammatory response of atherosclerotic plaques in hypercholesterolemic rabbits]. *Zhonghua Xinxueguanbing Zazhi* 2009; 37: 622-625 [PMID: 19961735]

49 Sampaio WO, Souza dos Santos RA, Faria-Silva R, da Mata Machado LT, Schiffrin EL, Touyz RM. Angiotensin-(1-7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways. *Hypertension* 2007; 49: 185-192 [PMID: 17116756 DOI: 10.1161/01.HYP.0000251865.35728.2f]

50 Giani JF, Gironacci MM, Muñoz MC, Turyn D, Dominici FP. Angiotensin-(1-7) has a dual role on growth-promoting signalling pathways in rat heart in vivo by stimulating STAT3 and STAT5a/b phosphorylation and inhibiting angiotensin II-stimulated ERK1/2 and Rho kinase activity. *Exp Physiol* 2008; 93: 570-578 [PMID: 18448663 DOI: 10.1113/expphysiol.2007.014269]

51 da Silveira KD, Coelho FM, Vieira AT, Sachs D, Barroso LC, Costa VV, Bretas TL, Bader M, de Sousa LP, da Silva TA, dos Santos RA, Simões e Silva AC, Teixeira MM. Anti-inflammatory effects of the activation of the angiotensin-(1-7) receptor, MAS, in experimental models of arthritis. *J Immunol* 2010; 185: 5569-5576 [PMID: 20935211 DOI: 10.4049/jimmunol.1000314]

52 张雪莲, 史婷婷, 尚军, 王阳, 杨金奎. 糖尿病大鼠胰腺血管紧张素受体Mas表达降低. 基础医学与临床 2013; 2: 166-171

53 Iwai M, Nakaoka H, Senba I, Kanno H, Moritani T, Horiuchi M. Possible involvement of angiotensin-converting enzyme 2 and Mas activation in inhibitory effects of angiotensin II Type 1 receptor blockade on vascular remodeling. *Hypertension* 2012; 60: 137-144 [PMID: 22665126 DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.191452]

54 Oliveira MA, Carvalho MH, Nigro D, Passaglia Rde

C, Fortes ZB. Angiotensin-(1-7) and bradykinin interaction in diabetes mellitus: in vivo study. *Peptides* 2002; 23: 1449-1455 [PMID: 12182946 DOI: 10.1016/S0196-9781(02)00080-3]

55 Batenburg WW, de Bruin RJ, van Gool JM, Müller DN, Bader M, Nguyen G, Danser AH. Aliskiren-binding increases the half life of renin and prorenin in rat aortic vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 1151-1157 [PMID: 18388329 DOI: 10.1161/ATVBAHA.108.164210]

编辑 黄新珍 电编 闫晋利

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.

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2668-2673
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

梗阻性黄疸肠黏膜屏障损伤病理生理机制的研究进展

王 娜, 姜慧卿

■背景资料
梗阻性黄疸(obstructive jaundice, OJ)是临床常见病, 动物和临床实验均证实存在不同程度的肠黏膜屏障损伤, 其导致肠道细菌及内毒素移位, 继而发生内源性感染及多器官损伤, 亦是OJ的术后并发症发生率和死亡率居高不下的重要原因, 具体机制尚未明确.

王娜, 姜慧卿, 河北医科大学第二医院消化科, 河北省消化病研究所, 河北省消化病重点实验室 河北省石家庄市 050000
王娜, 副教授, 主要从事消化系疾病的研究.
作者贡献分布: 本文综述由王娜完成; 姜慧卿负责审校.
通讯作者: 姜慧卿, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化科, 河北省消化病研究所, 河北省消化病重点实验室. jianghq@aliyun.com
电话: 0311-66002951
收稿日期: 2013-06-20 修回日期: 2013-07-10
接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-18

Pathogenesis of intestinal barrier dysfunction in obstructive jaundice

Na Wang, Hui-Qing Jiang

Na Wang, Hui-Qing Jiang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, Hebei Institute of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Correspondence to: Hui-Qing Jiang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. jianghq@aliyun.com
Received: 2013-06-20 Revised: 2013-07-10
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-18

Abstract
Intestinal mucosal barrier is a key structure that normally prevents the passage of harmful molecules across the mucosa and into the circulation, including mechanical barrier, immunological barrier, biological barrier and chemical barrier. Obstructive jaundice (OJ) is frequently associated with infectious complications, mainly due to sepsis and renal dysfunction. The key events in the pathophysiology of these complications are endotoxemia of gut origin and increased intestinal permeability because of intestinal barrier dysfunction, as demonstrated in experimental and clinical studies. However, the mechanisms involved in this phenomenon remain obscure. Here we review recent progress in understanding the pathogenesis of intestinal barrier dysfunction in OJ.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Obstructive jaundice; Intestinal mucosal barrier; Endotoxemia; Tight junction

Wang N, Jiang HQ. Pathogenesis of intestinal barrier dysfunction in obstructive jaundice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2668-2673 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2668.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2668

摘要
肠黏膜屏障具有机械屏障、化学屏障、生物屏障、免疫屏障等功能, 是防止肠道内的有害物质和病原体进入机体内环境, 维持内环境稳定的一道重要屏障. 梗阻性黄疸(obstructive jaundice, OJ)患者病死率和并发症发生率居高不下, 主要原因是败血症和肾功能衰竭. 临床与基础研究证实OJ存在肠黏膜屏障损伤, 其主要病理生理机制是肠黏膜通透性增加、肠黏膜上皮氧化应激损伤及肠源性内毒素血症, 具体机制尚未明确. 本文对OJ引起的肠黏膜屏障损伤的病理生理机制作一综述.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 梗阻性黄疸; 肠黏膜屏障; 内毒素血症; 紧密连接

核心提示: 梗阻性黄疸(obstructive jaundice, OJ)患者病死率和并发症发生率居高不下, 主要原因是肠黏膜屏障功能障碍以及随之而来的内毒素血症和全身炎症反应. 病理生理学研究证实了肠道屏障功能的破坏是多因素的, 包括机械、生物、化学、免疫屏障的破坏, 具体机制尚未明确, 而肠黏膜紧密连接(tight junction)蛋白的表达变化, 氧化应激和细胞增殖与凋亡的失调可能在OJ肠黏膜屏障损伤中起关键作用.

王娜, 姜慧卿. 梗阻性黄疸肠黏膜屏障损伤病理生理机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2668-2673 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2668.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2668

■同行评议者
度必光, 教授, 遵义医学院附属医院消化科

0 引言
梗阻性黄疸(obstructive jaundice, OJ)是临床常见

病, 近十几年缓解黄疸的外科手术和内镜治疗手段虽然有了很大的提高, 但是患者病死率和并发症发生率仍然居高不下, 严重者出现肾衰竭和败血症[1,2], 其主要病理生理机制是由于OJ时肠黏膜屏障受损所致肠黏膜通透性增加, 而其伴随的肠黏膜上皮氧化应激损伤及肠源性内毒素血症是促成肠道屏障功能障碍发生的关键因素[3-5]. 目前国内外对OJ肠黏膜上皮屏障损伤发病机制的研究很多, 但尚无统一结论, 本文就其病理生理机制作一综述.

1 肠黏膜屏障结构和功能

胃肠黏膜不仅仅具有消化吸收的功能, 还是人体一道重要的自然屏障. 肠黏膜屏障由肠上皮层、黏液层、肠道淋巴系统、肠道菌群和肠-肝轴等组成, 具有机械屏障、化学屏障、生物屏障和免疫屏障等功能, 是防止肠道内的有害物质和病原体进入机体内环境, 维持内环境稳定的一道重要屏障[6].

2 梗阻性黄疸肠黏膜屏障损伤改变

2.1 *机械屏障受损* 肠黏膜机械屏障是由肠黏膜上皮间的紧密连接(tight junction, TJ)、上皮细胞及其分泌的黏液、表面的菌膜等组成, 共同构成了一道肠道内毒素和细菌不能自由逾越的物理屏障. 环绕黏膜上皮细胞顶侧的TJ是维持肠上皮屏障功能的重要结构基础, 是决定肠上皮细胞间通透性的决定因素. 肠上皮细胞TJ一旦发生变异、减少或缺失, 肠上皮细胞间隙通透性就会增加, 细菌、内毒素及大分子物质就可通过TJ进入体循环. 因此, TJ在肠黏膜屏障功能中的作用至关重要[7-9]. 现已发现有40多种肠黏膜上皮细胞TJ的相关蛋白, 跨膜蛋白Occludin和Claudin相互作用封闭细胞间隙, 在细胞内与胞浆蛋白ZOs(ZO-1/2/3)相连; ZO属于胞浆蛋白, 其对TJ的形成起装配平台样作用, 构成稳定连接. 动物实验已证实与假手术组相比, OJ大鼠小肠黏膜上皮存在功能障碍, 并同时伴随肠上皮TJ蛋白Occludin、ZO-1的表达减低及分布出现区域性缺失[10,11]. 我们首次研究了OJ患者存在小肠黏膜组织学损伤和肠源性内毒素血症; 透射电镜下肠黏膜微绒毛明显稀疏, 连接复合体结构破坏, 细胞TJ增宽, 肠黏膜上皮细胞TJ蛋白Occludin、ZO-1、Claudin-1表达减弱, Claudin-4增加, 这可能是OJ肠黏膜屏障损伤、通透性增加的重要因素[12]. Assimakopoulos等[13]的一项临床研究与我们的研究结果一致, 且证实TJ蛋白表达出现区域分布改变.

2.2 *化学屏障受损* 肠黏膜化学屏障包括消化系分泌的胃酸、溶菌酶、粘多糖和胰酶、胆盐等组成. 肠道胆盐的存在对正常肠黏膜屏障起重要作用, 他能够促进黏膜生长和修复, 对肠黏膜还有营养作用, 可以增加绒毛密度, 诱导肠壁组织细胞生长. 体外实验证实胆汁酸通过c-myc依赖途径促进肠上皮细胞增殖, 阻止核因子-κB(nuclear factor κB, NF-κB)活化诱导的凋亡[14,15]. OJ时由于胆汁缺乏, 导致肠黏膜组织形态学改变和肠肌电活动减弱, 经胆盐补充后其指标明显改善[16]. Raimondi等[17]用单层小肠上皮细胞培养体外实验研究证实不同浓度胆盐通过激活表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR), 从而使肠黏膜上皮TJ蛋白表达增加. 另外胆盐可清除细菌的活性, 使细菌胞壁通透性增高, 最终致细胞损伤和细菌膜碎裂[18], 胆盐还可直接与肠腔内毒素和细菌黏附生成不吸收的去垢剂样复合物, 使内毒素裂解失活, 进而防止肠道内毒素和细菌移位[6].

2.3 *生物屏障受损* 肠道生物屏障由相当稳定比例的肠道内自身菌群与肠道黏膜结合, 与机体形成一个相互依赖又相互制约的微生态平衡系统[6]. OJ时由于胆汁酸缺乏导致肠道菌群失衡, 以肠杆菌为代表的革兰阴性菌过度生长[3-5]. 动物及临床实验证实致病的大肠杆菌黏附至OJ肠道上皮单层细胞, TJ出现断裂导致肠屏障损伤[19,20]. Geyik等[21]研究发现布拉酵母菌灌胃能明显改善OJ大鼠肠道菌群, 还可明显修复小肠黏膜损伤, 降低致病菌移位. Zhou等[10]报导OJ大鼠应用乳酸菌灌胃可通过蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)信号转导途径缓解肠黏膜氧化应激损伤, 抑制细胞凋亡, 改善肠黏膜通透性. 周龙翔等[22]证实OJ患者围手术期服用益生菌后发现患者尿乳果糖/甘露醇(lactulose/mannitol, L/M)比值较对照组明显下降, 表明益生菌可以明显改善OJ肠黏膜通透性和肠道微生态环境.

2.4 *免疫屏障受损* 肠黏膜免疫屏障由肠黏膜分泌的IgA和肠相关淋巴组织等构成. 大多数肠道中IgA是以sIgA的形式存在的, 可起到抑制肠道细菌黏附、阻止细菌定植、抑制抗原吸收和中和毒素等作用. 肠道内90%的IgA是由胆汁携带而分泌到肠腔的, 缺乏胆汁就意味着肠道内缺少了绝大部分的IgA, 也就失去了IgA对肠黏膜的保护. 另研究表明胆汁中还包含特异或非特

■研发前沿
OJ肠黏膜屏障损伤主要病理生理机制是肠黏膜通透性增加, 而其伴随的肠黏膜上皮氧化应激损伤及肠源性内毒素血症是促成肠道屏障功能障碍发生的关键因素.

■相关报道
OJ肠黏膜屏障功能障碍病理生理学研究证实了肠道屏障功能的破坏是多因素的，包括机械、生物、化学、免疫屏障的破坏，其主要病理生理机制是肠黏膜通透性增加、肠黏膜上皮氧化应激损伤及肠源性内毒素血症.

异的抗体，抑制肠道内细菌与肠黏膜的黏附或抑制细菌被上皮细胞摄取而防止细菌转移[19]，所以胆汁对肠道的免疫功能也起着非常重要的作用. OJ时肠道的免疫功能下降，防御能力减弱. 实验研究表明胆汁影响肠道淋巴组织的分布，胆汁缺乏时导致$CD4^+$和$CD8^+$ T淋巴细胞数量的减少和趋化因子TECK/CCL25的表达降低，胆汁内引流后可以明显改善淋巴细胞的归巢[23]. 另外Ogawa等[24]证实OJ大鼠可能依赖Toll样受体-2(Toll-like receptors-2, TLR-2)途径促进细胞凋亡，从而导致Payer淋巴小结内的B淋巴细胞减少.

3 梗阻性黄疸肠黏膜屏障损伤机制

3.1 *肠黏膜上皮通透性增加* 肠黏膜通透性是指肠黏膜上皮容易被某些分子物质以简单扩散的方式通过的特性. 早在肠黏膜形态学出现明显变化之前，肠黏膜通透性已经增高. 所以，肠黏膜通透性的改变可早期反映肠黏膜屏障功能受损程度[25]. 实验和临床研究已经证实OJ时存在肠源性细菌和内毒素血症移位至肠系膜淋巴细胞、体循环和肝脏，其最主要因素是肠黏膜通透性增加[3-5]. 肠黏膜上皮，尤其封闭肠上皮细胞顶端间隙的TJ是决定肠黏膜通透性最重要的因素. 正常情况下肠腔内细菌及大分子毒素不能透过肠壁进入全身脏器和组织，这有赖于肠道的屏障功能的完整. 临床研究中通过测定人尿L/M比值透过实验、门脉内毒素浓度、不同部位细菌培养证实肠道菌群移位，以反映患者肠黏膜通透性的变化[26]. 我们的研究发现，OJ患者小肠黏膜通透性明显增加[12]. 实验研究发现在普通光镜下观察，OJ大鼠肠黏膜组织学损伤无明显形态学改变，但电镜下可发现炎症水肿、肠上皮间隙扩大、线粒体损伤及细菌过度生长等，还有肠黏膜皮下水肿、绒毛稀少和黏膜层与固有层分离等非特异性损伤表现，而予蜂蜜干预后上述改变明显改善[27].

3.2 *肠黏膜上皮氧化应激损伤* 肠黏膜氧化应激反应(oxidative stress)可能是导致OJ肠黏膜屏障损伤和通透性增高的一个关键因素. OJ导致内毒素血症、细菌移位及大量炎性介质释放，诱生型一氧化氮合酶表达增强，使肠腔组织或细胞内产生大量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)蓄积而引起的氧化损伤. 大量的动物和临床试验均已证实OJ可诱发肠黏膜氧化应激损伤，表现为肠道中脂质过氧化、蛋白氧化增强，蛋白质、非蛋白巯基化合物或二硫化物比例失调[5,28-32]. OJ大鼠给予抗氧化剂灌胃后，可以恢复肠黏膜的氧化应激状态，阻止肠黏膜细胞的凋亡、促进细胞增殖、恢复TJ蛋白表达，从而增强肠黏膜屏障功能[26]. 肠上皮细胞增值下降、凋亡增加是OJ肠黏膜上皮屏障功能损伤的另一重要因素. 氧化应激可促进肠黏膜细胞凋亡，抑制细胞增殖，破坏细胞膜及膜蛋白结构，导致OJ肠黏膜萎缩. 应用肝外胆汁淤积大鼠模型给予抗氧化剂谷氨酰胺和姜黄素灌胃可以明显缓解大鼠肠黏膜的氧化应激状态，并改善肠黏膜屏障功能及肠道菌群失衡[33]. Assimakopoulos等[34]研究证实OJ大鼠肠黏膜萎缩，氧化应激损伤明显，同时伴随隐窝上皮细胞有丝分裂明显降低，同时细胞凋亡增加，应用不同的抗氧化剂(乙酰半胱氨酸，别嘌呤醇，维生素E)干预，可通过影响巯基氧化还原状态提高肠黏膜的抗氧化作用，改善肠黏膜屏障功能，防止发生内毒素血症. 最近报道给予OJ大鼠抗氧化剂硫辛酸，对其肠道起到有效的抗氧化效应，从而提高肠黏膜屏障功能[35]. 我们研究结果显示，OJ患者肠黏膜组织中丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平升高，超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平下降，肠黏膜上皮细胞凋亡增加，说明在OJ时肠道存在脂质过氧化损伤及抗氧化能力下降，随着胆道梗阻的不断进展肠黏膜上皮细胞凋亡逐渐增加，由此引起的组织结构破坏，削弱了肠道屏障功能[31]. 最近一项研究也证实了OJ患者小肠黏膜上皮细胞增殖指标Ki67较对照组明显降低，凋亡指数明显增高[36].

3.3 *肠源性内毒素血症及炎症介质反应* 淤胆导致肝脏枯否细胞清除能力下降[37-39]，使细菌及其内毒素从门脉“逃逸”至体循环，进而引起炎性细胞因子“瀑布样”效应，即“肠源性内毒素血症”[3-5]. 门脉和体循环过多的细胞因子和其他促炎介质的释放，如肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α)、白介素-1(interleukin, IL-1)、IL-6、干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ), NO和氧自由基对TJ的结构和功能产生破坏，从而进一步影响OJ肠黏膜屏障功能[3,40-44]. 有研究指出TNF-α和IFN-γ等细胞因子可通过上调人TJ蛋白*Claudin-4*启动子活性、下调Claudin-1, -5和-7表达，破坏肠黏膜屏障[45]. 内毒素的主要成分系脂多糖(lipopolysaccharides, LPS), LPS与血清中内毒素结合蛋白结合并与CD14共同形成三者的复合物，与受体共同参与信号转导，从而诱导TNF-α、IL-6等细胞因子表达，并产生各种病

理损害. TLR4是LPS跨膜信号转导最重要的受体, 是炎性反应链的启动点, 可以影响整个病理损伤过程[46,47]. Miyaso等[48]研究证实LPS可上调OJ小鼠肠黏膜组织及门脉血的TLR-4 mRNA和CD14 mRNA水平, 进一步加重肠黏膜屏障的损伤. 而且内毒素血症致内脏血流减少、引起肠道微循环障碍, 进一步导致肠黏膜上皮细胞能量缺失及缺血、缺氧状态, 细胞线粒体和溶酶体损伤, 甚至细胞自溶, 最终引起肠黏膜功能损害[49,50]. Rabaev等[51]报道OJ患者存在内毒素血症和肠道菌群失衡, 胆道减压并联合应用乳果糖干预7 d后患者内毒血症、肠道菌群失衡状态得到明显改善.

4 结论

对OJ肠黏膜屏障功能障碍的病理生理学的深入研究, 进一步证实了肠道屏障功能破坏是多因素的, 包括机械、生物、化学、免疫屏障的破坏. 肠黏膜TJ蛋白的变化、氧化应激和细胞增殖与凋亡失调在OJ肠黏膜屏障损伤中起关键作用. 因此, 在临床工作中患者解除黄疸前后应同时保护肠黏膜屏障功能, 因为肠黏膜屏障功能障碍以及随之而来的内毒素血症和全身炎症反应可能导致严重的甚至危及生命的并发症.

5 参考文献

1 Brandoni A, Hazelhoff MH, Bulacio RP, Torres AM. Expression and function of renal and hepatic organic anion transporters in extrahepatic cholestasis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6387-6397 [PMID: 23197884 DOI: 10.3748/wjg.v18.i44.6387]

2 Park SY, Park CH, Cho SB, Lee WS, Kim JC, Cho CK, Joo YE, Kim HS, Choi SK, Rew JS. What is appropriate procedure for preoperative biliary drainage in patients with obstructive jaundice awaiting pancreaticoduodenectomy? *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2011; 21: 344-348 [PMID: 22002271 DOI: 10.1097/SLE.0b013e3182318d2f]

3 Badger SA, Jones C, McCaigue M, Clements BW, Parks RW, Diamond T, McCallion K, Taylor MA. Cytokine response to portal endotoxaemia and neutrophil stimulation in obstructive jaundice. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 25-32 [PMID: 22027701 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32834b0dd3]

4 Jones C, Badger SA, Black JM, McFerran NV, Hoper M, Diamond T, Parks RW, Taylor MA. The use of antiendotoxin peptides in obstructive jaundice endotoxemia. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 248-254 [PMID: 22246330 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32834dfb8c]

5 Bedirli A, Kerem M, Ofluoglu E, Salman B, Katircioglu H, Bedirli N, Yilmazer D, Alper M, Pasaoglu H. Administration of Chlorella sp. microalgae reduces endotoxemia, intestinal oxidative stress and bacterial translocation in experimental biliary obstruction. *Clin Nutr* 2009; 28: 674-678 [PMID: 19589628 DOI: 10.1016/j.clnu.2009.06.001]

6 Camilleri M, Madsen K, Spiller R, Greenwood-Van Meerveld B, Verne GN. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 503-512 [PMID: 22583600 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01921.x]

7 Suzuki T. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 631-659 [PMID: 22782113 DOI: 10.1007/s00018-012-1070-x]

8 Hossain Z, Hirata T. Molecular mechanism of intestinal permeability: interaction at tight junctions. *Mol Biosyst* 2008; 4: 1181-1185 [PMID: 19396381 DOI: 10.1039/b800402a]

9 Liu Z, Shi C, Yang J, Zhang P, Ma Y, Wang F, Qin H. Molecular regulation of the intestinal epithelial barrier: implication in human diseases. *Front Biosci* (Landmark Ed) 2011; 16: 2903-2909 [PMID: 21622211]

10 Zhou YK, Qin HL, Zhang M, Shen TY, Chen HQ, Ma YL, Chu ZX, Zhang P, Liu ZH. Effects of Lactobacillus plantarum on gut barrier function in experimental obstructive jaundice. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3977-3991 [PMID: 22912548 DOI: 10.3748/wjg.v18.i30.3977]

11 Wu L, Li W, Wang Z, Yuan Z, Hyder Q. Bile acid-induced expression of farnesoid X receptor as the basis for superiority of internal biliary drainage in experimental biliary obstruction. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48: 496-503 [PMID: 23410061 DOI: 10.3109/00365521.2012.763173]

12 Wang N, Yu H, Ma J, Wu W, Zhao D, Shi X, Tian H, Jiang H. Evidence for tight junction protein disruption in intestinal mucosa of malignant obstructive jaundice patients. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 191-199 [PMID: 20095884 DOI: 10.3109/00365520903406701]

13 Assimakopoulos SF, Tsamandas AC, Louvros E, Vagianos CE, Nikolopoulou VN, Thomopoulos KC, Charonis A, Scopa CD. Intestinal epithelial cell proliferation, apoptosis and expression of tight junction proteins in patients with obstructive jaundice. *Eur J Clin Invest* 2011; 41: 117-125 [PMID: 20840373 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2010.02379.x]

14 Perrone EE, Liu L, Turner DJ, Strauch ED. Bile salts increase epithelial cell proliferation through HuR-induced c-Myc expression. *J Surg Res* 2012; 178: 155-164 [PMID: 22626558 DOI: 10.1016/j.jss.2012.02.029]

15 Turner DJ, Alaish SM, Zou T, Rao JN, Wang JY, Strauch ED. Bile salts induce resistance to apoptosis through NF-kappaB-mediated XIAP expression. *Ann Surg* 2007; 245: 415-425 [PMID: 17435549]

16 Keating N, Keely SJ. Bile acids in regulation of intestinal physiology. *Curr Gastroenterol Rep* 2009; 11: 375-382 [PMID: 19765365]

17 Raimondi F, Santoro P, Barone MV, Pappacoda S, Barretta ML, Nanayakkara M, Apicella C, Capasso L, Paludetto R. Bile acids modulate tight junction structure and barrier function of Caco-2 monolayers via EGFR activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G906-G913 [PMID: 18239063 DOI: 10.1152/ajpgi.00043]

18 Duary RK, Batish VK, Grover S. Relative gene expression of bile salt hydrolase and surface proteins in two putative indigenous Lactobacillus plantarum strains under in vitro gut conditions. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 2541-2552 [PMID: 21674190 DOI: 10.1007/s11033-011-1006-9]

■应用要点

本文总结了OJ时肠黏膜屏障损伤的改变以及损伤的发生机制, 为今后肠黏膜屏障功能障碍治疗提供了新的依据. 临床工作中应该重视患者解除黄疸前后应同时保护肠黏膜屏障功能, 因为肠黏膜屏障功能障碍以及随之而来的内毒素血症和全身炎症反应可能导致严重的甚至危及生命的并发症.

■同行评价
本文对于提高对OJ肠黏膜屏障损伤的认识、在临床工作中解除黄疸前后肠黏膜屏障功能的保护等有重要指导意义.

19 Karczewski J, Troost FJ, Konings I, Dekker J, Kleerebezem M, Brummer RJ, Wells JM. Regulation of human epithelial tight junction proteins by Lactobacillus plantarum in vivo and protective effects on the epithelial barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G851-G859 [PMID: 20224007 DOI: 10.1152/ajpgi.00327.2009]

20 Ahrne S, Hagslatt ML. Effect of lactobacilli on paracellular permeability in the gut. *Nutrients* 2011; 3: 104-117 [PMID: 22254077 DOI: 10.3390/nu3010104]

21 Geyik MF, Aldemir M, Hosoglu S, Ayaz C, Satilmis S, Buyukbayram H, Kokoglu OF. The effects of Saccharomyces boulardii on bacterial translocation in rats with obstructive jaundice. *Ann R Coll Surg Engl* 2006; 88: 176-180 [PMID: 16551414]

22 周龙翔, 程邦君, 谢容, 赵登秋. 益生菌对梗阻性黄疸患者肠黏膜屏障的影响. 中华临床医师杂志 2012; 6: 4498-4499

23 Matsumoto T, Ajiki T, Kajiwara E, Mita Y, Fujita T, Morimoto H, Miyazawa M, Ku Y. Decreased expression of intestinal chemokine TECK/CCL25 in experimental obstructive jaundice and its reversal following internal biliary drainage. *J Gastroenterol* 2008; 43: 390-396 [PMID: 18592157 DOI: 10.1007/s00535-008-2173-x]

24 Ogawa A, Tagawa T, Nishimura H, Yajima T, Abe T, Arai T, Taniguchi M, Takeda K, Akira S, Nimura Y, Yoshikai Y. Toll-like receptors 2 and 4 are differentially involved in Fas dependent apoptosis in Peyer's patch and the liver at an early stage after bile duct ligation in mice. *Gut* 2006; 55: 105-113 [PMID: 16118350]

25 Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 799-809 [PMID: 19855405 DOI: 10.1038/nri2653]

26 Vojdani A. For the assessment of intestinal permeability, size matters. *Altern Ther Health Med* 2013; 19: 12-24 [PMID: 23341423]

27 Gencay C, Kilicoglu SS, Kismet K, Kilicoglu B, Erel S, Muratoglu S, Sunay AE, Erdemli E, Akkus MA. Effect of honey on bacterial translocation and intestinal morphology in obstructive jaundice. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3410-3415 [PMID: 18528939]

28 Yang J, Wu R, Zhou M, Wang P. Human adrenomedullin and its binding protein ameliorate sepsis-induced organ injury and mortality in jaundiced rats. *Peptides* 2010; 31: 872-877 [PMID: 20132852 DOI: 10.1016/j.peptides.2010.01.010]

29 Grintzalis K, Papapostolou I, Assimakopoulos SF, Mavrakis A, Faropoulos K, Karageorgos N, Georgiou C, Chroni E, Konstantinou D. Time-related alterations of superoxide radical levels in diverse organs of bile duct-ligated rats. *Free Radic Res* 2009; 43: 803-808 [PMID: 19548155 DOI: 10.1080/10715760903062903]

30 Assimakopoulos SF, Thomopoulos KC, Patsoukis N, Georgiou CD, Scopa CD, Nikolopoulou VN, Vagianos CE. Evidence for intestinal oxidative stress in patients with obstructive jaundice. *Eur J Clin Invest* 2006; 36: 181-187 [PMID: 16506963]

31 王娜, 于惠玲, 姜慧卿, 马俊骥, 赵东强, 时晓东, 田慧. 血红素加氧酶-1在恶性梗阻性黄疸患者小肠黏膜氧化应激损伤中作用. 中华医学杂志 2009; 48: 3401-3404

32 Assimakopoulos SF, Mavrakis AG, Grintzalis K, Papapostolou I, Zervoudakis G, Konstantinou D, Chroni E, Vagianos CE, Georgiou C. Superoxide radical formation in diverse organs of rats with experimentally induced obstructive jaundice. *Redox Rep* 2008; 13: 179-184 [PMID: 18647488 DOI: 10.1179/135100008X308902]

33 Karatepe O, Acet E, Battal M, Adas G, Kemik A, Altiok M, Kamali G, Koculu S, Catay A, Kamali S, Karahan S. Effects of glutamine and curcumin on bacterial translocation in jaundiced rats. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4313-4320 [PMID: 20818815]

34 Assimakopoulos SF, Scopa CD, Vagianos CE. Pathophysiology of increased intestinal permeability in obstructive jaundice. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6458-6464 [PMID: 18161914]

35 Somi MH, Kalageychi H, Hajipour B, Musavi G, Khodadadi A, Shokri N, Hashemi R, Bagheri I, Mutab Laleh F. Lipoic acid prevents hepatic and intestinal damage induced by obstruction of the common bile duct in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17: 1305-1310 [PMID: 23740441]

36 赵京飞, 陈强谱. 梗阻性黄疸患者肠黏膜上皮细胞增殖与凋亡的研究. 滨州医学院学报 2012; 35: 175-180

37 Okaya T, Nakagawa K, Kimura F, Shimizu H, Yoshidome H, Ohtsuka M, Kato A, Yoshitomi H, Ito H, Miyazaki M. The alterations in hepatic microcirculation and Kupffer cell activity after biliary drainage in jaundiced mice. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012; 19: 397-404 [PMID: 21866308 DOI: 10.1007/s00534-011-0435-0]

38 Okaya T, Nakagawa K, Kimura F, Shimizu H, Yoshidome H, Ohtsuka M, Morita Y, Miyazaki M. Obstructive jaundice impedes hepatic microcirculation in mice. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 2146-2150 [PMID: 19260494]

39 Abe T, Arai T, Ogawa A, Hiromatsu T, Masuda A, Matsuguchi T, Nimura Y, Yoshikai Y. Kupffer cell-derived interleukin 10 is responsible for impaired bacterial clearance in bile duct-ligated mice. *Hepatology* 2004; 40: 414-423 [PMID: 15368446]

40 Meng Y, Gong YC, Dou Y, Li W. Changes of serum cytokines and expression of inducible nitric oxide synthase mRNA by Kupffer cells after relief from obstructive jaundice in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1064-1069 [PMID: 19220682 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05746.x]

41 Abrahám S, Szabó A, Kaszaki J, Varga R, Eder K, Duda E, Lázár G, Tiszlavicz L, Boros M, Lázár G. Kupffer cell blockade improves the endotoxin-induced microcirculatory inflammatory response in obstructive jaundice. *Shock* 2008; 30: 69-74 [PMID: 18562926 DOI: 10.1097/SHK.0b013e31815dceea]

42 Wang P, Gong G, Wei Z, Li Y. Ethyl pyruvate prevents intestinal inflammatory response and oxidative stress in a rat model of extrahepatic cholestasis. *J Surg Res* 2010; 160: 228-235 [PMID: 19628226 DOI: 10.1016/j.jss.2009.03.027]

43 Leventoglu S, Koksal H, Sancak B, Taneri F, Onuk E. The effect of calcitonin gene-related peptide on healing of intestinal anastomosis in rats with experimental obstructive jaundice. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009; 16: 546-551 [PMID: 19365597 DOI: 10.1007/s00534-009-0098-27]

44 Wang ZK, Xiao JG, Huang XF, Gong YC, Li W. Effect of biliary drainage on inducible nitric oxide synthase, CD14 and TGR5 expression in obstructive jaundice rats. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2319-2330 [PMID: 23613625 DOI: 10.3748/wjg.v19.i15.2319]

45 Amasheh M, Grotjohann I, Amasheh S, Fromm A, Söderholm JD, Zeitz M, Fromm M, Schulzke JD.

Regulation of mucosal structure and barrier function in rat colon exposed to tumor necrosis factor alpha and interferon gamma in vitro: a novel model for studying the pathomechanisms of inflammatory bowel disease cytokines. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 1226-1235 [PMID: 19658020 DOI: 10.1080/00365520903131973]

46 Noreen M, Shah MA, Mall SM, Choudhary S, Hussain T, Ahmed I, Jalil SF, Raza MI. TLR4 polymorphisms and disease susceptibility. *Inflamm Res* 2012; 61: 177-188 [PMID: 22277994 DOI: 10.1007/s00011-011-0427-1]

47 Peri F, Piazza M. Therapeutic targeting of innate immunity with Toll-like receptor 4 (TLR4) antagonists. *Biotechnol Adv* 2012; 30: 251-260 [PMID: 21664961 DOI: 10.1016/j.biotechadv.2011.05.014]

48 Miyaso H, Morimoto Y, Ozaki M, Haga S, Shinoura S, Choda Y, Iwagaki H, Tanaka N. Obstructive jaundice increases sensitivity to lipopolysaccharide via TLR4 upregulation: possible involvement in gut-derived hepatocyte growth factor-protection of hepatocytes. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1859-1866 [PMID: 16336445]

49 Sonnier DI, Bailey SR, Schuster RM, Gangidine MM, Lentsch AB, Pritts TA. Proinflammatory chemokines in the intestinal lumen contribute to intestinal dysfunction during endotoxemia. *Shock* 2012; 37: 63-69 [PMID: 22089201 DOI: 10.1097/SHK.0b013e31823cbff1]

50 Lehmann C, Pavlovic D, Zhou J, Wuttke U, Saeger D, Spassov A, Hung O, Cerny V, Witter T, Whynot S, Suchner U, Alteheld B, Stehle P, Gründling M. Intravenous free and dipeptide-bound glutamine maintains intestinal microcirculation in experimental endotoxemia. *Nutrition* 2012; 28: 588-593 [PMID: 22222295 DOI: 10.1016/j.nut.2011.09.0211]

51 Rabaev IB, Bekbaurov SA, Fialkina SV. [Effect of combined administration of bile duct decompression and lactulose in mechanical jaundice]. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 2012; (6): 85-89 [PMID: 23297639]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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).

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2674-2678
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

幽门螺杆菌免疫根除的研究与治疗

朱振红, 唐旭东, 王凤云, 郭 朋

■背景资料
探讨幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)作为微生物抗原, 其免疫原性和消化性溃疡、胃癌等的发生关系密切, 临床免疫根除治疗尤为重要.

朱振红, 中国中医科学院研究生院 北京市 100700
唐旭东, 王凤云, 郭朋, 中国中医科学院西苑医院 北京市 100091
朱振红, 主要从事中医内科学消化系统疾病方面的研究.
中医药行业科研专项基金资助项目, No. 201007006
作者贡献分布: 此课题由唐旭东与朱振红设计; 郭朋与王凤云参与评价; 论文写作由朱振红完成.
通讯作者: 唐旭东, 教授, 100091, 北京市海淀区西苑操场1号院, 中国中医科学院西苑医院. txdly@sina.com
收稿日期: 2013-04-23 修回日期: 2013-08-05
接受日期: 2013-08-15 在线出版日期: 2013-09-18

Immune factors affecting eradication of *Helicobacter pylori*: Implications for immunotherapy

Zhen-Hong Zhu, Xu-Dong Tang, Feng-Yun Wang, Peng Guo

Zhen-Hong Zhu, Graduate School, Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China
Xu-Dong Tang, Feng-Yun Wang, Peng-Guo, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China
Supported by: the Special Fund of TCM Scientific Research, No. 201007006
Correspondence to: Xu-Dong Tang, Professor, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese, 1 Xiyuan Playground, Haidian District, Beijing 100091, China. txdly@sina.com
Received: 2013-04-23 Revised: 2013-08-05
Accepted: 2013-08-15 Published online: 2013-09-18

Abstract
In this paper, we discuss immune factors affecting eradication of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) and analyze their implications for immunotherapy. By reviewing related literature and comparing with conventional pure acid suppression, we analyze factors related to the eradication of *H. pylori* from an immunological point of view and put forward new hypotheses concerning the development of oral *H. pylori* vaccines.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori* infection; Immune analysis

Zhu ZH, Tang XD, Wang FY, Guo P. Immune factors affecting eradication of *Helicobacter pylori*: Implications for immunotherapy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2674-2678 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2674.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2674

摘要
探讨幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)免疫根除因素与临床治疗意义. 与单纯抑酸杀菌作阳性对照, 并搜集相关文献给予总结归纳. 从免疫学角度出发, 分析根除*H. pylori*相关因素, 为未来口服*H. pylori*疫苗提出新的假设.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 幽门螺杆菌感染; 免疫分析

核心提示: 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染产生的毒力因子和细胞黏附分子参与多种信号通路及免疫信号传导, 直接或间接引起的免疫-炎性反应, 可导致胃炎及消化性溃疡病的发生, 目前, 有多种根除*H. pylori*的方法, 但由于*H. pylori*的耐药性的存在, 给治疗带来一定的阻力. 免疫根治法是根据药物能直接的作用于*H. pylori*的致命靶位, 从而清除*H. pylori*而不会使病菌耐药性增加. 免疫根治法处于不断发展的阶段, 本文重在探讨*H. pylori*免疫根除的新方法、新思路.

朱振红, 唐旭东, 王凤云, 郭朋. 幽门螺杆菌免疫根除的研究与治疗. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2674-2678 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2674.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2674

■同行评议者
蒋敬庭, 教授, 常州市第一人民医院肿瘤生物诊疗中心

0 引言
幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染检出率逐年上升, 临床报道*H. pylori*相关疾病也从单一性到多元化转变. 根除*H. pylori*已成为多数专家共识, 本文着重探讨*H. pylori*免疫根除因素与临床治疗意义, 为未来*H. pylori*疫苗根除提供新思路.

1 *H. pylori*相关免疫原性
*H. pylori*与乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒等嗜

脏器性病毒, 皆因分布部位不同或形状、大小各异而命名. 作为非自体抗原抗体复合物, 其免疫活性及其激发效应越来越引起人们的关注及研究.

1.1 *H. pylori*全细胞抗原 新近Raghavan等[1]用甲醛灭活同种的和异种的*H. pylori*加上CT作为佐剂共同口服免疫被HpSSI株感染的C57BL/6小鼠, 得出具有治疗性免疫的结果. Losonsky等[2]用失活*H. pylori*整个细胞疫苗和重组大肠杆菌热不稳定肠毒素[LT/(R192G)]口服免疫*H. pylori*血清阴性个体来研究B细胞特殊应答能否在胃黏膜*H. pylori*阴性对象中引出. 看来*H. pylori*全菌抗原性研究价值不容忽视, 也为根除*H. pylori*研制疫苗奠定基础.

1.2 蛋白或酶亚型基因 从异物抗原特异靶位点出发, 有学者报告在胃窦上皮细胞内有一种糖脂受体可以与*H. pylori*结合. *H. pylori*可引起机体特异体液及细胞免疫, 机体产生的抗体识别*H. pylori*相关抗原, 其中包括尿素酶亚单位62 kDa和30 kDa, 56 kDa热休克蛋白和54 kDa鞭毛蛋白. 分泌细胞毒素的菌株同时分泌128 kDa的蛋白质, 编码这种128 kDa蛋白质的基因被称为*cagA*, 此基因可能调控毒素表达[3]. 黏附素是*H. pylori*的重要毒力因素, 也是其定植于胃黏膜的物质基础[4-7]. 从黏附素出发寻找抗原, 从而在感染的初期就能通过阻断黏附防止感染而最终将*H. pylori*清除提供思路[8]. de Jonge等[9]学者通过豚鼠模型证实alpA、alpB缺陷对*H. pylori*的黏附定植十分不利. a1pA的免疫原性在动物模型中已经有实验室证据. 此外, 针对*H. pylori*脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)对胃黏膜致瘤性改变的免疫原性因素亦不可忽视[10]. 需要指出的是, 有人发现*H. pylori*感染者存在抗胃上皮的抗体, 一些抗*H. pylori* LPS的特异性单抗与人Lewis血型抗原有交叉反应. 关于*H. pylori*基因组全部DNA测序工作, 为人们从分子生物学方面认识并防治*H. pylori*, 提供新的方向.

1.3 *H. pylori*免疫耐药 关于*H. pylori*耐药的临床观察报告较多, 兹不赘述, 但针对特异靶位点变异而致*H. pylori*耐药的相关机制分析甚少. 故对*H. pylori*免疫耐药的相关解释尚存在假设阶段.

2 自身免疫系统组成

*H. pylori*感染往往激活自身免疫系统应答, 诱发炎症反应. 胃黏膜缺乏淋巴组织, 也缺乏像M细胞那样能呈递抗原和微生物的专职细胞, 提示胃黏膜系统有其诱发原始免疫的特异性.

2.1 胃上皮细胞递呈 正常情况下胃黏膜不表达MHCⅡ类分子, 病理情形下胃上皮细胞可作为$CD4^+$T细胞的抗原呈递细胞. 胃黏膜上皮细胞间质中存在层粘蛋白、纤维连接蛋白、胶原纤维和硫酸乙酰肝素等, 均可与*H. pylori*发生非特异地结合, 从而促进*H. pylori*在胃黏膜的定植. 胃上皮细胞表达*H. pylori*相关抗原抗体受体, 研究显示, 由于长期炎症刺激, 暴露的细胞外基质成分, 如层黏素、Ⅳ型胶原和玻璃体结合蛋白可与*H. pylori*相关受体结合, 黏附在胃黏膜上的*H. pylori*由于多种黏附因子的存在形成“骨架结构”. 正由于此, 保证了*H. pylori*的长期定植.

2.2 Th细胞辅助免疫 在*H. pylori*感染过程中, 通过对实验性*H. pylori*感染的动物及*H. pylori*慢性感染的人体研究, 发现*H. pylori*引起以Th1为主的浸润反应. 由此推之, Th细胞相关T细胞受体可与之组成免疫复合物. Th系受相关因子刺激, 分泌生长因子, 辅助细胞免疫.

2.3 细胞因子参与 有研究发现纯化的*H. pylori*尿素酶还可诱导胃上皮细胞及中性粒细胞表达分泌促炎细胞因子白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)等, 但对IL-8的分泌无诱导作用. 已证实*H. pylori*感染与胃黏膜的IL-1、IL-6、IL-8及TNF-α升高相关, 这些细胞因子可引起中性粒细胞的聚集和激活, 中性粒细胞在上皮间迁移并释放介质, 引起炎症反应. Th1反应可刺激IL-2、干扰素-γ和其他炎症性细胞因子产生, 促进巨噬细胞和多形核细胞激活, 最终导致组织损伤.

2.4 体液免疫 有研究显示, 嗜酸乳杆菌可在胃肠黏膜诱发体液免疫和细胞免疫应答, 产生分泌性抗体slgA, 黏膜免疫中所产生的slgA可有效阻止*H. pylori*黏附[11-13]. 由于嗜酸乳杆菌等疫苗不能有效诱发黏膜免疫, 不能产生大量特异的slgA, 而slgA能够抗病毒、中和毒素及其他生物活性抗原, 这种自身免疫抑制效应使得抗*H. pylori*治疗难度增加, 故*H. pylori*不能彻底被根除[14].

3 单纯抑酸杀菌疗法与联合*H. pylori*免疫疗法阳性对照观察

3.1 数据统计 施纯礼采取三联疗法根除*H. pylori*, 对其药物经济学分析显示, 因药物剂量不同, 造成短期内抗*H. pylori*效果$P<0.05$,长期应用, *H. pylori*耐药不可忽视[15]. 杨洋对*H. pylori*感染患者服用抗*H. pylori*免疫球蛋白进行临床观

■研发前沿

*H. pylori*根除治疗多从三联、四联、序贯等入手, 就*H. pylori*疫苗机制研究少, 文献报道也较少, 目前*H. pylori*根除治疗仅靠定性诊断并药物治疗, 本文通过分析*H. pylori*相关免疫机制与发病因素, 指供*H. pylori*免疫治疗思路.

■相关报道
陈洪等编译发现*H. pylori*黏膜免疫可以治疗并预防*H. pylori*, 对以后免疫根除治疗*H. pylori*指导临床有一定意义.

察, 结果显示, 试验组明显优于中药组(P<0.01), 与三联对照组无明显差异(P>0.05)[16]. 有研究针对抗*H. pylori*菌的重组蛋白抗原进行统计, 在所有构建的尿素酶B(urease B, UreB)、空泡毒素(vacuolating cytotoxin A, VacA)、细胞毒素相关蛋白Ⅰ、黏附素、中性粒细胞激活蛋白、鞭毛蛋白(FlaA)和FlaB进行对照分析, 结果表明, UreB作为候选抗原较佳, *H. pylori*抗体阳性率可达100%[17]. 由此推之, 联合*H. pylori*免疫疗法是序贯疗法、单独三四联质子泵抑制剂疗法后创新疗法, 其有效性尚待临床验证.

3.2 免疫疗法 有实验将*ureB*与*omp11* 2个基因进行融合, 并插入原核表达载体pMAL-c2X中, 构建UreB-Omp11融合蛋白的表达系统TB1(pMAL-c2X-ureB-omp11)并获得了融合蛋白的高效表达, 其抗原性及免疫活性得到了最大程度保留, 对传统的重组体的构建方法是一个创新[18]. 何计国引入化学芳香环以O,O-二甲基硫代磷酰氯和4-羟基苯甲酸甲酯为原料合成半抗原*H. pylori*[19]. 相关*H. pylori*免疫疗法有多种尝试, 就预防疫苗和治疗性疫苗就在诱导黏膜免疫时间上有很大差异, 针对重组疫苗如减毒沙门菌携带*H. pylori*抗原, 难以表达多种抗原, 也与全菌体疫苗差距大. 理想性疫苗运用微胶囊运送保护性*H. pylori*抗原混合物加上强有效的黏膜佐剂, 或代表O群流行株表面表达主要保护性抗原的灭活全菌体混合物, 这一设想还有待实践证明其可行性[20].

4 根除*H. pylori*的临床的作用与意义

众所周知, *H. pylori*为胃炎、消化性溃疡病以及胃癌的重要致病因素, *H. pylori*直接诱导以及间接引起的免疫-炎性反应均参与胃炎及消化性溃疡病的发生. 鉴于*H. pylori*存在的普遍性及不同人群感染率的差异性, 由此推测, 对*H. pylori*的细胞免疫应答可能是其中一个重要的致病因素, 同时也可能促进该菌的慢性感染. *H. pylori*免疫原性是由于菌株致病原的持续存在. 其致细胞毒性称为*H. pylori*毒力因子. 空泡/细胞毒素(及其细胞毒素相关蛋白CagA蛋白)、定居因子(尿素酶、鞭毛、粘附素)、趋化因子、热休克蛋白、脂多糖及生物胺等皆是刺激机体发生免疫应答的联合潜在因素. 其异物免疫原性是其长期定植的前提和关键.

临床研究已显示, 在*H. pylori*(-)群体中, 胃黏膜Th1应答加强, 提示感染清除, 因此, *H. pylori*感染与Th2应答有关, 而非感染者则具有较强的Th1反应. 最近对淋巴细胞增生及细胞因子的研究表明, *H. pylori*(+)患者其细胞免疫低下, 其Th1反应受到抑制. 另外, 阳性患者MHCⅡ类抗原(人类白细胞抗原HLA-DR)在局部也相应的表达增加, 与之相反, 白细胞结合素或白细胞功能相关性抗原-1调控性表达受抑制. 因此, *H. pylori*免疫应答效应是其不易彻底根除及易复发的重要因素. 总之, 进一步深入了解局部抗原免疫应答机制有助于揭示胃、十二指肠疾病的致病机制, 探索*H. pylori*免疫防治新途径.

临床中, *H. pylori*感染可致儿童特发性血小板减少性紫癜(idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP)的发病机制目前尚不清楚, 有报道称, *H. pylori*与血小板的某些抗原性成分有交叉致机体产生血小板抗体, 或是诱导血小板某些表面抗原识别, 激活自身免疫技能. Russo等[21]报道在24例ITP中8例有*H. pylori*感染, 经抗*H. pylori*治疗后, 6例血小板计数明显增加; 而无*H. pylori*感染者与*H. pylori*未清除者的血小板计数及血小板抗体均无改变, 说明*H. pylori*感染可能是ITP发病的直接因素. 近年来的国内外研究表明*H. pylori*感染与特发性血小板减少性紫癜的发病存在一定的相关性[22-25]. MN是成人原发性肾病综合征的常见病理类型, 其发生发展被认为与慢性感染/肿瘤有关[26-29]. 能产生此种肾损害的肿瘤主要常见的是胃癌和肺癌. Wakashin等[30]对3例胃癌合并肾病综合征患者进行肾活检, 在肾小球皮下发现了CEA和抗CEA免疫复合物的沉积. 魏氏发现合并症肺癌、卵巢癌等实体肿瘤7例, 与文献报道一致[31-35]. 另外, *H. pylori*感染还可降低胃液中维生素C的浓度, 而维生素C的还原形式-抗坏血酸是促进高价铁吸收的强有力因子, 从而影响铁的吸收, 这也提示, *H. pylori*感染可能是缺铁性贫血的一个致病因素[36]. 由此可知, *H. pylori*根除存在其必要性. 因此, 从免疫学角度出发, 深入研究根除*H. pylori*相关致命性靶位, 为研制黏膜免疫性疫苗及彻底根除*H. pylori*提供新思路.

有研究报道, *H. pylori*介导炎症反应, 刺激免疫细胞引起黏膜一系列免疫炎症反应. IL-17是一种新型促炎症细胞因子, IL-6和转化生长因子β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)不仅参与炎症反应, 同时也是Th17细胞重要的分化调节因子[37]. 马健等[38]研究发现IL-17、IL-6、TGF-β1表达于CG组织中的淋巴细胞膜和/或细胞浆中, 少量中性粒细胞也可见三者的表达. 值得注意的是, *H. pylori*的疫苗接种所引起的有效保护性免

疫反应与*H. pylori*感染所引起的自然免疫反应是不同的. *H. pylori*疫苗的保护性免疫除包括特异的抗体(IgG、IgA)反应外, 还存在非抗体依赖的细胞免疫等其他机制采用B细胞缺陷的*LMT*基因敲除小鼠进行实验, 发现无论是预防性或治疗性地用*H. pylori*抗原加LT佐剂免疫后都可获得抗螺杆菌的免疫保护效应[39]. 有资料显示, Cag致病岛(Cag-pathogenicity island, Cag-PAI)为*H. pylori*基因组中一段长约37-40 kb的核酸序列, 共编码27-31个蛋白[40-43]. 根据在cagA转运和IL-8诱导表达中的作用可将这些基因大致分为 4 类, 其中与cagA转运密切相关的包括*cagT*、*cagγ*、*cagY*、*cagM*、*cagL*、*cagX*、*cagH*、*cagC*、*cagV*、*cagδ*、*cagα*、*cagW*、*cagU*、*cagE*、*cagβ*、*cagZ*以及*cagI*基因, 这些基因的缺失能够阻止cag A的转运[44,45]. 总之, cagE和cagβ具有良好的免疫反应性, 是潜在的药物靶点和诊断分析靶点[46].

值得指出的是, 近年来中医体质学说研究的发展为中医药开展*H. pylori*感染的防治提供了新思路. 研究已表明, 气虚质、湿热质和阳虚质多见于*H. pylori*阳性患者; 平和质多见于*H. pylori*阴性患者. 中医体质学认为体质的差异性在很大程度上决定着疾病的发生. 正如张仲景提出的“四季脾旺不受邪”. 既往研究认为*H. pylori*感染病机以正虚邪实, 虚实夹杂为主, 正虚是脾胃虚弱, 邪实为湿热蕴结. 脾胃虚弱, 运化不利, 水湿内停, 酿成湿热. 从上可以看出中医对*H. pylori*感染的认识与本研究结果是相符的. 中医药防治*H. pylori*感染可以从中医体质学角度出发, 通过调理偏颇体质达到扶正祛邪的目的, 进一步发挥中医药的优[47-52].

■**应用要点**

鉴于*H. pylori*免疫根除治疗与药物治疗对照相关性, 临床上可以考虑联合*H. pylori*免疫疗法, 减少大量长时间应用抗生素引起的耐药, 提高患者生活质量. 同时, 也为未来临床提供新思路.

5 参考文献

1 Raghavan S, Hjulström M, Holmgren J, Svennerholm AM. Protection against experimental Helicobacter pylori infection after immunization with inactivated H. pylori whole-cell vaccines. *Infect Immun* 2002; 70: 6383-6388 [PMID: 12379718 DOI: 10.1128/IAI.70.11.6383-6388.2002]

2 Losonsky GA, Kotloff KL, Walker RI. B cell responses in gastric antrum and duodenum following oral inactivated Helicobacter pylori whole cell (HWC) vaccine and LT(R192G) in H pylori seronegative individuals. *Vaccine* 2003; 21: 562-565 [PMID: 12531656 DOI: 10.1016/S0264-410X(02)00259-1]

3 范学工, 夏华向. 幽门螺杆菌感染–基础与临床. 湖南: 科学技术出版社, 1997: 1-11

4 吴利先, 杨致邦, 林姗姗, 刘淼. 幽门螺杆菌临床株粘附素HpaA基因的克隆表达及在诊断中的价值. 中国人兽共患病杂志 2004; 20: 275-278

5 Odenbreit S, Faller G, Haas R. Role of the alpAB proteins and lipopolysaccharide in adhesion of Helicobacter pylori to human gastric tissue. *Int J Med Microbiol* 2002; 292: 247-256 [PMID: 12398215 DOI: 10.1078/1438-4221-00204]

6 Azevedo M, Eriksson S, Mendes N, Serpa J, Figueiredo C, Resende LP, Ruvoën-Clouet N, Haas R, Borén T, Le Pendu J, David L. Infection by Helicobacter pylori expressing the BabA adhesin is influenced by the secretor phenotype. *J Pathol* 2008; 215: 308-316 [PMID: 18498114 DOI: 10.1002/path.2363]

7 Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Imamura S, Ohno T, Sawai N, Ishimaru A, Imanishi J, Graham DY. Helicobacter pylori infection in mice: Role of outer membrane proteins in colonization and inflammation. *Gastroenterology* 2002; 123: 1992-2004 [PMID: 12454856 DOI: 10.1053/gast.2002.37074]

8 韩飞, 杨致邦. 幽门螺杆菌hp1188基因的原核表达. 重庆医科大学学报 2010; 35: 822-825

9 de Jonge R, Durrani Z, Rijpkema SG, Kuipers EJ, van Vliet AH, Kusters JG. Role of the Helicobacter pylori outer-membrane proteins AlpA and AlpB in colonization of the guinea pig stomach. *J Med Microbiol* 2004; 53: 375-379 [PMID: 15096545 DOI: 10.1099/jmm.0.45551-0]

10 Lembo A, Caradonna L, Magrone T, Mastronardi ML, Caccavo D, Jirillo E, Amati L. Helicobacter pylori infection, immune response and vaccination. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2001; 1: 199-208 [PMID: 12477286 DOI: 10.2174/1568008013341190]

11 Gu Q, Song D, Zhu M. Oral vaccination of mice against Helicobacter pylori with recombinant Lactococcus lactis expressing urease subunit B. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2009; 56: 197-203 [PMID: 19453750 DOI: 10.111/j.1574-695X.2009.00566.x]

12 Scheppler L, Vogel M, Zuercher AW, Zuercher M, Germond JE, Miescher SM, Stadler BM. Recombinant Lactobacillus johnsonii as a mucosal vaccine delivery vehicle. *Vaccine* 2002; 20: 2913-2920 [PMID: 12126902 DOI: 10.1016/S0264-410X(02)00229-3]

13 Grangette C, Müller-Alouf H, Goudercourt D, Geoffroy MC, Turneer M, Mercenier A. Mucosal immune responses and protection against tetanus toxin after intranasal immunization with recombinant Lactobacillus plantarum. *Infect Immun* 2001; 69: 1547-1553 [PMID: 11179325 DOI: 10.1128/IAI.69.3.1547-1553.2001]

14 朱丽芳, 龙北国, 罗军, 姜容, 范宏英. 高效表达幽门螺杆菌黏附素Hp0410的嗜酸乳杆菌重组菌株的构建. 南方医科大学学报 2010; 30: 334-337

15 施纯礼. 3种方案根除幽门螺杆菌的药物经济学分析. 临床合理用药 2010; 3: 21-22

16 杨洋. 抗Hp免疫球蛋白治疗Hp感染患者临床观察. 白求恩军医学院学报 2004; 2: 153-154

17 邵浙新, 严杰. 临床菌株中幽门螺杆菌主要蛋白抗原的表达及感染者血清抗体水平的调查. 中华流行病学杂志 2004; 25: 820

18 赵玉霞, 杨国俊, 章涵, 段广才, 郝园林. 幽门螺杆菌UreB-Omp11融合蛋白的表达、纯化与免疫学活性检测. 郑州大学学报 2009; 44: 125-129

19 姜盼盼, 陈晨, 李招慧, 何计国. 有机磷农药共性结构人工抗原的合成与鉴定. 卫生研究 2009; 38: 649-652

20 陈洪, 刘晶星. 抗幽门螺杆菌黏膜疫苗的前景 2004; 27: 14-17

21 Russo G, Miraglia V, Branciforte F, Matarese SM, Zecca M, Bisogno G, Parodi E, Amendola G, Giordano P, Jankovic M, Corti A, Nardi M, Farruggia P, Battisti L, Baronci C, Palazzi G, Tucci F, Ceppi S, Nobili B, Ramenghi U, De Mattia D, Notarangelo

■同行评价
本文立题新颖，关于*H. pylori*免疫根除疗法，有一定临床指导意义.

L. Effect of eradication of Helicobacter pylori in children with chronic immune thrombocytopenia: a prospective, controlled, multicenter study. *Pediatr Blood Cancer* 2011; 56: 273-278 [PMID: 20830773 DOI: 10.1002/pbc.22770]
22 Stasi R, Provan D. Helicobacter pylori and Chronic ITP. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008: 206-211 [PMID: 19074084 DOI: 10.1182/asheducation-2008.1.26]
23 Veneri D, Franchini M, Gottardi M, D'Adda M, Ambrosetti A, Krampera M, Zanetti F, Pizzolo G. Efficacy of Helicobacter pylori eradication in raising platelet count in adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 2002; 87: 1177-1179 [PMID: 12414347]
24 Asaumi N, Masuda K, Yoshida C, Kiguchi T, Niiya M, Niiya K, Tanimoto M. [Helicobacter pylori eradication based upon a drug sensitivity test effectively increased platelet count in a patient with refractory idiopathic thrombocytopenic purpura]. *Rinsho Ketsueki* 2003; 44: 480-482 [PMID: 12931570]
25 刘蕾, 王凌云, 胡晓彦. 抗幽门螺杆菌结合经典疗法治疗ITP血小板计数变化观察. 内蒙古中医药 2013; 7: 69-70
26 Numata A, Akimoto T, Toshima M, Iwazu Y, Otani N, Miki T, Sugase T, Saito O, Hamano Y, Takemoto F, Ueda Y, Muto S, Kusano E. Membranous nephropathy in an HIV-positive patient complicated with hepatitis B virus infection. *Clin Exp Nephrol* 2011; 15: 769-773 [PMID: 21713374 DOI: 10.1007/s10157-011-0477-2]
27 Sugimoto T, Furukawa T, Maeda T, Somura M, Uzu T, Kashiwagi A. Marked reduction of proteinuria after eradication of gastric Helicobacter pylori infection in a patient with membranous nephropathy: coincidental or associated? *Intern Med* 2007; 46: 1483-1484 [PMID: 17827856 DOI: 10.2169/internalmedicine.46.0200]
28 王瑞石, 刘志红, 陈燕. 肾小球膜性病变的病因分析及流行病学特点. 肾脏病与透析肾移植杂志 2006; 15: 416-421
29 邵枫, 魏日胞, 白雪源, 王远大, 陈香美. 幽门螺杆菌感染与膜性肾病的相关性研究. 中国中西医结合肾病杂志 2013; 14: 413-415
30 Wakashin M, Wakashin Y, Iesato K, Ueda S, Mori Y, Tsuchida H, Shigematsu H, Okuda K. Association of gastric cancer and nephrotic syndrome. An immunologic study in three patients. *Gastroenterology* 1980; 78: 749-756 [PMID: 6986318]
31 Nunez S, Konstantinov KN, Servilla KS, Hartshorne MF, Williams WL, Gibel LJ, Tzamaloukas AH. Association between scleroderma, renal cell carcinoma and membranous nephropathy. *Clin Nephrol* 2009; 71: 63-68 [PMID: 19203552]
32 Uramatsu T, Furusu A, Nishino T, Obata Y, Kanamoto Y, Komuro S, Ito M, Taguchi T, Kohno S. Membranous nephropathy complicating nasopharyngeal carcinoma. *Intern Med* 2010; 49: 585-588 [PMID: 20228596 DOI: 10.2169/internalmedicine.49.2762]
33 Ito C, Akimoto T, Nakazawa E, Komori S, Sugase T, Chinda J, Takahashi H, Ioka T, Muto S, Kusano E. A case of cervical cancer-related membranous nephropathy treated with radiation therapy. *Intern Med* 2011; 50: 47-51 [PMID: 21212573 DOI: 10.2169/internalmedicine.50.4341]
34 Bacchetta J, Juillard L, Cochat P, Droz JP. Paraneoplastic glomerular diseases and malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009; 70: 39-58 [PMID: 18790651 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2008.08.003]
35 时昭红, 刘浩. 幽门螺杆菌感染与胃癌. 世界华人消化志 2011; 19: 3327-3331
36 Koike T, Ohara S, Sekine H, Iijima K, Abe Y, Kato K, Toyota T, Shimosegawa T. Helicobacter pylori infection prevents erosive reflux oesophagitis by decreasing gastric acid secretion. *Gut* 2001; 49: 330-334 [PMID: 11511552 DOI: 10.1136/gut.49.3.330]
37 Morishima N, Mizoguchi II, Hermann B, Thomas B. Two dimensional speckle tracples. *Heart* 2011; 96: 716-722
38 马健, 王涛, 马春红, 孟饮颖, 周长宏. 慢性胃炎病人IL-17、IL-6和TGF-β1的表达及意义. 齐鲁医学杂志 2013; 28: 139-144
39 Blanchard TG, Czinn SJ, Redline RW, Sigmund N, Harriman G, Nedrud JG. Antibody-independent protective mucosal immunity to gastric helicobacter infection in mice. *Cell Immunol* 1999; 191: 74-80 [PMID: 9918689 DOI: 10.1006/cimm.1998.1421]
40 Suerbaum S, Michetti P. Helicobacter pylori infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 1175-1186 [PMID: 12374879 DOI: 10.1056/NEJMra020542]
41 Blaser MJ, Berg DE. Helicobacter pylori genetic diversity and risk of human disease. *J Clin Invest* 2001; 107: 767-773 [PMID: 11285290 DOI: 10.1172/JCI12672]
42 Fischer W. Assembly and molecular mode of action of the Helicobacter pylori Cag type IV secretion apparatus. *FEBS J* 2011; 278: 1203-1212 [PMID: 21352490 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2011.08036.x]
43 Covacci A, Telford JL, Del Giudice G, Parsonnet J, Rappuoli R. Helicobacter pylori virulence and genetic geography. *Science* 1999; 284: 1328-1333 [PMID: 10334982 DOI: 10.1126/science.284.5418.1328]
44 Fischer W, Püls J, Buhrdorf R, Gebert B, Odenbreit S, Haas R. Systematic mutagenesis of the Helicobacter pylori cag pathogenicity island: essential genes for CagA translocation in host cells and induction of interleukin-8. *Mol Microbiol* 2001; 42: 1337-1348 [PMID: 11886563 DOI: 10.1046/j.1365-2958.2001.02714.x]
45 Selbach M, Moese S, Meyer TF, Backert S. Functional analysis of the Helicobacter pylori cag pathogenicity island reveals both VirD4-CagA-dependent and VirD4-CagA-independent mechanisms. *Infect Immun* 2002; 70: 665-671 [PMID: 11796597 DOI: 10.1128/IAI.70.2.665-671.2002]
46 宫雅楠, 肖迪, 张建中. 幽门螺杆菌CagA转运相关蛋白CagE、Cagδ及Cagβ的克隆表达及免疫反应性分析. 中国病原生物学杂志 2013; 8: 393-396
47 高文, 胡伏莲. 幽门螺旋杆菌感染与胃肠道外疾病. 中国医刊 2007; 42: 22-27
48 王琦. 论中医体质研究的3个关键问题(下). 中医杂志 2006; 47: 329
49 中华中医药学会. ZYYXH/T157-2009中医体质分类与判断. 北京: 中国中医药出版社, 2009
50 徐军平, 李维旭, 傅缨, 资晓飞. 幽门螺杆菌感染与中医体质的相关性研究. 内蒙古中医药 2013; 5: 130-131
51 王琦. 中医体质学. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 36-41
52 陆为民, 潘琳, 吴静. 体质学说对中医药治疗幽门螺旋杆菌感染的启示. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3432-3435

编辑 黄新珍 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2679-2684
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

循环肿瘤细胞分子鉴定与个体化肿瘤诊疗

李 军, 殷正丰

李军, 殷正丰, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院分子肿瘤研究室 上海市 200438
李军, 主要从事循环肿瘤细胞的基础和应用研究.
国家传染病重大专项基金资助项目, No. 2012ZX10002012-010
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81172207, 81272669
作者贡献分布: 本文写作由李军完成; 殷正丰负责选题、修改及定稿.
通讯作者: 殷正丰, 教授, 200438, 上海市长海路225号, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院分子肿瘤研究室. yinzfk@aliyun.com
电话: 021-81875354
收稿日期: 2013-04-27 修回日期: 2013-07-15
接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-18

Molecular characterization of circulating tumor cells and individualized cancer diagnosis and therapy

Jun Li, Zheng-Feng Yin

Jun Li, Zheng-Feng Yin, Department of Molecular Oncology, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China
Supported by: the China's National Key Projects for Infectious Disease, No. 2012ZX10002012-010; and the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81172207 and 81272669
Correspondence to: Zheng-Feng Yin, Professor, Department of Molecular Oncology, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, 225 Changhai Road, Shanghai 200438, China. yinzfk@aliyun.com
Received: 2013-04-27 Revised: 2013-07-15
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-18

Abstract
The heterogeneity of cancer cells involved in oncogenesis and metastasis has always been the key factor that impedes tumor diagnosis and treatment (especially traditional chemotherapies). In recent years, molecular characterization of tumors and accordingly implementation of individualized treatment targeting specific molecular markers have become a hotspot for cancer research. As a link between the primary tumor and metastases, circulating tumor cells (CTCs) provide a window into tumor biology and the metastatic cascade. With their real-time, non-invasive and repeatable access, CTCs are excellent resources of tumor specimens. Molecular characterization of CTCs is of great significance for tumor molecular analysis and individualized treatment. Here we review the recent progress in molecular characterization of CTCs and individualized cancer diagnosis and therapy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Tumors; Circulating tumor cells; Molecular characterization; Individualized therapy

Li J, Yin ZF. Molecular characterization of circulating tumor cells and individualized cancer diagnosis and therapy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2679-2684 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2679.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2679

摘要
肿瘤细胞表现的高度异质性严重困扰着肿瘤临床诊断和治疗. 因此, 肿瘤分子分型及其指导个体化治疗一直是肿瘤研究领域的热点. 循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)作为具有肿瘤代表性的"液体活检"样本, 允许多次、实时、非侵入性获取, 是指导个体化肿瘤诊疗的绝佳标本. 目前认为, 基于分子鉴定检测少数更具存活力和侵袭性的CTCs比单独CTCs计数更有价值. 而在肿瘤转移过程中CTCs表现的多种生物学特性及其分子机制都可被用于分型, 并且可能成为个体化肿瘤诊疗的靶点. 本文综述近年来关于CTCs分子鉴定的研究进展, 以及CTCs分子分型指导个体化诊疗的研究现状, 提出相关领域今后的研究方向.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肿瘤; 循环肿瘤细胞; 分子鉴定; 个体化治疗

核心提示: 尽管关于循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)的研究报道越来越多, 但目前更多的是注重于CTCs富集、分离方法学的改进或升级以及CTCs计数临床意义的评价, 至于CTCs分子表型鉴定及其临床意义的研究尚处于起步阶段. CTCs具有特有的生物学特性和行为,

■背景资料
肿瘤异质性是困扰肿瘤临床诊断和治疗的一大问题, 分子分型是个体化治疗的基础. 脱离原发灶或转移灶进入血液的循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)是具有肿瘤代表性的绝佳标本, 以其代替肿瘤组织进行分子表型分析, 在临床上指导个体化诊疗已成为肿瘤学领域的一个研究热点.

■同行评议者
倪润洲, 教授, 南通大学附属医院消化内科; 李华, 副教授, 中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

■研发前沿
随着生物技术的不断发展和进步，CTCs研究正在从单纯的分离计数逐渐发展为在分离计数基础上进一步进行分子鉴定，尤其是单细胞测序技术的发展，允许对单个CTCs进行分子鉴定和比较分析，是未来的一个研究趋势.

有关分析对于进一步了解肿瘤异质性，选择个体化治疗方案，并在治疗过程中实时监测疗效具有广泛的应用前景.

李军，殷正丰. 循环肿瘤细胞分子鉴定与个体化肿瘤诊疗. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2679-2684 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2679.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2679

0 引言

恶性肿瘤通常经历一个由原发灶形成，肿瘤细胞不断侵袭、迁移，最终形成转移灶的过程. 在此过程中肿瘤细胞表现的高度异质性为临床诊断和治疗带来很大困扰，严重挑战传统的诊疗方法[1]. 因此，对肿瘤进行分子分型并指导个体化治疗一直是肿瘤研究领域的热点，也是未来的发展方向[2]. 然而，真正实现肿瘤分子分型并非易事，一个最大局限是对肿瘤组织的获取，对术后难以找到可测量病灶的肿瘤更是如此. 而且在漫长发展过程中肿瘤细胞不断发生基因型变化，需要多次获取样本对肿瘤细胞表型进行实时监测[3,4]. 值得庆幸的是，近来的研究表明，脱离原发灶或转移灶后进入血液的循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)作为原发灶和转移灶之间的链接，以及肿瘤生物学和转移的窗口，不仅是研究肿瘤转移复发过程和机制的一个重要切入点，而且可作为具有肿瘤(包括转移灶)代表性的“液体活检”(liquid biopsy)样本，允许多次、实时、非侵入性获取，是指导个体化肿瘤诊疗的绝佳标本[5]. 然而，现有的研究表明，固然CTCs检测具有评估疾病进程和预测肿瘤转移复发、生存预后的潜能，但是CTCs也是具有高度异质性的细胞群体，基于分子鉴定检测少数更具存活力和侵袭性的CTCs比单独CTCs计数可能更有价值[6]. 已知CTCs在历经侵袭、转移各个阶段的过程中，需要获得上皮间质转化、干细胞特性、逃逸免疫监视、抵抗失巢凋亡、耐受治疗等生物学特性，才能闯过层层难关生存下来并增殖，最终形成远处转移灶[7]. 而上述每个生物学特性的分子机制都可被用来进行肿瘤分子分型，并且可能成为个体化肿瘤诊疗的靶点. 本文综述近年来关于CTCs分子鉴定的研究进展以及CTCs分子分型促进个体化诊疗转化研究的现状，提出相关领域今后的研究方向.

1 *CTCs*全基因表达谱检测

肿瘤全基因表达谱检测早已得到较多应用，近来有人尝试检测CTCs全基因表达谱. Smirnov等[8]从3例转移性肿瘤患者外周血中富集CTCs，比较富集前、后血样中基因表达谱变化，筛选出35个差异表达基因，然后在30例转移性结直肠癌患者CTCs中进行验证，发现其中*KRT19*、*KRT20*、*AGR2(hAG-2)*、*CEACAM5*、*S100A14*、*S100A16*和*FABP1*等基因高表达. 如果以*AGR2*、*KRT19*、*S100A13*、*ASGR2*和*TST*联合表达区分转移病例和对照病例，其准确率超过80%. Strati等[9]应用qRT-PCR检测66例早期乳腺癌患者CTCs基因表达谱，发现*CK19*、*MAGE-A3*、*HER-2*、*TWIST1*、*hTERT*和乳腺珠蛋白转录本尽管表达率不同，但均高于26例转移性乳腺癌，提示这些基因与乳腺癌侵袭转移密切相关. Magbanua等[10]检测9例转移性去势抵抗性前列腺癌(castration resistant prostate cancer, CRPC)患者CTCs基因表达谱，发现存在广泛的基因拷贝数异常(>50%). 值得注意的是，其中7例(78%)X染色体上雄激素受体所在基因座拷贝数高水平扩增，不仅提示这与CRPC疾病进展高度相关，而且证明CTCs可用来检测CRPC患者雄激素受体扩增情况.

近年来的一个重要进展是单细胞基因测序技术和单细胞全基因表达谱检测在CTCs方面的应用[11,12]. Stoecklein等[13]应用比较基因组杂交技术对食管癌患者骨髓中获取的单个播散肿瘤细胞进行全基因组测序，发现不同细胞之间的基因畸变存在偏差，但在17q12-21染色体却均存在*HER-2*基因的获得，并与生存预后相关. Powell等[14]应用qRT-PCR技术分析乳腺癌患者单个CTCs基因转录谱，发现受检的87个肿瘤相关基因在不同CTCs中表达并不相同，以其中31个基因高表达为标准，可将所有CTCs分为两个亚群. 有趣的是，培养的乳腺癌细胞系基因表达差异则与CTCs不一致. 因此认为，以往通常利用肿瘤细胞系进行新药筛选及药敏研究的策略具有很大的局限性. 毫无疑问，CTCs单细胞基因测序将描绘更为完整的肿瘤全基因表达谱和差异表达谱，更好地反映肿瘤细胞异质性，为肿瘤分子分型及相应的个体化治疗提供更准确的依据.

2 CTCs转移潜能标志物检测

目前认为，肿瘤转移效率非常低，只有一小部分具有高转移潜能的CTCs可能存活下来并最终形成转移灶. 而反映肿瘤细胞转移潜能的分子标志物包括一系列癌基因、抑癌基因、肿瘤生存

基因以及microRNA[15]. Shen等[16]应用qRT-PCR检测结直肠癌患者CTCs中生存素mRNA表达, 发现阳性率(57.7%)显著高于良性疾病和健康对照组, 而且生存素阳性与Dukes分期和淋巴转移状态明显相关. Yie等[17]应用RT-PCR ELISA检测143例NSCLC患者CTCs生存素mRNA, 发现其表达与肿瘤侵犯程度、淋巴结转移状态以及疾病分期高度相关, 阳性患者转移和复发概率更高. 在乳腺癌、胃癌、结直肠癌中也有类似的发现, 且与血浆CEA相比, 生存素mRNA阳性CTCs能更准确地预测复发. Yoon等[18]应用巢式qRT-PCR检测79例NSCLC患者CTCs甲状腺转录因子-1(thyroid transcription factor 1, TTF-1)mRNA表达, 发现术后阳性患者的无进展生存时间(progression-free survival, PFS)较短, 提示CTCs表达TTF-1 mRNA与肿瘤转移潜能相关, 可以用于预测病情进展. 此外, 用于检测CTCs转移潜能的标志物还有AGR2(anterior gradient 2)[19]、M30(凋亡相关KRT18片段)[20]、端粒酶[21]等.

3 CTCs 上皮–间质转化标志物检测

已知发生上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的肿瘤细胞迁移和侵袭能力增强[22]. Lecharpentier等[23]应用免疫荧光染色检测6例转移性NSCLC患者CTCs间质标志物vimentin及上皮标志物Keratin表达情况, 结果在来自于6例的几乎所有CTCs中都可以观察到共同强表达这2个指标, 没有发现只表达keratin的CTCs, 但在3例患者中检测到很少几个只表达vimentin的CTCs. 此研究首次证实了具有上皮/间质混合性表型CTCs的存在. 而NSCLC原发性肿瘤的表型则是keratin阳性、vimentin阴性. Kasimir-Bauer等[24]应用AdnaTest方法检测乳腺癌患者CTCs中3种EMT标志物(TWIST1、Akt2、PI3Kα), 结果29%患者至少一种阳性. Powell等[14]分析乳腺癌患者CTCs单细胞转录谱后发现, 尽管CTCs之间存在基因表达差异, 但是普遍高表达EMT相关分子TGF-β1、vimentin和CXCR4. 最近的研究将CTCs的EMT表型与干细胞特性联系起来, 认为EMT可以赋予CTCs干细胞特性[25,26]. Armstrong等[27]证实肿瘤患者CTCs高频出现共表达上皮标志物(EpCAM、cytokeratins、E-cadherin)、间质标志物(vimentin、N-cadherin、O-cadherin)和干细胞标志物(CD133)的现象. 在另一项研究中, 研究者检测了乳腺癌CTCs中EMT相关转录因子(TWIST1、SNAIL1、SLUG、ZEB1、FOXC2)的表达情况, 并分析了接受或未接受新辅助化疗对CTCs表达这些转录因子的可能影响, 发现新辅助化疗并不能清除这些发生了EMT的CTCs[28]. 推测EMT很可能通过赋予CTCs干细胞特性使CTCs耐受化疗. 因此, 检测CTCs亚型对于指导分子靶向药物的研发及临床个体化治疗具有重要意义.

然而, 目前对于检测CTCs中EMT分子标志物存在一些争议. 一方面, 迄今对EMT现象仍缺乏共识, 尚没有被一致认可的EMT分子标志物, 以致于不同研究组选择的EMT标志物各不相同; 另一方面, 目前CTCs分离、检测大多基于上皮特异性分子(如EpCAM、CK等), 由于CTCs可能因EMT丢失或低表达这些分子, 导致具有EMT表型的CTCs无法被富集或漏检[29]. 因此, CTCs EMT分子表型检测的临床可行性依赖于更高敏感度和更高特异性的CTCs的富集方法.

4 CTCs干细胞标志物检测

有学者认为, CTCs就是来源于肿瘤干细胞的细胞亚群[30]. 比如有研究显示, 乳腺癌CTCs大多Ki67阴性(不增殖), 支持干细胞的“休眠”学说[31]. Balic等[32]最先研究了CTCs干细胞亚型, 发现转移性乳腺癌患者CTCs中72%具有$CD44^{+}/CD24^{-/low}$干细胞样表型, 而原发肿瘤灶中低于10%. 随后有多篇文献报道了类似的研究结果[33-35]. 乙醛脱氢酶1(acetaldehyde dehydrogenase 1, ALDH1)被认为是一个新的乳腺癌干细胞样标志物[36]. Aktas等[37]发现, 在转移性乳腺癌患者CTCs中ALDH1呈高表达, 且治疗无效组的表达阳性率(44%)显著高于治疗有效组(5%). Raimondi等[38]报道, 乳腺癌CTCs中ALDH1表达与间质指标vimentin和纤维连接蛋白表达相关, 并与肿瘤分期相关. 而Theodoropoulos等[33]则认为, 与只是ALDH1高表达的CTCs相比, ALDH1高表达且具有$CD44^{+}/CD24^{-/low}$表型的CTCs恶性程度更高. 然而, 目前有关CTCs干细胞标志物鉴定的研究报道较少, 一个主要的限速瓶颈可能是肿瘤干细胞标志物尚没有得到统一认定[39]. 因此, 肿瘤干细胞研究的进步将会推动CTCs干细胞标志物鉴定及其临床意义的研究.

5 CTCs分子靶向药物靶点检测

近来, CTCs中药物靶点鉴定替代原发组织标本指导靶向药物治疗和监测疗效、耐药的潜能受到重视. 已有多篇文献报道大部分乳腺癌患者(89%)CTCs表达HER-2与原发肿瘤组织一

■相关报道
目前国内外关于CTCs分离检测技术方法及其临床应用的综述较为多见. 国外关于CTCs分子鉴定及其临床意义的研究报道也越来越多.

■**创新盘点**
目前国内外鲜见关于CTCs分子鉴定及其临床意义的综述. 本文较为全面地介绍了CTCs分子分型指导肿瘤个体化诊疗的研究现状, 并展望了本领域今后的研究方向.

致[40-43], 这意味着依靠CTCs指导乳腺癌靶向药物Herceptin治疗成为可能, 从而可以摆脱目前单纯依靠肿瘤组织诊断的窘境. 有趣的是, 小部分患者(11%)原发肿瘤组织HER-2阴性, 却可以从相同患者CTCs中检测到HER-2阳性, 而在使用Herceptin治疗后, 其中部分患者有效. 说明检测CTCs表达HER-2甚至优于检测原发肿瘤组织. 另有报道, 检测CTCs表达雌激素受体和孕激素受体可以指导乳腺癌内分泌治疗[43-45]. 鉴于目前国际上对乳腺癌分子分型已形成共识[46], 可以预期, CTCs相关分子标志物检测在乳腺癌分子分型及个体化治疗方案制定方面将会大显身手.

其他类型肿瘤也有检测CTCs药物靶点的类似研究. Maheswaran等[47]应用CTC-chip检测接受吉非替尼治疗的NSCLC患者CTCs, 发现吉非替尼靶点EGFR突变与肿瘤组织具有高度一致性. Miyamoto等[48]检测前列腺癌患者CTCs中雄激素受体及其下游信号通路相关分子的表达情况, 可以指导前列腺癌内分泌治疗, 并通过治疗过程中雄激素受体变化情况评估疗效. 鉴于CRPC可以选择抗IGFR1治疗, 有报道应用CTCs检测IGFR1表达情况指导制定抗IGFR1治疗方案[49].

6 结论

尽管关于CTCs的研究报道越来越多, 但目前更多的是注重于CTCs富集、分离方法学的改进或升级, 以及CTCs计数临床意义的评价, 至于CTCs分子表型鉴定及其临床意义的研究尚处于起步阶段. CTCs具有特有的生物学特性和行为, 有关分析对于进一步了解肿瘤异质性, 选择个体化治疗方案, 并在治疗过程中实时监测疗效具有广泛的应用前景[50]. 然而, CTCs分子鉴定需要高敏感和高特异的CTCs分离方法以及针对单细胞或稀少细胞的分子分析技术. 现行的分离方法各有利弊, 尤其是分离发生EMT或干细胞样CTCs受到置疑和挑战[29]. 而现有的常用CTCs分子鉴定方法也存在一定的局限, 比如, 针对蛋白标志物的免疫学检测方法敏感性或特异性不够; 针对核酸标志物的PCR等检测技术需要破坏CTCs结构, 无法观察细胞形态学以及计数靶细胞, 更不能对靶细胞进行后续的细胞培养与药敏实验等. 另一个棘手的问题是CTCs具有高度异质性. 解决的策略是对单个CTCs进行分子鉴定和比较分析. 目前已有一些这样的尝试[51,52]. 相信这会成为未来的一个研究趋势.

总之, 实现CTCs分子鉴定在肿瘤个体化诊疗方面的临床转化在很大程度上取决于CTCs分离和鉴定技术的完善和发展. 尽管尚有很长的路要走, 相信通过全世界的共同努力, 在不久的将来CTCs分型检测作为一项新的实验技术一定会得到广泛的临床应用, 为临床医师提供有用信息, 指导正确诊疗方案的制订, 使广大肿瘤患者受益.

7 参考文献

1 Saunders NA, Simpson F, Thompson EW, Hill MM, Endo-Munoz L, Leggatt G, Minchin RF, Guminski A. Role of intratumoural heterogeneity in cancer drug resistance: molecular and clinical perspectives. *EMBO Mol Med* 2012; 4: 675-684 [PMID: 22733553 DOI: 10.1002/emmm.201101131]

2 Almendro V, Marusyk A, Polyak K. Cellular heterogeneity and molecular evolution in cancer. *Annu Rev Pathol* 2013; 8: 277-302 [PMID: 23092187 DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-163923]

3 Kwak EL, Sordella R, Bell DW, Godin-Heymann N, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Driscoll DR, Fidias P, Lynch TJ, Rabindran SK, McGinnis JP, Wissner A, Sharma SV, Isselbacher KJ, Settleman J, Haber DA. Irreversible inhibitors of the EGF receptor may circumvent acquired resistance to gefitinib. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 7665-7670 [PMID: 15897464 DOI: 10.1073/pnas.0502860102]

4 Pao W, Miller VA, Politi KA, Riely GJ, Somwar R, Zakowski MF, Kris MG, Varmus H. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLoS Med* 2005; 2: e73 [PMID: 15737014 DOI: 10.1371/journal.pmed.0020073]

5 Lin H, Balic M, Zheng S, Datar R, Cote RJ. Disseminated and circulating tumor cells: Role in effective cancer management. *Crit Rev Oncol Hematol* 2011; 77: 1-11 [PMID: 20570170 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2010.04.008]

6 Nadal R, Lorente JA, Rosell R, Serrano MJ. Relevance of molecular characterization of circulating tumor cells in breast cancer in the era of targeted therapies. *Expert Rev Mol Diagn* 2013; 13: 295-307 [PMID: 23570407 DOI: 10.1586/erm.13.7]

7 Paterlini-Brechot P, Benali NL. Circulating tumor cells (CTC) detection: clinical impact and future directions. *Cancer Lett* 2007; 253: 180-204 [PMID: 17314005 DOI: 10.1016/j.canlet.2006.12.014]

8 Smirnov DA, Zweitzig DR, Foulk BW, Miller MC, Doyle GV, Pienta KJ, Meropol NJ, Weiner LM, Cohen SJ, Moreno JG, Connelly MC, Terstappen LW, O'Hara SM. Global gene expression profiling of circulating tumor cells. *Cancer Res* 2005; 65: 4993-4997 [PMID: 15958538 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-4330]

9 Strati A, Markou A, Parisi C, Politaki E, Mavroudis D, Georgoulias V, Lianidou E. Gene expression profile of circulating tumor cells in breast cancer by RT-qPCR. *BMC Cancer* 2011; 11: 422 [PMID: 21967632 DOI: 10.1186/1471-2407-11-422]

10 Magbanua MJ, Sosa EV, Scott JH, Simko J, Collins C, Pinkel D, Ryan CJ, Park JW. Isolation and genomic analysis of circulating tumor cells from castration resistant metastatic prostate cancer.

BMC Cancer 2012; 12: 78 [PMID: 22373240 DOI: 10.1186/1471-2407-12-78]
11 Bendall SC, Nolan GP. From single cells to deep phenotypes in cancer. *Nat Biotechnol* 2012; 30: 639-647 [PMID: 22781693 DOI: 10.1038/nbt.2283]
12 Heitzer E, Auer M, Gasch C, Pichler M, Ulz P, Hoffmann EM, Lax S, Waldispuehl-Geigl J, Mauermann O, Lackner C, Höfler G, Eisner F, Sill H, Samonigg H, Pantel K, Riethdorf S, Bauernhofer T, Geigl JB, Speicher MR. Complex tumor genomes inferred from single circulating tumor cells by array-CGH and next-generation sequencing. *Cancer Res* 2013; 73: 2965-2975 [PMID: 23471846 DOI: 10.1158/0008-5472]
13 Stoecklein NH, Hosch SB, Bezler M, Stern F, Hartmann CH, Vay C, Siegmund A, Scheunemann P, Schurr P, Knoefel WT, Verde PE, Reichelt U, Erbersdobler A, Grau R, Ullrich A, Izbicki JR, Klein CA. Direct genetic analysis of single disseminated cancer cells for prediction of outcome and therapy selection in esophageal cancer. *Cancer Cell* 2008; 13: 441-453 [PMID: 18455127 DOI: 10.1016/j.ccr.2008.04.005]
14 Powell AA, Talasaz AH, Zhang H, Coram MA, Reddy A, Deng G, Telli ML, Advani RH, Carlson RW, Mollick JA, Sheth S, Kurian AW, Ford JM, Stockdale FE, Quake SR, Pease RF, Mindrinos MN, Bhanot G, Dairkee SH, Davis RW, Jeffrey SS. Single cell profiling of circulating tumor cells: transcriptional heterogeneity and diversity from breast cancer cell lines. *PLoS One* 2012; 7: e33788 [PMID: 22586443 DOI: 10.1371/journal.pone.0033788]
15 Nguyen DX, Bos PD, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 274-284 [PMID: 19308067 DOI: 10.1038/nrc2622]
16 Shen C, Hu L, Xia L, Li Y. Quantitative real-time RT-PCR detection for survivin, CK20 and CEA in peripheral blood of colorectal cancer patients. *Jpn J Clin Oncol* 2008; 38: 770-776 [PMID: 18845519 DOI: 10.1093/jjco/hyn105]
17 Yie SM, Lou B, Ye SR, He X, Cao M, Xie K, Ye NY, Lin R, Wu SM, Xiao HB, Gao E. Clinical significance of detecting survivin-expressing circulating cancer cells in patients with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2009; 63: 284-290 [PMID: 18606477 DOI: 10.1016/j.lungcan.2008.05.024]
18 Yoon SO, Kim YT, Jung KC, Jeon YK, Kim BH, Kim CW. TTF-1 mRNA-positive circulating tumor cells in the peripheral blood predict poor prognosis in surgically resected non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer* 2011; 71: 209-216 [PMID: 20471712 DOI: 10.1016/j.lungcan.2010.04.017]
19 Kani K, Malihi PD, Jiang Y, Wang H, Wang Y, Ruderman DL, Agus DB, Mallick P, Gross ME. Anterior gradient 2 (AGR2): blood-based biomarker elevated in metastatic prostate cancer associated with the neuroendocrine phenotype. *Prostate* 2013; 73: 306-315 [PMID: 22911164 DOI: 10.1002/pros.22569]
20 Rossi E, Basso U, Celadin R, Zilio F, Pucciarelli S, Aieta M, Barile C, Sava T, Bonciarelli G, Tumolo S, Ghiotto C, Magro C, Jirillo A, Indraccolo S, Amadori A, Zamarchi R. M30 neoepitope expression in epithelial cancer: quantification of apoptosis in circulating tumor cells by CellSearch analysis. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 5233-5243 [PMID: 20978147 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1449]
21 Fizazi K, Morat L, Chauveinc L, Prapotnich D, De Crevoisier R, Escudier B, Cathelineau X, Rozet F, Vallancien G, Sabatier L, Soria JC. High detection rate of circulating tumor cells in blood of patients with prostate cancer using telomerase activity. *Ann Oncol* 2007; 18: 518-521 [PMID: 17322541 DOI: 10.1093/annonc/mdl419]
22 Savagner P. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) phenomenon. *Ann Oncol* 2010; 21 Suppl 7: vii89-vii92 [PMID: 20943648 DOI: 10.1093/annonc/mdq292]
23 Lecharpentier A, Vielh P, Perez-Moreno P, Planchard D, Soria JC, Farace F. Detection of circulating tumour cells with a hybrid (epithelial/mesenchymal) phenotype in patients with metastatic non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 2011; 105: 1338-1341 [PMID: 21970878]
24 Kasimir-Bauer S, Hoffmann O, Wallwiener D, Kimmig R, Fehm T. Expression of stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers in primary breast cancer patients with circulating tumor cells. *Breast Cancer Res* 2012; 14: R15 [PMID: 22264265 DOI: 10.1186/bcr3099]
25 Barrière G, Riouallon A, Renaudie J, Tartary M, Rigaud M. Mesenchymal and stemness circulating tumor cells in early breast cancer diagnosis. *BMC Cancer* 2012; 12: 114 [PMID: 22443102 DOI: 10.1186/1471-2407-12-114]
26 Scheel C, Weinberg RA. Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition: concepts and molecular links. *Semin Cancer Biol* 2012; 22: 396-403 [PMID: 22554795 DOI: 10.1016/j.semcancer.2012.04.001]
27 Armstrong AJ, Marengo MS, Oltean S, Kemeny G, Bitting RL, Turnbull JD, Herold CI, Marcom PK, George DJ, Garcia-Blanco MA. Circulating tumor cells from patients with advanced prostate and breast cancer display both epithelial and mesenchymal markers. *Mol Cancer Res* 2011; 9: 997-1007 [PMID: 21665936 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0490]
28 Mego M, Mani SA, Lee BN, Li C, Evans KW, Cohen EN, Gao H, Jackson SA, Giordano A, Hortobagyi GN, Cristofanilli M, Lucci A, Reuben JM. Expression of epithelial-mesenchymal transition-inducing transcription factors in primary breast cancer: The effect of neoadjuvant therapy. *Int J Cancer* 2012; 130: 808-816 [PMID: 21387303 DOI: 10.1002/ijc.26037]
29 Zhang Y, Li J, Cao L, Xu W, Yin Z. Circulating tumor cells in hepatocellular carcinoma: detection techniques, clinical implications, and future perspectives. *Semin Oncol* 2012; 39: 449-460 [PMID: 22846862 DOI: 10.1053/j.seminoncol.2012.05.012]
30 Chaffer CL, Weinberg RA. A perspective on cancer cell metastasis. *Science* 2011; 331: 1559-1564 [PMID: 21436443 DOI: 10.1126/science.1203543]
31 Pantel K, Alix-Panabières C, Riethdorf S. Cancer micrometastases. *Nat Rev Clin Oncol* 2009; 6: 339-351 [PMID: 19399023 DOI: 10.1038/nrclinonc.2009.44]
32 Balic M, Lin H, Young L, Hawes D, Giuliano A, McNamara G, Datar RH, Cote RJ. Most early disseminated cancer cells detected in bone marrow of breast cancer patients have a putative breast cancer stem cell phenotype. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 5615-5621 [PMID: 17020963 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0169]
33 Theodoropoulos PA, Polioudaki H, Agelaki S, Kal-

■**应用要点**
目前认为, 基于分子鉴定检测少数更具存活力和侵袭性的CTCs比单独CTCs计数更有价值. 而在肿瘤转移过程中CTCs表现的多种生物学特性及其分子机制都可被用于分型, 并且可能成为个体化肿瘤诊疗的靶点.

■同行评价
本文较为全面地综述了近年来循环肿瘤细胞CTCs分子鉴定的研究进展, 介绍了CTCs分子分型促进个体化诊疗转化的研究现状和研究方向, 具有较高的学术参考价值.

lergi G, Saridaki Z, Mavroudis D, Georgoulias V. Circulating tumor cells with a putative stem cell phenotype in peripheral blood of patients with breast cancer. *Cancer Lett* 2010; 288: 99-106 [PMID: 19619935 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.06.027]

34 Wang J, Cao MG, You CZ, Wang CL, Liu SL, Kai C, Dou J. A preliminary investigation of the relationship between circulating tumor cells and cancer stem cells in patients with breast cancer. *Cell Mol Biol* (Noisy-le-grand) 2012; 58 Suppl: OL1641-OL1645 [PMID: 22340707]

35 Wang N, Shi L, Li H, Hu Y, Du W, Liu W, Zheng J, Huang S, Qu X. Detection of circulating tumor cells and tumor stem cells in patients with breast cancer by using flow cytometry: a valuable tool for diagnosis and prognosis evaluation. *Tumour Biol* 2012; 33: 561-569 [PMID: 22241087 DOI: 10.1007/s13277-011-0303-1]

36 Badve S, Nakshatri H. Breast-cancer stem cells-beyond semantics. *Lancet Oncol* 2012; 13: e43-e48 [PMID: 22225725 DOI: 10.1016/S1470-2045(11)70191-7]

37 Aktas B, Tewes M, Fehm T, Hauch S, Kimmig R, Kasimir-Bauer S. Stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers are frequently overexpressed in circulating tumor cells of metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 2009; 11: R46 [PMID: 19589136 DOI: 10.1186/bcr2333]

38 Raimondi C, Gradilone A, Naso G, Vincenzi B, Petracca A, Nicolazzo C, Palazzo A, Saltarelli R, Spremberg F, Cortesi E, Gazzaniga P. Epithelial-mesenchymal transition and stemness features in circulating tumor cells from breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 130: 449-455 [PMID: 21298334 DOI: 10.1007/s10549-011-1373-x]

39 Nakshatri H, Srour EF, Badve S. Breast cancer stem cells and intrinsic subtypes: controversies rage on. *Curr Stem Cell Res Ther* 2009; 4: 50-60 [PMID: 19149630 DOI: 10.2174/157488809787169110]

40 Riethdorf S, Müller V, Zhang L, Rau T, Loibl S, Komor M, Roller M, Huober J, Fehm T, Schrader I, Hilfrich J, Holms F, Tesch H, Eidtmann H, Untch M, von Minckwitz G, Pantel K. Detection and HER2 expression of circulating tumor cells: prospective monitoring in breast cancer patients treated in the neoadjuvant GeparQuattro trial. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 2634-2645 [PMID: 20406831 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2042]

41 Punnoose EA, Atwal SK, Spoerke JM, Savage H, Pandita A, Yeh RF, Pirzkall A, Fine BM, Amler LC, Chen DS, Lackner MR. Molecular biomarker analyses using circulating tumor cells. *PLoS One* 2010; 5: e12517 [PMID: 20838621 DOI: 10.1371/journal.pone.0012517]

42 Ignatiadis M, Rothé F, Chaboteaux C, Durbecq V, Rouas G, Criscitiello C, Metallo J, Kheddoumi N, Singhal SK, Michiels S, Veys I, Rossari J, Larsimont D, Carly B, Pestrin M, Bessi S, Buxant F, Liebens F, Piccart M, Sotiriou C. HER2-positive circulating tumor cells in breast cancer. *PLoS One* 2011; 6: e15624 [PMID: 21264346 DOI: 10.1371/journal.pone.0015624]

43 Lianidou ES, Markou A, Strati A. Molecular characterization of circulating tumor cells in breast cancer: challenges and promises for individualized cancer treatment. *Cancer Metastasis Rev* 2012; 31: 663-671 [PMID: 22692478 DOI: 10.1007/s10555-012-9366-8]

44 Aktas B, Müller V, Tewes M, Zeitz J, Kasimir-Bauer S, Loehberg CR, Rack B, Schneeweiss A, Fehm T. Comparison of estrogen and progesterone receptor status of circulating tumor cells and the primary tumor in metastatic breast cancer patients. *Gynecol Oncol* 2011; 122: 356-360 [PMID: 21605893 DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.04.039]

45 Banys M, Krawczyk N, Becker S, Jakubowska J, Staebler A, Wallwiener D, Fehm T, Rothmund R. The influence of removal of primary tumor on incidence and phenotype of circulating tumor cells in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 132: 121-129 [PMID: 21562707 DOI: 10.1007/s10549-011-1569-0]

46 Munzone E, Botteri E, Sandri MT, Esposito A, Adamoli L, Zorzino L, Sciandivasci A, Cassatella MC, Rotmensz N, Aurilio G, Curigliano G, Goldhirsch A, Nolè F. Prognostic value of circulating tumor cells according to immunohistochemically defined molecular subtypes in advanced breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2012; 12: 340-346 [PMID: 23040002 DOI: 10.1016/j.clbc.2012.07.001]

47 Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, Ulkus L, Brannigan B, Collura CV, Inserra E, Diederichs S, Iafrate AJ, Bell DW, Digumarthy S, Muzikansky A, Irimia D, Settleman J, Tompkins RG, Lynch TJ, Toner M, Haber DA. Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells. *N Engl J Med* 2008; 359: 366-377 [PMID: 18596266 DOI: 10.1056/NEJMoa0800668]

48 Miyamoto DT, Lee RJ, Stott SL, Ting DT, Wittner BS, Ulman M, Smas ME, Lord JB, Brannigan BW, Trautwein J, Bander NH, Wu CL, Sequist LV, Smith MR, Ramaswamy S, Toner M, Maheswaran S, Haber DA. Androgen receptor signaling in circulating tumor cells as a marker of hormonally responsive prostate cancer. *Cancer Discov* 2012; 2: 995-1003 [PMID: 23093251 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0222]

49 de Bono JS, Attard G, Adjei A, Pollak MN, Fong PC, Haluska P, Roberts L, Melvin C, Repollet M, Chianese D, Connely M, Terstappen LW, Gualberto A. Potential applications for circulating tumor cells expressing the insulin-like growth factor-I receptor. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 3611-3616 [PMID: 17575225 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0268]

50 Kang Y, Pantel K. Tumor cell dissemination: emerging biological insights from animal models and cancer patients. *Cancer Cell* 2013; 23: 573-581 [PMID: 23680145 DOI: 10.1016/j.ccr.2013.04.017]

51 Navin N, Hicks J. Future medical applications of single-cell sequencing in cancer. *Genome Med* 2011; 3: 31 [PMID: 21631906 DOI: 10.1186/gm247]

52 Cann GM, Gulzar ZG, Cooper S, Li R, Luo S, Tat M, Stuart S, Schroth G, Srinivas S, Ronaghi M, Brooks JD, Talasaz AH. mRNA-Seq of single prostate cancer circulating tumor cells reveals recapitulation of gene expression and pathways found in prostate cancer. *PLoS One* 2012; 7: e49144 [PMID: 23145101 DOI: 10.1371/journal.pone.0049144]

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2685-2689
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

TLR9在脂多糖诱导的急性胰腺炎体外细胞模型中的作用

张露艺, 唐国都, 唐曦平, 梁志海, 詹 媛, 李维维

张露艺, 唐国都, 唐曦平, 梁志海, 詹媛, 李维维, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
张露艺, 硕士研究生, 主要从事急性胰腺炎发病机制的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81060043
广西研究生教育创新计划基金资助项目, No. YCSZ2013034
作者贡献分布: 此课题由张露艺与唐国都设计; 研究过程由张露艺、唐曦平、梁志海、詹媛及李维维操作完成; 数据分析由张露艺与唐曦平完成; 本论文写作由张露艺完成; 唐国都进行批评性审阅.
通讯作者: 唐国都, 教授, 主任医师, 博士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院消化内科. tguodu02@126.com.cn
电话: 0771-5356537
收稿日期: 2013-05-16 修回日期: 2013-08-04
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-18

Role of TLR9 in pathogenesis of lipopolysaccharide-induced acute pancreatitis in an *in vitro* model

Lu-Yi Zhang, Guo-Du Tang, Xi-Ping Tang, Zhi-Hai Liang, Yuan Zhan, Wei-Wei Li

Lu-Yi Zhang, Guo-Du Tang, Xi-Ping Tang, Zhi-Hai Liang, Yuan Zhan, Wei-Wei Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060043; the Graduate Education Innovation Project of Guangxi, No. YCSZ2013034
Correspondence to: Guo-Du Tang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. tguodu02@126.com.cn
Received: 2013-05-16 Revised: 2013-08-04
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To explore the role of Toll-like receptor 9 (TLR9) in the pathogenesis of acute pancreatitis.

METHODS: After AR42J cells were stimulated with lipopolysaccharide at different concentrations (0, 1, 10, or 100 mg/L), the mRNA and protein expression of TLR9 and nuclear factor κB (NF-κB) p65 was determined by RT-PCR and Western blot, respectively. The contents of interleukin-1β (IL-1β) and IL-6 proteins in culture supernatants were determined by ELISA.

RESULTS: Lipopolysaccharide up-regulated TLR9 and P65 mRNA and protein expression in a dose-dependent manner (mRNA: F = 21.594, 24.449; protein: F = 23.193, 24.891, all P < 0.01). There was a positive correlation between the mRNA and protein expression of TLR9 and that of P65 (mRNA: r = 0.942, protein: r = 0.900, both P = 0.000). Lipopolysaccharide also increased the contents of IL-1β and IL-6 protein in a dose-dependent manner (F = 45.459, 62.493, both P < 0.01).

CONCLUSION: TLR9 may play a role in the pathogenesis of acute pancreatitis by up-regulating the expression of NF-κB.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Toll-like receptor 9; Acute pancreatitis; Lipopolysaccharide; NF-κB p65; AR42J cells

Zhang LY, Tang GD, Tang XP, Liang ZH, Zhan Y, Li WW. Role of TLR9 in pathogenesis of lipopolysaccharide-induced acute pancreatitis in an *in vitro* model. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2685-2689 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2685.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2685

摘要

目的: 探讨Toll样受体9(Toll-like receptor 9, TLR9)在急性胰腺炎发病机制中的作用.

方法: 不同浓度脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(0、1、10、100 mg/L)刺激AR42J细胞后, RT-PCR法与Western blot法分别检测TLR9、核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)P65 mRNA和蛋白质表达的变化, 并分析TLR9、P65的相关性; ELISA法检测培养上清液白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)含量.

结果: 与空白对照组相比, LPS刺激后TLR9、P65 mRNA与蛋白质表达升高, 呈浓度依赖性, 各组间有显著性差异(mRNA: F = 21.594, F = 24.449; 蛋白质: F = 23.193, F = 24.891, 均P<0.01), 相关性分析: r = 0.942, r = 0.900, 均P

■背景资料
Toll样受体是进化中比较保守的一个受体家族, 目前发现13个成员. TLRs能特异地识别病原相关的分子模式和损伤相关性模式分子, 是连接天然免疫和获得性免疫的桥梁. 近年来, TLRs信号转导的研究在急性胰腺炎中的作用受到越来越多的关注.

■同行评议者
谷俊朝, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院普外科

■研发前沿
本研究最先检测脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激具有正常胰腺腺泡细胞功能的AR42J后, 细胞内TLR9 mRNA、蛋白质的表达变化, 同时检测TLR9下游分子核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)的表达变化, 并且应用ELISA技术检测培养上清液中白介素(interleukin, IL)-1β、IL-6的浓度, 以探讨TLR9在急性胰腺炎炎症效应中的作用机制.

= 0.000, TLR9、P65呈正相关. 上清液IL-1β、IL-6含量随LPS浓度增加而上升, 组间差异有统计学意义(F = 45.459, F = 62.493, 均P<0.01).

结论: LPS刺激AR42J细胞诱导的炎症效应中, TLR9表达上调, 可能通过激活NF-κB, 从而促进炎症因子合成与分泌, 参与急性胰腺炎发病机制.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: Toll样受体9; 急性胰腺炎; 脂多糖; 核因子κB; AR42J细胞

核心提示: 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激损伤AR42J细胞使其释放自身DNA等损伤相关性分子模式, 被Toll样受体9(Toll-like receptor 9, TLR9)模式识别而激活TLR9, 进而通过经典的Toll样受体炎症通路, 活化并上调核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB), NF-κB进入细胞核调控并介导炎症因子表达上调, 从而放大炎症反应.

张露艺, 唐国都, 唐曦平, 梁志海, 詹媛, 李维维. TLR9在脂多糖诱导的急性胰腺炎体外细胞模型中的作用研究. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2685-2689 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2685.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2685

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)为临床常见疾病之一, 但其发病机制尚未完全清楚. 多项研究表明脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)参与了AP发病机制. Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)家族是天然免疫的门户, 在炎症、自身免疫、肿瘤发生发展等方面发挥重要作用[1-3], 日益成为研究的热点. 近年来研究发现, TLR9与TLR2、TLR4一样, 是与AP发病机制有密切关系的Toll样受体家族成员之一[4], 但其具体的作用机制尚未明了, 国内亦未见相关研究报道. 核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)是广泛表达于体内细胞的转录因子, 研究表明, 其在Toll样受体通路中发挥了细胞信号转导作用[5]. 本实验以具有正常大鼠胰腺腺泡细胞功能的AR42J细胞株为研究对象, LPS刺激造成AP体外模型[6,7], 初步探讨TLR9在AP中的作用机制.

■相关报道
多项研究显示, 急性胰腺炎时TLR2、TRL4表达水平增强, 通过NF-κB炎症通路参与急性胰腺炎的发病机制, 而Toll样受体家族中, 是否还有其他成员参与该炎症反应, 作用机制如何, 少有相关报道.

1 材料和方法

1.1 材料 大鼠胰腺腺泡细胞株AR42J购自美国典型培养物保藏中心(american type culture collection, ATCC); LPS粉末购自Sigma公司; TRIzol购自Omega公司; 逆转录试剂盒、RT-PCR Taq酶购自Fermenta公司; DNA Marker购自天根生化科技有限公司; 总蛋白提取试剂盒、BCA试剂盒购自碧云天公司; 小鼠抗大鼠Toll样受体9单克隆抗体购自Imgenex公司; 小鼠抗大鼠NF-κB P65单克隆抗体购自Santa Cruz公司; 辣根过氧化物酶HRP标记的小鼠抗大鼠β-actin多克隆抗体购自Proteintech公司; 大鼠TLR9、P65 PCR引物由上海生工公司合成; 白介素(interleukin, IL)-1β、IL-6 ELISA试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及药物干预: 用含20%胎牛血清、100 U/mL青霉素、100 mg/L链霉素的F12K培养基在50 mL/L CO_2、湿度饱和的37 ℃培养箱中培养, 隔天更换培养基1次, 用含0.25%EDTA胰蛋白酶消化, 1∶3传代. 取经传代2次的对数生长期细胞, 以1×10^6细胞/孔接种于6孔培养板中, 培养24 h后换液, 分别再加入含不同浓度LPS(0、1、10、100 mg/L)的培养基, 在培养箱中继续孵育24 h, 收集细胞和培养上清液备用, 每组设3个复孔.

1.2.2 细胞总RNA提取及RT-PCR法检测TLR9、P65 mRNA表达的变化: 总RNA的提取参照Omega公司的TRIzol试剂说明书进行, 并采用分光光度计测RNA浓度及纯度. 取1 μg总RNA逆转录成cDNA备用, 流程参照逆转录试剂盒说明书. PCR反应条件: 95 ℃ 4 min, 95 ℃ 30 s, 60 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 35个循环, 72 ℃ 7 min. TLR9引物: 上游5'-GCT GTC AAT GGC TCT CAG TTC -3', 下游5'-GGG AGG TAG TTG AGG TTC TGG-3', 产物长度425 bp; P65引物: 上游5'-ATC TGT TTC CCC TCA TCT TTC C-3', 下游5'-TGC GTC TTA GTG GTA TCT GTG C-3', 产物长度166 bp; 内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)引物: 上游5'-CAT GGT CTA CAT GTT CCA GT-3', 下游5'-GGC TAA GCA GTT GGT GGT GC-3', 产物长度349 bp. 凝胶成像系统扫描计算条带灰度值.

1.2.3 细胞总蛋白提取及Western blot法测TLR9、P65蛋白表达的变化: 试剂盒提取细胞总蛋白, BCA法测蛋白浓度. 各组取50 μg蛋白上样, 按流程电泳、转膜、牛奶封闭后一抗4 ℃孵育过夜, TLR9、P65、β-actin一抗工作浓度为(1∶500、1∶400、1∶8000), 二抗(1∶10000)室温孵育1 h, 化学发光胶片曝光显影. 图像分析仪

表 1 各组TLR9、P65 mRNA与蛋白质表达量的变化 (n = 3, mean ± SD)

分组(mg/L)	TLR9 mRNA	P65 mRNA	TLR9蛋白	P65蛋白
0	0.06 ± 0.05	0.38 ± 0.03	0.20 ± 0.16	0.07 ± 0.05
1	0.31 ± 0.03[b]	0.58 ± 0.11[b]	0.67 ± 0.33[b]	0.47 ± 0.08[b]
10	0.55 ± 0.15[b]	0.79 ± 0.15[b]	1.24 ± 0.31[b]	0.85 ± 0.22[b]
100	0.84 ± 0.16[b]	1.06 ± 0.38[b]	1.80 ± 0.13[b]	1.46 ± 0.56[b]

[b]P<0.01 *vs* 0 mg/L组. TLR9: Toll样受体9.

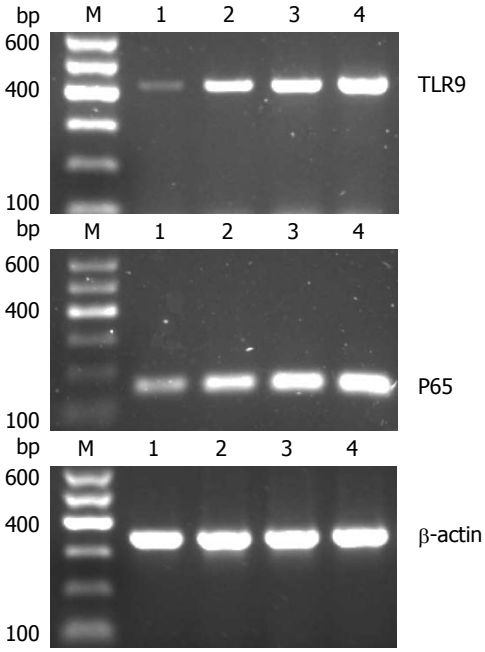


图 1 不同浓度脂多糖刺激后各组细胞TLR9、P65 mRNA的表达. M: Marker; 1: 0 mg/L; 2: 1 mg/L; 3: 10 mg/L; 4: 100 mg/L. TLR9: Toll样受体9.

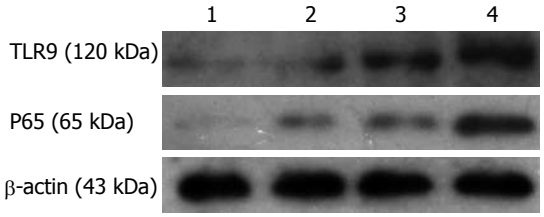


图 2 不同浓度脂多糖处理后各组细胞TLR9、P65蛋白质的表达. 1: 0 mg/L; 2: 1 mg/L; 3: 10 mg/L; 4: 100 mg/L. TLR9: Toll样受体9.

行胶片扫描, 分析灰度值.

1.2.4 ELISA法检测细胞培养上清IL-1β、IL-6的含量: 收集干预24 h后各组细胞培养上清液, 离心去除杂质及细胞碎片, 按ELISA试剂盒说明书操作, 酶标仪450 nm波长测量A值. 以标准品浓度及其A值制作标准曲线, 据样品的A值计算相应指标的浓度.

统计学处理 应用SPSS16.0统计学软件, 多组比较行One-Way ANOVA方差分析并用SNK(student-newman-keuls, SNK)法进行两两比较, 数据以mean±SD表示, TLR9与P65相关性用Pearson相关性分析, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同浓度LPS处理后TLR9、P65 mRNA表达的变化 RT-PCR结果如图1、表1所示, 与空白对照组相比, 加入LPS刺激后TLR9、P65 mRNA表达呈浓度依赖性增加, 两者表达量分别为: 0.06±0.05 *vs* 0.31±0.03, 0.55±0.15, 0.84±0.16, 差异具有统计学意义(F = 21.594, P<0.01); 0.38±0.03 *vs* 0.58±0.11, 0.79±0.15, 1.06±0.38, 差异具有统计学意义(F = 24.449, P<0.01); TLR9与P65 mRNA表达量的Pearson相关分析结果: r = 0.942, P<0.01, 提示两者呈正相关性.

2.2 不同浓度LPS处理后TLR9、P65蛋白质表达的变化 Western blot结果如图2、表1所示, 与空白对照组相比, 加入LPS刺激后TLR9、P65蛋白质表达呈浓度依赖性增加, 两者表达量分别为: 0.20±0.16 *vs* 0.67±0.33, 1.24±0.31, 1.80±0.13, 差异具有统计学意义(F = 23.193, P<0.01); 0.07±0.05 *vs* 0.47±0.08, 0.85±0.22, 1.46±0.56, 差异有统计学意义(F = 24.891, P<0.01). TLR9与P65蛋白表达量的Pearson相关分析: r = 0.900, P<0.01, 提示呈正相关性.

2.3 不同浓度LPS处理后细胞培养上清液IL-1β、IL-6的含量 如表2所示, 与空白对照组相比, 加入LPS刺激后上清液中IL-1β、IL-6含量随LPS浓度升高而增加, 两者浓度分别为: 6.84 pg/mL±2.01 pg/mL *vs* 22.21 pg/mL±2.85 pg/mL, 51.26 pg/mL±13.69 pg/mL, 75.95 pg/mL±7.04 pg/mL(F = 45.459, P<0.01); 24.59 pg/mL±15.74 pg/mL *vs* 74.07 pg/mL±10.77 pg/mL, 140.28 pg/

■创新盘点
Toll样受体被认为是哺乳动物唯一将胞外抗原识别信息向细胞内传递并引发炎症反应的关键跨膜蛋白. 研究认为TLR4可与革兰阴性细菌内毒素LPS结合, 活化NF-κB信号通路, 导致炎症因子瀑链式释放而产生急性胰腺炎的生物学效应. TLR9在急性胰腺炎的发病机制中是否也具有类似的作用, 目前尚鲜有报道.

■应用要点
本研究显示TLR9在急性胰腺炎的发病机制中发挥重要作用, 在往后的临床新药研究中, 可研发TLR9的阻断剂, 治疗急性胰腺炎时应用, 阻断TLR9在炎症中的作用, 减少下游炎症介质的释放从而达到治疗急性胰腺炎的目的.

■名词解释
病原相关分子模式: 病原微生物及其产物中某些共有的、非特异性的、高度保守的分子模式, 包括细菌LPS、脂磷壁酸、细菌DNA、病毒RNA等; 损伤相关性模式分子: 组织或细胞受到损伤、缺氧、应激等因素刺激后释放到细胞间隙或血液循环中的一类物质, 如高迁移率族蛋白B1、S100蛋白、热休克蛋白、自身DNA等.

表 2 各组细胞培养上清液中IL-1β、IL-6含量的变化 (pg/mL)

分组(mg/L)	IL-1β	IL-6
0	6.84 ± 2.01	24.59 ± 15.74
1	22.21 ± 2.85[b]	74.07 ± 10.77[b]
10	51.26 ± 13.69[b]	140.28 ± 21.50[b]
100	75.95 ± 7.04[b]	178.85 ± 8.81[b]

[b]P<0.01 *vs* 0 mg/L组. IL: 白介素.

mL±21.50 pg/mL, 178.85 pg/mL± 8.81 pg/mL, 差异具有统计学意义(F = 62.493, P<0.01).

3 讨论

Vaccaro等[6]报道, LPS刺激可直接造成胰腺腺泡细胞损伤, 使细胞形成胞质液泡、胞核改变及DNA断裂. 因此本实验以不同浓度LPS刺激AR42J细胞以构建急性胰腺炎体外细胞模型. Toll样受体家族属于Ⅰ型跨膜受体, 近年在急性胰腺炎中的作用日益引起关注, 其分为富含亮氨酸的胞外区、跨膜区和胞内高度保守的Toll/IL-1受体同源域(Toll/IL-1-receptor homologous region, TIR)结构, 胞外区模式识别病原相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)和损伤相关性模式分子(damage associated molecular patterns, DAMPs), 激活固有免疫, 调节获得性免疫. PAMPs即病原微生物及其产物中某些共有的、非特异性的、高度保守的分子模式, 包括细菌LPS、脂磷壁酸、细菌DNA、病毒RNA等. DAMPs是指细胞损伤时从细胞内释放到细胞外的一类物质, 包括高迁移率族蛋白B1(HMGB1)、S100蛋白、热休克蛋白、DNA等[8]. TLR9作为Toll样受体家族成员之一, 由Hemmi等[9]于2000年首次在小鼠中发现, 识别PAMPs和DAMPs, 在炎症、自身免疫、肿瘤等方面的发挥重要作用. TLR9位于细胞内体膜上, 特异性配体为含有非甲基化的胞嘧啶鸟嘌呤二核苷酸(cytosine phosphate-guanosine, CPG)的DNA片段CPG-DNA, 经内吞作用后结合并激活TLR9, 继而产生炎症效应[5]. 近年来研究发现, TLR9可识别自身DNA[10]. 本实验中, 不同浓度LPS刺激具有正常胰腺腺泡细胞功能的AR42J细胞后, AR42J细胞损伤释放自身DNA, 被TLR9模式识别而激活TLR9, 使TLR9 mRNA与蛋白质表达都随浓度升高而增强, 提示TLR9在AP的发生发展中发挥重要作用, 与Hoque等[11]的研究得出了相同的结论.

NF-κB是核转录因子蛋白家族, 是TLR家族介导的炎症通路的下游分子, 最常见的NF-κB二聚体为P65与P50组成[12]. 抑制蛋白-κB(inhibitor protein-κB, IκB)是NF-κB的抑制蛋白, 可被活化的IκB激酶(IκB kinase, IκK)降解. 本实验选择检测P65来衡量NF-κB的激活合成状态. 静息状态下NF-κB在胞质中与IκB结合, 应激时IκK激活, 降解IκB, 使NF-κB活化进入细胞核, 调控DNA的转录, 使细胞转录生成大量炎症因子, 参与炎症反应[13]. 其中IL-1β是重要的炎症介质, 能引起中性粒细胞、嗜碱性粒细胞释放颗粒物质, 促进B、T淋巴细胞分裂, 其浓度可评价AP的炎症严重程度及腺泡细胞的损伤程度; 而IL-6急性期炎症的重要细胞因子, 临床上常用血清IL-6浓度评价AP的严重程度[14,15]. 本实验结果显示NF-κB mRNA、蛋白质随LPS浓度升高而表达增强, 趋势与TLR9相同, 而同时培养上清液中促炎症因子IL-1β及IL-6也浓度依赖性升高,提示AP炎症程度随LPS浓度升高而逐渐增高. 经Pearson相关性分析示, 在mRNA及蛋白质水平, TLR9与NF-κB均有正相关关系, r值分别为0.942、0.9, 由此推测, TLR9可能通过NF-κB炎症通路在AP炎症效应发挥作用. 其可能的机制为: LPS刺激造成AR42J细胞损伤后, 细胞释放自身DNA等损伤相关分子, TLR9模式识别DNA分子而被激活, 导致其表达上调[11]. TLR9被激活后通过经典的Toll样受体炎症通路, 活化并上调NF-κB, NF-κB进入细胞核调控并介导炎症因子表达上调, 从而放大炎症反应[16].

总之, 本研究提示, TLR9在LPS诱导的急性胰腺炎体外细胞模型中可能发挥了重要作用, 其作用机制可能与其下游的经典炎症通路NF-κB通路关系密切, 这可能为急性胰腺炎的发病机制及临床治疗等研究提供实验基础.

4 参考文献

1 Richez C, Blanco P, Rifkin I, Moreau JF, Schaeverbeke T. Role for toll-like receptors in autoimmune disease: The example of systemic lupus erythematosus. *Joint Bone Spine* 2011; 78: 124-130 [PMID: 20961794 DOI: 10.1016/j.jbspin.2010.09.005]

2 Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol* 2010; 11: 373-384 [PMID: 20404851 DOI: 10.1038/ni.1863]

3 Hirsch I, Caux C, Hasan U, Bendriss-Vermare N, Olive D. Impaired Toll-like receptor 7 and 9 signaling: from chronic viral infections to cancer. *Trends Immunol* 2010; 31: 391-397 [PMID: 20832362 DOI: 10.1016/j.it.2010.07.004]

4 Vaz J, Akbarshahi H, Andersson R. Controversial role of toll-like receptors in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 616-630 [PMID: 23431068 DOI: 10.3748/wjg.v19.i5.616]
5 Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *International Immunology* 2005; 17: 1-14 [DOI: 10.1093/intimm/dxh186]
6 Vaccaro MI, Calvo EL, Suburo AM, Sordelli DO, Lanosa G, Iovanna JL. Lipopolysaccharide directly affects pancreatic acinar cells: implications on acute pancreatitis pathophysiology. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 915-926 [PMID: 10795755]
7 Jaworek J, Jachimczak B, Bonior J, Kot M, Tomaszewska R, Karczewska E, Stachura J, Pawlik W, Konturek SJ. Protective role of endogenous nitric oxide (NO) in lipopolysaccharide--induced pancreatic damage (a new experimental model of acute pancreatitis). *J Physiol Pharmacol* 2000; 51: 85-102 [PMID: 10768853]
8 Nakamura T, Ito T, Igarashi H, Uchida M, Hijioka M, Oono T, Fujimori N, Niina Y, Suzuki K, Jensen RT, Takayanagi R. Cytosolic double-stranded DNA as a damage-associated molecular pattern induces the inflammatory response in rat pancreatic stellate cells: a plausible mechanism for tissue injury-associated pancreatitis. *Int J Inflam* 2012; 2012: 504128 [PMID: 22550608 DOI: 10.1155/2012/504128]
9 Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, Matsumoto M, Hoshino K, Wagner H, Takeda K, Akira S. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature* 2000; 408: 740-745 [PMID: 11130078 DOI: 10.1038/35047123]
10 Holm CK, Paludan SR, Fitzgerald KA. DNA recognition in immunity and disease. *Curr Opin Immunol* 2013; 25: 13-18 [PMID: 23313533 DOI: 10.1016/j.coi.2012.12.006]
11 Hoque R, Sohail M, Malik A, Sarwar S, Luo Y, Shah A, Barrat F, Flavell R, Gorelick F, Husain S, Mehal W. TLR9 and the NLRP3 inflammasome link acinar cell death with inflammation in acute pancreatitis. *Gastroenterology* 2011; 141: 358-369 [PMID: 21439959 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.03.041]
12 Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-kappaB. *Genes Dev* 2004; 18: 2195-2224 [PMID: 15371334 DOI: 10.1101/gad.1228704]
13 Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009; 1: a001651 [PMID: 20457564 DOI: 10.1101/cshperspect.a001651]
14 Kylänpää ML, Repo H, Puolakkainen PA. Inflammation and immunosuppression in severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2867-2872 [PMID: 20556831]
15 赵洪礼,吴战军. 细胞因子与重症急性胰腺炎关系研究进展. 临床消化病杂志 2010; 18: 61-63
16 Hemmi H, Kaisho T, Takeda K, Akira S. The roles of Toll-like receptor 9, MyD88, and DNA-dependent protein kinase catalytic subunit in the effects of two distinct CpG DNAs on dendritic cell subsets. *J Immunol* 2003; 170: 3059-3064 [PMID: 12626561]

■同行评价
本文具有一定的新颖性. 从分子、细胞学层面进行分析, 结果提供了充足且有意义的信息 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 闫晋利

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%.

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2690-2693
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

白术内酯对小鼠结肠癌细胞增殖能力的影响

高小玲, 汪保英, 陈玉龙, 宰炎冰, 白 明

■背景资料
白术具有补气健脾, 燥湿利水, 止汗, 安胎的功效. 现代药理学研究表明, 白术是恶性肿瘤辅助治疗的理想药物, 并且其单方或配伍应用有改善肿瘤患者胃肠功能.

高小玲, 汪保英, 陈玉龙, 宰炎冰, 白明, 河南中医学院 河南省郑州市 450008
高小玲, 主要从事中西医结合的基础研究.
河南中医学院博士启动基金资助项目, No. 2010BSJJ-12
河南省教育厅科学自然基金资助项目, No. 2010B360004
作者贡献分布: 高小玲与汪保英对此文所作贡献均等; 此课题由高小玲、陈玉龙及白明设计; 研究过程由高小玲、汪保英及宰炎冰操作完成; 数据分析由高小玲与汪保英完成.
通讯作者: 白明, 副教授, 450008, 河南省郑州市金水东路1号, 河南中医学院科研处科研实验中心. baiming666@126.com
收稿日期: 2013-06-24 修回日期: 2013-07-13
接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-18

Atractylenolide Ⅱ significantly reduces proliferation of mouse colon cancer cells

Xiao-Ling Gao, Bao-Ying Wang, Yu-Long Chen, Yan-Bing Zai, Ming Bai

Xiao-Ling Gao, Bao-Ying Wang, Yu-Long Chen, Yan-Bing Zai, Ming Bai, Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, Henan Province, China
Supported by: the Doctoral Fund of Henan College of Traditional Chinese Medicine, No. 2010BSJJ-12; the Natural Science Foundation of Educational Department of Henan Province, No. 2010B360004
Correspondence to: Ming Bai, Associate Professor, Henan College of Traditional Chinese Medicine, 1 Jinshui East Road, Zhengzhou 450008, Henan Province, China. baiming666@126.com
Received: 2013-06-24 Revised: 2013-07-13
Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To observe the effect of atractylenolides Ⅰ, Ⅱ, and Ⅲ on the proliferation of mouse colon cancer cells.

METHODS: CT26 cells were seeded in 96-well plates and treated with different concentrations of atractylenolide Ⅰ, Ⅱ, or Ⅲ (200, 100, 50, 25, 12.5, or 6.25 μg/mL) for 24 h. After culture for an additional 48 h, the proliferation of CT26 cells was detected by MTT assay to screen atractylodes' active ingredient that had the best inhibitory effect. CT26 cells were then treated with the screened atractylodes' active ingredient at different doses for different durations (24, 48, 72 h).

RESULTS: Atractylenolide II had the best inhibitory effect on the proliferation of CT26 cells. The optimal dose was 50 μg/mL, and the best delivery time was 48 h.

CONCLUSION: Atractylenolide Ⅱ can significantly reduce the proliferation of mouse colon cancer cells.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Atractylenolide; Proliferation; CT26 cells

Gao XL, Wang BY, Chen YL, Zai YB, Bai M. Atractylenolide Ⅱ significantly reduces proliferation of mouse colon cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2690-2693 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2690.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2690

摘要

目的: 观察白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ对小鼠结肠癌细胞增殖能力的影响.

方法: CT26细胞种植于96孔板, 24 h后分别加入白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ 200、100、50、25、12.5、6.25 μg/mL, 放置培养箱48 h后, MTT法检测白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ不同剂量对CT26细胞增殖能力的影响; 筛选对CT26抑制效果好的白术有效成分, 检测其不同剂量给药后24、48、72 h后CT26细胞增殖能力的影响.

结果: 白术内酯Ⅱ抑制CT26细胞增殖能力最为明显, 其最合适给药剂量为50 μg/mL, 最佳给药时间为48 h.

结论: 白术内酯Ⅱ可能是抑制肿瘤细胞增殖的主要成分之一.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 白术内酯; 增殖; CT26细胞

核心提示: 白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ对小鼠结肠癌细胞均有增殖抑制作用. 以白术内酯Ⅱ效果最为理想, 说明对于消化系肿瘤, 白术内酯Ⅱ可以起到较好的作用.

■同行评议者
于则利, 教授, 首都医科大学附属北京同仁医院外科

高小玲, 汪保英, 陈玉龙, 宰炎冰, 白明. 白术内酯对小鼠结肠癌细胞增殖能力的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2690-2693 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2690.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2690

0 引言

白术为菊科苍术属(atractylodes macrocephala koidz)多年生草本植物白术的根茎, 为常用中药. 具有补气健脾, 燥湿利水, 止汗, 安胎的功效. 临床多用于脾虚证, 生用或炮制应用[1]. 现代药理学研究表明, 其主要含有挥发油成分和内酯类成分, 是恶性肿瘤辅助治疗的理想药物, 并且其单方或配伍应用有改善肿瘤患者胃肠功能, 抑制氧化应激及随后触发的炎症反应而起到抗IBD的作用[2,3], 其中内酯类成分具有抗炎、抗肿瘤作用[4,5], 并具有调节胃肠道功能和促进营养物质吸收的功效[6]. 但目前白术中哪些化学成分是抗肿瘤成分尚且没有定论. 由此, 我们选择了小鼠结肠癌CT26细胞, 观察白术有效成分白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ对其增殖能力的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 白术内酯Ⅰ, 批号MUST-13012005, 白术内酯Ⅱ, 批号MUST-13012007, 白术内酯Ⅲ, 批号MUST-13012007, 中国科学院成都生物研究所研制; 1640培养基, Lot. No. 20130411, 胰蛋白酶-EDTA消化液, Lot. No. 20130124, solarbio产品; 胎牛血清, 批号: 120509, 浙江天杭生物科技有限公司; MTT、DMSO, Genebase公司产品; 台盼蓝, Sigma公司产品; MTT, Amresco产品; 牛胰岛素insuLin: Sigma产品; CT26细胞, 广州中医药大学脾胃研究所赠送; Sigma低温高速离心机, ELX800UV酶标仪.

1.2 方法

1.2.1 CT26细胞的培养传代: 取液氮保存的CT26细胞, 37 ℃水浴使迅速融化, 将冻存液转移至离心管, 1000 r/min离心5 min, 弃上清, 加入2 mL 1640完全培养液, 重新悬浮沉淀细胞, 接种于培养瓶, 37 ℃、50 mL/L CO_2培养, 次日换液. 至80%左右融合时, 用0.25%胰酶-0.53 mmol/L EDTA消化传代.

1.2.2 细胞种植及给药: CT26细胞消化计数, 按照1×10^4个/孔种植于96孔板, 24 h后分别加入白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ 200、100、50、25、12.5、6.25 μg/mL, 每组3个复孔, 48 h后MTT法检测白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ各个剂量对CT26细胞增殖能力的影响, 选择白术最佳有效成分进行时效实验.

1.2.3 MTT法检测细胞增殖能力: 细胞给药后一定时间, 每孔中各加入20 μL MTT液(5 mg/mL); 然后在37 ℃、50 mL/L CO_2培养箱中继续培养4 h, 弃上清, 每孔加入DMSO 150 μL, 充分振荡10 min; 用酶标仪在570 nm波长处测*A*值, 同时设置空白对照孔[7].

统计学处理 采用SPSS11.0软件, 进行方差分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ不同剂量对CT26细胞增殖能力的影响 细胞种植24 h后, 给予不同剂量的白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ, MTT法检测给药48 h后CT26细胞增殖能力的变化(图1).

与空白对照组相比, 白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ 200、100 μg/mL剂量均对CT26细胞有明显的抑制作用($P<0.01$); 白术内酯Ⅱ、Ⅲ 50 μg/mL均对CT26有抑制作用($P<0.01$), 实验重复了3次, 结果均表明, 白术内酯Ⅱ50 μg/mL较白术内酯Ⅰ、Ⅲ 50 μg/mL抑制作用效果好; 白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ 6.25 μg/mL效果不明显.

2.2 白术内酯Ⅱ不同剂量及时间对CT26细胞增殖能力的影响 根据以上结果, 选用白术内酯Ⅱ不同剂量进行时效实验. 细胞种植24 h后, 分别给予白术内酯Ⅱ200、100、50、25、12.5 μg/mL, 给药后24、48、72 h检测CT26细胞增殖能力的变化(图2).

与空白对照组比较, 白术内酯Ⅱ200、100、50 μg/mL在给药后24、48、72 h抑制效果明确($P<0.01$), 其中给药后48 h最为明显.

3 讨论

白术是传统的健脾药物, 而白术内酯是从白术中提取的有效成分. 对于白术主要有效成分及白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ的作用一直没有明确的定论. 有研究表明[8,9], 白术可促进肿瘤细胞的凋亡及坏死而具有抑瘤作用, 白术内酯Ⅰ能抑制人白细胞株HL-60和小鼠白血病细胞株的P-388的生长[10], 白术内酯Ⅱ能够抑制B16黑色素瘤细胞的增殖[11], 白术内酯Ⅲ可通过诱导肺癌细胞的凋亡来抑制肿瘤的生长和增加乳酸脱氢酶的释放[12]. 目前, 对于白术内酯Ⅰ和Ⅲ对肿瘤的抑制作用研究较多, 因此, 有学者认为白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅲ为抗炎、抗癌有效成分[13].

■研发前沿
研究表明, 内酯类成分具有抗炎、抗肿瘤作用. 但是对白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ的作用尚且没有定论.

■相关报道
有研究表明, 白术可促进肿瘤细胞的凋亡及坏死, 认为白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅲ为抗炎、抗癌有效成分, 也有研究表明, 白术内酯Ⅰ可提高大鼠尿中木糖排泄率, 增强淀粉酶活性的作用, 认为白术内酯Ⅰ能促进脾虚大鼠胃肠道消化吸收功能, 可能是白术健脾的有效成分之一.

■创新盘点
本实验首次证实，白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ均能抑制CT26细胞的增殖，但是以白术内酯Ⅱ效果最为理想.

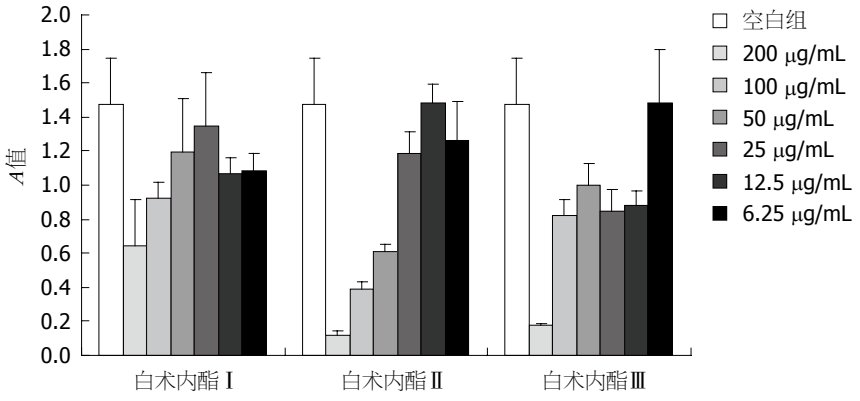


图 1 白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ不同剂量对CT26细胞增殖能力的影响.

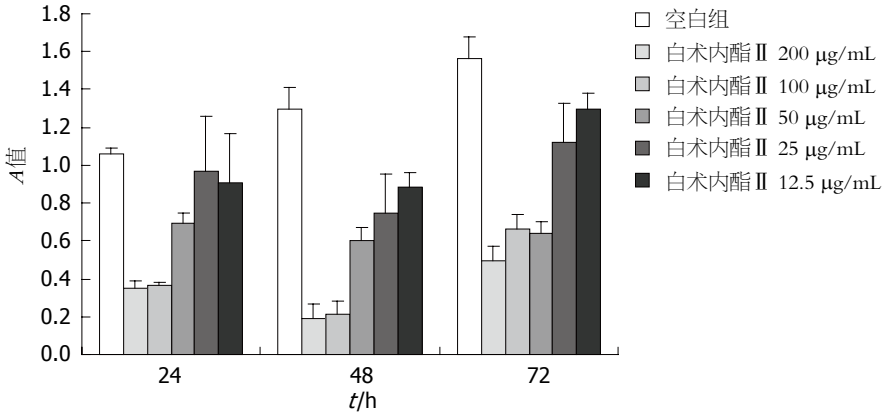


图 2 白术内酯Ⅱ不同剂量及时间对CT26细胞增殖能力的影响.

也有研究表明，白术内酯Ⅰ可提高大鼠尿中木糖排泄率，增强淀粉酶活性的作用[14]，促进脾虚大鼠胃肠道消化吸收功能，可能是白术健脾运脾的有效成分之一[6]. 而白术内酯Ⅲ对PC12细胞缺氧损伤、兴奋性氨基酸损伤、高钙损伤有不同程度的保护作用[15].

我们的研究表明，白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ 200、100、50 μg/mL剂量对小鼠结肠癌细胞增殖抑制效果非常明显. 其中以白术内酯Ⅱ效果最为理想，实验重复3次结果也比较接近. 考虑到药物溶解试剂DMSO有一定的毒性，白术内酯50 μg/mL已经可以达到预期效果，而且剂量也接近细胞的半数抑制率. 在此基础上，我们也对白术内酯Ⅱ不同剂量在不同时间对CT26细胞增殖能力的影响，证实在给药后48 h检测细胞的抑制效果比较理想，一方面让药物充分吸收，另一方面也避免了给药时间过久未被抑制的细胞出现的过度增殖.

本实验证实，白术内酯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ均能抑制CT26细胞的增殖，但是以白术内酯Ⅱ效果最为理想，说明对于结肠肿瘤，白术内酯Ⅱ的效果优于白术内酯Ⅰ、Ⅲ，白术内酯Ⅱ对于结肠癌的治疗能够起到较好的作用. 本实验首次在小鼠结肠癌细胞上进行白术有效成分的抗癌活性研究，为研究白术的抗癌、抗炎活性部位和活性成分提供了药理学的验证. 我们也将在后续实验中对白术的健脾成分进行研究.

■应用要点
本实验为研究白术的抗癌、抗炎活性部位和活性成分提供了药理学的验证，并未白术的健脾成分的研究提供了基础.

4 参考文献

1 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部). 2005年版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 68
2 游宇, 刘玉晖, 高书亮. 参苓白术散抗小鼠炎症性肠病的机制研究. 中国实验方剂学杂志 2012; 18: 136-140
3 向小庆, 叶红. 白术抗肿瘤作用的研究及应用进展. 中国实验方剂学杂志 2013; 19: 367-370
4 Liu Y, Jia Z, Dong L, Wang R, Qiu G. A randomized pilot study of atractylenolide I on gastric cancer cachexia patients. *Evid Based Complement Alternat Med* 2008; 5: 337-344 [PMID: 18830451]
5 赵桂芝, 洪学智, 戴诗文, 寿旦, 王绪平. 白术内酯的药理学研究进展. 中国药房 2009; 2: 230-240
6 郝延军, 桑育黎, 王勒, 李宝林, 贾天柱. 白术内酯Ⅰ、Ⅲ对脾虚大鼠胃肠道消化吸收的影响. 中华中医药学会第五届中药炮制学术会议论文集 2005: 215-217
7 高小玲. CT26细胞RPS20 miRNA干扰及体内干扰条件建立. 广州中医药大学, 2010
8 刘昳, 叶峰, 邱根全, 章梅, 王锐, 何群英, 蔡云. 白术内

酯I对肿瘤恶病质患者细胞因子和肿瘤代谢因子的影响. 第一军医大学学报 2005; 25: 1308-1311
9 郑广娟. 白术对小鼠S180肉瘤的抑瘤作用及肿瘤凋亡相关基因bcl-2表达的影响. 生物医学工程研究 2003; 3: 48-50
10 Wang CC, Lin SY, Cheng HC, Hou WC. Pro-oxidant and cytotoxic activities of atractylenolide I in human promyeloleukemic HL-60 cells. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 1308-1315 [PMID: 16624472]
11 Ye Y, Wang H, Chu JH, Chou GX, Chen SB, Mo H, Fong WF, Yu ZL. Atractylenolide II induces G1 cell-cycle arrest and apoptosis in B16 melanoma cells. *J Ethnopharmacol* 2011; 136: 279-282 [PMID: 21524699 DOI: 10.1016/j.jep.2011.04.020]
12 Dong H, He L, Huang M, Dong Y. Anti-inflammatory components isolated from Atractylodes macrocephala Koidz. *Nat Prod Res* 2008; 22: 1418-1427 [PMID: 19023804 DOI: 10.1080/14786410801931629]
13 彭腾, 李鸿翔, 邓赟, 邱建平, 贺钢民, 范静骞. 白术内酯类成分及其药理作用研究进展. 中国药房 2012; 23: 3732-3734
14 郝延军, 桑育黎, 李宝林, 王勒, 贾天柱. 白术内酯Ⅰ及白术内酯Ⅲ对唾液淀粉酶活性的影响. 时珍国医国药 2006; 7: 1617-1618
15 罗兰, 孙悦. 白术内酯Ⅲ对神经细胞损伤的影响. 时珍国医国药 2012; 23: 560-570

■同行评价
本文写作较为严谨、科学, 有一定创新性, 能较好地反映大肠癌的临床和基础研究的先进水平.

编辑 田滢 电编 闫晋利

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索量、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.

《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)

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2694-2697
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

食管静脉曲张套扎术和口服普萘洛尔治疗肝硬化食管静脉曲张的疗效对比

芦永福, 郜 茜, 王 韵, 蒋汉梅

■背景资料
食管静脉曲张(esophagealvarices, EV)属于肝硬化患者晚期较常遇到的一类并发症, 临床发病率约为40%. 出血是本病最主要的临床表现, 而且往往存在反复性. 本病的临床致死率较高, 为25%-45%. 内镜下食管曲张静脉套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)是目前常用的物理预防止血办法, 但是一些患者由于多次进行EVL, 造成门静脉压力上升, 复发曲张静脉的概率增加.

■同行评议者
竺亚斌, 研究员, 宁波大学医学院人体解剖与组胚学系; 张庆瑜, 教授, 主任医师, 天津医科大学总医院科研处

芦永福, 郜茜, 王韵, 蒋汉梅, 青海大学附属医院消化科 青海省西宁市 810001
芦永福, 副教授, 副主任医师, 主要从事酒精性肝病和肝硬化的研究.
作者贡献分布: 此研究由芦永福设计; 实施过程在芦永福指导下由郜茜、王韵及蒋汉梅完成; 数据处理由郜茜与王韵完成; 论文写作由芦永福完成.
通讯作者: 芦永福, 副教授, 副主任医师, 810001, 青海省西宁市城西区同仁路29号, 青海大学附属医院消化科.
luyongfu_qh@163.com
收稿日期: 2013-07-05 修回日期: 2013-08-07
接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-18

Curative effect of endoscopic variceal ligation versus oral propranolol in management of esophageal varices

Yong-Fu Lu, Qian Gao, Yun Wang, Han-Mei Jiang

Yong-Fu Lu, Qian Gao, Yun Wang, Han-Mei Jiang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810001, Qinghai Province, China
Correspondence to: Yong-Fu Lu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qinghai University, 29 Tongren Road, Chengxi District, Xining 810001, Qinghai Province, China. luyongfu_qh@163.com
Received: 2013-07-05 Revised: 2013-08-07
Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-18

Abstract
AIM: To compare the curative effect of endoscopic variceal ligation (EVL) versus oral propranolol in the management of esophageal varices (EV).

METHODS: One hundred patients with liver cirrhosis and EV were divided into either an observation group or a treatment group. The observation group underwent EV, while the control group was given oral propranolol. The curative effect and side effects were compared between the two groups.

RESULTS: The patients were followed for a period of 18-36 mo. There were no significant differences in the rate of hemorrhage (22.86% *vs* 20.0%, $P > 0.05$), overall mortality (22.86% *vs* 17.14%, $P > 0.05$), and bleeding-related mortality (11.43% *vs* 8.57%, $P > 0.05$) between the control group and observation group. However, the incidence of side effects was significantly lower in the observation group than in the control group (20.0% *vs* 51.43%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Both EVL and oral propranolol have good curative effect on liver cirrhosis-associated EV. The side effects associated with propranolol are much less than those with EVL.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic variceal ligation; Oral propranolol; Esophageal varices; Haemorrhage; Side effects

Lu YF, Gao Q, Wang Y, Jiang HM. Curative effect of endoscopic variceal ligation versus oral propranolol in management of esophageal varices. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2694-2697 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2694.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2694

摘要
目的: 观察食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)和口服普萘洛尔治疗肝硬化食管静脉曲张(esophagealvarices, EV)的临床疗效对比.

方法: 对140例临床诊断为肝硬化EV患者进行分组疗效观察, 观察组治疗为EVL, 对照组为口服普萘洛尔. 观察两组患者的疗效及不良反应情况.

结果: 经过18-36 mo的临床随访, 对照组共有22.86%的患者发生出血, 观察组为20.0%, 2组差异无统计学意义(P>0.05). 总死亡率与出血相关死亡率, 对照组为22.86%、11.43%, 观察组为17.14%、8.57%, 两组差异无统计学意义(P>0.05). 观察组有20.0%的患者出现不良反应, 明显低于对照组的51.43%, 两组差异有统

计学意义(P<0.05).

结论: EVL与普萘洛尔在治疗肝硬化EV患者中均有良好的疗效, 可以有效预防出血. 但普萘洛尔不良反应较EVL少, 且未进行侵入性操作, 因此值得临床应用.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管静脉曲张套扎术; 普萘洛尔; 肝硬化食管静脉曲张; 出血; 不良反应

核心提示: 本文对食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)与普萘洛尔预防肝硬化食管静脉曲张(esophagealvarices, EV)出血的疗效进行了临床研究. 首先对2组患者进行了为期18-36 mo的临床随访. 随访结果显示, 患者在接受早期治疗后, 2组患者EV出血的发生率较为相近. 其中观察组为22.86%, 对照组为20.0%, 2组差异无统计学意义. 该结果表明, 就预防EV出血的作用而言, 两种治疗方案均无明显的优异性, 约1/5的肝硬化EV患者会发生破裂出血. 出血部位方面, 2组患者均以食道多见.

芦永福, 邵茜, 王韵, 蒋汉梅. 食管静脉曲张套扎术和口服普萘洛尔治疗肝硬化食管静脉曲张的疗效对比. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2694-2697 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2694.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2694

0 引言

食管静脉曲张(esophagealvarices, EV)属于肝硬化患者晚期较常遇到的一类并发症, 临床发病率约为40%[1]. 出血是本病最主要的临床表现, 而且往往存在反复性[2]. 本病的临床致死率较高, 为25%-45%[3]. 因此, 如何有效治疗本病, 预防出血就成为目前研究的热点. 内镜下食管曲张静脉套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)是目前常用的物理预防止血办法, 但是一些患者由于多次进行EVL, 造成门静脉压力上升, 复发曲张静脉的概率增加[4]. 普萘洛尔是近年来研究较多的一种非选择性β受体阻滞剂, 研究证明[5], 普萘洛尔能够有效降低门静脉压力, 从而减少出血的风险. 作者在临床治疗肝硬化EV通过采用EVL与普萘洛尔之间的疗效对比, 阐述2种治疗方法在本病治疗中各自的优缺点, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入患者140例, 均为本院2008-01/2010-01诊断为肝硬化EV的患者. 本研究的纳入及排除标准如下: 纳入标准: (1)患者门静脉高压为肝硬化造成; (2)根据中华消化内镜学会2000年通过的食管胃底曲张静脉内镜下诊断和治疗规范试行方案, 内镜下EV程度分级达到中度或重度; (3)既往无EV出血或其他上消化道出血病史; (4)既往未服用β受体阻滞剂. 排除标准: (1)年龄<18岁, 或>75岁; (2)有严重高血压、糖尿病、冠心病患者; (3)严重肝肾功能不全者; (4)既往接受过胃镜手术者. 其中对照组70例, 治疗为EVL, 男44例, 女26例, 年龄40-73岁, 平均年龄55.8岁±11.0岁; 其中慢性乙肝患者24例, 慢性丙肝患者16例, 酒精性肝病患者18例, 其他肝病12例. 观察组70例, 治疗为普萘洛尔口服, 男42例, 女28例, 年龄42-74岁, 平均年龄56.2岁±11.2岁; 其中慢性乙型肝炎患者26例, 慢性丙型肝炎患者14例, 酒精性肝病患者18例, 其他肝病12例. 对两组患者性别、年龄、肝硬化病原学等资料进行统计学分析, 发现差异无统计学意义(P>0.05), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗方法: (1)EVL: 每2 wk对患者进行1次EVL治疗, 治疗直至患者EV情况完全消失为止, 一般每次套扎点数为6-18个. EV消失后, 每3 mo对患者进行1次复查, 看有无存在复发情况. 若有复发, 则继续进行EVL治疗, 直至静脉曲张情况完全消失为止; (2)普萘洛尔: 普萘洛尔的初始剂量为30 mg/d, 根据患者的情况逐步加大口服剂量, 但最大剂量不应超过160 mg/L. 治疗期间, 对患者的心率进行监测. 若患者心率较治疗前下降25%, 且心率<60次/min或收缩压<90 mmHg时, 需要进行剂量的调整.

1.2.2 观察治疗: (1)所有患者3 mo/次临床随访, 对患者治疗后出现出血例数、出血部位、死亡例数、出血相关死亡例数、门脉高压胃病发生等情况进行统计; (2)对所有患者治疗期间不良反应期间进行记录.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析, 计量资料用mean±SD表示, 计数资料用百分率表示, 组间计量资料比较采用两样本t检验, 组间计数资料的比较采用χ^2检验, 以P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 一般治疗情况 对照组随访时间20-33 mo, EVL

■研发前沿
如何有效治疗食管静脉曲张, 预防出血就成为目前研究的热点.

■相关报道
普萘洛尔是近年来研究较多的一种非选择性β受体阻滞剂, 研究证明, 普萘洛尔能够有效降低门静脉压力, 从而减少出血的风险.

■应用要点
EVL与普萘洛尔在预防肝硬化EV出血，均有良好的干预疗效，可以有效预防出血. 但普萘洛尔不良反应较EVL少，且未进行侵入性操作，因此值得临床应用.

表 1 2组患者治疗后出血及死亡率等相关分析 [n = 70, n(%)]

分组	出血率	出血部位		总死亡例	与出血相关死亡例	门脉高压胃病发生率
		食道	胃底			
对照组	16(22.86)	12(17.14)	4(5.71)	16(22.86)	8(11.43)	10(14.29)
观察组	14(20.0)	12(17.14)	2(2.86)	12(17.14)	6(8.57)	8(11.43)

表 2 2组患者治疗期间副反应情况比较 (n)

分组	不良反应	n	比例(%)	总不良反应率(%)
对照组	胸骨后疼痛	18	25.71	51.43
	吞咽困难	6	8.57	
	低热	12	17.14	
观察组	心动过缓	6	8.57	20.0[a]
	头晕	8	11.43	

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

套扎平均次数为2.3次±1.4次，每次平均套扎点数为14.4个±6.3个. 观察组随访时间18-36 mo，平均普萘洛尔口服剂量为78.4 mg/d±23.7 mg/d.

2.2 2组患者治疗后出血及死亡率等相关分析 在总共18-36个随访中，对照组22.86%的患者出现出血，观察组为20.0%，两组比较差异无统计学意义(P>0.05). 总死亡率与出血相关死亡率，对照组为22.86%、11.43%，观察组为17.14%、8.57%，两组差异无统计学意义(P>0.05). 对照组门脉高压胃病发生率为14.29%，观察组为11.43%，两组差异无统计学意义(P>0.05). 此外，两组患者出血部位比较，差异亦无统计学意义(P>0.05，表1).

2.3 2组患者治疗期间不良反应情况比较 对照组治疗期间不良反应总发生率为51.43%，主要以心动过缓、头晕等多见. 观察组治疗期间不良反应总发生率为20.0%，主要以胸骨后疼痛、吞咽困难、低热等多见. 2组比较差异有统计学意义(P<0.05，表2).

3 讨论

EV是晚期肝硬化患者较为多见的一类并发症，出血是本病的首要致死因素. 因此，早期进行干预，预防EV出血就成为本病主要的治疗目标. 当前，本病治疗方法主要分为手术治疗、内镜治疗以及药物治疗3类[6]. 相比外科手术与内镜治疗，药物治疗由于不会造成侵入性操作，因此对患者的影响较小. 以往的手术经验认为[7,8]，内镜具有定位准的优点，可以对曲张静脉直接进行套扎，从而达到预防出血的目的. 但是，随着研究的不断深入，临床发现患者进行内镜下EVL后，发生出血的例数仍较高. 此外，关于EVL的安全性，目前国内外存在较大的争议[9,10]. 一些报道认为[11]，EVL后，患者各类相关并发症出现较多. 普萘洛尔属于非选择性β受体阻滞剂，是当前临床上预防肝硬化EV出血的重要药物. 研究表明[12]，普萘洛尔能够降低服药者的心率，从而起到降低心输出量与收缩内脏血管的作用，最终降低内脏循环血容量，减少肝动脉与门静脉的血流灌注来降低门静脉压力. EVL的作用机制在于结扎、闭塞静脉曲张的血管，并使其发生缺血性坏死，并自行脱落. EVL的操作对患者的创伤较小，且对患者肝肾功能不产生影响. 但是，由于EVL操作只对患者食管表面的曲张静脉进行结扎、闭塞，而对食管周围黏膜下的侧支循环静脉无直接干预作用[13]. 因此，EVL后患者静脉曲张复发率较高，甚至会出现未出血的曲张静脉破裂. 该现象产生的主要原因在于门脉压力无法被降低[14,15].

本研究中，对EVL与普萘洛尔预防肝硬化EV出血的疗效进行了临床研究. 首先，我们对2组患者进行了为期18-36 mo的临床随访. 随访结果显示，患者在接受早期治疗后，2组患者EV出血的发生率较为相近. 其中观察组为22.86%，对照组为20.0%，2组差异无统计学意义. 该结果表明，就预防EV出血的作用而言，两种治疗方案均无明显的优异性，约1/5的肝硬化EV患者会发生破裂出血. 出血部位方面，2组患者均以食道多

见. 随访期间, 观察组患者的死亡率与出血相关治疗死亡率分别为22.86%、11.43%, 该比例在对照组则为17.14%、8.57%. 而门脉高压胃病发生率方面, 观察组为14.29%, 与对照组的11.43%亦较为接近. 上述观察指标, 2组间差异均无统计学意义. 说明在疗效学方面, 2组治疗方案的治疗效果较为接近, 对肝硬化EV患者均有一定的预防出血能力. 在疗效观察的同时, 对2组患者进行了治疗不良反应情况的调查随访. 结果显示, EVL后患者出现不良反应的比例较高, 本研究超过一半(51.43%)的患者发生不同程度的不良反应, 临床主要表现为胸骨后疼痛、低热以及吞咽困难等. 而口服普萘洛尔的患者, 经临床随访, 发现治疗期间存在不良反应的患者比例仅为20.0%(7/35), 临床主要表现为心动过缓、头晕等. 但7例患者不良反应情况均较为轻微, 经过对症处理后, 未出现不良后果. 该结果显示, 虽然EVl与普萘洛尔预防肝硬化EV的作用及效果接近, 但普萘洛尔治疗期间的不良反应明显低于EVL. 这提示β受体阻滞剂可以作为预防肝硬化EV出血的主要干预手段. 而对于一些不能耐受β受体阻滞剂的患者, 或者静脉曲张情况较重, 需要紧急处理的患者, 仍应该考虑进行内镜下进行EVL.

总之, EVL与普萘洛尔在预防肝硬化EV出血, 均有良好的干预疗效, 可以有效预防出血. 但普萘洛尔不良反应较EVL少, 且未进行侵入性操作, 因此值得临床应用.

4 参考文献

1 冯超, 黄飞舟, 聂晚频, 刘浔阳, 任树平. 内镜下套扎术与普萘洛尔预防肝硬化食管曲张静脉首次出血的对照研究. 中南大学学报(医学版) 2012; 37: 513-516

2 陈光兰, 徐磊, 陈成龙, 朱雅碧, 汪望月, 黎红光. 内镜下套扎术预防肝硬化食管静脉曲张破裂出血的远期随访观察. 中华消化杂志 2010; 30: 171-173

3 何学敏. 肝硬化引发食管静脉曲张出血的治疗方法探讨. 中国医药 2012; 7: 722-723

4 黎晓武, 崔进, 陈杨志, 李金强. 食管静脉套扎术加普萘洛尔预防肝硬化食管静脉曲张破裂出血的临床研究. 中国医药导刊 2010; 12: 537, 539

5 石胜利, 戴小华, 袁帅, 沈洁. 预防性套扎联合普萘洛尔治疗肝硬化重度食管静脉曲张的临床研究. 中国医师进修杂志 2010; 33: 57-59

6 李中专. 食管静脉曲张硬化剂治疗对门静脉高压性胃病的影响. 广西医学 2012; 34: 946-947

7 邓应江, 敖智容, 秦红, 刘伟. 影响内镜下食管静脉曲张套扎术疗效的危险因素分析. 西南国防医药 2012; 22: 66-1068

8 李祺, 孙远杰, 秦国涛, 刘志忠. 食管静脉曲张破裂出血内镜下治疗120例. 中国老年学杂志 2012; 32: 4775-4776

9 陈萍. 内镜下食管静脉结扎术治疗食管静脉曲张破裂出血67例分析. 山东医药 2011; 51: 69-70

10 朱艳萍, 赵芮, 蒋丹娜. 食管静脉曲张治疗硬化剂的选择及其性能评价. 中国组织工程研究与临床康复 2010; 14: 2245-2248

11 宋仁, 陈伟庆, 何璐, 梅浙川, 吴素华, 何松, 高健, 沈薇. 食管静脉曲张结扎术的疗效及其与肝功能的关系. 中华肝脏病杂志 2010; 18: 886-889

12 王庆治, 张帮杰, 王素娟. 急诊内镜套扎治疗急性食管静脉曲张破裂出血的疗效观察. 郑州大学学报(医学版) 2012; 47: 415-416

13 丁世华, 刘俊, 王建平, 张丽萍, 石定. 内镜套扎术联合β-受体阻滞剂预防肝硬化食管静脉曲张再出血的效果. 实用医学杂志 2010; 26: 1183-1184

14 张中琴. β受体阻滞剂预防肝硬化患者胃食管静脉曲张. 现代中西医结合杂志 2013; 22: 629-630

15 申道君, 李文华. 普奈洛尔预防门脉高压症初次消化道出血的临床研究. 中国基层医药 2009; 16: 2174

■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 对临床医师有很好的参考价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2698-2701
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

丙氨酰谷氨酰胺在食管癌术后的应用与护理

黄春珍, 王 芳, 许梦玫, 汤 琴, 刘丽英

■背景资料
食管癌是临床中常见疾病, 长期的治疗使得患者生活质量和机体免疫大大降低, 针对性的营养支持和护理能够提高患者术后的生活质量. 丙氨酰谷氨酰胺属于癌症患者术后常用的营养药物, 效果比较明显, 治疗中不良反应少. 同时, 通过针对性的护理措施实施, 较好的提高临床效果.

黄春珍, 王芳, 许梦玫, 汤琴, 刘丽英, 海口市人民医院 海南省海口市 570202
黄春珍, 主管护师, 主要从事临床护理工作.
作者贡献分布: 此课题设计及研究过程由黄春珍、王芳、许梦玫、汤琴及刘丽英共同完成; 数据分析及论文写作由黄春珍完成; 王芳指导及审阅.
通讯作者: 黄春珍, 主管护师, 570202, 海南省海口市人民大道43号, 海口市人民医院. huangchunzhen_hk@163.com
收稿日期: 2013-07-09 修回日期: 2013-08-07
接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-18

Clinical effect of alanyl-glutamine in patients with esophageal carcinoma after surgery

Chun-Zhen Huang, Fang Wang, Meng-Mei Xu, Qin Tang, Li-Ying Liu

Chun-Zhen Huang, Fang Wang, Meng-Mei Xu, Qin Tang, Li-Ying Liu, Haikou People's Hospital, Haikou 570202, Hainan Province, China
Correspondence to: Chun-Zhen Huang, Chief Nurse, Haikou People's Hospital, 43 Renmin Avenue, Haikou 570202, Hainan Province, China. huangchunzhen_hk@163.com
Received: 2013-07-09 Revised: 2013-08-07
Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To analyze the clinical effect of alanyl-glutamine in patients with esophageal cancer after surgery.

METHODS: Eighty patients with esophageal cancer who underwent surgical treatment at our hospital from January 2010 to December 2011 were randomly and equally divided into either an observation group or a control group. The control group was given conventional treatment, and the treatment group was treated with alanyl-glutamine and received strengthened nursing measures.

RESULTS: Compared with pre-treatment values, serum levels of albumin and prealbumin were significantly reduced one day after treatment in both the observation group and control group (all $P < 0.05$). Serum levels of albumin and prealbumin were significantly higher 8 d after treatment in the observation group than in the control group (both $P < 0.05$). Compared to preoperative data, nitrogen balance was improved 8 d after the treatment in both groups, and the improvement was more significant in the observation group ($P < 0.05$). The incidence of complications was significantly lower in the observation group than in the control group (2.5% *vs* 12.5%, $\chi^2 = 7.28$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Alanyl-glutamine shows a good clinical effect in patients with esophageal carcinoma after surgery. Strengthened nursing measures can effectively improve the overall effect.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal carcinoma; Glutamine; Application effect; Nursing

Huang CZ, Wang F, Xu MM, Tang Q, Liu LY. Clinical effect of alanyl-glutamine in patients with esophageal carcinoma after surgery. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2698-2701 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2698.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2698

摘要

目的: 探讨食管癌术后应用丙氨酰谷氨酰胺的临床效果与护理方法.

方法: 将我院2010-01/2011-12收录的80例食管癌术患者随机的分为观察组和对照组, 对照组40例患者术后给予常规治疗, 观察组40例患者术后应用丙氨酰谷氨酰胺治疗, 并加强针对性的护理.

结果: 观察组和对照组术后治疗1 d后较治疗前的血清白蛋白与前白蛋白有明显的降低, 数据的比较具有明显的差异(P<0.05), 统计学有意义; 观察组和对照组治疗8 d的血清白蛋白比较具有明显的差异(P<0.05), 有统计学意义. 观察组和对照组术后第8天负氮平衡较术前有效明显的改善, 且观察组改善效果明显的优于对照组的情况, 组间的数据比较具有明显的差异(P<0.05), 有统计学意义. 观察组术后并发

■同行评议者
许玲, 教授, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

症发生率为2.5%; 对照组的术后并发症发生率12.5%, 两组的数据比较具有明显的差异(χ^2 = 7.28, P<0.05), 有统计学意义.

结论: 临床中对于食管癌术后应用丙氨酰谷氨酰胺具有较好的应用效果, 并在实施过程中加强有效的护理配合, 从而提高整体效果.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管癌; 丙氨酰谷氨酰胺; 应用效果; 护理方法

核心提示: 食管癌术后应用丙氨酰谷氨酰胺效果显著, 有效的改善患者负氮平衡状况, 促进机体的恢复. 同时, 改善血清白蛋白和前白蛋白的含量, 提高免礼应答能力. 整个治疗无不良反应, 治疗安全性高.

黄春珍, 王芳, 许梦玫, 汤琴, 刘丽英. 丙氨酰谷氨酰胺在食管癌术后的应用与护理. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2698-2701 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2698.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2698

0 引言

食管癌为常见疾病, 具有较高的发病率, 严重的影响患者的生活质量. 临床中常采取手术治疗, 效果比较显著, 但术后的康复一直是临床医师关注的重点, 临床中常常给予患者西药进行缓解症状, 提高生活质量. 丙氨酰谷氨酰胺是应用食管癌术后的新型药物, 效果比较明显, 且不良反应也比较少, 针对性强[1]. 本文对海口市人民医院2010-01/2011-12收治的80例食管癌患者术后应用丙氨酰谷氨酰胺治疗的资料和护理方法进行分析, 探讨丙氨酰谷氨酰胺的应用效果, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本次研究选取海口市人民医院2010-01/2011-12收治的80例食管癌手术患者, 并将其随机的分为观察组和对照组, 对照组40例患者, 男21例, 女19例, 年龄56-78岁, 平均年龄66.3岁±2.3岁. 患者根据美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)分期: Ⅰ期患者10例, Ⅱ期患者15例, Ⅲ期患者15例. 腹部患者14例、胸部患者12例、颈部患者14例. 经左胸切口手术11例, 胸腹联合切口手术20例, 颈部+上腹部切口手术9例. 10例患者伴有肺气肿, 12例伴有高血压, 15例伴有支气管炎, 3例伴有糖尿病. 观察组40例患者, 男性0例, 女20例, 年龄57-79岁, 平均年龄65.7岁±2.7岁. AJCC临床分期: Ⅰ期患者11例, Ⅱ期患者15例, Ⅲ期患者14例. 腹部患者15例、胸部患者12例、颈部患者13例. 经左胸切口手术12例, 胸腹联合切口手术20例, 颈部+上腹部切口手术8例. 11例患者伴有肺气肿, 10例伴有高血压, 15例伴有支气管炎, 4例伴有糖尿病. 两组患者的基本资料、临床分期、手术方式和基础性疾病等比较无明显的差异(P>0.05), 统计学无意义, 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组40例患者在手术后给予全肠外的营养支持、葡萄糖和脂肪补充, 同时, 加强抗感染护理、输液护理和营养护理. 给予0.2 g/(kg·d)的氮+104.6 kJ/(kg·d)热量进行治疗[2]. 观察组的40例患者在对照组的治疗基础上给予丙氨酰谷氨酰胺治疗, 剂量为1.5-2.0 mL/(kg·d), 连续治疗1 wk. 并且加强本组患者术后的护理干预, 具有的操作方法如下: (1)时间配合: 在患者行食管癌术后应合理的控制丙氨酰谷氨酰胺的使用时间, 术后第1天给予丙氨酰谷氨酰胺进行治疗, 并且加强术前禁食和术后的肠胃减压等处理. 在使用的过程中应有效地避免感染, 一般丙氨酰谷氨酰胺的使用时间不超过3 wk; (2)药物配置: 护理人员在丙氨酰谷氨酰胺的配合过程中应严格的执行无菌操作技术. 另外, 需要详细的了解葡萄糖、氨基酸、脂肪乳和各种维生素以及微量元素与电解质等营养物的配合比例与程序, 确保药物的药性; (3)护理配合: 在患者给予丙氨酰谷氨酰胺治疗前, 可以和配伍的氨基酸或者含有氨基酸的溶液进行混合, 并将其与载体溶液一起静脉输注. 同时, 在临床治疗的过程中应加强中心静脉导管的检查, 避免发生移位和脱管以及堵塞与感染等并发症. 护理人员应每天进行严格的消毒, 及时的更换敷料, 避免局部感染. 同时, 护理人员应告知患者和陪护的人员进行保护好中心静脉导管, 确保输液正常进行. 在输液过程中出现的不良反应, 护理人员应及时的给予的处理, 避免病情的恶化[3].

1.2.2 并发症护理: 在患者治疗的过程中, 护理人员应密切的观察期病情的变化情况, 一般在输注的速度过快时, 患者很容易出现寒战和恶心以及呕吐等临床症状, 并及时的给予对症处理. 并且在实施的过程中, 有效的预防其他的并发症发生. 同时, 在治疗的过程中应加强肝脏功能

■研发前沿
在应用丙氨酰谷氨酰胺的治疗过程中, 重点需要了解丙氨酰谷氨酰胺的配置方法和过程以及各种营养物质的配合比例以及程序, 从而较好的提高配置的质量. 整个实施的过程中应加强质量的控制, 这也是临床中医护人员比较关注的重点问题之一.

■相关报道
临床中对于癌症患者术后应用丙氨酰谷氨酰胺治疗的报道也比较多, 多数的是应用重症患者治疗中. 本文从食管癌患者的角度进行实施丙氨酰谷氨酰胺治疗, 重点阐述了食管癌术后应用丙氨酰谷氨酰胺的治疗方法和护理配合要点, 为以后临床的治疗提供参考.

■**创新盘点**
本文对食管癌患者术后应用丙氨酰谷氨酰胺治疗具有较好的应用效果, 能够有效的改善患者负氮平衡状况. 这一结果与临床中李蕾等研究一致, 认为能够很好的改善负氮平衡. 同时, 本文通过针对性的护理实施, 从而有效的提高白蛋白与前白蛋白的状况, 促进机体的快速恢复.

表 1 观察组和对照组治疗前后血清白蛋白与前白蛋白比较 (mean ± SD, n = 40, g/L)

分组	时间	血清白蛋白	前白蛋白
对照组	术前	38.45 ± 3.24	239.54 ± 35.64
	术后1 d	33.24 ± 5.25[a]	170.33 ± 41.35[a]
	术后8 d	34.21 ± 5.33[c]	218.55 ± 38.38[c]
观察组	术前	39.15 ± 3.15	240.15 ± 35.11
	术后1 d	34.66 ± 5.02[a]	174.23 ± 42.64[a]
	术后8 d	37.56 ± 5.18	235.72 ± 39.23

[a]P<0.05 *vs* 同组术前; [c]P<0.05 *vs* 观察组术后8 d.

表 2 观察组和对照组治疗前后负氮平衡比较 (mean ± SD, n = 40, g/d)

分组	时间	负氮平衡
对照组	术前	−5.23 ± 2.14
	术后8 d	−4.45 ± 2.11[ac]
观察组	术前	−5.16 ± 2.05
	术后8 d	−2.44 ± 1.46[a]

[a]P<0.05 *vs* 术前; [c]P<0.05 *vs* 观察组术后8 d.

的检测, 从而避免肾功能不全的情况发生[4].

1.2.3 观察指标: 主要观察的临床治疗指标主要有: 白蛋白含量、前白蛋白含量、负氮平衡比较.

1.2.4 测定方法: 两组患者均在术前和术后的第2天和第8天进行静脉采血, 测定其血清白蛋白和前白蛋白以及24 h尿素氮含量, 并且计算氮平衡. 即: 氮平衡 = 摄入氮量-(24 h尿素氮+3).

统计学处理 本次研究的数据资料均采取SPSS19.0的统计学软件进行数据分析, 计量资料采取mean±SD进行表示, 并采取t进行检验, 计数资料采取χ^2进行检验, 以P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 血清白蛋白与前白蛋白比较 观察组和对照组术后治疗1 d较治疗前的血清白蛋白与前白蛋白水平有明显的降低, 差异有显著统计学意义(P<0.05); 观察组和对照组治疗8 d的血清白蛋白比较具有明显的差异(P<0.05)(表1).

2.2 负氮平衡比较 观察组和对照组术后第8天负氮平衡较术前有效明显的改善, 且观察组改善效果明显的优于对照组的情况, 组间的数据比较具有明显的差异(P<0.05)(表2) .

2.3 并发症比较 观察组术后出现切口感染1例, 并发症发生率为2.5%; 对照组的术后2例切口感染, 2例肺部感染, 1例尿道感染, 并发症发生率12.5%, 两组的数据比较具有显著差异(χ^2 = 7.28, P<0.05).

3 讨论

食管癌是临床中常见疾病之一, 临床中常常采取手术治疗, 但是术后的康复治疗是人们关注的重点[5-10].

丙氨酰谷氨酰胺是白色或者类白色的疏松块状物, 在人体内的具体作用如下几点: (1)能够有效的为蛋白质与DNA的合成提供充足的氮源[11]; (2)能够有效的清除氨代谢废物, 并维持其正常的机体生理和代谢功能; (3)有效的调节氮平衡, 并有效的维持患者机体平衡[12,13].

通过本次的临床研究分析, 临床中对于食管癌术后给予丙氨酰谷氨酰胺治疗是可行的, 能够有效的纠正患者体内血清白蛋白和前白蛋白的含量, 并有效的维持其体内氮平衡. 杨孝清等研究也显示, 食管贲门癌患者术后应用含丙氨酰-谷氨酰胺肠外营养支持能够有效的改善营养状况, 有效的纠正血清白蛋白量[14,15]. 同时, 在整个实施的过程中应加强针对性的护理措施, 从而更好的提高治疗效果. 通过此次的分析, 作者认为, 在护理的过程中应注意一下几个问题: (1)加强配置前的护理. 由于多数的患者处于负氮平衡的状况, 应加强饮食的护理, 改善患者的负氮平衡状况, 提高机体的免疫力, 更好的促进伤口的愈合; (2)配置过程中的护理. 护理人员应有效的了解配置的过程, 并积极的配合医师进行操作, 从而更好的提高配置的质量; (3)输注过程的护理. 护理人员应有效地掌握输注的方法, 并加强观察, 并且有效的注意中心静脉导管的情况, 避免其发生移位和脱管以及堵塞等情况发生. 每天需要进行穿刺部位的消毒, 避免感染.

总之, 食管癌术后应用丙氨酰谷氨酰胺具有

■**应用要点**
本文通过对食管癌患者术后应用丙氨酰谷氨酰胺治疗, 重点阐述了癌症患者在术后急需给予营养支持, 从而提高机体的免疫力. 进一步的说明, 在给予丙氨酰谷氨酰胺治疗过程中应配合针对性的护理措施实施, 从而提高整体的治疗效果. 整个治疗效果明显, 在临床中的应用前景广泛.

较好的应用效果, 并在实施过程中加强有效的护理配合, 从而提高整体效果.

4 参考文献

1 周静, 谢立群, 李轩, 陈小义, 陈莉, 郑艳敏, 李飞. 蛋白酶激活受体2激动剂对食管癌EC109细胞侵袭转移的促进作用. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1313-1319

2 沈晓咏, 吕帆真, 李文. 丙氨酰谷氨酰胺对食管癌患者术后机体免疫及营养代谢的影响. 中国临床医学 2007; 12: 211-212

3 陈超伍, 马洪升. 基质金属蛋白酶在食管癌组织中的表达及与微量元素含量之间的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1995-2000

4 赵劲松, 廖克龙, 杨康, 张伟, 熊刚, 李军, 谭文峰. 丙氨酰谷氨酰胺注射液对食管癌患者术后营养和免疫状况的影响. 中国临床营养杂志 2007; 11: 445-446

5 邓先锋, 黄海燕, 田敏, 吴志林. 急危重症患者应用谷氨酰胺营养支持治疗的观察与护理. 护理学杂志 2009; 11: 241-242

6 李蕾, 邸永梅, 赵霜. 丙氨酰谷氨酰胺双肽在胃肠道术后的应用与护理. 中国现代医药杂志 2009; 21: 677-678

7 魏立, 孙洋, 朱珍. 经鼻肠管早期肠内营养在食管癌术后患者中的应用. 中华现代护理杂志 2012; 18: 4227-4231

8 罗在琼, 郭志祥. 食管癌与贲门癌患者术后早期应用肠内营养的效果及护理. 中华现代护理杂志 2011; 17: 556-558

9 李荣, 张秀英. 老年食管癌术后患者早期肠内营养的观察与护理. 医学理论与实践 2012; 25: 2427-2428

10 Gu XH, Hao Y, Wang XL. Overexpression of heat shock protein 70 and its relationship to intestine under acute heat stress in broilers: 2. Intestinal oxidative stress. *Poult Sci* 2012; 91: 790-799 [PMID: 22399716]

11 朱月华, 丁玉琴, 张文祥, 王桂云, 顾小莉. 食管癌95例术后早期肠内营养的护理. 中国误诊学杂志 2011; 11: 5190-5190

12 Jukić T, Rojc B, Boben-Bardutzky D, Hafner M, Ihan A. The use of a food supplementation with D-phenylalanine, L-glutamine and L-5-hydroxytriptophan in the alleviation of alcohol withdrawal symptoms. *Coll Antropol* 2011; 35: 1225-1230 [PMID: 22397264]

13 莫旻龙, 何家贤, 石崛, 李炫杜, 陈丽华, 林滢. 丙氨酰谷氨酰胺在食管癌患者术后的应用. 中国医师进修杂志 2012; 35: 44-45

14 吴蔚, 何萍, 王海东, 杨康, 廖克龙. 联合应用谷氨酰胺和生长激素对食管癌患者术后蛋白代谢和免疫状况的影响. 中国肿瘤临床与康复 2007; 14: 380-383

15 Vander Heiden MG, Lunt SY, Dayton TL, Fiske BP, Israelsen WJ, Mattaini KR, Vokes NI, Stephanopoulos G, Cantley LC, Metallo CM, Locasale JW. Metabolic pathway alterations that support cell proliferation. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2011; 76: 325-334 [PMID: 22262476 DOI: 10.1101/sqb.2012.76.010900]

■同行评价

本文研究的主题新颖, 效果也比较显著, 适应性价值强.

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2702-2707
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

胆囊切除后胆汁反流对胃窦黏膜上皮细胞病理学影响

黎永军, 胡咏泉, 陈卫刚, 李 睿, 陈云昭, 田德安

■背景资料
胆囊结石在我国属常见疾病, 其治疗目前仍以手术切除胆囊为主. 胆囊切除术后患者常出现胆汁反流性胃炎的临床表现, 而胆汁反流对于胃黏膜的病理学影响目前报道很少. 本研究对胆囊结石患者胆囊切除术前后胆汁反流程度及胃窦黏膜病理学变化的观察提示: 胆汁反流与肠上皮化生及不典型增生的发生密切相关, 为临床工作中针对胆汁反流性胃炎的治疗, 以及胃癌前病变的预防及诊断提供了一定的理论依据.

■同行评议者
卢宁, 副主任医师, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科; 潘阳林, 副教授, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

黎永军, 陈卫刚, 李睿, 陈云昭, 石河子大学医学院第一附属医院 新疆维吾尔自治区石河子市 832008
胡咏泉, 新疆建设兵团九师医院消化内科 新疆维吾尔自治区额敏县 834601
田德安, 华中科技大学武汉同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030
黎永军, 副主任医师, 主要从事消化内科及内窥镜医疗、教学及科研工作.
作者贡献分布: 本文研究设计由黎永军完成; 病理切片阅片由陈云昭完成; 胡咏泉、陈卫刚、李睿及田德安共同参与本研究.
通讯作者: 田德安, 教授, 主任医师, 博士生导师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学武汉同济医院消化内科. deantiancn@163.com
收稿日期: 2013-06-07 修回日期: 2013-08-20
接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-09-18

Bile reflux after cholecystectomy affects histology of gastric antral epithelial cells

Yong-Jun Li, Yong-Quan Hu, Wei-Gang Chen, Rui Li, Yun-Zhao Chen, De-An Tian

Yong-Jun Li, Wei-Gang Chen, Rui Li, Yun-Zhao Chen, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Yong-Quan Hu, Department of Gastroenterology, Jiushi Hospital, Yuminxian 948002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
De-An Tian, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Correspondence to: De-An Tian, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefangda Road, Wuhan 430030, Hubei Province, China. deantiancn@163.com
Received: 2013-06-07 Revised: 2013-08-20
Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-09-18

Abstract
AIM: To investigate the effect of bile reflux after cholecystectomy on the histology of gastric antral mucosal cells.

METHODS: Forty patients with gallstones diagnosed by type-B ultrasound and CT underwent endoscopy before and three months after the excision of the gallbladder to observe the degree of bile reflux in the pyloric opening and the extent of duodenal bile retention. Biopsy forceps were used to take antral gastric mucosal tissues for histological examination. The patients then underwent re-examinations annually for three years to observe the degree of bile reflux and histological changes of gastric mucosal cells.

RESULTS: The percentage of patients without bile reflux in the pyloric opening was reduced from 65% before cholecystectomy to 7.5% after cholecystectomy, and the corresponding percentages were 27.5% to 15% for patients with a small amount of bile reflux, 7.5% to 55% for those with a medium amount of bile reflux, and 0% to 22.5% for those with a large amount of bile reflux. The percentage of patients with a small amount of bile retention was reduced from 80% before cholecystectomy to 10% after cholecystectomy, and the corresponding percentages were 20% to 67.5% for patients with a medium amount of bile retention, and 0% to 22.5% for those with a large amount of bile retention. Gastric mucosal cells showed significant histological changes after cholecystectomy. The percentage of patients with intestinal metaplasia increased from preoperative 7.5% to postoperative 62.5%, and the percentage of patients with atypia-hyperplasia increased from preoperative 5% to 45%.

CONCLUSION: Bile reflux increases significantly after cholecystectomy, which can cause bile reflux gastritis and gradually lead to intestinal metaplasia and atypia-hyperplasia.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Cholecystectomy; Bile reflux gastritis; Intestinal metaplasia; Atypia hyperplasia

Li YJ, Hu YQ, Chen WG, Li R, Chen YZ, Tian DA. Bile reflux after cholecystectomy affects histology of gastric antral epithelial cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2702-2707 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2702.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2702

摘要
目的: 提高对胆囊切除后引起胆汁反流对胃黏膜细胞影响因素的认识.

方法: 对40例经B超、CT检查确诊为胆囊结石行胆囊切除的患者, 应用胃镜对每一例患者胆囊切除前及切除后3 mo进行检查, 观察幽门口胆汁反流程度及十二指肠球部胆汁存留程度, 同时使用活检钳在胃窦部钳取胃黏膜做细胞组织学检查; 此后, 每年进行1次复查, 连续3年, 观察胆汁反流程度及胃黏膜细胞组织病理学变化.

结果: (1)胆囊切除前、后胃幽门口无胆汁反流患者的比例由65%降低至7.5%, 减少57.5%; 有少量反流的患者由术前的27.5%降低至15%, 减少12.5%; 有中量反流的患者由术前的7.5%增加至55%, 增加47.5%; 在术前无大量胆汁反流现象的患者, 术后出现了占比例22.5%的大量胆汁反流现象的患者, 增加率为100%; (2)十二指肠球部胆汁存留程度在胆囊切除前后比例发生显著变化: 有少量胆汁存留的患者由术前的80%降低至10%, 减少70%; 有中量存留的患者由术前的20%增加至67.5%, 增加57.5%; 术前无胆汁大量存留的患者, 出现了22.5%比例的胆汁存留现象的患者, 增加率为100%; (3)胃窦黏膜细胞在胆囊切除前、后组织病理学发生明显变化: 胃窦黏膜细胞发生肠化生的患者由胆囊切除前的7.5%增加至胆囊切除后的62.5%, 增加率45%; 不典型增生由胆囊切除前的5%增加至45%, 增加率40%.

结论: 胆囊切除后, 胆汁反流明显增加, 引起胆汁反流性胃炎, 逐渐导致胃黏膜细胞发生肠上皮化生、不典型增生改变等胃黏膜多阶段病变发生及发展.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胆囊切除; 胆汁反流胃炎; 肠化生; 不典型增生

核心提示: 本文对经B超、CT检查确诊为胆囊结石行胆囊切除的患者, 应用胃镜对每一例患者胆囊切除前及切除后进行检查, 观察幽门口胆汁反流程度及十二指肠球部胆汁存留程度, 同时使用活检钳在胃窦部钳取胃黏膜做细胞组织学检查, 观察胆汁反流程度及胃黏膜细胞组织病理学变化. 提高对胆囊切除后引起胆汁反流对胃黏膜细胞影响因素的认识.

黎永军, 胡咏泉, 陈卫刚, 李睿, 陈云昭, 田德安. 胆囊切除后胆汁反流对胃窦黏膜上皮细胞病理学影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2702-2707 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2702.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2702

0 引言

胆囊结石是临床上常见疾病, 其发生率约占我国总人口的7%, 并有逐步增高趋势[1]. 胆囊结石的治疗目前仍以手术切除胆囊为主, 但胆囊切除术后多数患者出现上腹胀满不适、烧心、口苦、恶心、呕吐等为特征的临床症候群, 又称胆汁反流性胃炎综合征[2]. 并不是胃镜观察下胃底黏液池内存留有胆汁就可以诊断胆汁反流性胃炎(bile reflux gastritis, BRG), 胆汁反流是BRG的先决条件, 必须伴有胃黏膜损害及病理诊断[3]. BRG的胃镜诊断标准为: 胃镜见黏液池呈黄色或黄绿色胆汁样, 胃黏膜上可见胆汁瘀斑、黏膜充血、水肿、质脆或糜烂, 呈牛肉红色. BRG主要病理学改变为: 黏膜下层水肿, 黏膜层血管扩张充血, 炎性细胞浸润[4]. 为探讨胆囊摘除术后胆汁反流程度及其对于胃窦部黏膜病理学的影响, 本研究对40例经B超、CT检查确诊为胆囊结石的患者, 在胆囊切除术前后行胃镜检查, 观察患者幽门及十二指肠球部胆汁反流量的变化及胆汁反流对胃窦部黏膜组织病理学的改变进行分析, 为进一步探索胆汁反流是否会增加胃黏膜病变提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 纳入标准: 收集2003-03/2009-09在我院就诊, 并经B超、CT检查确诊为胆囊结石并行胆囊切除手术患者40例, 年龄32-65岁, 平均年龄43.3岁. 40例患者均具有完整病历资料, 其中结石单发者11例, 直径0.7-3.0 cm; 多发者16例, 胆囊内有结石2-5枚不等, 直径0.4-2.0 cm; 泥沙充满型13例. 排除标准: 40例患者胆囊切除术前胃镜下钳取胃窦黏膜病理学检查均无肠化生/不典型增生且行幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)检测阴性.

1.2 方法

1.2.1 组织检查: 患者经B超、CT检查确诊为胆囊结石, 采用胃镜检查, 插入胃内后静置1 min, 观察胃内情况符合BRG的胃镜诊断标准的, 记录幽门口胆汁反流情况, 十二指肠球部胆汁存留程度, 同时用活检钳钳取胃窦部(距幽门5 cm范围)黏膜做细胞组织学检查[5]. 术后3 mo, 由同一胃镜操作医师进行胃镜检查, 同时钳取胃窦部黏膜做组织细胞学检查, 检查结果与前1次结果作对比; 之后连续3年, 每年进行1次胃镜检查及黏膜细胞组织学检查, 做好记录, 进行对比观察.

■研发前沿

胃黏膜上皮细胞肠化生及不典型增生属胃癌前病变, 胃癌是我国高发的恶性肿瘤. 胃癌根治的关键在于早期诊断, 而目前我国胃癌的早期诊断率明显低于发达国家. 胃黏膜上皮细胞重度不典型增生已成为早期胃癌最主要的存在形式, 如何发现及诊断重度不典型增生已逐渐成为早期胃癌诊断的热点及难点.

■相关报道
胆囊切除术后多数患者出现以上腹胀满不适、烧心、口苦、恶心、呕吐等为特征的胆汁反流性胃炎综合征，以及幽门口胆汁反流与十二指肠球部胆汁存留状况密切相关，均有相关报道. 而胆汁反流对于胃黏膜的病理学影响目前报道很少.

表 1 40例胆结石患者胆囊切除前后幽门口胆汁反流变化 *n*(%)

	无胆汁反流	少量胆汁反流	中量胆汁反流	大量胆汁反流
胆囊切除前	26(65)	11(27.5)	3(7.5)	–
切除后3 mo	8(20)	17(42.5)	12(30)	3(7.5)
切除后1年	4(10)	10(25)	19(47.5)	7(17.5)
切除后2年	3(7.5)	8(20)	20(50)	9(22.5)
切除后3年	3(7.5)	6(15)	22(55)	9(22.5)
变化率(%)	–57.5	–12.5	+47.5	+100

表 2 40例胆结石患者胆囊切除前、后十二指肠球部胆汁存留变化 *n*(%)

	少量胆汁存留	中量胆汁存留	大量胆汁存留
胆囊切除前	32(80)	8(20)	–
胆囊切除后3 mo	15(37.5)	20(50)	5(12.5)
胆囊切除后1年	7(17.5)	25(62.5)	8(20)
胆囊切除后2年	5(12.5)	2(65)	9(22.5)
胆囊切除后3年	4(10)	27(67.5)	9(22.5)
变化率(%)	–70	+47.5	+100

1.2.2 观察指标: (1)观察胆囊切除前、后不同时段幽门口胆汁反流量; (2)观察胆囊切除前、后不同时段十二指肠球部胆汁存留量; (3)观察胃窦部黏膜在胆囊切除前、后不同时段肠化生及不典型增生发生率.

1.2.3 判定指标: 幽门口胆汁反流量: 少量-胆汁在每次幽门关闭时反流在幽门口附近; 中量-胆汁反流至胃窦部; 大量-胆汁反流至胃体部. 十二指肠球部胆汁存留量: 少量-球部存在黄色胆汁泡沫; 中量-球部见较多的胆汁泡沫, 并有少量液体状胆汁; 大量-有较多的黄色液体状胆汁存留在球部[6]. 胃窦黏膜细胞组织学改变按病理学诊断标准判定, 将肠化生分为不完全性和完全性; 不典型增生分为轻度、中度及重度三种进行分析研究[7]. 胆汁反流少量、中量、大量符合有关文献根据黏液湖黄染程度及有无胆汁反流、黏膜糜烂程度将胆汁反流性胃炎划分的三级标准[8].

统计学处理 应用SPSSl2.0统计软件包对资料进行处理, 组间比较采用χ^2检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 幽门口的胆汁反流结果 在40例胆结石患者中, 胆囊切除前、后, 幽门口的胆汁反流结果: 胆囊切除3 mo后幽门口胆汁中-大量反流增多, 胆囊切除后1、2、3年胆汁中量反流比率较术前明显增多, 有统计学意义($P<0.05$). 胆囊切除后2、3年胆汁大量反流比率较术前明显增多, 有统计学意义($P<0.05$)(表1).

2.2 十二指肠球部的胆汁存留结果 在40例胆结石患者中, 胆囊切除前、后, 十二指肠球部的胆汁存留结果: 胆囊切除3 mo后十二指肠球部胆汁中-大量存留增多, 胆囊切除后1、2、3年胆汁中量存留比率较术前明显增多, 有统计学意义($P<0.05$). 胆囊切除后2、3年胆汁大量存留比率较术前明显增多, 有统计学意义($P<0.05$)(表2).

2.3 肠化生和不典型增生的结果 在40例胆结石患者中, 胆囊切除前、后, 肠化生和不典型增生的结果: 胆囊切除后1、2、3年肠化生及不典型增生比率较术前明显增多, 有统计学意义($P<0.05$, 表3).

2.4 幽门口胆汁反流与胃窦黏膜肠化生、不典型增生的关系 幽门口胆汁反流与胃窦黏膜肠化生、不典型增生呈正相关(图1, 2)

2.5 病理学检查 胃窦部黏膜肠化生及不典型增生病理学变化如图3所示.

3 讨论

已有研究表明, 胆囊具有贮存、浓缩、排放胆汁, 调节胆道压力等作用[9]. 当人体进食时, 胆囊开始收缩并排出胆汁进入十二指肠帮助消化食物中脂质成分. 节律性的胆囊收缩使十二指肠球部内胆汁的排入量较为恒定, 球部的压力亦适中[10]. 而当胆囊切除后, 胆囊的调节功

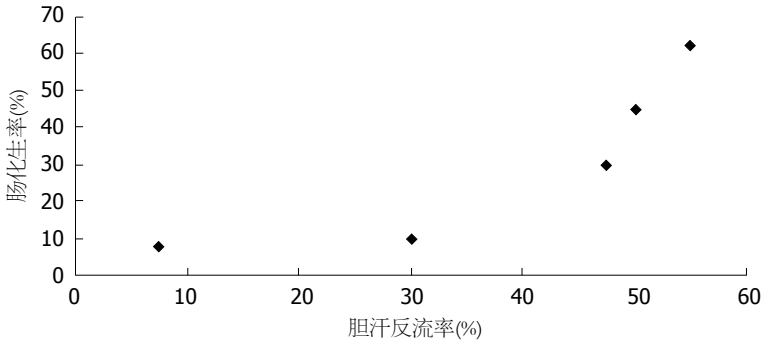


图 1 胆汁反流与胃窦黏膜肠化生呈正相关.

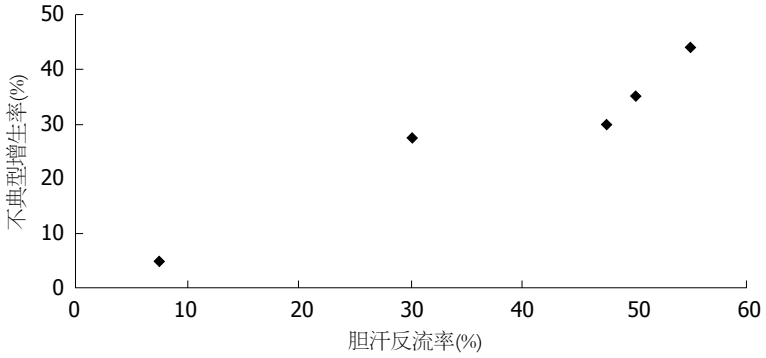


图 2 胆汁反流与胃窦黏膜不典型增生呈正相关.

表 3 40例胆结石患者胆囊切除前、后胃窦黏膜细胞组织学变化 *n*(%)

	肠化生		不典型增生		
	完全性	不完全性	轻度	中度	重度
胆囊切除前	3(7.5)	–	2(5)	–	–
切除后3 mo	4(10)	–	3(7.5)	–	–
切除后1年	11(27.5)	1(2.5)	6(15)	2(5)	–
切除后2年	16(40)	2(5)	10(25)	3(7.5)	1(2.5)
切除后3年	20(50)	5(12.5)	11(27.5)	5(12.5)	2(5)
变化率(%)	+42.5	+100	+22.5	+100	+100

能丧失, 肝脏合成胆汁排入十二指肠由间歇性和进餐相关的方式变成持续排出, 为胆汁反流提供了条件[11]; 胆囊切除术后血清胃泌素、胆囊收缩素、YY肽等胃肠道激素水平升高, 可直接影响胃-幽门-十二指肠协同运动, 十二指肠球腔内压力增高, 十二指肠液经幽门反流入胃成为可能[12]. 本研究表明: 胆囊切除前、后胃幽门口中量反流的患者由术前的7.5%增加至术后55%(P<0.05), 术后大量胆汁反流患者比例由术前无增加至22.5%(P<0.05). 十二指肠球部有中量胆汁存留的患者由术前的20%增加至67.5%(P<0.05), 术前无胆汁大量存留的患者, 术后出现22.5%比例(P<0.05). 说明幽门口胆汁反流程度与十二指肠球部胆汁存留状况密切相关, 这与以往研究相符合[13]. 造成十二指肠球部胆汁存留量增多的机制可能是胆囊切除手术过程中会造成胆总管不同程度的黏连, 相邻的十二指肠发生结构及形态的改变, 出现十二指肠扭曲和部分梗阻, 致使十二指肠球部胆汁存留逐渐增加, 十二指肠球内的压力也不断增加[14]. 与此同时, 十二指肠分泌的胰泌素、胆囊收缩素和胃窦分泌的胃泌素之间平衡失调导致幽门括约肌肌力下降, 而造成幽门松弛, 幽门括约肌的闸门作用消失, 为胆汁反流打开了渠道, 形成十二指肠液(主要成分为胆汁)反流进入胃幽门口.

本研究显示: 胆囊切除术后幽门口胆汁反流量与胃窦黏膜肠化生及不典型增生均呈正

■创新盘点

本研究对胆囊结石患者胆囊切除术前后胆汁反流量及十二指肠胆汁存留量进行胃镜下观察记录, 结合组织活检观察胃窦黏膜病理学变化, 定量分析胆汁反流与胃黏膜病理学改变的关系鲜见类似报道.

■应用要点
本文通过对胆囊结石患者胆囊切除术前、后胆汁反流程度及胃窦黏膜病理学变化的观察对比提示: 胆汁反流与肠上皮化生及不典型增生的发生密切相关, 为临床工作中针对胆汁反流性胃炎的治疗, 以及胃癌前病变的预防提供了一定的理论依据.

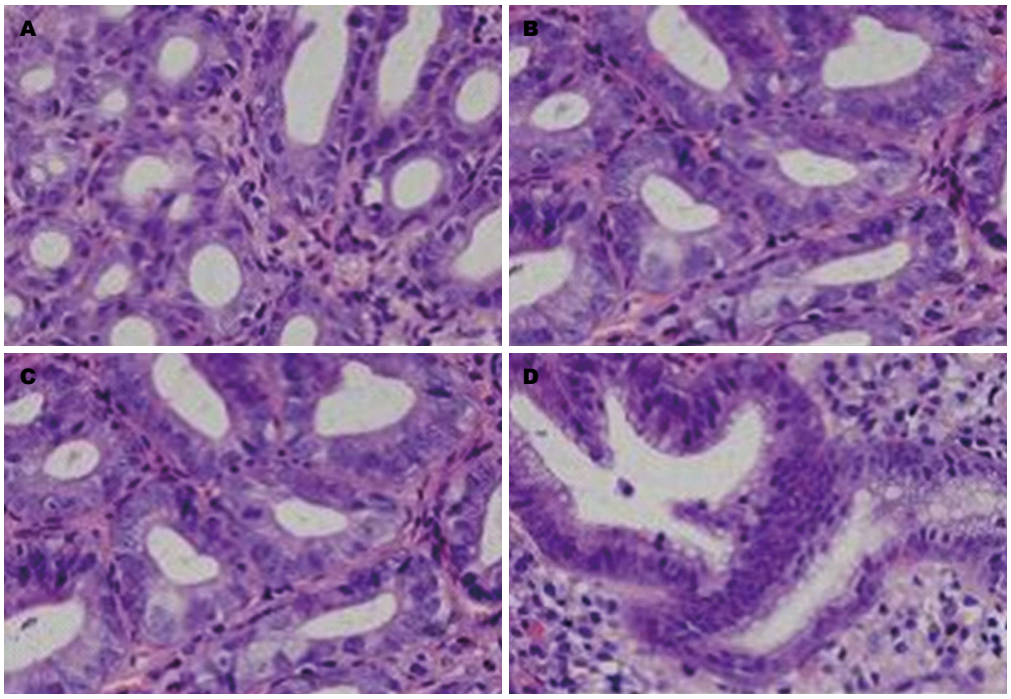


图 3 胃窦部黏膜肠化生及不典型增生病理学图(×400). A: 肠上皮化生; B: 轻度不典型增生; C: 中度不典型增生; D: 重度不典型增生.

相关, 且随时间的延长胃窦黏膜肠化生及不典型增生率逐渐增加. 其原因可能为胆汁中含有大量胆酸、肠液、胰液使胃黏液屏障受损, 胆汁酸渗透、氢离子弥散、胰酶消化等因素影响到胃黏膜上皮细胞的能量代谢, 在长期有害物质作用下产生细胞坏死、腺体萎缩、肠化生等一系列改变. 胃黏膜有很强的再生能力, 坏死的胃黏膜细胞在被再生细胞替代过程中由于胆汁影响细胞的能量代谢, 再生细胞出现细胞核异常分裂, 细胞排列结构紊乱, 最终导致胃黏膜的不典型增生. 重度不典型增生为癌前病变, 可能导致胃癌的发生. 胆汁反流所导致的胃黏膜的肠化生及不典型增生应引起医务工作者的高度重视.

总之, 本研究通过对胆囊结石患者胆囊切除术前、后胆汁反流程度及胃窦黏膜病理学变化的观察对比提示: 胆囊切除术后幽门口胆汁反流率、胃窦黏膜肠上皮化生率、不典型增生率均明显升高. 胆汁反流与肠上皮化生及不典型增生的发生密切相关, 为临床工作中针对胆汁反流性胃炎的治疗, 以及胃癌前病变的预防提供了一定的理论依据. 针对胆汁反流所导致的胃黏膜的损害, 治疗上应该选用胆酸络合剂、促胃动力剂、胃黏膜保护剂、抑酸剂治疗, 可起到缓解临床症状, 降低癌前病变发生发展的作用.

4 参考文献

1 范一宏, 吕宾, 黄斌, 杜卫东, 孟立娜, 项柏康. 胆囊切除术前后胃电图、血胃肠激素、十二指肠胃反流的变化. 中华消化杂志 2009; 22: 373-374
2 刘明东, 徐肇敏. 胆汁反流性胃炎的病因探讨. 中华消化内镜杂志 2008; 20: 243-246
3 侯玲, 时吉庆, 营留建, 夏明银, 罗伟, 秦红军, 熊荣碧. 胆囊切除术后胆汁反流性胃炎分析. 中国内镜杂志 2003; 9: 77-78
4 邱玉瑾, 彭淑英, 毛福帧, 单晓宇. 水负荷试验联合B超在评价胆汁反流性胃炎中的价值. 胃肠病学和肝病学杂志 2008; 17: 727-728
5 魏艳翎、毛云高、吕淑英. 胃镜下胆汁反流性胃炎的资料分析. 吉林医学 2008; 29: 1382-1383
6 中华医学会消化内镜学分会. 慢性胃炎的内镜分型分级标准及治疗的试行意见. 中华消化内镜杂志 2004; 21: 77-78
7 田峰. 胆汁反流与胃黏膜肠化生以及CDX2表达的关系. 山东医学高等专科学校报 2009; 31: 411-413
8 赵少宁. 胃炎饮对胆汁反流性胃炎模型大鼠胃粘膜自由基代谢和炎性细胞因子的影响. 河北医科大学学报 2008; 2: 433-435
9 Dixon MF, Mapstone NP, Neville PM, Moayyedi P, Axon AT. Bile reflux gastritis and intestinal metaplasia at the cardia. *Gut* 2002; 51: 351-355 [PMID: 12171955 DOI: 10.1136/gut.51.3.351]
10 Dowall JE, Willis P, Prescott R, Lamonby S, Lynch DA. Cell proliferation in type C gastritis affecting the intact stomach. *J Clin Pathol* 2000; 53: 784-787 [PMID: 11064674 DOI: 10.1136/jcp.53.10.784]
11 Azuma H, Ehata S, Miyazaki H, Watabe T, Maruyama O, Imamura T, Sakamoto T, Kiyama S, Kiyama Y, Ubai T, Inamoto T, Takahara S, Itoh Y, Otsuki Y, Katsuoka Y, Miyazono K, Horie S. Effect of Smad7 expression on metastasis of mouse mammary carcinoma JygMC(A) cells. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1734-1746 [PMID: 16333029 DOI: 10.1093/jnci/dji399]

12 Frank M, Byers and Paul H, Jordan R. Effect of bile upon Gastric mucosa. *Experimental Biology and Medicine* 2010; 110: 864-866
13 Erbil Y, Türkoglu U, Barbaros U, Balik E, Olgac V, Kaya H, Cimşit B. Oxidative damage in an experimentally induced gastric and gastroduodenal reflux model. *Surg Innov* 2005; 12: 219-225 [PMID: 16224642 DOI: 10.1177/155335060501200306]
14 Lauwers GY. Gastritis: beyond Helicobacter pylori. *Int J Surg Pathol* 2010; 18: 28S-32S [PMID: 20484257 DOI: 10.1177/1066896910366462]

■**同行评价**
本文研究目的明确, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 闫晋利

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位胃肠病学和肝病学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学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学领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务.

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2708-2716
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎疗效的系统评价

赵振飞, 高鸿亮, 姚 萍

■背景资料
胆汁反流性胃炎是消化系常见病、多发病, 近年来其检出率呈逐年上升趋势, 且由于其病因较多、影响因素复杂, 增加了治疗难度, 流行病学调查发现其与胃癌呈正相关, 故引起越来越多的重视, 现传统治疗方案效果不佳且无统一标准, 病情易反复, 因此探索有效的治疗胆汁反流性胃炎的方案具有重要临床意义.

赵振飞, 高鸿亮, 姚萍, 新疆医科大学第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
赵振飞, 硕士, 主要从事胆汁反流性胃炎临床治疗方面的研究.
作者贡献分布: 此课题由姚萍设计; 研究过程由姚萍、赵振飞及高鸿亮操作完成; 数据分析由赵振飞与高鸿亮完成; 论文写作与修改由赵振飞、高鸿亮及姚萍完成.
通讯作者: 姚萍, 教授, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院消化内科.
pingyaozh@sina.com
电话: 0991-4362608
收稿日期: 2013-06-13 修回日期: 2013-08-04
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-18

Ursodeoxycholic acid for treatment of bile reflux gastritis: A systematic review

Zhen-Fei Zhao, Hong-Liang Gao, Ping Yao

Zhen-Fei Zhao, Hong-Liang Gao, Ping Yao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to: Ping Yao, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. pingyaozh@sina.com
Received: 2013-06-13 Revised: 2013-08-04
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-18

Abstract
AIM: To systematically evaluate the efficacy of ursodeoxycholic acid (UDCA) in the treatment of bile reflux gastritis.

METHODS: We searched PubMed, Cochrane Library, Chinese Academic Journal (CJFD), Chinese Biomedical Literature Database (CBM), Chinese Journal Full-Text Database (CNKI), Wanfang database, and VIP database (until December 2012) to collect randomized controlled trials (RCTs) that evaluated the efficacy of UDCA in the treatment of bile reflux gastritis. Other relevant journals were also searched manually. Literature screening, quality assessment and data extraction were conducted by two reviewers according to inclusion and exclusion criteria. Meta-analyses were conducted using RevMan 5.0.

RESULTS: A total of 17 RCTs involving 1365 patients were identified. According to the results of meta-analyses, trial groups was better than control groups in terms of overall efficacy (OR = 4.16, 95% CI: 2.68-6.46, P < 0.00001), rate of clinical symptom remission (OR = 4.99, 95% CI: 2.71-9.16, P < 0.00001) and cure rate (OR = 1.92, 95% CI: 1.24-2.99, P = 0.004). In terms of improvement of mucosal inflammation revealed by gastroscopy, the UDCA + PPI + prokinetic drug group was better than the control group (OR = 4.45, 95% CI: 2.04-9.69, P = 0.0002), but the groups of UDCA + prokinetic drug + mucosal protective drug (P = 0.13) and UDCA + prokinetic drug (OR = 2.34, 95% CI: 0.78-6.98, P = 0.13) showed no significant difference compared to the control group. Six RCTs reported adverse effects and the UDCA group did not report adverse events.

CONCLUSION: Our results show that UDCA is much more effective in the treatment of bile reflux gastritis than control drugs. However, there is a moderate risk of bias due to methodological quality problems in all 17 included RCTs. More strictly-designed, large-scale, high-quality, multi-centered RCTs are needed to confirm this result.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Bile reflux gastritis; Ursodeoxycholic acid; Randomized controlled trials; Meta-analysis

Zhao ZF, Gao HL, Yao P. Ursodeoxycholic acid for treatment of bile reflux gastritis: A systematic review. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2708-2716
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2708.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2708

摘要
目的: 系统评价熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)治疗胆汁反流性胃炎的疗效.

方法: 计算机检索Pubmed、Cochrane图书馆、中国期刊全文数据库(Chinese Journal Full-Text Database, CJFD)、中国生物医学

■同行评议者
彭宗根, 研究员, 中国医学科学院医药生物技术研究所病毒室

文献数据库(Chinese BioMedical Literature Database, CBM)、中国知网全文期刊数据库(China National Knowledge Internet, CNKI)、万方数据库、维普数据库(截止2012-12), 并手工检索所有纳入文献的参考文献, 收集熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎的随机对照试验(randomized controlled trial, RCT), 由2位评价者按照纳入和排除标准筛选文献、提取资料并行方法学质量评价, 然后采用RevMan5.0软件对数据进行Meta分析.

结果: 共纳入17篇RCT, 共1365例患者, Meta分析结果: UDCA组在综合疗效(OR = 4.16, 95%CI: 2.68-6.46, P<0.00001)、临床症状缓解率(OR = 4.99, 95%CI: 2.71-9.16, P<0.00001)以及治愈率(OR = 1.92, 95%CI: 1.24-2.99, P = 0.004)、临床症状积分改变方面均优于对照组, 两组差异均有统计学意义. 在胃镜下黏膜组织炎症改善情况方面, UDCA+质子泵抑制剂+促胃动力药物组优于对照组, 两组差异有统计学意义(OR = 4.45, 95%CI: 2.04-9.69, P = 0.0002), 但UDCA+促胃动力药物+胃黏膜保护剂组(P = 0.13)与UDCA+促胃动力药物组(OR = 2.34, 95%CI: 0.78-6.98, P = 0.13)尚不足以证明UDCA组疗效优于对照组, 差异无统计学意义. 6篇RCT提及了不良反应, UDCA组未报道不良反应事件.

结论: 现有证据表明, UDCA在治疗胆汁反流性胃炎上有一定疗效, 但由于本文纳入的研究在方法质量学方面还存在不足之处, 可能影响到结果的真实性, 所以需要更多设计严谨、大样本、多中心的随机对照临床试验来进一步证实其疗效.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胆汁反流性胃炎; 熊去氧胆酸; 随机对照; Meta分析

核心提示: 近年来越来越多的文献报道使用熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)治疗胆汁反流性胃炎取得较好疗效, 但多为小样本、单中心的研究, 缺乏多中心随机对照试验及循证医学客观证据对其提供有力证明, 本文通过循证方法对纳入随机对照试验(randomized controlled trial)进行系统合并分析, 客观地去评价UDCA治疗胆汁反流性胃炎的疗效, 以期为其临床应用提供客观依据.

赵振飞, 高鸿亮, 姚萍. 熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎疗效的系统评价. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2708-2716

URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2708.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2708

0 引言

胆汁反流性胃炎为消化系统常见病之一, 约占胃炎的12.3%[1], 其发病机制较复杂, 目前尚不明确, 考虑主要为肠液反流引起多因素协同的作用下导致严重的临床表现及胃黏膜的损伤, Dewar等[2]观察胃内胆汁酸浓度在胃溃疡患者显著增加, 提示其为引起胃溃疡发生重要因素. 某些动物试验研究显示, 胆汁反流还有明显的致癌作用, 其机制尚不明确, 考虑与患者胃内革兰氏阴性需氧菌的过生长有关. Armstrong等[3]、Sullivan等[4]研究认为单纯胆汁酸并不引起胃黏膜损害, 需要在胃液参与下才引起胃黏膜炎性损伤, 现临床上治疗主要采用促胃动力及胃黏膜保护剂等治疗, 且存在治疗不彻底、易复发等特点, 仍不是理想的治疗方案. 近年来, 有动物研究[5]表明UDCA可以改变胆汁中胆汁酸的成分, 预防实验性胆汁反流性胃炎的发生. 该药是一种可在肝脏中合成的内源性胆汁酸, 可以相对减少亲脂性、去污剂样毒性胆汁酸的生成, 减少胆酸对胃黏膜屏障的破坏, 有效改善患者临床症状及胃镜下黏膜炎性变, 但多数研究为小样本随机对照试验, 结论有待于进一步证实, 本研究的目的是为了系统评价熊去氧胆酸对胆汁反流性胃炎的疗效, 从而为其临床治疗提供参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料 计算机检索Pubmed、Cochrane图书馆、中国期刊全文数据库(Chinese Journal Full-Text Database, CJFD)、中国生物医学文献数据库(Chinese BioMedical Literature Database, CBM)、中国知网全文期刊数据库(China National Knowledge Internet, CNKI)、万方数据库、维普数据库(所有检索均截止2012-12), 用Google Scholar、Medical Martix等搜索引擎查找相关文献, 追查已纳入文献的参考文献, 若文章数据报道不详或相关资料缺乏, 通过邮件与作者进行联系. 中文检索词: 熊去氧胆酸、胆汁反流性胃炎、碱性反流性胃炎、优思弗、随机对照试验、随机、对照. 英文检索词: ursodeoxycholic acid、bile reflux gastritis、alkaline reflux gastritis、random、control、RCT. 设计类型: 熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎的随机对照试验,

■研发前沿
熊去氧胆酸是一种二羟基胆酸, 在人类总胆汁中占3%, 服用后胆汁中有大量的熊去氧胆酸排出, 使脱氧胆酸和石胆酸的浓度相对减少, 通过改变胆汁内不同胆酸的比例, 相对地减少亲脂性、去污剂样的毒性胆汁酸的生成, 以减少对胃黏膜屏障的破坏, 具有疗效高、针对性强、不良反应少等特点, 或许可以为治疗胆汁反流性胃炎提供一个更好的选择.

■应用要点
通过本研究我们得知, 熊去氧胆酸在改善胆汁反流性胃炎症状有一定疗效, 且不良反应少, 这为胆汁反流性胃炎的治疗拓展了新的方向, 从而也可以更好地去指导临床实践, 造福患者.

无论是否采用分配隐藏或盲法. 研究对象: 胆汁反流性胃炎患者, 试验所纳入的患者年龄、性别、病例来源不限. 诊断标准符合卫生部制定的胆汁反流性胃炎诊断标准[6], 或符合以下2个或2个以上标准时诊断成立: (1)上腹和/或胸骨后持续性灼烧痛, 餐后加剧, 腹胀, 嗳气、口苦、呕吐胆汁样黄水; (2)内镜下见胃内胆汁存在, 有胆汁斑, 幽门口胆汁反流; (3)内镜病理学显示: 黏膜糜烂、出血、间质水肿、血管扩张, 程度不一(一般取胃窦小弯侧黏膜); (4)胃液pH≥3.0(通过胃镜活检孔插管抽取胃液10 mL, 采用精密pH试纸检测, 排除剧烈呕吐时胃液). 排除标准: (1)仅为描述性研究, 未设立对照组; (2)重复发表及未获得全文的文献; (3)UDCA联合其他药物与安慰剂的随机对照试验, UDCA联合其他药物与UDCA的随机对照试验; (4)动物实验及非原始文献; (5)样本含量小(n<10).

1.2 方法

1.2.1 干预措施: 治疗组给予UDCA联合质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)或促胃动力药或胃黏膜保护剂(UDCA与以上3类药物联合方式不限、剂量、用药方式、给药次数以及疗程不限), 对照组干预措施为不包括UDCA的其他药物组合.

1.2.2 结局指标: 主要指标: 综合疗效、临床症状缓解率、胃镜下黏膜组织炎症改善情况、治愈率. 其他: 临床症状积分变化、幽门螺杆菌感染检测率、不良反应. 总有效率 = (治愈人数+显效人数+有效人数)/总人数, 未提及治愈率的文献, 其总有效率 = (显效人数+有效人数)/总人数. 其中综合疗效须将临床疗效与胃镜征象结合起来作为疗效判定, 治愈率以胃镜征象为准, 临床疗效用有效率表示或用其他方式表示者尽量还原成本研究所需要的格式加入本统计.

1.2.3 资料提取: 由2位评价员对纳入文献进行资料提取, 首先各自独立阅读文献题目及摘要, 若是随机对照试验并出现随机字样的文献则阅读全文, 提取内容包括第一作者、发表年份、干预措施、疗程以及临床疗效等, 评价员对最后结果进行交叉核对, 如产生分歧, 通过讨论或由第3位评价员解决.

1.2.4 纳入研究质量评价: 文献质量评价参考Cochrane系统评价员手册4.2.6版推荐的偏倚风险的评价工具对RCT的质量进行评价.

统计学处理 使用Revman5.0版软件进行数据统计分析, 以OR及其95%CI为效应量, 首先对纳入研究行异质性检验, 当P>0.1、I^2<50%时, 考虑研究结果有同质性, 用固定效应模型分析, 若P<0.1、I^2>50%, 则需分析异质性原因, 按照设计方案、药物剂量、用药时间等因素的不同行亚组分析查找异质性原因. 若研究间有统计学异质性而无临床异质性, 采用随机效应模型分析以控制混杂因素, 降低异质性程度. 若研究结果间异质性过大或异质性来源不明时行描述性分析. 当纳入研究的方法学质量不一而导致明显统计学异质性时, 可剔除低质量研究行敏感性分析. 通过漏斗图了解所纳入的研究是否存在发表偏倚. 如计数资料则采用OR及其95%CI作为效应量, 计量资料采用加权均数差及其95%CI作为效应量.

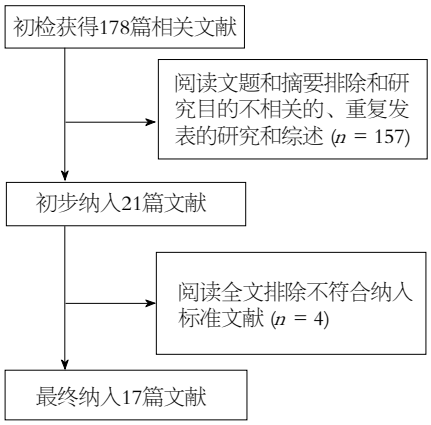


图 1 文献纳入.

2 结果

2.1 文献检索 最终纳入17项研究[7-23], 包括1365例患者(图1), 纳入研究的一般情况如表1所示.

2.2 纳入研究的质量评价 本研究所纳入的17篇RCT中, 2篇[10,13]应用了随机数字表分配方法, 1篇[17]按入院顺序随机分配, 其余研究虽标明“随机”, 但并未交代具体随机方法, 所有研究均未报道盲法以及描述分配隐藏及失访情况, 未行ITT分析, 4篇[9-11,23]无分组后患者的基线情况报道, 所有文献评分均为C级别(表2).

2.3 统计分析结果

2.3.1 综合疗效: 纳入的17项RCT研究中, 8项RCT[7,8,10,13,14,18,19,23]报道了综合疗效(均以临床疗效与镜下疗效结合作为疗效评价标准), 各研究间存在一定临床异质性, 分别以干预措施不同做亚组分析, Meta分析结果如下(图2): (1)UDCA+PPI+促胃动力药 *vs* PPI+促胃动力药组: 纳入3项RCT[13,14,18], 各研究间无统计学异

表 1 大鼠胰腺组织光镜下病理学评分(mean ± SD)

纳入研究	病例数 试验组/对照组	年龄(岁) 试验组/对照组	干预措施 试验组/对照组	干预措施 剂量(mg)及用药方法	疗程(wk)	结局指标
王占军[7]	90/59	40.9/41.3	UDCA+莫沙必利/莫沙必利	250 mg, qd, po	4	1
常兴亚[8]	31/31	34.5	UDCA+莫沙必利/莫沙必利	250 mg, qd, po	8	1
杨营军等[9]	56/56	–	UDCA+莫沙必利/莫沙必利	250 mg, qd, po	8	2、3、5
许晓瑛[10]	40/40	40.5 ± 3.6/40.3 ± 3.5	UDCA+莫沙必利/铝碳酸镁+莫沙必利	250 mg, qd, po	6	1
彭伟等[11]	52/52	–	UDCA+多潘立酮/多潘立酮	250 mg, qd, po	8	2、3、5
杨兵等[12]	15/15	21–53	UDCA+多潘立酮/多潘立酮	250 mg, qd, po	4	2、3
卢华君等[13]	37/29	6–15	UDCA+奥美拉唑+多潘立酮/奥美拉唑+多潘立酮	10–15 mg/(kg · d), po	4	1
朱锦生等[14]	44/40	37.2 ± 11.7/36.9 ± 12.3	UDCA+奥美拉唑+多潘立酮/奥美拉唑+多潘立酮	250 mg, qd, po	4	1
陈淮军[15]	36/34	25–68	UDCA+奥美拉唑+莫沙必利/奥美拉唑+莫沙必利	250 mg, qd, po	4	2、3
刘晓建[16]	48/48	37.2 ± 11.7/38.1 ± 10.2	UDCA+奥美拉唑+莫沙必利 / 奥美拉唑+莫沙必利	100 mg, tid, po	4	2、3
李华铭等[17]	33/33	32.81 ± 11.10/32.02 ± 11.14	UDCA+埃索美拉唑+莫沙必利/埃索美拉唑+莫沙必利	250 mg, qd, po	4	2、3、4
谢晶[18]	54/50	41.8 ± 12.4/42.5 ± 12.9	UDCA+奥美拉唑+替普瑞酮+伊托必利/奥美拉唑+替普瑞酮+伊托必利	250 mg, qd, po	4	1、3、4
韩元才[19]	108/110	14–75	UDCA+莫沙必利+铝碳酸镁/莫沙必利+铝碳酸镁	250 mg, qd, po	4	1、4
周磊等[20]	22/24	38.2/40.3	UDCA+莫沙必利+铝碳酸镁/莫沙必利+铝碳酸镁	250 mg, qd, po	4	2、5
张春燕[21]	39/39	40.28 ± 11.59/41.36 ± 12.64	UDCA+莫沙必利+铝碳酸镁/莫沙必利+铝碳酸镁	250 mg, qd, po	4	2、4
张丽等[22]	47/47	–	UDCA+莫沙必利+铝碳酸镁/莫沙必利+铝碳酸镁	250 mg, qd, po	4	2、3
杨林松等[23]	28/27	36–75	UDCA+莫沙必利+铝碳酸镁/莫沙必利+铝碳酸镁	250 mg, qd, po	4	1、4、5

1: 综合疗效; 2: 临床症状总体疗效; 3: 胃镜下黏膜组织炎症改善情况; 4:治愈率; 5: 其他.

■同行评价
本文统计方法合理, 对临床治疗胆汁反流性胃炎有一定的指导作用.

质性(I^2 = 0%, P = 0.99), 采用固定效应模型进行Meta分析, 结果显示两组在综合疗效上的差异有统计学意义(OR = 4.01, 95%CI: 1.92-8.35, P = 0.0002), UDCA组综合疗效优于对照组; (2)UDCA+促胃动力药 *vs* 促胃动力药组: 纳入3项RCT[7,8,10], 各研究间无统计学异质性(I^2 = 0%, P = 0.80), 采用固定效应模型进行Meta分析, 结果显示两组在综合疗效上的差异有统计学意义(OR = 4.43, 95%CI: 1.97-9.97, P = 0.0003), UDCA组综合疗效优于对照组; (3)UDCA+促胃动力药+胃黏膜保护剂 *vs* 促胃动力药+胃黏膜保护剂组: 纳入2项RCT[19,23], 各研究间无统计学异质性(I^2 = 0%, P = 0.84), 采用固定效应模型进行Meta分析, Meta分析结果显示两组在综合疗效上的差异有统计学意义(OR = 4.11, 95%CI: 1.95-8.68, P = 0.0002), UDCA组综合疗效优于对照组.

2.3.2 临床症状缓解率: 9个RCT研究[9,11,12,15-17,20-22]报道了临床症状缓解率, 亚组分析结果(图3): (1)UDCA+PPI+促胃动力药 *vs* PPI+促胃动力药组: 纳入3项RCT[15-17], 各研究间无统计学异质性(I^2 = 0%, P = 0.55), 采用固定效应模型合并效应量, 结果显示两组差异有统计学意义(OR = 4.75, 95%CI: 1.72-13.15, P = 0.003), UDCA组疗效优于对照组; (2)UDCA+促胃动力药 *vs* 促胃动力药组: 纳入3项RCT[9,11,12], 各研究间无统计学异质性(I^2 = 0%, P = 0.99), 采用固定效应模型行Meta分析, 结果显示两组差异有统计学意义(OR = 3.52, 95%CI: 1.18-10.45, P = 0.02), UDCA组疗效优于对照组; (3)UDCA+促胃动力药+胃黏膜保护剂 *vs* 促胃动力药+胃黏膜保护剂组: 纳入3项RCT[20-22], 各研究间无统计学异质性(I^2 = 4%,

表 2 纳入研究的方法质量学评价

纳入研究	基线相似	随机分配	盲法应用	隐藏分组	失访报道	ITT分析	质量等级
王占军[7]2011	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
常兴亚[8]2010	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
杨营军等[9]2010	否	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
许晓瑛[10]2011	否	是	不清楚	不清楚	无	无	C
彭伟等[11]2009	否	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
杨兵等[12]2005	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
卢华君等[13]2011	是	是	不清楚	不清楚	无	无	C
朱锦生等[14]2009	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
陈淮军[15]2011	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
刘晓建[16]2011	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
李华铭等[17]2010	是	是	不清楚	不清楚	无	无	C
谢晶[18]2011	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
韩元才[19]2012	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
周磊等[20]2011	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
张春燕[21]2012	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
张丽等[22]2012	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
杨林松等[23]2009	否	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C

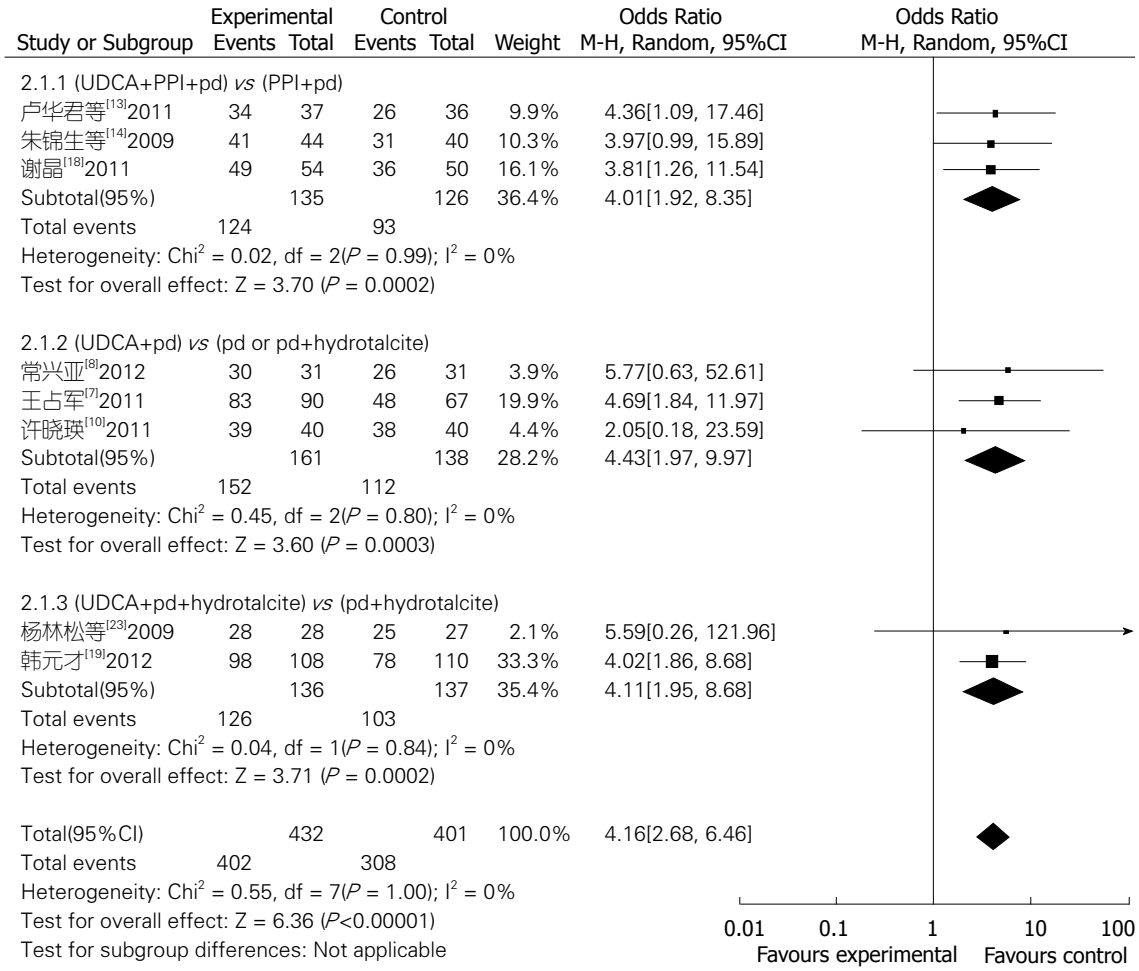


图 2 综合疗效比较的Meta分析. UDCA: 熊去氧胆酸; PPI: 质子泵抑制剂.

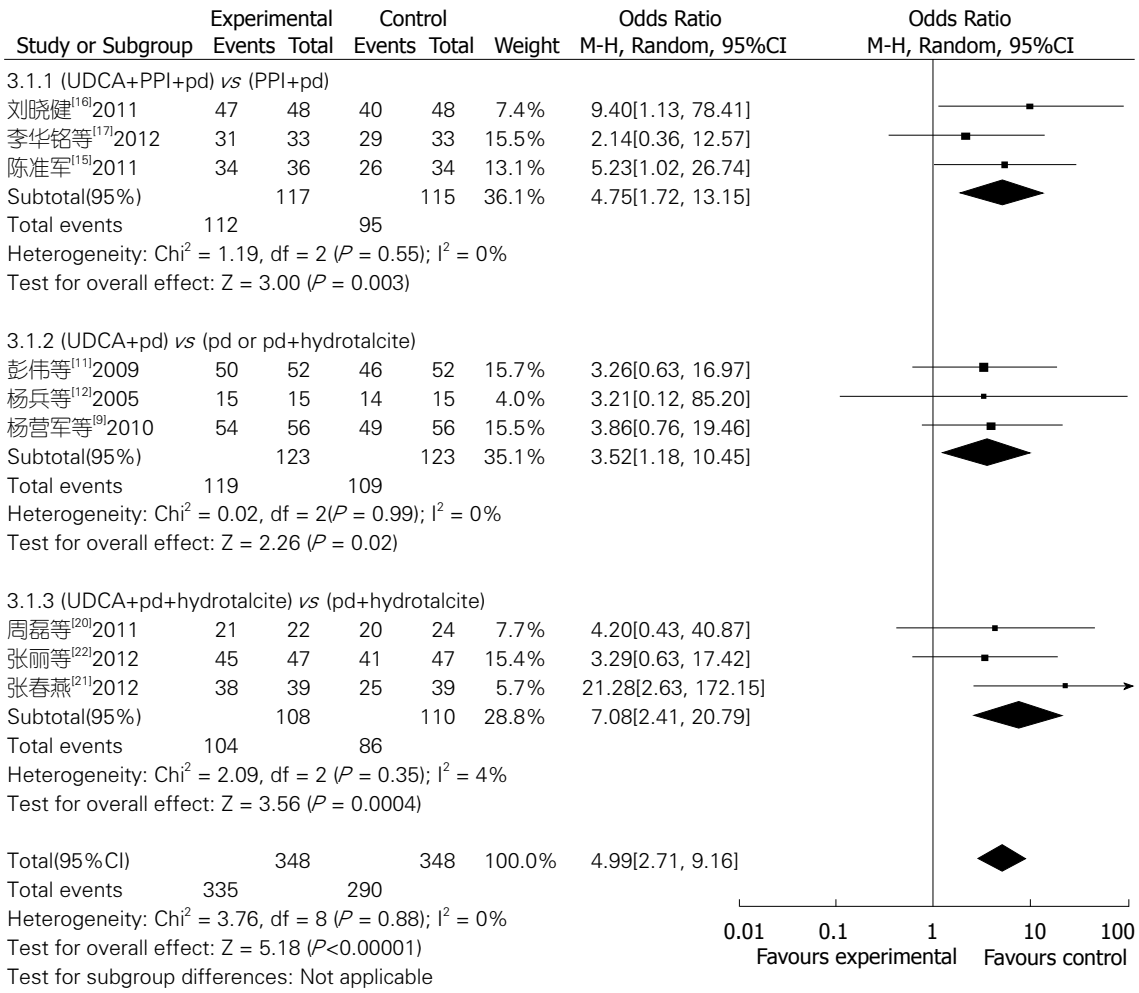


图 3 临床症状缓解率比较的Meta分析. UDCA: 熊去氧胆酸; PPI: 质子泵抑制剂.

P = 0.35), 采用固定效应模型行Meta分析, 结果显示两组差异有统计学意义[OR = 7.08, 95%CI: 2.41-20.7, P = 0.0004], UDCA组疗效优于对照组.

2.3.3 胃镜下黏膜组织炎症改善情况: 共有7项RCT[9,11,15-18,22]报道了胃镜下黏膜组织的炎症改善情况, 亚组分析结果(图4): (1)UDCA+PPI+促胃动力药 *vs* PPI+促胃动力药组: 纳入4篇RCT[15-18], 各研究间无统计学异质性(I^2 = 0%, P = 0.98), 采用固定效应模型行Meta分析, 结果显示两组差异有统计学意义(OR = 4.45, 95%CI: 2.04-9.69, P = 0.0002), UDCA组胃镜下黏膜组织炎症改善情况优于对照组; (2)UDCA+促胃动力药 *vs* 促胃动力药组: 纳入2篇RCT[9,11], 各研究间无统计学异质性(I^2 = 0%, P = 0.84), 采用固定效应模型行Meta分析, 结果显示两组差异无统计学意义(OR = 2.34, 95%CI: 0.78-6.98, P = 0.13), 尚不足以证明UDCA组疗效优于对照组; (3)UDCA+促胃动力药+胃黏膜保护剂 *vs* 促胃动力药+胃黏膜保护剂组纳入1篇RCT[22], 结果显示两组差异无统计学意义(P = 0.13), 尚不足以证明UDCA组疗效优于对照组.

2.3.4 治愈率: 共有4篇[17,19,21,23]文献提及治愈率, 其中1篇[21]中痊愈指标是以临床症状消失、无阳性体征为疗效评价标准, 故不纳入分析, 其余3篇[17,19,23]单独以胃镜征象或其结合临床表现为评价标准, 异质性检验结果显示各研究结果之间无异质性(P = 0.41, I^2 = 0%), 故采用固定效应模式进行合并分析, 结果显示合并效应量(OR = 1.92, 95%CI: 1.24-2.99, P = 0.004)差异有统计学意义, 提示UDCA组治愈率优于对照组(图5).

2.3.5 其他结局指标: (1) UDCA组与对照组在药物干预前后腹胀、腹痛、恶心、口苦、烧心、呕吐症状的积分变化, 纳入的17篇文献中, 有2篇[12,23]提及以上两项或多项积分指标变化(根据症状严重程度记分, 症状严重程度评分标准: 轻度: 患者需经提醒方能记起有症状, 记1分; 中度: 有症状主诉但不影响生活, 记2分; 重度: 有

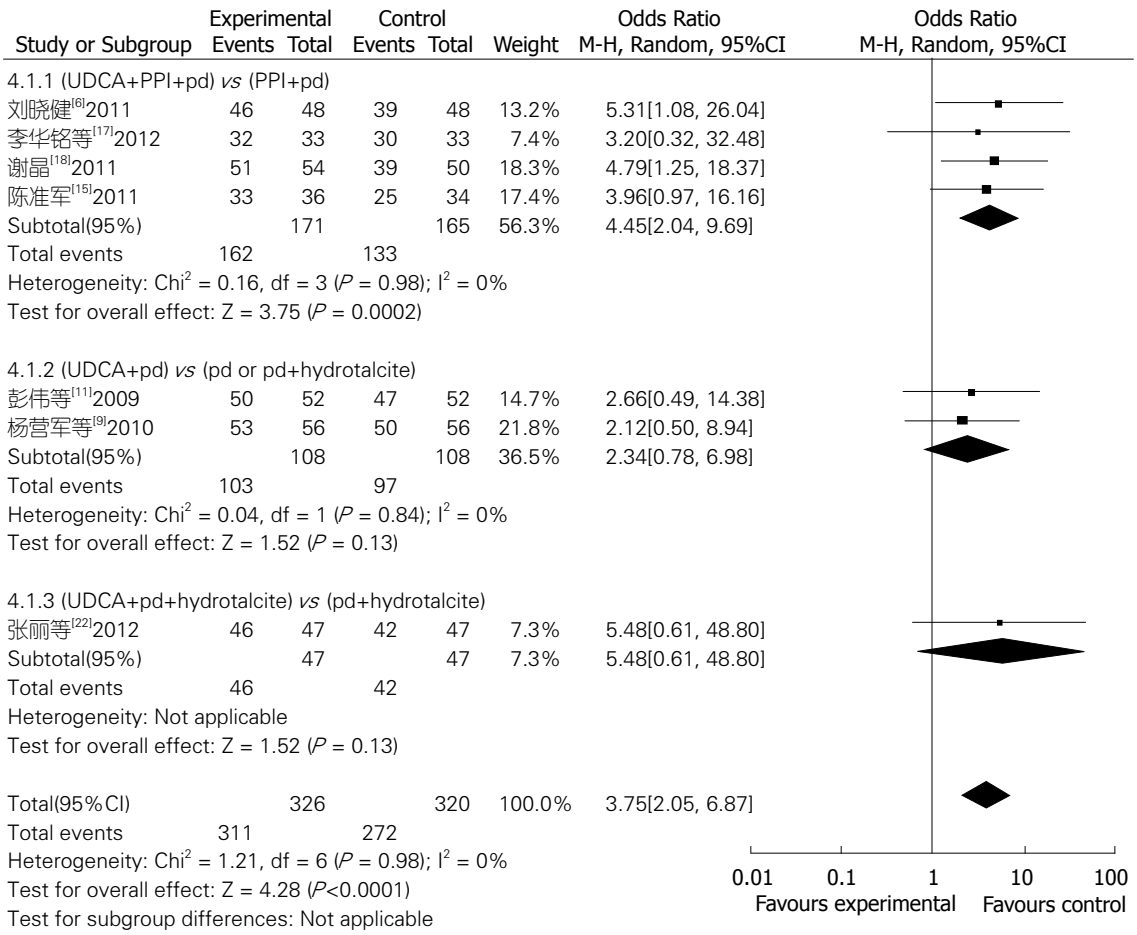


图 4 胃镜下黏膜组织炎症改善情况比较的Meta分析. UDCA: 熊去氧胆酸; PPI: 质子泵抑制剂.

症状主诉且影响日常生活, 记3分. 均于4 wk后观察症状积分变化, 以mean±SD计算. 杨林松一文中提及了腹胀、腹痛、烧心、呕吐症状指标变化, UDCA组与对照组在治疗前后腹胀积分依次(2.3±0.7/0.9±0.7, 2.4±0.6/1.8±0.9), 腹痛(2.0±1.0/0.3±0.3, 1.9±1.2/0.6±0.2)、烧心(1.6±0.6/0.2±0.2, 1.3±0.5/0.6±0.4)、呕吐(1.3±0.8/0.2±0.1, 1.4±0.7/0.8±0.2), UDCA组症状积分下降值高于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05). 杨兵一文提及腹痛、腹胀、恶心、呕吐指标变化, UDCA组与对照组在治疗前后积分依次为: 腹胀(2.5±1.3/0.6±0.3, 2.5±1.1/0.8±0.5)、腹痛(2.2±1.2/0.9±0.5, 1.9±1.2/1.0±0.7)、恶心(1.9±1.0/0.6±0.4, 1.8±1.1/0.6±0.3)、呕吐(0.1±0.6/0.2±0.1, 1.1±0.8/0.4±0.1), 两组治疗后差异有统计学意义(P<0.05); (2)*H. pylori*感染检测: 2篇文献[9,11]对UDCA组患者进行了^{14}C呼气实验, 彭伟一文中提及UDCA+多潘立酮联合组治疗前*H. pylori*(+)者28例, *H. pylori*(-)者24例, 治疗结束后在*H. pylori*(+)患者中, 23例显效, 有效4例, 无效1例, 总有效率96.42%, *H. pylori*(-)患者中, 22例显效, 有效1例, 无效1例, 总有效率95.83%, 两组患者治疗总有效率无显著差异. 杨营军的研究中提及UDCA+莫沙必利联合组*H. pylori*(+)、*H. pylori*(-)患者分别为30例、26例, 治疗结束后*H. pylori*(+)患者中, 24例显效, 4例有效, 2例无效, 总有效率93%. *H. pylori*(-)患者中23例显效, 1例有效, 2例无效, 总有效率92%, 两组比较(P<0.05), 无显著差异; (3)不良反应发生情况: 6篇[10,13,14,17,19,20]提及了是否发生药物不良反应, 其中5篇[13,14,17,19,20]报告两组均未出现不良反应, 1篇[10]报道了对照组3例患者出现稀便, 未做特殊处理自行缓解, 其余11篇均未提及不良反应.

2.3.6 发表偏倚分析: 最常见的识别发表偏倚的方法就是漏斗图法, 当出现漏斗图不对称时, 则可能提示存在发表偏倚, 现将9项研究的综合疗效亚组行偏倚分析, 结果显示不对称, 提示存在发表偏倚(图6).

3 讨论

3.1 疗效以及安全性 本系统评价共纳入17项研

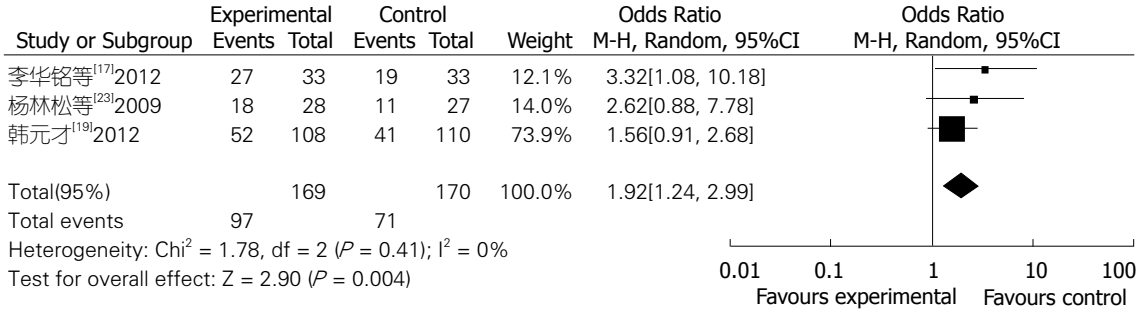


图 5 治愈率比较的Meta分析.

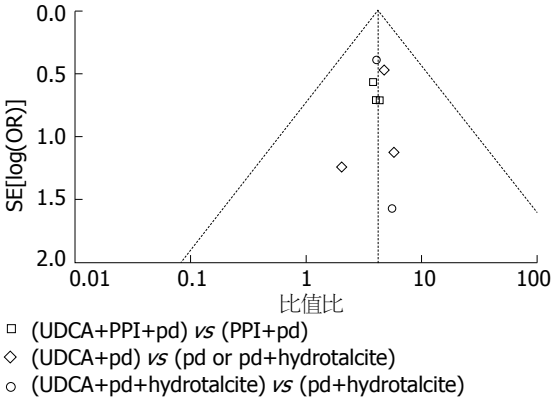


图 6 综合疗效亚组分析的漏斗图. UDCA: 熊去氧胆酸; PPI: 质子泵抑制剂.

究[7-23], 其中8项RCT[7,8,10,13,14,18,19,23]报道了综合疗效, 9项RCT研究[9,11,12,15-17,20-22]报道了临床症状总体疗效, 7项RCT[9,11,15-18,22]报道了胃镜下黏膜组织的炎症改善情况, 根据干预措施不同行亚组分析, Meta分析结果表明: (1)综合疗效与临床症状缓解率方面: 各UDCA组优于对照组; (2)胃镜下黏膜组织炎症改善情况方面: 亚组内除"UDCA+PPI+促胃动力药 *vs* PPI+促胃动力药"组差异有统计学意义、提示UDCA组优于对照组外, 另两组干预措施差异无统计学意义, 表明证据尚不足以证明UDCA组疗效优于对照组, 其统计学无差异原因考虑: 可能由于纳入研究方法质量评价较低、且有一定临床异质性, 另不排除亚组内纳入研究少、样本量减少导致的检验效能下降, 可信区间变大, 出现假阳性或假阴性可能, 亚组分析不可避免的会带来一定的实验偏差, 遂需要更加严谨的RCT以反复证实其疗效; (3)治愈率方面, UDCA组优于对照组; (4)临床症状积分方面, 有2篇[12,23]提及以上两项或多项积分指标变化, 均提示UDCA组优于对照组; (5)*H. pylori*感染检测: 2篇文献[9,11]对UDCA组患者进行了^{14}C呼气实验, 结果表明UDCA组的*H. pylori*(+)、*H. pylori*(-)患者在治疗结束后, 其总有效率无显著差异, 表明*H. pylori*的存在对其临床疗效可能无干扰作用, 目前对于*H. pylori*与胆汁反流性胃炎的关系尚有争议, 应进一步行大规模的临床多中心研究, 建立动物模型平台进行单因素的逐一研究等明确两者有无关联; (6)不良反应: 仅有6篇[10,13,14,17,19,20]提及了是否发生药物不良反应, UDCA组未报道不良反应事件.

3.2 本系统评价的局限性以及对未来研究的启示 (1)纳入研究的方法质量学较低, 仅2篇文献描述了用随机数字表法分组, 1篇文献按照入院先后顺序随机分组, 其余均未提及具体的随机方法, 所有研究未描述采用分配隐藏、盲法, 存在不同程度的选择偏倚、实施偏倚、测量偏倚风险, 提示今后开展RCT时应采用正确的随机方法、分配隐藏方案及盲法, 报告失访情况, 以减少上述偏倚; (2)由于纳入文献中患者年龄及病变严重程度、用药时间与剂量、疗程等方面的差异, 各研究有一定临床异质性, 且有3篇文献未提及基线情况, 这些均会影响结论的可靠性, 提示今后的临床试验应注意统一药物剂量、规范观察时间、基线问题; (3)本系统评价仅纳入了中文文献, 至今尚未搜索到符合纳入标准的英文文献及其他未发表文献, 存在语言偏倚和发表偏倚; (4)纳入的研究未进行长期随访, UDCA的远期疗效, 不得而知, 本文仅有6篇文献提及不良反应, 其余均未报道, 缺乏对药物不良反应的重视, 应对药物可能出现的不良反应进行长期跟踪报道.

总之, UDCA治疗胆汁反流性胃炎具有一定疗效, 就目前而言, 有关报道熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎的随机对照试验研究质量普遍不高, 对结论的可靠性可能有影响, 本系统评价中, 根据其药物干预措施的不同进行了亚组分析, 由于亚组内纳入的文献数量较少, 进行数据合

并难以得到更为肯定的疗效, 其结论需要谨慎对待, 因此尚需要开展更多大样本、多中心的RCT以进一步论证其疗效.

4 参考文献

1 马凯峰. 联合用药治疗胆汁反流性胃炎54例. 中国中医药现代远程教 2010: 167

2 Dewar EP, King RF, Johnston D. Bile acid and lysolecithin concentrations in the stomach of patients with gastric ulcer: before operation and after treatment by highly selective vagotomy, Billroth I partial gastrectomy and truncal vagotomy and pyloroplasty. *Br J Surg* 1983; 70: 401-405 [PMID: 6871619]

3 Armstrong D, Rytina ER, Murphy GM, Dowling RH. Gastric mucosal toxicity of duodenal juice constituents in the rat. Acute studies using ex vivo rat gastric chamber model. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 327-339 [PMID: 8313815]

4 Sullivan TR, Cordero JA, Mercer DW, Ritchie WP, Dempsey DT. Selective lipoxygenase inhibitor reduces bile acid-induced gastric mucosal injury. *J Surg Res* 1992; 53: 568-571 [PMID: 1494289]

5 徐肇敏, 章宜芬, 任雪峰. 熊去氧胆酸及普瑞博思治疗碱性反流性胃炎的实验研究. 中华消化杂志 1997; 17: 201-203

6 汪鸿志. 慢性胃炎的治疗. 第六届中国医师论坛

7 王占军. 熊去氧胆酸联合莫沙必利治疗胆汁反流性胃炎90例疗效观察. 药物与临床 2011; 24: 156-157

8 常兴亚. 熊去氧胆酸辅助治疗原发性胆汁反流性胃炎效果观察. 中国实用医刊 2012; 39: 89-90

9 杨营军, 魏艳. 莫沙必利联合熊去氧胆酸治疗原发性胆汁反流性胃炎168例. 中国医学创新 2010; 7: 68-69

10 许晓瑛. 优思弗与达喜治疗胆汁反流性胃炎疗效观察. 河北医科大学学报 2011; 32: 193-194

11 彭伟, 范红, 周雁, 唐晓丹, 何旭, 汤敏. 熊去氧胆酸联合多潘立酮治疗原发性胆汁反流性胃炎156例临床研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2009; 18: 732-734

12 杨兵, 谭朝晖, 陈朝霞, 胡红松, 郭文栋. 熊去氧胆酸和多潘立酮片治疗胆汁反流性胃炎的疗效观察. 临床医药实践杂志 2005; 14: 811-813

13 卢华君, 赵忠艳, 李云芳, 闫秀梅, 黄开宇, 胡伟国. 熊去氧胆酸治疗儿童胆汁反流性胃炎的疗效及安全性. 现代实用医学 2011; 23: 192-194

14 朱锦生, 史伟. 联合熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎的疗效观察. 河北医学 2009; 15: 1459-1461

15 陈淮军. 熊去氧胆酸联合抑酸促动力剂治疗胆汁反流性胃炎疗效观察. 现代消化及介入治疗 2011; 16: 266-267

16 刘晓建. 熊去氧胆酸联合治疗胆汁反流性胃炎疗效观察. 基层医学论坛 2011; 15: 1093-1094

17 李华铭, 溥志泉. 熊去氧胆酸联合埃索美拉唑治疗胆汁反流性胃炎疗效分析. 全科医学临床与教育 2012; 10: 339-341

18 谢晶. 联合熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎的疗效观察. 吉林大学第二医学院, 2011: 1-42

19 韩元才. 熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎108例临床分析. 中国当代医药 2012; 19: 71

20 周磊, 杨青峰, 张旭. 熊去氧胆酸联合治疗原发性胆汁反流性胃炎的疗效观察. 中华全科医学 2011; 9: 751-814

21 张春燕. 熊去氧胆酸联合治疗胆汁反流性胃炎疗效观察. 健康必读杂志2012; (5): 415

22 张丽, 郭强, 岳伟. 联合治疗原发性胆汁反流性胃炎的疗效分析. 医学信息 2012; 25: 178-179

23 杨林松, 徐道静. 熊去氧胆酸联合莫沙必利和铝碳酸镁治疗胆汁反流性残胃炎的疗效观察. 南京医科大学学报 2009; 11: 1611-1613

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2717-2723
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

胃癌弱差异基因表达谱建立的生物学意义

孙 伟, 高 芳, 龙启福, 王晓龙, 朱德锐, 顾存林, 安 娟, 党国全, 吴 穹

孙伟, 龙启福, 朱德锐, 顾存林, 安娟, 党国全, 吴穹, 青海大学医学院基础医学部 青海省西宁市 810016
高芳, 青海大学附属医院重症ICU科 青海省西宁市 810001
王晓龙, 青海大学附属医院胃肠肿瘤外科 青海省西宁市 810001
孙伟, 博士, 主要从事肿瘤的基础与临床研究.
青海大学医学院中青年教师科研基金资助项目, No. 2012-KYT-03
作者贡献分布: 孙伟与高芳对此文所作贡献均等; 课题由孙伟设计; 研究过程由孙伟、高芳、龙启福、王晓龙、朱德锐、顾存林、安娟、党国全及吴穹操作完成; 研究所用试剂与分析工具由孙伟提供; 数据分析由高芳完成; 本论文写作由孙伟、高芳及龙启福完成.
通讯作者: 孙伟, 讲师, 810016, 青海省西宁市城北区宁张路97号, 青海大学医学院基础医学部生物化学与分子生物学实验室. sw3583425@163.com
电话: 0971-6144524
收稿日期: 2013-08-07 修回日期: 2013-08-27
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-09-18

Biological significance of profiling of weakly differentially expressed genes in gastric cancer

Wei Sun, Fang Gao, Qi-Fu Long, Xiao-Long Wang, De-Rui Zhu, Cun-Lin Gu, Juan An, Guo-Quan Dang, Qiong Wu

Wei Sun, Qi-Fu Long, De-Rui Zhu, Cun-Lin Gu, Juan An, Guo-Quan Dang, Qiong Wu, Department of Basic Medical Sciences, Qinghai University Medical College, Xining 810016, Qinghai Province, China
Fang Gao, Department of ICU, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810001, Qinghai Province, China
Xiao-Long Wang, Department of Gastrointestinal Cancer Surgery, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810001, Qinghai Province, China
Supported by: Research Fund for Young Teachers by Qinghai University Medical College, No. 2012-KYT-03
Correspondence to: Wei Sun, Lecturer, Department of Basic Medical Sciences, Qinghai University Medical College, 97 Ningzhang Road, Chengbei District, Xining 810016, Qinghai Province, China. sw3583425@163.com
Received: 2013-08-07 Revised: 2013-08-27
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To clarify the specificity and biological significance of profiling of weakly differentially expressed genes (fold change < 1.5) in gastric cancer by Bayesian analysis of gene expression levels (BAGEL) analysis.

METHODS: The mRNA expression of DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 3 alpha (DNMT3A), development and differentiation-enhancing factor 2 (DDEF2) and cluster of differentiation 59 (CD59) was clustered by Cluster 3.0. Machine study and pattern recognition analysis was used to study the feature of weakly differentially expressed genes. The functions of CD59, DDEF2 and DNMT3A were analyzed using GoMiner. The mRNA expression of CD59, DDEF2 and DNMT3A in tissues was detected by RT-PCR.

RESULTS: We have collected 62 classification characteristic genes from 64 weakly differentially expressed genes and obtained 4 strongest classification genes by machine study and pattern recognition analysis. GoMiner analysis showed that these weakly differentially expressed genes were associated with cell adhesion, phagocytosis, immunological regulation, gene methylation and transcription regulation. Furthermore, the differential expression of these genes in tissue samples was confirmed by RT-PCR.

CONCLUSION: Profiling of weakly differentially expressed genes by BAGEL analysis is specific and allows to identify genes that are closely related to tumorigenesis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Gene expression profiling; CD59; DDEF2; DNMT3A

Sun W, Gao F, Long QF, Wang XL, Zhu DR, Gu CL, An J, Dang GQ, Wu Q. Biological significance of profiling of weakly differentially expressed genes in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2717-2723
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2717.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2717

摘要

目的: 明确用基因表达水平的贝叶斯分析(Bayesian analysis of gene expression levels, BAGEL)所建立的胃癌弱差异基因表达谱(fold change<1.5)的特异性及生物学意义.

方法: Cluster3.0聚类分析基因DNA甲基转

■背景资料
基因芯片技术在生物领域广泛应用, 但由于其自身的噪音及统计学方法的差异等因素使基因芯片结果的实验室验证更多集中在差异倍数大于2的基因. 本文针对利用BEGEL统计学方法建立的胃癌弱差异表达基因进行了实验室验证, 旨在探讨弱差异表达基因在胃癌发生发展中的生物学意义.

■同行评议者
李淑德, 教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

■研发前沿
胃癌发生发展中的特征基因的探寻是胃癌诊疗中研究的热点及重点, 众多研究借助基因芯片技术进行了高通量的筛选以期获得目的基因, 但不同统计方法使结果迥异. 因此在当前基因芯片自身缺陷难以突破的状况下, 寻找适合的统计方法得到有意义的统计结果是当前亟待解决的关键问题之一.

移酶3A[DNA(cytosine-5-)-methyltransferase 3 alpha, DNMT3A]、发育分化增强因子2 (development and differentiation-enhancing factor 2, DDEF2)、分化群59(cluster of differentiation 59, CD59)的表达; 机器学习和模式识别技术对弱差异基因表达谱(fold change<1.5, P<0.001)进行特征提取; GoMiner软件分析弱差异表达基因*DNMT3A*、*DDEF2*、*CD59*的生物学功能; RT-PCR在实验室验证弱差异表达基因*DNMT3A*、*DDEF2*、*CD59*在胃癌及癌旁配对组织中mRNA的表达水平.

结果: 从弱差异基因表达谱中得到能够识别样本类别的62个分类特征基因和4个分类能力较强的基因; GoMiner分析表明这组基因参与细胞黏附、细胞吞噬、免疫调节、基因甲基化、转录调控等重要生物学作用; RT-PCR确定基因表达变化与芯片中基因表达谱的数据一致, 证实了弱差异基因表达谱的可靠性和灵敏性.

结论: 通过BAGEL分析得到的fold change<1.5的弱差异基因表达谱灵敏可靠, 在肿瘤发生发展中关系密切.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 基因表达谱; CD59; DDEF2; DNMT3A

核心提示: BAGEL统计学方法建立的弱差异表达基因谱灵敏可靠, 弱差异表达基因与胃癌关系密切, 为胃癌特征基因的筛选提供了新的思路.

孙伟, 高芳, 龙启福, 王晓龙, 朱德锐, 顾存林, 安娟, 党国全, 吴穹. 胃癌弱差异基因表达谱建立的生物学意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2717-2723 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2717.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2717

0 前言

基因芯片技术自上世纪90年代在美国率先发展起来后, 已被广泛应用于各种生物学研究领域. 其中最重要应用之一就是通过确定样本在不同条件下的差异表达基因, 来明确某种因素对基因表达的调控作用. 一般而言, 目前在生物学研究领域中, 往往利用芯片进行全基因组的扫描来初筛可能的差异表达基因, 然后再采用逆转录PCR反应(RT-PCR)或核酸印迹分析(Northern blot)等实验手段来对基因芯片筛选出的差异表达基因进行验证. 但由于基因芯片信号噪音偏大, 芯片数据的不同分析方法等主客观因素都会对结果产生显著的影响[1]. 所以在选择差异表达基因验证方法时, 往往选择基因变化倍数为2倍以上的基因作进一步分析, 而大量的变化倍数为2倍以下的基因被删除, 这些基因是否真的是无关基因并没有确切的证据. 而Yan等[2]通过对结肠腺瘤样息肉(adenomatosis polyposis coli, *APC*)基因的定量分析发现该基因表达的微弱减少与遗传的结直肠肿瘤发生有关, 提示弱差异表达基因可能在肿瘤的发生发展中有更重要的功能. 因此, 对弱差异表达基因的认识亟待深入认识.

Zang等[3]采用SAM[4]和BAGEL[5]两种统计学方法进行差异表达基因的统计学推断, 并利用基因表达水平的贝叶斯分析(Bayesian analysis of gene expression levels, BAGEL)建立了胃癌差异表达基因谱. Guo等对fold change>1.5的55个具有重要生物学功能的差异表达基因进行了验证, 获得了与芯片杂交数据一致的结果, 吻合率为98%(54/55). 为了继续明确基因表达谱中弱差异表达基因(fold change<1.5, P<0.001)的敏感性、特异性和生物学意义, 我们在Zang等[3]建立的弱差异表达基因的基础上进行了进一步生物信息学分析, 并选取部分基因进行了生物学功能分析及实验室验证, 探讨弱差异表达基因在胃癌发生发展过程中的生物学意义.

1 材料和方法

1.1 材料 胃肿瘤组织标本来自青海大学附属医院于2005-05/2005-10收治的胃肿瘤患者20例(男13例, 女7例), 年龄51-87岁(中位年龄65岁). 所有标本获得患者知情同意, 均由胃癌组织及相距5 cm以上的癌旁正常组织配对组成, 标本手术切除后立即放于液氮, -80 ℃冻存备用.

1.2 方法

1.2.1 聚类分析法: 聚类分析采用Cluster 3.0[6]芯片分析工具, 分析过程采用average linkage算法.

1.2.2 机器学习和模式识别法: 以每个基因所含的20对胃癌组织与癌旁正常配对组织的样本分类信息的指标作为尺度来过滤与样本分类无关的噪声基因, 然后采用支持向量机(support vector machine, SVM)作为分类器对特征基因集合的分类能力进行检验. 从而由原始基因集合中提取出最能反映样本分类的特征基因集合.

1.2.3 基因功能注释法: 功能注释分析采用GoMiner[7]软件, 该软件可从分子功能、细胞定

表 1 半定量RT/PCR引物序列表

基因名称	引物序列	扩增长度(bp)
DDEF2	上游 5'-GGCGACTACTCCACGAAGACC-3'	229
	下游 5'-AGGAGGGCTCCGTAAGTCTCA-3'	
CD59	上游 5'-TGCGTGTCTCATTACCAAA-3'	258
	下游 5'-GCTCTCCTGGTGTTGACTTAG-3'	
DNMT3A	上游 5'-GCACTGAAATGGAAAGGGTAT-3'	196
	下游 5'-ACTCCATCGCTGTGTTTCAAT-3'	
β-actin-1	上游 5'-TTAGTTGCGTTACACCCTTTC-3'	150
	下游 5'-ACCTTCACCGTTCCAGTTT-3'	
β-actin-2	上游 5'-TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA-3'	295
	下游 5'-CAGCGGAACCGCTCATTGCCAATGG-3'	

DNMT3A: DNA甲基转移酶3A; DDEF2: 发育分化增强因子2; CD59: 分化群59.

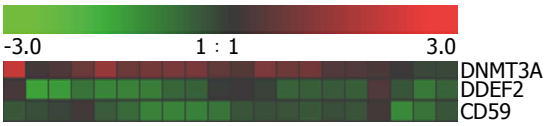


图 1 *DNMT3A*、*DDEF2*、*CD59*基因聚类分析比较在芯片中的异常表达. DNMT3A: DNA甲基转移酶3A; DDEF2: 发育分化增强因子2; CD59: 分化群59.

位以及生物学过程三方面对基因进行系统分析, 并形成相应的定向无环图和树型结构. 点击树型结构中的基因可以直接链接到外挂的信息库: 如LocusLink、PubMed、MedMiner、GeneCards、NCBI's Structure Database、BioCarta、KEGG、CGAP等, 从而得到信息的整合.

1.2.4 *逆转录聚合酶链反应法*: 总RNA提取及逆转录聚合酶链反应法(reverse transcription-PCR, RT-PCR)参照文献[8]. PCR反应: 以cDNA为模板, β-actin作为内参, Taq酶购自Takara公司, 内参和目的基因的扩增在同一反应中扩增. PCR参数: 94 ℃ 5 min; 94 ℃ 30 s, 53 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 分化群59(cluster of differentiation 59, CD59)、发育分化增强因子2(development and differentiation-enhancing factor 2, DDEF2)、DNA甲基转移酶3A[DNA(cytosine-5-)-methyltransferase 3 alpha, DNMT3A]循环次数分别为22、26、28; 72 ℃延伸5 min. 引物序列如表1所示. 扩增的PCR产物于20 g/L琼脂糖凝胶电泳, 电压100 V, 20 min, Alphalmager2200v5.5凝胶图像分析系统摄片并测定分析其光密度.

统计学处理 各个样本基因表达水平表达量的相对值 = 扩增条带灰度值/β-actin扩增条带灰度值; 癌与癌旁表达差异用*t*检验及百分比同时进行统计分析. $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 *DNMT3A*、*DDEF2*、*CD59*基因聚类分析比较 以BAGEL确定的弱差异基因表达谱为基础, 利用Cluster3.0软件采用average linkage算法分析比较了弱差异表达基因*CD59*、*DDEF2*、*DNMT3A*的聚类结果. 显示了这3个基因在胃癌组织相较于癌旁正常组织时的表达变化: *DNMT3A*在胃癌组织中为高表达, *DDEF2*、*CD59*在胃癌组织中为低表达(图1, 红色: 基因表达水平上调; 绿色: 基因表达水平下调; 黑色: 基因表达变化不明显).

2.2 *机器学习和模式识别提取特征基因结果* 从20对胃癌及癌旁正常配对样本中各选取15对样本作为训练集, 其余5对样本作为测试集. 在训练样本集上计算每个基因的分类信息指数, 并作出了基因分类信息指数散点图(图2A). 分类信息指数越大这个基因的分类能力越强, 说明这个基因在两类样本中的特征越明显, 越有可能成为靶基因. 图中红色圆圈中的基因是信息指数比较大的4个基因: 分别是*TINF2*、*ELK1*、*COX17*、*CD59*.

从64个基因构成的特征集合F64开始到一系列具有不同维数的分类特征子集F64、F63、…F1. 当特征基因集合等于32个基因的时候, 基因集合的样本错分数为零, 直到集合中的基因为62个的时候, 其样本分类正确率达100%. 但是特征基因集合增加2个基因到64的时候分类正确率仅为50%, 这2个基因分别是*BC017696*基因和*DGCR2*基因, 说明这2个基因是冗余基因(图2B); 弱差异基因表达谱中有62个分类特征基因集合(62/64, 97%)能够有效识别胃癌样本类别.

■相关报道
人们很少对差异倍数小于2倍的弱差异表达基因基因芯片进行实验室验证, 但Yan等对结肠腺瘤样息肉(adenomatosis polyposis coli, *APC*)基因的定量分析发现该基因表达的微弱减少与遗传的结直肠肿瘤发生有关, 提示弱差异表达基因可能在肿瘤的发生发展中有更重要的功能. 因此, 对弱差异表达基因的认识亟待深入认识.

■**创新盘点**
本文以很少被学者关注的胃癌弱差异基因谱为研究对象, 系统验证弱差异表达基因及其生物学功能, 进而分析胃癌弱差异表达基因的生物学意义, 为胃癌标志基因寻找新的切入点.

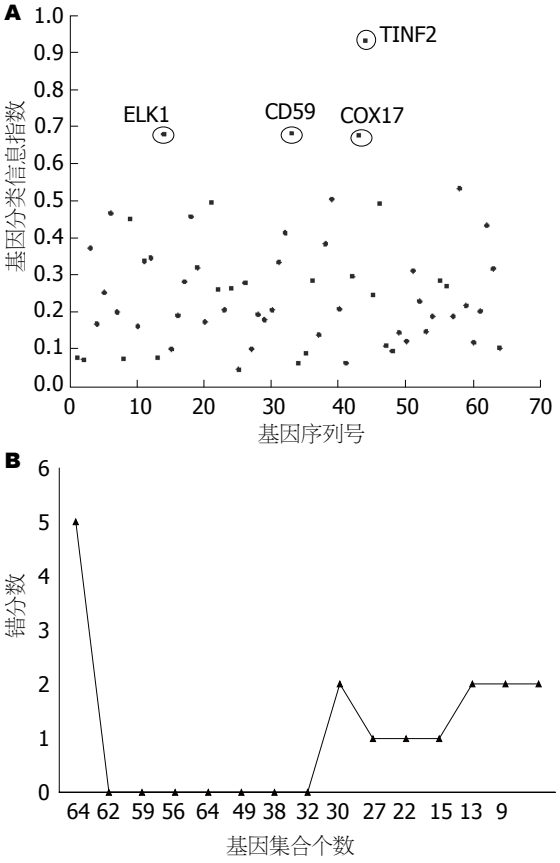


图 2 机器学习和模式识别提取特征基因. A: 训练集上分类信息指数散点图; B: 不同特征基因集合的样本分类能力.

2.3 GoMiner软件功能注释结果 GoMiner软件注释三个弱差异表达候选基因. 结果表明DNMT3A主要具有甲基转移酶的活性, 在精子发生、胚胎发育与分化、DNA甲基化、甲基化依赖的染色质失活、基因转录抑制等方面具有重要作用(图3A); DDEF2主要具有蛋白结合、GTP酶激活活性, 在整联蛋白介导的信号途径、GTP酶活性调节等重要生物学途径中具有重要作用(图3B); CD59主要具有蛋白结合、糖基磷脂酰肌醇锚结合活性, 在补体活性的调节等重要生物学途径中具有重要调节作用(图3C).

2.4 *DNMT3A*、*DDEF2*、*CD59* mRNA在胃癌和癌旁正常组织中的差异表达 对20对胃癌/癌旁配对组织进行RT-PCR凝胶电泳成像及灰度值扫描计算表达相对量, 分析mRNA表达差异(图4, 表2). *DDEF2*与*CD59*基因在胃癌组织中低表达, 在16例胃癌组织中表达水平低于配对的癌旁正常组织(16/20, 80%, $P<0.001$); 而*DNMT3A*基因在肿瘤组织中高表达, 在17例胃癌组织中表达水平高于配对的癌旁正常组织(17/20, 85%, $P<0.001$). 基因表达灰度变化倍数为胃癌组织与癌旁正常组织中基因表达量相对值的平均值之比, 比较实验室灰度变化倍数与基因芯片变化倍数发现两者变化倍数一致, *DNMT3A*、*DDEF2*、*CD59* mRNA表达变化倍数分别为1.13 *vs* 1.10、1.06 *vs* 1.01、1.30 *vs* 1.40.

3 讨论

1990年基因芯片作为一种高新的生物学实验技术率先在美国发展起来, Schena等[9]首次报道利用基因芯片技术定量监测基因表达模式以来, 芯片技术不断地应用于各种生物学研究领域, 并迅速发展成为基因组学和系统生物学研究的重要工具. 随着芯片技术的不断完善, 其实验数据的可重复性和可靠性明显增加, 但选择不同的数据整理和分析方法对于结果的有显著的影响[10]. 强差异表达基因易于实验室验证, 但由于基因芯片噪音及统计学方法等不同因素所确立的弱差异表达基因(fold chang<1.5)一般难以验证, 其在胃癌中的生物学意义也亟待明确. 基于Zang等[3]建立的胃癌弱差异基因表达谱具有较高的敏感度和可靠性, 有助于进一步实验室验证及生物学功能研究.

机器学习和支持SVM模式识别技术主要用来进行肿瘤分类, 其分类能力也反应了表达谱的灵敏性. 因此, 我们对弱差异基因表达谱进行了进一步的生物信息学研究. 在基因表达谱数据的分析中, 该方法对弱差异基因表达谱的分析得到了能够100%识别胃癌和癌旁组织的62个分类特征基因(62/64, 97%)和4个分类能力较强的特征基因: 即*TINF2*、*ELK1*、*COX7*和*CD59*. 从另一个侧面理论证实了弱差异基因表达谱的可靠性和灵敏性. 在此基础上, 选择了具有强分类能力的特征基因*CD59*及另外两个弱差异表达基因*DDEF2*、*DNMT3A*进行了实验室验证, 证实这3个基因以及另一个弱差异表达基因*TINF2*[11]均与芯片数据保持一致, 一致率达到100%(4/4). 实验室验证的结果说明胃癌弱差异基因表达谱的可靠性和灵敏性, 利于进一步探讨其生物学意义.

我们综合应用生物信息学及文献检索对弱差异基因表达谱基因功能进行进一步的确定, 以明确弱差异表达基因并非肿瘤发生的无关基因, 甚至可能是肿瘤发生过程中的关键基因, 为肿瘤研究方向提供新的思考方向. 通过高通量GoMiner的信息整合, 我们发现这64个弱差异表达基因的重要的生物学功能主要表现在血管形成、免疫调节和基因转录调控等方面, 更多地

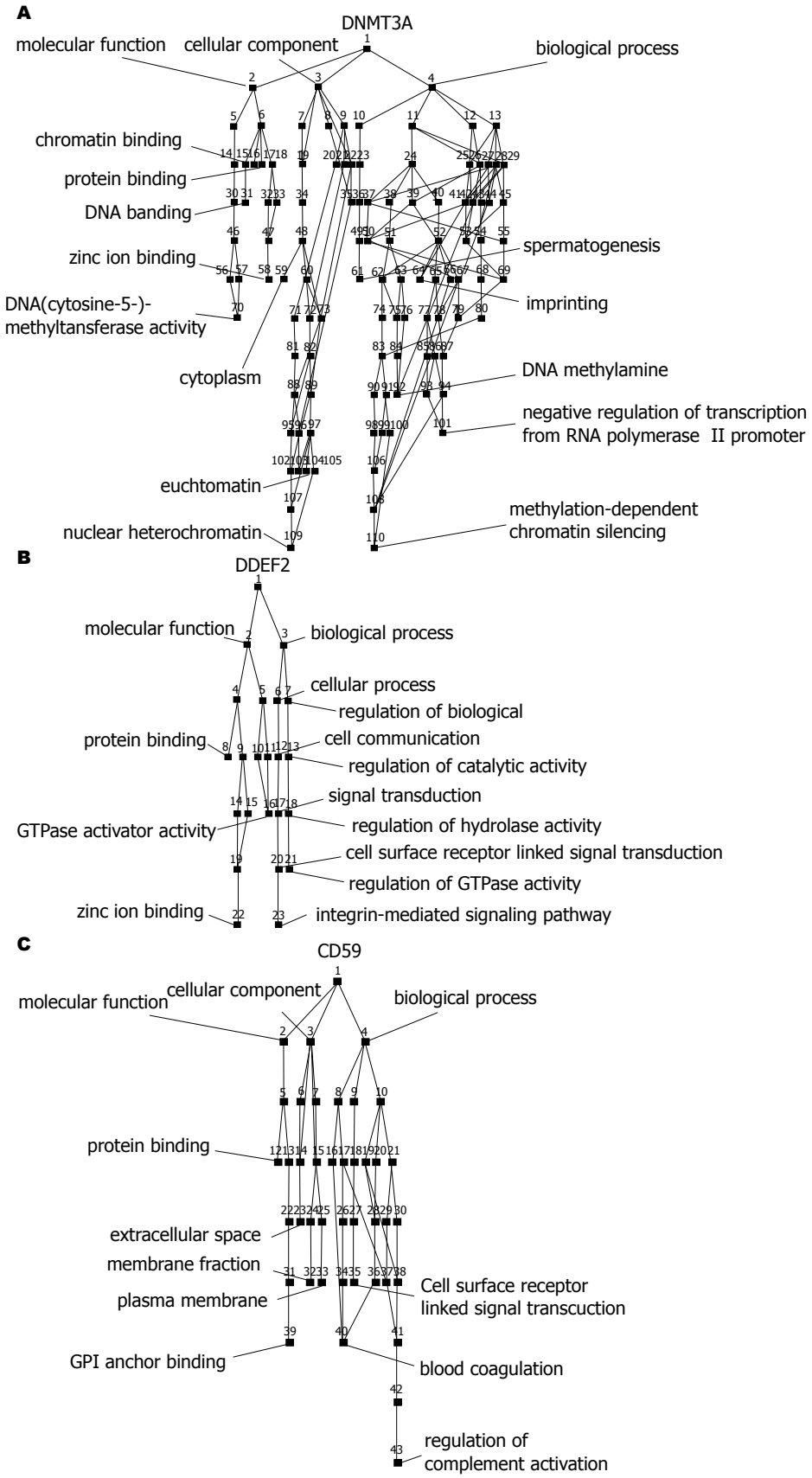


图 3 GoMiner注释DNMT3A、DDEF2、CD59的生物学功能. DNMT3A: DNA甲基转移酶3A; DDEF2: 发育分化增强因子2; CD59: 分化群59.

■应用要点

通过基因芯片技术筛选胃癌特征基因忽略了大量的弱差异表达基因, 但这些弱差异表达基因在胃癌的发生发展中可能具有极其重要的生物学功能. 因此本研究为阐明弱差异表达基因的筛选方法及其在胃癌中的角色具有重要意义, 为胃癌特征基因的筛选提供了新的思路.

■名词解释
弱差异表达基因: 差异基因谱中基因表达差异倍数一般介于0.5-2倍的基因;
BAGEL: Bayesian analysis of gene expression levels, 简称BAGEL, 由Jeffrey Townsend研发. 是用于分析spotted microarray数据的统计学工具;
DNMT3A: DNA甲基转移酶3A, 参与胚胎发育、遗传印迹及x染色体失活等现象中DNA CpG岛中胞嘧啶的从头甲基化过程;
DDEF2: 发育分化增强因子2, 该基因编码的蛋白定位于高尔基和质膜, 与蛋白络氨酸激酶2-β相互作用形成复合体并被激活的蛋白络氨酸激酶磷酸化. 可能与小泡的转运调节有关;
CD59: 分化群59, 补体调节蛋白. 编码的蛋白位于细胞膜表明形成糖蛋白调节补体介导的溶细胞作用, 并与淋巴细胞的信号转导有关.

表 2 DNMT3A、DDEF2、CD59 mRNA在胃癌/癌旁正常组织中的表达 (*n*)

临床样本	*n*	DNMT3A			DDEF2			CD59		
		高表达	低表达	*P*值	高表达	低表达	*P*值	高表达	低表达	*P*值
胃癌	20	17	3	<0.001	4	16	<0.001	4	16	<0.001
癌旁	20	3	17		16	4		16	4	

DNMT3A: DNA甲基转移酶3A; DDEF2: 发育分化增强因子2; CD59: 分化群59.

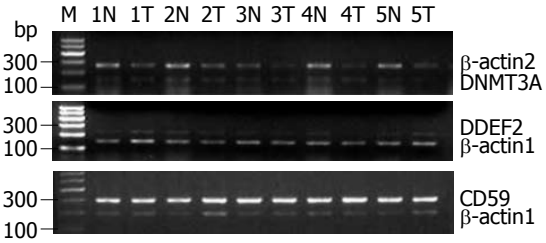


图 4 DNMT3A、DDEF2、CD59 mRNA在胃癌/癌旁正常组织中的表达. N: 正常; T: 肿瘤. DNMT3A: DNA甲基转移酶3A; DDEF2: 发育分化增强因子2; CD59: 分化群59.

与细胞营养, 不同基因的表达调控等代谢方面有更紧密地联系. 在实验室验证的3个基因均与肿瘤发生发展有密切联系. 研究发现DNMT3A与P53[12]、组蛋白甲基转移酶SETDB1[13]相互作用, 其与结直肠癌[14]、胰腺癌[15]、胃癌[16]等肿瘤相关. DDEF2是蛋白酪氨酸激酶2(PYK2)和SRC作用通路的底物, Matsui等[17]发现DDEF2能抑癌蛋白APC的特异结合; Coutinho-Camillo等[18]认为DDEF2在前列腺癌中的表达模式发生改变. CD59分子是人体内重要的同源限制因子, 他能阻止补体穿膜复合体MAC在膜上的组装而保护细胞不被自身补体溶解[19], 参与肿瘤细胞生长与凋亡[20], 在乳腺癌[21]、膀胱癌[22]、口腔癌[23]、前列腺癌[24]等多种肿瘤中表达升高.

来自不同层面的分析都表明弱差异基因表达谱具有较高的敏感性和特异性, 在肿瘤的发生发展中具有重要的生物学功能和临床意义. 我们看到这些弱差异表达基因的表达改变导致肿瘤细胞内环境的改变, 是参与胃癌发生发展的重要因素, 所以挖掘BEGEL建立的弱差异表达基因对胃癌发生发展的研究具有重要意义.

4 参考文献

1 Quackenbush J. Computational approaches to analysis of DNA microarray data. *Yearb Med Inform* 2006: 91-103 [PMID: 17051302]
2 Yan H, Dobbie Z, Gruber SB, Markowitz S, Romans K, Giardiello FM, Kinzler KW, Vogelstein B. Small changes in expression affect predisposition to tumorigenesis. *Nat Genet* 2002; 30: 25-26 [PMID: 11743581]
3 Zang S, Guo R, Zhang L, Lu Y. Integration of statistical inference methods and a novel control measure to improve sensitivity and specificity of data analysis in expression profiling studies. *J Biomed Inform* 2007; 40: 552-560 [PMID: 17317331]
4 Tusher VG, Tibshirani R, Chu G. Significance analysis of microarrays applied to the ionizing radiation response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 5116-5121 [PMID: 11309499]
5 Townsend JP. Resolution of large and small differences in gene expression using models for the Bayesian analysis of gene expression levels and spotted DNA microarrays. *BMC Bioinformatics* 2004; 5: 54 [PMID: 15128431]
6 Eisen MB, Spellman PT, Brown PO, Botstein D. Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 14863-14868 [PMID: 9843981]
7 Zeeberg BR, Qin H, Narasimhan S, Sunshine M, Cao H, Kane DW, Reimers M, Stephens RM, Bryant D, Burt SK, Elnekave E, Hari DM, Wynn TA, Cunningham-Rundles C, Stewart DM, Nelson D, Weinstein JN. High-Throughput GoMiner, an 'industrial-strength' integrative gene ontology tool for interpretation of multiple-microarray experiments, with application to studies of Common Variable Immune Deficiency (CVID). *BMC Bioinformatics* 2005; 6: 168 [PMID: 15998470]
8 Sun W, Dong WW, Mao LL, Li WM, Cui JT, Xing R, Lu YY. Overexpression of p42.3 promotes cell growth and tumorigenicity in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2913-2920 [PMID: 23704824 DOI: 10.3748/wjg.v19.i19.2913]
9 Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995; 270: 467-470 [PMID: 7569999]
10 Jeanmougin M, de Reynies A, Marisa L, Paccard C, Nuel G, Guedj M. Should we abandon the t-test in the analysis of gene expression microarray data: a comparison of variance modeling strategies. *PLoS One* 2010; 5: e12336 [PMID: 20838429 DOI: 10.1371/journal.pone.0012336]
11 孙伟, 高芳, 王晓龙, 王嵘, 顾存林, 沈国平, 许博林, 耿排力. 胃癌弱差异基因表达谱中TINF2基因的表达和生物学作用. 青海医学院学报 2012; 33: 235-258
12 Wang YA, Kamarova Y, Shen KC, Jiang Z, Hahn MJ, Wang Y, Brooks SC. DNA methyltransferase-3a interacts with p53 and represses p53-mediated gene expression. *Cancer Biol Ther* 2005; 4: 1138-1143 [PMID: 16131836]
13 Li H, Rauch T, Chen ZX, Szabó PE, Riggs AD, Pfeifer GP. The histone methyltransferase SETDB1 and the DNA methyltransferase DNMT3A interact

directly and localize to promoters silenced in cancer cells. *J Biol Chem* 2006; 281: 19489-19500 [PMID: 16682412]
14 Zhao Z, Li C, Song Y, Wu Q, Qiao F, Fan H. Association of the DNMT3A -448A>G polymorphism with genetic susceptibility to colorectal cancer. *Oncol Lett* 2012; 3: 450-454 [PMID: 22740930]
15 He S, Wang F, Yang L, Guo C, Wan R, Ke A, Xu L, Hu G, Xu X, Shen J, Wang X. Expression of DNMT1 and DNMT3a are regulated by GLI1 in human pancreatic cancer. *PLoS One* 2011; 6: e27684 [PMID: 22110720 DOI: 10.1371/journal.pone.0027684]
16 Wu Q, Lu S, Wang L, Hu J, Qiao F, Qiu X, Zhao C, Lao Y, Song Y, Fan H. DNMT3A rs36012910 A> G polymorphism and gastric cancer susceptibility in a Chinese population. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 10949-10955 [PMID: 23053986 DOI: 10.1007/s11033-012-1996-y]
17 Matsui C, Kaieda S, Ikegami T, Mimori-Kiyosue Y. Identification of a link between the SAMP repeats of adenomatous polyposis coli tumor suppressor and the Src homology 3 domain of DDEF. *J Biol Chem* 2008; 283: 33006-33020 [PMID: 18786926 DOI: 10.1074/jbc.M800420200]
18 Coutinho-Camillo CM, Salaorni S, Sarkis AS, Nagai MA. Differentially expressed genes in the prostate cancer cell line LNCaP after exposure to androgen and anti-androgen. *Cancer Genet Cytogenet* 2006; 166: 130-138 [PMID: 16631469]
19 Clayton A, Harris CL, Court J, Mason MD, Morgan BP. Antigen-presenting cell exosomes are protected from complement-mediated lysis by expression of CD55 and CD59. *Eur J Immunol* 2003; 33: 522-531 [PMID: 12645951]
20 Li B, Gao MH, Chu XM. Molecular mechanism of a novel CD59-binding peptide sp22 induced tumor cells apoptosis. *J Cell Biochem* 2012; 113: 3810-3822 [PMID: 22821302 DOI: 10.1002/jcb.24258]
21 Cui W, Zhao Y, Shan C, Kong G, Hu N, Zhang Y, Zhang S, Zhang W, Zhang Y, Zhang X, Ye L. HBXIP upregulates CD46, CD55 and CD59 through ERK1/2/NF-κB signaling to protect breast cancer cells from complement attack. *FEBS Lett* 2012; 586: 766-771 [PMID: 22293503 DOI: 10.1016/j.febslet]
22 Varela JC, Atkinson C, Woolson R, Keane TE, Tomlinson S. Upregulated expression of complement inhibitory proteins on bladder cancer cells and anti-MUC1 antibody immune selection. *Int J Cancer* 2008; 123: 1357-1363 [PMID: 18561323 DOI: 10.1002/ijc.23676]
23 Ravindranath NM, Shuler C. Cell-surface density of complement restriction factors (CD46, CD55, and CD59): oral squamous cell carcinoma versus other solid tumors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103: 231-239 [PMID: 17234541]
24 Babiker AA, Nilsson B, Ronquist G, Carlsson L, Ekdahl KN. Transfer of functional prostasomal CD59 of metastatic prostatic cancer cell origin protects cells against complement attack. *Prostate* 2005; 62: 105-114 [PMID: 15389819]

■同行评价

本文建立胃癌弱差异基因表达谱并探讨其生物学意义，研究方法先进，研究结论可靠，讨论客观，对阐明胃癌发生发展的分子机制，有重要的理论指导意义.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2724-2727
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

抑癌基因*p16*与胃腺癌患者XELOX方案化疗预后的关系

高 平, 高亚杰

■背景资料
在我国胃癌的发病率居所有恶性肿瘤之首，每年有17万人死于胃癌，其中有95%患者病理类型为胃腺癌. 胃腺癌的发病人群分布在各个年龄段，且晚期为腺癌患者中有70%年龄>50岁. 胃腺癌晚期患者主要采用化疗药物进行治疗，其目的是以控制疾病进展，延长生存期，因此腺癌晚期患者化疗预后的研究成为了临床医生研究的重要领域.

高平, 高亚杰, 大连医科大学附属第一医院肿瘤科 辽宁省大连市 116000
高平, 副教授, 主要从事肿瘤化疗的研究.
作者贡献分布: 此文章高亚杰负责实验设计、实验安排及数据分析; 高平负责实验、统计学分析及论文撰写.
通讯作者: 高亚杰, 教授, 116000, 辽宁省大连市沙河口区联合路193号, 大连医科大学附属第一医院肿瘤科.
gaoyajie@yahoo.com.cn
收稿日期: 2013-08-10 修回日期: 2013-09-01
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-09-18

Relationship between p16 protein expression and prognosis in patients with gastric adenocarcinoma treated with XELOX chemotherapy

Ping Gao, Ya-Jie Gao

Ping Gao, Ya-Jie Gao, Department of Oncology, First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116000, Liaoning Province, China
Correspondence to: Ya-Jie Gao, Professor, Department of Oncology, First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 193 Lianhe Road, Shahekou District, Dalian 116000, Liaoning Province, China. gaoyajie@yahoo.com.cn
Received: 2013-08-10 Revised: 2013-09-01
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-09-18

Abstract
AIM: To investigate the relationship between p16 expression and the 2- and 5-year survival rates in patients with gastric adenocarcinoma treated with XELOX chemotherapy.

METHODS: Forty-seven patients with advanced gastric adenocarcinoma, who received XELOX (oxaliplatin + capecitabine) treatment from March 2006 to February 2007, were included in the study. Twenty-five healthy volunteers were used as controls. Immunohistochemistry was performed to detect p16 expression in gastric mucosal epithelial tissues. The 2- and 5-year survival rates were compared between patients low p16 expression and those with normal expression.

RESULTS: The positive rate of p16 expression was significantly lower in the observation than in the control group (17.4% ± 3.6% *vs* 43.7% ± 17.4%, $P < 0.05$). There were 19 cases (40.43%) who had normal p16 expression, and 28 cases (59.57%) had low expression. The 2- and 5-year survival rates were significantly lower in patients with low p16 expression than in those with normal expression (31.58% *vs* 64.29%, 21.05% *vs* 50%, both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Patients with low p16 expression have poor prognosis after XELOX chemotherapy, and p16 expression can be used to predict prognosis in patients with gastric adenocarcinoma treated with XELOX chemotherapy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric adenocarcinoma; P16; Oxaliplatin; Capecitabine

Gao P, Gao YJ. Relationship between p16 protein expression and prognosis in patients with gastric adenocarcinoma treated with XELOX chemotherapy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2724-2727
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2724.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2724

摘要
目的: 探讨病灶组织抑癌基因*p16*的表达与胃腺癌患者化疗后2年和5年生存率之间的关系.

方法: 选择2004-03/2007-02来我院接受治疗的胃腺癌晚期患者47例作为观察组，均接受XELOX(奥沙利铂+希罗达)方案化疗. 选择25例健康志愿者作为对照组. 采用免疫组织化学检测观察组和对照组患者胃黏膜组织上皮组织内p16表达情况，并比较观察组病灶组织p16低表达和正常表达组2年和5年生存率.

结果: 观察组p16阳性率为17.4%±3.6%，显著低于对照组($P<0.05$). p16正常表达组有19例(40.43%)，低表达组有28例(59.57%). p16低表达组16例患者经化疗后2年生存6例(31.58%)，5年生存4例(21.05%)，均显著低于p16正常表

■同行评议者
樊红，教授，东南大学医学院，发育与疾病相关基因教育部重点实验室，东南大学基础医学院，遗传与发育生物学系

达组(P<0.05).

结论: p16过低表达胃腺癌患者化疗预后较差, 且*p16*基因表达可以作为预测胃腺癌XELOX方案化疗预后.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃腺癌; p16; 奥沙利铂; 卡培他滨

核心提示: 本文主要探讨胃腺癌患者病灶组织*p16*基因表达与XELOX方案化疗后2年和5年生存率之间的关系, 以评价p16在胃腺癌化疗预后中的临床价值. 首先比较了观察组和对照组*p16*基因的表达, 结果表明胃腺癌患者病灶中*p16*基因会过低表达; 其次统计了观察组中不同p16阳性率范围中患者的例数, 并选择20%阳性率为p16表达的阈值; 最后比较<20%的患者和>20%患者2年和5年的生存情况, 结果表明p16阳性率<20%的患者人群中2年生存率和5年生存率均显著高于p16阳性率>20%的患者人群.

高平, 高亚杰. 抑癌基因*p16*与胃腺癌患者XELOX方案化疗预后的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2724-2727 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2724.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2724

0 引言

在我国胃癌的发病率居所有恶性肿瘤之首, 每年有17万人死于胃癌, 其中有95%患者病理类型为胃腺癌[1,2]. 胃腺癌的发病人群分布在各个年龄段, 且晚期为腺癌患者中有70%年龄>50岁. 胃腺癌晚期患者主要采用化疗药物进行治疗, 其目的是以控制疾病进展, 延长生存期, 因此腺癌晚期患者化疗预后的研究成为了临床医生研究的重要领域. 抑癌基因、癌基因和其他基因表达差异与肿瘤化疗等治疗疗效和预后的关系的研究报道很多, 也成为近几年肿瘤治疗中的研究重点. 本文主要探讨病灶组织抑癌基因*p16*表达在胃腺癌化疗预后中的作用, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2004-03/2007-02来我院接受治疗的晚期胃腺癌患者47例作为观察组, 均接受XELOX方案化疗. 另外选择25例健康志愿者作为对照组, 未接受任何治疗. 其中观察组男29例, 女18例, 平均年龄为54.2岁±12.3岁; 对照组男16例, 女9例, 平均年龄为53.7岁±13.9岁. 两组患者性别比和年龄无显著统计学差异(χ^2 = 0.037, P = 0.848; t = 0.15, P = 0.881), 两组具有可比性. 患者具体入组标准: (1)所有患者经病理证实为晚期胃腺癌; (2)治疗前心电图正常, 白细胞>3.5×10^9/L, 中性粒细胞>1.5×10^9/L, 血小板>100×10^9/L, 肾功能肌酐<上限正常值1.5倍, 无化疗禁忌证; (3)卡氏(KPS)评分≥70分, 预计生存时间≥6 mo; (4)患者或家属签署治疗知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 化疗: XELOX方案具体用药为: 奥沙利铂(商品名: 艾恒, 生产厂家: 江苏恒瑞医药股份有限公司, 批号: H20000337)130 mg/m^2加入5%葡萄糖注射液250 mL中, 静脉滴注180 min, d1, 每3 wk用1次. 卡培他滨(商品名: 希罗达, 生产厂家: 上海罗氏制药有限公司, 批号: H20073024)1000 mg/m^2, p.o, bid, d1-14, 每3 wk用1次. 每位患者化疗4-6个周期.

1.2.2 免疫组织化学: p16 rabbit polyclonal IgG均购于美国Santa Cruz(货号为: sc-468), 免疫组织化学SABC试剂盒和DAB显色试剂盒均购自上海蓝基生物公司. 分别检测每位患者胃癌病灶组织和周围正常组织, 2%多聚甲醛固定后, 石蜡包埋并分别隔100 μm深度的层面上连续4 μm切片. 按照SABC试剂盒要求进行操作, 检测标本中p16的表达情况. *p16*基因阳性表达主要表现为细胞核呈棕色及黄褐色; 偶尔在细胞质呈黄褐色(图1). 采用双盲法, 由两名有经验的病理诊断医师同时进行. 应用Image Pro Plus 6.0图像处理与分析系统, 统计切片视野中阳性细胞和总细胞数, 并按照阳性率 = 阳性细胞/总细胞×100%, 得出每位患者组织的阳性率.

1.2.3 疗效评价: 采用实体肿瘤评价标准[3]对化疗疗效进行评价, 并计算p16低表达组和p16正常表达组2年和5年生存率.

统计学处理 采用SPSS19.0软件进行统计学分析. 所有计量资料采用t检验分析, 所有计数资料采用χ^2检验分析, 结果以χ^2和P表示. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 胃腺癌患者病灶组织p16的表达 胃腺癌患者病灶组织p16的阳性率观察组为17.4%±3.6%, 显著低于对照组(43.7%±17.4%)(t = -6.57, P<0.05). 观察组p16阳性率分布情况结果如表1所示, 以20%为阈值, >20%为正常表达组, 低于20%为低表达组. 正常表达组有19例(40.43%),

■研究前沿
抑癌基因、癌基因和其他基因表达差异与肿瘤化疗等治疗疗效和预后的关系的研究报道很多, 也成为近几年肿瘤治疗中的研究重点.

■相关报道
江洪等发现Ⅲ型β微管蛋白(β-tubulin-Ⅲ)mRNA表达与Ⅱ期非小细胞肺癌对诺维本+顺铂方案化疗敏感度的影响较大.

■创新盘点
本文的结果证明了p16过低表达会增加胃腺癌患者化疗后的死亡风险，且数据表明p16可较好的预测患者化疗预后.

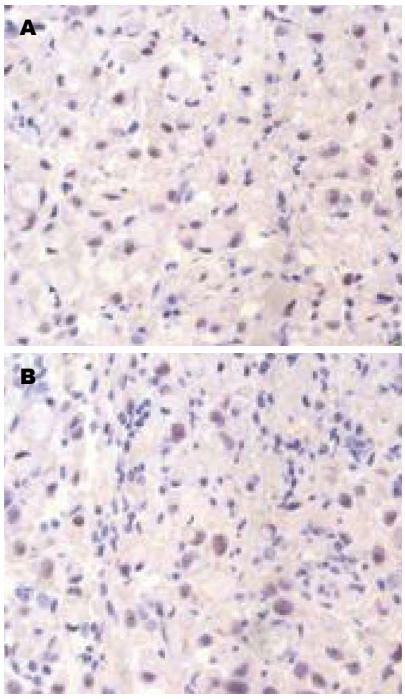


图 1 p16在胃黏膜上皮组织中的表达情况(×40). A: 观察组; B: 对照组.

低表达组有28例(59.57%).

2.2 病灶组织*p16*基因表达与胃腺癌化疗预后的关系 p16低表达组16例患者经化疗后2年生存6例(31.58%), 5年生存4例(21.05%), 均显著低于p16正常表达组(P<0.05, 表2).

表 1 观察组p16阳性率分布情况

p16阳性率范围	*n*	比例(%)
0%–10%	3	6.38
10%–20%	25	53.19
20%–30%	17	36.17
30%–40%	2	4.26

表 2 病灶组织*p16*基因表达与胃腺癌化疗预后的关系 *n*(%)

	n	2年生存率	5年生存率
p16低表达组	19	6(31.58)	4(21.05)
p16正常表达组	28	18(64.29)	14(50.00)
χ^2		4.846	4.014
*P*值		0.028	0.045

3 讨论

本文主要探讨胃腺癌患者病灶组织*p16*基因表达与XELOX方案化疗后2年和5年生存率之间的关系, 以评价p16在胃腺癌化疗预后中的临床价值. 首先比较了观察组和对照组*p16*基因的表达, 结果表明胃腺癌患者病灶中*p16*基因会过低表达; 其次统计了观察组中不同p16阳性率范围中患者的例数, 并选择20%阳性率为p16表达的阈值; 最后比较<20%的患者和>20%患者2年和5年的生存情况, 结果表明p16阳性率<20%的患者人群中2年生存率和5年生存率均显著高于p16阳性率>20%的患者人群. 上述结果均表明, *p16*抑癌基因的过低表达的患者化疗后预后较差, 并且*p16*基因的表达可以作为预测胃腺癌化疗预后的重要指标.

肿瘤治疗效果的个体差异性可能跟癌基因、抑癌基因或其他基因表达相关. 江洪等[4]发现III型β微管蛋白(β-tubulin-III)mRNA表达与II期非小细胞肺癌对诺维本+顺铂方案化疗敏感度的影响较大. 陈俭云等[5]通过RNAi干扰技术干扰了survivin表达后增强了胰腺癌对厄洛替尼敏感性. 不仅如此, *GSTT1*、*GSTM1*、*MDR1*基因多态性与白血病治疗[6], *FTO*基因表达与乳腺癌的治疗[7]等均被证明是基因表达与肿瘤化疗治疗的关系的有力证据. 除此之外, *p16*抑癌基因与肿瘤治疗之间的关系也成为近几年的研究热点.

*p16*是细胞周期中的重要基因, 参与调控细胞周期、细胞增殖和分裂. 研究表明50%的肿瘤细胞中*p16*基因均会缺失或突变而过低表达, 目前已经在肺癌[8]、乳腺癌[9]、胃癌[10]、肾癌[11]等肿瘤细胞中证实了上述结论, 因此该基因可以作为预测肿瘤发生的重要指标. 另外, p16还逐步被应用于预测肿瘤疾病治疗预后. 例如张海燕等[12]在6-24 mo随访期间发现p16阴性CIN II宫颈癌患者可进展为CINIII, 且p16阳性患者病情无明显发展. 在乳腺癌的预后中也类似, 冯云等[13]发现p16阳性患者淋巴结无明显转移, 而阴性患者淋巴结会显著转移. 同样, 在大肠癌的高分化组中p16的表达量也最低, 也说明p16可以作为大肠癌分化预后的重要指标[14]. 以上有关p16在疾病预后中的应用研究均局限于探讨p16与疾病进展关系研究, 而本文是探讨p16表达与胃腺癌化疗生存预后的关系, 马炬明等[15]的结果表明胃癌病灶组织p16阴性时化疗后无瘤生存期明显缩短, 从而提示我们p16表达可能会与胃癌化疗后生存相关. 本文的结果证明了p16过低表达会增加胃腺癌患者化疗后的死亡风险, 且数据表明p16可较好的预测患者化疗预后.

虽然结果表明了p16在胃腺癌患者XELOX

方案化疗预后中的临床价值, 但本文的病例样本数较少, 需要增加样本数进行深入分析. 另外, 本文仅探讨p16与XELOX方案化疗预后的关系, 而p16是否在胃腺癌经其他化疗方案或治疗方法中具有预后价值, 还需要进一步去收集临床数据进行分析. 虽然如此, 本文可表明p16可能是预测胃腺癌XELOX方案化疗预后的重要指标.

4 参考文献

1 Huang YM, Hsieh TY, Chen JR, Chien HP, Chang PH, Wang CH, Huang JS. Gastric and colonic metastases from primary lung adenocarcinoma: A case report and review of the literature. *Oncol Lett* 2012; 4: 517-520 [PMID: 22970049]

2 Vial M, Grande L, Pera M. Epidemiology of adenocarcinoma of the esophagus, gastric cardia, and upper gastric third. *Recent Results Cancer Res* 2010; 182: 1-17 [PMID: 20676867 DOI: 10.1007/978-3-540-70579-6_1]

3 柳影, 程颖. 实体肿瘤疗效评价标准的研究. 实用肿瘤学杂志 2004; 18: 149-152

4 江洪, 周星明, 王小红, 苏丹, 陶开义. β-tubulin-Ⅲ基因表达与Ⅱ期非小细胞肺癌患者化疗敏感度的关系. 肿瘤防治研究 2013; 40: 568-571

5 陈俭云, 王正文, 崔海宁, 罗健. 靶向RNAi抑制survivin基因增强胰腺癌对厄洛替尼化疗敏感性的实验研究. 海南医学院学报 2013; 19: 1157

6 许静, 徐康康, 李庆平, 王斌, 顾海娟, 李天媛, 廖清船. GSTT1、GSTM1基因多态性与儿童急性淋巴细胞白血病早期治疗反应及化疗不良反应的关系. 南京医科大学学报(自然科学版) 2010; 30: 832-836

7 马英路, 袁凯, 张坤, 张桂, 郝广旭, 孟志刚, 付荣湛. FTO基因在乳腺癌组织的表达及新辅助化疗对其表达的影响. 中国普通外科杂志 2012; 15: 1385-1388

8 刘淼, 王丹, 李伟, 索冰, 程松. EGFR、HER2、c-jun、c-fos、P21、P16、P53在非小细胞肺癌中的表达及临床病理特征. 黑龙江医学 2012; 36: 643-645, 649

9 杨洋, 郑荣生. Chk1和p16在三阴性乳腺癌中的表达及相关性分析. 临床肿瘤学杂志 2012; 17: 126-130

10 朱兴国, 孟翔凌, 王成宏, 王栋, 胡闻, 陈晓宇. p16蛋白、RUNX3蛋白在胃癌组织中的表达及其临床意义. 安徽医科大学学报 2010; 45: 93-95

11 张涛, 罗志刚. 肾癌的基因研究进展. 当代医学 2011; 17: 25-26

12 张海燕, 欧雪峰, 唐华贵, 王辉, 彭新萍, 吴庆萍. HPVL1衣壳蛋白、P16在宫颈鳞状上皮内病变组织中的表达及其意义. 海南医学院学报 2012; 18: 607-609

13 冯云, 张练, 李振宇, 周会行, 李军红. Bmi-1和P16蛋白在乳腺癌组织中的表达及意义. 广东医学 2012; 33: 2616-2618

14 冀建波. 大肠腺癌中E2F1和p16蛋白的表达与预后的关系. 山西医药杂志 2012; 41: 342-343

15 马炬明, 施正杰, 陈磊, 胡慧珍, 王伟国, 苏长青, 杨昌平. 抑癌基因p16的表达与胃癌细胞增殖及胃癌患者预后的关系. 中华肿瘤杂志 2012; 34: 21-25

■同行评价

本文方法设计科学、结果可靠, 结论表明p16可能是预测胃腺癌XELOX方案化疗预后的重要指标, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2728-2733
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

肝移植受者早期EC-MPS药代动力学的临床特点

李鹏飞, 谢俊杰, 陈 冰, 金佳斌, 邓侠兴, 陈 皓, 沈柏用, 彭承宏

■背景资料
麦考酚钠肠溶片(EC-MPS)作为免疫抑制剂广泛应用于器官移植领域. EC-MPS是麦考酚酸(MPA)的钠盐, 霉酚酸酯在体内通过转化为霉酚酸而发挥免疫抑制活性, MPA对淋巴细胞IMPDH的抑制导致了细胞内鸟苷酸的衰竭, 抑制DNA的合成, 限制淋巴细胞的增殖. 肝移植受者口服霉酚酸酯后血清对CEM细胞的增殖产生显著抑制作用, 其作用和霉酚酸浓度呈显著负相关.

李鹏飞, 谢俊杰, 金佳斌, 邓侠兴, 陈皓, 沈柏用, 彭承宏, 上海交通大学医学院附属瑞金医院器官移植中心 上海市 200025
陈冰, 上海交通大学医学院附属瑞金医院药剂科 上海市 200025
李鹏飞, 硕士研究生, 主要从事肝移植受者术后早期米芙药代动力学的研究.
作者贡献分布: 李鹏飞与谢俊杰对此文所作贡献均等; 此课题由李鹏飞、谢俊杰、陈冰、金佳斌、邓侠兴、陈皓、沈柏用及彭承宏设计; 研究过程由李鹏飞、谢俊杰、金佳斌、邓侠兴、陈皓、沈柏用及彭承宏操作完成.
通讯作者: 陈皓, 主任医师, 200025, 上海市瑞金二路197号, 上海交通大学医学院附属瑞金医院器官移植中心.
haochendr@126.com
收稿日期: 2013-07-29 修回日期: 2013-09-06
接受日期: 2013-09-07 在线出版日期: 2013-09-18

Pharmacokinetic characteristics of enteric-coated mycophenolate sodium in liver transplant recipients early after transplantation

Peng-Fei Li, Jun- Jie Xie, Bing Chen , Jia-Bin Jin, Xia-Xing Deng, Hao Chen, Bo-Yong Shen, Cheng-Hong Peng

Peng-Fei Li, Jun- Jie Xie, Jia-Bin Jin, Xia-Xing Deng, Hao Chen, Bo-Yong Shen, Cheng-Hong Peng, Organ Transplantation Center, Ruijin Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 20025, China
Bing Chen, Department of Pharmacy, Ruijin Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 20025, China
Correspondence to: Hao Chen, Chief Physician, Organ Transplantation Center, Ruijin Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, 197 Ruijin Second Road, Shanghai 20025, China. haochendr@126.com
Received: 2013-07-29 Revised: 2013-09-06
Accepted: 2013-09-07 Published online: 2013-09-18

Abstract
AIM: To investigate the pharmacokinetics of enteric-coated mycophenolate sodium (EC-MPS) in liver transplant recipients early after transplantation.

METHODS: Twenty-five liver transplant recipient received tacrolimus and EC-MPS (720 mg, twice daily). Mycophenolic acid (MPA) concentrations were measured by high performance liquid chromalography (HPLC) before dosing ($C_{0\,h}$) and at 0.5 h ($C_{0.5\,h}$), 1 h ($C_{1\,h}$), 1.5 h ($C_{1.5\,h}$), 2 h ($C_{2\,h}$), 4 h ($C_{4\,h}$), 6 h ($C_{6\,h}$), 8 h ($C_{8\,h}$), 10 h ($C_{10\,h}$), and 12 h ($C_{12\,h}$) after dosing between days 7 and 21 post-operatively. Meanwhile, trough concentration ($C_{0\,h}$) of FK506, hepatic and renal function and blood cell counts were also measured. The WinNonlin software was used to calculate the area of concentration-time under the curve (AUC).

RESULTS: The average MPA-$AUC_{0\text{-}12h}$ was 40.36 (μg•h)/mL ± 17.20 (μg•h)/mL. The Cmax was 17.037 mg/L ± 7.632 mg/L, and the Tmax was 3.06 h ± 1.50 h. Individual concentrations of MPA-$C_{0\,h}$-$C_{12\,h}$ were not significantly related with MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$ ($r^2 < 0.75$). FK506-$C_{0\,h}$, serum albumin level and Cr-CL were not significantly correlated with MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$ (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: The variability of MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$ is significant in liver transplant recipients early after transplantation. Single time-point MPA concentration can not reflect MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$ effectively. MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$ is less influenced by FK506 concentration, serum albumin and creatinine clearance.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Enteric-coated mycophenolate sodium; Mycophenolic acid; Pharmacokinetics; Liver transplantation

Li PF, Xie JJ, Chen B, Jin JB, Deng XX, Chen H, Shen BY, Peng CH. Pharmacokinetic characteristics of enteric-coated mycophenolate sodium in liver transplant recipients early after transplantation. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2728-2733 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2728.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2728

摘要
目的: 观察肝移植术后早期麦考酚钠肠溶片(enteric-coated mycophenolate sodium, EC-MPS)药代动力学特点.

方法: 25例肝移植受者术后联合应用他克莫

■同行评议者
胡安斌, 副教授, 副主任医师, 中山大学附属第一医院普外科-器官移植科

司Tacrolimus(FK506)和EC-MPS治疗. EC-MPS口服剂量为720 mg, 2次/d. 术后7、21 d分别在服药前及服药后1、1.5、2、2.5、3、4、6、8和12 h取外周血, 采用高效液相色谱法(high performance liquid chromalography, HPLC)测定血浆麦考酚酸(mycophenolic acid, MPA)浓度. WinNonlin软件计算MPA药时曲线下面积(area of concentration-time under the curve, AUC). 同时测定FK506谷浓度(FK506-$C_{0\,h}$)及肝、肾功能和血细胞记数.

结果: 合并43套数据, MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$平均为40.36 (μg • h)/mL±17.20 (μg • h)/mL, C_{max}为16.66 μg/mL±9.73 μg/mL, T_{max}为3.14 h±1.78 h. MPA-$C_{0\,h}$ -$C_{12\,h}$与MPA-$AU_{C0\text{-}12\,h}$的相关性不显著(r^2<0.75). MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$与FK506-$C_{0\,h}$、血清白蛋白水平及肌酐清除率显著相关性(P>0.05).

结论: 肝移植后早期患者服用EC-MPS MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$个体间差异很大; 单个时间点MPA浓度不能有效反映MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$; FK506-$C_{0\,h}$、血清白蛋白水平及肌酐清除率不影响MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 米芙; 霉酚酸; 药物代谢动力学; 肝移植

核心提示: 本研究观察25例肝移植患者移植后口服麦考酚钠肠溶片(enteric-coated mycophenolate sodium, EC-MPS)早期麦考酚酸药代动力学特点, 了解在肝移植患者中EC-MPS药代动力学特点, 希望更好地为肝移植患者术后长期生存及临床指导用药带来帮助.

李鹏飞, 谢俊杰, 陈冰, 金佳斌, 邓俠兴, 陈皓, 沈柏用, 彭承宏. 肝移植受者早期EC-MPS药代动力学临床特点. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2728-2733 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2728.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2728

0 前言

麦考酚钠肠溶片(enteric-coated mycophenolate sodium, EC-MPS), 商品名为米芙, 作为免疫抑制剂广泛应用于器官移植领域, 逐步成为器官移植免疫抑制的一线药物. EC-MPS是麦考酚酸(mycophenolic acid, MPA)的钠盐. MPA是一种选择性、非竞争性、可逆的次黄嘌呤单磷酸脱氢酶(hypoxanthine nucleotide dehydrogenase, IMPDH)抑制剂, 能够抑制鸟嘌呤核苷酸的经典合成途径, 阻止T淋巴细胞分裂及B细胞抗体形成. 本研究将观察25例肝移植患者移植后口服EC-MPS早期MPA药代动力学特点.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-05/2011-07在瑞金医院器官移植中心接受肝移植手术者25例. 乙型肝炎后肝硬化伴肝癌12例, 乙型肝炎后肝硬化7例, 重症肝炎肝硬化3例, 乙型肝炎后肝硬化肝豆状核变性2例, 多囊肝1例. 平均年龄46.96岁±12.69岁; 其中男20例, 女5例, 全部患者知情同意.

1.2 方法

1.2.1 免疫抑制剂应用方案: 25例肝移植受者均采用三联免疫抑制方案EC-MPS+他克莫FK506+激素治疗. 术前6 h口服EC-MPS 720 mg. 术后每隔12 h口服EC-MPS 720 mg, 2次/d; 术后第2天起开始口服FK506, 同时监测FK506血药谷浓度(FK506-$C_{0\,h}$)以调整FK506口服剂量, 使其血药浓度维持在5-10 μg/mL. 其中15例患者术中及术后1 d静脉推注甲泼尼龙(methyl prednisolone, MP)500 mg, 以后停用. 10例患者, 术后第1-7天MP使用量从240 mg减至20 mg, 以后改用泼尼松20 mg口服.

1.2.2 检测指标: 患者于术后第7、21天采集外周静脉血, 进行下列检测: (1)血常规: 白细胞(white blood cell, WBC)、红细胞(red blood cell, RBC)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)和血小板(platelet, PLT); (2)肝、肾功能、血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、血清天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、血清碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)、血清谷酞氨转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、白蛋白(albumin, ALB)和血清肌酐(creatinine, Cr); (3)FK506谷浓度(FK506-$C_{0\,h}$). 观测指标: WBC<4×10^9/L、Hb<110 g/L、PLT<100×10^9/L、ALT>64 IU/L、TBIL>24 mmol/L、ALB<35 g/L、Cr>115 mmol/L视为异常.

1.2.3 MPA浓度测定方法: 于服药前及服药后0.5、1、1.5、2、4、6、8、10和12 h分别抽取外周血3 mL, 以肝素抗凝, 置4 ℃冰箱保存. 取血浆样品0.2 mL, 置于5 mL尖底试管中, 加人内标酞胺咪嗪溶液4 μL, 再加人2.5倍体积量的乙睛, 漩涡震荡30 s, 于4000 r/min离心10 min. 定量吸取上清液200 μL进行测定. 采用高效液相色谱法(high performance liquid chromalography, HPLC)

■研发前沿

本研究MPA-$C_{0\,h}$-$C_{12\,h}$与MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$相关性均很差, r^2均<0.75, MPA-$C_{8\,h}$的复相关系数最高(r^2 = 0.19); 在统计学上, MPA单个时间点浓度与MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$之间的复相关系数(r^2)应超过0.75以上才具有应用价值, 本研究r^2均<0.75, 所以单个时间点MPA浓度不能有效反映MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$.

■相关报道
Kobayashi等证实MPAG的胆汁排泄必须依赖多药耐药相关蛋白2(MRP2)才能完成, MRP2优先选择MPAG, 当胆汁进入小肠, MPAG在微生物的作用下被降解为MPA并被重新吸收进入体循环, 此过程即为MPA的肠肝循环.

表 1 EC-MPS MPA药代动力学参数

检测项目	术后7 d	术后21 d	所有43套数据
AUC[(μg・h)/mL]	41.13±15.17	40.23±20.24	40.360±17.200
C_{max}(μg/mL)	17.04±7.63	16.13±12.30	16.657±9.732
T_{max}(h)	3.25±2.16	3.14±1.78	3.140±1.781

EC-MPS: 米芙; MPA: 麦考酚酸; AUC: 药-时曲线下面积.

表 2 MPA-$C_{0\,h}$-$C_{12\,h}$与MPA-$AUC_{0-12\,h}$的相关性

	$C_{0\,h}$	$C_{1\,h}$	$C_{1.5\,h}$	$C_{2\,h}$	$C_{2.5\,h}$	$C_{3\,h}$	$C_{4\,h}$	$C_{6\,h}$	$C_{8\,h}$	$C_{12\,h}$
r^2	0.001	0.001	0.005	0.119	0.04	0.053	0.008	0.113	0.199	0.01
*P*值	0.883	0.886	0.663	0.024	0.196	0.137	0.159	0.028	0.003	0.524

MPA: 麦考酚酸; AUC: 药-时曲线下面积.

测定患者各时段的血浆总MPA浓度, 分别标为MPA-$C_{0\text{-}12\,h}$并计算其药时曲线下面积(area of concentration-time under the curve, AUC). 探测的紫外线波长为254 nm, 血浆中MPA的最低检测浓度为0.25 ng/mL.

1.2.4 MPA药代动力学参数计算: 采用WinNonlin Professional 2.1药理学专用软件计算MPA药代动力学参数, MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$采用梯形法则计算.

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件处理数据. 计量资料用mean±SD表示. 同类数据间差异的比较采用独立样本*t*检验, 不同变量间比较采用Pearson相关分析和线性回归分析. $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 MPA的药代动力学 合并43套数据, MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$为40.36 (μg・h)/mL±17.20 (μg・h)/mL, C_{max}为16.66 μg/mL±9.73 μg/mL, T_{max}为3.14 h±1.78 h. 药物半衰期平均为3.25 h±2.52 h. 术后7 d 25套及术后21 d 18套MPA药代动力学数据如表1所示. 术后1 mo内25例患者中3例发生白细胞减少、3例发生感染、1例出现恶心、呕吐及腹泻, 没有患者出现急性排斥反应.

2.2 MPA-$C_{0\,h}$-$C_{12\,h}$与MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$的相关性 合计43套数据, MPA-$C_{0\,h}$-$C_{12\,h}$与MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$相关性均很差, r^2均小于0.75(表2).

2.3 MPA的暴露 参照欧美移植人群MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$最佳治疗窗30-60 (μg・h)/mL目标暴露范围. 本研究43套数据中MPA低暴露11例(25.58%), 目标暴露7例(58.14%), 高暴露组7例(16.28%). 低暴露组、目标暴露组、高暴露组的平均MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$分别为: 20.94 (μg・h)/mL±6.66 (μg・h)/mL、40.68 (μg・h)/mL±8.14 (μg・h)/mL和69.74 (μg・h)/mL±5.82 (μg・h)/mL.

2.4 检验分析 合计43套数据, 肝、肾功能、内生肌酐清除率和血WBC计数异常组与正常组相比MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$无显著差异($P>0.05$)(表3). MPA-$AUC_{0\text{-}12\,h}$与FK506-$C_{0\,h}$亦无显著相关性($P>0.05$).

3 讨论

EC-MPS作为免疫抑制剂广泛应用于器官移植领域. EC-MPS是MPA的钠盐, 霉酚酸酯在体内通过转化为霉酚酸而发挥免疫抑制活性, MPA对淋巴细胞IMPDH的抑制导致了细胞内鸟苷酸的衰竭, 抑制DNA的合成, 限制淋巴细胞的增殖[1]. 肝移植受者口服霉酚酸酯后血清对白血病细胞(CEM)的增殖产生显著抑制作用, 其作用和霉酚酸浓度呈显著负相关[2]. EC-MPS在上消化道、血液、肝脏被酯酶水解成活性药物MPA, MPA在尿苷二磷酸-葡萄糖醛酸酶作用下变为没有活性的酚醛葡糖苷酸(mycophenolic acid glucuronide, MPAG), MPAG从尿液排出[3,4]. Kobayashi等[5]证实MPAG的胆汁排泄必须依赖多药耐药相关蛋白2(multi-drug resistance associated proteins 2, MRP2)才能完成, MRP2优先选择MPAG, 当胆汁进入小肠, MPAG在微生物的作用下被降解为MPA并被重新吸收进入体循环, 此过程即为MPA的肠肝循环(enterohepatic circulation, EHC). IMPDH次黄嘌呤单核苷酸脱氢酶活性的抑制作用被认为是MPA表达的一个

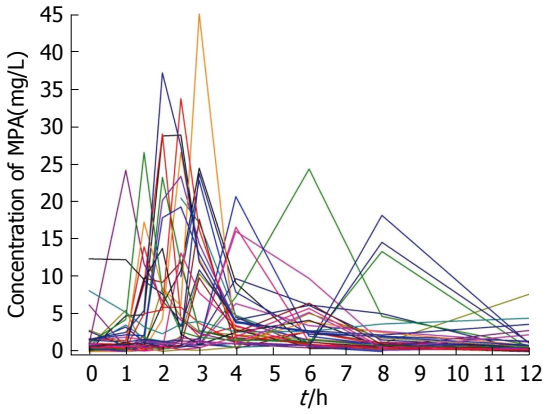


图 1 EC-MPS MPA浓度的个体差异.

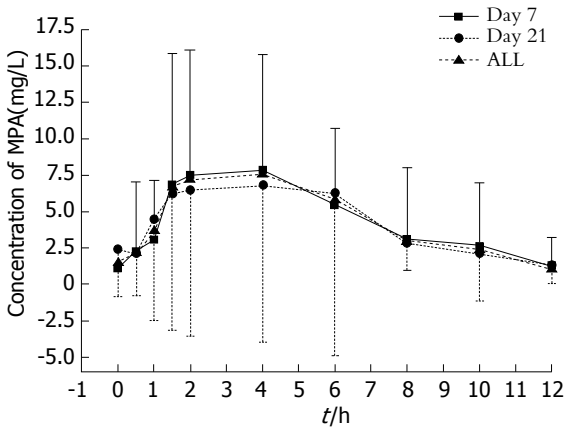


图 2 EC-MPS MPA药代动力学参数.

很好的药效学指标. Bremer等[6]指出MPA的暴露引起CD4+细胞和全血*IMPDH1*和*IMPDH2*基因表达减少. Glander等[7]对EC-MPS标准剂量1440 mg/d组 *vs* 强化剂量组2880 mg/d进行对比, 发现强化剂量组在移植后3 d次黄嘌呤单磷酸脱氢酶活性较标准剂量组明显降低, 血液系统不良事件(adverse events, AEs)和感染不良反应在2组剂量组中发生比类似, 而胃肠道AES在强化剂量组中发生率较高. de Winter等[8]报道EC-MPS在模拟胃pH的试管中不吸收, 而在模拟小肠pH值试管中高度溶解. Enteric-coated耐酸, 药物到达小肠才被吸收, 从而改善了胃肠道不良反应[9,10]. Reyes等[11]做过胃肠道症状评估量表(gastrointestinal symptom rating scale, GSRS)调查问卷, 用EC-MPS代替MMF后, GSRS得分有一个显著的改进.

本研究EC-MPS的第二个药时高峰不明显, 与Qiu等[12]报道10例肾移植患者每天服用1080 mg EC-MPS(分2次)没有表现出由于肝肠循环而形成的第二个药时高峰的结论基本一致. 本研究药时曲线下面积范围在8.5-75.5

表 3 肝肾功能、WBC与MPA-$AUC_{0-12\,h}$的相关性

检测项目	*n*	MPA-$AUC_{0-12\,h}$ [(μg・h)/mL]	*P*值
ALT(IU/L)			0.11
>64	26	40.80 ± 16.95	
<64	17	35.09 ± 16.71	
AST(IU/L)			0.87
>42	10	39.54 ± 17.24	
<42	33	40.61 ± 17.45	
AKP(IU/L)			0.42
>64	31	41.71 ± 15.65	
<64	12	36.88 ± 21.07	
GGT(IU/L)			0.34
>64	30	42.03 ± 16.51	
<64	13	36.52 ± 18.83	
ALB(g/L)			0.34
>35	31	41.94 ± 18.22	
<35	12	36.28 ± 14.12	
TBIL(mmol/L)			0.46
>24	34	39.35 ± 17.23	
<24	9	44.19 ± 15.57	
DBIL(IU/L)			0.46
>6.8	34	39.35 ± 17.23	
<6.8	9	44.19 ± 17.57	
Ccr(IU/L)			0.91
>120	17	40.00 ± 16.02	
<120	26	40.59 ± 18.25	
WBC(×10^9/L)			0.13
>4	15	34.87 ± 14.31	
<4	28	43.30 ± 18.13	

ALT: 血清丙氨酸转氨酶; AST: 血清天冬氨酸转氨酶; AKP: 血清碱性磷酸酶; GGT: 血清谷酰氨转肽酶; ALB: 白蛋白; TBIL: 总胆红素; DBIL: 直接胆红素; Ccr: 内生肌酐清除率; WBC: 白细胞.

(μg・h)/mL之间, 平均40.3 (μg・h)/mL±17.2 (μg・h)/mL, 最大浓度C_{max}为16.6 μg/mL±9.7 μg/mL, 43套数据中65%在其范围内; 达峰时间为T_{max}均值为3.1 h±1.7 h; T-Half为3.2 h±2.5 h. EC-MPS MPA浓度的个体差异(图1); EC-MPS MPA药代动力学参数(图2). Perry等[13]研究结果显示21例肝移植患者每天服用EC-MPS单剂量720 mg, MPA-AUC在17.3-90 (μg・h)/mL之间, 平均45.3 (μg・h)/mL±23.1 (μg・h)/mL; 最大浓度C_{max}为28.4 μg/mL±16.1 μg/mL; T_{max}为2.4 h±1.1 h; T-Half为5.3 h±4.3 h; Sommerer等[14]研究结果显示57例肾移植患者每天服用EC-MPS 1440 mg(分2次), MPA-AUC在7-130 (μg・h)/mL之间, 平均38 (μg・h)/mL, 最大浓度C_{max}为12 mg/L; T_{max}为3.0 h. Ettenger等[15]研究结果中显示25例肾移植患者每天服用EC-MPS 720 mg(分2次)T-Half为8 h. 因此, 移植受者MPA药时曲线各家报道基本一致, 但MPA-

■同行评价

本研究通过数据分析逐步了解在肝移植患者中EC-MPS药代动力学特点, 为肝移植患者术后长期生存及临床指导用药带来帮助.

$AUC_{0\text{-}12\ h}$个体间变化很大.

MPA的暴露不受其他免疫抑制剂及肝、肾功能异常的影响; 白蛋白、肌酐、肌酐清除率不影响MPA-$AUC_{0\text{-}12\ h}$; 血清白蛋白、肌酐清除率不影响MPA清除率. 合计43套数据, 肝、肾功能、肌酐清除率(Ccr)和血WBC计数异常组与正常组相比MPA-$AUC_{0\text{-}12\ h}$无显著差异(P>0.05). MPA-$AUC_{0\text{-}12\ h}$与FK506-$C_{0\ h}$、白蛋白、肌酐、肌酐清除率无显著相关性(P>0.05). 同时MPA清除率与血清白蛋白、肌酐清除率亦无显著相关性(P>0.05). Stracke等研究结果中显示24例肾移植患者每天服用EC-MPS 720 mg血浆白蛋白浓度与EC-MPS MPA-$AUC_{0\text{-}12\ h}$没有显著相关性, 与本研究结果基本一致[16].

本研究MPA-$C_{0\ h}$-$C_{12\ h}$与MPA-$AUC_{0\text{-}12\ h}$相关性均很差, r^2均小于0.75, MPA-$C_{8\ h}$的复相关系数最高(r^2 = 0.19); 在统计学上, MPA单个时间点浓度与MPA-$AUC_{0\text{-}12\ h}$之间的复相关系数(r^2)应超过0.75以上才具有应用价值, 本研究r^2均小于0.75, 所以单个时间点MPA浓度不能有效反映MPA-$AUC_{0\text{-}12\ h}$. Perry等研究结果显示21例肝移植患者每天服用EC-MPS单剂量720 mg MPA-$C_{5\ h}$的复相关系数最高(r^2 = 0.66)[14]. 肝移植术后早期移植受者EC-MPS MPA-$AUC_{0\text{-}12\ h}$个体差异很大; 单个时间点MPA浓度不能有效反映MPA-$AUC_{0\text{-}12\ h}$的变化. 我们通过上述数据分析逐步了解在肝移植患者中EC-MPS药代动力学特点, 希望更好的为肝移植患者术后长期生存及临床指导用药带来帮助.

4 参考文献

1 Allison AC, Eugui EM. Mechanisms of action of mycophenolate mofetil in preventing acute and chronic allograft rejection. *Transplantation* 2005; 80: S181-S190 [PMID: 16251851 DOI: 10.1097/01.tp.0000186390.10150.66]

2 张贵阳, 施敏敏, 张伟霞, 顾志冬, 茅华荣, 陈皓. 霉酚酸在肝移植受者的药代动力学与药效学相关性研究. 中国临床药理学杂志 2010; 26: 4

3 Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2007; 46: 13-58 [PMID: 17201457 DOI: 10.2165/00003088-200746010-00002]

4 Hesselink DA, van Gelder T. Genetic and nongenetic determinants of between-patient variability in the pharmacokinetics of mycophenolic acid. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 78: 317-321 [PMID: 16198650 DOI: 10.1016/j.clpt.2005.06.008]

5 Kobayashi M, Saitoh H, Kobayashi M, Tadano K, Takahashi Y, Hirano T. Cyclosporin A, but not tacrolimus, inhibits the biliary excretion of mycophenolic acid glucuronide possibly mediated by multidrug resistance-associated protein 2 in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 309: 1029-1035 [PMID: 14978191 DOI: 10.1124/jpet.103.063073]

6 Bremer S, Vethe NT, Rootwelt H, Bergan S. Expression of IMPDH1 is regulated in response to mycophenolate concentration. *Int Immunopharmacol* 2009; 9: 173-180 [PMID: 19010451 DOI: 10.1016/j.intimp.2008.10.017]

7 Glander P, Sommerer C, Arns W, Ariatabar T, Kramer S, Vogel EM, Shipkova M, Fischer W, Zeier M, Budde K. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intensified versus standard dosing of mycophenolate sodium in renal transplant patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 503-511 [PMID: 20150450 DOI: 10.2215/CJN.06050809]

8 de Winter BC, van Gelder T, Mathot RA, Glander P, Tedesco-Silva H, Hilbrands L, Budde K, van Hest RM. Limited sampling strategies drawn within 3 hours postdose poorly predict mycophenolic acid area-under-the-curve after enteric-coated mycophenolate sodium. *Ther Drug Monit* 2009; 31: 585-591 [PMID: 19704401 DOI: 10.1097/FTD.0b013e3181b8679a]

9 Nart A, Sipahi S, Aykas A, Uslu A, Hoşcoşkun C, Toz H. Efficacy and safety of enteric-coated mycophenolate sodium in de novo and maintenance renal transplant patients. *Transplant Proc* 2008; 40: 189-192 [PMID: 18261583 DOI: 10.1016/j.transproceed.2007.11.066]

10 Zimmerhackl LB, Jungraithmayr T, Wiesmayr S, Filler G. Myfortic in pediatric transplantation. *Pediatr Transplant* 2008; 12: 614-616 [PMID: 18518910 DOI: 10.1111/j.1399-3046.2008.00979.x]

11 Reyes H, Hernández AM, Valverde S, Cataneo A, Mendoza A, Barrera I, Ortíz L, García-Roca P, López-Martínez B, Castañeda-Hernández G, Medeiros M. Efficacy and safety of conversion of mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium in Mexican renal transplant children. *Pediatr Transplant* 2010; 14: 746-752 [PMID: 20412508 DOI: 10.1111/j.1399-3046.2010.01326.x]

12 Qiu K, Tian H, Wang W, Hu XP, Li XB, Gong LL, Luo W, Liu LH, Zhang XD, Yin H. Pharmacokinetics of enteric-coated mycophenolate sodium in Chinese renal transplantation recipients. *Chin Med J* (Engl) 2012; 125: 4226-4232 [PMID: 23217391]

13 Perry TW, Christians U, Trotter JF, Bendrick-Peart J. Pharmacokinetics of enteric-coated mycophenolate sodium in stable liver transplant recipients. *Clin Transplant* 2007; 21: 413-416 [PMID: 17488394 DOI: 10.1111/j.1399-0012.2007.00662.x]

14 Sommerer C, Müller-Krebs S, Schaier M, Glander P, Budde K, Schwenger V, Mikus G, Zeier M. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of enteric-coated mycophenolate sodium: limited sampling strategies and clinical outcome in renal transplant patients. *Br J Clin Pharmacol* 2010; 69: 346-357 [PMID: 20406219 DOI: 10.1111/j.1365-2125.2009.03612.x]

15 Ettenger R, Bartosh S, Choi L, Zhu W, Niederberger W, Campestrini J, Bastien MC, Schmouder R. Pharmacokinetics of enteric-coated mycophenolate sodium in stable pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Transplant* 2005; 9: 780-787 [PMID: 16269051 DOI: 10.1111/j.1399-3046.2005.00386.x]

16 Stracke S, Shipkova M, Mayer J, Keller F, Zarghom

A, Yang L, Henne-Bruns D, Wieland E. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate sodium (EC-MPS) co-administered with cyclosporine in the early-phase post-kidney transplantation. *Clin Transplant* 2012; 26: 57-66 [PMID: 21299636 DOI: 10.1111/j.1399-0012.2011.01403.x]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利

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

• 消息 •

百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录

本刊讯 由美国国立医学图书馆(U.S. National Library of Medicine, 简称NLM), 美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称NCBI))和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, 简称NIH), 共同于2010-2011年, 收录了百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Co., Limited, 简称BPG)出版的12种开放获取生物医学期刊. 12种期刊被NLM, NCBI和NIH共同主办的PubMed Central和PubMed平台, 公开面向全球发布, 读者免费阅读和下载全文. 12种期刊被收录的名称及网址如下:

1 World Journal of Biological Chemistry (世界生物化学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1495/

2 World Journal of Cardiology (世界心脏病学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1320/

3 World Journal of Clinical Oncology (世界临床肿瘤学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1494/

4 World Journal of Diabetes (世界糖尿病杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1498/

5 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy (世界胃肠内镜杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1323/

6 World Journal of Gastrointestinal Oncology (世界胃肠肿瘤学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1324/

7 World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology (世界胃肠病理生理学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1496/

8 World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics (世界胃肠药理学与治疗杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1497/

9 World Journal of Gastrointestinal Surgery (世界胃肠外科杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1325/

10 World Journal of Hepatology (世界肝病学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1321/

11 World Journal of Radiology (世界放射学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1322/

12 World Journal of Stem Cells (世界干细胞杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1470/

(总编辑: 马连生2011-05-30)

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2734-2738
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

腹腔镜胆囊切除术治疗“高危”胆囊结石93例

蔡治方, 兑丹华, 兰天罡, 刘 尧, 黄 辉

■背景资料
微创是普通外科发展的一个方向, 腹腔镜胆囊切除术是胆囊良性疾病的金标准, 但对高危人群却受到挑战. 腹腔镜胆囊切除术得到医生和患者的青睐, 但医源性胆道损伤仍居高不下, 需引起同道的高度重视.

蔡治方, 兑丹华, 兰天罡, 刘尧, 黄辉, 遵义医学院附属医院 贵州省遵义市 563003
蔡治方, 讲师, 主要从事肝胆胰疾病的基础与临床研究.
作者贡献分布: 主要课题设计、数据分析和文章起草由蔡治方完成; 病例选择、临床资料收集和穿刺操作由蔡治方、兑丹华、兰天罡、刘尧及黄辉完成; 文章修改和审阅由蔡治方完成.
通讯作者: 蔡治方, 讲师, 563003, 贵州省遵义市汇川区大连路149号, 遵义医学院附属医院肝胆胰外科.
zmcczf@sina.com
收稿日期: 2013-05-29 修回日期: 2013-07-16
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-18

Treatment of gallstones in high-risk patients using laparoscopic cholecystectomy: Analysis of 93 cases

Zhi-Fang Cai, Dan-Hua Dui, Tian-Gang Lan, Yao Liu, Hui Huang

Zhi-Fang Cai, Dan-Hua Dui, Tian-Gang Lan, Yao Liu, Hui Huang, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China
Correspondence to: Zhi-Fang Cai, Lecturer, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Huichuan District, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. zmcczf@sina.com
Received: 2013-05-29 Revised: 2013-07-16
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-18

Abstract
AIM: To investigate the value of laparoscopic cholecystectomy (LC) in the treatment of gallstones in high-risk patients.

METHODS: One hundred high-risk patients with gallstones were divided into either an observation group or a control group. The observation group underwent LC, while the control group received conventional open cholecystectomy (COC). The operative time, length of hospital stay, intraoperative bleeding, comorbidities, and complications were compared between the two groups. The ASA classification system was used to classify the observation group into several subgroups (Ⅱ to Ⅳ) to compare the above parameters.

RESULTS: The operative time, length of hospital stay, and intraoperative bleeding were significantly better in the observation group than in the control group (78.0 min ± 15.6 min *vs* 91.9 min ± 14.4 min, 59.3 mL ± 18. 4 mL *vs* 76.1 mL ± 22.8 mL, 4.03 d ± 1.02 d *vs* 6.98 d ± 1.77 d, all $P < 0.01$). ASAⅢ and Ⅳ patients had significantly longer hospital stay and greater number of comorbidities and complications were significantly higher than ASA Ⅱ patients (11.5 ± 5.7 *vs* 16.0 ± 10.9, 36.5 ± 15.8; 1.1 ± 0.3 *vs* 1.3 ± 0.6, 2.2 ± 1.0; 1.1 ± 0.4 *vs* 1.6 ± 0.9, 2.6 ± 1.2, all $P < 0.05$).

CONCLUSION: LC is superior to COC in the management of gallstones in high-risk patients in terms of reducing operative time, length of stay and intraoperative bleeding. ASA has a significant impact on prognosis, and ASA Ⅱ patients have better prognosis than ASAⅢ and Ⅳ patients.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gallstones; Laparoscopy; Cholecystectomy

Cai ZF, Dui DH, Lan TG, Liu Y, Huang H. Treatment of gallstones in high-risk patients using laparoscopic cholecystectomy: Analysis of 93 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2734-2738 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2734.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2734

摘要
目的: 探讨腹腔镜胆囊切除术在“高危”胆囊结石患者中的诊治体会.

方法: 对180例诊断为“高危”胆囊结石的患者进行临床分组观察, 观察组治疗方案为腹腔镜胆囊切除术, 对照组治疗方案为常规开腹胆囊切除术. 分析两组患者手术时间、住院时间、术中出血等手术指标, 同时根据美国麻醉医师学会(AⅡeIe-specific amplication, ASA)分级对观察组患者进行Ⅱ-Ⅳ级的分组观察, 观察ASAⅡ、ASAⅢ以及ASAⅣ级患者在年龄、住院时间、并存病及并发症等方面的情况比较.

结果: 观察组患者手术时间、术中出血、住

■同行评议者
刘超, 教授, 主任医师, 中山大学孙逸仙纪念医院(附属第二医院)肝胆胰外科

院时间等手术指标均低于对照组(78.0 min±15.6 min *vs* 91.9 min±14.4 min, 59.3 mL±18.4 mL *vs* 76.1 mL±22.8 mL, 4.03 d±1.02 d *vs* 6.98 d±1.77 d, 均P<0.01). ASAⅢ级以及ASAⅣ级患者出现并存系统患病例数和平均并存系统患病数以及并存疾病数和平均并存疾病数均明显高于ASAⅡ级患者. ASAⅡ级患者平均住院时间以及平均合并系统患病数、平均合并病数均明显少于ASAⅢ以及ASAⅣ级患者(11.5±5.7 *vs* 16.0±10.9, 36.5±15.8; 1.1±0.3 *vs* 1.3±0.6, 2.2±1.0; 1.1±0.4 *vs* 1.6±0.9, 2.6±1.2, 均P<0.05).

结论: 腔镜胆囊切除术与传统开腹胆囊切除术相比, 疗效更优, 包括减少手术时间、住院时间以及术中出血等. 此外, ASA分级对患者预后有较大的影响, ASAⅡ级患者相关观察指标优于ASAⅢ级以及ASAⅣ级患者. 通过加强手术期间的监护, 能够有效降低患者其术后并发症的出现以及死亡.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: “高危”胆囊结石; 腹腔镜; 胆囊切除术

核心提示: 本研究首先对腹腔镜下胆囊切除术以及传统开腹胆囊切除术进行了相关手术指征的比较. 结果发现, 观察组手术时间、住院时间、术中出血等手术指标均明显优于对照组. 表明目前条件下, 腹腔镜下胆囊切除术是治疗“高危”胆囊结石较为行之有效的手术方案. 由于手术采用微创, 因此对患者的伤害较小, 术后恢复较快, 可以明显缩短患者的住院时间, 减轻经济负担.

蔡治方, 兑丹华, 兰天罡, 刘尧, 黄辉. 腹腔镜胆囊切除术治疗“高危”胆囊结石93例. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2734-2738 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2734.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2734

0 引言

胆囊结石是外科极为常见的一类疾病, 目前我国结石病的发病率大约在7%-10%左右, 并且该比例呈现了明显的上升趋势[1]. 对于胆囊结石的发生, 主要认为和先天、后天因素的共同作用相关[2]. 有报道称[3], 年龄较大、女性、有结石病家族史的人是本病的高发人群. 另外, 随着人民生活水平的不断提高, 人们的饮食结构发生了较大的改变. 现代人高热量、低纤维饮食居多, 也是本病发生的后天性因素[4]. 手术治疗是根治本病的唯一有效办法, 临床手术中, 常见的有传统开腹胆囊切除术以及较新的腹腔镜胆囊切除术[5]. “高危”胆囊结石系指胆囊结石并存其他器官系统严重疾病或危重患者并发胆囊结石, 属于临床进展迅速, 病程中合并有较严重内科疾病的一类病症. 与普通胆囊结石相比, 其发病迅速、死亡率较高[6]. 我院在多年的临床工作中, 采用腹腔镜胆囊切除术以及围手术期间监护治疗“高危”胆囊结石患者, 取得了较好的临床疗效, 现报告如下.

■研发前沿
腹腔镜胆囊切除术是目前临床上治愈胆囊结石以及胆囊炎最为有效的方法, 但由于一些患者既往存在较为严重的内科疾病, 以及患者年龄较大, 基础疾病较多, 手术的风险往往较高. 这些“高危”胆囊结石患者即使得到有效的诊治, 并积极进行手术, 术后发生死亡的比例仍较大. 因此, 如何有效提高手术效果, 降低术后患者死亡率, 就成为目前临床研究的重点.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入“高危”胆囊结石病例180例, 患者入院后均已确诊为“高危”胆囊结石. 纳入标准: (1)临床诊断为胆囊结石; (2)病程中合并有“高血压、糖尿病、冠心病、肺气肿、肺心病”等慢性疾病病史. 根据手术方案的不同, 可分为观察组以及治疗组. 其中观察组患者93例, 手术方案为腹腔镜胆囊切除术, 男33例, 女60例, 年龄37-85岁, 平均年龄63.2岁±12.1岁, 其中胆囊结石合并慢性胆囊炎患者83例, 胆囊积脓患者4例, 继发性胆总管结石患者6例; 对照组患者87例, 手术方案为传统开腹胆囊切除术, 男30例, 女57例, 年龄35-87岁, 平均年龄63.4岁±12.3岁, 其中胆囊结石合并慢性胆囊炎患者78例, 胆囊积脓患者5例, 继发性胆总管结石患者4例. 对两组患者性别、年龄、胆囊结石疾病等资料进行统计学处理, 差异无统计学意义(P>0.05), 具有可比性. 此外, 采用美国麻醉医师学会(American Society of Anesthesiologists, ASA)评分标准[7]对93例观察组患者进行临床评分, 根据得分可分为ASAⅡ级、ASAⅢ级、ASAⅣ级. 其中ASAⅡ级患者32例、ASAⅢ级患者48例、ASAⅣ级患者13例.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者术前均禁食6 h, 手术时体位均取仰卧位, 术前进行手术区域常规消毒, 麻醉均采用气管插管静脉复合麻醉或持续硬膜外麻醉辅助气管插管静脉复合麻醉法. (1)观察组: 手术方案为腹腔镜下胆囊切除术. 用Veress针先行进行脐中穿刺, 选择低气压缓慢注入CO_2, 以制造气腹, 由于“高危”胆囊结石患者往往体质较为虚弱, 因此耐受力较正常胆囊结石患者低. 所以, 在制造气腹时, 压力以患者能够耐受8-14 cm水柱为佳, 此时患者有腹部胀痛、轻度气憋感. 手术中, 将自动气腹机压力设定为8 mmHg,

■应用要点
对“高危”胆囊结石患者传统的处理方法提出挑战，在积极围手术期处理后仍可以考虑微创处理.

表 1 两组患者手术时间、住院时间、术中出血等手术指标分析 (*n*, mean ± SD)

分组	*n*	手术时间(min)	术中出血(mL)	住院时间(d)
观察组	93	78.0 ± 15. 6	59.3 ± 18. 4	4.03 ± 1.02
对照组	87	91.9 ± 14. 4	76.1 ± 22. 8	6.98 ± 1.77
*t*值		6.20	5.47	13.81
*P*值		<0.01	<0.01	<0.01

表 2 腹腔镜胆囊切除术患者合并内科疾病情况比较 (*n*)

ASA	*n*	并存系统患病例数(%)			并存病例数(%)		
		1个系统	2个系统	3个系统	1种疾病	2种疾病	3种疾病
II	32	27(84.38)	2(6.25)	0	26	2(6.25)	0
III	48	25(52.08)	8(16.67)	6(12.50)	25	9(18.75)	4(8.33)
IV	13	4(30.77)	4(30.77)	3(23.08)	3	4(30.77)	3(23.08)

ASA: 美国麻醉医师学会.

表 3 腔镜胆囊切除术患者一般情况及治疗情况分析 (*n*, mean ± SD)

ASA	*n*	住院时间(d)	平均合并系统患病数	平均合并病数
II	32	11.5 ± 5.7	1.1 ± 0.3	1.1 ± 0.4
III	48	16.0 ± 10.9[a]	1.3 ± 0.6[e]	1.6 ± 0.9[i]
IV	13	36.5 ± 15.8[c]	2.2 ± 1.0[g]	2.6 ± 1.2[k]

t = 84.50, [a]P<0.05; t = 7.88, [c]P<0.05; t = 1.74, [e]P<0.05; t = 5.70, [g]P<0.05; t = 2.95, [i]P<0.05; t = 6.34, [k]P<0.05 *vs* II级. ASA: 美国麻醉医师学会.

注入速度为1.0-1.5 L/min. 在CO_2注入过程中需进行密切关注，防止CO_2溢到皮下. 腹机压力设定可根据手术情况进行改变，但需要注意的是，腹压切勿超过10 mmHg，以免引发患者心脏疾患. 因此，术中暴露和切除过程中要特别注意慢操作、明视野，若暴露困难，操作时间过长，患者不能耐受，出现明显不适时，应该果断中止腹腔镜胆囊切除术. 同时作血氧饱和度监测和血气分析使CO_2分压保持在正常范围. 其他的操作同传统的四孔法腹腔镜胆囊切除法；(2)对照组：手术方案为传统开腹胆囊切除术.

1.2.2 观察指标：观察两组患者手术时间、住院时间、术中出血等手术指标，同时根据ASA分级对观察组患者进行II-IV级的分组观察，观察ASA II、ASAIII以及ASAIV级患者在年龄、住院时间、并存病及并发症等方面的情况比较.

统计学处理 应用SPSS13.0软件. 计量资料以mean±SD表示，均数比较采用t检验、方差因素分析，计数资料比较采用方差检验，以P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者手术时间、住院时间、术中出血等手术指标分析 对患者的手术时间比较发现，观察组的时间明显少于对照组(P<0.01)，而住院时间上以及术中出血等指标上，观察组亦较对照组有一定的优势(P<0.01)(表1).

2.2 腹腔镜胆囊切除术患者合并内科疾病情况比较 观察组中共有50例患者合并心血管疾病，其中以高血压、冠心病较为多见；33例患者合并有内分泌代谢性疾病，其中以糖尿病、甲亢以及甲减较为多见；12例患者合并有呼吸系统疾病，其中以肺气肿、肺心病以及肺部感染较为多见；4例患者合并有脑血管意外后遗症，主要为偏瘫以及失语等. ASAIII级、ASAIV级患者2个系统以上患病、2种疾病以上例数明显高于ASA II级患者(表2).

2.3 腹腔镜胆囊切除术患者一般情况及治疗情况分析 ASA II级患者住院时间明显低于ASAIII级、ASAIV级患者(P<0.05). ASAIII级、ASAIV级患者并存系统患病例数和平均并存系统患病数以及并存疾病数和平均并存疾病数均明显高

于ASAⅡ级患者(P<0.05)(表3).

2.4 腹腔镜胆囊切除术患者术后并发症情况分析 ASAⅡ级患者术后未出现并发症, ASAⅢ级、ASAⅣ级患者共出现7例, 8次并发症, 其中3例为手术切口感染、2例为肺部感染、1例为术后腹腔出血、2例为冠心病发展. 所有患者手术及住院期间均未出现死亡病例.

3 讨论

胆囊切除术是目前临床上治愈胆囊结石以及胆囊炎最为有效的方法. 临床研究表明[8,9], 由于一些患者既往存在较为严重的内科疾病, 以及患者年龄较大, 基础疾病较多, 手术的风险往往较高. 这些“高危”胆囊结石患者即使得到有效的诊治, 并积极进行手术, 术后发生死亡的比例仍较大. 有文献表明[10,11], “高危”胆囊结石患者术后致死率达到6%-46%, 而这一比例在普通胆囊结石患者中小于1%. 因此, 如何有效提高手术效果, 降低术后患者死亡率, 就成为目前临床研究的重点.

3.1 不同手术方案疗效 本研究首先对腹腔镜下胆囊切除术以及传统开腹胆囊切除术进行了相关手术指征的比较. 结果发现, 观察组手术时间、住院时间、术中出血等手术指标均明显优于对照组. 说明目前条件下, 腹腔镜下胆囊切除术是治疗“高危”胆囊结石较为行之有效的手术方案. 由于手术采用微创, 因此对患者的伤害较小, 术后恢复较快, 可以明显缩短患者的住院时间, 减轻经济负担.

3.2 腹腔镜下胆囊切除术患者ASA分级分析 ASAⅡ级患者住院时间明显低于ASAⅢ级、ASAⅣ级患者. ASAⅢ级、ASAⅣ级患者并存系统患病例数和平均并存系统患病数以及并存疾病数和平均并存疾病数均明显高于ASAⅡ级患者. 说明随着ASAⅡ级患者预后往往较好, 而ASAⅢ级、ASAⅣ级患者出现术后并发症的几率增高, 增加了住院时间.

3.3 腹腔镜下胆囊切除术围手术期间监护

3.3.1 术前准备: 术前需要对患者全身切口进行详细评估, 特别对于心、肝、肺、肾的功能状态以及血生化的检查, 显得格外重要. 对于严重心肺或肝肾功能异常的患者, 特别需要综合判断, 是否进行手术.

3.3.2 加强围手术期并存疾病的治疗与监护: (1)高血压病: 高血压病1、2期的患者, 在手术期间往往不需要特别注意, 对于高血压病3期的患者, 在手术前必须将血压控制在140/90 mmHg以下. 若患者病情危急, 必须立即进行手术, 可静脉给予快速降血压药; (2)冠心病: 冠心病是“高危”胆囊结石患者术后发生死亡的重要危险病因之一, 特别是既往有心梗发作病史的患者, 术后死亡率达到32%-69%, 因此治疗颇为棘手[12]. 目前有研究表明[13], β受体阻滞剂能够减少围手术期心梗等心脏并发症的发作, 可以提高患者生存率. 因此, 对于既往有心梗发作病史的患者, 入院后即应给予β受体阻滞剂口服; (3)内分泌代谢系统: 糖尿病、甲亢以及加减是主要的内分泌代谢系统疾病. 其中, 糖尿病患者术后切口不易愈合, 极易引发切口的感染[14]. 因此对于此类患者, 临床上应该积极控制血糖, 调节甲状腺激素水平, 尽量在正常指标范围内进行手术; (4)呼吸系统: 呼吸系统疾病常见于老年患者, 其中以慢性支气管炎、肺气肿、肺心病以及肺部感染较为多见[15]. 因此, 入院期间, 应该积极控制患者炎症、祛痰, 并保持血氧饱和度. 对于术后卧床时间较长的患者, 更应注意肺炎的发生.

3.3.3 术中术后监护与治疗: (1)麻醉方法是影响“高危”胆囊结石患者手术疗效及预后的一个重要内容, 本研究采用了气管插管静脉复合麻醉或持续硬膜外麻醉辅助气管插管静脉复合麻醉法, 不但可以得到较好的麻醉效果, 又能保证术中患者呼吸循环的稳定, 维持患者术中血氧饱和度, 较大程度上避免单纯持续硬膜外麻醉的不利影响; (2)能否耐受气腹是手术成功的关键: 传统的腹腔镜手术中, 由于气腹所用压力较大, 达到14 mmHg, 而注入CO_2的流量较大, 3-4 L/min. 目前的观点认为, CO_2过多被吸收到血液中, 能够使得脑血管的阻力升高. 而腹内压的增高可增加心脏以及肺部的负担, 造成高碳酸血症的出现, 更可致心跳骤停. 为解决这一问题, 我们采用了低气压缓慢注气的方法, 同时作血氧饱和度监测和血气分析, 使CO_2分压保持在正常范围之内, 这样CO_2对脑血管的影响不大. 操作过程中腹内压可逐渐增加至10 mmHg. 此压力既能满足手术的需要, 又对呼吸循环不造成影响.

总之, 腹腔镜胆囊切除术在治疗“高危”胆囊结石患者中, 具有良好的临床疗效. ASAⅢ级、ASAⅣ级患者由于合并多系统疾病, 因此术后并发症及死亡风险较高, 但通过积极、合理的围手术期监护及治疗措施, 能够将各类并发症及死亡率降至最低.

■同行评价

本文再次证明, 腹腔镜胆囊切除具有微创的优势, 尤其是对高危的胆囊结石患者. 作者对高危胆囊结石患者行腹腔镜切除的指证. 术中注意事项也进行了讨论, 具有一定的参考意义.

4 参考文献

1 雷福明, 黄文生, 崔士华. 胆囊结石患者肠道通透性的改变及其意义. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3043-3046
2 李进军, 伍冀湘, 梁杰雄. 腹腔镜胆囊切除辅助小切口胆总管探查治疗胆囊结石合并胆总管结石的临床研究. 临床外科杂志 2012; 20: 551-553
3 陈志良, 任培土, 鲁葆春, 方剑峰, 杨建辉, 朱志杨. 胃大部切除术后患者实施腹腔镜胆囊切除和胆总管探查术的体会. 中华肝胆外科杂志 2012; 18: 427-429
4 孙诚谊, 朱海涛. 胆囊功能的新认识. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3181-3185
5 石玉宝, 刘斌, 鲁蓓, 董万斌, 孙太冉, 王新波, 郭为佳. 微创保胆取石术与腹腔镜胆囊切除术对患者影响的比较. 实用医学杂志 2013; 29: 609-611
6 王帅, 秦鸣放. 经脐单孔腹腔镜胆囊切除术治疗单纯胆囊结石、胆囊息肉临床观察. 山东医药 2012; 52: 78-79
7 杨成林, 别玉坤, 贺永峰, 马栋, 金鑫, 肖翔, 高原, 王宁, 杨小翠. 微创保胆取石术与腹腔镜胆囊切除术治疗胆囊结石的疗效比较. 安徽医学 2012; 33: 702-704
8 于聪慧, 梅建民, 余昌中, 姚波, 杨荣华, 聂洪峰. 腹腔镜联合胆道镜治疗继发性胆道结石术后并发症分析. 中华肝胆外科杂志 2011; 7: 732-734
9 邹浩, 朱红, 张小文, 王琳, 李晓, 王琨, 王炳煌. 胆囊结石合并胆总管结石微创治疗方式的选择. 广东医学 2011; 32: 1319-1321
10 林天龙, 毛志海, 张卓, 王明亮, 郑民华. 腹腔镜胆囊切除术中联合ERCP治疗胆囊结石合并肝外胆管结石. 外科理论与实践 2011; 16: 541-544
11 王栓铎, 王延朋. 腹腔镜胆囊切除联合胆总管探查术治疗胆囊结石并胆总管结石的临床研究. 腹腔镜外科杂志 2011; 16: 841-843
12 俞海波, 郑晓风, 金肖丹, 陈雷, 宋洪亮. 腹腔镜胆囊切除术中无征兆胆总管结石一次性治疗26例体会. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 223-225
13 危少华, 张同领, 李伟, 陈雷, 宋洪亮. 腹腔镜、硬质胆囊镜、软质胆道镜三镜技术在保胆取石(息肉)术的临床应用. 中华普通外科杂志 2012; 27: 373-376
14 张立新, 常绪生, 印慨. 腹腔镜胆囊切除术中联合十二指肠镜一期治疗胆囊结石合并胆总管结石. 中国医师进修杂志 2013; 36: 54-55
15 詹国庆, 竹锡锋, 董国钢. 两种微创方式治疗胆囊结石合并胆总管结石232例. 腹部外科 2012; 25: 227-229

编辑 田滢 电编 闫晋利

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, T1/2不能写成tl/2或$T_{\frac{1}{2}}$, *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, ℃), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max}, C_{max}, *V*d, $T_{1/2}$ *Cl*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2739-2742
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

原发性十二指肠腺瘤的手术方式

周 兵, 刘 斌, 汪正伟, 王飞通, 魏 鑫, 牛 坚

周兵, 汪正伟, 徐州医学院研究生学院 江苏省徐州市 221000
刘斌, 王飞通, 魏鑫, 牛坚, 徐州医学院附属医院普外科 江苏省徐州市 221002
周兵, 在读硕士, 主要从事胃肠肝胆肿瘤外科的研究.
作者贡献分布: 此课题研究由周兵与刘斌设计; 病例收集有汪正伟、魏鑫、王飞通及牛坚完成; 数据分析由王飞通与魏鑫完成; 本论文写作由周兵与刘斌完成.
通讯作者: 刘斌, 教授, 主任医生, 硕士生导师, 221002, 江苏省徐州市淮海西路99号, 徐州医学院附属医院普外科11病区.
liubin.xy@163.com
收稿日期: 2013-07-22 修回日期: 2013-08-07
接受日期: 2013-08-15 在线出版日期: 2013-09-18

Surgical treatments for primary duodenal adenoma

Bing Zhou, Bin Liu, Zheng-Wei Wang, Fei-Tong Wang, Xin Wei, Jian Niu

Bing Zhou, Zheng-Wei Wang, Graduate School, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China
Bin Liu, Fei-Tong Wang, Xin Wei, Jian Niu, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Bin Liu, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, 99 Huaihai West Road, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China. liubin.xy@163.com
Received: 2013-07-22 Revised: 2013-08-07
Accepted: 2013-08-15 Published online: 2013-09-18

Abstract
AIM: To investigate the clinical features of and surgical options for duodenal adenoma.

METHODS: Clinical data for 18 patients with pathologically confirmed primary duodenal adenoma who underwent surgical treatment were retrospectively analyzed.

RESULTS: Of all patients, 5 had adenoma, 5 had Brunner's adenoma, 4 had villous tubular adenoma, 3 had villous adenoma, 1 had tubular adenoma; 10 had a tumor in the descending duodenum (including 4 cases near the nipple), 5 in the bulbar duodenum, 3 in the horizontal part; 11 underwent local tumor resection, 4 underwent pancreaticoduodenectomy, 1 underwent routine gastrectomy, 1 underwent partial excision of the duodenal papilla plus routine angioplasty, 1 underwent routine duodenal bowel resection, 1 underwent pancreaticoduodenectomy plus postoperative pancreatic fistula. Approximately 89% of patients were followed, and the follow-up duration was 6-91 mo. Two patients died of non-related disease, and one patient developed recurrence after local excision of villous adenoma.

CONCLUSION: The choice of surgical procedure for primary duodenal adenoma depends on the anatomical specificity and tumor histological type. Local excision is the preferred surgical approach with good prognosis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Duodenum; Benign adenomas; Surgery

Zhou B, Liu B, Wang ZW, Wang FT, Wei X, Niu J. Surgical treatments for primary duodenal adenoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2739-2742 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2739.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2739

摘要
目的: 探讨原发性十二指肠良性腺瘤的临床特点及手术方式选择.

方法: 回顾性分析18例经术后病理证实为原发性十二指肠良性腺瘤的临床资料、外科治疗方式并进行随访研究.

结果: 术后病理证实为腺瘤5例, Brunner腺瘤5例, 绒毛管状腺瘤4例, 绒毛状腺瘤3例, 管状腺瘤1例. 肿瘤位于十二指肠降部10例(其中位于乳头附近4例), 球部5例, 水平部3例. 行肿瘤局部切除11例, 行胰十二指肠切除术4例, 行局部切除加十二指肠乳头成形术1例, 1例行胃大部切除及毕Ⅱ式吻合术, 1例行十二指肠局部肠段切除术. 1例患者行胰十二指肠切除术后出现胰瘘, 随访率为89%, 时间为6-91 mo, 有2例患者死于非相关性疾病, 1例绒毛状腺瘤局部切除术后复发.

结论: 原发性十二指肠良性腺瘤的手术方式

■**背景资料**
原发性十二指肠腺瘤临床上较为罕见, 而其手术方式及预后尚存争议, 本研究旨在探讨其临床特点及手术方式, 应用于临床工作.

■**同行评议者**
姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科

■研发前沿
国内外尚没有明确关于原发性十二指肠良性腺瘤的手术方式的指导, 需要进一步的研究以指导临床工作.

的选择依赖于解剖的特殊性及肿瘤的病理组织学类型, 一般局部切除为首选手术方式, 预后较好.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 十二指肠; 良性腺瘤; 手术

核心提示: 原发性十二指肠良性腺瘤的手术方式的选择依赖于解剖的特殊性及肿瘤的病理组织学类型, 一般局部切除为首选手术方式.

周兵, 刘斌, 汪正伟, 王飞通, 魏鑫, 牛坚. 原发性十二指肠腺瘤的手术方式. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2739–2742 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2739.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2739

0 引言

原发性十二指肠良性腺瘤临床较为罕见, 起病隐匿, 早期临床表现常缺乏特异性、典型性, 因此不易诊断, 加上其特殊的解剖生理结构, 临床上极易误诊、漏诊. 但随着内窥镜(尤其是内镜逆行性胰胆管造影及超声内镜)和影像学检查的发展与提高, 该病的诊断率有所改善[1-3]. 现对徐州医学院附属医院普外科收治的18例原发性十二指肠良性腺瘤病例的临床特点及手术方式选择进行探讨.

1 材料和方法

1.1 材料 一般资料: 2005-09/2013-04普外科共收治18例经术后常规病理证实为原发性十二指肠良性腺瘤的患者, 其中女7例, 男11例, 年龄36-80岁, 平均年龄61岁.

1.2 方法

1.2.1 临床症状: 9例患者有程度不等的上腹部不适或钝痛, 其中部分患者有进食后症状加重现象; 5例皮肤巩膜黄染; 6例有明确的排黑便史; 1例以贫血就诊(血红蛋白59 g/L).

1.2.2 术前诊断: 10例通过胃镜及十二指肠镜发现肿瘤, 其中活检结果与术后病理一致为6例, 5例首先由X线计算机断层摄影(computed tomography, CT)或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)发现病变, 再行内镜逆行性胰胆管造影检查证实十二指肠乳头占位, 另3例通过CT或MRI证实占位.

2 结果

2.1 手术方式 所有患者均行手术治疗, 行肿瘤局部切除11例, 行胰十二指肠切除术4例, 行局部切除加十二指肠乳头成形术1例, 1例行胃大部切除及毕Ⅱ式吻合术, 1例行十二指肠局部肠段切除术.

2.2 临床病理及病灶部位 术后常规病理证实均为良性病变, 其中Brunner腺瘤5例, 腺瘤5例, 绒毛管状腺瘤4例, 绒毛状腺瘤3例, 管状腺瘤1例. 肿瘤位于十二指肠降部10例(其中位于乳头附近4例), 球部5例, 水平部3例.

2.3 术后并发症及随访 1例患者行胰十二指肠切除术后出现胰瘘, 经对症治疗后痊愈, 其余患者围手术期恢复平稳, 未出现严重并发症.

本组患者共18例, 随访到16例(89%), 时间为6-91 mo. 有2例患者死于非相关性疾病, 1例绒毛状腺瘤局部切除术后复发, 经病理证实为十二指肠腺癌, 予以行胰十二指肠切除术, 术后未见严重并发症, 随访至今未见复发.

3 讨论

原发性十二指肠肿瘤占消化系肿瘤总数不足1%, 且以恶性居多, 良性约占25%[4]. 早期良性十二指肠腺瘤瘤体较小, 一般无明显的临床症状和体征, 可在体检时偶然发现, 当肿瘤逐渐增大, 由于瘤体牵拉、瘤体表面和瘤旁溃疡的形成, 可有黑便、呕血和贫血表现. 当肿瘤进一步增大到一定程度时, 可引起梗阻症状, 如上腹部饱胀不适、恶心、呕吐等. 而位于十二指肠乳头部位及附近的肿瘤, 可引起胆管、胰管扩张, 出现阻塞性黄疸和胰腺炎的表现[5-7]. 回顾本研究中患者病史, 半数患者(9/18)出现上腹部隐痛不适、呕吐症状, 但其表现不易与其他消化科疾病的发作鉴别; 小部分患者(6/18)有上消化道出血, 表现为不明原因的黑便, 其中1例有贫血病史, 经血液内科治疗无明显好转后行十二指肠镜检查发现十二指肠降部有息肉隆起样肿块, 表面糜烂出血, 入院时血红蛋白仅有59 g/L; 少数患者(5/18)出现黄疸症状, 影像学均提示胆道下端梗阻, 其中本组有4例患者误诊为壶腹癌.

十二指肠良性腺瘤以降部最常见, 其次为水平部和升部, 其中Brunner腺瘤、绒毛状腺瘤尤好发于十二指肠乳头部位[8]. 本研究中降部10例, 球部5例, 水平部3例, 与上述文献报道相似. 诊断十二指肠疾病的主要手段有内镜、上消化道钡剂造影、CT、MRI和数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)等, 但这些只能提示有占位性病变, 对肿瘤的性质不易鉴

■相关报道
已有不少文献总结了十二指肠良性肿瘤的临床特点, 对原发性十二指肠良性腺瘤的临床应用有重要价值.

别. 作为目前较理想的消化内镜检查, 虽然可以直接观察到包块, 判断是否位于黏膜下, 而且可取活组织做病理检查. 但因包块表面被覆完整黏膜, 且活组织检查比较表浅, 很难取到肿瘤组织, 故多数情况下活组织检查表现为阴性. 本组有10例患者行胃十二指肠镜检查, 仅有6例术前活检结果与术后病理一致, 而且其中有3例首次病理提示为黏膜慢性炎, 再次行内镜活检才明确性质.

手术切除是十二指肠良性肿瘤的首选治疗方法[1,4,9], 但是手术方式的选择尚存争议, 一方面原因在于解剖结构的特殊, 在整个肠道内十二指肠内的压力最高, 肠壁较薄, 与壶腹部关系密切, 尤其与胰头、胆胰管有共同的血液供应, 行肿瘤局部切除后很可能会影响周围脏器、组织的血供及破坏胆胰管的结构和功能. 另一方面, 十二指肠良性肿瘤约有15%的恶变可能[9], 但鉴于术前病理的局限性, 活检一般难以明确肿瘤性质. 于岚等[1]在研究51例十二指肠及壶腹部良性肿瘤是发现, 患者的年龄和瘤体大小对手术方式的选择不起决定性作用, 作者在临床中也得到相似结论, 而且发现, 解剖条件和肿瘤类型是指导十二指肠良性腺瘤手术方式的原则, 且术中快速冰冻切片是明确肿瘤组织类型的主要手段.

由于解剖生理结构的特殊性, 十二指肠术后主要并发症是肠漏的发生, 但经术中术后充分的肠道减压, 可有效地防止十二指肠瘘的发生. 我们的经验是缝合切口前, 将胃管减压管(附带空肠减压管及鼻肠营养管)放置在十二指肠的切口远端, 并使用“1”号可吸收缝线严密的逐层缝合, 达到肠道减压的目的. 本科收治的18例患者无一例十二指肠瘘的发生. 局部切除[10]或肠段切除可应用于非十二指肠乳头部位的腺瘤, 因为其部位附近没有特殊重要的组织结构, 可以达到治愈且保留机体生理功能的目的. 而近幽门部位的肿瘤切除后组织结构破坏较多, 可行胃大部切除, 及毕Ⅰ或毕Ⅱ式吻合. 位于十二指肠乳头的病变, 因其局部切除后常有十二指肠乳头术后狭窄的发生, 手术方式的选择则较为困难, 我们的原则是在保证肿瘤切除的完整性及切缘阴性的前提下, 对于肿块较小乳头破坏较轻时则行局部切除并常规作胆总管切开放置T管引流, 而对于术后可能发生狭窄时可行乳头成形或括约肌术, 若肿瘤较大, 切除后oddi括约肌和胰胆管破坏严重难以成形则行胰十二指肠切除.

除解剖因素外, 还需考虑十二指肠良性腺瘤类型来选择手术方式, 如绒毛状腺瘤局部切除后复发率为32%-43%[11,12], 且复发后恶性变率为24%-50%, 管状腺瘤复发后恶变率为14%, 绒毛管状腺瘤复发后恶变率介于两者之间[13]. Cavallini等[14]发现部分患者由于肿瘤位于黏膜下、表面炎症坏死等因素的干扰下, 常常“逃避”了浅表的组织活检, 但在术中快速冰冻发现肿瘤的基底部有恶性病变的存在. 我们的经验是对于这些特殊类型肿瘤适当的扩大切除, 一般距肿瘤边缘0.4-0.5 cm完整切除, 而对于这类无蒂的病变, 则切除肿瘤边缘0.5-1.0 cm的组织, 明确证实切缘阴性, 尤其是基底部切缘, 因此对于位于十二指肠乳头部位的这类腺瘤, 局部切除后对乳头及胆总管下端破坏严重不能作成形术时, 则考虑行胰十二指杨切除术. 但Grobmyer等[15]在研究壶腹部肿瘤时指出, 术中冰冻切片病理检查仍存在一定的局限性, 与术后常规病理及免疫组织化学诊断存在一定的误差. 本组18例患者中有一例患者术前活检及术中快速病理都考虑为慢性炎症, 予以局部切除后, 随访至26 mo患者再次出现黄疸症状, 考虑复发, 术中行快速病理考虑十二指肠腺癌, 予以行胰十二指肠切除术切除术, 痊愈出院, 随访至今未复发.

总之, 对于原发性十二指肠良性腺瘤局部切除为首选手术方式, 但是对于一些特殊类型、特殊部位的肿瘤应考虑扩大切除, 甚至行胰十二指肠切除术.

4 参考文献

1 于岚, 何小东, 武峤, 刘卫, 洪涛. 十二指肠、壶腹部良性肿瘤手术方式的探讨. 中华普通外科杂志 2011; 26: 773-774

2 覃华, 赵秋, 李德民, 高红宇, 李荣香, 张敏, 胡继芬, 王渝. 内镜下十二指肠乳头切除术在乳头部肿瘤诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2305-2309

3 丁向萍, 张锦华, 庄剑波, 缪连生, 张富花, 袁菊霞, 陈丽. 超声内镜下诊治上消化道良性隆起型病变118例. 世界华人消化杂志 2009; 21: 2208-2211

4 严佶祺, 彭承宏, 杨卫平, 丁家增, 周光文, 陈拥军, 金筱泰, 李宏为. 十二指肠良性肿瘤的手术治疗. 上海交通大学学报(医学版) 2008; 28: 1575-1583

5 Perez A, Saltzman JR, Carr-Locke DL, Brooks DC, Osteen RT, Zinner MJ, Ashley SW, Whang EE. Benign nonampullary duodenal neoplasms. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 536-541 [PMID: 12763412 DOI: 10.1016/S1091-255X(02)00146-4]

6 许国强, 章宏, 厉有名, 陈洪潭, 季峰, 陈春晓, 任国平, 倪晓莹. 15例十二指肠Brunner腺瘤的诊治. 中华消化杂志 2006; 28: 511-514

7 刘婉薇, 马娟, 余莲英, 沙卫红, 王启仪. 上消化道息肉临床特征分析2376例. 世界华人消化杂志 2013; 21:

■**创新盘点**
较多文献报道了十二指肠良性肿瘤的临床特点, 而单独对于十二指肠良性腺瘤报道较少, 本文着重研究其手术方式的选择及预后.

■**应用要点**
本文对原发性十二指肠良性腺瘤的手术方式选择有独特的临床应用价值.

■同行评价
本文评价了原发性十二指肠良性腺瘤的临床特点及手术方式, 具有一定的临床指导意义.

709-713
8 Pezet D, Rotman N, Slim K, Boudet MJ, Chipponi J, Fagniez PL. Villous tumors of the duodenum: a retrospective study of 47 cases by the French Associations for Surgical Research. *J Am Coll Surg* 1995; 180: 541-544 [PMID: 7749529]
9 张维建, 韩少良, 蒋飞照, 梁廷波, 柯庆宏. 原发性十二指肠良性肿瘤的临床特点与外科治疗. 温州医学院学报 2007; 37: 567-568
10 乔岐禄, 刘斯. 局部切除术在Vater壶腹肿瘤治疗中的地位. 世界华人消化杂志 2008; 16: 463-467
11 Farnell MB, Sakorafas GH, Sarr MG, Rowland CM, Tsiotos GG, Farley DR, Nagorney DM. Villous tumors of the duodenum: reappraisal of local vs. extended resection. *J Gastrointest Surg* 2000; 4: 13-21, discussion 22-23 [PMID: 10631358 DOI: 10.1016/S1091-255X(00)80028-1]
12 Heidecke CD, Rosenberg R, Bauer M, Werner M, Weigert N, Ulm K, Roder JD, Siewert JR. Impact of grade of dysplasia in villous adenomas of Vater's papilla. *World J Surg* 2002; 26: 709-714 [PMID: 12053224 DOI: 10.1007/S00268-002-6215-X]
13 刘玉良, 李红霞. 十二指肠腺瘤性息肉10例诊治体会. 河南外科学杂志 2002; 8: 15-16
14 Cavallini M, Cavaniglia D, Felicioni F, Vitale V, Pilozzi E, Ziparo V. Large periampullary villous tumor of the duodenum. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007; 14: 526-528 [PMID: 17909726 DOI: 10.1007/S00534-006-1206-1]
15 Grobmyer SR, Stasik CN, Draganov P, Hemming AW, Dixon LR, Vogel SB, Hochwald SN. Contemporary results with ampullectomy for 29 "benign" neoplasms of the ampulla. *J Am Coll Surg* 2008; 206: 466-471 [PMID: 18308217 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2007.09.005]

编辑 黄新珍 电编 闫晋利

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

• 消息 •

WJG 总被引频次排名位于第 174 名

本刊讯 *World Journal of Gastroenterology* (*WJG*)被Science Citation Index Expanded (SCIE)和MEDLINE等国际重要检索系统收录, 在国际上享有较高声誉和影响力. *WJG*在PubMed Central (PMC)统计, 单月独立IP地址访问58 257次, 全文网络版(HTML Full Text)下载94 888次, 全文PDF下载59 694次. 另外根据基本科学指标库(essential science indicators)统计, 2000-01-01/2010-12-31, SCIE检索的临床医学(clinical medicine)期刊有1 105种, 总被引频次排名, *WJG*位于第174名. (2011-05-14 马连生 董事长/总编辑)

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2743-2747
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

促胃肠动力药在便秘患者结肠镜检查前肠道清洁中的作用

曾 捷, 王秋女, 冯维智, 何和钦

曾捷, 王秋女, 冯维智, 何和钦, 海南省澄迈县人民医院内一科 河南省澄迈县 571900
曾捷, 副主任医师, 主要从事从事普通内科的相关研究.
作者贡献分布: 本文写作由曾捷完成; 治疗过程由曾捷、王秋女、冯维智及何和钦共同操作完成; 文章审校由王秋女、冯维智及何和钦完成.
通讯作者: 曾捷, 副主任医师, 571900, 海南省澄迈县金江镇文化北路177号, 海南省澄迈县人民医院内一科.
zengjie_hn@163.com
收稿日期: 2013-08-21 修回日期: 2013-09-02
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-09-18

Role of mosapride in improvement of bowel preparation before colonoscopy in patients with constipation

Jie Zeng, Qiu-Nv Wang, Wei-Zhi Feng, He-Qin He

Jie Zeng, Qiu-Nv Wang, Wei-Zhi Feng, He-Qin He, Department of Internal Medicine, People's Hospital of Chengmai, Chengmai 571900, Hainan Province, China
Correspondence to: Jie Zeng, Associate Chief Physician, Department of Internal Medicine, People's Hospital of Chengmai, Chengmai 571900, Hainan Province, China. zengjie_hn@163.com
Received: 2013-08-21 Revised: 2013-09-02
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To investigate the role of mosapride in improvement of bowel preparation before colonoscopy in patients with constipation.

METHODS: Ninety patients with chronic constipation who requested colonoscopy were randomly and equally divided into three groups: A, B and C. Group A was given polyethylene glycol solution, group B was treated by mosapride plus polyethylene glycol solution, and group C was given mosapride alone. The extent of intestinal cleanliness and the incidence of side effects were compared between the three groups.

RESULTS: The colon cleaning score was significantly higher in groups C and B than in group A (7.13 ± 1.12, 6.65 ± 1.18 *vs* 5.81 ± 1.19, both $P < 0.05$). The frequency of bowel movement in group C was significantly higher than that in group A (7.15 ± 1.61 *vs* 6.54 ± 1.52, $t = 2.724$, $P = 0.023$). The intestinal bubble score showed no statistically significant difference among the three groups ($F = 0.359$, $P = 0.699$). The incidence of side effects also did not differ significantly among the three groups (16.67%, 13.33% and 6.67%, $\chi^2 = 1.450$, $P = 0.484$).

CONCLUSION: Mosapride can effectively improve bowel preparation before colonoscopy in patients with constipation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colonoscopy; Mosapride; Prokinetic agents; Polyvinylideneglycols; Constipation

Zeng J, Wang QN, Feng WZ, He HQ. Role of mosapride in improvement of bowel preparation before colonoscopy in patients with constipation. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2743-2747 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2743.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2743

摘要

目的: 探讨促胃肠动力药(莫沙必利)在便秘患者结肠镜检查前肠道清洁中的作用.

方法: 结肠镜检查的慢性便秘患者90例, 采用随机数字表法分为A组(聚乙二醇溶液)、B组(莫沙必利+聚乙二醇溶液)和C组(莫沙必利), 每组30例. 比较3组患者肠腔清洁程度和服用药物后的安全性.

结果: C组(7.13±1.12)、B组(6.65±1.18)结肠清洁程度总分均高于A组(5.81±1.19)评分(Benferroni检验均$P<0.05$); C组排便总次数多于A组(7.15±1.61 *vs* 6.54±1.52), 差异有统计学意义($t = 2.724$, $P = 0.023$), 3组结肠腔内气泡情况差异未见统计显著性($F = 0.359$, $P = 0.699$). A、B、C 3组不良反应总发生率分别为16.67%(5/30)、13.33%(4/30)和6.67%(2/30), 差异未见统计学意义($\chi^2 = 1.450$, $P = 0.484$).

结论: 结肠镜检查前应用促胃肠动力药可以

■背景资料
目前有多种肠道准备清洁方法, 尚未有理想的方法达到结肠镜检查的满意程度, 尤其慢性便秘患者由于胃肠功能衰弱, 胃肠蠕动动力不足, 常导致肠道清洁功能减退. 通过改变胃肠动力, 促进胃肠排空, 能有效提高肠道清洁程度.

■同行评议者
任粉玉, 教授, 延边大学附属医院消化内科

■研发前沿
本次研究中，由于主要研究了目前促胃肠动力药中具有代表性的莫沙比利，对其他促胃肠动力药未进行比较研究，不同促胃肠动力药其作用可能会存在差别，本次研究样本量小，对结果的解释的效力上可能存在不足.

有效提高肠腔的清洁程度，较大剂量应用效果较好.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：结肠镜检查；莫沙必利；促胃肠动力药；聚乙二烯醇类；便秘

核心提示：本次研究显示，促胃肠动力药莫沙比利在检查前1 d和检查前较大剂量服用后，清洁肠腔的效果较好，其不良反应发生率与其他组无明显差异；莫沙比利与聚乙二醇电解质溶液联合使用的效果也较好，与刘超等的报告相同，Mine等动物试验也有相同报道，可能是莫沙比利作用后促使肠腔排便次数增加，减轻了肠腔内负担；改善肠动力有关，促进了肠腔蠕动，加速了肠腔内粪便的排出；可以与洗肠要共同发挥作用等方面有关.

曾捷，王秋女，冯维智，何和钦. 促胃肠动力药在便秘患者结肠镜检查前肠道清洁中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2743-2747 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2743.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2743

0 引言

结肠镜检查是对肠道疾病进行常规、安全、有效的定性诊断方法，而肠道清洁程度成为直接影响结肠镜检查质量的重要因素[1,2]. 目前有多种肠道准备清洁方法，尚未有理想的方法达到结肠镜检查的满意程度[3]，尤其慢性便秘患者由于胃肠功能衰弱，胃肠蠕动动力不足，常导致肠道清洁功能减退. 通过改变胃肠动力，促进胃肠排空，能有效提高肠道清洁程度. 本次研究采用促胃肠动力药在便秘患者结肠镜检查前肠道清洁中的作用，探讨改善肠道清洁程度的有效方法，提高患者结肠镜检质量.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-01-01/2012-12-31我院收治的门诊或住院主动申请做结肠镜检查的慢性便秘患者90例，其中男32例，女58例，年龄46-74岁，平均56.6岁±10.9岁. 所有参与本次研究病例均知情，并签署知情同意书，经我院医学伦理委员会批准. 患者符合病例纳入标准和排除标准. 病例纳入标准参照中国慢性便秘诊治指南(2013年，武汉)标准[3]，病例诊断前≥6 mo，且近3 mo出现以下症状：排便次数每周<3次；排便有费力感、排便不尽或排除困难、或需要手法辅助排便. 排便分级评分标准：排便次数≥3次/wk记为1分，2次/wk既为2分，≤1次/wk记为3分. 病例排除标准结肠镜检查前服用莫沙比利或者其他促胃肠动力剂者；结肠镜检查前8周服用抗精神病药、抗抑郁药、止泻药者；结肠肿瘤、肠梗阻或狭窄、肌肉疾病等；对本药成分过敏的患者；患者严重心、肺、肝、肾等疾病，舒张压>100 mmHg和/或收缩压>160 mmHg高血压患者；孕妇、哺乳期妇女. 结肠镜检查在盲法控制下统一由1名副主任或以上职称的专业内镜医师检查和评估.

1.2 方法

1.2.1 治疗：研究设计采用随机对照试验. 分组与方案所有入选对象采用随机数字表法分为A组，B组和C组，每组30例. A组(聚乙二醇电解质溶液)：复方聚乙二醇电解质散. 规格：137.15 g/袋，深圳万和制药有限公司，国药准字H20030828. 服用方法：结肠镜检查前口服聚乙二醇电解质溶液常规肠道清洗剂，检查前1 d进半流量食物，当日禁食，检查前6 h服用复方聚乙二醇电解质溶液(137.15 g聚乙二醇+2000 mL无菌溶液)，于2 h内分次服完；B组采用促胃动力剂(枸橼酸莫沙必利片)+复方聚乙二醇电解质溶液作为肠道清洁剂枸橼酸莫沙必利片，规格5 mg/片，由成都大西南制药股份有限公司生产，国药准字H20031110. 服用方法：检查前6 h服用15 mg，30 min后服用复方聚乙二醇电解质溶液(配置和用量同A组). C组(枸橼酸莫沙必利片)检查前1 d分别于7:00、12:00、20:00和结肠镜检查前检查前6 h口服15 mg枸橼酸莫沙必利片. 其他用药各组间相同.

1.2.2 肠道清洁程度判断标准：根据波士顿大学医学中心设计的肠道准备量表(the Boston bowel preparation scale, BBPS)测试患者肠道清洁程度[4]. (1)肠道分为3个部分进行评分，分别为左半结肠、横结肠和右半结肠；(2)各肠段清洁程度评分分为4级，0分：结肠内镜下见无法清除的大便，结肠黏膜不清晰；1分：结肠内部分黏膜显示清晰，部分因为粪便或者液体而显示不清；2分：结肠内镜下见黏膜显示清楚，但可见少量固体粪便和不透明液体；3分：结肠内黏膜显示清楚，未见粪便和不透明性液体；(3)肠道清洁总分为各结肠段评分之和，0分表示肠道未进行清洁，最高分9分表示最清洁. 肠腔内气泡评估：0分：肠腔内几乎无气泡，不需要冲洗即可以清楚观察；1分：肠腔内有少量的气泡，影响观察效果，需要进行肠腔内冲洗；2分：肠

表 1 3组慢性便秘患者一般情况的比较 (n = 30)

分组	年龄(岁)	性别(男/女)	身高(cm)	体质量指数	内镜检查(n)				便秘评分
					正常	息肉	炎症反应	黑变	
A组	54.3 ± 9.8	10/20	165.3 ± 13.5	21.3 ± 2.7	12	5	9	4	1.9 ± 0.8
B组	56.4 ± 10.9	12/18	160.4 ± 18.9	20.6 ± 2.1	14	4	6	6	1.8 ± 0.9
C组	55.8 ± 11.0	10/20	157.9 ± 16.3	21.9 ± 2.8	13	4	8	5	1.9 ± 0.8
F/χ^2	0.314	0.388	1.584	1.950	1.316				0.144
P值	0.732	0.824	0.211	0.148	0.971				0.866

表 2 3组慢性便秘患者肠道清洁评分的比较 (n = 30)

分组	肠道清洁程度评分(波士顿)			总分
	右侧结肠	中断结肠	左侧结肠	
A组	1.92 ± 0.56	2.13 ± 0.50	2.17 ± 0.55	5.81 ± 1.19
B组	2.01 ± 0.59	2.11 ± 0.51	2.30 ± 0.56	6.65 ± 1.18[a]
C组	2.41 ± 0.62[ac]	2.48 ± 0.61[ac]	2.56 ± 0.51[a]	7.13 ± 1.12[a]

[a]P<0.05 *vs* A组; [c]P<0.05 *vs* B组.

表 3 3组患者不良反应发生情况的比较 (n = 30)

分组	恶心	呕吐	腹胀	腹疼	头晕
A组	2	1	1	2	0
B组	2	2	2	1	2
C组	1	1	1	0	0
P[1]	1.000	1.000	1.000	0.770	0.326

[1]确切概率法计算.

腔内存在大量气泡, 需要进行反复冲洗才能进行观察.

1.2.3 安全性评价观察指标: 于结肠镜检查前调查记录患者口服聚乙二醇电解质溶液和枸橼酸莫沙必利片情况, 服药后产生的不良反应发生情况, 如头昏、头疼、恶心、呕吐、腹胀、腹疼、疲倦感、过敏反应等.

统计学处理 统计学方法应用SPSS20.0统计软件包对数据进行处理分析. 所有数据经正态性检验, 符合正态分布分部计量数据采用mean ±SD表示, 3组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用Benferroni检验; 计数资料组间比较采用χ^2检验. 取双侧检验, 检验水准α = 0.05, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 患者一般情况的比较 90例患者全部按照结肠镜检查要求完成镜检, A、B、C 3组患者年龄、性别、身高、体质量指数、结肠内镜诊断和便秘评分, 差异无统计学意义(P>0.05)(表1).

2.2 肠道清洁程度的评价 C、B组患者结肠清洁程度总分均高于A组, C组各肠断评分均高于A组, 其中右侧结肠和中断结肠清洁程度也优于B组, 差异有统计学意义(P<0.05)(表2). C组排便总次数多于A组(7.15±1.61 *vs* 6.54±1.52), 差异有统计学意义(t = 2.724, P = 0.023), 3组结肠腔内气泡情况差异未见统计显著性(F = 0.359, P = 0.699).

2.3 安全性评价 A、B、C 3组不良反应总发生率分别为16.67%(5/30)、13.33%(4/30)和6.67%(2/30), 差异未见统计学意义(P>0.05). 恶心、呕吐、腹胀、腹泻、头晕反应各组间未见明显统计学差异(P>0.05)(表3).

3 讨论

随着饮食结构的改变和社会心理因素的影响, 慢性便秘患病率呈现不断增长趋势, 在我国成人中慢性便秘的患病率达4%-6%, 尤其是老年人的患病率更高, 60岁以上人群达22%[5]. 慢性便秘患者尤其是功能性便秘是慢性胃肠功能衰弱, 是肠道清洁效果不佳的主要人群. 由于肠道清洁效果直接影响结肠镜检查时纳入检查的视野和对观察结果判断的准确性, 造成结肠镜镜检疾病误诊、漏诊增加, 提高结肠镜检查前肠道清洁程度具有重要的意义.

■相关报道

对莫沙比利与聚乙二醇电解质溶液不同组合效果也有研究认为, 莫沙比利与口服聚乙二醇溶液1.5 L组合的效果同聚乙二醇溶液2 L的组合相近, 但患者对药物的耐受性和可接受程度均较高, 减少了腹胀等不良反应的发生.

■**创新盘点**
结肠镜检查前最佳肠道清洁准备除了肠腔内可视程度高，同时患者具有可接受性. 莫沙比利在有利于胃排空，能较好的改善恶心、呕吐、腹胀等不良反应.

结肠镜检查常用的肠道清洁是聚乙二醇电解质溶液常规肠道清洗剂，也是结肠镜检查的基础用药，在口服聚乙二醇洗肠剂前加服促胃肠动力药，可以有效地改善胃肠清洁的质量. 莫沙必利是目前应用较广、临床疗效较好的促胃肠动力药[6]，是一种苯并异恶唑衍生物，为5-羟色胺(5-hydroxytryptamine 4, 5-HT4)受体激动药，用于治疗与慢性胃炎和功能性消化不良的胃肠道症状. 通过与5-HT4受体的作用，激活肠胆碱能神经元释放乙酰胆碱，刺激胃肠道而发挥动力作用[7]，他也是通过其主要代谢物M1(5-HT3受体激动剂)增加结肠的动力，促进排便和增加排便量[8-10]. 在促胃肠动力药中，莫沙必利的作用类似于以前使用的5-HT4受体激动剂西沙必利，但西沙必利由于其对心脏的不良反应较强，目前已经停止使用[8]，吴宗英等[11]Meta分析伊托必利与莫沙必利作用相似. 鉴于莫沙必利有效的胃肠效应作用及其临床应用广泛，本次选择其作为研究的促胃肠动力剂.

本次研究显示，促胃肠动力药莫沙比利在检查前1 d和检查前较大剂量服用后，清洁肠腔的效果较好，其不良反应发生率与其他组无明显差异；莫沙比利与聚乙二醇电解质溶液联合使用的效果也较好，与刘超等[12]的报告相同，Mine等[13]动物试验也有相同报道，可能是莫沙比利作用后促使肠腔排便次数增加，减轻了肠腔内负担；改善肠动力有关，促进了肠腔蠕动，加速了肠腔内粪便的排出；可以与洗肠要共同发挥作用等方面有关. 对莫沙比利与聚乙二醇电解质溶液不同组合效果也有研究认为，莫沙比利与口服聚乙二醇溶液1.5 L组合的效果同聚乙二醇溶液2 L的组合相近，但患者对药物的耐受性和可接受程度均较高，减少了腹胀等不良反应的发生[14].

结肠镜检查前最佳肠道清洁准备除了肠腔内可视程度高，同时患者具有可接受性[15]. 莫沙比利在有利于胃排空，能较好的改善恶心、呕吐、腹胀等不良反应，本次研究莫沙比利口服剂量15 mg是成人的慢性胃炎患者推荐的常用剂量，有报道由于莫沙必利对对机体不良反应的影响呈剂量-反应关系，这方面的研究还有待进一步探讨，以寻求莫沙比利最佳剂量作为结肠镜检查最好的肠道准备方法.

本次研究中，由于主要研究了目前促胃肠动力药中具有代表性的莫沙比利，对其他促胃肠动力药未进行比较研究，不同促胃肠动力药其作用可能会存在差别，本次研究样本量小，对结果的解释的效力上可能存在不足. 不同剂量的促胃肠动力药和聚乙二醇电解质溶液组合，也是目前研究较为关注的方面，这方面的研究还有待进一步深入，以寻求最佳的组合效果提高结肠清洁程度，同时减少不良反应的发生.

4 参考文献

1 孙昕，邹瑞珍，王颖，王园园，王青，李凌燕. 西甲硅油在结肠镜检查前肠道准备中的应用. 世界华人消化杂志 2009; 17: 218-220

2 兰丽，兰春慧，曹艳，李平，赵敦勇，陈东风. 3种肠道准备剂用于结肠镜检查的效果分析. 重庆医学 2011; 40: 1519-1521

3 任玲，顾立扬，李海燕，宋燕，李晓波. 伊托必利在改善便秘患者结肠镜前肠道准备中的作用. 中华消化杂志 2013; 33: 93-96

4 高燕，张厚德，林木贤，程春生，吴盛州，朱岁松. Boston肠道准备量表应用的信度评估. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 78-80

5 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组，中华医学会外科学分会结直肠肛门外科学组. 中国慢性便秘诊治指南(2013年，武汉). 中华消化杂志 2013; 33: 291-293

6 Emmanuel A. Current management strategies and therapeutic targets in chronic constipation. *Therap Adv Gastroenterol* 2011; 4: 37-48 [PMID: 21317993 DOI: 10.1177/1756283X10384173]

7 李富军，邹益友，黄田辉. 促胃肠动力药对大鼠胃及十二指肠电活动的影响. 中南大学学报(医学版) 2009; 34: 599-561

8 Tajika M, Niwa Y, Bhatia V, Kawai H, Kondo S, Sawaki A, Mizuno N, Hara K, Hijioka S, Matsumoto K, Kobayashi Y, Saeki A, Akabane A, Komori K, Yamao K. Efficacy of mosapride citrate with polyethylene glycol solution for colonoscopy preparation. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2517-2525 [PMID: 22654449 DOI: 10.3748/wjg.v18.i20.2517]

9 Cavalcante Morais T, Cavalcante Lopes S, Bezerra Carvalho KM, Rodrigues Arruda B, Correia de Souza FT, Salles Trevisan MT, Rao VS, Almeida Santos F. Mangiferin, a natural xanthone, accelerates gastrointestinal transit in mice involving cholinergic mechanism. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3207-3214 [PMID: 22783044 DOI: 10.3748/wjg.v18.i25.3207]

10 何宛蓉，张法灿，梁列新. 混合型5-HT4受体激动剂/5-HT3受体拮抗剂治疗肠易激综合征的系统评价. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3277-3283

11 吴宗英，王一平，曾超，潘涛. 伊托必利与莫沙必利比较治疗功能性消化不良的系统评价. 中国循证医学杂志 2012; 12: 804-809

12 刘超，李延青. 莫沙比利和聚乙二醇在肠镜检查前肠道准备中的联合应用价值研究. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 32-34

13 Mine Y, Morikage K, Oku S, Yoshikawa T, Shimizu I, Yoshida N. Effect of mosapride citrate hydrate on the colon cleansing action of polyethylene glycol electrolyte lavage solution (PEG-ELS) in guinea pigs. *J Pharmacol Sci* 2009; 110: 415-423 [PMID: 19602846]

14 Tajika M, Niwa Y, Bhatia V, Kondo S, Tanaka T, Mizuno N, Hara K, Hijioka S, Imaoka H, Komori

K, Yamao K. Can mosapride citrate reduce the volume of lavage solution for colonoscopy preparation? *World J Gastroenterol* 2013; 19: 727-735 [PMID: 23430381 DOI: 10.3748/wjg.v19.i5.727]

15 Bechtold ML, Choudhary A. Bowel preparation prior to colonoscopy: a continual search for excellence. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 155-157 [PMID: 23345936 DOI: 10.3748/wjg.v19.i2.155]

■同行评价
本文具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 闫晋利

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码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献, 包括世界华人消化杂志(http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp)和*World Journal of Gastroenterology*(http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp). 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号 ; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2748-2753
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

信号转导与转录活化因子3与胃癌上皮间质转化的关系及意义

卢书明, 陈美如, 宣金燕, 刘丽娜, 吕 申, 李 岩

■背景资料
信号转导和转录活化因子(signal transducers and activators of transcription, STAT)3与多种恶性肿瘤发生发展密切相关, 持续活化的STAT3能促进肿瘤细胞增殖及浸润转移. 上皮间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)是许多肿瘤侵袭和转移的一个重要过程. EMT可能与多种信号通路的异常激活有关.

卢书明, 陈美如, 刘丽娜, 大连医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省大连市 116011
宣金燕, 浙江省嘉兴市第二医院特需医疗部 浙江省嘉兴市 314000
吕申, 大连医科大学附属第二医院中心实验室 辽宁省大连市 116027
李岩, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市 110004
卢书明, 主治医师, 在读医学博士, 主要从事消化系肿瘤临床与基础研究.
作者贡献分布: 此课题由卢书明与李岩设计; 实验操作及文献检索由卢书明、陈美如及宣金燕共同完成; 实验过程由刘丽娜与吕申指导完成; 论文由卢书明与李岩完成.
通讯作者: 李岩, 教授, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院消化内科. yanli0227@126.com
电话: 024-96615-26111
收稿日期: 2013-05-28 修回日期: 2013-08-16
接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-18

Relationship between STAT3 activation and epithelial-mesenchymal transition in gastric carcinoma

Shu-Ming Lu, Mei-Ru Chen, Jin-Yan Xuan, Li-Na Liu, Shen Lv, Yan Li

Shu-Ming Lu, Mei-Ru Chen, Li-Na Liu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning Province, China
Jin-Yan Xuan, Department of Special Medical Care, the Second Hospital of Jiaxing, Jiaxing 314000, Zhejiang Province, China
Shen Lv, Central Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116027, Liaoning Province, China
Yan Li, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Correspondence to: Yan Li, Professor, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. yanli0227@126.com
Received: 2013-05-28 Revised: 2013-08-16
Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-18

■同行评议者
潘阳林, 副教授, 副主任医师, 第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

Abstract

AIM: To detect the expression of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) and phosphorylated STAT3 (p-STAT3) in gastric carcinoma (GC) and to analyze their relationship with epithelial-mesenchymal transition (EMT), tumor invasion and metastasis.

METHODS: The expression of STAT3, p-STAT3, E-cadherin and Vimentin proteins in 53 GC specimens and matched normal gastric mucosal specimens was detected by immunohistochemistry. The correlation of expression of STAT3, p-STAT3, E-cadherin and Vimentin proteins with clinicopathological parameters of GC was analyzed.

RESULTS: The positive rates of STAT3, p-STAT3 and Vimentin expression were significantly higher and that of E-cadherin was significantly lower in GC than that in normal gastric mucosal tissues (all $P < 0.01$). The expression of STAT3, p-STAT3, E-cadherin and Vimentin proteins was significantly correlated with tumor differentiation, depth of invasion, lymph node metastasis and clinical stage (all $P < 0.05$), but not with gender, age, tumor size (all $P > 0.05$). STAT3 and p-STAT3 expression was negatively correlated with E-cadherin expression ($r = -0.360, -0.335$; $P = 0.008, 0.014$), but positively with Vimentin expression ($r = 0.443, 0.346$; $P = 0.001, 0.011$) in GC.

CONCLUSION: STAT3 and p-STAT3 protein expression is up-regulated in GC, and up-regulation of STAT3 and p-STAT3 protein expression in GC is significantly correlated with E-cadherin and Vimentin expression. These findings suggest that EMT may be mediated by the activation of the STAT3 signaling pathway.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric carcinoma; Signal transducer and activator of transcription 3; Epithelial-mesenchymal transition

Lu SM, Chen MR, Xuan JY, Liu LN, Lv S, Li Y. Relationship between STAT3 activation and epithelial-mesenchymal transition in gastric carcinoma. Shijie

Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2748-2753 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2748.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2748

摘要

目的: 探讨信号转导和转录活化因子3(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3)、p-STAT3蛋白在胃癌中表达与胃癌上皮间质转化的关系及其在胃癌浸润转移中的作用.

方法: 采用免疫组织化学方法检测53例胃癌组织中STAT3、p-STAT3蛋白及上皮标志物E-钙粘蛋白(E-cadherin)和间质标志物波形蛋白(Vimentin)的表达, 分析其与胃癌临床病理特征间的关系及相互之间的相关性.

结果: STAT3、p-STAT3、Vimentin蛋白在胃癌组织中的阳性表达率明显高于其在正常胃黏膜中的阳性表达率, 差异均有统计学意义(均P<0.01), 而E-cadherin在胃癌组织中的阳性表达率显著低于其在正常胃黏膜中的阳性表达率, 差异有统计学意义(P<0.01). STAT3、p-STAT3、E-cadherin、Vimentin蛋白的表达与胃癌分化程度、浸润深度、淋巴结转移、临床分期均明显相关(均P<0.05), 而与性别、年龄、肿瘤大小无明显相关性(P>0.05). STAT3、p-STAT3蛋白的表达和E-cadherin蛋白的表达均呈负相关(r = -0.360, P = 0.008; r = -0.335, P = 0.014), STAT3、p-STAT3蛋白的表达与Vimentin蛋白的表达均呈正相关(r = 0.443, P = 0.001; r = 0.346, P = 0.011).

结论: STAT3和p-STAT3蛋白在胃癌中表达上调, 与E-cadherin及Vimentin蛋白的表达显著相关, 提示STAT3蛋白活化可能参与调节胃癌EMT.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 信号转导和转录活化因子3; 上皮间质转化

核心提示: 信号转导和转录活化因子(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3)信号通路异常活化后, 可能下调E-cadherin蛋白的表达, 上调Vimentin蛋白的表达, 进而参与调节胃癌EMT、促进胃癌的侵袭转移, 阻断STAT3通路可能成为胃癌治疗的新策略.

卢书明, 陈美如, 宣金燕, 刘丽娜, 吕申, 李岩. 信号转导与转录活化因子3与胃癌上皮间质转化的关系及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2748-2753 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2748.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2748

0 引言

近年来研究发现信号转导和转录活化因子(signal transducers and activators of transcription, STAT)3与多种恶性肿瘤发生发展密切相关, 持续活化的STAT3能促进肿瘤细胞增殖及浸润转移, 参与肿瘤细血管生成以及免疫调节等过程[1,2]. 上皮间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)指上皮细胞失去上皮特征而获得间质特征, 是许多肿瘤侵袭和转移的一个重要的过程, EMT可能与多种信号通路的异常激活有关[3]. 本研究检测胃癌组织中STAT3及其活化形式即磷酸化的STAT3(phosphorylated STAT3, p-STAT3)蛋白和上皮间质标志物E-钙粘蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)的表达, 分析其与胃癌临床病理特征的关系及其相互之间的相关性, 进而探讨STAT3信号通路激活在胃癌侵袭、转移及EMT中的作用及意义.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-2011年大连医科大学附属第一医院诊断明确的胃癌手术切除组织标本53例. 其中男34例, 女19例; 年龄37-86岁, 中位年龄63岁, <60岁23例, ≥60岁30例; 肿瘤大小: <5 cm者28例, ≥5 cm者25例; 肿瘤浸润未达浆膜层者10例, 已达浆膜层者43例; 高中分化腺癌16例, 低分化腺癌18例, 黏液细胞癌19例, 无淋巴结转移者17例, 有淋巴结转移者36例; 采用2010年国际抗癌联盟/美国癌症联合委员会(UICC/AJCC)TNM分期标准: Ⅰ-Ⅱ期26例, Ⅲ-Ⅳ期27例. 所有病例均经术前和术后病理切片确诊, 术前均未接受放疗和化疗. 另取因上消化系症状行胃镜检查活检并经病理证实的正常胃黏膜组织44例. 鼠抗人STAT3多克隆抗体、羊抗人p-STAT3多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司, 鼠抗人Vimentin单克隆抗体、E-cadherin抗体即用型购自福建迈新生物有限公司, SP检测试剂盒及DAB显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法: 采用免疫组织化学SP法染色, 所有标本经40 g/L的甲醛固定, 石蜡包埋, 以4 μm厚连续切片, 进行脱蜡水化, 3%过氧化氢消除内源性过氧化物酶20 min, PBS冲洗3次, 每

■研究前沿
本研究探讨STAT3通路激活与胃癌EMT的关系, 有助于了解胃癌的侵袭转移的机制, 特异性阻断STAT3通路可望为胃癌的治疗提供新策略.

■相关报道
Okamoto等报道STAT3蛋白激活既有助于胃癌细胞的生存，还有助于癌细胞的运动. 而特异性阻断STAT3信号通路能够抑制胃癌细胞生长、诱导癌细胞周期停滞及诱导细胞凋亡，STAT3通路可能成为胃癌的潜在治疗靶点.

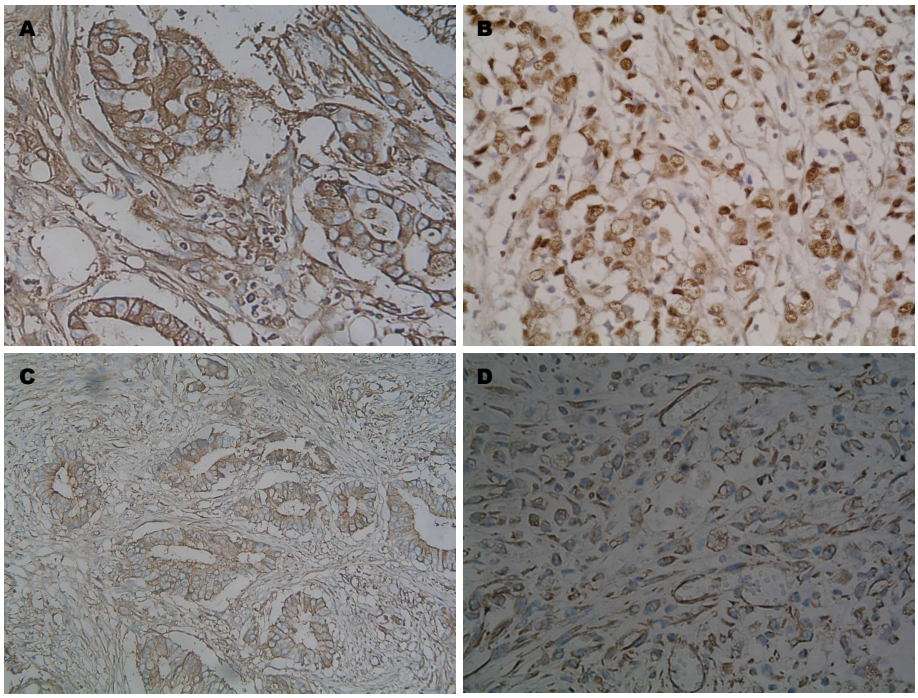


图 1 STAT3、p-STAT3、E-cadherin、Vimentin蛋白在胃癌组织中的阳性表达(SP ×400). A: STAT3; B: p-STAT3; C: E-cadherin; D: Vimentin. STAT: 信号转导和转录活化因子; E-cadherin: E-钙粘蛋白; Vimentin: 波形蛋白.

表 1 STAT3、p-STAT3、E-cadherin、Vimentin蛋白在胃癌组织中的表达

分组	*n*	STAT3蛋白			p-STAT3蛋白			E-cadherin蛋白			Vimentin蛋白		
		+	%	*P*值	+	%	*P*值	+	%	*P*值	+	%	*P*值
胃癌	53	44	83.0	0.000	42	79.2	0.000	26	49.1	0.000	36	67.9	0.000
正常胃黏膜	44	10	22.7		8	18.2		43	97.7		7	15.9	

STAT: 信号转导和转录活化因子; E-cadherin: E-钙粘蛋白; Vimentin: 波形蛋白.

次3 min, 微波抗原修复10 min, 再PBS冲洗3次, 每次3 min, 正常山羊血清室温下封闭15 min, 滴加一抗(鼠抗人STAT3多克隆抗体、羊抗人p-STAT3多克隆抗体工作浓度均为1∶500), 4 ℃冰箱过夜, PBS冲洗后加入生物素标记二抗, 37 ℃孵育30 min, PBS冲洗后滴加辣根过氧化物酶37 ℃孵育30 min, PBS冲洗3次, 每次3 min, DAB显色, 流水冲洗10 min, 苏木素复染, 脱水、透明, 中性树胶封片, 镜检. 用已知阳性表达的组织切片作为阳性对照, 用PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照.

1.2.2 结果判断: 以细胞核或细胞质内出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性细胞. 按阳性细胞所占的百分比及着色强度进行结果判定: (1)按着色强度评分: 0分为无着色; 1分为浅黄色; 2为黄色; 3分为棕黄色. (2)按阳性细胞数占同类细胞数的百分比评分: 0分为阴性, 1分为阳性细胞数≤10%, 2分为阳性细胞数11%-50%, 3分为阳性细胞数51%-75%, 4分为阳性细胞数>75%. 取两项评分之积作为总积分, 0-3分为阴性(-), 3分以上为阳性(+).

统计学处理 应用SPSS18.0软件进行数据分析. 免疫组织化学结果采用χ^2检验、Fisher确切概率法, 相关性分析采用Spearman相关分析, 以$P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 STAT3、p-STAT3、E-cadherin及Vimentin蛋白在胃癌组织中的表达 STAT3蛋白表达主要在细胞浆, 其在胃癌组织中阳性表达率(83.0%, 44/53)显著高于正常胃黏膜组织(22.7%, 10/44)($P<0.01$); p-STAT3蛋白表达在细胞核和细胞浆, 以细胞核为主, 其在胃癌组织中的阳性表达率(79.2%, 42/53)显著高于正常胃黏膜组织(18.2%, 8/44)($P<0.01$); E-cadherin蛋白表达主要在细胞膜和细胞浆, 在胃癌组织中的阳性表达率(49.1%, 26/53)显著低于正常胃黏膜

表 2 STAT3、p-STAT3、E-cadherin、Vimentin蛋白的表达与胃癌临床病理特征的关系

分组	*n*	STAT3蛋白			p-STAT3蛋白			E-cadherin蛋白			Vimentin蛋白		
		+	%	*P*值	+	%	*P*值	+	%	*P*值	+	%	*P*值
性别				1.000			1.000			0.569			1.000
男	34	28	82.4		27	79.4		18	52.9		23	67.6	
女	19	16	84.2		15	78.9		8	42.1		13	68.4	
年龄(岁)				0.478			0.501			0.785			0.772
<60	23	18	78.3		17	73.9		12	52.2		15	65.2	
≥60	30	26	86.7		25	83.3		14	46.7		21	70.0	
肿瘤大小(cm)				0.474			0.183			0.586			0.257
<5	28	22	78.6		20	71.4		15	53.6		17	60.7	
≥5	25	22	88.0		22	88.0		11	44.0		19	76.0	
浸润深度				0.053			0.023			0.039			0.008
未侵及浆膜	10	6	60.0		5	50.0		8	80.0		3	30.0	
侵及浆膜	43	38	88.4		37	86.0		18	41.9		33	76.7	
分化程度				0.002			0.001			0.018			0.003
高中分化	16	9	56.3		8	50.0		12	75.0		6	37.5	
低分化/黏液癌	37	35	94.6		34	91.9		14	37.8		30	81.1	
淋巴结转移				0.023			0.000			0.008			0.010
无	17	11	64.7		8	47.1		13	76.5		7	41.2	
有	36	33	91.7		34	94.4		13	36.1		29	80.6	
临床分期				0.050			0.015			0.029			0.008
Ⅰ-Ⅱ	26	18	76.9		17	65.4		17	65.4		13	50.0	
Ⅲ-Ⅳ	27	26	96.3		25	92.6		9	33.3		23	85.2	

STAT: 信号转导和转录活化因子; E-cadherin: E-钙粘蛋白; Vimentin: 波形蛋白.

表 3 胃癌组织中STAT3、p-STAT3蛋白与E-cadherin、Vimentin蛋白表达的相关性

		E-cadherin		*n*	*r*	*P*值	V imentin		*n*	*r*	*P*值
		+	-				+	-			
STAT3	+	18	26	44	-0.360	0.008	34	10	44	0.443	0.001
	-	8	1	9			2	7	9		
	n	26	27	53			36	17	53		
p-STAT3	+	17	25	42	-0.335	0.014	32	10	42	0.346	0.011
	-	9	2	11			4	7	11		
	n	26	27	53			36	17	53		

STAT: 信号转导和转录活化因子; E-cadherin: E-钙粘蛋白; Vimentin: 波形蛋白.

组织(97.7%, 43/44)($P<0.01$); Vimentin蛋白表达在细胞浆及间质, 在胃癌组织中的阳性表达率(67.9%, 36/53)显著高于正常胃黏膜组织(15.9%, 7/44)($P<0.01$)(图1, 表1).

2.2 STAT3、p-STAT3、E-cadherin、Vimentin蛋白的表达与胃癌临床病理学特征的关系 STAT3、p-STAT3、Vimentin蛋白在胃癌组织中的表达随着浸润深度加深、分化程度降低、发生淋巴结转移及临床分期越高而表达增高, 组别间的差异均有统计学意义($P<0.05$); 而E-cadherin蛋白表达随着胃癌浸润深度加深、分化程度降低、发生淋巴结转移及临床分期越高而表达减少, 差异均有统计学意义($P<0.05$); STAT3、p-STAT3、E-cadherin、Vimentin蛋白的表达与胃癌患者性别、年龄、肿瘤大小均无明显相关性($P>0.05$)(表2).

2.3 胃癌组织中STAT3、p-STAT3蛋白与E-cadherin、Vimentin蛋白表达的相关性分析 胃癌组织中STAT3蛋白表达与E-cadherin蛋白表达呈负相关($r = -0.360$, $P = 0.008$), 与Vimentin蛋白的表

■创新盘点
有关STAT3通路是否参与调节胃癌EMT的研究报道较少. 本研究检测胃癌中STAT3、p-STAT3蛋白及上皮与间质标志物E-cadherin、Vimentin的表达, 探讨STAT3通路活化与胃癌EMT的关系及其在胃癌浸润转移中的作用.

■应用要点
研究结果显示STAT3和p-STAT3蛋白在胃癌中表达上调, 与E-cadherin及Vimentin蛋白的表达显著相关, 提示STAT3蛋白活化可能参与调节胃癌EMT, 为进一步揭示胃癌侵袭转移的机制及通过阻断信号通路治疗胃癌提供理论依据.

达呈正相关(r = 0.443, P = 0.001); p-STAT3蛋白表达与E-cadherin蛋白表达呈负相关(r = -0.335, P = 0.014), 与Vimentin蛋白的表达呈正相关(r = 0.346, P = 0.011)(表3).

3 讨论

STAT3是STATs家族的重要成员之一, 是Janus激酶(Janus kinase, JAK)/STAT信号传导通路中的关键信号因子, 在受到生长因子、细胞因子等细胞外信号刺激后, 以活化的p-STAT3形式进入细胞核中, 启动相应靶基因的转录, 进而发挥其对细胞增殖、凋亡等的调控作用[1]. 研究发现在多种恶性肿瘤标本及肿瘤细胞株中存在STAT3的异常表达与激活, 并发现STAT3与肿瘤的增殖分化、细胞凋亡、血管生成、侵袭转移密切相关, 并可能作为预测肿瘤预后的指标[4,5].

Yakata等[6]报道人胃癌组织中及MKN28和SCH两种人胃癌细胞株中有STAT3蛋白的组成性激活, p-STAT3蛋白的表达与胃癌的浸润、淋巴结转移密切相关, 同时发现p-STAT3阳性表达患者预后更差, Xiong等[7]也报道p-STAT3可成为预测胃癌预后的分子生物学标记. 本研究发现胃癌组织中STAT3蛋白和p-STAT3蛋白的表达远高于正常胃黏膜组织(P<0.01), 进一步分析STAT3及p-STAT3蛋白表达与胃癌临床病理特征的关系, 发现随着胃癌分化程度降低、浸润深度增加、发生淋巴结转移及TNM分期升高, STAT3和p-STAT3蛋白的表达表达明显增加, 两者的表达与胃癌浸润深度、淋巴结转移及TNM分期密切相关(P<0.05), 提示STAT3蛋白激活不仅可能与胃癌的发生有关, 还可能在胃癌的进展中发挥重要作用. STAT3蛋白激活可能是胃癌发生及发展中的一个关键事件[8]. Okamoto等[9]报道STAT3蛋白激活既有助于胃癌细胞的生存, 还有助于癌细胞的运动. 沉默*STAT3*基因能够抑制胃癌细胞的生长[10], 还可诱导抗肿瘤的免疫效应, 联合自杀基因治疗可增加抗肿瘤效果[11], 一些药物通过抑制STAT3信号通路进而抑制胃癌细胞生长、诱导癌细胞周期停滞及诱导细胞凋亡, STAT3可望成为胃癌治疗的潜在靶点.

EMT与恶性肿瘤的浸润转移密切相关. 肿瘤发生EMT的一个重要特征就是在上皮标志物如E-cadherin和Cytokeratin等表达减少, 而间质标志物如N-cadherin和Vimentin等表达增加. E-cadherin是一种主要的上皮细胞黏附分子, 为钙依赖性跨膜糖蛋白, 介导细胞间黏附被、参与细胞的信号转导, 而且发现与肿瘤的侵袭和转移行为密切相关, 目前认为*E-cadherin*是一种肿瘤抑制基因, 其表达减少或缺失可能使癌细胞易从原发灶脱落向外周浸润性生长进而发生侵袭转移[12]. 我们研究发现E-cadherin蛋白在胃癌组织中表达较其在正常胃黏膜表达相比明显下降, E-cadherin蛋白表达与胃癌浸润和淋巴结转移密切相关, 提示E-cadherin胃癌的浸润转移中可能起重要作用.

Vimentin主要分布于间叶组织及细胞, 在维持和调节细胞功能中发挥着重要作用, 其表达增多使得细胞骨架结构变化, 上皮源性细胞由立方形变为纺锤形纤维样细胞, 更易于迁移游动, 而细胞骨架结构的变化可干扰信号传导系统的正常工作, 可导致细胞生物学性状改变, 如黏附性下降, 运动能力增强[3]. 研究发现Vimentin在上皮性肿瘤尤其是低分化癌中表达增高, 而且与肿瘤浸润及淋巴结转移密切相关, 在体外实验中发现癌细胞中间质细胞形态的出现、维持以及癌细胞的侵袭力, 需要Vimentin蛋白的参与[13]. 本研究发现Vimentin蛋白在胃癌组织中的表达明显高于其在正常胃黏膜组织中的表达, 且Vimentin蛋白的表达胃癌的分化、浸润、淋巴结转移及临床分期均明显相关, 提示Vimentin蛋白表达增高可能参与胃癌的发生、浸润和转移. Otsuki等[14]报道胃癌组织Vimentin mRNA的表达与胃癌的复发或远处转移有关, 而且Vimentin mRNA表达越高的患者预后越差, 单因素分析显示Vimentin mRNA与胃癌患者预后有关, 但多因素分析显示Vimentin mRNA不是独立预后因子. 我们发现胃癌组织中E-cadherin表达减少, Vimentin表达增加, 且与胃癌浸润、淋巴结转移、临床分期等均相关, 提示胃癌细胞发生EMT, 进而参与胃癌的浸润、转移. 有研究显示抑制肿瘤细胞的EMT可阻止肿瘤浸润和转移过程, 将为肿瘤的治疗带来希望.

研究发现EMT过程涉及到多种基因的改变, 也与多种信号通路的异常激活有关, 如转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)信号途径、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号途径、核转录因子κB(nuclear factor-κB, NF-κB)信号通路等[3]. 近来报道STAT3通路可能参与恶性肿瘤的EMT发生过程. LO等[15]发现表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)/表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,

EGFR)信号通路可通过STAT3通路上调*Twist*基因表达来诱导多种癌细胞的EMT. Colomiere等[16]报道EGF可激活JAK2/STAT3通路进而诱导卵巢癌细胞的EMT, 而阻断STAT3通路的激活不影响EGF诱导的卵巢癌细胞形态的变化, 但可抑制癌细胞的运动、Vimentin、N-cadherin蛋白的表达以及IL-6的产生. 本研究显示, STAT3、p-STAT3蛋白与E-cadherin蛋白的表达呈负相关, 与Vimentin蛋白的表达呈正相关, 提示胃癌中EMT的发生可能与STAT3信号通路的激活相关. STAT3信号通路异常活化后, 可能下调E-cadherin蛋白的表达, 上调Vimentin蛋白的表达, 最终诱导胃癌的EMT发生. STAT3通路激活可能参与调节胃癌细胞EMT, 进而促进胃癌的侵袭转移, 阻断STAT3通路可能成为胃癌治疗的新策略, 但尚需进一步研究.

4 参考文献

1 Devarajan E, Huang S. STAT3 as a central regulator of tumor metastases. *Curr Mol Med* 2009; 9: 626-633 [PMID: 19601811 DOI: 10.2174/156652409788488720]

2 Schindler C, Levy DE, Decker T. JAK-STAT signaling: from interferons to cytokines. *J Biol Chem* 2007; 282: 20059-20063 [PMID: 17502367 DOI: 10.1074/jbc.R700016200]

3 Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest* 2009; 119: 1429-1437 [PMID: 19487819 DOI: 10.1172/JCI36183]

4 Sato T, Neilson LM, Peck AR, Liu C, Tran TH, Witkiewicz A, Hyslop T, Nevalainen MT, Sauter G, Rui H. Signal transducer and activator of transcription-3 and breast cancer prognosis. *Am J Cancer Res* 2011; 1: 347-355 [PMID: 21776434]

5 Huang C, Huang R, Chang W, Jiang T, Huang K, Cao J, Sun X, Qiu Z. The expression and clinical significance of pSTAT3, VEGF and VEGF-C in pancreatic adenocarcinoma. *Neoplasma* 2012; 59: 52-61 [PMID: 22082308 DOI: 10.4149/neo_2012_007]

6 Yakata Y, Nakayama T, Yoshizaki A, Kusaba T, Inoue K, Sekine I. Expression of p-STAT3 in human gastric carcinoma: significant correlation in tumour invasion and prognosis. *Int J Oncol* 2007; 30: 437-442 [PMID: 17203226]

7 Xiong H, Du W, Wang JL, Wang YC, Tang JT, Hong J, Fang JY. Constitutive activation of STAT3 is predictive of poor prognosis in human gastric cancer. *J Mol Med* (Berl) 2012; 90: 1037-1046 [PMID: 22328012 DOI: 10.1007/s00109-012-0869-0]

8 Giraud AS, Menheniott TR, Judd LM. Targeting STAT3 in gastric cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16: 889-901 [PMID: 22834702 DOI: 10.1517/14728222.2012.709238]

9 Okamoto W, Okamoto I, Arao T, Yanagihara K, Nishio K, Nakagawa K. Differential roles of STAT3 depending on the mechanism of STAT3 activation in gastric cancer cells. *Br J Cancer* 2011; 105: 407-412 [PMID: 21730976 DOI: 10.1038/bjc.2011.246]

10 童强, 舒晓刚, 卢晓明, 黎维勇, 陶凯雄, 陈道达, 王国斌. shRNA干扰STAT3基因表达对胃癌细胞MKN-45体内外生物学特性的影响. 世界华人消化杂志 2008; 6: 1568-1572

11 Ahn YH, Yi H, Shin JY, Lee KD, Shin SP, Lee SJ, Song J, Chun KH. STAT3 silencing enhances the efficacy of the HSV.tk suicide gene in gastrointestinal cancer therapy. *Clin Exp Metastasis* 2012; 29: 359-369 [PMID: 22350508]

12 Stănculescu D, Mărgăritescu C, Stepan A, Mitruț AO. E-cadherin in gastric carcinomas related to histological prognostic parameters. *Rom J Morphol Embryol* 2011; 52: 1107-1112 [PMID: 22119833]

13 Vasko V, Espinosa AV, Scouten W, He H, Auer H, Liyanarachchi S, Larin A, Savchenko V, Francis GL, de la Chapelle A, Saji M, Ringel MD. Gene expression and functional evidence of epithelial-to-mesenchymal transition in papillary thyroid carcinoma invasion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 2803-2808 [PMID: 17296934 DOI: 10.1073/pnas.0610733104]

14 Otsuki S, Inokuchi M, Enjoji M, Ishikawa T, Takagi Y, Kato K, Yamada H, Kojima K, Sugihara K. Vimentin expression is associated with decreased survival in gastric cancer. *Oncol Rep* 2011; 25: 1235-1242 [PMID: 21327330 DOI: 10.3892/or.2011.1185]

15 Lo HW, Hsu SC, Xia W, Cao X, Shih JY, Wei Y, Abbruzzese JL, Hortobagyi GN, Hung MC. Epidermal growth factor receptor cooperates with signal transducer and activator of transcription 3 to induce epithelial-mesenchymal transition in cancer cells via up-regulation of TWIST gene expression. *Cancer Res* 2007; 67: 9066-9076 [PMID: 17909010 DOI: 10.1158/0008-5472]

16 Colomiere M, Ward AC, Riley C, Trenerry MK, Cameron-Smith D, Findlay J, Ackland L, Ahmed N. Cross talk of signals between EGFR and IL-6R through JAK2/STAT3 mediate epithelial-mesenchymal transition in ovarian carcinomas. *Br J Cancer* 2009; 100: 134-144 [PMID: 19088723 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604794]

■同行评价

本课题设计合理、方法恰当、数据分析充分, 写作态度严谨, 具有较高的学术价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): 2754-2758
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

儿童消化性溃疡小剂量克拉霉素治疗的疗效

张 晴, 宋家英, 胡绍举, 程 洁, 敖仇波

■背景资料
消化性溃疡(peptic ulcer, PU)属于消化科较为多见的一类病症, 主要表现为上腹部的持续性疼痛, 在空腹时加重. 研究认为, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是造成PU发病的主要危险因素. 随着研究的深入, 目前临床上发现儿童PU的发病率亦有逐年升高的趋势.

张晴, 宋家英, 胡绍举, 程洁, 敖仇波, 六盘水市人民医院儿科 贵州省六盘水市 553001
张晴, 副主任医师, 主要从儿科方面的研究和临床工作.
作者贡献分布: 此课题由张晴设计; 研究过程由张晴与宋家英完成; 数据分析由胡绍举、程洁及敖仇波完成; 写作由张晴、宋家英、胡绍举、程洁及敖仇波共同完成.
通讯作者: 张晴, 副主任医师, 553001, 贵州省六盘水市钟山区钟山西路56号, 六盘水市人民医院儿科. zhangqing_gz@163.com
收稿日期: 2013-07-15 修回日期: 2013-08-08
接受日期: 2013-08-15 在线出版日期: 2013-09-18

Clinical effect of small dose clarithromycin-based triple therapy in treatment of children peptic ulcer

Qing Zhang, Jia-Ying Song, Shao-Ju Hu, Jie Cheng, Chou-Bo Ao

Qing Zhang, Jia-Ying Song, Shao-Ju Hu, Jie Cheng, Chou-Bo Ao, Department of Pediatrics, Liupanshui People's Hospital, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China
Correspondence to: Qing Zhang, Associate Chief Physician, Department of Pediatrics, Liupanshui People's Hospital, Zhongshan Distract, 56 Zhongshanwest Road, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China. zhangqing_gz@163.com
Received: 2013-07-15 Revised: 2013-08-08
Accepted: 2013-08-15 Published online: 2013-09-18

Abstract
AIM: To observe the clinical effect and safety of small dose clarithromycin (CLA)-based triple therapy in the treatment of children peptic ulcer (PU).

METHODS: Seventy-five children with PU were divided into three groups to receive small dose CLA-based triple therapy (A), large dose CLA-based triple therapy (B) and amoxicillin-based triple therapy (C). After treatment, abdominal pain relief, rate of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) eradication and adverse reactions were observed and compared among the three groups.

RESULTS: Three days after treatment, pain score declined obviously in all three groups. Two weeks after treatment, abdominal pain was relieved in all children. The rate of *H. pylori* eradication did not differ significantly between groups A, B and C (96.0%, 96.0%, 92.0%, all $P > 0.05$). The effective rate was significantly higher in groups A and B than in group C (92.0%, 88.0% *vs* 72.0%, both $P < 0.05$), but showed no significant difference between groups A and B ($P > 0.05$). The rate of adverse reactions (mainly nausea, vomiting, poor appetite and mild diarrhea) was significantly lower in group A than in groups B and C (8.0% *vs* 20.0%, 24.0%, both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Although all three types of therapy possess a high rate of *H. pylori* eradication and can quickly relieve abdominal pain, small dose CLA-based triple therapy has a lower rate of adverse reactions and therefore can be used as the first choice of treatment for children PU.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Clarithromycin; Triple therapy; Children; Peptic ulcer

Zhang Q, Song JY, Hu SJ, Cheng J, Ao CB. Clinical effect of small dose clarithromycin-based triple therapy in treatment of children peptic ulcer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2754-2758 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2754.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2754

摘要
目的: 观察小剂量克拉霉素三联疗法治疗儿童消化性溃疡的疗效及安全性.

方法: 选取75例诊断为消化性溃疡(peptic ulcer, PU)的儿童, 治疗方案分别为小剂量克拉霉素三联疗法(A组)、大剂量克拉霉素三联疗法(B组)、羟氨苄青霉素三联疗法(C组). 观察各组患儿治疗后腹痛缓解情况、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)以及不良反应等.

结果: 腹痛进行疼痛评分, 3组患儿经过治疗后, 腹痛程度在治疗后3 d即出现明显的下降, 所有患儿在14 d后腹痛均缓解. A、B、C组患儿*H. pylori*根除率分别为96.0%、92.0%、96.0%, 3组进行统计学分析, 差异均无统计学意义(P>0.05), 但A组稍高于B组. 治疗有效率方面, A、B、C组分别为92.0%、88.0%、

■同行评议者
施诚仁, 教授, 上海交通大学医学院附属新华医院小儿外科

72.0%, A、B组明显高于C组(P<0.05), A、B组之间差异无统计学意义(P>0.05), 但A组稍高于B组. 不良反应方面, 恶心、呕吐、胃纳差以及轻度腹泻是服药期间主要的不良反应. A、B、C组患儿不良反应率分别为8.0%、20.0%、24.0%, A组明显低于B、C组, 差异均有统计学意义(P<0.05).

结论: 3种治疗方案均有较高的*H. pylori*根除率, 均能较快缓解患儿腹痛, 小剂量克拉霉素治疗有效率较高, 且不良反应率明显低于其他两组, 可以作为儿童PU治疗的首选方案.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 克拉霉素; 三联疗法; 儿童; 消化性溃疡

核心提示: 本研究采用以含克拉霉素的质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)三联疗法对PU患儿进行临床治疗, 并通过对比高、低剂量克拉霉素以及含羟氨苄青霉素的PPI三联疗法, 观察各治疗方案在缓解患儿腹痛, 根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)等方面的作用. 首先, 我们对治疗后各组患儿*H. pylori*根除情况进行了比较, 可以发现3组患儿的*H. pylori*根除率均较高, 都超过90%. 通过各组间比较, 发现差异无统计学意义. 说明以PPI为基础的三联疗法, 临床根除*H. pylori*的作用较好, 但小剂量组稍高于大剂量组.

张晴, 宋家英, 胡绍举, 程洁, 敖仇波. 儿童消化性溃疡小剂量克拉霉素治疗的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2754-2758 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2754.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2754

0 引言

消化性溃疡(peptic ulcer, PU)属于消化科较为多见的一类病症, 主要表现为上腹部的持续性疼痛, 在空腹时加重[1]. 研究认为[2], 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是造成PU发病的主要危险因素. 随着研究的深入, 目前临床上发现儿童PU的发病率亦有逐年升高的趋势. 当前治疗上, 由于缺乏统一的儿童PU治疗标准, 因此对于儿童PU的临床治疗, 往往参考成人治疗方案进行[3]. 由于儿童与成人存在较大的个体差异, 特别在药物剂量的使用方面, 大多均为经验性治疗. 我院采用小剂量克拉霉素三联疗法治疗儿童PU, 取得了较好的临床疗效, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入PU患儿75例, 均为我院2012-01/2013-01间门诊及住院患儿. 所有入组患儿均已经胃镜检查, 诊断为消化系溃疡, 病程为2-24 mo. 其中胃溃疡16例, 十二指肠溃疡59例, 临床主要表现为反复发作的不同程度上腹部或脐周疼痛. 部分患儿并发腹胀、纳差、消化系出血及胃食管反流等. 根据治疗方案的不同进行临床分组观察, 每组各25例. A组治疗方案为小剂量克拉霉素三联疗法, 男17例, 女8例, 年龄6-14岁, 平均年龄(9.3±3.8)岁; B组治疗方案为大剂量克拉霉素三联疗法, 男18例, 女7例, 年龄7-15岁, 平均年龄(9.4±3.7)岁; C组治疗方案为羟氨苄青霉素三联疗法, 男17例, 女8例, 年龄8-15岁, 平均年龄(9.3±3.5)岁. 对3组患儿性别、年龄等资料进行统计学分析, 差异无统计学意义(P>0.05), 有可比性. 纳入标准: (1)反复上腹部疼痛; (2)胃镜检查后提示存在活动期消化性溃疡; (3)活检或病理组织染色, 确诊存在*H. pylori*感染; (4)入组前14 d内未进行任何*H. pylori*根除治疗; (5)肝肾功能无明显异常; (6)无大环内酯类或青霉素类药物无过敏史. 排除标准: (1)不能配合完成治疗疗程; (2)服药期间存在严重不良反应.

1.2 方法 根据患儿体质量确定各药物的使用剂量, 其中小剂量克拉霉素用量为7.5 mg/kg, 大剂量克拉霉素用量为15 mg/kg, 羟氨苄青霉素用量为30 mg/kg, 奥美拉唑用量为0.7 mg/kg, 甲硝锉用量为15 mg/kg. A组: 7.5 mg/kg克拉霉素, 每日2次, 0.7 mg/kg奥美拉唑, 每日1次, 15 mg/kg甲硝锉, 每日2次; B组: 15 mg/kg克拉霉素, 每日2次, 0.7 mg/kg奥美拉唑, 每日1次, 15 mg/kg甲硝锉, 每日2次; C组: 羟氨苄青霉素用量为30 mg/kg, 每日2次, 0.7 mg/kg奥美拉唑, 每日1次, 15 mg/kg甲硝锉, 每日2次. 各组均连续服药7 d.

1.2.1 观察指标: (1)腹痛程度评分标准: 无痛: 0分; 轻度疼痛: ≤3分; 中度疼痛: 4-6分; 重度疼痛: 7-10分; (2)*H. pylori*根除标准: 治疗结束后28 d, 对患儿进行^{13}C-尿素呼气试验(urea breath test, UBT), ^{13}C-UBT≤40%认为*H. pylori*完全根除; (3)不良反应: 主要观察治疗期间, 各组患儿恶心、呕吐、胃纳差以及轻度腹泻等情况的发生数, 并计算比例.

1.2.2 疗效评定: 治愈: 患儿症状、体征消失, 胃镜示溃疡面完全愈合, 慢性胃炎无典型的黏膜斑、充血、水肿及糜烂; 好转: 患儿症状、体征较治疗前明显好转, 胃镜示溃疡面基本愈合, 慢性胃炎黏膜斑、充血、水肿及糜烂等情况减轻;

■研发前沿
当前治疗上, 由于缺乏统一的儿童PU治疗标准, 因此对于儿童PU的临床治疗, 往往参考成人治疗方案进行. 由于儿童与成人存在较大的个体差异, 特别在药物剂量的使用方面, 大多均为经验性治疗.

■相关报道
黄敬等对>5岁的PU患者进行了为期5年的临床观察，发现早期*H. pylori*根治后，溃疡再发几率极其少见.

表 1 3组患儿治疗后3 mo胃镜结果比较 (n = 25)

分组	治愈	好转	无效	有效率(%)
A组	15	8	2	92.0
B组	11	11	3	88.0
C组	8	10	7	72.0[ac]

[a]P<0.05 *vs* A组; [c]P<0.05 *vs* B组. A组: 为小剂量克拉霉素三联疗法; B组: 大剂量克拉霉素三联疗法; C组: 羟氨苄青霉素三联疗法.

表 2 3组患者腹痛缓解情况比较 (n = 25, mean ± SD)

分组	治疗前	治疗3 d	治疗1 wk
A组	2.76 ± 1.31	1.99 ± 0.93[a]	0.81 ± 0.42[ac]
B组	2.68 ± 1.44	2.02 ± 0.91[a]	0.83 ± 0.37[ac]
C组	2.81 ± 1.53	1.85 ± 1.01[a]	0.78 ± 0.35[ac]

[a]P<0.05 *vs* 治疗前; [c]P<0.05 *vs* 治疗3 d. A组: 为小剂量克拉霉素三联疗法; B组: 大剂量克拉霉素三联疗法; C组: 羟氨苄青霉素三联疗法.

表 3 3组患儿不良反应发生率比较 (n = 25)

分组	恶心	呕吐	胃纳差	轻度腹泻	发生率(%)
A组	1	0	1	0	8.0[ac]
B组	1	1	2	1	20.0
C组	2	1	2	1	24.0

[a]P<0.05 *vs* B组; [c]P<0.05 *vs* C组. A组: 为小剂量克拉霉素三联疗法; B组: 大剂量克拉霉素三联疗法; C组: 羟氨苄青霉素三联疗法.

无效: 患儿症状、体征无改善或加重, 胃镜胃镜示溃疡面无明显愈合倾向. 以治愈加有效例数除以各组总例数, 为治疗总有效率.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析, 计量资料用mean±SD表示, 计数资料用百分率表示, 组间计量资料比较采用两样本t检验, 组间计数资料的比较采用χ^2检验, 以P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 3组患儿*H. pylori*根除率比较 经过治疗, A、B、C组患儿*H. pylori*根除率分别为96.0%、92.0%、96.0%, 3组进行统计学分析, 差异无统计学意义(P>0.05), 但A组稍高于B组.

2.2 3组患儿治疗后3 mo胃镜结果比较 经过3 mo的治疗, A、B、C组患儿治疗有效率分别为92.0%、88.0%、72.0%, A、B组明显高于C组(P<0.05), A、B组之间差异无统计学意义(P>0.05), 但A组稍高于B组(表1).

2.3 3组患者腹痛缓解情况比较 治疗前, 3组患儿均有不同程度的腹痛, 腹痛评分差异比较无统计学意义(P>0.05), 治疗3、7 d后, 各组患儿腹痛评分均出现明显下降(P<0.05), 治疗后14 d, 所有患儿腹痛均完全缓解(表2).

2.4 3组患儿不良反应发生率比较 恶心、呕吐、胃纳差以及轻度腹泻等情况是药物服用期间主要的不良反应, 经过统计, A、B、C组治疗期间不良反应发生率分别为8.0%、20.0%、24.0%, A组明显低于B、C组, 差异均有统计学意义(P<0.05, 表3).

3 讨论

近年小儿反复慢性腹痛发病率呈现逐渐升高的趋势, 临床上对小儿消化性溃疡的研究证明, *H. pylori*感染是消化性溃疡的主要致病因素, 是除肠道寄生虫病或肠痉挛外引发小儿慢性反复发作性腹痛的重要因素, 并常导致溃疡愈合延迟或复发. 目前关于儿童PU的临床研究认为, 早期根治*H. pylori*不仅提高了患儿PU痊愈率, 也大大降低了PU并发症以及复发率[4]. 黄敬等[5]对>5岁的PU患者进行了为期5年的临床观察, 发现早期*H. pylori*根治后, 溃疡再发几率极其少见. 由于*H. pylori*属于导致胃癌发病的一个重要危险因子, 因此, 早期根除*H. pylori*, 亦能达到预防远期胃癌发生的情况. 目前的药物治疗表明[6], 三联疗法具有较高的*H. pylori*根除率. 但是, 药物仍存

在较大的不良反应. 对于PU患儿而言, 由于机体的耐受能力不如成年人, 一些药物不良反应尤为明显[7]. 因此, 能够达到有效治疗PU并降低不良反应发生率效果的用药方案是临床医师普遍研究的内容.

临床研究证实, 在PU患儿的治疗中, 采用以质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)与铋剂的三联疗法, 可以取得较高的临床疗效, *H. pylori*的根除率亦较高[8,9]. 此外, 患儿对三联疗法的耐受力较好. 杨粉婵等[10]分别采用PPI两联及三联疗法根除*H. pylori*, 结果提示三联疗法*H. pylori*根除率明显高于二联疗法, 而且PPI剂量与根除*H. pylori*之间没有明显的关联. 随着我国PU发病率的不断升高, 我国对于*H. pylori*的临床研究亦有了较大的进步. 特别是^{13}C-UBT检测的使用, 使得*H. pylori*检测具有较高的敏感性与特异性[11]. 此外, 由于^{13}C-UBT检查属于非侵入性, 因此患儿的接受程度较高. 另外, ^{13}C属于稳定性较高的一种核素, 不存在任何放射性污染, 因此不会对患儿造成较大的影响[12]. 国外研究证实[13], ^{13}C-UBT检查可以实时反应胃的状态, 被认为是监测临床药物根治*H. pylori*的金标准, 具有较高的可靠性. 但是, ^{13}C-UBT检测的成本较高, 一般很少多次检查, 本研究仅在疗效评定是进行了应用.

本研究采用以含克拉霉素的PPI三联疗法对PU患儿进行临床治疗, 并通过对比高、低剂量克拉霉素以及含羟氨苄青霉素的PPI三联疗法, 观察各治疗方案在缓解患儿腹痛, 根除*H. pylori*等方面的作用. 首先, 我们对治疗后各组患儿*H. pylori*根除情况进行了比较, 可以发现3组患儿的*H. pylori*根除率均较高, 都超过90%. 通过各组间比较, 发现差异无统计学意义. 说明以PPI为基础的三联疗法, 临床根除*H. pylori*的作用较好, 但小剂量组稍高于大剂量组. 表明*H. pylori*根除率与克拉霉素或羟氨苄青霉素无明显的联系, 但小剂量较大剂量临床效果稍好. 治疗有效率方面, 通过3 mo后的胃镜检查, 可以发现克拉霉素的PPI三联疗法, 其有效率明显高于羟氨苄青霉素. 而对大、小剂量的克拉霉素组进行分析, 发现剂量对治疗有效率无明显的影响, 但小剂量组稍高于大剂量组, 也表明小剂量较大剂量更具优势. 患儿腹痛方面, 研究提示患儿大都处于轻度上腹部疼痛, 3种治疗方案均能在短期内缓解患儿的腹痛, 在治疗后的3、7 d, 患儿腹痛评分呈现明显的下降趋势. 在治疗后3、7 d进行3组间腹痛评分比较, 差异无统计学意义. 治疗后14 d, 3组所有患儿的腹痛均得到完全缓解, 说明3种治疗方案在缓解PU患儿方面, 均有着较高的疗效. 表明PPI是起到缓解腹痛的主要药物. 不良反应发生率方面, A、B、C组分别为8.0%、20.0%、24.0%, 小剂量组明显低于大剂量组和羟氨苄青霉素组, 差异均有统计学意义. 表明小剂量的克拉霉素PPI三联疗法具有最少的不良反应发生率, 而且对于*H. pylori*的根除率无明显的影响, 另外用药剂量小也减轻了患儿家庭治疗费用负担, 更据临床应用优势. 目前的研究认为[14,15], 治疗PU患者的理想治疗方案在于能够达到以下3点: (1)*H. pylori*根除率≥90%; (2)服药期间各类不良反应发生较好; (3)治疗简单、时间短. 通过本研究, 可以发现小剂量克拉霉素三联疗法完全能够达到上述三种标准.

总之, 3种治疗方案均有较高的*H. pylori*根除率, 均能较快缓解患儿腹痛. 小剂量克拉霉素治疗有效率较高, 且不良反应率明显低于其他两组, 可以作为儿童PU治疗的首选方案.

■应用要点
小剂量克拉霉素治疗有效率较高, 且不良反应率明显低于其他两组, 可以作为儿童PU治疗的首选方案.

4 参考文献

1 苏林, 王歆琼, 许春娣. 524例儿童上消化道疾病胃镜检查结果分析. 诊断学理论与实践 2012; 11: 494-497

2 李万鹏. 儿童消化性溃疡临床诊治分析. 现代中西医结合杂志 2011; 20: 2549-2550

3 Majima Y, Kurono Y, Hirakawa K, Ichimura K, Haruna S, Suzaki H, Kawauchi H, Takeuchi K, Naito K, Kase Y, Harada T, Moriyama H. Efficacy of combined treatment with S-carboxymethylcysteine (carbocisteine) and clarithromycin in chronic rhinosinusitis patients without nasal polyp or with small nasal polyp. *Auris Nasus Larynx* 2012; 39: 38-47 [PMID: 21636230]

4 罗玲玲, 张磊, 许建明, 胡咏梅, 卢春燕, 王志化. 左氧氟沙星三联7 d方案和标准三联10 d方案初次根除幽门螺杆菌的疗效观察. 安徽医科大学学报 2012; 47: 845-848

5 黄敬, 龚四堂, 区文玑, 潘瑞芳, 耿岚岚, 黄海, 何婉儿, 陈佩瑜, 刘丽英, 周丽雅. 10日序贯疗法根除儿童幽门螺杆菌感染的临床研究. 中华儿科杂志 2012; 50: 563-567

6 刘风林, 甄丽娜, 赵煜, 夏志伟, 司徒爱明, 张书红. 序贯疗法和标准三联疗法根除儿童幽门螺杆菌的疗效观察. 临床儿科杂志 2011; 29: 925-928

7 Sugimoto H, Ito M, Hatano M, Nakanishi Y, Maruyama Y, Yoshizaki T. A case of chronic otitis media caused by Mycobacterium abscessus. *Auris Nasus Larynx* 2010; 37: 636-639 [PMID: 20206453 DOI: 10.1016/j.anl.2010.01.010]

8 许立德, 房晓祎, 郭继忠, 陈楚虹, 崔霞. 儿童消化系统疾病致再发性腹痛的临床特点. 世界华人消化杂志 2003; 11: 2045-2046

9 张庆芳, 沙卫红, 王启仪. 克拉霉素为基础的三联方案根除幽门螺杆菌的疗效研究. 胃肠病学 2012; 17: 480-482

10 杨粉婵, 李建文. 泮托拉唑三联短期疗法治疗幽门螺

■同行评价
本研究对临床医师有一定的参考价值.

杆菌阳性消化性溃疡临床分析. 中国药物与临床 2012; 12: 955-956
11 王迎昕, 陈锡美, 朱风尚, 韩英, 王邦茂, 周永宁, 詹丽, 王吉林. 注射用尼扎替丁治疗消化性溃疡出血205例. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1963-1967
12 张万岱, 陈治水, 危北海. 消化性溃疡的中西医结合诊治方案. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2687-2689
13 周虹, 吕农华. 幽门螺杆菌与消化性溃疡并出血的研究现状. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1063-1066
14 Vermot D, Entenza JM, Vouillamoz J, Glauser MP, Moreillon P. Efficacy of clarithromycin versus that of clindamycin for single-dose prophylaxis of experimental streptococcal endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 809-811 [PMID: 8851620]
15 张凤玉, 黄晓曦. 序贯疗法治疗幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的疗效观察. 中国全科医学 2010; 13: 3813-3814

编辑 黄新珍 电编 闫晋利

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 2013年9月18日; 21(26): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《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, 肝病学, 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学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.

《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.

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》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, ℃), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max}, C_{max}, *V*d, $T_{1/2}$ *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

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 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 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υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^aP<0.05$, $^bP<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第三套为$^eP<0.05$, $^fP<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±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6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤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: wcjd@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. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃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/lcjy.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、补充或删节时, 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》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.

《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 2013年9月18日; 21(26): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

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
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]

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.centralsurg.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

世界华人消化杂志 2013年9月18日; 21(26): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

• 志谢 •

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!

陈国忠 主任医师
广西医科大学消化内科

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

党双锁 教授
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

杜雅菊 主任医师
哈尔滨医科大学附属第二医院

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

傅华群 教授
南昌大学第二附属医院

官泳松 教授
四川大学华西医院放射科

关玉盘 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

郝丽萍 副教授
华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

黄缘 教授
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

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

刘杰民 副主任医师
贵州省人民医院消化内镜科

林潮双 主任医师授
中山大学附属第三医院

刘正稳 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

孙文兵 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

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

庹必光 教授
遵义医学院附属医院

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

肖秀英 主治医师
上海市徐汇区中心医院

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《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，研究工作量浩大。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索量、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

北京大学图书馆

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

 © 2013 Baishideng. All rights reserved.