

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2013 年 11 月 28 日 第 21 卷 第 33 期 (Volume 21 Number 33)**



**33 / 2013**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

### 总顾问

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

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

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

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
白岚教授  
卜平教授  
陈国忠主任医师  
陈洪副教授  
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

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

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

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

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

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

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

### 消化中医药学

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
扈晓宇主任医师  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘绍能主任医师  
鲁玉辉副教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
谭周进教授  
王富春教授  
王来友副教授  
王笑民主任医师

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
代智副研究员  
侯风刚副教授  
江建新副主任医师  
蒋敬庭教授  
李苏宜教授  
李瑗教授  
刘宝瑞教授  
刘炳亚研究员  
刘平教授  
刘云鹏教授  
卢宁副主任医师  
卢晓梅教授  
朴龙镇副教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
王锐副主任医师  
吴建兵教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
肖秀英副主任医师  
谢丹教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
官泳松教授  
胡红杰主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师  
倪才方教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐辉雄教授  
严惟力副教授  
杨薇副教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授  
余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

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

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
陈敬贤教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
段义农教授  
樊红教授  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
郭长江研究员  
郭俊明教授  
何红伟副研究员  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄国教授  
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  
阴赓宏研究员  
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 11 月 28 日 第 21 卷 第 33 期 (总第437期)

述 评	3611 Notch信号通路与HSC活化关系的研究进展 张凯, 艾文兵, 柳长柏, 吴江锋
基础研究	3617 卡马西平保护小鼠肝脏缺血再灌注损伤 雷延昌, 罗盼, 李雯 3623 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4轴促进间充质干细胞归巢于实验性结肠炎受损结肠 刘星星, 范恒, 段雪云, 唐庆, 寿折星, 左冬梅, 张丽娟, 曹丹, 邹舟
临床研究	3631 肝脏神经内分泌肿瘤34例 陆中萃, 张秀辉 3638 华支睾吸虫卵的形态变化、存活状况与胆囊结石形成的关系 乔铁, 罗小兵, 马瑞红, 郑培明, 罗振亮, 杨柳青 3647 新疆维吾尔自治区汉、维、哈3个民族胆囊息肉的流行病学 吕复君, 刘江伟, 吕辉琴, 张东, 韩永华, 庞国栋, 蒋银花, 卢静, 单建华 3654 血液学检查常见指标与炎症性肠病炎症活动度及严重程度的相关性 刘维新, 张坤, 戴聪, 任益 3661 锯齿状病变患者组织中CDX2基因启动子中上游区域的甲基化 许春伟, 王鲁平, 葛畅, 张玉萍, 方园
文献综述	3670 自身免疫性肝炎的研究进展 黄颖秋 3678 姜黄素抗肝癌分子机制的研究进展 刘婕, 唐世孝 3683 十二指肠间质瘤的研究进展 李昱骥, 董明 3688 维生素D受体在结直肠肿瘤中的研究进展 王科伟, 董明
研究快报	3695 二十二碳六烯酸逆转食管癌Eca109/DDP细胞对顺铂耐药的机制 张徐宁, 戴翠萍, 夏前正, 韩雪花, 季宁东 3700 应用基因重组人粒细胞集落刺激因子治疗小鼠炎症性肠病的作用机制 林艳, 王思亮, 岳原亦, 郑长青
临床经验	3706 接头蛋白SH2B1和RhoA蛋白在食管癌患者中的表达及临床病理意义 姜齐宏, 陈艳, 王爱祥 3710 Ivor-Lewis与左胸一切口治疗食管中下段癌的近期疗效 陆国庆, 李刚, 居来提·艾尼瓦尔, 李德生, 伊力亚尔·夏合丁, 张力为 3715 乌鲁木齐市维吾尔族人群胃食管反流症状的流行病学调查及防治 荣亮, 李可, 郑森元, 刘芳, 刘慧敏, 侯慧 3720 药物性肝损伤临床分析324例 张平, 柯玉满, 樊小春, 李玉红 3724 Fibroscan评价慢性病毒性肝炎肝纤维化( $\geq$ F2)的Meta分析 罗子华, 邹健, 宓林, 刘燕, 童依丽, 于晓峰 3736 胆总管结石合并肝硬化患者行ERCP的临床价值 马茂源, 蒋国斌, 王翔, 缪林, 季国忠, 王敏 3742 肝癌患者血清Cathepsin S含量检测的临床意义 杨雅阁, 张炳勇, 刘龙, 白阳秋, 曹名波 3747 超声引导下PRFA治疗非手术适应症肝癌术后的肿瘤影像表现与疗效的关系 付雪丹, 刘彦丽 3752 Livin和Caspase3在胆管癌中的表达及其与胆管癌生物学行为的关系 李昱骥, 隋远达, 孔凡民 3757 循环热灌注化疗与单纯灌注化疗治疗胃肠道肿瘤恶性腹腔积液的疗效比较 李娜, 薄常文, 邹长鹏, 马文华, 郑铮, 安永辉



	3762 奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡的临床效果 夏永欣, 尚品杰, 刘晓政, 张向东, 许欣
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	3653 《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) 3660 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 3677 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 3699 《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 3714 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 3741 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 3751 《世界华人消化杂志》正文要求 3756 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 3766 《世界华人消化杂志》参考文献要求
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 吴江锋, 副教授, 443002, 湖北省宜昌市大学路8号, 三峡大学医学院形态学部
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-11-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

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

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域第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

## November 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 33

<b>EDITORIAL</b>	3611 Progress in understanding the relationship between Notch signaling pathway and hepatic stellate cell activation <i>Zhang K, Ai WB, Liu CB, Wu JF</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	3617 Carbamazepine protects the liver against ischemia/reperfusion injury in mice <i>Lei YC, Luo P, Li W</i> 3623 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 axis facilitates BMSCs homing toward injured colon in rats with experimental colitis <i>Liu XX, Fan H, Duan XY, Tang Q, Shou ZX, Zou DM, Zhang LJ, Cao D, Zou Z</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	3631 Hepatic neuroendocrine tumors: Analysis of 34 cases <i>Lu ZC, Zhang XH</i> 3638 Relationship between morphological changes and survival status of <i>Clonorchis sinensis</i> eggs and gallstone formation <i>Qiao T, Luo XB, Ma RH, Zheng PM, Luo ZL, Yang LQ</i> 3647 Prevalence of and risk factors for gallbladder polyps in Han, Uygur and Kazak populations in Xinjiang <i>Lv FJ, Liu JW, Lv HQ, Zhang D, Han YH, Pang GD, Jiang YH, Lu J, Shan JH</i> 3654 Correlation between routine blood indexes and disease activity in patients with inflammatory bowel disease <i>Liu WX, Zhang S, Dai C, Ren Y</i> 3661 CDX2 upstream promoter methylation status in serrated lesions <i>Xu CW, Wang LP, Ge C, Zhang YP, Fang Y</i>
<b>REVIEW</b>	3670 Advances in research of autoimmune hepatitis <i>Huang YQ</i> 3678 Molecular mechanisms behind anti-cancer effects of curcumin in hepatocellular carcinoma <i>Liu J, Tang SX</i> 3683 Diagnosis and treatment of duodenal gastrointestinal stromal tumors <i>Li YJ, Dong M</i> 3688 Vitamin D receptor and colorectal cancer <i>Wang KW, Dong M</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	3695 Mechanisms underlying reversal effect of docosahexaenoic acid on cisplatin resistance in human esophageal carcinoma cell line Eca109/DDP <i>Zhang XN, Dai CP, Xia QZ, Han XH, Ji ND</i> 3700 Mechanisms underlying therapeutic effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor against TNBS-induced experimental colitis in mice <i>Lin Y, Wang SL, Yue YY, Zheng CQ</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	3706 Clinicopathologic significance of SH2B1 and RhoA expression in esophageal cancer <i>Jiang QH, Chen Y, Wang AX</i> 3710 Ivor-Lewis esophagectomy versus one-incision esophagectomy via the left thoracic approach in the treatment of middle and lower thoracic esophageal carcinoma <i>Lu GQ, Li G, Ainiwaer•Julaiti, Li DS, Xiaheding•Yiliyaer, Zhang LW</i> 3715 Symptomatic gastroesophageal reflux disease among Uygur residents in Urumqi: An epidemiological study and preventive treatment <i>Rong L, Li K, Zheng SY, Liu F, Liu HM, Hou H</i> 3720 Causes and clinical features of drug-induced liver damage: An analysis of 324 cases <i>Zhang P, Ke YM, Fan XC, Li YH</i> 3724 Evaluation of hepatic fibrosis stage ( $\geq$ F2) by fibroscan in patients with chronic viral hepatitis: A Meta-analysis <i>Luo ZH, Zou J, Mi L, Liu Y, Tong YL, Yu XF</i> 3736 ERCP for treatment of choledocholithiasis in patients with liver cirrhosis <i>Ma MY, Jiang GB, Wang X, Miao L, Ji GZ, Wang M</i> 3742 Clinical significance of serum Cathepsin S in patients with hepatocellular carcinoma <i>Yang YG, Zhang BY, Liu L, Bai YQ, Cao MB</i> 3747 Relationship between postoperative imaging findings and therapeutic effect in patients with unresectable hepatocellular carcinoma after ultrasound-guided percutaneous radiofrequency ablation <i>Fu XD, Liu YL</i> 3752 Clinical significance of expression of Livin and Caspase3 in cholangiocarcinoma <i>Li YJ, Sui YD, Kong FM</i> 3757 Efficacy of continuous hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy for malignant seroperitoneum <i>Li N, Bo CW, Zou CP, Ma WH, Zheng Z, An YH</i>

	3762 Curative effect of omeprazole- and glutamine-containing quadruple therapy in treatment of stress ulcer <i>Xia YX, Shang PJ, Liu XZ, Zhang XD, Xu X</i>
<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Jiang-Feng Wu, Professor, Medical College, China Three Gorges University, 8 Daxue Road, Xiling District, Yichang 443002, Hubei Province, China
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** November 28, 2013

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

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

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

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

### EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

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

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@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. All rights reserved. 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](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.



# Notch信号通路与HSC活化关系的研究进展

张凯, 艾文兵, 柳长柏, 吴江锋

张凯, 艾文兵, 三峡大学第二临床医学院 湖北省宜昌市 443000

柳长柏, 三峡大学分子生物学研究所 湖北省宜昌市 443002

吴江锋, 三峡大学医学院 湖北省宜昌市 443002

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81170412, 81200307

作者贡献分布: 本文综述由张凯与艾文兵完成; 吴江锋与柳长柏审核。

通讯作者: 吴江锋, 教授, 硕士生导师, 443002, 湖北省宜昌市西陵区大学路8号, 三峡大学医学院. 313229177@qq.com

电话: 0717-6397328

收稿日期: 2013-07-21 修回日期: 2013-09-15

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-11-28

## Progress in understanding the relationship between Notch signaling pathway and hepatic stellate cell activation

Kai Zhang, Wen-Bing Ai, Chang-Bai Liu, Jiang-Feng Wu

Kai Zhang, Wen-Bing Ai, the Second College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University, Yichang 443000, Hubei Province, China

Chang-Bai Liu, Institute of Molecular Biology, China Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei Province, China.

Jiang-Feng Wu, Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81170412 and 81200307

Correspondence to: Jiang-Feng Wu, Professor, Medical College, China Three Gorges University, 8 Daxue Road, Xiling District, Yichang 443002, Hubei Province, China. 313229177@qq.com

Received: 2013-07-21 Revised: 2013-09-15

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-11-28

## Abstract

Multiple signaling pathways are involved in the pathogenesis of hepatic fibrosis, and the Notch signaling pathway plays an important role in promoting the activation of hepatic stellate cells (HSCs). This pathway participates in the activation of HSCs mainly by cooperating with transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ )/BMP, nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B), and Wnt signaling pathways directly or indirectly. This review aims to explore the relationship between the Notch signaling pathway and the activation of HSCs as well as the cooperative actions between TGF- $\beta$ /BMP, NF- $\kappa$ B, and Wnt and the Notch

signaling pathway in the process of the activation of HSCs.

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

**Key Words:** Notch; Transforming growth factor- $\beta$ /BMP; WNT; nuclear factor-kappa B; Hepatic stellate cells

Zhang K, Ai WB, Liu CB, Wu JF. Progress in understanding the relationship between Notch signaling pathway and hepatic stellate cell activation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3611-3616 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3611.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3611>

## 摘要

肝纤维化的发生与多种信号通路密切相关, 有研究证实Notch信号通路在肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化过程起重要作用。Notch通路主要通过直接与间接与转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )/BMP、核因子- $\kappa$ B(nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)、WNT等信号通路的协同作用参与HSC的活化。本文主要就Notch信号通路与HSC活化的关系, 该信号通路在HSC的活化过程中与TGF- $\beta$ /BMP、NF- $\kappa$ B、WNT等信号通路的协同作用作一评述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** Notch; 转化生长因子 $\beta$ /BMP; WNT; 核因子- $\kappa$ B; 肝星状细胞

**核心提示:** 本文不仅较全面的阐述了Notch与肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化的关系及研究现状, 也进一步讨论了Notch与转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ )/BMP、核因子- $\kappa$ B(nuclear factor-kappa B)、WNT等信号通路在HSC活化过程中的协调作用, 为寻找调节HSC活化的关键分子提供了一些新思路。

张凯, 艾文兵, 柳长柏, 吴江锋. Notch信号通路与HSC活化关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(33): 3611-3616 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3611.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3611>

## ■背景资料

本文简要阐述了Notch与肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化的关系及研究现状, 意在让读者对Notch与HSC活化的关系有更全面的了解, 为肝纤维化的分子靶向治疗提供可能方向。

## ■同行评议者

吴俊华, 副教授, 南京大学医学院; 刘绍能, 主任医师, 中国中医科学院广安门医院消化科

## ■ 研发前沿

由于Notch通路在血液及免疫系统发育过程中的重要性,过去人们更多关注其对血液及免疫系统疾病的治疗。目前,Notch在治疗纤维化疾病方面的研究也已取得重大进展,进一步研究可能为纤维化疾病的治疗找到新的突破口。

## 0 引言

肝损伤-炎症-修复导致肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化,分泌大量的胶原蛋白,引起细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的合成与降解失调,是肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)形成的关键<sup>[1,2]</sup>。静止的HSC位于Dessal间隙,他富含维生素A(vitamin A, VA)和甘油三酯等成份形成的脂滴<sup>[3-5]</sup>。静止期的HSC经活化、转分化为肌成纤维细胞(myofibroblast, MF)后,发生了多种变化,主要包括致纤维化基因的表达、具有收缩性和趋化作用、细胞增殖、脂滴丢失、白细胞因子的释放等<sup>[6]</sup>。以上变化与HSC的多个信号通路有关,研究证实Notch通路的失活可抑制HSC的活化<sup>[7-9]</sup>,但具体机制并不清楚。因此,通过对Notch通路的深入研究,可能寻找到与HSC活化的关键分子,并以此作为治疗靶点,阻止甚至逆转HSC活化<sup>[10]</sup>。本文就Notch信号通路在HSC中的研究现状及潜在的治疗意义作一综述。

## 1 Notch结构、分布及功能

Notch信号通路由Notch受体、Notch配体(DSL蛋白)、CSL(CBF-1, Suppressor of hairless, Lag的合称)DNA结合蛋白、其他的效应物和Notch的调节分子等组成。哺乳动物细胞中有4种Notch受体(Notch1-4)和5种Notch配体(Delta-like 1, 3, 4, Jagged1和Jagged2)。Notch受体为I型跨膜蛋白,当它与相邻细胞膜上的Notch配体结合后,激活Notch信号通路,招募2种蛋白水解酶。一种为金属蛋白酶(a disintegrin and metalloprotease, ADAM),另一种是衰老素(presenillin)介导的 $\gamma$ 型分泌酶( $\gamma$ -secretase)。ADAM作用于Notch受体的跨膜外区域, $\gamma$ 型分泌酶作用于胞内区域,两者共同将Notch受体水解为胞外区、跨膜区及胞内结构域NICD(Notch intracellular domain)<sup>[11,12]</sup>。

NICD是Notch受体的主要功能结构区,由2个核定位序列(nuclear localization sequence, NLS)、1个RAM区(主要与CSL蛋白结合)、6个ANK(ankyrin,主要负责与核内相关蛋白结合形成转录复合物)重复序列及维持蛋白稳定的PEST(proline-glutamate-serine-threonine-rich domain)序列组成<sup>[13,14]</sup>。NICD可向细胞核内聚集并与核内的RBP-J $\kappa$ [binding protein-Jkappa,也被称作CSL或CBF1/Su(H)/Lag-1]核蛋白家族及p300、Mam1等蛋白形成转录复合物。当RBP-J $\kappa$ 与NICD结合后,RBP-J $\kappa$ 由转录抑制因子变为转录激活因子(transcriptional activator),从而使

Notch信号通路的直接靶基因Hes(hairy-enhancer of split)与Hey(hairy/enhancer of split-related with YRPW motif-like)及间接靶基因*cmyc*、*jag1*、*CD25*等表达<sup>[15]</sup>。

Notch作为一个进化高度保守的信号通路,广泛存在于各种哺乳动物细胞中并精密的调节着细胞、组织、器官的分化和发育。尤其是在血液与免疫系统的进化和发育方面起着至关重要的作用,如Notch在胚胎形成时期能促进造血干细胞的形成,并维系造血干细胞在骨髓中的微环境<sup>[16]</sup>;同样,Notch对维持T细胞的分化与成熟至关重要,骨髓来源的前体T细胞需要高水平的Notch信号诱导其定植于胸腺并分化成熟<sup>[17]</sup>。因此,Notch信号通路长期被用于免疫及血液系统疾病的研究。随着分子生物学的发展,Notch通路越来越多地被用于其他疾病的研究。如在人的肺、肾、肝脏、隔膜等纤维化疾病的研究中,发现Notch能与生长转化因子 $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )作用促进或降解EMC,选择性的介导纤维化发生<sup>[18,19]</sup>。

## 2 Notch与HSC活化

慢性肝损伤分泌的大量炎症因子所导致的HSC活化是肝纤维化形成的关键。在原代细胞水平,通过对正常大鼠肝脏中刚分离出的HSC与培养不同天数并高度活化的HSC进行对比,发现Notch受体和配体的表达存在显著差异<sup>[20]</sup>。在静止期HSC中并没有Notch配体Jag1的表达,但在肝实质细胞、枯否细胞及高度活化的HSC中Jag1有表达。表明静止期的HSC需要肝脏的其他细胞提供Notch配体,拟维持Notch信号的活化。对于HSC中Notch受体及其下游靶基因的分布情况,研究发现在静止期HSC中,Notch受体Notch1、Notch2、Notch4及其靶基因*Hes1*、*Hey1*都有大量的表达<sup>[21,22]</sup>,但伴随着HSC的活化,以上基因的表达都有逐渐降低的趋势,其中,Notch1的变化最明显,在HSC的活化过程中,干细胞标记分子CD133、OCT4的表达也逐渐下降<sup>[20,22]</sup>,以上Notch相关分子与干细胞标记分子之间有何关联,值得进一步探讨。随着HSC的活化,Notch3的表达量却显著增高。目前已证实,Notch3与HSC的活化有一定关联<sup>[23,24]</sup>。当Notch3的胞内功能结构域(NICD3)在HSC-T6细胞系中高表达时,该细胞的纤维化标志分子 $\alpha$ 平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)、I型胶原蛋白(collagen I)等都显著增加;但是,当

Notch3被小干扰RNA(siRNA)沉默后, 这两种蛋白的表达并无显著增高. 同时, 动物实验证实, 肝纤维化组织中Notch3、hes1、jagged1、 $\alpha$ -SMA、Collagen I的表达显著增高<sup>[9]</sup>.

虽然已有实验证实, 抑制Notch3的表达能有效抑制HSC的活化. 但Notch3作为Notch通路中的上游分子, 其下游的靶点过多, 干预Notch3的表达后, 会表现为多效性的特点, 因此, 单独依靠抑制Notch3的表达来抑制HSC活化, 并用于临床肝纤维化治疗并不现实. 若进一步弄清Notch3与HSC活化之间的具体分子机制, 找到Notch3下游与HSC活化更密切、更特异性的分子, 可以为肝纤维化的治疗开辟新途径. 而对于Notch信号通路的另外3种受体Notch1、Notch2、Notch4与HSC的活化关系并没有相关文献报道, 对肝纤维化治疗感兴趣的国内外学者仍值得继续探究.

### 3 Notch与多个信号通路在HSC活化过程中的作用关系

**3.1 Notch与TGF- $\beta$ /BMP信号通路的关系** Notch与TGF- $\beta$ 信号通路具有协同作用. 研究表明, TGF- $\beta$ 的下游分子Smad3既可结合该信号通路的靶基因启动子上的Smad结合元件(Smad binding elements, SBEs), 又可结合Notch信号通路的下游分子CSL. 一方面, TGF- $\beta$ 具有促进Notch信号的作用: TGF- $\beta$ 通过活化Smad2/3蛋白, 使其与Notch信号的下游分子NICD直接作用, 并结合到*Hes1*基因的启动子上, 上调*Hes1*基因的表达<sup>[19,25,26]</sup>; 另一方面, Notch信号通路也可强化TGF- $\beta$ 的作用: Notch信号通路可以提高Smad2/3的磷酸化水平<sup>[27]</sup>, 增加Smad3蛋白的表达量, 延长Smad3蛋白的半衰期, 上调TGF- $\beta$ /Smad3靶基因的表达. 此外, 这两条信号通路通过协同作用, 可以上调 $\alpha$ -SMA的表达, 深入研究发现, Notch1/CSL可以直接活化 $\alpha$ -SMA的启动子<sup>[28]</sup>, 当阻断Notch信号通路时, TGF- $\beta$ 所诱导的 $\alpha$ -SMA的表达上调受到抑制<sup>[29]</sup>.

同时, Notch与BMP信号通路也有协同作用. 当BMP信号通路活化后, Notch信号通路靶基因*Hes*的表达显著增高<sup>[30]</sup>. 进一步研究Notch与BMP之间的内在关系发现, 在小鼠的神经上皮细胞中, BMP2激活的Smad1可与NICD结合形成复合体, 并在p300分子的协助下结合到*Hes*基因的启动子上, 进而上调*Hes5*、*Herp1*基因的表达<sup>[31]</sup>. 在内皮细胞中也发现, BMP可调节Notch信号通

路的另一靶基因*Herp2*<sup>[32]</sup>.

在HSC中, TGF- $\beta$ 与BMP的功能不同, TGF- $\beta$ 促进HSC活化, 而BMP抑制了该过程. 由上可知, Notch与TGF- $\beta$ 及BMP信号通路之间均通过“串话”起到协调效应. 那么, 在HSC的活化过程中, 是以Notch与TGF- $\beta$ 信号通路的协调作用为主, 还是以Notch与BMP信号通路的协调作用为主, 或者Notch信号通路能否有效地协调这两种相互拮抗的信号通路, 值得进一步探讨.

**3.2 Notch与NF- $\kappa$ B信号通路的关系** NF- $\kappa$ B信号通路与许多病理过程有关联, 如慢性炎症、持续感染、癌症等<sup>[33,34]</sup>. 同样, NF- $\kappa$ B所介导的炎症介质释放也是导致HSC活化的关键. 在活化的HSC中, 许多致炎症因子及致纤维化因子如肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-8、单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)及ICAM1都受细胞内NF- $\kappa$ B基础水平的调控<sup>[35,36]</sup>. 同时, NF- $\kappa$ B也保护性的调节细胞存活并抵抗细胞因子诱导的HSC凋亡<sup>[37,38]</sup>. 因此, 调节HSC中NF- $\kappa$ B的基础水平可调控HSC的活化.

在正常细胞中, 构成型NF- $\kappa$ B蛋白表达恒定, 在胞质内, 大部分NF- $\kappa$ B前体分子会与NF- $\kappa$ B抑制蛋白I $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B-inhibitory protein)形成复合物, 遏制NF- $\kappa$ B蛋白进入细胞核发挥转录因子的作用; 当细胞受到各种炎症因子刺激后, 产生I $\kappa$ B激酶(I $\kappa$ B kinase, IKK), 该激酶使I $\kappa$ B的稳定性降低, 进而降解I $\kappa$ B, 活化NF- $\kappa$ B信号通路<sup>[39,40]</sup>. 由此可见, 增加胞质内I $\kappa$ B蛋白的表达是遏制NF- $\kappa$ B通路活化的有效手段.

在HSC中, Notch1的活化能增加胞质内I $\kappa$ B蛋白的基础表达, 抑制NF- $\kappa$ B通路活化<sup>[41]</sup>. 细胞内I $\kappa$ B蛋白的表达是受核内多种转录复合物调控的, 其中转录抑制因子(C-promoter binding protein-1, CBF1)是*I $\kappa$ B*基因表达的关键调节因子. 当CBF1与SMRT-NcoR-HDAC1或CIR-HDAC2-SAP30等结合后会形成转录抑制复合体, 与*I $\kappa$ B*基因启动子结合后抑制*I $\kappa$ B*基因的表达, 活化NF- $\kappa$ B通路<sup>[42]</sup>. 而当细胞内高表达Notch1后, 大量的Notch1胞内结构域NICD入核, 招募CBP/P300等蛋白并与转录抑制复合体竞争性结合CBF1, 使转录抑制复合物变为转录激活子从而活化*I $\kappa$ B*基因的表达<sup>[43,44]</sup>. 可见, 在HSC中高表达的Notch1能增加胞质内I $\kappa$ B蛋白的表达, 抑制NF- $\kappa$ B通路的活化.

#### ■ 相关报道

Notch能调节HSC的活化虽已有相关文献报道, 特别是Notch3的失活能抑制HSC活化有望用于治疗肝纤维化. 但调节HSC活化的关键分子并不清楚, 有待国内外学者进一步探究.



# ■创新盘点

目前人们更多的关注于TGF- $\beta$ 信号在HSC活化中的作用,而本文全面总结了Notch信号与HSC活化的关系及研究现状,为肝纤维化的研究提供了一些新思路。

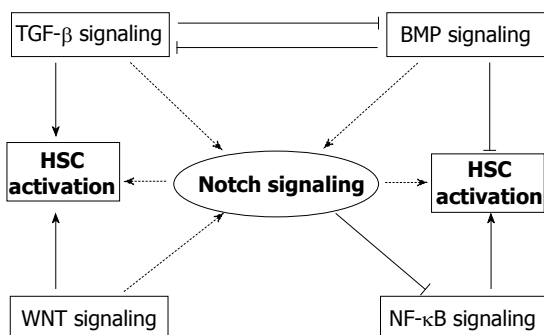


图1 Notch及转化生长因子- $\beta$ /BMP、核因子- $\kappa$ B、WNT信号通路与肝星状细胞活化的关系。TGF- $\beta$ : 转化生长因子- $\beta$ ; NF- $\kappa$ B: 核因子- $\kappa$ B; HSC: 肝星状细胞。

**3.3 Notch与WNT信号通路的关系** 研究证实WNT信号通路促进HSC活化。通过对比WNT受配体及其下游的分子在静止期和活化期原代HSC中的表达,发现WNT信号在活化的HSC中显著增强<sup>[45,46]</sup>。在HSC-T6细胞系中进一步证实,当WNT信号通路活化后,细胞表达ECM的水平显著增加;当用内源性阻断剂DDK1阻断WNT信号通路后,ECM的表达无变化,该结果表明,增强的WNT信号确能促进HSC活化<sup>[47,48]</sup>。在经典的WNT信号通路中,WNT通路上游信号分子Necdin与Wnt10b的启动子结合,激活Wnt信号通路,通过抑制过氧化物酶增殖物激活受体 $\gamma$ (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ ),进而影响VA的代谢,促进HSC活化,这可能是WNT信号通路促进HSC活化的一种机制<sup>[49-51]</sup>。

研究发现,当HSC中的WNT信号增强时,Notch1的表达会显著增加;而当WNT信号被阻断时,Notch1的表达显著降低<sup>[7]</sup>。表明WNT信号在HSC中有调节Notch1表达的功能。在结肠癌(HCT116)细胞系中发现,经典的WNT信号活化后,下游的 $\beta$ -catenin蛋白表达增高,该蛋白能与Notch2、Notch3、Notch4启动子上的LEF-1/TCF位点结合,进而使他们的表达增高,其中Notch2有显著增高趋势<sup>[52-54]</sup>。因此,在HSC中可能存在WNT调节Notch相关受体表达的机制,但要阐明此种机制需进一步研究(图1)。

## 4 结论

Notch信号可与多种信号通路协同调节HSC的活化,但是,由于Notch信号通路具有多效性,继续寻找与HSC活化更密切、更特异性的分子,并以此为靶点进行干预性靶向治疗,可能成为逆转

HSC活化的有效手段之一。就研究现状而言,只是初步发现Notch信号通路可与多种信号通路共同调节HSC的活化,具体是哪些分子在HSC的活化中起关键性作用并不明确。因此,要想进一步明确Notch信号通路中各个分子在HSC活化中的作用,还需国内外学者共同努力,本文主要阐述了Notch信号通路在HSC活化过程中的研究现状及其与TGF- $\beta$ /BMP、NF- $\kappa$ B、WNT等信号通路在HSC活化过程中的可能的内在联系,期望为肝纤维化的研究提供一些思路及为临床治疗肝纤维化提供一条新途径。

## 5 参考文献

- Frantz C, Stewart KM, Weaver VM. The extracellular matrix at a glance. *J Cell Sci* 2010; 123: 4195-4200 [PMID: 21123617 DOI: 10.1242/jcs.023820]
- 高润平, 齐晓艳. 肝纤维化的发生机制与治疗进展. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2263-2269
- Yu J, Zhang S, Chu ES, Go MY, Lau RH, Zhao J, Wu CW, Tong L, Zhao J, Poon TC, Sung JJ. Peroxisome proliferator-activated receptors gamma reverses hepatic nutritional fibrosis in mice and suppresses activation of hepatic stellate cells in vitro. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42: 948-957 [PMID: 20156580 DOI: 10.1016/j.biocel.2010.02.006]
- Ramani K, Tomasi ML. Transcriptional regulation of methionine adenosyltransferase 2A by peroxisome proliferator-activated receptors in rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 2012; 55: 1942-1953 [PMID: 22271545 DOI: 10.1002/hep.25594]
- D'Ambrosio DN, Walewski JL, Clugston RD, Berk PD, Rippe RA, Blaner WS. Distinct populations of hepatic stellate cells in the mouse liver have different capacities for retinoid and lipid storage. *PLoS One* 2011; 6: e24993 [PMID: 21949825 DOI: 10.1371/journal.pone.0024993]
- Krizhanovsky V, Yon M, Dickins RA, Hearn S, Simon J, Miething C, Yee H, Zender L, Lowe SW. Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis. *Cell* 2008; 134: 657-667 [PMID: 18724938 DOI: 10.1016/j.cell.2008.06.049]
- Chen YX, Weng ZH, Zhang SL. Notch3 regulates the activation of hepatic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1397-1403 [PMID: 22493555 DOI: 10.3748/wjg.v18.i12.1397]
- Chen YX, Weng ZH, Qi D, Zhang SL. [Effect of Notch signaling on the activation of hepatic stellate cells]. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2012; 20: 677-682 [PMID: 23207232 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418]
- Chen Y, Zheng S, Qi D, Zheng S, Guo J, Zhang S, Weng Z. Inhibition of Notch signaling by a  $\gamma$ -secretase inhibitor attenuates hepatic fibrosis in rats. *PLoS One* 2012; 7: e46512 [PMID: 23056328 DOI: 10.1371/journal.pone.0046512]
- Friedman SL. Liver fibrosis -- from bench to bedside. *J Hepatol* 2003; 38 Suppl 1: S38-S53 [PMID: 12591185]
- Erler F. [Osteosyntheses in forearm fractures (1972)]. *Beitr Orthop Traumatol* 1976; 23: 132-134 [PMID: 962803]

- 12 Nemir M, Pedrazzini T. Functional role of Notch signaling in the developing and postnatal heart. *J Mol Cell Cardiol* 2008; 45: 495-504 [PMID: 18410944 DOI: 10.1016/j.yjmcc.2008.02.273]
- 13 Yashiro-Ohtani Y, Ohtani T, Pear WS. Notch regulation of early thymocyte development. *Semin Immunol* 2010; 22: 261-269 [PMID: 20630772 DOI: 10.1016/j.smim.2010.04.015]
- 14 Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science* 1999; 284: 770-776 [PMID: 10221902]
- 15 Iso T, Kedes L, Hamamori Y. HES and HERP families: multiple effectors of the Notch signaling pathway. *J Cell Physiol* 2003; 194: 237-255 [PMID: 12548545 DOI: 10.1016/j.yjmcc.2008.02.273]
- 16 Dzierzak E, Speck NA. Of lineage and legacy: the development of mammalian hematopoietic stem cells. *Nat Immunol* 2008; 9: 129-136 [PMID: 18204427 DOI: 10.1038/ni1560]
- 17 Tanigaki K, Han H, Yamamoto N, Tashiro K, Ikegawa M, Kuroda K, Suzuki A, Nakano T, Honjo T. Notch-RBP-J signaling is involved in cell fate determination of marginal zone B cells. *Nat Immunol* 2002; 3: 443-450 [PMID: 11967543]
- 18 Bielez B, Sirin Y, Si H, Niranjan T, Gruenwald A, Ahn S, Kato H, Pullman J, Gessler M, Haase VH, Susztak K. Epithelial Notch signaling regulates interstitial fibrosis development in the kidneys of mice and humans. *J Clin Invest* 2010; 120: 4040-4054 [PMID: 20978353 DOI: 10.1172/JCI43025]
- 19 Nyhan KC, Faherty N, Murray G, Cooley LB, Godson C, Crean JK, Brazil DP. Jagged/Notch signaling is required for a subset of TGF $\beta$ 1 responses in human kidney epithelial cells. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803: 1386-1395 [PMID: 20833210 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2010.09.001]
- 20 Sawitza I, Kordes C, Reister S, Häussinger D. The niche of stellate cells within rat liver. *Hepatology* 2009; 50: 1617-1624 [PMID: 19725107 DOI: 10.1002/hep.23184]
- 21 Ono Y, Sensui H, Okutsu S, Nagatomi R. Notch2 negatively regulates myofibroblastic differentiation of myoblasts. *J Cell Physiol* 2007; 210: 358-369 [PMID: 17044085]
- 22 Reister S, Kordes C, Sawitza I, Häussinger D. The epigenetic regulation of stem cell factors in hepatic stellate cells. *Stem Cells Dev* 2011; 20: 1687-1699 [PMID: 21219128 DOI: 10.1089/scd.2010.0418]
- 23 于秀文, 曾林祥. Notch信号通路与肺纤维化. *生命的化学* 2012; 32: 0155-0158
- 24 Guo LY, Li YM, Qiao L, Liu T, Du YY, Zhang JQ, He WT, Zhao YX, He DQ. Notch2 regulates matrix metalloproteinase 9 via PI3K/AKT signaling in human gastric carcinoma cell MKN-45. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7262-7270 [PMID: 23326131 DOI: 10.3748/wjg.v18.i48.7262]
- 25 Blokzijl A, Dahlqvist C, Reissmann E, Falk A, Moliner A, Lendahl U, Ibáñez CF. Cross-talk between the Notch and TGF-beta signaling pathways mediated by interaction of the Notch intracellular domain with Smad3. *J Cell Biol* 2003; 163: 723-728 [PMID: 14638857]
- 26 Kurpinski K, Lam H, Chu J, Wang A, Kim A, Tsay E, Agrawal S, Schaffer DV, Li S. Transforming growth factor-beta and notch signaling mediate stem cell differentiation into smooth muscle cells. *Stem Cells* 2010; 28: 734-742 [PMID: 20146266 DOI: 10.1002/stem.319]
- 27 Tang Y, Urs S, Boucher J, Bernaiche T, Venkatesh D, Spicer DB, Vary CP, Liaw L. Notch and transforming growth factor-beta (TGFbeta) signaling pathways cooperatively regulate vascular smooth muscle cell differentiation. *J Biol Chem* 2010; 285: 17556-17563 [PMID: 20368328 DOI: 10.1074/jbc.M109.076414]
- 28 Fu Y, Chang A, Chang L, Niessen K, Eapen S, Setiadi A, Karsan A. Differential regulation of transforming growth factor beta signaling pathways by Notch in human endothelial cells. *J Biol Chem* 2009; 284: 19452-19462 [PMID: 19473993 DOI: 10.1074/jbc.M109.011833]
- 29 Zavadil J, Cermak L, Soto-Nieves N, Böttinger EP. Integration of TGF-beta/Smad and Jagged1/Notch signalling in epithelial-to-mesenchymal transition. *EMBO J* 2004; 23: 1155-1165 [PMID: 14976548]
- 30 Itoh F, Itoh S, Goumans MJ, Valdimarsdottir G, Iso T, Dotto GP, Hamamori Y, Kedes L, Kato M, ten Dijke P. Synergy and antagonism between Notch and BMP receptor signaling pathways in endothelial cells. *EMBO J* 2004; 23: 541-551 [PMID: 14739937]
- 31 Beets K, Huylebroeck D, Moya IM, Umans L, Zwijsen A. Robustness in angiogenesis: notch and BMP shaping waves. *Trends Genet* 2013; 29: 140-149 [PMID: 23279848 DOI: 10.1016/j.tig.2012.11.008]
- 32 Moya IM, Umans L, Maas E, Pereira PN, Beets K, Francis A, Sents W, Robertson EJ, Mummery CL, Huylebroeck D, Zwijsen A. Stalk cell phenotype depends on integration of Notch and Smad1/5 signaling cascades. *Dev Cell* 2012; 22: 501-514 [PMID: 22364862 DOI: 10.1016/j.devcel.2012.01.007]
- 33 田莉, 王献华, 马小兵, 赵静. TNF- $\alpha$ 介导的NF- $\kappa$ B信号通路在肺纤维化中的作用. *现代预防医学* 2011; 38: 361-363
- 34 Elsharkawy AM, Mann DA. Nuclear factor-kappaB and the hepatic inflammation-fibrosis-cancer axis. *Hepatology* 2007; 46: 590-597 [PMID: 17661407]
- 35 Faouzi S, Burckhardt BE, Hanson JC, Campe CB, Schrum LW, Rippe RA, Maher JJ. Anti-Fas induces hepatic chemokines and promotes inflammation by an NF-kappa B-independent, caspase-3-dependent pathway. *J Biol Chem* 2001; 276: 49077-49082 [PMID: 11602613]
- 36 Mann DA, Smart DE. Transcriptional regulation of hepatic stellate cell activation. *Gut* 2002; 50: 891-896 [PMID: 12010897]
- 37 Lang A, Schoonhoven R, Tuvia S, Brenner DA, Rippe RA. Nuclear factor kappaB in proliferation, activation, and apoptosis in rat hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2000; 33: 49-58 [PMID: 10905586]
- 38 Oakley F, Meso M, Iredale JP, Green K, Marek CJ, Zhou X, May MJ, Millward-Sadler H, Wright MC, Mann DA. Inhibition of inhibitor of kappaB kinases stimulates hepatic stellate cell apoptosis and accelerated recovery from rat liver fibrosis. *Gastroenterology* 2005; 128: 108-120 [PMID: 15633128]
- 39 Chen Y, Decker KF, Zheng D, Matkovich SJ, Jia L, Dorn GW. A nucleus-targeted alternately spliced Nix/Bnip3L protein isoform modifies nuclear factor  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B)-mediated cardiac transcription. *J Biol Chem* 2013; 288: 15455-15465 [PMID: 23603904 DOI: 10.1074/jbc.M113.452342]
- 40 Basak S, Kim H, Kearns JD, Tergaonkar V, O'Dea E, Werner SL, Benedict CA, Ware CF, Ghosh G,

## 应用要点

由于HSC的活化是受多因素共同调节的, 本文较全面的阐述了Notch与HSC活化的关系, 有助于肝纤维化研究者更好的分析实验数据、解释实验现象及把握实验方向。

## ■同行评价

本文呈现的内容以及作者的某些观点对于相关领域的研究者具有一定指导意义。

- Verma IM, Hoffmann A. A fourth IkappaB protein within the NF-kappaB signaling module. *Cell* 2007; 128: 369-381 [PMID: 17254973]
- 41 Oakley F, Mann J, Ruddell RG, Pickford J, Weinmaster G, Mann DA. Basal expression of IkappaBalpha is controlled by the mammalian transcriptional repressor RBP-J (CBF1) and its activator Notch1. *J Biol Chem* 2003; 278: 24359-24370 [PMID: 12700242]
  - 42 Ang HL, Tergaonkar V. Notch and NFkappaB signaling pathways: Do they collaborate in normal vertebrate brain development and function? *Bioessays* 2007; 29: 1039-1047 [PMID: 17876798]
  - 43 Espinosa L, Inglés-Esteve J, Robert-Moreno A, Bigas A. IkappaBalpha and p65 regulate the cytoplasmic shuttling of nuclear corepressors: cross-talk between Notch and NFkappaB pathways. *Mol Biol Cell* 2003; 14: 491-502 [PMID: 12589049]
  - 44 Nieto N. Ethanol and fish oil induce NFkappaB transactivation of the collagen alpha2(I) promoter through lipid peroxidation-driven activation of the PKC-PI3K-Akt pathway. *Hepatology* 2007; 45: 1433-1445 [PMID: 17538965]
  - 45 Rashid ST, Humphries JD, Byron A, Dhar A, Askari JA, Selley JN, Knight D, Goldin RD, Thursz M, Humphries MJ. Proteomic analysis of extracellular matrix from the hepatic stellate cell line LX-2 identifies CYR61 and Wnt-5a as novel constituents of fibrotic liver. *J Proteome Res* 2012; 11: 4052-4064 [PMID: 22694338 DOI: 10.1021/pr3000927]
  - 46 万赞燕, 胡国信. Wnt信号转导通路与肝纤维化关系的研究现状. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1761-1766
  - 47 Shafiei MS, Shetty S, Scherer PE, Rockey DC. Adiponectin regulation of stellate cell activation via PPARgamma-dependent and -independent mechanisms. *Am J Pathol* 2011; 178: 2690-2699 [PMID: 21641391 DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.02.035]
  - 48 Cheng JH, She H, Han YP, Wang J, Xiong S, Asahina K, Tsukamoto H. Wnt antagonism inhibits hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G39-G49 [PMID: 18006602]
  - 49 Mann J, Chu DC, Maxwell A, Oakley F, Zhu NL, Tsukamoto H, Mann DA. MeCP2 controls an epigenetic pathway that promotes myofibroblast transdifferentiation and fibrosis. *Gastroenterology* 2010; 138: 705-714, 714. e1-e4 [PMID: 19843474 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.10.002]
  - 50 Okamura M, Kudo H, Wakabayashi K, Tanaka T, Nonaka A, Uchida A, Tsutsumi S, Sakakibara I, Naito M, Osborne TF, Hamakubo T, Ito S, Aburatani H, Yanagisawa M, Kodama T, Sakai J. COUP-TFII acts downstream of Wnt/beta-catenin signal to silence PPARgamma gene expression and repress adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 5819-5824 [PMID: 19307559 DOI: 10.1073/pnas.0901676106]
  - 51 Mödder UI, Oursler MJ, Khosla S, Monroe DG. Wnt10b activates the Wnt, notch, and NFkB pathways in U2OS osteosarcoma cells. *J Cell Biochem* 2011; 112: 1392-1402 [PMID: 21321991 DOI: 10.1002/jcb.23048]
  - 52 Kim HA, Koo BK, Cho JH, Kim YY, Seong J, Chang HJ, Oh YM, Stange DE, Park JG, Hwang D, Kong YY. Notch1 counteracts WNT/beta-catenin signaling through chromatin modification in colorectal cancer. *J Clin Invest* 2012; 122: 3248-3259 [PMID: 22863622 DOI: 10.1172/JCI61216]
  - 53 Horvay K, Abud HE. Regulation of intestinal stem cells by Wnt and Notch signalling. *Adv Exp Med Biol* 2013; 786: 175-186 [PMID: 23696357 DOI: 10.1007/978-94-007-6621-1\_10]
  - 54 Li A, Chan B, Felix JC, Xing Y, Li M, Brody SL, Borok Z, Li C, Minoo P. Tissue-dependent consequences of Apc inactivation on proliferation and differentiation of ciliated cell progenitors via Wnt and notch signaling. *PLoS One* 2013; 8: e62215 [PMID: 23646120 DOI: 10.1371/journal.pone.0062215]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 卡马西平保护小鼠肝脏缺血再灌注损伤

雷延昌, 罗盼, 李雯

雷延昌, 罗盼, 李雯, 南昌大学附属感染病医院 江西省南昌市 330006

雷延昌, 主任医师, 主要从事病毒性肝炎肝衰竭的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81160065

作者贡献分布: 课题设计由雷延昌主持; 研究过程由罗盼与李雯实施; 论文写作由雷延昌完成.

通讯作者: 雷延昌, 主任医师, 330006, 江西省南昌市洪都中大道167号, 南昌大学附属感染病医院. ycleihust@sina.com  
电话: 0791-88499615

收稿日期: 2013-10-30 修回日期: 2013-11-17

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-11-28

## Carbamazepine protects the liver against ischemia/reperfusion injury in mice

Yan-Chang Lei, Pan Luo, Wen Li

Yan-Chang Lei, Pan Luo, Wen Li, Infectious Diseases Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160065

Correspondence to: Yan-Chang Lei, Chief Physician, Infectious Diseases Hospital, Nanchang University, 167 Hongdu Middle Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. ycleihust@sina.com

Received: 2013-10-30 Revised: 2013-11-17

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To explore the effects of carbamazepine (CBZ) on hepatic ischemia/reperfusion (I/R) injury in mice.

**METHODS:** Hepatic ischemia in male Balb/c mice was induced by occluding the portal triad for 1 h, and reperfusion was initiated by removing a microvascular clamp. Mice were randomly assigned to three groups ( $n = 6$  for each group): I/R group as control, CBZ treatment group, and CBZ plus chloroquine (CQ) group. Serum ALT/AST levels at different time points were measured using biochemical methods. Hepatic morphological changes at 6 h after I/R were assessed by HE staining, and hepatocyte high mobility group box 1 (HMGB1) cytoplasmic translocation was detected by immunohistochemistry. Expression of Caspase3, Atg7, Beclin-1 and light chain 3 II (LC3 II) in liver tissue was analyzed by Western blot.

**RESULTS:** CBZ blocked the depletion of Atg7 and Beclin-1 and LC3II expression after reperfusion. CBZ treatment decreased ALT/AST levels significantly 2, 6 and 12 h after I/R compared with the I/R group (all  $P < 0.01$ ). Expression of Caspase3 in liver tissue and hepatocyte HMGB1 cytoplasmic translocation at 6 h after I/R were also decreased significantly in the CBZ group (both  $P < 0.01$ ). CQ antagonized the effect of CBZ in decreasing ALT/AST levels, Caspase3 expression and hepatocyte HMGB1 cytoplasmic translocation.

**CONCLUSION:** CBZ protects the liver against I/R injury in mice.

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

**Key Word:** Carbamazepine; Ischemia/reperfusion; Autophagy; High mobility group protein cytoplasmic translocation

Lei YC, Luo P, Li W. Carbamazepine protects the liver against ischemia/reperfusion injury in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3617-3622 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3617.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3617>

## 摘要

**目的:** 了解卡马西平对肝脏缺血再灌注的保护作用.

**方法:** 动脉夹阻断肝脏血流1 h释放形成再灌注建立小鼠肝脏缺血再灌注模型. 6-8周龄♂ Balb/c随机分为缺血再灌注组(对照组)、卡马西平组、卡马西平+氯喹组, 每组6只. 生化检测各组缺血再灌注不同时间点血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)水平. HE染色观察肝脏形态学变化, 免疫组织化学分析肝脏高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)表达, 免疫印迹检测Caspase3、Atg7、Beclin-1和微管相关蛋白1轻链3 II (light chain 3 II, LC3 II)表达.

## ■背景资料

自噬是细胞依赖溶酶体清除处理过剩或失去功能胞浆蛋白和细胞器的过程, 对肝脏缺血再灌注损伤具有保护作用. 最近发现, 卡马西平促进肝细胞自噬治疗 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶缺乏肝纤维化, 对肝脏缺血再灌注保护作用不清楚.

## ■同行评议者

李胜, 研究员, 山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

## ■ 研发前沿

相关研究表明,自噬保护肝脏缺血再灌注损伤,基因治疗和雷帕霉素促进自噬面临安全性、免疫抑制和高脂血症等不良反应。寻找临床不良反应较小的促自噬药物对治疗缺血再灌注具有重要意义。

**结果:**卡马西平阻止缺血再灌注小鼠肝脏LC3 II和自噬相关基因*Atg7*与*Beclin-1*的表达下降。卡马西平组缺血再灌注后2、6和12 h血清ALT/AST水平显著低于缺血再灌注组( $P<0.01$ )。卡马西平降低缺血再灌注6 h肝细胞Caspase3表达和HMGB1胞浆移位。抑制自噬的药物氯喹具有对抗卡马西平降低Caspase3表达、HMGB1胞浆移位和血清ALT/AST水平的效应。

**结论:**卡马西平通过促进肝细胞自噬保护肝脏缺血后再灌注损伤。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**卡马西平;缺血再灌注;自噬;高迁移率族蛋白B1胞浆移位

**核心提示:**本研究发现卡马西平增加缺血再灌注小鼠肝细胞自噬,降低血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase)/谷草转氨酶(aspartate transaminase)水平、Caspase3表达和高迁移率族蛋白B1(high mobility group box B1)胞浆移位。氯喹抑制自噬对抗卡马西平的上述效应。表明卡马西平促进肝细胞自噬保护缺血再灌注损伤,具有重要临床应用价值。

雷延昌, 罗盼, 李雯. 卡马西平保护小鼠肝脏缺血再灌注损伤. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3617-3622 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3617.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3617>

## 0 引言

自噬是细胞依赖溶酶体及时清除或处理过剩的或失去功能的胞浆蛋白或细胞器的过程。自噬是主要的肝脏蛋白分解代谢方式,对肝脏缺血再灌注损伤具有保护作用。研究显示,上调自噬相关基因表达降低缺血再灌注损伤线粒体通透性增加,从而减轻其功能障碍<sup>[1,2]</sup>。因此,促进自噬对肝脏缺血再灌注损伤具有潜在的治疗价值。然而,目前通过基因和药物增加自噬面临一些问题。基因治疗存在安全性、治疗效率、免疫反应、致突变和伦理方面问题<sup>[3]</sup>。在药物方面,雷帕霉素及其类似物有效促进自噬,但存在免疫抑制和高脂血症等严重不良反应<sup>[4,5]</sup>。最近发现,抗惊厥药物卡马西平降低细胞内肌醇水平促进自噬<sup>[6]</sup>。并且发现,卡马西平用于治疗 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶( $\alpha 1$ -antitrypsin,  $\alpha 1$ -AT)缺乏肝纤维化,其作用机制是通过自噬降解突变的Z蛋白<sup>[7,8]</sup>。为了解卡马西平对肝脏缺血再灌注损伤的作用,进行本研究。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 6-8周龄♂ Balb/c小鼠,体质量20 g $\pm$ 0.5 g,由南昌大学医学院动物实验中心提供(动物质量合格证编号:2013091206),动物饲养和处理严格按照美国国立卫生研究院实验动物饲养和使用指南。主要试剂:卡马西平(Carbamazepine, CBZ)和氯喹(Chloroquine, CQ)标准品购自中国生物制品检定所;兔抗鼠高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)(ABGENT公司,美国);兔抗鼠Caspase3(Scant Cruz公司,美国);兔抗鼠Atg7、Beclin-1和LC3 II(Cell signaling公司,美国)。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物模型及分组:**Balb/c小鼠♂实验前12 h禁食,不禁水。将体质量和周龄相同的动物随机分为3组:缺血再灌注组(对照组)、卡马西平组、卡马西平+氯喹组,每组6只。肝脏缺血再灌注模型参照文献<sup>[1]</sup>进行,采用动脉夹阻断肝脏血流1 h后释放形成再灌注。小鼠乙醚麻醉下打开胸腔,动脉夹住肝门1 h,释放动脉夹血流再灌注,无菌手术缝合腹部切口,敷料包扎。卡马西平组肝脏缺血再灌注前12 h给予卡马西平25 mg/kg腹腔注射,卡马西平+氯喹组,分别于缺血再灌注前12 h和6 h给予卡马西平(25 mg/kg)和磷酸氯喹(60 mg/kg)腹腔注射,肝脏缺血再灌注组给予等量PBS腹腔注射<sup>[9,10]</sup>。

**1.2.2 标本收集:**肝脏缺血前、缺血1 h,再灌注后2、6、12、24、48 h动物乙醚麻醉眼眶采血50  $\mu$ L,分离血清置于-80  $^{\circ}$ C保存。分别在肝脏缺血1 h和再灌注后6 h处死部分动物,肝组织-80  $^{\circ}$ C冻存用于免疫印迹检测,40 g/L的中性甲醛固定肝组织,进行HE染色和免疫组织化学检测HMGB1表达。

**1.2.3 血清生化检测:**全自动生化分析仪检测丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)按照生产厂家说明书进行,根据标准曲线计算结果。

**1.2.4 免疫印迹及其分析:**取0.5 g肝组织研磨后加入1 mL含蛋白酶抑制剂混合物的双蒸水混匀-80  $^{\circ}$ C保存,取10  $\mu$ L样品加入90  $\mu$ L RIPA高效裂解液(碧云天,中国)充分裂解,6000 g离心30 s,加入50  $\mu$ L上样缓冲液,聚丙烯酰胺凝胶电泳后转移至硝酸纤维素膜上,10%的BSA在4  $^{\circ}$ C封闭过夜,一抗37  $^{\circ}$ C孵育2 h,1:10000辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG抗体37  $^{\circ}$ C孵育0.5 h,化学发光法检测结果。

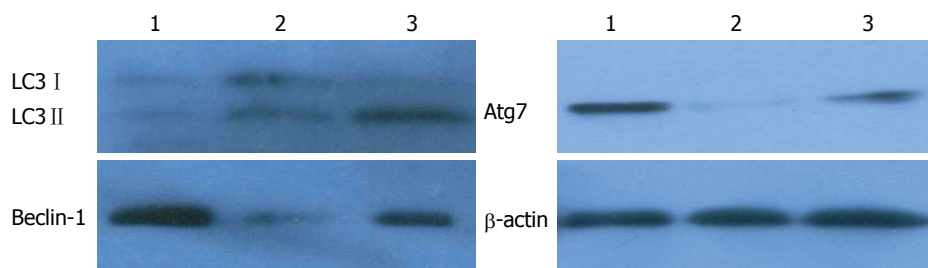


图1 免疫印迹检测卡马西平对肝脏缺血再灌注小鼠肝脏自噬相关基因Atg7和Beclin-1表达及对肝细胞自噬的影响. 1: 缺血1 h; 2: 缺血1 h后再灌注6 h; 3: 卡马西平25 mg/kg腹腔注射12 h, 缺血1 h后再灌注6 h. LC3: 微管相关蛋白1轻链3.

#### ■ 相关报道

自噬保护肝脏缺血再灌注损伤, 促进自噬减轻脂肪性肝炎和肝癌发生, HBC和HCV促进肝细胞自噬利于其生存. 最近发现, 卡马西平促进肝细胞自噬治疗 $\alpha$ 1-抗胰蛋白酶缺乏肝纤维化.

**统计学处理** 所有数据用SPSS18.0软件作统计学分析, 数据资料以mean $\pm$ SD表示, 两组均数之间的比较应用 $t$ 检验, 两组样本率的比较采用 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 卡马西平对缺血再灌注小鼠肝细胞自噬相关基因Atg7和Beclin-1表达的影响** 免疫印迹检测自噬特异性LC3 II表达显示, LC3 II在缺血期无明显表达, 而在再灌注6 h时LC3 II表达增加, 卡马西平促进肝脏缺血再灌注肝细胞LC3 II表达水平, 促进自噬(图1). 为进一步了解卡马西平对肝脏缺血再灌注肝细胞自噬的作用, 免疫印迹检测自噬相关蛋白Atg7和Beclin-1表达显示, 卡马西平同样可以增加肝脏缺血再灌注肝细胞自噬相关蛋白的表达(图1). 表明卡马西平增加肝脏缺血再灌注肝细胞自噬.

**2.2 卡马西平对肝脏缺血再灌注小鼠血清ALT/AST水平和肝脏Caspase3表达的影响** 生化检测血清ALT水平可了解患者和小鼠肝细胞损伤的程度. 肝脏缺血再灌注小鼠血清ALT水平在缺血1 h开始升高, 再灌注6 h达到峰值, 在12和24 h逐渐降低, 48 h恢复至正常水平. 卡马西平治疗降低血清ALT/AST水平, 其中再灌注2、6和12 h的ALT/AST水平与对照组差异有显著性( $P<0.01$ , 图2A, B). 表明, 卡马西平对肝脏缺血再灌注损伤具有保护作用. 在本实验条件下, 肝脏缺血再灌注6 h肝组织HE染色未发现肝细胞坏死. 为进一步了解卡马西平对肝脏缺血再灌注肝细胞保护作用, 免疫印迹检测肝细胞凋亡相关蛋白Caspase3的表达显示, 肝脏缺血再灌注6 h肝组织Caspase3的表达升高, 而卡马西平治疗组肝组织Caspase3的表达显著降低(图2C). 表明, 卡马西平具有保护缺血再灌注肝细胞凋亡的作用. 为了解卡马西平肝损伤保护作用与自噬的关系, 缺血再灌注前给予氯喹抑制自噬, 发现卡马西

平降低小鼠血清ALT、AST水平和肝脏缺血再灌注6 h肝组织Caspase3表达的作用消失(图2), 肝细胞损伤和凋亡有所增加. 提示卡马西平对肝脏缺血再灌注损伤的保护作用依赖于促进肝细胞自噬效应.

**2.3 卡马西平降低肝脏缺血再灌注小鼠肝细胞HMGB1胞浆移位的影响** 肝脏缺血再灌注6 h肝组织HE染色未发现肝细胞坏死(图3A, B), 但已经出现肝细胞凋亡. 免疫组织化学检测肝细胞HMGB1表达发现, 缺血再灌注6 h后接近三分之一肝细胞胞浆表达HMGB1, 发生HMGB1肝细胞胞浆移位, 而卡马西平治疗组HMGB1在肝细胞胞浆几乎无表达(图3C, D). 氯喹预处理抑制自噬抵消卡马西平抑制肝细胞HMGB1胞浆移位(图3E). 图像分析显示, 卡马西平组肝细胞HMGB1胞浆移位率显著低于对照组和卡马西平+氯喹组, 差异有显著性( $P<0.01$ , 图3F).

## 3 讨论

肝脏移植、手术、休克和心力衰竭等因素均可导致肝脏缺氧, 有氧代谢障碍、ATP减少和酸中毒, 再灌注恢复正常氧和营养物质浓度, 肝脏损伤加重, 发生缺血后再灌注损伤. 肝脏和其他一些组织在血流再灌注时线粒体通透性增加, 导致氧化磷酸化解偶联, 线粒体功能障碍和细胞死亡<sup>[1]</sup>. 然而, 目前对缺血再灌注的线粒体功能障碍缺乏有效的治疗方法.

研究显示, 自噬在生理病理情况下都具有重要作用. 在生理情况下, 自噬主要为细胞提供营养. 在应激情况下, 如缺血再灌注、酒精和对乙酰氨基酚肝损伤和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激等, 自噬成为适应这些应激的一种反应<sup>[12,9,11,12]</sup>. 本研究显示, 卡马西平提高缺血再灌注肝脏自噬水平, 降低ALT/AST水平和肝细胞凋亡, 并减轻肝细胞HMGB1胞浆移位, 从而保护缺血再灌注肝损伤, 具有潜在的治疗应用价值.



## ■ 创新盘点

本研究发现, 临床不良反应较小的卡马西平增加缺血再灌小鼠肝脏自噬, 降低血清ALT/AST、抑制肝细胞凋亡和HMGB1胞浆移位。

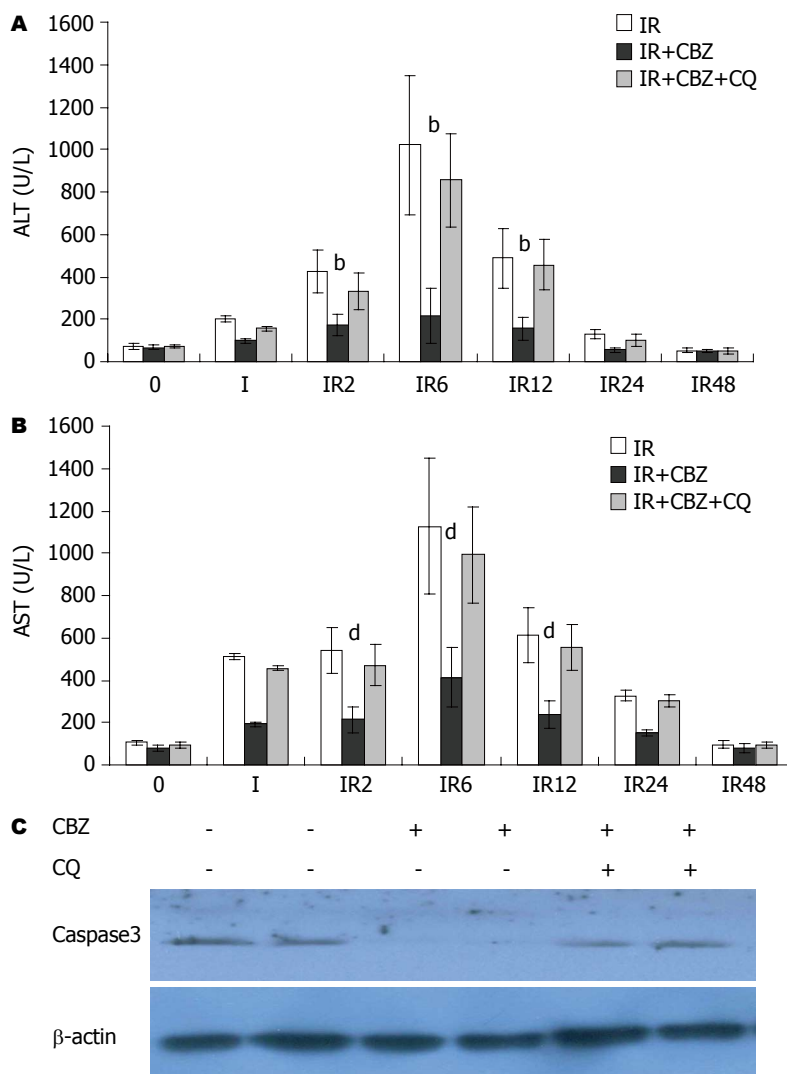


图2 卡马西平对肝脏缺血再灌注小鼠血清ALT/AST水平和肝脏Caspase3表达的影响。A: 卡马西平降低肝脏缺血再灌注小鼠血清ALT水平。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组。B: 卡马西平降低肝脏缺血再灌注小鼠血清AST水平。<sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 对照组。C: 卡马西平治疗肝脏缺血再灌注6 h肝脏Caspase3表达。I: 缺血1 h, IR2、6、12、24和48 h: 缺血再灌注2、6、12、24和48 h; CQ: 氯喹; CBZ: 卡马西平; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天门冬氨酸氨基转移酶。

最近在研究 $\alpha 1$ -AT肝纤维化的研究中发现, 抗惊厥药物卡马西平促进肝细胞自噬, 其机制是通过降低细胞内肌醇水平<sup>[6-8]</sup>。本研究显示, 卡马西平25 mg/kg腹腔注射, 增加缺血再灌注6 h小鼠肝脏LC3 II表达水平, 促进肝细胞自噬。与之相一致, 卡马西平增加自噬相关蛋白Atg7和Beclin-1表达。研究显示, 自噬相关蛋白Atg7和Beclin-1在肝损伤保护中具有重要作用, Atg7基因敲除小鼠肝脏出现异常线粒体聚集, 而Beclin-1缺失加重肝脏缺血再灌注损伤<sup>[13-15]</sup>。卡马西平增加Atg7和Beclin-1表达进一步显示其自噬依赖的肝脏保护作用。

在本研究实验条件下, 小鼠肝脏缺血再灌注2 h后ALT/AST水平明显升高, 再灌注6 h达到峰值, 12 h仍维持在较高水平, 与国内外的研究一致<sup>[16-19]</sup>。卡马西平治疗降低再灌注2、6和12 h的ALT/AST水平。然而, 缺血再灌注6 h肝组织HE染色并未发现肝细胞坏死, 但免疫印迹检测发现, 卡马西平降低缺血再灌注6 h肝脏Caspase3表达, 提

示卡马西平通过抑制肝细胞凋亡保护缺血再灌注肝损伤。

近年来发现, HMGB1在肝脏缺血后再灌注损伤发挥重要作用<sup>[20]</sup>。正常情况下, HMGB1主要存在于胞核, 肝细胞坏死被动释放HMGB1, 炎症如LPS, 肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和缺氧等刺激肝细胞主动释放HMGB1, 从胞核至胞浆后释放, 放大炎症反应及其损伤<sup>[20-23]</sup>。因此, 检测HMGB1肝细胞胞浆移位可以间接早期了解肝脏受损情况。研究显示, 急性肝衰竭患者和小鼠模型早期出现血清HMGB1升高和大量肝细胞HMGB1胞浆移位<sup>[11,24-26]</sup>。因此, 检测肝细胞HMGB1胞浆移位可以间接早期了解肝脏受损情况。然而HMGB1胞浆移位肝脏缺血再灌注中的作用尚不清楚。本研究发现, 肝脏缺血再灌注6 h后虽然肝组织未出现肝细胞坏死, 但已出现Caspase3表达提示肝细胞凋亡, 同时出现大量肝细胞HMGB1胞浆移位, 而卡马西平治疗可显著减少HMGB1胞浆移位肝细胞数量。进

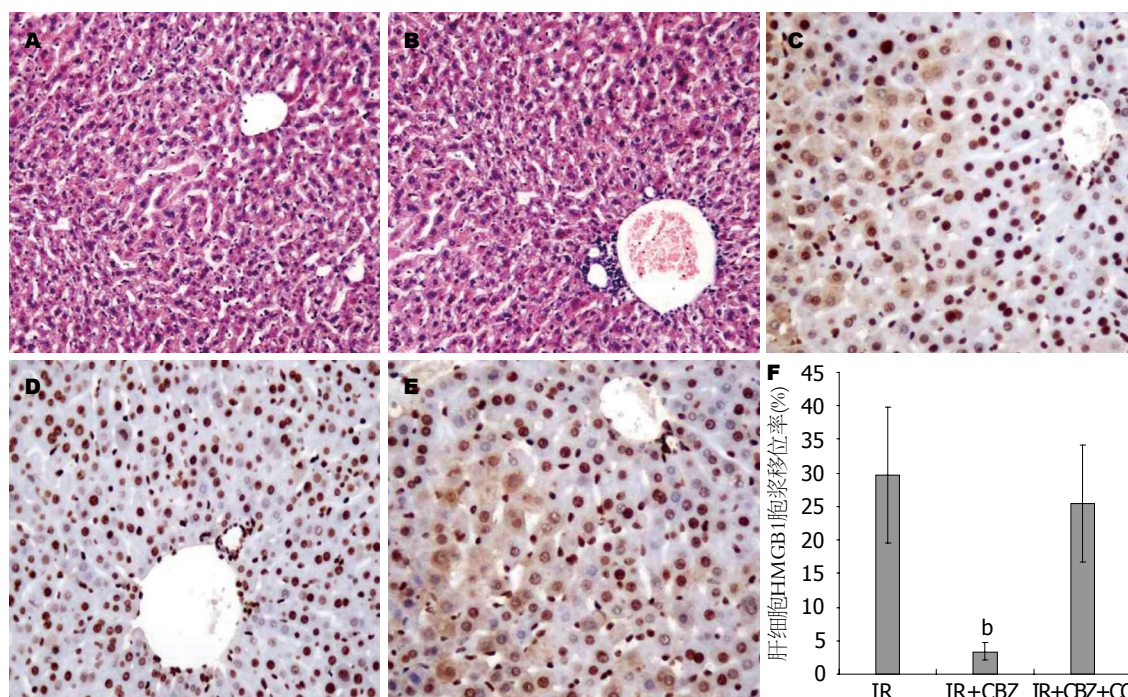


图3 卡马西平对缺血再灌注小鼠肝细胞HMGB1胞浆移位的影响( $\times 200$ )。A: 对照组小鼠肝脏缺血再灌注6 h肝组织HE染色; B: 卡马西平治疗组小鼠肝脏缺血再灌注6 h肝组织HE染色; C: 对照组小鼠肝脏缺血再灌注6 h肝脏出现较多HMGB1肝细胞胞浆表达, 发生HMGB1胞浆移位; D: 卡马西平治疗组小鼠肝脏缺血再灌注6 h肝脏HMGB1表达, 仅有少量肝细胞HMGB1胞浆移位; E: 卡马西平+氯喹组小鼠肝脏缺血再灌注6 h肝细胞HMGB1表达; F: 对照组、卡马西平组和卡马西平+氯喹组肝细胞HMGB1胞浆移位率。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组。IR: 缺血再灌注; CQ: 氯喹; CBZ: 卡马西平; HMGB1: 高迁移率蛋白B1。

#### 应用要点

本实验研究发现卡马西平通过促进自噬保护肝脏缺血再灌注损伤, 值得进一步临床研究了解应用价值。

一步表明卡马西平对肝脏缺血再灌注保护作用。

已知, 氯喹是目前公认的已知自噬药物<sup>[27,28]</sup>, 为了解卡马西平肝损伤保护作用与自噬的关系, 缺血再灌注前给予氯喹阻断自噬, 发现卡马西平降低小鼠血清ALT/AST水平、Caspase3表达和肝细胞HMGB1胞浆移位的作用消失, 肝细胞损伤增加。提示卡马西平对肝脏缺血再灌注损伤的保护作用依赖于促进肝细胞自噬效应。最近研究发现, 促进肝细胞自噬可以保护对乙酰氨基酚、D-氨基半乳糖(D-galactosamine, D-GaIN)/LPS以及酒精对小鼠的肝细胞毒性, 抑制肝细胞自噬增加TNF- $\alpha$ 和D-GaIN诱导的肝细胞凋亡及损伤<sup>[9,29-31]</sup>。本研究发现卡马西平增加肝细胞自噬是保护缺血再灌注肝损伤的机制之一。

本研究发现, 卡马西平降低肝脏缺血再灌注小鼠血清ALT/AST水平、Caspase3表达和肝细胞HMGB1胞浆移位, 自噬抑制剂氯喹使卡马西平的上述作用消失。表明, 卡马西平具有依赖自噬保护缺血再灌注肝损伤作用。该结果为卡马西平保护肝脏缺血再灌注损伤提供了新的理论基础, 具有重要的理论和应用价值, 应用卡马西平治疗缺血再灌注肝损伤值得进一步实验和临床研究。

#### 参考文献

- Kim JS, Nitta T, Mohuczy D, O'Malley KA, Moldawer LL, Dunn WA, Behrns KE. Impaired autophagy: A mechanism of mitochondrial dysfunction in anoxic rat hepatocytes. *Hepatology* 2008; 47: 1725-1736 [PMID: 18311843 DOI: 10.1002/hep.22187]
- Wang JH, Ahn IS, Fischer TD, Byeon JI, Dunn WA, Behrns KE, Leeuwenburgh C, Kim JS. Autophagy suppresses age-dependent ischemia and reperfusion injury in livers of mice. *Gastroenterology* 2011; 141: 2188-2199. e6 [PMID: 21854730 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.08.005]
- Verma IM, Somia N. Gene therapy -- promises, problems and prospects. *Nature* 1997; 389: 239-242 [PMID: 9305836 DOI: 10.1038/38410]
- Brattström C, Wilczek H, Tydén G, Böttiger Y, Säwe J, Groth CG. Hyperlipidemia in renal transplant recipients treated with sirolimus (rapamycin). *Transplantation* 1998; 65: 1272-1274 [PMID: 9603181 DOI: 10.1097/00007890-199805150-00023]
- Hartford CM, Ratain MJ. Rapamycin: something old, something new, sometimes borrowed and now renewed. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 82: 381-388 [PMID: 17728765 DOI: 10.1038/sj.clpt.6100317]
- Williams A, Sarkar S, Cuddon P, Tfofi EK, Saiki S, Siddiqi FH, Jahreis L, Fleming A, Pask D, Goldsmith P, O'Kane CJ, Floto RA, Rubinsztein DC. Novel targets for Huntington's disease in an mTOR-independent autophagy pathway. *Nat Chem Biol* 2008; 4: 295-305 [PMID: 18391949 DOI: 10.1038/nchembio.79]
- Hidvegi T, Ewing M, Hale P, Dippold C, Beckett

## ■同行评价

本文具有一定的基础和临床应用价值。

- 8 Puls F, Goldschmidt I, Bantel H, Agne C, Bröcker V, Dämmrich M, Lehmann U, Berrang J, Pfister ED, Kreipe HH, Baumann U. Autophagy-enhancing drug carbamazepine diminishes hepatocellular death in fibrinogen storage disease. *J Hepatol* 2013; 59: 626-630 [PMID: 23707368 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.05.018]
- 9 Ni HM, Bockus A, Boggess N, Jaeschke H, Ding WX. Activation of autophagy protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Hepatology* 2012; 55: 222-232 [PMID: 21932416 DOI: 10.1002/hep.24690]
- 10 Kawaguchi T, Kodama T, Hikita H, Tanaka S, Shigekawa M, Nawa T, Shimizu S, Li W, Miyagi T, Hiramatsu N, Tatsumi T, Takehara T. Carbamazepine promotes liver regeneration and survival in mice. *J Hepatol* 2013 Jul 18. [Epub ahead of print] [PMID: 23872603 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.07.018]
- 11 Ding WX, Li M, Chen X, Ni HM, Lin CW, Gao W, Lu B, Stolz DB, Clemens DL, Yin XM. Autophagy reduces acute ethanol-induced hepatotoxicity and steatosis in mice. *Gastroenterology* 2010; 139: 1740-1752 [PMID: 20659474 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.07.041]
- 12 Czaja MJ, Ding WX, Donohue TM, Friedman SL, Kim JS, Komatsu M, Lemasters JJ, Lemoine A, Lin JD, Ou JH, Perlmutter DH, Randall G, Ray RB, Tsung A, Yin XM. Functions of autophagy in normal and diseased liver. *Autophagy* 2013; 9: 1131-1158 [PMID: 23774882 DOI: 10.4161/auto.25063]
- 13 Komatsu M, Waguri S, Ueno T, Iwata J, Murata S, Tanida I, Ezaki J, Mizushima N, Ohsumi Y, Uchiyama Y, Kominami E, Tanaka K, Chiba T. Impairment of starvation-induced and constitutive autophagy in Atg7-deficient mice. *J Cell Biol* 2005; 169: 425-434 [PMID: 15866887 DOI: 10.1083/jcb.200412022]
- 14 Pickford F, Masliah E, Britschgi M, Lucin K, Narasimhan R, Jaeger PA, Small S, Spencer B, Rockenstein E, Levine B, Wyss-Coray T. The autophagy-related protein beclin 1 shows reduced expression in early Alzheimer disease and regulates amyloid beta accumulation in mice. *J Clin Invest* 2008; 118: 2190-2199 [PMID: 18497889 DOI: 10.1172/JCI33585]
- 15 Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, Hibshoosh H, Levine B. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature* 1999; 402: 672-676 [PMID: 10604474 DOI: 10.1038/45257]
- 16 向进见, 田夫, 李文岗, 李明忠, 蒋雪峰, 程本静. 姜黄素对大鼠肝缺血再灌注早期肝组织一氧化氮表达的影响. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 987-992
- 17 黄汉飞, 宋飞, 张玉君, 喻智勇, 段键, 徐王刚, 陈明清, 曾仲. 缺血后处理在大鼠肝移植缺血再灌注损伤中的作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3627-3631
- 18 Stewart RK, Dangi A, Huang C, Murase N, Kimura S, Stolz DB, Wilson GC, Lentsch AB, Gandhi CR. A novel mouse model of depletion of stellate cells clarifies their role in ischemia/reperfusion- and endotoxin-induced acute liver injury. *J Hepatol* 2013; Sep 20. [Epub ahead of print] [PMID: 24060854 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.09.013]
- 19 Hou J, Xia Y, Jiang R, Chen D, Xu J, Deng L, Huang X, Wang X, Sun B. PTIPRO plays a dual role in hepatic ischemia reperfusion injury through feedback activation of NF- $\kappa$ B. *J Hepatol* 2013 Oct 12. [Epub ahead of print] [PMID: 24128416 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.09.028]
- 20 Tsung A, Sahai R, Tanaka H, Nakao A, Fink MP, Lotze MT, Yang H, Li J, Tracey KJ, Geller DA, Billiar TR. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 2005; 201: 1135-1143 [PMID: 15795240 DOI: 10.1084/jem.20042614]
- 21 Zhou RR, Zhao SS, Zou MX, Zhang P, Zhang BX, Dai XH, Li N, Liu HB, Wang H, Fan XG. HMGB1 cytoplasmic translocation in patients with acute liver failure. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 21 [PMID: 21406085 DOI: 10.1186/1471-230X-11-21]
- 22 Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakat JM, Ombrellino M, Che J, Frazier A, Yang H, Ivanova S, Borovikova L, Manogue KR, Faist E, Abraham E, Andersson J, Andersson U, Molina PE, Abumrad NN, Sama A, Tracey KJ. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 1999; 285: 248-251 [PMID: 10398600 DOI: 10.1126/science.285.5425.248]
- 23 Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 2002; 418: 191-195 [PMID: 12110890]
- 24 Li X, Wang LK, Wang LW, Han XQ, Yang F, Gong ZJ. Cisplatin Protects against Acute Liver Failure by Inhibiting Nuclear HMGB1 Release. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 11224-11237 [PMID: 23712360 DOI: 10.3390/ijms140611224]
- 25 易珍, 孙水林, 刘翠云, 雷延昌. 同种异体骨髓间充质干细胞对急性肝衰竭HMGB1的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1396-1401
- 26 雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群. 骨髓间充质干细胞分泌因子抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 2009-2015
- 27 Ni HM, Jaeschke H, Ding WX. Targeting autophagy for drug-induced hepatotoxicity. *Autophagy* 2012; 8: 709-710 [PMID: 22441014 DOI: 10.4161/auto.19659]
- 28 Fang H, Liu A, Dahmen U, Dirsch O. Dual role of chloroquine in liver ischemia reperfusion injury: reduction of liver damage in early phase, but aggravation in late phase. *Cell Death Dis* 2013; 4: e694 [PMID: 23807223 DOI: 10.1038/cddis.2013.225]
- 29 Lin CW, Zhang H, Li M, Xiong X, Chen X, Chen X, Dong XC, Yin XM. Pharmacological promotion of autophagy alleviates steatosis and injury in alcoholic and non-alcoholic fatty liver conditions in mice. *J Hepatol* 2013; 58: 993-999 [PMID: 23339953 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.01.011]
- 30 Amir M, Zhao E, Fontana L, Rosenberg H, Tanaka K, Gao G, Czaja MJ. Inhibition of hepatocyte autophagy increases tumor necrosis factor-dependent liver injury by promoting caspase-8 activation. *Cell Death Differ* 2013; 20: 878-887 [PMID: 23519075 DOI: 10.1038/cdd.2013.21]
- 31 Ding WX. Induction of autophagy, a promising approach for treating liver injury. *Hepatology* 2013 Jun 14. [Epub ahead of print] [PMID: 23775596 DOI: 10.1002/hep.26572]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# SDF-1 $\alpha$ /CXCR4轴促进间充质干细胞归巢于实验性结肠炎受损结肠

刘星星, 范恒, 段雪云, 唐庆, 寿折星, 左冬梅, 张丽娟, 曹丹, 邹舟

刘星星, 范恒, 唐庆, 寿折星, 左冬梅, 张丽娟, 曹丹, 邹舟, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022

段雪云, 湖北中医药大学附属医院药剂科 湖北省武汉市 430061

刘星星, 2011级华中科技大学同济医学院在读博士, 主要从事消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81273906

作者贡献分布: 此课题由范恒设计; 实验过程由刘星星、段雪云、寿折星、左冬梅、张丽娟、曹丹及邹舟操作完成; 范恒与唐庆指导; 数据分析由刘星星完成; 本论文写作由刘星星与范恒完成。

通讯作者: 范恒, 教授, 主任医师, 博士生导师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. fanheng009@aliyun.com

电话: 027-85726395 传真: 027-85726395

收稿日期: 2013-07-21 修回日期: 2013-10-25

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-11-28

## SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 axis facilitates BMSCs homing toward injured colon in rats with experimental colitis

Xing-Xing Liu, Heng Fan, Xue-Yun Duan, Qing Tang, Zhe-Xing Shou, Dong-Mei Zuo, Li-Juan Zhang, Dan Cao, Zhou Zou

Xing-Xing Liu, Heng Fan, Qing Tang, Zhe-Xing Shou, Dong-Mei Zuo, Li-Juan Zhang, Dan Cao, Zhou Zou, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Xue-Yun Duan, Department of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81273906

Correspondence to: Heng Fan, Professor, Chief Physician, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Street, Wuhan 430022, Hubei Province, China. fanheng009@aliyun.com.

Received: 2013-07-21 Revised: 2013-10-25

Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To investigate whether the stromal cell-derived factor-1 $\alpha$  (SDF-1 $\alpha$ )/chemokine receptor 4 (CXCR4) axis mediates the therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells

(BMSCs) for 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-colitis in rats.

**METHODS:** BMSCs were isolated from Sprague-Dawley (SD) rats and identified by flow cytometry. Lentivirus transfection was applied to over-express CXCR4/GFP (Ad-CXCR4-BMSCs) or null/GFP (Ad-GFP-BMSCs), and Western blot was applied to detect the protein expression of CXCR4 in BMSCs. Thirty-two SD rats were randomly divided into four groups ( $n = 8$  for each group): a control group, a model group, an Ad-GFP-BMSCs group and an Ad-CXCR4-BMSCs group. Experimental colitis was induced with TNBS, and Ad-CXCR4-BMSCs or Ad-GFP-BMSCs were administered intravenously. One week after cell therapy, the colons were harvested. The expressions of GFP and SDF-1 $\alpha$  in colon tissues were measured by Western blot and immunofluorescence.

**RESULTS:** The cell viability was approximately 90%, and 80% of BMSCs steadily carried the GFP protein after lentivirus transfection. Compared with the control group, the protein expression of SDF-1 $\alpha$  was distinctly increased in injured colon in the model group. One week after cell therapy, Ad-GFP-BMSCs failed to colonize in the inflamed colon and had no beneficial effect on pathological inflammation score compared to the vehicle group ( $3.50 \pm 0.53$  vs  $3.62 \pm 0.52$ ,  $P > 0.05$ ). Compared with the model group, Ad-CXCR4-BMSCs signally down-regulated the disease activity index ( $2.71 \pm 0.28$  vs  $3.88 \pm 0.17$ ,  $P < 0.01$ ) and pathological inflammation score ( $2.25 \pm 0.71$  vs  $3.62 \pm 0.52$ ,  $P < 0.01$ ). Compared to the Ad-GFP-BMSCs group, the protein expression of GFP was significantly increased in the Ad-CXCR4-BMSCs group ( $0.70 \pm 0.34$  vs  $0.10 \pm 0.12$ ,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Our findings suggest that the SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 axis plays a crucial role in BMSCs migration toward injured colon, which may provide an attractive target for BMSCs-based therapies for IBD.

## ■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的疗效迄今仍不理想, 迫切需要探寻新的有效治疗手段。间充质干细胞(marrow-derived mesenchymal stem cells, MSCs)因具有多分化潜能, 在体内能参与损伤组织修复, 而广泛的应用与组织工程和细胞治疗。但体外扩增的MSCs输入体内后向IBD归巢效率低下。而已知基质细胞衍生因子 $\alpha$ (stromal cell-derived factor-1 $\alpha$ , SDF-1 $\alpha$ )/趋化因子受体4(chemokine receptor 4, CXCR4)轴能调控MSCs的归巢。本研究通过重组慢病毒技术构建过表达CXCR4的骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs), 观察其向炎症结肠定向迁移情况, 并探讨BMSCs对IBD实验模型的黏膜修复、抗炎和免疫调节作用。

## ■同行评议者

高英堂, 研究员, 天津市第三中心医院

## ■ 研发前沿

由于BMSCs经体外扩增后其表面的CXCR4表达明显下降,导致归巢能力降低。本文研究重点是利用慢病毒载体转染BMSCs使其过表达CXCR4蛋白。重点观察SDF-1 $\alpha$ /CXCR4轴能否促进BMSCs向炎症肠道归巢而增强对IBD的疗效。

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

**Key Words:** Mesenchymal stem cells; Chemokine receptor 4; Homing; Inflammatory bowel disease; Lentivirus

Liu XX, Fan H, Duan XY, Tang Q, Shou ZX, Zou DM, Zhang LJ, Cao D, Zou Z. SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 axis facilitates BMSCs homing toward injured colon in rats with experimental colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3623-3630 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3623.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3623>

## 摘要

**目的:** 调查基质细胞衍生因子 $\alpha$ (stromal cell-derived factor-1 $\alpha$ , SDF-1 $\alpha$ )/趋化因子受体4(chemokine receptor 4, CXCR4)轴在骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs)治疗2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)诱导的结肠炎中的作用。

**方法:** 从SD大鼠骨髓中分离BMSCs并使用流式细胞术鉴定。通过慢病毒技术使BMSCs表达绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP; Ad-GFP-BMSCs)或共表达CXCR4和GFP(Ad-CXCR4-BMSCs), Western blot检测BMSCs转染前后CXCR4蛋白表达。32只大鼠被随机分成4组( $n=8$ ): 空白组、模型组、Ad-GFP-BMSCs组和Ad-CXCR4-BMSCs组。采用TNBS诱导实验性结肠炎,尾静脉注射Ad-CXCR4-BMSCs或Ad-GFP-BMSCs治疗结肠炎大鼠。细胞治疗1 wk后收集结肠组织,免疫荧光以及Western blot检测结肠部位GFP和SDF-1 $\alpha$ 表达。

**结果:** 慢病毒转染后BMSCs的存活率大约为90%, 80%的BMSCs能够稳定表达GFP蛋白。相对空白组,结肠炎大鼠结肠部位SDF-1 $\alpha$ 表达明显上升。尾静脉注射治疗1 wk后,与正常组比较,Ad-GFP-BMSCs组不能迁移至受损结肠并显著的下降炎症病理分数( $3.50 \pm 0.53$  vs  $3.62 \pm 0.52$ ,  $P>0.05$ )。与模型组比较,Ad-CXCR4-BMSCs能够显著的下降结肠炎疾病活动指数( $2.71 \pm 0.28$  vs  $3.88 \pm 0.17$ ,  $P<0.01$ )和病理炎症分数( $2.25 \pm 0.71$  vs  $3.62 \pm 0.52$ ,  $P<0.01$ )。与Ad-GFP-BMSCs组比较,Ad-CXCR4-BMSCs组结肠部位GFP蛋白表达明显增高( $0.70 \pm 0.34$  vs  $0.10 \pm 0.12$ ,  $P<0.01$ )。

**结论:** SDF-1 $\alpha$ /CXCR4轴在BMSCs归巢于受损的结肠部位中发挥重要的作用,可能为炎症性

肠病的细胞治疗提供潜在的方法和理论依据。

© 2013版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 间充质干细胞; 趋化因子受体4; 归巢; 炎症性肠病; 慢病毒

**核心提示:** 成功构建稳定过表达趋化因子受体4(chemokine receptor 4, CXCR4)的骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs), 证实上调CXCR4能促进外源性BMSCs向炎症肠道归巢进而增强对炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的治疗作用, 并探讨其机制, 为临床有效应用BMSCs治疗IBD提供理论参考。

刘星星, 范恒, 段雪云, 唐庆, 寿折星, 左冬梅, 张丽娟, 曹丹, 邹舟. SDF-1 $\alpha$ /CXCR4轴促进间充质干细胞归巢于实验性结肠炎受损结肠. *世界华人消化杂志* 2013; 21(33): 3623-3630 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3623.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3623>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是以结肠黏膜慢性炎症和溃疡形成为主要病理特点的疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)。近年来大量证据表明异常的免疫和炎症应答是IBD发病的关键机制。慢性炎症破坏了肠道上皮层并形成了黏膜溃疡, 抑制炎症的过程伴随着肠道组织重塑<sup>[1]</sup>。通过干细胞技术和组织工程技术定向诱导特定的细胞以替代功能障碍的细胞或组织缺损, 这可能是治疗肠道疾病的根本办法<sup>[2]</sup>。骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs)是一类具有自我复制能力的多潜能细胞, 在组织工程、细胞移植、基因治疗等方面已被广泛应用<sup>[3,4]</sup>。但是外源性的BMSCs输入体内后向受损的肠道归巢的效率是非常低下的<sup>[5]</sup>。大量研究表明基质细胞衍生因子1 $\alpha$ (stromal cell-derived factor-1 $\alpha$ , SDF-1 $\alpha$ )与其特异性受体趋化因子受体4(chemokine receptor 4, CXCR4)能调控BMSCs归巢于受损组织<sup>[6,7]</sup>。本研究通过重组慢病毒技术构建过表达CXCR4的BMSCs, 观察其向炎症结肠定向迁移情况, 并探讨BMSCs对IBD实验模型的黏膜修复、抗炎和免疫调节作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 34只♀ SPF级SD大鼠, 购自湖北省疾病

预防控制中心[许可证号: SCXK(鄂)2010-0057], 其中4周龄大鼠2只, 体重150 g $\pm$ 20 g, 用于提取和培养BMSCs; 8-10周龄大鼠32只, 体重250 g $\pm$ 30 g, 用于分组实验; 2,4,6-三硝基苯磺酸(Sigma, P2297); 10%胎牛血清(fetal calf serum, FBS, Gibco, P16000-044); 细胞培养用青霉素-链霉素混合液(Solarbio, P1400-100); Lentivirus<sup>Null/CXCR4</sup>和Lentivirus<sup>GFP/CXCR4</sup>(上海吉凯基因, GOSL29538); 细胞培养基(dulbecco's modified eagle medium, DMEM, 北京赛默飞世尔生物, SH30021.01B); 胰蛋白酶(杭州吉诺生物, P13010501); FITC标记抗体CD29、CD45、CD90、CD11b(Biolegend); 兔抗大鼠绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)多克隆抗体(Chemicon, MAB3580); RIPA裂解液(Beyotime, P0012A); 兔抗大鼠CXCR4多克隆抗体(Abcam, ab2074); 兔抗大鼠SDF-1 $\alpha$ 多克隆抗体(Abcam, ab9797); 羊抗兔IgG二抗(Beyotime, A0208); 荧光显微镜(Nikon); 流式细胞仪(Becton-Dickinson Biosciences).

## 1.2 方法

1.2.1 BMSCs的分离、培养和鉴定: 取4周龄♀大鼠颈椎脱臼处死, 750 mL/L乙醇浸泡15 min. 无菌条件下分离胫骨、股骨, 剪开胫骨、股骨干骺端, 再用1 mL注射器吸取预冷磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)冲洗骨髓腔, 获得骨髓细胞悬液, 置于含有10%FBS和双抗(青霉素100 U/mL、链霉素100 U/L)的DMEM中, 37℃, 50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中培养. 24 h后首次半量换液, 然后每3 d全量换液. 当黏附细胞长到80%融合时加入胰蛋白酶消化传代, 经3-4次传代后得到纯化的BMSCs后可用于后续实验. 取生长状态良好的3代BMSCs, 加入胰蛋白酶消化, PBS冲洗获得细胞悬液. 加入anti-CD29-PE-Cy7、anti-CD90-Alexa Fluor488、anti-CD45-PE、anti-CD11b-Fluor647, 4℃, 孵育30 min, 送流式细胞仪检测, CellQuest TM软件分析实验结果.

1.2.2 结肠炎模型的建立: 禁食24 h后, SD大鼠给予10%水合氯醛(3 mL/kg)腹腔注射麻醉. 将聚乙烯导尿管缓缓插入大鼠肛门8 cm, 先后缓缓注入500 mL/L的乙醇溶液0.25 mL和TNBS 0.6 mL, 将大鼠提尾倒置30 s, 然后以特伦德伦伯卧位放置以避免液体流出. 待大鼠清醒后可自由饮食和进水.

1.2.3 慢病毒转染: 慢病毒构建由上海吉凯基因公司合成, 慢病毒载体元件顺序为Ubi-MCS-GFP,

克隆位点为Age I/Age I. Lentivirus<sup>CXCR4/GFP</sup>能够共表达CXCR4和增强型GFP, Lentivirus<sup>Null/GFP</sup>仅表达荧光标志物GFP. 第3代BMSCs经胰蛋白酶消化后按4 $\times$ 10<sup>3</sup>/孔接种于含有10% FBS和DMEM的12孔培养板中, 37℃, 50 mL/L CO<sub>2</sub>培养24 h. 然后以20的感染复数(multiplicity of infection, MOI)进行慢病毒转染. 转染Lentivirus<sup>CXCR4/GFP</sup>的细胞命名为Ad-CXCR4-BMSCs, 转染Lentivirus<sup>Null/GFP</sup>的细胞命名为Ad-GFP-BMSCs, 并作为阴性对照组. 转染后的细胞置于荧光显微镜下观察细胞存活率、转染效率以及GFP蛋白表达.

1.2.4 疾病活动指数: 利用疾病活动指数(disease activity index, DAI)来评估TNBS诱导的结肠炎的严重程度. DAI是由体质量丢失比例、大便黏稠度和便血程度组成, 具体的评分标准如下<sup>[8]</sup>: (1)体质量丢失比例(0: <1%; 1: 1%-5%; 2: 5.1%-10%; 3: 10.1%-15%; 4: >15%); (2)大便黏稠度(0: 正常大便; 2: 软便; 4: 液状便); (3)便血程度(0: 无潜血; 2: 阳性潜血; 4: 肉眼血便).

1.2.5 实验分组及治疗: 在1 wk的驯化期后, 32只♀SD大鼠被随机分成4组( $n=8$ ): 空白组、模型组、Ad-GFP-BMSCs组和Ad-CXCR4-BMSCs组. 在整个实验过程中, 每天记录大鼠的DAI, 每组大鼠都通过尾静脉注射治疗. 第1天, 除空白组外, 其余3组均给予TNBS诱导结肠炎. 第4天, 结肠炎组大鼠分别接受PBS、Ad-GFP-BMSCs(2 $\times$ 10<sup>6</sup>/mL)或Ad-CXCR4-BMSCs(2 $\times$ 10<sup>6</sup>/mL)各1 mL. 第11天, 大鼠禁食24 h后行麻醉剖腹手术. 迅速取下完整结肠并测量其长度, 然后末端结肠被纵向打开, 用生理盐水轻微冲洗结肠, 收集结肠并用于多种研究.

1.2.6 病理学评估: 迅速把末端结肠样本固定在4%的甲醛中并用石蜡包埋, 切片机制成厚约4  $\mu$ m的结肠切片并用苏木精和曙红(hematoxylin and eosin, HE)染色, 然后进行病理学分析. 我们利用结肠炎症病理分数来评估结肠受损程度, 具体标准如下<sup>[9]</sup>: 400倍显微镜下, 0: 结肠黏膜含0-1个多形核细胞/高倍视野(polymorphonuclear cell/high power field, PMN/hpf); 1: 2-10 PMN/hpf; 2: 11-20 PMN/hpf; 3: 21-30 PMN/hpf; 4: >30 PMN/hpf.

1.2.7 免疫荧光检测: 用O.C.T混合物包埋结肠组织并储存于液氮中, 冰冻切片机制作厚8  $\mu$ m的结肠冰冻切片. 冰冻切片混入丙酮固定10 min, PBS冲洗2次, 10%FBS封闭1 h. 冰冻切片加入羊抗大鼠GFP抗体4℃过夜, 随后加入FITC标记的

## ■相关报道

SDF-1 $\alpha$ /CXCR4轴在药物趋化作用、肿瘤转移和干细胞归巢中发挥重要作用, SDF-1 $\alpha$ /CXCR4轴能广泛的应用与其他疾病及机制研究中, 值得借鉴和引用.



## ■创新盘点

本研究首次通过慢病毒构建过表达CXCR4的BMSCs,并探讨上调CXCR4的BMSCs能否促进其归巢于受损结肠从而增强IBD疗效。

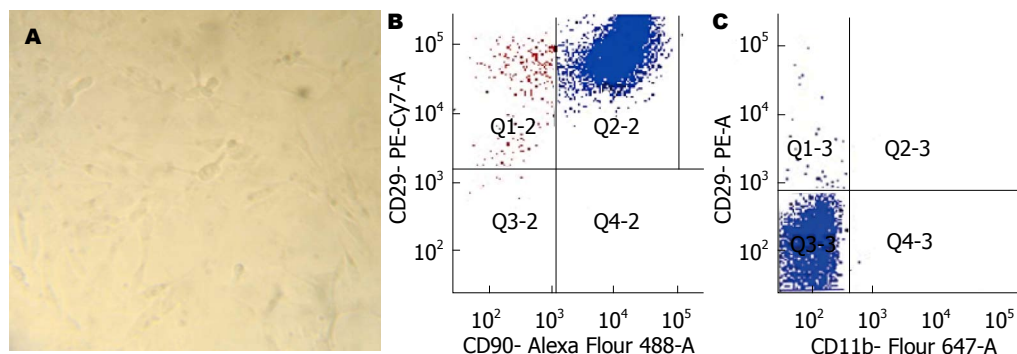


图1 BMSCs形态学特征及表型鉴定. A: 光镜下第3代BMSCs( $\times 100$ ); B: 共表达CD29和CD90鉴定; C: 共表达CD45和CD11b鉴定. BMSCs: 骨髓间充质干细胞.

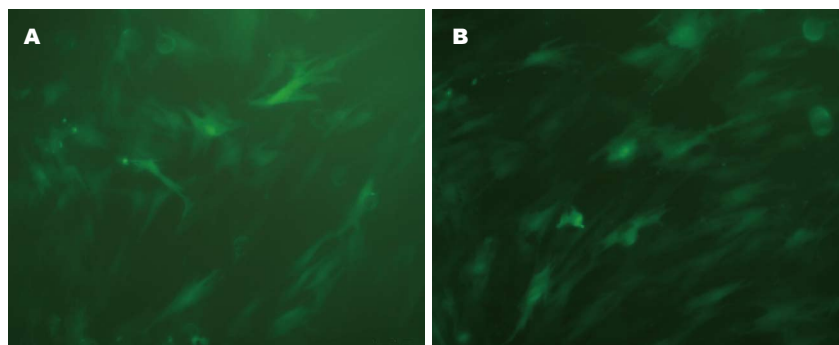


图2 BMSCs表达GFP蛋白(荧光显微镜下,  $\times 100$ ). A: Lentivirus<sup>Null/GFP</sup>转染BMSCs; B: Lentivirus<sup>CXCR4/GFP</sup>转染BMSCs. BMSCs: 骨髓间充质干细胞; CXCR4: 趋化因子受体4.

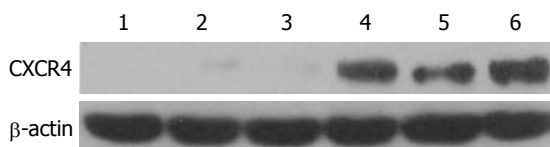


图3 CXCR4在各代BMSCs中的表达. 1-3: 1-3代BMSCs; 4-6: 3-5代Ad-CXCR4-BMSCs. CXCR4: 趋化因子受体4; BMSCs: 骨髓间充质干细胞.

二抗孵育, 标记的冰冻切片随后置于荧光显微镜下进行观察.

**1.2.8 Western blot检测:** 将RIPA裂解液加入BMSCs或结肠组织中充分裂解, 3000 r/min, 4℃离心15 min, 取上清获得蛋白萃取物. 将萃取蛋白在200 V电压下进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离并电转移至聚偏氟乙烯膜. 用包含5%脱脂奶粉的洗涤缓冲液进行蛋白封闭2 h, 先后加入抗-SDF-1 $\alpha$ 抗体和抗-GFP抗体, 4℃过夜, 然后分别加入酶标羊抗兔Ig-G2抗并进行化学发光分析.

**统计学处理** 实验计量数据以mean $\pm$ SE表示, 两组间差异采用 $t$ 检验, 多组间均数差异采用单因素方差分析, 采用SPSS18.0统计软件进行分析,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 BMSCs形态学特征及表型鉴定** 原代培养的BMSCs约5 h开始贴壁, 纯化后的细胞大部分呈梭型, 漩涡状生长. 经过消化、传代, 第3代BMSCs用于流式细胞术表型鉴定. 结果显示: BMSCs高表达CD29和CD90, 而几乎不表达CD45和CD11b(图1), 表明纯化后的细胞为BMSCs.

**2.2 慢病毒转染结果** 慢病毒转染后48 h, BMSCs的存活率大约为90%, 约80%的BMSCs能够稳定表达GFP蛋白(图2). 通过Western blot检测, 我们发现1-3代BMSCs几乎不能表达CXCR4, 但是在转染Lentivirus<sup>CXCR4/GFP</sup> 48 h后, 3代Ad-CXCR4-BMSCs表达CXCR4蛋白量明显升高, 我们继续传代至第5代, Ad-CXCR4-BMSCs仍能稳定高表达CXCR4(图3).

**2.3 结肠炎模型评估及治疗** 造模后第4 d, 结肠炎大鼠出现明显的体质量下降、腹泻、黏液脓血便、食欲下降、毛色欠光滑、活动迟缓等症状. 相对于空白组, 模型组的DAI分数显著上升( $P<0.01$ ). 与模型组相比, 尾静脉注射Ad-GFP-BMSCs并不能缓解大鼠的体质量下降、腹泻和血便等症状. 相反的是, 在第10天和第12天,

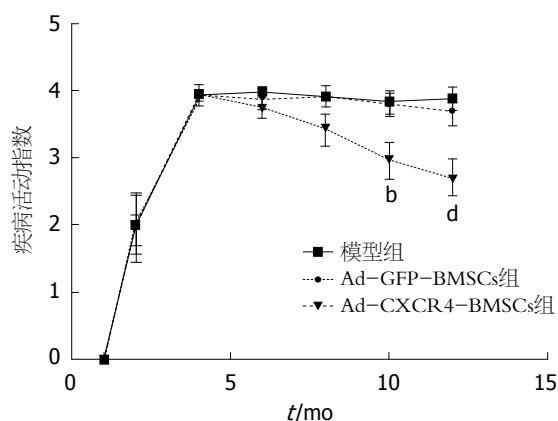


图4 疾病活动指数。<sup>b</sup> $P<0.01$  vs 模型组; <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 模型组。GFP: 绿色荧光蛋白; CXCR4: 趋化因子受体4; BMSCs: 骨髓间充质干细胞。

Ad-CXCR4-BMSCs能够显著的下降低分 (DAI) (DAI $P<0.01$ ), 意味着结肠炎大鼠严重的症状得到了明显的改善(图4)。第12天, 我们可以观察到模型组大鼠结肠肠管长度变短, 管腔明显变粗, 肠壁变薄, 部分大鼠出现严重的肠壁间渗出和黏连。对结肠进行病理学分析可见模型组大鼠结肠黏膜腺体排列不规则、水肿、充血、糜烂、浅表或线状溃疡。黏膜层或黏膜下层可见大量的炎性渗透物如淋巴细胞和巨噬细胞聚集(图5)。通过显微镜半定量计数评分, 模型组的病理炎症分数较空白组显著增加( $P<0.01$ )。与模型组比较, Ad-CXCR4-BMSCs能够显著的修复受损的肠道黏膜并下降病理炎症分数( $P<0.01$ ), 但Ad-GFP-BMSCs组和模型组之间比较病理炎症分数并无统计学差异(图6)。

**2.4 Western blot和免疫荧光检测结果** Western blot结果表明: 与正常组比较, 在受损的结肠部位SDF-1 $\alpha$ 蛋白表达显著升高(图7)。为了观察外源性BMSCs向受损结肠迁移效率, BMSCs被标记上GFP并通过尾静脉注射进SD大鼠。免疫荧光结果显示GFP蛋白零星的表达于Ad-GFP-BMSCs组结肠, 但是却广泛的表达于Ad-CXCR4-BMSCs组结肠部位(图8)。通过Western blot也表明相对于Ad-GFP-BMSCs组, Ad-CXCR4-BMSCs组结肠部位GFP蛋白表达明显升高( $P<0.01$ , 图7)。

### 3 讨论

临床上IBD治疗的主要药物(如柳氮磺胺嘧啶、糖皮质激素、免疫抑制剂)并不能持续有效地缓解IBD的病情并会带来大量的不良反应, 因此科

研者急需探索新的治疗方法。在此项研究中, 我们首先探索了BMSCs在实验性结肠炎中的治疗效果以及潜在的作用机制。TNBS诱导的模型是一个稳定并广泛应用的结肠炎模型<sup>[5,10]</sup>, 他在组织学及免疫学方面都非常类似于人类的CD, 主要表现为强烈的细胞浸润以及分泌大量的Th1型细胞因子比如干扰素- $\gamma$ 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ <sup>[11]</sup>。本研究通过直肠灌注TNBS迅速的建立起严重的结肠炎模型, 大鼠表现为急剧上升的DAI分数、严重的结肠病理学改变以及大量的炎性细胞浸润。

干细胞(stem cell, SC)是一类具有自我复制能力的多潜能细胞, 在一定条件下, 他可以分化成多种功能细胞。BMSCs是一种存在于骨髓中的非造血干细胞, 易于体外培养扩增, 并在培养过程中保持多分化潜能, 其具有遗传背景稳定, 体内植入排斥反应较弱等特点, 所以他被认为是一种用于组织工程和细胞治疗的理想细胞<sup>[12,13]</sup>。BMSCs作为一种新的治疗方法能治疗炎症介导的多种疾病<sup>[14-16]</sup>。有研究证实, 静脉注射BMSCs能有效治疗TNBS诱导的炎症性肠病<sup>[17,18]</sup>, 他能够显著减缓UC的症状, 抑制炎症因子分泌, 提高白介素-10的表达, 同时抑制Th1细胞活性<sup>[19]</sup>。虽然BMSCs在再生医学中具有很大的治疗潜力, 但是也有大量研究表明系统释放的BMSCs到达受损组织的效率是非常低下的, 循环的BMSCs大部分停留于肺血管床<sup>[5,20,21]</sup>。本实验也通过Western blot和免疫荧光技术证实了在Ad-GFP-BMSCs组大鼠结肠部位只能发现极其微量的GFP表达, 表明单纯通过尾静脉注射的BMSCs并不能有效的迁移至受损的结肠部位。DAI分数以及病理学分析也表明Ad-GFP-BMSCs并没有有效的缓解实验性结肠炎。最近有研究进一步明确证实了在TNBS诱导的结肠炎中, 静脉注射的BMSCs迅速的聚集在肺、心、肝、肾等组织器官而没有证据发现其归巢于结肠组织<sup>[5]</sup>。外源性的BMSCs能否成功的到达受损的结肠黏膜就成了IBD细胞治疗的关键因素。

SDF-1 $\alpha$ 是趋化因子亚家族成员之一, 他在药物的趋化作用、肿瘤转移以及干细胞归巢中扮演者重要作用<sup>[22]</sup>。CXCR4属于G蛋白偶联的7次跨膜的趋化因子受体, 在体内许多细胞, 尤其在造血干/祖细胞的表面均有CXCR4的构成性表达。目前认为SDF-1 $\alpha$ 是CXCR4的唯一生理配体, CXCR4也是SDF-1的唯一受体, 两者的亲和

### ■应用要点

本文不仅能为有效利用BMSCs临床治疗IBD提供理论参考, 而且有助于更深入理解BMSCs在IBD体内的归巢及治疗机制。

### 同行评价

IBD被世界卫生组织列为难治性疾病,寻求新的治疗方法成为当务之急,BMSCs具有很强的分化和免疫调节作用,有望成为治疗IBD的新方法.BMSCs体外扩增后,其表面CXCR4表达下调,将导致BMSCs归巢能力下降,本研究通过慢病毒使BMSCs过表达CXCR4,成功诱导其向炎症肠道的迁徙,增强BMSCs对IBD的治疗效果。

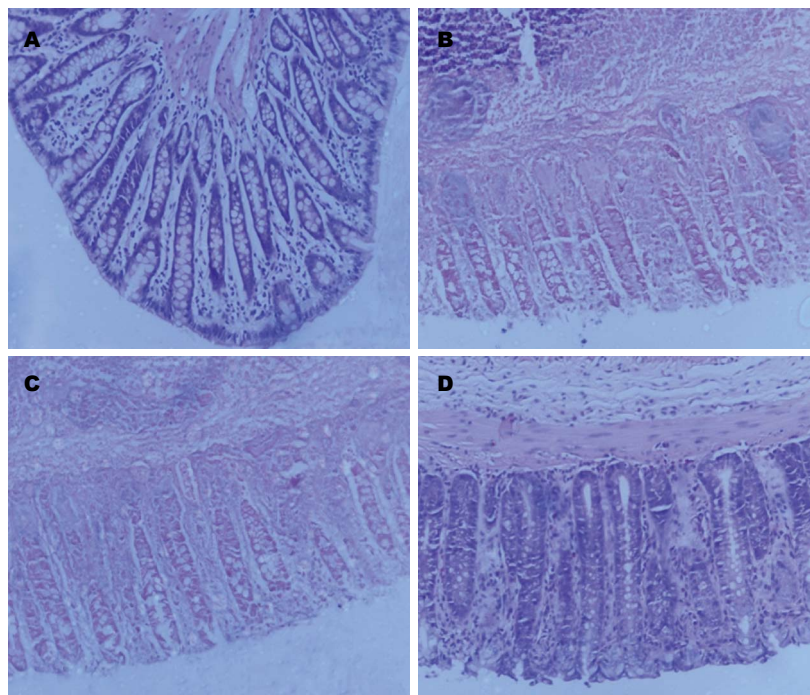


图 5 各组大鼠结肠组织病理学分析(HE × 100). A: 正常组; B: 模型组; C: Ad-GFP-BMSCs组; D: Ad-CXCR4-BMSCs组. GFP: 绿色荧光蛋白; CXCR4: 趋化因子受体4; BMSCs: 骨髓间充质干细胞。

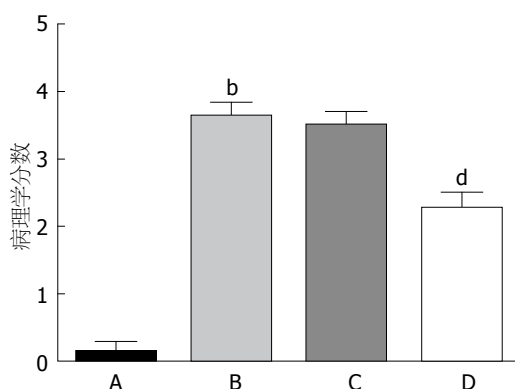


图 6 各组大鼠结肠组织病理学评估. A: 正常组; B: 模型组; C: Ad-GFP-BMSCs组; D: Ad-CXCR4-BMSCs组. <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 空白组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 模型组. GFP: 绿色荧光蛋白; CXCR4: 趋化因子受体4; BMSCs: 骨髓间充质干细胞。

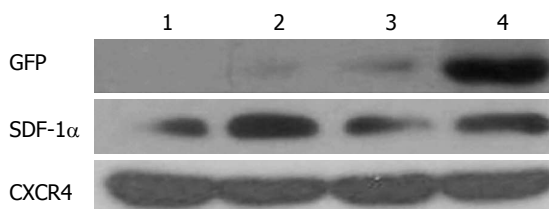


图 7 各组结肠组织SDF-1α和GFP蛋白表达. 1: 正常组; 2: 模型组; 3: Ad-GFP-BMSCs组; 4: Ad-CXCR4-BMSCs组. GFP: 绿色荧光蛋白; SDF-1α: 基质细胞衍生因子; BMSCs: 骨髓间充质干细胞; CXCR4: 趋化因子受体4。

力很高<sup>[23]</sup>. 有研究显示SDF-1能特异的对CXCR4产生趋化作用, 表达CXCR4的干细胞能够沿着SDF-1α的浓度梯度迁移实现归巢过程<sup>[15,24]</sup>. 跟先前的报道相类似<sup>[25]</sup>, 本实验也证实在TNBS

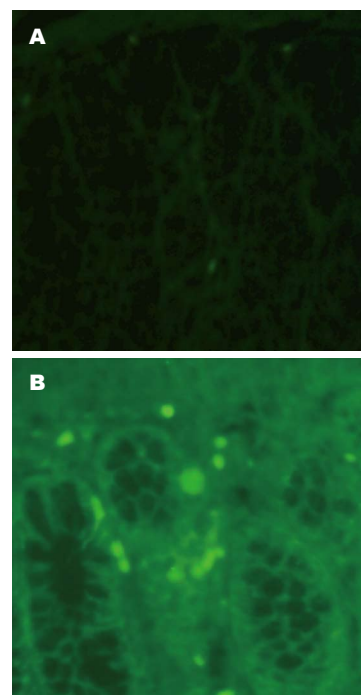


图 8 各组结肠组织GFP表达(× 200). A: Ad-GFP-BMSCs组; B: Ad-CXCR4-BMSCs组. GFP: 绿色荧光蛋白; BMSCs: 骨髓间充质干细胞; CXCR4: 趋化因子受体4。

诱导的结肠炎模型中, 受损结肠部位的SDF-1α表达持续升高. 但是外源性的BMSCs并不能表达足够量的CXCR4蛋白<sup>[26]</sup>, 这将阻碍BMSCs有效的迁移和归巢于受损的结肠部位. 慢病毒载体是以人类免疫缺陷型病毒为基础发展起来的基因治疗载体, 他对分裂细胞和非分裂细胞均具有感染能力, 并可以在体内较长期的表达且



安全性高。慢病毒载体能够有效的转移并长期的表达外源基因, 其在基础实验研究中具有广阔的前景<sup>[27,28]</sup>。本实验通过重组慢病毒技术成功的构建了Ad-CXCR4-BMSCs并使其过表达CXCR4蛋白。同时该慢病毒载体技术能够共表达增强型GFP, GFP能够用来有效的示踪BMSCs在活体内的迁移<sup>[29]</sup>。本研究发现Ad-CXCR4-BMSCs组大鼠临床症状及结肠病理变化都得到了显著的改善。同时Western blot和免疫荧光技术也证实了Ad-CXCR4-BMSCs组结肠部位的GFP蛋白表达比Ad-GFP-BMSCs组升高, 这些都表明SDF-1 $\alpha$ /CXCR4轴有效地提高了尾静脉注射的BMSCs迁移至受损结肠部位的效率。在治疗机制方面, 越来越多的证据表明BMSCs能够通过分化成结肠上皮层或基质层细胞来修复肠道组织<sup>[10,30]</sup>。另一方面, BMSCs也可能通过发挥抗炎和免疫调节功能来治疗炎症性肠病<sup>[31]</sup>。

总之, 我们的实验阐明了相对于正常BMSCs, 静脉注射过表达CXCR4的BMSCs能够更有效的迁移至受损的结肠部位, 减轻和修复结肠损伤, 改善TNBS诱导的结肠炎症状。这些结论可能给SDF-1 $\alpha$ /CXCR4轴在BMSCs的IBD治疗提供新的思路和理论依据。

#### 4 参考文献

- Andoh A, Bamba S, Fujiyama Y, Brittan M, Wright NA. Colonic subepithelial myofibroblasts in mucosal inflammation and repair: contribution of bone marrow-derived stem cells to the gut regenerative response. *J Gastroenterol* 2005; 40: 1089-1099 [PMID: 16378172 DOI: 10.1007/s00535-005-1727-4]
- Scharl M, McCole DF, Weber A, Vavricka SR, Frei P, Kellermeier S, Pesch T, Fried M, Rogler G. Protein tyrosine phosphatase N2 regulates TNF $\alpha$ -induced signalling and cytokine secretion in human intestinal epithelial cells. *Gut* 2011; 60: 189-197 [PMID: 21115548 DOI: 10.1136/gut.2010.216606]
- Shi M, Liu ZW, Wang FS. Immunomodulatory properties and therapeutic application of mesenchymal stem cells. *Clin Exp Immunol* 2011; 164: 1-8 [PMID: 21352202 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04327.x]
- Boyd AS, Fairchild PJ. Approaches for immunological tolerance induction to stem cell-derived cell replacement therapies. *Expert Rev Clin Immunol* 2010; 6: 435-448 [PMID: 20441429 DOI: 10.1586/eci.10.20]
- Castelo-Branco MT, Soares ID, Lopes DV, Buongusto F, Martinusso CA, do Rosario A, Souza SA, Guttilen B, Fonseca LM, Elia C, Madi K, Schanaider A, Rossi MI, Souza HS. Intraperitoneal but not intravenous cryopreserved mesenchymal stromal cells home to the inflamed colon and ameliorate experimental colitis. *PLoS One* 2012; 7: e33360 [PMID: 22432015 DOI: 10.1371/journal.pone.0033360]
- Li M, Yu J, Li Y, Li D, Yan D, Qu Z, Ruan Q. CXCR4 positive bone mesenchymal stem cells migrate to human endothelial cell stimulated by ox-LDL via SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 signaling axis. *Exp Mol Pathol* 2010; 88: 250-255 [PMID: 20025867 DOI: 10.1016/j.yexmp.2009.12.001]
- Yu J, Li M, Qu Z, Yan D, Li D, Ruan Q. SDF-1/CXCR4-mediated migration of transplanted bone marrow stromal cells toward areas of heart myocardial infarction through activation of PI3K/Akt. *J Cardiovasc Pharmacol* 2010; 55: 496-505 [PMID: 20179608 DOI: 10.1097/FJC.0b013e3181d7a384]
- Davaatseren M, Hwang JT, Park JH, Kim MS, Wang S, Sung MJ. Poly- $\gamma$ -glutamic acid attenuates angiogenesis and inflammation in experimental colitis. *Mediators Inflamm* 2013; 2013: 982383 [PMID: 23766568 DOI: 10.1155/2013/982383]
- Mitsuyama K, Matsumoto S, Rose-John S, Suzuki A, Hara T, Tomiyasu N, Handa K, Tsuruta O, Funabashi H, Scheller J, Toyonaga A, Sata M. STAT3 activation via interleukin 6 trans-signalling contributes to ileitis in SAMP1/Yit mice. *Gut* 2006; 55: 1263-1269 [PMID: 16682432 DOI: 10.1136/gut.2005.079343]
- Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. Subcutaneous adipose tissue-derived stem cells facilitate colonic mucosal recovery from 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis in rats. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 826-838 [PMID: 18253953 DOI: 10.1002/ibd.20382]
- Newman R, Cuan N, Hampartzoumian T, Connor SJ, Lloyd AR, Grimm MC. Vasoactive intestinal peptide impairs leucocyte migration but fails to modify experimental murine colitis. *Clin Exp Immunol* 2005; 139: 411-420 [PMID: 15730386 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2005.02673.x]
- Parekkadan B, Milwid JM. Mesenchymal stem cells as therapeutics. *Annu Rev Biomed Eng* 2010; 12: 87-117 [PMID: 20415588 DOI: 10.1146/annurev-bioeng-070909-105309]
- Shi Y, Hu G, Su J, Li W, Chen Q, Shou P, Xu C, Chen X, Huang Y, Zhu Z, Huang X, Han X, Xie N, Ren G. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression and tissue repair. *Cell Res* 2010; 20: 510-518 [PMID: 20368733 DOI: 10.1038/cr.2010.44]
- Prockop DJ, Oh JY. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation. *Mol Ther* 2012; 20: 14-20 [PMID: 22008910 DOI: 10.1038/mt.2011.211]
- Liu H, Liu S, Li Y, Wang X, Xue W, Ge G, Luo X. The role of SDF-1-CXCR4/CXCR7 axis in the therapeutic effects of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells for renal ischemia/reperfusion injury. *PLoS One* 2012; 7: e34608 [PMID: 22511954 DOI: 10.1371/journal.pone.0034608]
- Liang J, Huang W, Yu X, Ashraf A, Wary KK, Xu M, Millard RW, Ashraf M, Wang Y. Suicide gene reveals the myocardial neovascularization role of mesenchymal stem cells overexpressing CXCR4 (MSC(CXCR4)). *PLoS One* 2012; 7: e46158 [PMID: 23029422 DOI: 10.1371/journal.pone.0046158]
- Hayashi Y, Tsuji S, Tsujii M, Nishida T, Ishii S, Iijima H, Nakamura T, Eguchi H, Miyoshi E, Hayashi N, Kawano S. Topical implantation of mesenchymal stem cells has beneficial effects on healing of experimental colitis in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 326: 523-531 [PMID: 18448866 DOI: 10.1124/

- jpet.108.137083]
- 18 Ko IK, Kim BG, Awadallah A, Mikulan J, Lin P, Letterio JJ, Dennis JE. Targeting improves MSC treatment of inflammatory bowel disease. *Mol Ther* 2010; 18: 1365-1372 [PMID: 20389289 DOI: 10.1038/mt.2010.54]
- 19 Gonzalez-Rey E, Anderson P, González MA, Rico L, Büscher D, Delgado M. Human adult stem cells derived from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis. *Gut* 2009; 58: 929-939 [PMID: 19136511 DOI: 10.1136/gut.2008.168534]
- 20 Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, Feinberg MS, Etzion S, Tessone A, Miller L, Guetta E, Zipori D, Kedes LH, Kloner RA, Leor J. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation* 2003; 108: 863-868 [PMID: 12900340 DOI: 10.1161/01.CIR.0000084828.50310.6A]
- 21 Schrepfer S, Deuse T, Reichenspurner H, Fischbein MP, Robbins RC, Pelletier MP. Stem cell transplantation: the lung barrier. *Transplant Proc* 2007; 39: 573-576 [PMID: 17362785 DOI: 10.1016/j.transproceed.2006.12.019]
- 22 Teicher BA, Fricker SP. CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 pathway in cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 2927-2931 [PMID: 20484021 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2329]
- 23 Zaruba MM, Franz WM. Role of the SDF-1-CXCR4 axis in stem cell-based therapies for ischemic cardiomyopathy. *Expert Opin Biol Ther* 2010; 10: 321-335 [PMID: 20132055 DOI: 10.1517/14712590903460286]
- 24 Theiss HD, Vallaster M, Rischpler C, Krieg L, Zaruba MM, Brunner S, Vanchev Y, Fischer R, Gröbner M, Huber B, Wollenweber T, Assmann G, Mueller-Hoecker J, Hacker M, Franz WM. Dual stem cell therapy after myocardial infarction acts specifically by enhanced homing via the SDF-1/CXCR4 axis. *Stem Cell Res* 2011; 7: 244-255 [PMID: 21752744 DOI: 10.1016/j.scr.2011.05.003]
- 25 Katsuta T, Lim C, Shimoda K, Shibuta K, Mitra P, Banner BF, Mori M, Barnard GF. Interleukin-8 and SDF1-alpha mRNA expression in colonic biopsies from patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3157-3164 [PMID: 11095335 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.03289.x]
- 26 Kortessidis A, Zannettino A, Isenmann S, Shi S, Lapidot T, Gronthos S. Stromal-derived factor-1 promotes the growth, survival, and development of human bone marrow stromal stem cells. *Blood* 2005; 105: 3793-3801 [PMID: 15677562 DOI: 10.1182/blood-2004-11-4349]
- 27 Zhang L, Liu HJ, Li TJ, Yang Y, Guo XL, Wu MC, Rui YC, Wei LX. Lentiviral vector-mediated siRNA knockdown of SR-PSOX inhibits foam cell formation in vitro. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29: 847-852 [PMID: 18565283 DOI: 10.1111/j.1745-7254.2008.00823.x]
- 28 Jiang J, Huang L, Yu W, Wu X, Zhou P, Li X. Overexpression of HTRA1 leads to down-regulation of fibronectin and functional changes in RF/6A cells and HUVECs. *PLoS One* 2012; 7: e46115 [PMID: 23056244 DOI: 10.1371/journal.pone.0046115]
- 29 Mokbel AN, El Tookhy OS, Shamaa AA, Rashed LA, Sabry D, El Sayed AM. Homing and reparative effect of intra-articular injection of autologous mesenchymal stem cells in osteoarthritic animal model. *BMC Musculoskelet Disord* 2011; 12: 259 [PMID: 22085445 DOI: 10.1186/1471-2474-12-259]
- 30 Valcz G, Krenács T, Sipos F, Leiszter K, Tóth K, Balogh Z, Csizmadia A, Muzes G, Molnár B, Tulassay Z. The role of the bone marrow derived mesenchymal stem cells in colonic epithelial regeneration. *Pathol Oncol Res* 2011; 17: 11-16 [PMID: 20405350 DOI: 10.1007/s12253-010-9262-x]
- 31 Parekkadan B, Upadhyay R, Dunham J, Iwamoto Y, Mizoguchi E, Mizoguchi A, Weissleder R, Yarmush ML. Bone marrow stromal cell transplants prevent experimental enterocolitis and require host CD11b+ splenocytes. *Gastroenterology* 2011; 140: 966-975 [PMID: 20955701 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.10.013]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 肝脏神经内分泌肿瘤34例

陆中萃, 张秀辉

陆中萃, 张秀辉, 四川大学华西医院病理科 四川省成都市 610041

陆中萃, 在读硕士, 主要从事肿瘤病理的研究.

作者贡献分布: 本文由陆中萃完成; 张秀辉审核.

通讯作者: 张秀辉, 教授, 主任医师, 610041, 四川省成都市国学巷37号, 四川大学华西医院病理科. zhangxiuhui1955@126.com

收稿日期: 2013-08-10 修回日期: 2013-09-18

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-28

## Hepatic neuroendocrine tumors: Analysis of 34 cases

Zhong-Cui Lu, Xiu-Hui Zhang

Zhong-Cui Lu, Xiu-Hui Zhang, Department of Pathology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Correspondence to: Xiu-Hui Zhang, Professor, Department of Pathology, West China Hospital, 37 Guoxue Lane, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. zhangxiuhui1955@126.com

Received: 2013-08-10 Revised: 2013-09-18

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-28

### Abstract

**AIM:** To investigate the pathological classification, clinicopathological characteristics and prognosis of hepatic neuroendocrine tumors.

**METHODS:** Thirty-four cases of hepatic neuroendocrine tumors were divided into an primary disease group and a metastatic disease group. Hepatic neuroendocrine tumors were studied by immunohistochemistry and electron microscopy, and their clinicopathological characteristics were analyzed.

**RESULTS:** Hepatic neuroendocrine tumors could be divided into three groups: neuroendocrine tumor (G1), neuroendocrine tumor (G2) and neuroendocrine carcinoma (G3). There were 1 case of neuroendocrine tumor (G1), 1 case of neuroendocrine tumor (G2) and 2 cases of neuroendocrine carcinoma (G3) in the primary disease group, and the corresponding figures in the metastatic disease group were 3, 15 and 12, respectively.

**CONCLUSION:** Primary hepatic neuroendocrine tumors are very rare. The diagnosis of primary

hepatic neuroendocrine tumors must eliminate the possibility of metastatic hepatic neuroendocrine tumors. Surgery is an effective treatment modality for hepatic neuroendocrine tumors.

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

**Key Words:** Hepatic tumors; Neuroendocrine tumors; Immunohistochemistry

Lu ZC, Zhang XH. Hepatic neuroendocrine tumors: Analysis of 34 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(33): 3631-3637 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3631.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3631>

### 摘要

**目的:** 对肝脏神经内分泌肿瘤进行病理学分级, 探讨其临床病理特点和预后.

**方法:** 收集34例肝脏神经内分泌肿瘤, 分为原发组和转移组, 应用免疫组织化学方法及透射电镜技术对肿瘤进行观察, 结合文献分析肿瘤的临床病理学特点.

**结果:** 原发组神经内分泌瘤NET1级(G1级)1例, 神经内分泌瘤NET2级(G2)1例, 神经内分泌癌NEC(G3)2例; 转移组NET1级(G1级)3例, NET2级(G2)15例, NEC(G3)12例.

**结论:** 肝脏神经内分泌肿瘤分为原发性神经内分泌肿瘤和转移性神经内分泌肿瘤, 肝脏原发性神经内分泌肿瘤非常罕见, 需要完全排除转移性的肝脏神经内分泌肿瘤才能诊断为肝脏原发性神经内分泌肿瘤. 手术是治疗肝脏神经内分泌肿瘤的有效手段.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 肝肿瘤; 神经内分泌肿瘤; 免疫组织化学

**核心提示:** 本文论述了肝脏神经内分泌肿瘤的临床病理特点、治疗和预后, 发现肝脏神经内分泌肿瘤患者最常见的临床表现是腹痛、腹部包块,

### ■背景资料

神经内分泌肿瘤是一组起源于肽能神经元和神经内分泌细胞的异质性肿瘤, 可发生于全身许多器官, 如胃肠道、胰腺、胆囊、肺、肝脏等. 目前肝脏的神经内分泌肿瘤尚无独特的病理学分级标准, 本文参照WHO 2010消化系统神经内分泌肿瘤的临床病理学分类标准和中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理学诊断共识意见对肝脏神经内分泌肿瘤进行病理分级.

### ■同行评议者

王鲁平, 主任医师, 北京军区总医院病理科



## ■ 研发前沿

胃肠道的神经内分泌肿瘤经常转移到肝脏,而肝脏原发性神经内分泌肿瘤十分罕见。近年来的研究热点是肝脏原发性神经内分泌肿瘤的临床病理学特点。不过肝脏原发性神经内分泌肿瘤的诊断较困难,寻找敏感性和特异性高的方法来确诊肝脏原发性神经内分泌肿瘤是目前需要解决的问题。

手术是治疗肝脏神经内分泌肿瘤的有效手段,而患者的预后与年龄、分级有关。

陆中萃, 张秀辉. 肝脏神经内分泌肿瘤34例. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3631-3637 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3631.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3631>

## 0 引言

神经内分泌肿瘤(neuroendocrine neoplasms)是一组起源于肽能神经元和神经内分泌细胞的异质性肿瘤<sup>[1,2]</sup>。随着免疫组织化学技术和电镜观察在肿瘤病理诊断上的广泛应用,已发现神经内分泌肿瘤不仅见于传统的内分泌器官,也见于其他非内分泌器官,如胃肠道、胰腺、胆囊、肺等。据报道,胃肠道的神经内分泌肿瘤的发生率依次为阑尾38%、小肠29%、结肠13%、胃12%、直肠8%<sup>[3]</sup>。胃肠道的神经内分泌肿瘤经常转移至肝脏,而肝脏原发性神经内分泌肿瘤十分罕见<sup>[4-6]</sup>。1958年Edmondson报道了第1例肝脏原发性神经内分泌肿瘤,目前文献报道真正肝脏原发性神经内分泌肿瘤大约100例<sup>[7,8]</sup>。本文对肝脏神经内分泌肿瘤进行分析,结合文献,探讨其临床表现、病理学特点、治疗方法及预后。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本文共收集2007-2012年华西医院病理科诊断为肝脏神经内分泌肿瘤的病例45例,临床资料完整的34例。根据临床资料及病理特点,30例考虑为肝脏转移性神经内分泌肿瘤,归入转移组;其中6例为超声引导下经皮细针穿刺活检标本,9例为手术冰冻肝脏包块活检标本,15例为手术切除标本。原发组4例均为手术切除标本,通过全身体格检查、胸片、腹部及泌尿系B超、胃肠镜、腹部CT、MRI等检查均未发现其他部位(脏器)存在肿瘤,随访也未发现原发病灶,考虑为肝脏原发性神经内分泌肿瘤。CD56、Syn、CgA、CK18及CD10购自北京中杉金桥生物技术有限公司,GPC3和Ki-67购自基因科技(上海)有限公司;EnVision试剂盒购自丹麦Dako公司。

**1.2 方法** 采用免疫组织化学EnVision法染色,实验步骤按试剂盒说明方法操作。各组抗体均设阴性和阳性对照。电镜标本经2.5%戊二醛固定,树脂包埋,透射电镜下观察。根据欧洲神经

内分泌肿瘤协会共识、WHO 2010消化系统神经内分泌肿瘤的临床病理学分类标准和中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理学诊断共识意见,本文将肝脏神经内分泌肿瘤分为两类:第一类为神经内分泌瘤(neuroendocrine tumor, NET),包括NET1级(类癌, carcinoid)和NET2级;第二类为神经内分泌癌(neuroendocrine carcinoma, NEC)<sup>[1,9]</sup>(表1)。

免疫组织化学阳性结果判断CgA、Syn和CK18阳性表达为细胞浆出现棕黄色颗粒<sup>[10,11]</sup>, CD56阳性表达在细胞膜<sup>[12]</sup>, CD10和GPC3阳性表达定位在细胞浆和细胞膜<sup>[13,14]</sup>。依据陈远钦等<sup>[15]</sup>的方法进行结果判断,阳性细胞评分标准:显微镜下随机取5个高倍镜视野,阳性细胞数<5%为0分,5%-25%为1分,26%-50%为2分,>50%为3分;染色程度评分标准:无色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分;免疫组织化学结果为上述两项得分的乘积,0分为阴性(-),1-2分为弱阳性(+),3-5分为阳性(++),6分以上为强阳性(+++)。

## 2 结果

**2.1 临床表现** 原发组4例,女性2例,男性2例,发病年龄7-52岁。转移组30例,女性17例,男性13例,平均年龄52岁(22-75岁)。原发组4例患者均无乙型肝炎病毒感染史。转移组3例患者有乙型肝炎病毒感染史。原发组4例均因腹部包块就诊,其中2例出现腹痛症状,1例出现体质量减轻,病程(从出现临床症状或体征到就诊的时间)5-20 d。转移组中20例患者出现临床症状;10例无明显临床症状,因腹部包块就诊(表2)。30例患者中,病程最长的为10年,最短的为1 d。

**2.2 实验室检查** 原发组中,3例患者作了血清肿瘤标志物检测,其中1例CA-125升高。转移组中27例患者作了血清肿瘤标志物检测,其中1例癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、CA-125、CA19-9均升高;3例CEA、CA19-9升高;2例CA-125、CA19-9升高;5例CA19-9升高;4例CA-125升高;1例CEA升高。

### 2.3 影像学检查

**2.3.1 B超检查:** 原发组1例左肝内查见单个稍强回声团;3例右肝查见单个混合回声团;转移组有23例行腹部B超检查,其中1例腹部B超示肝脏形态未见异常,实质回声稍增强,欠均匀;3例胰腺体尾部查见弱回声团,肝脏未见异常;11例

表 1 肝脏神经内分泌肿瘤的病理学分级标准

NET1级(G1)	低度恶性, 位于肝脏内, 没有血管侵犯, 没有坏死<2核分裂象/10 HPF (1个HPF = 2 mm <sup>2</sup> ), 和Ki-67指数<2%
NET2级(G2)	中度恶性, 有血管侵犯, 可见局灶坏死2-20个核分裂/10 HPF, 和Ki-67指数 3%-20%
NEC(G3)	高度恶性, 侵犯邻近脏器和/或转移, 核异型性明显, 可见多灶坏死>20个核分裂象/10 HPF, 和Ki-67指数>20%

表 2 肝脏转移性神经内分泌肿瘤患者的临床表现

症状	n	百分比(%)
腹痛	17	56.7
腹泻	2	0.1
腹部包块	20	66.7
黄疸	3	0.1
呕吐	2	0.1
体质量减轻	8	26.7

左、右肝内均查见多个弱回声团; 1例肝左内叶及右前叶查见稍强回声团; 2例右肝内查见弱回声团; 4例左肝查见等回声团; 1例肝方叶查见单个稍强回声结节。

2.3.2 上腹部CT检查: 原发组4例平扫期提示肝实质中低密度肿块, 动脉期示肿块明显强化, 门静脉期肿块强化程度相对降低。转移组有22例行上腹部CT检查, 其中19例示肝内低密度占位; 1例示肝门区见小片状异常强化灶; 2例患者上腹部CT提示胰腺实性占位, 肝脏未见异常。

2.3.3 MRI检查: 原发组有2例行MRI检查, 转移组有10例行MRI检查, 均示肝内可见稍长T1/T2信号影, 增强动脉期呈不均匀强化, 门脉期强化减低。

## 2.4 病理学特点

2.4.1 大体检查: 原发组4例患者中, 1例肿瘤位于肝左叶, 3例肿瘤位于肝右叶, 4例均为单发肿块。转移组30例患者中, 有12例肝左、右叶均发现肿瘤, 5例肿瘤位于肝右叶, 11例肿瘤位于肝左叶, 2例肿瘤位于肝方叶。有11例为单发肿块, 肿瘤的体积从1.2 cm×1.0 cm×0.7 cm到22.2 cm×16.8 cm×10.5 cm, 其中9例肿瘤与周围肝组织分界清楚; 2例肿瘤与周围肝组织分界不清。19例为多发肿块, 直径0.5-13.4 cm, 平均3 cm, 其中12例肿瘤与周围肝组织分界清楚; 7例肿瘤与周围肝组织分界不清。

2.4.2 光镜检查: 原发组与转移组的组织学特点类似, 均具有神经内分泌肿瘤的共同特点, 肿瘤细胞呈圆形、立方形或短梭形, 大小一致, 排列呈梁柱状、实体巢团状或腺管状, 间质血管丰

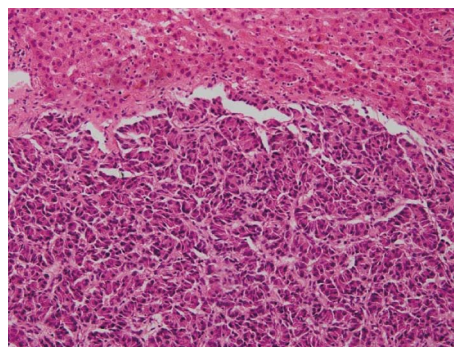


图 1 肝脏神经内分泌肿瘤NET2级: 肿瘤细胞呈腺样排列 (HE × 200)。

富。原发组中1例为NET1级(G1), 1例为NET2级(G2), 2例为NEC(G3)(表3)。转移组中3例为NET1级(G1), 肿瘤细胞呈腺管状或梁柱状排列, 未见出血、坏死, 核分裂<2个/10 HPF。15例为NET2级(G2), 其中7例肿瘤细胞排列呈腺管状或腺样(图1), 4例肿瘤细胞呈巢团状排列, 局灶区均可见坏死, 无出血, 核分裂5-18个/10 HPF; 4例肿瘤细胞呈梁柱状排列, 核分裂10-15个/10 HPF, 其中2例为穿刺活检标本, 未见出血、坏死, 2例局灶区可见坏死、出血。12例为NEC(G3), 肿瘤细胞排列呈粗梁柱状或实体巢团状, 核分裂>20个/10 HPF, 其中2例为穿刺活检标本, 未见出血、坏死, 其余10例均可见明显出血、坏死。

2.4.3 电镜检查: 原发组4例中有1例行电镜检查, 转移组有6例行电镜检查。肿瘤细胞均呈多边形, 边界清楚, 片状排列, 细胞质多局灶性溶解, 细胞器较少, 细胞核为圆形或椭圆形, 可见核膜内陷, 核内染色质较少, 多集中在核膜周围; 原发组1例在细胞质中可见具有特征性的神经内分泌颗粒(图2), 转移组3例可见神经内分泌颗粒。

2.4.4 免疫组织化学: 原发组4例Syn、CgA均呈胞浆阳性表达(表4)。转移组15例表达Syn、CgA、CD56等多种神经内分泌标记; 15例表达2种神经内分泌标记(图3, 表5)。

2.5 肝脏转移性神经内分泌肿瘤的特点 21例发现肿瘤的原发部位, 最常见的部位为胰腺(11例), 其余依次为肺(4例)、胆囊(2例)、十二指肠(1例)、宫颈(1例)、胆总管(1例)和胸腺(1例)。其中

## ■相关报道

张文书等对肝脏原发性神经内分泌肿瘤和转移性神经内分泌肿瘤进行分析, 发现肝脏原发性神经内分泌肿瘤多为单发肿块, 好发于肝右叶; 而肝脏转移性神经内分泌肿瘤多表现为肝内的多发肿块。肿瘤发生的部位、肿瘤的个数对鉴别原发性和转移性神经内分泌肿瘤有一定参考价值。

## ■创新盘点

本文分析肝脏神经内分泌肿瘤的病理特点,发现原发肿瘤与肝转移灶的组织学构象类似,其肿瘤分级相同;肿瘤分级越高, Syn、CgA等神经内分泌标记的表达越弱。近来研究发现 Syn、CgA对诊断肝脏神经内分泌肿瘤更具特异性。

表 3 肝脏原发性神经内分泌肿瘤患者的病理学特点

序号	肿瘤位置	肿瘤数目	肿瘤大小(cm)	肿瘤界限	出血	坏死	组织构象	细胞学形态	核分裂	肿瘤分级
1	肝右叶	1	9×5×5	边界清楚	明显	有	梁柱状或巢团状	立方形	13个/10 HPF	G2
2	肝右叶	1	12×9×7	边界欠清	无	无	腺管状	多边形	<2个/10 HPF	G1
3	肝左叶	1	2×2×1.5	边界清楚	无	有	巢团状或梁柱状	圆形或短梭形	>20个/10 HPF	G3
4	肝右叶	1	9×7×3.5	边界清楚	有	明显	巢团状	圆形或短梭形	>20个/10 HPF	G3

表 4 肝脏原发性神经内分泌肿瘤患者的免疫组织化学结果

序号	Syn	CgA	CD56	CD10	GPC3	CK18	Ki-67
1	++	++	++	-	-	+++	+, 5%
2	++	++	-	-	-	+++	+, 1%-2%
3	+	++	+++	-	-	ND	+, 60%
4	++	+	+	-	-	ND	+, 40%-50%

+: 弱阳性; ++: 阳性; +++: 强阳性; -: 阴性; ND: 未做。

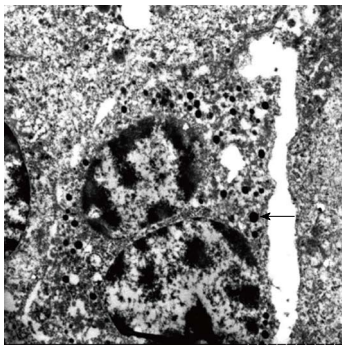


图 2 神经内分泌颗粒: 在肿瘤细胞质中可见直径100-200 nm的神经内分泌颗粒所示(× 200000)。

2例在原发肿瘤切除术后5年出现肝转移; 2例在原发肿瘤切除术后1年出现肝转移; 17例为原发肿瘤与肝转移灶同时被发现, 其中9例原发病灶与肝脏转移灶的组织学构象类似, 其肿瘤分级相同。

**2.6 治疗及随访** 原发组4例患者均行肿瘤切除术, 术前、术后均未行放射治疗、化学药物治疗及其他免疫治疗(表6)。转移组30例根据治疗方法不同, 分为6组: (1)手术组: 11例行肿瘤切除术, 术前、术后均未行放射治疗、化学药物治疗及其他免疫治疗, 其中1例失访; 2例神经内分泌癌患者(G3)因肿瘤导致的恶病质及多器官功能衰竭而死亡; 8例术后随访2年未见肿瘤复发或转移。手术组患者的平均生存时间为35 mo;

(2)肿瘤切除术+射频消融组: 1例失访; 2例术后随访2年未见肿瘤复发或转移, 从出现临床症状到目前生存时间为34-66 mo; (3)肿瘤切除术+化疗组: 1例神经内分泌癌患者(G3)死亡, 生存时间为48 mo; (4)肝活检+肝动脉化疗栓塞组: 2例行肝穿刺活检术, 1例行剖腹肝脏包块活检术, 术后均给予肝动脉化疗栓塞治疗, 1例NET2级(G2)和1例NEC(G3)患者死亡, 另1例随访2年肿瘤未见明显增大, 平均生存时间为34 mo; (5)肝脏穿刺活检+化疗组: 1例NET2级(G2)患者失访, 1例NET2级(G2)患者死亡, 1例患者随访2年肿瘤未见明显增大, 平均生存时间为65 mo; (6)肝活检组: 8例行剖腹肝脏包块活检术, 1例行肝穿刺活检术, 术前、术后均未行放射治疗、化学药物治疗及其他免疫治疗, 其中7例失访, 2例存活, 目前生存时间均为24 mo(表7, 8)。

### 3 讨论

**3.1 临床病理特点** 文献报道肝脏原发性神经内分泌肿瘤可出现腹痛、腹部包块、黄疸、恶心、呕吐、乏力、体质量减轻等症状<sup>[16,17]</sup>。本文发现肝脏原发性与转移性神经内分泌肿瘤的临床表现类似, 以腹部包块、腹痛最为常见, 这与文献报道相符。肝脏原发性与继发性神经内分泌肿瘤均具有神经内分泌肿瘤的组织形态学特点, 免疫组织化学染色显示肿瘤细胞表达CgA、



**■应用要点**  
肝脏原发性神经内分泌肿瘤的诊断必须符合两个条件：首先，必须具有神经内分泌肿瘤的病理特点；其次需完全排除肝外神经内分泌肿瘤转移至肝脏。可以通过长期随访、病理学特点和影像学检查及实验室检查来排除转移性肝脏神经内分泌肿瘤。

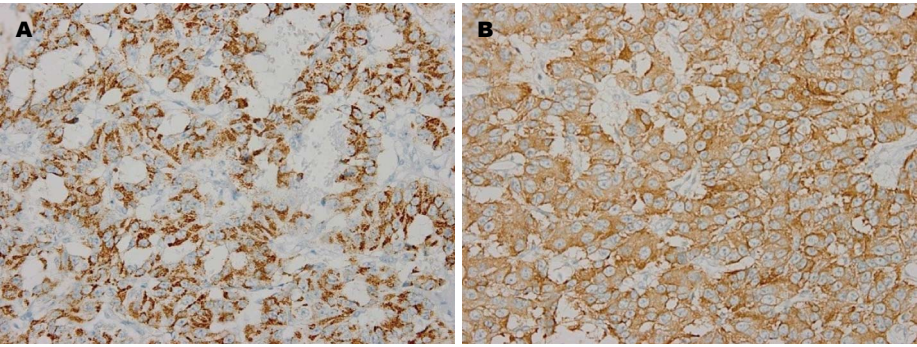


图 3 CgA和Syn在NET2级肿瘤细胞中的表达(IHC×400). A: CgA; B: Syn.

表 5 肝脏转移性神经内分泌肿瘤患者的免疫组织化学结果 (n)

肿瘤分级	Syn				CgA				CD56				Ki-67		
	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	<2%	3%–20%	>20%
G1	0	1	0	2	0	1	2	0	0	1	1	1	3	0	0
G2	3	2	5	5	2	0	7	6	0	4	7	4	0	15	0
G3	2	4	5	1	5	4	2	1	3	4	4	1	0	0	12

+: 弱阳性; ++: 阳性; +++: 强阳性; -: 阴性.

表 6 肝脏原发性神经内分泌肿瘤患者的治疗方法与随访结果

患者序号	患者年龄(岁)	患者病程(mo)	肿瘤分型	治疗方法	随访结果	目前生存时间(mo)
1	47	<1	G2	肿瘤切除术	存活	46
2	41	<1	G1	肿瘤切除术	存活	19
3	52	<1	G3	肿瘤切除术	死亡	4
4	7	<1	G3	肿瘤切除术	存活	12

表 7 肝脏神经内分泌肿瘤患者的年龄与预后的关系 (n)

年龄(岁)	随访结果(生存)	随访结果(死亡)	随访结果(失访)	合计
20–39	1	1	3	5
40–59	9	1	5	15
60–79	4	4	2	10
合计	14	6	10	30

Syn、CD56、NSE等广谱性神经内分泌细胞标志物。近来研究显示CgA和Syn对肝脏神经内分泌肿瘤的病理诊断更具特异性<sup>[10,18]</sup>。本文发现肿瘤分级越高,神经内分泌标记的表达越弱。

3.2 诊断与鉴别诊断 肝脏原发性神经内分泌肿瘤的诊断必须满足两个条件,首先,必须病理诊断为神经内分泌肿瘤;其次需完全排除肝外神经内分泌肿瘤转移至肝脏。肝脏原发性神经内分泌肿瘤与转移性神经内分泌肿瘤的区别要点

包括: (1)长期随访: 张文书等<sup>[19]</sup>发现初诊为肝脏原发性神经内分泌肿瘤的患者在4年后发现空肠的原发肿瘤,故长期随访是诊断肝脏原发性神经内分泌肿瘤的必要手段; (2)病理学特点: 张文书等<sup>[19]</sup>认为肿瘤发生的部位、肿瘤的个数对鉴别原发性和转移性神经内分泌肿瘤有一定的参考价值。肝脏原发性神经内分泌肿瘤好发于肝右叶,以单发肿块多见,而肝脏转移性神经内分泌肿瘤多表现为肝内的多发肿块<sup>[19,20]</sup>。本文发

## ■同行评价

本文对34例肝原发及转移神经内分泌肿瘤进行了临床病理分析,病例数较多,有预后随访,对临床及病理医师有一定参考价值。

表 8 肝脏转移性神经内分泌肿瘤患者的分级与预后 (n)

肿瘤分级	随访结果(生存)	随访结果(死亡)	随访结果(失访)	合计
G1	2	0	1	3
G2	8	2	5	15
G3	4	4	4	12
合计	14	6	10	30

现与报道相符; (3)影像学检查: 目前诊断肝脏原发性神经内分泌肿瘤常用的检查手段包括腹部B超、CT及MRI检查等。肝脏原发性神经内分泌肿瘤的影像学表现缺乏特异性, 难以与肝脏转移性神经内分泌肿瘤鉴别<sup>[19,21]</sup>。李晓琼等<sup>[22]</sup>认为用影像学方法查找肝内的转移灶和肝外原发病灶对诊断肝脏转移性神经内分泌肿瘤有意义。Yalav等<sup>[23]</sup>认为奥曲肽闪烁扫描技术有助于查找神经内分泌肿瘤的发病部位; (4)实验室检查: 杨晓鸥等<sup>[24]</sup>认为胃肠道来源的神经内分泌肿瘤, 已发生转移患者的血浆CgA明显高于未转移患者。而且监测患者血浆CgA水平, 对肝脏神经内分泌肿瘤治疗后复发有临床意义<sup>[23]</sup>。本文收集的34例病例均具有神经内分泌肿瘤的病理特点, 4例通过全身体格检查、胸片、腹部及泌尿系B超、腹部CT等检查和随访均未发现其他部位(脏器)存在肿瘤, 3例行胃肠镜检查未发现原发病灶, 1例年龄较小(7岁)未行胃肠镜检查, 其肿瘤位于肝右叶, 结合文献报道的肝脏原发性神经内分泌肿瘤的特点, 归入原发组。转移组30例中21例发现了肿瘤的原发部位; 9例虽未发现原发病灶, 仍归入转移组, 其原因为: (1)9例中2例肿瘤标志物CA19-9、CA125均升高, 2例CEA、CA19-9均升高, 2例CA125升高, 2例CA19-9升高, 1例CEA升高, 姚辉盛等<sup>[25]</sup>认为胃癌、结直肠癌患者血清CA19-9、CA125、CEA均可升高, 故尚不能排除胃肠道肿瘤转移至肝脏; (2)9例中有6例为多发肿块, 肿瘤位于肝左、右叶, 3例为单发肿块, 肿瘤位于肝左叶或肝方叶, 2例失访, 7例随访时间为1-2年, 时间较短, 结合文献报道肝脏转移性神经内分泌肿瘤的特点<sup>[19]</sup>, 考虑转移性神经内分泌肿瘤可能性大, 故目前虽未发现原发病灶, 仍诊断为转移性神经内分泌肿瘤。

肝脏神经内分泌肿瘤需与肝细胞癌及胆管细胞癌相鉴别, 典型的肝细胞癌排列构象多样, 多为梁柱状, 在小梁间有不规则血窦, 常有肝硬化的背景。胆管细胞癌的间质非血窦而是增生的纤维组织。除了组织形态, 最主要靠免疫组织化

学染色予以区别。肝脏神经内分泌肿瘤表达神经内分泌标记, 而肝细胞癌和胆管细胞癌则不表达神经内分泌标记。肝细胞癌可表达AFP、Hepatocyte、GPC-3等肝细胞标志物, 胆管细胞癌通常表达胆管上皮标志物如细胞角蛋白19(Cytokeratin 19, CK19)、CK7、黏蛋白(muc-1)、muc-2及CEA, 而肝脏神经内分泌肿瘤则均不表达这些标志物。

3.3 预后 肝脏神经内分泌肿瘤的预后与以下因素有关: (1)治疗方法: 有报道肝脏类癌术后5年的复发率为18%, 手术后5年的生存率为74%-78%。尽管肝脏神经内分泌肿瘤可出现术后复发, 肝切除术后患者的生存率还是令人满意的<sup>[26]</sup>。本文随访结果证明手术治疗对肝脏原发性神经内分泌肿瘤与转移性神经内分泌肿瘤均有疗效。如果肝脏神经内分泌肿瘤同时发生于肝左、右叶, 并且肿块巨大或为多发性肿块, 不能实施肝切除术者, 可行肝脏移植手术。肝移植术对原发性和转移性的肝脏神经内分泌肿瘤都有疗效<sup>[27,28]</sup>。其他的治疗方法有肝动脉化疗栓塞及射频消融治疗<sup>[29,30]</sup>。目前研究, 化学治疗对肝脏神经内分泌肿瘤患者弊大于利, 不推荐常规应用<sup>[31]</sup>; (2)患者年龄: 本文提示肝脏神经内分泌肿瘤的预后与患者年龄有关, 患者年龄越大, 预后越差; (3)肿瘤的分级: 本文显示肝脏神经内分泌肿瘤的分级越高, 预后越差。文献报道肝脏原发性神经内分泌肿瘤较肝脏转移性神经内分泌肿瘤及原发性肝细胞癌预后好<sup>[32]</sup>。本文收集肝脏原发性神经内分泌肿瘤的例数少, 转移性神经内分泌肿瘤患者的随访资料不齐全, 影响生存率的统计, 尚不能证实肝脏原发性神经内分泌肿瘤患者预后较好。有待进一步扩大样本量, 深入研究影响肝脏神经内分泌肿瘤的预后因素。

## 4 参考文献

- 1 中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理专家组. 中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理学诊断共识意见. 中华病理学杂志 2011; 40: 257-262
- 2 朱雄增. 胃肠胰神经内分泌肿瘤新分类的临床意义. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 12-14

- 3 Cerwenka H. Neuroendocrine liver metastases: contributions of endoscopy and surgery to primary tumor search. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1009-1014 [PMID: 22416174 DOI: 10.3748/wjg.v18.i10.1009]
- 4 Gravante G, De Liguori Carino N, Overton J, Manzia TM, Orlando G. Primary carcinoids of the liver: a review of symptoms, diagnosis and treatments. *Dig Surg* 2008; 25: 364-368 [PMID: 18984960 DOI: 10.1159/000167021]
- 5 Lin CW, Lai CH, Hsu CC, Hsu CT, Hsieh PM, Hung KC, Chen YS. Primary hepatic carcinoid tumor: a case report and review of the literature. *Cases J* 2009; 2: 90 [PMID: 19173727 DOI: 10.1186/1757-1626-2-90]
- 6 Touloumis Z, Delis SG, Triantopoulou C, Giannakou N, Avgerinos C, Derveniz C. Primary hepatic carcinoid; a diagnostic dilemma: a case report. *Cases J* 2008; 1: 314 [PMID: 19014620 DOI: 10.1186/1757-1626-1-314]
- 7 Fenoglio LM, Severini S, Ferrigno D, Gollè G, Serraino C, Bracco C, Castagna E, Brignone C, Pomerio F, Migliore E, David E, Salizzoni M. Primary hepatic carcinoid: a case report and literature review. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2418-2422 [PMID: 19452590 DOI: 10.3748/wjg.15.2418]
- 8 Shetty PK, Baliga SV, Balaiah K, Gnana PS. Primary hepatic neuroendocrine tumor: an unusual cystic presentation. *Indian J Pathol Microbiol* 2010; 53: 760-762 [PMID: 21045409 DOI: 10.4103/0377-4929.72078.]
- 9 杨宏, 张翠英. 胃肠胰神经内分泌肿瘤诊治进展. 现代中西医结合杂志 2013; 22: 2040-2043
- 10 张宝艳, 李向红, 崔海宏. CD56、嗜铬蛋白A和突触素在小细胞肺癌中的表达及其临床诊断价值. 诊断病理学杂志 2009; 16: 340-342
- 11 Rao MS, Khan AA, Parveen N, Habeeb MA, Habibullah CM, Pande G. Characterization of hepatic progenitors from human fetal liver during second trimester. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5730-5737 [PMID: 18837092 DOI: 10.3748/wjg.14.5730]
- 12 高福平, 魏谨. Syn及CD56在肺小细胞癌中的表达及意义. 临床肺科杂志 2012; 17: 900-901
- 13 Wu Y, Li ZW, Li JY. Phenotypic Classification of Well-Differentiated Gastric Adenocarcinoma. *Chin J Cancer Res* 2009; 21: 278-289
- 14 Yao M, Yao DF, Bian YZ, Zhang CG, Qiu LW, Wu W, Sai WL, Yang JL, Zhang HJ. Oncofetal antigen glypican-3 as a promising early diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 289-294 [PMID: 21669573]
- 15 陈远钦, 邱建龙, 张永辉, 陈婷婷, 郑素琼. GPC3Hep-Par-1在肝细胞癌中的表达及其价值. 实用癌症杂志 2012; 27: 353-355
- 16 Gao J, Hu Z, Wu J, Bai L, Chai X. Primary hepatic carcinoid tumor. *World J Surg Oncol* 2011; 9: 151 [PMID: 22099501 DOI: 10.1186/1477-7819-9-151]
- 17 Schwartz G, Colanta A, Gaetz H, Olichney J, Attiye F. Primary carcinoid tumors of the liver. *World J Surg Oncol* 2008; 6: 91 [PMID: 18727836 DOI: 10.1186/1477-7819-6-91]
- 18 盛伟琪. 胃肠胰神经内分泌肿瘤病理诊断的规范和进展. 中国癌症杂志 2013; 23: 401-407
- 19 张文书, 赵婧, 纪元, 杨博, 陈伶俐, 谭云山, 宿杰阿克苏, 朱雄增. 肝原发性与转移性神经内分泌肿瘤的临床病理分析. 中华肝胆外科杂志 2012; 18: 161-165
- 20 Jia C, Zhang Y, Xu J, Sun K. Experience in primary hepatic neuroendocrine tumor. *Turk J Gastroenterol* 2012; 23: 546-551 [PMID: 23161300 DOI: 10.4318/tjg.2012.0370]
- 21 朱世华, 张云山, 贺声, 张晶. 原发性肝、胆囊神经内分泌癌的影像学表现. 中华放射学杂志 2003; 37: 1143-1147
- 22 李晓琼, 张华, 李健丁. 肝脏原发性神经内分泌肿瘤的研究现状. 世界华人消化杂志 2013; 21: 984-989
- 23 Yalav O, Ülkü A, Akçam TA, Demiryürek H, Doran F. Primary hepatic neuroendocrine tumor: Five cases with different preoperative diagnoses. *Turk J Gastroenterol* 2012; 23: 272-278 [PMID: 22798119 DOI: 10.4318/tjg.2012.0465]
- 24 杨晓鸥, 李景南, 钱家鸣, 杨红, 陈蕾, 卢琳. 血浆嗜铬粒蛋白A对多种神经内分泌肿瘤的诊断价值. 中华内科杂志 2011; 50: 124-127
- 25 姚辉盛, 翁克丽. 肿瘤患者血清中癌胚抗原癌相关糖抗原125和199的检测情况分析. 中国肿瘤临床与康复 2012; 19: 244-246
- 26 Huang YQ, Xu F, Yang JM, Huang B. Primary hepatic neuroendocrine carcinoma: clinical analysis of 11 cases. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010; 9: 44-48 [PMID: 20133228]
- 27 Alekseev D, Goralczyk A, Lorf T, Ramadori G, Obed A. Ten years survival with excellent outcome after living donor liver transplantation from 70 years old donor for primary hepatic neuroendocrine carcinoma: Case report. *Int J Surg Case Rep* 2012; 3: 34-36 [PMID: 22288038 DOI: 10.1016/j.ijscr.2011.08.016]
- 28 靳曙光, 严律南. 应用肝移植治疗神经内分泌肿瘤肝转移的新进展. 中国普外基础与临床杂志 2009; 16: 449-451
- 29 Kong W, Qiu Y, Zhang W, Jun C, Zhu X, Qiu J, Ding Y. Diagnosis of primary hepatic carcinoid tumor: report of one case. *Chinese-German Journal of Clinical Oncology* 2008; 7: 673-P675
- 30 Komatsuda T, Ishida H, Furukawa K, Miyauchi T, Heianna J. Primary carcinoid tumor of the liver: report of a case with an emphasis on contrast-enhanced ultrasonographic findings. *J Clin Ultrasound* 2005; 33: 302-304 [PMID: 16134160]
- 31 Glazer ES, Tseng JF, Al-Refaie W, Solorzano CC, Liu P, Willborn KA, Abdalla EK, Vauthey JN, Curley SA. Long-term survival after surgical management of neuroendocrine hepatic metastases. *HPB (Oxford)* 2010; 12: 427-433 [PMID: 20662794 DOI: 10.1111/j.1477-2574.2010.00198.x]
- 32 Oh YH, Kang GH, Kim OJ. Primary hepatic carcinoid tumor with a paranuclear clear zone: a case report. *J Korean Med Sci* 1998; 13: 317-320 [PMID: 9681813]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 华支睾吸虫卵的形态变化、存活状况与胆囊结石形成的关系

乔铁, 罗小兵, 马瑞红, 郑培明, 罗振亮, 杨柳青

## ■背景资料

胆囊结石是一种常见的多因素疾病, 其发病机制仍不清楚。有报道认为华支睾吸虫感染与胆囊结石密切相关, 但具体机制有待研究。在胆囊结石中发现华支睾吸虫卵提示虫卵可能在结石形成过程中起到一定作用。

乔铁, 罗小兵, 马瑞红, 郑培明, 罗振亮, 杨柳青, 广州市番禺区胆囊疾病研究所 广东省广州市 511430

乔铁, 罗小兵, 马瑞红, 郑培明, 罗振亮, 杨柳青, 广州市南沙区第六人民医院 广东省广州市 511430

乔铁, 副主任医师, 主要从事胆道疾病和胆道微创外科的研究。

作者贡献分布: 本文由乔铁构思设计; 罗小兵完成写作; 马瑞红、郑培明、罗振亮及杨柳青完成实验与数据收集。

通讯作者: 乔铁, 副主任医师, 511430, 广东省广州市番禺区大石街岗东路88号, 广州市番禺区胆囊疾病研究所。fqj1958@163.com  
电话: 020-84784457

收稿日期: 2013-08-23 修回日期: 2013-10-04

接受日期: 2013-10-15 在线出版日期: 2013-11-28

## Relationship between morphological changes and survival status of *Clonorchis sinensis* eggs and gallstone formation

Tie Qiao, Xiao-Bing Luo, Rui-Hong Ma, Pei-Ming Zheng, Zhen-Liang Luo, Liu-Qing Yang

Tie Qiao, Xiao-Bing Luo, Rui-Hong Ma, Pei-Ming Zheng, Zhen-Liang Luo, Liu-Qing Yang, Institute of Gallbladder Diseases of Panyu District, Guangzhou 511430, Guangdong Province, China

Tie Qiao, Xiao-Bing Luo, Rui-Hong Ma, Pei-Ming Zheng, Zhen-Liang Luo, Liu-Qing Yang, the Sixth People's Hospital of Nansha District, Guangzhou 511470, Guangdong Province, China

Correspondence to: Tie Qiao, Associate Chief Physician, Institute of Gallbladder Diseases of Panyu District, 88 Gangdong Road, Dashi Street, Fanyu District, Guangzhou 511430, Guangdong Province, China. fqj1958@163.com

Received: 2013-08-23 Revised: 2013-10-04

Accepted: 2013-10-15 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To explore the relationship between *Clonorchis sinensis* (*C. sinensis*) infection and gallstone formation by observing the morphology and survival status of *C. sinensis* eggs in gallbladder bile, biliary sludge and gallstones from gallstone patients with *C. sinensis* infection.

**METHODS:** Twenty gallstone patients with *C. sinensis* infection were enrolled in this study. Their gallbladder bile, biliary sludge and gallbladder stones were collected to observe the

morphology of *C. sinensis* eggs using optical microscopy and scanning electron microscopy (SEM). Von Kossa staining and X-ray energy dispersive spectroscopy were used to analyze the calcium content on the surface of eggs and the substance surrounding them. Trypan blue staining was used for evaluating the survival rate of eggs.

**RESULTS:** In gallbladder bile, 88.3% of *C. sinensis* eggs had typical morphology, while 56.7% of eggs in biliary sludge and 91.5% in stones were deformed (including changes in shape and size, egg cover loss, invisible internal miracidia and adhesion bilirubin on the surface or in their surroundings). Under SEM, egg shell showed an uneven texture shape, and its surface and surroundings were adhered with mucus-like substances in varying degrees. The calcium content of egg surface and surroundings gradually increased from the bile, biliary sludge to stones. The survival rates of eggs in bile, biliary sludge and stones were 86.6%, 42.1% and 11.5%, respectively.

**CONCLUSION:** In patients infected with *C. sinensis*, *C. sinensis* eggs can remain in the gallbladder by their uneven texture-like egg shell and mucus-like substance from the biliary tract. Eggs can be further deformed, degenerated, and even calcified to nucleation, resulting in the formation of biliary sludge and participating in gallstone formation.

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

**Key Words:** Gallstones; Biliary sludge; Bile; *Clonorchis sinensis*; Morphology; Calcification

Qiao T, Luo XB, Ma RH, Zheng PM, Luo ZL, Yang LQ. Relationship between morphological changes and survival status of *Clonorchis sinensis* eggs and gallstone formation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3638-3646 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3638.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3638>

## ■同行评议者

巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外二科; 李胜, 研究员, 山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

## 摘要

**目的:** 观察胆囊结石合并华支睾吸虫感染患者的胆囊胆汁、胆泥及结石中的华支睾吸虫卵形态和存活状况, 探讨华支睾吸虫感染与胆囊结石的关系。

**方法:** 选取20例胆囊结石合并华支睾吸虫感染患者的胆囊胆汁、胆泥及结石标本, 行光学显微镜、扫描电镜(scanning electron microscope, SEM)观察其中的华支睾吸虫卵形态; 进一步用Von Kossa染色和X射线能谱仪分析虫卵表面及其周围物质的钙盐含量、台盼蓝(Trypan blue)染色观察虫卵的存活情况。

**结果:** (1)胆汁中88.3%的虫卵具有典型形态, 而胆泥中56.7%的虫卵和结石中91.5%的虫卵出现变形(包括外形、大小改变, 卵盖丢失、卵内毛蚴看不清、表面或四周吸附胆红素); 电镜下, 卵壳为凹凸不平的纹理状结构, 表面和周围不同程度黏附有黏液样物质; (2)从胆汁、胆泥到结石, 虫卵表面及其周围物质的钙盐含量逐步增多; (3)胆汁、胆泥和结石中虫卵的存活率分别是86.6%、42.1%和11.5%。

**结论:** 人体感染华支睾吸虫后, 虫卵可通过卵壳的纹理状结构和胆道的黏液样物质储留于胆囊内并发生变形、变性、死亡以至钙化成核, 形成胆泥, 进而参与形成胆囊结石。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胆囊结石; 胆泥; 胆汁; 华支睾吸虫; 形态; 钙化

**核心提示:** 人体感染华支睾吸虫后, 华支睾吸虫卵可通过表面的纹理状结构和胆道的黏液样物质较长时间储留于胆囊内并发生变形、变性、死亡以至钙化成核, 进而参与形成胆囊结石。

乔铁, 罗小兵, 马瑞红, 郑培明, 罗振亮, 杨柳青. 华支睾吸虫卵的形态变化、存活状况与胆囊结石形成的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3638-3646 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3638.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3638>

## 0 引言

华支睾吸虫病是由华支睾吸虫寄生在人体的肝胆管内所引起的以肝胆病变为主的一种人兽共患性寄生虫病, 人群主要通过生食或半生食含有华支睾吸虫囊蚴的淡水鱼虾感染此病<sup>[1-3]</sup>。据报道, 全球约有3500万例感染该病, 而中国约有

1500万例, 广东省是主要流行区之一, 感染率达16.42%<sup>[4-6]</sup>。

研究表明, 华支睾吸虫成虫可造成人体胆道的损伤和局部炎症、纤维化, 导致胆管炎、胆囊炎、胆管结石、甚至诱发胆管上皮癌、肝细胞癌<sup>[7-9]</sup>。胆囊结石与华支睾吸虫感染的密切关系已有报道<sup>[10,11]</sup>, 但其致病机制尚不明确。本实验室前期研究发现, 在华支睾吸虫感染流行区, 部分胆囊结石患者的胆囊结石内存在虫卵<sup>[12]</sup>, 提示华支睾吸虫卵在胆囊结石形成过程中有一定作用。为了了解华支睾吸虫卵在胆囊结石形成过程中的作用, 我们对比观察了胆囊胆汁、胆囊胆泥和结石中的华支睾吸虫卵的形态、存活状况及其与周围物质的结构关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 20例胆囊结石患者来自于2011-05/2011-11间广州市南沙区第六人民医院普外科住院部, 年龄32-61岁, 男性14例, 女性6例, 均为广州市户籍。所有患者有食用或接触鱼/虾生史, 血清华支睾吸虫IgG抗体(EASE-MEDTREND, USA)均为阳性, 胆囊胆汁、胆泥和结石中均同时检见华支睾吸虫卵。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本的获取:** 经过医院伦理委员会的审核并经患者知情同意, 在CHiAO硬质胆囊镜取石保胆术中, 切开胆囊壁底部后, 50 mL无菌注射器抽取所有胆囊胆汁, 装于无菌容器中送检。胆囊胆泥于术中使用CHiAO胆道镜专用的泥沙样结石吸取箱获取, 结石标本为术中直接取得。个别胆囊胆汁中混有少量胆泥, 仍视为胆囊胆汁。所有标本获取后于2 h内送检, 并于送达后24 h内完成分析。

**1.2.2 标本的处理及光学显微镜观察:** (1)胆囊胆汁: 取送检的胆囊胆汁5 mL, 5000 r/min离心5 min, 倾去上层胆汁, 留取离心物约300  $\mu$ L, 充分振荡混匀备用; (2)胆囊胆泥: 称取送检的胆泥10 mg, 加适量双蒸水制成混悬液备用; (3)胆囊结石: 送检结石用蒸馏水冲洗表面3遍后, 直径>0.5 cm的结石取10 mg(不足10 mg者取全部), 泥沙样结石取数粒于研钵内, 加300  $\mu$ L蒸馏水研磨均匀备用。

每例标本涂玻片3张(每张约100  $\mu$ L), 面积接近每张玻片的1/2。然后光学显微镜(OLYMPUS BX51)观察其中虫卵的形态及其变化情况,

## ■ 研究前沿

华支睾吸虫成虫寄生在人体后, 可引起人体肝胆系统的一系列损伤, 其相应的致病机制多集中在成虫的致病作用方面, 而有关虫卵的致病作用和地位少有报道。

## ■相关报道

韩国学者Uddin等(2012)用体外培养的方式,发现华支睾吸虫虫卵在体外随着培养时间的延长,出现明显的形态变化和生存力丧失。乔铁等(2012)在胆囊结石中发现了大量华支睾吸虫卵,并指出胆色素结石形成与华支睾吸虫感染有关。

表 1 胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵形态改变情况比较 ( $n = 20$ , mean  $\pm$  SD)

标本类型	形态改变情况(%)	P值
胆囊胆汁	11.7 $\pm$ 8.5	<0.001
胆囊胆泥	56.7 $\pm$ 14.6	
胆囊结石	91.5 $\pm$ 5.8	

P值: 任意两组间比较均 $P < 0.001$ 。

每张涂片不少于100个高倍视野。

1.2.3 标本的染色: 3种标本的前期处理同1.2.2。

(1)钙盐(Von Kossa)染色: 参考文献[13], 取处理后备用的标本涂片, 每例2张(约200  $\mu$ L), 自然干燥后染色, 二甲苯透明、中性树胶封片, 显微镜观察; (2)台盼蓝(Trypan blue)染色: 取上一步处理后的剩余标本(100  $\mu$ L), 加入4%台盼蓝(Trypan blue)染液(Sigma公司)100  $\mu$ L, 混合均匀, 静置3-5 min, 再用无菌滴管轻轻吹打混匀, 吸取100  $\mu$ L滴加到洁净玻片, 加盖玻片, 显微镜检, 观察、记录华支睾吸虫卵内部毛蚴的着色情况。

1.2.4 标本的扫描电镜观察和X射线能谱仪分析: 取5 mL胆囊胆汁的离心沉淀物、适量的胆囊胆泥和胆囊结石, 37  $^{\circ}$ C干燥、导电胶固定、喷金, 扫描电镜(德国ZEISS, LIS10)观察其中虫卵形态和X射线能谱仪(英国OXFORD公司)分析钙元素含量, SEM所用的电子枪加速电压为20 kV。

**统计学处理** 采用统计学软件SPSS16.0分析数据。胆囊胆汁、胆泥和结石中的虫卵形态变化及存活情况用mean  $\pm$  SD表示, 3个组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 各组间的多重比较采用SNK(Student-Neuman-Keuls)法, 检验水平为 $\alpha = 0.05$ (双侧),  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 3种标本中的华支睾吸虫卵形态及其与周围物质的关系 光学显微镜下, 胆囊胆汁中88.3%的虫卵易于辨认: 即芝麻形, 有壳, 卵内常可见内容物, 狭窄一端可见突出的卵盖, 宽而钝圆的一端(卵盖对侧)可见到点状小突起(图1)。相比之下, 胆泥和结石中则分别有56.7%和91.5%的虫卵不再具备上述典型形态或者说发生了形态改变而难于辨认, 这些形态改变表现为: 芝麻形外观变为椭圆形或条状、卵内容物看不清、卵盖丢失、卵壳表面和四周吸附黏液样物质和/或胆红素等(图1)。2种标本中形态改变的华支睾吸虫

表 2 胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵存活率比较 ( $n = 20$ , mean  $\pm$  SD)

标本类型	存活率(%)	P值
胆囊胆汁	86.6 $\pm$ 9.5	<0.001
胆囊胆泥	42.1 $\pm$ 11.8	
胆囊结石	11.5 $\pm$ 6.8	

P值: 任意两组间比较均 $P < 0.001$ 。

卵所占的百分比差别显著( $P < 0.05$ , 表1)。

扫描电镜下, 胆汁中所有虫卵表面或卵壳为纹理状结构, 虫卵表面部分区域黏附有少量黏液样物质(图2), 而在胆泥中, 可见虫卵表面及四周大部分区域黏附黏液样物质甚至被黏液样物质完全包裹(图2)。在胆囊结石中, 还可见虫卵卵盖丢失、表面纹理状结构消失而变得光滑、周围黏附黏液样物质和碳酸钙结晶、甚至镶嵌于周围物质中(图2)。

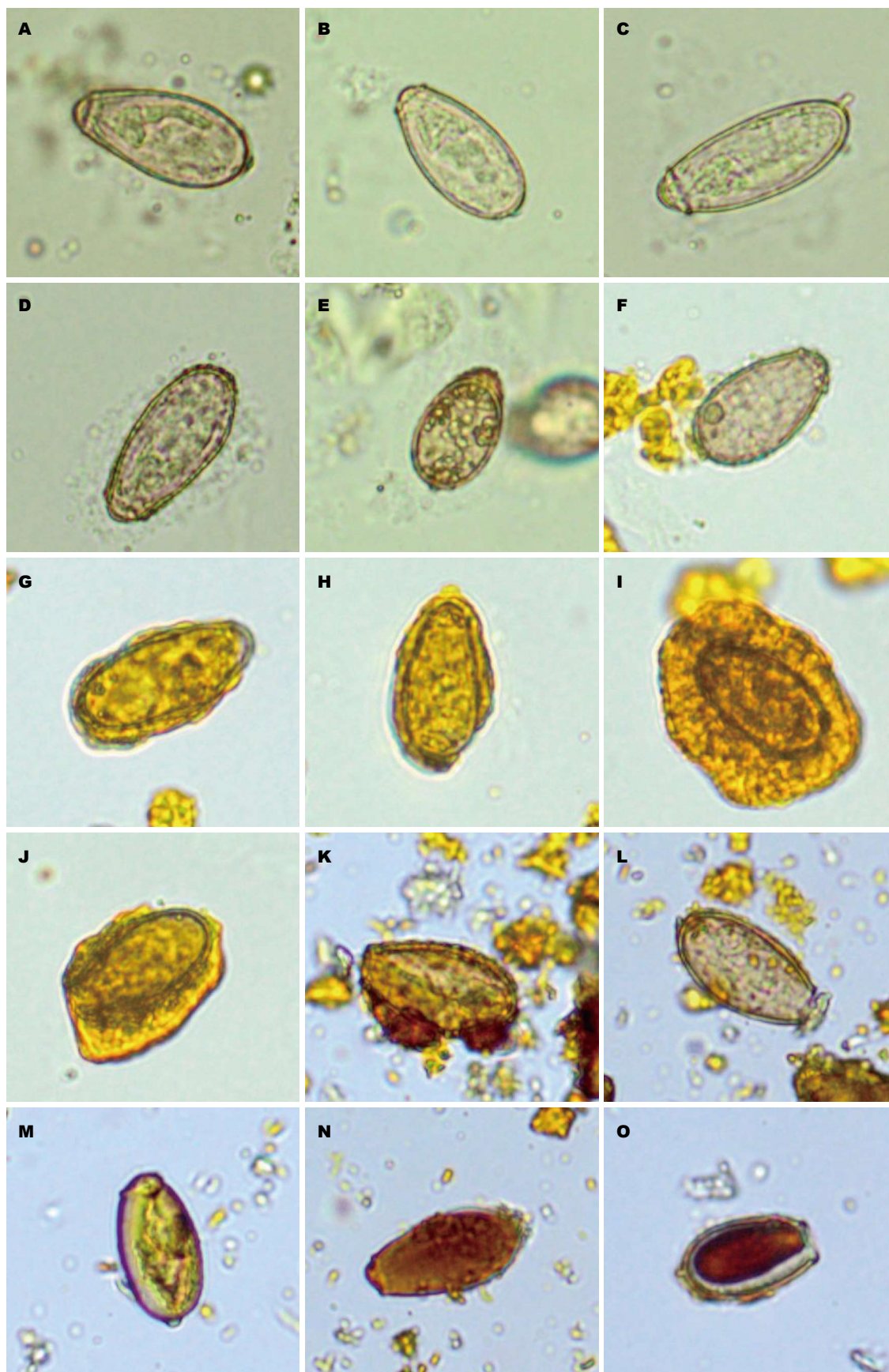
2.2 华支睾吸虫卵表面和周围物质的钙盐染色 虫卵表面和周围物质的钙盐含量在一定程度上可反映虫卵在胆囊内储留时间的长短和钙化情况。钙盐(Von Kossa)染色结果显示: 从胆囊胆汁、胆泥到结石, 华支睾吸虫卵表面和周围物质的钙盐含量逐步递增(图3)。但在同一种标本上, 钙盐含量存在差异(图3); 进一步使用扫描电镜和X射线能谱分析仪, 分析3种标本中的虫卵表面和周围物质的钙元素分布情况, 与钙盐染色结果相符(图4)。

2.3 不同标本中华支睾吸虫卵存活率的比较 使用台盼蓝染色观察了胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵存活率(表2)。结果显示: 在胆汁中, 86.6%的华支睾吸虫卵是存活或有活力的, 表现为台盼蓝染液不能透过卵壳(生物膜)而使卵内毛蚴着色; 而胆泥和结石中分别只有42.1%和11.5%的虫卵表现为存活(图5), 从胆汁、胆泥到结石, 华支睾吸虫卵的存活率明显减少( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

胆囊结石是世界范围的常见病、多发病<sup>[14-16]</sup>。胆囊结石的发病是多种因素综合作用的结果。流行病学研究表明, 个体因素、饮食习惯、女性妊娠、家族遗传及消化系统疾病等均与胆囊结石的发病密切相关<sup>[17-19]</sup>。近年来, 越来越多的证据表明, 胆道结石的发生可能与华支睾吸虫感染有关<sup>[20-22]</sup>。有研究认为, 成虫





## ■创新盘点

本研究采用显微观察、组织化学染色以及X-射线能谱仪观察、分析了胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵形态和存活率, 揭示了华支睾吸虫卵在胆囊结石形成中的作用和地位。

图 1 光学显微镜下, 胆囊胆汁、胆囊胆泥和胆囊结石中的正常及变形的华支睾吸虫卵(Mag × 400). A, B: 胆汁中的正常形态虫卵; C: 胆汁中的椭圆形虫卵; D: 胆汁中的表面吸附颗粒物质的虫卵; E: 胆汁中长度变短、表面及一端吸附胆红素和颗粒物的虫卵; F: 胆泥中形态较正常的虫卵, 但卵内毛蚴已看不清; G-I: 胆泥中的虫卵, 表面及四周黏附黏液和胆红素; J: 胆泥中虫卵, 卵盖丢失并黏附胆红素和黏液; K: 结石中的虫卵, 表面和周边吸附胆红素和黏液; L: 结石中卵盖即将分离的虫卵; M: 结石中固化的虫卵, 成半透明状; N: 结石中被胆红素和黏液完全包裹的虫卵; O: 结石中的虫卵, 卵盖丢失、卵内毛蚴吸附胆红素呈棕褐色。



### ■应用要点

本研究在一定程度上揭示了华支睾吸虫卵在胆囊结石发生中的地位和作用,为华支睾吸虫感染与胆囊结石的相关性提供了一个重要佐证,同时也可能为华支睾吸虫尤其是虫卵对宿主的作用、华支睾吸虫感染引起的肝胆疾病的致病机制研究以及胆囊结石病的预防治疗提供一种新的参考,具有重要的流行病学及临床意义。

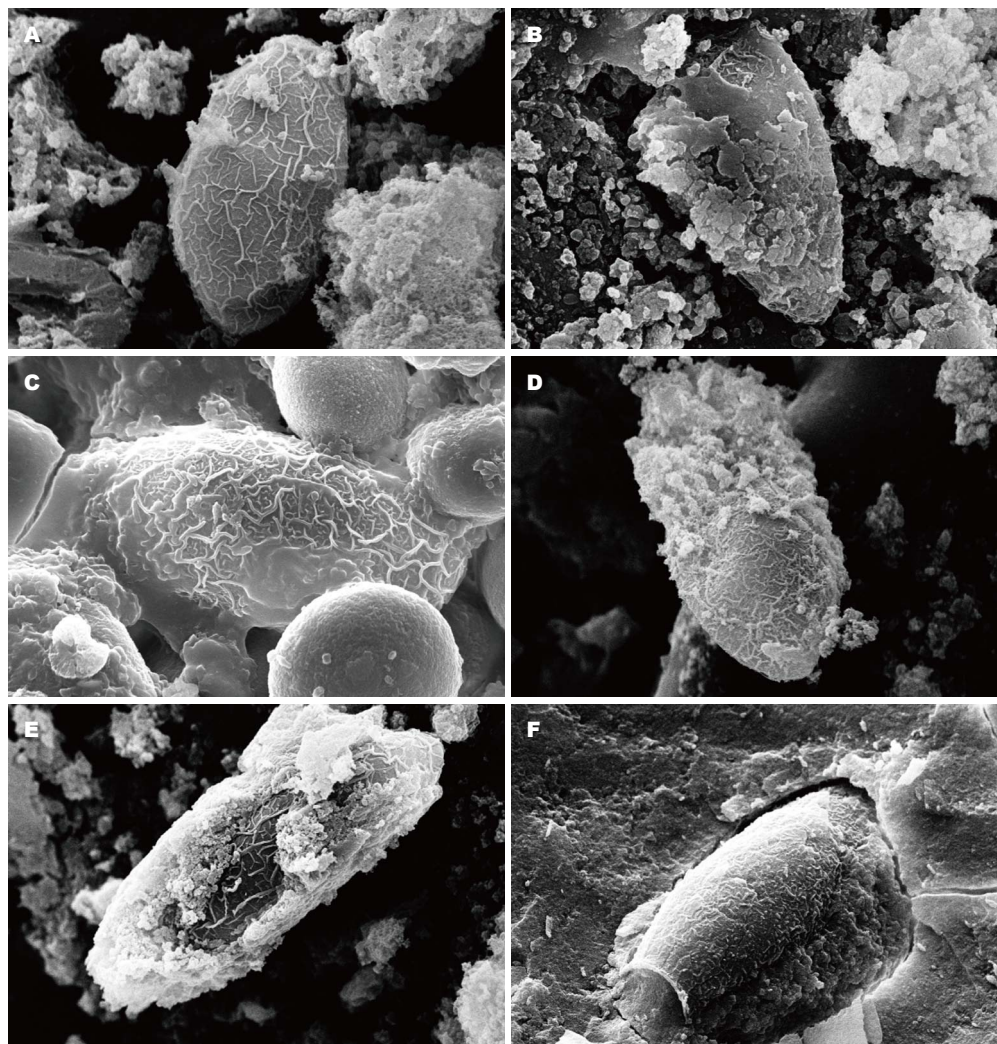


图2 电子扫描显微镜下,胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵形态(Mag × 3000). A: 胆汁中的虫卵,表面呈凹凸不平的纹理状结构; B: 胆泥中的虫卵,表面被胆红素颗粒和黏液包裹; C: 结石中的虫卵,表面及四周黏附黏液和碳酸钙结晶; D: 胆汁中的虫卵,卵盖端黏附有黏液; E: 胆泥中的虫卵,未被黏液完全包裹,可见部分纹理状结构; F: 镶嵌于结石中的虫卵,卵盖丢失、表面纹理状结构消失而变得光滑。

在肝胆管内破坏胆管上皮和黏膜下血管,再加上虫体的分泌物、代谢产物和机械刺激等因素的作用,可引起胆道结石的发生<sup>[23]</sup>。此外,华支睾吸虫感染引起胆道上皮分泌的糖蛋白增加,并附着于虫卵表面作为结石的核心,起支架和黏附剂作用,促进胆红素钙的沉积,最后导致色素类结石的形成<sup>[23,24]</sup>。乔铁等更是在胆囊结石中发现了大量华支睾吸虫卵<sup>[12]</sup>。尽管如此,华支睾吸虫卵在胆囊结石形成中所处的地位和作用仍不清楚,有待深入研究。

研究认为胆囊结石形成与胆汁的性状和成分改变<sup>[25,26]</sup>以及胆泥的形成有关<sup>[27-29]</sup>,本实验在华支睾吸虫病流行区20例胆囊结石患者的胆囊胆汁、胆泥和胆囊结石中同时发现了华支睾吸

虫卵。与胆囊胆汁相比,胆泥和结石中的虫卵大多为变形和无活力或死亡的虫卵(表1, 2)。结果提示,在感染华支睾吸虫的胆囊结石患者体内,胆汁中的部分虫卵可较长时间停留在胆囊内,并与胆囊中胆泥甚至结石的形成有一定关联。

然而,胆囊结石的形成是一个复杂的演变过程。如果虫卵全程参与其中,其必然在胆囊内经历从液相到固相的形态变化,本实验结果证实了上述推测:即胆汁中的80%以上的虫卵多为形态典型且有活力,而胆泥和结石中则分别有50%和85%以上的虫卵出现变形和变性、死亡(表1, 2)。这提示人体感染华支睾吸虫后,部分华支睾吸虫虫卵可以长时间储留于胆囊内并发生形态改变、变性、死亡,直至成核,参与胆囊结石的形成。韩国学者Uddin等<sup>[30]</sup>用体外培养的方



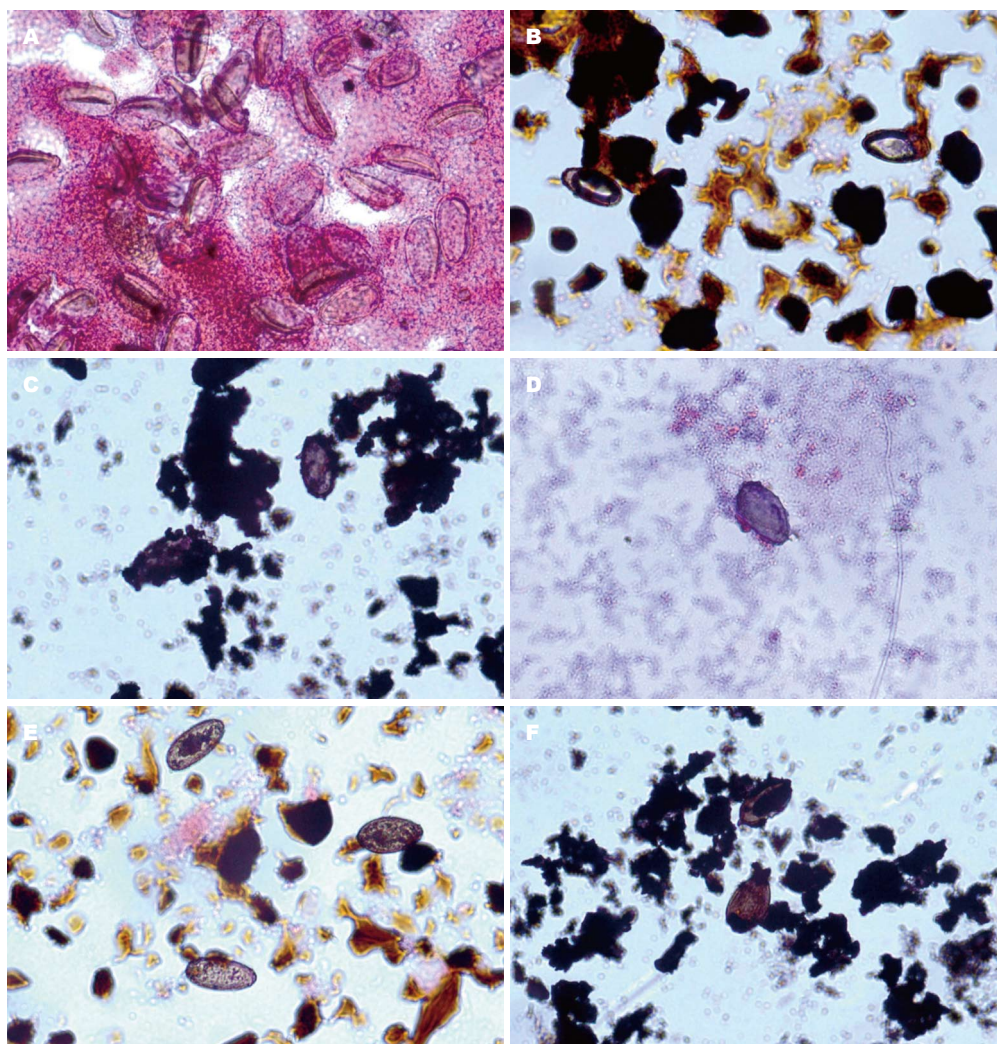


图3 胆囊胆汁、胆泥和结石中, 华支睾吸虫卵及周围物质的Von Kossa(钙盐)染色结果(Mag × 400), 黑色或黑褐色为染色阳性即黑色或黑褐色染色区域为含有钙盐区域, 提示此区域存在钙化。A: 胆汁中的虫卵和黏液染色为阴性; B, E: 胆泥中虫卵表面和周围大部分区域呈阳性, 棕黄色区域为胆红素和黏液混合物; C, F: 结石中虫卵表面和周围全部区域染色呈强阳性; D: 胆汁中个别虫卵表面染色成弱阳性。

#### 同行评价

本研究采用显微观察、组织化学染色以及X-射线能谱仪观察、分析了胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵形态和存活率, 对于解释华支睾吸虫卵是否参与胆囊结石形成的过程, 华支睾吸虫尤其是虫卵对宿主的作用、华支睾吸虫感染引起的肝胆疾病的致病机制研究, 具有重要的流行病学及临床意义。书写规范, 思路清晰。

式, 将华支睾吸虫卵置于不同培养液中, 观察了虫卵的形态、存活率与培养液和培养时间的关系。发现虫卵在体外随着培养时间的延长, 出现明显的形态变化和生存力丧失。该结果从一个侧面证实了本实验的结果和推论。

胆囊结石的形成可以被看做是一种异常的生物矿化(包括钙化)过程<sup>[31,32]</sup>, 因此, 虫卵表面和周围物质的钙盐含量可部分反映虫卵在胆囊内滞留的时间。本实验结果也与上述观点一致, 发现从胆汁、胆泥到结石, 虫卵表面和周围物质的钙盐含量逐级增多(图3, 4)。同时也表明, 研究病例胆囊结石的形成与虫卵的钙化有关。需要指出的是, 在同一胆汁、胆泥和结石中, 个别虫卵之间钙盐含量存在差异(图3, 4), 提示虫卵参与胆囊结石形成是渐进累积的过程, 只有部分

虫卵能储留于胆囊并最终参与结石的形成。此外, 虫卵储留于胆囊内的数量和时间可能还与成虫的排卵量和持续时间、胆囊的收缩功能、胆汁的化学成分、胆道中黏蛋白的含量及机体的感染程度和免疫情况等有关。这也可用来解释不是所有的华支睾吸虫感染患者都会发生胆囊结石。

以上结果引发了一个不容回避的问题, 华支睾吸虫卵是如何停留在胆囊内并参与结石的形成? 扫描电镜结果显示, 虫卵表面为特殊的网状结构(图2), 此结构可使虫卵容易吸附并停留于凹凸不平的胆囊黏膜皱襞内。同时, 机体感染华支睾吸虫后, 引起胆道黏蛋白分泌增多<sup>[33]</sup>, 黏蛋白不同程度黏附在虫卵表面和周围(图2), 使其不易排出胆囊; 附着于虫卵表面和周围的黏蛋



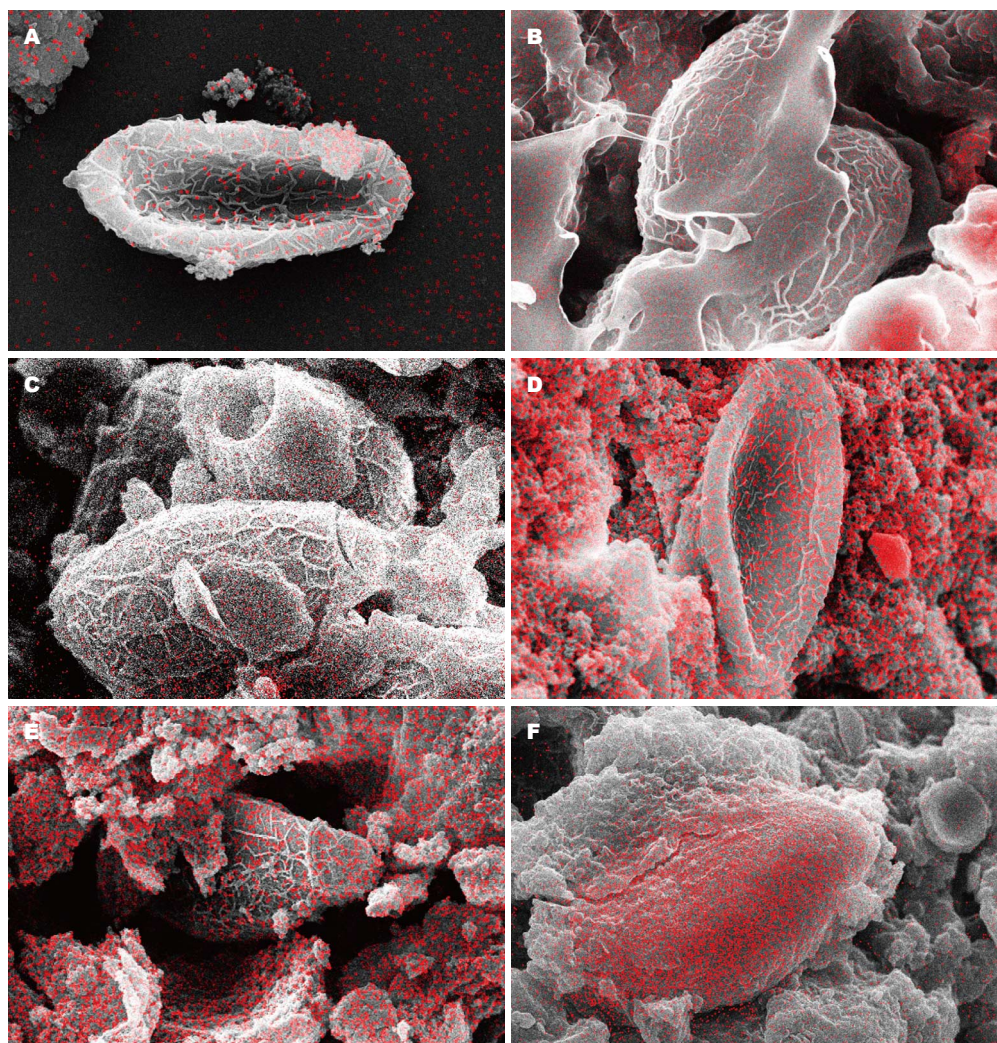


图4 扫描电镜和X-射线能谱仪联合分析胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵及周围物质的钙元素分布情况,红点代表钙元素,红点越多越密集,代表钙含量越高(Mag  $\times 3000$ )。A, D: 同一例胆汁中的两个虫卵,表面钙含量差别较大; B, E: 同一例胆泥中,虫卵和周围物质的钙含量不同; C, F: 同一例结石中,被黏液样物质包裹的虫卵表面钙含量较高。

白还能促进碳酸钙、胆红素钙、磷酸钙等钙盐的沉积<sup>[34-36]</sup>,致使虫卵钙化、成核,导致结石形成。但是,上述结论还需要进一步证实。

需要指出的是,胆囊结石是一种多因素疾病,华支睾吸虫感染可能只是因素之一,因此其可能会改变胆囊结石的人群分布和结石类型<sup>[10]</sup>,但对发病率影响不是绝对的。对于二者的关系,应该从两个方面来看待。一方面,本研究结果已经证实华支睾吸虫感染尤其是华支睾吸虫卵在胆囊结石形成过程中有一定作用;另一面,这只表明二者有相关性,并不能说明二者存在因果关系或先后关系,二者既可独立发病又存在某种特定联系。我们的观点是:胆囊结石病是一种多因素的疾病,是许多因素如饮食、年龄、性别、遗传、身体内环境等综合作用的结果,其中任何一个因素包括华支睾吸虫感染,都可能

是危险因素而非决定因素。

总之,人体感染华支睾吸虫后,虫卵可通过表面的纹理状结构和胆道的黏液样物质储留于胆囊内并发生变形、变性、死亡以至钙化成核,形成胆泥,进而参与形成胆囊结石。本研究在一定程度上揭示了华支睾吸虫卵在华支睾吸虫感染相关的胆囊结石发生中的地位和作用,为华支睾吸虫感染与胆囊结石的相关性提供了一个重要佐证,同时也可能为华支睾吸虫尤其是虫卵对宿主的作用、华支睾吸虫感染引起的肝胆疾病的致病机制研究以及胆囊结石病的预防治疗提供一种新的参考,具有重要的流行病学及临床意义。

**志谢:** 感谢广州市南沙区第六人民医院普外科冯禹阳、王兴强、王小锋、王刚、黄毅敏医生



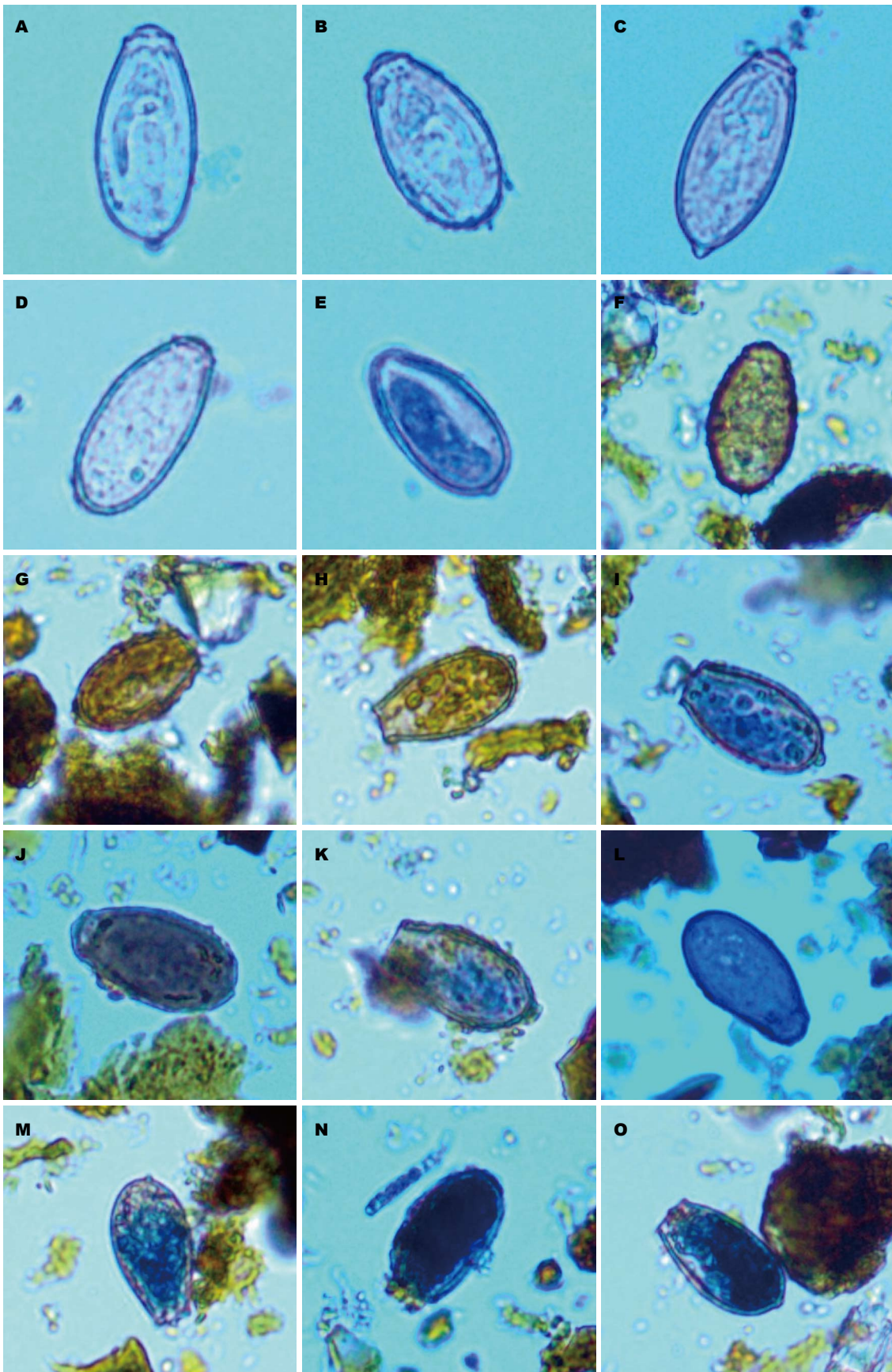


图 5 胆囊胆汁、胆泥和结石中, 华支睾吸虫卵的台盼蓝(Trypan blue)染色结果, 存活的虫卵表现为其内部的毛蚴不着蓝色, 而变性或死亡的虫卵则内部毛蚴着色(Mag  $\times 400$ )。A-D: 胆汁中存活的虫卵; E: 胆汁中变性或死亡的虫卵; F: 胆泥中钙化的虫卵; G, H: 胆泥中死亡的虫卵, 卵盖丢失, 毛蚴被胆红素染色; I, J: 胆泥中变性或死亡的虫卵; K-O: 结石中变性或死亡的虫卵, 内部毛蚴不同程度地蓝染。

提供研究用的胆囊胆汁、胆泥和结石标本, 特此志谢!

#### 4 参考文献

- 1 Chai JY, Darwin Murrell K, Lymbery AJ. Fish-borne parasitic zoonoses: status and issues. *Int J Parasitol* 2005; 35: 1233-1254 [PMID: 16143336 DOI: 10.1016/j.ijpara.2005.07.013]
- 2 钱门宝, 周晓农, 方悦怡, 梁松, 陈颖丹. 加强中国华支睾吸虫病研究. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志* 2011; 29: 211-214
- 3 Zhou P, Chen N, Zhang RL, Lin RQ, Zhu XQ. Food-borne parasitic zoonoses in China: perspective for control. *Trends Parasitol* 2008; 24: 190-196 [PMID: 18314393 DOI: 10.1016/j.pt.2008.01.001]
- 4 Keiser J, Utzinger J. Food-borne trematodiasis. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22: 466-483 [PMID: 19597009 DOI: 10.1128/CMR.00012-09]
- 5 Xue-Ming L, Ying-Dan C, Yi O, Hong-Man Z, Rui L, Weil M. Overview of human clonorchiasis sinensis in China. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2011; 42: 248-254 [PMID: 21710843]
- 6 全国人体重要寄生虫病现状调查办公室. 全国人体重要寄生虫病现状调查报告. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志* 2005; 23: 332-340
- 7 Conlan JV, Sripa B, Attwood S, Newton PN. A review of parasitic zoonoses in a changing Southeast Asia. *Vet Parasitol* 2011; 182: 22-40 [PMID: 21846580 DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.07.013]
- 8 杨六成, 黄宝裕, 薛桂芳, 李晓林, 莫顶立. 华支睾吸虫感染与肝胆胰外科疾病的关系(附650例临床分析). *中华肝胆外科杂志* 2004; 10: 165-166
- 9 朱师晦, 罗章炎, 钟杏裳. 中华分支睾吸虫病与其它肝胆疾病的关系-2214例临床分析. *中华内科杂志* 1982; 21: 34
- 10 Qiao T, Ma RH, Luo XB, Luo ZL, Zheng PM. Cholecystolithiasis is associated with *Clonorchis sinensis* infection. *PLoS One* 2012; 7: e42471 [PMID: 22905137 DOI: 10.1371/journal.pone.0042471]
- 11 乔铁, 马瑞红, 张阳德, 冯禹阳, 王兴强, 王小锋. 华支睾吸虫感染与胆囊结石研究报告. *中国现代医学杂志* 2009; 19: 2094-2098
- 12 乔铁, 马瑞红, 罗小兵, 罗振亮, 郑培明. 华支睾吸虫卵参与胆囊结石的形成. *中华肝胆外科杂志* 2012; 18: 671-675
- 13 Bancroft J, Stevens A. *Theory and Practice of Histological Techniques*. 2nd Ed. New York: Churchill Livingstone, 1982: 125, 139
- 14 谭宜将, 刘衍民. 胆囊结石发病原因研究现状与进展. *中国实用外科杂志* 2009; 29: 602-603
- 15 张新燕, 冯远德, 宋文渊. 胆囊结石病的治疗进展. *海南医学院学报* 2010; 16: 251-254
- 16 韩天权, 蒋兆彦, 张圣道. 胆固醇结石形成机制的基因研究现状与展望. *外科理论与实践* 2009; 14: 125-127
- 17 Shaffer EA. Gallstone disease: Epidemiology of gallbladder stone disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 981-996 [PMID: 17127183 DOI: 10.1016/j.bpg.2006.05.004]
- 18 Stinton LM, Myers RP, Shaffer EA. Epidemiology of gallstones. *Gastroenterol Clin North Am* 2010; 39: 157-169, vii [PMID: 20478480 DOI: 10.1016/j.gtc.2010.02.003]
- 19 于岚, 何小东, 武峤. 胆囊结石相关危险因素的探讨. *中华肝胆外科杂志* 2011; 17: 711-713
- 20 Huang SC, Chen L, Eng HL, Chen WJ. Gallbladder adenocarcinoma with gallstone and calcified ova of *clonorchis sinensis*--a case report. *Changcheng Yixue Zazhi* 1994; 17: 94-99 [PMID: 8205506]
- 21 边红放, 张利永, 向军, 李玲芬, 许亚辉, 李勇, 王敏华. 华支睾吸虫感染并发胆结石一例. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志* 2001; 19: 353
- 22 谢琼琚, 徐仙赞, 苏水莲. 重症华支睾吸虫病合并胆结石1例. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志* 2009; 27: 106-106
- 23 李雍龙. *人体寄生虫学*. 第6版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 187
- 24 陈兴保, 吴观陵, 孙新. *现代寄生虫学*. 北京: 人民军医出版社, 2002: 571-589
- 25 蒋兆彦, 韩天权, 张圣道. 胆固醇结石病的发生机制. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1191-1195
- 26 李新平, 欧阳克清, 蔡绍哲. 胆汁分泌与排出的调节. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 1066-1070
- 27 Shaffer EA. Gallbladder sludge: what is its clinical significance? *Curr Gastroenterol Rep* 2001; 3: 166-173 [PMID: 11276386 DOI: 10.1007/s11894-001-0015-6]
- 28 Lee SP, Nicholls JF. Nature and composition of biliary sludge. *Gastroenterology* 1986; 90: 677-686 [PMID: 3943697]
- 29 Pazzi P, Gamberini S, Buldrini P, Gullini S. Biliary sludge: the sluggish gallbladder. *Dig Liver Dis* 2003; 35 Suppl 3: S39-S45 [PMID: 12974509 DOI: 10.1016/S1590-8658(03)00093-8]
- 30 Uddin MH, Bae YM, Choi MH, Hong ST. Production and deformation of *Clonorchis sinensis* eggs during in vitro maintenance. *PLoS One* 2012; 7: e52676 [PMID: 23285144 DOI: 10.1371/journal.pone.0052676]
- 31 Demir T. Is there any relation of nanobacteria with periodontal diseases? *Med Hypotheses* 2008; 70: 36-39 [PMID: 17587506 DOI: 10.1016/j.mehy.2007.04.034]
- 32 Nancollas GH. Crystallization in bile. *Hepatology* 1984; 4: 169S-172S [PMID: 6090296 DOI: 10.1002/hep.1840040832]
- 33 王乐旬, 徐劲. 华支睾吸虫致胆管癌的研究进展. *国际医学寄生虫病杂志* 2010; 37: 366-370
- 34 Imano M, Satou T, Itoh T, Takeyama Y, Yasuda A, Peng YF, Shinkai M, Haji S, Yasuda C, Nakai T, Yasuda T, Imamoto H, Okuno K, Shiozaki H, Ohyanagi H. An immunohistochemical study of osteopontin in pigment gallstone formation. *Am Surg* 2010; 76: 91-95 [PMID: 20135947]
- 35 Sayers C, Wyatt J, Soloway RD, Taylor DR, Stringer MD. Gallbladder mucin production and calcium carbonate gallstones in children. *Pediatr Surg Int* 2007; 23: 219-223 [PMID: 17225180 DOI: 10.1007/s00383-006-1867-5]
- 36 Chen EY, Yang N, Quinton PM, Chin WC. A new role for bicarbonate in mucus formation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2010; 299: L542-L549 [PMID: 20693315 DOI: 10.1152/ajplung.00180.2010]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 新疆维吾尔自治区汉、维、哈3个民族胆囊息肉的流行病学

吕复君, 刘江伟, 吕辉琴, 张东, 韩永华, 庞国栋, 蒋银花, 卢静, 单建华

吕复君, 单建华, 开封市中心医院外科 河南省开封市 475000  
吕复君, 刘江伟, 张东, 蒋银花, 卢静, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肝胆外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

吕辉琴, 韩永华, 庞国栋, 中国人民解放军新疆军区机关门诊部 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

吕复君, 主要从事肝胆疾病的研究。

新疆维吾尔自治区科技计划基金资助项目, No. 201042145

作者贡献分布: 吕复君与刘江伟对此文所做贡献均等; 此课题由吕复君与刘江伟设计; 研究过程由吕复君、刘江伟、韩永华、庞国栋及蒋银花组成流调小组完成流行病学调查; 数据录入由吕辉琴、张东及卢静协助完成; 数据分析由吕复君完成; 单建华参与文章的修改; 论文写作由吕复君与刘江伟完成。

通讯作者: 刘江伟, 主任医师, 硕士生导师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市友好北路359号, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肝胆外科。ljw273@sohu.com

收稿日期: 2013-07-22 修回日期: 2013-09-08

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-28

## Prevalence of and risk factors for gallbladder polyps in Han, Uygur and Kazak populations in Xinjiang

Fu-Jun Lv, Jiang-Wei Liu, Hui-Qin Lv, Dong Zhang, Yong-Hua Han, Guo-Dong Pang, Yin-Hua Jiang, Jing Lu, Jian-Hua Shan

Fu-Jun Lv, Jian-Hua Shan, Department of Surgery, the Central Hospital of Kaifeng City, Kaifeng 475000, Henan Province, China

Fu-Jun Lv, Jiang-Wei Liu, Dong Zhang, Yin-Hua Jiang, Jing Lu, Department of Hepatobiliary Surgery, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Hui-Qin Lv, Yong-Hua Han, Guo-Dong Pang, Outpatient Department, the Headquarters of the Xinjiang Military Region, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the Science and Technology Program of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 201042145

Correspondence to: Jiang-Wei Liu, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region, 359 Youhao North Road, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. ljw273@sohu.com

Received: 2013-07-22 Revised: 2013-09-08

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the prevalence of and risk factors for gallbladder polyps in Uygur, Han and Kazak populations in Xinjiang Uygur Autonomous Region.

**METHODS:** Typical sampling followed by stratified random sampling was adopted. The unified questionnaire about risk factors for gallbladder diseases in Xinjiang was administered, and each participant was asked to finish a questionnaire about epidemiological data of gallbladder polyps and undergo abdominal ultrasonography of the liver and gallbladder. The survey data were input with Epidata3.

**RESULTS:** A total of 6024 residents aged > 18 years participated in the study between June 2011 and September 2011, accounting for 2.88/10000 of all residents in the Xinjiang Uygur Autonomous Region. 5454 participants completed the questionnaire. Their age ranged from 18 to 88 years, with a mean age of  $45.2 \pm 14.1$  years. The overall prevalence of gallbladder polyps was 5.8%. The prevalence of gallbladder polyps in Han, Uygur, Kazak and other ethnic groups was 7.1%, 3.5%, 5.6% and 7.0%, respectively, which had a significant ethnic difference ( $\chi^2 = 22.385$ ,  $P = 0.000$ ). Logistic regression analysis showed that gender, body mass index, ethnicity and breakfast correlated with gallbladder polyps.

**CONCLUSION:** The prevalence of gallbladder polyps differed significantly between populations of Han, Uygur, Kazak and other ethnic groups. The prevalence of PLG correlates mainly with ethnicity, age, gender, body mass index and breakfast.

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

**Key Words:** Gallbladder polyps; Prevalence; Risk factors; Epidemiology

Lv FJ, Liu JW, Lv HQ, Zhang D, Han YH, Pang GD, Jiang YH, Lu J, Shan JH. Prevalence of and risk factors for gallbladder polyps in Han, Uygur and Kazak populations in Xinjiang. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3647-3653 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3647.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3647>

## 摘要

**目的:** 了解新疆维吾尔自治区汉族、维

## ■背景资料

胆囊息肉样病变 (polypoid lesions of the gallbladder, PLG)(简称胆囊息肉)的患病率因地区不同而存在差异,也是胆囊常见病之一。且随着人口年龄的增长、人们生活节奏的加快、生活水平的提高以及B超的广泛普及,国内外有关资料显示胆囊疾病的发病率呈逐年上升趋势,以我国明显。

## ■同行评议者

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

## ■ 研究前沿

了解新疆维吾尔自治区少数民族胆囊息肉样病变的患病率及其相关因素。背景资料:国内外有关资料显示胆囊疾病的发病率呈逐年上升趋势,尤以我国明显。PLG比起胆囊结石和胆囊炎的患病虽然少的多,但有些息肉具有癌变倾向,通过流行病学调查了解各地区PLG的患病率及其相关因素,藉以指导胆囊息肉的预防和治疗。

吾尔族、哈萨克族3个民族胆囊息肉样病变(polypoid lesions of the gallbladder, PLG)的患病率及其相关因素。

**方法:**采用典型抽样然后再多阶段分层随机抽样的方法。应用统一制定的新疆地区胆囊疾病危险因素调查表,对研究对象逐一填写调查问卷的方法收集PLG的流行病学资料,同时行肝脏和胆囊的腹部B超检查。调查数据录入采用Epidata3.1双录入。参加此项调查的工作人员和输入数据的录入员均进行了严格的质量控制。

**结果:**于2011-06/2011-09对新疆维吾尔自治区6024例18岁以上居民成为此次调查的研究对象约占新疆地区人口2.88/10000,其中问卷完整者有5454例。年龄在18-88岁之间,平均年龄45.2岁±14.1岁。通过本次调查得出新疆地区抽样人群中PLG患病率为5.8%。汉族、维吾尔族、哈萨克族和其他民族PLG的患病率分别为7.1%、3.5%、5.6%、7.0%,民族差异有统计学意义( $\chi^2 = 22.385, P = 0.000$ )。胆囊息肉的相关因素先采用单因素Logistic回归分析,有统计学意义的再用多因素Logistic回归分析,多因素Logistic回归分析表明性别、体质指数(body mass index, BMI)、民族等与胆囊息肉患病有关。

**结论:**汉族、维吾尔族、哈萨克族和其他民族人群中PLG患病率差异均有统计学意义,且总PLG患病率男性高于女性。民族、性别、BMI、年龄、不食早餐与胆囊息肉患病有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胆囊息肉; 患病率; 相关因素; 流行病学

**核心提示:** 汉族、维吾尔族和哈萨克族胆囊息肉的患病率分别为7.1%、3.5%、5.6%,且胆囊息肉患病率男性高于女性。民族、性别、体质指数、年龄、不食早餐与胆囊息肉患病有关。

吕复君, 刘江伟, 吕辉琴, 张东, 韩永华, 庞国栋, 蒋银花, 卢静, 单建华. 新疆维吾尔自治区汉、维、哈3个民族胆囊息肉的流行病学. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3647-3653 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3647.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3647>

## 0 引言

胆囊息肉样病变(polypoid lesions of the gallbladder, PLG)(简称胆囊息肉)的患病率因地区不同而存在差异,也是胆囊常见病之一。且随着人口

年龄的增长、人们生活节奏的加快、生活水平的提高以及B超的广泛普及,国内外有关资料显示胆囊疾病的发病率呈逐年上升趋势,尤以我国明显。PLG比起胆囊结石和胆囊炎的患病虽然少的多,但有些息肉具有癌变倾向,通过流行病学调查了解各地区PLG的患病率及其相关危险因素,藉以指导胆囊息肉的预防和治疗。迄今为止,国内外尚未见新疆地区少数民族PLG的患病率及相关因素报道,本次调查探讨新疆汉族、维吾尔(维)族、哈萨克(哈)族及其他民族PLG的患病情况和新疆地区PLG的相关影响因素。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 以新疆地区18岁以上的成年居民为研究对象,长期居住至少≥1年者,排除外来临时务工人员 and 户口迁入本地区但生活未满1年者。以上作为总样本的基数。最后删除不行B超检查和配合度差的调查问卷。

### 1.2 方法

**1.2.1 抽样:**采用典型抽样然后再多阶段分层随机抽样的方法。第一阶段分层是以县(师)为样本地区;第二阶段分层是以乡(团)为样本地区,第三阶段分层是以村(连)为样本地区,最后是住户为样本个体。在农村调研时以乡镇卫生所(院)为平台,城市社区以社区服务站(卫生所)为平台。先采用抽取各地州少数民族聚居区6个市(吐鲁番市、库尔勒市、阿克苏市、伊宁市、博乐市、哈密市)、11个县(和硕县、和静县、库车县、拜城县、察布查尔自治县、塔城沙湾县、托里县、额敏县、哈巴河县、巴里坤哈萨克自治县、奇台县)和1个阿尔泰北屯兵团师部。后采用多阶段分层随机抽样方法抽取23个自然村20个社区和2个团场。采用统一自制的调查问卷。同时调查问卷翻译成维吾尔文相对照的调查问卷。在2011-06/2011-09我流调小组按农村与城市抽样比例大约是1:1进行,每个村庄及社区计划随机抽取38户(约150例被调查者),对个别较小村庄随机抽取20户(约80例被调查者)。在村庄村干部带领进行入户调查并填写调查问卷或由社区服务站工作人员指导入户调查,同时预约腹部肝胆B超。全疆抽取总样本量为6024例的居民。

**1.2.2 调查内容:**(1)一般情况:性别、年龄、体质质量、身高、本地居住年限、婚姻及文化程度;(2)吸烟、饮酒、奶茶;(3)饮食:早餐、辛辣饮食、肉类、水果、黄绿色蔬菜类、葱蒜类、根

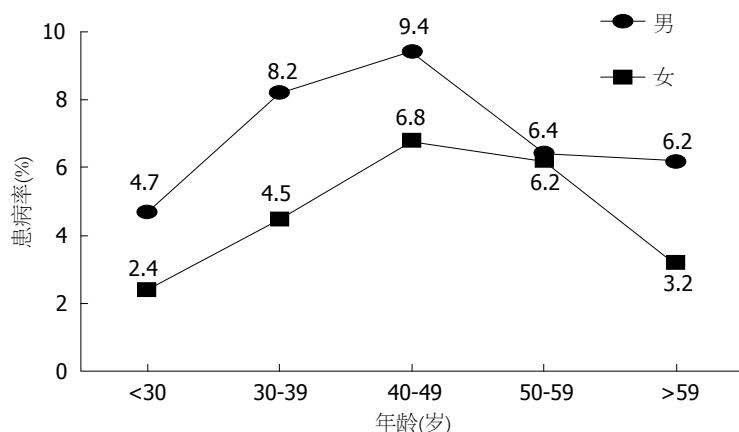


图1 性别在年龄分组中PLG的患病分布情况。PLG: 胆囊息肉样病变。

#### ■ 相关报道

有关胆囊息肉的患病率及相关因素在国内外均有不少报道,但是在新疆这个天气干燥、昼夜温差较大、海拔较高的特殊地区和少数民族有关的胆囊息肉的患病率及相关因素的调查研究显得重要。

茎类、食用菌类、腌制蔬菜类、奶类、禽蛋类及饮水情况; (4)胆囊疾病患病史及家族史等因素; (5)超声检查。

**1.2.3 诊断标准:** 胆囊息肉B超诊断标准: (1)由胆囊壁向腔内突起的乳头状或桑葚状强回声或中等回声结节, 常为多发, 多数有长短不等的蒂, 不随体位改变而移动, 一般无声影; (2)超声未探及胆囊, 腹部有胆囊切除术瘢痕及胆囊切除术后病理证实为PLG者。B超检查诊断PLG的敏感性为90.1%, 特异性为93.9%<sup>[1]</sup>。

**1.2.4 质量控制:** 超声检查由新疆军区联勤部机关门诊部超声科一名医生(副主任医师)和兰州军区乌鲁木齐总医院一名超声副主任医师行胆囊超声检查(MINDRAY DP-6600全数字化便携式超声诊断仪, 探头频率3.5 MHz), 并出具报告。参加此项调查的工作人员均为医务工作者, 分别来自兰州军区乌鲁木齐总医院和新疆军区机关门诊部, 对参加问卷调查的人员都要进行严格相关专业问题、表格填写及表格解释等的详细讲解并做一些预调查。在流调工作中调查员与被调查者实行面对面填写调查问卷, 同时检查问卷填写是否完善, 对不完善的表格要进行追踪, 以便表格更加准确完整。并抽取5%的样本进行复核, 符合率达99.5%。输入数据的录入员均来自吐鲁番某部队卫生队的10名卫生员, 数据录入前的进行严格集体培训, 最后录入员将数据进行双录入, 对两次录入数据差异进行对比并检错, 以保证数据的准确性。平均每个调查员填一份调查表需要9.37 min。调查员填表时的配合度进行分析, 发现配合度好占98.6%, 而配合度差的有1.4%, 配合度差的调查问卷视为失访人数。

**统计学处理** 统一对合格的调查表用Epidata 3.1进行双录入并检错, 之后导入SPSS17.0。应用

SPSS17.0统计软件包进行数据分析。相关因素先采用单因素Logistic回归分析, 有统计学意义的再应用多因素Logistic回归分析; 两个或多个样本率的比较用卡方检验; 以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 调查结果** 全新疆地区共有6024例被调查者参与, 其中符合条件者有5454例成为本课题的研究对象, 应答率为90.54%。男性1946例(35.7%), 女性3508例(64.3%)。平均年龄45.2岁 $\pm$ 14.1岁, 最小年龄18岁, 最大年龄88岁。仅有14例合并胆囊结石, 未作统计分析。

**2.2 新疆地区PLG患病率** 新疆地区PLG的患病率达5.8%, 其中汉族人群的胆囊息肉患病率7.1%, 维族为3.5%, 哈族为5.6%, 其他民族为7.0%, 差异具有显著性( $P = 0.000$ )。总PLG的患病率男性明显高于女性, 差异具有显著性( $P = 0.000$ )。

**2.3 性别在各民族不同年龄段PLG的患病情况** 在年龄组中<30岁、30-39岁、40-49岁、50-59岁、>59岁5个年龄阶段总体PLG的患病率分别为3.1%、5.7%、7.8%、6.3%、4.4%, 差异有统计学意义( $P = 0.000$ ), PLG的高发年龄段是40-49岁, 随后PLG的患病率逐渐下降。男性和女性年龄分组中PLG患病率高龄年龄均为中年人, 女性随年龄增长而增高, 至高峰年龄后呈平稳状态( $P = 0.000$ ), 而男性随年龄增长而增高至高峰年龄后呈现下降趋势(图1)。哈族和汉族PLG的患病率男女差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 维族和其他民族男女差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表1)。

**2.4 年龄分层后各民族PLG的患病情况** 各民族在30-39岁、50-59岁和>59岁年龄段中均有统计学意义( $P < 0.05$ ), 在<30及40-49岁年龄段中均



## ■创新盘点

本文有助于进一步了解新疆维吾尔自治区不同民族胆囊息肉样病变的患病率及其相关因素,为新疆地区胆囊息肉的防治提供更充分的理论依据,是今后新疆地区胆囊息肉下一步研究的基础。

表 1 性别在各民族胆囊息肉样病变患病率的比较

性别	汉族		维吾尔族		哈萨克族		其他民族	
	<i>n</i>	患病 $n(\%)$	<i>n</i>	患病 $n(\%)$	<i>n</i>	患病 $n(\%)$	<i>n</i>	患病 $n(\%)$
男	896	81(9.0)	483	16(3.3)	416	34(8.2)	151	14(9.3)
女	1378	81(5.9)	923	33(3.6)	871	38(4.4)	336	20(6.0)
合计	2274	162(7.1)	1406	49(3.5)	1287	72(5.6)	487	34(7.0)
$\chi^2$		8.205		0.065		7.739		1.767
<i>P</i> 值		0.004		0.799		0.005		0.184

表 2 新疆年龄分组中各民族胆囊息肉样病变患病率比较

年龄分组(岁)	汉族		维吾尔族		哈萨克族		其他民族		$\chi^2$	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	患病 $n(\%)$	<i>n</i>	患病 $n(\%)$	<i>n</i>	患病 $n(\%)$	<i>n</i>	患病 $n(\%)$		
<30	201	6(3.0)	180	4(2.2)	231	7(3.0)	66	4(6.1)	2.402	0.493
30-39	444	34(7.7)	363	8(2.2)	473	29(6.1)	148	10(6.8)	11.944	0.008
40-49	734	67(9.1)	373	24(6.4)	276	15(5.4)	133	12(9.0)	5.200	0.158
50-59	371	22(5.9)	221	7(3.2)	165	18(10.9)	83	6(7.2)	9.805	0.020
>59	524	33(6.3)	269	6(2.2)	142	3(2.1)	57	2(3.5)	9.296	0.026
总计	2274	162(7.1)	1406	49(3.5)	1287	72(5.6)	487	34(7.0)	22.385	0.000

无统计学意义( $P>0.05$ , 表2)。其中汉族、维族和哈族PLG患病率在年龄组中均有统计学意义( $\chi^2=11.191$ ,  $P=0.025$ ;  $\chi^2=13.596$ ,  $P=0.009$ ;  $\chi^2=15.231$ ,  $P=0.004$ ), 而其他民族PLG患病率在年龄分组中无统计学意义( $P>0.05$ )。与其他民族不同的是哈族PLG患病高峰年龄为50-59岁, 而其他民族在40-49岁。

2.5 体质指数在各民族中PLG的患病情况 在<23 kg/cm<sup>2</sup>、23-24.5 kg/cm<sup>2</sup>和≥25 kg/cm<sup>2</sup>组中各民族PLG患病率差异均有统计学意义(表3)。而哈族PLG患病率随BMI的增加呈增加趋势( $P=0.000$ ), 哈族、维族及其他民族无统计学意义; 总体PLG的患病率随BMI的增加呈增加趋势( $P=0.006$ )。

2.6 PLG相关因素的多因素Logistic回归分析 对PLG疾病中经单因素分析有统计学意义的因素再进行多因素Logistic回归分析, 去除其他混杂因素影响后进入模型(表4)。民族、年龄、性别、BMI、早餐与PLG患病有关。

### 3 讨论

胆囊息肉是一种临床常见疾病之一, 具有分布广泛, 患病率较高的特点。目前新疆地区尚缺乏相应资料, 本研究通过典型抽样及多级分层随机抽样进行新疆地区少数民族胆囊息肉的流行病

学调查, 并分析相关因素。国外流行病学调查显示在成年人人群中PLG的患病率范围为1.0%-9.5%之间<sup>[2-5]</sup>, 其中大量流行病学调查资料<sup>[6]</sup>表明日本PLG的患病率范围为2.6%-5.6%之间, 德国为1.5%, 丹麦为4.8%-6.7%, 印度为0.32%。平均在5%以下, 新疆地区胆囊息肉的患病率为5.8%高于国外平均患病率, 但明显高于德国及印度, 不同国家胆囊息肉患病率存在明显差异, 这可能与各国调查的人群有关, 也可能不同的研究设计有关。在我国舟山市<sup>[7]</sup>和合肥市<sup>[8]</sup>PLG的患病率分别是6.24%和3.39%; 广州<sup>[9]</sup>PLG患病率为2.68%; 上海<sup>[10]</sup>PLG患病率为5.23%; 广西南宁市<sup>[11]</sup>体检人群PLG检出率为4.03%, 台湾<sup>[1]</sup>PLG患病率达9.5%。国内平均在5%以下, 其患病率有逐年增长趋势<sup>[12,13]</sup>。我国不同地区胆囊息肉的患病率也存在差异, 除台湾PLG患病率较高以外, 新疆PLG患病率明显高于我国广州、合肥及广西等地, 与上海及舟山市的调查结果基本一致, 这可能受生活环境、饮食习惯、民族及调查方法等因素的影响。

本次调查结果提示汉族人群的胆囊息肉患病率7.1%, 维族为3.5%, 哈族为5.6%, 其他民族为7.0%。其中维族与汉族、哈族、其他民族之间胆囊息肉患病率差异均有统计学意义( $P<0.05$ ), 而汉族、哈族、其他民族间比较无统

表 3 新疆BMI分组中各民族胆囊息肉样病变患病率比较

BMI分组	汉族		维吾尔族		哈萨克族		其他民族		$\chi^2$	P值	总计	
	n	患病n(%)	n	患病n(%)	n	患病n(%)	n	患病n(%)			n	患病n(%)
<23	965	65(6.7)	652	20(3.1)	573	19(3.3)	203	8(3.9)	15.58	0.001	2393	112(4.7)
23-24.9	586	48(8.2)	232	6(2.6)	240	10(4.2)	115	12(10.4)	13.73	0.003	1173	76(6.5)
≥25	723	49(6.8)	522	23(4.4)	474	43(9.1)	169	14(8.3)	9.12	0.028	1888	129(6.8)
合计	2274	162(7.1)	1406	49(3.5)	1287	72(5.6)	487	34(7.0)	22.39	0.000	5454	317(5.8)

表 4 胆囊息肉相关因素的多因素分析结果

因素	系数B	标准误	Wald $\chi^2$	自由度	P值	OR值	OR值95%可信区间	
							下限	上限
体质量指数	0.159	0.068	5.511	1	0.019	1.172	1.027	1.338
年龄	-0.371	0.120	9.596	1	0.002	0.690	0.545	0.872
早餐	-0.198	0.097	4.135	1	0.042	0.820	0.678	0.993
民族								
维吾尔族								
汉族	0.767	0.168	20.859	1	0.000	2.153	1.549	2.992
哈族	0.773	0.231	11.225	1	0.001	2.167	1.378	3.406
其他	0.519	0.190	7.458	1	0.006	1.680	1.158	2.438
常数	-2.524	0.388	42.297	1	0.000	0.080		

## ■同行评价

本文对今后进一步研究新疆汉族、维族、哈族胆囊息肉的患病情况有一定指导意义。

计学意义。有关少数民族胆囊息肉患病率的报道极少。笔者认为汉族PLG患病率偏高,这可能与新疆地区的饮食不规律、不同环境、不同气候,高脂饮食、地下水水质及新疆与内地的时差因素有关,从内地迁居到新疆生活的人群早餐时间延迟2.5 h左右,与人体激素分泌高峰时间不同步也是一重要因素。哈族大部分都属于游牧民族,具有特殊的生活如放牧季节与非放牧季节饮食、生活方式、环境差异较大等。维族胆囊息肉患病率偏低可能与其民族生活方式如生活安逸、无紧张工作及精神压力、饮食习惯、特殊的民族文化等民族的不同特质有关。各少数民族的遗传基因可能也是另一个重要原因。因此各少数民族之间由于不同因素综合作用致使其胆囊息肉患病率存在一定差异。

本次调查结果发现总体PLG患病率男性明显高于女性,与许多文献报道一致<sup>[14-20]</sup>,而汉族及少数民族群体中哈族符合总体趋势。而维族及其他少数民族与性别不相关,这与Cha等<sup>[21]</sup>的报道一致。男性PLG患病率较高的机制未见相关文献报告,这可能与男性分泌的激素影响胆囊内胆固醇代谢有关。分析结果提示不同性别总体胆囊息肉患病率随着年龄增长呈上升趋势至40-49岁达高峰(哈族例外,高峰期为50-59岁),这

与日本<sup>[16]</sup>和台湾<sup>[17]</sup>相关报道基本一致,而不同的是男性呈下降趋势,女性呈平稳趋势。这次调查结果与回顾性研究<sup>[22]</sup>比较发现在中年人胆囊息肉患病率普遍较高,可能与中年人工作压力大,生活不规律,激素水平和免疫力处于变更期有关,调查发现高峰年龄之后又随年龄增长胆囊息肉患病率逐渐降低的真实原因还待阐明,但笔者认为随年龄增长超声检查发现胆囊结石患病率增加可能掩盖了胆囊息肉的检出,统计发现胆囊结石合并PLG的被调查者仅有14例,所占比例小,Myers等<sup>[6]</sup>和Jørgensen等<sup>[15]</sup>报道表明可能是由于可移动的胆囊结石对PLG产生机械性破坏作用或有胆囊结石的情况下超声很难辨别出PLG存在。

依据“2000年WHO提出亚洲成年人BMI正常范围为18.5-22.9 kg/cm<sup>2</sup>; >23为超质量,23-24.9 kg/cm<sup>2</sup>为肥胖前期,25-29.9 kg/cm<sup>2</sup>为肥胖,≥30为超胖<sup>[23]</sup>进行BMI分组。而汉族、维族及其他民族PLG患病率与BMI无明显相关<sup>[12,18]</sup>。其中在BMI≥25 kg/cm<sup>2</sup>(肥胖)组中仅哈族和总体PLG患病率高于非肥胖组,这与Segawa等<sup>[16]</sup>研究结果一致,可能与放牧为生的哈族以肉和奶为主高脂食物为主特殊饮食习惯有关。但PLG患病率是否与BMI相关尚需要进一步研究。

本次研究提示多因素分析中不吃早餐与PLG的患病有关,可能的原因是经常不吃早餐情况下,胆汁排泄减少,使胆汁储留在胆囊内,最终胆汁中脂质代谢异常,特别是胆固醇代谢障碍,致生理状态下胆盐、胆固醇、卵磷脂三者在胆汁中成一定的比例溶解,正常平衡发生改变或在胆道系统的一些病理状态下,过饱和胆汁中的胆固醇主动和被动转运至胆囊黏膜上皮细胞,被巨噬细胞吞噬,最终变成泡沫细胞。待泡沫细胞积聚甚多时,泡沫状细胞在上皮嵴下的固有膜堆积向黏膜表面隆起呈单个或多个小息肉状结节并突入胆囊腔即形成胆固醇性息肉<sup>[24,25]</sup>。

有关PLG的多民族患病情况及相关因素的文献报道较少,本研究发现各民族饮食差异较大,因而对于民族饮食因素的进一步研究对于降低胆囊息肉的发病率可能具有积极的指导意义。其他相关因素如吸烟、饮酒、饮茶、饮水情况等虽未能进入多因素Logistic模型,但尚不能完全排除其流行病学意义。

这次调查揭示新疆地区维族患病率低、男性多于女性、经常不吃早餐、肥胖和40-49岁高峰年龄段分布的临床流行病学特点,总体PLG的患病率处于较高水平。本研究虽然按照统计学标准进行随机抽样调查,因新疆少数民族多、地域分布广、气候差别大,此研究未覆盖所有地区,其他各少数民族因调查例数少,在统计分析中合并为其他民族,以后研究需进行新疆区域内多地区的联合协同调查研究,考虑更多的区域因素和民族因素,为新疆地区PLG的防治提供更充分的理论依据。

#### 4 参考文献

- Lin WR, Lin DY, Tai DI, Hsieh SY, Lin CY, Sheen IS, Chiu CT. Prevalence of and risk factors for gallbladder polyps detected by ultrasonography among healthy Chinese: analysis of 34 669 cases. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 965-969 [PMID: 17725602 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.05071.x]
- Kratzer W, Haenle MM, Voegtli A, Mason RA, Akinli AS, Hirschbuehl K, Schuler A, Kaechele V. Ultrasonographically detected gallbladder polyps: a reason for concern? A seven-year follow-up study. *BMC Gastroenterol* 2008; 8: 41 [PMID: 18793401 DOI: 10.1186/1471-230X-8-41]
- Aldouri AQ, Malik HZ, Waytt J, Khan S, Ranganathan K, Kummaraganti S, Hamilton W, Dexter S, Menon K, Lodge JP, Prasad KR, Toogood GJ. The risk of gallbladder cancer from polyps in a large multiethnic series. *Eur J Surg Oncol* 2009; 35: 48-51 [PMID: 18339513 DOI: 10.1016/j.ejso.2008.01.036]
- Spaziani E, Petrozza V, Di Filippo A, Picchio M, Ceci F, Miraglia A, Moretti V, Briganti M, Greco E, Pattaro G, De Angelis F, Salvadori C, Stagnitti F. [Gallbladder polypoid lesions. Three clinical cases with difficult diagnosis and literature review]. *G Chir* 2010; 31: 439-442 [PMID: 20939951]
- Lee KF, Wong J, Li JC, Lai PB. Polypoid lesions of the gallbladder. *Am J Surg* 2004; 188: 186-190 [PMID: 15249249 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2003.11.043]
- Myers RP, Shaffer EA, Beck PL. Gallbladder polyps: epidemiology, natural history and management. *Can J Gastroenterol* 2002; 16: 187-194 [PMID: 11930198]
- 吴学民, 郑孝娟. 舟山市市区居民胆囊良性疾病的流行病学调查. *肝胆胰外科杂志* 2009; 21: 405-406
- 朱丹木, 陈怡, 许晓红, 周勇. 合肥地区胆囊疾病的流行病学调查. *中华普通外科杂志* 2002; 17: 271-272
- 吴婉清, 郑东升, 叶静萍, 黄凤照, 邱少东, 陈军初. 2006年广州市部分健康体检人群胆囊息肉发生情况分析. *华南预防医学* 2008; 34: 56-57
- 孙晓敏, 徐萍, 马志红, 程晓松, 朱佳莉, 柯桂钧, 任大宾. 上海松江地区胆囊良性疾病的流行病学调查 30901例. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2881-2885
- 李秀明, 顾美红, 苏庆海, 冯武奇, 黄惠益. 腹部超声在健康体检中的应用价值. *右江民族医学院学报* 2008; 30: 1051-1052
- 张毅, 刘薇, 周静, 王伟, 王仁萍, 马先福, 王燕. 胆囊息肉样病变的临床流行病学特点及其易感性因素. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3081-3087
- 欧健苹, 苏凤璋. 超声检查脂肪肝与胆囊息肉的关系分析. *新医学* 2010; 41: 90-99
- Shinchi K, Kono S, Honjo S, Imanishi K, Hirohata T. Epidemiology of gallbladder polyps: an ultrasonographic study of male self-defense officials in Japan. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 7-10 [PMID: 8128179]
- Jørgensen T, Jensen KH. Polyps in the gallbladder. A prevalence study. *Scand J Gastroenterol* 1990; 25: 281-286 [PMID: 2320947]
- Segawa K, Arisawa T, Niwa Y, Suzuki T, Tsukamoto Y, Goto H, Hamajima E, Shimodaira M, Ohmiya N. Prevalence of gallbladder polyps among apparently healthy Japanese: ultrasonographic study. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 630-633 [PMID: 1595653]
- Chen CY, Lu CL, Chang FY, Lee SD. Risk factors for gallbladder polyps in the Chinese population. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 2066-2068 [PMID: 9362194]
- Yang HL, Kong L, Hou LL, Shen HF, Wang Y, Gu XG, Qin JM, Yin PH, Li Q. Analysis of risk factors for polypoid lesions of gallbladder among health examinees. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3015-3019 [PMID: 22736927 DOI: 10.3748/wjg.v18.3015]
- Mao YS, Mai YF, Li FJ, Zhang YM, Hu KM, Hong ZL, Zhu ZW. Prevalence and risk factors of gallbladder polypoid lesions in Chinese petrochemical employees. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4393-4399 [PMID: 23885152]
- 闫有青, 任华, 张玉萍, 赵素焕, 温丽新. 健康体检中B型超声检查胆囊息肉样病变发生情况及相关因素分析. *中国当代医药* 2013; 20: 158-161
- Cha BH, Hwang JH, Lee SH, Kim JE, Cho JY, Kim H, Kim SY. Pre-operative factors that can predict neoplastic polypoid lesions of the gallbladder. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2216-2222 [PMID: 21633532 DOI: 10.3748/wjg.v17.i17.2216]
- 吕复君, 吕辉琴, 刘江伟. 兰州军区乌鲁木齐总医院近2005-2010年胆囊疾病构成分析. *中华临床医师杂志*



- (电子版) 2012; 6: 2979-2982
- 23 王义, 周哲, 田野, 邵强, 陈山, 洪宝发, 张祥华, 任向红, 孙文学, 王增武, 那彦群. 北京市社区中老年男性体重指数和前列腺特异性抗原相关性的多中心研究. 中华医学杂志 2009; 89: 1681-1683
- 24 Ivanchenkova RA, Sviridov AV, Grachev SV. [Pathogenesis of gallbladder cholesterolemia]. *Klin Med (Mosk)* 2002; 80: 14-19 [PMID: 11898714]
- 25 黄永峰, 董都选. 胆囊息肉123例临床分析. 陕西医学杂志 2009; 2: 239-240

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

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

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

# 血液学检查常见指标与炎症性肠病炎症活动度及严重程度的相关性

刘维新, 张 绅, 戴 聪, 任 益

## ■背景资料

通过比较炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)不同活动度及严重程度分级及分期血液学检查的常见指标的均数, 以使用最简单的办法早期判定疾病的程度、确定疾病的治疗方案及评估疾病的预后。

刘维新, 张 绅, 戴 聪, 任 益, 中国医科大学第一医院消化内科  
辽宁省沈阳市 110000

刘维新, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 课题由刘维新设计; 材料收集由刘维新、张绅及任益完成; 研究过程由刘维新、张绅、戴聪及任益操作完成; 研究所用分析工具由戴聪提供; 数据分析由张绅、戴聪及任益完成; 本论文写作由刘维新与张绅完成。

通讯作者: 刘维新, 副教授, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京街155号, 中国医科大学附属第一医院消化内科。

weixinliu@yahoo.com

电话: 024-83282563

收稿日期: 2013-07-25 修回日期: 2013-09-13

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-28

## Correlation between routine blood indexes and disease activity in patients with inflammatory bowel disease

Wei-Xin Liu, Shen Zhang, Cong Dai, Yi Ren

Wei-Xin Liu, Shen Zhang, Cong Dai, Yi Ren, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110000, Liaoning Province, China

Correspondence to: Wei-Xin Liu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing Street, Heping District, Shenyang 110000, Liaoning Province, China. weixinliu@yahoo.com

Received: 2013-07-25 Revised: 2013-09-13

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To explore the correlation between routine blood indexes and disease activity in patients with inflammatory bowel disease (IBD).

**METHODS:** Clinical data for IBD patients and none-IBD patients were analyzed. Patients were divided into either a positive group or a control group. Hemoglobin (HGB), mean cell volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), platelets (PLT), mean platelet volume (MPV), red cell distribution width (RDW), cross-reacting protein (CRP), and erythrocyte sedimentation rate (ESR) were detected, and their correlations with disease activity of IBD were analyzed.

## ■同行评议者

秦成勇, 教授, 山东省立医院消化内科; 关玉盘, 教授, 首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

**RESULTS:** HGB, MCV, MCHC and MPV had significant differences in patients with different levels of disease activity, and were negatively correlated with inflammatory activity ( $r = -0.29, -0.30, -0.34, -0.38, -0.30, -0.33, -0.35, -0.36$ , all  $P < 0.05$ ). PLT, RDW, CRP and ESR also had significant differences in patients with different levels of disease activity, but was positively correlated with inflammatory activity ( $r = 0.37, 0.66, 0.79, 0.77, 0.40, 0.71, 0.80, 0.77$ , all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Routine blood indexes are significantly different in patients with different levels of disease activity, which will be helpful to the diagnosis and evaluation of prognosis of IBD.

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

**Key Words:** Inflammatory bowel disease; Ulcerative colitis; Crohn's disease; Blood indexes; Disease activity

Liu WX, Zhang S, Dai C, Ren Y. Correlation between routine blood indexes and disease activity in patients with inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3654-3660 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3654.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3654>

## 摘要

**目的:** 研究血液学检查的常见指标与炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)炎症活动度及严重程度的相关性, 以使用最简单的办法, 早期判定疾病的程度、确定疾病的治疗方案及评估疾病的预后。

**方法:** 回顾性收集诊断为IBD患者的住院资料, 随机选取198例IBD患者, 其中溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)120例, 克罗恩病(Crohn's disease, CD)78例; 同时从非免疫性的胃肠道疾病患者和体检患者中随机选取90例。对选出共计288例患者临床检测的血红蛋白浓度(hemoglobin, HGB)、平均红细胞容积(mean

cell volume, MCV)、平均红细胞血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、血小板计数(platelet, PLT)、平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)、红细胞分布宽度(red cell distribution width, RDW)、C反应蛋白(C reactive protein, CPR)、血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)指标进行分析统计, 通过对IBD患者和非IBD患者体内的表达差异, 评价以上指标与IBD炎症活动度及严重程度的相关性。

**结果:** HGB、MCV、MCHC、MPV在不同活动度及严重程度的IBD患者体内的水平改变存在显著差异, 其改变与炎症活动度呈负相关( $r = -0.29$ 、 $r = -0.30$ 、 $r = -0.34$ 、 $r = -0.38$ 、 $r = -0.30$ 、 $r = -0.33$ 、 $r = -0.35$ 、 $r = -0.36$ ,  $P < 0.05$ ); 不同活动度IBD患者体内RDW、PLT、CRP、ESR的水平差异具有显著性, 其表达与活动期病变程度呈正相关( $r = 0.37$ 、 $r = 0.66$ 、 $r = 0.77$ 、 $r = 0.40$ 、 $r = 0.71$ 、 $r = 0.80$ 、 $r = 0.77$ ,  $P < 0.05$ )。

**结论:** 血液学常见的检测指标在炎症性肠病及非炎症性肠病的患者体内存在差异, 有助于早期的诊断, 亦可用于分析炎症活动度及严重程度, 从而指导治疗, 亦可用于评判治疗效果及疾病预后的评估。

© 2013年版权归归世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; 克罗恩病; 血液学指标; 炎症活动度

**核心提示:** 该研究证实血红蛋白浓度(hemoglobin, HGB)、平均红细胞容积(mean cell volume, MCV)、平均红细胞血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、血小板计数(platelet, PLT)、平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)、红细胞分布宽度(red cell distribution width, RDW)、C反应蛋白(C reactive protein, CPR)、血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)可作为判断溃疡性结肠炎炎症活动性的指标, 早期指导临床的诊断及治疗, HGB、MCV、MCHC、PLT、MPV、RDW、CPR、ESR可作为评价克罗恩病炎症活动性的指标。临床应用, 可通过简单的血液血常规检查, 早期筛检可疑患者进入进一步的诊疗程序, 避免漏诊, 今后也可应用于临床的预后评价及复诊, 评价治疗效果。

刘维新, 张坤, 戴聪, 任益. 血液学检查常见指标与炎症性肠病炎症活动度及严重程度的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(33):

3654-3660 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3654.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3654>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是较为常见的消化系统疾病, 西方发达国家发病率较高, 但近年来IBD在我国的发病率较以往显著上升, 影响着人们的生活质量<sup>[1]</sup>. IBD是一组慢性不明原因的肠道炎症性疾病的总和, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)及克罗恩病(Crohn's disease, CD), 临床均表现为反复发作的慢性病进程, 活动期与缓解期交替, 免疫抑制剂与激素治疗效果较好<sup>[2]</sup>. 近年来的研究发现, 遗传、免疫、感染、环境等多种因素与IBD的发生密切相关, 医学科研人员证实, 肠道黏膜免疫系统的异常反应及紊乱是IBD发病的根本原因, 因此免疫抑制治疗或抗炎治疗有显著效果<sup>[2,3]</sup>. 由于IBD自身的迁延不愈及反复发作等特点, 早期发现并控制病情尤为重要. 目前IBD的早期诊断, 主要依据炎症相关指标, 如血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、C反应蛋白(C reactive protein, CPR)、ANCA、白介素(interleukin, IL)、 $\beta$ 2-MG、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等<sup>[4-10]</sup>, 而一些更新的指标, 如细胞黏附分子、GAB、PAB、ALCA等指标也逐渐应用于IBD的诊断分型中<sup>[11]</sup>, 但这些检查在针对患者的初次检查中应用较少, 往往是第二轮的检查才会涉及, 凭借此类指标容易造成患者的漏诊, 而IBD患者临床表现不典型, 只有当疾病发展到较后期才会出现典型的全身临床表型, 最终通过肠镜活检确诊. 为了早期的诊断该类患者, 及早的开展治疗, 同时监测炎症活动度, 以便达到最优的治疗效果, 该研究在以往研究资料的基础上, 通过分析常见血液学检查指标与IBD的相关性, 探讨多指标与IBD与IBD炎症活动度的相关性, 以期早期确诊并分级诊断IBD患者, 指导临床治疗, 评价治疗效果, 评估疾病预后<sup>[12-15]</sup>.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 采用回顾性分析的研究方法, 随机选取于2006-10/2012-10我院收治的初发初治的IBD患者198例, 其中UC 120例, CD 78例, 排除合并其他系统自身免疫性疾病的患者, 同时随机选取正常体检者90例, 两组患者均排除糖尿病、肝炎、血液系统疾病、心脑血管疾病等影响血

## ■ 研发前沿

本文研究血液学检查的常见指标与IBD炎症活动度及严重程度的相关性, 以使用最简单的办法早期判定疾病的程度、确定疾病的治疗方案及评估疾病的预后。



## ■创新盘点

通过对不同IBD活动度及严重程度的炎症性肠病的常见血液学指标的研究,以帮助临床工作中早期判定疾病的程度,帮助进一步治疗。

表 1 入选患者一般情况

项目	性别比例(男/女)	年龄(岁)
溃疡性结肠炎	45/75	38.2 ± 17.5
克罗恩病	33/45	33.9 ± 16.0
体检	56/90	46.7 ± 24.1

液学指标的情况及其他慢性疾病,入院前未使用抗生素、5-氨基水杨酸(5-aminosalicylic acid, 5-ASA)、糖皮质激素等药物<sup>[16]</sup>,入院患者均为成年人,基本资料如表1。所有患者以内镜下表现及病检结果确诊,内镜下可见黏膜糜烂、溃疡,可有结节状增生、铺路石样改变,瘻管、窦道形成;病检可见细胞水肿、炎细胞浸润,溃疡和非干酪样肉芽肿存在时认为疾病有活动性。所有患者根据临床表现、消化系钡餐、肠镜和病理检查确诊,诊断符合中华医学会消化病学分会2012年我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见。

## 1.2 方法

1.2.1 疾病分级: UC患者的疾病活动度评估采用改良的Mayo评分系统,如表2。评估后分数叠加,0-2分为缓解期,3-5分为轻度活动,6-10分为中度活动,11-12分为重度活动<sup>[16]</sup>。受试者以自身为对照,评估排便情况,医师的总体评价包括受试者身体不适的感觉既回顾,生活总体幸福感,其他异常变项。120例初发患者,缓解期患者43例,轻度、中度、重度分别为17例、33例、27例,初治患者治疗药物选择5-氨基水杨酸(5-aminosalicylic acid, 5-ASA)。CD患者的评价根据我国2012年炎症性肠病最新的诊断与治疗共识意见,采用Harvey和Bradshaw简化的克罗恩病活动指数(Crohn's disease activity index, CDAI)算法(表3)。评估后分数叠加,≤4分为缓解,5-8分为中度活动,≥9分为重度活动<sup>[16]</sup>。缓解期患者39例,中度、重度分别为24例、15例,初治患者治疗药物选择5-ASA。

1.2.2 血液学指标: 患者空腹12 h后于第2天清晨采集肘正中静脉血,血液学的观察指标选取临床初检患者血常规涉及的指标,包括血红蛋白浓度(hemoglobin, HGB)、平均红细胞容积(mean cell volume, MCV)、平均红细胞血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、血小板计数(platelet, PLT)、平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)、红

胞分布宽度(red cell distribution width, RDW)、CPR、ESR。观察上述指标在IBD患者及非IBD患者体内的差异,分析不同的血液指标水平与炎症活动度的相关性。

**统计学处理** 结果以mean±SD的形式表示,率的比较采用 $\chi^2$ 检验,数值间的比较采用 $t$ 检验,相关性分析采用Spearman相关分析法,  $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 血液学检查指标与UC患者疾病活动度的关系 血液学检查结果在不同疾病活动度的UC患者体内及对照组中的表达情况如表4。HGB在不同活动度UC患者体内的表达存在显著差异,且均低于对照组( $P<0.05$ ),其表达与病变程度呈负相关( $r = -0.29, P<0.05$ ); MCV在不同活动度UC患者体内的表达存在显著差异,且均低于对照组( $P<0.05$ ),其表达与病变程度呈负相关( $r = -0.30, P<0.05$ ); MCHC在不同活动度UC患者体内表达存在显著差异,且均低于对照组( $P<0.05$ ),其表达与病变程度呈负相关( $r = -0.34, P<0.05$ ); RDW、CPR、ESR在不同活动度UC患者体内的表达存在显著差异,且均高于对照组( $P<0.05$ ),其表达与病变程度呈正相关( $r = 0.37, P<0.05$ )(图1, 2); 不同活动度UC患者体内PLT的表达水平相互比较,差异具有显著性,且均高于对照组( $P<0.05$ ),其表达与活动期病变程度呈正相关,相关系数( $r = 0.66, P<0.05$ ); MPV在不同活动度UC患者体内表达存在显著差异,且均低于对照组( $P<0.05$ ),其表达与病变程度呈负相关( $r = -0.38, P<0.05$ ); CPR在不同活动度UC患者体内的表达存在显著差异,且均高于对照组( $P<0.05$ ),其表达与病变程度呈正相关( $r = 0.79, P<0.05$ ); ESR在不同活动度UC患者体内的表达存在显著差异,且均高于对照组( $P<0.05$ ),其表达与病变程度呈正相关( $r = 0.74, P<0.05$ )。

2.2 血液学检查指标与CD患者疾病严重程度的关系 血液学检查结果在不同疾病活动度的CD患者体内及对照组中的表达情况如表5。HGB在不同活动度CD患者体内的表达存在显著差异,且均低于对照组( $P<0.05$ ),其表达与病变程度呈负相关( $r = -0.30, P<0.05$ ); MCV在不同活动度CD患者体内的表达存在显著差异,且均低于对照组( $P<0.05$ ),其表达与病变程度呈负相关( $r = -0.33, P<0.05$ ); MCHC在不同活动度CD患者体

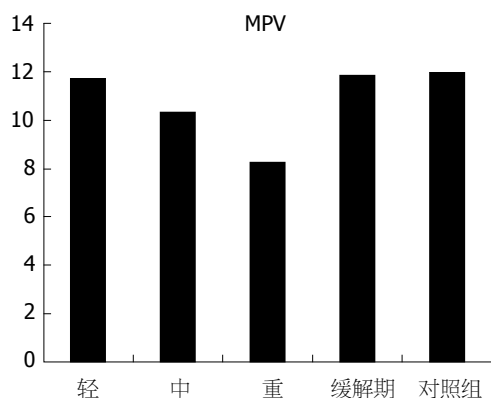


图 1 在不同活动度及严重程度分组的UC患者中MPV均值的表现. UC: 溃疡性结肠炎; MPV: 平均血小板体积.

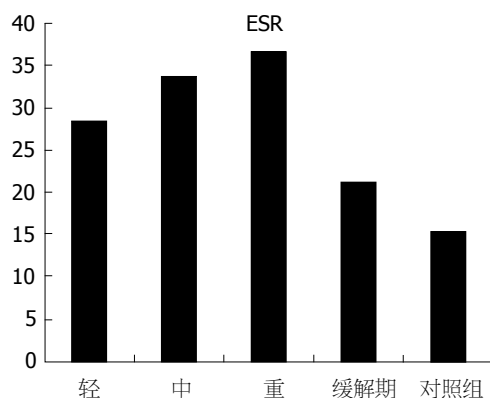


图 2 在不同活动度及严重程度分组的UC患者中ESR均值的表现. ESR: 血沉; UC: 溃疡性结肠炎.

#### 应用要点

IBD的活动度及严重程度判定至关重要,对IBD的诊断越完整越有利于更好地选择治疗方案和评估预后.本文通过研究常见血液学检查指标与IBD病情活动度的关系,可在较少临床检查的条件下帮助临床医生进行早期的诊断,筛选患者,为IBD患者的早期治疗创造条件,今后也可应用于临床的预后评价及复诊,评价治疗效果.

表 2 溃疡性结肠炎患者疾病活动指数

评估项目	0分	1分	2分	3分
排便次数	正常	比正常增加1~2次/d	比正常增加3~4次/d	比正常增加5次/d
便血	未见	便中带血	大部分时间便中带血	一直存在
内镜发现	正常/无活动性病变	轻度(红斑、血管纹理减少、轻度易脆)	中度(明显红斑、血管纹理缺乏、易脆、糜烂)	重度(自发性出血、溃疡形成)
医师总体评价	正常	轻度病情	中度病情	重度病情

表 3 克罗恩病患者简化的CDAI算法

评估项目	评分
腹泻	稀便, 每日1次记为1分
腹块	无(0分); 可疑(1分); 确定(2分); 伴触痛(3分)
腹痛	无(0分); 轻(1分); 中(2分); 重(3分)
伴随疾病	每种症状记1分
一般情况	良好(0分); 稍差(1分); 差(2分); 不良(3分); 极差(4分)

内表达存在显著差异,且均低于对照组( $P<0.05$ ),其表达与病变程度呈负相关( $r = -0.35, P<0.05$ ); MPV在不同活动度CD患者体内表达存在显著差异,且均低于对照组( $P<0.05$ ),其表达与病变程度呈负相关( $r = -0.36, P<0.05$ ); RDW在不同活动度CD患者体内的表达存在显著差异,且均高于对照组( $P<0.05$ ),其表达与病变程度呈正相关( $r = 0.40, P<0.05$ );不同活动度CD患者体内PLT的表达水平相互比较,有显著差异,且均高于对照组( $P<0.05$ ),其表达与活动期病变程度呈正相关,相关系数 $r = 0.71, P<0.05$ ; CPR在不同活动度CD患者体内的表达存在显著差异,且均高于对照组,  $P<0.05$ ,其表达与病变程度呈正相关( $r = 0.80, P<0.05$ ); ESR在不同活动度CD患者体内

的表达存在显著差异,且均高于对照组( $P<0.05$ ),其表达与病变程度呈正相关( $r = 0.77, P<0.05$ ).

### 3 讨论

炎症性肠病在西方国家多发,我国近年来患者发病率增加,根据相关的研究报道指出,目前发病率在10/100000以上,成为消化系统常见的慢性疾病<sup>[17]</sup>. IBD是由炎症及溃疡性改变导致的胃肠道系统疾病,起病隐匿,常为慢性发病表现,病程长,反复发作,可在数十年内反复缓解与发作,免疫治疗与激素治疗效果较好,但易耐受,且治疗无效后再次治疗,效果差,预后不良<sup>[18,19]</sup>. IBD的发病机理复杂,目前的研究认为,多因素影响下的肠道免疫系统失衡,最终导致了针对自身免疫的发生,免疫效应的T细胞引起的炎症造成肠道病变部位的组织破坏,引起相应的临床表现<sup>[20-25]</sup>.

由于IBD是一类炎症性改变引起的疾病,因此既往的检查重点在于炎症相关的血液学指标,如白介素家族、血沉、C反应蛋白、MPO等,可以判断与IBD炎症活动度的相关性,预测治疗效果及预后.但此类检查在初诊患者中应用较少,不能及时有效的筛选IBD患者,且检查花费较多,因此本研究根据既往的研究结果,探索常见血

## ■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 具有一定指导意义.

表 4 血液学检查指标与UC患者疾病活动度及严重程度的关系

分组	HGB(g/L)	MCV(fl)	MCHC(g/L)	PLT( $10^9$ /L)	MPV(fl)	RDW(%)	CRP	ESR
轻度	121.32 ± 15.36 <sup>a</sup>	89.15 ± 18.54	317.68 ± 9.50 <sup>c</sup>	181.25 ± 35.70 <sup>e</sup>	11.76 ± 2.71 <sup>g</sup>	12.8 ± 2.4 <sup>i</sup>	19.7 ± 7.5 <sup>k</sup>	28.69 ± 3.55 <sup>m</sup>
中度	116.68 ± 10.53 <sup>a</sup>	87.71 ± 11.84	306.90 ± 9.45 <sup>c</sup>	246.49 ± 51.22 <sup>e</sup>	10.37 ± 1.75 <sup>g</sup>	14.2 ± 3.7 <sup>i</sup>	35.4 ± 7.2 <sup>k</sup>	33.80 ± 4.59 <sup>m</sup>
重度	112.34 ± 13.83 <sup>a</sup>	87.12 ± 17.63	291.85 ± 30.14 <sup>c</sup>	320.15 ± 84.31 <sup>e</sup>	8.32 ± 0.96 <sup>g</sup>	15.9 ± 1.8 <sup>i</sup>	53.5 ± 12.1 <sup>k</sup>	36.90 ± 9.13 <sup>m</sup>
缓解期	125.33 ± 9.64 <sup>a</sup>	86.99 ± 9.80	326.85 ± 5.46 <sup>c</sup>	169.53 ± 32.75 <sup>e</sup>	11.89 ± 1.54 <sup>g</sup>	11.6 ± 2.0 <sup>i</sup>	15.4 ± 2.7 <sup>k</sup>	21.50 ± 3.78 <sup>m</sup>
对照组	129.32 ± 5.60	89.41 ± 15.22	330.10 ± 15.21	157.23 ± 15.54	11.97 ± 1.75	11.2 ± 3.5	5.8 ± 1.6	15.63 ± 5.62

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>g</sup> $P < 0.05$ , <sup>i</sup> $P < 0.05$ , <sup>k</sup> $P < 0.05$ , <sup>m</sup> $P < 0.05$  vs 相应对照组. HGB: 血红蛋白浓度; MCV: 平均红细胞容积; MCHC: 平均红细胞血红蛋白浓度; PLT: 血小板计数; MPV: 平均血小板体积; RDW: 红细胞分布宽度; CPR: C反应蛋白; ESR: 血沉.

表 5 血液学检查指标与CD患者疾病活动度及严重程度的关系

分组	HGB(g/L)	MCV(fl)	MCHC(g/L)	PLT( $10^9$ /L)	MPV(fl)	RDW(%)	CRP	ESR
中度	111.15 ± 17.82 <sup>a</sup>	83.62 ± 10.44 <sup>c</sup>	310.60 ± 18.22 <sup>e</sup>	238.81 ± 31.59 <sup>g</sup>	9.77 ± 1.01 <sup>i</sup>	15.0 ± 2.5 <sup>k</sup>	39.5 ± 9.4 <sup>m</sup>	41.53 ± 10.32 <sup>o</sup>
重度	107.25 ± 24.71 <sup>a</sup>	81.93 ± 13.25 <sup>c</sup>	305.93 ± 26.59 <sup>e</sup>	326.01 ± 44.31 <sup>g</sup>	8.21 ± 1.66 <sup>i</sup>	16.3 ± 1.7 <sup>k</sup>	61.3 ± 22.1 <sup>m</sup>	48.46 ± 3.96 <sup>o</sup>
缓解期	124.89 ± 17.62 <sup>a</sup>	87.04 ± 12.50 <sup>c</sup>	328.11 ± 17.93 <sup>e</sup>	167.36 ± 21.14 <sup>g</sup>	11.42 ± 2.03 <sup>i</sup>	12.5 ± 1.1 <sup>k</sup>	13.8 ± 7.3 <sup>m</sup>	32.53 ± 4.88 <sup>o</sup>
对照组	129.32 ± 15.60	89.41 ± 15.22	330.10 ± 15.21	157.23 ± 15.54	11.97 ± 1.75	11.4 ± 1.6	9.5 ± 2.6	17.5 ± 6.55

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>g</sup> $P < 0.05$ , <sup>i</sup> $P < 0.05$ , <sup>k</sup> $P < 0.05$ , <sup>m</sup> $P < 0.05$ , <sup>o</sup> $P < 0.05$  vs 相应对照组. HGB: 血红蛋白浓度; MCV: 平均红细胞容积; MCHC: 平均红细胞血红蛋白浓度; PLT: 血小板计数; MPV: 平均血小板体积; RDW: 红细胞分布宽度; CPR: C反应蛋白; ESR: 血沉.

血液学检查指标与IBD炎症活动度的相关性, 以便能在初次检查诊断中有效的筛选IBD患者, 判断炎症活动度, 及早地开展治疗, 并在后续的治疗及随访中, 评价治疗效果, 进行预后的分析<sup>[26-28]</sup>.

常见的血液学检查指标较多, 根据文献查阅结果, 筛选出HGB、MCV、MCHC、PLT、MPV、RDW、CPR、ESR作为研究对象, 横向对比其在IBD患者及非免疫性消化系统疾病患者体内的差异, 分析其与炎症活动的关系, 指导临床诊疗. 该研究证实: HGB、MCHC、PLT、MPV、RDW、CPR、ESR可作为判断UC炎症活动性的指标, 早期指导临床的诊断及治疗, HGB、MCV、MCHC、PLT、MPV、RDW、CPR、ESR可作为评价CD炎症活动性的指标. 实验可见HGB、PLT、MPV比CRP更敏感. 临床应用, 可通过简单的血液血常规检查, 早期筛选可疑患者进入进一步的诊疗程序, 避免漏诊,

今后也可应用于临床的预后评价及复诊, 评价治疗效果, 但相应的机制需要进一步的探讨及研究, 以便更加明确IBD的发病机理及规律, 服务临床治疗.

IBD的治疗首先要掌握好分级、分期、分段治疗的原则: 分级治疗指确定疾病严重程度, 按轻、中、重不同程度采用不同药物及治疗方法; 分期治疗指活动期以控制症状为主要目标, 缓解期则应继续控制发作, 预防复发; 分段治疗指根据病变范围选择不同药物和治疗方法. 同时还强调包括支持、对症、心理治疗及营养治疗的综合应用; 对具体病例则十分强调个体化的处理原则<sup>[29]</sup>. 所以IBD的活动度及严重程度至关重要, 对IBD的诊断越完整越有利于更好地选择治疗方案和评估预后, 中国最新的IBD诊疗规范共识意见中对此作了详细介绍<sup>[30]</sup>. IBD治疗棘手, 病程反复, 虽经治疗可以缓解, 但远期治疗



效果差, 只有早期的诊断并及时的控制病情, 才能使患者获得较高的生活质量及较好的预后。

通过研究常见血液学检查指标与IBD病情活动度的关系, 可在较少临床检查的条件下帮助临床医生进行早期的诊断, 筛选患者, 为IBD患者的早期治疗创造条件, 今后也可应用于临床的预后评价及复诊, 评价治疗效果, 但相应的机制需要进一步的探讨及研究, 以便更加明确IBD的发病机制及规律, 服务临床治疗。但我们必须认识到, 所有的筛选检查都不能取代内镜病检, 高度怀疑IBD或者病情发作期的患者, 应及早行肠镜病检, 进行确诊后开展治疗。

#### 4 参考文献

- Mizoguchi A, Mizoguchi E. Inflammatory bowel disease, past, present and future: lessons from animal models. *J Gastroenterol* 2008; 43: 1-17 [PMID: 18297430 DOI: 10.1007/s00535-007-2111-3]
- 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *胃肠病学* 2007; 12: 488-495
- Alex P, Zachos NC, Nguyen T, Gonzales L, Chen TE, Conklin LS, Centola M, Li X. Distinct cytokine patterns identified from multiplex profiles of murine DSS and TNBS-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 341-352 [PMID: 18942757 DOI: 10.1002/ibd.20753]
- 邢亚威, 刘春玉, 王媛. 与炎症性肠病病情活动相关的因素. *临床荟萃* 2008; 23: 1519-1520
- Izcue A, Hue S, Buonocore S, Arancibia-Cárcamo CV, Ahern PP, Iwakura Y, Maloy KJ, Powrie F. Interleukin-23 restrains regulatory T cell activity to drive T cell-dependent colitis. *Immunity* 2008; 28: 559-570 [PMID: 18400195 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.02.019]
- Peyrin-Biroulet L, Reinisch W, Colombel JF, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Diamond R, Rutgeerts P, Tang LK, Cornillie FJ, Sandborn WJ. Clinical disease activity, C-reactive protein normalisation and mucosal healing in Crohn's disease in the SONIC trial. *Gut* 2013 Aug 23. [Epub ahead of print] [PMID: 23974954 DOI: 10.1136/gutjnl-2013-304984]
- Graff LA, Clara I, Walker JR, Lix L, Carr R, Miller N, Rogala L, Bernstein CN. Changes in fatigue over 2 years are associated with activity of inflammatory bowel disease and psychological factors. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 1140-1146 [PMID: 23602816 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.03.031]
- Kharitonov AG, Kondrashina EA, Baranovskii AI, Lapin SV, Bulgakova TV, Totolian AA. [The clinical immunologic characteristics of different variants of course of ulcer colitis]. *Klin Lab Diagn* 2013; (3): 22-26 [PMID: 23808021]
- Mahler M, Bogdanos DP, Pavlidis P, Fritzler MJ, Csernok E, Damoiseaux J, Bentow C, Shums Z, Forbes A, Norman GL. PR3-ANCA: a promising biomarker for ulcerative colitis with extensive disease. *Clin Chim Acta* 2013; 424: 267-273 [PMID: 23806819 DOI: 10.1016/j.cca.2013.06.005]
- Poli G, Biasi F, Leonarduzzi G. Oxysterols in the pathogenesis of major chronic diseases. *Redox Biol* 2013; 1: 125-130 [PMID: 24024145]
- 周利峰, 缪应雷. 炎症性肠病的生物学活性标志物的研究进展. *世界华人消化病杂志* 2011; 19: 3229-3236
- Rosenberg L, Nanda KS, Zenlea T, Gifford A, Lawlor GO, Falchuk KR, Wolf JL, Cheifetz AS, Goldsmith JD, Moss AC. Histologic markers of inflammation in patients with ulcerative colitis in clinical remission. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 991-996 [PMID: 23591275 DOI: 10.1016/j.cgh]
- Basseri RJ, Nemeth E, Vassilaki ME, Basseri B, Enayati P, Shaye O, Bourikas LA, Ganz T, Papadakis KA. Hepcidin is a key mediator of anemia of inflammation in Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 2013; 7: e286-e291 [PMID: 23219355 DOI: 10.1016/j.crohns]
- Liu S, Ren J, Han G, Wang G, Gu G, Xia Q, Li J. Mean platelet volume: a controversial marker of disease activity in Crohn's disease. *Eur J Med Res* 2012; 17: 27 [PMID: 23058104 DOI: 10.1186/2047-783X-17-27]
- Hisamatsu T, Okamoto S, Hashimoto M, Muramatsu T, Andou A, Uo M, Kitazume MT, Matsuoka K, Yajima T, Inoue N, Kanai T, Ogata H, Iwao Y, Yamakado M, Sakai R, Ono N, Ando T, Suzuki M, Hibi T. Novel, objective, multivariate biomarkers composed of plasma amino acid profiles for the diagnosis and assessment of inflammatory bowel disease. *PLoS One* 2012; 7: e31131 [PMID: 22303484 DOI: 10.1371/journal.pone.0031131]
- 沈骏, 殷洪敏, 冉志华, 周笑甜, 张尧, 蔡青. 炎症性肠病患者红细胞指数和血红蛋白的变化及其与疾病活动性的关系. *临床消化病杂志* 2008; 21: 18-20
- 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见. *中华消化杂志* 2012; 32: 796-813
- 欧阳钦, 胡品津, 钱家鸣, 郑家驹, 胡仁伟. 我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *胃肠病学* 2007; 12: 32-35
- Ogino H, Nakamura K, Ihara E, Akiho H, Takayanagi R. CD4+CD25+ regulatory T cells suppress Th17-responses in an experimental colitis model. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 376-386 [PMID: 20521112 DOI: 10.1007/s10620-010-1286-2]
- Vieira A, Fang CB, Rolim EG, Klug WA, Steinwurz F, Rossini LG, Candelária PA. Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes. *BMC Res Notes* 2009; 2: 221 [PMID: 19874614 DOI: 10.1186/1756-0500-2-221]
- Filik L, Dagli U, Ulker A. C-reactive protein and monitoring the activity of Crohn's disease. *Adv Ther* 2006; 23: 655-662 [PMID: 17050508]
- Magro F, Araujo F, Pereira P, Meireles E, Diniz-Ribeiro M, Veloso FT. Soluble selectins, sICAM, sVCAM, and angiogenic proteins in different activity groups of patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1265-1274 [PMID: 15387356]
- Wang LZ, Zhang YF, Tang BL, Yao KZ. Effects of intrathecal and i.v. small-dose sufentanil on the median effective dose of intrathecal bupivacaine for Caesarean section. *Br J Anaesth* 2007; 98: 792-796 [PMID: 17478452]
- Triantafyllidis JK, Nasioulas G, Kosmidis PA. Colorectal cancer and inflammatory bowel disease: epidemiology, risk factors, mechanisms of carcinogenesis and prevention strategies. *Anticancer Res*

- 2009; 29: 2727-2737 [PMID: 19596953]
- 25 O'Connor PM, Lapointe TK, Beck PL, Buret AG. Mechanisms by which inflammation may increase intestinal cancer risk in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1411-1420 [PMID: 20155848 DOI: 10.1002/ibd.21217]
- 26 Orlando A, Guglielmi FW, Cottone M, Orlando E, Romano C, Sinagra E. Clinical implications of mucosal healing in the management of patients with inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis* 2013 Aug 28. [Epub ahead of print] [PMID: 23993738 DOI: 10.1016/j.dld.2013.07.005]
- 27 Algaba A, Linares PM, Fernández-Contreras ME, Ordoñez A, Trápaga J, Guerra I, Chaparro M, de la Poza G, Gisbert JP, Bermejo F. Relationship between levels of angiogenic and lymphangiogenic factors and the endoscopic, histological and clinical activity, and acute-phase reactants in patients with inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 2013; 7: e569-e579 [PMID: 23642997 DOI: 10.1016/j.crohns.2013.04.005]
- 28 Samuel S, Bruining DH, Loftus EV, Thia KT, Schroeder KW, Tremaine WJ, Faubion WA, Kane SV, Pardi DS, de Groen PC, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. Validation of the ulcerative colitis colonoscopic index of severity and its correlation with disease activity measures. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 49-54.e1 [PMID: 22902762 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.08.003]
- 29 蒋蔚茹. 炎症性肠病的认识与治疗进展. *上海医药* 2010; 31: 201-210
- 30 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *中华消化杂志* 2007; 12: 488

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

# 锯齿状病变患者组织中*CDX2*基因启动子中上游区域的甲基化

许春伟, 王鲁平, 葛 畅, 张玉萍, 方 园

许春伟, 王鲁平, 葛畅, 张玉萍, 方园, 中国人民解放军北京军区总医院病理科 北京市 100700  
许春伟, 主要从事胃肠消化系统肿瘤的基础与临床研究。  
首都卫生发展科研专项基金资助项目, No. 2011-5021-02  
作者贡献分布: 主要实验、资料分析、统计及文章撰写由许春伟完成; 研究设计、文章修改及审阅由王鲁平完成; 资料分析、样本处理及生物信息学分析由葛畅、张玉萍及方园完成。  
通讯作者: 王鲁平, 教授, 100700, 北京市东城区南门外大街5号, 中国人民解放军北京军区总医院病理科。bzwlp@yahoo.com  
收稿日期: 2013-08-05 修回日期: 2013-09-12  
接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-28

## *CDX2* upstream promoter methylation status in serrated lesions

Chun-Wei Xu, Lu-Ping Wang, Chang Ge, Yu-Ping Zhang, Yuan Fang

Chun-Wei Xu, Lu-Ping Wang, Chang Ge, Yu-Ping Zhang, Yuan Fang, Department of Pathology, General Hospital of Beijing Military Command of PLA, Beijing 100700, China

Supported by: the Capital Health Development Research Fund, No. 2011-5021-02

Correspondence to: Lu-Ping Wang, Professor, Department of Pathology, General Hospital of Beijing Military Command of PLA, 5 Nanmencang, Dongcheng District, Beijing 100700, China. bzwlp@yahoo.com

Received: 2013-08-05 Revised: 2013-09-12

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To detect *CDX2* gene methylation status and *CDX2* protein expression in serrated lesions to explore their clinical significance and role in carcinogenesis.

**METHODS:** Taqman probe qPCR (MethyLight) was used to detect *CDX2* gene CpG island methylation status in 225 cases of serrated lesions (including 96 cases of hyperplastic polyps, 61 cases of sessile serrated adenomas/polyps, and 68 cases of traditional serrated adenomas), 54 cases of tubular adenomas, 69 cases of colorectal cancer, and 42 cases of normal colorectal mucosa tissue. The amplified sequences were verified by direct sequencing. Immunohistochemistry was used to detect *CDX2* protein expression in 116

cases of serrated lesions (including 52 cases of hyperplastic polyps, 41 cases of sessile serrated adenomas/polyps, and 23 cases of traditional serrated adenomas), 20 cases of tubular adenomas, 24 cases of colorectal cancer, and 24 cases of normal colorectal mucosa tissue.

**RESULTS:** The rates of *CDX2* promoter methylation differed significantly between normal colorectal mucosa tissue and hyperplastic polyps ( $P = 0.019$ ), sessile serrated adenomas/polyps ( $P = 0.015$ ), and traditional serrated adenomas ( $P = 0.002$ ), between colorectal cancer and hyperplastic polyps ( $P = 0.000$ ), sessile serrated adenomas/polyps ( $P = 0.000$ ) and traditional serrated adenomas ( $P = 0.000$ ), and between tubular adenomas and traditional serrated adenomas ( $P = 0.027$ ). The positive rates of *CDX2* protein differed significantly between colorectal cancer and hyperplastic polyps ( $P = 0.001$ ), between tubular adenomas and hyperplastic polyps ( $P = 0.005$ ), and between hyperplastic polyps and traditional serrated adenomas ( $P = 0.038$ ). The rate of *CDX2* promoter methylation and *CDX2* protein expression had weak negative correlations among hyperplastic polyps ( $P = 0.652$ ,  $r = -0.064$ ), sessile serrated adenomas/polyps ( $P = 0.238$ ,  $r = -0.182$ ) and traditional serrated adenomas ( $P = 0.519$ ,  $r = -0.142$ ). The rate of *CDX2* gene promoter methylation was positively correlated with age in hyperplastic polyps ( $P = 0.002$ ,  $r = 0.312$ ), sessile serrated adenomas/polyps ( $P = 0.000$ ,  $r = 0.473$ ), traditional serrated adenomas ( $P = 0.001$ ,  $r = 0.392$ ), and tubular adenoma ( $P = 0.001$ ,  $r = 0.440$ ).

**CONCLUSION:** *CDX2* upstream promoter methylation status is complicated, and *CDX2* protein expression is little affected by *CDX2* upstream promoter methylation in serrated lesions. The rate of *CDX2* upstream promoter methylation in serrated lesions gradually increases as the age increases.

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

Key Words: DNA methylation; *CDX2* gene; qPCR;

## ■背景资料

结直肠癌与锯齿状病变关系密切, 锯齿状癌变通路被认为是仅次于APC腺瘤-癌通路的第2条重要癌变通路。已知结直肠癌有DNA甲基化现象, 但锯齿状病变的DNA甲基化状况尚缺乏系统研究, 许多问题还不清楚, 为了解决这一问题, 本研究拟筛选出锯齿状病变和癌变的(caudal type homeobox transcription factor 2, *CDX2*)基因甲基化, 为锯齿状病变鉴别诊断, 早期发现癌前病变、预防结直肠癌提供新的生物标志物。为锯齿状病变分子分型及癌变机制奠定科学理论基础。

## ■同行评议者

赵青川, 教授, 主任医师, 京医院消化外科



## ■研究前沿

目前关于锯齿状病变甲基化的研究国内未见文献报道, 国外仅报道一篇, 该文运用MSP方法检测一组小样本的锯齿状病变的17个基因甲基化状况, 研究发现发现伴有/和不伴有异型增生的SSA检测到*CDX2*、*h-MLH-1*和*TLR2*基因甲基化, 但增生性息肉(hyperplastic polyp)没有检测到上述基因甲基化, 为后续的大样本验证研究奠定基础。

## DNA probe; Serrated lesions

Xu CW, Wang LP, Ge C, Zhang YP, Fang Y. *CDX2* upstream promoter methylation status in serrated lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3661-3669 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3661.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3661>

## 摘要

**目的:** 观察锯齿状病变组织中*CDX2*基因甲基化状态和*CDX2*蛋白表达, 探讨临床病理意义和在癌变通路中的作用, 同时探讨*CDX2*基因在不同年龄层段甲基化状况。

**方法:** 应用Taqman探针qPCR(MethyLight)方法检测实验组225例锯齿状病变(包括96例增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)、61例广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉(sessile serrated adenoma/polyp, SSA/P)和68例传统型锯齿状腺瘤(traditional serrated adenoma, TSA)、对照组54例管状腺瘤(tubular adenoma, TA)、69例结直肠癌(colorectal cancer, CRC)和42例正常组织中*CDX2*基因CpG岛甲基化状态, 并通过测序法验证扩增序列, 同时应用免疫组织化学方法检测实验组116例锯齿状病变(包括52例HP、41例SSA/P、23例TSA)、对照组20例TA、24例CRC和24例正常组织中*CDX2*蛋白的表达情况。

**结果:** *CDX2*基因启动子甲基化率在对照组正常组织与实验组HP( $P = 0.019$ )、SSA/P( $P = 0.015$ )和TSA( $P = 0.002$ ), 对照组CRC与实验组HP( $P = 0.000$ )、SSA/P( $P = 0.000$ )和TSA( $P = 0.000$ ), 对照组TA与实验组TSA( $P = 0.027$ )均有显著性差异; *CDX2*蛋白阳性率在对照组CRC与实验组HP( $P = 0.001$ ), 对照组TA与实验组HP( $P = 0.005$ ), 实验组HP和TSA( $P = 0.038$ )均有显著性差异; *CDX2*基因启动子甲基化率和*CDX2*蛋白阳性率的相关性比较中, 实验组HP、SSA/P和TSA中 $P = 0.652$ ,  $r = -0.064$ (极弱相关);  $P = 0.238$ ,  $r = -0.182$ (极弱相关);  $P = 0.519$ ,  $r = -0.142$ (极弱相关), 但两者有负相关趋势; *CDX2*基因启动子甲基化频率和不同年龄层段相关性比较实验组HP、SSA/P和TSA中 $P = 0.002$ ,  $r = 0.312$ (弱相关);  $P = 0.000$ ,  $r = 0.473$ (中等程度相关);  $P = 0.001$ ,  $r = 0.392$ (弱相关), 对照组TA中 $P = 0.001$ ,  $r = 0.440$ (中等程度相关)。

**结论:** 组织中*CDX2*基因启动子中上游区域甲基化状态比较复杂, 极少部分甲基化状态可能有诱导*CDX2*蛋白表达下调, 在锯齿状通路的

发生发展中影响作用也甚微; 大部分甲基化可能随着年龄增加而逐渐增加。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** DNA甲基化; *CDX2*基因; qPCR; DNA探针; 锯齿状病变

**核心提示:** Caudal type homeobox transcription factor 2(*CDX2*)基因启动子中上游区域甲基化状态比较复杂, 大部分甲基化可能随着年龄增加而逐渐增加。

许春伟, 王鲁平, 葛畅, 张玉萍, 方园. 锯齿状病变患者组织中*CDX2*基因启动子中上游区域的甲基化. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3661-3669 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3661.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3661>

## 0 引言

目前结直肠癌(colorectal cancer, CRC)已成为严重威胁人民健康的常见病和多发病, CRC在全球处于恶性肿瘤发病率第3位, 在我国目前处于第5位, 且发病率呈逐年上升趋势<sup>[1]</sup>. 锯齿状病变是一组具有锯齿状结构的异质性上皮病变. 包括增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)、广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉(sessile serrated adenoma/polyp, SSA/P)、传统型锯齿状腺瘤(traditional serrated adenoma, TSA). 锯齿状病变通过“增生性息肉-锯齿状腺瘤-癌”这条锯齿状通路恶变成癌, 近年来越来越受国内外医学研究工作者们的关注. 新近研究发现, CRC中60%的来自普通腺瘤, 35%来自“增生性息肉-锯齿状腺瘤-癌”这条锯齿状通路<sup>[2]</sup>. 特别是锯齿状病变的CpG岛甲基化表型(CpG island methylator phenotyp, CIMP). 锯齿状通路涉及一系列异常的表现遗传学改变<sup>[3]</sup>. 这些异常改变中以DNA甲基化最常见. DNA异常甲基化分为A型和C型, 前者与年龄因素有关, 年龄越大, 甲基化频率越高, 后者与肿瘤相关, 通过引起相关基因表达下调或沉默, 促进肿瘤的发生发展<sup>[4]</sup>.

*CDX2*(caudal type homeobox transcription factor 2)是胃肠胚胎遗传通路中一种新发现的特异性的核转录因子, 是尾型同源框基因家族中的一员, 其基因及相关蛋白最早由Mlodzik等<sup>[5]</sup>于1987年从果蝇中分离成功. 他与Parahox家族呈高度的同源性, 基因定位于人类染色体13号长臂1区2和3带(13q12-13). *CDX2*蛋白在胃肠胚胎遗传通路中发挥重要作用<sup>[6]</sup>. 目前关于*CDX2*

基因的研究主要是在胃癌及胃肠化生方面, 关于CDX2基因在锯齿状病变的研究甚少, 尤其是甲基化方面的研究. 本研究通过MethyLight方法一方面分析锯齿状病变中CDX2基因启动子区CpG岛甲基化和免疫组织化学中CDX2蛋白的表达情况, 在基因层面和蛋白层面对CDX2进行初步探究; 另一方面分析锯齿状病变中CDX2基因启动子区CpG岛甲基化和年龄相关因素情况, 在甲基化和年龄上对CDX2进行初步探究.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集北京军区总医院2007-2013年病理诊断为各类结直肠息肉和腺瘤切片4810例, 从中筛选出腺体具有锯齿状特征的息肉及腺瘤, 进行组织学诊断及分类. 由3名病理医师按WHO(2010)消化系肿瘤分类及文献标准<sup>[7-11]</sup>4-5轮回顾性阅片. 从中筛选出225例锯齿状病变(96例HP、61例SSA/P和68例TSA)作为实验组, 同时收集54例管状腺瘤(tubular adenoma, TA)、42例正常组织和69例CRC作为对照组, 并收集相关临床及内窥镜资料. DNA提取试剂盒购自德国QIAGEN公司; 甲基化修饰试剂盒为美国ZYMO公司产品; 核酸蛋白质浓度测量仪B-500购自上海创萌生物科技有限公司; 甲基化阳性/阴性对照为美国ZYMO公司产品; qPCR反应试剂ROX购自TaKaRa公司; Mix购自上海辉睿生物科技有限公司; CDX2抗体购自中杉金桥公司(1:500稀释); 内参基因 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)引物和探针参照文献<sup>[12]</sup>设计, 其引物序列上游引物: 5'-TGGTCATCCAGGTTTAGTAAGT-3', 下游引物: 5'-AACCAATAAACCTACTCCTCCCTTAA-3', 探针: FAM 5'-ACCACCACCAACA-CACAATAACAAACACA-3' BHQ1. 甲基化引物和探针由上海辉睿生物科技有限公司合成. Mx3000P定量PCR扩增仪为美国Stratagene公司产品.

### 1.2 方法

**1.2.1 甲基化引物和探针设计:** CDX2基因序列参照GenBank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), GenBank Accession: NC\_000013. 甲基化引物和探针由Beacon Designer7.9软件设计, 其引物序列上游引物: 5'-AAACTACGCACTACTCTAAACGAAA-3', 下游引物: 5'-GTAGTTATAGTTTGGCGGGGTTTG-3'; 探针: FAM 5'-CGACAACCTACGCCTAACCGACCTC-3' BHQ1. 设计标准: 引物扩增片段在80-150 bp, 引物长度

17-25 bp, GC含量在40%-70%, 两条引物的Tm值尽量接近. 避免引物内部或之间形成3 bp以上的互补序列. 探针长度20-30 bp, 探针的Tm值比引物高5 °C-10 °C, 探针内标或探针与引物之间避免形成3 bp以上的互补序列, 对其进行BLAST检查, 引物和探针符合要求, 并由上海辉睿生物科技有限公司合成.

**1.2.2 DNA提取:** 采用QIAamp DNA FFPE Tissue Kit试剂盒提取组织DNA, 将含有DNA组织的蜡块连切5张10  $\mu$ m的厚蜡膜, 严格按照试剂盒说明步骤进行操作. 并测定其纯度和浓度备用.

**1.2.3 甲基化修饰:** 采用EZ DNA Methylation-Gold™ Kit(D5005)试剂盒, 严格按照试剂盒说明步骤进行操作. 经此步后, DNA序列中未甲基化的胞嘧啶(C)转变为尿嘧啶(U).

**1.2.4 MethyLight:** PCR反应体系(20  $\mu$ L): 2 $\times$ Taq PCR Master Mix 10  $\mu$ L; 修饰后的DNA模板2  $\mu$ L; 上、下游引物各1  $\mu$ L(10 pmol); 探针FAM 0.4  $\mu$ L(10 pmol); ROX 0.3  $\mu$ L. 反应条件: 94 °C预变性5 min; 94 °C 30 s, 56 °C 45 s, 72 °C 45 s, 共50个循环; 72 °C延伸5 min, 4 °C冷却5 min. 每例标本设两个复孔, 经亚硫酸氢盐修饰的Human Methylated & Non-methylated DNA Set作为阳性、阴性对照, 水为空白对照.

**1.2.5 免疫组织化学染色:** 所有标本常规石蜡包埋, 4  $\mu$ m厚连续切片, 60 °C温箱烘烤90 min. 采用EnVision二步法, 实验过程严格按照试剂盒说明书进行, 高温高压抗原修复, DAB显色, PBS代替一抗为阴性对照, 已知阳性的结肠腺体组织为阳性对照.

**1.2.6 结果判断标准:** MethyLight结果判断标准<sup>[13]</sup>: 同时扩增目的基因(CDX2)和内参基因( $\beta$ -actin), 根据标准曲线得到两者的原始拷贝数, 计算标准甲基化指数(the normalized index of methylation, NIM)其定义为:  $NIM = [(CDX2 \text{ sample}/CDX2 \text{ positive})/(\beta\text{-actin sample}/\beta\text{-actin positive})] \times 100$ , 其中CDX2 sample指样本中甲基化CDX2基因的拷贝数, CDX2 positive指阳性对照中甲基化CDX2基因的拷贝数,  $\beta$ -actin sample和 $\beta$ -actin positive与上述相同.  $NIM \geq 4$ 为甲基化,  $NIM < 4$ 为非甲基化. 免疫组织化学判断标准: CDX2阳性定位于细胞核; 标记指数计算方法<sup>[14]</sup>: 每张切片低倍镜下选择组织结构良好、比较清晰的5个阳性细胞最为密集的区域, 每个区域在高倍镜下, 计数100个细胞中的阳性细胞指数(不包括间质细胞和其他非肿瘤细胞), 计

## ■ 相关报道

自本世纪初, 国内王鲁平教授团队在结直肠锯齿状病变研究方面一直处于领先水平. 其团队率先描述了锯齿状病变形态学特点、免疫组织化学特征以及分子生物学改变, 并在国内外首先报告了锯齿状病变中Runx3基因rs2236851位点基因型检测及蛋白表达. DNA甲基化研究是继基因多态性后在锯齿状病变的后续研究. 目前王鲁平教授团队在锯齿状病变研究方面发表中英文论文80余篇.

## ■创新盘点

首次选用一组与结直肠癌甲基化有关的基因,用于检测根据最新分类的各类结直肠癌锯齿状病变甲基化状况,从中筛选出各类病变相关甲基化基因,为锯齿状病变的诊断及分子分型提供有力的生物标志物,为锯齿状癌前病变提供预测指标,为锯齿状甲基化癌变机制及靶向治疗提供理论依据。*CDX2*是胃肠胚胎遗传通路中一种新发现的特异性的核转录因子,是尾型同源框基因家族中的一员。本研究在国内外首次提出*CDX2*基因甲基化主要与年龄因素有关,年龄越大,甲基化频率越高,其可能是一个年龄相关性甲基化基因。

表1 *CDX2*基因CpG岛甲基化阳性率统计结果

病理类型	<i>n</i>	<i>CDX2</i> 基因CpG岛甲基化		
		甲基化	非甲基化	甲基化率(%)
正常	42	22	20	53.38
TA	54	34 <sup>a</sup>	20	62.96
HP	96	70 <sup>a,c</sup>	26	72.97
SSA/P	61	46 <sup>a,c</sup>	15	75.41
TSA	68	55 <sup>a,c</sup>	13	80.88
CRC	69	69	0	100.00
$\chi^2$			54.892	
<i>P</i> 值			0.000	

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 正常组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs CRC组。TA: 管状腺瘤; HP: 增生性息肉; SSA/P: 广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉; TSA: 传统型锯齿状腺瘤; CRC: 结直肠癌。

算阳性细胞数平均值的百分率。标记指数计分: I级10%-25%为1分, II级26%-50%为2分, III级51%-75%为3分, IV级76%-100%为4分。染色强度计分: I级淡黄色为1分, II级棕黄色为2分, III级棕褐色为3分。每张切片两种评分之乘积为该切片最后的表达强度: 1-3分为(+), 4-6分为(++), ≥8分为(+++)。

**统计学处理** 所有数据采用SPSS19.0统计软件, 甲基化结果和免疫组织化学结果运用 $\chi^2$ 及Fisher确切概率法, 两组间比较运用Bonferroni检验, 甲基化和蛋白表达相关性及甲基化和年龄相关性运用Pearson相关法进行统计学处理, 检验水准 $\alpha = 0.05$ , 并设定*P*值为双侧分布, *P*<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 临床资料特征** 225例锯齿状病变中HP 96例、SSA/P 61例、TSA 68例, 分别占锯齿状病变的42.67%, 27.11%和30.22%。96例HP中, 男性63例, 女性33例, 男性多见, 年龄31-88岁, 平均年龄56.052岁±12.448岁; 61例SSA/P中, 男性43例, 女性18例, 男性多见, 年龄23-84岁, 平均年龄56.665岁±14.976岁; 68例TSA中, 男性46例, 女性22例, 男性多见, 年龄30-85岁, 平均年龄59.470岁±12.506岁。

**2.2 *CDX2*基因标准曲线分析** 将阳性对照按10的倍数稀释成 $1-1 \times 10^{-6}$  7个浓度梯度制作标准曲线(其拷贝数为 $10^3-10^9$ /mL), 各浓度梯度反应均做复孔。MethyLight的线性范围为 $10^4-10^8$ 拷贝/mL, *R*<sup>2</sup>为0.942。

**2.3 *CDX2*基因启动子CpG岛甲基化 *CDX2*基**

因启动子CpG岛甲基化率在正常、TA、HP、SSA/P、TSA和CRC分别为53.38%(22/42)、62.96%(34/54)、72.97%(70/96)、80.88%(55/68)、75.41%(46/61)和100%(69/69)。实验组HP和对照组正常、CRC之间有显著性差异(*P*<0.05), 实验组HP和对照组TA之间差异不显著(*P*>0.05); 实验组HP和实验组SSA/P及TSA之间差异不显著(*P*>0.05); 实验组SSA/P和对照组正常、CRC之间有显著性差异(*P*<0.05), 实验组SSA/P和实验组HP、TSA及对照组TA之间差异不显著(*P*>0.05); 实验组TSA与对照组正常、TA、CRC之间有显著性差异(*P*<0.05), 与实验组HP、SSA/P之间差异不显著(*P*>0.05)(表1, 图1)。

**2.4 测序法验证扩增序列** PCR扩增产物送北京金唯智生物科技有限公司测序, 由于扩增序列(91 bp)过小, 连接到质粒作为载体后, 用通用引物的方法测序, 比对测序目的片段和Beacon Designer 7.9软件设计序列吻合(图2)。

**2.5 *CDX2*蛋白表达状况** *CDX2*蛋白阳性表达率在正常、TA、HP、SSA/P、TSA和CRC分别为100%(24/24)、75.00%(15/20)、98.07%(51/52)、87.80%(36/41)、82.61%(19/23)和70.83%(17/24)。实验组HP与对照组TA、CRC和实验组TSA之间有显著性差异(*P*<0.05), 与对照组正常和实验组SSA/P差异性不显著(*P*>0.05); 实验组SSA/P与对照组正常、TA、CRC和实验组HP、TSA差异性不显著(*P*>0.05); 实验组TSA与对照组正常、TA、CRC和实验组HP、TSA差异性不显著(*P*>0.05)(表2, 图3)。

**2.6 *CDX2*基因甲基化与*CDX2*蛋白相关性分析** 经统计学分析显示: HP、SSA/P、TSA四组中*CDX2*甲基化与*CDX2*蛋白表达结果差异不显著(*P*>0.05), 但有负相关趋势, 相关系数分别为 $r = -0.064$ 、 $r = -0.182$ 、 $r = -0.142$ (表3)。

**2.7 *CDX2*基因甲基化与年龄相关性分析** 经统计学分析显示: TA、HP、SSA/P、TSA 4组中*CDX2*基因甲基化与年龄差异均显著(*P*<0.01)。年龄20-40岁组甲基化率稳定在20%-40%之间, 年龄41-60岁组甲基化率稳定在70%-80%之间, 年龄超过60岁组甲基化率稳定在80%以上。*CDX2*基因甲基化与年龄相关性为正相关, 与TA、HP、SSA/P、TSA相关系数分别为 $r = 0.440$ 、 $r = 0.312$ 、 $r = 0.473$ 、 $r = 0.392$ (表4-7)。

## 3 讨论

CRC是最常见的消化系恶性肿瘤之一, 全球



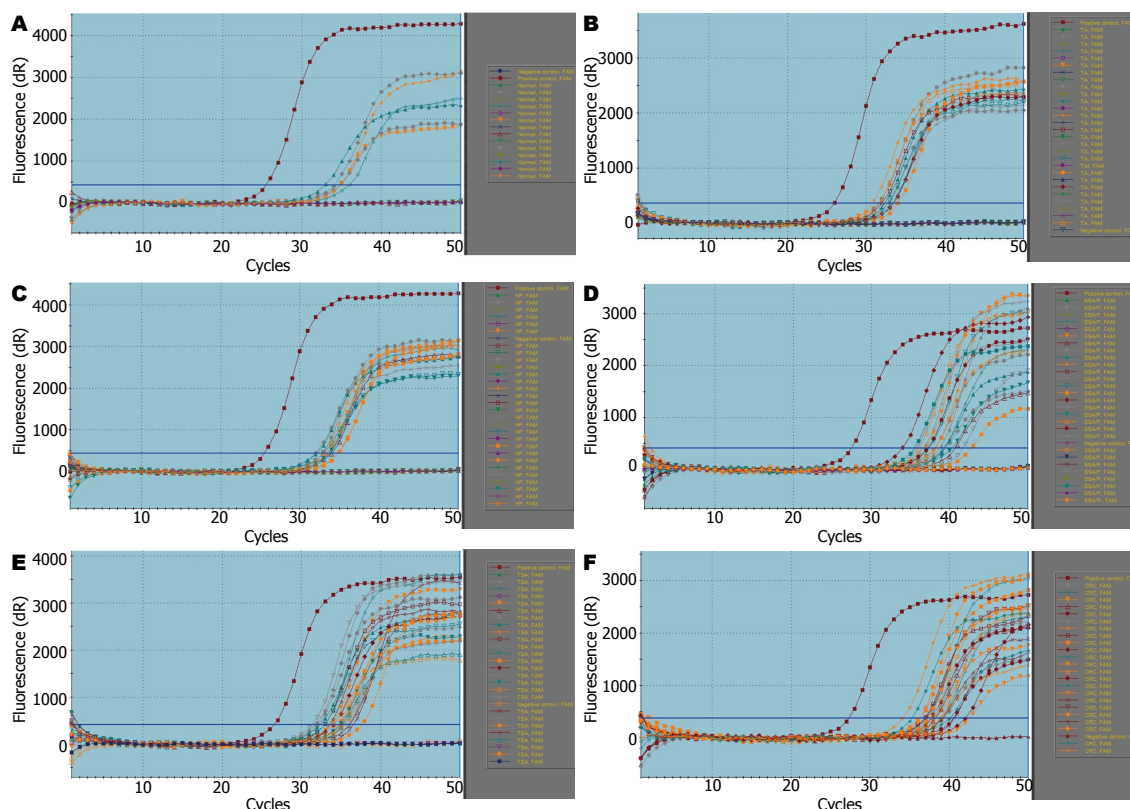


图 1 经亚硫酸氢盐修饰后的扩增曲线. A: 经亚硫酸氢盐修饰后正常组织扩增曲线; B: 经亚硫酸氢盐修饰后TA扩增曲线; C: 经亚硫酸氢盐修饰后HP扩增曲线; D: 经亚硫酸氢盐修饰后SSA/P扩增曲线; E: 经亚硫酸氢盐修饰后TSA扩增曲线; F: 经亚硫酸氢盐修饰后CRC扩增曲线.

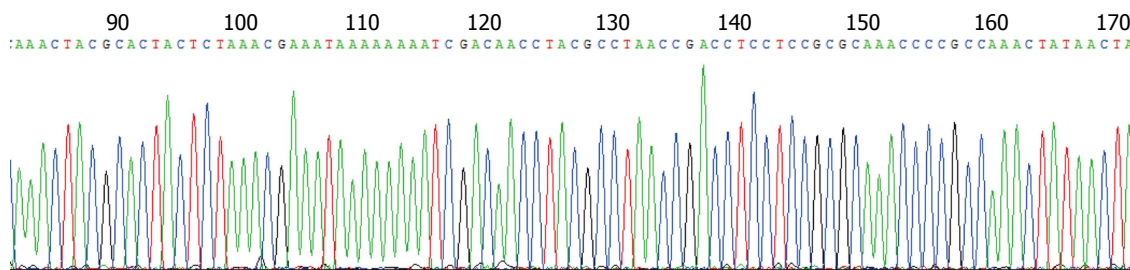


图 2 CDX2基因扩增片段测序图. 图中甲基化片段中CpG二核苷酸的胞嘧啶保持不变.

CRC每年新发病例数达123万例, 死亡约为发病率的1/2. 近年研究表明, CRC发病率目前仍呈持续增长态势, 其原因之一就是结直肠锯齿状病变认识不足<sup>[3,15]</sup>. 2010年WHO消化系肿瘤病理学和遗传学分类中对锯齿状病变的分类比以往更为详细<sup>[7]</sup>, HP在锯齿状病变中最常见, 占有病变的75%以上, 根据组织学上黏液的不同分为微泡型增生性息肉(microvesicular hyperplastic polyp, MVHP)、富于杯状细胞型增生性息肉(goblet-cell rich hyperplastic polyp, GCHP)、黏液缺乏型增生性息肉(mucin-poor type, MPHP)<sup>[16]</sup>. SSA/P占锯齿状病变的15%-25%, 根据细胞异型性分为伴/不伴有细胞异型增生<sup>[16-18]</sup>. TSA不常

见, 占锯齿状病变的1%左右, 特征为具有整体复杂结构与纤维状生长方式, 常显示细胞异型特点, 与TA及伴细胞异型的SSA不同<sup>[16,19]</sup>. TSA一般与高MSI癌无关, 可能与低MSI有关<sup>[10]</sup>. 近年来从分子遗传学角度对锯齿状病变进行研究发现, 结直肠锯齿状病变通路是一个多因素、多阶段、多基因连续累积发生的过程, 在此演变过程中有众多CRC相关基因参与, 具体的发病机制迄今未完全明了. 但这些基因发生的甲基化、基因杂合子丢失(loss of heterozygosity, LOH)等异常改变导致锯齿状病变的发生发展<sup>[20-22]</sup>. 锯齿状通路中有众多异常基因甲基化, 若能深入研究并加以利用, 不仅可以用于CRC的早期诊断、高

#### 应用要点

本文发现CDX2基因在正常组织甲基化率53.38%, 且其与CDX2蛋白阳性率的相关性比较中虽为负相关, 但相关性极弱, 所以笔者认为CDX2基因启动子上游区域甲基化是否真正起到诱导CDX2蛋白表达降低, 还是磷酸化或其他未知因素才是真正诱导CDX2蛋白表达降低, 这有待进一步探究, 下一步实验我们将在HT-29和Lovo结直肠癌细胞株中通过加入去甲基化抑制剂去验证CDX2蛋白是否逆转.

■同行评价  
本文具有一定指  
导意义。

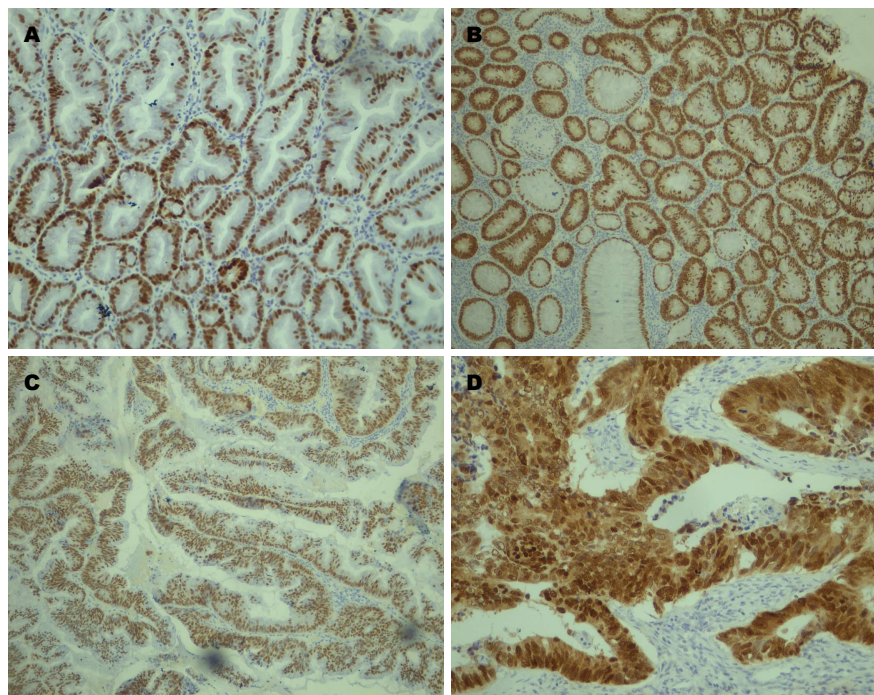


图3 EnVision二步法免疫组织化学结果. A: HP中CDX2阳性表达, 阳性表达定位于细胞核(×200); B: SSA/P中可见细胞核CDX2呈+(×200); C: TSA腺体中CDX2腺体细胞核呈+(×200); D: CRC呈(++)(×400). TA: 管状腺瘤; HP: 增生性息肉; SSA/P: 广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉; TSA: 传统型锯齿状腺瘤; CRC: 结直肠癌。

表2 CDX2蛋白表达阳性率统计结果

病理类型	n	CDX2蛋白		
		(+)-(+++)	(-)-(-/+)	阳性率(%)
正常	24	24	0	100.00
TA	20	15	5	75.00 <sup>a</sup>
HP	52	51	1	98.07
SSA/P	41	36	5	87.80
TSA	23	19	4	82.61 <sup>a</sup>
CRC	24	17	7	70.83 <sup>a</sup>
$\chi^2$		21.699		
P值		0.001		

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常组. TA: 管状腺瘤; HP: 增生性息肉; SSA/P: 广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉; TSA: 传统型锯齿状腺瘤; CRC: 结直肠癌。

危人群的监测、癌变风险评估等, 还可为CRC靶向治疗药物提供理论依据支持<sup>[2,23]</sup>。

本实验研究中发现正常组织、TA、HP、SSA/P、TSA和CRC中均有CDX2基因启动子CpG岛中上游区域的甲基化, 实验组锯齿状病变HP、SSA/P和TSA甲基化率为72.97%(70/96)、75.41%(46/61)和80.88%(55/68), 对照组正常组织、TA和CRC的甲基化率为53.38%(22/42)、62.96%(34/54)和100%(69/69), 经统计学处理有显著性差异。Dhir等<sup>[23]</sup>在18例TA中检测到甲基

化率为52.9%, 29例不伴异型性的SSA/P中检测到甲基化率为66.67%, 19例伴有异型性的SSA/P中检测到甲基化率为73.68%, 但在9例HP中未检测到甲基化, 我们研究中对照组的TA和实验组的SSA/P的甲基化率与以上研究结果基本符合, 但实验组HP的甲基化率72.97%, 与以上研究结果出入较大, 可能与样本量、样本来源、引物在CpG岛的位置不同等因素有关。本研究对照组与实验组组间比较过程中, 对照组正常组织与实验组HP( $P = 0.019$ )、SSA/P( $P = 0.015$ )和TSA( $P = 0.002$ )有显著性差异, 对照组CRC与实验组HP( $P = 0.000$ )、SSA/P( $P = 0.000$ )和TSA( $P = 0.000$ )有显著性差异, 对照组TA与实验组TSA( $P = 0.027$ )有显著性差异, 与实验组HP( $P = 0.204$ )和SSA/P( $P = 0.148$ )差异性均不显著; 实验组与实验组组间比较过程中, HP和SSA/P( $P = 0.729$ ), HP和TSA( $P = 0.238$ )及SSA/P和TSA( $P = 0.452$ )组间差异性均不显著。

运用免疫组织化学方法研究中发现实验组HP、SSA/P和TSA蛋白表达阳性率为98.08%(51/52)、87.80%(36/41)和82.61%(19/23), 对照组正常组织、TA和CRC中蛋白表达阳性率为100%(24/24)、75.00%(15/20)和70.83%(17/24)。与Mochizuka等<sup>[24]</sup>对15例HP, 29例SSA/P, 12例TSA和16例TA结果不符, 在本实

表 3 HP组、SSA/P组和TSA组中CDX2蛋白表达与CDX2甲基化情况

类型		HP			SSA/P			TSA		
		CDX2		合计	CDX2		合计	CDX2		合计
		(+)-(+++)	(-)-(-/+)		(+)-(+++)	(-)-(-/+)		(+)-(+++)	(-)-(-/+)	
CDX2	甲基化	42	1	43	30	5	35	17	4	21
	非甲基化	9	0	9	6	0	6	2	0	2
合计		51	1	52	36	5	41	19	4	23
P、值		$P = 0.652, r = -0.064$			$P = 0.238, r = -0.182$			$P = 0.519, r = -0.142$		

TA: 管状腺瘤; HP: 增生性息肉; SSA/P: 广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉; TSA: 传统型锯齿状腺瘤; CRC: 结直肠癌。

表 4 HP组年龄与甲基化相关性情况

分组	n	甲基化	非甲基化	甲基化率(%)
年龄(岁)				
20-40	8	2	6	25.00
41-60	54	39	15	72.22
≥61	34	29	5	85.29
P、r值		$P = 0.002, r = 0.312$		

HP: 增生性息肉。

表 5 TA组年龄与甲基化相关性情况

分组	n	甲基化	非甲基化	甲基化率(%)
年龄(岁)				
20-40	3	0	6	0.00
41-60	27	14	13	51.85
≥61	24	20	4	83.33
P、r值		$P = 0.001, r = 0.440$		

TA: 管状腺瘤。

表 6 SSA/P组年龄与甲基化相关性情况

分组	n	甲基化	非甲基化	甲基化率(%)
年龄(岁)				
20-40	9	2	7	22.22
41-60	23	18	5	78.26
≥61	29	26	3	89.66
P、r值		$P = 0.000, r = 0.473$		

SSA/P: 广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉。

表 7 TSA组年龄与甲基化相关性情况

分组	n	甲基化	非甲基化	甲基化率(%)
年龄(岁)				
20-40	8	3	5	37.50
41-60	19	15	4	78.95
≥61	41	37	4	90.24
P、r值		$P = 0.001, r = 0.392$		

TSA: 传统型锯齿状腺瘤。

验中HP和SSA/P表达明显高于TSA和TA, 具体原因可能与样本量、样本来源等因素有关。本研究对照组与实验组组间比较过程中, 对照组正常组织与实验组HP( $P = 1.000$ )、SSA/P( $P = 0.194$ )和TSA( $P = 0.104$ )差异性不显著, 对照组CRC与实验组HP( $P = 0.001$ )有显著性差异, 但SSA/P( $P = 0.089$ )和TSA( $P = 0.341$ )差异性不显著, 对照组TA与实验组HP( $P = 0.005$ )有显著性差异, 但与实验组SSA/P( $P = 0.205$ )和TSA( $P = 0.813$ )差异性均不显著; 实验组与实验组组间比较过程中, HP和TSA( $P = 0.038$ )有显著性差异, 但在HP和SSA/P( $P = 0.729$ )及SSA/P和TSA( $P = 0.452$ )中组间差异性均不显著。

在本实验CDX2基因甲基化与蛋白表达相

关性研究中, 我们发现在实验组HP、SSA/P和TSA中 $P = 0.652, r = -0.064$ (极弱相关);  $P = 0.238, r = -0.182$ (极弱相关);  $P = 0.519, r = -0.142$ (极弱相关), TA中 $P = 0.217, r = -0.289$ (弱相关)。通过数据我们可以看出无论实验组还是对照组, 基因甲基化和蛋白表达差异性都不是非常显著, 相关性也呈弱相关或极弱相关。通过基因甲基化和蛋白表达及两者相关性的探究, 我们推测在锯齿状病变通路中CDX2基因启动子中上游区域极少部分甲基化有诱导CDX2蛋白表达下调, 在锯齿状通路的发生发展中影响也甚微。

So等<sup>[25]</sup>研究人正常的胃上皮细胞中的中p16、RUNX3、TIG1和LOX这4个基因的启动子甲基化状况后发现启动子甲基化与年龄密切



相关。Waki等<sup>[26]</sup>研究来源于小肠、大肠、胃等不同器官或组织的甲基化相关基因如*Runx3*、*E-cadherin*、*GSTP1*、*DAP-kinase*、*p16*、*h-MLH-1*等,发现在32岁以前的个体中,其启动子CpG岛几乎不出现甲基化,但在42岁后,基因启动子CpG岛均以组织特异性的方式发生不同程度的甲基化。本实验研究在实验组和对照组32岁以前的个体中均未发现此位点甲基化,但在42岁以后的个体发现此位点不是每个个体在此区域的位点均发生甲基化,但随着年龄增高,此位点甲基化频率增高,这些都与Waki等得出的结论相符。

另外卢筱洪等<sup>[27]</sup>通过RT-PCR发现经5'-aza-dC和/或SAHA处理前后,无论在TC7或HT29结直肠癌细胞株中,CDX2的表达均未发生影响,认为去甲基化药物5'-aza-dC和/或组蛋白去乙酰化酶抑制剂SAHA均不能刺激CDX2的表达发生变化,同时观察在甲基饮食缺乏组和正常对照组大鼠大肠组织中,RT-PCR显示CDX2均表达,且表达无显著性差异,但两组大鼠大肠组织免疫组织化学染色显示:甲基饮食缺乏组CDX2表达低于对照组,最后又Western blot显示,两组大鼠大肠组织中,在甲基饮食缺乏组中,主要表达磷酸化的CDX2蛋白,而在对照组中,则以未磷酸化的CDX2蛋白为主。因此他们得出结论:CDX2的表达不受表遗传修饰(DNA甲基化,组蛋白乙酰化)的调控,而可能与转录后调节机制如CDX2蛋白的磷酸化有关。Boulanger等<sup>[28]</sup>在通过实验发现,CDX2在细胞核中表达,并通过一定载体运送到胞质中被降解,而这个过程需要Cdk2(cyclin-dependent kinase 2)和CRM1(chromosome region maintenance 1)等因子的参与。在Cdk2的诱导CDX2发生磷酸化修饰,磷酸化修饰后的CDX2表达显著下降,同时抑制胞质中的CRM1,激活Cdk2,结果胞质中CDX2降解,核输出也逐渐减少。相反,激活CRM1,抑制Cdk2,CDX2表达增加,核输出也增加。所以他们认为Cdk2的活性主要受蛋白激酶的负向调控,但具体机制未明确。Kawai等<sup>[29]</sup>通过实验也发现,通过亚硫酸氢钠-限制性酶切法检测出CDX2基因启动子上游的CpG岛序列,发现上游的CpG岛都已明显甲基化,但他们与CDX2的表达无关,而在下游的CpG岛,虽然只有少数的结直肠癌细胞系有甲基化现象,但他们却直接与CDX2的表达有关,即CDX2启动子下游发生甲基化则引起

CDX2表达明显下降。通过MSP发现在原发肠道肿瘤中有40%的病例可出现CDX2的甲基化。所以我们认为CDX2基因启动子中上游甲基化是否真正起到诱导CDX2蛋白表达降低,还是磷酸化或其他未知因素才是真正诱导CDX2蛋白表达降低,这有待进一步探究,下一步实验我们将在HT-29和Lovo结直肠癌细胞株中通过加入去甲基化抑制剂验证CDX2蛋白是否逆转。

#### 4 参考文献

- 1 赖少清, 鞠凤环, 王贵齐, 王贵齐, 贺舜, 倪晓光, 张蕾, 于桂香, 张月明, 李晓燕. 2004-2008年704例大肠癌临床流行特征. 中国肿瘤 2010; 19: 111-113
- 2 Snover DC. Update on the serrated pathway to colorectal carcinoma. *Hum Pathol* 2011; 42: 1-10 [PMID: 20869746 DOI: 10.1016/j.humpath.2010.06.002]
- 3 Mäkinen MJ. Colorectal serrated adenocarcinoma. *Histopathology* 2007; 50: 131-150 [PMID: 17204027 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2006.02548.x]
- 4 Jass JR, Whitehall VL, Young J, Leggett BA. Emerging concepts in colorectal neoplasia. *Gastroenterology* 2002; 123: 862-876 [PMID: 12198712]
- 5 Mlodzik M, Gehring WJ. Expression of the caudal gene in the germ line of *Drosophila*: formation of an RNA and protein gradient during early embryogenesis. *Cell* 1987; 48: 465-478 [PMID: 2433048]
- 6 James R, Erler T, Kazenwadel J. Structure of the murine homeobox gene *cdx-2*. Expression in embryonic and adult intestinal epithelium. *J Biol Chem* 1994; 269: 15229-15237 [PMID: 7910823]
- 7 Hamilton SR, Bosman FT, Boffetta P. Carcinoma of the colon and rectum. WHO Classification of Tumors of the Digestive System. Pathology and Genetics Tumours and Digestive System. 4th edition. Switzerland: WHO press, 2010: 134-146, 160-165
- 8 王鲁平, 杨光之, 周志勇, 李琳, 高宝琳, 陈健. 结直肠锯齿状病变104例形态学及细胞增殖活性的观察. 中华病理学杂志 2009; 38: 100-105
- 9 Torlakovic EE, Gomez JD, Driman DK, Parfitt JR, Wang C, Benerjee T, Snover DC. Sessile serrated adenoma (SSA) vs. traditional serrated adenoma (TSA). *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 21-29 [PMID: 18162766 DOI: 10.1097/PAS.0b013e318157f002]
- 10 East JE, Saunders BP, Jass JR. Sporadic and syndromic hyperplastic polyps and serrated adenomas of the colon: classification, molecular genetics, natural history, and clinical management. *Gastroenterol Clin North Am* 2008; 37: 25-46, v [PMID: 18313538 DOI: 10.1016/j.gtc.2007.12.014]
- 11 王鲁平, 陈健. 与癌密切相关的结直肠广基锯齿状腺瘤(SSA)的概念及病理诊断要点. 诊断病理学杂志 2008; 15: 84-87
- 12 Ogino S, Kawasaki T, Brahmandam M, Cantor M, Kirkner GJ, Spiegelman D, Makrigiorgos GM, Weisenberger DJ, Laird PW, Loda M, Fuchs CS. Precision and performance characteristics of bisulfite conversion and real-time PCR (MethyLight) for quantitative DNA methylation analysis. *J Mol Diagn* 2006; 8: 209-217 [PMID: 16645207 DOI: 10.2353/jmoldx.2006.050135]
- 13 Eads CA, Lord RV, Kurumboor SK, Wickramasing-

- he K, Skinner ML, Long TI, Peters JH, DeMeester TR, Danenberg KD, Danenberg PV, Laird PW, Skinner KA. Fields of aberrant CpG island hypermethylation in Barrett's esophagus and associated adenocarcinoma. *Cancer Res* 2000; 60: 5021-5026 [PMID: 11016622]
- 14 许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准. *中国癌症杂志* 1996; 229-231
- 15 赵娜, 杨廷翰, 郝晋, 蒲怡, 汪晓东, 李立. 高风险结直肠癌患者快速流程模式的临床应用. *中国现代普通外科进展* 2011; 14: 269-272
- 16 Torlakovic E, Skovlund E, Snover DC, Torlakovic G, Nesland JM. Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 65-81 [PMID: 12502929]
- 17 Goldstein NS, Bhanot P, Odish E, Hunter S. Hyperplastic-like colon polyps that preceded microsatellite-unstable adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol* 2003; 119: 778-796 [PMID: 12817424 DOI: 10.1309/DRFQ-0WFU-F1G1-3CTK]
- 18 Spring KJ, Zhao ZZ, Karamatic R, Walsh MD, Whitehall VL, Pike T, Simms LA, Young J, James M, Montgomery GW, Appleyard M, Hewett D, Togashi K, Jass JR, Leggett BA. High prevalence of sessile serrated adenomas with BRAF mutations: a prospective study of patients undergoing colonoscopy. *Gastroenterology* 2006; 131: 1400-1407 [PMID: 17101316 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.08.038]
- 19 Snover DC, Jass JR, Fenoglio-Preiser C, Batts KP. Serrated polyps of the large intestine: a morphologic and molecular review of an evolving concept. *Am J Clin Pathol* 2005; 124: 380-391 [PMID: 16191506 DOI: 10.1309/V2EP-TPLJ-RB3F-GHJL]
- 20 Kaji E, Uraoka T, Kato J, Hiraoka S, Suzuki H, Akita M, Saito S, Tanaka T, Ohara N, Yamamoto K. Externalization of saw-tooth architecture in small serrated polyps implies the presence of methylation of IGFBP7. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 1261-1270 [PMID: 22173745 DOI: 10.1007/s10620-011-2008-0]
- 21 Shimomura T, Hiyama T, Oka S, Tanaka S, Yoshihara M, Shimamoto F, Chayama K. Frequent somatic mutations of mitochondrial DNA in traditional serrated adenomas but not in sessile serrated adenomas of the colorectum. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1565-1569 [PMID: 21649722 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06797.x]
- 22 Fu X, Li L, Peng Y. Wnt signalling pathway in the serrated neoplastic pathway of the colorectum: possible roles and epigenetic regulatory mechanisms. *J Clin Pathol* 2012; 65: 675-679 [PMID: 22412046 DOI: 10.1136/jclinpath-2011-200602]
- 23 Dhir M, Yachida S, Van Neste L, Glöckner SC, Jeschke J, Pappou EP, Montgomery EA, Herman JG, Baylin SB, Iacobuzio-Donahue C, Ahuja N. Sessile serrated adenomas and classical adenomas: an epigenetic perspective on premalignant neoplastic lesions of the gastrointestinal tract. *Int J Cancer* 2011; 129: 1889-1898 [PMID: 21154739 DOI: 10.1002/ijc.25847]
- 24 Mochizuka A, Uehara T, Nakamura T, Kobayashi Y, Ota H. Hyperplastic polyps and sessile serrated 'adenomas' of the colon and rectum display gastric pyloric differentiation. *Histochem Cell Biol* 2007; 128: 445-455 [PMID: 17851679 DOI: 10.1007/s00418-007-0326-2]
- 25 So K, Tamura G, Honda T, Homma N, Waki T, Togawa N, Nishizuka S, Motoyama T. Multiple tumor suppressor genes are increasingly methylated with age in non-neoplastic gastric epithelia. *Cancer Sci* 2006; 97: 1155-1158 [PMID: 16952303 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2006.00302.x]
- 26 Waki T, Tamura G, Sato M, Motoyama T. Age-related methylation of tumor suppressor and tumor-related genes: an analysis of autopsy samples. *Oncogene* 2003; 22: 4128-4133 [PMID: 12821947 DOI: 10.1038/sj.onc.1206651]
- 27 卢筱洪, 罗和生. 表型遗传修饰对同源型框基因CDX2的表达调控影响. 中华医学会第12次全国内科学学术会议, 2009
- 28 Boulanger J, Vézina A, Mongrain S, Boudreau F, Perreault N, Auclair BA, Lainé J, Asselin C, Rivard N. Cdk2-dependent phosphorylation of homeobox transcription factor CDX2 regulates its nuclear translocation and proteasome-mediated degradation in human intestinal epithelial cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 18095-18107 [PMID: 15741163 DOI: 10.1074/jbc.M502184200]
- 29 Kawai H, Tomii K, Toyooka S, Yano M, Murakami M, Tsukuda K, Shimizu N. Promoter methylation downregulates CDX2 expression in colorectal carcinomas. *Oncol Rep* 2005; 13: 547-551 [PMID: 15706431]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 自身免疫性肝炎的研究进展

黄颖秋

## ■背景资料

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是由自身免疫介导的肝实质炎症性病变,以高丙种球蛋白血症、血清自身抗体阳性、组织学示界面性肝炎以及对免疫抑制剂应答为特征。近年来,随着对AIH的认识加深以及自身抗体的检测和肝活检的广泛开展, AIH的检出率不断增加,其发病率也呈逐年上升趋势, AIH已成为新的研究热点。

黄颖秋, 中国医科大学第五临床学院, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科 辽宁省本溪市 117000

黄颖秋, 主任医师, 教授, 研究生导师, 主要从事胃肠动力疾病、消化系统肿瘤及肝硬化的基础与临床研究。

作者贡献分布: 本文由黄颖秋独立完成。

通讯作者: 黄颖秋, 教授, 117000, 辽宁省本溪市平山区人民路29号, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科。

huangyingqiu\_bx@126.com

电话: 0414-2215137

收稿日期: 2013-08-11 修回日期: 2013-09-06

接受日期: 2013-09-13 在线出版日期: 2013-11-28

## Advances in research of autoimmune hepatitis

Ying-Qiu Huang

Ying-Qiu Huang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group); the Fifth Clinical College of China Medical University, Benxi 117000, Liaoning Province, China

Correspondence to: Ying-Qiu Huang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group), 29 Renmin Road, Pingshan District, Benxi 117000, Liaoning Province, China. huangyingqiu\_bx@126.com

Received: 2013-08-11 Revised: 2013-09-06

Accepted: 2013-09-13 Published online: 2013-11-28

## Abstract

Autoimmune hepatitis (AIH) is a chronic inflammatory disease of the liver triggered by an immune-mediated attack, characterized by the presence of hypergammaglobulinemia, serum autoantibodies, interface hepatitis on histological examination, and good response to immunosuppressive therapy. In this article, we will review the role of genetic susceptibility, inducing factors, molecular mimicry, liver injury, and immune regulation imbalance in the pathogenesis of AIH. In addition, this article systematically describes the advances in research of AIH in terms of clinical features, serological characteristics, histologic features, diagnosis and therapy.

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

Key Words: Autoimmune liver disease; Autoimmune hepatitis; Genetic susceptibility; Molecular mimicry; Immunoregulation; Diagnosis; Therapy

Huang YQ. Advances in research of autoimmune hepatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(33): 3670-3677 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3670.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3670>

## 摘要

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是免疫介导的肝脏慢性炎症性疾病,以血清高球蛋白血症、自身抗体阳性、组织学示界面性肝炎以及对免疫抑制剂治疗应答为特征。本文系统阐述了遗传易感性、诱发因素、分子模拟、肝细胞损伤及免疫调节失衡在AIH发病机制中的作用。此外,本文还详尽阐述了AIH的临床特征、血清学特征、组织学特征、诊断以及治疗领域的最新研究进展。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 自身免疫性肝病; 自身免疫性肝炎; 遗传易感性; 分子模拟; 免疫调节; 诊断; 治疗

**核心提示:** 本文阐述了遗传易感性、分子模拟及免疫调节在自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)发病机制中的作用,对基础研究有重要参考价值,本文重点阐述了AIH的诊断和治疗进展,对临床工作有指导意义。

黄颖秋. 自身免疫性肝炎的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3670-3677 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3670.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3670>

## 0 引言

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是一种免疫介导的肝实质损害,多发于女性,以转氨酶和免疫球蛋白G(IgG)升高,血清自身抗体阳性,界面性肝炎以及对免疫抑制剂应答为特征<sup>[1]</sup>,常以急性或慢性形式发病<sup>[2]</sup>. AIH与原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)<sup>[3]</sup>及原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)<sup>[4]</sup>统称为自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)<sup>[5]</sup>. AIH发病率较低,目前尚无确

## ■同行评议者

王怡, 主任医师, 天津市传染病医院, 天津市肝病研究所



切的流行病学资料, 随着简化版国际自身免疫性肝炎小组(international autoimmune hepatitis group, IAIHG)评分系统的应用以及血清自身抗体检测和肝活检的普遍开展, AIH的检出率显著提高, AIH的发病率也呈逐年上升趋势. AIH对免疫抑制剂的依从性较好, 采用标准化的免疫抑制剂治疗可阻断AIH进展, 诱导缓解并提高长期生存率<sup>[1]</sup>, 少数对激素无应答者可至肝硬化或肝衰竭而需肝移植治疗<sup>[2]</sup>. AIH的发病机制尚不十分清楚, 可能与遗传易感性、分子模拟机制以及免疫调节机制缺陷有关<sup>[6]</sup>. 近年来, AIH已引起国内外学者的关注, 基础与临床研究也取得长足进步, 本文就AIH的最新研究进展概述如下.

## 1 发病机制

1.1 遗传易感性 Czaja等<sup>[7]</sup>认为, 因同一国家或不同国家间存在种族差异, AIH可有不同的临床表现和预后, 这些差异也可能反映AIH具有不同的遗传易感性. Geylan Güleç等<sup>[8]</sup>对32例土耳其的AIH患儿研究显示, AIH患者的HLA-A24.9、-A26、-A32、-B38、-B51、-DRB1\*04、-DRB1\*07、-DRB1\*11、-DRB1\*15、-DRB1\*14、-DR11.5频率显著高于健康对照组. I型AIH的易感性与HLA-A24.9、-A26、-A32、-DRB1\*15显著相关, II型AIH的易感性与HLA-A26、-B51、-B38、-DRB1\*11显著相关, 未分型AIH则与HLA-A32、-DRB1\*04显著相关. Oliveira等<sup>[9]</sup>研究发现, AIH的遗传易感性与HLA-DRB1等位基因密切相关, 在欧洲和北美人群中, I型AIH与HLA-DRB1\*0301、-DRB3\*0101、-DRB1\*0401等位基因相关, II型AIH与-DRB1\*0301或-DRB1\*07相关. 在巴西, I型AIH的易感等位基因主要为-DRB1\*1301, 其次为-DRB1\*0301. 除上述HLA基因外, Tang等<sup>[10]</sup>认为, 至少还有6个非HLA基因(*CTLA-4*、*Fas*、*TNF-α*、*TGF-β1*、*TBX21*、*VDR*)与中国人的AIH遗传易感性有关. 但国外的某些结果却大相径庭. van Gerven等<sup>[11]</sup>对672例荷兰的AIH患者研究发现, *CTLA-4*+49 A/G等位基因的多态性与AIH的易感风险及疾病严重程度无关. Agarwal等<sup>[12]</sup>研究显示, *Fas*基因-670位点的多态性并不影响AIH的易感性, 但可能影响肝硬化的早期发生. Paladino等<sup>[13]</sup>发现, 儿童和成人AIH患者*TGF-β1*基因多态性的位点并不一样, 从而导致二者的临床表现和预后不同. Chen等<sup>[14]</sup>研究证实, *TBX21*启动子T-1993C的基因多态性影响

I型AIH的遗传易感性. Smyk等<sup>[15]</sup>推测, *VDR*可能与AIH的易感性有关. 总之, Ferri Liu等<sup>[16]</sup>认为, 在欧洲和北美人群中, *HLA-DRB1*基因位点影响I型AIH的易感性, 其主要等位基因编码为HLA-DR3(DRB1\*03)和HLA-DR4(DRB1\*04), 而HLA-DRB1\*1301则主要与儿童的AIH易感性相关.

1.2 诱发因素 研究表明, 多种病毒和药物可诱发AIH<sup>[1]</sup>. 有报道显示, 甲型肝炎病毒(hepatitis A virus, HAV)<sup>[17]</sup>、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)<sup>[18]</sup>、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)<sup>[19]</sup>、戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)<sup>[20]</sup>、艾滋病病毒(human immunodeficiency virus, HIV)<sup>[21]</sup>、Epstein-Barr病毒(Epstein-Barr virus, EBV)<sup>[22]</sup>、细小病毒B19(parvovirus B19)<sup>[23]</sup>及巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)<sup>[24]</sup>感染均可诱发AIH. 除此之外, Efe<sup>[25]</sup>认为, 用于治疗类风湿性关节炎的生物制剂肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)阻滞剂, 包括英夫利昔单抗(infliximab)、依那西普(etanercept)及阿达木单抗(adalimumab)可能为诱发AIH的潜在致病因素. 最近, Dang等<sup>[26]</sup>报道1例应用英夫利昔单抗治疗银屑病而导致AIH的病例证明了上述推测. 此外, 呋喃妥因(nitrofurantoin)<sup>[27]</sup>、雷美替胺(ramelteon)<sup>[28]</sup>也可诱发AIH. Barski等<sup>[29]</sup>研究显示, 某些中草药成分也能损伤肝细胞, 触发自身免疫反应导致AIH. 最近, Wang等<sup>[30]</sup>应用黄芩(*scutellaria baicalensis*, Sb)和/或柴胡(*bupleurum chinense*, Bc)药草提取物对C57BL/6J小鼠予腹腔内注射(1 mg/kg) 4或8 wk后发现, Sb或Bc诱发了AIH样小鼠模型. 提示Sb或Bc可以触发机体的免疫反应. 此外, von Felden等<sup>[31]</sup>报道, 摄入含有葡萄糖胺和硫酸软骨素的营养补充品可导致严重的AIH. Liberal等<sup>[1]</sup>认为, 尽管一些药物可成为AIH的诱发因素, 但药物引起的AIH一般不需要长期的免疫抑制剂治疗.

1.3 分子模拟机制 分子模拟是指侵入机体的外源性病原体的抗原表位与人体组织蛋白的抗原表位相同或相似, 致使机体免疫系统在清除外源性病原体的同时会攻击与之结构相似的自体成分, 导致组织和器官损害, 从而诱发自身免疫性疾病<sup>[1]</sup>. Liberal等<sup>[1]</sup>认为, 大约10%的HCV患者血清抗肝肾微粒体-1(liver kidney microsomal type 1, LKM-1)抗体阳性, 而HCV和LKM-1抗体的靶向抗原具有高度同源的氨基酸序列, 提示存在分子模拟. CYP2E1、CYP2D6均为细胞色素

## ■研究前沿

CYP2D6为AIH的确切抗原, 而CY-P2D6217-260及CYP2D6305-348为AIH的抗原表位. 据此, CY-P2D6小鼠可作为研究AIH的最好模型, 以此模型研究Tregs, 为探讨自体同源抗原特异性Tregs的移植治疗提供了充足的实验依据.

## ■ 相关报道

Weiler-Normann等对11例难治性AIH患者采用英夫利昔治疗后发现, 8例患者转氨酶恢复正常, 6例IgG降至正常, 5例肝组织学炎症得以改善。提示英夫利昔单抗治疗难治性AIH效果显著。

P450的家族成员, 位于肝表面<sup>[32,33]</sup>, CYP2E1的基因多态性能改变其编码酶的表达和活性<sup>[32]</sup>。诱发AIH的关键是破坏免疫耐受, 激活体内的自身免疫反应<sup>[32]</sup>。Ehser等<sup>[34]</sup>发现, 自身/非自身分子模拟而非分子特性是破坏肝脏T细胞免疫耐受的先决条件。Sutti等<sup>[32]</sup>采用基因定点突变和分子模拟技术研究发现, CYP2E1(324-346)肽与HCV的NS5b蛋白的2个序列NS5b(438-449)和NS5b(456-465)高度同源。CYP2E1与HCV-NS5b蛋白特异序列间的交叉反应促使CYP2E1表面靶向抗原表位的自身抗体产生, 从而引起肝损伤。II型AIH的自身抗原为CYP2D6, 而主要与之反应的自身抗体LKM-1为II型AIH的标志物<sup>[33]</sup>。Hintermann等<sup>[33]</sup>对AIH患者和CYP2D6小鼠模型的研究支持分子模拟可能作为AIH启动机制这一概念。抗可溶性肝抗原/肝-胰抗原(soluble liver antigen/liver-pancreas, SLA/LP)抗体被认为是AIH的高特异性诊断标志物, SLA/LP与病毒/细菌抗原间的分子模拟可能涉及AIH的致病机制<sup>[35]</sup>。Paiardini等<sup>[35]</sup>研究发现, SLA/LP免疫显性区域与立克次氏体PS120表面抗原区域间的结构相似性非常显著, SLA/LP自身表位与相应的立克次氏体序列等位基因HLA-DRB1\*03:01间的相互作用已被模拟。HLA-DRB1\*03:01与PS120间相互作用的“热点”位于P4结合位点, 以赖氨酸(71位点的HLA蛋白)和谷氨酸(795位点的PS120肽)盐桥来代表。此研究表明, 分子模拟机制可触发AIH, CD4<sup>+</sup> T细胞识别的SLA/LP肽的确可与外源性立克次氏体抗原交叉反应, 对71位点重要性的分子解释在于HLA-DRB1\*03:01等位基因对AIH的易感性, 此位点正电荷的缺乏可以阻止HLA等位基因与外源性肽结合及触发分子模拟事件。

**1.4 肝细胞损伤机制** 肝脏是拥有自身防御机制的特殊淋巴器官, 容易感染病毒和引发自身免疫性疾病<sup>[36]</sup>。涉及抵抗外来毒素和致病因子这一免疫机制的所有成分细胞包括肝细胞、枯否细胞、内皮细胞、肝星状细胞、自然杀伤细胞、自然杀伤T细胞和树突状细胞<sup>[36]</sup>。肝脏的第一道防线是先天性免疫, 即使是药物性肝损伤也涉及先天性免疫<sup>[36]</sup>。自然杀伤细胞和自然杀伤T细胞激活, 主要经Fas和FasL通路诱导肝细胞损伤<sup>[36]</sup>。AIH是免疫介导肝损伤的一个范例, 有一个特殊并非特异的组织病理学改变<sup>[36]</sup>。主效应淋巴细胞属于CD8亚群, 具有抗原特异性, 而此机制似乎被调节性T细胞抑制<sup>[36]</sup>。Liberal等<sup>[1]</sup>认为, 抗原

提呈细胞(antigen presenting cell, APC)提呈抗原肽, 以抗原肽-MMC经典II类分子复合物形式表达于APC表面, 通过T细胞以及表达于APC表面的多种协同刺激分子的共同刺激, CD4辅助T细胞(Th0)进一步分化, 并在白介素6(interleukin 6, IL-6)、IL-1 $\beta$ 的介导下分化为具致病性的Th17细胞, 释放IL-17。Th17细胞可促进肝细胞分泌IL-6, 后者再促使Th17细胞加速分泌IL-17。Th0在IL-12的介导下分化为Th1细胞, 后者释放干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )和IL-2。IFN- $\gamma$ 可诱导单核细胞分化, 激活CD8<sup>+</sup>杀伤性T细胞并增加NK细胞的杀伤能力。在IFN- $\gamma$ 介导下肝细胞上调MMC-I类复合物的表达, 并诱导MMC II类复合物在肝细胞异常表达。Th0在IL-4的介导下分化为Th2细胞, 释放IL-13、IL-4及IL-10, 从而促进B细胞成熟, 并产生自身抗体。后者进一步参与抗体介导的细胞毒作用及促进复合物的形成。Hintermann等<sup>[37]</sup>对II型AIH的CYP2D6小鼠模型研究发现, 小鼠的慢性肝炎过程伴随着CYP2D6的特异性抗体产生以及细胞内的浸润。CYP2D6-依赖的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)慢性激活不仅导致细胞外基质沉淀增加, 也使主要存在于肝包膜及其下面的 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白表达升高。腺病毒Ad-2D6的感染途径显著影响炎症性单核细胞、NK细胞以及CYP2D6-特异性T细胞的活化和迁徙(trafficking)。Ad-2D6的腹腔感染能引起肝包膜下的纤维化和持续的炎症性单核细胞聚集。相比之下, 静脉内的感染可导致肝实质内CYP2D6-特异性CD4<sup>+</sup> T细胞的积聚, 并诱导强烈的NK细胞应答以防止慢性HSC激活和纤维化。总之, Hintermann等<sup>[37]</sup>推测, 炎症的起始部位以及自身抗原的表达引起特异性的细胞内迁徙(trafficking)和活化, 从而导致了II型AIH样的肝损伤和纤维化结果。Assis等<sup>[38]</sup>对巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)及其受体CD74在AIH及PBC中的作用评估发现, AIH及PBC患者循环血清及肝组织中的MIF表达均高于健康对照组, PBC的CD74水平显著高于AIH, 而HSC释放的MIF受体CD74与MIF结合能中和其信号转导活性, 提示AIH与PBC在MIF基因位点存在不同的遗传和免疫致病基础, MIF和CD74可能在AIH的肝损伤机制中起作用。

**1.5 免疫调节机制** 调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)是不同于Th1和Th2的T细胞亚群, 具有免疫调节功能。Liberal等<sup>[1]</sup>认为, AIH患者的

Tregs细胞在对CD4和CD8效应细胞的增殖调控中出现障碍, 人体局部的Tregs缺陷可能是导致AIH免疫调节障碍的主要原因。此外, 免疫调节缺陷还涉及效应细胞固有的外周耐受机制。Liberal等<sup>[39]</sup>研究发现, AIH患者T细胞表面的抑制性受体T细胞免疫球蛋白黏蛋白3(T cell immunoglobulin and mucin protein 3, Tim-3)的数量减少, 而Tim-3与Tregs表达的半乳凝素9(galectin-9, Gal9)结合可诱导效应细胞的凋亡。此研究表明, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>效应细胞表面的Tim-3以及Tregs表达的Gal9的含量降低通过减少效应细胞被Tregs调控以及降低后者的抑制能力致使AIH的免疫调节受损。

Muratori等<sup>[40]</sup>认为, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Tregs和Th17之间的相互影响在AIH的发病机制中起重要作用。Tregs细胞与效应细胞间数量及功能的失衡表明后者似乎是疾病进展的关键<sup>[40]</sup>。此外, AIH的肝内微环境中富含IL-6、IL-17、IL-23、IL-1 $\beta$ 等促炎性细胞因子, 他们在保持和扩充效应细胞以及随后的肝损伤中起关键作用, 而Tregs细胞在此极端的栖息环境中成为最大的弱势群体而被抑制<sup>[40]</sup>。Tregs表达CD39, 后者是一种胞外三磷酸核苷双磷酸水解酶, 他可作为Tregs的表面标志来筛选Tregs细胞, CD39<sup>+</sup> Tregs缺陷可能导致AIH的免疫调节功能受损<sup>[41]</sup>。Grant等<sup>[41]</sup>研究显示, AIH的CD39<sup>+</sup> Tregs频率减少, 三磷酸腺苷(ATP)/二磷酸腺苷(ADP)的水解活性有限, 未能抑制效应CD4 T细胞产生IL-17。而且, 这些CD39<sup>+</sup> Tregs在AIH显示出更多以CD127阳性、IFN- $\gamma$ 及IL-17增加为特征的促炎症特性。此研究表明, 在AIH中, CD39<sup>+</sup> Tregs数量减少, 不能充分水解促炎症核苷酸, 不能有效地通过效应CD4 T细胞抑制IL-17产生。基于促炎症因子的攻击, CD39<sup>+</sup> Tregs显示出可塑性和不稳定性。提示AIH的免疫调节缺陷不仅由于Tregs数量和功能的下降, 而且更在于Tregs转换成效应细胞的增加<sup>[41]</sup>。

## 2 临床特征

Delgado等<sup>[42]</sup>研究显示, 在以色列南部地区, AIH的年平均患病率及发病率分别为11.0/10万和0.67/10万, 100例AIH患者中, 女性95例, 男性5例, 平均年龄47.9岁。I型AIH者77例, 肝纤维化及肝硬化者73.3%, AIH的1年和10年预估生存率分别为96.5%和89.7%<sup>[42]</sup>。尽管AIH在儿童罕见, 但却是慢性肝病导致肝硬化及肝衰竭的严重病因<sup>[16]</sup>。AIH患者常有疲劳、恶心、食欲不振、

黄疸、腹部不适、腹胀、尿黄、肝脾肿大、腹水、瘙痒等症状<sup>[16,43,44]</sup>, 起病急者病情凶险, Abe等<sup>[45]</sup>发现, 41例经肝活检证实的急性I型AIH患者中, 36例为急性重型肝炎, 31.7%的AIH伴有小叶中心性坏死。此外, Abe等<sup>[46]</sup>对250例AIH患者研究发现, 51例(20.4%)伴有肝硬化, 当中43例(84.3%)有肝硬化表现, 其余8例(15.7%)于随访期间(平均82.1 mo)进展至肝硬化。Liberal等<sup>[1]</sup>认为, 多数AIH患者的临床表现没有特异性, 25%无症状, 30%-40%以急性暴发性肝炎起病, 约1/3 AIH患者确诊时已有肝硬化, 无症状者常于妊娠期间和产后发病, 40%的AIH患者有自身免疫性疾病家族史, 20%的AIH伴有其他自身免疫性疾病。Ohira等<sup>[47]</sup>发现, AIH患者的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发病率较病毒性肝炎者罕见, 5.1%的日本AIH患者并发HCC, 且常见于老年肝硬化患者。Czaja<sup>[48]</sup>认为, AIH患者的HCC发病率为1%-9%, 瑞典AIH患者的HCC标准化发病率为23.3(95%CI: 7.5-54.3), 新西兰AIH患者的肝胆癌症标准化死亡率为42.3(95%CI: 20.3-77.9)。

## 3 血清学特征

AIH引起的肝损伤常致肝脏酶学改变, 少数还有淤胆征象。Liberal等<sup>[1]</sup>认为, 对于胆汁淤积者, 必需除外是否合并肝外胆道梗阻、病毒性肝炎、药物性肝炎、PBC、PSC及重叠综合征等。根据自身抗体的阳性情况将AIH分为两型, 抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)或抗平滑肌抗体(anti-smooth muscle antibody, SMA)阳性者为I型AIH, 抗LKM-1或抗LC-1阳性者为II型AIH<sup>[1]</sup>。此外, 抗SLA/LP对AIH特异性很高, 且可评估疾病严重程度和不良预后<sup>[1]</sup>。值得一提的是, AIH常可见PBC特异的AMA阳性<sup>[1]</sup>。Abdollahi等<sup>[44]</sup>采用IAIHG评分标准对60例AIH患者研究发现, 其血清AST为127.8 IU/L $\pm$ 108.6 IU/L, ALT为146.0 IU/L $\pm$ 98.4 IU/L, ALP为499.9 IU/L $\pm$ 386.2 IU/L; 其血清抗体LKM-1、核周型抗中性粒细胞胞质抗体(P-ANCA)、ANA以及SMA的阳性率分别为71.4%、66.7%、42.4%及19.4%; 其血清抗体同时阳性的比率分别为SMA/ANA 6.7%、ANA/P-ANCA 6.7%、ANA/LKM-1 5.0%、LKM-1/SMA和/或ANA 3.3%。最近, 表达于活化淋巴细胞的程序性细胞死亡(programmed cell death, PD)-1功能障碍与AIH发病机制间的关系已引发推测<sup>[49]</sup>。Matsumoto等<sup>[49]</sup>研究发现, 63%

### ■创新盘点

本文引用了近4年的大量英文文献, 对AIH的发病机制、诊断和治疗进展进行了全面系统的阐述, 提供了大量有价值的参考信息。



## ■应用要点

本文详尽阐述了遗传易感性、诱发因素、分子模拟、肝损伤及免疫调节失调在AIH发病机制中的作用,对相关基础研究有重要参考价值;本文详尽阐述了AIH的最新诊断和治疗进展对临床工作有重要指导意义。

的I型AIH、8%的药物性肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)、13%的急性病毒性肝炎(acute viral hepatitis, AVH)、18%的PSC患者以及3%的健康受试者血清抗PD-1抗体阳性,提示血清抗PD-1抗体作为一种辅助诊断标记有助于I型AIH与DILI、AVH及PSC的鉴别,抗PD-1抗体可能与I型AIH的临床特征有关<sup>[49]</sup>。IgG4相关性AIH是一种新近认识的新型疾病<sup>[50]</sup>。Umemura等<sup>[50]</sup>研究显示,超过3%的日本I型AIH患者中发现有IgG4相关性AIH,二者间的关系有待于进一步研究。

## 4 组织学特征

界面性肝炎(interface hepatitis)为AIH典型组织学表现,以门管区及其周围组织淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞以及浆细胞浸润为特征<sup>[1,51]</sup>。急性发作型AIH主要表现为小叶中心性坏死,暴发型AIH主要表现为大面积坏死及多个肝小叶消失<sup>[1,45]</sup>。急性损伤型AIH的肝纤维化程度较慢性隐匿型AIH轻<sup>[1]</sup>。Sahni等<sup>[52]</sup>发现,几个MRI影像特征与AIH的纤维化阶段呈显著正相关。

## 5 诊断

2008年IAIHG提出的AIH简化评分系统主要包括IgG、自身抗体(ANA、SMA、抗LKM-1、SLA)、组织学特征和有无肝炎病毒感染4项指标,若评分 $\geq 6$ ,可能为AIH;若评分 $\geq 7$ ,确诊AIH<sup>[1,53]</sup>。Muñoz-Espinosa等<sup>[54]</sup>对墨西哥AIH患者研究发现,修订版IAIHG标准对诊断AIH有高度敏感性,而简化版对AIH具有高度特异性。Qiu等<sup>[55]</sup>研究显示,与修订版比较,简化评分系统对我国AIH的诊断具有更高的敏感性和特异性。

## 6 治疗

Parker等<sup>[56]</sup>认为,治疗AIH的目的是诱导和维持缓解以防止慢性肝炎、肝硬化及HCC等并发症产生。美国肝脏疾病研究协会(AASLD)实践指南将缓解定义为临床症状消失;转氨酶、胆红素、 $\gamma$ -球蛋白等生化指标正常;组织学示炎症及肝细胞损伤消退<sup>[57]</sup>。Liberal等<sup>[1]</sup>认为,AIH对免疫抑制剂治疗应答良好,免疫抑制剂单独或联合硫唑嘌呤(azathioprine, AZA)是治疗AIH的标准方案,80%采用标准化治疗的AIH患者获得完全缓解<sup>[1]</sup>。对于界面性肝炎者,不论有无重度肝纤维化或肝硬化,均应采用激素治疗;对于门管区轻度炎症者,需根据血清AST、IgG含量以及临

床表现判断是否应用激素;对于无症状且组织学表现轻者,尤其绝经妇女及老年者,应慎用免疫抑制剂<sup>[1]</sup>。激素作为AIH的长期治疗药物,不能擅自减量或停用,以免导致疾病复发或加重<sup>[1]</sup>。对于大剂量激素治疗不耐受者,可联合AZA治疗,但应注意骨髓抑制风险<sup>[1]</sup>或其他不良反应<sup>[58]</sup>。最近,Khouri等<sup>[58]</sup>报道了1例AZA诱发AIH长期发热的病例。Parker等<sup>[56]</sup>认为,9%的AIH患者应用激素和AZA治疗失败;13%虽有改善但未达到缓解(不完全应答);还有13%不能耐受标准治疗。对上述患者,Liberal等<sup>[1]</sup>建议采用一些补救治疗药物,如麦考酚酯、他克莫司、环孢霉素、甲氨蝶呤、环磷酰胺、熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)、利妥昔单抗、英夫利昔等。Burak等<sup>[59]</sup>对6例难治性AIH研究证实,利妥昔的确安全有效。Weiler-Normann等<sup>[60]</sup>研究显示,英夫利昔单抗治疗难治性AIH效果较好,但有并发感染风险。此外,Al-Shamma等<sup>[61]</sup>应用黄嘌呤氧化酶抑制剂成功治疗难治性AIH患者。Czaja<sup>[62]</sup>认为,尽管上述部分药物显示较好疗效,但对难治性AIH目前尚无标准化的治疗方案。

Liberal等<sup>[1]</sup>认为,暴发型AIH约占8.7%-19.8%,激素仅对1/3暴发型AIH有效,对激素无效的暴发型AIH,肝移植可能是唯一有效治疗方法,肝移植术后5年和10年的生存率分别为90%和75%。但肝移植术后的高复发率仍是目前面临的难题<sup>[63]</sup>。“自体同源抗原特异性Tregs移植治疗”是颇具前景的治疗方法,即通过植入Tregs以重建人体免疫耐受<sup>[1]</sup>。研究显示,扩增的Tregs较体内的Tregs更具免疫抑制力<sup>[1]</sup>。CYP2D6为II型AIH的特异性抗原,将Tregs暴露于CYP2D6抗原肽,并与携带CYP2D6抗原肽的半成熟树突状细胞共培养,可获得最有效的抗原特异性Tregs<sup>[1]</sup>。

## 7 结论

尽管AIH的基础与临床研究均已取得不少进展,但其确切发病机制仍不十分清楚,简化版IAIHG评分系统对AIH的诊断价值仍有待于广泛的临床验证,难治性AIH的标准化治疗仍需积累共识,自体同源抗原特异性Tregs移植技术尚不成熟,仍需更深入的研究以使其完善。AIH的研究范围十分广泛,前景值得期待。

## 8 参考文献

- 1 Liberal R, Grant CR, Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmune hepatitis: a comprehensive review. *J Autoimmun* 2013; 41: 126-139 [PMID: 23218932 DOI:

- 10.1016/j.jaut.2012.11.002]
- 2 Heneghan MA, Yeoman AD, Verma S, Smith AD, Longhi MS. Autoimmune hepatitis. *Lancet* 2013 Jun 13. [Epub ahead of print] [PMID: 23768844 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)62163-1]
- 3 黄颖秋. 原发性胆汁性肝硬化发病机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2761-2770
- 4 黄颖秋. 原发性硬化性胆管炎的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2978-2985
- 5 Mattner J. Genetic susceptibility to autoimmune liver disease. *World J Hepatol* 2011; 3: 1-7 [PMID: 21307981 DOI: 10.4254/wjh.v3.i1.1]
- 6 Liberal R, Longhi MS, Mieli-Vergani G, Vergani D. Pathogenesis of autoimmune hepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 653-664 [PMID: 22117632 DOI: 10.1016/j.bpg.2011.09.009]
- 7 Czaja AJ. Autoimmune hepatitis in diverse ethnic populations and geographical regions. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 7: 365-385 [PMID: 23639095 DOI: 10.1586/egh.13.21]
- 8 Geylanı Güleç S, Urganci N, Polat TB, Demirel E, Yilmaz E. Relations between human leukocyte antigens and autoimmune hepatitis in Turkish children. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22: 42-46 [PMID: 21480110]
- 9 Oliveira LC, Porta G, Marin ML, Bittencourt PL, Kalil J, Goldberg AC. Autoimmune hepatitis, HLA and extended haplotypes. *Autoimmun Rev* 2011; 10: 189-193 [PMID: 20933106 DOI: 10.1016/j.autrev.2010.09.024]
- 10 Tang J, Zhou C, Zhang ZJ, Zheng SS. Association of polymorphisms in non-classic MHC genes with susceptibility to autoimmune hepatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2012; 11: 125-131 [PMID: 22484578 DOI: 10.1016/S1499-3872(12)60136-2]
- 11 van Gerven NM, de Boer YS, Zwiers A, van Hoek B, van Erpecum KJ, Beuers U, van Buuren HR, Drenth JP, den Ouden JW, Verdonk RC, Koek GH, Brouwer JT, Guichelaar MM, Vrolijk JM, Kraal G, Mulder CJ, van Nieuwkerk CM, Bouma G. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 +49A/G polymorphism does not affect susceptibility to autoimmune hepatitis. *Liver Int* 2013; 33: 1039-1043 [PMID: 23551963 DOI: 10.1111/liv.12157]
- 12 Agarwal K, Czaja AJ, Donaldson PT. A functional Fas promoter polymorphism is associated with a severe phenotype in type 1 autoimmune hepatitis characterized by early development of cirrhosis. *Tissue Antigens* 2007; 69: 227-235 [PMID: 17493146 DOI: 10.1111/j.1399-0039.2006.00794.x]
- 13 Paladino N, Flores AC, Fainboim H, Schroder T, Cuarterolo M, Lezama C, Ballerga EG, Levi D, Tanno H, Costanzo G, Arruivito L, Fainboim L. The most severe forms of type I autoimmune hepatitis are associated with genetically determined levels of TGF-beta1. *Clin Immunol* 2010; 134: 305-312 [PMID: 19962351 DOI: 10.1016/j.clim.2009.11.004]
- 14 Chen S, Zhao W, Tan W, Luo X, Dan Y, You Z, Kuang X, Wang Y, Deng G. Association of TBX21 promoter polymorphisms with type 1 autoimmune hepatitis in a Chinese population. *Hum Immunol* 2011; 72: 69-73 [PMID: 20977921 DOI: 10.1016/j.humimm.2010.10.019]
- 15 Smyk DS, Orfanidou T, Invernizzi P, Bogdanos DP, Lenzi M. Vitamin D in autoimmune liver disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: 535-545 [PMID: 23845396 DOI: 10.1016/j.clinre.2013.05.016]
- 16 Ferri Liu PM, de Miranda DM, Fagundes ED, Ferreira AR, Simões e Silva AC. Autoimmune hepatitis in childhood: the role of genetic and immune factors. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4455-4463 [PMID: 23901220 DOI: 10.3748/wjg.v19.i28.4455]
- 17 Elfaramawy AA, Elhossiny RM, Abbas AA, Aziz HM. HLA-DRB1 as a risk factor in children with autoimmune hepatitis and its relation to hepatitis A infection. *Ital J Pediatr* 2010; 36: 73 [PMID: 21067577 DOI: 10.1186/1824-7288-36-73]
- 18 Pawłowska M, Halota W. Acute liver failure caused by concurrent autoimmune hepatitis and hepatitis B in a 16-year old girl. *World J Hepatol* 2010; 2: 392-394 [PMID: 21160949 DOI: 10.4254/wjh.v2.i10.392]
- 19 Paroli M, Iannucci G, Accapezzato D. Hepatitis C virus infection and autoimmune diseases. *Int J Gen Med* 2012; 5: 903-907 [PMID: 23118549 DOI: 10.2147/IJGM.S37580]
- 20 Vieira CL, Baldaia C, Fatela N, Ramalho F, Cardoso C. Case of acute hepatitis E with concomitant signs of autoimmunity. *World J Hepatol* 2013; 5: 152-155 [PMID: 23556050 DOI: 10.4254/wjh.v5.i3.152]
- 21 Hagel S, Bruns T, Herrmann A, Tannapfel A, Stallmach A. Autoimmune hepatitis in an HIV-infected patient: an intriguing association. *Int J STD AIDS* 2012; 23: 448-450 [PMID: 22807544 DOI: 10.1258/ijisa.2009.009337]
- 22 Zellos A, Spoulou V, Roma-Giannikou E, Karentzou O, Dalekos GN, Theodoridou M. Autoimmune hepatitis type-2 and Epstein-Barr virus infection in a toddler: art of facts or an artifact? *Ann Hepatol* 2013; 12: 147-151 [PMID: 23293207]
- 23 Kordes U, Schneppenheim R, Briem-Richter A, Scherpe S, Schäfer HJ. Parvovirus B19 infection and autoimmune hepatitis in a child with sickle cell anemia. *Pediatr Blood Cancer* 2011; 56: 323-324 [PMID: 21157899 DOI: 10.1002/pbc.22820]
- 24 Toyoda-Akui M, Yokomori H, Kaneko F, Shimizu Y, Takeuchi H, Tahara K, Yoshida H, Kondo H, Motoori T, Ohbu M, Oda M, Hibi T. Association of an overlap syndrome of autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis with cytomegalovirus infection. *Int J Gen Med* 2011; 4: 397-402 [PMID: 21731890 DOI: 10.2147/IJGM.S19245]
- 25 Efe C. Drug induced autoimmune hepatitis and TNF- $\alpha$  blocking agents: is there a real relationship? *Autoimmun Rev* 2013; 12: 337-339 [PMID: 22841985 DOI: 10.1016/j.autrev.2012.03.010]
- 26 Dang LJ, Lubel JS, Gunatheesan S, Hosking P, Su J. Drug-induced lupus and autoimmune hepatitis secondary to infliximab for psoriasis. *Australas J Dermatol* 2013 May 8. [Epub ahead of print] [PMID: 23651182 DOI: 10.1111/ajd.12054]
- 27 Appleyard S, Saraswati R, Gorard DA. Autoimmune hepatitis triggered by nitrofurantoin: a case series. *J Med Case Rep* 2010; 4: 311 [PMID: 20863377 DOI: 10.1186/1752-1947-4-311]
- 28 Fourman LT, Robert Meyer B. Autoimmune hepatitis in association with ramelteon. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 651-654 [PMID: 23632362 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31829174f0]
- 29 Barski L, Rabaev E, Sztarkier I, Delgado J, Porath A, Jotkowitz AB. Autoimmune hepatitis and hypergammaglobulinemic purpura associated with herbal medicine use. *Isr Med Assoc J* 2008; 10: 390-391 [PMID: 18605369]
- 30 Wang JY, Lee CY, Pan PJ, Chang WC, Chiu JH, Chen WS, Shyr YM. Herb-induced autoimmune-

## 同行评价

本文综合国内外大量最新研究资料,详细阐述AIH的发病机制以及诊断和治疗的最新进展,分析透彻,思路清晰,对指导临床工作有重要的现实意义。

- like hepatitis in C57BL/6J mice. *Liver Int* 2013 Jul 1. [Epub ahead of print] [PMID: 23890230 DOI: 10.1111/liv.12266]
- 31 von Felden J, Montani M, Kessebohm K, Stickel F. Drug-induced acute liver injury mimicking autoimmune hepatitis after intake of dietary supplements containing glucosamine and chondroitin sulfate. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2013; 51: 219-223 [PMID: 23391366 DOI: 10.5414/CP201835]
  - 32 Sutti S, Vidali M, Mombello C, Sartori M, Ingelman-Sundberg M, Albano E. Breaking self-tolerance toward cytochrome P4502E1 (CYP2E1) in chronic hepatitis C: possible role for molecular mimicry. *J Hepatol* 2010; 53: 431-438 [PMID: 20576306 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.03.030]
  - 33 Hintermann E, Holdener M, Bayer M, Loges S, Pfeilschifter JM, Granier C, Manns MP, Christen U. Epitope spreading of the anti-CYP2D6 antibody response in patients with autoimmune hepatitis and in the CYP2D6 mouse model. *J Autoimmun* 2011; 37: 242-253 [PMID: 21795021 DOI: 10.1016/j.jaut.2011.06.005]
  - 34 Ehser J, Holdener M, Christen S, Bayer M, Pfeilschifter JM, Hintermann E, Bogdanos D, Christen U. Molecular mimicry rather than identity breaks T-cell tolerance in the CYP2D6 mouse model for human autoimmune hepatitis. *J Autoimmun* 2013; 42: 39-49 [PMID: 23200317 DOI: 10.1016/j.jaut.2012.11.001]
  - 35 Paiardini A, Pascarella S. Structural mimicry between SLA/LP and Rickettsia surface antigens as a driver of autoimmune hepatitis: insights from an in silico study. *Theor Biol Med Model* 2013; 10: 25 [PMID: 23575112 DOI: 10.1186/1742-4682-10-25]
  - 36 Dienes HP, Drebbler U. Pathology of immune-mediated liver injury. *Dig Dis* 2010; 28: 57-62 [PMID: 20460891 DOI: 10.1159/000282065]
  - 37 Hintermann E, Ehser J, Bayer M, Pfeilschifter JM, Christen U. Mechanism of autoimmune hepatic fibrogenesis induced by an adenovirus encoding the human liver autoantigen cytochrome P450 2D6. *J Autoimmun* 2013; 44: 49-60 [PMID: 23809878 DOI: 10.1016/j.jaut.2013.05.001]
  - 38 Assis DN, Leng L, Du X, Zhang CK, Grieb G, Merk M, Garcia AB, McCrann C, Chapiro J, Meinhardt A, Mizue Y, Nikolic-Paterson DJ, Bernhagen J, Kaplan MM, Zhao H, Boyer JL, Bucala R. The role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in autoimmune liver disease. *Hepatology* 2013 Aug 2. [Epub ahead of print] [PMID: 23913513 DOI: 10.1002/hep.26664]
  - 39 Liberal R, Grant CR, Holder BS, Ma Y, Mieli-Vergani G, Vergani D, Longhi MS. The impaired immune regulation of autoimmune hepatitis is linked to a defective galectin-9/tim-3 pathway. *Hepatology* 2012; 56: 677-686 [PMID: 22371007 DOI: 10.1002/hep.25682]
  - 40 Muratori L, Longhi MS. The interplay between regulatory and effector T cells in autoimmune hepatitis: Implications for innovative treatment strategies. *J Autoimmun* 2013; 46: 74-80 [PMID: 23871639 DOI: 10.1016/j.jaut.2013.06.016]
  - 41 Grant CR, Liberal R, Holder BS, Cardone J, Ma Y, Robson SC, Mieli-Vergani G, Vergani D, Longhi MS. Dysfunctional CD39(POS) regulatory T cells and aberrant control of T helper type 17 cells in autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2013 Jun 20. [Epub ahead of print] [PMID: 23787765 DOI: 10.1002/hep.26583]
  - 42 Delgado JS, Vodonos A, Malnick S, Kriger O, Wilkof-Segev R, Delgado B, Novack V, Rosenthal A, Menachem Y, Melzer E, Fich A. Autoimmune hepatitis in southern Israel: A 15-year multicenter study. *J Dig Dis* 2013; 14: 611-618 [PMID: 23815477 DOI: 10.1111/1751-2980.12085]
  - 43 Weiler-Normann C, Sebode M, Lohse AW. Autoimmune hepatitis 2013 and beyond. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2013; 59: 133-141 [PMID: 23831905]
  - 44 Abdollahi MR, Somi MH, Faraji E. Role of international criteria in the diagnosis of autoimmune hepatitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3629-3633 [PMID: 23801865 DOI: 10.3748/wjg.v19.i23.3629]
  - 45 Abe K, Kanno Y, Okai K, Katsushima F, Monoe K, Saito H, Takahashi A, Yokokawa J, Ohira H. Centrilobular necrosis in acute presentation of Japanese patients with type 1 autoimmune hepatitis. *World J Hepatol* 2012; 4: 262-267 [PMID: 23060971 DOI: 10.4254/wjh.v4.i9.262]
  - 46 Abe K, Katsushima F, Kanno Y, Takahashi A, Yokokawa J, Ohira H, Arinaga T, Ide T, Nishimura J, Inoue M, Seike M, Imazeki F, Yokosuka O, Sata M. Clinical features of cirrhosis in Japanese patients with type I autoimmune hepatitis. *Intern Med* 2012; 51: 3323-3328 [PMID: 23257515]
  - 47 Ohira H, Abe K, Takahashi A, Zeniya M, Ichida T. Clinical features of hepatocellular carcinoma in patients with autoimmune hepatitis in Japan. *J Gastroenterol* 2013; 48: 109-114 [PMID: 22688407 DOI: 10.1007/s00535-012-0616-x]
  - 48 Czaja AJ. Hepatocellular carcinoma and other malignancies in autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 1459-1476 [PMID: 23306849 DOI: 10.1007/s10620-012-2525-5]
  - 49 Matsumoto K, Miyake Y, Matsushita H, Ohnishi A, Ikeda F, Shiraha H, Takaki A, Nouse K, Yamamoto K. Anti-programmed cell death-1 antibody as a new serological marker for type 1 autoimmune hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2013 Jul 22. [Epub ahead of print] [PMID: 23869988 DOI: 10.1111/jgh.12340]
  - 50 Umemura T, Zen Y, Hamano H, Joshita S, Ichijo T, Yoshizawa K, Kiyosawa K, Ota M, Kawa S, Nakanuma Y, Tanaka E. Clinical significance of immunoglobulin G4-associated autoimmune hepatitis. *J Gastroenterol* 2011; 46 Suppl 1: 48-55 [PMID: 20862498 DOI: 10.1007/s00535-010-0323-4]
  - 51 Gleeson D, Heneghan MA. British Society of Gastroenterology (BSG) guidelines for management of autoimmune hepatitis. *Gut* 2011; 60: 1611-1629 [PMID: 21757447 DOI: 10.1136/gut.2010.235259]
  - 52 Sahni VA, Raghunathan G, Mearadji B, Ukomadu C, Glickman J, Silverman SG, Erturk SM, Morteale KJ. Autoimmune hepatitis: CT and MR imaging features with histopathological correlation. *Abdom Imaging* 2010; 35: 75-84 [PMID: 19067033 DOI: 10.1007/s00261-008-9485-4]
  - 53 Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Parés A, Dalekos GN, Krawitt EL, Bittencourt PL, Porta G, Boberg KM, Hofer H, Bianchi FB, Shibata M, Schramm C, Eisenmann de Torres B, Galle PR, McFarlane I, Dienes HP, Lohse AW. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2008; 48: 169-176 [PMID: 18537184 DOI: 10.1002/hep.22322]
  - 54 Muñoz-Espinosa L, Alarcon G, Mercado-Moreira A, Cordero P, Caballero E, Avalos V, Villarreal G,



- Senties K, Puente D, Soto J, Esqueda B, Campos G, Martínez M, Jaquez J, Ramirez A, Reyes I, Kersh-nobich D, Montano-Loza AJ. Performance of the international classifications criteria for autoimmune hepatitis diagnosis in Mexican patients. *Autoim-munity* 2011; 44: 543-548 [PMID: 21875376 DOI: 10.3109/08916934.2011.592884]
- 55 Qiu D, Wang Q, Wang H, Xie Q, Zang G, Jiang H, Tu C, Guo J, Zhang S, Wang J, Lu Y, Han Y, Shen L, Chen X, Hu X, Wang X, Chen C, Fu Q, Ma X. Validation of the simplified criteria for diagnosis of autoimmune hepati-tis in Chinese patients. *J Hepatol* 2011; 54: 340-347 [PMID: 21056494 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.06.032]
- 56 Parker R, Oo YH, Adams DH. Management of pa-tients with difficult autoimmune hepatitis. *Therap Adv Gastroenterol* 2012; 5: 421-437 [PMID: 23152735 DOI: 10.1177/1756283X12450251]
- 57 Malik TA, Saeed S. Autoimmune hepatitis: a review. *J Pak Med Assoc* 2010; 60: 381-387 [PMID: 20527613]
- 58 Khoury T, Ollech JE, Chen S, Mizrahi M, Shalit M. Azathioprine-induced fever in autoimmune hepati-tis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4083-4086 [PMID: 23840156 DOI: 10.3748/wjg.v19.i25.4083]
- 59 Burak KW, Swain MG, Santodomingo-Garzon T, Lee SS, Urbanski SJ, Aspinall AI, Coffin CS, Myers RP. Rituximab for the treatment of patients with autoimmune hepatitis who are refractory or intoler-ant to standard therapy. *Can J Gastroenterol* 2013; 27: 273-280 [PMID: 23712302]
- 60 Weiler-Normann C, Schramm C, Quaas A, Wiegard C, Glaubke C, Pannicke N, Möller S, Lohse AW. Infliximab as a rescue treatment in difficult-to-treat autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 2013; 58: 529-534 [PMID: 23178709 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.11.010]
- 61 Al-Shamma S, Eross B, McLaughlin S. Use of a xan-thine oxidase inhibitor in autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2013; 57: 1281-1282 [PMID: 23238820 DOI: 10.1002/hep.26198]
- 62 Czaja AJ. Drug choices in autoimmune hepatitis: part B--Nonsteroids. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 6: 617-635 [PMID: 23061712 DOI: 10.1586/egh.12.38]
- 63 Liberal R, Zen Y, Mieli-Vergani G, Vergani D. Liver transplantation and autoimmune liver diseases. *Liver Transpl* 2013; 19: 1065-1077 [PMID: 23873751 DOI: 10.1002/lt.23704]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

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

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

# 姜黄素抗肝癌分子机制的研究进展

刘婕, 唐世孝

## ■背景资料

已报道姜黄素对肺癌、乳腺癌、胃癌、结肠癌、白血病、黑色素瘤等均有效, 肝细胞性肝癌是常见恶性肿瘤之一, 大量研究表明姜黄素具有抗肝癌细胞生长的作用。

刘婕, 唐世孝, 四川省泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000

刘婕, 四川省泸州医学院研究生, 主要从事胃肠肿瘤的研究。

作者贡献分布: 本文综述由刘婕完成; 唐世孝审校。

通讯作者: 唐世孝, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 646000, 四川省泸州市江阳区太平街25号, 四川省泸州医学院附属医院消化内科, 26111377@qq.com

收稿日期: 2013-05-10 修回日期: 2013-07-22

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-11-28

## Molecular mechanisms behind anti-cancer effects of curcumin in hepatocellular carcinoma

Jie Liu, Shi-Xiao Tang

Jie Liu, Shi-Xiao Tang, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Shi-Xiao Tang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taipingjie, Jiangyang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 26111377@qq.com

Received: 2013-05-10 Revised: 2013-07-22

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-11-28

## Abstract

Primary liver cancer, also known as hepatocellular carcinoma (HCC), is one of the most lethal cancers worldwide. Most HCC cases are reported in the developing countries in Asia and Africa. Viral hepatitis, alcoholism as well as dietary carcinogens, such as aflatoxins and nitrosoamines, contribute to HCC. Surgical resection is the best treatment for early HCC, and Chinese medicine is one of the main measures for the treatment of advanced HCC. Numerous studies show that curcumin has anti-cancer, anti-oxidant and anti-inflammatory properties. This article will discuss the mechanisms behind anti-cancer effects of curcumin in HCC.

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

Key Words: Curcumin; Hepatocellular carcinoma; Molecular mechanism

Liu J, Tang SX. Molecular mechanisms behind anti-cancer effects of curcumin in hepatocellular carcinoma. Shijie

Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(33): 3678-3682 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3678.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3678>

## 摘要

原发性肝癌, 也称之为肝细胞性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC), 是世界上常见的恶性肿瘤之一, 东南亚国家地区和热带非洲的肝细胞癌发病率最高; 病毒性肝炎, 酒精及肝毒性物质(黄曲霉毒素或亚硝胺)均能导致肝细胞癌发病, 手术切除是治疗早期肝癌的主要方式, 中药是治疗中晚期肝癌的主要措施之一。姜黄素, 最主要的是多酚姜黄色素, 大量研究表明, 姜黄素有抗癌、抗氧化及抗炎的特性, 本文章就姜黄素抗人肝细胞癌生长作用机制的研究进展进行综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 姜黄素; 肝癌; 分子机制

核心提示: 姜黄素具有抗肝癌作用, 其分子机制为通过作用于一系列的分子信号通路发挥抗肝癌细胞生长作用。

刘婕, 唐世孝. 姜黄素抗肝癌分子机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3678-3682 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3678.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3678>

## 0 引言

原发性肝癌, 尤其是肝细胞肝癌, 是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 男性肝癌病死率居各种肿瘤病死率的第5位, 女性第8位<sup>[1,2]</sup>, 全世界肝细胞性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 年死亡人数高达700000例<sup>[3]</sup>, 2006年我国调查数据显示, 男性肝癌发病率占第3位, 女性肝癌发病率占第4位; 肝细胞癌发病率急剧增加, 尤其在亚洲发展中国家, 如中国、撒哈拉沙漠以南的非洲、欧洲中部和南部、南美洲大陆<sup>[4,5]</sup>。绝大多数的HCC是感染乙型或丙型肝炎而发病, 肥胖、酒精性、非酒精性肝硬化、肝毒性药物(黄曲霉毒素

## ■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

或亚硝胺)等<sup>[3,6-8]</sup>也是HCC重要致病因素, 外科手术是治疗早期肝癌的主要措施, 肝移植往往受到供体的限制, 且复发率高达50%<sup>[9]</sup>, 一些区域性治疗方法也有一定的限制性, 如经肝动脉栓塞、经动脉化疗栓塞、钇-90(90Y)微球植入性的动脉给药。在肝癌治疗手段中, 化疗越来越占据重要位置, 但目前临床上用的化疗药物主要存在: (1)毒性太大; (2)选择性差; 对免疫系统、正常组织影响大; (3)对实体瘤作用不佳; (4)耐药性高等问题。中医中药已成为中晚期肝癌的主要治疗方法, 故联合中药并降低化疗药物的使用剂量在保持原疗效水平时既能减轻患者的不良反应, 也能提高治疗肝癌的临床效果<sup>[10]</sup>。

姜黄类包括酚型和非酚型, 在亚洲南部, 姜黄最早作为防腐剂、抗菌及抗炎药治疗感染、呼吸疾病、水肿及风湿病<sup>[11-14]</sup>, 后来发现其还具有抗癌、护肝、护心、抗风湿炎等特性<sup>[15-19]</sup>。Goel等<sup>[18]</sup>从姜黄中分离出去甲氧基姜黄素、姜黄素和双去甲氧基姜黄素, 并比较了3种类型的细胞毒性、抗氧化及抗肿瘤活性, 得出活性最高的是双去甲氧基姜黄素, 去甲氧基姜黄素次之, 姜黄素最差; 商用姜黄素是姜黄素(77%)、去甲氧基姜黄素(18%)及双去甲氧基姜黄素(5%)的混合物<sup>[18,20,21]</sup>; 近几十年姜黄素被广泛用于治疗慢性疾病, 如糖尿病、类风湿性关节炎、癌症, 大量的临床前研究及临床研究表明, 姜黄素有明显的抗肿瘤作用<sup>[22]</sup>。

## 1 姜黄素的药理作用

姜黄素是从姜科姜黄属植物姜黄根茎中提取的一种酚型色素, 自1985年印度Packard等<sup>[23]</sup>首次提出姜黄和姜黄素可能具有抗肿瘤作用, 随后大量的研究证实。

姜黄素具有抗氧化、抗炎、抗感染、抑制肿瘤生长等药理作用, 炎症瀑布反应在慢性疾病发病机制中占主要作用, 姜黄素因具有抗炎的作用故可用于治疗慢性疾病<sup>[24,25]</sup>。研究表明姜黄素具有抑制转录因子[核因子 $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、过氧化物酶体增殖剂激活受体- $\gamma$ (peroxisome proliferators-activated receptor- $\gamma$ , PPAP- $\gamma$ )、p53]、蛋白激酶(EGFR、PKA、PKC等)、基因表达[细胞周期蛋白(CyclinD1)、环氧化酶2抑制剂(cyclooxygenase 2, COX2)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase-9, MMP9)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白介素-12(interleukin-12, IL-12)]及其他[Bcl-2、

细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecular-1, ICAM-1)]的作用, 并通过改变一系列的信号通路发挥抗炎、抗氧化及抗肿瘤的作用<sup>[26-28]</sup>; 如姜黄素能够抑制NF- $\kappa$ B<sup>[29]</sup>, 而NF- $\kappa$ B能调节炎症中介物如细胞活素类、趋化因子及蛋白激酶<sup>[30,31]</sup>(IL-1、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 及环加氧酶)的活性<sup>[32-34]</sup>, 从而发挥抗炎作用, 且NF- $\kappa$ B基因产物能调节细胞凋亡及增殖, 阻止肿瘤细胞的侵犯及血管的再生; 姜黄素还能与大量信号蛋白(转录因子、生长因子、黏附分子及抗凋亡蛋白)相互作用, 抑制癌细胞的增殖和凋亡及肿瘤的侵袭和转移<sup>[35-40]</sup>。姜黄素抗肿瘤的分子机制<sup>[41]</sup>可能包括以下: (1)下调前癌基因CyclinD1的表达; (2)诱导肿瘤细胞的停滞与凋亡; (3)抑制CyclinD-依赖性蛋白激酶4(cyclin-dependent protein kinases 4, CDK4); (4)抑制金属蛋白酶和肿瘤血管形成; (5)抑制细胞色素P450(cytochrome P450, CYP450)同工酶活性; (6)下调核转录因子(NF- $\kappa$ B), 抑制可诱导性NO合成酶、COX2的活性; (7)改变微丝的结构和功能; (8)上调GADD153的转录。

## 2 姜黄素抗肝癌的作用

细胞凋亡主要通过死亡受体(外源性)通路和线粒体依赖性的细胞凋亡(内源性)通路, 并由一系列的促凋亡和抗凋亡调节因子控制, 外源性和内源性通路在形成具有裂解活性的Caspase3处汇合, 进一步导致DNA、核蛋白和细胞骨架崩解。凋亡受体属于肿瘤坏死因子家族, 结构上均具有相同的细胞内部分一“死亡区域”, 凋亡受体通路通过激活死亡受体, 形成死亡诱导信号复合物而启动凋亡过程。如Fas相关死亡结构域蛋白(fas-associated death domain protein, FADD)可介导Caspase8活化而触发细胞的凋亡。线粒体通路则常与Bcl-2家族有关, Bcl-2家族成员中部分为促凋亡蛋白, 部分为抗凋亡蛋白。二者的组成比例决定细胞对凋亡的敏感性。当细胞损伤发生时, 促凋亡蛋白自从胞质转移到线粒体膜上与抗凋亡蛋白相作用, 导致线粒体膜穿孔, 细胞色素C漏出, 而启动凋亡过程。

姜黄素抗肝癌机制认为可能主要与诱导肿瘤细胞凋亡有关, 其通过调控抑癌基因、癌基因及其蛋白的表达、诱导细胞周期停滞及调控细胞凋亡信号等途径来实现, 其还可以通过抗氧化、免疫调节、影响激素水平及上调GADD153的转录等机制发挥抗肿瘤的作用。

## ■研究前沿

姜黄素具有抗肝癌细胞生长的作用, 但其分子机制尚不完全清楚, 问题在于需要设计及系统性评价姜黄素抗肝癌生长作用的临床实验。



## ■ 相关报道

Jun、Takuto等均证实姜黄素具有抗不同肝癌细胞株生长的作用,但其分子机制主要与诱导肿瘤细胞凋亡有关。

王伟章等<sup>[42]</sup>研究表明,姜黄素能够显著地上调肝癌细胞Huh7中的Bcl-2家族促凋亡蛋白Bad的表达,并诱导cytochromes从线粒体释放至胞浆中以及活化Caspase3蛋白,表明通过激活线粒体凋亡通路诱导肝癌细胞Huh7的凋亡。Yu等<sup>[43]</sup>研究表明姜黄素能够诱导人肝细胞癌SMMC-7721的凋亡,且具有浓度依赖性,主要通过增加Bax蛋白的表达,降低Bcl-2蛋白表达。孙军等研究结果表明,在缺氧条件下,姜黄素通过抑制肝癌细胞BEL-7402中VEGF的mRNA和蛋白表达来抗肝癌血管生成、抑制癌细胞的生长和转移;随着缺氧时间延长,VEGF的蛋白和mRNA表达增强,郭志松等<sup>[44]</sup>通过研究姜黄素对肝癌HepG2细胞和肝脏正常L-02细胞的生长抑制作用及其机制表明,姜黄素阻滞HepG2细胞周期于G<sub>1</sub>期,此过程中Caspase3、Caspase8、Caspase9被激活,DR5蛋白表达上升,Bcl-2/Bax蛋白表达比率下降,得出姜黄素能够选择性杀伤HepG2细胞,并通过外源性通路和内源性通路两条通路促其凋亡。姜黄素通过下调血管内皮生长因子-A抑制Hepal-6细胞的生长<sup>[45]</sup>;Wang等<sup>[46]</sup>研究表明其还能通过下调Chk1蛋白表达及阻滞细胞在G<sub>2</sub>/M期来抑制肝癌细胞的凋亡;Wang等<sup>[47]</sup>研究表明姜黄素通过激活p38上调Fas和FasL的蛋白及mRNA水平的表达诱导肝癌Huh7细胞的凋亡。Fujii等<sup>[48]</sup>发现肝癌细胞HepG2具有高Mg<sup>2+</sup>活性的外核苷酸酶活性,姜黄素可能通过降低ecto-ATPase活性及影响外在依赖ATP反应来诱导肝癌细胞HepG2的凋亡;Wang等<sup>[49]</sup>也证实姜黄素可能通过破坏线粒体膜及阻止游离Ca<sup>2+</sup>离子的积聚来诱导肝癌细胞HepG2的凋亡;Cheng等<sup>[50]</sup>研究表明姜黄素通过增加内质网的负担及破坏线粒体功能来抑制人肝癌J5细胞增殖,并呈时间及浓度依赖方式,其机制通过下调Calnexin、PDI及Ero1-L $\alpha$ 的表达和上调Calreticulin的表达来诱导非折叠蛋白的反应,也通过裂解Caspase12和ATF6诱导GADD153的表达,并把ATF6转移至细胞核,还通过下调TCTP、Mcl-1及Bcl-2的表达来诱导线粒体的功能障碍,且通过降低Cdc2的表达来阻滞肝癌细胞在G<sub>2</sub>/M时期。

## 3 结论

姜黄素因具有抗炎、抗氧化及抑制肿瘤生长等作用而被广泛用于治疗胃癌、结肠癌、类风湿性关节炎等慢性疾病,大量体外实验证实其能

通过作用于一系列的分子信号通路发挥抗肝癌细胞生长作用,但临床上姜黄素被用于治疗肝癌还需要做大量的实验研究,成功的关键在于设计系统性评价姜黄素抗肝癌生长作用的临床实验。肝癌的治疗方式为综合性治疗,单一使用姜黄素治疗肝癌的效果欠佳,联合化疗治疗肝癌将成为后续的研究热点。

## 4 参考文献

- 1 Simmons JE, Sloane RA, Van Stee EW. Hepatic cholesterol metabolism following exposure to carbon disulfide in phenobarbital-treated rats. *Arch Environ Contam Toxicol* 1989; 18: 678-687 [PMID: 2802672 DOI: 10.1093/carcin/bgp263]
- 2 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]
- 3 Schütte K, Bornschein J, Malfertheiner P. Hepatocellular carcinoma--epidemiological trends and risk factors. *Dig Dis* 2009; 27: 80-92 [PMID: 19546545 DOI: 10.1159/000218339]
- 4 Bosch FX, Ribes J, Díaz M, Cléries R. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology* 2004; 127: S5-S16 [PMID: 15508102]
- 5 McGlynn KA, Tsao L, Hsing AW, Devesa SS, Fraumeni JF. International trends and patterns of primary liver cancer. *Int J Cancer* 2001; 94: 290-296 [PMID: 11668511]
- 6 Ribes J, Cléries R, Esteban L, Moreno V, Bosch FX. The influence of alcohol consumption and hepatitis B and C infections on the risk of liver cancer in Europe. *J Hepatol* 2008; 49: 233-242 [PMID: 18571275 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.04.016]
- 7 Okuda K. Hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2000; 32: 225-237 [PMID: 10728807]
- 8 Kensler TW, Egner PA, Wang JB, Zhu YR, Zhang BC, Lu PX, Chen JG, Qian GS, Kuang SY, Jackson PE, Gange SJ, Jacobson LP, Muñoz A, Groopman JD. Chemoprevention of hepatocellular carcinoma in aflatoxin endemic areas. *Gastroenterology* 2004; 127: S310-S318 [PMID: 15508099]
- 9 Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2003; 362: 1907-1917 [PMID: 14667750 DOI: 10.1016/S0140-6736(03)14964-1]
- 10 曾山, 姚运红. 姜黄素与化疗药物联合抗癌作用的研究进展. *实用癌症杂志* 2010; 25: 218-220
- 11 Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of Curcuma longa. *Planta Med* 1991; 57: 1-7 [PMID: 2062949 DOI: 10.1055/s-2006-960004]
- 12 Araújo CC, Leon LL. Biological activities of Curcuma longa L. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96: 723-728 [PMID: 11500779]
- 13 Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 2003; 23: 363-398 [PMID: 12680238]
- 14 Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol* 2007; 595: 1-75 [PMID: 17569205 DOI: 10.1007/978-0-387-46401-5\_1]
- 15 Kiso Y, Suzuki Y, Watanabe N, Oshima Y, Hikino H. Antihepatotoxic principles of Curcuma longa rhizomes. *Planta Med* 1983; 49: 185-187 [PMID: 6811111]

- 6657788]
- 16 Srivastava R, Dikshit M, Srimal RC, Dhawan BN. Anti-thrombotic effect of curcumin. *Thromb Res* 1985; 40: 413-417 [PMID: 4082116]
  - 17 Babu PS, Srinivasan K. Influence of dietary curcumin and cholesterol on the progression of experimentally induced diabetes in albino rat. *Mol Cell Biochem* 1995; 152: 13-21 [PMID: 8609907]
  - 18 Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol* 2008; 75: 787-809 [PMID: 17900536 DOI: 10.1016/j.bcp.2007.08.016]
  - 19 Rivera-Espinoza Y, Muriel P. Pharmacological actions of curcumin in liver diseases or damage. *Liver Int* 2009; 29: 1457-1466 [PMID: 19811613 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.02086.x]
  - 20 Goel A, Jhurani S, Aggarwal BB. Multi-targeted therapy by curcumin: how spicy is it? *Mol Nutr Food Res* 2008; 52: 1010-1030 [PMID: 18384098 DOI: 10.1002/mnfr.200700354]
  - 21 Anand P, Sundaram C, Jhurani S, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin and cancer: an "old-age" disease with an "age-old" solution. *Cancer Lett* 2008; 267: 133-164 [PMID: 18462866 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.03.025]
  - 22 Aggarwal BB, Harikumar KB. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 40-59 [PMID: 18662800 DOI: 10.1016/j.biocel.2008.06.010]
  - 23 Packard RR, Libby P. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. *Clin Chem* 2008; 54: 24-38 [PMID: 18160725 DOI: 10.1373/clinchem.2007.097360]
  - 24 Murakami Y, Ishii H, Takada N, Tanaka S, Machino M, Ito S, Fujisawa S. Comparative anti-inflammatory activities of curcumin and tetrahydrocurcumin based on the phenolic O-H bond dissociation enthalpy, ionization potential and quantum chemical descriptor. *Anticancer Res* 2008; 28: 699-707 [PMID: 18507010]
  - 25 Jurenka JS. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. *Altern Med Rev* 2009; 14: 141-153 [PMID: 19594223]
  - 26 Calabrese V, Bates TE, Mancuso C, Cornelius C, Ventimiglia B, Cambria MT, Di Renzo L, De Lorenzo A, Dinkova-Kostova AT. Curcumin and the cellular stress response in free radical-related diseases. *Mol Nutr Food Res* 2008; 52: 1062-1073 [PMID: 18792015 DOI: 10.1002/mnfr.200700316]
  - 27 Kunnumakkara AB, Anand P, Aggarwal BB. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. *Cancer Lett* 2008; 269: 199-225 [PMID: 18479807 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.03.009]
  - 28 Sarkar FH, Li Y, Wang Z, Padhye S. Lesson learned from nature for the development of novel anti-cancer agents: implication of isoflavone, curcumin, and their synthetic analogs. *Curr Pharm Des* 2010; 16: 1801-1812 [PMID: 20345353]
  - 29 Li L, Aggarwal BB, Shishodia S, Abbruzzese J, Kurzrock R. Nuclear factor-kappaB and IkappaB kinase are constitutively active in human pancreatic cells, and their down-regulation by curcumin (diferuloylmethane) is associated with the suppression of proliferation and the induction of apoptosis. *Cancer* 2004; 101: 2351-2362 [PMID: 15476283 DOI: 10.1002/cncr.20605]
  - 30 Shakibaei M, Schulze-Tanzil G, John T, Mobasheri A. Curcumin protects human chondrocytes from IL-1beta-induced inhibition of collagen type II and beta1-integrin expression and activation of caspase-3: an immunomorphological study. *Ann Anat* 2005; 187: 487-497 [PMID: 16320828]
  - 31 Skommer J, Wlodkowic D, Pelkonen J. Gene-expression profiling during curcumin-induced apoptosis reveals downregulation of CXCR4. *Exp Hematol* 2007; 35: 84-95 [PMID: 17198877 DOI: 10.1016/j.exphem.2006.09.006]
  - 32 Ralhan R, Pandey MK, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappa B links carcinogenic and chemopreventive agents. *Front Biosci (Schol Ed)* 2009; 1: 45-60 [PMID: 19482682]
  - 33 Libby P. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev* 2007; 65: S140-S146 [PMID: 18240538]
  - 34 Sethi G, Sung B, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappaB activation: from bench to bedside. *Exp Biol Med (Maywood)* 2008; 233: 21-31 [PMID: 18156302 DOI: 10.3181/0707-MR-196]
  - 35 Gupta SC, Kim JH, Prasad S, Aggarwal BB. Regulation of survival, proliferation, invasion, angiogenesis, and metastasis of tumor cells through modulation of inflammatory pathways by nutraceuticals. *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29: 405-434 [PMID: 20737283 DOI: 10.1007/s10555-010-9235-2]
  - 36 Shishodia S, Amin HM, Lai R, Aggarwal BB. Curcumin (diferuloylmethane) inhibits constitutive NF-kappaB activation, induces G1/S arrest, suppresses proliferation, and induces apoptosis in mantle cell lymphoma. *Biochem Pharmacol* 2005; 70: 700-713 [PMID: 16023083 DOI: 10.1016/j.bcp.2005.04.043]
  - 37 Aggarwal S, Ichikawa H, Takada Y, Sandur SK, Shishodia S, Aggarwal BB. Curcumin (diferuloylmethane) down-regulates expression of cell proliferation and antiapoptotic and metastatic gene products through suppression of IkappaBalpha kinase and Akt activation. *Mol Pharmacol* 2006; 69: 195-206 [PMID: 16219905 DOI: 10.1124/mol.105.017400]
  - 38 Kamat AM, Sethi G, Aggarwal BB. Curcumin potentiates the apoptotic effects of chemotherapeutic agents and cytokines through down-regulation of nuclear factor-kappaB and nuclear factor-kappaB-regulated gene products in IFN-alpha-sensitive and IFN-alpha-resistant human bladder cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2007; 6: 1022-1030 [PMID: 17363495 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-06-0545]
  - 39 Deeb D, Jiang H, Gao X, Al-Holou S, Danyluk AL, Dulchavsky SA, Gautam SC. Curcumin [1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadine-3,5-dione; C21H20O6] sensitizes human prostate cancer cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand/Apo2L-induced apoptosis by suppressing nuclear factor-kappaB via inhibition of the prosurvival Akt signaling pathway. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 321: 616-625 [PMID: 17289836 DOI: 10.1124/jpet.106.117721]
  - 40 Aggarwal BB, Shishodia S, Takada Y, Banerjee S, Newman RA, Bueso-Ramos CE, Price JE. Curcumin suppresses the paclitaxel-induced nuclear factor-kappaB pathway in breast cancer cells and inhibits

## ■创新盘点

通过列举一系列姜黄素抗肝癌细胞生长的研究,证明姜黄素具有抗肝癌的作用,其分子机制尚不完全清楚。

## ■同行评价

姜黄素具有抗癌、抗氧化及抑制炎症反应的作用, 近年越来越受到人们的关注。本文作者就姜黄素对肝癌细胞抑制的分子机制进行了综述。

- lung metastasis of human breast cancer in nude mice. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 7490-7498 [PMID: 16243823 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-1192]
- 41 刘晓真, 张宏颖. 姜黄素与肿瘤细胞作用的分子机制. 大连医科大学学报 2008; 30: 465-468
- 42 王伟章, 金小宝, 毛建文, 郑敏. Chk1基因沉默增强姜黄素诱导肝癌细胞Huh7凋亡的敏感性. 中国癌症杂志 2010; 20: 95-100
- 43 Yu J, Zhou X, He X, Dai M, Zhang Q. Curcumin induces apoptosis involving bax/bcl-2 in human hepatoma SMMC-7721 cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 1925-1929 [PMID: 22292626]
- 44 郭志松, 邵换璋, 薛飞, 卢创新. 姜黄素对肝癌HepG2细胞和肝脏正常细胞L-02细胞的生长抑制作用及其机制. 中华实验外科杂志 2012; 29: 851-853
- 45 Jia L, Wang H, Qu S, Miao X, Zhang J. CD147 regulates vascular endothelial growth factor-A expression, tumorigenicity, and chemosensitivity to curcumin in hepatocellular carcinoma. *IUBMB Life* 2008; 60: 57-63 [PMID: 18379992 DOI: 10.1002/iub.11]
- 46 Wang WZ, Cheng J, Luo J, Zhuang SM. Abrogation of G2/M arrest sensitizes curcumin-resistant hepatoma cells to apoptosis. *FEBS Lett* 2008; 582: 2689-2695 [PMID: 18602917 DOI: 10.1016/j.febslet.2008.06.048]
- 47 Wang WZ, Li L, Liu MY, Jin XB, Mao JW, Pu QH, Meng MJ, Chen XG, Zhu JY. Curcumin induces FasL-related apoptosis through p38 activation in human hepatocellular carcinoma Huh7 cells. *Life Sci* 2013; 92: 352-358 [PMID: 23352975 DOI: 10.1016/j.lfs.2013.01.013]
- 48 Fujii T, Minagawa T, Shimizu T, Takeguchi N, Sakai H. Inhibition of ecto-ATPase activity by curcumin in hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *J Physiol Sci* 2012; 62: 53-58 [PMID: 21932081 DOI: 10.1007/s12576-011-0176-5]
- 49 Wang M, Ruan Y, Chen Q, Li S, Wang Q, Cai J. Curcumin induced HepG2 cell apoptosis-associated mitochondrial membrane potential and intracellular free Ca(2+) concentration. *Eur J Pharmacol* 2011; 650: 41-47 [PMID: 20883687 DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.09.049]
- 50 Cheng CY, Lin YH, Su CC. Curcumin inhibits the proliferation of human hepatocellular carcinoma J5 cells by inducing endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction. *Int J Mol Med* 2010; 26: 673-678 [PMID: 20878089]

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静





# 十二指肠间质瘤的研究进展

李昱骥, 董明

李昱骥, 董明, 中国医科大学附属第一医院普通外科教研室  
胃肠外科 辽宁省沈阳市 110001

李昱骥, 2011年中国医科大学博士, 副教授, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

作者贡献分布: 本文综述由李昱骥完成; 董明审校。

通讯作者: 董明, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市南京北街153号, 中国医科大学附属第一医院普通外科教研室胃肠外科。cmudongming@sohu.com

电话: 024-83282881

收稿日期: 2013-09-26 修回日期: 2013-10-19

接受日期: 2013-10-30 在线出版日期: 2013-11-28

## Diagnosis and treatment of duodenal gastrointestinal stromal tumors

Yu-Ji Li, Ming Dong

Yu-Ji Li, Ming Dong, Department of General Surgery, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Ming Dong, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the First Hospital of China Medical University, 153 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. cmudongming@sohu.com

Received: 2013-09-26 Revised: 2013-10-19

Accepted: 2013-10-30 Published online: 2013-11-28

## Abstract

Duodenal gastrointestinal stromal tumors are common primary tumors of the duodenum, which are regarded as a group of gastrointestinal stromal tumors in most studies. However, since the duodenum has a special anatomical position and is adjacent to important organs, the diagnosis and treatment of duodenal gastrointestinal stromal tumors have a certain particularity. This paper discusses the special aspects of the diagnosis and treatment of duodenal gastrointestinal stromal tumors, especially the selection of right means of operation based on the tumor condition and the use of effective targeted therapy to achieve good outcome.

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

Key Words: Duodenal gastrointestinal stromal tumors; Diagnosis; Treatment

Li YJ, Dong M. Diagnosis and treatment of duodenal gastrointestinal stromal tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3683-3687 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3683.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3683>

## 摘要

十二指肠间质瘤是常见的十二指肠原发肿瘤。目前的研究多将十二指肠间质瘤视为消化系统间质瘤的一部分进行。但因为十二指肠有着特殊的位置和重要脏器毗邻, 故其诊断和治疗有着一定的特殊性。本文着重介绍了十二指肠间质瘤诊断以及治疗上的特殊之处, 特别是根据肿瘤的情况选择合适的手术方式, 并联合有效的靶向治疗以取得良好的评价, 对临床工作具有指导意义。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 十二指肠间质瘤; 诊断; 治疗

**核心提示:** 本文总结了当前资料中对十二指肠间质瘤诊断和治疗的最新的观点和看法, 为临床工作提供指导性的意见。通过对相关病例的总结, 归纳出十二指肠间质瘤的临床特点, 并对治疗方案的选择进行了详尽的分析。

李昱骥, 董明. 十二指肠间质瘤的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(33): 3683-3687 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3683.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3683>

## 0 引言

十二指肠间质瘤(duodenal gastrointestinal stromal tumor, GIST)系指发生在十二指肠部位的间质瘤, 占十二指肠原发肿瘤的30%<sup>[1]</sup>, 占消化系统间质瘤的3%-5%<sup>[2,3]</sup>。因为十二指肠的位置特殊及毗邻重要脏器, 使得其诊断和治疗均有一定的困难。随着对其研究的重视和深入, 越来越多的检查方式被临床应用, 为术前诊断和术后评估提供参考。治疗手段上, 适当的手术方式联合有效的靶向治疗已经被大多数所认同, 并取得

## ■背景资料

十二指肠间质瘤往往作为消化系统间质瘤的一个部分被介绍, 因而往往被或略其位于十二指肠这一特殊部位的重要性。今年来随着对消化系统间质瘤整体研究的发展, 十二指肠间质瘤的相关内容的研究也逐渐被重视起来。大家也对起特殊性有了进一步的研究, 逐渐形成统一的认识。

## ■同行评议者

刘丽江, 教授, 江汉大学医学院病理学

## ■研发前沿

对于能手术切除的十二指肠间质瘤首选手术治疗, R0切除能取得理想的治疗效果, 手术后结合基因检测选择适当病例进行靶向治疗可以提高患者的生存时间. 对于未能手术切除的患者, 也可以考虑进行靶向治疗.

了良好的评价.

目前多数报道均将十二指肠间质瘤视为胃肠间质瘤的一部分进行分析, 追踪近10余年文献<sup>[3-15]</sup>, 国内最大宗的单病种报道文献仅为39例<sup>[4]</sup>(跨度13年). 通过各个专业医师的通力合作, 对十二指肠间质瘤的认识越来越深, 相关报道也逐渐增多. 2011年, 中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会(Chinese Society of Clinical Oncology, CSCO)胃肠间质瘤专家委员会发布了中国胃肠间质瘤诊断治疗专家共识<sup>[16]</sup>中, 也对十二指肠间质瘤的相关内容进行了简单论述.

## 1 临床与病理特点

**1.1 临床特点** 就发病年龄和性别而言, 因目前尚无大样本病理报道未能做出客观评述. 现有资料显示老年人居多, 男性多于女性<sup>[4,5]</sup>, 这与全部胃肠间质瘤整体的男女比基本接近有异<sup>[2]</sup>, 估计还需要进一步统计分析. 和其他的胃肠道间质瘤一样, 消化系出血是十二指肠间质瘤的主要临床表现<sup>[2,4,5]</sup>. 可能是因为十二指肠间质瘤主要位于十二指肠肌层, 向内可达黏膜下层甚至固有层, 可导致黏膜表面形成溃疡引起出血<sup>[13,17]</sup>.

**1.2 病理特点** 十二指肠间质瘤多为单发, 目前尚无重复病理报道. 一般认为肿瘤 $\geq 5$  cm, 核分裂像 $\geq 5/50$ 高倍视野(high power field, HP), 有周围脏器浸润或术中破裂均提示预后不良<sup>[16]</sup>. 酪氨酸受体CD117和造血干细胞抗原CD34的阳性率较高, 可以作为鉴别诊断的依据, 而可溶性核糖核酸(soluble ribonucleic acid, SMA)蛋白和可溶性酸性蛋白S-100阳性率较低<sup>[5,8]</sup>. CD117和CD34阳性还对术后靶向治疗的药物选择及治疗效果有较大意义<sup>[18-20]</sup>.

## 2 诊断

**2.1 螺旋CT** 多排螺旋CT具有良好的空间密度分辨率, 其作用不仅仅在于定位诊断. 相关研究显示<sup>[21,22]</sup>: 高、中、低度危险性的胃肠道间质瘤在肿瘤的大小、周围脂肪间隙、强化方式和瘤周及瘤内血管的显示方面有统计学差异; 高度危险性的肿瘤影像包括形态不规则、边缘模糊的较大肿块、多排螺旋CT增强扫描可见明显不均匀强化、静脉期比动脉期强化更明显、瘤周及瘤体内显示有肿瘤供血血管的病变; 而肿瘤浸润邻近脏器或血管、出现腹腔播散、肝脏或其他部位出现转移灶等.

**2.2 磁共振成像** 磁共振成像(magnetic resonance

imaging, MRI)研究显示<sup>[22,23]</sup>: MRI动态增强后渐进性强化可作为为胃肠道间质瘤的表现特征之一, 但时间-信号强度曲线类型尚不能成为GIST侵袭危险度的评估指标. 与CT相比, MRI图像质量会受到呼吸运动、胃肠道蠕动及气体等影响, 且对钙化的显示不直观, 但MRI对软组织的分辨率极高, 且具有多方位成像及功能成像优势, 使其对胃肠道间质瘤的诊断及侵袭危险度评估更具优势.

**2.3 超声与超声内镜** 超声较早应用于十二指肠间质瘤间质瘤的诊断, 但由于受到患者腹腔情况及检查者技术的限制, 往往难以提供准确的诊断, 故常用于患者筛查. 内镜超声的作用近年来越来越受到重视, 他可以对胃肠道黏膜及黏膜下隆起性病变判断其病变起源、回声特征以及肿瘤的大小及边缘情况, 但能否准确辨别全部病变的性质还有待提高<sup>[24,25]</sup>. 内镜超声引导下穿刺活检适用于初发且疑是十二指肠间质瘤, 术前需除外淋巴瘤者<sup>[16]</sup>.

**2.4 标志物及基因检测** 近年来, DOG1(discovered on gastrointestinal tumor 1)作为新发现的标志物也被应用于诊断, 其敏感性优于CD117, 约有36%的CD117阴性病例DOG1表达阳性<sup>[26]</sup>. 另外还发现胃肠道间质瘤组织中DOG1蛋白表达情况与肿瘤发生部位、细胞丰富程度、细胞核异形性及危险度分级有关<sup>[27]</sup>. 在基因检测方面, 推荐对c-kit基因的第11、9、13和17号外显子以及血小板源型生长因子受体 $\alpha$ 多肽(platelet-derived growth factor receptor alpha, PDGFRA)基因的第12和18号外显子进行检测, 其中c-kit基因的第11或9号外显子可做优先检测<sup>[16,28,29]</sup>.

## 3 治疗

十二指肠间质瘤同其他消化系间质瘤一样, 很少发生淋巴结转移<sup>[3-15]</sup>. 手术是首选且有效的治疗方法<sup>[30,31]</sup>, 术后生存率与肿瘤的危险度密切相关, 危险度级别越高, 5年生存率越差<sup>[4,5]</sup>, 扩大切除范围并不能有效地改善预后, 所以推荐施行保留器官功能的R0手术切除<sup>[2,16]</sup>. 术后对于中、高度危险的患者主张进行靶向治疗. 对于直径 $>2$  cm的局限性肿瘤可行手术切除, 手术目标是尽可能达到R0切除<sup>[16]</sup>. 目前的手术方式包括单纯切除肿瘤的十二指肠部分切除术; 切除肿瘤所在器官的十二指肠节段性切除术或胃大部切除术; 扩大切除范围的胰十二指肠切除术. 研究表明单纯扩大切除范围并不能有效地改善预

表 1 原发性十二指肠间质瘤手术后危险度分级

危险度分级	肿瘤大小(cm)	核分裂数(每50 HP)	临近脏器受累或术中破裂
极低危险组	<2.0	≤5	无
低危险组	2.0-5.0	≤5	无
中危险组	2.0-5.0	>5	无
	<5.0	6-10	无
	5.0-10.0	≤5	无
高危险组	>10	任何	有or无
	任何	>10	有or无
	>5.0	>5.0	有or无
	任何	任何	有

## ■ 相关报道

尽管十二指肠部位特殊,多数学者依然认为应该尽可能切除肿瘤而不能轻易放弃手术治疗,对于术前估计难以切除病例,可以行新辅助治疗后获得手术条件。

后<sup>[2,4,5,32]</sup>,故认为应该将十二指肠部分切除术作为首选考虑,仅对于直径>5 cm且位于十二指肠降部,距离十二指肠乳头3 cm以内者行胰十二指肠切除术<sup>[4,7,32]</sup>。十二指肠间质瘤生物学特性不同于其他的十二指肠恶性肿瘤,应尽可能切除肿瘤以期获得较好的预后。邵成浩等<sup>[8]</sup>报道了5例已经在外院行手术探查病例,其中1例已经存在右肝转移,再次手术切除后均长期健康生存。目前报道<sup>[2-7,16,32]</sup>均显示,包括十二指肠间质瘤在内的胃肠道间质瘤很少发生淋巴结转移,故除非有证据证明转移,不需要进行常规的淋巴结清扫。

应用腹腔镜治疗十二指肠间质瘤的报道并不多见,国内仅有1例报道<sup>[7]</sup>。估计是因为十二指肠间质瘤在腹腔内位置较深,腹腔镜操作容易造成肿瘤破裂引起腹腔播散和腹膜种植转移有关。中国胃肠间质瘤诊断治疗专家共识中亦不推荐常规使用<sup>[16]</sup>。国外经验来看,对于直径≤5 cm者,可以考虑在有经验的中心进行腹腔镜手术<sup>[33]</sup>,并且推荐使用“取物袋”来避免肿瘤破裂播散;对于直径>5 cm者,除了临床研究需要外,不推荐进行腹腔镜手术<sup>[34,35]</sup>。

不能切除的局限性肿瘤或者切除风险较大且严重影响脏器功能者,宜先行术前药物治疗,待肿瘤缩小后再行手术<sup>[16,36-38]</sup>。术前药物治疗一般认为应用伊马替尼治疗6 mo比较适宜,推荐剂量为400 mg/d<sup>[39]</sup>。也有报道使用经导管动脉栓塞(transcatheter arterial embolization, TAE)使肿瘤缩小后手术切除<sup>[32]</sup>。

对于手术切除的十二指肠间质瘤,有中、高复发危险者应该进行术后辅助治疗。美国外科协会Z9001研究<sup>[40]</sup>证明,具有复发危险因素的胃肠道间质瘤完整切除后,应用伊马替尼辅助治疗1年可以明显改善患者的无复发生存率,推荐伊马替尼的治疗剂量为400 mg/d,认为中危患者

应至少治疗1年,高危患者应治疗3年;国内的相关研究<sup>[41]</sup>也支持对中、高危患者进行术后伊马替尼的辅助治疗,只是在治疗时限上认为无论中、高危患者均应治疗3年。Blanke等<sup>[42]</sup>的实验亦证明上述观点。还有研究显示<sup>[43,44]</sup>,*c-kit*基因11号外显子突变者对伊马替尼反应较好,9号外显子突变者敏感性稍差,对这一类患者应该将剂量提高至800 mg/d。

手术后出现复发或转移的十二指肠间质瘤,如能完整切除复发转移病灶,应首选手术切除,然后继续应用伊马替尼治疗。临床观察显示<sup>[45-47]</sup>,局部复发患者接受肿瘤完整切除后继续服用伊马替尼可以获得较好的无疾病进展期与总生存期。对于不能根治切除者,可以增加伊马替尼剂量(增加至600 mg/d)或者换用舒尼替尼治疗<sup>[16]</sup>。对于无法手术切除的肝转移患者还可以考虑将动脉栓塞和射频消融作为辅助治疗的方式<sup>[48-52]</sup>。

目前相关的研究较少,尚需进一步的询证医学证据支持和结合临床情况。张勇等<sup>[5]</sup>指出核分裂像是判断预后的独立因素。CSCO胃肠间质瘤专家委员<sup>[4]</sup>参考美国国立卫生署(National Institutes of Health, NIH)2008-04提出的原发胃肠道间质瘤切除后的危险分级标准,将肿瘤大小,核分裂数以及有无浸润转移或术中破裂作为判定十二指肠间质瘤术后复发危险度分级的标准(表1)。这些形态学规律与生物学行为的关系有助于指导辅助治疗和评估预后。

## 4 结论

同其他胃肠道间质瘤一样,我们对十二指肠间质瘤的认识和研究正在逐步加深。手术治疗仍然作为首先的治疗手段,但由以往的单一手术治疗相比较,已经逐渐转变向由手术、术后辅助治疗及术前辅助治疗相结合的综合治疗的方



## ■创新盘点

借助多学科的合作, 有效地进行十二指肠间质瘤的诊断, 选择适当的治疗方式, 重视个体化治疗和靶向治疗, 有效的提高其治疗效果。

向, 更加注重个体化方案和针对性治疗。同时靶向药物的治疗地位越来越突出出来, 随着研究的深入, 对十二指肠间质瘤的诊断和治疗必将会有重大突破, 以期获得更好的治疗效果和更长的生存时间。

## 5 参考文献

- Buchs NC, Bucher P, Gervaz P, Ostermann S, Pugin F, Morel P. Segmental duodenectomy for gastrointestinal stromal tumor of the duodenum. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2788-2792 [PMID: 20533599 DOI: 10.3748/wjg.v16.i22.2788]
- 沈旺, 王新允, 郑海燕, 武力, 袁海洪. 胃肠道及胃肠道外间质瘤216例临床病理学特点. *中国实用外科杂志* 2011; 31: 693-695
- 李春艳, 郭世斌, 刘丽娜. 十二指肠间质瘤临床分析. *临床消化病杂志* 2010; 22: 287-288
- 李昱骥, 周建平, 李新, 孔凡民, 田雨霖, 董明. 十二指肠间质瘤39例临床分析. *中华普通外科杂志* 2013; 28: 654-657
- 张勇, 陈凛. 十二指肠间质瘤临床分析30例. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2893-2896
- 田艳涛, 赵平, 王成峰, 郝玉芝, 宋艳, 白晓枫, 许东奎, 邵永孚. 十二指肠间质瘤的临床特点及外科治疗. *中国微创外科杂志* 2005; 5: 133-135
- 陈泉宁, 彭承宏, 王建承, 韩宝三, 程东峰, 鲁正, 王小明. 十二指肠间质瘤16例临床分析. *肝胆外科杂志* 2007; 15: 108-110
- 邵成浩, 胡先贵, 刘瑞, 张怡杰, 周颖奇, 金钢, 唐岩. 十二指肠间质瘤的临床病理特点与外科治疗的研究. *中华普通外科杂志* 2006; 21: 703-705
- 汪正广, 孟翔凌, 祁义军, 李团结, 赵文娣. 十二指肠间质瘤的诊治及预后. *安徽医科大学学报* 2012; 47: 485-487
- 厉学民, 张家敏, 毛根军, 俞世安, 许龙堂, 吴荣进, 郑樟栋. 十二指肠间质瘤的诊断与外科治疗-附16例临床报告. *中国中西医结合外科杂志* 2012; 18: 164-165
- 黄恒星, 左洪, 张吉翔. 十二指肠间质瘤15例临床分析. *南昌大学学报(医学版)* 2012; 52: 58-60
- 彭海, 刘爱军, 祁振国. 十二指肠间质瘤15例临床分析. *内蒙古医学杂志* 2012; 44: 657-659
- 姜洋, 高宇飞, 孔大亮, 任辉. 伴有消化道出血的十二指肠间质瘤的临床分析. *中国普通外科杂志* 2011; 20: 1137-1139
- 李正荣, 揭志刚, 刘逸, 谢小平. 十二指肠间质瘤的临床分析. *中华普通外科杂志* 2011; 26: 8-10
- 田艳涛, 赵平, 邵永孚, 吴健雄, 王成峰, 单毅, 宋艳. 十二指肠间质瘤11例. *中国普通外科杂志* 2004; 13: 696-698
- CSCO胃间质瘤专家委员会. 中国胃间质瘤诊断治疗专家共识(2011年版). *临床肿瘤学杂志* 2011; 16: 836-844
- Miettinen M, Kopczynski J, Makhlof HR, Sarlomo-Rikala M, Gyorffy H, Burke A, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors, intramural leiomyomas, and leiomyosarcomas in the duodenum: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 167 cases. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 625-641 [PMID: 12717247 DOI: 10.1097/0000478-200305000-00006]
- Liegl B, Hornick JL, Corless CL, Fletcher CD. Monoclonal antibody DOG1.1 shows higher sensitivity than KIT in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumors, including unusual subtypes. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 437-446 [PMID: 19011564 DOI: 10.1097/PAS.0b013e318186b158]
- 胡其欣, 高青. 胃肠道间质瘤的临床特征及治疗进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2050-2057
- 顾国利, 王林石, 任立, 魏学明, 李德昌, 周晓武, 黄蓉蓉. 胃肠道间质瘤的临床病理分析和免疫组化特点. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2241-2246
- 任阿红, 刘剑羽, 周延, 刘毅. MSCT二期增强扫描对胃肠道间质瘤病变危险度的预测价值. *中国医学影像学杂志* 2011; 19: 226-231
- 郑育聪, 李健丁, 张瑞平. 胃肠道间质瘤的影像学研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 49-53
- 徐熠琳, 李小康, 刘佩芳, 曹文枫, 鲍润贤. MRI对胃肠道间质瘤诊断和侵袭危险度的评估价值. *临床放射学杂志* 2011; 30: 373-377
- 于衍会, 高善玲. 内镜超声诊断胃肠道黏膜及黏膜下隆起性病变432例. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1745-1748
- 邹传鑫, 谢明, 戴绍军, 汤绍迁. 超声内镜弹性成像在消化系黏膜下肿瘤诊断中的价值. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 484-489
- 梁建芳, 郑绘霞, 肖虹, 武丽娜, 王宏坤. 胃肠道间质瘤病理诊断新进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 58-64
- 邱伟菁, 汪明, 曹晖. DOG1基因在胃肠道间质瘤诊断中的研究进展. *外科理论与实践* 2010; 15: 692-694
- Neves LR, Oshima CT, Artigiani-Neto R, Yanagibashi G, Lourenço LG, Forones NM. Ki67 and p53 in gastrointestinal stromal tumors--GIST. *Arq Gastroenterol* 2009; 46: 116-120 [PMID: 19578612 DOI: 10.1590/S0004-28032009000200008]
- Menéndez P, Padilla D, Cubo T, Villarejo P, Gambi D, Menéndez JM, Colina F, García M, Lora D, Martín J. Biological behavior due to cell proliferation markers of gastrointestinal stromal tumors. *Hepato-gastroenterology* 2011; 58: 76-80 [PMID: 21510290]
- DeMatteo RP, Lewis JJ, Leung D, Mudan SS, Woodruff JM, Brennan MF. Two hundred gastrointestinal stromal tumors: recurrence patterns and prognostic factors for survival. *Ann Surg* 2000; 231: 51-58 [PMID: 10636102 DOI: 10.1097/0000658-200001000-00008]
- Gold JS, van der Zwan SM, Gönen M, Maki RG, Singer S, Brennan MF, Antonescu CR, De Matteo RP. Outcome of metastatic GIST in the era before tyrosine kinase inhibitors. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 134-142 [PMID: 17080234 DOI: 10.1245/s10434-006-9177-7]
- 陈凛, 李涛. 十二指肠间质瘤临床诊断与治疗. *中国实用外科杂志* 2008; 28: 945-946
- Otani Y, Furukawa T, Yoshida M, Saikawa Y, Wada N, Ueda M, Kubota T, Mukai M, Kameyama K, Sugino Y, Kumai K, Kitajima M. Operative indications for relatively small (2-5 cm) gastrointestinal stromal tumor of the stomach based on analysis of 60 operated cases. *Surgery* 2006; 139: 484-492 [PMID: 16627057 DOI: 10.1016/j.surg.2005.08.011]
- Casali PG, Jost L, Reichardt P, Schlemmer M, Blay JY. Gastrointestinal stromal tumours: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2009; 20 Suppl 4: 64-67 [PMID: 19454466 DOI: 10.1093/annonc/mdp131]
- 季加孚. 小肠间质瘤的诊断与治疗. *临床外科杂志* 2008; 16: 509-511
- Sjölund K, Andersson A, Nilsson E, Nilsson O, Ahlman H, Nilsson B. Downsizing treatment with tyrosine kinase inhibitors in patients with advanced gastrointestinal stromal tumors improved resectability. *World J Surg* 2010; 34: 2090-2097 [PMID: 20512492 DOI: 10.1007/s00268-010-0639-5]

- 37 McAuliffe JC, Hunt KK, Lazar AJ, Choi H, Qiao W, Thall P, Pollock RE, Benjamin RS, Trent JC. A randomized, phase II study of preoperative plus post-operative imatinib in GIST: evidence of rapid radiographic response and temporal induction of tumor cell apoptosis. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 910-919 [PMID: 18953611 DOI: 10.1245/s10434-008-0177-7]
- 38 Eisenberg BL, Harris J, Blanke CD, Demetri GD, Heinrich MC, Watson JC, Hoffman JP, Okuno S, Kane JM, von Mehren M. Phase II trial of neoadjuvant/adjuvant imatinib mesylate (IM) for advanced primary and metastatic/recurrent operable gastrointestinal stromal tumor (GIST): early results of RTOG 0132/ACRIN 6665. *J Surg Oncol* 2009; 99: 42-47 [PMID: 18942073 DOI: 10.1002/jso.21160]
- 39 曹晖, 汪明. 胃肠道间质瘤的规范化治疗. *中华消化外科杂志* 2011; 10: 405-408
- 40 Duffaud F, Blay JY. Gastrointestinal stromal tumors: biology and treatment. *Oncology* 2003; 65: 187-197 [PMID: 14657591 DOI: 10.1159/000074470]
- 41 Chen TW, Liu HD, Shyu RY, Yu JC, Shih ML, Chang TM, Hsieh CB. Giant malignant gastrointestinal stromal tumors: recurrence and effects of treatment with STI-571. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 260-263 [PMID: 15633227]
- 42 Blanke CD, Demetri GD, von Mehren M, Heinrich MC, Eisenberg B, Fletcher JA, Corless CL, Fletcher CD, Roberts PJ, Heinz D, Wehre E, Nikolova Z, Joensuu H. Long-term results from a randomized phase II trial of standard- versus higher-dose imatinib mesylate for patients with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors expressing KIT. *J Clin Oncol* 2008; 26: 620-625 [PMID: 18235121 DOI: 10.1200/JCO.2007.13.4403]
- 43 Gajiwala KS, Wu JC, Christensen J, Deshmukh GD, Diehl W, DiNitto JP, English JM, Greig MJ, He YA, Jacques SL, Lunney EA, McTigue M, Molina D, Quenzer T, Wells PA, Yu X, Zhang Y, Zou A, Emmett MR, Marshall AG, Zhang HM, Demetri GD. KIT kinase mutants show unique mechanisms of drug resistance to imatinib and sunitinib in gastrointestinal stromal tumor patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 1542-1547 [PMID: 19164557 DOI: 10.1073/pnas.0812413106]
- 44 Gastrointestinal Stromal Tumor Meta-Analysis Group (MetaGIST). Comparison of two doses of imatinib for the treatment of unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors: a meta-analysis of 1,640 patients. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1247-1253 [PMID: 20124181 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.2099]
- 45 Dematteo RP, Ballman KV, Antonescu CR, Maki RG, Pisters PW, Demetri GD, Blackstein ME, Blanke CD, von Mehren M, Brennan MF, Patel S, McCarter MD, Polikoff JA, Tan BR, Owzar K. Adjuvant imatinib mesylate after resection of localised, primary gastrointestinal stromal tumour: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2009; 373: 1097-1104 [PMID: 19303137 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60500-6]
- 46 Li J, Gong JF, Wu AW, Shen L. Post-operative imatinib in patients with intermediate or high risk gastrointestinal stromal tumor. *Eur J Surg Oncol* 2011; 37: 319-324 [PMID: 21277730 DOI: 10.1016/j.ejso.2011.01.005]
- 47 DeMatteo RP, Maki RG, Singer S, Gonen M, Brennan MF, Antonescu CR. Results of tyrosine kinase inhibitor therapy followed by surgical resection for metastatic gastrointestinal stromal tumor. *Ann Surg* 2007; 245: 347-352 [PMID: 17435539 DOI: 10.1097/01.sla.0000236630.93587.59]
- 48 Emory TS, Sobin LH, Lukes L, Lee DH, O'Leary TJ. Prognosis of gastrointestinal smooth-muscle (stromal) tumors: dependence on anatomic site. *Am J Surg Pathol* 1999; 23: 82-87 [PMID: 9888707 DOI: 10.1097/00000478-199901000-00009]
- 49 Jones RL, McCall J, Adam A, O'Donnell D, Ashley S, Al-Muderis O, Thway K, Fisher C, Judson IR. Radiofrequency ablation is a feasible therapeutic option in the multi modality management of sarcoma. *Eur J Surg Oncol* 2010; 36: 477-482 [PMID: 20060679 DOI: 10.1016/j.ejso.2009.12.005]
- 50 张宗明, 李刚, 高原, 邢海林, 朱建平, 宿砚明, 钟华, 郭金星, 杨俊雄. 原发性十二指肠肿瘤诊治8例. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1330-1332
- 51 Pawlik TM, Vauthey JN, Abdalla EK, Pollock RE, Ellis LM, Curley SA. Results of a single-center experience with resection and ablation for sarcoma metastatic to the liver. *Arch Surg* 2006; 141: 537-543; discussion 543-544 [PMID: 16785353 DOI: 10.1001/archsurg.141.6.537]
- 52 廖世兵, 秦叔逵. 胃肠道间质瘤的现状和未来. *肿瘤研究与临床* 2006; 18: 529-533

## 同行评价

本文综述了十二指肠间质瘤的临床病理特点及常用的诊断方法, 特别介绍了治疗方法的选择, 具有很好的临床指导意义, 论述思路清晰, 可读性强。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 维生素D受体在结直肠肿瘤中的研究进展

王科伟, 董明

## ■背景资料

维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)属于类固醇激素,能介导1,25-二羟维生素D<sub>3</sub>[1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]调节多种正常组织或肿瘤组织细胞的生长和分化。VDR基因存在多态性,与结直肠癌的发生发展密切相关。

王科伟, 董明, 中国医科大学附属第一医院胃肠外科 辽宁省沈阳市 110001

王科伟, 讲师, 主要从事结直肠肿瘤方面的研究。

作者贡献分布: 查阅资料与综述撰写由王科伟完成; 由董明负责审核。

通讯作者: 董明, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院胃肠外科。

mingdong@mail.cmu.edu.cn

电话: 024-83282882

收稿日期: 2013-08-14 修回日期: 2013-09-10

接受日期: 2013-09-13 在线出版日期: 2013-11-28

## Vitamin D receptor and colorectal cancer

Ke-Wei Wang, Ming Dong

Ke-Wei Wang, Ming Dong, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Ming Dong, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. mingdong@mail.cmu.edu.cn

Received: 2013-08-14 Revised: 2013-09-10

Accepted: 2013-09-13 Published online: 2013-11-28

## Abstract

Colorectal cancer (CRC) is the third cause of cancer-related morbidity and mortality in America following lung cancer and stomach cancer. In China and other Asian countries, increasingly Westernized diets have led to a high incidence of CRC. The vitamin D receptor (VDR) can mediate 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> to regulate cell growth and differentiation in a variety of normal tissues or tumor tissues. VDR gene polymorphisms are closely related to the occurrence and development of CRC. This article summarizes the recent progress in understanding the relationship between VDR and CRC in terms of the structure and function of VDR, mechanisms of CRC inhibition, correlation between VDR polymorphisms and CRC, and the development of analogs of VDR ligands.

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

**Key Words:** Vitamin D receptor; 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>; Colorectal cancer

Wang KW, Dong M. Vitamin D receptor and colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3688-3694  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3688.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3688>

## 摘要

结直肠癌目前是世界排名第3位的恶性肿瘤,仅次于肺癌和胃癌。随着饮食的西化,中国等亚洲国家的结直肠癌发病率也逐渐升高。维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)属于类固醇激素,能介导1,25-二羟维生素D<sub>3</sub>[1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]调节多种正常组织或肿瘤组织细胞的生长和分化。VDR基因存在多态性,与结直肠癌的发生发展密切相关。本文总结了近年来在结直肠癌方面对VDR的研究进展,主要包括VDR的结构和功能、抑制结直肠癌的作用机制、VDR基因多态性与结直肠癌发生的相关性及VDR配体类似物在药物开发研究领域的最新进展。

© 2013版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 维生素D受体; 1,25-二羟维生素D<sub>3</sub>; 结直肠癌

**核心提示:** 维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)可以介导1,25-二羟维生素D<sub>3</sub>[1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]实现抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞分化的作用。如果我们可以研制出选择性激活VDR的抗癌特性而不引起高钙血症的维生素D类似物,将为结直肠癌的治疗提供巨大的帮助。

王科伟, 董明. 维生素D受体在结直肠肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3688-3694 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3688.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3688>

## 0 引言

维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)为亲

## ■同行评议者

杜祥, 教授, 主任医师, 上海复旦大学附属肿瘤医院; 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



核蛋白, 是介导1,25-二羟维生素D<sub>3</sub>[1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]发挥生物效应的核内生物大分子, 属于类固醇激素/甲状腺激素受体超家族成员. 维生素D的许多生物学功能都是通过VDR介导调节靶基因转录来实现的. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>激素信号分子在靶细胞与VDR结合形成激素-受体复合物, 该复合物作用于靶基因上的特定DNA序列, 对结构基因的表达产生调节作用. VDR在本质上是一种配体依赖的核转录因子, 他在维持机体钙-磷代谢, 调节细胞增殖、分化等方面起重要作用. 本文针对近年来VDR在结直肠癌肿瘤的研究进展做一综述.

## 1 VDR的结构和功能

1969年Laussler分离出一种分子质量为5 kU, 由427个氨基酸残基构成, 能与维生素D特异结合的蛋白质, 并把他命名为维生素D受体. 人类VDR基因位于12号染色体q13上, 全长约75 kb, 共由11个外显子和11个内含子组成<sup>[1]</sup>. 其功能上主要分为5个结构域: A/B区、DNA结合区(DNA binding domain, DBD)、铰链区、配体结合区(ligand binding domain, LBD)和AF-2区. A/B区为N端短区, 为不依赖配体的细胞组织特异性的转录激活自调节功能区(AF-1), 但其自主调节功能很弱. DBD区为DNA结合结构域, 高度保守, 人、大鼠与鸡的同源性高达98.5%. 他由VDR外显子II、III编码, 此域可与靶基因结合, 主要识别特定的DNA序列. DBD由8个保守的半胱氨酸组成2个锌指结构, 每个锌指形成一个A2螺旋, 两个A2螺旋相互垂直构成DBD的核心, 从而与类视黄醇x受体(RXR)形成异二聚体. 铰链区具有很高的免疫原性, 但其确切结构和功能尚未阐明, 可能与核定位有关. LBD区为配体结合区, 由VDR基因外显子V-IX编码, 是VDR结合1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>的主要部位; 其次, 该区还介导与RXR形成异二聚体, 增强其与VDRE(维生素D反应元件)的结合能力. 在该区近C端处存在一个转录激活/抑制功能区(AF-2), 与AF-1协同作用, 可促进VDR与协同激活因子/协同抑制因子相结合, 从而使VDR发挥调控靶基因的转录活性<sup>[2]</sup>.

## 2 VDR的抗肿瘤作用机制

较低的1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>水平和钙摄取量是导致多种癌症发生的重要因素. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>能够降低

15种癌症的死亡率, 如结肠癌、直肠癌、乳腺癌、胃癌、卵巢癌等<sup>[3,4]</sup>. 说明维生素D具有抗肿瘤作用<sup>[5,6]</sup>. VDR的表达会随着肿瘤分级的增加而增加, 到晚期后开始下降, 而患者的预后会随着维生素D代谢酶的增加而下降<sup>[7]</sup>. VDR介导1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞分化的生物学效应通过以下方面发挥作用: (1)1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>可通过上调胰岛素生长因子结合蛋白(insulin-like growth factors binding protein, IGFBP)的表达, 降低胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)的活性, 阻断IGF-1有丝分裂作用, 从而诱导肿瘤细胞凋亡. 甚至可以直接影响凋亡调控因子例如Bcl-2和Bax促使肿瘤细胞凋亡<sup>[8,9]</sup>; (2)1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>通过上调周期素依赖性激酶抑制因子(cyclin dependent kinase inhibitor, CDKI)P21和P27, 抑制cyclin-CDK复合物的活性, 使视网膜母细胞瘤(Rb)蛋白去磷酸化, 并使E2F转录活性降低, 致使肿瘤细胞停滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期, 阻止其进入S期, 从而调节肿瘤细胞的增殖和分化<sup>[10,11]</sup>; (3)c-Myc是细胞周期重要的调节因子. Rohan等<sup>[12]</sup>发现1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>能够促进c-Myc蛋白58位酪氨酸磷酸化, 加速c-Myc蛋白的泛素化降解, 从而抑制癌细胞增殖, 表现在加入1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>后, 处于G<sub>1</sub>期的细胞比例明显上升. 同样有研究显示在肿瘤细胞中1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>可以逐渐降低Myc RNA水平<sup>[13]</sup>. 另外, Salehi-Tabar等<sup>[14]</sup>研究发现在敲除VDR基因的小鼠多种组织中呈现出高水平的c-Myc. 进一步的机制研究证实1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>可以通过VDR的介导, 增加MAX二聚化蛋白1(MAX dimerization protein 1, MXD1)的表达, 达到抑制c-Myc表达水平的作用. 因此, 我们认为VDR对c-Myc表达和功能的调控在抗肿瘤方面提供了一个重要的分子基础.

VDR对结直肠癌信号通路的调控作用: 大量数据表明维生素D-VDR通路与Wnt/β-catenin/TCF通路相交汇. 而后者在结肠癌中被很早的激活. β-catenin已被定位为维生素D及其类似物在结肠癌的预防过程中的一个关键媒介. 维生素D可以直接与VDR结合从而抑制β-catenin信号<sup>[15]</sup>. 对β-catenin-TCF通路的抑制作用可以通过VDR和TCF/LEF相互竞争与β-catenin的结合来实现. 共激因子P300可以介导β-catenin的乙酰化, 乙酰化的β-catenin的C-末端可以直接与VDREs作用, 从而通过促进细胞分化而达到抑制细胞增殖<sup>[16]</sup>. 核内β-catenin的水平决定了Wnt/β-catenin

## ■研发前沿

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>通过上调周期素依赖性激酶抑制因子P21和P27, 抑制cyclin-CDK复合物的活性, 使视网膜母细胞瘤(Rb)蛋白去磷酸化, 并使E2F转录活性降低, 致使肿瘤细胞停滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期, 阻止其进入S期, 从而调节肿瘤细胞的增殖和分化.

### ■相关报道

由于VD在体内起作用必须通过VDR, 有关VDR多态性与结直肠癌的关系开始受到关注, 目前研究发现患者携带的基因型不同则患肿瘤的风险及其预后均有所不同。

信号的强度, 进而影响了各种正常细胞和癌细胞的增殖速率和分型。1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>及其类似物可以通过以下两种机制在人结肠癌细胞株中对Wnt/β-catenin通路产生干扰: (1)他们使VDR与β-catenin结合增加, 阻碍了β-catenin/TCF复合物的形成, 诱导Wnt抑制因子DKK1的表达, 促进β-catenin由核内转向浆膜的重新分布, 使得β-catenin与E-钙黏着蛋白结合, 从而降低核内β-catenin含量, 进而达到抑制Wnt/β-catenin信号通路的作用<sup>[17,18]</sup>; (2)1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>可以降低巨噬细胞源性白介素-1β的合成与分泌, 后者在结肠癌细胞内可以通过阻碍β-catenin被糖原合成激酶3β(glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β)的磷酸化而激活Wnt/β-catenin通路<sup>[19]</sup>。实验表明: 在VDR缺失的Apcmin/+的小鼠模型中, 核内β-catenin水平升高, Wnt/β-catenin通路靶基因的表达也升高, 在这些效应的作用下肿瘤的大小也随之增加。用shRNA下调VDR的表达也可以得出与上述相似的结果。另外, 其研究还发现VDR的缺失并没有改变肿瘤的数量而是增加了肿瘤的大小, 说明VDR并没有阻止由突变而导致的Wnt/β-catenin早期激活, 而是限制其信号的强度来实现抗肿瘤的作用<sup>[20]</sup>。Zheng等<sup>[21]</sup>的研究结论也与上述结论一致。

大量证据显示VDR可以与磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)结合, 通过诱导分化的方式来抑制细胞增殖<sup>[22]</sup>, PI3K/AKT通路可以被1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>激活。很多研究表明在VDR与PI3K/AKT或RAS/MAPK通路间存在潜在的联系<sup>[23,24]</sup>。在这些通路中, PIK3CA或KRAS突变在结直肠癌的发展中起重要的作用。PIK3CA突变激活AKT通路下游基因, 促使结直肠癌细胞的生长。Kure等<sup>[25]</sup>发现维生素D受体的表达在结直肠癌中与PIK3CA或KRAS突变存在联系, 在结直肠癌中VDR的表达可能会影响PI3K/AKT通路的调控, 但具体机制尚不清楚, 有待进一步的研究。

还有一些学者认为VDR的表达可以作为结肠癌预后良好的标志物, 因为他们发现VDR的表达与肿瘤的高分化及无淋巴转移相关。但由于纳入分析的病例数较少, 其结论有待进一步验证<sup>[26]</sup>。VDR表达的早期肿瘤病人可以通过1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>及其类似物降低Wnt/β-catenin信号通路的致癌作用而起到治疗作用。然而, 晚期肿瘤VDR表达的缺失不仅会让这种治疗变得无效,

还会使核内β-catenin水平升高和Wnt/β-catenin信号增强。在许多人类肿瘤细胞中可产生对维生素D抗肿瘤的抵抗作用, 这可能是由于VDR介导的抗增殖基因活化受到抑制。在结肠肿瘤中, Snail就可以起到抑制VDR表达的作用<sup>[27]</sup>。在60%-70%的结肠肿瘤中可以发现Snail的表达, 并且与VDR的表达呈反比<sup>[28,29]</sup>。被激活的VDR可以促进上皮细胞分化、增加E-cadherin和其他细胞内黏附基因的表达<sup>[30,31]</sup>, 因此Snail对VDR的抑制作用可以促使上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的发生。最近有研究发现Snail家族成员, Snail2可以经由β-catenin-TCF通路下调VDR的表达<sup>[32]</sup>, 因此, 进行对VDR表达有抑制作用基因的研究, 有助于我们进一步开发VDR介导维生素D的抗肿瘤作用。

### 3 VDR基因多态性与结直肠癌

结直肠癌目前是世界排名第3位的恶性肿瘤, 仅次于肺癌和胃癌。在欧洲, 每年有37万例被确诊患有结直肠癌, 20万例因该病死亡。国内外对其病因进行了大量研究。单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)广泛存在于基因组中, 单个碱基的变异可引起编码氨基酸的改变, 或改变mRNA的剪切方式, 从而影响所表达的蛋白质功能<sup>[33]</sup>。近年来发现, VD在乳腺癌、结直肠癌细胞中可以诱导凋亡。由于VD在体内起作用必须通过VDR, 有关VDR多态性与结直肠癌的关系开始受到关注。应用限制性片段长度多态性多聚酶链反应法(restriction fragment length polymorphism-polymerase chain reaction, RFLP-PCR)分析发现, VDR基因具有明显的多态性。根据特定的限制性内切酶酶切位点的存在与否将其分型<sup>[34]</sup>: 含有Bsm I、Apa I、Taq I、Fok I、Cdx-2酶切位点者分别为b, a, t, f或c型, 不含相应酶切位点的为B, A, T, F或C型。

Cdx-2(rs11568820)和Fok I(rs2228570)位于基因的5'端; Bsm I(rs1544410)、Apa I(rs7975232)和Taq I(rs731236)位于基因3'非翻译区(untranslated region, UTR)。携带的基因型不同则患肿瘤的风险及其预后均有所不同<sup>[35]</sup>。

目前许多学者正在开展VDR基因多态性与结直肠癌发生率的研究。Mahmoudi等<sup>[36]</sup>研究伊朗人群160例结直肠癌患者和180例对照的VDR Apa I基因型, 发现相对于AA型, aa型患结直肠癌的风险明显增高(OR = 2.25, 95%CI =

1.18-4.28). Gündüz等<sup>[37]</sup>在高加索人群中, 研究43例结肠癌患者和42例对照的VDR *Bsm I* 和 *Taq I* 基因型, 发现等位基因B和T以及Bb/TT基因型在对照组中的出现几率明显高于结肠癌组(OR = 0.312, 95%CI: 0.100-0.973,  $P = 0.039$ ; OR = 0.254, 95%CI: 0.064-1.000,  $P = 0.039$ ; OR = 0.122, 95%CI: 0.032-0.460,  $P = 0.001$ ), 说明VDR *Bsm I* 和 *Taq I* 多态性可能是结肠癌发生的风险因素. Jenab等<sup>[38]</sup>在欧洲人群中, 研究1248例结直肠癌患者和1248例对照的VDR *Bsm I* 和 *Fok I* 基因型, 发现相对于野生bb基因型, 携带BB基因型者患结直肠癌的风险明显降低(RR = 0.76, 95%CI: 0.59-0.98), 而VDR *Fok I* 与结直肠癌的发生风险无关. 在国内的研究中也得出与之一致的结果, Li等<sup>[39]</sup>在中国人群中, 研究200例结直肠癌患者和200例对照的*Bsm I* 和 *Fok I* 基因型, 发现相对于bb基因型, 携带BB基因型者患结直肠癌的风险明显降低(OR = 0.015, 95%CI: 0.007-0.032), 而VDR *Fok I*多态性与结直肠癌的发生无关. Yaylim-Eraltan等<sup>[40]</sup>研究26例结直肠癌病人与52例对照的VDR *Taq I* 或 *Fok I* 基因型, 发现TTFf或TtFf在结直肠癌中出现几率明显低于其他基因型(OR = 0.112, 95%CI: 0.030-0.419), 说明VDR TtFf或TTFf基因型可能降低结直肠癌的发生率.

但也有研究认为, VDR基因的多态性与结直肠癌的发生发展无关. Bentley等<sup>[41]</sup>在新西兰人群中, 研究200例结直肠癌患者和200例对照的VDR *Fok I*、*Taq I* 和 *Cdx-2* 基因型, 发现他们均与结直肠癌的发生风险无关. Mahmoudi等<sup>[42]</sup>研究452例结直肠癌患者和452例对照的VDR *Fok I* 和 *Bsm I* 基因型, 发现VDR *Fok I* 和 *Bsm I* 基因型与结直肠癌发病风险无关. Hughes等<sup>[43]</sup>在捷克人群中, 对754例结直肠癌患者和627例对照的VDR *Bsm I*、*Apa I*、*Taq I* 基因型进行研究, 发现上述2种基因多态性与结直肠癌的发生风险上无明显相关. Slattery等<sup>[44]</sup>研究2365例结直肠癌患者和2969例对照的VDR *Cdx-2* 基因型, 发现*Cdx-2*多态性与结直肠癌无明显相关. 这种结果的差异可能是由于不同人种或不同群体间的差异所致. 最近, Bai等<sup>[35]</sup>对自1990-01/2010-08发表的23篇研究报告进行Meta分析, 纳入分析的有*Bsm I*、*Apa I*、*Taq I*、*Fok I*、*Cdx-2* 5种VDR基因多态性, 结果显示: 只有*Bsm I* 基因型与结直肠癌的发病率有关.

#### 4 维生素D类似物的应用前景

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>在维持免疫功能、预防糖尿病和癌症等疾病方面有潜在的作用<sup>[45]</sup>. 维生素D缺乏与人类许多疾病密切相关<sup>[46]</sup>, 但是1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>的增加往往伴随血钙水平过高, 因此研究不引起高血钙的VDR激动剂(VDR agonists, VDRAs)越来越受到关注. 基础研究表明, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>及其类似物具有抗增殖的作用, 并且能够活化凋亡途径, 抑制血管形成. 因此, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>其类似物具有潜在的抑制肿瘤作用. 因此, 我们应进行VDR介导1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>在肿瘤信号通路作用机制的研究, 以研制出具有特异性抗肿瘤或者增强传统化疗效果的维生素D类似物. 已有研究表明<sup>[7,47]</sup>, 维生素D类似物可以经由VDR与β-catenin共激活作用选择性激活VDR的抗癌特性, 而不引起高钙血症等不良反应. EB1089就是一种维生素D类似物, 他比1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>更具有抑制肿瘤细胞生长、促进细胞分化, 不引起高钙血症的潜能<sup>[48,49]</sup>. 研究还发现维生素D受体激动剂和奥沙利铂等一线化疗药物合用可以增强对肿瘤增殖的抑制作用<sup>[50]</sup>. 这些结果有待进一步的临床试验验证.

#### 5 结论

VDR可以介导1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>实现抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞分化的作用. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>通过上调周期素依赖性激酶抑制因子(CDKI)P21和P27, 抑制cyclin-CDK复合物的活性, 致使肿瘤细胞停滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期, 阻止其进入S期, 从而调节肿瘤细胞的增殖和分化. 另外, 他也参与结直肠癌信号通路的传导, VDR对β-catenin-TCF通路的抑制作用可以通过VDR和TCF/LEF相互竞争与β-catenin的结合来实现. 因此, 如果我们可以研制出选择性激活VDR的抗癌特性而不引起高钙血症的维生素D类似物, 将为结直肠癌的治疗提供巨大的帮助.

#### 6 参考文献

- 1 Zmuda JM, Cauley JA, Ferrell RE. Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 203-217 [PMID: 11218372 DOI: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a018033]
- 2 Ylikomi T, Laaksi I, Lou YR, Martikainen P, Miettinen S, Pennanen P, Purmonen S, Syväälä H, Vienonen A, Tuohimaa P. Antiproliferative action of vitamin D. *Vitam Horm* 2002; 64: 357-406 [PMID: 11898396 DOI: 10.1016/S0083-6729(02)64010-5]
- 3 Peterlik M, Grant WB, Cross HS. Calcium, vitamin

#### ■创新盘点

本文全面综述了VDR的结构和功能、抑制结直肠癌的作用机制、VDR基因多态性与结直肠癌发生的相关性及VDR配体类似物在药物开发研究领域的进展.



## ■应用要点

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>及其类似物具有抗增殖的作用,并且能够活化凋亡途径,抑制血管形成。因此,1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>其类似物具有潜在抑制肿瘤作用。

- 4 Ng K, Meyerhardt JA, Wu K, Feskanich D, Hollis BW, Giovannucci EL, Fuchs CS. Circulating 25-hydroxyvitamin d levels and survival in patients with colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2984-2991 [PMID: 18565885 DOI: 10.1200/JCO.2007.15.1027]
- 5 Touvier M, Chan DS, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Riboli E, Hercberg S, Norat T. Meta-analyses of vitamin D intake, 25-hydroxyvitamin D status, vitamin D receptor polymorphisms, and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20: 1003-1016 [PMID: 21378269 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-1141]
- 6 Campbell FC, Xu H, El-Tanani M, Crowe P, Bingham V. The yin and yang of vitamin D receptor (VDR) signaling in neoplastic progression: operational networks and tissue-specific growth control. *Biochem Pharmacol* 2010; 79: 1-9 [PMID: 19737544 DOI: 10.1016/j.bcp.2009.09.005]
- 7 Beildeck ME, Byers SW. Vitamin D analogues in colon cancer prevention and care. *Curr Colorectal Cancer Rep* 2009; 5: 185-196 [DOI: 10.1007/s11888-009-0026-5]
- 8 Thorne J, Campbell MJ. The vitamin D receptor in cancer. *Proc Nutr Soc* 2008; 67: 115-127 [PMID: 18412986 DOI: 10.1017/S0029665108006964]
- 9 Mullin GE, Dobs A. Vitamin d and its role in cancer and immunity: a prescription for sunlight. *Nutr Clin Pract* 2007; 22: 305-322 [PMID: 17507731 DOI: 10.1177/0115426507022003305]
- 10 Verlinden L, Verstuyf A, Van Camp M, Marcelis S, Sabbe K, Zhao XY, De Clercq P, Vandewalle M, Bouillon R. Two novel 14-Epi-analogues of 1,25-dihydroxyvitamin D3 inhibit the growth of human breast cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Res* 2000; 60: 2673-2679 [PMID: 10825140]
- 11 Kanemaru M, Maehara N, Chijiwa K. Antiproliferative Effect of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 Involves Upregulation of Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor p21 in Human Pancreatic Cancer Cells. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 1199-1205 [PMID: 23803383 DOI: 10.5754/hge11073]
- 12 Rohan JN, Weigel NL. 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 reduces c-Myc expression, inhibiting proliferation and causing G1 accumulation in C4-2 prostate cancer cells. *Endocrinology* 2009; 150: 2046-2054 [PMID: 19164469 DOI: 10.1210/en.2008-1395]
- 13 Toropainen S, Väisänen S, Heikkinen S, Carlberg C. The down-regulation of the human MYC gene by the nuclear hormone 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 is associated with cycling of corepressors and histone deacetylases. *J Mol Biol* 2010; 400: 284-294 [PMID: 20493879 DOI: 10.1016/j.jmb.2010.05.031]
- 14 Salehi-Tabar R, Nguyen-Yamamoto L, Tavera-Mendoza LE, Quail T, Dimitrov V, An BS, Glass L, Goltzman D, White JH. Vitamin D receptor as a master regulator of the c-MYC/MXD1 network. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 18827-18832 [PMID: 23112173 DOI: 10.1073/pnas.1210037109]
- 15 Beildeck ME, Gelmann EP, Byers SW. Cross-regulation of signaling pathways: an example of nuclear hormone receptors and the canonical Wnt pathway. *Exp Cell Res* 2010; 316: 1763-1772 [PMID: 20138864 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.02.001]
- 16 Shah S, Islam MN, Dakshanamurthy S, Rizvi I, Rao M, Herrell R, Zinser G, Valrance M, Aranda A, Moras D, Norman A, Welsh J, Byers SW. The molecular basis of vitamin D receptor and beta-catenin crossregulation. *Mol Cell* 2006; 21: 799-809 [PMID: 16543149 DOI: 10.1016/j.molcel.2006.01.037]
- 17 Pálmer HG, González-Sancho JM, Espada J, Berciano MT, Puig I, Baulida J, Quintanilla M, Cano A, de Herreros AG, Lafarga M, Muñoz A. Vitamin D(3) promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of beta-catenin signaling. *J Cell Biol* 2001; 154: 369-387 [PMID: 11470825 DOI: 10.1083/jcb.200102028]
- 18 Aguilera O, Peña C, García JM, Larriba MJ, Ordóñez-Morán P, Navarro D, Barbáchano A, López de Silanes I, Ballestar E, Fraga MF, Esteller M, Gamallo C, Bonilla F, González-Sancho JM, Muñoz A. The Wnt antagonist DICKKOPF-1 gene is induced by 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 associated to the differentiation of human colon cancer cells. *Carcinogenesis* 2007; 28: 1877-1884 [PMID: 17449905]
- 19 Kaler P, Augenlicht L, Klampfer L. Macrophage-derived IL-1 $\beta$  stimulates Wnt signaling and growth of colon cancer cells: a crosstalk interrupted by vitamin D3. *Oncogene* 2009; 28: 3892-3902 [PMID: 19701245 DOI: 10.1038/onc.2009.247]
- 20 Larriba MJ, Ordóñez-Morán P, Chicote I, Martín-Fernández G, Puig I, Muñoz A, Pálmer HG. Vitamin D receptor deficiency enhances Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and tumor burden in colon cancer. *PLoS One* 2011; 6: e23524 [PMID: 21858154 DOI: 10.1371/journal.pone.0023524]
- 21 Zheng W, Wong KE, Zhang Z, Dougherty U, Mustafa R, Kong J, Deb DK, Zheng H, Bissonnette M, Li YC. Inactivation of the vitamin D receptor in APC(min/+) mice reveals a critical role for the vitamin D receptor in intestinal tumor growth. *Int J Cancer* 2012; 130: 10-19 [PMID: 21328347 DOI: 10.1002/ijc.25992]
- 22 Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 684-700 [PMID: 17721433 DOI: 10.1038/nrc2196]
- 23 Zhang Y, Zhang J, Studzinski GP. AKT pathway is activated by 1, 25-dihydroxyvitamin D3 and participates in its anti-apoptotic effect and cell cycle control in differentiating HL60 cells. *Cell Cycle* 2006; 5: 447-451 [PMID: 16479173 DOI: 10.4161/cc.5.4.2467]
- 24 Qi X, Tang J, Pramanik R, Schultz RM, Shirasawa S, Sasazuki T, Han J, Chen G. p38 MAPK activation selectively induces cell death in K-ras-mutated human colon cancer cells through regulation of vitamin D receptor. *J Biol Chem* 2004; 279: 22138-22144 [PMID: 15037631 DOI: 10.1074/jbc.M313964200]
- 25 Kure S, Noshio K, Baba Y, Irahara N, Shima K, Ng K, Meyerhardt JA, Giovannucci EL, Fuchs CS, Ogino S. Vitamin D receptor expression is associated with PIK3CA and KRAS mutations in colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 2765-2772 [PMID: 19789368 DOI: 10.1158/1055-9965]
- 26 Evans SR, Nolla J, Hanfelt J, Shabahang M, Nauta RJ, Shchepotin IB. Vitamin D receptor expression as a predictive marker of biological behavior in human colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 1591-1595 [PMID: 9676831]
- 27 Pálmer HG, Larriba MJ, García JM, Ordóñez-Morán

- P, Peña C, Peiró S, Puig I, Rodríguez R, de la Fuente R, Bernad A, Pollán M, Bonilla F, Gamallo C, de Herreros AG, Muñoz A. The transcription factor SNAIL represses vitamin D receptor expression and responsiveness in human colon cancer. *Nat Med* 2004; 10: 917-919 [PMID: 15322538 DOI: 10.1038/nm1095]
- 28 Peña C, García JM, Silva J, García V, Rodríguez R, Alonso I, Millán I, Salas C, de Herreros AG, Muñoz A, Bonilla F. E-cadherin and vitamin D receptor regulation by SNAIL and ZEB1 in colon cancer: clinicopathological correlations. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 3361-3370 [PMID: 16203744 DOI: 10.1093/hmg/ddi366]
  - 29 Larriba MJ, Bonilla F, Muñoz A. The transcription factors Snail1 and Snail2 repress vitamin D receptor during colon cancer progression. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121: 106-109 [PMID: 20138990 DOI: 10.1016/j.jsbmb.2010.01.014]
  - 30 Palmer HG, Sánchez-Carbayo M, Ordóñez-Morán P, Larriba MJ, Córdón-Cardó C, Muñoz A. Genetic signatures of differentiation induced by 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in human colon cancer cells. *Cancer Res* 2003; 63: 7799-7806 [PMID: 14633706]
  - 31 Ordóñez-Morán P, Larriba MJ, Palmer HG, Valero RA, Barbáchano A, Duñach M, de Herreros AG, Villalobos C, Berciano MT, Lafarga M, Muñoz A. RhoA-ROCK and p38MAPK-MSK1 mediate vitamin D effects on gene expression, phenotype, and Wnt pathway in colon cancer cells. *J Cell Biol* 2008; 183: 697-710 [PMID: 19015318 DOI: 10.1083/jcb.200803020]
  - 32 Larriba MJ, Martín-Villar E, García JM, Pereira F, Peña C, de Herreros AG, Bonilla F, Muñoz A. Snail2 cooperates with Snail1 in the repression of vitamin D receptor in colon cancer. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1459-1468 [PMID: 19502595 DOI: 10.1093/carcin/bgp140]
  - 33 Eisfeld AK, Marcucci G, Liyanarachchi S, Döhner K, Schwind S, Maharry K, Leffell B, Döhner H, Radmacher MD, Bloomfield CD, Tanner SM, de la Chapelle A. Heritable polymorphism predisposes to high BAALC expression in acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 6668-6673 [PMID: 22493267 DOI: 10.1073/pnas.1203756109]
  - 34 Brown AJ, Dusso A, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol* 1999; 277: F157-F175 [PMID: 10444570]
  - 35 Bai YH, Lu H, Hong D, Lin CC, Yu Z, Chen BC. Vitamin D receptor gene polymorphisms and colorectal cancer risk: a systematic meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1672-1679 [PMID: 22529698 DOI: 10.3748/wjg.v18.i14.1672]
  - 36 Mahmoudi T, Mohebbi SR, Pourhoseingholi MA, Fatemi SR, Zali MR. Vitamin D receptor gene ApaI polymorphism is associated with susceptibility to colorectal cancer. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 2008-2013 [PMID: 19795209 DOI: 10.1007/s10620-009-0989-8]
  - 37 Gündüz M, Cacına C, Toptaş B, Yaylım-Eraltan İ, Tekand Y, İsbir T. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with colon cancer. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012; 16: 1058-1061 [PMID: 22852885 DOI: 10.1089/gtmb.2012.0044]
  - 38 Jenab M, McKay J, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJ, Ferrari P, Slimani N, Jansen EH, Pischon T, Rinaldi S, Tjønneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Engel P, Kaaks R, Linseisen J, Boeing H, Fisher E, Tricho-
  - poulou A, Dilis V, Oustoglou E, Berrino F, Vineis P, Mattiello A, Masala G, Tumino R, Vrieling A, van Gils CH, Peeters PH, Brustad M, Lund E, Chirlaque MD, Barricarte A, Suárez LR, Molina E, Dorronsoro M, Sala N, Hallmans G, Palmqvist R, Roddam A, Key TJ, Khaw KT, Bingham S, Boffetta P, Autier P, Byrnes G, Norat T, Riboli E. Vitamin D receptor and calcium sensing receptor polymorphisms and the risk of colorectal cancer in European populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 2485-2491 [PMID: 19706842 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0319]
  - 39 Li C, Li Y, Gao LB, Wang YY, Zhou B, Lv ML, Lu HM, Zhang L. Vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer in a Chinese population. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 634-639 [PMID: 18618252 DOI: 10.1007/s10620-008-0375-y]
  - 40 Yaylım-Eraltan I, Arzu Ergen H, Arikian S, Okay E, Öztürk O, Bayrak S, İsbir T. Investigation of the VDR gene polymorphisms association with susceptibility to colorectal cancer. *Cell Biochem Funct* 2007; 25: 731-737 [PMID: 17243190 DOI: 10.1002/cbf.1386]
  - 41 Bentley RW, Keown DA, Gearry RB, Cameron VA, Keenan J, Roberts RL, Day AS. Vitamin D receptor polymorphisms in colorectal cancer in New Zealand: an association study. *N Z Med J* 2012; 125: 47-51 [PMID: 22729058]
  - 42 Mahmoudi T, Karimi K, Mohebbi SR, Fatemi SR, Zali MR. Start codon FokI and intron 8 BsmI variants in the vitamin D receptor gene and susceptibility to colorectal cancer. *Mol Biol Rep* 2011; 38: 4765-4770 [PMID: 21132374 DOI: 10.1007/s11033-010-0613-1]
  - 43 Hughes DJ, Hlavatá I, Soucek P, Pardini B, Naccarati A, Vodickova L, Jenab M, Vodicka P. Variation in the vitamin D receptor gene is not associated with risk of colorectal cancer in the Czech Republic. *J Gastrointest Cancer* 2011; 42: 149-154 [PMID: 20585998 DOI: 10.1007/s12029-010-9168-6]
  - 44 Slattery ML, Herrick J, Wolff RK, Caan BJ, Potter JD, Sweeney C. CDX2 VDR polymorphism and colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 2752-2755 [PMID: 18086783 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-2611]
  - 45 Stubbins RE, Hakeem A, Núñez NP. Using components of the vitamin D pathway to prevent and treat colon cancer. *Nutr Rev* 2012; 70: 721-729 [PMID: 23206285 DOI: 10.1111/j.1753-4887.2012.00522.x]
  - 46 Norman AW, Bouillon R. Vitamin D nutritional policy needs a vision for the future. *Exp Biol Med* (Maywood) 2010; 235: 1034-1045 [PMID: 20667908 DOI: 10.1258/ebm.2010.010014]
  - 47 Byers SW, Rowlands T, Beildeck M, Bong YS. Mechanism of action of vitamin D and the vitamin D receptor in colorectal cancer prevention and treatment. *Rev Endocr Metab Disord* 2012; 13: 31-38 [PMID: 21861107 DOI: 10.1007/s11154-011-9196-y]
  - 48 Gulliford T, English J, Colston KW, Menday P, Moller S, Coombes RC. A phase I study of the vitamin D analogue EB 1089 in patients with advanced breast and colorectal cancer. *Br J Cancer* 1998; 78: 6-13 [PMID: 9662243 DOI: 10.1038/bjc.1998.434]
  - 49 Díaz GD, Paraskeva C, Thomas MG, Binderup L, Hague A. Apoptosis is induced by the active metabolite of vitamin D<sub>3</sub> and its analogue EB1089 in colorectal adenoma and carcinoma cells: possible implications for prevention and therapy. *Cancer Res*

# 同行评价

本文选题好, 思路清晰, 语言流畅, 对该领域的广大临床和基础研究工作者有一定的帮助。

- 2000; 60: 2304-2312 [PMID: 10786699]  
50 Milczarek M, Rosinska S, Psurski M, Maciejewska M, Kutner A, Wietrzyk J. Combined colonic cancer

treatment with vitamin D analogs and irinotecan or oxaliplatin. *Anticancer Res* 2013; 33: 433-444 [PMID: 23393334]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》外文字符标准

**本刊讯** 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP, T<sub>1/2</sub>不能写成tl/2或T<sub>1/2</sub>, V<sub>max</sub>不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et Arn. var. glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*<sub>max</sub>, *C*<sub>max</sub>, *V*<sub>d</sub>, *T*<sub>1/2</sub> *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.



# 二十二碳六烯酸逆转食管癌Eca109/DDP细胞对顺铂耐药的机制

张徐宁, 戴翠萍, 夏前正, 韩雪花, 季宁东

张徐宁, 戴翠萍, 夏前正, 季宁东, 淮阴卫生高等职业技术学校 淮安市消化道肿瘤重点实验室 江苏省淮安市 223300  
韩雪花, 淮安市第二人民医院 江苏省淮安市 223001  
张徐宁, 副教授, 主要从事肿瘤方面的研究.  
江苏省淮安市科技局科技支撑基金资助项目, No. HAS2009002-1  
江苏省卫生厅医学科技发展基金资助项目, No. J200912  
作者贡献分布: 张徐宁与季宁东负责课题设计; 戴翠萍、夏前正及韩雪花负责耐药细胞株构建、MTT以及Western blot检测; 数据分析、论文撰写由张徐宁与戴翠萍完成.  
通讯作者: 张徐宁, 副教授, 223300, 江苏淮安市黄河西路2号, 淮阴卫生高等职业技术学校, 淮安市消化道肿瘤重点实验室.  
hyzxn@aliyun.com  
电话: 0517-84920540  
收稿日期: 2013-09-02 修回日期: 2013-10-20  
接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2013-11-28

## Mechanisms underlying reversal effect of docosahexaenoic acid on cisplatin resistance in human esophageal carcinoma cell line Eca109/DDP

Xu-Ning Zhang, Cui-Ping Dai, Qian-Zheng Xia, Xue-Hua Han, Ning-Dong Ji

Xu-Ning Zhang, Cui-Ping Dai, Qian-Zheng Xia, Ning-Dong Ji, Huaiyin Advanced Vocational and Technical Hygiene School; Huaian Key Laboratory of the Tumor of Digestive System, Huaian 223300, Jiangsu Province, China  
Xue-Hua Han, Department of Pathology, Huaian Second People's Hospital, Huaian 223001, Jiangsu Province, China  
Supported by: the Science and Technology Bureau of Huaian City, No. HAS2009002-1; the Medical Science and Technology Development Foundation of Jiangsu Provincial Department of Health, No. J200912  
Correspondence to: Xu-Ning Zhang, Associate Professor, Huaian Key Laboratory of the Tumor of Digestive System, Huaiyin Advanced Vocational and Technical Hygiene School, 2 Huaihe West Road, Huaian 223300, Jiangsu Province, China. hyzxn@aliyun.com  
Received: 2013-09-02 Revised: 2013-10-20  
Accepted: 2013-11-11 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To establish a cisplatin (DDP)-resistant human esophageal carcinoma cell line (Eca109/DDP) and to explore the mechanisms responsible for the reversal effect of docosahexaenoic

acid (DHA) on DDP resistance.

**METHODS:** A DDP-resistant esophageal cancer cell line (Eca109/DDP) was established by exposure of Eca109 cells to gradually increasing doses of DDP. The effects of DHA on cell proliferation and DDP resistance in Eca109/DDP cells were determined by MTT assay. The expression level of P-glycoprotein (P-gp) was detected by Western blot.

**RESULTS:** After 6 mo of induction, Eca109 cells in culture medium containing 1 µg/mL DDP grew stably and the resistant index was 15.9. DHA at concentrations < 1.560 µg/mL had no obvious inhibition on Eca109/DDP cells ( $P > 0.05$ ); however, DHA could enhance the cytotoxicity of DDP to Eca109/DDP cells in a dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ). The half inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) for DDP in Eca109/DDP cells was 3.50 µg/mL  $\pm$  1.04 µg/mL. When combined with 0.195 µg/mL, 0.390 µg/mL, 0.780 µg/mL, or 1.560 µg/mL of DHA, the  $IC_{50}$  for DDP decreased from 1.99 µg/mL  $\pm$  0.11 µg/mL to 0.83 µg/mL  $\pm$  0.22 µg/mL ( $P < 0.05$ ). DHA significantly increased the reversal index and down-regulate the expression of P-gp in Eca109/DDP cells ( $0.99 \pm 0.12$  vs  $0.52 \pm 0.08$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** DHA possesses a reversal effect on DDP resistance in Eca109/DDP cells by down-regulating the expression of P-gp and enhancing the killing effect of DDP on drug-resistant cells.

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

**Key Words:** Docosahexaenoic acid; Multidrug resistance; Eca109/DDP; Cisplatin; P-gp

Zhang XN, Dai CP, Xia QZ, Han XH, Ji ND. Mechanisms underlying reversal effect of docosahexaenoic acid on cisplatin resistance in human esophageal carcinoma cell line Eca109/DDP. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3695-3699 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3695.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21i33.3695>

## ■背景资料

顺铂(cisplatin, DDP)是临床上食管癌化疗的首选药物,但食管癌细胞的多药耐药(multidrug resistance, MDR)降低了化疗药物的疗效.使用MDR逆转剂是克服MDR方法之一.目前在体外实验有效的逆转剂因其不良反应太大而不宜在临床开展.肿瘤多药耐药是指肿瘤细胞在接受化疗过程中,一旦对某种化疗药物产生耐药性,便同时对其他结构上无关、作用机制各异的药物均产生交叉耐药的广谱耐药现象.多药耐药是导致肿瘤化疗失败的主要原因之一,其耐药机制是多种因素综合的结果.

## ■同行评议者

张力为,教授,新疆医科大学第一附属医院胸外科

## ■ 研发前沿

化疗药物的多药耐药性是导致化疗最终失败的主要原因。探讨多药耐药的机制以及寻找对人体不良反应小逆转剂是当今研究的热点和重点,也是当今化疗药物使用效果不理想所亟待解决的问题。

## 摘要

**目的:** 构建食管癌耐药细胞株,探讨二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)逆转人食管癌Eca109/顺铂(cisplatin, DDP)细胞对DDP的耐药作用及其机制。

**方法:** 采用递增顺铂药物质量浓度持续作用诱导法建立耐顺铂细胞株;MTT法检测DHA对Eca109/DDP细胞增殖影响,计算耐药逆转作用,Western blot检测Eca109/DDP细胞膜P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)表达水平。

**结果:** 历经6 mo的诱导, Eca109细胞能在含1  $\mu\text{g/mL}$  DDP的培养基中稳定生长,耐药指数(resistant index, RI)为15.9; DHA浓度在1.560  $\mu\text{g/mL}$ 以下,对Eca109/DDP细胞的生长无显著抑制作用( $P>0.05$ ),但与DDP联合应用能增加DDP对Eca109/DDP细胞的毒性且呈浓度依赖性( $P<0.05$ ); 1  $\mu\text{g/mL}$  DDP对Eca109/DDP细胞的半数抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ )为3.50  $\mu\text{g/mL} \pm 1.04 \mu\text{g/mL}$ ,当分别与0.195、0.390、0.780、1.560  $\mu\text{g/mL}$ 的DHA联合应用时,对Eca109/DDP细胞的半数抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ )从1.99  $\mu\text{g/mL} \pm 0.11 \mu\text{g/mL}$ 降低到0.83  $\mu\text{g/mL} \pm 0.22 \mu\text{g/mL}$  ( $P<0.05$ ),提高逆转指数,并能显著抑制Eca109/DDP细胞P-gp表达水平, P-gp相对表达量从 $0.99 \pm 0.12$ 降至 $0.52 \pm 0.08$  ( $P<0.05$ )。

**结论:** DHA与DDP联合应用通过下调Eca109/DDP细胞P-gp的表达水平逆转对DDP的耐药,促进DDP对耐药细胞的杀伤作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 二十二碳六烯酸; 多药耐药; Eca109/DDP; 顺铂; P-糖蛋白

**核心提示:** 二十二碳六烯酸随着浓度逐渐增高则表现出对Eca109/顺铂(cisplatin, DDP)细胞的增殖抑制作用,且呈浓度依赖性。而对肿瘤细胞无杀伤作用的二十二碳六烯酸与1  $\mu\text{g/mL}$ 顺铂联用,可以逆转Eca109/DDP细胞的耐药性,且呈浓度依赖性,同时能显著下调P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)蛋白表达水平。初步探讨了二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid)通过下调Eca109/DDP细胞膜上P-gp的过度表达逆转肿瘤细胞的多药耐药机制。

张徐宁, 戴翠萍, 夏前正, 韩雪花, 季宁东. 二十二碳六烯酸逆转食管癌Eca109/DDP细胞对顺铂耐药的机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3695-3699 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3695.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3695>

## 0 引言

我国是食管癌的高发地带,其发病率居世界之首<sup>[1]</sup>。顺铂(cisplatin, DDP)是临床上食管癌化疗的首选药物,但食管癌细胞的多药耐药(multi-drug resistance, MDR)降低了化疗药物的疗效<sup>[2]</sup>。使用MDR逆转剂是克服MDR方法之一。目前在体外实验有效的逆转剂因其不良反应太大而不宜在临床开展。本研究以耐顺铂的食管癌细胞Eca109/DDP为对象,探讨二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)逆转Eca109/DDP细胞对DDP的耐药作用及机制,旨在为寻找高效、低毒肿瘤多药耐药逆转剂提供实验依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 食管癌细胞株Eca109、蛋白提取试剂盒、二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒均购自南京凯基生物科技发展有限公司;二十二碳六烯酸(DHA)购自美国Sigma公司;注射用顺铂(DDP 10 mg/2 mL)购自山东齐鲁制药有限公司;RPMI 1640细胞培养液购自美国Gibco公司;小牛血清购自上海生物工程有限公司;四甲基偶氮唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)购自美国Amresco公司;二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)购自上海久亿化学试剂有限公司;P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)单克隆抗体购自美国Abcam公司;兔甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)多克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的二抗均购自美国Santa Cruz公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 人食管癌细胞Eca109在含有10%小牛血清的RPMI 1640培养液(含青霉素100 U/mL及链霉素100  $\mu\text{g/mL}$ ),置于37  $^{\circ}\text{C}$ 、50 mL/L  $\text{CO}_2$ 的饱和湿度条件下培养。

**1.2.2 食管癌Eca109/DDP耐药细胞的构建:** 采用递增药物质量浓度持续作用诱导法<sup>[3]</sup>构建食管癌Eca109/DDP耐药细胞。取对数生长期的Eca109细胞接种于含顺铂的RPMI 1640培养液中,从低浓度0.02  $\mu\text{g/mL}$ 的DDP(根据预实验约10%的抑制浓度)开始进行培养,次日更换正常培养液,待其恢复正常生长时,增加顺铂的给药浓度,如此反复冲击,直到细胞能在含1  $\mu\text{g/mL}$  DDP的培养基中稳定生长。

**1.2.3 MTT法检测DHA对Eca109/DDP细胞增殖的影响:** 取对数生长期的Eca109/DDP细胞,

表 1 DHA对Eca109/DDP细胞生长的影响 ( $n = 5$ , mean  $\pm$  SD)

分组 ( $\mu\text{g/mL}$ )	A值	IR (%)
对照组	$0.918 \pm 0.051$	—
DHA(0.195)	$0.910 \pm 0.025$	0.915
DHA(0.390)	$0.901 \pm 0.011$	1.852
DHA(0.780)	$0.888 \pm 0.027$	3.312
DHA(1.560)	$0.864 \pm 0.037$	5.861
DHA(3.120)	$0.843 \pm 0.011^a$	8.148

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组. DHA: 二十二碳六烯酸; DDP: 顺铂; IR: 细胞生长抑制率.

0.25%胰酶消化, 调整细胞浓度为 $5 \times 10^4$ 个/mL接种于96孔细胞培养板中, 每孔接种 $5 \times 10^3$ 个细胞悬液, 培养24 h, 分4组处理: (1)对照组: 不加任何药物处理; (2)DDP组: 终浓度为1  $\mu\text{g/mL}$ 的DDP; (3)DHA组: 倍比稀释终浓度为0.195、0.390、0.780、1.560、3.120  $\mu\text{g/mL}$ 的DHA; (4)DHA+DDP组: 先加入1  $\mu\text{g/mL}$ 的DDP, 再加入上述浓度的DHA. 每组5个复孔, 继续培养72 h, MTT法测定各孔吸光度(A)值, 计算细胞生长抑制率(inhibition rate, IR).  $\text{IR} = (1 - \text{实验组A均值} / \text{对照组A均值}) \times 100\%$ .

1.2.4 MTT法检测DHA对Eca109/DDP细胞耐药性的逆转作用: 细胞处理同实验方法1.2.3, 按如下分组实验. (1)DDP组: 倍比稀释的终浓度为0.0625、0.125、0.250、0.500、1.00、2.00、4.00、8.00  $\mu\text{g/mL}$ 的DDP; (2)DHA+DDP组: 上述不同浓度的DDP组中分别加入终浓度为0.195、0.390、0.780、1.560  $\mu\text{g/mL}$ 的DHA, 每组5个复孔, 培养72 h, MTT法测定A值, 计算IR, 应用SPSS17.0软件采用加权回归法(Bliss法)计算DDP对Eca109/DDP细胞的半数抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ ), 并计算细胞耐药逆转指数(reversal index, RI).

$\text{RI} = \text{IC}_{50}(\text{抗肿瘤药物}) / \text{IC}_{50}(\text{抗肿瘤药物} + \text{逆转剂})$ .

1.2.5 Western blot法检测Eca109/DDP细胞膜上P-gp表达: 分2组实验: (1)DDP组: 加入终浓度为1  $\mu\text{g/mL}$ 的DDP; (2)DHA+DDP组: 先加入终浓度为1  $\mu\text{g/mL}$ 的DDP, 再加入终浓度为1.560  $\mu\text{g/mL}$  DHA. 每组3个平行复孔, 培养72 h. 收集细胞, 用细胞裂解液裂解细胞提取细胞总蛋白, BCA分析试剂测定各组细胞蛋白质浓度, 取样在SDS-PAGE凝胶中电泳, 将蛋白转移至NC膜

表 2 DHA+DDP对Eca109/DDP细胞生长的影响 ( $n = 5$ , mean  $\pm$  SD)

分组( $\mu\text{g/mL}$ )	A值	IR (%)
DDP(1)	$0.705 \pm 0.045$	23.224
DHA(0.195)+DDP(1)	$0.581 \pm 0.030^b$	36.754
DHA(0.390)+DDP(1)	$0.532 \pm 0.027^b$	42.070
DHA(0.780)+DDP(1)	$0.517 \pm 0.039^b$	43.704
DHA(1.560)+DDP(1)	$0.452 \pm 0.038^b$	50.784
DHA(3.120)+DDP(1)	$0.548 \pm 0.031^b$	40.305

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs DDP(1  $\mu\text{g/mL}$ )组. DHA: 二十二碳六烯酸; DDP: 顺铂; IR: 细胞生长抑制率.

上, 加入含5%脱脂奶粉封闭, 用TBST洗膜3次, 加入一抗4  $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 次日吸弃一抗, 再洗膜3次后加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 室温摇床振荡反应1 h, ECL显色. Western blot图像用GelPro32软件分析灰度值, 以目的蛋白P-gp灰度值/内参蛋白GAPDH灰度值为P-gp的蛋白相对表达量.

统计学处理 用SPSS17.0统计软件对实验数据进行分析, 所有指标以mean  $\pm$  SD表示, 两样本均数比较采用 $t$ 检验, 多样本均数比较采用方差分析. 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 构建Eca109/DDP耐药细胞 采用递增药物质量浓度持续作用诱导法, 历经6 mo的诱导, Eca109细胞能在含1  $\mu\text{g/mL}$  DDP的培养基中稳定生长, RI为15.9, 定义为Eca109/DDP(耐DDP的食管癌细胞).

2.2 DHA对Eca109/DDP细胞的增殖影响 与对照组相比, 当DHA浓度在1.560  $\mu\text{g/mL}$ 以下对Eca109/DDP细胞生长无明显抑制作用( $P > 0.05$ )(表1), 但和1  $\mu\text{g/mL}$  DDP联合使用则浓度依赖性提高DDP对Eca109/DDP细胞生长抑制作用( $P < 0.01$ ), 以1.560  $\mu\text{g/mL}$  DHA效果最好(表2).

2.3 DHA对Eca109/DDP细胞的耐药逆转作用 取对Eca109/DDP细胞无明显毒性作用的DHA(1.560  $\mu\text{g/mL}$ 范围以下), 与1  $\mu\text{g/mL}$  DDP联用可不同程度的逆转Eca109/DDP细胞的耐药性, 逆转作用随着DHA浓度升高, 逆转指数也在升高, 呈浓度依赖性. 与DDP组相比, 差异显著( $P < 0.05$ , 表3).

2.4 DHA对Eca109/DDP细胞膜上P-gp表达的影

## ■ 相关报道

孙思楠等研究了二十二碳六烯酸对人肝癌细胞增殖与凋亡影响及其机制, 羊轶驹等人研究的是二十二碳六烯酸与多柔比星联合用药后对人胃癌细胞SGC-7901的作用. 结果证实二十二碳六烯酸对人肝癌细胞和胃癌细胞都有杀伤作用, 同时可增加化疗药物的敏感, 也影响着癌细胞膜上P-糖蛋白的表达. 与本文二十二碳六烯酸作用于食管癌细胞结果基本一致. 不同的是, 这两篇研究的都是肿瘤的亲本细胞.



## ■ 创新盘点

尽管目前关于多药耐药的研究较多,但关于耐药细胞的P-gp研究不多,关于耐药食管癌细胞的P-gp表达情况未见报道。关于二十二碳六烯酸对食管癌细胞是否具有杀伤和抑制作用未见相关报道。关于二十二碳六烯酸能否通过抑制P-糖蛋白的表达逆转耐药食管癌细胞对抗食管癌药物的耐药性未见相关报道。

表 3 DHA对Eca109/DDP细胞的耐药逆转作用 ( $n = 3$ , mean  $\pm$  SD)

分组( $\mu\text{g/mL}$ )	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )	RI
DDP(1)	3.50 $\pm$ 1.04	—
DHA(0.195)+DDP(1)	1.99 $\pm$ 0.11	1.76
DHA(0.390)+DDP(1)	1.58 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	2.22
DHA(0.780)+DDP(1)	1.12 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	3.13
DHA(1.560)+DDP(1)	0.83 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	4.22

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs DDP(1  $\mu\text{g/mL}$ )组。DHA: 二十二碳六烯酸; DDP: 顺铂; RI: 耐药逆转指数。

响 Western blot结果显示, DHA与DDP联合作用于Eca109/DDP细胞, Eca109/DDP细胞P-gp表达显著减少( $P < 0.05$ , 图1, 2)。

### 3 讨论

肿瘤多药耐药是指肿瘤细胞在接受化疗过程中,一旦对某种化疗药物产生耐药性,便同时对其其他结构上无关、作用机制各异的药物均产生交叉耐药的广谱耐药现象<sup>[4]</sup>。多药耐药是导致肿瘤化疗失败的主要原因之一,其耐药机制是多种因素综合的结果。克服肿瘤细胞的多药耐药性已成为提高肿瘤治疗效果的热点研究<sup>[5-8]</sup>。

P-gp是位于细胞膜的糖蛋白,是一种ATP依赖性的药物转运蛋白,能够以水解ATP产生的能量将细胞内的药物泵出,从而减少细胞内的化疗药物浓度,导致化疗药物不能有效地杀伤肿瘤细胞,引起肿瘤多药耐药<sup>[9]</sup>。因此,肿瘤细胞膜上P-gp的过度表达或功能异常是肿瘤细胞产生MDR的重要机制之一。尽管目前关于P-gp的表达调控机制仍不是十分清楚,但普遍认为丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)信号通路在P-gp介导的MDR中发挥重要作用,参与了P-gp的表达调控<sup>[10]</sup>。维拉帕米、环孢菌素A、奎宁等逆转剂因对P-gp的亲合力低,给药剂量大,对人体产生的毒性大,从而限制了临床应用。寻找高效、低毒的下调P-gp表达的逆转剂成为了控制MDR策略之一。

二十二碳六烯酸是n-3系多不饱和脂肪酸(n-3 polyunsaturated fatty, n-3 PUFA)。现有研究证实DHA能够抑制乳腺癌、肝癌等多种肿瘤细胞的增殖,诱导肿瘤细胞的凋亡<sup>[11,12]</sup>。但机制尚不明确。有报道认为与调整PI3-激酶和p38 MAPK通路、激活线粒体凋亡通路有关<sup>[12,13]</sup>,冯宪光等<sup>[14]</sup>认为与抑制Bcl-2的表达、促进Bax和

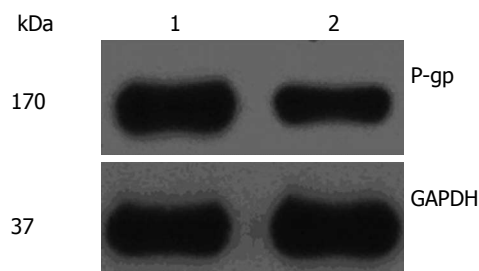


图 1 Western blot法检测DDP和DHA+DDP对P-gp表达的影响。1: DDP 1  $\mu\text{g/mL}$ 组; 2: DHA 1.560  $\mu\text{g/mL}$ +DDP 1  $\mu\text{g/mL}$ 组。DHA: 二十二碳六烯酸; DDP: 顺铂。

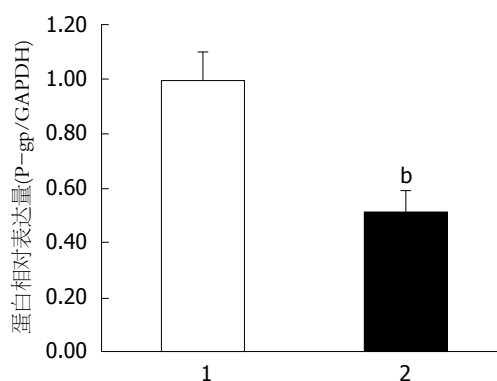


图 2 DHA+DDP对Eca109/DDP耐药细胞P-gp表达的影响。1: DDP 1  $\mu\text{g/mL}$ 组; 2: DHA 1.560  $\mu\text{g/mL}$ +DDP 1  $\mu\text{g/mL}$ 组。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs DDP组。DHA: 二十二碳六烯酸; DDP: 顺铂。

Caspase3的表达有关。此外,还有实验证明DHA还可以逆转肿瘤细胞的多药耐药性,提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性<sup>[15]</sup>。但二十二碳六烯酸对食管癌亲本细胞及耐药细胞是否有影响未见有文献报道。我们的实验表明DHA在低浓度( $\leq 1.560 \mu\text{g/mL}$ )时对Eca109/DDP细胞没有毒性,但随着浓度逐渐增高则表现出对Eca109/DDP细胞的增殖抑制作用,且呈浓度依赖性。为了减少因DHA自身对肿瘤细胞的杀伤作用而产生的实验结果误差,我们实验均选择了对Eca109/DDP无毒性DHA浓度。结果显示,1.560  $\mu\text{g/mL}$ 以下的无毒DHA和1  $\mu\text{g/mL}$  DDP联用,可以逆转Eca109/DDP细胞的耐药性,且呈浓度依赖性,同时能显著下调P-gp蛋白表达水平。初步探讨了DHA通过下调Eca109/DDP细胞膜上P-gp的过度表达逆转肿瘤细胞的多药耐药机制。关于P-gp的表达调控机制仍有待于进一步深入研究。

### 4 参考文献

- 1 李凤英, 牛扶幼, 郑蔚. 食管癌患者术前自我管理现状调查分析. 护士进修杂志 2011; 26: 745-747
- 2 Gan SY, Zhong XY, Xie SM, Li SM, Peng H, Luo

- F. Expression and significance of tumor drug resistance related proteins and beta-catenin in esophageal squamous cell carcinoma. *Chin J Cancer* 2010; 29: 300-305 [PMID: 20193114 DOI: 10.5732/cjc.009.10599]
- 3 王开雷, 李乐平, 靖昌庆. 两种人大肠癌多耐药株的建立及耐药性比较. *山东大学学报(医学版)* 2011; 49: 75-79, 114
- 4 Takara K, Sakaeda T, Okumura K. An update on overcoming MDR1-mediated multidrug resistance in cancer chemotherapy. *Curr Pharm Des* 2006; 12: 273-286 [PMID: 16454744]
- 5 Elkadi OA. MDR-selective microbial-based therapy: a novel approach to cancer treatment. *Med Hypotheses* 2013; 81: 207-211 [PMID: 23719029 DOI: 10.1016/j.mehy.2013.05.001]
- 6 Schumacher U, Nehmann N, Adam E, Mukthar D, Slotki IN, Horny HP, Flens MJ, Schlegelberger B, Steinemann D. MDR-1-overexpression in HT 29 colon cancer cells grown in SCID mice. *Acta Histochem* 2012; 114: 594-602 [PMID: 22154301 DOI: 10.1016/j.acthis.2011.11.004]
- 7 黄军祥, 胡咏梅, 石海, 许建明. 环孢素A诱导人胃癌MGC-803细胞凋亡以及对P糖蛋白表达的影响. *中国药理学通报* 2012; 28: 1566-1570
- 8 隋华, 周利红, 刘宣, 殷佩浩, 周宁, 王炎, 孙珏, 范忠泽, 李琦. COX-2介导MDR1/P-gp调控人结肠癌细胞多药耐药的研究. *中国癌症杂志* 2011; 21: 241-246
- 9 Du Y, Shi WW, He YX, Yang YH, Zhou CZ, Chen Y. Structures of the substrate-binding protein provide insights into the multiple compatible solute binding specificities of the *Bacillus subtilis* ABC transporter OpuC. *Biochem J* 2011; 436: 283-289 [PMID: 21366542 DOI: 10.1042/BJ20102097]
- 10 Derin D, Eralp Y, Ozluk Y, Yavuz E, Guney N, Saip P, Igci A, Ozmen V, Küçük S, Aslay I, Aydinler A, Topuz E. Lower level of MAPK expression is associated with anthracycline resistance and decreased survival in patients with hormone receptor negative breast cancer. *Cancer Invest* 2008; 26: 671-679 [PMID: 18608215 DOI: 10.1080/07357900801891628]
- 11 Blanckaert V, Ulmann L, Mimouni V, Antol J, Brancquart L, Chénais B. Docosahexaenoic acid intake decreases proliferation, increases apoptosis and decreases the invasive potential of the human breast carcinoma cell line MDA-MB-231. *Int J Oncol* 2010; 36: 737-742 [PMID: 20126994 DOI: 10.3892/ijo.00000549]
- 12 孙思楠, 李建生, 姜卫东. DHA对人肝癌细胞增殖与凋亡的影响及其机制的研究. *中国普通外科杂志* 2013; 22: 44-48
- 13 Toit-Kohn JL, Louw L, Engelbrecht AM. Docosahexaenoic acid induces apoptosis in colorectal carcinoma cells by modulating the PI3 kinase and p38 MAPK pathways. *J Nutr Biochem* 2009; 20: 106-114 [PMID: 18479896 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2007.12.005]
- 14 冯宪光, 姚文环, 刘艳, 孙克任. 二十二碳六烯酸复合物的体内抑瘤作用及其机制. *中华肿瘤杂志* 2010; 32: 415-419
- 15 羊铁驹, 孙振球. 二十二碳六烯酸增加人胃癌细胞SGC-7901对多柔比星的敏感性. *肿瘤* 2012; 32: 599-604

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

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

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围. 其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%.

# 应用基因重组人粒细胞集落刺激因子治疗小鼠炎症性肠病的作用机制

林 艳, 王思亮, 岳原亦, 郑长青

## ■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是病因未明的肠道慢性非特异性炎症性疾病, 由于免疫异常是其主要发病因素, 目前治疗以对症及免疫调节为主。随着对IBD发病机制的深入研究, 许多新的治疗方法及新的药剂已应用于临床, 使IBD的治疗疗效得到改善。

林艳, 岳原亦, 郑长青, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001

王思亮, 中国医科大学附属盛京医院肿瘤内科 辽宁省沈阳市 110001

林艳, 主治医师, 主要从事炎症性肠病的基础与临床研究。

沈阳市科学技术基金资助项目, No. F10-205-1-17

作者贡献分布: 此课题由郑长青与林艳设计; 研究过程由林艳、王思亮及岳原亦完成; 数据分析由王思亮完成; 本论文写作由林艳完成。

通讯作者: 郑长青, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院消化内科。

zhengchangqing88@163.com

电话: 024-96615-26211

收稿日期: 2013-07-02 修回日期: 2013-08-21

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-11-28

## Mechanisms underlying therapeutic effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor against TNBS-induced experimental colitis in mice

Yan Lin, Si-Liang Wang, Yuan-Yi Yue, Chang-Qing Zheng

Yan Lin, Yuan-Yi Yue, Chang-Qing Zheng, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China  
Si-Liang Wang, Department of Oncology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: the Science and Technology Project of Shenyang, No. F10-205-1-17

Correspondence to: Chang-Qing Zheng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, Huaxiang Road, Tiexi District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. zhengchangqing88@163.com

Received: 2013-07-02 Revised: 2013-08-21

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To examine if recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) could promote the recovery of 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis in Balb/c mice and to analyze the potential mechanisms involved.

**METHODS:** Colitis was induced in Balb/c mice

by rectal administration of 5% TNBS. Three hours later, the mice were given rhG-CSF (100 µg/kg) or phosphate-buffered saline (PBS) subcutaneously once a day from day 0 to day 5. The weight loss, stool, and fecal occult blood were then recorded daily. The mice were sacrificed on day 5, and the whole colons were obtained and scored for adhesion, ulcer and inflammation. Tissue specimens from the descending colon were obtained and stained with hematoxylin and eosin. Inflammation was scored for severity, extent, epithelial damage and crypt loss. The expression of pro-inflammatory cytokine proteins IL-17 and IL-23 in colon tissues was detected by ELISA. Mesenteric lymph node (MLN) cells were prepared and cultured in vitro for 3 d to examine the expression of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Tregs by flow cytometry.

**RESULTS:** Treatment with rhG-CSF significantly ameliorated murine colitis in terms of improved clinical and pathological signs. The levels of IL-17 and IL-23 were significantly lower in the colon tissues of rhG-CSF-treated mice in comparison with controls. The expression of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Tregs in MLN cells from rhG-CSF-treated mice increased.

**CONCLUSION:** Treatment with rhG-CSF ameliorates murine TNBS-induced colitis via mechanisms possibly associated with the suppression of IL-23/IL-17 and promotion of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Tregs.

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

**Key Words:** Granulocyte macrophage colony-stimulating factor; Inflammatory bowel disease; TNBS; Th17; Regulatory T cells; Interleukin-23

Lin Y, Wang SL, Yue YY, Zheng CQ. Mechanisms underlying therapeutic effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor against TNBS-induced experimental colitis in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3700-3705 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3700.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3700>

■同行评议者  
陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科



## 摘要

**目的:** 本研究主要探讨基因重组人粒细胞集落刺激因子(recombinant human granulocyte colony-stimulating factor, rhG-CSF)治疗小鼠结肠炎的疗效并探讨其可能的作用机制。

**方法:** 应用5% 2,4,6-三硝基苯磺酸灌肠诱导Balb/c小鼠结肠炎症, 结肠炎小鼠随机分为2组, 在造模后3 h, 分别给予rhG-CSF或磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)皮下注射进行治疗干预, 连续6 d, 每日观察小鼠体质量、腹泻及便血情况。造模后第6天处死小鼠, 获取结肠组织, 根据黏连、溃疡及炎症计大体损伤评分; 取降结肠组织, HE染色后计病理组织评分; 获取结肠组织匀浆, 应用ELISA方法检测炎症细胞因子白介素-17(interleukin-17, IL-17)及IL-23的表达水平; 获取肠系膜淋巴结淋巴细胞, 体外培养3 d后, 应用流式细胞术检测CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞的表达。

**结果:** rhG-CSF治疗组小鼠的DAI评分、大体损伤评分及病理组织评分明显低于PBS对照组; 与对照组相比rhG-CSF治疗组小鼠结肠组织中IL-17及IL-23的表达水平明显减低, 而肠系膜淋巴结中CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞的表达上调。

**结论:** 基因重组人粒细胞集落刺激因子改善了小鼠的结肠炎症, Th17细胞与调节性T细胞的平衡调节是其可能的作用机制。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 重组人粒细胞集落刺激因子; 炎症性肠病; 三硝基苯磺酸; Th17细胞; 调节性T细胞; 白介素-23

**核心提示:** 本研究提示基因重组人粒细胞集落刺激因子改善了小鼠的结肠炎症, Th17细胞与调节性T细胞的分化平衡调节是其可能的作用机制。基因重组人粒细胞集落刺激因子是炎症性肠病(inflammatory bowel disease)有效的辅助治疗方法。

林艳, 王思亮, 岳原亦, 郑长青. 应用基因重组人粒细胞集落刺激因子治疗小鼠炎症性肠病的作用机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3700-3705 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3700.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3700>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是

一组慢性肠道炎症性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 其病因及发病机制尚未完全阐明。目前认为IBD是一种多因素疾病, 其发病机制<sup>[1]</sup>可能为环境及感染因素作用于遗传易感个体引起肠道异常免疫反应所致。肠道黏膜免疫异常是IBD发病的中心环节, 贯穿其发生发展的始终。研究显示调节肠道黏膜免疫, 恢复黏膜免疫耐受已成为IBD治疗的关键, 针对肠道黏膜免疫功能的调节为IBD的治疗提供了新的治疗靶点<sup>[2]</sup>。粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)作为一种造血细胞生长因子, 已被证实可作用于肠道上皮细胞, 起到增殖、分化和修复等作用<sup>[3]</sup>, G-CSF具有调节肠道黏膜先天免疫的功能, 目前已成为潜在的IBD辅助治疗方法。为了进一步明确基因重组人粒细胞集落刺激因子(recombinant human granulocyte colony-stimulating factor, rhG-CSF)对IBD的治疗作用并探讨其可能的作用机制我们进行以下研究。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 6-8周龄的Balb/c纯系♀小鼠30只由中国医科大学动物实验室提供, 体质量18-20 g, 饲养于清洁环境; 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)购自Sigma公司; 无水乙醇购自博尔美公司; rhG-CSF购自麒麟鲲鹏(中国)生物药业有限公司; 小鼠白介素-17(interleukin-17, IL-17)、IL-23 ELISA试剂盒购自晶美生物工程有限公司; FITC-CD4荧光抗体和PE-CD25荧光抗体均购自eBioscience公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物模型的建立:** 全部小鼠禁食24 h不禁水, 造模前先称质量, 让小鼠前爪自由抓住笼面, 抓取小鼠尾部, 使小鼠倒立。经腹腔麻醉后, 从肛门插入直径为1.5 mm的灌胃针, 深度为3.0-4.0 cm, 缓缓注入TNBS+无水乙醇药液后拔管。捏住肛门继续保持倒立姿势30 s后将小鼠放回鼠笼。

**1.2.2 分组:** 小鼠结肠炎建立后被随机分为2组即rhG-CSF及磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)治疗组: 于造模后3 h经腹腔分别注射rhG-CSF(100 μg/kg)及PBS进行治疗干预, 并连续给药6 d。

**1.2.3 小鼠一般状态观察:** 每日观察记录小鼠生存情况, 小鼠一般状态、皮毛、食量、体质量、大便性状便血情况, 记录第1、3、5天DAI评分。

## ■ 研究前沿

肠道黏膜免疫系统异常是IBD发病的中心环节, 贯穿于疾病发生发展的始终。近期研究发现Th17细胞/调节性T细胞的分化失衡是IBD发生的重要原因之一。深入研究其分化平衡的调节机制必将为IBD治疗提供新的方法及靶点。

## ■相关报道

重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)是一种造血生长因子,具有免疫调节作用,参与肠道黏膜免疫反应,已有研究显示rhG-CSF主要通过调节先天免疫反应发挥免疫调节作用。国外相关研究显示rhG-CSF在实验动物及临床研究均显示出对于IBD治疗的有效性。

表 1 大体形态损伤评分标准

类型	得分
黏连	
无	0
轻度(结肠与其他组织剥离较易)	1
重度	2
溃疡形成及炎症	
无	0
局部充血,无溃疡	1
1处溃疡不伴充血和肠壁增厚	2
1处溃疡伴炎症	3
>2处溃疡伴炎症	4
>2处溃疡和或炎症>2cm	5
溃疡和或炎症>2cm病变范围每增加1cm计分加1	6-8

1.2.4 大体形态损伤评分: 取小鼠结肠,沿肠系膜纵行剖开,观察大体形态改变。根据黏连、溃疡形成及炎症的程度进行大体形态损伤评分。大体形态损伤评分标准如表1。

1.2.5 病理组织学评价: 取距肛门2 cm处结肠组织应用40 g/L甲醛固定,常规石蜡包埋,切片,HE染色,由经验丰富的病理科医生于电镜下评估结肠炎的严重程度。病理组织学评分标准如表2。

1.2.6 ELISA方法检测结肠组织中IL-17、IL-23的表达水平: 取中段结肠组织,冰上将结肠组织均浆后高速离心,取上清液应用ELISA方法测定IL-17及IL-23的表达水平,具体方法参照说明书。

1.2.7 流式细胞术检测肠系膜淋巴结调节性T细胞的表达: 收集小鼠肠系膜淋巴结制备细胞悬液,应用淋巴细胞分离液分离淋巴细胞,将获取的淋巴细胞以 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 置于培养皿中,于5%CO<sub>2</sub>, 37 °C温箱中孵育72 h, 72 h后收集细胞,应用流式细胞术检测CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞的表达。

## 2 结果

2.1 临床症状 研究显示给予rhG-CSF治疗的小鼠,腹泻便血等临床症状较对照组减轻,小鼠体质量在治疗后第3天开始恢复,于治疗后第5天体质量接近于造模前水平,已无明显腹泻及便血;而对照组小鼠腹泻及便血症状较明显,体质量恢复较慢,于治疗后第5天体质量与造模前相较下降10%-15%。rhG-CSF治疗组小鼠第5天的DAI评分为 $7.3 \pm 0.1$ ,明显低于PBS对照组( $9.5 \pm 0.15$ ,  $P < 0.05$ )。

2.2 大体损伤评分 rhG-CSF治疗组小鼠结肠黏

连、溃疡及炎症较对照组明显减轻,其大体形态损伤评分为 $1.33 \pm 0.12$ ,明显低于PBS对照组( $4.6 \pm 0.25$ ,  $P < 0.01$ )。

2.3 结肠组织病理损伤评分 取距肛门2 cm处结肠组织,经石蜡包埋,HE染色后于显微镜下观察可见结肠黏膜充血、出血、糜烂,黏膜层、黏膜下层中性粒细胞及其他炎性细胞浸润,病变严重小鼠从黏膜层至浆膜层弥漫性充血、出血,全层非局限性透壁性坏死;肠上皮细胞坏死脱落,甚至出现黏膜层、黏膜下层及肌层坏死脱落。rhG-CSF治疗组小鼠结肠组织于显微镜下观察无溃疡形成,炎症细胞浸润范围及深度浅,而对照组镜下可见深溃疡形成,大量炎症细胞浸润, rhG-CSF治疗组病理组织评分为 $11.2 \pm 2.1$ ,明显低于PBS对照组( $15.2 \pm 2.4$ ,  $P < 0.05$ )。两组病理改变对比如图1。

2.4 结肠组织中IL-17及IL-23表达水平的测定 rhG-CSF治疗组小鼠结肠组织中IL-17及IL-23的含量分别( $21.66 \text{ ng/mL} \pm 2.12 \text{ ng/mL}$ ,  $426.14 \text{ ng/mL} \pm 11.28 \text{ ng/mL}$ ),明显低于PBS治疗组( $226.03 \text{ ng/mL} \pm 7.25 \text{ ng/mL}$ ,  $971.12 \text{ ng/mL} \pm 12.6 \text{ ng/mL}$ ,  $P < 0.05$ )。

2.5 肠系膜淋巴结中调节性T细胞的表达 rhG-CSF治疗组调节性T细胞(regulatory t cells, Tregs)的表达率较高,而PBS组调节性T细胞的表达很低几乎检测不到, rhG-CSF治疗组的Tregs表达率与PBS组比较差异明显( $2.29 \pm 0.02$  vs  $0.26 \pm 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。两组Tregs表达对比如图2。

## 3 讨论

IBD是肠道慢性非特异性炎症性疾病,近年来在我国发病率呈逐年上升趋势。尽管IBD病因仍不明确,但大量证据表明IBD患者的免疫系统异常是造成炎症和组织损伤的内在因素。IBD患者的肠道黏膜存在异常的免疫应答,有大量的促炎因子和抑炎因子:前者促发疾病的产生,加速疾病进展,后者抗炎修复,抑制疾病进展,这些特征提供了临床上给予靶向生物治疗的理论依据<sup>[4]</sup>。近年来生物制剂如英夫利昔<sup>[5]</sup>[肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )特异性抗体]已应用于临床,更多的生物制剂如IL-10、IL-6抗体等<sup>[6,7]</sup>已进入临床实验阶段。粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)对于肠道黏膜免疫系统具有调节作用,已作为IBD的辅助治疗试用于临床,成为IBD辅助治疗的又一选择。

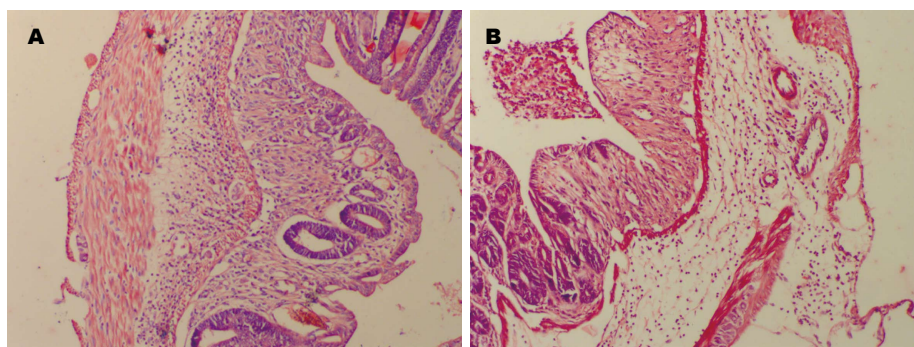


图1 rhG-CSF治疗组与PBS对照组结肠组织病理改变对比(HE × 200)。A: rhG-CSF治疗组小鼠结肠可见黏膜炎症, 无明显溃疡形成; B: PBS对照组结肠组织可见黏膜大量炎症细胞浸润, 存在糜烂、溃疡。rhG-CSF: 重组人粒细胞集落刺激因子。

#### ■创新盘点

目前rhG-CSF与IBD的研究主要集中于疗效研究, 作用机制研究较少, 本研究主要探究rhG-CSF是否通过Th17细胞/调节性T细胞的分化调节发挥作用。

表2 病理组织学评分标准

上皮损伤和溃疡形成	溃疡深度	水肿	淋巴单核浆细胞浸润	浸润深度	中性粒细胞浸润	浸润深度	嗜酸性粒细胞浸润	浸润深度	计分
无		无	无		无		无		0
糜烂	黏膜下层	轻	轻	黏膜下层	轻	黏膜下层	轻	黏膜下层	1
溃疡	肌层	中	中	肌层	中	肌层	中	肌层	2
	浆膜层	重	重	浆膜层	重	浆膜层	重	浆膜层	3

重组人粒细胞集落刺激因子(recombinant human granulocyte colony-stimulating factor, rhG-CSF)是一种造血生长因子, 他可以促进中性粒细胞的存活和蛋白合成, 抑制氧化代谢, 不仅在抗感染的非特异性细胞免疫中起到极其重要的作用, 而且与整个机体的免疫功能密切相关<sup>[8]</sup>。研究表明rhG-CSF具有免疫调节作用, 参与肠道黏膜免疫反应: rhG-CSF可通过JAK酪氨酸激酶、核因子κB(nuclear factor kappa B, NF-κB)、STAT转录因子等途径, 作用在肠道上皮, 起到增殖、分化和修复等作用<sup>[9]</sup>。Kudo等<sup>[10]</sup>应用rhG-CSF治疗DSS结肠炎小鼠显示了较好的疗效, 而Sainathan等<sup>[11]</sup>发现GM-CSF也同样具有改善小鼠结肠炎症的作用, 因此提示造血生长因子在调节肠道免疫, 治疗炎症性肠病方面具备潜力。目前国外已有相关的临床研究证实rhG-CSF对于IBD患者治疗的有效性<sup>[12]</sup>, 在此研究中应用rhG-CSF有效治疗了一例UC患者, 并使其获得长期缓解。

本研究以TNBS灌肠的方法建立小鼠结肠炎模型, 经腹腔给予rhG-CSF进行治疗干预, 结果显示rhG-CSF治疗组小鼠腹泻、血便、体质量减轻等临床症状改善明显优于对照组: 其DAI评分、大体组织评分及病理组织评分均低于PBS组, 提示rhG-CSF改善了小鼠的结肠炎症, 此结果与国

外相关研究一致<sup>[10]</sup>。为了进一步探究rhG-CSF治疗结肠炎的可能作用机制, 探讨rhG-CSF的可能作用途径, 我们研究了rhG-CSF治疗后Th17细胞与调节性T细胞的平衡变化。

Th17细胞是近年来发现的一种新的细胞亚群, 以分泌IL-17而得名, Th17细胞除了分泌IL-17(也称IL-17A)外, 还主要分泌IL-17F、IL-21、IL-22、TNF-α、IL-6<sup>[13]</sup>等细胞因子。多项研究表明Th17细胞参与自身免疫反应, 是自身免疫性疾病的重要效应细胞。近年来Th17细胞在IBD中的作用受到越来越多的关注。研究表明IBD患者结肠黏膜表达高水平IL-17, 在活动性CD及UC中尤其明显<sup>[14]</sup>; *IL-17RA*基因敲除小鼠建立的肠炎模型, 结肠炎症明显减轻<sup>[15]</sup>。无论是临床研究还是动物实验均提示Th17细胞在IBD发病机制中扮演重要角色。IL-23是炎症性肠病相关的重要细胞因子, 大量研究已经证明炎症性肠病中IL-23对促进Th1、Th17相关因子的合成发挥着关键性作用<sup>[16]</sup>。IL-23不仅可促使肠道T细胞的增殖, 促进Th17细胞的聚集, 还可加强表达IL-17A<sup>+</sup>、干扰素-γ<sup>+</sup>(interferon-γ<sup>+</sup>, IFN-γ<sup>+</sup>)T细胞群的出现。目前认为Th17细胞效应的IL-23/IL-17轴在IBD发生中起关键作用<sup>[17]</sup>。本研究显示结肠炎小鼠结肠组织IL-23和IL-17均呈高表达, 而经rhG-CSF治疗后, IL-23和IL-17的表



## ■应用要点

探讨基因重组人粒细胞集落刺激因子治疗结肠炎的发病机制具有重要意义,该研究结果不仅提示基因重组人粒细胞集落刺激因子可成为IBD辅助治疗方法,而且对其机制的研究可为其临床应用提供理论依据及应用指导。

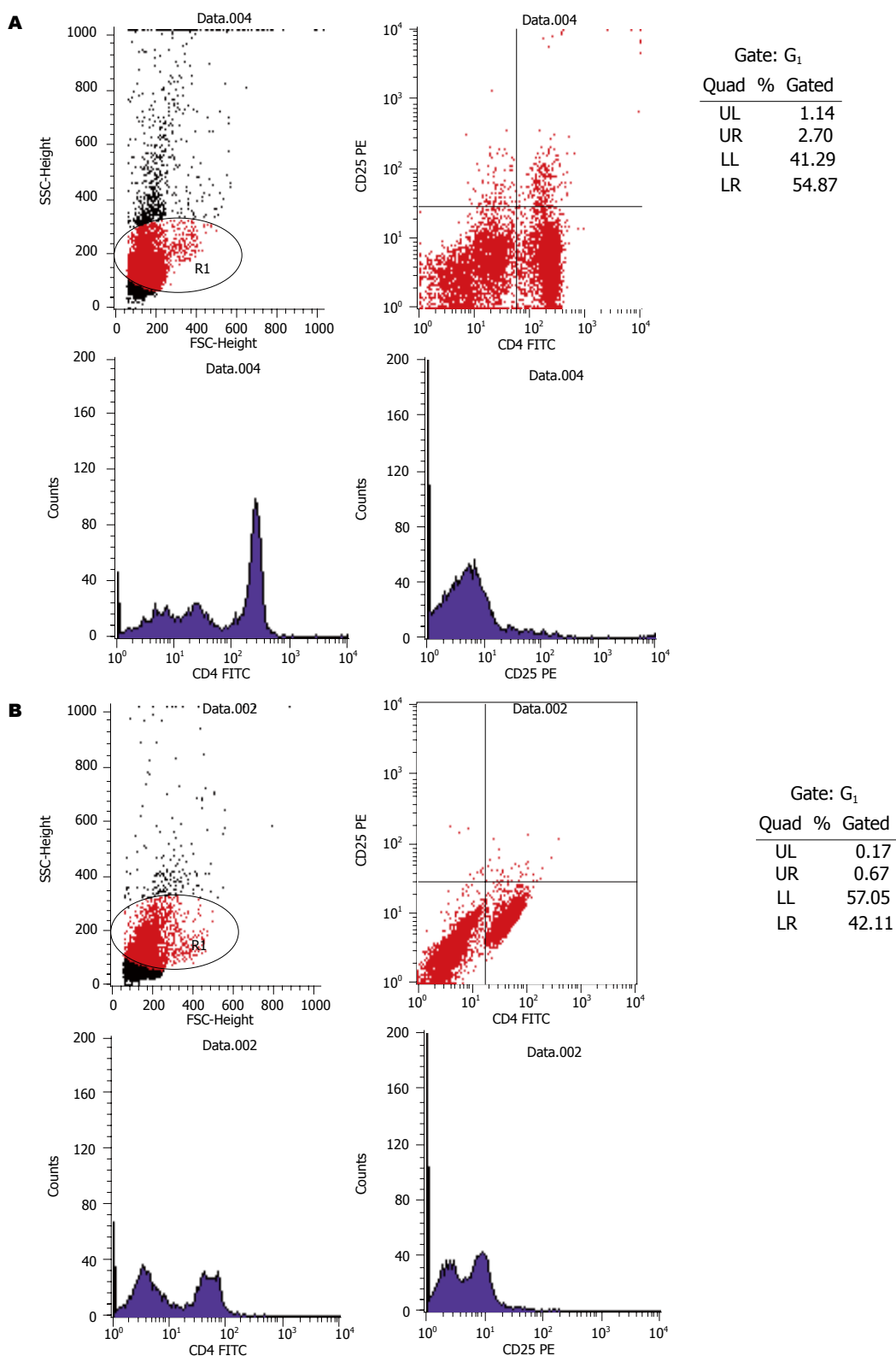


图2 rhG-CSF治疗组与PBS对照组肠系膜淋巴结调节性T细胞的表达。A: rhG-CSF治疗组肠系膜淋巴结淋巴细胞中Tregs细胞表达上调; B: PBS对照组肠系膜淋巴结淋巴细胞中Tregs细胞表达率低几乎测不出。rhG-CSF: 重组人粒细胞集落刺激因子。

达明显下降。此结果提示rhG-CSF调节肠道免疫,下调炎症反应,抑制Th17细胞分化,阻断其效应细胞因子的表达从而达到控制炎症和损伤的作用。

调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)具有抑制自身免疫反应的功能, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Tregs是维持机体内环境稳定的主要Tregs, 其功能主要通过下调自身免疫应答来诱导自身免疫耐受和

抑制自身免疫疾病的发生. 目前研究认为Th17/Tregs转化平衡是维持肠道免疫稳态的重要因素, 其平衡失常可能是导致IBD的重要原因之一<sup>[18]</sup>. 我们的研究显示rhG-CSF治疗小鼠不仅可以下调Th17细胞因子的表达而且小鼠结肠肠系膜淋巴结中CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Tregs的表达明显上调.

总之, rhG-CSF改善了小鼠的结肠炎症, 小鼠结肠组织中Th17相关细胞因子表达下调而调节性T细胞表达上调, 提示rhG-CSF的作用机制可能通过调节Th17/Tregs的平衡而实现. 而rhG-CSF如何调节Th17/Tregs的平衡转化还有待于进一步的研究.

#### 4 参考文献

- Qin X. Etiology of inflammatory bowel disease: a unified hypothesis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1708-1722 [PMID: 22553395]
- Cario E. Commensal-innate immune miscommunication in IBD pathogenesis. *Dig Dis* 2012; 30: 334-340 [PMID: 22796793 DOI: 10.1159/000338120]
- Krishnan K, Arnone B, Buchman A. Intestinal growth factors: potential use in the treatment of inflammatory bowel disease and their role in mucosal healing. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 410-422 [PMID: 20848489 DOI: 10.1002/ibd.21316]
- Kellermayer R. Epigenetics and the developmental origins of inflammatory bowel diseases. *Can J Gastroenterol* 2012; 26: 909-915 [PMID: 23248794]
- Lopez A, Billioud V, Peyrin-Biroulet C, Peyrin-Biroulet L. Adherence to anti-TNF therapy in inflammatory bowel diseases: a systematic review. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1528-1533 [PMID: 23518810 DOI: 10.1097/MIB.0b013e31828132cb]
- Kotlarz D, Beier R, Murugan D, Diestelhorst J, Jensen O, Boztug K, Pfeifer D, Kreipe H, Pfister ED, Baumann U, Puchalka J, Bohne J, Egritas O, Dalgic B, Kolho KL, Sauerbrey A, Buderus S, Güngör T, Enninger A, Koda YK, Guariso G, Weiss B, Corbacioglu S, Socha P, Uslu N, Metin A, Wahbeh GT, Husain K, Ramadan D, Al-Herz W, Grimbacher B, Sauer M, Sykora KW, Koletzko S, Klein C. Loss of interleukin-10 signaling and infantile inflammatory bowel disease: implications for diagnosis and therapy. *Gastroenterology* 2012; 143: 347-355 [PMID: 22549091 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.04.045]
- Waldner MJ, Neurath MF. Novel cytokine-targeted therapies and intestinal inflammation. *Curr Opin Pharmacol* 2009; 9: 702-707 [PMID: 19674937]
- Waight JD, Hu Q, Miller A, Liu S, Abrams SI. Tumor-derived G-CSF facilitates neoplastic growth through a granulocytic myeloid-derived suppressor cell-dependent mechanism. *PLoS One* 2011; 6: e27690 [PMID: 22110722]
- Mannon PJ, Leon F, Fuss IJ, Walter BA, Begnami M, Quezada M, Yang Z, Yi C, Groden C, Friend J, Hornung RL, Brown M, Gurprasad S, Kelsall B, Strober W. Successful granulocyte-colony stimulating factor treatment of Crohn's disease is associated with the appearance of circulating interleukin-10-producing T cells and increased lamina propria plasmacytoid dendritic cells. *Clin Exp Immunol* 2009; 155: 447-456 [PMID: 19094118]
- Kudo T, Matsumoto T, Nakamichi I, Yada S, Esaki M, Jo Y, Ohji Y, Yao T, Iida M. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor reduces colonic epithelial cell apoptosis and ameliorates murine dextran sulfate sodium-induced colitis. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 689-697 [PMID: 18569986]
- Sainathan SK, Hanna EM, Gong Q, Bishnupuri KS, Luo Q, Colonna M, White FV, Croze E, Houchen C, Anant S, Dieckgraefe BK. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor ameliorates DSS-induced experimental colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 88-99 [PMID: 17932977]
- Alsultan A, Sokol RJ, Lovell MA, Thurman G, Ambruso DR. Long term G-CSF-induced remission of ulcerative colitis-like inflammatory bowel disease in a patient with glycogen storage disease Ib and evaluation of associated neutrophil function. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 55: 1410-1413 [PMID: 20830779]
- Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity* 2008; 28: 454-467 [PMID: 18400188]
- Seiderer J, Elben I, Diegelmann J, Glas J, Stallhofer J, Tillack C, Pfennig S, Jürgens M, Schmechel S, Konrad A, Göke B, Ochsenkühn T, Müller-Myhsok B, Lohse P, Brand S. Role of the novel Th17 cytokine IL-17F in inflammatory bowel disease (IBD): upregulated colonic IL-17F expression in active Crohn's disease and analysis of the IL17F p.His161Arg polymorphism in IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 437-445 [PMID: 18088064]
- Zhang Z, Zheng M, Bindas J, Schwarzenberger P, Kolls JK. Critical role of IL-17 receptor signaling in acute TNBS-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 382-388 [PMID: 16670527]
- Kamada N, Hisamatsu T, Okamoto S, Chinen H, Kobayashi T, Sato T, Sakuraba A, Kitazume MT, Sugita A, Koganei K, Akagawa KS, Hibi T. Unique CD14 intestinal macrophages contribute to the pathogenesis of Crohn disease via IL-23/IFN-gamma axis. *J Clin Invest* 2008; 118: 2269-2280 [PMID: 18497880]
- Ahern PP, Schiering C, Buonocore S, McGeachy MJ, Cua DJ, Maloy KJ, Powrie F. Interleukin-23 drives intestinal inflammation through direct activity on T cells. *Immunity* 2010; 33: 279-288 [PMID: 20732640 DOI: 10.1016/j.immuni.2010.08.010]
- Kitani A, Xu L. Regulatory T cells and the induction of IL-17. *Mucosal Immunol* 2008; 1 Suppl 1: S43-S46 [PMID: 19079228 DOI: 10.1038/mi.2008.51]

#### 同行评价

本文对于炎症性肠病的发病机制的研究和潜在的临床应用具有较好的科学意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 接头蛋白SH2B1和RhoA蛋白在食管癌患者中的表达及临床病理意义

姜齐宏, 陈艳, 王爱祥

## ■背景资料

食管癌为常见恶性肿瘤,世界范围内其发病率及死亡率在常见癌症中分别排第8位及第6位,在消化系统恶性肿瘤中均排第2位,仅次于胃癌。研究表明RhoA及SH2B1蛋白在肝癌、卵巢癌、肺癌中表达量较高,提示该蛋白也在肿瘤的发生发展及转移中有较大作用。本文研究了食管癌组织中接头蛋白SH2B1和RhoA的表达及临床病理意义。

姜齐宏, 陈艳, 王爱祥, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院消化内科 湖北省武汉市 430034

姜齐宏, 副主任医师, 主要从事消化内科及内镜的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由姜齐宏设计; 研究过程由姜齐宏与陈艳实施完成; 数据分析由陈艳与王爱祥完成; 本论文写作由姜齐宏、陈艳及王爱祥共同完成。

通讯作者: 陈艳, 主治医师, 430034, 湖北省武汉市硚口区古田三路50号, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院消化内科。

cy0226@163.com

电话: 027-83750309

收稿日期: 2013-09-11 修回日期: 2013-10-21

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-11-28

## Clinicopathologic significance of SH2B1 and RhoA expression in esophageal cancer

Qi-Hong Jiang, Yan Chen, Ai-Xiang Wang

Qi-Hong Jiang, Yan Chen, Ai-Xiang Wang, Department of Gastroenterology, Pu'ai Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430034, Hubei Province, China

Correspondence to: Yan Chen, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Pu'ai Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 50 Gutian Three Road, Qiaokou District, Wuhan 430034, Hubei Province, China. cy0226@163.com

Received: 2013-09-11 Revised: 2013-10-21

Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To detect the expression of SH2B1 and RhoA in esophageal cancer and to analyze their clinicopathologic significance.

**METHODS:** The expression of SH2B1 and RhoA in esophageal cancer tissues and normal tissues was detected by immunohistochemistry.

**RESULTS:** The positive rates of SH2B1 and RhoA expression were significantly higher in esophageal cancer tissues than in the normal tissues (84.2% vs 33.6%,  $P = 0.028$ ; 79.8% vs 22.4%,  $P = 0.022$ ). SH2B1 and RhoA expression levels were correlated with depth of invasion, TNM stage and lymph node metastasis (all  $P < 0.05$ ), but not with gender, age, tumor type or histological grade (all  $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** High expression of SH2B1 and RhoA is detectable in esophageal cancer tissues. The expression of SH2B1 and RhoA has close associations with clinicopathologic characteristics of esophageal cancer.

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

Key Word: Esophageal cancer; SH2B1; RhoA

Jiang QH, Chen Y, Wang AX. Clinicopathologic significance of SH2B1 and RhoA expression in esophageal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3706-3709 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3706.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3706>

## 摘要

**目的:** 研究食管癌组织中接头蛋白SH2B1和RhoA的表达及临床病理意义。

**方法:** 应用免疫组织化学方法检测SH2B1和RhoA在食管癌组织及正常组织中的表达情况。

**结果:** 134例食管癌组织中SH2B1和RhoA阳性表达率显著性高于正常组织(84.2% vs 33.6%,  $P = 0.028 < 0.05$ ; 79.8% vs 22.4%,  $P = 0.022 < 0.05$ ), 且SH2B1, RhoA表达与浸润程度, TNM分期及淋巴结转移有关( $P < 0.05$ ), 与患者性别、年龄、肿瘤类型、分化程度无关( $P > 0.05$ )。

**结论:** SH2B1、RhoA在食管癌组织中高表达, 且与食管癌临床病理学特征有着密切关系。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 食管癌; SH2B1; RhoA

**核心提示:** 食管癌组织中SH2B1和RhoA阳性表达率显著性高于正常组织, 且SH2B1、RhoA表达与浸润程度, TNM分期及淋巴结转移有关。

姜齐宏, 陈艳, 王爱祥. 接头蛋白SH2B1和RhoA蛋白在食管癌患

## ■同行评议者

陈洪, 医学博士, 主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 东南大学附属中大医院消化科



者中的表达及临床病理意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3706-3709 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3706.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3706>

## 0 引言

食管癌为常见恶性肿瘤, 世界范围内其发病率及死亡率在常见癌症中分别排第8位及第3位, 在消化系统恶性肿瘤中均排第2位, 仅次于胃癌<sup>[1]</sup>. 食管癌按组织学分类一般可分为腺癌、鳞癌、癌肉瘤级小细胞未分化癌, 其中鳞癌、腺癌占多数(97%)<sup>[2]</sup>. 目前认为食管癌为多因素疾病, 其发病往往由遗传及环境共同作用的结果. 主要危险因素集中在膳食失衡、饮酒、吸烟、消化系统等疾病. 目前针对食管癌的治疗方法主要有化学疗法, 放射疗法及手术疗法, 但预后效果较差, 5%-10%患者生存率可达5年, 但75%患者生存率仅1年. 故早诊断早治疗为目前唯一能有效提高食管癌患者长期生存率的方法. SH2B1为SH2蛋白家族新成员, 主要介导酪氨酸磷酸化信号转导途径. 研究表明SH2B1在非小细胞肺癌<sup>[3]</sup>, 结肠癌中表达量较高<sup>[4]</sup>, 提示该蛋白可能参与癌症的发生及转移. RhoA为小分子G蛋白Rho家族一员, 广泛参与肿瘤细胞的增殖, 凋亡级转移<sup>[5,6]</sup>. 研究表明RhoA在肝癌、卵巢癌、肺癌中表达量较高, 提示该蛋白也在肿瘤的发生发展及转移中有较大作用.

## 1 材料和方法

1.1 材料 本研究所有食管癌标本均来自2010-06/2013-06我院心胸外科住院手术食管癌患者134例, 距癌组织8 cm以外取正常组织. 所有食管癌组织均经临床及病理证实, 且收集术前均经患者同意且获得我院医学伦理委员会批准. 134例食管癌患者中男94例, 女40例, 年龄37-76岁, 平均59.2岁±3.1岁; 其中腺癌47例, 鳞癌87例; 根据食管癌最新国际分期标准进行分期(UICC, 2009), I A: 19例; I B: 15例; II A: 21例; II B: 34例; IIIA: 31例; IIIB: 8例; IIIC: 6例. 其中23例术前诊断为淋巴结转移, 放疗后行手术治疗. 鼠抗人RhoA、SH2B1单克隆抗体均购自美国Santa Cruz公司; DAB染色试剂盒及辣根过氧化物酶标记二抗均购自武汉博士德公司.

### 1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 采用SABC法染色检测, 将标本用4%多聚甲醛固定24 h, 脱水, 包埋. 4 μm连续切片, 50 °C烤片30 min. 脱蜡处理后用

表 1 食管癌组织及正常组织中SH2B1与RhoA的表达差异的比较 ( $n = 134$ )

类型	SH2B1		P值	RhoA		P值
	+	-		+	-	
食管癌组织	113	21	0.028	107	27	0.022
正常组织	45	89		30	104	

3% $H_2O_2$ 室温孵育5-10 min, 以消除内源性过氧化物酶活性. 用枸橼酸钠-微波修复抗原, 再用5%正常山羊血清室温孵育20 min, 以封闭荷电点及消除非特异性着色. 余下步骤按SABC试剂盒说明书操作.

1.2.2 结果判定: 切片制作完成后先观察整体染色, 然后在400倍镜下随机选取5个视野, 固定窗口面积, 再用细胞计数软件计数. SH2B1阳性着色主要以细胞质为主, 呈深棕色颗粒. RhoA阳性着色表现为细胞质内棕黄色颗粒. “-”表示为阴性无表达, 阳性表达细胞比率<10%; “+”表示为弱阳性表达, 阳性细胞比率在10%-30%之间; “++”表示阳性表达, 阳性细胞比率>30%.

统计学处理 采用SPSS19.0进行数据统计与分析, 计数资料采用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义.

## 2 结果

2.1 SH2B1与RhoA在食管癌组织中表达情况 食管癌组织中SH2B1阳性表达率为84.2%(113/134), RhoA阳性表达率为79.8%(107/134), 正常组织中SH2B1阳性表达率为33.6%(45/134), RhoA阳性表达率为22.4%(30/134), 两组比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1, 图1).

2.2 SH2B1、RhoA表达与食管癌临床病理因素关系 SH2B1、RhoA表达与浸润程度, TNM分期及淋巴结转移有关( $P < 0.05$ ), 与患者性别、年龄、肿瘤类型、分化程度无关( $P > 0.05$ )(表2).

## 3 讨论

SH2B1是由Osborne等<sup>[7]</sup>利用双酵母杂交筛选系统分离鉴定得出的蛋白. SH2B1为SH2B家族成员, 包含SH2及PH结构域, 在生长发育, 免疫调节及代谢平衡中发挥着重要调控作用<sup>[8]</sup>. SH2B1为酪氨酸激酶受体A(tyrosine kinase receptor, TrkA)与细胞膜相连的结合蛋白, 主要介导酪氨酸磷酸化信号转导途径, 大量存在于下丘脑、肌肉、肝脏、胰脏等细胞和组织中. 研究表明

### ■研究前沿

食管癌为常见恶性肿瘤, 发病机制尚未完全明确. 本文研究了食管癌组织中接头蛋白SH2B1和RhoA的表达及临床病理意义, 目的是进一步阐明食管癌的发生机制.

## ■相关报道

杨辉等在RhoA在食管癌中的表达及机制研究一文中对RhoA蛋白在食管癌的机制已做了相关研究。

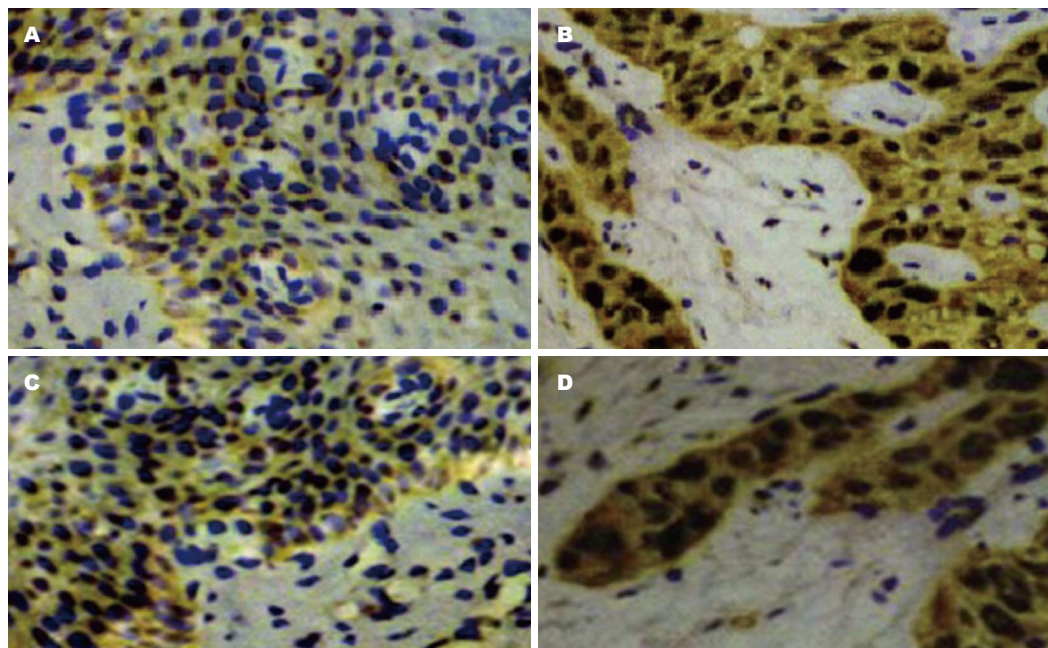


图1 SH2B1及RhoA蛋白表达情况(SABC × 400). A: SH2B1蛋白在正常组织中表达; B: SH2B1蛋白食管癌组织中表达; C: RhoA蛋白在正常组织中表达; D: RhoA蛋白食管癌组织表达。

表2 SH2B1、RhoA表达与食管癌临床病理因素关系

病例因素	SH2B1		P值	RhoA		P值
	+	-		+	-	
性别			0.784			0.843
男	81	13		62	32	
女	33	7		23	17	
年龄(岁)			0.764			0.787
≤50	69	15		72	12	
>50	44	6		43	7	
肿瘤类型			0.698			0.721
腺癌	42	5		27	20	
鳞癌	73	14		59	28	
分化程度(G)			0.761			0.812
G1+G2	79	15		64	30	
G3+G4	34	6		25	15	
浸润程度(T)			0.021			0.032
T1	15	9		13	11	
T2	27	10		25	12	
T3	33	9		30	12	
T4	28	3		16	15	
TNM分期			0.011			0.254
I	20	14		19	15	
II	38	17		35	20	
III	38	7		31	14	
淋巴结转移(N)			0.021			0.032
有	20	3		16	7	
无	90	21		62	49	

SH2B1不仅与胰岛素敏感性及血糖平衡调节, 增强神经生长因子(nerve growth factor, NGF)诱导

的神经分化有关, 还与调节体质量及能量代谢有关. 研究发现脑中SH2B1主要控制肥胖, 利用IRS1、JAK2、瘦素等调节酪氨酸酶信号转导途径, 从而调节机体正常能量代谢<sup>[9]</sup>. 也有研究表明SH2B1蛋白参与小鼠哮喘的发病. 由于SH2B1蛋白参与血糖平衡及能量代谢等调节, 提示该蛋白可能为一种细胞周期正性调控因子. 研究发现SH2B1蛋白在结肠癌、结肠腺癌、非小细胞肺癌中表达增强, 提示SH2B1在细胞癌变过程中异常活化, 可能通过促进细胞异常增值参与细胞癌变. 本研究利用免疫组织化学检测食管癌组织及正常组织中SH2B1表达, 结果发现食管癌组织中SH2B1阳性表达率显著性高于正常组织( $P<0.05$ ), 说明该蛋白在食管癌组织中表达异常升高. 这些结果与SH2B1在结肠癌、非细胞肺癌表达异常升高相一致, 提示SH2B1在细胞及组织癌变中发挥重要作用.

RhoA为小分子G蛋白Rho家族一员, 具有GTP酶活性, 通过对细胞骨架作用, 调节细胞与细胞, 或细胞与基质间的相互作用, 调控细胞迁移<sup>[10]</sup>. Rho GTPases作为一种分子开关<sup>[11]</sup>, 参与非活化GDP结合形式及活化GTP结合形式间循环, 与下游分子相互作用, 参与多种细胞生理活动调节. RhoA为Rho家族成员, 与GTP结合而激活下游ROCK蛋白, 从而调节细胞收缩<sup>[12,13]</sup>, 迁移及分裂等. 因RhoA广泛参与细胞骨架重组, 细胞运动, 细胞黏附等过程, 故其可能在肿瘤的增殖、

凋亡, 血管形成, 转移等过程有关<sup>[14,15]</sup>. 研究表明在人类许多肿瘤如卵巢癌、肺癌、肝癌及睾丸癌等肿瘤中均有异常高表达. 而且也有研究表明RhoA在食管鳞癌的转移及侵袭中发挥重要作用. 本研究利用免疫组织化学检测了其在食管癌组织及正常组织中的表达情况, 结果发现在食管癌组织中RhoA阳性表达率显著性高于正常组织( $P<0.05$ ), 这表明RhoA在食管癌发生发展及转移中发挥重要作用.

本研究发现SH2B1与RhoA的表达与患者年龄、性别、肿瘤类型及分化程度无关, 但与肿瘤的浸润程度、分期及是否淋巴结转移相关, 这说明该两种蛋白在食管癌的转移及侵袭中发挥重要作用.

总之, SH2B1、RhoA在食管癌组织中高表达, 且与食管癌临床病理学特征有着密切关系.

#### 4 参考文献

- 1 林称意, 郭家龙, 左顺庆, 张军, 谢斌生. 食管鳞状细胞癌中PTTG和bFGF的表达与临床病理因素的关系. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2399-2403
- 2 张航, 段朝军, 张恒, 程远大, 张春芳. 接头蛋白SH2B1在食管癌中的表达及意义. 中南大学学报(医学版) 2013; 38: 125-131
- 3 张春芳, 陈伟, 黄琼辉. SH2-B在非小细胞肺癌中的表达. 中华实验外科杂志 2009; 10: 1360-1362
- 4 李建国, 华建江, 黄大毛. SH2-B在结肠癌组织中表达及临床意义. 中国现代医学杂志 2010; 13: 2004-2007
- 5 Rathinam R, Berrier A, Alahari SK. Role of Rho GTPases and their regulators in cancer progression. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2011; 16: 2561-2571 [PMID: 21622195 DOI: 10.2741/3872]
- 6 Reymond N, Riou P, Ridley AJ. Rho GTPases and cancer cell transendothelial migration. *Methods Mol Biol* 2012; 827: 123-142 [PMID: 22144272 DOI: 10.1007/978-1-61779-442-1\_9]
- 7 Osborne MA, Dalton S, Kochan JP. The yeast tribrid system--genetic detection of trans-phosphorylated ITAM-SH2-interactions. *Biotechnology (N Y)* 1995; 13: 1474-1478 [PMID: 9636306 DOI: 10.1038/nbt1295-1474]
- 8 Song W, Ren D, Li W, Jiang L, Cho KW, Huang P, Fan C, Song Y, Liu Y, Rui L. SH2B regulation of growth, metabolism, and longevity in both insects and mammals. *Cell Metab* 2010; 11: 427-437 [PMID: 20417156 DOI: 10.1016/j.cmet.2010.04.002]
- 9 王湘冀, 吴静, 刘炜芳. SH2B1, SOCS3和PTPIB在高脂性肥胖小鼠下丘脑中的动态变化. 中国实用医药 2010; 28: 70-71
- 10 Arpaia E, Blaser H, Quintela-Fandino M, Duncan G, Leong HS, Ablack A, Nambiar SC, Lind EF, Silvester J, Fleming CK, Rufini A, Tusche MW, Brüstle A, Ohashi PS, Lewis JD, Mak TW. The interaction between caveolin-1 and Rho-GTPases promotes metastasis by controlling the expression of alpha5-integrin and the activation of Src, Ras and Erk. *Oncogene* 2012; 31: 884-896 [PMID: 21765460 DOI: 10.1038/onc.2011.288]
- 11 何桂钧, 朱宏, 唐娜娜, 丁宗励, 郝波, 施瑞华. Wortmannin阻断P13K/AKT途径对食管癌缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 及糖酵解的影响. 中华消化杂志 2012; 32: 164-169
- 12 刘飞, 刘芳, 孙玉琳, 赵晓航. 微管不稳定蛋白在食管癌细胞和组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1306-1312
- 13 刘相萍, 王海波, 刘延军. RhoA, RhoC基因在结直肠癌组织中的表达及其意义. 中华实验外科杂志 2008; 25: 888-890
- 14 李涛, 明佳, 徐竞. RhoA对失血性休克大鼠血管反应性的调节作用. 中华实验外科杂志 2009; 26: 281-283
- 15 唐发清, 李建国, 陈宇. SH2B与结肠癌细胞运动和迁移相关性的研究. 中华肿瘤防治杂志 2011; 18: 1-4

#### ■同行评价

本文设计合理, 方法可靠, 对食管癌的治疗有一定参考意义.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# Ivor-Lewis与左胸一切口治疗食管中下段癌的近期疗效

陆国庆, 李刚, 居来提·艾尼瓦尔, 李德生, 伊力亚尔·夏合丁, 张力为

## ■背景资料

食管癌是我国常见的一种恶性肿瘤, 发病率为22.14/10万, 列第5位, 死亡率高, 预后差。食管癌多发生于胸中段食管, 其次为下段。中下段食管癌以经左胸一切口及Ivor-Lewis手术最为常用, 但对于这两种手术方式的优劣及选择仍存在较多争议。

陆国庆, 李刚, 居来提·艾尼瓦尔, 李德生, 伊力亚尔·夏合丁, 张力为, 新疆医科大学第一附属医院胸外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市830054

陆国庆, 主治医师, 主要从事食管癌的治疗。

作者贡献分布: 此课题由陆国庆与张力为设计; 临床操作由居来提·艾尼瓦尔、李德生、伊力亚尔·夏合丁及张力为完成; 资料收集由陆国庆与李刚完成; 论文由陆国庆完成, 张力为指导。

通讯作者: 张力为, 教授, 主任医师, 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胸外科。zhangliwei@medmail.com.cn

收稿日期: 2013-07-06 修回日期: 2013-08-04

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-11-28

## Ivor-Lewis esophagectomy versus one-incision esophagectomy via the left thoracic approach in the treatment of middle and lower thoracic esophageal carcinoma

Guo-Qing Lu, Gang Li, Ainiwaer·Julaiti, De-Sheng Li, Xiaheding·Yiliyaer, Li-Wei Zhang

Guo-Qing Lu, Gang Li, Ainiwaer·Julaiti, De-Sheng Li, Xiaheding·Yiliyaer, Li-Wei Zhang, Department of Thoracic Surgery, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Li-Wei Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Thoracic Surgery, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, 137 Liyushan Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zhangliwei@medmail.com.cn

Received: 2013-07-06 Revised: 2013-08-04

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To compare the short-term efficacy and postoperative complications of Ivor-Lewis esophagectomy and one-incision esophagectomy via the left thoracic approach in the treatment of middle and lower thoracic esophageal carcinoma.

**METHODS:** Clinical data for 269 patients with middle or lower thoracic esophageal carcinoma who underwent surgical treatment between January 2010 and December 2012 were analyzed retrospectively, of whom 114 received Ivor-Lewis esophagectomy and 155 received one-incision

esophagectomy via the left thoracic approach. The data regarding surgical procedures and perioperative complications were compared between the two groups.

**RESULTS:** The number of resected lymph nodes was significantly less in the Ivor-Lewis esophagectomy group than in the one-incision esophagectomy group ( $16.5 \pm 3.5$  vs  $11.6 \pm 2.2$ ,  $P < 0.001$ ). The rate of lymph node metastasis ( $15.72\%$  vs  $8.14\%$ ,  $\chi^2 = 6.32$ ,  $P < 0.05$ ) and the positive rate of surgical margins ( $0\%$  vs  $1.9\%$ ,  $P < 0.05$ ) were statistically significant between the two groups. There was no significant difference in the rate of perioperative complications ( $23.7\%$  vs  $27.7\%$ ,  $P > 0.05$ ), but the rates of respiration failure and arrhythmia were lower and the length of postoperative hospital stay were shorter in the Ivor-Lewis esophagectomy group.

**CONCLUSION:** Ivor-Lewis esophagectomy is superior to one-incision esophagectomy via the left thoracic approach in the treatment of middle and lower thoracic esophageal carcinoma in terms of lymph node dissection, the positive rate of surgical margin, postoperative recovery, and the rates of respiration failure and arrhythmia.

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

**Key Words:** Esophageal carcinoma; Surgical procedure; Postoperative complications

Lu GQ, Li G, Ainiwaer Julaiti, Li DS, Xiaheding Yiliyaer, Zhang LW. Ivor-Lewis esophagectomy versus one-incision esophagectomy via the left thoracic approach in the treatment of middle and lower thoracic esophageal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3710-3714 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3710.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3710>

## 摘要

**目的:** 比较Ivor-Lewis手术与经左胸一切口手术治疗中下段食管癌的优缺点及术后并发症发生的差异。

## ■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

**方法:** 回顾性分析2010-01/2012-12收治的269例中下段食管癌手术资料, Ivor-Lewis 114例, 左胸一切口155例, 比较两组患者手术相关参数以及围手术期并发症。

**结果:** Ivor-Lewis手术组和经左胸组淋巴结清扫平均数分别是16.5枚±3.5枚和11.6枚±2.2枚( $P<0.001$ ); 上纵隔淋巴结转移率分别是15.72%、8.14%( $\chi^2 = 6.32, P<0.05$ ); 上切缘阳性率分别为0%、1.9%( $P<0.05$ ); 术后两组并发症发生率分别是23.7%、27.7%( $P>0.05$ ), 呼吸衰竭及心律失常发生率低于左胸组; 术后住院日低于左胸组。

**结论:** Ivor-Lewis手术治疗中下段食管癌, 在淋巴结清扫及上切缘阳性率, 术后患者恢复方面有一定优势, 术后心肺并发症少。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 食管癌; 手术方式; 术后并发症

**核心提示:** Ivor-Lewis和经左胸一切口手术在清扫淋巴结的数目、上切缘阳性率、术后心肺并发症, 以及术后患者的恢复等方面, Ivor-Lewis有一定优势。具有术后恢复快的优点。尤其适用于高龄患者或心肺功能欠佳的患者。

陆国庆, 李刚, 居来提·艾尼瓦尔, 李德生, 伊力亚尔·复合丁, 张力为. Ivor-Lewis与左胸一切口治疗食管中下段癌的近期疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3710-3714 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3710.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3710>

## 0 引言

食管癌是我国常见的一种恶性肿瘤, 发病率为22.14/10万, 列第5位, 死亡率高, 预后差, 近年来有年轻化的趋势。食管癌存在着显著的地域分布差异, 欧美国家以胸下段食管和食管胃交界部腺癌为主, 而我国95%以上为鳞癌。食管癌多发生于胸中段食管, 其次为下段<sup>[1]</sup>。目前, 首选的治疗方法仍是外科手术治疗, 常用手术方式包括经左胸一切口手术、Ivor-Lewis手术、经上腹、右胸及左颈三切口手术等。对于中下段食管癌, 以经左胸一切口及Ivor-Lewis手术最为常用, 但对于这两种手术方式的优劣及选择仍存在较多争议, 不同术者对手术方式的选择存在一定偏好。我院在这部分患者手术方式的选择上, 通常结合主刀医师的操作习惯及患者对手术方式充分知情同意的基础上作出决定, 本文

对我院近两年采用Ivor-Lewis及经左胸一切口手术完成的269例中下段食管癌手术进行回顾与总结, 比较上述两种食管中下段癌常用术式在术后早期结果方面的优劣, 从而为食管中下段癌患者选择合理手术方式提供参考。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取我院胸外2010-01/2012-12进行的269例中下段食管癌手术资料, 经左胸一切口155例, Ivor-Lewis组114例。男197例, 女72例, 年龄30-84岁, 平均年龄为58.5岁。术前均行胃镜, 上消化道造影钡餐造影, 胸部及上腹部CT, 术后肿瘤TNM分期按UICC 2009年标准。胸腹部淋巴结清扫范围参照AJCC食管癌淋巴结清扫分布图。一般资料如表1。

**1.2 方法** 手术患者选择: (1)术前均诊断为中下段食管癌; (2)术前临床分期 I -III期; (3)无明确手术禁忌。Ivor-Lewis组: 取仰卧位, 上腹部正中切口, 游离胃, 直线型切割缝合器切除贲门、部分胃底、胃小弯及小弯侧脂肪组织, 制作内径约4 cm管状胃, 清扫贲门、胃左动脉周围淋巴结, 扩大食管裂孔, 经膈肌食管裂孔向上游离下段食管, 更换左侧卧位, 经右胸后外侧第5肋间进胸, 不常规断奇静脉, 若肿瘤外侵明显, 断奇静脉, 游离食管, 距肿瘤上缘5 cm以上切断食管, 清扫上纵隔、食管旁、隆突下、肺门区、右侧喉返神经旁淋巴结。行右侧胸内高位吻合, 采用吻合器吻合, 胃残端采用闭合器闭合。左胸一切口组: 取右侧卧位, 左侧后外侧切口经第6肋间进胸, 游离食管至主动脉弓以上, 清扫上纵隔、食管旁、隆突下、肺门区淋巴结, 打开膈肌游离胃, 清扫贲门、胃左动脉周围淋巴结, 距肿瘤上下切缘5 cm切断食管及胃组织, 制作管状胃并行主动脉弓上吻合<sup>[2]</sup>。

**统计学方法** 采用SPSS17.0软件进行数据分析。计量资料以mean±SD表示, 计量资料采用 $t$ 检验, 计数资料采用 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两种术式参数比较** 淋巴结清扫情况Ivor-Lewis手术组评价淋巴结清扫为16.5枚±3.5枚, 经左胸组11.6枚±2.2枚( $t = 50.58, P<0.001$ )。胸腔淋巴结清扫情况Ivor-Lewis组10.2枚±1.1枚, 上纵隔淋巴结转移率为15.72%(89/566); 左胸组8.4枚±1.3枚, 上纵隔淋巴结转移率为

### ■研究前沿

食管癌是一种侵袭性较强的恶性肿瘤, 纵隔、腹腔、颈部淋巴结的转移率高, 是预后差的恶性肿瘤之一。Ivor-Lewis对于胸部右侧及腹部的淋巴结清扫有更大的优势。近期生存率及术后并发症的发生率方面两种手术有无区别。

## ■相关报道

目前Ivor-Lewis手术相关报导文献中有改良版Ivor-Lewis手术的报导,简化了手术方法,节省了手术时间,但此种术式还未被普遍应用。

表 1 269例接受手术治疗中下段食管癌患者资料  $n(\%)$ 

特征	Ivor-Lewis	左胸	$\chi^2$	P值
性别				
男	85(74.6)	112(72.3)	0.18	>0.05
女	29(25.4)	43(27.7)	0.18	>0.05
民族				
汉族	58(50.9)	74(47.7)	0.26	>0.05
少数民族	56(49.1)	81(52.3)	0.26	>0.05
年龄(岁)				
<60	47(41.2)	49(31.6)	0.01	>0.05
≥60	67(58.8)	106(68.4)	0.01	>0.05
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	21.8±5.2	22.2±4.8	0.65	>0.05
吸烟人数	82(71.9)	95(61.3)	3.30	>0.05
FEV1(mL)	86.4±21.2	87.1±20.5	0.27	>0.05
肿瘤(cm)				
<3	17(14.9)	15(9.7)	1.72	>0.05
3-5	75(65.8)	96(61.9)	0.42	>0.05
>5	22(19.3)	44(28.4)	0.42	>0.05
TNM				
I期	12(10.5)	18(11.6)	0.08	>0.05
II期	54(47.4)	72(46.5)	0.02	>0.05
III期	48(42.1)	65(41.9)	0.12	>0.05

8.14%(14/172). 两组上纵隔淋巴结转移数之间差异有统计学意义( $\chi^2 = 6.32, P < 0.05$ ). 腹腔淋巴结清扫情况: Ivor-Lewis 6.3枚±1.1枚, 左胸组3.2枚±0.9枚. Ivor-Lewis组淋巴结共清扫1881枚, 淋巴结转移率(阳性淋巴结)为16.6%(315/1881). 左胸组淋巴结共清扫1798枚, 淋巴结转移率(阳性淋巴结)为23.6%(425/1798)(表2).

2.2 切缘阳性率的比较 Ivor-Lewis手术组和经左胸组上切缘阳性率分别为0%(0/114)、1.9%(3/155)( $\chi^2 = 4.33, P < 0.05$ ), 两组有统计学意义. 经左胸组有1例为上切缘不典型增生统计为上切缘阳性结果.

2.3 术后并发症的比较 患者围手术期死亡Ivor-Lewis手术组2例, 经左胸组5例. 两组围手术期死亡率方面无明显统计学意义( $\chi^2 = 0.13, P > 0.05$ ). 术后共有71例患者出现并发症, Ivor-Lewis手术组为27例, 左胸组43例(表3).

### 3 讨论

食管癌是一种侵袭性较强的恶性肿瘤, 纵隔, 腹腔, 颈部淋巴结的转移率高, 是预后差的恶性肿瘤之一. 目前外科手术治疗仍是食管癌的首选治疗方案, 手术方式包括: Ivor-Lewis食管癌手术, 经左胸一切口, 经右胸、上腹、颈部三切口,

经左胸、食管胃颈部吻合两切口等. 近几年来, 微创食管癌根治术亦得到了迅猛发展. 然而就选择何种最佳手术方式, 仍无公认的标准. 无论何种手术方式其评价标准自然是提高远期的生存率, 降低肿瘤复发转移, 减少围手术期并发症的发生<sup>[3]</sup>. 本研究回顾性的分析了目前较为普遍采用的Ivor-Lewis手术和经左胸手术方式, 意在为选择一个较为理想的手术方式提供一定的临床参考.

两组在手术时间上Ivor-Lewis采用右胸后外侧切口+上腹部正中切口, 术中变换体位, 增加了手术时间. 近来出现了改良的Ivor-Lewis手术, 其采用右胸前外侧切口+上腹部正中切口, 相对简化了手术过程, 缩短了手术时间<sup>[4]</sup>. 经左胸一切口具有手术时间短, 术中出血少等优势<sup>[5]</sup>.

淋巴结清扫彻底与否以及切缘的阳性与否是影响食管癌外科治疗预后的关键因素<sup>[6]</sup>. 有研究表明胸部中上段纵隔淋巴结是食管癌复发转移的常见区域<sup>[7]</sup>. 由于两侧胸部解剖结构的差异, 所以选择手术方式对清扫淋巴结和上切缘的高度有影响. Ivor-Lewis对于胸部右侧及腹部的淋巴结清扫有更大的优势, 术中能彻底清扫2R、4R、10R、右9组淋巴结, 其中2R、4R组是比较容易转移的淋巴结. 而左胸组对主动脉弓上食管暴露较差, 限制了食管切除的长度及淋巴结清扫, 无法很好的清扫气管旁和喉返神经旁淋巴结. 就目前研究显示纵隔淋巴结清扫对预后有着明显的影响<sup>[8]</sup>. 左胸一切口切除食管长度受限, 因而增加了上切缘阳性率的发生.

术后并发症方面: (1)左胸组在呼吸衰竭及心律失常发生率较高考虑为经左胸组胸部手术操作时间长, 对心肺功能影响大, 且切开膈肌时膈神经的分支受损造成膈肌麻痹, 而右侧开胸胸部操作时间短, 术中膈肌受到一定保护, 保持估计完整性, 降低手术对患者呼吸功能损害, 对心肺功能影响小, 因而心脏及肺部并发症较少<sup>[9]</sup>; (2)Ivor-Lewis胸腔胃滞留发生率较高. 与术后胃蠕动功能未能完全恢复和迷走神经干切断后导致幽门排空障碍, 以及胸胃未能适当的固定在食管床中, 致使胃在膈肌裂孔处受压所致. Ivor-Lewis组喉返神经损伤较高, 考虑与较多病变位于隆突之上和经右胸清扫2R组淋巴结有关, 增加了右喉返神经损伤的几率; (3)右侧开胸便于游离胸导管, 易于结扎<sup>[10]</sup>. 术后应用镇痛泵有利于术后患者的恢复, 减少术后并发症的发生<sup>[11]</sup>.

总之, Ivor-Lewis和经左胸一切口手术都可



表 2 两组手术参数比较

分类	Ivor-Lewis	左胸	统计值	P值
手术时间(min)	276.2 ± 46.6	212.1 ± 36.5	12.65	< 0.05
出血量(mL)	225.5 ± 62.2	192.8 ± 50.6	4.75	< 0.05
淋巴结清扫(枚)	16.5 ± 3.5	11.6 ± 2.2	15.4	< 0.05
术中补液量(L)	3.4 ± 0.5	2.9 ± 0.4	9.1	< 0.05
术中输血n(%)	15(13.2)	22(14.2)	0.06	> 0.05
镇痛泵n(%)	75(65.8)	46(29.7)	34.6	< 0.05
术后住院日(d)	12.6 ± 3.8	13.8 ± 4.6	2.27	< 0.05
ICU住院日(d)	0.87 ± 0.4	0.92 ± 0.3	1.17	> 0.05
带鼻胃管时间(d)	6.5 ± 1.2	6.7 ± 0.9	1.56	> 0.05
经口进食时间(d)	7.2 ± 0.4	7.5 ± 0.3	7.03	> 0.05

表 3 两组术后并发症比较 n(%)

并发症	Ivor-Lewis	左胸	$\chi^2$	P值
肺部感染	4(3.5)	5(3.2)	2.90	> 0.05
心律失常	2(1.8)	11(7.1)	4.07	< 0.05
喉返神经损伤	7(6.1)	2(1.3)	3.60	< 0.05
吻合口瘘	1(0.9)	3(1.9)	0.04	> 0.05
乳糜胸	2(1.8)	5(3.2)	0.13	> 0.05
胃潴留	5(4.4)	0(0)	4.73	< 0.05
切口感染	3(2.6)	2(1.3)	0.12	> 0.05
脓胸	1(0.9)	3(1.9)	0.04	> 0.05
呼吸衰竭	2(1.8)	12(7.7)	4.77	< 0.05
合计	27(23.7)	43(27.7)	0.56	> 0.05

作为中下段食管癌的手术方式。在清扫淋巴结的数目、上切缘阳性率、术后心肺并发症以及术后患者的恢复等方面, Ivor-Lewis有一定优势。近来国内外相关文献报导行较为完整的两野淋巴结清扫, 有较好的5年生存率, 可达到49%-55%左右, 相比经左胸一切口提高了15%左右<sup>[12,13]</sup>。而且Ivor-Lewis手术降低了心肺并发症的发生, 具有术后恢复快的优点<sup>[14]</sup>。尤其适用于高龄患者或心肺功能欠佳的患者<sup>[15]</sup>。由于本研究的资料为近期病例, 故3年、5年生存率随访仍未完成。

#### 4 参考文献

- 1 吴孟超, 吴在德. 黄家驷外科学. 北京: 人民卫生出版社, 2008
- 2 郭兰敏, 范全心, 邹承伟. 实用胸心外科手术学(第3版). 北京: 科学出版社, 2010: 675
- 3 Donahue JM, Nichols FC, Li Z, Schomas DA, Allen MS, Cassivi SD, Jatoi A, Miller RC, Wigle DA, Shen KR, Deschamps C. Complete pathologic response after neoadjuvant chemoradiotherapy for esophageal cancer is associated with enhanced survival. *Ann Thorac Surg* 2009; 87: 392-398; discussion 392-398 [PMID: 19161745]
- 4 朱晓峰, 王洲, 陈福庆, 刘相燕, 于洋, 刘凡英. 改良Ivor-Lewis术与经左胸左颈二切口根治术治疗胸中段食管鳞癌的疗效的比较. *肿瘤* 2009; 12: 1153
- 5 罗强, 蓝碧洋, 钟醒能, 黄绍华, 张晓安, 黄斯阳. 两种径路治疗胸中段食管癌的手术评价. *河北医学* 2012; 18: 50-51
- 6 毛友生, 赫捷, 程贲. 我国食管癌外科治疗的现状与未来对策. *中华肿瘤杂志* 2010; 32: 401-404
- 7 Zheng YZ, Dai SQ, Li W, Cao X, Wang X, Fu JH, Lin P, Zhang LJ, Lu B, Wang JY. Comparison between different reconstruction routes in esophageal squamous cell carcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5616-5621 [PMID: 23112556 DOI: 10.3748/wjg.v18.i39.5616]
- 8 蒋耀光, 赵云平. 食管癌诊疗新进展. *中华消化外科杂志* 2007; 6: 401-403
- 9 Lerut T, Moons J, Coosemans W, Van Raemdonck D, De Leyn P, Decaluwé H, Decker G, Nafteux P. Postoperative complications after transthoracic esophagectomy for cancer of the esophagus and gastroesophageal junction are correlated with early cancer recurrence: role of systematic grading of complications using the modified Clavien classification. *Ann Surg* 2009; 250: 798-807 [PMID: 19809297 DOI: 10.1097/sla.0b013e3181bdd5a8]
- 10 周源, 汪栋, 韩开宝, 孙宏志, 许罡, 路东明, 张剑锋. 胸中段食管癌手术径路的个体化选择. *临床肿瘤学杂志* 2012; 17: 32-35

#### ■创新盘点

食管癌是我国常见的一种恶性肿瘤, 尤其在新疆多民族地区, 哈萨克族发病率比较高, 与其他以汉族人群为主要研究对象的文献有所区别。

## ■同行评价

本文属回顾性临床经验总结, 内容简明有特点, 研究目的、各种数据与结论相符。研究方法和技术有可比性, 实验对照的设计较合理可靠, 统计学处理方法的使用恰当, 结论较明确。对临床工作具有一定指导意义。

- 11 苗栓林, 苗满园, 刘洪涛, 李伟, 李仁栓, 李玉强. Ivor Lewis术式治疗食管中下段癌65例临床分析. 临床和实验医学杂志 2012; 11: 1737-1738
- 12 邢军, 陆辉辉, 李文韬, 赖习华, 朱炳南, 胡海涛. 不同方式中下段食管癌跟事实特点及疗效的对比分析. 临床军医杂志 2012; 8: 823-825
- 13 Chen G, Wang Z, Liu XY, Zhang MY, Liu FY. Clinical study of modified Ivor-Lewis esophagectomy plus adjuvant radiotherapy for local control of stage IIA squamous cell carcinoma in the mid-thoracic esophagus. *Eur J Cardiothorac Surg* 2009; 35: 1-7 [PMID: 18926712 DOI: 10.1016/j.ejcts.2008.09.002]
- 14 杨弘, 傅剑华. 以手术为主的食管癌综合治疗新进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3471-3475
- 15 Pellen MG, Sabri S, Razack A, Gilani SQ, Jain PK. Safety and efficacy of self-expanding removable metal esophageal stents during neoadjuvant chemotherapy for resectable esophageal cancer. *Dis Esophagus* 2012; 25: 48-53 [PMID: 21595778 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01206.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

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

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、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。

# 乌鲁木齐市维吾尔族人群胃食管反流症状的流行病学调查及防治

荣亮, 李可, 郑森元, 刘芳, 刘慧敏, 侯慧

荣亮, 李可, 郑森元, 刘慧敏, 侯慧, 新疆医科大学第五附属医院消化科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

刘芳, 新疆医科大学第五附属医院老年病科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

荣亮, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由李可设计; 研究过程由李可与荣亮操作完成; 数据分析与论文写作由荣亮与郑森元完成; 论文修改由李可完成; 刘芳、刘慧敏及侯慧负责数据的调查与收集。

通讯作者: 李可, 副教授, 830011, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市河南西路118号, 新疆医科大学第五附属医院消化科。

635323650@qq.com

电话: 0991-7924597

收稿日期: 2013-08-11 修回日期: 2013-09-13

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-28

## Symptomatic gastroesophageal reflux disease among Uygur residents in Urumqi: An epidemiological study and preventive treatment

Liang Rong, Ke Li, Sen-Yuan Zheng, Fang Liu, Hui-Min Liu, Hui Hou

Liang Rong, Ke Li, Sen-Yuan Zheng, Hui-Min Liu, Hui Hou, Department of Gastroenterology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Fang Liu, Department of Gerontology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Ke Li, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. 635323650@qq.com

Received: 2013-08-11 Revised: 2013-09-13

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To explore the prevalence of symptomatic gastroesophageal reflux disease (GERD) and reflux esophagitis (RE) in a Uygur adult population in Urumqi, to identify the risk factors for GERD, and to explore the preventive treatment of this disease in some patients.

**METHODS:** A total of 3000 Uygur residents aged from 18 to 78 years old were studied, and

2980 patients completed the study. This study was performed by clustering, stratifying and simple random sampling. Symptom scores were calculated using the GerdQ scale (the highest score is 18). GerdQ score  $\geq 8$  indicated the presence of symptomatic GERD. Subjects with a GerdQ score  $\geq 8$  were included in the observation group, and those with a GerdQ score  $< 8$  were assigned to the control group. A case-control study was also performed in some subjects to confirm the diagnosis of GERD and RE. Multivariable logistic regression analysis was performed to analyze risk factors for GERD. In addition, 53 subjects with GERD were divided into an esomeprazole group, a cimetidine group, and a lifestyle changes group to receive 4 weeks of treatment, and the treatment effects were compared.

**RESULTS:** Of 2980 subjects who completed the survey, 468 (15.6%) had symptomatic GER (GerdQ score  $\geq 8$ ), and the male-to-female ratio was 1.07:1. The correct incidence was 72.86%. Estimated prevalence for GERD and RE was 11.44% and 2.92%, respectively. High-fat diet (OR = 7.964), drinking (OR = 3.804), drinking strong tea (OR = 2.758), abdominal obesity (OR = 2.713), greasy food (OR = 2.408) and *Helicobacter pylori* infection (OR = 0.186) were factors associated with the development of GERD. The rates of symptom improvement for the esomeprazole group, cimetidine group and lifestyle change group were 88.24%, 47.06% and 26.32%, respectively.

**CONCLUSION:** GERD is a multi-factorial disease. High-fat diet, drinking, drinking strong tea, abdominal obesity, and greasy food are risk factors for GERD, while *Helicobacter pylori* infection is a protective factor for GERD. Changing eating habits and lifestyle is helpful in controlling GERD.

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

## ■背景资料

胃食管反流病 (gastroesophageal reflux disease, GERD) 在西方国家比较常见, 其患病率约为 20%-40%, 亚洲地区约为 5%-17%, 中国的 GERD 患病率总体呈现出南低北高的趋势。本文调查了乌鲁木齐市维吾尔族人群 GERD 的患病水平并分析相关危险因素, 旨在为当地 GERD 的预防与治疗提供依据。

## ■同行评议者

沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科



## ■研究前沿

本文调查了乌鲁木齐市维吾尔族人群GERD的患病水平并分析相关危险因素,有助于我们需积累更多的临床经验,寻求治疗效果与医疗费用的平衡。

**Key Words:** Uygur; Gastroesophageal reflux disease; Reflux esophagitis

Rong L, Li K, Zheng SY, Liu F, Liu HM, Hou H. Symptomatic gastroesophageal reflux disease among Uygur residents in Urumqi: An epidemiological study and preventive treatment. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3715-3719 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3715.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3715>

## 摘要

**目的:** 了解乌鲁木齐市维吾尔族人群胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)和反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)在2013-02/2013-04调查时的患病率及其相关危险因素,并选取部分患者进行干预治疗。

**方法:** (1)对本市区18-78岁维吾尔族常住人口进行整群、分层、随机抽样的问卷调查,样本量为3000例,完成者2980例。根据胃食管反流病问卷(gastroesophageal reflux disease questionnaire, GerdQ)行症状积分(症状积分分值最高18分),症状积分分值 $\geq 8$ 表明存在症状性反流,并且将症状积分分值 $\geq 8$ 的人群作为观察组,症状积分分值 $< 8$ 的人群作为对照组;随机抽取观察组与对照组部分反流阳性的患者进行胃镜、24 h pH值监测等作精查,根据精查的正确率对普查结果校正后测算出患病率;(2)采用多因素Logistic回归分析影响症状性反流的因素;(3)确诊为GERD的53例患者被随机分为埃索美拉唑组(A组)、西米替丁组(B组)和改变生活方式组(C组),治疗4 wk后比较症状改善情况。

**结果:** (1)共2980例完成筛查,男女之比为1.07:1,样本中症状积分分值 $\geq 8$ 者468例(15.60%),精查正确率为72.86%,据此推算GERD的患病率为11.44%,RE为2.92%;(2)高脂饮食[优势比(odds ratio, OR) = 7.964]、饮酒(OR = 3.804)、饮浓茶(OR = 2.758)、腹型肥胖(OR = 2.713)、饱食(OR = 2.408)、幽门螺杆菌感染(OR = 0.186)与胃食管反流症状存在相关性;(3)埃索美拉唑组(A组)、西米替丁组(B组)和改变生活方式组(C组)干预治疗4 wk后,症状改善率分别为88.24%、47.06%和26.32%。

**结论:** GERD为多发疾病,高脂饮食、饮酒、饮浓茶、腹型肥胖、饱食是GER的危险因素,幽门螺杆菌感染是GER的保护因素。改变饮食习惯及生活方式对控制胃食管反流症状有益。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 维吾尔族; 胃食管反流病; 反流性食管炎

**核心提示:** 胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)为多发疾病;高脂饮食、饮酒、饮浓茶、腹型肥胖、饱食是症状性反流(GER)的危险因素,幽门螺杆菌感染是GER的保护因素。改变饮食习惯及生活方式对控制胃食管反流症状有益。

荣亮, 李可, 郑森元, 刘芳, 刘慧敏, 侯慧. 乌鲁木齐市维吾尔族人群胃食管反流症状的流行病学调查及防治. *世界华人消化杂志* 2013; 21(33): 3715-3719 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3715.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3715>

## 0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)在西方国家比较常见,其患病率约为20%-40%,亚洲地区约为5%-17%<sup>[1]</sup>,中国的GERD患病率总体呈现出南低北高的趋势,据报道一些因素如性别、年龄、体质量指数、教育程度、吸烟、饮酒、油腻食物、药物使用、幽门螺杆菌感染等与GERD发病有关<sup>[2]</sup>。新疆维吾尔族居民饮食以肉制品及奶制品为主,脂肪与蛋白质含量高,因反酸、烧心症状就诊者人数众多,对患者生活质量有很大影响。本文调查了乌鲁木齐市维吾尔族人群GERD的患病水平并分析相关危险因素,旨在为当地GERD的预防与治疗提供依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 以各城区为单位进行整群随机抽样调查,所有研究对象均为本市区常住维吾尔族居民(居住3年以上),共3000例,18-78岁,排除长期外出或因病无法调查者。

### 1.2 方法

**1.2.1 调查内容和方式:** 根据市统计局提供的资料,按照乌鲁木齐市维吾尔族人口年龄、性别构成,根据文献[3],乌鲁木齐市与克拉玛依市同处于北疆地区,但考虑到少数民族饮食习惯等危险因素,假设发病率为9%,计算样本含量约2700例,考虑样本可能缺失情况,实际抽样3000例,完成问卷调查者2980例,男女之比为1.07:1。样本覆盖人群:本市区常住维吾尔族人口309853人,18-78岁人群占本市常住维吾尔族人口的79.32%。样本量3000例,覆盖各年龄组人群为 $3000/79.32\% = 3782$ 例,调查结束后,选取部分

表 1 胃食管反流问卷内容 (n)

项目	从未有过	1 d/wk	2-3 d/wk	4-7 d/wk
烧心	0	1	2	3
反流	0	1	2	3
上腹痛	3	2	1	0
恶心	3	2	1	0
睡眠障碍	0	1	2	3
服用药物	0	1	2	3

被调查者的问卷由另人复核, 正确率为97.42%。采用集中调查, 对研究对象进行问卷调查。问卷内容涉及反流症状、发生频度及程度、伴随症状以及疾病、饮食习惯、生活方式和危险因素等。

1.2.2 症状评分及统计: 调查时采用中文版胃食管反流病问卷(gastroesophageal reflux disease questionnaire, GerdQ)(表1): 问卷包括了6个问题, 使患者回忆过去一周内各个症状发生的频率, 其中包含4个反流相关症状问题, 即阳性问题: 烧心、反流, 症状对睡眠的影响, 患者需要服用非处方药来缓解症状的情况; 2个反流负相关症状的问题, 即阴性问题: 上腹痛和恶心, 症状积分最高分为18分。将调查资料输入电脑, 分档统计。以症状积分分值 $\geq 8$ 作为症状性反流的诊断标准, 其中症状积分分值 $\geq 8$ 共468例, 占总调查人数的15.60%, 症状积分分值 $< 8$ 共2512例, 占总调查人数的83.73%。将上述468例的反流人群作为观察组, 将上述2512例的非反流人群组作为对照组, 以这段时间内有反流症状人群的检出率代表患病率。采用多因素Logistic回归分析年龄、腹型肥胖、生活习惯、饮食习惯、幽门螺杆菌感染情况等与症状性反流之间的关系。

1.2.3 精查: 在2980例普查人群中, 按反流症状积分高低, 随机抽签, 对GerdQ分数 $\geq 8$ 的70例及GerdQ分值 $< 8$ 的30例做了进一步精查, 以除外伴随器质性疾病并确定GERD的诊断。精查项目包括体格检查, 常规化验, 血生化、心电图、胸片、肝、胆、胰、脾; 并均行 $^{14}\text{C}$ -呼气试验、无痛胃镜检查及24 h pH监测。胃镜下观察有无食管炎, 按照洛杉矶国际消化会议(第十届)制定的内镜分级标准进行分级诊断。24 h pH监测采用DigiTrapper NK III型携带式pH仪(欧洲CTD-SYNECTCS公司产品)监测记录。24 h内pH $< 4$ 总时间百分率 $\geq 4\%$ 和/或总反流次数 $\geq 50$ 即为异常胃食管反流。若24 h pH监测有异常胃食管反

流指标和/或胃镜下有食管炎(reflux esophagitis, RE), 可诊断为GERD。根据精查的诊断符合率来推测筛查中GERD和RE的阳性率。

1.2.4 分组治疗: 将确诊为GERD的53例患者, 随机分为埃索美拉唑组(A组)、西米替丁组(B组)和改变生活方式组(C组)。A组男9例、女8例, 18-75岁, 平均48.9岁; B组男8例、女9例, 19-76岁, 平均49.3岁; C组男9例、女10例, 20-72岁, 平均48.6岁。3组年龄、性别之间均有可比性, 均排除有其他器质性疾病。改变生活方式包括: 抬高枕头、减少脂肪摄入, 避免过饱, 避免浓茶等刺激性食物, 戒烟限酒, 进餐后3 h避免平卧。方法及疗效判定: A组每日晨起空腹口服埃索美拉唑镁肠溶片40 mg; B组口服西米替丁片200 mg, 早晚各1次; C组仅通过改变生活方式治疗。治疗期间停用其他抗酸药物及胃动力药物, 治疗4 wk后进行疗效判定。症状改善标准为GerdQ症状积分减少1分以上。

统计学处理 选用Excel2003软件数据库对实验数据进行整理, 计量资料统计分析采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示。实验数据采用SPSS17.0统计软件包对计量资料两组间比较进行统计分析, 先进行正态性分布及方差齐性检验, 若呈正态分布、方差齐, 采用两独立样本 $t$ 检验分析, 计算 $t$ 值, 否则用Kruskal-Wallis秩和检验进行比较计算 $\chi^2$ 值( $P < 0.05$ 为差异有统计学意义)。应用多因素Logistic回归分析影响胃食管反流症状的因素, 用向前法筛选变量( $P < 0.05$ 为差异有统计学意义)。

## 2 结果

2.1 GERD和RE的患病率 精查后的对照组(GerdQ分值 $< 8$ )30例中有3例患有其他器质性疾病, 其中1例为十二指肠溃疡, 2例为慢性胆囊炎; 观察组(GerdQ分数 $\geq 8$ )70例中有11例亦有其他器质性疾病, 其中7例为十二指肠溃疡, 4例为胃溃疡, 这些患者的酸反流为症状性反流, 不能诊断为GERD或RE。测算GERD的正确诊断率平均为72.86%, 有反流症状(GerdQ分数 $\geq 8$ )的468例中, GERD应有 $468 \times 72.86\% = 341$ 例, 占筛查人群2980例的 $(341/2980)11.44\%$ , 同样, 可预测RE在本人群中的阳性率为2.92%(表2)。

2.2 胃食管反流症状相关因素的研究 多因素Logistic回归分析显示高脂饮食[优势比(odds Ratio, OR) = 7.964]、饮酒(OR = 3.804)、饮浓茶(OR = 2.758)、腹型肥胖(OR = 2.713)、饱食(OR =

## ■相关报道

据报道一些因素如性别、年龄、体质量指数、教育程度、吸烟、饮酒、油腻食物、药物使用、幽门螺旋杆菌感染等与GERD发病有关。

## ■创新盘点

经文献检索证实, 在新疆地区尚未见有关维吾尔族成年人胃食管反流病发病率的研究报道。

表 2 精查中GERD和RE的正确诊断率  $n(\%)$ 

分组	$n$	胃食管反流病正确 诊断率(GERD)(%)	反流性食管炎正 确诊断率(RE)(%)
对照组(症状 积分分值<8)	30	2(6.67)	1(3.33)
观察组(症状 积分分值≥8)	70	51(72.86)	13(18.57)

GERD: 胃食管反流病; RE: 反流性食管炎。

2.408)、幽门螺杆菌感染( $OR = 0.186$ )与症状性反流(GER)存在相关性(表3)。

2.3 分组治疗结果 治疗4 wk后埃索美拉唑组(A组)、西米替丁组(B组)和改变生活方式组(C组)症状改善率分别为88.24%、47.06%、26.32%, 埃索美拉唑组症状改善优于西米替丁组( $P < 0.05$ )(表4)。

### 3 讨论

GERD是基于胃或十二指肠内容物反流入食管, 引起不适症状和/或并发症的一种疾病<sup>[4]</sup>。在亚洲各国报道的GERD发病率不同, 但通常较低, 可能的原因为低脂肪饮食、体质量指数较低以及可能由于幽门螺杆菌感染引起的酸分泌量减少有关。中国新近1项GERD多中心研究显示中国人群每周烧心、反流的发生率分别为1.83%和4.23%, 烧心和/或反流总发生率为5.16%<sup>[5]</sup>。本次调查研究预测乌鲁木齐市维吾尔族人群GERD的患病率为11.44%, RE为4.26%, 从上述预测结果我们可以看出本市GERD患病率较高。维吾尔族的饮食习惯以牛、羊肉、牛奶等高脂、油腻食物为主, 且该民族患者经常进食过饱, 加之油腻食物摄入过多, 二者增加腹压和延迟胃排空时间, 同时脂肪可能增加食管黏膜对酸的敏感性, 其次通过增加下食管括约肌一过性松弛(transient LES relaxation, TLESR)增加反流<sup>[6]</sup>; 另维吾尔族居民饮酒者较多, 同时习惯饮用浓茶, 酒精和浓茶能刺激胃酸的大量分泌, 胃容积增大, 促使食管下段括约肌呈一过性松弛, 最终导致GERD和RE的发生<sup>[3]</sup>。通过此次调查研究, 我们还发现腹型肥胖亦是GERD发生的危险因素之一, 这可能与肥胖通过增加胃食管压力梯度、增加食管裂孔疝的发生、增加腹内压、增加胆汁和胰酶排泄等有关<sup>[7]</sup>, 因此在GERD防治方面需要注意饮食、生活的调理。

本研究结果显示幽门螺杆菌感染为GERD

的保护因素, 与多数学者<sup>[8-10]</sup>的研究结果相一致, 他们认为幽门螺杆菌感染后通过对胃泌素的调节, 引起食管下括约肌压力的升高从而实现对胃食管反流的保护。另有研究提示胃体幽门螺杆菌影响壁细胞分泌胃酸, 伴随着胃窦部炎症的好转而胃体部炎症的加重泌酸减少, 导致抑酸药物效果的提高<sup>[11]</sup>。

本研究结果显示19例GERD患者经过单纯改变生活方式4 wk后, 症状积分减少>1的有5例(治疗有效率为26.32%), 提示即使采用药物治疗的患者也应积极改变生活方式, 这样可能会减少药物维持治疗的剂量, 增强治疗效果。西米替丁为H<sub>2</sub>受体阻断剂(H<sub>2</sub>RA), 能阻止组胺与H<sub>2</sub>受体相结合, 减少对壁细胞的刺激作用, 使胃酸的分泌量减少, 该药物初用时抑酸效果较好, 但长期使用可能会出现受体耐受性而抑酸作用降低<sup>[12]</sup>。胃酸分泌的最后一个环节是壁细胞上的质子泵(H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶), 埃索美拉唑可以非竞争性不可逆性地抑制壁细胞酸分泌小管上的H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶, 有效地抑制胃酸的分泌, 药效维持时间长, 使反流症状明显改善<sup>[13]</sup>, 但其唯一缺点是治疗费用明显增高。钾竞争性酸受体阻滞剂(potassium competitive acid blockers, P-CABs)是一种有别于质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)的新型抑酸剂, 与PPI只能抑制激活状态的质子泵相比, 该药物对静止状态质子泵亦有抑制作用, 代表药物为盐酸瑞伐拉赞, 该药物已于2007年经韩国FDA批准上市, 目前尚未进入国内市场。有研究<sup>[14,15]</sup>发现该药物与埃索美拉唑相比, 烧心症状缓解率无明显差异, 该药物的疗效有待进一步评估。总之, 我们需积累更多的临床治疗经验, 寻求治疗效果与医疗费用的平衡。

### 4 参考文献

- 赵迎盼, 唐旭东. 关于难治性胃食管反流病定义的探讨. 中华医学杂志 2011; 47: 3374-3376
- 王闫飞, 吴静, 沈艳辉. 胃食管反流病的流行病学研究进展. 现代预防医学 2010; 37: 4417-4417
- 张军汉, 周黎黎, 杨晓燕, 肖翠兰, 迟雪梅, 原旭化, 张晖. 克拉玛依市区胃食管反流症状流行病学调查及防治. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1621-1624
- 林三仁, 许国铭, 胡品津, 周丽雅, 陈旻湖, 柯美云, 袁耀宗, 房殿春, 萧树东. 中国胃食管反流病共识意见(2006-10, 三亚). 中华内科杂志 2007; 46: 170-173
- 陈胜良. 亚太地区胃食管反流病的特点. 胃肠病学 2009; 14: 713-715
- 吴欢, 柯美云. 改变不良生活方式和饮食习惯在胃食管反流病治疗中的作用. 胃肠病学 2009; 14: 449-452
- Kaltenbach T, Crockett S, Gerson LB. Are lifestyle measures effective in patients with gastroesopha-



表 3 胃食管反流症状相关因素的多因素Logistic回归分析

因素	系数(B)	标准误(SE)	$\chi^2$	P值	OR	95% CI for OR	
						Lower	Upper
高脂饮食	2.075	0.132	246.396	0.000	7.964	6.146	10.319
饮酒	1.336	0.124	115.857	0.000	3.804	2.982	4.852
饮浓茶	1.014	0.122	68.886	0.000	2.758	2.170	3.504
腹型肥胖	0.998	0.103	94.747	0.000	2.713	2.219	3.316
饱食	0.879	0.122	51.792	0.000	2.408	1.896	3.060
幽门螺杆菌感染	-1.683	0.135	154.432	0.000	0.186	0.143	0.242

■同行评价

本文设计合理, 结果可信, 研究结果对少数民族地区胃食管反流病的防治有一定指导意义。

表 4 不同治疗组症状改善率的比较

分组	n	GerdQ症状积分减少>1	GerdQ症状积分减少≤1	有效率
埃索美拉唑组(A组)	17	15	2	88.24% <sup>ab</sup>
西米替丁组(B组)	17	8	9	47.06%
改变生活方式组(C组)	19	5	14	26.32%

<sup>a</sup>P<0.05 vs 西米替丁组(B组); <sup>b</sup>P<0.01 vs 改变生活方式组(C组)。

geal reflux disease? An evidence-based approach. *Arch Intern Med* 2006; 166: 965-971 [PMID: 16682569 DOI: 10.1001/archinte.166.9.965]

8 陈吉, 高美丽, 崔宏, 王忠. 胃食管反流病与幽门螺杆菌感染的关系研究. *国际消化病杂志* 2006; 26: 360-361

9 李渊, 周丽雅, 林三仁, 金珠, 崔荣丽, 何平平. 反流性食管炎与幽门螺杆菌感染的关系. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 171-174

10 李渊, 周丽雅, 林三仁, 金珠, 崔荣丽, 王洪源. 反流性食管炎与幽门螺杆菌感染的相关性研究. *中国实用内科杂志* 2009; 9: 833-836

11 Calleja JL, Suarez M, De Tejada AH, Navarro A. Helicobacter pylori infection in patients with erosive esophagitis is associated with rapid heartburn relief and lack of relapse after treatment with pantoprazole. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 432-439 [PMID: 15810621 DOI: 10.1007/s10620-005-2453-8]

12 王河, 汪安江, 朱萱. 胃食管反流病药物治疗进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1711-1719

13 Fass R, Chey WD, Zakko SF, Andhivarothai N, Palmer RN, Perez MC, Atkinson SN. Clinical trial: the effects of the proton pump inhibitor dexlansoprazole MR on daytime and nighttime heartburn in patients with non-erosive reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 1261-1272 [PMID: 19392864 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04013.x]

14 Kahrilas PJ, Dent J, Lauritsen K, Malfertheiner P, Denison H, Franzén S, Hasselgren G. A randomized, comparative study of three doses of AZD0865 and esomeprazole for healing of reflux esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1385-1391 [PMID: 17950677 DOI: 10.1016/j.cgh.2007.08.014]

15 Dent J, Kahrilas PJ, Hatlebakk J, Vakil N, Denison H, Franzén S, Lundborg P. A randomized, comparative trial of a potassium-competitive acid blocker (AZD0865) and esomeprazole for the treatment of patients with nonerosive reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 20-26 [PMID: 18184117 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01544.x]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



## 药物性肝损伤临床分析324例

张平, 柯玉满, 樊小春, 李玉红

### ■背景资料

肝脏是药物代谢的主要场所,也是较容易受损害的靶器官,药物性肝损伤(drug induced liver injury, DILI)的发病率逐年增加。DILI严重者可致肝功能衰竭,危及生命,是临床医生在执业过程中可能遇到的风险问题,容易引起医患纠纷。本文就DILI的特点进行分析总结。

张平, 樊小春, 李玉红, 原州区人民医院感染科 宁夏回族自治区固原市 756000

柯玉满, 原州区人民医院中医科 宁夏回族自治区固原市 756000

张平, 副主任医师, 主要从事乙型肝炎肝硬化的研究。

作者贡献分布: 此课题由张平设计; 研究过程由张平、柯玉满及樊小春操作完成; 数据分析由张平与樊小春完成; 本论文写作由张平、柯玉满及李玉红完成。

通讯作者: 张平, 副主任医师, 756000, 宁夏回族自治区固原市文化街10号, 原州区人民医院感染科。p13007949888@163.com  
电话: 0954-2078107

收稿日期: 2013-06-19 修回日期: 2013-07-23

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-11-28

### Causes and clinical features of drug-induced liver damage: An analysis of 324 cases

Ping Zhang, Yu-Man Ke, Xiao-Chun Fan, Yu-Hong Li

Ping Zhang, Xiao-Chun Fan, Yu-Hong Li, Department of Infection, Yuanzhou District People's Hospital, Guyuan 756000, Ningxia Hui Autonomous Region, China  
Yu-Man Ke, Department of Traditional Chinese Medicine, Yuanzhou District People's Hospital, Guyuan 756000, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Correspondence to: Ping Zhang, Associate Chief Physician, Department of Infection, Yangzhou District People's Hospital, 10 Wenhua Street, Guyuan 756000, the Ningxia Hui Autonomous Region, China. p13007949888@163.com  
Received: 2013-06-19 Revised: 2013-07-23

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-11-28

### Abstract

**AIM:** To investigate the causes and clinical characteristics of drug-induced liver injury to improve the diagnosis and treatment of this disease.

**METHODS:** Clinical data for 324 patients with drug-induced liver injury who were treated at our hospital from 2003 to 2012 were retrospectively analyzed. Drug-induced liver injury was assessed using the International Consensus quantitative scoring system. The number of treated cases, drug used, clinical manifestations and treatment outcomes were analyzed.

**RESULTS:** Many kinds of drugs could induce liver damage. Anti-tubercular drugs (36.11%), Chinese traditional medicine (32.10%), and anti-inflammatory drugs (10.19%) were among the

top three drugs that could induce liver damage. Liver injury was often mild to moderate. Main clinical manifestations were fatigue, anorexia, colored urine, nausea and right upper quadrant discomfort. After the treatment, 99.1% of cases were cured, and the mortality was 0.9%.

**CONCLUSION:** Anti-tuberculosis drugs and Chinese medicine are main causes of drug-induced liver injury.

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

Key Words: Drug; Liver damage; Clinical features

Zhang P, Ke YM, Fan XC, Li YH. Causes and clinical features of drug-induced liver damage: An analysis of 324 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3720-3723  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3720.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3720>

### 摘要

**目的:** 探讨药物性肝炎的临床特点, 加深对药物性肝损伤(drug induced liver injury, DILI)的认识, 提高本病的诊治水平。

**方法:** 通过对2003-2012年本院药物性肝损伤病例324例进行回顾性研究, 采用急性药物性肝损伤国际共识意见的量化评分系统, 分析诊治病例数、所用药物种类、临床表现和治疗转归。

**结果:** 引起肝损害药物种类繁多, 排列前3位的是抗结核药物36.11%, 中草药和中成药32.10%, 解热镇痛药10.19%。导致肝损伤以轻度为主, 临床表现主要为乏力纳差尿黄恶心上腹不适等; 治疗后, 99.1%治愈, 病死率0.9%。

**结论:** 抗结核和中药是导致DILI的主要药物, 胆汁淤积型及混合型药物性肝损伤引起的病理类型较重。临床用抗结核药物、中药时要注意检测肝功能。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

### ■同行评议者

王蒙, 副教授, 第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科; 刘平, 教授, 主任医师, 南京医科大学第一附属医院(江苏省人民医院)肿瘤内科

关键词: 药物; 肝损伤; 临床特点

**核心提示:** 药物性肝损伤(drug induced liver injury)不可预测, 但妇女、老人容易发生。导致肝损伤药物中: 抗结核药物占36.11%, 中草药和中成药占32.10%, 解热镇痛药占10.19%。临床表现多为非特异性肝脏疾病的症状。损伤类型以肝细胞型多见。年龄与肝功能恢复速度呈负相关, 即年龄越大, 肝功能恢复速度越慢。

张平, 柯玉满, 樊小春, 李玉红. 药物性肝损伤临床分析324例. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3720-3723 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3720.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3720>

## 0 引言

肝脏是药物代谢的主要场所, 因此是较容易受损害的靶器官之一<sup>[1]</sup>。随着临床应用的药物品种越来越多, 导致药物性肝损伤(drug induced liver injury, DILI)的发病率也逐年增加<sup>[2]</sup>。DILI严重者可致肝功能衰竭, 危及生命, 并容易引起医患纠纷。本研究对2003-01/2012-12在原州区人民医院门诊和住院确诊的DILI患者324例的病因及临床特点进行回顾性分析, 总结其特点, 以期引起临床医生足够重视并为加强这些药物的临床监测提供信息资料。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2003-01/2012-12在原州区人民医院门诊和住院确诊的DILI患者病历资料, 根据药物性肝损伤的诊断标准<sup>[3]</sup>对病例进行筛选。入选标准: 根据1989年国际医学科学组织理事会确立的Rousel Ucalf因果关系评估法(Rousel Ucalf causality assessment method, RUCAM)标准<sup>[4,5]</sup>选择RUCAM评分 $\geq 3$ 分的病例资料纳入分析。入选病例共324例, 男128例, 女196例。男女之比1:1.53。肝损伤的类型: 美国食品与药品管理局药物肝毒性指导委员会<sup>[3]</sup>分类标准为: (1)肝细胞损伤型: 丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT) $\geq 3$ 倍正常值上限且 $R \geq 5$ [ $R = \text{ALT超过正常值上限倍数}/\text{碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)超过正常值上限倍数}$ ]; (2)胆汁淤积型:  $ALP \geq 2$ 倍正常值上限且 $R \leq 2$ ; (3)混合型:  $ALT \geq 3$ 倍正常值上限,  $ALP \geq 2$ 倍正常值上限, 且 $2 < R < 5$ 。肝损伤的严重指数: 轻度: 患者血清氨基转移酶或碱性磷酸酶水平升高, 但总胆红素(total bilirubin, TBIL) $< 2.5 \text{ mg/dL}$ , 这种变

化为可复性, 并且无凝血功能异常( $INR < 1.5$ )。又可分为有症状(S)和无症状(A), 症候群包括: 疲乏、恶心、右上腹疼痛、瘙痒、皮疹、黄疸、虚弱、厌食或体质量减轻, 这些症候群被认为是由DILI引起。中度: 患者血清氨基转移酶或碱性磷酸酶水平升高, 且 $TBIL \geq 2.5 \text{ mg/dL}$ 或虽无高胆红素血症但存在凝血功能异常( $INR \geq 1.5$ )。重度: 患者血清氨基转移酶或碱性磷酸酶水平升高,  $TBIL \geq 2.5 \text{ mg/dL}$ , 且因DILI而需要住院治疗(或原已住院的患者住院时间延长)。急性肝功能衰竭: 患者血清氨基转移酶或碱性磷酸酶水平升高,  $TBIL \geq 2.5 \text{ mg/dL}$ , 且至少出现下述情况之一: (1)有肝功能失代偿征象( $INR \geq 1.5$ , 腹水或肝性脑病); (2)出现认为与DILI事件相关的其他器官功能衰竭。致命: 患者因DILI死亡或需要进行肝移植。

**1.2 方法** 通过回顾记录DILD患者的年龄、性别、体质量、原发疾病、服药种类、剂量、给药途径、症状出现的时间、临床表现, 实验室检查(肝功能、凝血功能、病原学检查), 药物性肝损伤处理情况及结局, 进行系统总结分析。

**统计学处理** 采用SPSS12.0软件, 计数资料采用率或构成比表示, 率的比较采用 $\chi^2$ 检验。计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 用配对资料 $t$ 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般情况** 324例患者年龄4-87岁, 平均年龄 $43.4 \pm 16.8$ 岁, 其中 $\geq 65$ 岁94例, 占29.01%; 体质量 $15-102.5 \text{ kg}$ ( $67.0 \text{ kg} \pm 12.4 \text{ kg}$ )。有基础肝病的53例(16.35%)。年龄与肝功能恢复速度呈负相关, 即年龄越大, TBIL及ALT的恢复速度越慢( $t = 2.473, P < 0.05$ )。而年龄与肝损伤类型以及预后没有相关性。性别、基础肝病与肝损伤程度、恢复速度、病程、预后之间均无关系。

**2.2 用药途径及肝损伤情况** 在统计的药物中, 口服药物致肝损伤的233例, 静脉用药83例, 外用药物8例。各类药物引起的肝功能损伤类型如表1。各类药物引起的肝损伤类型差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。本文引起肝损伤的药物多见于: 抗结核药物117例(36.11%); 中草药和中成药104例(32.10%); 解热镇痛药物33例(10.19%)。

**2.3 临床表现** 主要的临床表现为纳差、乏力269例(83.00%); 黄疸177例(53.67%); 上腹部不适164例(50.62%); 皮疹88例(27.16%); 瘙痒73例(22.53%); 发热85例(26.53%); 恶心、呕吐、腹

### ■研究前沿

药物诱发的肝细胞性黄疸易发生急性肝功能衰竭, 病死率约为10%-50%, 称为Hy's定律。美国FDA规定以Hy's定律作为药物肝毒性的警戒线, 作为新药可否上市应用前扩大观察病例的依据。药物导致的肝细胞型黄疸具有立即停药的指征。

### ■相关报道

世界卫生组织统计, DILI已经成为全球的第5位死亡原因。DILI的诊断是以间接证据为基础, 依靠诊断评分系统, 其诊断缺乏“金标准”, 因此, 在临床上, 不同的医务工作者对DILI的认识有所不同。



## ■创新盘点

抗结核药物导致DILI,重症肝损伤病例数较多,是居第2位的肝毒性药物。是加保肝药还是减量,或者停药,这需要权衡利弊,慎之又慎。同时提高公众使用中草药的安全意识的必要性。

表 1 引起药物性肝损伤的药物分类

药物类型	<i>n</i>	百分比(%)
抗结核药	117	36.11
中草药	76	23.46
中成药	28	8.64
抗肿瘤药	8	2.47
调脂药	11	3.39
抗寄生虫药	14	4.32
解热镇痛药	33	10.19
抗变态反应药	5	1.54
抗甲状腺药	17	5.25
激素类药	15	4.63

表 2 肝损伤的临床分型及其出现频率

临床分型	<i>n</i>	百分比(%)
肝细胞型	173	53.4
胆汁淤积型	88	27.2
混合型	63	19.4

胀等169例(52.16%);无症状36例(11.11%)。肝损伤类型分布如表2:肝细胞型53.4%,胆汁淤积型27.2%,混合型19.4%。肝损伤严重指数及其出现频率(表3):轻度56.2%,中度异常29.3%,重度异常9.9%,急性肝功能衰竭3.7%,致命0.9%。TBil升高的有182例(65.9%)。药物性肝损伤合并肾功能异常的占9.83%。

2.4 治疗与转归 324例患者一经确诊,在病情允许的情况下立即停用有关药物或可疑损伤肝脏药物,结核病应权衡利弊调整用药。对无黄疸,ALT≤200 U/L停药后1 wk肝功能均可恢复,对出现黄疸,ALT>200 U/L,静脉给予维生素C、甘草酸二铵、还原性谷胱甘肽等,对总胆红素均值为276 μmol/L±95.34 μmol/L加用促肝细胞生长素,如没有禁忌症可短期给予甲基强的松龙治疗。324例中治愈213例(65.74%),好转108例(33.33%),死亡3例(0.9%)。死亡病例TBIL>400 μmol/L,且出现酶胆分离、出血、腹水、肝性脑病等并发症。大多患者平均4 wk左右肝功能恢复正常。胆汁淤积型患者肝功能恢复较慢。

## 3 讨论

药物是一把双刃剑,如果应用不合理就会对机体造成损伤。药物引起肝损伤频率较高,仅次于病原体,是引起肝损伤的第2大原因。研究发现<sup>[6]</sup>,成人中氨基转移酶升高有10%-50%是由药物引

表 3 肝损伤严重指数及其出现频率

临床分度	<i>n</i>	百分比(%)
轻度	182	56.2
中度异常	95	29.3
重度异常	32	9.9
急性肝功能衰竭	12	3.7
致命	3	0.9

起;占有黄疸住院病例的2%-5%,药物性肝衰占有急性肝衰患者的10%-52%<sup>[7]</sup>。已报道可引起各种急慢性肝脏损害的药物达1000余种<sup>[8]</sup>。世界卫生组织统计,药物性肝损伤已经成为全球的第5位死亡原因<sup>[9]</sup>。药物性肝损伤发病机制较为复杂,机制尚未完全阐明,目前认为与细胞色素P450酶(CYP450)代谢激活、细胞内钙稳态破坏、线粒体损伤、细胞凋亡、自身免疫激活、胆汁淤积和胆小管损伤等机制有关<sup>[10]</sup>。

本研究结果表明,药物性肝损伤中抗结核药物居于首位,频率为36.11%。究其原因,其一是随着流动人口和艾滋病感染率增加,结核病例逐年增加,再加上宁夏结核病发病率本来较高。另外,在标准抗结核化疗方案中,利福平、异烟肼、乙胺丁醇是不可替代一线药。随着结核病化疗疗程的延长,耐药结核病的增多,临床以多组药物联合应用,故抗痨药物引起的肝损伤病例也就会随之升高。中草药和中成药致肝损伤占32.10%;中草药单味如:雷公藤、何首乌、蜈蚣粉、苍耳子、野百合、佩兰、紫草、菊三七、泽兰等。有些本来是治疗肝病药物,如苦参、山斗根等也可导致肝损伤。中成药如克银丸、更年安、天麻杜仲丸、乳癖消、壮骨关节丸、昆明山海棠片、青黛丸等。汤剂较为混乱,不确定因素较多,以偏方、验方更易致药物性肝损伤。

全国多中心对1142例急性药物性肝损伤病例进行分析,中草药引起的占21.5%,居第2位<sup>[11]</sup>。因此,我们也要警惕中药导致的药物性肝损伤,澄清中药无不良反应谬论,临床要掌握好用药剂量、配伍,并注意监测肝功能变化。解热镇痛药致药物性肝损伤比例亦不容忽视(10.19%)。关于药物性肝损伤文章较多,因地域不同、医院级别不同、报告致药物性肝损伤的药物谱不尽相同。药物性肝损伤的临床表现多为非特异性肝脏疾病的症状。特征性表现如发热、出疹、嗜酸性粒细胞增多<sup>[12]</sup>等出现几率较少。妇女、老

## ■应用要点

DILI的预防是关键,临床医师对所用药物要熟知所用药物的性能,注意配伍与毒性关系,剂量以适度为度,切忌大剂量长疗程,及时、严密观察其不良反应。详细询问病史,特别是肝脏病史和过敏史或过敏体质,对有DILI病史的患者,用药应慎重。要认识到中草药的不良反应,在其长期应用中定期复查血象和肝功。并且和患者做好沟通,明确告知药物可能不良反应,努力减少医源性肝损伤。

人容易发生药物性肝损伤<sup>[13]</sup>, 老年人易发生药物性肝损伤, 其原因可能有: 肝脏肾脏功能减退, 对药物的代谢及排泄能力下降, 肾小球滤过作用减退导致药物的血药浓度增高等。轻症病例停用可疑损伤肝脏药物1 wk, 肝功能多可自行恢复, 较重病例给以甘草酸制剂、还原性谷胱甘肽及短期给予甲基强的松龙治疗可取的满意疗效。本研究病死率明显低于文献报道<sup>[14]</sup>。而黄疸水平和预后有相关性<sup>[15]</sup>和文献报道一致。

总之, 我们对药物性肝损伤应予以高度重视, 要熟知所用药物的性能, 注意配伍与毒性关系, 剂量以适为度, 切忌大剂量长疗程, 及时、严密观察其不良反应。并且和患者做好沟通, 明确告知药物可能不良反应。努力减少医源性肝损伤。

#### 4 参考文献

- 1 Buratti S, Lavine JE. Drugs and the liver: advances in metabolism, toxicity, and therapeutics. *Curr Opin Pediatr* 2002; 14: 601-607 [PMID: 12352255 DOI: 10.1097/00008480-200210000-00007]
- 2 陈昶铭, 常冰, 张岱, 向国卿, 贺晓虎, 王炳元. 沈阳地区药物性肝损伤病因和损伤类型. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2525-2528
- 3 中华医学会消化病学分会肝胆疾病协作组. 急性药物性肝损伤诊治建议(草案). *中华消化杂志* 2007; 11: 765-767
- 4 Aithal GP, Watkins PB, Andrade RJ, Larrey D, Molokhia M, Takikawa H, Hunt CM, Wilke RA, Avigan M, Kaplowitz N, Bjornsson E, Daly AK. Case definition and phenotype standardization in drug-induced liver injury. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 89: 806-815 [PMID: 21544079 DOI: 10.1038/clpt.2011.58]
- 5 Danan G, Benichou C. Causality assessment of adverse reactions to drugs--I. A novel method based on the conclusions of international consensus meetings: application to drug-induced liver injuries. *J Clin Epidemiol* 1993; 46: 1323-1330 [PMID: 8229110 DOI: 10.1016/0895-4356(93)90101-6]
- 6 杨安卿, 胡颖. 药物性肝病的诊断和治疗. *中华现代内科学杂志* 2006; 3: 658-660
- 7 Sierra F, Torres D. A concise and structured review of drug-induced toxic hepatic disease. *Ann Hepatol* 2004; 3: 18-25 [PMID: 15118575]
- 8 Ikeda T. [Drug-induced liver injury]. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 2006; 127: 454-459 [PMID: 16880695 DOI: 10.1254/fpj.127.454]
- 9 王海永, 王伟, 杜振宗, 李安桂, 宋剑非. 心脏外科围手术期急性药物性肝损伤12例. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1350-1353
- 10 陈东风, 孙文静, 熊吉. 药物性肝损伤的诊断与治疗. *中华肝脏病杂志* 2012; 20: 170-172
- 11 中华医学会消化病学分会肝胆疾病协作组. 全国多中心急性药物性肝损伤住院病例调研分析. *中华消化杂志* 2007; 27: 439-442
- 12 Wysowski DK, Fourcroy JL. Flutamide hepatotoxicity. *J Urol* 1996; 155: 209-212 [PMID: 7490837 DOI: 10.1016/S0022-5347(01)66596-0]
- 13 林静, 王亚丽, 王海燕. 老年人急性药物性肝病临床分析30例. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2059-2062
- 14 Andrade RJ, Lucena MI, Fernández MC, Pelaez G, Pachkoria K, García-Ruiz E, García-Muñoz B, González-Grande R, Pizarro A, Durán JA, Jiménez M, Rodrigo L, Romero-Gomez M, Navarro JM, Planas R, Costa J, Borrás A, Soler A, Salmerón J, Martín-Vivaldi R. Drug-induced liver injury: an analysis of 461 incidences submitted to the Spanish registry over a 10-year period. *Gastroenterology* 2005; 129: 512-521 [PMID: 16083708]
- 15 Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 1995; 333: 1118-1127 [PMID: 7565951 DOI: 10.1056/NEJM199510263331706]

#### ■同行评价

本文研究的病例数较多, 数据可信, 对当地临床医师有一定的参考价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# Fibroscan评价慢性病毒性肝炎肝纤维化( $\geq F2$ )的Meta分析

罗子华, 邹健, 宓林, 刘燕, 童依丽, 于晓峰

## ■背景资料

在我国, 慢性病毒性肝炎是导致肝纤维化和肝硬化的最重要原因, 尤其以慢性乙型肝炎为主, 肝纤维化分级评估是决定是否行抗病毒治疗、是否需密切监测肝硬化相关并发症的重要参考。因此临床上需要定期监测肝纤维化情况以评估病情和决定治疗方案。

罗子华, 邹健, 宓林, 刘燕, 童依丽, 于晓峰, 复旦大学附属华东医院消化内科 上海市 200040

罗子华, 在读硕士, 主要从事肝脏疾病诊疗方面和大肠癌的基础与临床研究。

作者贡献分布: 课题构思、文章修改及审阅由于晓峰完成; 资料收集、筛选及评价由罗子华、邹健及宓林完成; 统计学分析由刘燕与童依丽完成; 文章书写由罗子华完成。

通讯作者: 于晓峰, 教授, 主任医师, 200040, 上海市静安区延安西路221号, 复旦大学附属华东医院消化内科。

yuxiaofeng252@163.com

电话: 021-62483180 传真: 021-62483180

收稿日期: 2013-08-20 修回日期: 2013-09-18

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-28

## Evaluation of hepatic fibrosis stage ( $\geq F2$ ) by fibroscan in patients with chronic viral hepatitis: A Meta-analysis

Zi-Hua Luo, Jian Zou, Lin Mi, Yan Liu, Yi-Li Tong, Xiao-Feng Yu

Zi-Hua Luo, Jian Zou, Lin Mi, Yan Liu, Yi-Li Tong, Xiao-Feng Yu, Department of Gastroenterology, Huadong Hospital Affiliated To Fudan University, Shanghai 200040, China

Correspondence to: Xiao-Feng Yu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Huadong Hospital Affiliated To Fudan University, 221 West Yan'an Road, Shanghai 200040, China. yuxiaofeng252@163.com

Received: 2013-08-20 Revised: 2013-09-18

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the value of fibroscan (FS) in hepatic fibrosis stage assessment in patients with chronic viral hepatitis, and to examine whether its accuracy is affected by etiology.

**METHODS:** English and Chinese articles related to assessment of hepatic fibrosis stage by fibroscan in Wanfang, Chinese Journal Full-Text Database (CJFD), Chinese Biomedical Literature Database (CBM), PubMed, Cochrane library and EMBASE database were strictly screened and evaluated. Data of enrolled articles were analyzed using Meta-disc1.4 and Stata12.0 software.

**RESULTS:** A total of 28 English and Chinese articles were included. The pooled sensitivity, specificity, diagnostic odds ratio and the area

under curve (AUC) of summary receiver operating characteristic (SROC) curve for significant fibrosis ( $F \geq 2$ ) and cirrhosis ( $F = 4$ ) in patients with chronic viral hepatitis were 0.72 (0.70-0.73), 0.85 (0.83-0.87), 18.51 (13.28-25.80), 0.88 and 0.86 (0.84-0.88), 0.86 (0.85-0.87), 49.14 (30.53-79.09) and 0.94, respectively. There was no significant difference among the results of meta-analysis according to etiology.

**CONCLUSION:** Fibroscan has a high diagnostic accuracy for evaluating hepatic fibrosis stage, especially in patients with cirrhosis. The diagnostic accuracy of fibroscan is not affected by etiology.

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

**Key Words:** Fibroscan; Hepatic fibrosis; Meta-analysis; Chronic hepatitis C; Chronic hepatitis B

Luo ZH, Zou J, Mi L, Liu Y, Tong YL, Yu XF. Evaluation of hepatic fibrosis stage ( $\geq F2$ ) by fibroscan in patients with chronic viral hepatitis: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3724-3735 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3724.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3724>

## 摘要

**目的:** 应用诊断试验Meta分析方法评价瞬时弹性成像技术(fibroscan, FS)诊断慢性病毒性肝炎肝纤维化的准确性以及研究其准确性是否受病因影响。

**方法:** 检索万方数据-学术期刊全文库、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)、PubMed(Medline)、Cochrane library、EMBASE数据库中有关FS评价慢性病毒性肝炎肝纤维化的中英文文献, 进行严格筛选和评价, 应用Meta-disc1.4和Stata12.0软件进行统计学分析。

**结果:** 共纳入28篇中英文文献。FS诊断慢性病毒性肝炎明显肝纤维化( $\geq F2$ )和肝硬化

■同行评议者  
吴君, 主任医师,  
贵阳医学院附属  
医院感染科



( $F = 4$ )的合并敏感度、合并特异度、合并诊断比值比、综合受试者工作特征(summary receiver operating characteristic, SROC)曲线下面积分别为0.72(0.70-0.73)、0.85(0.83-0.87)、18.51(13.28-25.80)、0.88和0.86(0.84-0.88)、0.86(0.85-0.87)、49.14(30.53-79.09)、0.94。Meta分析对所有慢性病毒性肝炎所得的结果,与按慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)或慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)病因分类后Meta分析所得的结果相比,未见明显差异。

**结论:** FS诊断肝纤维化分级的准确性良好,尤其对诊断肝硬化。不论是CHC或CHB, FS诊断肝纤维化分级的准确性无明显差别。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** Fibroscan; 肝纤维化; Meta分析; 慢性丙型肝炎; 慢性乙型肝炎

**核心提示:** Fibroscan诊断肝纤维化分级的准确性良好,尤其对诊断肝硬化。不论是慢性丙型肝炎或慢性乙型肝炎, Fibroscan诊断肝纤维化分级的准确性无明显差别。

罗子华, 邹健, 宓林, 刘燕, 董依丽, 于晓峰. Fibroscan评价慢性病毒性肝炎肝纤维化( $\geq F2$ )的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3724-3735 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3724.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3724>

## 0 引言

迄今为止, 肝穿刺活检(liver biopsy, LB)仍被视为诊断肝纤维化分级的“金标准”, 尽管其属于创伤性检查 and 存在发生并发症的风险。肝活检常见的并发症有迷走神经反射、肝区疼痛、肝包膜下出血等, 甚至可以导致死亡, 据报道死亡率在1/(1-1.2)万左右<sup>[1]</sup>。另外, 不同病理医师的诊断主观上存在误差, 穿刺部位的局限也可引起抽样误差, Colloredo等<sup>[2]</sup>研究还发现肝穿刺活检的样本量越小对肝纤维化程度低估的可能性越大, 这些都是影响病理诊断结果的重要因素。因此临床上迫切需要能够替代肝穿刺活检的无创性检查。

瞬时弹性成像技术(fibroscan, FS)是2003年左右出现的应用超声波技术测定肝组织硬度的无创性检查<sup>[3]</sup>, 根据肝脏组织对低频超声震动波反射回来的弹性数值, 来评估肝脏的硬度, 单位以千帕(kPa)表示; 弹性数值越大, 表示肝组织质

地越硬, 纤维化程度越严重。众多研究证实FS值与肝纤维化病理分级密切相关, 同时亦有研究发现FS值受病因、肝脏炎症程度、肝酶水平、肝脏脂肪变程度等因素的影响, 但各研究的纳入病例数、患者纳入标准、患者基本特征不完全一致, 得出的诊断界值也参差不齐, 因此, 迫切需要检验FS诊断肝纤维化分级的准确性。

在我国, 罹患肝病者多为慢性病毒性肝炎, 尤以乙型肝炎为主。随着时间推移, 慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)和慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)肝纤维化程度逐渐加重, 伴随肝脏结构和血流动力学改变, 最终导致肝硬化和相关并发症的发生。而肝纤维化分级的评估是临床评价病情和决定治疗策略的重要依据, 因此需要无创性检查实时监测和评价病情<sup>[4,5]</sup>。

本文的主要目的是应用诊断性Meta分析方法研究FS诊断肝纤维化分级的准确性以及研究FS的准确性是否受病因的影响: (1)Meta分析FS诊断CHC肝纤维化分级的准确性; (2)Meta分析FS诊断CHB肝纤维化分级的准确性; (3)对所有慢性病毒性肝炎者, 研究FS诊断肝纤维化分级的准确性; (4)比较各中心得出的肝纤维化诊断界值, 供临床工作者参考使用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料 文献检索:** 通过计算机检索2002-01/2013-05期间发表的相关文献, 中文数据库包括万方数据-学术期刊全文库、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), 外文数据库包括PubMed(Medline)、Cochrane library、EMBASE, 主要检索词为fibroscan、transient elastography、瞬时弹性成像、瞬时弹性扫描, 再通过chronic hepatitis B、chronic hepatitis C、cirrhosis、fibrosis等检索词进一步筛选。纳入的文献需符合以下标准: (1)中文或英文原始文献; (2)研究对象为CHB和/或CHC者, 或为研究对象亚组中的这类患者; (3)以LB为金标准, 研究FS诊断肝纤维化分级的准确性; (4)有肝组织病理学诊断结果, 并采用METAVIR分级法<sup>[6]</sup>将肝纤维化分为F0-F4期, F0: 无纤维化; F1: 汇管区纤维化但无纤维间隔; F2: 汇管区纤维化伴少量间隔; F3: 间隔纤维化; F4: 早期肝硬化, 其中 $F \geq 2$ 定义为明显肝纤维化。若文献采用其他肝纤维化分级法, 其分级标准必

## ■研究前沿

目前肝穿刺活检仍被视为诊断肝纤维化分级的“金标准”, 但其属于创伤性检查 and 存在发生并发症的风险, 不能为广大患者接受。Fibroscan可以无创性评估肝纤维化分级, 因其简易的操作性、稳定的重复性和可靠的准确性而得到不断推广使用。

## ■ 相关报道

肝脏疾病的病因多种,慢性肝炎长期发展均导致肝纤维化和肝硬化。病因不同,发生肝纤维化的时间、肝脏的病理学特征、肝脏的硬度不完全相同,因此,Fibroscan的诊断界值和诊断准确性不完全相同。Fibroscan在诊断慢性酒精性肝病、慢性非酒精性脂肪性肝病、原发性胆汁性肝硬化等疾病的研究均有报道。

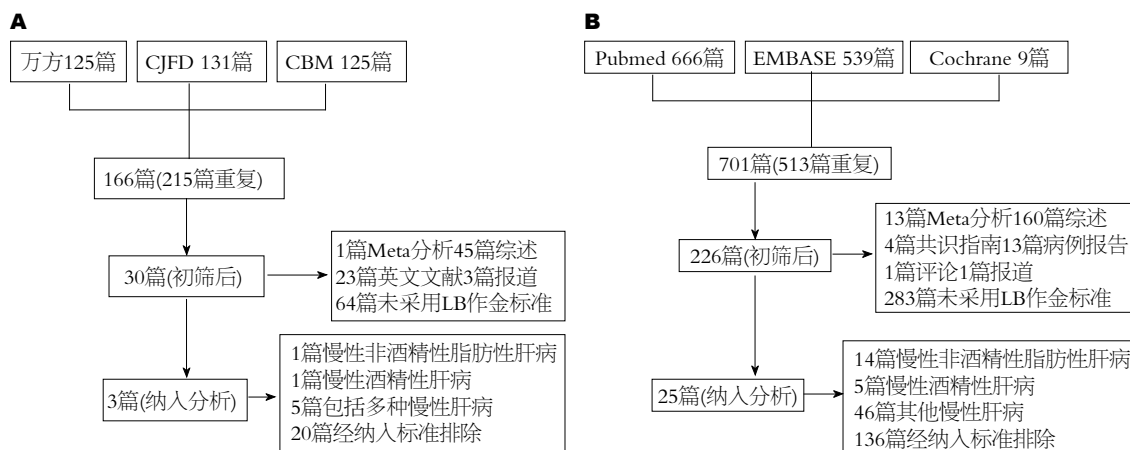


图1 文献筛检流程图. A: 中文数据库; B: 外文数据库.

须与METAVIR分级类似;(5)研究需采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线和受试者工作特征曲线下面积(area under the ROC, AUROC)评价FS诊断肝纤维化分级的准确性,最佳诊断界值为敏感度与特异度之和最大的点。排除标准:(1)重复发表的文献;(2)若纳入文献均符合以上标准,但纳入的患者无法除外存在重复,取纳入的患者总数较大者;(3)无法提取文献数据获得四格表资料或无法获取全文者;(4)文献中的病例数太少而对结果产生严重偏倚;(5)研究对象中合并HIV感染、HDV感染、自身免疫性肝炎或酒精性肝炎等肝脏疾病。

## 1.2 方法

**1.2.1 资料提取:** 根据上述纳入和排除标准,提取相关的临床和统计学资料,包括作者、发表年份、国家、病因、纳入分析数、男性人数、FS与LB间隔、平均年龄、平均体质量指数(body mass index, BMI)、LB样本描述、F2和F4界值、F2-4/F4例数,以及统计分析需要的各项参数,包括真阳性数、真阴性数、假阳性数、假阴性数、敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值等。

**1.2.2 文献质量评价:** 根据诊断性试验质量评价量表(quality assessment of diagnostic accuracy studies, QUADAS)<sup>[7,8]</sup>,对纳入文献严格按各条目要求以“是”、“否”、“不清楚”进行严格的评价,并规定“是”为1分,“否”和“不清楚”为0分,总分低于10分的文献排除。

**统计学处理** 提取纳入文献的数据,整理成四格表形式。诊断性试验中异质性是由阈值效应和非阈值效应引起的,通过计算灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数检验

其阈值效应,若存在阈值效应,则不合并灵敏度、特异度和诊断比值比(diagnostic odds ratio, DOR);通过计算DOR的 $I^2$ 值检验非阈值效应, $I^2$ 值在0%-100%之间,当 $I^2 = 0\%$ 时研究间无异质性,数值越大,异质性就越大。 $I^2 = 25\%$ 时,表明存在轻度异质性; $I^2 = 50\%$ 时,表明存在中度异质性; $I^2 = 75\%$ 时,表明存在高度异质性。根据Cochrane手册, $I^2 > 50\%$ 时则认为研究间存在异质性。如果存在异质性,选用随机效应模型,否则采用固定效应模型。此外,采用漏斗图法直观评估偏倚情况。FS诊断肝纤维化分级的准确性通过以下指标评估:(1)运用综合受试者工作特性(summary receiver operating characteristic, SROC)曲线分析法,绘制出SROC曲线,并计算曲线下面积(area under curve, AUC);(2)计算合并DOR、合并敏感度、合并特异度及其95%可信区间(95% confidence interval, 95%CI)。以上指标均采用Meta-disc1.4和Stata12.0软件分析。

## 2 结果

**2.1 文献筛检** 检索中文数据库和外文数据库,采用上述检索策略,严格按照纳入标准和排除标准筛检,最后共28篇文献纳入Meta分析(图1)。

**2.2 纳入文献的特点及质量评价** 纳入的28篇文献中,来自法国的研究3篇,韩国的研究6篇,罗马尼亚的研究4篇,日本的研究3篇,中国的研究5篇,意大利的研究4篇,来自西班牙、印度尼西亚和全球多中心的研究各1篇。其中15篇文献研究对象包含CHC,病例数为2796例;12篇文献研究对象包含CHB,病例数为1713例;4篇文献研究对象为CHC和CHB,病例数为645例。

筛选出的文献均满足纳入标准并经过严格

表 1 纳入文献基本特征

病因	作者	发表时间(国家)	纳入时间	纳入分析 数(男性)	病理评分标准	FS与LB间隔	年龄(岁)	BMI水平 (kg/m <sup>2</sup> )	ALT水平(U/L)	肝穿活检样本描述	QUAD- AS评分
CHC	Zio <sup>[9]</sup>	2005(法国)	2002-11/2003-09	251(155)	METAVIR	6 mo	47.5 ± 13.0	23.9 ± 3.4	2.0 ± 2.0 × ULN	长度18.0 mm(中位数)	11
CHC	Cast é ra <sup>[10]</sup>	2005(法国)	2003-06/2004-06	183(104)	METAVIR	1 d	51.0 ± 12.0	25.0 ± 4.0	2.2 ± 1.9 × ULN	长度17.0 mm(中位数)	12
CHC	Colletta <sup>[11]</sup>	2005(意大利)	1995-11/1998-03	40(22)	METAVIR	6 mo(中位数)	44(27-66)	21(18-26)	38(23-42)	长度20 ± 3 mm; 汇管区7个(中位数)	12
CHC	Lupsor <sup>[12]</sup>	2008(罗马尼亚)	2007-05/2008-03	324(115)	METAVIR	1 d	48.4 ± 10.9	26.5 ± 4.7	89.0 ± 58.0	长度平均11.4 mm; 汇管区平均11.6个	12
CHC	Masuzaki <sup>[13]</sup>	2008(日本)	2004-11/2007-04	386(227)	N <sup>与</sup> METAVIR <sup>类同</sup>	14 d	68.2 ± 9.5	23(14-34)	47(6-506)	长度16(15-17)mm; 96.2%样本≥5个汇管区	12
CHC	Sporea <sup>[14]</sup>	2008(罗马尼亚)	2007-06/2008-06	191(61)	METAVIR	N	49.8 ± 11.0	N	N	样本要求长度至少20 mm和包括8个汇管区	10
CHC	Arena <sup>[15]</sup>	2008(西班牙)	2006-09/2007-07	150(93)	METAVIR	1 d	原文中分亚组描述	原文中分亚组描述	原文中分亚组描述	样本要求长度至少25 mm和包括11.0个汇管区	12
CHC	Lupsor <sup>[16]</sup>	2009(罗马尼亚)	2008-10/2008-12	112(44)	METAVIR	6 mo	49.0 ± 12.3	26.1 ± 4.0	80.2 ± 51.4	长度平均11.0 mm; 汇管区平均11.0个	11
CHC	Ichino <sup>[17]</sup>	2010(日本)	2004-07/2009-02	165(92)	METAVIR	7 d	53.2 ± 12.6	N	72.4 ± 54.9	N	11
CHC	Rizzo <sup>[18]</sup>	2011(意大利)	2008-11/2009-10	139(83)	METAVIR	3 mo(中位数)	55.0 ± 12.0	26.0 ± 3.0	77.2 ± 33.0	样本要求长度至少15 mm和包括10个汇管区	13
CHC	Patel <sup>[19]</sup>	2011(全球多中心)	2006-11/2008-10	214(105)	METAVIR	N	45.7 ± 11.7	25.1 ± 4.2	45.8%患者>1.5 × ULN	长度15.8 mm ± 8.2 mm; 汇管区要求至少6个	11
CHC	Cho <sup>[20]</sup>	2011(韩国)	2006-09/2009-08	86(40)	Batts and Ludwig	1 d	51.7 ± 10.9	24.5 ± 4.2	73.6 ± 72.8	长度34.7 mm ± 11.2 mm	12
CHC	Kim <sup>[21]</sup>	2011(韩国)	2005-06/2009-07	91(44)	Batts and Ludwig	1 d	47.9 ± 11.6	22.9 ± 2.9	40.2 ± 20.9	样本要求长度至少15 mm和包括6个汇管区	13
CHC	Ferraioli <sup>[22]</sup>	2013(意大利)	2009-06/2012-02	195(139)	METAVIR	1 d	45.3(中位数)	25.3(中位数)	70.0(中位数)	长度27.0 mm ± 8.0 mm	12
CHC	Bosselut <sup>[23]</sup>	2013(法国)	2007-11/2008-07	269(165)	METAVIR	2 mo	50.2 ± 11.2	24.4 ± 3.7	N	长度26.3 mm ± 8.3 mm; 汇管区21.4个 ± 8.2个	12
CHB	Chan <sup>[24]</sup>	2009(中国)	2006-07/2008-03	161(122)	METAVIR	28 d	45 ± 11	24 ± 4	93 ± 78	长度19 mm ± 3 mm; 汇管区10个 ± 5个	12
CHB	Kim <sup>[25]</sup>	2009(韩国)	2005-03/2006-11	91(73)	METAVIR	1 d	40 ± 13	23.8 ± 4.6	46 ± 24	样本要求长度至少10 mm和包括10个汇管区	13
CHB	Lesmana <sup>[26]</sup>	2011(印度尼西亚)	2008-10/2010-04	117(63)	METAVIR	N	40.6 ± 11.0	23.3 ± 3.5	47.7 ± 37.0	样本要求长度至少15 mm和包括5个汇管区	11

## ■创新盘点

通过诊断性Meta分析方法研究Fibroscan诊断肝纤维化分级的准确性,并且进一步的研究发现Fibroscan的准确性在慢性丙型肝炎或慢性乙型肝炎无明显差别。



## ■应用要点

Fibroscan测量肝组织硬度,具有无创性、简易的操作性、稳定的重复性和可靠的准确性,简便且有效地监测肝纤维化情况以评估病情和决定治疗方案。

CHB	Viganò等 <sup>[27]</sup>	2011(意大利)	2007-01/2008-07	125(97)	METAVIR	N	47(21-67)	36%患者>25	68(19-855)	长度27 mm(中位数);汇管区12个(中位数)	12
CHB	Ogawa等 <sup>[28]</sup>	2011(日本)	N	44(29)	METAVIR	1 d	47.0 ± 13.9	N	50.4 ± 29.0	长度18 mm(中位数)	12
CHB	Zhu等 <sup>[29]</sup>	2011(中国)	2009-03/2010-04	175(137)	METAVIR	1 d	36.5 ± 9.4	N	40.1 ± 18.6	样本要求长度至少15 mm和包括6个汇管区	13
CHB	Cho等 <sup>[20]</sup>	2011(韩国)	2006-09/2009-08	121(81)	Batts and Ludwig	1 d	39.1 ± 12.8	23.9 ± 3.0	167.0 ± 197.9	长度34.5 mm ± 11.5 mm	12
CHB	纪冬等 <sup>[30]</sup>	2011(中国)	2010-01/2010-12	313(215)	中国指南	1 d	35.6 ± 11.2	N	原文中分亚组描述	长度平均20 mm	10
CHB	张旭等 <sup>[31]</sup>	2011(中国)	2010-01/2010-06	88(60)	中国指南	1 d	34.9 ± 11.6	24.2 ± 5.0	N	样本要求长度至少15 mm和包括6个汇管区	11
CHB	Kim等 <sup>[32]</sup>	2012(韩国)	2010-06/2011-11	170(102)	Batts and Ludwig	1 d	45.3 ± 15.1	23.4 ± 2.8	62.9 ± 26.1	长度21.3 mm ± 0.7 mm	13
CHB	Kim等 <sup>[33]</sup>	2012(韩国)	2008-07/2010-06	194(117)	Batts and Ludwig	1 d	46.7 ± 14.7	23.4 ± 2.8	58.4 ± 27.1	长度21.3 mm ± 0.7 mm	13
CHB	李建志等 <sup>[34]</sup>	2012(中国)	2010-02/2011-06	114(79)	中国指南	N	37.4 ± 10.2	24.3 ± 3.3	60.9 ± 64.6	N	10
CHC CHB	Sporea等 <sup>[35]</sup>	2010(罗马尼亚)	N	71(41)	METAVIR	N	50.7 ± 12.9	N	N	样本要求长度至少20 mm	10
CHC CHB	Lee等 <sup>[36]</sup>	2010(韩国)	2005-10/2007-07	121(89)	METAVIR	1 d	43.1 ± 11.9	23.6 ± 2.9	156.9 ± 211.2	样本要求长度至少10 mm和包括7个汇管区	11
CHC CHB	Cho等 <sup>[20]</sup>	2011(韩国)	2006-09/2009-08	207(121)	Batts and Ludwig	1 d	44.3 ± 13.5	24.1 ± 3.5	128.2 ± 164.7	长度34.7 mm ± 11.3 mm	12
CHC CHB	Kim等 <sup>[22]</sup>	2013(意大利)	2009-06/2012-02	246(171)	METAVIR	1 d	44.7 ± 11.8	25.2 ± 3.9	65(中位数)	长度27 mm ± 8 mm	12

数据以(mean ± SD或中位数[数值范围])表示; N: 原文献未提供; 患者纳入在FS问世前, 长期随访后行LB和FS; ULN: 正常范围上限。

的QUADAS评分, 总体而言, 来自欧美国家的研究多以CHC为研究对象, 来自亚洲国家的研究多以CHB为研究对象, 早期的研究对患者的纳入条件较宽泛, 随后的研究纳入标准逐渐细化, 对患者的丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)水平、总胆红素(total bilirubin, TB)水平、BMI水平等指标再进行分层比较, 但限于各中心的研究对指标的分层无统一标准, 难以设定更严格的条件进行Meta分析, 因此本文的患者纳入标准未对ALT、TB等指标的水平进一步限制, 但排除文献中研究对象有急性病毒性肝炎或急性肝功能衰竭者。经初筛后的文献, 多因未能提取完整的四格表数据、研究对象中合并慢性非病毒性肝炎、FS与LB的间隔时间过长、来自同一中心的研究不能除外研究对象重复等原因而在进一步筛选中排除。表1列出了纳入文献的基本特征, 男女比例无明显差异, 各研究ALT水平波动范围较大, 但均未达到急性肝功能衰竭的程度, FS与LB多在同一天内完成, 但部分研究未提及时间间隔。此外, 大部分文献对肝穿刺活检的样本有简要的描述, 但多数研究未提及病理诊断上存在争议的样本情况。

## 2.3 统计分析结果

2.3.1 FS诊断CHC肝纤维化分级的Meta分析: 15篇文献研究对象包含CHC, 其中14篇文献评价了FS诊断CHC明显肝纤维化( $F \geq 2$ )的准确性(表2), 诊断界值在6.2-10.1 kPa之间; 灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数为-0.037,  $P = 0.899$ , 表明尚不能认为存在阈值效应。DOR的 $I^2$ 值为57.4, 表明存在较大的异质性, 同

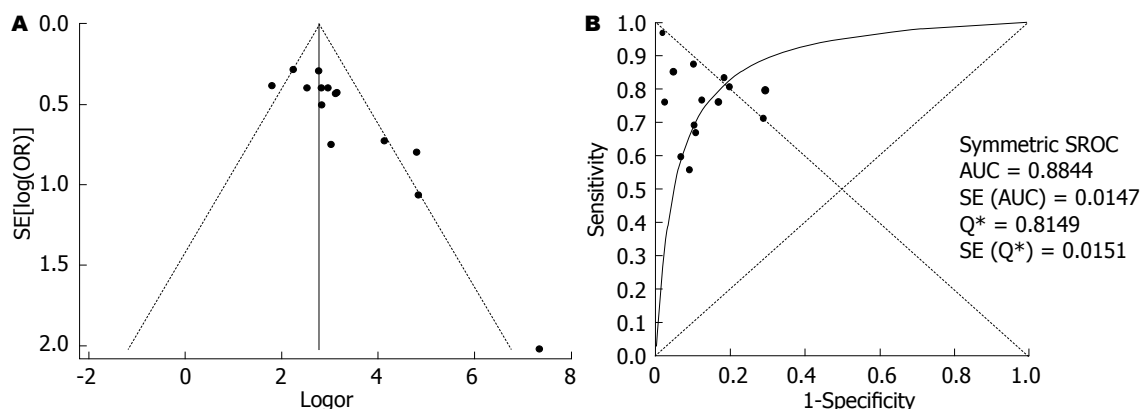


图2 FS诊断CHC明显肝纤维化的Meta分析漏斗图和SROC曲线。A: 漏斗图; B: SROC曲线。

## ■同行评价

本文应用Meta分析方法对近年来国内外发表“Fibroscan诊断慢性病毒性肝炎肝纤维化( $\geq F2$ )的准确性”的相关文献进行评价, 选题热门, 分析结果有一定的学术价值和临床指导意义。

表2 FS诊断CHC明显肝纤维化的准确性的研究汇总

作者	发表时间	F2-4/n	界值(kPa)	SE(%)	SP(%)	PPV(%)	NPV(%)	AUC(95%CI)
Ziol等 <sup>[9]</sup>	2005	163/251	8.8	56	91	88	56	N
Castera等 <sup>[10]</sup>	2005	136/183	7.1	67	89	95	48	0.83 (0.76-0.88)
Cast é ra等 <sup>[11]</sup>	2005	14/40	8.7	100	100	100	100	N
Lupsor等 <sup>[12]</sup>	2008	210/324	7.4	76	84	90	65	0.86(0.82-0.90)
Sporea等 <sup>[14]</sup>	2008	161/191	6.8	60	93	98	30	0.77
Arena等 <sup>[15]</sup>	2008	84/150	7.8	83	82	83	79	0.91(0.87-0.95)
Lupsor等 <sup>[16]</sup>	2009	68/112	8.1	85	95	97	80	0.96(0.91-0.99)
Ichino等 <sup>[17]</sup>	2010	99/165	7.1	81	80	86	74	0.88(0.83-0.93)
Rizzo等 <sup>[18]</sup>	2011	87/139	6.5	71	71	82	56	0.78(0.70-0.85)
Patel等 <sup>[19]</sup>	2011	43/214	10.1	77	88	62	94	0.88(0.82-0.93)
Cho等 <sup>[20]</sup>	2011	56/86	7.4	88	90	94	79	0.94(0.86-0.98)
Kim等 <sup>[21]</sup>	2011	50/91	6.2	76	98	97	80	0.91(0.84-0.97)
Ferraioli等 <sup>[22]</sup>	2013	97/195	6.9	69	90	87	75	0.86(0.80-0.90)
Bosselut等 <sup>[23]</sup>	2013	129/269	7.1	80	71	72	79	0.83(0.78-0.87)

n: 纳入分析总数; SE: 敏感度; SP: 特异度; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值; N: 原文献未提供; AUC: 曲线下面积。

时漏斗图见个别研究在95%CI外, 故采用随机效应模型计算合并DOR和拟合SROC曲线(图2), 其值分别为19.38(13.10-28.67)、0.88, 合并敏感度和合并特异度分别为0.72(0.70-0.75)、0.85(0.83-0.87)。

12篇文献评价了FS诊断CHC肝硬化( $F = 4$ )的准确性(表3), 诊断界值在9.3-15.9 kPa之间; 灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数为0.011,  $P = 0.974$ , 表明尚不能认为存在阈值效应。DOR的 $I^2$ 值为72.1, 表明存在较大的异质性, 同时漏斗图见个别研究在95%CI外, 故采用随机效应模型计算合并DOR和拟合SROC曲线(图3), 其值分别为59.95(31.05-115.76)、0.95, 合并敏感度和合并特异度分别为0.85(0.81-0.87)、0.89(0.87-0.90)。

### 2.3.2 FS诊断CHB肝纤维化分级的Meta分析: 12

篇文献研究对象包含CHB, 其中9篇文献评价了FS诊断CHB明显肝纤维化( $F \geq 2$ )的准确性(表4), 诊断界值在5.9-9.3 kPa之间。灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数为0.250,  $P = 0.516$ , 表明尚不能认为存在阈值效应。DOR的 $I^2$ 值为73.2, 表明存在较大的异质性, 同时漏斗图见个别研究在95%CI外, 故采用随机效应模型计算合并DOR和拟合SROC曲线(图4), 其值分别为19.84(9.35-42.09)、0.89, 合并敏感度和合并特异度分别为0.70(0.67-0.73)、0.87(0.83-0.90)。

10篇文献评价了FS诊断CHB肝硬化( $F = 4$ )的准确性(表5), 诊断界值在9-15.4 kPa之间; 灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数为-0.091,  $P = 0.803$ , 表明尚不能认为存在阈值效应。DOR的 $I^2$ 值为53.8, 表明存在较大的异质性, 同时漏斗图见个别研究在95%CI外, 故采用

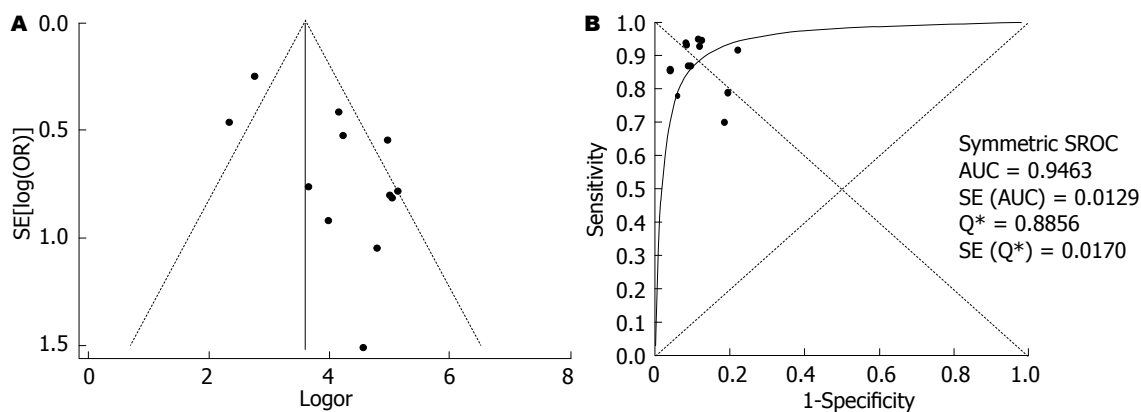


图 3 FS诊断CHC肝硬化的Meta分析漏斗图和SROC曲线。A: 漏斗图; B: SROC曲线。

表 3 FS诊断CHC肝硬化的准确性的研究汇总

作者	发表时间	F4/n	界值kPa	SE(%)	SP(%)	PPV(%)	NPV(%)	AUC(95%CI)
Ziol等 <sup>[9]</sup>	2005	49/251	14.6	86	96	78	97	N
Cast é ra等 <sup>[10]</sup>	2005	46/183	12.5	87	91	77	95	0.95(0.91–0.98)
Lupsor等 <sup>[12]</sup>	2008	69/324	11.9	87	91	72	96	0.94(0.91–0.96)
Masuzaki等 <sup>[13]</sup>	2008	219/386	15.9	79	81	87	69	0.87(0.83–0.90)
Arena等 <sup>[15]</sup>	2008	29/150	14.8	94	92	73	98	0.98(0.95–0.99)
Lupsor等 <sup>[16]</sup>	2009	42/112	13.1	95	89	84	97	0.97(0.92–1.00)
Ichino等 <sup>[17]</sup>	2010	24/165	11.6	92	78	42	98	0.90(0.84–0.96)
Rizzo等 <sup>[18]</sup>	2011	30/139	11.0	70	82	53	90	0.80(0.72–0.86)
Patel等 <sup>[19]</sup>	2011	18/214	11.7	94	88	42	99	0.93(0.88–0.98)
Cho等 <sup>[20]</sup>	2011	6/86	14.7	100	89	40	100	0.96(0.90–0.99)
Kim等 <sup>[21]</sup>	2011	9/91	11.0	78	94	58	98	0.97(0.93–1.00)
Ferraioli等 <sup>[22]</sup>	2013	32/195	9.3	94	92	69	99	0.97(0.93–0.99)

n: 纳入分析总数; SE: 敏感度; SP: 特异度; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值; N: 原文献未提供; AUC: 曲线下面积。

表 4 FS诊断CHB明显肝纤维化的准确性的研究汇总

作者	发表时间	F2–4/n	界值(kPa)	SE(%)	SP(%)	PPV(%)	NPV(%)	AUC(95%CI)
Cho等 <sup>[20]</sup>	2011	88/121	7.8	78	82	92	58	0.85(0.77–0.91)
Lesmana等 <sup>[26]</sup>	2011	73/117	5.9	60	64	73	49	0.61(0.51–0.72)
Vigan ò 等 <sup>[27]</sup>	2011	66/125	8.7	64	92	90	70	N
Ogawa等 <sup>[28]</sup>	2011	20/44	6.3	95	74	74	95	0.86
纪冬等 <sup>[30]</sup>	2011	236/313	9.3	55	95	97	41	0.79(0.74–0.84)
张旭等 <sup>[31]</sup>	2011	59/88	7.3	76	83	90	63	0.86
Kim等 <sup>[32]</sup>	2012	121/170	8.0	78	96	98	64	0.94(0.90–0.97)
Kim等 <sup>[33]</sup>	2012	164/194	8.8	78	87	97	42	0.87(0.80–0.94)
李建志等 <sup>[34]</sup>	2012	81/112	7.3	77	93	96	62	0.89(0.83–0.95)

n: 纳入分析总数; SE: 敏感度; SP: 特异度; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值; N: 原文献未提供; AUC: 曲线下面积。

随机效应模型计算合并DOR和拟合SROC曲线(图5), 其值分别为45.10(23.02–88.36)、0.93, 合并敏感度和合并特异度分别为0.89(0.85–0.92)、0.84(0.82–0.86)。

2.3.3 FS诊断CHC和CHB肝纤维化分级的Meta分析: 4篇文献评价FS诊断CHC和CHB明显肝纤维化和肝硬化的准确性(表6, 7)。对所有慢性病毒性肝炎者, 综合所有纳入的文献, 剔除其中重



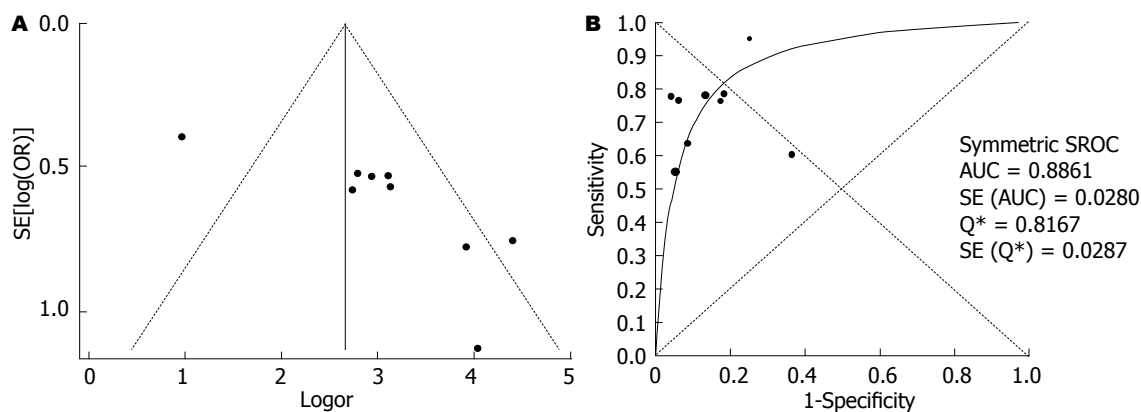


图4 FS诊断CHB明显肝纤维化的Meta分析漏斗图和SROC曲线. A: 漏斗图; B: SROC曲线.

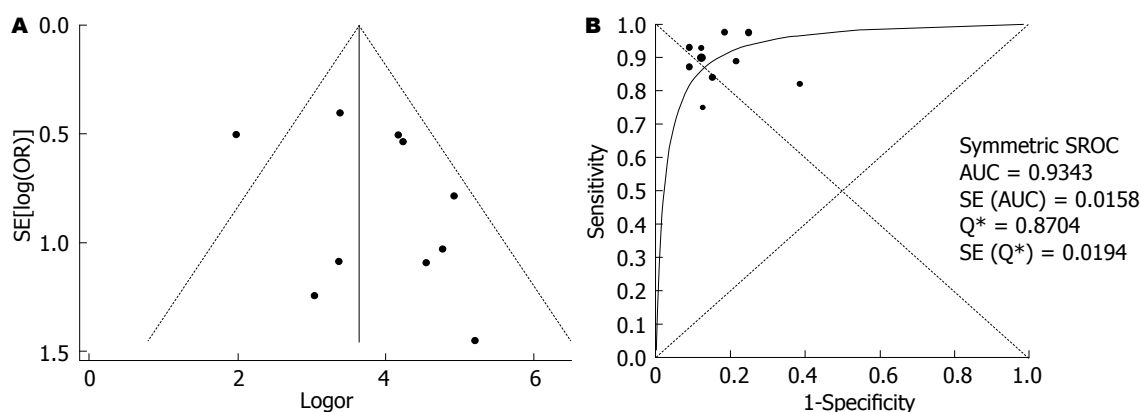


图5 FS诊断CHB肝硬化的Meta分析漏斗图和SROC曲线. A: 漏斗图; B: SROC曲线.

表5 FS诊断CHB肝硬化的准确性的研究汇总

作者	发表时间	F4/n	界值(kPa)	SE(%)	SP(%)	PPV(%)	NPV(%)	AUC(95%CI)
Cho等 <sup>[20]</sup>	2011	9/121	14.0	88	79	25	99	0.87(0.79–0.92)
Chan等 <sup>[24]</sup>	2009	40/161	9.0	98	75	57	98	0.93(0.89–0.97)
Kim等 <sup>[25]</sup>	2009	39/91	9.7	82	62	63	76	0.80(0.69–0.92)
Vigano等 <sup>[27]</sup>	2011	20/125	9.4	100	82	51	100	N
Ogawa等 <sup>[28]</sup>	2011	4/44	12.0	75	89	38	98	0.89
Zhu等 <sup>[29]</sup>	2011	29/175	13.8	93	91	68	99	0.98(0.96–0.99)
纪冬等 <sup>[30]</sup>	2011	50/313	15.4	90	88	58	98	0.95(0.92–0.97)
张旭等 <sup>[31]</sup>	2011	14/88	12.4	93	88	50	98	0.95
Kim等 <sup>[32]</sup>	2012	47/170	14.0	87	91	79	95	0.96(0.94–0.99)
Kim等 <sup>[33]</sup>	2012	75/194	14.1	84	85	78	89	0.91(0.87–0.95)

n: 纳入分析总数; SE: 敏感度; SP: 特异度; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值; N: 原文献未提供; AUC: 曲线下面积.

复的数据, 24篇文献评价了FS诊断明显肝纤维化( $F \geq 2$ )的准确性, 灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数为0.142,  $P = 0.507$ , 表明尚不能认为存在阈值效应. DOR的 $I^2$ 值为60.8, 表明存在较大的异质性, 同时漏斗图见个别研究在95%CI外, 故采用随机效应模型计算合并DOR和拟合SROC曲线(图6), 其值分别为

18.51(13.28–25.80)、0.88, 合并敏感度和合并特异度分别为0.72(0.70–0.73)、0.85(0.83–0.87).

23篇文献评价了FS诊断肝硬化( $F = 4$ )的准确性, 灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数为-0.009,  $P = 0.966$ , 表明尚不能认为存在阈值效应. DOR的 $I^2$ 值为69.8, 表明存在较大的异质性, 同时漏斗图见个别研

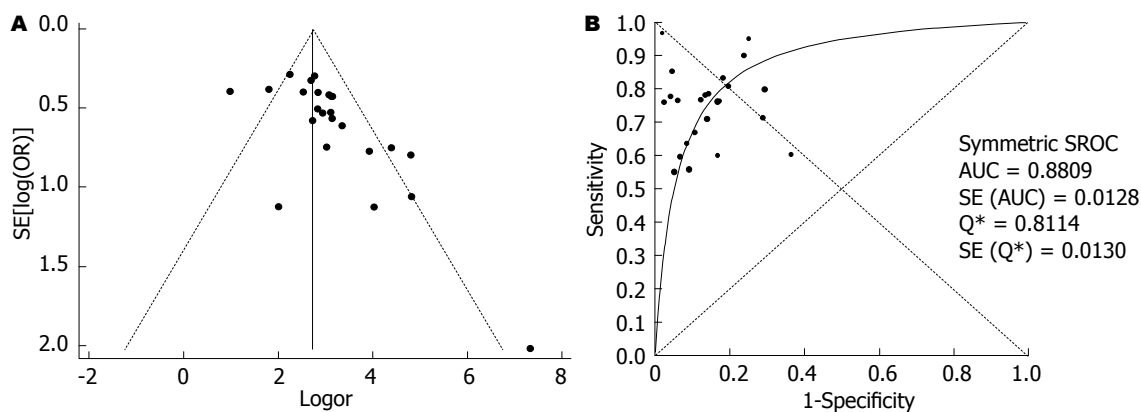


图 6 FS诊断CHC和CHB明显肝纤维化的Meta分析漏斗图和SROC曲线。A: 漏斗图; B: SROC曲线。

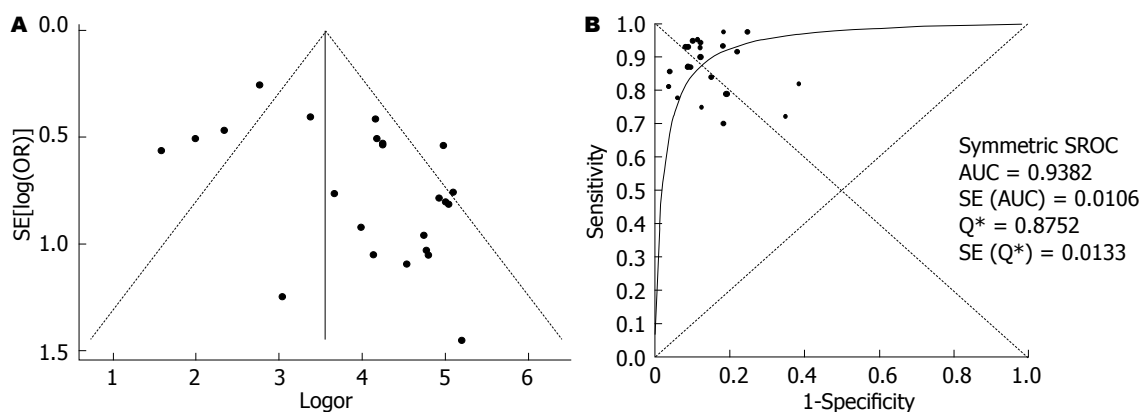


图 7 FS诊断CHC和CHB肝硬化的Meta分析漏斗图和SROC曲线。A: 漏斗图; B: SROC曲线。

表 6 FS诊断CHC和CHB明显肝纤维化的准确性的研究汇总

作者	发表时间	F2-4/n	界值(kPa)	SE(%)	SP(%)	PPV(%)	NPV(%)	AUC(95%CI)
Cho等 <sup>[20]</sup>	2011	144/207	7.8	79	86	93	64	0.89(0.84-0.93)
Ferraioli等 <sup>[22]</sup>	2013	117/246	6.9	71	86	82	77	0.86(0.81-0.90)
Sporea等 <sup>[35]</sup>	2010	65/71	7.6	60	83	97	16	0.73
Lee等 <sup>[36]</sup>	2010	100/121	6.5	90	76	95	62	0.93(0.88-0.99)

n: 纳入分析总数; SE: 敏感度; SP: 特异度; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值; AUC: 曲线下面积。

表 7 FS诊断CHC和CHB肝硬化的准确性的研究汇总

作者	发表时间	F4/n	界值(kPa)	SE(%)	SP(%)	PPV(%)	NPV(%)	AUC(95%CI)
Cho等 <sup>[20]</sup>	2011	15/207	14.0	93	82	29	99	0.91(0.86-0.94)
Ferraioli等 <sup>[22]</sup>	2013	39/246	9.6	95	90	64	99	0.96(0.93-0.98)
Sporea等 <sup>[35]</sup>	2010	16/71	13.0	81	96	85	93	0.94
Lee等 <sup>[36]</sup>	2010	18/121	11.0	72	65	27	93	0.75(0.62-0.89)

n: 纳入分析总数; SE: 敏感度; SP: 特异度; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值; AUC: 曲线下面积。

究在95%CI外, 故采用随机效应模型计算合并DOR和拟合SROC曲线(图7), 其值分别为 49.14(30.53-79.09)、0.94, 合并敏感度和合并特异度分别为0.86(0.84-0.88)、0.86(0.85-0.87)。

### 3 讨论

诊断性Meta分析通过AUC评估该诊断试验的准确性:  $AUC \leq 0.5$ 表明该诊断试验无意义;  $0.5 < AUC \leq 0.7$ 表明准确性较低;  $0.7 < AUC \leq 0.9$ 表明准确性中等;  $AUC > 0.9$ 表明准确性较高, 即越接近于1(曲线越接近左上角)表明准确性越高。FS自问世十年来, 在全球范围内不断推广使用, 其简易的操作性、稳定的重复性、可靠的准确性得到越来越多中心的认可, 虽然抗病毒治疗的进展使得乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染的发病率和肝硬化相关并发症的发生率得到有效的控制, 但庞大的患病人群基数迫切需要简便有效的工具监测疾病进展和评估治疗效果。本文以发生明显肝纤维化( $F \geq 2$ )和肝硬化( $F = 4$ )为研究对象, 基于发生明显肝纤维化是决定是否行抗病毒治疗的重要参考<sup>[37]</sup>, 发生肝硬化是密切监测胃-食管静脉曲张、肝细胞癌、腹水、肝性脑病等并发症的重要参考。

在欧美国家, 以HCV导致的病毒性肝炎为主, 各中心得出的FS诊断CHC明显肝纤维化( $F \geq 2$ )的界值在6.2-10.1 kPa之间, 诊断肝硬化( $F = 4$ )的界值在9.3-15.9 kPa之间, Meta分析其合并敏感度、合并特异度、合并DOR及AUC分别为0.72(0.70-0.75)、0.85(0.83-0.87)、19.38(13.10-28.67)、0.88和0.85(0.81-0.87)、0.89(0.87-0.90)、59.95(31.05-115.76)、0.95。

在亚洲国家, 以HBV导致的病毒性肝炎为主, 各中心得出的FS诊断CHB明显肝纤维化( $F \geq 2$ )的界值在5.9-9.3 kPa之间, 诊断肝硬化( $F = 4$ )的界值在9.0-15.4 kPa之间, Meta分析其合并敏感度、合并特异度、合并DOR及AUC分别为0.70(0.67-0.73)、0.87(0.83-0.90)、19.84(9.35-42.09)、0.89和0.89(0.85-0.92)、0.84(0.82-0.86)、45.10(23.02-88.36)、0.93。

根据上述结果, 表明FS诊断肝纤维化分级具有较高的准确性, 不论是CHC或CHB, FS诊断肝硬化( $F = 4$ )的合并敏感度、合并特异度、合并DOR、AUC均优于诊断明显肝纤维化( $F \geq 2$ ), 提示FS诊断肝硬化( $F = 4$ )的准确性更高; 对比CHC和CHB, FS诊断明显肝纤维化( $F \geq 2$ )和肝硬化( $F = 4$ )的准确性无明显差异; 但在CHC, FS诊断肝硬化( $F = 4$ )的合并DOR明显高于CHB。

Meta分析对所有慢性病毒性肝炎所得的结果, 与按CHC或CHB病因分类后Meta分析所得

的结果相比, 未见明显差异。因此不论是CHC或CHB, FS诊断肝纤维化分级的准确性无明显差别。尽管各中心得出的诊断界值参差不齐, 但对临床医师仍有指导意义。对CHC患者, 在FS值为6.2 kPa时需警惕发生明显肝纤维化( $F \geq 2$ )的可能, 在FS值为9.3 kPa时需警惕发生肝硬化( $F = 4$ )的可能; 对CHB患者, 在FS值为5.9 kPa时需警惕发生明显肝纤维化( $F \geq 2$ )的可能, 在FS值为9 kPa时需警惕发生肝硬化( $F = 4$ )的可能。

值得注意的是, 即使各中心的最佳诊断界值均是在敏感度和特异度之和最大的条件下得出, 各中心的结论仍不完全一致, 有些甚至差别较大, 究其原因, 可能由各中心研究对象的BMI水平、ALT水平、操作者水平等因素不完全一致引起。在临床实际应用时, 界值可以根据特定的需要而设定, 为减少误诊率可提高诊断界值以提高特异度, 为减少漏诊率可降低诊断界值以提高敏感度。

肝脏疾病的病因多种, 慢性肝炎长期发展均导致肝纤维化和肝硬化。病因不同, 发生肝纤维化的时间、肝脏的病理学特征、肝脏的硬度不完全相同, 因此FS的诊断界值和诊断准确性不完全相同。FS在诊断慢性酒精性肝病<sup>[38]</sup>、慢性非酒精性脂肪性肝病<sup>[39]</sup>、原发性胆汁性肝硬化<sup>[40]</sup>等疾病的研究均有报道。

此外, 在分析FS值时, 其影响因素不可忽视, 已经有研究表明, BMI水平<sup>[41]</sup>、肝脏炎症程度 and 脂肪变程度<sup>[42]</sup>、ALT水平<sup>[43]</sup>等因素均可导致高估或低估FS值, 从而造成对肝纤维化分期的误判。在临床上, 必须个体化评估病情, FS作为一种辅助检查工具对病情的判断具有重要参考价值, 但必须综合血清学指标和影像学检查才能准确评估病情, 给予恰当的治疗方案。

总之, FS诊断肝纤维化分级的准确性良好, 尤其对诊断肝硬化。不论是CHC或CHB, FS诊断肝纤维化分级的准确性无明显差别。

### 4 参考文献

- 1 Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med* 2001; 344: 495-500 [PMID: 11172192 DOI: 10.1056/NEJM200102153440706]
- 2 Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol* 2003; 39: 239-244 [PMID: 12873821 DOI: 10.1016/S0168-8278(03)00191-0]
- 3 Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B,



- Kazemi F, Beaugrand M, Palau R. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1705-1713 [PMID: 14698338 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2003.07.001]
- 4 Alberti A, Chemello L, Benvegnù L. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol* 1999; 31 Suppl 1: 17-24 [PMID: 10622555 DOI: 10.1016/S0168-8278(99)80369-9]
  - 5 McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2009; 49: S45-S55 [PMID: 19399792 DOI: 10.1002/hep.22898]
  - 6 Bedossa P, Poinard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Co-operative Study Group. *Hepatology* 1996; 24: 289-293 [PMID: 8690394 DOI: 10.1002/hep.510240201]
  - 7 Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM, Kleijnen J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Methodol* 2003; 3: 25 [PMID: 14606960 DOI: 10.1186/1471-2288-3-25]
  - 8 Whiting PF, Weswood ME, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PN, Kleijnen J. Evaluation of QUADAS, a tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *BMC Med Res Methodol* 2006; 6: 9 [PMID: 16519814 DOI: 10.1186/1471-2288-6-9]
  - 9 Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mal F, Kazemi F, de Lédinghen V, Marcellin P, Dhumeaux D, Trinchet JC, Beaugrand M. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005; 41: 48-54 [PMID: 15690481 DOI: 10.1002/hep.20506]
  - 10 Castéra L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, Darriet M, Couzigou P, De Lédinghen V. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005; 128: 343-350 [PMID: 15685546 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.11.018]
  - 11 Colletta C, Smirne C, Fabris C, Toniutto P, Rapetti R, Minisini R, Pirisi M. Value of two noninvasive methods to detect progression of fibrosis among HCV carriers with normal aminotransferases. *Hepatology* 2005; 42: 838-845 [PMID: 16121354 DOI: 10.1002/hep.20814]
  - 12 Lupșor M, Badea R, Ștefănescu H, Grigorescu M, Sparchez Z, Serban A, Branda H, Iancu S, Maniu A. Analysis of histopathological changes that influence liver stiffness in chronic hepatitis C. Results from a cohort of 324 patients. *J Gastrointest Liver Dis* 2008; 17: 155-163 [PMID: 18568136]
  - 13 Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Goto E, Sato T, Ohki T, Goto T, Yoshida H, Kanai F, Sugiyama Y, Ikeda H, Shiina S, Kawabe T, Omata M. Comparison of liver biopsy and transient elastography based on clinical relevance. *Can J Gastroenterol* 2008; 22: 753-757 [PMID: 18818788]
  - 14 Sporea I, Sirli R, Deleanu A, Tudora A, Curescu M, Cornianu M, Lazar D. Comparison of the liver stiffness measurement by transient elastography with the liver biopsy. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6513-6517 [PMID: 19030204 DOI: 10.3748/wjg.14.6513]
  - 15 Arena U, Vizzutti F, Abraldes JG, Corti G, Stasi C, Moscarella S, Milani S, Loreface E, Petrarca A, Romanelli RG, Laffi G, Bosch J, Marra F, Pinzani M. Reliability of transient elastography for the diagnosis of advanced fibrosis in chronic hepatitis C. *Gut* 2008; 57: 1288-1293 [PMID: 18448567 DOI: 10.1136/gut.2008.149708]
  - 16 Lupșor M, Badea R, Ștefănescu H, Sparchez Z, Branda H, Serban A, Maniu A. Performance of a new elastographic method (ARFI technology) compared to unidimensional transient elastography in the noninvasive assessment of chronic hepatitis C. Preliminary results. *J Gastrointest Liver Dis* 2009; 18: 303-310 [PMID: 19795024]
  - 17 Ichino N, Osakabe K, Nishikawa T, Sugiyama H, Kato M, Kitahara S, Hashimoto S, Kawabe N, Harata M, Nitta Y, Murao M, Nakano T, Arima Y, Shimazaki H, Suzuki K, Yoshioka K. A new index for non-invasive assessment of liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4809-4816 [PMID: 20939109 DOI: 10.3748/wjg.v16.i38.4809]
  - 18 Rizzo L, Calvaruso V, Cacopardo B, Alessi N, Attanasio M, Petta S, Fatuzzo F, Montineri A, Mazzola A, L'abbate L, Nunnari G, Bronte F, Di Marco V, Craxi A, Cammà C. Comparison of transient elastography and acoustic radiation force impulse for non-invasive staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 2112-2120 [PMID: 21971536 DOI: 10.1038/ajg.2011.341]
  - 19 Patel K, Friedrich-Rust M, Lurie Y, Grigorescu M, Stanciu C, Lee CM, Schiff ER, Häussinger D, Manns MP, Gerken G, Colle I, Torbenson M, Pulkstenis E, Subramanian GM, McHutchison JG, Zeuzem S. FibroSURE and FibroScan in relation to treatment response in chronic hepatitis C virus. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4581-4589 [PMID: 22147963 DOI: 10.3748/wjg.v17.i41.4581]
  - 20 Cho HJ, Seo YS, Lee KG, Hyun JJ, An H, Keum B, Kim JH, Yim HJ, Jeon YT, Lee HS, Chun HJ, Um SH, Kim CD, Ryu HS. Serum aminotransferase levels instead of etiology affects the accuracy of transient elastography in chronic viral hepatitis patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 492-500 [PMID: 21332545 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06419.x]
  - 21 Kim SU, Jang HW, Cheong JY, Kim JK, Lee MH, Kim DJ, Yang JM, Cho SW, Lee KS, Choi EH, Park YN, Han KH. The usefulness of liver stiffness measurement using FibroScan in chronic hepatitis C in South Korea: a multicenter, prospective study. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 171-178 [PMID: 21175811 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06385.x]
  - 22 Ferraioli G, Tinelli C, Dal Bello B, Zicchetti M, Lissandrini R, Filice G, Filice C, Above E, Barbarini G, Brunetti E, Calderon R, Di Gregorio M, Gulminetti R, Lanzarini P, Ludovisi S, Maiocchi L, Malfitano A, Michelone G, Minoli L, Mondelli M, Novati S, Patruno SF, Perretti A, Poma G, Sacchi P, Zanaboni D, Zaramella M. Performance of liver stiffness measurements by transient elastography in chronic hepatitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 49-56 [PMID: 23326162 DOI: 10.3748/wjg.v19.i1.49]
  - 23 Bosselut N, Taibi L, Guéchet J, Zarski JP, Sturm N, Gelineau MC, Poggi B, Thoret S, Lasnier E, Baudin B, Housset C, Vaubourdolle M. Including osteopontin and collagen IV in a score-based blood test for liver fibrosis increases diagnostic accuracy. *Clin Chim Acta* 2013; 415: 63-68 [PMID: 23022619 DOI: 10.1016/j.cca.2012.09.020]
  - 24 Chan HL, Wong GL, Choi PC, Chan AW, Chim AM, Yiu KK, Chan FK, Sung JJ, Wong VW. Alanine

- aminotransferase-based algorithms of liver stiffness measurement by transient elastography (Fibroscan) for liver fibrosis in chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2009; 16: 36-44 [PMID: 18673426 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2008.01037.x]
- 25 Kim do Y, Kim SU, Ahn SH, Park JY, Lee JM, Park YN, Yoon KT, Paik YH, Lee KS, Chon CY, Han KH. Usefulness of FibroScan for detection of early compensated liver cirrhosis in chronic hepatitis B. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1758-1763 [PMID: 19005758 DOI: 10.1007/s10620-008-0541-2]
- 26 Lesmana CR, Salim S, Hasan I, Sulaiman AS, Gani RA, Pakasi LS, Lesmana LA, Krisnuhoni E, Budihusodo U. Diagnostic accuracy of transient elastography (FibroScan) versus the aspartate transaminase to platelet ratio index in assessing liver fibrosis in chronic hepatitis B: the role in primary care setting. *J Clin Pathol* 2011; 64: 916-920 [PMID: 21670074 DOI: 10.1136/jclinpath-2011-200044]
- 27 Viganò M, Paggi S, Lampertico P, Fraquelli M, Masironi S, Ronchi G, Rigamonti C, Conte D, Colombo M. Dual cut-off transient elastography to assess liver fibrosis in chronic hepatitis B: a cohort study with internal validation. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 353-362 [PMID: 21631559 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04722.x]
- 28 Ogawa E, Furusyo N, Murata M, Ohnishi H, Toyoda K, Taniai H, Ihara T, Ikezaki H, Hayashi T, Kainuma M, Hayashi J. Longitudinal assessment of liver stiffness by transient elastography for chronic hepatitis B patients treated with nucleoside analog. *Hepatol Res* 2011; 41: 1178-1188 [PMID: 21917085 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00869.x]
- 29 Zhu X, Wang LC, Chen EQ, Chen XB, Chen LY, Liu L, Lei XZ, Liu C, Tang H. Prospective evaluation of FibroScan for the diagnosis of hepatic fibrosis compared with liver biopsy/AST platelet ratio index and FIB-4 in patients with chronic HBV infection. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2742-2749 [PMID: 21399926 DOI: 10.1007/s10620-011-1659-1]
- 30 纪冬, 邵清, 韩萍, 张健, 牛小霞, 李冰, 李梵, 陈国凤. 瞬时弹性成像联合血清学标志物检测对肝纤维化的诊断效能分析. *解放军医学杂志* 2011; 36: 1136-1138
- 31 张旭, 陆伟, 王春妍. Fibroscan对慢性乙型肝炎肝脏纤维化的诊断价值. *天津医药* 2011; 39: 236-238
- 32 Kim BK, Kim HS, Park JY, Kim do Y, Ahn SH, Chon CY, Park YN, Han KH, Kim SU. Prospective validation of ELF test in comparison with Fibroscan and FibroTest to predict liver fibrosis in Asian subjects with chronic hepatitis B. *PLoS One* 2012; 7: e41964 [PMID: 22848675 DOI: 10.1371/journal.pone.0041964]
- 33 Kim BK, Kim SU, Kim HS, Park JY, Ahn SH, Chon CY, Cho IR, Joh DH, Park YN, Han KH, Kim do Y. Prospective validation of FibroTest in comparison with liver stiffness for predicting liver fibrosis in Asian subjects with chronic hepatitis B. *PLoS One* 2012; 7: e35825 [PMID: 22536445 DOI: 10.1371/journal.pone.0035825]
- 34 李建志, 李洁, 熊春梅, 张梅芳, 郑雪, 张灵云, 张国全, 孙爱华, 单容. Fibroscan测定与超声影像学检查在诊断慢性乙肝相关肝纤维化中的价值. *山东大学学报(医学版)* 2012; 50: 115-118
- 35 Sporea I, Sirlu R, Popescu A, Danilă M. Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI)—a new modality for the evaluation of liver fibrosis. *Med Ultrason* 2010; 12: 26-31 [PMID: 21165451]
- 36 Lee MH, Cheong JY, Um SH, Seo YS, Kim DJ, Hwang SG, Yang JM, Han KH, Cho SW. Comparison of surrogate serum markers and transient elastography (Fibroscan) for assessing cirrhosis in patients with chronic viral hepatitis. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 3552-3560 [PMID: 20428950 DOI: 10.1007/s10620-010-1219-0]
- 37 Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology* 2004; 39: 1147-1171 [PMID: 15057920 DOI: 10.1002/hep.20119]
- 38 Nahon P, Kettaneh A, Tengher-Barna I, Zioli M, de Ledinghen V, Douvin C, Marcellin P, Ganne-Carrié N, Trinchet JC, Beaugrand M. Assessment of liver fibrosis using transient elastography in patients with alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2008; 49: 1062-1068 [PMID: 18930329 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.08.011]
- 39 Yoneda M, Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Endo H, Iida H, Nozaki Y, Yonemitsu K, Higurashi T, Takahashi H, Kobayashi N, Kirikoshi H, Abe Y, Inamori M, Kubota K, Saito S, Tamano M, Hiraishi H, Maeyama S, Yamaguchi N, Togo S, Nakajima A. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Liver Dis* 2008; 40: 371-378 [PMID: 18083083 DOI: 10.1016/j.dld.2007.10.019]
- 40 Floreani A, Cazzagon N, Martinez D, Cavalletto L, Baldo V, Chemello L. Performance and utility of transient elastography and noninvasive markers of liver fibrosis in primary biliary cirrhosis. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 887-892 [PMID: 21783442 DOI: 10.1016/j.dld.2011.06.011]
- 41 Das K, Sarkar R, Ahmed SM, Mridha AR, Mukherjee PS, Das K, Dhali GK, Santra A, Chowdhury A. "Normal" liver stiffness measure (LSM) values are higher in both lean and obese individuals: a population-based study from a developing country. *Hepatology* 2012; 55: 584-593 [PMID: 21952989 DOI: 10.1002/hep.24694]
- 42 Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, Donato MF, Ronchi G, Conte D, Rumi M, Lampertico P, Colombo M. Etiology-related determinants of liver stiffness values in chronic viral hepatitis B or C. *J Hepatol* 2011; 54: 621-628 [PMID: 21146243 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.017]
- 43 Chen XB, Zhu X, Chen LY, Chen EQ, Tang H. [Accuracy of FibroScan for the diagnosis of liver fibrosis influenced by serum alanine aminotransferase levels in patients with chronic hepatitis B]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2011; 19: 286-290 [PMID: 21586228]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



## 胆总管结石合并肝硬化患者行ERCP的临床价值

马茂源, 蒋国斌, 王翔, 缪林, 季国忠, 王敏

### ■背景资料

随着现代医学技术的发展, 逆行胆胰管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)已经成为治疗胆总管结石的首选治疗方法。但肝硬化失代偿期患者由于病史长, 常伴有食管静脉曲张及肝性脑病等并发症, 当合并胆总管结石时在临床治疗的过程中有一定的风险及困难, 其手术风险比无肝硬化者显著增高。对于此类患者的治疗需要根据具体病情采取不同的治疗方案。Child-Pugh分级对内镜下的治疗方式和预后有重要意义。术前对肝功能的充分评估, 严格选择适应症, ERCP手术前后充分准备, 有助于减少肝损害及肝衰竭的发生, 并降低死亡率, 对临床具有指导意义。

### ■同行评议者

蔡开琳, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

马茂源, 泰州市第二人民医院 江苏省泰州市 225500

蒋国斌, 王翔, 缪林, 季国忠, 王敏, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心 南京医科大学消化内镜研究所 江苏省南京市 210011

马茂源, 副主任医师, 主要从事消化内科及消化内镜临床及基础研究。

南京医科大学科技发展基金资助项目, No. 2012NJMU086

作者贡献分布: 马茂源与蒋国斌对此文所作贡献均等; 本文由马茂源、季国忠及王敏设计; 治疗过程由王翔、缪林及王敏主要操作; 蒋国斌辅助操作完成; 病例随访由王敏完成; 病例收集、整理、统计及论文写作由马茂源、蒋国斌及王敏完成。

通讯作者: 王敏, 副主任医师, 210011, 江苏省南京市姜家园121号, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心。

beautywang@yeah.net

电话: 025-58509885

收稿日期: 2013-09-03 修回日期: 2013-10-01

接受日期: 2013-10-15 在线出版日期: 2013-11-28

### ERCP for treatment of choledocholithiasis in patients with liver cirrhosis

Mao-Yuan Ma, Guo-Bing Jiang, Xiang Wang, Lin Miao, Guo-Zhong Ji, Min Wang

Mao-Yuan Ma, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Taizhou City, Taizhou 225500, Jiangsu Province, China

Guo-Bing Jiang, Xiang Wang, Lin Miao, Guo-Zhong Ji, Min Wang, Digestive Endoscopy Institute and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Nanjing Medical University, No. 2012NJMU086

Correspondence to: Min Wang, Associate Chief Physician, Digestive Endoscopy Institute and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 121 Jiangjiayuan, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China. beautywang@yeah.net

Received: 2013-09-03 Revised: 2013-10-01

Accepted: 2013-10-15 Published online: 2013-11-28

### Abstract

**AIM:** To explore the indications, operational skills and risk factors of endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) in the treatment of choledocholithiasis with cirrhosis.

**METHODS:** Clinical data for 41 patients with choledocholithiasis with cirrhosis who underwent ERCP at the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University from June 2002 to

June 2013 were retrospectively analyzed. Intra-ERCP and post-ERCP complications and mortality rate were observed.

**RESULTS:** Nine patients were classified as Child-Pugh A, nineteen as Child-Pugh B, and thirteen as Child-Pugh C. The success rate of ERCP was 97.6% (40/41). Complications included bleeding and infection, which occurred only in patients with Child-Pugh C disease (all cured afterwards). Intraoperative and postoperative hemorrhage occurred in one respective case. Severe pulmonary infection occurred in 1 patient, who died 3 d post operation. No postoperative pancreatitis or perforation was found. Two patients were lost to follow-up. Of the other patients, 6 died of primary malignant tumor or liver cirrhosis-related complications in 2 mo to 3 years, and 33 patients are still alive.

**CONCLUSION:** ERCP has a considerable risk and difficulty in the treatment of choledocholithiasis in patients with cirrhosis and therefore needs to perform by experienced endoscopists. Patients with Child-Pugh A and B disease can undergo ERCP, but those with Child-Pugh C can not undergo ERCP until their liver function and general condition are improved after conservative therapies.

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

**Key Words:** Cirrhosis; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Endoscopy; Choledocholithiasis; Complications

Ma MY, Jiang GB, Wang X, Miao L, Ji GZ, Wang M. ERCP for treatment of choledocholithiasis in patients with liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3736-3741  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3736.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3736>

### 摘要

**目的:** 探讨肝硬化合并胆总管结石患者行逆行胆胰管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)的手术技巧, 可能



存在的风险及处理措施。

**方法:** 回顾性分析作者在南医大二附院消化医学中心进修以来, 自2002-06/2013-06间收治的41例胆总管结石合并肝硬化患者的临床资料, 总结ERCP术中的经验教训, 同时观察患者于ERCP术前术后的病情变化及并发症等情况。

**结果:** 本组病例共41例患者, Child-Pugh A级9例, Child-Pugh B级19例, Child-Pugh C级13例。其中插管失败1例, 插管成功率为97.6%(40/41)。并发出血共2例, 均为Child C级患者, 其中术中并发出血1例, 术后并发出血1例, 经治疗出血均停止。术后继发感染1例, 因重症感染继发肝性脑病于术后第3天死亡, 无一例并发ERCP术后胰腺炎及穿孔。41例患者2例失访。39例中6例于术后2 mo至3年后死于肝硬化相关并发症, 其中1例死于肝性脑病, 4例死于上消化系大出血, 1例死于继发重症感染; 其余33例仍存活。

**结论:** 胆总管结石合并肝硬化患者行ERCP有一定难度及风险, 要求术者有熟练的操作技巧。同时建议尽量选择Child A及B级患者手术, Child C级在术前应当尽可能改善肝功能至Child B级, 可降低ERCP术中及术后并发症的发生。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝硬化; 逆行胆胰管造影; 内镜; 胆总管结石; 并发症

**核心提示:** 胆总管结石合并肝硬化患者行逆行胆胰管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)有一定难度及风险, 要求术者有熟练的操作技巧。在本组病例中, 发生并发症的均为Child C级的患者, 且我们的统计学结果显示3组之间并发症有统计学意义, 因此对于Child C级患者尤其应当警惕术中及术后的并发症情况, 尽量在术前改善肝脏功能至B级或A级再行ERCP术, 可降低ERCP术中及术后并发症的发生。

马茂源, 蒋国斌, 王翔, 缪林, 季国忠, 王敏. 胆总管结石合并肝硬化患者行ERCP的临床价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3736-3741 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3736.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3736>

## 0 引言

随着现代医学技术的发展, 逆行胆胰管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography,

ERCP)已经成为治疗胆总管结石的首选治疗方法<sup>[1-3]</sup>。但肝硬化患者由于病史长, 患者常伴有肝功能不良、腹水、食管静脉曲张及肝性脑病等, 当合并胆管结石时在临床治疗的过程中受到一定限制。而胆管结石易合并梗阻性黄疸、感染, 可加重肝功能损害, 当并存肝硬化时其手术风险比无肝硬化者显著增高<sup>[4]</sup>。本文对在南京医科大学第二附属医院进修前后收治的胆管结石合并肝硬化患者用ERCP治疗的临床资料总结如下, 希望能够为内镜医生提供一定的借鉴。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2002-06/2013-06南医大二附院消化医学中心收治的胆管结石合并肝硬化患者41例, 其中男22例, 女19例, 平均年龄63.9岁±13.1岁。41例患者中, 临床表现为上腹不适2例; 腹痛9例, 其中2例合并有发热; 黄疸30例, 其中10例合并有发热, 12例合并有腹痛, 2例合并有腹痛及发热。十二指肠侧视镜(Olympus TJF-240, Japan), 附件为Olympus(Japan)、Cook(American)、Boston(American)等公司生产的造影导管、导丝、气囊、切开刀、取石网篮、碎石网篮、鼻胆引流管、鼻胰引流管、塑料胆道内支管、金属胆道支架、高频电发生器、岛津X光机等。

### 1.2 方法

**1.2.1 术前准备:** 所有患者在行ERCP前均常规行胃镜检查, 判断有无食管或胃底静脉曲张及明确是否合并消化性溃疡等情况。然后采用经内镜下十二指肠乳头插管的方式进行ERCP。患者取俯卧位, 术前常规肌肉注射地西洋2.5或5 mg(重度黄疸的患者不注射地西洋)、山莨菪碱10 mg, 哌替啶50 mg。治疗过程中持续吸氧, 监测血氧饱和度和心率、呼吸等生命体征变化。

**1.2.2 观察指标及诊断标准:** 所有患者均于术后严密观察腹部症状、体征及有无出血、发热等情况; 放置鼻胆管的患者, 观察鼻胆管外引流物的情况; 并分别于术前、术后3 h及第2天检查血常规、血淀粉酶的情况, 第7天复查肝功能、胆红素及C-反应蛋白等生化指标。

**出血的判断:** 患者于术后出现明显的呕血、黑便或便血, 并需要及时补充红细胞悬液≥2 U者。**感染:** 患者术前无明显感染临床表现, 术后出现发热, 血白细胞及中性粒细胞大于正常范围者。非急性胰腺炎患者于术后查血清淀粉酶>500 U/L并伴有发热、腹痛、恶心、呕吐等

## ■ 研发前沿

ERCP目前是内镜微创治疗的热点, ERCP操作有一定的难度、风险, 合并肝硬化的胆总管结石患者更是高风险。国内目前已有相关报道, 但对于合并严重并发症的报道较少, 尤其是术后的处理措施及经验的介绍, 本文对于Child-pugh A、B及C级患者ERCP术前评估、术后治疗及相关并发症的临床处理措施及经验进行了详细的描述, 并对并发症发生情况进行分析研究, 值得临床借鉴。

## ■ 相关报道

目前关于合并肝硬化的胆总管结石患者首选内镜下治疗的报道国内外有许多,并且大部分报道认为此类患者行ERCP是首选。国外报道认为,对于Child B级的患者可以取代外科手术作为首选的治疗方法,Child B及C级患者应当在内科保守治疗待肝功能改善后行ERCP治疗,但对于Child C级的患者,当患者合并有威胁生命的并发症时应当首先考虑ERCP的治疗方法。本文经过统计分析发现Child C级患者并发症发生率高,有统计学意义,故建议Child C尽量在术前改善肝脏功能至B级或A级再行ERCP术。

表 1 41例患者的一般临床资料及肝硬化病因 (n)

病因	Child-pugh分级					
	Child A级		Child B级		Child C级	
	男	女	男	女	男	女
乙型肝炎后肝硬化	3	2	3	3	3	2
血吸虫肝硬化	1	0	1	3	0	2
酒精性肝硬化	0	0	0	0	1	0
原发性胆汁淤积性肝硬化	1	0	3	1	0	0
乙型肝炎合并酒精性肝硬化	0	0	0	0	1	0
特发性肝硬化	1	1	3	2	1	3
总计	6	3	10	9	6	7

表 2 Child分级与ERCP术后并发症的关系分析 (n)

Child 分级	有并发症	无并发症
Child A级	0	9
Child B级	0	19
Child C级	3	10

用Fisher精确检验:  $P = 0.035$ , 3组并发症之间差异有统计学意义。

症状者则诊断为ERCP术后胰腺炎。

1.2.3 治疗: 所有患者先行ERCP, 造影成功后进一步明确胆总管结石的位置、大小及数目, 然后根据具体情况采用不同的处理。(1)胆总管结石 $\leq 1$  cm的, 凝血功能有明显异常的患者行内镜下气囊扩张, 凝血功能基本正常的患者则行内镜下括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST), 再用取石网篮取出结石;(2)对直径 $\geq 2$  cm的巨大结石应先行机械碎石, 再用网篮取出, 对于无或轻度静脉曲张的患者可在胆总管内放置鼻胆管行外引流, 对于中重度静脉曲张的患者可放置塑料内支架引流;(3)胆总管巨大结石未能一次取尽者, 可根据患者病情直接放置胆道塑料内支架或放置鼻胆管引流1-2 wk后再行内镜下取石, 合并有中重度食管胃底静脉曲张者不放置鼻胆管;(4)合并胆总管炎性狭窄者, 根据其狭窄长短不同, 于EST后给予胆管扩张治疗并放置鼻胆管, 促使胆汁引流减压减轻黄疸;(5)合并急性化脓性胆管炎患者, 先放置鼻胆管引流, 待病情好转后再根据情况进一步治疗。

术后常规禁食, 给予抗感染、抑制胰酶分泌及止血等治疗, 第1天的血淀粉酶正常且无腹痛等并发症者, 第2天进食, 异常者监测至正常。

**统计学处理** 统计分析采用统计软件SPSS11.0进行,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

41例患者的一般临床资料如表1。按Child-Pugh标准<sup>[5]</sup>分级, Child-Pugh A级9例, Child-Pugh B级19例, Child-Pugh C级13例。

2.1 ERCP术后结果 41例患者, 1例插管失败, 造影成功40例, 成功率97.5%。胆总管多发结石25例; 胆总管单发结石16例, 其中1例为巨大结石。胆总管结石合并急性胆管炎12例, 合并肝门部肿瘤1例, 合并急性胆源性胰腺炎2例, 胆总管结石合并Mirizzi综合征1例, 后转至外科手术。

2.2 合并食管及胃底静脉曲张情况 41例患者中有23例合并食管静脉曲张(其中轻度14例, 中度4例, 重度5例), 23例患者中有1例患者合并有食管及胃底静脉曲张, 18例患者无明显食管或胃底静脉曲张。

2.3 ERCP术中处理情况 23例合并有食管或胃底静脉曲张的患者, 其中9例因巨大结石或多发结石放置塑料支架(其中3例放置塑料双支架内引流, 6例放置单支架引流), 2例急性胆源性胰腺炎合并有胆总管结石患者不合并有静脉曲张, 术中取石后放置鼻胆管引流管, 术后恢复良好。12例合并有急性胆管炎的患者, 均合并有食管静脉曲张, 其中3例患者因病情危重, 急诊放置塑料支架后病情得到迅速缓解, 择期行ERCP取石。

2.4 术后并发症发生情况 术后共发生各种并发症3例(占7.3%), 其中并发出血2例, 3例患者均为Child C级患者, 其中术中并发出血1例, 术后并发出血1例, 经治疗出血均停止。术后继发感染1例, 因重症感染继发肝性脑病于术后第3天死亡。Child分级与ERCP术后并发症的关系分析如表2, 说明Child C级患者并发症发生率高, 有统计学意义, ( $P = 0.035$ , Fisher精确检验)。无1例并发ERCP术后胰腺炎及穿孔。

2.5 随访情况 2例失访。39例中6例于术后2 mo至3年后死于肝硬化相关并发症, 其中1例死于肝性脑病, 4例死于上消化道大出血, 1例死于继发重症感染; 其余33例仍存活且继续行保肝等对症治疗, 仍在随访中。

### 3 讨论

据报道, 肝硬化患者合并胆总管结石的发生率明显高于正常人群<sup>[6]</sup>, 其中94%的患者会发生胆道梗阻症状<sup>[7]</sup>, 从而导致肝功能损害加重。因此, 对于肝硬化合并胆总管结石患者不管是否存在发热、黄疸等临床表现都应积极治疗。

肝硬化患者合并胆总管结石时手术难度高, 风险大是因为: (1)肝硬化患者凝血功能差, 出血不易自止, EST过程中易发生出血; (2)胆总管结石合并感染、ERCP术中应用造影剂及肝硬化的多重打击, 加重肝功能损害, 同时常合并营养不良, 低白蛋白血症, 水、电解质代谢紊乱, 使术后感染、肝性脑病及肝功能衰竭等并发症增加。因此此类患者手术后易感染, 易出血, 甚至出现脏器功能不全等并发症<sup>[8]</sup>。目前国内外已有报道ERCP治疗肝硬化合并胆总管结石的相关报道<sup>[9-11]</sup>, 其中出血、感染及胰腺炎是最受内镜医生关注的部分。此类患者行ERCP的原则是快速、准确、安全、有效。本组病例中, 对于合并急性胆管炎的患者, 先行鼻胆管或支架引流, 待病情好转后再择期取石; 对于多发及巨大结石, 一次不能取净或需较长手术时间者先放置胆道塑料支架或鼻胆管, 分次取出, 本组病例中共有11例患者放置塑料支架, 其中6例患者于3-15 mo后再次于我院或外院取石, 4例患者于第一次ERCP术后经对症治疗病情好转后1 wk左右再次行ERCP术取石, 2例失访。

目前关于合并肝硬化的胆总管结石患者首选内镜下治疗的报道国内外<sup>[10-15]</sup>有许多, 并且大部分报道认为此类患者行ERCP是首选。国外报道<sup>[12]</sup>认为, 对于Child B级的患者可以取代外科手术作为首选的治疗方法, Child B及C级患者应当在内科保守治疗待肝功能和一般状态改善后行ERCP术治疗, 但对于Child C级的患者, 当患者合并有威胁生命的并发症时应当首先考虑ERCP的治疗方法。本组41例患者, 除1例患者ERCP插管失败改行PTCD, 1例患者术后继发感染1例, 因重症感染继发肝性脑病于术后第3天死亡外, 其余患者均预后良好。因此我们认为,

Child A、B、C级患者均可行ERCP, 尤其是合并有急性胆源性胰腺炎和急性化脓性胆管炎时, 急诊ERCP对于患者的预后尤为重要。但应当注意的是, 在本组病例中, 发生并发症的均为Child C级的患者, 且我们的统计学结果显示3组之间并发症有统计学意义, 因此对于Child C级患者尤其应当警惕术中及术后的并发症情况, 尽量在术前改善肝脏功能至B级或A级再行ERCP术。

在行ERCP的过程中我们体会, 对合并肝硬化的胆总管结石患者, 重视ERCP的操作技巧是预防及降低术中及术后出血、穿孔等并发症的关键: (1)对于胆管结石的位置、大小, ERCP插管成功后应如何处理以及在术中发生出血等并发症时应如何处理要有精细准备; (2)行ERCP插镜时动作轻柔, 尽量避免在插镜过程中出现曲张静脉破裂出血, 用网篮取石时尽量避免暴力牵拉取石及反复抖拉网篮的动作, 尽量拉直镜身, 缓慢匀速用力。本组病例共有23例患者合并有轻至重度的食管静脉曲张, 在插镜过程中未出现出血的情况。插管时动作轻柔, 尽量避免乳头多次插管致乳头出血, 本组病例有1例在插管过程中出现了乳头出血, 用去甲肾上腺素喷洒止血后插管成功。同时要注意在插管成功后注射造影剂显影的过程中尽量少用造影剂, 以防造影剂进一步加重肝功能损伤; (3)在插管成功后胆总管结石的处理: 行EST时, 尽量行中小切开, 必要时也可结合气囊扩张; 如胆总管结石小, 也可直接选择扩张气囊扩张乳头口后再取石。对于结石较大或多发结石患者, 建议行塑料支架植入术先缓解胆道梗阻, 待感染控制, 黄疸消退后, 择期进一步治疗, 本组病例中共11例患者由于胆总管结石较大或较多行塑料支架植入, 2例由于合并胆管狭窄行塑料支架植入, 这2例患者均恢复良好, 无出血、感染等并发症。

ERCP术后患者主要的并发症及风险为出血、感染、胰腺炎, 因此积极处理并发症对改善患者的预后有重要意义。

如ERCP术前常规行胃镜检查以明确是否合并食管、胃底静脉曲张及其程度, 对于肝脏功能有一个准确的评估。对于凝血功能较差者应在术前输血浆、血小板及维生素K等, 以纠正凝血缺陷。对于Child C级患者尽量在术前改善肝脏功能至B级, 并选择恰当的时机手术可以避免手术时机不当而导致术后大出血、感染等并发症。

### ■创新盘点

胆总管结石合并肝硬化患者行ERCP有一定难度及风险, 要求术者有熟练的操作技巧。在本组病例中, 发生并发症的均为Child C级的患者, 且我们的统计学结果显示3组之间并发症有统计学意义, 因此对于Child C级患者尤其应当警惕术中及术后的并发症情况, 尽量在术前改善肝脏功能至B级再行ERCP术, 可降低ERCP术中及术后并发症的发生。



## ■应用要点

本文对临床医生具有较强的指导意义。对合并肝硬化的胆总管结石患者,重视ERCP的操作技巧,如术前要有精细准备,行ERCP时动作轻柔,尽量避免暴力。建议有经验的内镜医师操作。同时建议在术前尽可能将Child C级改善肝功能至Child B级或A级,可降低ERCP术中及术后并发症的发生。

胆总管结石合并肝硬化患者本身机体抵抗力、免疫力下降,术前常常合并严重的胆道感染。再加上ERCP手术创伤及术中造影剂的应用等打击,更容易发生术后感染,胆道感染严重时还可继发肝脓肿。尽早取出胆总管结石,保持胆管引流通畅,就可以控制感染,减少感染对于肝脏功能的进一步损伤。因此术前应当积极抗感染治疗,同时积极改善肝功能。本组患者有1例患者由于术后重症感染并发DIC于术后第3天死亡。因此尤其要注意术前、术后选择敏感的抗生素,且尽量选择对肝功能影响小的抗生素,此外还要注意防止二重感染及真菌感染。

肝硬化患者由于食管静脉曲张或凝血功能障碍,增加了ERCP过程中或术后出血的风险,尤其是EST过程中。有文章报道,肝硬化患者行EST过程中容易出血,死亡率高达14.3%-16.0%<sup>[16]</sup>。本组病例中发生两例出血,其中1例为术中行EST时出血,于内镜下用去甲肾上腺素喷洒止血后出血停止,待ERCP结束时放置塑料支架并再次观察无活动性出血后结束治疗。另外1例为术后12 h出现黑便,后行急诊内镜发现EST切缘处渗血,于内镜下行电针止血。两例出血均得到有效控制。此两例患者均为Child C级。因此对于Child C级患者行EST时要特别注意术中及术后出血的问题。对于Child C级的患者我们建议在术前尽量改善肝功能至B级或A级,或者通过输凝血因子或血浆等方式改善患者的凝血功能,如此可以最大程度地避免与EST相关的出血问题。

对于合并有食管静脉曲张的患者,因内镜反复牵拉、放置鼻胆引流管及放置取出塑料支架等操作容易导致曲张静脉破裂出血,因此国内有文章报道先行内镜下静脉曲张的治疗<sup>[10,17]</sup>,然后再行ERCP内镜下治疗的方法,取得了不错的疗效,值得借鉴。在本组病例中亦有1例患者既往曾有上消化系出血食管静脉曲张套扎病史,因此避免ERCP取石术引起的食管静脉曲张破裂出血风险。

肝硬化患者多合并食道静脉曲张、凝血功能异常,因此ERCP手术后鼻胆管引流尤其要慎重。对于此类患者我们建议合并轻度静脉曲张的患者可以考虑放置鼻胆管引流,而合并中重度食管静脉曲张的患者建议放置塑料支架内引流。尤其是合并有急性胆管炎需急诊处理的患者,更是要根据情况决定引流方式,而不能先处理

食管静脉曲张。本组病例中有12例患者合并有急性胆管炎,其中3例患者因重度静脉曲张放置了塑料支架,4例轻度食管静脉曲张的患者放置了鼻胆管,无出血的情况出现。

与传统手术相比,内镜治疗的优势有:(1)手术为微创,术后恢复快;(2)手术时间短,术中可根据具体情况选择治疗的方式,如放置鼻胆管、塑料支架等;(3)ERCP术前给予咽部局麻,根据患者的具体情况选择用少量安定及杜冷丁,较外科全麻的风险小。

总之,肝硬化是影响胆总管结石患者行ERCP的安全性及增加术后并发症发生率和病死率的危险因素之一。胆总管结石合并肝硬化患者行ERCP有一定难度及风险,要求术者有熟练的操作技巧,同时Child-Pugh分级对内镜下的治疗方式和预后也有重要意义。术前对肝功能充分评估,对于Child A、B、C级患者均可行ERCP,但是Child C级的患者发生出血、感染等各种术后严重并发症的风险更高,因而建议在术前尽可能改善肝功能至Child B级或A级,可降低ERCP术中及术后并发症的发生。

## 4 参考文献

- 1 Tantau M, Mercea V, Crisan D, Tantau A, Mester G, Vesa S, Sparchez Z. ERCP on a cohort of 2,986 patients with cholelithiasis: a 10-year experience of a single center. *J Gastrointest Liver Dis* 2013; 22: 141-147 [PMID: 23799212]
- 2 Croagh DG, Devonshire D, Poh B, Berry R, Bowers K, Spiliadis D, Cullinan M, Cashin P. Management of CBD stones in patients having laparoscopic cholecystectomy in a private setting in Australia. *ANZ J Surg* 2013 Aug 1. [Epub ahead of print] [PMID: 23910427 DOI: 10.1111/ans.12341]
- 3 Kuo CM, Chiu YC, Changchien CS, Tai WC, Chuah SK, Hu TH, Kuo YH, Kuo CH. Endoscopic papillary balloon dilation for removal of bile duct stones: evaluation of outcomes and complications in 298 patients. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 860-864 [PMID: 23060218 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182617a42]
- 4 Grubnik VV, Koval'chuk AL, Diuzhev AS. [Characteristics of laparoscopic interventions in the patients with calculous cholecystitis complicated with hepatic cirrhosis]. *Klin Khir* 2007; (1): 16-19 [PMID: 17438718]
- 5 Conte D, Barisani D, Mandelli C, Bodini P, Borzio M, Pistoso S, Segala M, Aimò GP, Fraquelli M, Bianchi PA. Cholelithiasis in cirrhosis: analysis of 500 cases. *Am J Gastroenterol* 1991; 86: 1629-1632 [PMID: 1951241]
- 6 Acalovschi M, Badea R, Pascu M. Incidence of gallstones in liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1991; 86: 1179-1181 [PMID: 1882796]
- 7 王仙芝. 肝硬化与胆石症因果关系之探讨. *临床消化病杂志* 1999; (3): 135-136
- 8 汪邵平, 霍枫, 詹世林, 裴世强, 张玉新. 肝硬化病人肝

- 胆手术的风险因素分析. 中国实用外科杂志 2003; 23: 427-428
- 9 楼颂梅, 张啸, 张筱凤. 内镜下乳头切开术与外科手术治疗胆总管结石合并肝硬化的回顾性分析. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 67-70
- 10 李素萍, 薛迪强, 杜宏伟, 何晓霞. 内镜下治疗肝硬化食管胃底静脉曲张并胆总管结石52例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3154-3158
- 11 吴正奇, 范志宁, 王敏. 十二指肠镜在治疗胆胰疾病合并肝硬化中的价值. 中国微创外科杂志 2011; 11: 700-703
- 12 Prat F, Tennenbaum R, Ponsot P, Altman C, Pelletier G, Fritsch J, Choury AD, Bernades P, Etienne JP. Endoscopic sphincterotomy in patients with liver cirrhosis. *Gastrointest Endosc* 1996; 43: 127-131 [PMID: 8635706 DOI: 10.1016/S0016-5107(06)80114-8]
- 13 邓燕. 合并肝硬化食道胃底静脉曲张患者实施十二指肠镜下胆总管取石的护理体会. 临床合理用药杂志 2013; 6: 153-154
- 14 曹伟民, 张荣春. 17例肝硬化合并胆总管结石行ERCP干预的经验分析. 新疆医学 2013; 43: 53-54
- 15 徐琳, 王峰, 李继珠, 张宇飞, 宣估. 双镜联合治疗肝硬化患者胆囊结石和胆总管结石的疗效分析. 临床外科杂志 2011; 19: 751-753
- 16 Chijiwa K, Kozaki N, Naito T, Kameoka N, Tanaka M. Treatment of choice for choledocholithiasis in patients with acute obstructive suppurative cholangitis and liver cirrhosis. *Am J Surg* 1995; 170: 356-360 [PMID: 7573728 DOI: 10.1016/S0002-9610(99)80303-1]
- 17 张波, 黄留业, 吴承荣, 林淑娟. 肝硬化伴中重度食管胃底静脉曲张合并胆总管结石内镜序贯治疗疗效观察. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 406-408

## ■同行评价

本文总结41例ERCP治疗的资料, Child B级和C级为主, 资料可靠, 具有一定的临床指导价值.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

## 肝癌患者血清Cathepsin S含量检测的临床意义

杨雅阁, 张炳勇, 刘 龙, 白阳秋, 曹名波

### ■背景资料

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma)是世界上最常见的恶性肿瘤之一,大部分HCC患者在明确诊断时已经是中晚期肝癌,失去了手术切除及其他根治性手术的机会;寻找肝细胞癌分子靶点,尽早判断肝癌的病情并预测其转移和复发,并为临床有效治疗提供分子基础是肝癌防治研究工作的重点。组织蛋白酶(Cathepsin S, Cat S)是一种半胱氨酸蛋白水解酶,能介导细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解,参与肿瘤血管生成和血管内外肿瘤细胞的转移,在人类的多种肿瘤中表达。近年来研究发现血清Cat S含量与癌症死亡率呈显著正相关。然而,有关血清Cat S含量在肝癌中的研究,国内外尚未见文献报道。

### ■同行评议者

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

杨雅阁, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

张炳勇, 刘龙, 白阳秋, 曹名波, 河南省人民医院消化内科 河南省郑州市 450003

杨雅阁, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

作者贡献分布: 此课题由张炳勇与杨雅阁设计; 主要实验、数据分析及文章起草由杨雅阁完成; 病例选择、样本取材及临床资料整理由刘龙、白阳秋及曹名波完成; 研究所用材料与试剂由张炳勇提供; 文章修改与审阅由张炳勇完成。

通讯作者: 张炳勇, 教授, 主任医师, 450003, 郑州市纬五路7号, 河南省人民医院消化内科. zhbingyong@sina.com.cn  
电话: 0371-65580713

收稿日期: 2013-08-23 修回日期: 2013-09-10

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-28

### Clinical significance of serum Cathepsin S in patients with hepatocellular carcinoma

Ya-Ge Yang, Bing-Yong Zhang, Long Liu, Yang-Qiu Bai, Ming-Bo Cao

Ya-Ge Yang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Bing-Yong Zhang, Long Liu, Yang-Qiu Bai, Ming-Bo Cao, Department of Gastroenterology, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, Henan Province, China

Correspondence to: Bing-Yong Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Henan Provincial People's Hospital, 7 Weiwu Road, Zhengzhou 450003, Henan Province, China. zhbingyong@sina.com.cn

Received: 2013-08-23 Revised: 2013-09-10

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-28

### Abstract

**AIM:** To assess the clinical significance of serum Cathepsin S (Cat S) in patients with hepatocellular carcinoma (HCC).

**METHODS:** Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot were used to detect the expression of Cat S mRNA and protein in 62 HCC surgical specimens and matched tumor-adjacent non-cancerous specimens. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine serum levels of Cat S in 62 patients with HCC, 40 patients with cirrhosis and 30 healthy controls. The relationship between serum levels of Cat S and clinical and pathological parameters of hepatocellular carcinoma was analyzed.

**RESULTS:** The relative expression level of Cat S mRNA was significantly higher in HCC than in tumor-adjacent non-cancerous tissue ( $0.67 \pm 0.15$  vs  $0.28 \pm 0.12$ ,  $P < 0.05$ ). The protein expression of Cat S in HCC was also significantly higher than that in tumor-adjacent non-cancerous tissues ( $0.81 \pm 0.16$  vs  $0.35 \pm 0.13$ ,  $P < 0.05$ ). Serum Cat S levels in HCC patients were significantly higher than those in cirrhotic patients and healthy controls ( $131.46 \pm 42.16$   $\mu\text{g/L}$  vs  $64.28 \pm 12.71$   $\mu\text{g/L}$ ,  $50.2 \pm 17.41$   $\mu\text{g/L}$ , both  $P < 0.05$ ). Serum levels of Cat S in HCC were correlated with the formation of portal vein tumor thrombus, tumor size, extrahepatic metastasis and TNM stage (all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Serum Cat S might serve as a novel tumor marker for hepatocellular carcinoma, and it may be helpful in diagnosing, evaluating prognosis and monitoring postoperative recurrence of HCC.

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

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; Serum; Cathepsin S; Enzyme linked immunosorbent assay

Yang YG, Zhang BY, Liu L, Bai YQ, Cao MB. Clinical significance of serum Cathepsin S in patients with hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3742-3746 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3742.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3742>

### 摘要

**目的:** 研究血清组织蛋白酶S(Cathepsin S, Cat S)在肝癌中的临床意义。

**方法:** 应用逆转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)和蛋白印迹法(Western blot)观察肝癌患者癌组织和癌旁组织中Cat S的表达情况,同时应用酶联免疫吸附技术(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测62例肝癌、40例肝硬化和30例健康对照组中血清Cat S含量,分析血清Cat S的表达水平与肝癌患者临床病理参数之间的关系。



**结果:** 肝癌患者癌组织中Cat S mRNA及蛋白表达水平均显著高于癌旁组织(mRNA:  $0.67 \pm 0.15$  vs  $0.28 \pm 0.12$ ,  $P < 0.05$ ; 蛋白:  $0.81 \pm 0.16$  vs  $0.35 \pm 0.13$ ,  $P < 0.05$ ); 肝癌组血清Cat S蛋白水平明显高于肝硬化组和正常对照组( $131.46 \mu\text{g/L} \pm 42.16 \mu\text{g/L}$  vs  $64.28 \mu\text{g/L} \pm 12.71 \mu\text{g/L}$ 、 $50.2 \mu\text{g/L} \pm 17.41 \mu\text{g/L}$ , 均 $P < 0.05$ ); 肝癌患者血清Cat S含量与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)门静脉癌栓的形成、肿瘤大小、肝外转移、TNM分期均显著相关( $P < 0.05$ ).

**结论:** 血清Cat S有可能成为一种新的具有临床应用价值的肿瘤标志物, 有助于肝癌的诊断、预后预测及术后复发的监测.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 肝癌; 血清; 组织蛋白酶S; 酶联免疫吸附实验

**核心提示:** 我们的研究发现组织蛋白酶S(Cathepsin S, Cat S)mRNA及蛋白在肝癌组织中表达显著高于癌旁组织, 肝癌组患者血清Cat S含量明显高于肝硬化组和正常对照组, 肿瘤复发组血清Cat S含量明显高于术后1 mo组、术后6 mo组, 肝癌患者血清Cat S含量与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)门静脉癌栓的形成、肿瘤大小、肝外转移、TNM分期均显著相关. 提示检测血清Cat S含量有助于了解HCC的发生发展、判断HCC患者的病情及预后, 血清Cat S含量可作为HCC的疗效评价和动态随访指标.

杨雅阁, 张炳勇, 刘龙, 白阳秋, 曹名波. 肝癌患者血清Cathepsin S含量检测的临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3742-3746 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3742.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3742>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是全世界肿瘤疾病死亡中第3大最常见原因, 发病率和死亡率仍在逐年攀升<sup>[1]</sup>, 其5年生存率低下<sup>[2]</sup>. HCC是一种血供丰富的恶性肿瘤, 血管再生与肿瘤细胞的浸润、复发、转移密切相关. 如何尽早判断肝癌的病情并预测其转移和复发是肝癌防治研究工作的重点. 组织蛋白酶S(Cathepsin S, Cat S)是一种半胱氨酸蛋白水解酶, 能介导细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解, 近年来研究发现Cat S参与肿瘤血管的生成和血管内外肿瘤细胞的转移<sup>[3-5]</sup>. 近期一些研究发现在前列腺癌、星型细胞瘤、肺癌、肝癌<sup>[6-9]</sup>等组织

中Cat S的表达上调, 且其高表达与预后不良及复发相关. Jobs等<sup>[10]</sup>研究发现血清Cat S含量与心血管疾病的死亡率和癌症死亡率呈显著正相关. 然而, 有关血清Cat S含量在肝癌的研究尚未见报道. 我们通过对Cat S在肝癌患者癌组织和癌旁组织中mRNA及蛋白表达情况进行研究, 同时对肝癌患者血清Cat S表达水平进行检测和分析, 探讨其在HCC发生发展中的临床意义.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2012-03/2013-03河南省人民医院肝胆外科住院的肝癌患者62例, 其中男41例, 女21例, 年龄32-75岁, 平均年龄 $50.2 \pm 10.5$ 岁. 收集患者肿瘤切除后新鲜肝脏标本, 按照自身配对法留取患者的癌组织和癌旁组织(距癌灶边缘5.0 cm)各62例, 置于 $-80^\circ\text{C}$ 冰箱保存. 所有肝癌患者诊断均经过病理证实, 术前均未进行放疗及化疗. 其中HBsAg阳性者47例, HBsAg阴性者15例; 有门静脉癌栓者27例, 无门静脉癌栓者35例; 肿瘤直径(多发病灶时取直径总和均值) $\geq 5.0$  cm 38例, 直径 $< 5.0$  cm 24例; 有肝外转移11例, 无肝外转移51例; 临床分期根据国际抗癌联盟的TNM系统分期法划分, I期5例、II期22例、III期24例、IV期11例; 按HCC的Edmondson病理分级, 高分化21例、中分化31例、低分化10例. 根据术后随访时间分为术后1 mo组57例, 术后6 mo组41例. 术后1年内随访中经病理证实肿瘤复发者, 设为肿瘤复发组13例. 选择本院消化内科肝硬化患者40例, 男25例, 女15例, 年龄35-70岁, 平均年龄45岁; 正常对照组30例为本院同期同年龄段健康体检者, 其中男性25例, 女性10例, 平均年龄42岁.

### 1.2 方法

**1.2.1 逆转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测Cathepsin S mRNA表达:** TRIzol试剂分别提取肝癌患者癌组织和癌旁组织总RNA后, 取5  $\mu\text{g}$ 总RNA合成第一链cDNA, 设计Cat S引物: 上游5'-TCTGTTGGTGTAGATGCG-3', 下游5'-AG-ATAAGGGTCTCGCGAT-3', 产物216 bp. 取1  $\mu\text{L}$  cDNA按PCR试剂盒说明书进行扩增, 同时以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参基因, 水为阴性对照, 行PCR扩增:  $95^\circ\text{C}$  5 min,  $95^\circ\text{C}$  30 s,  $55^\circ\text{C}$  30 s,  $72^\circ\text{C}$  40 s, 30个循环, 终末延伸 $72^\circ\text{C}$  5 min. 取5  $\mu\text{L}$ 的PCR扩增产物行1.5%琼脂糖凝胶电泳.

## ■ 研发前沿

关于Cat S在恶性肿瘤转移与复发中的作用是目前研究热点.

## ■相关报道

近年来的研究表明, *Cat S* 基因的高表达在恶性肿瘤的浸润转移过程中起重要作用。先后有文献报道, *Cat S* 高表达或活性升高与前列腺癌、星型细胞瘤、肺癌和胃癌等多种肿瘤的侵袭转移密切相关。

表 1 *Cat S* mRNA及蛋白表达的条带灰度分析比值 ( $n = 62$ , mean  $\pm$  SD)

分组	<i>Cat S</i> mRNA	<i>Cat S</i> 蛋白
癌组织	$0.67 \pm 0.15^a$	$0.81 \pm 0.16^a$
癌旁组织	$0.28 \pm 0.12$	$0.35 \pm 0.13$

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 癌旁组织; *Cat S*: 组织蛋白酶S。

表 2 各组患者血清*Cat S*表达水平( $\mu\text{g/L}$ )比较 ( $n$ , mean  $\pm$  SD)

分组	$n$	<i>Cat S</i>
正常对照组	30	$50.2 \pm 17.41$
肝硬化组	40	$64.28 \pm 12.71^a$
HCC组	62	$131.46 \pm 42.16^{ac}$
术后1 mo组	57	$67.25 \pm 14.78^{ace}$
术后6 mo组	41	$72.42 \pm 12.50^{aceg}$
肿瘤复发组	13	$160.18 \pm 9.0^{acegi}$

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常对照组; <sup>b</sup> $P < 0.05$  vs 肝硬化组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs HCC组; <sup>d</sup> $P < 0.05$  vs 术后1 mo组; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs 术后6 mo组。 *Cat S*: 组织蛋白酶S; HCC: 肝细胞癌。

用凝胶成像分析系统进行电泳条带分析, 用目的条带灰度值与GAPDH条带灰度值的比值表示每个标本的相对mRNA水平。

1.2.2 Western blot检测*Cat S*蛋白表达: 采用RIPA(radio-immunoprecipitation assay)裂解液(碧云天, 中国)分别提取肝癌患者癌组织和癌旁组织总蛋白, 并采用BCA检测试剂盒(普利莱基因技术有限公司, 中国)测定蛋白浓度水平。每个样本取30  $\mu\text{g}$ 蛋白经10%SDS-PAGE电泳, 转膜, 进行*Cat S*一抗(BioVision生物有限公司)、辣根过氧化物酶标记的二抗孵育和显色, 并照相。以目的蛋白与 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)的灰度比进行半定量分析。

1.2.3 ELISA检测血清*Cat S*蛋白表达: 抽取清晨空腹静脉血3 mL, 置于EDTA抗凝的无菌试管中, 室温3500 r/min离心15 min, 收集上层血清, 置于-80  $^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱中保存待测定。 *Cat S* ELISA试剂盒购自美国R&D公司, 严格按照试剂盒说明书进行操作。主要检测仪器为BIO-RAD680型酶联免疫检测仪, 于450 nm处测吸光度( $A$ )值, 读取 $A$ 值, 然后根据标准品应用Excel2007(微软公司)软件绘制标准曲线, 通过已知标准品浓度值计算样品浓度值。每一血浆样品测两次求平均值。

统计学处理 实验数据采用SPSS17.0统计

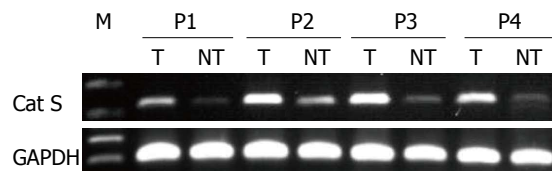


图 1 RT-PCR分析*Cat S*在肝癌及其对应癌旁组织中的表达。M: DL2000 DNA Marker; P1-P4: 肝癌患者; T: 肝癌组织; NT: 癌旁组织。 *Cat S*: 组织蛋白酶S; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

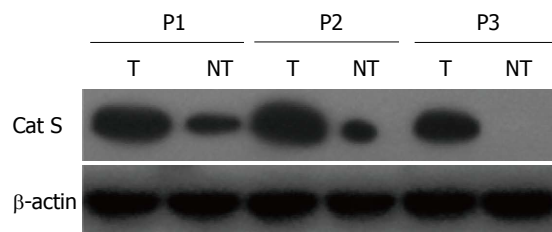


图 2 Western blot分析*Cat S*在肝癌及其对应癌旁组织中的表达。P1-P3: 肝癌患者; T: 肝癌组织; NT: 癌旁组织。 *Cat S*: 组织蛋白酶S;  $\beta$ -actin:  $\beta$ -肌动蛋白。

软件进行统计分析, 计量资料采用mean  $\pm$  SD表示, 组间定量资料比较采用 $t$ 检验和方差分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 *Cat S*在肝癌及其对应癌旁组织中mRNA及蛋白的表达 *Cat S* mRNA及蛋白在肝癌组织中均呈高表达, 而在对应的癌旁组织中低表达, 其表达量的相对值分别为 $0.28 \pm 0.12$ 、 $0.35 \pm 0.13$ , 显著低于肝癌组织中 $0.67 \pm 0.15$ 、 $0.81 \pm 0.16$ , 差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1, 图1-3)。

2.2 各组人员血清*Cat S*表达水平 肝癌组患者血清*Cat S*含量明显高于肝硬化组和正常对照组( $131.46 \mu\text{g/L} \pm 42.16 \mu\text{g/L}$  vs  $64.28 \mu\text{g/L} \pm 12.71 \mu\text{g/L}$ 、 $50.2 \mu\text{g/L} \pm 17.41 \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.05$ ); 术后1 mo组, 术后6 mo组血清*Cat S*含量均明显低于术前(肝癌组)( $P < 0.05$ ); 肿瘤复发组血清*Cat S*含量明显高于术后1 mo组、术后6 mo组、肝硬化组和健康对照组( $P < 0.05$ )(表2)。

2.3 HCC患者血清*Cat S*表达水平变化与肿瘤病理特征的关系 HCC患者血清*Cat S*含量与HCC门静脉癌栓的形成、肿瘤大小、肝外转移、TNM分期均显著相关( $P < 0.05$ ), 与HBsAg和肿瘤分化程度无关( $P > 0.05$ )(表3)。

## 3 讨论

HCC以其高发病率, 高复发率及高死亡率, “三

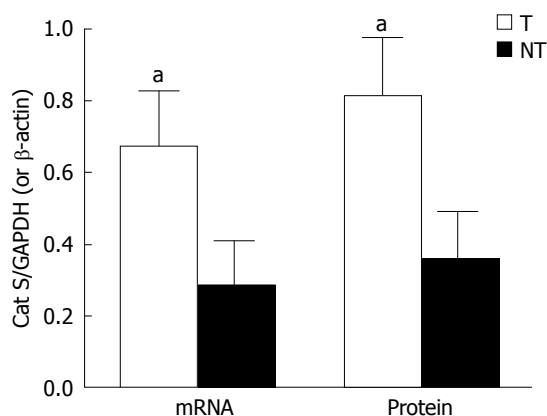


图3 Cat S mRNA及蛋白表达的条带灰度分析比较。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 癌旁组织。T: 肝癌组织; NT: 癌旁组织。Cat S: 组织蛋白酶S; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶, RT-PCR内参;  $\beta$ -actin:  $\beta$ -肌动蛋白, Western blot内参。

高”著称,其5年生存率低下<sup>[2]</sup>。目前对于HCC的治疗,肝移植及手术切除是有效的治疗方法<sup>[11]</sup>。经皮微波或射频等消融治疗及经导管肝动脉化疗栓塞治疗为失去手术机会的患者提供有效的治疗方法,在一定程度上达到了与外科手术切除相媲美的治疗效果<sup>[12,13]</sup>。但大部分HCC患者在明确诊断时已经是中晚期肝癌,失去了手术切除及其他根治性手术的机会;如何尽早判断肝癌的病情并预测其转移和复发是肝癌防治研究工作的重点。肿瘤的发生、发展、侵袭、转移都离不开新生血管的生成,新近发现的Cat S在肿瘤血管的生成和血管内外肿瘤细胞的转移过程中发挥着重要作用。

Cat S属半胱氨酸蛋白水解酶,主要分布在脾脏、淋巴结、心脏、抗原递呈细胞。Cat S在免疫应答中可能扮演重要角色,还能够参与血管基质重塑和动脉粥样硬化内膜的形成<sup>[14]</sup>。Cat S能够降解细胞外基质分子,参与肿瘤血管生成和血管内外肿瘤细胞的转移。近年来发现,多种肿瘤如前列腺癌、星形细胞瘤、胰腺癌、肺癌<sup>[15]</sup>、胃癌<sup>[16]</sup>、尤其是肝癌组织中均有Cat S的高表达,且其高表达促进肿瘤细胞的侵袭、转移。Wang等<sup>[17]</sup>对鼠胰岛细胞瘤模型的研究中发现人为敲除Cat S将减少血管生成和肿瘤细胞增殖,从而抑制实体瘤的进展。Ryschich等<sup>[3]</sup>发现Cat S可能参与肝细胞癌新生血管的形成。Fan等<sup>[9]</sup>研究发现Cat S在MHCC97-H肝癌细胞系呈高表达,利用RNA干扰技术敲除Cat S,可显著抑制MHCC97-H细胞的增殖,侵袭和血管生成。Cat S的过度表达一方面通过增加ECM内的生长因子的生物利用度促进肿瘤增长,另一方面直接提

表3 HCC患者临床病理特点与血清Cat S表达水平( $\mu\text{g/L}$ )的关系( $n$ , mean  $\pm$  SD)

分类	$n$	Cat S	$P$ 值
HBsAg			0.676
阴性	15	136.43 $\pm$ 32.24	
阳性	47	130.73 $\pm$ 49.15	
门静脉癌栓			0.018
无	35	120.23 $\pm$ 45.58	
有	27	147.50 $\pm$ 41.16	
肝外转移			0.035
无	51	126.49 $\pm$ 46.37	
有	11	158.15 $\pm$ 30.74	
TNM分期			0.001
I-II	27	106.59 $\pm$ 33.21	
III-IV	35	150.65 $\pm$ 38.42	
分化程度			0.987
高分化	21	130.25 $\pm$ 49.36	
中分化	31	132.03 $\pm$ 33.05	
低分化	10	130.35 $\pm$ 51.66	
肿瘤直径(cm)			0.004
<5	24	111.77 $\pm$ 39.04	
$\geq 5$	38	144.95 $\pm$ 44.96	

Cat S: 组织蛋白酶S。

高ECM组分的降解,结果促进肿瘤细胞侵袭、转移形成继发性肿瘤<sup>[18]</sup>。

我们采用RT-PCR及Western blot法检测了62例HCC及其对应的癌旁非癌组织中Cat S基因的表达式,发现在HCC组织中Cat S基因的表达明显高于对应的癌旁非癌组织( $P<0.05$ )。本研究结果还发现肝癌组患者血清Cat S含量明显高于肝硬化组和正常对照组( $P<0.05$ ),肿瘤复发组血清Cat S含量明显高于术后1 mo组、术后6 mo组( $P<0.05$ ),提示检测血清Cat S含量有助于HCC的早期筛选及复查。HCC患者血清Cat S含量与HCC门静脉癌栓的形成、肿瘤大小、肝外转移、TNM分期均呈显著相关( $P<0.05$ ),提示检测血清Cat S含量的高低有助于了解HCC的发生发展、判断HCC患者的病情及预后。血清Cat S含量越高说明病情越重,其预后不良。因此推测肝癌的发生发展与血清Cat S水平有关,Cat S可能参与肝癌的发病过程,并可能通过降解细胞外基质作用,促进肝细胞癌血管生成和血管内外癌细胞的转移。

本研究结果显示血清Cat S有可能成为一种新的具有临床应用价值的肿瘤标志物,有助于肝癌的诊断、预后预测及术后复发的监测。血

#### ■创新盘点

本研究采用RT-PCR及Western blot方法检测Cat S在HCC中的表达,同时检测肝癌患者血清Cat S表达水平,分析血清Cat S水平与肝癌临床病理的关系及对预后的临床意义,为肝细胞癌的诊疗、治疗及预后预测提供新的策略。



## ■同行评价

本文较为新颖, 具有一定指导意义.

清Cat S含量检测方法简单, 易于推广普及. 本研究尚需进一步扩大研究病例数, 延长术后随访时间, 以探讨其临床诊断与评价的科学量化范围. 随着对Cathepsin S研究的深入, 将会对其在肿瘤发生发展过程中的分子作用机制有更全面、更透彻的认识, 并为肿瘤的治疗提供新的策略.

## 4 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 212-236 [PMID: 21685461 DOI: 10.3322/caac.20121]
- Ryschich E, Lizdenis P, Ittrich C, Benner A, Stahl S, Hamann A, Schmidt J, Knolle P, Arnold B, Hämmelring GJ, Ganss R. Molecular fingerprinting and autocrine growth regulation of endothelial cells in a murine model of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2006; 66: 198-211 [PMID: 16397233 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1636]
- Katunuma N. Structure-based development of specific inhibitors for individual cathepsins and their medical applications. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2011; 87: 29-39 [PMID: 21321479 DOI: 10.2183/pjab.87.29]
- Shi GP, Sukhova GK, Kuzuya M, Ye Q, Du J, Zhang Y, Pan JH, Lu ML, Cheng XW, Iguchi A, Perrey S, Lee AM, Chapman HA, Libby P. Deficiency of the cysteine protease cathepsin S impairs microvessel growth. *Circ Res* 2003; 92: 493-500 [PMID: 12600886]
- Lindahl C, Simonsson M, Bergh A, Thysell E, Antti H, Sund M, Wikström P. Increased levels of macrophage-secreted cathepsin S during prostate cancer progression in TRAMP mice and patients. *Cancer Genomics Proteomics* 2009; 6: 149-159 [PMID: 19487544]
- Flannery T, Gibson D, Mirakhur M, McQuaid S, Greenan C, Trimble A, Walker B, McCormick D, Johnston PG. The clinical significance of cathepsin S expression in human astrocytomas. *Am J Pathol* 2003; 163: 175-182 [PMID: 12819022 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63641-3]
- Söderström M, Ekfors T, Böhling T, Aho A, Aro HT, Vuorio E. Cysteine proteinases in chondrosarcomas. *Matrix Biol* 2001; 19: 717-725 [PMID: 11223331 DOI: 10.1016/S0945-053X(00)00124-4]
- Fan Q, Wang X, Zhang H, Li C, Fan J, Xu J. Silencing cathepsin S gene expression inhibits growth, invasion and angiogenesis of human hepatocellular carcinoma in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 425: 703-710 [PMID: 22796222 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.07.013]
- Jobs E, Ingelsson E, Risérus U, Nerpin E, Jobs M, Sundström J, Basu S, Larsson A, Lind L, Årnlöv J. Association between serum cathepsin S and mortality in older adults. *JAMA* 2011; 306: 1113-1121 [PMID: 21878432 DOI: 10.1001/jama.2011.1246]
- Llovet JM, Bruix J. Molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 48: 1312-1327 [PMID: 18821591 DOI: 10.1002/hep.22506]
- Liang P, Yu J, Yu XL, Wang XH, Wei Q, Yu SY, Li HX, Sun HT, Zhang ZX, Liu HC, Cheng ZG, Han ZY. Percutaneous cooled-tip microwave ablation under ultrasound guidance for primary liver cancer: a multicentre analysis of 1363 treatment-naïve lesions in 1007 patients in China. *Gut* 2012; 61: 1100-1101 [PMID: 21997552 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300975]
- Wang ZJ, Wang MQ, Duan F, Song P, Liu FY, Chang ZF, Wang Y, Yan JY, Li K. Transcatheter arterial chemoembolization followed by immediate radiofrequency ablation for large solitary hepatocellular carcinomas. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4192-4199 [PMID: 23864783 DOI: 10.3748/wjg.v19.i26.4192]
- 李东, 徐静. Cathepsin S的表达与消化系统肿瘤的关系. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2980-2983
- Kos J, Sekirnik A, Kopitar G, Cimerman N, Kayser K, Stremmer A, Fiehn W, Werle B. Cathepsin S in tumours, regional lymph nodes and sera of patients with lung cancer: relation to prognosis. *Br J Cancer* 2001; 85: 1193-1200 [PMID: 11710834]
- Yang Y, Lim SK, Choong LY, Lee H, Chen Y, Chong PK, Ashktorab H, Wang TT, Salto-Tellez M, Yeoh KG, Lim YP. Cathepsin S mediates gastric cancer cell migration and invasion via a putative network of metastasis-associated proteins. *J Proteome Res* 2010; 9: 4767-4778 [PMID: 20812763 DOI: 10.1021/pr100492x]
- Wang B, Sun J, Kitamoto S, Yang M, Grubb A, Chapman HA, Kalluri R, Shi GP. Cathepsin S controls angiogenesis and tumor growth via matrix-derived angiogenic factors. *J Biol Chem* 2006; 281: 6020-6029 [PMID: 16365041 DOI: 10.1074/jbc.M509134200]
- Flannery T, McQuaid S, McGoohan C, McConnell RS, McGregor G, Mirakhur M, Hamilton P, Diamond J, Cran G, Walker B, Scott C, Martin L, Ellison D, Patel C, Nicholson C, Mendelow D, McCormick D, Johnston PG. Cathepsin S expression: An independent prognostic factor in glioblastoma tumours-A pilot study. *Int J Cancer* 2006; 119: 854-860 [PMID: 16550604 DOI: 10.1002/ijc.21911]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 超声引导下PRFA治疗非手术适应症肝癌术后的肿瘤影像表现与疗效的关系

付雪丹, 刘彦丽

付雪丹, 刘彦丽, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院物理诊断科B超室, 黑龙江省大庆市 163453

付雪丹, 硕士, 副主任医师, 主要从事腹部器官超声诊断的研究。

作者贡献分布: 课题设计与论文写作由付雪丹完成; 研究过程与数据分析由刘彦丽完成。

通讯作者: 付雪丹, 副主任医师, 163453, 黑龙江省大庆市爱国路35号, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院物理诊断科B超室. 1487225196@qq.com

电话: 0459-5910872

收稿日期: 2013-09-26 修回日期: 2013-10-22

接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2013-11-28

## Relationship between postoperative imaging findings and therapeutic effect in patients with unresectable hepatocellular carcinoma after ultrasound-guided percutaneous radiofrequency ablation

Xue-Dan Fu, Yan-Li Liu

Xue-Dan Fu, Yan-Li Liu, Ultrasound Room, Department of Physical Diagnosis, the Fifth Affiliated Hospital (Daqing Longnan Hospital) of Qiqihar Medical College, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Xue-Dan Fu, Associate Chief Physician, the Fifth Affiliated Hospital (Daqing Longnan Hospital) of Qiqihar Medical College, 35 Aiguo Road, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China. 1487225196@qq.com

Received: 2013-09-26 Revised: 2013-10-22

Accepted: 2013-11-11 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the relationship between postoperative imaging findings and therapeutic effect in patients with unresectable hepatocellular carcinoma after ultrasound-guided percutaneous radiofrequency ablation (PRFA).

**METHODS:** Thirty-six patients with unresectable hepatocellular carcinoma who undersent ultrasound-guided percutaneous radiofrequency ablation were selected. The levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TBIL), albumin (ALB), and alpha fetal protein (AFP) as well as

imaging findings were retrospectively analyzed (1 day before, 7, 14 and 28 d after PRFA).

**RESULTS:** The levels of ALT and AST were significantly higher on day 7 after PRFA than on day 1 before PRFA ( $102.21 \text{ U/L} \pm 53.41 \text{ U/L}$  vs  $55.34 \text{ U/L} \pm 36.57 \text{ U/L}$ ,  $90.58 \text{ U/L} \pm 37.22 \text{ U/L}$  vs  $65.77 \text{ U/L} \pm 40.29 \text{ U/L}$ ), and they decreased to preoperative levels on day 14. Patients with an AFP level decreased by  $\geq 50\%$  on day 28 showed complete ablation of the tumors on magnetic resonance imaging (MRI) and high echo area with liquefaction and no blood flow in the center of the lesions on ultrasound. Patients with elevated AFP values showed incomplete ablation of the tumors on MRI and incomplete high echo area with blood flow on ultrasound. The effective rate of PRFA was higher than 60% when the levels of AFP were used as evaluation criterion. The 3-year survival rate was 68%. The median survival time was 38.09 mo.

**CONCLUSION:** The imaging findings can well reflect the changes of serum markers and recurrence in patients with unresectable hepatocellular carcinoma after ultrasound-guided percutaneous radiofrequency ablation. Imaging examinations can be used as an effective approach for the detection of recurrence of hepatocellular carcinoma.

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

**Key Words:** Ultrasound guidance; Percutaneous radiofrequency ablation; Hepatocellular carcinoma

Fu XD, Liu YL. Relationship between postoperative imaging findings and therapeutic effect in patients with unresectable hepatocellular carcinoma after ultrasound-guided percutaneous radiofrequency ablation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3747-3751 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3747.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3747>

## 摘要

**目的:** 探讨射频消融术(percutaneous radiofrequency ablation, PRFA)后超声影像学表现与生

## ■背景资料

原发性肝癌是严重威胁人类健康的癌症之一, 居世界恶性肿瘤发病率的第6位。我国是乙型肝炎大国, 原发性肝癌一直是困扰我国公民的健康问题。手术治疗是肝癌最有效的治疗方式, 但受肿瘤大小、位置、肝功能等影响, 只有极少部分患者能够接受手术治疗。而超声引导下经皮射频消融术(percutaneous radiofrequency ablation, PRFA)治疗因其操作简单, 安全性高等优点越来越被临床医生及患者所接受。但目前就PRFA术后影像学表现与生化指标以及复发率的关系的报道并不多见。

## ■同行评议者

毛高平, 教授, 中国人民解放军空军总医院

## ■相关报道

据报道,射频消融术后肿瘤血管的生成受到抑制,肿瘤细胞的凋亡加快,同时机体的细胞免疫功能加强,从而提高抗肿瘤的免疫力。

化指标、复发率的关系。

**方法:**选取PRFA患者36例,分析并比较其术前、术后7、14、28 d的谷丙转氨酶(alanine aminotrans-ferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotrans-ferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、白蛋白(albumin, ALB)、甲胎蛋白(alpha fetal protein, AFP)水平及超声和核磁共振(magnetic resonance imaging, MRI)的影像学表现。

**结果:**PRFA患者术后7 d ALT、AST均较术前明显升高( $102.21 \text{ U/L} \pm 53.41 \text{ U/L}$  vs  $55.34 \text{ U/L} \pm 36.57 \text{ U/L}$ ,  $90.58 \text{ U/L} \pm 37.22 \text{ U/L}$  vs  $65.77 \text{ U/L} \pm 40.29 \text{ U/L}$ ), 14 d后降至术前水平。血清AFP值转阴及AFP值下降 $\geq 50\%$ 者同期MRI显示肿瘤完全消融,超声显示病灶回声增强,病灶出现中央液化,内部无血流。血清AFP值升高者同期MRI显示肿瘤不完全消融,超声显示病灶部分回声增强,内见点状血流。以肿瘤标志物AFP水平为参考指标,PRFA的有效率 $\geq 60\%$ 。PRFA患者的术后3年生存率68%,中位生存时间38.09 mo。

**结论:**PRFA术后患者影像学表现与生化指标、肿瘤复发相一致。影像检查可作为检测肿瘤复发的一种有效手段。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 超声引导; 射频消融; 肝癌

**核心提示:** 本文对36例患者进行回顾性研究,以期探讨非手术适应症肝癌患者术后影像学表现与生化指标以及复发率的关系,以便于患者及医务工作者重视术后影像学改变并积极采取措施,从而降低复发率,提高生存率。

付雪丹, 刘彦丽. 超声引导下PRFA治疗非手术适应症肝癌术后的肿瘤影像表现与疗效的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3747-3751 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3747.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3747>

## 0 引言

原发性肝癌是严重威胁人类健康的癌症之一,居世界恶性肿瘤发病率的第6位<sup>[1]</sup>。我国是乙型肝炎大国,原发性肝癌一直是困扰我国公民的健康问题<sup>[2]</sup>。手术治疗是肝癌最有效的治疗方式,但受肿瘤大小、位置、肝功能等影响,只有极少部分患者能够接受手术治疗。而超声引导下经皮射频消融术(percutaneous radiofrequency

ablation, PRFA)治疗因其操作简单,安全性高等优点越来越被临床医生及患者所接受<sup>[3]</sup>。但目前就PRFA术后影像学表现与生化指标以及复发率的关系的报道并不多见。本文对36例患者进行回顾性研究,以期探讨非手术适应症肝癌患者术后影像学表现与生化指标以及复发率的关系,以便于患者及医务工作者重视术后影像学改变并积极采取措施,从而降低复发率,提高生存率。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2009-01/2011-01行PRFA的患者36例,其中男性22例,女性14例,年龄范围44-61岁,平均年龄为46.1岁 $\pm 11.2$ 岁。所有患者的诊断均经病理学证实,且为首次诊断。入选标准: (1)肝功能Child A级; (2)肿瘤最大直径 $\leq 3 \text{ cm}$ , 肝内病灶个数 $\leq 3$ ; (3)无血管、胆管侵犯,无癌栓、腹腔淋巴结及远处转移; (4)未经化疗、放疗等其他治疗。所有患者或家属均签署知情同意书。Logiq-S6超声诊断仪(探头频率3.5 MHz, 美国GE公司)和RF2000型射频消融仪(射频针为Leveen针, 美国RadioTheraPeutics公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 影像检查:** 根据进针部位患者采取仰卧位或左侧卧位,消毒、铺无菌洞巾,以2%利多卡因局部麻醉至肝被膜下,部分患者采用持续硬膜外麻醉。电极贴于患者腰背部,在超声引导下将电极针插入肿瘤深处并开始消融,功率从20 W开始,每分钟调高10 W,直至最高能量90 W。对肿瘤较大者应多方位、多点、多针、多角度反复治疗,以保证消融范围达到整个瘤灶。

**1.2.2 定期复查:** (1)术后7、14、28 d复查肝功能指标: 谷丙转氨酶(alanine aminotrans-ferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotrans-ferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、白蛋白(albumin, ALB)、彩色超声、核磁共振(magnetic resonance imaging, MRI)结合肿瘤标志物甲胎蛋白(alpha fetal protein, AFP)水平判断疗效,认为AFP转阴或下降 $\geq 50\%$ 为有效; (2)每1 mo复查肝功能、AFP、彩色超声; (3)每3 mo、6 mo复查超声或MRI 1次。

**1.2.3 随访:** 通过电话回访或门诊复查等方式进行随访,获得患者生存状态和死亡时间,了解与射频消融治疗的近期和远期疗效。生存时间: 自射频治疗日开始至死亡日、失访日或随访结束日(2013-05-31)止,以月计算。

**统计学处理** 所有数据结果均采用SPSS17.0



表 1 射频消融术后肝功能指标的变化 (mean ± SD)

	术前1 d	术后7 d	术后14 d	术后28 d
ALT(U/L)	55.34 ± 36.57	102.21 ± 53.41 <sup>a</sup>	52.47 ± 40.18 <sup>a</sup>	46.11 ± 29.56 <sup>a</sup>
AST(U/L)	65.77 ± 40.29	90.58 ± 37.22 <sup>a</sup>	50.37 ± 28.57 <sup>a</sup>	46.76 ± 30.33 <sup>a</sup>
TBIL(μmol/L)	23.38 ± 9.27	25.15 ± 9.33 <sup>b</sup>	24.83 ± 8.26 <sup>b</sup>	23.45 ± 5.12
ALB(g/L)	38.45 ± 6.28	33.56 ± 4.34 <sup>a</sup>	30.42 ± 3.48 <sup>a</sup>	30.25 ± 3.82 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 术前1 d. ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; TBIL: 总胆红素; ALB: 白蛋白.

表 2 术前AFP阳性患者射频消融术后AFP的变化 ( $n = 30$ ,  $n(\%)$ )

术后7 d				术后14 d				术后28 d			
阴性	下降 ≥ 50%	下降 < 50%	上升	阴性	下降 ≥ 50%	下降 < 50%	上升	阴性	下降 ≥ 50%	下降 < 50%	上升
3(10)	16(53.33)	8(26.67)	3(10)	3(10)	16(59.26)	8(25.00)	3(13.89)	3(10)	15(50)	8(26.67)	4(13.33)

AFP: 甲胎蛋白.

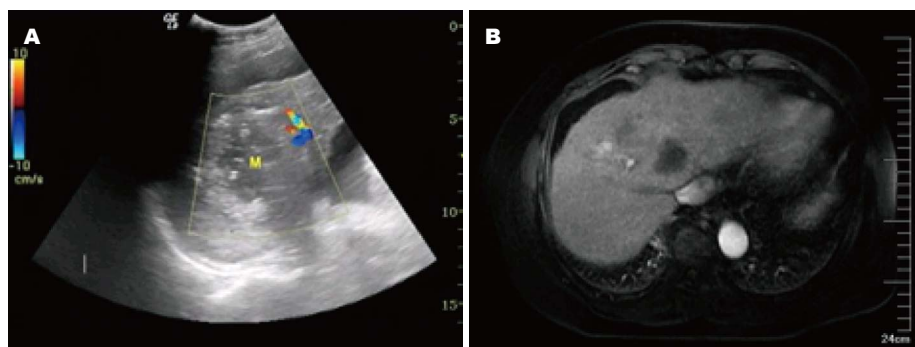


图 1 AFP转阴、AFP下降 ≥ 50%者及AFP值升高患者的影像学表现. A: MRI显示AFP值升高患者的肿瘤不完全消融. B: 超声显示AFP值升高患者的病灶部分回声增强, 内可见血流信号.

统计软件处理, 计量资料采用 $t$ 检验或方差分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 射频消融术后患者功能指标的变化** 射频消融术后7 d, ALT及AST水平均上升, 术后14 d显著下降, 甚至低于术前水平, 至术后28 d降至最低点. ALB水平术后7 d低于术前水平, 术后14 d进一步下降, 术后28 d与术后14 d的水平相差无几. 而TBIL水平在术前、术后均无明显改变. 射频消融术后肝功能各指标的具体变化值如表1.

**2.2 PRFA治疗后1 mo肝癌患者血清AFP值的变化与消融程度及影像学表现的关系** 超声引导下PRFA的36例患者中6例患者术前术后血清AFP值阴性( $< 10.9 \mu\text{g/L}$ ), 术前血清AFP值阳性30例. 术后1 mo复查, 血清AFP值转阴性3例, 占10%(3/30), 血清AFP值下降 ≥ 50%者15例, 占

50%(15/30), 总有效率60%(18/30), 同期MRI显示肿瘤完全消融, 超声显示病灶回声增强, 其中15个病灶出现中央液化, 内部无血流. 另外有8例患者的血清AFP值下降 < 50%, 占26.67%(8/30), 同期MRI显示肿瘤完全消融, 超声显示病灶回声增强, 中央无液化, 病灶内部无血流. 有4例患者的血清AFP值有所升高, 占13.33%(4/30), 同期MRI显示1例肿瘤完全消融, 3例肿瘤不完全消融(图1A), 超声显示病灶部分回声增强, 2个病灶内见条状血流信号(图1B), 其余未见血流信号. 术后7、14、28 d AFP水平的变化如表2.

**2.3 PRFA治疗后患者生存率的比较** 超声引导下PRFA的36例患者随访至2013-05-31, 随访时间28-52 mo. 36例患者至随访期结束共失访1例, 失访率0.28%(1/36), 存活24例, 死于肝癌复发10例, 死于其他疾病1例. 值得注意的是: 死亡的10例患者中, 4例来自于AFP(28 d时)上升的患者, 5例来

### ■应用要点

超声引导下PRFA治疗原发性肝癌, 对肝脏损伤小、安全性高, 术后疗效显著, 具有较高的临床应用价值. 术后应定期复查, 重视影像学表现, 早期发现其异常变化并及时采取积极措施以提高患者的生存率.

## ■同行评价

本文选题实用, 设计合理, 结果可靠, 具有很好的参考价值。

自于AFP值下降<50%的患者, 1例来自于AFP值下降 $\geq$ 50%的患者。1、2、3、4年生存率分别为85%、74%、68%、61%。中位生存时间38.09 mo。

## 3 讨论

原发性肝癌是严重威胁我国公民健康的肿瘤之一, 统计表明, 其死亡率位居我国肿瘤相关死亡率的第2位, 每年约有13万人丧命于此<sup>[4,5]</sup>。肝癌发病隐匿, 确诊后的积极治疗对患者的生存至关重要。由于传统的手术治疗方式受到诸多限制, 越来越多的临床医生及患者将目光转移至微创治疗。随着医学影像技术的快速发展和微创器械及技术的不断改进, 以PRFA治疗为代表的微创治疗已成为治疗肝癌的有效方法之一<sup>[6,7]</sup>。经证实, PRFA安全有效并可获得与传统手术相似的远期生存率<sup>[8,9]</sup>。PRFA利用超声设备引导电极针经皮插入肿瘤, 通过射频波激发周围组织内的离子、水、蛋白质等产生振动、摩擦并产热, 使局部组织形成凝固性坏死和变性, 从而凝固肿瘤组织, 导致肿瘤坏死<sup>[10,11]</sup>。据报道, 射频消融术后肿瘤血管的生成受到抑制, 肿瘤细胞的凋亡加快, 同时机体的细胞免疫功能加强, 从而提高了抗肿瘤的免疫力<sup>[11,12]</sup>。

本研究发现射频消融术后7 d ALT及AST水平显著上升, 经保肝治疗后术后14 d下降至低于术前水平, 至术后28 d降至最低点; ALB水平术后7 d低于术前水平, 但在术后14 d及术后28 d均未见明显下降, 与文献报道相符<sup>[13]</sup>。其原因可能为射频消融使得肝癌细胞及其周围肝细胞凋亡, 细胞内转氨酶释放入血, 引起ALT、AST升高<sup>[14]</sup>, 但是经保肝治疗后, 术后14 d相关指标均恢复至术前水平。因此我们认为PRFA治疗肝癌的方式是值得推荐的。AFP水平是评价肿瘤复发的特异性指标之一<sup>[15]</sup>。以AFP水平为参考, 发现本研究结果显示射频消融术的有效率>60%。大部分患者PRFA治疗后AFP水平有所下降, 影像学检查显示肿瘤组织坏死样变, 且病变的影像学表现与AFP水平变化相符。提示影像学检查可作为一种监测肿瘤复发的有效手段, 如果在复查时发现病灶出现不完全消融、仅部分强化或者有血流信号, 应警惕肿瘤复发的可能, 并进一步采取积极措施以提高其生存率。

总之, 超声引导下PRFA治疗原发性肝癌, 对肝脏损伤小、安全性高, 术后疗效显著, 具有较高的临床应用价值。术后应定期复查, 重视影像学表现, 早期发现其异常变化并及时采取积极

措施以提高患者的生存率。

## 4 参考文献

- 1 Shiina S, Tateishi R, Arano T, Uchino K, Enooku K, Nakagawa H, Asaoka Y, Sato T, Masuzaki R, Kondo Y, Goto T, Yoshida H, Omata M, Koike K. Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: 10-year outcome and prognostic factors. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 569-577; quiz 578 [PMID: 22158026 DOI: 10.1038/ajg.2011.425]
- 2 陈敏华. 重视影像指导规范化射频消融提高肝癌疗效. *中华医学杂志* 2007; 87: 1377-1379
- 3 Choi D, Lim HK, Rhim H, Kim YS, Yoo BC, Paik SW, Joh JW, Park CK. Percutaneous radiofrequency ablation for recurrent hepatocellular carcinoma after hepatectomy: long-term results and prognostic factors. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 2319-2329 [PMID: 17522947 DOI: 10.1245/s10434-006-9220-8]
- 4 Parisi A, Desiderio J, Trastulli S, Castellani E, Pasquale R, Cirotchi R, Boselli C, Noya G. Liver resection versus radiofrequency ablation in the treatment of cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 270-277 [PMID: 23742772 DOI: 10.1016/S1499-3872(13)60044-2]
- 5 Solbiati L, Ahmed M, Cova L, Ierace T, Brioschi M, Goldberg SN. Small liver colorectal metastases treated with percutaneous radiofrequency ablation: local response rate and long-term survival with up to 10-year follow-up. *Radiology* 2012; 265: 958-968 [PMID: 23091175 DOI: 10.1148/radiol.12111851]
- 6 Chen MS, Li JQ, Zheng Y, Guo RP, Liang HH, Zhang YQ, Lin XJ, Lau WY. A prospective randomized trial comparing percutaneous local ablative therapy and partial hepatectomy for small hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2006; 243: 321-328 [PMID: 16495695 DOI: 10.1097/01.sla.0000201480.65519.b8]
- 7 Min JH, Lee MW, Rhim H, Choi D, Kim YS, Kim YJ, Cha DI, Lim HK. Radiofrequency ablation for viable hepatocellular carcinoma around retained iodized oil after transcatheter arterial chemoembolization: usefulness of biplane fluoroscopy plus ultrasound guidance. *Korean J Radiol* 2012; 13: 784-794 [PMID: 23118578 DOI: 10.3348/kjr.2012.13.6.784]
- 8 Peng ZW, Liang HH, Chen MS, Zhang YJ, Zhang YQ, Lau WY. Conformal radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma with a multi-pin bipolar system. *J Surg Oncol* 2011; 103: 69-74 [PMID: 21031425 DOI: 10.1002/jso.21742]
- 9 Tateishi R, Shiina S, Teratani T, Obi S, Sato S, Koike Y, Fujishima T, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. An analysis of 1000 cases. *Cancer* 2005; 103: 1201-1209 [PMID: 15690326 DOI: 10.1002/cncr.20892]
- 10 Amersi FF, McElrath-Garza A, Ahmad A, Zogakis T, Allegra DP, Krasne R, Bilchik AJ. Long-term survival after radiofrequency ablation of complex unresectable liver tumors. *Arch Surg* 2006; 141: 581-587; discussion 581-587 [PMID: 16785359 DOI: 10.1001/archsurg.141.6.581]
- 11 黄伍奎, 帕哈尔丁·白克热, 樊喜文, 刘墨, 顾朋, 王萍菊, 王海宁, 杨树法. 多点射频消融治疗肝癌的肝功能与并发症相关性分析. *中国现代医学杂志* 2012; 22: 67-71
- 12 Kim JH, Kim PN, Won HJ, Shin YM. Percutaneous radiofrequency ablation using internally cooled wet

- electrodes for the treatment of hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 2012; 198: 471-476 [PMID: 22268196 DOI: 10.2214/AJR.11.6583]
- 13 Minami Y, Kudo M. Review of dynamic contrast-enhanced ultrasound guidance in ablation therapy for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4952-4959 [PMID: 22174544 DOI: 10.3748/wjg.v17.i45.4952]
- 14 Asahina Y, Nakanishi H, Izumi N. Laparoscopic radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *Dig Endosc* 2009; 21: 67-72 [PMID: 19691776 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2009.00844.x]
- 15 Ohmoto K, Yoshioka N, Tomiyama Y, Shibata N, Kawase T, Yoshida K, Kuboki M, Yamamoto S. Use of intra-arterial carbon-dioxide-enhanced ultrasonography for guidance of radiofrequency ablation and transcatheter arterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2006; 29: 1111-1113 [PMID: 16933161 DOI: 10.1007/s00270-005-0285-8]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》正文要求

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



# Livin和Caspase3在胆管癌中的表达及其与胆管癌生物学行为的关系

李昱骥, 隋远达, 孔凡民

## ■背景资料

随着对Livin和Caspase3的发现及相关研究的进一步深入, 大家越来越重视二者在许多肿瘤的发生、发展、预后中的相关性, 愈来愈多的实验围绕着二者的表达与关系进行研究。

李昱骥, 隋远达, 孔凡民, 中国医科大学附属第一医院普通外科教研室胃肠外科病区 辽宁省沈阳市 110001

李昱骥, 2011年中国医科大学博士, 副教授, 主要从事消化系统肿瘤方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由李昱骥、隋远达及孔凡民共同设计; 实验试剂由孔凡民提供; 研究过程与数据分析由李昱骥与隋远达完成; 论文由李昱骥完成。

通讯作者: 孔凡民, 教授, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街153号, 中国医科大学附属第一医院普通外科教研室胃肠外科病区. liyuji74@163.com

电话: 024-83282881

收稿日期: 2013-09-14 修回日期: 2013-10-17

接受日期: 2013-10-30 在线出版日期: 2013-11-28

## Clinical significance of expression of Livin and Caspase3 in cholangiocarcinoma

Yu-Ji Li, Yuan-Da Sui, Fan-Min Kong

Yu-Ji Li, Yuan-Da Sui, Fan-Min Kong, Department of General Surgery, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Fan-Min Kong, Professor, Department of General Surgery, the First Hospital of China Medical University, 153 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. liyuji74@163.com

Received: 2013-09-14 Revised: 2013-10-17

Accepted: 2013-10-30 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To detect the expression of Livin and Caspase3 in cholangiocarcinoma and to explore their association with the biological behavior of cholangiocarcinoma.

**METHODS:** Fifty-six surgical cholangiocarcinoma specimens and 29 tumor-adjacent biliary tissue specimens collected from 2002 to 2008 at the First Hospital of China Medical University were used in this study. The expression of Livin and Caspase3 in the above specimens was detected by immunohistochemistry.

**RESULTS:** The positive rate of Livin expression in cholangiocarcinoma was significantly higher than that in tumor-adjacent biliary tissues

(58.93% vs 0%,  $\chi^2 = 26.094$ ,  $P < 0.05$ ), whereas the positive rate of Caspase3 in cholangiocarcinoma was significantly lower than that in tumor-adjacent biliary tissues (29% vs 88.98%,  $\chi^2 = 14.01$ ,  $P < 0.05$ ). The expression of Livin and Caspase3 was significantly correlated with tumor differentiation in cholangiocarcinoma (both  $P < 0.05$ ). The expression of Livin was negatively related to that of Caspase3 in cholangiocarcinoma ( $r = -0.295$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The positive expression rate of Livin protein is higher and that of Caspase3 is lower in cholangiocarcinoma than in tumor-adjacent biliary tissues. Livin expression was negatively related to Caspase3 expression, and Livin and Caspase3 protein expression in cholangiocarcinoma was significantly correlated with tumor differentiation.

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

**Key Words:** Cholangiocarcinoma; Immunohistochemistry; Livin; Caspase3

Li YJ, Sui YD, Kong FM. Clinical significance of expression of Livin and Caspase3 in cholangiocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3752-3756  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3752.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3752>

## 摘要

**目的:** 研究凋亡抑制蛋白Livin和半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶3(Caspase3)在胆管癌中的表达, 探讨其表达情况与胆管癌生物学行为的关系。

**方法:** 收集中国医科大学附属第一医院普通外科于2002-01/2008-12期间手术切除胆管癌的标本56例。对照组为27例正常胆管组织。用免疫组织化学法检测Livin和Caspase3的表达情况, 对结果应用SPSS13.0统计软件进行分析。

**结果:** 在56例胆管癌中Livin和Caspase3阳性

## ■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

表达率分别为58.93%(33/56)和39.29%(22/56), 对照组27例表达为阴性和88.89%(24/27), 均有统计学意义( $\chi^2 = 29.094$ 和 $14.01$ ,  $P < 0.05$ ); 依照胆管癌分化程度分组显示二者表达也有差异( $P < 0.05$ ), 且二者在胆管癌中的表达呈负相关( $r = -0.295$ ,  $P < 0.05$ ).

**结论:** 在胆管癌组织中Livin蛋白表达高于癌旁组织, 而Caspase3表达低于癌旁组织; 二者的表达呈负相关且与肿瘤的分化程度有明显相关性.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 胆管癌; 免疫组织化学; Livin; Caspase3

**核心提示:** 在胆管癌组织中Livin蛋白表达高于癌旁组织, 而Caspase3表达低于癌旁组织, 二者的表达呈负相关且与肿瘤的分化程度有明显相关性.

李昱骥, 隋远达, 孔凡民. Livin和Caspase3在胆管癌中的表达及其与胆管癌生物学行为的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3752-3756 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3752.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3752>

## 0 引言

胆管癌临床起病隐匿, 早期诊断困难, 预后较差. 现代分子生物学研究表明, 凋亡调节紊乱是恶性肿瘤形成的重要机制之一. Livin是2000年发现的凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP), 与许多肿瘤的发生、发展、预后都有相关性<sup>[1]</sup>. 半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶(cystenyl-aspartate-specific protease, Caspase)被证明与凋亡有关, 其中作为下游效应分子的Caspase3是整个凋亡级联反应的一个关键点<sup>[2]</sup>. Livin和Caspase3在胆管癌中的表达关系相关报道较少报道, 本实验收集56例手术切除胆管癌标本, 应用免疫组织化学法检测二者在其中的表达情况, 分析二者与胆管癌发生发展的关系, 探讨胆管癌的发病机制和转移.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 胆管癌来源于中国医科大学附属第一医院普通外科于2002-01/2008-12间手术切除的56例标本(征得家属意见留存标本), 均经病理证实为腺癌. 其中男性34例, 女性22例; 高分化腺癌29例, 中分化腺癌13例, 低分化腺癌14例; 伴有淋巴结转移者31例, 无淋巴结转移者25例; 根据国际抗癌联盟(Union for International Cancer

Control, UICC)颁布的TNM分期标准: I期12例, II期9例, III期27例, IV期8例. 全部患者无术前放、化疗记载. 对照组取自27例根治性切除手术的癌旁组织, 经病理证实未见癌细胞. 兔抗人Livin多克隆抗体、兔抗人Caspase3多克隆抗体、SABC试剂盒、DAB显色剂均由武汉博士德公司提供. 其他: 二甲苯、无水乙醇、苏木素、双氧水、中性树胶、枸橼酸缓冲液、PBS缓冲液等. FinZSe325切片机; 烤片机; 电热恒温干燥箱; 冰箱; 微量移液器和离心机; OLYMPUS光学显微镜.

**1.2 方法** 应用免疫组织化学实验(immunohistochemistry, IHC)检测胆管癌及癌旁组织标本中Livin和Caspase3蛋白的表达情况. 用随试剂赠送的阳性片作为阳性对照, 以PBS替代一抗作为阴性对照.

阳性判断标准以胞核或胞浆出现黄色或棕黄色颗粒为阳性, 在400倍光镜下, 随机选取3个视野, 每个视野观察100个细胞, 染色结果分为5级: 阳性细胞数 $<1\%$ 为0级,  $1\%-24\%$ 为1级,  $25\%-49\%$ 为2级,  $50\%-74\%$ 为3级,  $75\%-100\%$ 为4级; 设定0、1、2级为低表达, 3、4级为高表达.

**统计学处理** 统计学分析使用SPSS13.0统计软件, 采用 $\chi^2$ 检验及Spearman等级相关检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 Livin在胆管癌及癌旁胆管组织中的表达** Livin在56例胆管癌中阳性表达率为58.93%(33/56), 在27例癌旁胆管组织中表达皆为阴性, 有统计学差异(表1). 分别按照患者性别、胆管癌分化程度、淋巴结转移和TNM分期等不同临床病理参数来分类进行Livin阳性表达率的检测, 结果显示在胆管癌分化程度组中, 高、中、低分化组Livin的阳性表达率依次为37.93%(11/29)、76.92%(10/13)、85.71%(12/14), 有统计学差异, 而其余各分类未见统计学差异(表2).

**2.2 Caspase3在胆管癌及癌旁胆管组织中的表达** Caspase3在56例胆管癌中阳性表达率为39.29%(22/56), 在27例癌旁胆管组织中阳性表达率为88.89%(24/27), 有统计学差异(表3). 分别按照患者性别、胆管癌分化程度、淋巴结转移和TNM分期等不同临床病理参数来分类进行Caspase3阳性表达率的检测, 结果显示在胆管癌分化程度组中, 高、中、低分化组Caspase3的阳性表达率依次为58.62%(17/29)、

### ■ 研发前沿

尽管近年来对于Livin和Caspase3的研究文章较多, 但较少二者在胆管癌中相关表达的报道, 本实验填补了这方面的空白, 为探讨二者的相互机制提供了新的方向.

## ■相关报道

本文通过对不同胆管组织的染色,检测Livin和Caspase3的表达,通过对各自机制及相关性的探讨来对二者的表达与关系进行分析,为胆管癌的诊断提供了新的思路。

表 1 Livin在胆管癌及癌旁胆管组织中的表达

组织来源	Livin的表达		合计	阳性率(%)	$\chi^2$ 值	P值
	+	-				
胆管癌组织	33	23	56	58.93	26.094	0.000
癌旁胆管组织	0	27	27	0		

表 2 Livin在胆管癌组织中的表达与临床病理参数之间的关系

临床病理参数	n	Livin表达		阳性率(%)	$\chi^2$ 值	P值
		+	-			
性别					1.259	0.262
男	34	18	16	52.94		
女	22	15	7	68.18		
分化程度					10.793	0.004
高	29	11	18	37.93		
中	13	10	3	76.92		
低	14	12	2	85.71		
淋巴结转移					0.157	0.692
有	31	19	12	61.29		
无	25	14	11	56.00		
TNM分期					0.585	0.445
I、II	21	11	10	52.38		
III、IV	35	22	13	62.86		

30.77%(4/13)、7.14%(1/14),有统计学差异,而其余各分类未见统计学差异(表4)。

2.3 Livin及Caspase3在胆管癌组织中表达水平的相关性 将胆管癌中Livin及Caspase3表达阳性情况进行Spearman等级相关检验。发现在胆管癌组织中Livin与Caspase3的表达呈负相关关系( $r = -0.295, P < 0.05$ )(表5)。

### 3 讨论

胆管癌是起源于胆道上皮细胞的恶性肿瘤,占所有消化系肿瘤的3%,在常见的胆道肿瘤中排第2位。胆管癌临床起病隐匿,症状出现较晚,早期诊断困难,仅10%患者得到手术治疗。胆管癌患者术后5年生存率约5%,未切除胆管癌患者生存期<1年<sup>[3]</sup>。为改善胆管癌的预后,人们把更多的目光投向分子生物学方面的研究,其中肿瘤细胞的凋亡是当前研究的热点之一。

细胞凋亡是由基因编码调控的细胞自动性自杀过程,又称程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)。现已证明,许多疾病尤其是肿瘤的发生、发展与细胞凋亡失衡有关。细胞凋亡功能受到抑制,则恶性肿瘤无限增殖,细胞凋亡受

抑制是肿瘤发病机制之一,参与肿瘤的发生、发展<sup>[4]</sup>。IAP是一类重要的抗细胞因子,在目前已知的8个IAP家族成员中,Livin是研究较少的一个,对其抑制细胞凋亡的机制也尚未完全清楚。Yagihashi等<sup>[5]</sup>研究发现,在胃癌、结肠癌、胰腺癌及肝细胞性肝癌中均检测到Livin mRNA的过度表达。国内报道<sup>[6]</sup>也发现,Livin表达与肿瘤临床分期及患者年龄相关。

本实验结果显示,胆管癌组织中Livin蛋白阳性表达率为58.93%,而胆管癌旁组织中未见阳性表达,两者比较有显著差异( $P < 0.05$ )。Livin在胆管癌组织中有较高阳性表达提示其可能通过抑制胆管癌细胞凋亡而对胆管癌的发生、发展起抑制作用,故有望成为胆管癌诊断的肿瘤标志物。Livin蛋白阳性表达率与胆管癌患者的性别、TNM分期和淋巴结有无转移无关( $P > 0.05$ ),而与患者的组织学分化程度有关( $P < 0.05$ )。提示Livin阳性表达有利于胆管癌恶性程度的判断,为预后估计提供帮助。

Caspase3属于半胱氨酸蛋白酶家族成员,1994年由Ferandez-Alnemri等从人的cDNA文库中克隆得到,1996年正式命名。多数Caspase都与细胞凋亡有关,Caspase3位于Caspase下游区,通常以无活性的酶原形式产生,可以被多种因素活化。活化的Caspase3执行效应子功能,在细胞凋亡中起着不可替代的作用,是细胞凋亡过程中最关键的终末剪切酶。他通过剪切多聚(ADP-核糖)聚合酶[poly (ADP-ribose) polymelase, PARP],裂解核小体间的DNA引起细胞凋亡。Caspase3介导的凋亡在人体多种细胞中普遍存在,与直肠癌、胃癌、肝癌、胆囊癌等多种肿瘤都有关系<sup>[7]</sup>。

本实验结果显示胆管癌细胞中Caspase3蛋白的表达率为39.29%,明显低于癌旁胆管组织中的表达率,二者比较有显著差异( $P < 0.05$ ),表明Caspase3的失表达与胆管癌的发生相关,提示其在胆管癌细胞的恶性转化及发生、发展中起重要作用。Caspase3蛋白表达在胆管癌高、中、低分化组织中依次下调,3组之间比较有显著差



表 3 Caspase3在胆管癌及癌旁组织中的表达

组织来源	Caspase3的表达		合计	阳性率(%)	$\chi^2$ 值	P值
	+	-				
胆管癌组织	22	34	56	39.29	17.924	0.000
癌旁正常组织	24	3	27	88.89		

Caspase3: 半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶3.

表 4 Caspase3在胆管癌组织中的表达与临床病理参数之间的关系

临床病理参数	n	Caspase3表达			$\chi^2$ 值	P值
		+	-	阳性率(%)		
性别					0.127	0.721
男	34	14	20	41.48		
女	22	8	14	36.36		
分化程度					10.808	0.004
高	29	17	12	58.62		
中	13	4	9	30.77		
低	14	1	13	7.14		
淋巴结转移					0.201	0.654
有	31	13	18	41.94		
无	25	9	16	36.00		
TNM分期					0.020	0.889
I、II	21	8	13	39.00		
III、IV	35	14	21	40.00		

Caspase3: 半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶3.

表 5 Livin和Caspase3在胆管癌组织中表达的相关性

Livin	Caspase3		合计	r值	P值
	+	-			
+	9	24	33	-0.295	0.028
-	13	10	23		
合计	22	34	56		

Caspase3: 半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶3.

异( $P<0.05$ ), 说明其与胆管癌的分化程度有关. 由于Caspase3是正常分化细胞所具有的成分, 而肿瘤在转化过程中容易失去某些正常细胞所具有的表型. 因此, 我们认为Caspase3在分化差的癌组织中表达下调是肿瘤异常分化所致, 参与了胆管癌的发生、发展.

目前已经证实, 在胃癌中Livin对Caspase3表达起抑制作用<sup>[8-13]</sup>, 本实验也在胆管癌中得到一致论断, 认为二者呈现负相关. 一般认为Livin主要是通过其杆状病毒IAP重复结构域(baculovi-

■创新盘点

本实验通过详实的数据与资料, 分析了Livin和Caspase3在胆管癌和非胆管癌组织中表达的异同, 总结规律, 为疾病的诊断提供新的方向.

rus iap repeat domain, BIR)区与Caspase结合并直接抑制, 尤其是抑制Caspase3的活性, 达到阻断凋亡受体及线粒体相关的凋亡途径, 而实现对细胞凋亡的抑制作用<sup>[14-16]</sup>. 随着对Livin和Caspase3关系研究的进一步深入, Livin在恶性肿瘤诊断方面的作用会越来越受到重视.

4 参考文献

- 1 Ma L, Huang Y, Song Z, Feng S, Tian X, Du W, Qiu X, Heese K, Wu M. Livin promotes Smac/DIABLO degradation by ubiquitin-proteasome pathway. *Cell Death Differ* 2006; 13: 2079-2088 [PMID: 16729033 DOI: 10.1038/sj.cdd.4401959]
- 2 Vucic D, Deshayes K, Ackerly H, Pisabarro MT, Kadhodayan S, Fairbrother WJ, Dixit VM. SMAC negatively regulates the anti-apoptotic activity of melanoma inhibitor of apoptosis (ML-IAP). *J Biol Chem* 2002; 277: 12275-12279 [PMID: 11801603 DOI: 10.1074/jbc.M112045200]
- 3 李勤裕, 吴卫泽, 韩天权, 张圣道. 胆管癌分子靶向治疗. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1171-1177
- 4 Kukhta VK, Marozkina NV, Sokolchik IG, Bogaturova EV. Molecular mechanisms of apoptosis. *Ukr Biokhim Zh* 2003; 75: 5-9 [PMID: 15143512]

## ■同行评价

Livin是2000年发现的凋亡抑制蛋白,与许多肿瘤的发生、发展、预后都有相关性。Livin和Caspase3在胆管癌中的表达关系相关报道较少报道,本实验具有一定的借鉴作用。

- 5 Yagihashi A, Asanuma K, Tsuji N, Torigoe T, Sato N, Hirata K, Watanabe N. Detection of anti-livin antibody in gastrointestinal cancer patients. *Clin Chem* 2003; 49: 1206-1208 [PMID: 12816927 DOI: 10.1373/49.7.1206]
- 6 陈建华, 范钦和, 蔡勇. 乳腺癌中Livin基因及蛋白表达与细胞凋亡、增殖关系. *临床与实验病理学杂志* 2007; 23: 549-552
- 7 Sun BH, Zhang J, Wang BJ, Zhao XP, Wang YK, Yu ZQ, Yang DL, Hao LJ. Analysis of in vivo patterns of caspase 3 gene expression in primary hepatocellular carcinoma and its relationship to p21(WAF1) expression and hepatic apoptosis. *World J Gastroenterol* 2000; 6: 356-360 [PMID: 11819597]
- 8 王锴, 郁云龙, 刘阳阳, 李恩泽, 哈敏文, 朱志图. 蟾蜍毒素对人胃癌细胞凋亡的诱导机制. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 116-120
- 9 侯毅鞠, 李艳, 袁忠海, 郭素红. 凋亡抑制蛋白Livin在胃癌及癌旁组织中的表达. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1196-1200
- 10 韩高雄, 蔡明, 王国斌, 陶凯雄, 蔡昌学. Livin和Survivin基因联合靶向siRNA重组表达载体的构建和鉴定. *华中科技大学学报(医学版)* 2009; 38: 673-676
- 11 王琳琳, 郑洪, 唐薇薇, 厉国慧, 安文波. Livin基因沉默对人恶性黑色素瘤A375细胞周期和凋亡的影响. *肿瘤* 2009; 29: 345-349
- 12 陈鹏, 王春松, 孔令斌, 杨景玉. siRNA沉默Livin基因对胃癌细胞生长、凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1346-1349
- 13 杜媛, 冯一中, 李峰. Livin在胰腺癌组织芯片中的表达及其临床意义. *苏州大学学报(医学版)* 2008; 28: 244-246
- 14 杨春鹿, 黄青远, 赵君, 陈东义, 张林. Livin蛋白在食管癌中的表达及与p53蛋白相关性研究. *现代肿瘤医学* 2007; 15: 632-634
- 15 程平, 秦蓉, 张红, 吴继锋, 王道斌. 凋亡抑制因子Survivin和Livin在胃癌中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 850-855
- 16 唐鹏, 黄华. 凋亡抑制蛋白家族在食管癌分子靶向治疗中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1843-1847

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿,保证稿件尽快公平、公正的处理,《世界华人消化杂志》编辑部研究决定,从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费。审稿周期及发表周期不变。(《世界华人消化杂志》编辑部)

# 循环热灌注化疗与单纯灌注化疗治疗胃肠道肿瘤恶性腹腔积液的疗效比较

李娜, 薄常文, 邹长鹏, 马文华, 郑铮, 安永辉

李娜, 薄常文, 邹长鹏, 马文华, 郑铮, 安永辉, 河北医科大学第一医院肿瘤科 河北省石家庄市 050013  
李娜, 副主任医师, 主要从事晚期消化系统恶性肿瘤的综合治疗。  
作者贡献分布: 课题设计与论文书写由李娜完成; 病例收集、治疗操作及患者观察由薄常文、邹长鹏及马文华完成; 郑铮负责机器操作与数据分析; 安永辉负责研究指导及技术指导。  
通讯作者: 安永辉, 教授, 主任医师, 050013, 河北石家庄市东岗路89号, 河北医科大学第一医院肿瘤科。sjzyhd@vip.sina.com  
电话: 0311-85917272  
收稿日期: 2013-09-26 修回日期: 2013-11-05  
接受日期: 2013-11-15 在线出版日期: 2013-11-28

## Efficacy of continuous hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy for malignant seroperitoneum

Na Li, Chang-Wen Bo, Chang-Peng Zou, Wen-Hua Ma, Zheng Zheng, Yong-Hui An

Na Li, Chang-Wen Bo, Chang-Peng Zou, Wen-Hua Ma, Zheng Zheng, Yong-Hui An, Department of Medical Oncology, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China  
Correspondence to: Yong-Hui An, Professor, Chief Physician, Department of Medical Oncology, the First Hospital of Hebei Medical University, 89 Donggang Road, Shijiazhuang 050013, Hebei Province, China. sjzyhd@vip.sina.com  
Received: 2013-09-26 Revised: 2013-11-05  
Accepted: 2013-11-15 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To compare the curative effect and adverse effects of continuous hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy versus simple intraperitoneal chemotherapy in the management of malignant seroperitoneum secondary to gastrointestinal tumors.

**METHODS:** Eighty-four inpatients with malignant seroperitoneum secondary to gastrointestinal tumors treated at our hospital between October 2010 and February 2013 were enrolled in the study. They were randomly and equally divided into either a study group to undergo continuous hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy or a control group to receive in-

traperitoneal chemotherapy. The differences in curative effect, quality of life and adverse effects were compared between the two groups.

**RESULTS:** The rate of ascites control was significantly higher in the study group than in the control group (88.33% vs 59.52%,  $P < 0.05$ ). The rate of improvement of quality of life was also higher in the study group (88.1% vs 53.76%,  $P < 0.05$ ). Adverse effects included mild nausea and vomiting, temporary abdominal pain, CTCAE grade I-II bone marrow depression (BMD), and no grade III-IV BMD was identified. No significant differences in adverse effect were observed between the two groups.

**CONCLUSION:** Continuous hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy is superior to simple intraperitoneal chemotherapy in the management of malignant seroperitoneum in terms of ascite control, improvement of quality of life, and adverse effects.

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

**Key Words:** Hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy; Peritoneal infusion; Malignant ascites

Li N, Bo CW, Zou CP, Ma WH, Zheng Z, An YH. Efficacy of continuous hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy for malignant seroperitoneum. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(33): 3757-3761 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3757.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3757>

## 摘要

**目的:** 探讨循环热灌注化疗治疗胃肠道肿瘤恶性腹腔积液对比单纯灌注化疗的临床疗效、生活质量改善及不良反应的差异。

**方法:** 收集本院2010-10/2013-02胃肠道肿瘤伴恶性腹腔积液84例患者, 随机分为腹腔循环热灌注化疗组42例(治疗组)及单纯腹腔化疗组

## ■背景资料

恶性腹腔积液是与恶性肿瘤相关的腹腔内液体积聚, 是肿瘤晚期常见并发症之一, 其所致腹胀、腹痛严重影响着患者的生存质量, 控制腹水快速生长或消除腹水在晚期肿瘤的综合治疗中有重要意义。有研究和临床实践证明, 腹腔热灌注化疗对恶性腹腔积液的疗效要好于单纯化疗。我们应用体腔恒温循环热灌注化疗治疗胃肠道肿瘤所致恶性腹腔积液, 取得很好的疗效。

## ■同行评议者

季加孚, 教授, 北京大学肿瘤医院; 姚登福, 教授, 南通大学附属医院



## ■ 研发前沿

腹腔热化疗取得成功的关键在于温度的控制与维持,这是好的治疗效果及保证安全的关键。我们所应用的体腔热灌注治疗机由加热装置、灌注系统、控制系统组成,形成全封闭的实时监控和调节的循环治疗系统,实现了腔内灌注液温度的实时检测和调控。本研究严格使入体温度控制于 $42^{\circ}\text{C}$ - $43^{\circ}\text{C}$ ,出体温度控制于 $40^{\circ}\text{C}$ - $41^{\circ}\text{C}$ ,循环时间1 h,保证了灌注液在体内的有效治疗温度。

42例(对照组),观察两组患者治疗后腹水控制率、生活质量改善、不良反应情况。

**结果:**治疗组腹腔积液控制率为83.33%,对照组腹腔积液控制率59.52%,治疗组显著高于对照组( $P<0.05$ )。治疗组治疗后生活质量改善为88.1%,对照组生活质量改善53.76%,治疗组显著高于对照组( $P<0.05$ )。两组患者不良反应仅有轻度恶心呕吐、一过性腹痛,Ⅰ、Ⅱ度骨髓抑制,无Ⅲ、Ⅳ度毒性,两组对照无差异。

**结论:**循环热灌注化疗较单纯腔内热疗可提高胃肠道肿瘤恶性腹腔积液的控率,能显著改善患者的生活质量,不良反应轻,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:** 热灌注化疗; 腹腔灌注; 恶性腹腔积液

**核心提示:** 控制恶性腹水快速生长或消除腹水在晚期肿瘤的综合治疗中有重要意义。有研究和临床实践证明,腹腔热灌注化疗对恶性腹腔积液的疗效要好于单纯化疗。普通的热灌注化疗方法灌注液的温度在传输管道中会随热量的散失而温度下降,无法保证灌注液的恒温。我们应用体腔恒温循环热灌注化疗治疗胃肠道肿瘤所致恶性腹腔积液,取得了很好的疗效。本研究严格使入体温度控制 $42^{\circ}\text{C}$ - $43^{\circ}\text{C}$ ,出体温度控制于 $40^{\circ}\text{C}$ - $41^{\circ}\text{C}$ ,保证了灌注液在体内的有效治疗温度,取得了较高的有效率,同时与单纯化疗灌注比较未增加不良反应,亦未发生热相关性不良损伤。

李娜, 薄常文, 邹长鹏, 马文华, 郑铮, 安永辉. 循环热灌注化疗与单纯灌注化疗治疗胃肠道肿瘤恶性腹腔积液的疗效比较. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3757-3761 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3757.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3757>

## 0 引言

恶性腹腔积液是与恶性肿瘤相关的腹腔内液体积聚,是肿瘤晚期常见并发症之一,因原发灶不同,预后有差异,以胃肠道来源的恶性腹水最差,1年生存率 $<10\%$ <sup>[1]</sup>。因恶性腹腔积液是肿瘤进展到晚期的表现,腹水所致腹胀、腹痛严重影响着患者的生存质量,控制腹水快速生长或消除腹水在晚期肿瘤的综合治疗中有重要意义<sup>[2]</sup>。有研究和临床实践证明,腹腔热灌注化疗对恶性腹腔积液的疗效要好于单纯化疗<sup>[3]</sup>。普通的热灌注化疗方法灌注液的温度在传输管道中会随热量的

散失而温度下降,无法保证灌注液的恒温。近十年来,体腔恒温循环热灌注化疗(coelom continued circulatory hyperthermia perfusion, CCCHP)作为新的治疗方法在治疗腹腔恶性肿瘤腹膜转移方面取得了较好的疗效,在国内外得到了越来越多的应用<sup>[4-6]</sup>,我们应用循环热灌注化疗治疗胃肠道肿瘤所致恶性腹腔积液,取得了很好的疗效,现将结果报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集我院2010-10/2013-02住院胃肠道肿瘤伴恶性腹腔积液84例患者,随机分为腹腔循环热灌注化疗组42例(治疗组)及单纯腹腔化疗组42例(对照组)。治疗组男23例、女19例,中位年龄64岁;其中原发病为胃癌10例,结肠癌18例,直肠癌14例,卡氏评分(Karnofsky performance status, KPS)评分 $<40$ 分3例,40-60分8例, $>60$ 分31例;对照组男24例、女18例,中位年龄66岁;其中原发病为胃癌11例,结肠癌19例,直肠癌12例, KPS评分 $<40$ 分4例,40-60分7例, $>60$ 分32例;两组患者一般资料具有可比性。所有患者经彩超证实有腹腔积液且经脱落细胞检测均查出恶性肿瘤细胞。近1 mo内未接受全身化疗。热化疗灌注机,吉林迈达医疗器械有限公司生产,型号: RHL-2000A。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** 所有患者在B超定位后,治疗组分别于左、右腹行腹腔穿刺置中心静脉导管,置管后尽可能引流尽腹水。将热化疗灌注机一次性循环管路连接,机器循环导管入口及出口分别接患者左、右腹中心静脉导管,据患者耐受情况灌入1500-3000 mL 0.9%生理盐水+80 mg顺铂,使入体温度控制于 $42^{\circ}\text{C}$ - $43^{\circ}\text{C}$ ,出体温度控制于 $40^{\circ}\text{C}$ - $41^{\circ}\text{C}$ ,循环速度为100-150 mL/分。操作机器持续循环1 h以上,然后排尽灌注液。对照组患者则行单侧腹腔穿刺置中心静脉导管,置管后尽可能引流尽腹水腹腔内灌入500-1000 mL 0.9%生理盐水+80 mg顺铂,嘱患者每15-20 min缓慢变换体位1次,以利于药物均匀分布整个腹腔,72 h开放引流腹水。所有患者在治疗前30 min给予昂丹司琼8 mg静脉注射预防呕吐,治疗组与对照组均每周灌注1次,腹腔积液完全消失或连续灌注3 wk时停止。详细记录用药后的反应,每周复查血常规、B超,治疗结束后复查血常规、肝肾功能及彩超,评价疗效和不良反应。

**1.2.2 近期临床疗效判定:** 按照WHO标准判定,

表 1 两组近期疗效评价 ( $n = 42$ )

分组	CR	PR	SD	PD	RR(%)
治疗组	12	23	4	3	83.33 <sup>a</sup>
对照组	9	16	10	7	59.52

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组. CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; SD: 稳定; PD: 进展; RR: 有效率.

表 2 两组治疗后生活质量比较 ( $n = 42, n(\%)$ )

分组	改善	稳定	降低
治疗组	37(88.1) <sup>a</sup>	2(4.76)	3(7.14)
对照组	23(54.76)	9(21.43)	10(23.81)

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组.

完全缓解(complete response, CR): 腹腔积液完全消失, 症状消失, 稳定4 wk以上; 部分缓解(partial response, PR): 积液减少50%及以上, 症状改善, 残留的积液观察4 wk无增长; 稳定(stable disease, SD): 腹水减少不足50%或增加<25%至少以上, 持续4 wk; 进展(progression disease, PD): 腹腔积液较原来增加25%, 症状加重. 以(CR+PR)/总例数 $\times 100\%$ 计算有效率(response rate, RR).

1.2.3 生活质量(quality of life, QOL)评定: 按KPS标准为指标. 治疗后卡氏评分增加 $\geq 10$ 为QOL改善, 增加<10分为QOL稳定, KPS减少 $\geq 10$ 分为QOL降低.

1.2.4 不良反应: 药物不良反应照NCI CTC3.0标准评价, 分为0-IV度. (1)恶心: 0度: 无恶心; I度: 可进食, 食量正常; II度: 食量明显下降, 但可进食; III度: 不能进食; (2)呕吐: 0度: 无呕吐; I度: 24 h内1次; II度: 24 h内2-5次; III度: 24 h内6-10次; IV度: 24 h内>10次或需输液; (3)口腔溃疡: 0度: 口腔黏膜无异常; I度: 无痛性溃疡, 红斑, 轻度口疮; II度: 红斑疼痛, 水肿, 溃疡, 但可进食; III度: 红斑疼痛, 水肿, 溃疡, 不能进食; IV度: 需肠内或肠外支持治疗; (4)血液学毒性: 白细胞计数( $\times 10^9/L$ ): 0度:  $\geq 4.0$ ; I度: 3.0-3.9; II度: 2.0-2.9; III度: 1.0-1.9; IV度:  $< 1.0$ . 血红蛋白(g/L): 0度: 正常; I度: 100.0-正常值; II度: 80.0-99.9; III度: 65.0-79.9; IV度:  $< 65.0$ . 血小板( $\times 10^9/L$ ): 0度: 正常; I度: 75.0-正常值; II度: 50.0-74.9; III度: 25.0-49.9; IV度:  $< 25.0$ ; (5)周围神经毒性: 0度: 正常; I度: 感觉异常和/或腱反射减弱; II度: 严重感觉异常和/或轻度无力; III度: 不能耐

表 3 两组不良反应比较 ( $n = 42, n(\%)$ )

分组	恶心、呕吐	白细胞减少	血红蛋白减少	血小板减少
治疗组	4(9.52)	6(14.29)	2(4.76)	3(7.14)
对照组	3(7.14)	7(16.67)	2(4.76)	2(4.76)

受的感觉异常和/或显著运动障碍; IV度: 瘫痪.

统计学处理 采用SPSS11.0软件进行统计学处理, 组间比较采用方差分析, 计数资料采用 $\chi^2$ 检验.  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 临床疗效 治疗组CR 12例, PR 23例, SD 4例, PD 3例, 有效率为83.33%. 对照组其中CR 9例, PR 16例, SD 10例, PD 7例, 有效率为59.52%. 治疗组有效率与对照组比较有显著性差异( $P < 0.05$ )(表1).

2.2 生活质量评定 治疗组患者治疗后生活质量(QOL)改善、稳定、降低分别为37例(88.1%)、3例(7.14%)和3例(7.14%), 对照组患者治疗后生活质量(QOL)改善、稳定、降低分别为23例(54.76%)、9例(21.43%)和10例(23.81%). 生活质量改善两组对照有显著性差异( $P < 0.05$ )(表2).

2.3 不良反应 患者的治疗耐受性良好, 仅有轻度恶心呕吐、一过性腹痛、I、II度骨髓抑制, 无III、IV度毒性, 无肠黏连、肠梗阻、肠坏死等不良反应, 无治疗相关性死亡(表3).

## 3 讨论

恶性腹腔积液是晚期胃肠道肿瘤最常见并发症之一, 在姑息性治疗过程中, 恶性腹水所引起的症状如腹胀、腹痛、厌食、呼吸困难等显著影响患者生存质量, 与病情恶化和预后相关<sup>[7]</sup>. 腹腔穿刺引流腹水可快速缓解症状, 但不能控制腹水的成长, 腹腔内灌注药物治疗是恶性腹腔积液局部治疗的重要方法<sup>[8]</sup>. 腹腔内化疗药物注射可增高药物局部浓度, 延长药物与肿瘤接触时间, 全身反应轻. 自1980年Speyer建立了抗癌药腹腔内化疗药代动力学数学模型, 奠定了腹腔内化疗的理论基础, 逐渐在临床广泛应用. 腹腔内化疗可较好控制腹水生长, 不良反应有发热、腹痛及肠黏连<sup>[9]</sup>.

肿瘤热疗是用加热方式治疗肿瘤的一种方法, 即利用有关物理能量在组织中沉淀而产生热效应, 使肿瘤组织温度上升到有效治疗温度,

## ■ 相关报道

第四军医大学唐都医院肿瘤科郭珊等探讨在不同温度下进行体腔恒温循环热灌注化疗对实验动物生命体征和腹腔各脏器的影响, 以寻求治疗的最适温度和有效控温的途径. 结论显示41℃腹腔温度体腔恒温循环热灌注化疗3次, 每次1 h是安全可行的, 可以作为CCCHP联合化疗的安全治疗温度. 第四军医大学西京医院肿瘤中心张晓飞等观察腹腔循环热灌注联合化疗治疗晚期胃癌的有效性和安全性, 结果显示腹腔循环热灌注联合化疗和单纯静脉化疗治疗胃癌均有效, 但在有效率、临床获益率、腹水治疗有效率和中位无进展生存时间、中位总生存期方面, 腹腔循环热灌注联合化疗明显优于单纯化疗, 并且不良反应无明显增加.

### ■创新盘点

我们所应用的体腔热灌注治疗机循环热化疗灌注治疗恶性腹腔积液, 本研究严格使入体温度控制 $42^{\circ}\text{C}$ - $43^{\circ}\text{C}$ , 出体温度控制于 $40^{\circ}\text{C}$ - $41^{\circ}\text{C}$ , 保证了灌注液在体内的有效治疗温度, 取得了较高的有效率, 同时与单纯化疗灌注比较未增加不良反应, 亦未发生热相关性不良损伤。

并维持一段时间, 以杀死肿瘤细胞, 而又不损伤正常细胞的一种治疗方法<sup>[10,11]</sup>。肿瘤的热疗目前已在临床上广泛应用, 并显出了良好的疗效, 成为恶性肿瘤的一种新的治疗方法并显示出其良好的应用前景<sup>[12]</sup>。热疗能增强化疗药物治疗的作用, Asaumi等<sup>[13]</sup>研究发现在高热条件下, 多柔比星对有和无多柔比星耐药的肿瘤细胞具有相同的毒性。虞喜豪等<sup>[14]</sup>报道腹腔化疗联合腹部透热全身热疗治疗恶性腹水的临床观察, 其中联合组治疗恶性腹水的缓解率为64%, 仅行腹腔灌注化疗组恶性腹水的缓解率为46.4%。Atanackovic等<sup>[15]</sup>发现, 全身热疗在增强化疗的抗肿瘤效应的同时, 并不增加骨髓抑制作用, 反而对化疗引起的骨髓抑制起保护作用。而高温化学治疗( $40^{\circ}\text{C}$ - $43^{\circ}\text{C}$ )同时更有利于药物渗透组织, 使得腹腔内化学治疗效果好于单纯化学治疗<sup>[16]</sup>。与热疗发挥协同作用的药物有铂类、拓扑异构酶抑制剂、双糖胞苷、紫杉醇、环磷酰胺等, 目前认为安全可行<sup>[17]</sup>。

腹腔热灌注化疗技术(intraperitoneal hyperthermic chemotherapy, IHCP)是热疗与化疗相结合的综合治疗方法, 与化疗联合应用发挥协同作用。通常认为对肿瘤细胞发挥效应的温度为 $40^{\circ}\text{C}$ - $43^{\circ}\text{C}$ <sup>[18-20]</sup>, 有报道指出如果温度 $<40^{\circ}\text{C}$ , 则达不到有效杀伤癌细胞, 还可能促使癌细胞扩散<sup>[21,22]</sup>。当温度高于 $43^{\circ}\text{C}$ 时, 肿瘤细胞主要表现为崩解、坏死, 不表现逆转耐药效应, 但实验证实高温对正常组织也有不可忽视的损伤, 以小肠、肝脏的并发症为多见<sup>[23-25]</sup>。所以腹腔内有效治疗温度的控制与维持是热疗取得治疗效果及保证安全的关键。我们所应用的体腔热灌注治疗机由加热装置, 灌注系统, 控制系统组成。形成全封闭的实时监控和调节的循环治疗系统。实现了腔内灌注液温度的实时检测和调控。本研究严格使入体温度控制于 $42^{\circ}\text{C}$ - $43^{\circ}\text{C}$ , 出体温度控制于 $40^{\circ}\text{C}$ - $41^{\circ}\text{C}$ , 保证了灌注液在体内的有效治疗温度。

本研究结果显示, 治疗组腹腔积液控制率为83.33%, 对照组腹腔积液控制率59.52%, 治疗组显著高于对照组( $P<0.05$ )。治疗组治疗后生活质量改善为88.1%, 对照组生活质量改善53.76%, 治疗组显著高于对照组( $P<0.05$ )。结果证明腔内循环热灌注化疗较单纯腔内热疗可提高恶性腹腔积液的控制效果, 能显著改善晚期肿瘤患者的生活质量, 为患者的进一步治疗创造了很好的条件。这一结果与国内外相关报道一致<sup>[26,27]</sup>。

本研究结果还显示, 腔内循环热灌注化疗的不良反应主要以 I、II°胃肠道反应为主, 其次为轻度骨髓抑制, 较单纯化疗组无明显差异。因本研究热灌注入体温度严格控制在 $43^{\circ}\text{C}$ , 未发生相关热损伤。研究治疗过程无严重并发症和治疗相关性死亡, 治疗有效率高。

总之, 循环热灌注化疗治疗恶性腹腔积液因操作简便、安全易行、持久恒温、疗效可靠、损伤小、并发症少, 对于恶性积液的控制率明显高于普通体腔化疗, 是一种理想的治疗方法, 值得推广。但由于对体腔热化疗认识及现有的热疗设备、实施方法无统一要求, 临床应用面临的问题较多, 如对于热疗设备要求、循环温度、时间、疗程等均无统一规范, 疗效相差较大, 还需继续努力研究、实践、交流, 逐步将体腔循环灌注热化疗规范合理化, 使更多的患者得到安全、有效的治疗。

### 4 参考文献

- 1 Ammouri L, Prommer EE. Palliative treatment of malignant ascites: profile of catumaxomab. *Biologics* 2010; 4: 103-110 [PMID: 20531969 DOI: 10.2147/BTT.S6697]
- 2 Levine EA, Stewart JH, Russell GB, Geisinger KR, Loggie BL, Shen P. Cytoreductive surgery and intraperitoneal hyperthermic chemotherapy for peritoneal surface malignancy: experience with 501 procedures. *J Am Coll Surg* 2007; 204: 943-953; discussion 953-955 [PMID: 17481516 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2006.12.048]
- 3 Glehen O, Mithieux F, Osinsky D, Beaujard AC, Freyer G, Guertsch P, Francois Y, Peyrat P, Panteix G, Vignal J, Gilly FN. Surgery combined with peritonectomy procedures and intraperitoneal chemohyperthermia in abdominal cancers with peritoneal carcinomatosis: a phase II study. *J Clin Oncol* 2003; 21: 799-806 [PMID: 12610177 DOI: 10.1200/JCO.2003.06.139]
- 4 Glehen O, Cotte E, Schreiber V, Sayag-Beaujard AC, Vignal J, Gilly FN. Intraperitoneal chemohyperthermia and attempted cytoreductive surgery in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. *Br J Surg* 2004; 91: 747-754 [PMID: 15164446 DOI: 10.1002/bjs.4473]
- 5 de Bree E, Koops W, Kröger R, van Ruth S, Verwaal VJ, Zoetmulder FA. Preoperative computed tomography and selection of patients with colorectal peritoneal carcinomatosis for cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. *Eur J Surg Oncol* 2006; 32: 65-71 [PMID: 16290055 DOI: 10.1016/j.ejso.2005.09.016]
- 6 Shen P, Levine EA, Hall J, Case D, Russell G, Fleming R, McQuellon R, Geisinger KR, Loggie BW. Factors predicting survival after intraperitoneal hyperthermic chemotherapy with mitomycin C after cytoreductive surgery for patients with peritoneal carcinomatosis. *Arch Surg* 2003; 138: 26-33 [PMID: 12511145 DOI: 10.1001/archsurg.138.1.26]
- 7 Adam RA, Adam YG. Malignant ascites: past, pres-



- ent, and future. *J Am Coll Surg* 2004; 198: 999-1011 [PMID: 15194082 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2004.01.035]
- 8 王婷婷, 刘宝瑞, 钱晓萍. 恶性腹腔积液的治疗进展. *临床肿瘤学杂志* 2007; 12: 787-790
- 9 米登海, 陈学鹏, 石远凯. 腹腔内化疗治疗恶性腹水. *国际肿瘤学杂志* 2006; 33: 854-857
- 10 康艳霞, 张贺龙. 肿瘤热疗机制的研究进展. *现代肿瘤学* 2008; 16: 473-475
- 11 杜锋, 王苗. 多西紫杉醇腹腔灌注化疗联合热疗治疗恶性腹水的疗效研究. *当代医学* 2012; 18: 52-53
- 12 Tranberg KG. Percutaneous ablation of liver tumours. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 125-145 [PMID: 15123088 DOI: 10.1016/j.bpg.2003.08.001]
- 13 Asaumi J, Kawasaki S, Kuroda M, Takeda Y, Hiraki Y. Thermosensitivity and thermotolerance in the adriamycin-resistant strain of Ehrlich ascites tumor cells. *Anticancer Res* 1996; 16: 2569-2573 [PMID: 8917353]
- 14 虞喜豪, 李新娉, 周建梁, 王建平, 王革芳. 腹腔化疗联合腹部透热全身热疗治疗恶性腹水的疗效观察. *临床内科杂志* 2007; 24: 253-255
- 15 Atanackovic D, Nierhaus A, Neumeier M, Hossfeld DK, Hegewisch-Becker S. 41.8 degrees C whole body hyperthermia as an adjunct to chemotherapy induces prolonged T cell activation in patients with various malignant diseases. *Cancer Immunol Immunother* 2002; 51: 603-613 [PMID: 12439605 DOI: 10.1007/s00262-002-0327-x]
- 16 Barni S, Cabiddu M, Ghilardi M, Petrelli F. A novel perspective for an orphan problem: old and new drugs for the medical management of malignant ascites. *Crit Rev Oncol Hematol* 2011; 79: 144-153 [PMID: 20708947 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2010.07.016]
- 17 Valle M, Van der Speeten K, Garofalo A. Laparoscopic hyperthermic intraperitoneal peroperative chemotherapy (HIPEC) in the management of refractory malignant ascites: A multi-institutional retrospective analysis in 52 patients. *J Surg Oncol* 2009; 100: 331-334 [PMID: 19697441 DOI: 10.1002/jso.21321]
- 18 Agostinelli E, Tempera G, Molinari A, Salvi M, Battaglia V, Toninello A, Arancia G. The physiological role of biogenic amines redox reactions in mitochondria. New perspectives in cancer therapy. *Amino Acids* 2007; 33: 175-187 [PMID: 17390098 DOI: 10.1007/s00726-007-0510-7]
- 19 Wartenberg M, Gronczynska S, Bekhite MM, Saric T, Niedermeier W, Hescheler J, Sauer H. Regulation of the multidrug resistance transporter P-glycoprotein in multicellular prostate tumor spheroids by hyperthermia and reactive oxygen species. *Int J Cancer* 2005; 113: 229-240 [PMID: 15389514 DOI: 10.1002/ijc.20596]
- 20 魏红梅, 郭坤元, 梅家转, 常红, 宋朝阳, 邓兰, 牛新青. 热疗联合化疗对K562/AO2细胞体外作用的实验研究. *中国实验血液学杂志* 2007; 15: 724-728
- 21 Legendijk JJ. Hyperthermia treatment planning. *Phys Med Biol* 2000; 45: R61-R76 [PMID: 10843091]
- 22 高枫. 腹腔内温热灌注化疗在胃肠道癌中的应用现状. *中国普外基础与临床杂志* 1999; 6: 45-47
- 23 Yonemura Y, Fujimura T, Nishimura G, Falla R T, Katayama K, Tsugawa K, Fushida S, Miyazaki I, Tanaka M, Endou Y, Sasaki T. Effects of intraoperative chemohyperthermia in patients with gastric cancer with peritoneal dissemination. *Surgery* 1996; 119: 437-444 [PMID: 8644010 DOI: 10.1016/S0039-6060(96)80145-0]
- 24 白植军, 蔡开林, 田元. 持续温热腹腔灌注对大鼠外周血NK细胞活性和腹腔器官的影响. *同济医科大学学报* 1997; 4: 102-104
- 25 Younan R, Kusamura S, Baratti D, Oliva GD, Costanzo P, Favaro M, Gavazzi C, Deraco M. Bowel complications in 203 cases of peritoneal surface malignancies treated with peritonectomy and closed-technique intraperitoneal hyperthermic perfusion. *Ann Surg Oncol* 2005; 12: 910-918 [PMID: 16177862 DOI: 10.1245/ASO.2005.11.030]
- 26 刘志敏, 康琳, 刘义冰, 吕雅蕾. 腹腔热灌注顺铂治疗恶性腹水的临床观察. *肿瘤* 2007; 27: 508-510
- 27 Tsiftsis D, de Bree E, Romanos J, Petrou A, Sanidas E, Askoxylakis J, Zervos K, Michaloudis D. Peritoneal expansion by artificially produced ascites during perfusion chemotherapy. *Arch Surg* 1999; 134: 545-549; discussion 550 [PMID: 10323428 DOI: 10.1001/archsurg.134.5.545]

## ■同行评价

本文研究方法科学合理, 具有一定临床指导意义。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡的临床效果

夏永欣, 尚品杰, 刘晓政, 张向东, 许欣

## ■背景资料

应激性溃疡在严重创伤、大手术以及危重患者合并有出血、休克、感染以及严重脏器功能受损时发病率较高, 主要表现为胃、十二指肠畸形、多发性黏膜浅表糜烂和溃疡, 多数患者可发生上消化道出血, 少数患者发生穿孔。应激性溃疡患者如不及时采取有效治疗干预, 常常危及生命安全。危重患者发生应激性溃疡出血原因较为复杂, 涉及到神经-内分泌-免疫系统、胃运动、分泌、胃肠激素、血流、氧自由基等多方面因素。临床研究表明, 应激状态下诱发应激性溃疡的主要因素为黏膜缺血、黏膜屏障受损和胃酸分泌升高。目前临床治疗应激性溃疡的方法较多, 一般以监控患者生命体征和抑制胃酸分泌为主, 疗效不一。

## ■同行评议者

周晓武, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普外科

夏永欣, 尚品杰, 刘晓政, 张向东, 许欣, 河南省南阳市中心医院消化科 河南省南阳市 473009

夏永欣, 主治医师, 主要从事胃肠道病及肝病的研究。

作者贡献分布: 主要课题设计和文章起草由夏永欣完成; 病例选择、临床资料收集由尚品杰完成; 数据分析刘晓政、张向东及许欣完成; 文章修改和审阅由夏永欣完成。

通讯作者: 夏永欣, 主治医师, 473009, 河南省南阳市宛城区312号, 南阳市中心医院消化科二病区. yongxinxia@hotmail.com

收稿日期: 2013-09-26 修回日期: 2013-10-30

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-11-28

## Curative effect of omeprazole- and glutamine-containing quadruple therapy in treatment of stress ulcer

Yong-Xin Xia, Pin-Jie Shang, Xiao-Zheng Liu, Xiang-Dong Zhang, Xin Xu

Yong-Xin Xia, Pin-Jie Shang, Xiao-Zheng Liu, Xiang-Dong Zhang, Xin Xu, Department of Gastroenterology, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473009, Henan Province, China

Correspondence to: Yong-Xin Xia, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Nanyang Central Hospital, Nanyang, II Ward, 312 Wancheng District, Nanyang 473009, Henan Province, China. yongxinxia@hotmail.com

Received: 2013-09-26 Revised: 2013-10-30

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-11-28

## Abstract

**AIM:** To assess the curative effect of omeprazole- and glutamine-containing quadruple therapy in the treatment of stress ulcer (SU).

**METHODS:** Seventy-two SU patients were randomly divided into either an experiment group or a control group. The experiment group was treated with omeprazole- and glutamine-containing quadruple therapy, and the control group was treated with cimetidine. The curative effect, pretreatment and posttreatment gastric juice pH values, the time required for bleeding to stop, the time to negative results of occult blood tests, duration of abdominal distension, hospital stay, and hospitalization expenses were compared between two groups.

**RESULTS:** The response rate and total effective rate were significantly higher in the experiment group than in the control group (38.89% vs 16.67%, 91.67% vs 61.11%, both  $P < 0.05$ ). No cases developed nausea or vomiting, and no significant changes in kidney and liver function were noted between pretreatment and posttreatment. Posttreatment gastric juice pH values were significantly higher than pretreatment values in the two groups ( $5.13 \pm 0.72$  vs  $1.39 \pm 0.71$ ;  $3.69 \pm 0.70$  vs  $1.37 \pm 0.69$ , both  $P < 0.05$ ). Posttreatment gastric juice pH value was significantly higher in the experiment group than in the control group ( $P < 0.05$ ). The time required for bleeding to stop, the time to negative results of occult blood tests, duration of abdominal distension, hospital stay, and hospitalization expenses were significantly lower in the experiment group than in the control group ( $13.15 \pm 2.73$  vs  $21.75 \pm 6.41$ ;  $18.85 \pm 1.48$  vs  $56.74 \pm 2.17$ ;  $53 \pm 0.62$  vs  $1.97 \pm 0.60$ ;  $21.75 \pm 6.41$  vs  $28.13 \pm 9.42$ ;  $11420.33 \pm 4900.55$  vs  $17705.69 \pm 8378.89$ , all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Omeprazole- and glutamine-containing quadruple therapy is effective and safe in the management of SU.

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

**Key Words:** Stress ulcer; Omeprazole; Glutamine; Curative effect

Xia YX, Shang PJ, Liu XZ, Zhang XD, Xu X. Curative effect of omeprazole- and glutamine-containing quadruple therapy in treatment of stress ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3762-3766 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3762.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3762>

## 摘要

**目的:** 探讨奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡临床疗效。

**方法:** 按照数字随机分组法将我院消化科及

ICU收治的72例发生应激性溃疡(stress ulcer, SU)的危重症患者均分为实验组和对照组, 实验组患者给予奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法(兰尼、洁维乐、麦滋林联合思连康)治疗, 对照组患者给予西咪替丁治疗, 比较两组患者临床疗效、治疗前后胃液pH变化、咖啡样物或鲜血停止时间、隐血试验阴转时间、腹胀持续时间、住院时间及住院费用。

**结果:** 实验组显效率和总有效率均明显高于对照组(38.89% vs 16.67%; 91.67% vs 61.11%) 差异具有显著性( $P<0.05$ ); 治疗前后两组患者均未发生恶心、呕吐等不良反应, 肝、肾功能未出现明显变化; 两组患者治疗7 d胃液pH值较治疗前均明显升高( $5.13\pm 0.72$  vs  $1.39\pm 0.71$ ;  $3.69\pm 0.70$  vs  $1.37\pm 0.69$ ), 差异具有显著性( $P<0.05$ ); 实验组治疗7 d胃液pH值明显高于对照组( $5.13\pm 0.72$  vs  $3.69\pm 0.70$ ), 差异具有显著性( $P<0.05$ ); 实验组患者咖啡样物或鲜血停止时间及隐血试验阴转时间均明显低于对照组( $13.15\text{ h}\pm 2.73\text{ h}$  vs  $21.75\text{ h}\pm 6.41\text{ h}$ ;  $18.85\text{ h}\pm 1.48\text{ h}$  vs  $56.74\text{ h}\pm 2.17\text{ h}$ ), 差异具有显著性( $P<0.05$ ); 实验组患者平均腹胀持续时间、平均住院时间及平均住院费用均明显低于对照组( $1.53\text{ d}\pm 0.62\text{ d}$  vs  $1.97\text{ d}\pm 0.60\text{ d}$ ;  $21.75\text{ d}\pm 6.41\text{ d}$  vs  $28.13\text{ d}\pm 9.42\text{ d}$ ;  $11420.33\text{ 元}\pm 4900.55\text{ 元}$  vs  $17705.69\text{ 元}\pm 8378.89\text{ 元}$ ), 差异具有显著性( $P<0.05$ )。

**结论:** 奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡临床疗效显著, 无明显不良反应, 安全性高, 能够促进患者康复、缩短病程、降低治疗费用, 临床应用和推广价值较高。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 应激性溃疡; 奥美拉唑; 谷氨酰胺; 疗效

**核心提示:** 本研究针对应激性溃疡的主要诱发因素采取包括抑制胃酸、肠道免疫营养、肠道微生态菌群调节和胃肠道黏膜保护等多个方面的综合治疗即奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡, 取得了良好的临床效果。

夏永欣, 尚品杰, 刘晓政, 张向东, 许欣. 奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡的临床效果. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3762-3766 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3762.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3762>

## 0 引言

应激性溃疡主要是指胃、十二指肠在各种应激

状态(包括严重创伤、大手术、感染、合并症以及严重脏器功能受损等)的影响下发生急性及多发性黏膜浅表糜烂和溃疡<sup>[1]</sup>. 应激性溃疡属于危重疾病常见并发症, 患者临床主要表现为上消化道大出血, 出血后死亡率大大增加. 应激性溃疡诱发因素较为复杂, 涉及胃的运动、分泌、胃肠激素、血流、氧自由基等多方面<sup>[2]</sup>, 临床治疗方法也较多, 疗效不一. 我院采用奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗SU已经取得了令人满意的临床效果, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2012-05/2013-05我院ICU收治的发生应激性溃疡的危重症患者72例作为研究对象. 所有患者均符合应激性溃疡相关诊断标准<sup>[3]</sup>, 血常规检查结果显示血红蛋白含量和血细胞比容下降, 大便隐血试验为阳性, 胃镜检查早期可见胃近段黏膜上出现散落苍白斑点, 24-36 h后进展为多发性浅表红色糜烂点, 之后即可发生溃疡, 部分表现为活动性出血<sup>[4]</sup>. 所有患者均排除有消化性溃疡、肝病以及其他出血或凝血疾病者, 原发病起病前均未出现呕血和黑便. 按照数字随机分组法将72例患者均分为实验组和对照组, 两组患者在性别、年龄、原发病及病情等上差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表1), 具有可比性。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** 实验组患者给予奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗, 奥美拉唑(山东鲁抗辰欣药业有限公司, 国药准字H20083922)0.6-0.8 mg/(kg·次), 静脉输注, 1次/d; 磷酸铝凝胶(洁维乐, 韩国保宁制药株式会社)20 g/次, 口服, 3次/d; L-谷氨酰胺呱仑酸钠颗粒(麦滋林, 日本寿制药株式会社)0.67 g/次, 出血严重者可增至1.3 g/次, 口服, 3次/d; 双歧杆菌四联活菌制剂(思连康, 杭州龙达新科生物制药有限公司)1片/次, 口服, 3次/d<sup>[5]</sup>. 对照组患者给予西咪替丁(海南制药厂有限公司, 国药准字H23022968)治疗, 10-20 mg/(kg·d), 静脉输注, 2次/d. 所有患者停止出血后停止治疗. 所有患者均留置胃管进行定时回抽胃液, 每次抽取胃液均丢弃最初的5-10 mL, 然后使用无菌注射器抽取胃液, 连续抽取1 h, 存放于无菌瓶内待检, 每隔8 h抽取1次<sup>[6]</sup>. 使用精密pH试纸测定待检胃液pH值, 将pH试纸浸入胃液1 s后取出与标准色板比色并读出pH值. 同时密切监测患者胃液颜色变化、大便隐血和便血以及应激性溃疡出血持续时间。

## ■ 研发前沿

奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡临床疗效显著, 临床应用和推广价值较高, 但若能够在应激性溃疡预防中进行应用, 也可能取得显著的效果, 需要进一步深入研究。



## ■应用要点

双歧杆菌四联活菌制剂有生物屏障、机械屏障和免疫屏障三重效果,能够改善应急状态下危重症患者肠道菌群失衡的状态,避免进一步引发多种并发症甚至多器官功能障碍综合征和多器官功能衰竭。

表 1 两组患者临床资料比较 ( $n = 36, n(\%)$ )

项目	实验组	对照组
性别		
男	19(52.78)	20(55.56)
女	17(47.22)	16(44.44)
平均年龄(岁)	43.73 ± 9.12	44.88 ± 8.97
原发病		
格林巴利综合症	9(25.00)	10(27.78)
重症肺炎	6(16.67)	8(22.22)
急性喉炎	4(11.11)	3(8.33)
药物中毒	3(8.33)	4(11.11)
化脓性脑膜炎	8(22.22)	6(16.67)
颅内出血	3(8.33)	2(5.56)
脓毒血症	3(8.33)	3(8.33)

表 2 两组患者临床疗效比较 ( $n = 36$ )

分组	显效 $n(\%)$	有效 $n(\%)$	无效 $n(\%)$	总有效率 $(\%)$
实验组	14(38.89) <sup>a</sup>	19(52.78)	3(8.33) <sup>b</sup>	91.67 <sup>b</sup>
对照组	6(16.67)	16(44.44)	14(38.89)	61.11

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

1.2.2 观察指标: 比较两组患者临床疗效、治疗前后胃液pH变化、咖啡样物或鲜血停止时间、隐血试验阴转时间、腹胀持续时间、住院时间及住院费用。疗效评价标准<sup>[7]</sup>: 以胃管内无咖啡色或血性液体, 临床症状在2 d内消失, 大便隐血3 d内转阴为显效; 以胃管内无咖啡色或血性液体, 临床症状在3 d内消失, 大便隐血5 d内转阴为有效; 以临床症状在3 d后未消失, 大便隐血呈阳性为无效。应激性溃疡出血持续时间为发现呕吐或胃管内引流出咖啡色液体或血性液体、标本隐血(++)以上至上述现象消失的时间<sup>[8]</sup>。

**统计学处理** 所有数据均使用SPSS17.0数据分析软件进行统计学处理, 计量资料用mean ± SD表示, 差异性比较采用 $t$ 检验, 计数资料比较用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组临床疗效比较 实验组显效率和总有效率均明显高于对照组, 差异具有显著性( $P < 0.05$ )(表2)。治疗前后两组患者均未发生恶心、呕吐等不良反应, 肝、肾功能未出现明显变化。表明奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡临床疗效显著, 安全性较高。

2.2 两组治疗前后胃液pH值变化 两组患者治疗7

表 3 两组患者治疗前后胃液pH值比较 ( $n = 36$ )

分组	治疗前	治疗7 d
实验组	1.39 ± 0.71	5.13 ± 0.72 <sup>bc</sup>
对照组	1.37 ± 0.69	3.69 ± 0.70 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 同组治疗前; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 对照组治疗后。

表 4 两组患者咖啡样物或鲜血停止时间及隐血试验阴转时间比较 ( $n = 36, h$ )

分组	咖啡样物或鲜血停止时间	隐血试验阴转时间
实验组	13.15 ± 2.73 <sup>a</sup>	18.85 ± 1.48 <sup>b</sup>
对照组	21.75 ± 6.41	56.74 ± 2.17

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

d胃液pH值较治疗前均明显升高, 差异具有显著性( $P < 0.05$ ); 实验组治疗7 d胃液pH值明显高于对照组, 差异具有显著性( $P < 0.05$ )(表3)。表明奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法抑制胃酸分泌效果更佳。

2.3 两组咖啡样物或鲜血停止时间及隐血试验阴转时间比较 实验组患者咖啡样物或鲜血停止时间及隐血试验阴转时间均明显低于对照组, 差异具有显著性( $P < 0.05$ )(表4)。表明奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法在缩短出血时间上效果显著。

2.4 两组患者腹胀持续时间、住院时间及住院费用比较 实验组患者平均腹胀持续时间、平均住院时间及平均住院费用均明显低于对照组, 差异具有显著性( $P < 0.05$ )(表5)。表明奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法在缩短腹胀和康复时间上疗效显著, 能够减少患者治疗经济负担。

## 3 讨论

应激性溃疡在严重创伤、大手术以及危重症患者合并有出血、休克、感染以及严重脏器功能受损时发病率较高, 主要表现为胃、十二指肠畸形、多发性黏膜浅表糜烂和溃疡, 多数患者可发生上消化道出血, 少数患者发生穿孔。应激性溃疡患者如不及时采取有效治疗干预, 常常危及生命安全。危重症患者发生应激性溃疡出血原因较为复杂, 涉及到神经-内分泌-免疫系统、胃运动、分泌、胃肠激素、血流、氧自由基等多方面因素。临床研究表明, 应激状态下诱发应激性溃疡的主要因素为黏膜缺血、黏膜屏障受损和胃酸分泌升高<sup>[9]</sup>。目前临床治疗应激性

表 5 两组患者腹胀持续时间、住院时间及住院费用比较 ( $n = 36$ )

分组	平均腹胀持续时间(d)	平均住院时间(d)	平均住院费用(元)
实验组	$1.53 \pm 0.62^a$	$21.75 \pm 6.41^a$	$11420.33 \pm 4900.55^a$
对照组	$1.97 \pm 0.60$	$28.13 \pm 9.42$	$17705.69 \pm 8378.89$

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组.

溃疡的方法较多,一般以监控患者生命体征和抑制胃酸分泌为主,疗效不一。

本研究针对应激性溃疡的主要诱发因素采取包括抑制胃酸、肠道免疫营养、肠道微生态菌群调节和胃肠道黏膜保护等多个方面的综合治疗即奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡,取得了良好的临床效果。

其中奥美拉唑由于具有选择性非竞争抑制胃壁细胞中质子泵酶活性的效果,能够有效阻断胃酸分泌最后通道,因此可作为强效胃酸分泌抑制剂。临床研究表明,奥美拉唑对周围性和中枢性泌酸刺激均有较强的抑制效果,大剂量使用时能够达到95%以上的泌酸抑制效果,有助于胃、十二指肠黏膜病变的愈合<sup>[10]</sup>。本研究中实验组患者治疗7 d后胃液pH值较治疗前均明显升高,且高于对照组治疗后,差异具有显著性,进一步证实了奥美拉唑的抑制胃酸分泌效果。

L-谷氨酰胺呱仑酸钠颗粒含有水溶性奥磺酸钠和L-谷氨酰胺,其中水溶性奥磺酸钠属于菊科植物花提取物,具有抑制多种致炎物质引发炎症的效果,且药效较为持久。同时也能够通过抑制炎症细胞释放组胺,促进黏膜内前列腺素E2合成和胃黏膜血流量增加,有助于患处上皮细胞新生和肉芽形成<sup>[11]</sup>。而L-谷氨酰胺则对术前、术后氮平衡有重要作用,能够改善应激状态下的危重患者免疫功能受损的情况,同时保护肠黏膜屏障功能,防止细菌和毒素移位。本研究中实验组患者平均住院时间明显低于对照组,差异具有显著性,表明使用谷氨酰胺呱仑酸钠颗粒免疫营养患者能够有效缩短康复时间。

双歧杆菌四联活菌制剂具有生物屏障、机械屏障和免疫屏障三重效果,能够改善应急状态下危重患者肠道菌群失衡的状态,避免进一步引发多种并发症甚至多器官功能障碍综合征和多器官功能衰竭<sup>[12]</sup>。

磷酸铝凝胶具有保护肠黏膜屏障的效果,用药后能够在胃、十二指肠黏膜上形成保护性薄膜,代替胃黏液保护胃黏膜<sup>[13,14]</sup>。既能够防止胃

黏膜自身消化和胃肠刺激,又能够有效将胃肠内发酵气、病原体和毒素吸附于肠腔表面,经由肠道排除体外,达到改善消化道免疫动能和调节菌群平衡的效果<sup>[15]</sup>。

本研究结果显示奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡较单用西咪替丁治疗临床疗效显著,无明显不良反应,抑制胃酸分泌效果显著,能够有效缩短患者出血时间、腹胀持续时间及康复时间,具有满意的临床效果。

总之,奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡临床疗效显著,临床应用和推广价值较高,但若能够在应激性溃疡预防中进行应用,也可能取得显著的效果,需要进一步深入研究。

#### 4 参考文献

- 李兆申. 重视应激性溃疡的规范化防治. 世界华人消化杂志 2005; 13: 2637-2639
- 朱宇清, 王辰, 谭元菊, 滕乐. 应激性溃疡早期预警因素临床分析研究. 临床急诊杂志 2011; 12: 199-201
- 段志泉, 何三光, 张德洲, 陈东义, 李忠友, 王重九, 沈益芬. 应激性溃疡的诊断与治疗. 实用外科杂志 1981; 01: 243-245
- Spirt MJ, Stanley S. Update on stress ulcer prophylaxis in critically ill patients. Crit Care Nurse 2006; 26: 18-20, 22-28; quiz 29 [PMID: 16443807]
- 杨春明. 奥美拉唑与西咪替丁治疗应激性溃疡的疗效比较. 中国医药指南 2012; 10: 93-94
- 熊四海. 奥美拉唑三联或四联疗法治疗消化性溃疡疗效比较. 中国社区医师(综合版) 2006; 8: 39-40
- 雷建中. 泮托拉唑和奥美拉唑治疗急性脑血管病并发应激性溃疡出血疗效对比分析. 中国社区医师(医学专业) 2013; 15: 76-77
- Tokmakçi M. Analysis of the electrogastrogram using discrete wavelet transform and statistical methods to detect gastric dysrhythmia. J Med Syst 2007; 31: 295-302 [PMID: 17685154 DOI: 10.1007/s10916-007-9069-9]
- 张爽, 刘海峰, 张成岗. 应激性胃黏膜损伤发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1697-1701
- 刘强. 奥美拉唑四联疗法治疗120例消化性溃疡疗效观察. 中国现代药物应用 2010; 4: 127-128
- MUREN A. The effect of vagotomy on gastric motor responses to drugs in dogs. Acta Physiol Scand 1957; 38: 398-414 [PMID: 13410637 DOI: 10.1111/j.1748-1716.1957.tb01402.x]
- 李纯伟. 奥美拉唑四联疗法治疗消化性溃疡的疗效与安全性分析. 中外医学研究 2012; 10: 23-24
- Parkman HP, Harris AD, Miller MA, Fisher RS. Influence of age, gender, and menstrual cycle on the normal electrogastrogram. Am J Gastroenterol 1996;

#### 同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 值得鼓励并且进一步深入研究。

- 91: 127-133 [PMID: 8561112]
- 14 李燕. 奥美拉唑联合L-谷氨酰胺呱仑酸钠治疗老年非  
甾体类抗炎药相关溃疡临床研究. 河北医药 2013; 35:  
724-725
- 15 郑永刚. 三联疗法联合中药辨证治疗消化性溃疡46例  
临床分析. 中国医药导刊 2013; 15: 87-88

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

**本刊讯** 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注码号.如马连生<sup>[1]</sup>报告……,潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……;PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>.文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和*World Journal of Gastroenterology*(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊:序号,作者(列出全体作者).文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页.



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能Vmax,  $\mu$ 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*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ ,  $V_d$ ,  $T_{1/2}$ , *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<sub>r</sub>* 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<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 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<sup>2</sup>; (4)样本的

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 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 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@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:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 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/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

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

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28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, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

## 2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: [www.gicasym.org](http://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](mailto:info@keystonesymposia.org)

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: [cme.med.miami.edu/x88.xml](http://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](mailto: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](http://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](http://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](mailto:ewancool@hotmail.com)

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: [www.crdinnovation.com](http://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](mailto: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](mailto: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](mailto: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](mailto: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](mailto:csonsc@VIP.163.com)

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: [casgmail@126.com](mailto: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](mailto: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](mailto:secretariat@apcc2013.com)



## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白白浪 副教授  
四川大学华西医院感染性疾病中心

白雪 副主任医师  
中国人民解放军北京军区总医院普通外科

白雪巍 副主任医师  
哈尔滨医科大学

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

杜群 副研究员  
广州中医药大学脾胃研究所药理室

樊晓明 教授  
复旦大学附属金山医院消化科

方今女 教授  
延边大学医学院预防医学教研部

傅思源 副教授  
东方肝胆外科医院肝外三科

傅晓辉 副教授  
东方肝胆外科医院

黄颖秋 教授  
本溪钢铁(集团)总医院消化内科

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

蓝宇 教授  
北京积水潭医院消化科

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

李小荣 教授  
中南大学湘雅三医院普外二科

刘海峰 主任医师  
北京市武警总医院消化科

刘海林 主任医师  
上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

刘占举 教授  
同济大学附属上海市第十人民医院

龙学颖 副主任医师  
中南大学湘雅医院

麻勇 副研究员  
哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

孙明军 教授  
中国医科大学附属第一医院内镜中心

汤华 研究员  
重庆医科大学感染性疾病分子生物学重点实验室

王刚 副研究员  
哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科(普外二科)

王蒙 副教授  
中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

王小众 教授  
福建医科大学附属协和医院消化内科

杨柏霖 副主任医师  
南京中医药大学附属医院

杨江华 副教授  
皖南医学院弋矶山医院感染科

于珮 主任医师  
天津医科大学代谢病医院

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

庄林 主任医师  
昆明市第三人民医院肝病科

张火俊 副教授  
长海医院放射科

张力为 副教授  
新疆医科大学第一附属医院胸外科

周晓武 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院普外科

## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。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引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章:





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](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

