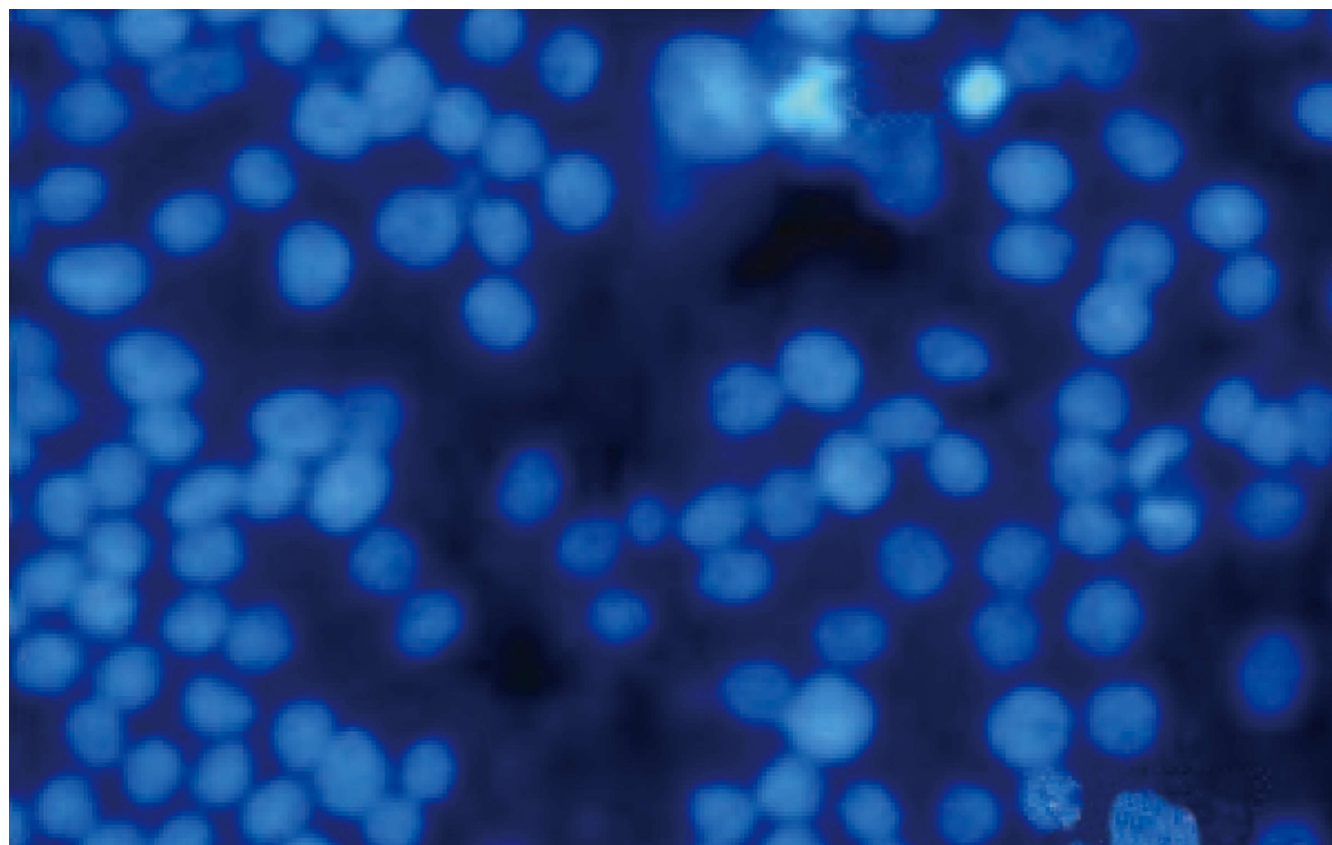


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

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



36/2013

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凜教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医药学

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

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

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

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

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年12月28日 第21卷 第36期 (总第440期)

述 评	4069 神经内分泌肿瘤肝转移治疗的进展 杜顺达, 王孜, 毛一雷
基础研究	4075 二甲双胍对人食管癌Eca109细胞的增殖与凋亡的影响及其机制 梁凤, 王昌成, 费素娟
临床研究	4084 幽门螺杆菌在某部军人中的感染情况及其危险因素 江汉龙, 陈芳旺, 夏学林, 田俊, 韩秋凤, 钟青, 陈正娇, 蒋际城, 刘小健
文献综述	4092 胃内酸袋的研究进展及与胃食管反流病的关系 吴光勤, 王雯 4098 胃癌HER2检测的进展 丁然, 余英豪 4104 急性肝衰竭肝移植围手术期治疗的研究进展 高加林, 施晓雷 4110 炎症性肠病血清学标志物的研究进展 王建强, 黄缘
研究快报	4116 miR-126调控胃癌细胞VEGFA及其下游靶蛋白Akt、mTOR、Erk1/2的表达 雷宇鹏, 陈红霞, 周晓东 4121 骨桥蛋白在肝纤维化组织中的表达及其与肝星状细胞活化的关系 戴文玲, 黄海峰, 陆翠华 4127 益生菌对大鼠非酒精性脂肪肝的治疗作用及机制 王丽, 李显辉 4133 TPRV1、TPRV2在腹泻型肠易激综合征大鼠中的表达及其与内脏敏感性的关系 黄适, 张涛, 陈远能, 黄斌, 王坚
临床经验	4140 高清晰结肠镜下锯齿状腺瘤的形态学特点 刘揆亮, 司空银河, 林香春, 吴静, 刘红 4146 基于iTRAQ结合2D-LC-MS/MS筛选胃癌血清差异表达蛋白 韦春回, 赖铭裕, 莫喜晶 4153 戊型肝炎患者血清ORF2抗原的检测及临床意义 耿彦生, 李红权, 张宏馨, 廉海晨, 李军, 耿坤静, 周艳春 4158 血浆肾素-血管紧张素系统与非酒精性脂肪肝病的相关性 罗晓英, 曾峥 4164 乌鲁木齐市体检人群非酒精性脂肪肝与肠易激综合征样症状的相关性 柯月, 杨涛, 姚萍 4170 多频生物电阻抗对肝硬化患者细胞内外液的探讨 吴圣楠, 齐玉梅, 陈亚军, 肖慧娟, 郝春满, 王昕 4175 细胞外HSP70/HSP70-PCs通过HIF-1 α 影响肝癌细胞HepG2 Glut1与VEGF的表达 李航宇, 杨福全, 李岩, 刘丹, 刘金钢 4180 联合介入应用于DSA阴性胃肠道出血患者的效果评价 应勇, 罗家芳, 张文红, 王小农, 何晓 4185 壶腹部肿瘤的诊断与局部切除 陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 秦仁义 4189 单气囊小肠镜在小肠疾病诊断治疗中的应用 朱鸣, 唐杰, 金晓维, 毛高平, 宁守斌, 张静, 李彦飞 4194 电子小肠镜在小肠疾病中的诊断价值 陈尚霖, 谢华平, 吴小力, 黎培员, 刘梅, 田德安, 周琦 4200 阿莫西林联合雷贝拉唑在NSAIDs相关性溃疡治疗中的作用 苗凤英, 李彦飞, 步晓华, 张福成 4204 <i>MLH1</i> 基因启动子甲基化和结肠癌关系的Meta分析 曾锦荣, 阮族明, 莫林芳, 陈晖

病例报告	4210 酷似肝脓肿的肉瘤样肝细胞癌1例 张文娟, 郭昱, 蒋树林, 巩翠洁, 高咏梅
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	4083 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 4091 《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 4126 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 4132 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 4139 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 4163 《世界华人消化杂志》修回稿须知 4169 《世界华人消化杂志》外文字符标准 4174 《世界华人消化杂志》出版流程 4184 《世界华人消化杂志》正文要求 4193 《世界华人消化杂志》参考文献要求 4212 《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)
封面故事	梁凤, 王昌成, 费素娟. 二甲双胍对人食管癌Eca109细胞的增殖与凋亡的影响及其机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4075-4083 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4075.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4075
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

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 2013-12-28

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: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

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

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wjcd/ch/index.aspx>), 所有办理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

December 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 36

EDITORIAL	4069 Therapeutic advances in neuroendocrine neoplasms with hepatic metastases <i>Du SD, Wang Z, Mao YL</i>
BASIC RESEARCH	4075 Effects of metformin on cell proliferation and apoptosis in human esophageal squamous cancer cell line Eca109 <i>Liang F, Wang CC, Fei SJ</i>
CLINICAL RESEARCH	4084 Prevalence of and risk factors for <i>Helicobacter pylori</i> infection in Chinese military personnel <i>Jiang HL, Chen FW, Xia XL, Tian J, Han QF, Zhong Q, Chen ZJ, Jiang JC, Liu XJ</i>
REVIEW	4092 Gastric acid pocket and gastroesophageal reflux disease <i>Wu GQ, Wang W</i> 4098 New advances in HER2 testing in gastric cancer <i>Ding R, Yu YH</i> 4104 Perioperative management in liver transplantation for acute liver failure <i>Gao JL, Shi XL</i> 4110 Serological markers of inflammatory bowel disease <i>Wang JQ, Huang Y</i>
RAPID COMMUNICATION	4116 MiR-126 regulates the expression of vascular endothelial growth factor A and its downstream target proteins Akt, mTOR and Erk1/2 in gastric cancer cells <i>Lei YP, Chen HX, Zhou XD</i> 4121 Correlation between expression of osteopontin and activation of hepatic stellate cells in hepatic fibrosis <i>Dai WL, Huang HF, Lu CH</i> 4127 Effect of probiotics treatment on rat non-alcoholic fatty liver disease <i>Wang L, Li XH</i> 4133 Relationship between expression of TPRV1 and TPRV2 and visceral hypersensitivity in rats with irritable bowel syndrome <i>Huang S, Zhang T, Chen YN, Huang B, Wang J</i>
CLINICAL PRACTICE	4140 Colonoscopic characteristics of serrated adenomas <i>Liu KL, Sikong YH, Lin XC, Wu J, Liu H</i> 4146 Screening differentially expressed serum proteins in gastric cancer by iTRAQ labeling coupled with 2D-LC-MS/MS <i>Wei CH, Lai MY, Mo XJ</i> 4153 Clinical significance of serum hepatitis E virus ORF2 antigen detection in hepatitis E patients <i>Geng YS, Li HQ, Zhang HX, Lian HC, Li J, Geng KJ, Zhou YC</i> 4158 Relationship between plasma renin-angiotensin system and nonalcoholic fatty liver disease <i>Luo XY, Zeng Z</i> 4164 Association between nonalcoholic fatty liver disease and irritable bowel syndrome in populations undergoing health examination in Urumqi <i>Ke Y, Yang T, Yao P</i> 4170 Intracellular and extracellular water distribution in patients with liver cirrhosis <i>Wu SN, Qi YM, Chen YJ, Xiao HJ, Hao CM, Wang X</i> 4175 Extracellular HSP70 peptide complexes alter expression of Glut1 and VEGF in HepG 2 cells via HIF-1 α <i>Li HY, Yang FQ, Li Y, Liu D, Liu JG</i> 4180 Effects of vasopressin infusion aided prophylactic gastroduodenal artery embolization in DSA-negative gastrointestinal bleeding patients <i>Ying Y, Luo JF, Zhang WH, Wang XN, He X</i> 4185 Diagnosis and local resection of ampullary tumors <i>Chen D, Zhu F, Wang M, Tian R, Qin RY</i> 4189 Single balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of small intestinal diseases <i>Zhu M, Tang J, Jin XW, Mao GP, Ning SB, Zhang J, Li YF</i> 4194 Diagnostic value of electronic enteroscopy in small bowel diseases <i>Chen SL, Xie HP, Wu XL, Li PY, Liu M, Tian DA, Zhou Q</i>

	4200 Clinical effects of amoxicillin combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules for NSAIDs associated peptic ulcer <i>Miao FY, Li YF, Bu XH, Zhang FC</i>
	4204 Relationship between <i>MLH1</i> promoter methylation and colorectal cancer: A meta-analysis <i>Zeng JR, Ruan ZM, Mo LF, Chen H</i>
CASE REPORT	4210 Sarcomatoid hepatocellular carcinoma resembling a liver abscess: A case report <i>Zhang WJ, Guo Y, Jiang SL, Gong CJ, Gao YM</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Liang F, Wang CC, Fei SJ</i> . Effects of metformin on cell proliferation and apoptosis in human esophageal squamous cancer cell line Eca109. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(36): 4075-4083 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4075.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4075
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</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 December 28, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

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

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

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

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

神经内分泌肿瘤肝转移治疗的进展

杜顺达, 王孜, 毛一雷

杜顺达, 王孜, 毛一雷, 中国医学科学院 北京协和医院肝脏外科 北京市 100730

杜顺达, 副教授, 副主任医师, 主要从事肝功能评估、肝肿瘤诊治等的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30901453

作者贡献分布: 杜顺达与王孜负责文献检索与阅读、文章书写; 毛一雷与杜顺达负责总体论文框架与方向选择。

通讯作者: 杜顺达, 副教授, 副主任医师, 100730, 北京市东城区帅府园1号, 中国医学科学院, 北京协和医院肝脏外科。
shundadu@sina.com

收稿日期: 2013-08-04 修回日期: 2013-09-22

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-12-28

Therapeutic advances in neuroendocrine neoplasms with hepatic metastases

Shun-Da Du, Zi Wang, Yi-Lei Mao

Shun-Da Du, Zi Wang, Yi-Lei Mao, Department of Liver Surgery, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100730, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30901453

Correspondence to: Shun-Da Du, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Liver Surgery, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College Hospital, 1 Shuaifuyuan, Dongcheng District, Beijing 100730, China. shundadu@sina.com

Received: 2013-08-04 Revised: 2013-09-22

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-12-28

Abstract

Although neuroendocrine neoplasms are characterized by slow progression and indolent biology, most patients develop early hepatic metastasis. Surgical resection is currently the only way to cure. One- or two-step procedures may be undertaken to remove the primary tumor and hepatic metastasis as thoroughly as possible. Liver transplantation is difficult to be widely applied due to resource scarcity. Other drawbacks include strict criteria for patient selection and high recurrence rate. Liver-directed therapies, mainly referring to TAE/TACE and RFA, are widely used in NET G1/G2 patients. Pharmacological therapies include somatostatin analogues, targeted therapy and systemic chemotherapy. Some clinical trials have demonstrated longer OS and PFS in experimental groups compared with placebo groups. Currently, a combined-

modality approach including surgery, liver-targeted therapy and medication is the trend in treatment of NEN hepatic metastases. How to determine the most suitable strategy in specific clinical circumstances? Which subpopulation of patients will benefit most from a specific therapy? We expect more clinical evidence of high quality to answer these questions.

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

Key Words: Neuroendocrine neoplasm; Hepatic metastases; Surgical resection; Liver transplantation; Conservative therapy

Du SD, Wang Z, Mao YL. Therapeutic advances in neuroendocrine neoplasms with hepatic metastases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4069-4074 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4069.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4069>

摘要

神经内分泌肿瘤具有惰性生长特点, 但易早期发生肝转移。手术仍是目前唯一可能根治神经内分泌肿瘤的治疗手段, 主张一次或多次尽可能切净原发灶与转移灶。肝移植技术由于资源稀少, 筛选患者指征严格, 复发率高, 无法广泛开展。针对肝脏的非手术治疗主要包括肝动脉介入栓塞/化疗、射频消融等, 目前应用广泛、安全性好。药物治疗, 主要包括生长抑素类似物、靶向药物和化疗药物, 能有效延长部分患者的无病生存期与总生存期。手术联合肝脏非手术治疗与药物治疗, 是神经内分泌肿瘤肝转移的治疗策略。但是如何挑选最合适的时机确定最适宜的干预方式, 如何确定不同治疗的最适宜人群, 尚需要更多循证医学证据。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 神经内分泌肿瘤; 肝转移; 手术切除; 肝移植; 保守治疗

核心提示: 手术仍是目前唯一可能根治神经内分泌肿瘤的治疗手段, 主张一次或多次尽可能切净原发灶与转移灶。非手术治疗主要包括肝动脉介

背景资料

神经内分泌肿瘤(neuroendocrine neoplasm, NEN)近年发病率逐渐增高, 早期诊断困难, 目前尚缺乏统一的诊疗标准。治疗方面, 手术仍是唯一可治愈的方法, 介入治疗、生长抑素类似物等新方法不断涌现。

同行评议者

吕凌, 副教授, 江苏省人民医院肝脏外科

■ 研发前沿
不同治疗手段对预后的影响,目前缺乏前瞻性临床研究证据。

入栓塞/化疗、射频消融等。如何挑选最合适的时间确定最适宜的干预方式,如何确定不同治疗的最适宜人群,尚需要更多循证医学证据。

杜顺达,王孜,毛一雷. 神经内分泌肿瘤肝转移治疗的进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4069-4074 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4069.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4069>

0 引言

神经内分泌肿瘤(neuroendocrine neoplasm, NEN)是一组起源于肽能神经元和内分泌细胞的异质性肿瘤。内分泌细胞不仅在人体主要腺体(如甲状腺、甲状旁腺)聚集,而且在胃肠道、呼吸道甚至卵巢、宫颈等腺体外部位也有分布。来源于神经元细胞的NEN则主要包括嗜铬细胞瘤与副神经节瘤。1963年Williams等^[1]首次将NEN按其胚胎发育,分为前肠型(肺、胸腺、食管、胃、十二指肠第一部分和胰腺)、中肠型(十二指肠第二部分、空肠、回肠、阑尾和升结肠)以及后肠型(横结肠、降结肠和直肠),其中来源于前肠的胃肠胰神经内分泌肿瘤最为常见,约占神经内分泌肿瘤的55%-70%。北京协和医院近20年的数据显示,住院NEN患者原发灶部位居前3位的分别是胰腺、胃和小肠^[2]。

神经内分泌肿瘤具有惰性生长、但易早期转移的特点。肝脏是最常见的转移部位,发生率高达44%-73%^[3]。大多数NEN肝转移患者原发灶相关临床症状并不特异,患者常因体检发现肝占位或肝脏功能受损相关症状如黄疸、腹水等就诊。

长期以来,NEN在分类和分级方面缺乏能被医学界广泛接受的标准^[2]。2006年,欧洲神经内分泌肿瘤协会(European Neuroendocrine Tumor Society, ENETS)修订了NEN的病理分级标准^[4],按细胞分裂指数及Ki-67阳性指数对肿瘤恶性程度进行分级(表1)。2008年Pape等^[5]将基于ENETS分级系统分组进行回顾性病例研究提示:G1、G2和G3患者的5年生存率分别为95.7%、73.4%和27.7%。该系统被WHO采纳为2010年最新分级标准。

ENETS在2012年最新专家共识中对肝转移灶也做了分类^[6]:(1)简单侵犯:肝转移灶局限于一侧肝叶或相邻肝段,可经标准术式切除。见于20%-25%的病例;(2)复杂侵犯:主要侵犯一处肝叶,周围有多个卫星灶伴行。见于10%-15%病例;(3)弥漫侵犯:弥漫、多灶转移,见于

60%-70%病例。

神经内分泌肿瘤肝转移的治疗,从传统的手术切除、到局部介入栓塞再到新兴的靶向治疗,取得较大的进展。本文将重点介绍近年来的研究进展。

1 早期诊断

胃肠胰神经内分泌肿瘤的预后相对较好,在诊断和治疗上应采取比较积极的态度,从而取得更长的生存期。诊断分为定性诊断与定位诊断。定性诊断可检测有功能神经内分泌肿瘤的血清相应激素水平,包括胰岛素、胰高血糖素和胃泌素等。血清嗜铬粒蛋白A(chromogranin A, CgA)则适用于所有神经内分泌肿瘤,可用于疾病筛查和治疗后肿瘤监测,目前已有多种成熟的商用检测试剂盒^[7]。定位诊断包括传统影像学技术,如CT、超声与核磁。更特异于神经内分泌肿瘤的检查技术为生长抑素受体显像,其敏感度根据肿瘤类型有所不同,对于胃肠胰神经内分泌肿瘤超过75%,其中胰岛素瘤仅为中度敏感(40%-75%)^[8]。

2 手术治疗

2.1 手术切除 手术切除是目前唯一可能根治神经内分泌肿瘤及其转移灶的方式,能有效缓解症状,部分患者能有效延长生存期。手术包括对原发灶和肝转移灶的切除。Kleine等^[9]进行的回顾性队列研究提示,切除肝转移灶的胰腺NEN病例组与未切除组相比,死亡率显著降低(HR = 9.24, $P = 0.049$),且前者的疾病相关生存率与无肝转移病例组相似。Sarmiento等^[10]对170例接受肝转移灶切除手术的患者研究显示:5年生存率为61%,10年生存率为35%;在108例临床症状明显的患者中,104例症状得到控制。术后并发症发生率为14%。目前广为接受的手术策略是:应尽可能同时切除转移灶和原发灶;如单次手术无法切除全部病灶,可采用手术切除联合射频消融术;如肿瘤巨大或患者身体状况受限制,原发灶与转移灶可分期切除;对于无法根治性切除的患者,应建议行减瘤手术,如能切除肿瘤负荷的90%以上,无功能NEN患者生存时间将可能显著延长^[9]。北京协和医院对1例无功能性胰腺神经内分泌肿瘤(G2)肝多发转移患者,行原发灶联合部分转移灶切除、剩余转移灶分期切除,获得了较好的效果。此外,减瘤手术还能控制功能性NEN患者的临床症状,改善生活质

表 1 神经内分泌肿瘤的分级标准

分级	核分裂象数(10 HPF)	Ki-67阳性指数(%)
G1, 低级别	1	<2
G2, 中级别	2-20	3-20
G3, 高级别	>20	>20

量。一般认为, 手术切除适用于病理分级低(NET G1/G2)、转移灶单一或能一次切除的患者^[6], 高级别原发灶患者(NET G3)接受根治性手术或是减瘤手术, 远期生存是否依然获益, 还有待更多病例的研究数据。

关于原发灶和转移灶切除先后的问题, 应视具体情况; 有时可先切除转移灶, 再切除原发灶。De Jong等^[11]的研究结果发现, 如先行胰十二指肠切除, 再二期切除肝脏, 肝脓肿的发病率明显升高, 因此建议先行肝转移灶切除术, 再二期行胰十二指肠切除术。

除此之外, NEN肝转移灶手术切除遇到的最大问题是高复发率。Mayo等^[12]发现, 尽管手术切除能够有效延长生存时间, 但高达94%的患者会在5年内复发。高复发率可能与NEN本身独特的生物学特性相关, 这为改良手术方式、手术联合其他治疗以期降低复发率提供了理论基础。

2.2 肝移植 原发灶局限伴广泛肝转移的患者, 综合分析其全身情况、转移灶分布等情况, 可以考虑行原发灶切除+同种异体肝移植。肝移植目前只在较少的医学中心开展, 规模最大的研究由Lehnert^[13]完成, 包括103例病例, 其2年生存率是60%, 5年生存率是47%, 但是无瘤5年生存率不超过24%。肝移植创伤大、后续治疗复杂、治疗费用昂贵、且复发率高, 并不建议用于NET肝转移患者的常规治疗。中华医学会外科学分会胰腺外科学组^[14]提出PNET肝转移行肝移植的指征包括: (1)神经内分泌肿瘤肝脏转移, 无肝外转移和区域淋巴结转移; (2)胰腺和原发病灶可完整切除, 肝脏双侧叶不可切除的多发转移灶; (3)肿瘤Ki-67指数<10%; (4)存在无法用药物控制的、明显影响患者生命质量的症状, 无其他肝移植禁忌证。但如此高度选择的适应证人群移植后也不一定能够获得长期生存。

3 肝脏的非手术治疗

针对肝脏的非手术治疗包括肝动脉介入栓塞(transcatheter arterial embolization, TAE)、肝动脉介入化疗栓塞(transcatheter arterial chemo-

embolization, TACE)、射频消融(radiofrequency ablation, RFA)等, 能有效减少肝脏转移灶的肿瘤负荷。

3.1 TAE/TACE 较大的肝转移灶主要由肝动脉供血, 这是TAE/TACE治疗NET肝转移的理论基础。如肝转移灶数目较少、体积较大, 可使用微导管进行超选择栓塞; 如肝转移灶数目众多或无明显增粗的供血动脉, 则将导管插到肝固有动脉水平进行栓塞。肝内广泛转移的患者原则上不是TAE/TACE的适应证, 如需进行, 应分次栓塞, 以免发生急性肝功能衰竭和严重并发症。栓塞剂通常采用超液态碘油10-20 mL与表阿霉素或链脲霉素20-40 mg的混合乳剂, 栓塞程度控制在动脉血流速度明显减慢、肿瘤染色基本消失^[15]。TAE/TACE常应用于治疗NET G1/G2肝转移的患者, 操作可多次重复, 但短期内可能行肝移植的患者应避免行TAE/TACE, 以免损伤动脉正常结构。绝对禁忌证包括完全性门脉栓塞、肝功能失代偿。TAE/TACE主要不良反应包括胆囊坏死、肝肾综合征、胰腺炎、肝脓肿和动脉瘤形成, 这和操作者的经验和术中判断有较大的关系。行Whipple术式切除原发灶的患者也应避免TAE/TACE, 因为可能增加胰腺炎、肝脓肿等并发症几率^[16]。关于TAE与TACE孰优孰劣, 以及何种化疗药物能更有效的抑制肿瘤生长, 由于缺乏大规模临床试验证据, 尚无定论。

3.2 RFA RFA在肝脏肿瘤治疗领域应用广泛, 包括冷冻消融、无水乙醇注射和RFA。其中以RFA最具备发展前景, 且临床应用经验最为丰富。RFA技术可单独应用, 也可与手术治疗联合, 作为手术切除的补充治疗手段。根据病变部位和转移的广泛程度, 可选择经皮和腹腔镜下两种电极入路方式。目前, RFA在许多中心已经成为局部治疗的首选, 部分研究显示其在缓解症状和控制转移两方面都能获得较好的效果。一项入组63例病例的前瞻性研究^[17]显示: RFA组患者70%达到完全或部分症状缓解, 维持时间为11 mo ± 2.3 mo。但RFA完全消灭转移灶的可能性随转移灶体积增大而减低。RFA不适用于直径>5 cm的病灶, 且对于肿瘤数目也有限制^[18]。在安全性方面, RFA围手术期并发症发生率与操作者的经验密切相关, 平均约5%, 术后30 d内无死亡事件报道。

4 药物治疗

当神经内分泌肿瘤为低分化(NET G3), 或肝内

■同行评价

NEN近年发病率逐渐增高, 早期诊断困难, 目前尚缺乏统一的诊疗标准, 故该综述内容较为重要。其引用的文献证据较为充分和新鲜, 反应了NEN的诊疗新进展。

表 2 各类胃肠胰神经内分泌肿瘤细胞生长抑素受体表达情况(%)

	SSTR1	SSTR2	SSTR3	SSTR4	SSTR5
胰岛素瘤	33	100	33	100	67
胃泌素瘤	33	50	17	83	50
胰高血糖素瘤	67	100	67	67	67
VIP瘤	100	100	100	100	100
无功能NET	80	100	40	100	60

弥漫转移时, 药物治疗成为选择. 药物治疗并不是特异针对肝脏, 可以作用于所有转移灶. 选择方案要结合分级分期信息和肿瘤原发灶的位置(前肠、中肠、后肠).

4.1 生长抑素类似物 长效的生长抑素类似物奥曲肽和兰乐肽最初应用于减轻类癌症状, 如潮热或水样泻. 但是, 最近越来越多的证据证明他们也有抗肿瘤生长、稳定肿瘤的作用^[19]. 生长抑素受体有5种亚型, 奥曲肽和兰乐肽与SST2和SST5亲和力最高, SST3稍低, 表2总结了不同胃肠胰神经内分泌肿瘤细胞表面的生长抑素受体分布情况^[20,21].

德国研究小组于2009年报告了PROMID多中心的前瞻性研究结果, 发现接受奥曲肽长效制剂和安慰剂治疗中肠神经内分泌肿瘤患者的中位无进展生存时间分别为14.3和6.0 mo, 显示了统计学差异, 但两组总体生存期无显著性差异^[22]. 生长抑素类似物的弊端是易产生耐药性, 且有部分患者对治疗无应答. 作用受体谱更广泛的新型药物正在研究中, 如SOM230或帕西瑞泰, 其对SST1、SST2、SST3和SST5有更高的亲和力, 其中对SS1和SS5的亲和力是奥曲肽和兰乐肽的30-40倍^[23].

4.2 靶向治疗 靶向治疗是近年来NEN药物治疗的亮点之一, 主要药物有: 血管内皮生长因子(vascular epithelial grow factor, VEGF)抑制剂(包括多靶点酪氨酸激酶抑制剂)、哺乳动物雷帕霉素受体(mammalian target of rapamycin, mTOR)抑制剂.

肿瘤组织免疫组织化学方法已经证实, NEN肿瘤血供丰富, 细胞表面同样表达VEGF及其受体. 2007年Zhang等^[24]的试验证实, NEN肿瘤的VEGF表达数量与肿瘤大小还有转移倾向呈明显正相关, VEGF的过度表达通过刺激新生血管形成而促进肿瘤发展. VEGF抑制剂的代表药物为VEGF单克隆抗体贝伐单抗和酪氨酸激酶抑制剂舒尼替尼. 二者抗NEN肿瘤增殖和改善预

后已经由临床试验证实. Kulke等^[25]用2-甲氧雌二醇联合贝伐珠单抗治疗31例NET患者, 68%患者的影像学检查提示肿瘤缩小, 中位无进展生存期为11.3 mo. 2011年新英格兰医学杂志发表了关于舒尼替尼的III期临床试验结果: 对于进展期胰腺NEN患者, 试验组每日口服舒尼替尼37.5 mg, 中位无进展生存期为11.4 mo, 而安慰组为5.5 mo(HR = 0.42, $P < 0.001$). 与安慰组相比, 服用舒尼替尼组的无进展生存期、总生存期均获得显著提高. VEGF抑制剂主要的不良反应包括腹泻、恶心、呕吐和乏力^[26]. 由于目前的试验证据主要只针对胰腺NEN, NCCN仅正式推荐舒尼替尼用于胰腺NEN的治疗.

mTOR抑制剂是一个保守的丝氨酸/苏氨酸激酶, 与调控细胞凋亡相关, 代表药物是依维莫司. 磷脂酰肌醇-3-激酶/丝氨酸蛋白激酶/mTOR通路能够影响胰岛素样生长因子受体、血管内皮生长因子受体和表皮生长因子受体等下游靶点, 调节细胞生长和代谢. 已有的文献显示, 胃肠胰神经内分泌肿瘤细胞的mTOR信号通路处于失控状态, 使细胞生长代谢无序, 这是mTOR抑制剂治疗的基础. mTOR抑制剂能抑制该通路活性, 从而阻滞肿瘤生长^[27]. III期临床研究RADIANT-3显示, 依维莫司能延长进展期胰腺NET患者的无病生存期^[28].

4.3 系统化疗 目前常用的化疗方案有: 链脲霉素联合氟尿嘧啶或联合阿霉素, 应用于胰腺NET G1/G2患者, 有效率为35%-40%^[6,29]. 顺铂或奥沙利铂联合足叶乙甙也常应用于NET G3的肿瘤患者^[30]. 由于缺乏试验数据, 目前无法确定最佳疗程, 来使患者获得最大获益. 因此, 系统性化疗多用于缺乏其他临床治疗方案的进展期患者.

5 治疗方案的选择

欧洲神经内分泌肿瘤协会2012年对于原发灶病例分级为NET G1/G2、无肝外转移的患者颁布了治疗方案的专家共识^[6](图1). 与实体瘤不同,

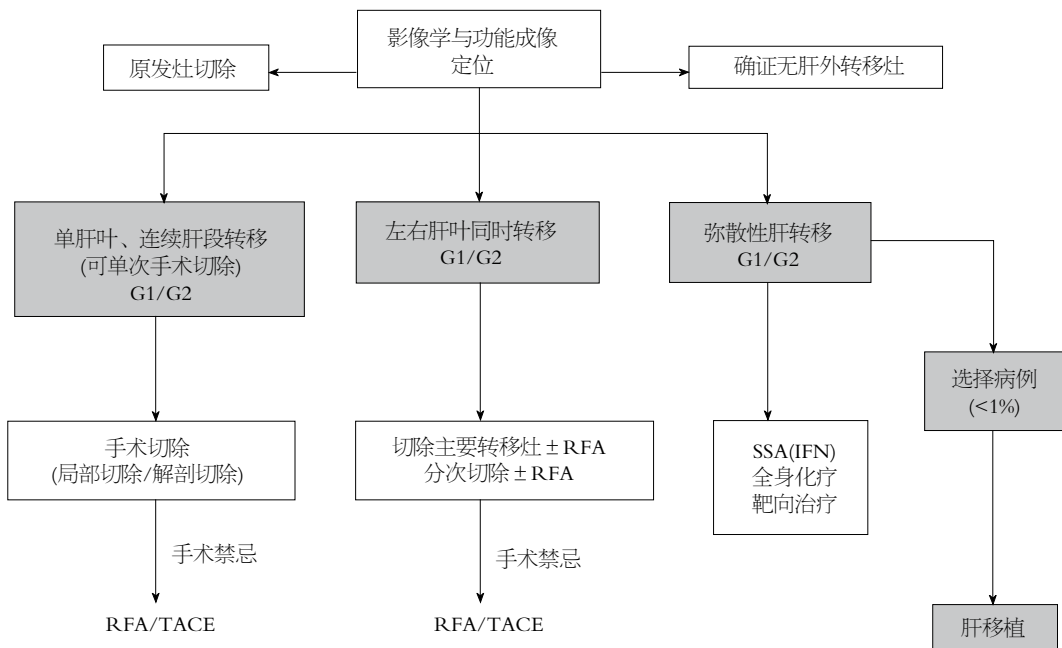


图 1 神经内分泌肿瘤肝转移(无肝外转移)的治疗共识. RFA: 射频消融; TACE: 肝动脉介入化疗栓塞.

对于有肝转移的NEN患者, 我们首先依然要尽可能切除原发灶, 再根据肝转移情况, 分别进行个体化的干预治疗: 弥漫性肝转移患者主要选择药物治疗, 对于可切除的肝转移灶, 可同期或分期切除, 手术切除联合RFA、TACE联合手术切除等.

6 结论

神经内分泌肿瘤虽然容易早期肝转移, 但其具有惰性生长特点, 合理利用病史、症状、血清学检查、肿瘤标志物等提高早期诊断, 将能有效提高手术切除率, 达到治愈的目的. 在明确诊断后, 治疗主要分两个方向, 一是控制症状, 提高生活质量; 二是延长生存期. 合理的治疗能够有效改善症状, 延长患者生存期. 在各种治疗手段中, 手术是目前唯一可能根治的治疗手段, 但并不能涵盖所有病例, 且术后存在高复发. 针对肝脏的非手术治疗和针对全身的药物化疗, 能有效的弥补单一手术的不足, 近年来发展迅速. 手术联合非手术、药物治疗, 是神经内分泌肿瘤肝转移的治疗策略, 但如何在最合适的时机选择手术、选择何种手术、是否分期手术、是否联合非手术、术后选择何种药物治疗等, 尚需更多的循证医学研究.

7 参考文献

1 Williams ED, Sandler M. The classification of carcinoid tumours. *Lancet* 1963; 1: 238-239 [PMID: 14000847]

2 应红艳, 丛雪晶, 赵林, 陈书长, 王毓洲, 白春梅. 胃肠胰神经内分泌肿瘤分类和分期进展. *癌症进展* 2011; 9: 507-514

3 Modlin IM, Lye KD, Kidd M. A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors. *Cancer* 2003; 97: 934-959 [PMID: 12569593 DOI: 10.1002/cncr.11105]

4 Rindi G, Klöppel G, Alhman H, Caplin M, Couvelard A, de Herder WW, Eriksson B, Falchetti A, Falconi M, Komminoth P, Körner M, Lopes JM, McNicol AM, Nilsson O, Perren A, Scarpa A, Scoazec JY, Wiedenmann B. TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch* 2006; 449: 395-401 [PMID: 16967267 DOI: 10.1007/s00428-006-0250-1]

5 Pape UF, Jann H, Müller-Nordhorn J, Bockelbrink A, Berndt U, Willich SN, Koch M, Röcken C, Rindi G, Wiedenmann B. Prognostic relevance of a novel TNM classification system for upper gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Cancer* 2008; 113: 256-265 [PMID: 18506737 DOI: 10.1002/cncr.23549]

6 Pavel M, Baudin E, Couvelard A, Krenning E, Öberg K, Steinmüller T, Anlauf M, Wiedenmann B, Salazar R. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with liver and other distant metastases from neuroendocrine neoplasms of foregut, midgut, hindgut, and unknown primary. *Neuroendocrinology* 2012; 95: 157-176 [PMID: 22262022 DOI: 10.1159/000335597]

7 Rindi G, Wiedenmann B. Neuroendocrine neoplasms of the gut and pancreas: new insights. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8: 54-64 [PMID: 21808296 DOI: 10.1038/nrendo.2011.120]

8 李景南. 胃肠胰神经内分泌肿瘤的诊断. *中华医学会第九次全国消化系统疾病学术会议论文集*, 2009

9 Kleine M, Schrem H, Vondran FW, Krech T, Klempnauer J, Bektas H. Extended surgery for advanced pancreatic endocrine tumours. *Br J Surg* 2012; 99: 88-94 [PMID: 22135173 DOI: 10.1002/bjs.7681]

10 Sarmiento JM, Heywood G, Rubin J, Ilstrup DM, Nagorney DM, Que FG. Surgical treatment of neu-

- roendocrine metastases to the liver: a plea for resection to increase survival. *J Am Coll Surg* 2003; 197: 29-37 [PMID: 12831921]
- 11 De Jong MC, Farnell MB, Sclabas G, Cunningham SC, Cameron JL, Geschwind JF, Wolfgang CL, Herman JM, Edil BH, Choti MA, Schulick RD, Nagorney DM, Pawlik TM. Liver-directed therapy for hepatic metastases in patients undergoing pancreaticoduodenectomy: a dual-center analysis. *Ann Surg* 2010; 252: 142-148 [PMID: 20531007 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181dbb7a7]
 - 12 Mayo SC, de Jong MC, Pulitano C, Clary BM, Reddy SK, Gamblin TC, Celinski SA, Kooby DA, Staley CA, Stokes JB, Chu CK, Ferrero A, Schulick RD, Choti MA, Mentha G, Strub J, Bauer TW, Adams RB, Aldrighetti L, Capussotti L, Pawlik TM. Surgical management of hepatic neuroendocrine tumor metastasis: results from an international multi-institutional analysis. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 3129-3136 [PMID: 20585879 DOI: 10.1245/s10434-010-1154-5]
 - 13 Lehnert T. Liver transplantation for metastatic neuroendocrine carcinoma: an analysis of 103 patients. *Transplantation* 1998; 66: 1307-1312 [PMID: 9846513]
 - 14 中华医学会外科学分会胰腺外科学组. 胰腺内分泌肿瘤的诊断和外科治疗指南(讨论稿). *中华外科杂志* 2009; 47: 339-341
 - 15 李晓光, 金征宇, 潘杰, 张晓波, 石海峰, 孙昊, 王志伟, 周慷. 肝动脉化疗或栓塞治疗胰腺神经内分泌肿瘤肝转移的疗效分析. *介入放射学杂志* 2010; 442-446
 - 16 Ahlman H, Wängberg B, Jansson S, Friman S, Olausson M, Tylén U, Nilsson O. Interventional treatment of gastrointestinal neuroendocrine tumours. *Digestion* 2000; 62 Suppl 1: 59-68 [PMID: 10940689]
 - 17 Mazzaglia PJ, Berber E, Milas M, Siperstein AE. Laparoscopic radiofrequency ablation of neuroendocrine liver metastases: a 10-year experience evaluating predictors of survival. *Surgery* 2007; 142: 10-19 [PMID: 17629995 DOI: 10.1016/j.surg.2007.01.036]
 - 18 Elias D, Baton O, Sideris L, Boige V, Malka D, Liberale G, Pocard M, Lasser P. Hepatectomy plus intraoperative radiofrequency ablation and chemotherapy to treat technically unresectable multiple colorectal liver metastases. *J Surg Oncol* 2005; 90: 36-42 [PMID: 15786433 DOI: 10.1002/jso.20237]
 - 19 Demirhan BH, Eriksson B. Systemic treatment of neuroendocrine tumors with hepatic metastases. *Turk J Gastroenterol* 2012; 23: 427-437 [PMID: 23161287]
 - 20 Appetecchia M, Baldelli R. Somatostatin analogues in the treatment of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours, current aspects and new perspectives. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 19 [PMID: 20196864 DOI: 10.1186/1756-9966-29-19]
 - 21 Oberg K, Kvols L, Caplin M, Delle Fave G, de Herder W, Rindi G, Ruzsniwski P, Woltering EA, Wiedenmann B. Consensus report on the use of somatostatin analogs for the management of neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system. *Ann Oncol* 2004; 15: 966-973 [PMID: 15151956 DOI: 10.1093/annonc/mdh216]
 - 22 Chua YJ, Michael M, Zalberg JR, Hicks RJ, Goldstein D, Liauw W, Price T. Antitumor effect of somatostatin analogs in neuroendocrine tumors. *J Clin Oncol* 2010; 28: e41-e42; author reply e41-e42 [PMID: 20008618 DOI: 10.1200/JCO.2009.22.8510]
 - 23 Ferone D, Saveanu A, Culler MD, Arvigo M, Rebora A, Gatto F, Minuto F, Jaquet P. Novel chimeric somatostatin analogs: facts and perspectives. *Eur J Endocrinol* 2007; 156 Suppl 1: S23-S28 [PMID: 17413184 DOI: 10.1530/eje.1.02356]
 - 24 Zhang J, Jia Z, Li Q, Wang L, Rashid A, Zhu Z, Evans DB, Vauthey JN, Xie K, Yao JC. Elevated expression of vascular endothelial growth factor correlates with increased angiogenesis and decreased progression-free survival among patients with low-grade neuroendocrine tumors. *Cancer* 2007; 109: 1478-1486 [PMID: 17340592 DOI: 10.1002/cncr.22554]
 - 25 Kulke MH, Chan JA, Meyerhardt JA, Zhu AX, Abrams TA, Blaszkowsky LS, Regan E, Sidor C, Fuchs CS. A prospective phase II study of 2-methoxyestradiol administered in combination with bevacizumab in patients with metastatic carcinoid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 293-300 [PMID: 20960192 DOI: 10.1007/s00280-010-1478-7]
 - 26 Raymond E, Dahan L, Raoul JL, Bang YJ, Borbath I, Lombard-Bohas C, Valle J, Metrakos P, Smith D, Vinik A, Chen JS, Hörsch D, Hammel P, Wiedenmann B, Van Cutsem E, Patyna S, Lu DR, Blanckmeister C, Chao R, Ruzsniwski P. Sunitinib malate for the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364: 501-513 [PMID: 21306237 DOI: 10.1056/NEJMoa1003825]
 - 27 Raut CP, Kulke MH. Targeted therapy in advanced well-differentiated neuroendocrine tumors. *Oncologist* 2011; 16: 286-295 [PMID: 21346024 DOI: 10.1634/theoncologist.2010-0313]
 - 28 Yao JC, Shah MH, Ito T, Bohas CL, Wolin EM, Van Cutsem E, Hobday TJ, Okusaka T, Capdevila J, de Vries EG, Tomassetti P, Pavel ME, Hoerl S, Haas T, Lincy J, Lebwohl D, Öberg K. Eversionolimus for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364: 514-523 [PMID: 21306238 DOI: 10.1056/NEJMoa1009290]
 - 29 Fjallskog ML, Janson ET, Falkmer UG, Vatn MH, Oberg KE, Eriksson BK. Treatment with combined streptozotocin and liposomal doxorubicin in metastatic endocrine pancreatic tumors. *Neuroendocrinology* 2008; 88: 53-58 [PMID: 18285678 DOI: 10.1159/000117575]
 - 30 梁后杰, 杨晨. 胃肠胰腺神经内分泌肿瘤治疗共识(NCCN、ENETs、NANETs)解读. *临床肿瘤学杂志* 2011; 16: 1039-1043

编辑 田滢 电编 闫晋利



二甲双胍对人食管癌Eca109细胞的增殖与凋亡的影响及其机制

梁凤, 王昌成, 费素娟

梁凤, 徐州医学院 江苏省徐州市 221000
梁凤, 王昌成, 徐州医学院附属淮安医院消化科 江苏省淮安市 223002
费素娟, 徐州医学院附属医院消化科 江苏省徐州市 221000
梁凤, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的临床与病理研究。
作者贡献分布: 梁凤、王昌成及费素娟对本文所作贡献均等; 此课题由王昌成与费素娟设计; 研究过程由梁凤操作完成; 数据分析由梁凤完成; 本论文写作由梁凤与王昌成完成。
通讯作者: 王昌成, 教授, 主任医师, 223002, 江苏省淮安市淮海南路62号, 徐州医学院附属淮安医院消化科。
changchengwang1964@126.com
收稿日期: 2013-09-21 修回日期: 2013-10-28
接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-28

Effects of metformin on cell proliferation and apoptosis in human esophageal squamous cancer cell line Eca109

Feng Liang, Chang-Cheng Wang, Su-Juan Fei

Feng Liang, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China
Feng Liang, Chang-Cheng Wang, Department of Gastroenterology, Huaian Hospital Affiliated to Xuzhou Medical College, Huaian 223002, Jiangsu Province, China
Su-Juan Fei, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Chang-Cheng Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Huaian Hospital Affiliated to Xuzhou Medical College, Huaihai South Road, Huaian 223002, Jiangsu Province, China. changchengwang1964@126.com
Received: 2013-09-21 Revised: 2013-10-28
Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the effects of metformin on cell proliferation, apoptosis and cell cycle progression in human esophageal cancer cell line Eca109 *in vitro*, to explore the possible mechanisms, and to observe whether there is a synergistic effect between metformin and 5-fluorouracil (5-FU).

METHODS: MTT assay was used to detect cell inhibition rate after treatment with metformin alone or in combination with 5-FU. Morphological changes of cells were observed by

Hoechst33258 staining. The changes in cell cycle progression were examined by flow cytometry (FCM). The expression of p27 and cyclin D1 mRNAs in Eca109 cells was detected by reverse transcription-PCR.

RESULTS: Apoptotic features including nuclear pyknosis, chromatin margination and apoptotic bodies were observed in Eca109 cells after treatment with metformin by inverted phase contrast microscopy and Hoechst33258 staining. Metformin significantly inhibited the proliferation of Eca109 cells in a dose- ($r = 0.968$, $P < 0.05$) and time-dependent ($r = 0.914$, $P < 0.05$) manner. Metformin treatment enhanced 5-Fu-mediated cell growth inhibition (24 h: $t = 6.943$, $P < 0.05$; 48 h: $t = 7.764$, $P < 0.05$; 72 h: $t = 14.554$, $P < 0.05$ vs metformin alone). However, metformin and 5-FU had no synergistic anti-proliferative effect in esophageal cells. Flow cytometry analysis showed that metformin increased the percentage of cells in G_0/G_1 phase in a dose-dependent manner. The expression of cyclin D1 mRNA was down-regulated, while the expression of p27 mRNA was up-regulated after metformin treatment.

CONCLUSION: Metformin inhibits cell proliferation, promotes apoptosis and blocks the cell cycle at G_0/G_1 phase, which may be attributable to down-regulation of cyclin D1 and up-regulation of p27. Metformin and 5-FU have no synergistic anti-proliferative effect in Eca109 cells.

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

Key Words: Metformin; 5-fluorouracil; Eca109; Synergistic; Cell cycle; Inhibition rate

Liang F, Wang CC, Fei SJ. Effects of metformin on cell proliferation and apoptosis in human esophageal squamous cancer cell line Eca109. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4075-4083 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4075.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4075>

■背景资料

食管癌因患者有临床表现而就医时, 均已处于中晚期, 大部分失去了手术的机会, 而此时化疗成为食管癌重要治疗手段之一。因此, 寻找高效低毒的化疗药物或联合用药减轻不良反应成为抗癌研究的热点问题之一。二甲双胍抗肿瘤效应的研究日趋增多, 但在食管癌方面国内外鲜见报道。

■同行评议者

许玲, 教授, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

■ 研究前沿

近年来,临床上安全性较高、不良反应较少且价廉的“老药”,逐渐被“新用”。其中二甲双胍作为LKB1-AMPK激活剂,其在抗肿瘤方面的作用及相关的抗肿瘤机制逐渐成为抗肿瘤药物研究的热点。

摘要

目的: 研究二甲双胍对人食管鳞状细胞癌Eca109细胞的增殖、凋亡的影响及其机制。

方法: 倒置相差显微镜观察二甲双胍作用于Eca109细胞后细胞形态学的改变;二甲双胍或二甲双胍联合5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)干预细胞24、48、72 h后,MTT检测细胞抑制率;Hoechst33258荧光染色法观察凋亡细胞核的形态学变化;药物干预后,流式细胞仪检测细胞周期的改变,抽提mRNA并以RT-PCR(reverse transcription PCR)检测相关基因*cyclinD1*、*p27*的转录情况。

结果: 二甲双胍处理后倒置相差显微镜观察其大体形态和荧光显微镜观察其细胞核均呈现凋亡的形态学变化;MTT结果显示,不同浓度二甲双胍作用于食管癌Eca109细胞后,相关分析结果显示,食管癌Eca109细胞生长抑制率与二甲双胍浓度呈正相关($r = 0.968, P < 0.05$),与作用时间呈正相关($r = 0.914, P < 0.05$);与5-FU联合使用时(联合用药组24 h: $t = 6.943, P < 0.05$, 48 h: $t = 7.764, P < 0.05$, 72 h: $t = 14.554, P < 0.05$ vs 单用二甲双胍组),但根据金正均法判断,三组的 q 值0.85-1.15,表示两药有单纯相加作用,并无协同作用;流式测细胞周期结果显示,二甲双胍阻滞细胞于 G_0/G_1 期细胞;RT-PCR结果显示周期相关基因*cyclinD1* mRNA显著下调($P < 0.05$),*p27* mRNA显著上调($P < 0.05$)。

结论: 二甲双胍能促进人食管癌细胞系Eca109的凋亡,与5-FU联合用药时无明显协同作用,阻滞细胞周期于 G_0/G_1 期,其机制可能与上调或下调某些细胞周期相关基因的表达有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 二甲双胍; 5-氟尿嘧啶; Eca109细胞; 协同作用; 细胞周期; 抑制率

核心提示: 研究结果表明安全且价廉的口服降糖药二甲双胍能抑制食管癌细胞系Eca109细胞的增殖,促进肿瘤细胞凋亡,并使细胞周期阻滞于 G_0/G_1 期,这些可能与下调细胞周期素相关蛋白D1及上调调控细胞周期并抑制细胞分裂的重要抑癌基因*p27*有关。

梁凤, 王昌成, 费素娟. 二甲双胍对人食管癌Eca109细胞的增殖与凋亡的影响及其机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4075-4083 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4075>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4075>

0 引言

食管癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一,近年来有发病率增加和日趋年轻化倾向. 因患者有临床表现而就医时,均已处于中晚期,大部分失去了手术的机会,而此时化疗成为食管癌重要治疗手段之一. 但目前所用的化疗药物大多不良反应大,且容易产生抗药性. 因此,寻找高效低毒的化疗药物或联合用药减轻不良反应成为抗癌研究的热点问题之一. 二甲双胍是在上世纪50年代被引入用来治疗2型糖尿病的双胍类口服降糖药^[1]. 2005年,Evans等^[2]发表了一项对983例2型糖尿病患者和1846例对照人群使用二甲双胍情况的回顾性临床对照研究,结果表明二甲双胍能显著降低糖尿病者的肿瘤风险(校正后的相对危险度RR = 0.79, 95%CI: 0.67-0.93). 这些研究引发随后关于二甲双胍抗肿瘤效应的研究日趋增多. 本实验的目的是研究二甲双胍对人高分化食管鳞状癌细胞系Eca109细胞的增殖、凋亡及对细胞周期的影响,及其与化疗药物5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)联合使用时是否有协同作用,并初步探讨可能机制,为进一步的临床用药提供一定的理论基础.

1 材料和方法

1.1 材料 人高分化食管鳞状癌细胞系Eca109购自中国科学院上海细胞库并由徐州医学院中心实验室保存; DMEM培养液购自GIBCO公司; 青霉素-链霉素溶液胰酶购自VICMED公司; 胎牛血清购自杭州四季青; 二甲双胍、5-FU均购自Sigma公司; 细胞周期试剂盒购自南京凯基; TRIzol试剂、逆转录试剂盒、PCR试剂盒购自TIANGEN科技有限公司; PCR引物由上海生工生物工程技术有限公司合成; 酶联免疫检测仪为Thermo公司产品; 流式细胞仪为BD公司产品; DP11显微照相系统购自日本Olympus公司; 凝胶成像系统为Bio-Rad公司产品.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人食管癌系Eca-109细胞常规培养于含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素、100 ng/mL链霉素的DMEM培养基中,培养条件为37 °C、5%CO₂的湿润无菌环境. 0.25%的胰蛋白酶消化,1-2 d换液,3-4 d传代1次.

1.2.2 细胞形态观察: Olympus倒置显微镜下观察培养瓶内细胞正常状态下的生长、形态及加入二甲双胍后不同时间的形态变化情况,并摄影记录.

表 1 PCR引物列表

基因	上下游序列(5'-3')	产物长度(bp)	退火温度(°C)
<i>cyclinD1</i>	上游: CTCGCCAGTCCATTTGAT	314	64
	下游: GGGCTCCCCTTAGACACT		
<i>p27</i>	上游: TCTACACCGACAACCTCCATCC	202	60
	下游: TGTGAGGCGGTAGTAGGACAG		

1.2.3 MTT法细胞抑制率测定: 取对数生长期的Eca109细胞, 以 1×10^3 /mL的密度接种于96孔板, 每孔200 μ L, 待贴壁24 h后, 吸除培养基, 置换成含药培养基, 设8个组, 分别为对照组(含细胞不含药的培养基), 二甲双胍(Met)组(1、5、10、20、40 mmol/L), 5-FU组(25 mg/L), 联合组(Met 20 mmol/L+5-FU 25 mg/L), 每组6个复孔, 共3块板, 分别继续培养24、48、72 h. 实验重复3次, 上机检测前, 在各孔中加入5 mg/L MTT 20 μ L, 继续培养4 h后弃上清, 每孔加入DMSO 150 μ L, 震荡10 min待结晶溶解后, 在酶联免疫检测仪570 nm波长处测定各孔的吸光度(A)值, 以周边一圈不加细胞的全PBS孔作为调零孔. 按下列公式计算细胞增殖的抑制率: 抑制率(%) = $(1 - A_{\text{实验组/对照组}}) \times 100\%$, 实验重复3次, 结果以均数 \pm 标准差的形式表示, 在比较两药联合使用是否有协同作用时, 采用金正均法判断, 公式: $q = (Ea + b) / [(Ea + Eb) - Ea \times Eb]$. 公式中Ea为二甲双胍组的抑制率, Eb为5-FU组的抑制率, Ea + b为联合用药组的抑制率. 结果 q 值 >1.15 表示两药有协同作用, q 值 <0.85 表示两药有拮抗作用, q 值为0.85-1.15表示两药有单纯相加作用.

1.2.4 Hoechst33258荧光染色法观察凋亡细胞核的形态学变化: 将细胞接种于6孔板, 常规培养24 h贴壁后, 弃上清, 换成含药培养基, 分3组, 分别为对照组, 二甲双胍组(1、5 mmol/L)每组设3个复孔, 重复3板, 分别培养24 h后, 吸尽培养液, 加入0.5 mL 40 g/L的多聚甲醛液固定细胞10 min; 去固定液, 用0.01 mol/L的PBS洗3 min \times 2次, 洗涤时用手轻轻晃动, 吸尽液体; 加入1 mL Hoechst 33258染色液, 37 $^{\circ}$ C染色15 min; 去染色液, 用PBS洗2 min \times 2次, 以去除过多的染色背景; 荧光显微镜下观察, 激发波长为350 nm, 发射波长为460 nm, 细胞核呈致密浓染或呈碎块状致密浓染为凋亡阳性细胞; 拍照保存. 凋亡指数(apoptosis index, AI)(%) = 凋亡细胞数/总细胞数 \times 100%.

1.2.5 流式细胞仪测细胞周期: 取对数生长期细胞, 接种于六孔板中, 每组设3个复孔, 收集对照

组及不同浓度二甲双胍组(5、10、20 mmol/L)处理48 h后的细胞, PBS洗涤细胞2次, 用70%预冷乙醇固定至少过夜, 染色前加入PBS洗涤固定液, 用400目的细胞筛过滤细胞至流式管中, 加入100 μ L RNase A, 37 $^{\circ}$ C水浴30 min; 再加入400 μ L PI染色混匀, 4 $^{\circ}$ C避光30 min. 上机检测, 记录激发波长488 nm处红色荧光, 结果用Flowjo软件分析.

1.2.6 RT-PCR法检测相关基因表达: 不同浓度二甲双胍(5、10、20 mmol/L)作用48 h, 同时以不加任何药物的细胞作为对照组, TRIzol法提取细胞总RNA, 逆转录成cDNA, 以GAPDH作为内参, 行RT-PCR反应. PCR引物(表1), 反应体系: 94 $^{\circ}$ C 3 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, (退火温度)60 s, 72 $^{\circ}$ C 60 s; 72 $^{\circ}$ C 10 min共35个循环, 实验重复3次. 以imageJ计算灰度值, 对各条带灰度值与内参条带灰度值的比值进行分析.

统计学处理 实验数据用mean \pm SD表示, 应用SPSS13.0统计软件, 多组比较进行单因素方差分析, 两两比较进行 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 细胞形态学观察 对照组细胞: 生长旺盛, 贴壁生长, 形态饱满, 境界清晰, 核膜、核仁轮廓明显, 细胞间结构紧密. 二甲双胍处理后细胞呈现凋亡的形态学变化: 可见大部分细胞变圆, 体积缩小, 形态不规则, 结构变松散, 部分细胞表面发芽, 部分脱落漂浮, 少数细胞体积增大、破裂, 呈坏死状, 细胞周围碎片增多, 且随着药物浓度的增加及作用时间的延长, 这种变化更加明显.

2.2 二甲双胍能抑制食管癌Eca109细胞增殖 MTT结果显示, 不同浓度二甲双胍作用于食管癌Eca109细胞后, 除1 mmol/L作用24、48 h后, 其抑制率与对照组相比, 差异无统计学意义, 余组抑制率与对照组相比, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 其中24 h组的20和40 mmol/L浓度组,

■ 相关报道

*cyclinD1*是细胞周期的调控基因, 若此基因失控, 可致细胞发生异常增生, 过表达与肿瘤发生有关. 另外, *p27*基因是近年来发现的一个调控细胞周期并抑制细胞分裂的重要抑癌基因, 其表达下降可降低他对正性细胞周期调控蛋白的抑制效应, 导致细胞增殖过度乃至肿瘤形成.

■ 创新盘点

本研究以“老药新用”为切入点,将广泛使用的口服降糖药二甲双胍应用于食管鳞状细胞癌细胞,采用多数成熟的技术观察其抗肿瘤效应,并探讨其与常用化疗药5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)的联合用药效果,有望为食管癌的新辅助化疗提供新的思路。

表 2 二甲双胍与5-氟尿嘧啶联合使用的抑制率与各药单用时的抑制率的比较(mean ± SD, %)

分组	24 h	48 h	72 h
M(20)	23.08 ± 1.18	51.09 ± 1.21	64.71 ± 1.27
F(25)	12.17 ± 2.34	31.34 ± 1.02	57.94 ± 2.03
M(20)+F(25)	36.12 ± 4.14 ^{ac}	67.32 ± 2.01 ^{ac}	82.10 ± 3.21 ^{ac}

M(20): metformin 20 mmol/L; F(25): 5-氟尿嘧啶 25 mg/L. ^a $P < 0.05$ vs M(20); ^c $P < 0.01$ vs F(25).

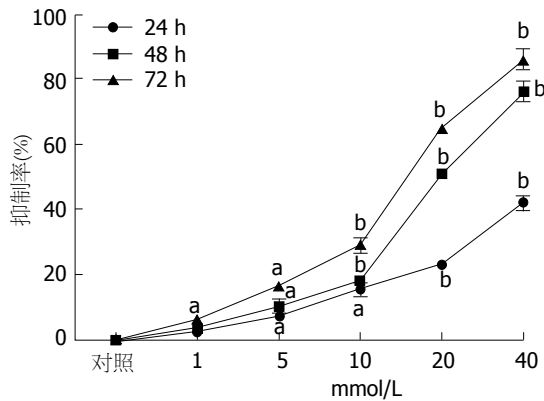


图 1 不同浓度二甲双胍对食管癌细胞Eca109的抑制情况。^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

48和72 h组的10、20和40 mmol/L浓度组和对照组相比,差异显著($P < 0.01$),相关分析结果显示,食管癌Eca109细胞生长抑制率与二甲双胍浓度呈正相关($r = 0.968, P < 0.05$),说明二甲双胍能有效抑制人食管癌Eca109细胞的增殖,且呈剂量依赖性。二甲双胍浓度相同时,食管癌Eca109细胞生长抑制率随着作用时间的延长而逐渐上升,72 h组达最高峰,与24、48 h组相比,均有显著差异,相关分析结果显示,其细胞生长抑制率与时间呈正相关($r = 0.914, P < 0.05$)(图1)。

2.3 二甲双胍和5-FU联合使用 二甲双胍组和5-FU组(表2),与对照组相比,均明显抑制细胞生长且差异有统计学意义(联合用药组24 h: $t = 6.943, P < 0.05$; 48 h: $t = 7.764, P < 0.05$; 72 h: $t = 14.554, P < 0.05$ vs 单用二甲双胍组; 联合用药组24 h: $t = 16.02, P < 0.01$; 48 h: $t = 13.21, P < 0.01$; 72 h: $t = 24.21, P < 0.01$ vs 单用5-FU组),但根据金正均法判断,三组的 q 值为0.85-1.15,表示两药有单纯相加作用,并无协同作用。

2.4 Hoechst33258荧光染色法观察凋亡细胞核的形态学变化 在荧光显微镜下,阴性对照组细胞数较多,凋亡细胞少,细胞核呈弥散、均匀蓝色荧光;二甲双胍处理组1、5 mmol/L可见细胞总数减少,凋亡细胞形态变小,细胞核或细胞质内可见浓染致密的碎块状蓝色荧光,有明显的

核固缩和染色质边集等变化,随着药物浓度的增加,细胞总数逐渐减少,凋亡阳性细胞数逐渐增多,AI逐渐升高,差异有显著统计学意义($F = 57.34, 1 \text{ mmol/L组} P < 0.05$ vs 对照, $5 \text{ mmol/L组} P < 0.01$ vs 对照组)(图2)。

2.5 二甲双胍对细胞周期分布的影响 不同浓度的二甲双胍干预Eca109细胞48 h后,行流式细胞术检测发现,5 mmol/L组 G_0/G_1 期所占比重显著高于对照组($P < 0.01$),S期所占比重显著低于对照组($P < 0.01$), G_2/M 期所占比重低于对照组($P < 0.05$);10 mmol/L组和20 mmol/L组 G_0/G_1 期所占比重显著高于对照组($P < 0.01$),S期及 G_2/M 期所占比重显著低于对照组($P < 0.01$)(图3)。

2.6 二甲双胍影响cyclinD1、p27基因转录 半定量PCR结果显示(图4),不同浓度二甲双胍作用48 h后,与对照组相比,p27 mRNA的表达升高,cyclinD1 mRNA的表达降低,5 mmol/L的二甲双胍作用后cyclinD1 mRNA与内参mRNA的灰度值的比值与对照组相比,其差异有统计学意义($P < 0.05$),余各浓度组的目的基因与内参mRNA的灰度值比值与对照组相比,其差异均有显著的统计学意义($P < 0.01$)。

3 讨论

本研究中我们发现,从大体来看,二甲双胍处理后细胞呈现凋亡的形态学变化且随着药物浓度的增加及作用时间的延长,这种变化更加明显,特别是从Hoechst33258荧光染色法观察凋亡细胞核的形态学变化中更加显著;通过MTT结果一方面发现二甲双胍能抑制食管癌Eca109细胞增殖;另一方面二甲双胍和5-FU联合使用并无协同作用;从二甲双胍对细胞周期分布的影响结果来看,二甲双胍有促使细胞周期停滞的趋势,从其基因转录水平来看,可能与cyclinD1及p27 mRNA的表达降低和升高有一定的关系。

二甲双胍,属于口服的双胍类降糖药的一种,不良反应主要是乳酸酸中毒,但是发生率极低,另外一些不良反应主要包括胃肠道反应,如

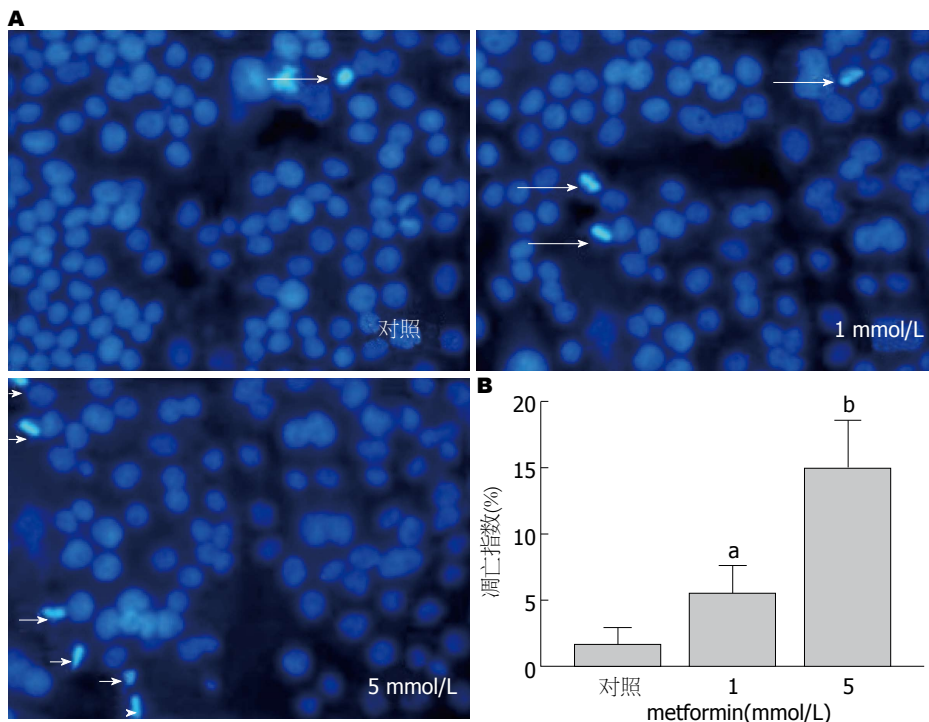


图 2 Hoechst33258荧光染色法. A: 不同浓度二甲双胍作用24 h对凋亡细胞核的形态学变化($\times 200$); B: 不同浓度二甲双胍对食管癌细胞的凋亡指数AI(%)的影响. ^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

■应用要点

本研究发现食管癌细胞经二甲双胍作用后, 细胞的增殖受到了明显的抑制, 凋亡增加, 细胞周期停滞, 在与食管癌化疗常用的5-FU联合作用后, 并无明显的协同作用, 但有相加作用, 说明二甲双胍和5-FU合用时, 可以一定程度上减少5-FU的用量, 从而减少化疗药物的不良反应.

腹泻、腹胀、恶心呕吐, 而这些不良反应可以通过缓慢增加剂量直至治疗量来避免^[3]. 因此该药能被绝大多数糖尿病患者所接受. 二甲双胍作为肝激酶B1-AMP激酶(LKB1-AMPK)激活剂, 能抑制多种肿瘤增殖并促进其凋亡, 其抗肿瘤作用已经得到了许多实验室资料的验证, 当然也包括许多大型的可靠的回顾性研究及病例对照研究^[4-6].

Jiralerspong等^[7]发现二甲双胍能提高糖尿病患者乳腺癌对新辅助化疗的反应性, 但关于其是否可提高消化系肿瘤对化疗药物反应的研究尚较少. 本实验中, 二甲双胍与食管癌化疗常用的5-FU联合作用后, 并无明显的协同作用, 但有相加作用, 说明二甲双胍和5-FU合用时, 可以一定程度上减少5-FU的用量, 从而减少化疗药物的不良反应. Matsuzaki等^[8]的研究发现mTOR抑制剂与5-FU对胃硬癌细胞的治疗具有协同作用, 但对非硬癌细胞, 如MKN45细胞无此协同作用. 另外, 薛知新等^[9]的研究发现二甲双胍与5-FU联合使用对于AGS胃癌细胞的生长增殖具有协同抑制作用. Eca109细胞从建系资料来看, 属于高分化人食管癌鳞状细胞癌, 二甲双胍和5-FU联合作用于人食管癌Eca109细胞无协同效应, 可能与食管癌的种类及分化程度有关.

细胞周期与肿瘤的关系一直都是各大实验

室的研究热点. 细胞周期分为: 合成DNA的时期称为DNA合成期(S期), 进行DNA拷贝分配和细胞分裂的时期称为有丝分裂期(M期), 在M期结束后和S期开始前的一段间隙称为G₁期, 而在S期结束后和M期开始前的间隙则称为G₂期, 合成前期又称G₀期. 其中G₁/S和G₂/M期的转换是两个重要的合成转换点. 在细胞周期的一系列调节因子中, 只有G₁期的调节因子被发现在肿瘤的发生中出现改变或突变, 从而导致细胞增殖的不可控性^[10]. CyclinD1是细胞周期循环控制中起重要作用的蛋白, 特别是细胞从G₁至S期, 为细胞周期依赖性蛋白激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)所调控. *cyclinD1*是细胞周期的调控基因, 若此基因失控, 可致细胞发生异常增生, 过表达是导致癌变的一个主要的原因, 过表达与肿瘤发生有关. Bahnassy等^[11]发现周期蛋白D1过表达与肿瘤组织学类型、分化程度、淋巴转移状况密切相关, 周期蛋白D1过表达预后较差. 另外, *p27*基因是近年来发现的一个调控细胞周期并抑制细胞分裂的重要抑癌基因, 其编码的P27蛋白为周期素依赖性蛋白激酶抑制因子, 对细胞周期具有负调控作用. 他是调节细胞进入S期所必需的细胞周期激酶, 可阻止包括Rb(控制细胞周期的一个抑癌基因)在内的启动S期所必需的关键靶分子磷酸化, 抑制G₁相关CYC-CDK

同行评价
 本文设计思路清楚，方法比较合理，具有一定指导意义。

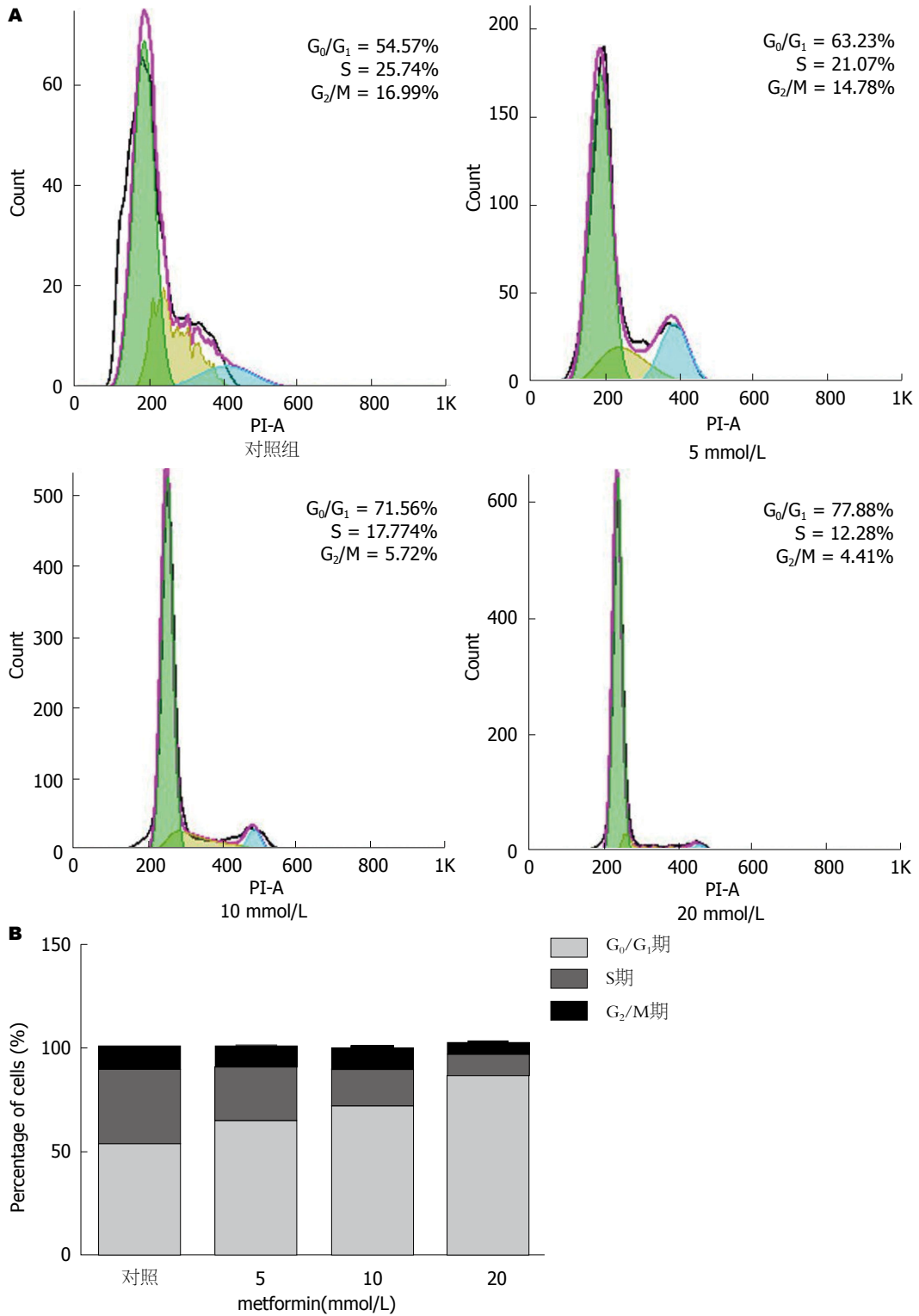


图 3 流式细胞仪检测细胞周期. A: 细胞周期检测结果; B: 二甲双胍作用后细胞各周期比例的变化情况.

复合物及CYCB-CDC2复合物, 其过表达可诱导细胞发生 G_1/S 期阻滞^[12,13]. P27在调控细胞周期进展中具有十分重要的作用, 其表达可降低他对正性细胞周期调控蛋白的抑制效应, 导致细胞增殖过度乃至肿瘤形成^[14]. Penin等^[15]用腺病毒将P27蛋白基因转染到星形细胞瘤细胞

系, 高表达者CDK活性明显受到抑制, 细胞阻滞于 G_1 期, 另外还观察到非整倍体细胞比例明显下降, 提示P27蛋白具有抑制肿瘤发生发展的作用. CyclinD1/CDK复合物的功能之一是连接或隔离P27, 从而防止P27阻断CyclinD1/CDK复合物的形成, 使 G_0/G_1 期可以顺利进入S期. 本研究

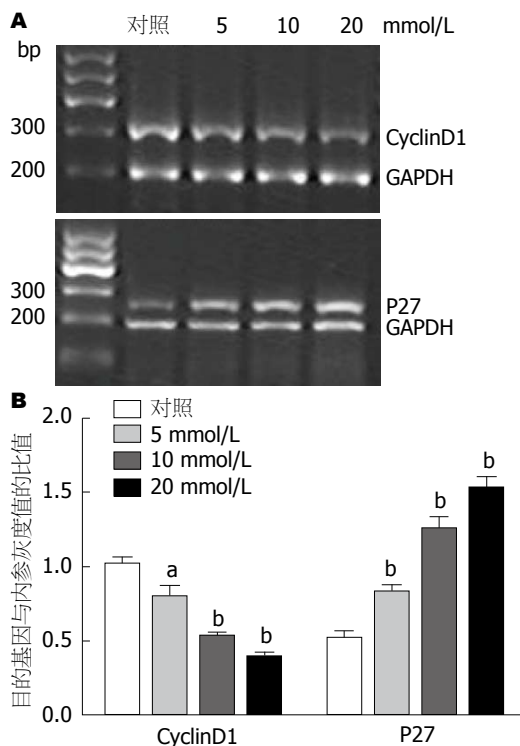


图 4 RT-PCR检测相关基因表达情况. A: RT-PCR检测结果; B: *cyclinD1*、*p27*基因表达情况. ^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

中发现, 二甲双胍干预食管癌细胞后, 从流式细胞仪的检测结果来看, 细胞的 G_0/G_1 期细胞比例显著升高($P < 0.05$), 而S期及 G_2/M 期细胞所占比例则相应下降, 从而阻滞细胞周期进程的发展, 抑制肿瘤细胞的增殖. 这与Zhuang及Ben Sahra等^[16,17]对二甲双胍抗肿瘤的作用机制的研究相一致. 从RT-PCR结果来看, *cyclinD1*的mRNA的表达量下降, 而*p27* mRNA的表达量升高, 这可能与二甲双胍抗肿瘤作用的机制有关, 这与Kobayashi、Zhao及Luo等^[18-20]的研究相一致.

近年来, 围绕二甲双胍的抗肿瘤作用, 已经开展很多研究, 并取得一定的成果, 除了上述的调控细胞周期诱导细胞凋亡外, 他抑制肿瘤细胞的代谢并且抑制肿瘤细胞内线粒体复合物 I (mitochondrial complex I) 的活性^[21,22]. 有争议的是二甲双胍的抗肿瘤效应到底是否与其调节血糖及血胰岛素水平的一系列反应有关呢? 众所周知, 胰岛素样生长因子(insulin-like growth factors, IGFs)是一类多功能细胞增殖调控因子, 在细胞的分化、增殖、个体的生长发育中具有重要的促进作用, 是推进肿瘤发生发展的重要因素^[23-25]. 肿瘤细胞可表达有丝裂原作用的胰岛素受体和IGF受体, 胰岛素可降低IGF结合蛋白水平, 并升高IGF-1水平, 也可能结合或活化肿瘤细

胞的IGF-1受体. 因此推测, 胰岛素及胰岛素类似物可能有促肿瘤发生的作用. 二甲双胍作为胰岛素增敏剂, 在降低血糖的同时可改善胰岛素敏感性, 从而减少胰岛素用量, 缓解高胰岛素血症. 但在临床研究中, 即使在校正了胰岛素剂量之后二甲双胍的保护作用仍显著, 表明二甲双胍的抗肿瘤作用不能完全用胰岛素节约效应来解释. 一些临床前研究发现, 在不同的老鼠模型中, 肿瘤生长的减缓和血胰岛素水平的降低是密切相关的^[26,27], 在这些研究中, 二甲双胍抗肿瘤的机制被归纳为降低循环中胰岛素及IGF-1的水平. Memmott等^[28]最近的一项研究提出一个全新且有趣的观点, 认为二甲双胍抗肿瘤的机制是通过诱导4-(N-甲基-N-亚硝胺)-1-(3-吡啶基)-丁酮[4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone], 即NNK[其是烟草特有亚硝胺(tobacco-specific nitrosamines, TSNA)中具有强致癌性物质之一]而完成的, 最终能够导致DNA损伤. 研究发现二甲双胍通过二乙基亚硝胺诱导肝脂肪生成的减少, 进而显著减少肝癌的发生发展^[29]. 一些研究也提示二甲双胍拥有抗氧化特性^[30], 并且有体内外实验可以证明二甲双胍可以避免晚期糖基化终末产物AGEs的形成^[31].

目前的一些临床研究正在探索二甲双胍与传统化疗以及靶向治疗的联合治疗效应. 许多研究支持二甲双胍在恶性肿瘤的化学治疗中起到了一个重要的作用, 但是, 截然不同的设计, 回顾性的分析以及各种混杂因素影响我们得出一个明确的结论. 当前更需要的是一些关于二甲双胍剂量梯度结合联合疗法与胰岛素和其他降低血糖药物的前瞻性试验. 二甲双胍的抗肿瘤作用是其中一个值得深入研究的新方向. 存在的主要问题是, 二甲双胍作为口服降糖药, 其在人体最高用量的血药浓度为10 mmol/L, 远远低于我们的实验浓度, 虽然在体外实验中我们需要排除培养基中的葡萄糖的含量及胎牛血清的影响, 但人体对于高浓度的二甲双胍是否具有好的耐受性还需要大量的研究证实.

总之, 我们的研究表明二甲双胍能抑制食管癌细胞系Eca109细胞的增殖, 促进肿瘤细胞凋亡, 并使细胞周期阻滞于 G_0/G_1 期, 这些可能与下调细胞周期素相关蛋白D1及上调调控细胞周期并抑制细胞分裂的重要抑癌基因*p27*有关.

致谢: 感谢徐州医学院中心实验室的刘福明及刘小云老师在本试验中给予的大力帮助.

4 参考文献

- 1 Witters LA. The blooming of the French lilac. *J Clin Invest* 2001; 108: 1105-1107 [PMID: 11602616 DOI: 10.1172/JCI14178]
- 2 Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM, Alessi DR, Morris AD. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ* 2005; 330: 1304-1305 [PMID: 15849206 DOI: 10.1136/bmj.38415.708634.F7]
- 3 Laforest C, Saint-Marcoux F, Amiel JB, Pichon N, Merle L. Monitoring of metformin-induced lactic acidosis in a diabetic patient with acute kidney failure and effect of hemodialysis. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2013; 51: 147-151 [PMID: 23149294 DOI: 10.5414/CP201728]
- 4 Hadad S, Iwamoto T, Jordan L, Purdie C, Bray S, Baker L, Jellema G, Deharo S, Hardie DG, Pusztai L, Moulder-Thompson S, Dewar JA, Thompson AM. Evidence for biological effects of metformin in operable breast cancer: a pre-operative, window-of-opportunity, randomized trial. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 128: 783-794 [PMID: 21655990 DOI: 10.1007/s10549-011-1612-1]
- 5 Hosono K, Endo H, Takahashi H, Sugiyama M, Sakai E, Uchiyama T, Suzuki K, Iida H, Sakamoto Y, Yoneda K, Koide T, Tokoro C, Abe Y, Inamori M, Nakagama H, Nakajima A. Metformin suppresses colorectal aberrant crypt foci in a short-term clinical trial. *Cancer Prev Res (Phila)* 2010; 3: 1077-1083 [PMID: 20810669 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0186]
- 6 Hosono K, Endo H, Takahashi H, Sugiyama M, Uchiyama T, Suzuki K, Nozaki Y, Yoneda K, Fujita K, Yoneda M, Inamori M, Tomatsu A, Chihara T, Shimpo K, Nakagama H, Nakajima A. Metformin suppresses azoxymethane-induced colorectal aberrant crypt foci by activating AMP-activated protein kinase. *Mol Carcinog* 2010; 49: 662-671 [PMID: 20564343 DOI: 10.1002/mc.20637]
- 7 Jiralerspong S, Gonzalez-Angulo AM, Hung MC. Expanding the arsenal: metformin for the treatment of triple-negative breast cancer? *Cell Cycle* 2009; 8: 2681 [PMID: 19717981]
- 8 Matsuzaki T, Yashiro M, Kaizaki R, Yasuda K, Doi Y, Sawada T, Ohira M, Hirakawa K. Synergistic anti-proliferative effect of mTOR inhibitors in combination with 5-fluorouracil in scirrhous gastric cancer. *Cancer Sci* 2009; 100: 2402-2410 [PMID: 19764996 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01315.x]
- 9 薛知新, 钟捷, 赵丹瑜, 许慈, 孙萍胡, 姚静静. 二甲双胍对AGS胃癌细胞生长侵袭的抑制作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1974-1978
- 10 Camidge DR. Cell cycle-associated kinases as targets for therapy in lung cancer. *J Thorac Oncol* 2010; 5: S461-S462 [PMID: 21102239 DOI: 10.1097/01.JTO.0000391366.63882.30]
- 11 Bahnassy AA, Zekri AR, Alam El-Din HM, Aboubakr AA, Kamel K, El-Sabah MT, Mokhtar NM. The role of cyclins and cyclins inhibitors in the multistep process of HPV-associated cervical carcinoma. *J Egypt Natl Canc Inst* 2006; 18: 292-302 [PMID: 18301453]
- 12 Yadav V, Sultana S, Yadav J, Saini N. Gatifloxacin induces S and G2-phase cell cycle arrest in pancreatic cancer cells via p21/p27/p53. *PLoS One* 2012; 7: e47796 [PMID: 23133524 DOI: 10.1371/journal.pone.0047796]
- 13 Yoon MK, Mitrea DM, Ou L, Kriwacki RW. Cell cycle regulation by the intrinsically disordered proteins p21 and p27. *Biochem Soc Trans* 2012; 40: 981-988 [PMID: 22988851 DOI: 10.1042/BST20120092]
- 14 Belletti B, Baldassarre G. New light on p27(kip1) in breast cancer. *Cell Cycle* 2012; 11: 3701-3702 [PMID: 22895010 DOI: 10.4161/cc.21573]
- 15 Penin RM, Fernandez-Figueras MT, Puig L, Rex J, Ferrandiz C, Ariza A. Over-expression of p45(SKP2) in Kaposi's sarcoma correlates with higher tumor stage and extracutaneous involvement but is not directly related to p27(KIP1) down-regulation. *Mod Pathol* 2002; 15: 1227-1235 [PMID: 12429803 DOI: 10.1097/01.MP.0000036589.99516.D6]
- 16 Zhuang Y, Miskimins WK. Cell cycle arrest in Metformin treated breast cancer cells involves activation of AMPK, downregulation of cyclinD1, and requires p27Kip1 or p21Cip1. *J Mol Signal* 2008; 3: 18 [PMID: 19046439 DOI: 10.1186/1750-2187-3-18]
- 17 Ben Sahra I, Laurent K, Loubat A, Giorgetti-Peraldi S, Colosetti P, Auberger P, Tanti JF, Le Marchand-Brustel Y, Bost F. The antidiabetic drug metformin exerts an antitumoral effect in vitro and in vivo through a decrease of cyclinD1 level. *Oncogene* 2008; 27: 3576-3586 [PMID: 18212742 DOI: 10.1038/sj.onc.1211024]
- 18 Kobayashi M, Kato K, Iwama H, Fujihara S, Nishiyama N, Mimura S, Toyota Y, Nomura T, Nomura K, Tani J, Miyoshi H, Kobara H, Mori H, Muraio K, Masaki T. Antitumor effect of metformin in esophageal cancer: in vitro study. *Int J Oncol* 2013; 42: 517-524 [PMID: 23229592 DOI: 10.3892/ijo.2012.1722]
- 19 Zhao L, Wen ZH, Jia CH, Li M, Luo SQ, Bai XC. Metformin induces G1 cell cycle arrest and inhibits cell proliferation in nasopharyngeal carcinoma cells. *Anat Rec (Hoboken)* 2011; 294: 1337-1343 [PMID: 21717584 DOI: 10.1002/ar.21283]
- 20 Luo Q, Hu D, Hu S, Yan M, Sun Z, Chen F. In vitro and in vivo anti-tumor effect of metformin as a novel therapeutic agent in human oral squamous cell carcinoma. *BMC Cancer* 2012; 12: 517 [PMID: 23151022 DOI: 10.1186/1471-2407-12-517]
- 21 Ben Sahra I, Laurent K, Giuliano S, Larbret F, Ponzio G, Gounon P, Le Marchand-Brustel Y, Giorgetti-Peraldi S, Cormont M, Bertolotto C, Deckert M, Auberger P, Tanti JF, Bost F. Targeting cancer cell metabolism: the combination of metformin and 2-deoxyglucose induces p53-dependent apoptosis in prostate cancer cells. *Cancer Res* 2010; 70: 2465-2475 [PMID: 20215500 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2782]
- 22 Svergun DI, Petoukhov MV, Koch MH, König S. Crystal versus solution structures of thiamine diphosphate-dependent enzymes. *J Biol Chem* 2000; 275: 297-302 [PMID: 10617618]
- 23 Pollak M. Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 915-928 [PMID: 19029956 DOI: 10.1038/nrc2536]
- 24 Gallagher EJ, LeRoith D. Minireview: IGF, Insulin, and Cancer. *Endocrinology* 2011; 152: 2546-2551 [PMID: 21540285 DOI: 10.1210/en.2011-0231]
- 25 Capoluongo E. Insulin-like growth factor system and sporadic malignant melanoma. *Am J Pathol* 2011; 178: 26-31 [PMID: 21224039 DOI: 10.1016/j.ajpath.2010.11.004]
- 26 Algire C, Amrein L, Bazile M, David S, Zakikhani M, Pollak M. Diet and tumor LKB1 expression interact to determine sensitivity to anti-neoplastic effects

- of metformin in vivo. *Oncogene* 2011; 30: 1174-1182 [PMID: 21102522 DOI: 10.1038/onc.2010.483]
- 27 Algire C, Zakikhani M, Blouin MJ, Shuai JH, Pollak M. Metformin attenuates the stimulatory effect of a high-energy diet on in vivo LLC1 carcinoma growth. *Endocr Relat Cancer* 2008; 15: 833-839 [PMID: 18469156 DOI: 10.1677/ERC-08-0038]
- 28 Memmott RM, Mercado JR, Maier CR, Kawabata S, Fox SD, Dennis PA. Metformin prevents tobacco carcinogen--induced lung tumorigenesis. *Cancer Prev Res (Phila)* 2010; 3: 1066-1076 [PMID: 20810672 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0055]
- 29 Bhalla K, Hwang BJ, Dewi RE, Twaddel W, Goloubeva OG, Wong KK, Saxena NK, Biswal S, Girnun GD. Metformin prevents liver tumorigenesis by inhibiting pathways driving hepatic lipogenesis. *Cancer Prev Res (Phila)* 2012; 5: 544-552 [PMID: 22467080 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-11-0228.]
- 30 Onaran I, Guven GS, Ozdaş SB, Kanigur G, Vehid S. Metformin does not prevent DNA damage in lymphocytes despite its antioxidant properties against cumene hydroperoxide-induced oxidative stress. *Mutat Res* 2006; 611: 1-8 [PMID: 17000131]
- 31 Gómez-Abellán P, Madrid JA, Ordovás JM, Garaulet M. [Chronobiological aspects of obesity and metabolic syndrome]. *Endocrinol Nutr* 2012; 59: 50-61 [PMID: 22100640 DOI: 10.1016/j.endonu.2011.08.002]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

幽门螺杆菌在某部军人中的感染情况及其危险因素

江汉龙, 陈芳旺, 夏学林, 田俊, 韩秋凤, 钟青, 陈正娇, 蒋际城, 刘小健

■背景资料

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎和消化性溃疡的主要病因,与胃癌的关系密切。鉴于基层部队军人上消化道疾病发病率较高,希望通过对基层部队军人*H. pylori*感染情况及其危险因素的调查分析,制订预防措施,减少*H. pylori*感染及上消化道疾病的发生。

江汉龙, 陈芳旺, 夏学林, 蒋际城, 中国人民解放军南京军区福州总医院476临床部 福建省福州市 350002

田俊, 韩秋凤, 福建医科大学公共卫生学院流行病学及卫生统计学系 福建省福州市 350004

钟青, 陈正娇, 中国人民解放军94620部队卫生队 福建省福州市 350002

刘小健, 中国人民解放军94943部队卫生所 福建省福州市 350019

江汉龙, 副主任医师, 主要从事幽门螺杆菌的基础与临床研究。

南京军区医学科技创新课题基金资助项目, No. 11MA119

作者贡献分布: 此课题由江汉龙、夏学林、田俊及韩秋凤设计; 调查研究过程由陈芳旺、钟青、陈正娇、蒋际城及刘小健操作完成; 数据分析由田俊与韩秋凤完成; 本文写作由江汉龙完成。

通讯作者: 江汉龙, 副主任医师, 350002, 福建省福州市洪山桥, 中国人民解放军南京军区福州总医院476临床部。

jianghl476@sina.com

电话: 0591-88611383

收稿日期: 2013-10-10 修回日期: 2013-10-27

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-28

Prevalence of and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in Chinese military personnel

Han-Long Jiang, Fang-Wang Chen, Xue-Lin Xia, Jun Tian, Qiu-Feng Han, Qing Zhong, Zheng-Jiao Chen, Ji-Cheng Jiang, Xiao-Jian Liu

Han-Long Jiang, Fang-Wang Chen, Xue-Lin Xia, Ji-Cheng Jiang, 476 Clinical Department, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, Fuzhou 350002, Fujian Province, China

Jun Tian, Qiu-Feng Han, Department of Epidemiology and Health Statistics, Public Health School, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, Fujian Province, China

Qing Zhong, Zheng-Jiao Chen, the Chinese People's Liberation Army 94620 Medical Team, Fuzhou 350002, Fujian Province, China

Xiao-Jian Liu, the Chinese People's Liberation Army 94943 Army Health Clinic, Fuzhou 350019, Fujian Province, China

Supported by: the Nanjing Military Medical Scientific and Technological Innovation Project, No. 11MA119

Correspondence to: Han-Long Jiang, Associate Chief Physician, 476 Clinical Department Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, Hongshanqiao, Fuzhou 350002, Fujian Province, China. jianghl476@sina.com

Received: 2013-10-10 Revised: 2013-10-27

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the prevalence of and risk factors for *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection in Chinese military personnel.

METHODS: Using cluster sampling method, a questionnaire survey was conducted in 510 soldiers in the southern China. The questionnaire consisted of 67 items related to *H. pylori* infection. *H. pylori* infection was detected by measurement of serum *H. pylori* IgG antibody and by the ¹⁴C breath test. The risk factors for *H. pylori* infection were analyzed.

RESULTS: A total of 510 subjects completed the questionnaire and received *H. pylori* detection. The prevalence of *H. pylori* infection was 59.2%. *H. pylori* infection was positively associated with age, service duration, collective accommodation time, number of family members before joining the army, eating ginger and potato and their products, and negatively related with the use of detergent when washing dishes. Married soldiers and those having a collective life history before joining the army soldiers had significantly higher *H. pylori* infection rates.

CONCLUSION: The prevalence of *H. pylori* infection in Chinese soldiers was 59.2%. *H. pylori* infection is associated with age, service duration, collective accommodation time, marriage, number of family members and collective life history before joining the army, and eating habits in Chinese soldiers.

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

Key Words: *Helicobacter pylori*; Epidemiology; Risk factor; Questionnaire investigation; Military personnel

Jiang HL, Chen FW, Xia XL, Tian J, Han QF, Zhong Q, Chen ZJ, Jiang JC, Liu XJ. Prevalence of and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in Chinese military personnel. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4084-4091
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4084.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4084>

摘要

目的: 了解部队幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的感染情况,探讨*H. pylori*感染的危险因素。

■同行评议者

陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科

方法: 采用整群抽样调查方法, 对南方战区某地510例军人进行问卷调查, 内容包括67项可能与*H. pylori*感染有关的问题。*H. pylori*检测采用血清*H. pylori* IgG抗体和¹⁴C呼气试验检查, 如任何一项检测结果阳性则判*H. pylori*感染为阳性, 分析*H. pylori*感染的危险因素。

结果: 510例军人完成了问卷调查和*H. pylori*检测, *H. pylori*感染率为59.2%。*H. pylori*感染率与年龄、服役时间、住排房时间、入伍前家庭人口数、吃生姜和土豆及其制品正相关, 与洗碗筷时使用洗洁剂负相关; 已婚、入伍前有集体生活史的军人,*H. pylori*感染率亦显著增高。

结论: 军人*H. pylori*感染率为59.2%, *H. pylori*感染与年龄、服役时间、住排房时间、婚姻、入伍前集体生活史和家庭人口数以及个人饮食卫生习惯有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 幽门螺杆菌; 流行病学; 危险因素; 问卷调查; 军人

核心提示: 本文对510例基层部队军人幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染情况及其危险因素进行调查分析, 发现*H. pylori*感染率随年龄、服役时间、住排房时间的增加而增高, 已婚、入伍前家庭人口数多和有集体生活史以及喜吃生姜和土豆及其制品的军人*H. pylori*感染率明显增高, 洗碗筷时使用洗洁剂可明显降低*H. pylori*感染率。

江汉龙, 陈芳旺, 夏学林, 田俊, 韩秋凤, 钟青, 陈正娇, 蒋际城, 刘小健. 幽门螺杆菌在某部军人中的感染情况及其危险因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4084-4091 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4084.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4084>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎的主要病因, 在消化性溃疡的发生与复发中起重要作用, 与胃癌的发生也有关, 世界卫生组织将其列为 I 类致癌物^[1,2]。上消化道疾病在军人中发病率较高, 对官兵的健康、部队战斗力影响较大。本研究旨在了解*H. pylori*在基层部队军人中的感染情况及其危险因素, 为部队制订正确有效的上消化道疾病防治措施提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 2013-07/2013-08选取南方战区某地空

军雷达和高炮2种专业部队10个基层连队共510例军人参与调查, 均为男性, 年龄16-37岁(23.39岁±4.32岁)。

1.2 方法

1.2.1 调查: 调查方法为问卷调查, 被调查者填写一份统一设计的部队*H. pylori*感染研究问卷调查表。问卷调查内容包括个人基本情况、服役前家庭情况、服役情况、个人生活习惯、饮食习惯、既往及家族病史6个部分, 共67项可能与*H. pylori*感染、传播有关的问题。

1.2.2 *H. pylori*检测: 包括血清*H. pylori* IgG抗体和¹⁴C呼气试验两项。每位受调查者调查当天清晨空腹时采静脉血3 mL, 用有冰袋的储藏箱保存, 同日下午分离血清后, 采用福建省明溪海天蓝波生物技术有限公司生产的*H. pylori*抗体检测试剂盒(胶体金标记免疫斑点渗滤法)检测*H. pylori* IgG抗体, 其检测敏感性>95%, 特异性>85%。调查当天同时进行¹⁴C呼气试验检测*H. pylori*, 采用深圳市中核海德威生物科技有限公司生产HUBT-20A *H. pylori*测试仪检测, 所用¹⁴C呼气试验药盒由同一公司生产, 按操作说明书依次服药、吹气、检测及阳性结果评定。

1.2.3 *H. pylori*感染标准: 以血清*H. pylori* IgG抗体检测, ¹⁴C呼气试验中任何一项检测结果阳性判为*H. pylori*感染阳性, 两项均阴性作为感染阴性诊断标准。

统计学处理 研究数据收集后编码录入计算机, 整理分析统计软件采用SPSS18.0, *H. pylori*感染率以百分比表示, 各种危险因素的比较采用 χ^2 检验或 χ^2 线性趋势检验分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *H. pylori*感染率 510例军人¹⁴C呼气试验及血清*H. pylori* IgG抗体检测结果如表1。¹⁴C呼气试验240例阳性(47.1%), 血清*H. pylori* IgG抗体检测145例阳性(28.5%), 综合评估*H. pylori*感染302例(59.2%)。

2.2 *H. pylori*感染与个人基本情况 参与调查的军人均为男性, 个人基本情况包括年龄、受教育程度、婚姻、入伍前是否有集体生活史, 结果如表2。年龄与*H. pylori*感染有关($P<0.05$), 随着年龄增加*H. pylori*感染率亦逐渐升高(χ^2 线性趋势检验, $\chi^2 = 6.059$, $P = 0.014$), 20岁以下军人感染率为53.7%, 30岁以上军人*H. pylori*感染率为74.1%; 已婚军人*H. pylori*感染率(69.1%)比未婚

■ 研究前沿

*H. pylori*感染率全国各地差异很大, 在40%-90%之间, 平均59%。*H. pylori*感染与年龄、受教育程度、居住条件、经济条件、饮食因素、职业和家人有*H. pylori*感染等关系较密切, 与性别、婚姻、地理位置、吸烟、饲养动物的关系尚不确定。

■ 相关报道

H. pylori 感染率随年龄的增大而增加, 农村高于城市, 经济状况差、家庭人口数多、居住拥挤、文化程度低、卫生习惯差及家人有 *H. pylori* 感染的人群 *H. pylori* 感染率增高; 有些饮食如绿茶、酸奶、豆制品及生姜、大蒜可降低 *H. pylori* 感染率, 但也有相反的报道。

表 1 *H. pylori* 感染率

	阳性		阴性	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
¹⁴ C呼气试验	240	47.1	270	52.9
血清 <i>H. pylori</i> IgG 抗体	145	28.5	364	71.5
<i>H. pylori</i> 感染	302	59.2	208	40.8

H. pylori: 幽门螺杆菌。

表 2 *H. pylori* 感染与个人基本情况分析

因素	阳性		阴性		χ^2 值	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
年龄(岁)					6.059	0.014
<20	58	53.7	50	46.3		
20-24	126	57.0	95	43.0		
25-29	78	61.4	49	38.6		
>30	40	74.1	14	25.9		
受教育程度					2.784	0.099
初中及以下	34	51.5	32	48.5		
高中或中专	149	58.4	106	41.6		
大专、本科及以上	119	63.0	70	37.0		
婚姻					5.663	0.017
未婚	226	56.5	174	43.5		
已婚	76	69.1	34	30.9		
集体生活史					5.969	0.015
无	141	54.0	120	46.0		
有	161	64.7	88	35.3		

H. pylori: 幽门螺杆菌。

者(56.5%)明显增高($\chi^2 = 5.663, P = 0.017$); 入伍前有集体生活史的军人 *H. pylori* 感染率(64.7%)比无集体生活史者(54.0%)亦明显增高($\chi^2 = 5.969, P = 0.015$); *H. pylori* 感染率与文化程度无明显关系($P > 0.05$)。

2.3 *H. pylori* 感染与服役前家庭情况 入伍前家庭情况包括家庭人口数、家庭年人均收入、居住地区、家庭人均居住面积、有无饲养动物、饮用水源、家庭住房条件及卫生情况, 结果如表 3。*H. pylori* 感染与入伍前家庭人口数明显相关($P = 0.035$), 随着家庭人口数的增加, *H. pylori* 感染率亦逐渐升高(χ^2 线性趋势检验, $\chi^2 = 5.872, P = 0.015$); 家庭年人均收入、居住地区、人均住房面积、家庭有无饲养动物、饮用水源、住房条件及家庭卫生好坏与 *H. pylori* 感染无明显关系($P > 0.05$)。

2.4 *H. pylori* 感染与服役情况 服役时间3年及以

上军人的 *H. pylori* 感染率(63.2%)明显高于服役时间3年以内的军人(53.4%), 两者差异有统计学意义($P = 0.028$)。住排房时间3年及以上军人的 *H. pylori* 感染率(63.3%)亦明显高于没有超过3年的军人(54.1%), 两者差异有统计学意义($P = 0.036$)。集体用餐时间3年及以上官兵的 *H. pylori* 感染率(62.7%)高于没有超过3年的军人(54.3%), 但两者差异无统计学意义($P = 0.058$)(表4)。

2.5 *H. pylori* 感染与个人生活习惯 军人个人生活习惯调查结果如表5。是否分餐或使用公筷、共用牙杯、合用茶杯及饮茶、饮酒、吸烟对军人的 *H. pylori* 感染无明显影响($P > 0.05$); 洗碗筷时是否使用洗洁剂与军人的 *H. pylori* 感染率有关($P = 0.016$), 随着洗洁剂使用频率的减少, 军人的 *H. pylori* 感染率逐渐增加(χ^2 线性趋势检验, $\chi^2 = 7.565, P = 0.006$)。

2.6 *H. pylori* 感染与饮食习惯 军人的个人饮食习

表 3 *H. pylori*感染与个人基本情况分析

因素	阳性		阴性		χ^2 值	P值
	n	%	n	%		
家庭人口数(人)					6.728	0.035
≤ 3	76	50.7	74	49.3		
4	135	61.6	84	38.4		
≥ 5	91	64.5	50	35.5		
家庭年人均收入(元)					<0.001	0.994
<2000	59	60.2	39	39.8		
2000-3999	91	58.3	65	41.7		
4000-5999	72	59	50	41.0		
≥ 6000	89	59.7	54	40.3		
居住地区					1.074	0.585
城市	54	58.7	38	41.3		
城镇	68	63.6	39	36.4		
农村	180	57.9	131	42.1		
人均居住面积(m ²)					0.089	0.765
<20	82	60.3	54	39.7		
≥ 20	220	58.8	154	41.2		
饲养动物					0.032	0.857
无	207	59.5	141	40.5		
有	95	58.6	67	41.4		
饮用水源					2.914	0.233
地下水	105	63.3	61	36.7		
池塘、河水、沟渠	5	41.7	7	58.3		
自来水	192	57.8	140	42.2		
住房条件及家庭卫生					0.776	0.379
较好	158	61.2	100	38.8		
一般	137	57.1	103	42.9		
较差	7	58.3	5	41.7		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

表 4 *H. pylori*感染与个人基本情况分析

因素	阳性		阴性		χ^2 值	P值
	n	%	n	%		
服役时间(年)					4.843	0.028
<3	110	53.4	96	46.6		
≥ 3	192	63.2	112	36.8		
住排房时间(年)					4.419	0.036
<3	124	54.1	105	45.9		
≥ 3	178	63.3	103	36.7		
集体用餐时间(年)					3.593	0.058
<3	114	54.3	96	45.7		
≥ 3	188	62.7	112	37.3		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

惯调查结果如表6. 在饮食偏好上, 喜爱吃生姜和土豆及其制品的军人*H. pylori*感染率较不喜欢或吃的少的军人明显增高($P < 0.05$), 而是否喝

生水、吃醋、进食生蔬菜瓜果、生吃大蒜、进食辛辣食物、进食腌制熏制食物与*H. pylori*感染无明显关系($P > 0.05$).

■创新盘点

本文调查基层部队军人*H. pylori*感染情况及其危险因素. 调查发现*H. pylori*感染率随年龄、服役时间、住排房时间的增加而增高, 已婚、入伍前家庭人口数多和有集体生活史以及喜吃生姜和土豆及其制品的军人*H. pylori*感染率明显增高, 洗碗筷时使用洗洁剂可降低*H. pylori*感染率.

■应用要点

鉴于基层部队军人上消化道疾病发病率较高,且*H. pylori*感染与上消化道疾病的发生关系密切。通过对基层部队军人*H. pylori*感染情况及其危险因素的分析,有针对性的制订预防措施,降低*H. pylori*感染率,从而减少上消化道疾病的发生。

表 5 *H. pylori*感染与个人生活习惯分析

因素	阳性		阴性		χ^2 值	P值
	n	%	n	%		
分餐或使用公筷					2.783	0.095
经常	196	57.6	144	42.4		
有时	77	59.7	52	40.3		
从不	29	70.7	12	29.3		
共用茶杯					0.006	0.940
不是	275	59.3	189	40.7		
是	27	58.7	19	41.3		
合用茶杯					4.676	0.197
总是	75	62.0	46	38.0		
多半是	91	62.3	55	37.3		
多半不是	33	47.8	36	52.2		
从来不	103	59.2	71	40.8		
洗碗筷时使用洗洁剂					8.316	0.016
总是	159	53.9	136	46.1		
多半是	108	65.9	56	34.1		
多半不是或从不	35	68.6	16	31.4		
饮茶					5.691	0.058
无	172	55.3	139	44.7		
有	94	67.1	46	32.9		
饮酒					0.047	0.829
无	221	58.9	154	41.1		
有	81	60.0	54	40.0		
吸烟					2.783	0.095
无	110	64.3	61	35.7		
有	192	56.6	147	43.4		

H. pylori: 幽门螺杆菌。

2.7 *H. pylori*感染与既往及家族史 官兵的既往上消化道症状和家族上消化道疾病史调查结果如表7。大部分官兵(504/510)均无家族上消化道疾病史;有上消化道症状的官兵*H. pylori*感染率为59.8%,无上消化道症状者*H. pylori*感染率为57.7%,差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

*H. pylori*在全球自然人群的感染率各地差异很大^[3-9],发展中国家高于发达国家,经济越落后、文化水平越低,*H. pylori*感染率越高。我国*H. pylori*感染率为40%-90%,平均为59%^[10]。本调查结果显示510例军人¹⁴C呼气试验阳性240例(47.1%),血清*H. pylori* IgG抗体阳性145例(28.5%),*H. pylori*感染率为59.2%,与国内同类调查结果相近似^[11-13]。

许多研究表明,*H. pylori*感染率随年龄增长而增高^[3,5,14-22]。也有报道,在入伍后的前3年*H. pylori*感染率随着服役时间的增加而增高^[13,23]。

一般认为,随着年龄增长人们感染*H. pylori*的机会增多,人类感染*H. pylori*后,若不进行有效的治疗,几乎终身处于持续感染中,因此*H. pylori*感染率亦随年龄增长而增高。本组资料显示,军人随着年龄增加*H. pylori*感染率逐渐升高,20岁以下感染率为53.7%,30岁以上感染率为74.1%。本研究亦发现服役时间及住排房时间越长*H. pylori*感染率越高,集体用餐时间较长的军人*H. pylori*感染率亦有所增高,其原因可能是军人作为一特殊群体,有集体生活、居住密度相对较大、流动性强、饮食生活不规律、军事应激等特点;随着年龄、服役及住排房时间增加,相互间的接触增多,可能增加*H. pylori*传播的机会。

国内有报道,夫妻一方*H. pylori*感染阳性,其配偶*H. pylori*感染率为78.94%;而一方*H. pylori*感染阴性,其配偶*H. pylori*感染率为20%,提示*H. pylori*感染存在家族聚集性^[24,25]。有报道大城市居民*H. pylori*感染率低于小城镇或农村居民^[16,26-28],家庭人口数少于4人的家庭*H. pylori*感染率明显

表 6 *H. pylori*感染与饮食习惯分析

因素	阳性		阴性		χ^2 值	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
生姜					18.921	0.003
喜食	37	66.1	19	33.9		
一般	166	64.6	91	35.4		
不喜食	99	50.3	98	49.7		
土豆及其制品					9.535	0.003
<1次/wk	57	54.3	48	45.7		
1次/wk-1次/d	171	56.4	132	43.6		
>2次/d	74	72.5	28	27.5		
生吃大蒜					2.031	0.154
从来不吃	146	57.9	106	42.1		
两次以下	142	60.2	94	39.8		
每天吃	14	63.6	8	36.4		
喝生水					1.511	0.680
总是	6	50.0	6	50.0		
多半是	29	56.9	22	43.1		
多半不是	125	57.6	92	42.4		
从来不	142	60.0	87	40.0		
生吃蔬果					2.755	0.252
<1次/wk	126	55.8	100	44.2		
1次/wk-1次/d	123	63.7	70	36.3		
>2次/d	53	58.9	37	41.1		
醋					0.545	0.909
总是	24	61.5	15	38.5		
多半是	117	60.3	77	39.7		
多半不是	134	58.8	94	41.2		
从来不	27	55.1	22	44.9		
辛辣食品					0.961	0.811
总是	58	55.8	46	44.2		
多半是	152	61.0	97	39.0		
多半不是	86	58.9	60	41.1		
从来不	6	54.5	5	45.5		
熏制、腌制食品					1.308	0.727
总是	13	56.5	10	43.5		
多半是	124	62.3	75	37.7		
多半不是	156	57.4	116	42.6		
从来不	9	56.2	7	43.8		

■同行评价

本文是对军人中 *H. pylori*感染和相关危险因素的调查,具有一定的可读性。

H. pylori: 幽门螺杆菌。

降低^[21],提示*H. pylori*感染与经济状况、居住条件、生活环境有关。本调查结果显示已婚军人*H. pylori*感染率明显增高,入伍前家庭人口数多和有集体生活史的军人*H. pylori*感染率明显增高,提示居住密度及密切接触增加*H. pylori*感染。

*H. pylori*感染与个人饮食和卫生习惯的关系,相关报道差异较大^[1,2]。有报道绿茶^[17,29]、酸奶^[17]、豆制品^[17,30]及生姜^[21]、大蒜^[30]降低*H. pylori*感染率,而腌熏食品则相反^[17,30],认为绿茶

中的儿茶素和酸奶中的乳酸杆菌能抑制细菌的生长。也有报道生吃大蒜的人群*H. pylori*感染率更高^[20]。有研究显示*H. pylori*感染与家庭碗筷是否用洗洁精清洗有关,从不使用洗洁精清洗的家庭人群*H. pylori*感染率明显增高^[2]。本次调查结果显示,洗刷碗筷时使用洗洁剂明显减少*H. pylori*感染率;而喜爱吃生姜和土豆及其制品的军人*H. pylori*感染率没有降低,反而明显增高。

总之,本研究在基层部队军人中进行了*H.*

表 7 *H. pylori*感染与既往及家族史分析

因素	阳性		阴性		χ^2 值	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
家族上消化道疾病史					0.214	0.644
无	299	59.3	205	40.7		
有	3	50.0	3	50.0		
上消化道症状					0.195	0.658
无	86	57.7	63	42.3		
有	216	59.8	145	40.2		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

*pylori*感染流行状况及危险因素的调查, 军人*H. pylori*感染与年龄、服役时间、住排房时间、婚姻、入伍前集体生活史和家庭人口数以及个人饮食卫生习惯密切相关. 军人*H. pylori*感染与上消化道疾病的关系有待进一步研究.

4 参考文献

- 徐顺福, 施瑞华, 张国新, 丁岩冰, 孙桂前, 张红杰, 陈晓星, 黄霞玥, 李学良, 严志刚, 苗毅. 江苏地区幽门螺杆菌感染及其危险因素调查. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3363-3370
- 陈世耀, 刘天舒, 樊晓明, 董玲, 方国汀, 涂传涛, 顾秀英, 王吉耀. 上海地区幽门螺杆菌感染及其危险因素调查. 中华医学杂志 2005; 85: 802-806
- Hanafi MI, Mohamed AM. Helicobacter pylori infection: seroprevalence and predictors among healthy individuals in Al Madinah, Saudi Arabia. *J Egypt Public Health Assoc* 2013; 88: 40-45 [PMID: 23528531 DOI: 10.1097/01]
- Carter FP, Frankson T, Pintard J, Edgecombe B. Seroprevalence of Helicobacter pylori infection in adults in the Bahamas. *West Indian Med J* 2011; 60: 662-665 [PMID: 22512225]
- Wex T, Venerito M, Kreutzer J, Götze T, Kandulski A, Malfertheiner P. Serological prevalence of Helicobacter pylori infection in Saxony-Anhalt, Germany, in 2010. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18: 2109-2112 [PMID: 22012975 DOI: 10.1128/CVI.05308-11]
- German SV, Zykova IE, Modestova AV, Ermakov NV. [Epidemiological characteristics of Helicobacter pylori infection in Moscow]. *Gig Sanit* 2011; (1): 44-48 [PMID: 21510047]
- Pandeya N, Whiteman DC. Prevalence and determinants of Helicobacter pylori sero-positivity in the Australian adult community. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1283-1289 [PMID: 21443663 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06726.x]
- Chi H, Bair MJ, Wu MS, Chiu NC, Hsiao YC, Chang KY. Prevalence of Helicobacter pylori infection in high-school students on Lanyu Island, Taiwan: risk factor analysis and effect on growth. *J Formos Med Assoc* 2009; 108: 929-936 [PMID: 20040457 DOI: 10.1016/S0929-6646(10)60005-8]
- Vilaichone RK, Mahachai V, Shiota S, Uchida T, Ratanachu-ek T, Tshering L, Tung NL, Fujioka T, Moriyama M, Yamaoka Y. Extremely high prevalence of Helicobacter pylori infection in Bhutan. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2806-2810 [PMID: 23687418 DOI: 10.3748/wjg.v19.i18.2806]
- 胡伏莲. 中国幽门螺杆菌研究现状. 胃肠病学 2007; 12: 516-518.
- 王雯, 王晓君, 王蓉, 李达周, 王育斌, 张志坚, 文晓冬. 消化性溃疡在某部军人中的发病情况及相关因素调查. 解放军医学杂志 2006; 31: 869-872
- 杨杰, 令狐恩强, 孙湖山, 邱霞, 黄凯, 潘玉启, 王青青. 沿海部队官兵幽门螺杆菌感染与上消化道疾病关系. 军医进修学院学报 2011; 32: 831-833
- 张勇, 蒋明德, 曾维政, 徐辉, 郑淑梅, 陈虹彬. 军人上消化道疾病与幽门螺杆菌感染关系. 西南国防医药 2009; 19: 496-498
- Leja M, Cine E, Rudzite D, Vilkoite I, Huttunen T, Daugule I, Rumba-Rozenfelde I, Pimanov S, Liepniece-Karele I, Pahomova J, Purmalis K, Eglitis J, Pirags V, Dzerve V, Erglis A. Prevalence of Helicobacter pylori infection and atrophic gastritis in Latvia. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 1410-1417 [PMID: 23114744 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3283583ca5]
- Buzás GM, Lotz G, Schneider F, Józán J. [Changing prevalence of Helicobacter pylori infection in the 9th district of Budapest. A retrospective endoscopic study, 1997-2012]. *Orv Hetil* 2013; 154: 900-907 [PMID: 23728313 DOI: 10.1556/OH.2013.29630]
- 曹春莉, 苏秉忠, 康世荣. 内蒙古地区幽门螺旋杆菌感染情况分析. 内蒙古医学院学报 2010; 32: 183-186
- 刘瑶, 蔡文智, 王新颖, 甘丽美, 周梅花, 马久红, 郑梅兰. 广州市3所医院幽门螺杆菌感染患者饮食相关的影响因素调查. 护理学报 2011; 18: 13-15
- 曾凡玲, 向林. 重庆市城区体检人群幽门螺杆菌感染的血清流行病学调查. 重庆医科大学学报 2009; 34: 224-225
- 陈姝, 杨光, 吴祖常, 李鸣. 佛山地区体检人群幽门螺杆菌感染的血清流行病学分析. 广东医学 2011; 32: 869-870
- 黄燕, 徐袁, 曾莉, 秦恩, 杨英, 邹天富, 王佑娟. 成都地区体检人群幽门螺杆菌感染状况及其危险因素调查. 现代预防医学 2012; 39: 3494-3497
- 林蒙, 陈碰玉, 陈艳, 刘书议, 郑祖平, 卓星, 郑敏. 生姜产地幽门螺杆菌感染的家庭聚集性调查. 临床内科杂志 2003; 20: 72-73
- 涂佳音, 陈志平, 曹卫鹏, 刘劲松, 赵晓霞, 武小凤. 兰州市健康体检者幽门螺杆菌流行病学调查. 临床荟萃 2012; 27: 1754-1756
- Fürész J, Lakatos S, Németh K, Fritz P, Simon L, Kacsérka K. The prevalence and incidence of Helicobacter pylori infections among young recruits during service in the Hungarian Army. *Helicobacter* 2004; 9: 77-80 [PMID: 15156907]

- 24 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染的流行病学. 中国医刊 2007; 42: 17-18
- 25 范红敏, 袁聚祥, 徐应军, 张天哲. 农村居民家庭幽门螺杆菌感染的血清流行病学调查. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2948-2953
- 26 Celiński K, Kurzeja-Mirosław A, Słomka M, Cichoż-Lach H, Madro A, Kasztelan-Szczerbińska B. The effects of environmental factors on the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in inhabitants of Lublin Province. *Ann Agric Environ Med* 2006; 13: 185-191 [PMID: 17195990]
- 27 霍晓灵, 秦健, 张炜, 张文珍, 朱雪莲, 窦玉勤, 叶妮娜. 新疆伊犁地区上消化道疾病患者幽门螺杆菌感染率的相关因素. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1568-1572
- 28 曹杰, 王选举, 刘芳, 辛毅, 施进, 刘志, 王龙, 许芳, 代海萍, 刘丹丹, 丁平, 郭志国, 李友梅, 秦艳秋, 任恒亚, 吴建敏, 马莉, 刘飞雪, 王凡. 安徽宿州地区人群幽门螺杆菌感染现况分析. 实用医学杂志 2012; 28: 3082-3084
- 29 Stoicov C, Saffari R, Houghton J. Green tea inhibits *Helicobacter* growth in vivo and in vitro. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 33: 473-478 [PMID: 19157800 DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2008.10.032]
- 30 张天哲, 张铁民, 赵丹丹, 唐桂钰. 中国人群幽门螺杆菌感染相关因素的Meta分析. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1582-1589

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

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

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

胃内酸袋的研究进展及与胃食管反流病的关系

吴光勤, 王雯

■背景资料

多项研究证实不管在正常人群还是在胃食管反流病患者中,餐后位于胃食管交界部存在一个逃避食物缓冲作用的高酸区域,称之为“酸袋”。其在胃食管反流病的发病病因中可能起重要作用,通过改变酸袋的存在,有可能达到治疗胃食管反流病的目的。

吴光勤, 王雯, 南京军区福州总医院消化内科 福建省福州市 350025

吴光勤, 硕士, 主要从事酸及酸相关疾病的研究。

福建省社会发展重点基金资助项目, No. 2011Y0044

作者贡献分布: 本文文献检索及论文撰写由吴光勤完成; 王雯负责审校。

通讯作者: 王雯, 教授, 主任医师, 350025, 福建省福州市西二环北路156号, 中国人民解放军南京军区福州总医院消化内科。wangw68@medmail.com.cn

收稿日期: 2013-09-21 修回日期: 2013-10-26

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-28

Gastric acid pocket and gastroesophageal reflux disease

Guang-Qin Wu, Wen Wang

Guang-Qin Wu, Wen Wang, Department of Gastroenterology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Supported by: the Key Social Development Project of Fujian Province, No. 2011Y0044

Correspondence to: Wen Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Command of Chinese PLA, 156 Xierhuan North Road, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. wangw68@medmail.com.cn

Received: 2013-09-21 Revised: 2013-10-26

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-28

Abstract

Gastric acid pocket is an area of highly acid that escapes the neutralization of food in the proximal stomach after meals and has been noticed in healthy individuals and gastroesophageal reflux disease (GERD) patients. It was first found by Fletcher *et al*, who carried out a series of experiments in 2001. After that, other researchers have carried out in-depth studies on it. Hiatus hernia, gastric motility, gastric anatomy and physiology seem to be important elements for the genesis of postprandial proximal gastric acid pocket (PPGAP). Because PPGAP may play an important role in the pathogenesis of GERD, treatments for suppressing the production of gastric acid, anti-acid agents, prokinetic agents, surgery and other treatments may be used to alter the presence of PPGAP to achieve the purpose of treating GERD. Therefore, the discovery of gastric acid pocket

may provide a new idea for the treatment of GERD.

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

Key Words: Acid pocket; Gastroesophageal reflux disease

Wu GQ, Wang W. Gastric acid pocket and gastroesophageal reflux disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4092-4097 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4092.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4092>

摘要

胃内酸袋是餐后位于胃食管交界部的一个逃避食物缓冲作用的高酸区域,在正常人群及有胃食管反流病的患者中均可见,最早是在2001年由Fletcher等学者通过一系列实验研究发现,其后国内外不同学者对其进行了深入研究,认为其形成可能与食管裂孔疝、胃解剖结构、胃动力等因素相关。由于酸袋在胃食管反流病的发病病因中可能起重要作用,而通过抑酸药、抗酸剂、促动力药、外科手术等治疗来改变酸袋的存在,从而有可能达到治疗胃食管反流病的目的,因此酸袋的发现为胃食管反流病的治疗提供了新的治疗思路。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 酸袋; 胃食管反流病

核心提示: 胃内酸袋可能在胃食管反流病的发病中起重要作用,通过酸袋为治疗的靶点可能达到治疗胃食管反流病的目的。

吴光勤, 王雯. 胃内酸袋的研究进展及与胃食管反流病的关系. *世界华人消化杂志* 2013; 21(36): 4092-4097 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4092.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4092>

0 引言

近年来餐后近端胃内酸袋(postprandial proximal

■同行评议者

陈贻胜, 教授, 福建省立医院; 袁红霞, 研究员, 天津中医药大学

gastric acid pocket, PPGAP)的概念日益受到学者的重视,他可能在胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)的发病方面起重要作用,进而引起国内外众多学者的深入研究.本文将结合目前国内外最新研究进展,从酸袋的定义、形成的可能机制、其与胃食管反流病之间的关系,及能否通过酸袋为靶点来治疗胃食管反流病等四方面内容做一综述.

1 胃内酸袋的定义

餐后近端胃内酸袋概念的提出来自于临床观察,即餐后反流入食管内的胃内容物的pH值低于胃内pH值.并发现在餐后胃贲门部的酸性区域向近端延伸甚至达到鳞柱状交界区.虽然在正常人和胃食管反流病患者中均有此现象,但是随后的试验研究认为这种现象在GERD患者与食管裂孔疝患者中更明显^[1]. Barlow等^[2]指出在GERD患者中此类反流事件发生频率较之正常群体相比增加4-7倍.最主要的是,反流物的pH值较胃内pH值更低,即酸性更强.然而这似乎与正常观点相悖,因为进食后胃酸受到食物的缓冲作用,此时胃内的胃酸应该处于弱酸甚至中性状态,即使有反流,其pH值下降应不明显.正是这种矛盾现象,2001年Fletcher等^[3]进行了一系列的试验,他们发现在餐后胃食管交界(esophagogastric Junction, EGJ)存在一个未受食物缓冲作用的高酸区域.通过在10例健康志愿者中使用阶梯式酸度计电极牵拉法分别测定在禁食和进食后从近端胃、EGJ到食管的pH变化,发现在禁食状态下,胃内pH平均为1.4,而进食后升至4.4,但在胃食管交界部的pH却仍只有1.6,故他们将这个高酸区域称之为“酸袋”^[4].

然而迄今为止,酸袋的概念尚未统一.最初是认为其是一个逃避食物中和的未被缓冲的酸层;而后又有学者认为酸袋应定义为在胃的近端部位,在非酸性远端(接近食物一侧)与近食管下端之间的pH值<4的区域.2012年Boecxstaens定义酸袋为在一个超过4 cm的范围内其pH值相对于胃内pH值下降超过1个单位的区域^[5].而国内白璐等^[6]总结得出胃内酸袋是食管下括约肌(lower esophageal sphincter, LES)下方胃食管连接部(esophagogastric junction, EGJ)一段很短的特殊区域,出现于餐后15 min,持续至餐后约90 min,平均pH值为1.6,明显低于餐后胃内缓冲区平均pH值为4.4.自从酸袋的概念被提出后,其后越来越多的学者使用不同的方法对其进行

研究证实,这些方法包括使用阶梯式酸度计电极牵拉法、多电极固定监测、单光子发射计算机断层成像术(single-photon emission computed tomography, SPECT)方法以及磁共振成像技术(magnetic resonance imaging, MRI)等,结果均证实酸袋只是餐后胃内食物消化过程中存在的一个特殊区域,而并不是一个充满未受食物缓冲作用的胃液的“袋子”^[4,7-9].然而, Pandolfino等^[10]依据在食管下括约肌区域内发现酸袋的事实,认为在胃食管交界部餐后呈现的酸是以“酸膜”的形式存在,而非“酸袋”,从而得出“酸膜”更能解释在反流疾病中食管远端黏膜的病变.因此对于这个餐后近端胃的高酸区域的定义有待进一步达成共识.

2 胃内酸袋形成的可能机制

2.1 酸袋的形成与食管裂孔疝关系 食管裂孔疝可通过削弱食管下括约肌的功能和食管的廓清能力而影响胃食管的运动,从而在反流疾病中发挥病理生理作用^[4,11,12].有研究者发现大食管裂孔疝患者的酸袋长,而其范围与膈裂孔以上胃黏膜的范围相符.食管裂孔疝患者餐后疝囊内不存在食物,所以,具有正常酸分泌功能的疝囊因缺少食物的缓冲作用,从而在其上方形成一个相对高酸的区域,即酸袋.因此,食管裂孔疝的存在为酸袋的产生提供了符合生理学的解释^[6]. Clarke等^[8]与Kasapidis等^[13]研究22例有反流的患者[其中12例有大食管裂孔疝(>3 cm)、10例有小裂孔疝(<3 cm)]与10例健康人发现在反流患者及健康人中一过性食管下括约肌松弛的发生率是相似的,但前者酸反流量较大.他们通过碍酸盐SPECT显像技术及内窥镜技术发现反流患者酸袋较长,并且酸袋位置大多位于食管裂孔疝附近和横膈膜上.从而得出酸袋的扩大是一过性食管下括约肌松弛患者酸反流的主要危险因素.这为以上这些患者虽然酸反流频率与健康者相似,但酸反流量却明显较大提供了合理的解释.另外他们还认为胃食管反流患者酸袋的扩大与食管裂孔疝的存在相关.

2.2 酸袋的形成与胃解剖结构关系 胃酸是由胃壁黏膜分泌的.进食后在胃腔的外围由于接近酸的分泌区将会呈现酸性更强,而胃腔中央由于食物的缓冲作用呈现弱酸状态.虽然食物的摄取会刺激胃酸分泌,但是由于食物使胃腔扩张,进而减少了单位表面积胃皱襞密度,即起到缓冲作用.然而在接近贲门部的胃皱襞由于近端膈肌裂

■ 研发前沿

目前对于胃食管反流病的发病原因仍不十分明确,而酸袋的发现,作为胃食管反流病的可能的发病病因,从而为今后的胃食管反流病的治疗,提供了新的治疗思路.

■ 相关报道

自从2001年Fletcher等发现酸袋的存在后,其后国内外众多学者对此进行了深入的研究。国内白璐等学者较早地阐述了胃内酸袋与胃食管反流病之间的关系,为后来的学者研究二者之间的关系指明了方向。

孔和食管下括约肌的限制而不会被扩展,故在餐后近端胃区域保存了一个高酸区域,即形成酸袋^[14,15]。有学者报道胃内酸袋的存在与身体姿势改变无关^[1],这一研究表明其并非基于胃酸附着在胃内容物上的这一重力或物理性原理而存在。此外,胃内pH监测也显示餐后胃内各部位pH值并不是均匀一致,从而均说明胃的解剖结构可能与胃内酸袋的形成相关^[16]。Herbella等^[17-20]研究了15例胃手术后患者的酸袋存在情况,术前均证实这些患者有酸袋的存在。他们通过分析三种类型的胃部手术: Roux-en-Y胃旁路术(Roux-en-Y gastric bypass, RYGB)、远端胃切除术、Nissen胃底折叠术,以确定胃的解剖结构对酸袋的影响。三种手术类型中RYGB术作为胃底缺如的试验模型,远端胃切除术作为胃窦缺如时的模型,而Nissen胃底折叠术用来作为近端胃改变的模型。术后发现这些人中仅有15%继续存有酸袋。这些结果与文献资料相比,说明胃的解剖结构变化,显著地影响酸袋的存在,从而也可以说明胃解剖结构与酸袋的形成相关。

2.3 酸袋的形成与胃动力关系 胃动力可能在酸袋成因中发挥作用。Katzka等^[21]指出在餐后存在不因身体姿势改变的胃体贲门的酸反流,其原因可能是餐后胃的大部分区域是相对静止的,因此易造成酸反流。Goetze等^[22]的研究也认为餐后近端胃是相对静止的,这样使分泌的胃液浮在食糜上,从而形成高酸区域。而后胃内容物等在胃壁运动神经元等支配下,向胃窦部运动。Herbella等^[18]对胃内压进行研究,发现不存在近端胃内压,但有研究显示在经过RYGB术后的患者中近端胃压力增加,且该研究还发现在这些患者中,食物从近心端被快速推下留下了与黏膜密切接触的无缓冲胃液,即高酸性区域,只不过他们称之为“酸膜”而非“酸袋”^[5,23,24]。Herbella等^[18]也通过试验证实胃动力在经历RYGB手术后患者的酸袋形成中起重要作用,但是胃动力在其他患者中的酸袋的形成机制中仍不清楚。此外,Boecxstaens等^[25]报道促动力药可破坏酸袋的存在。Yamashita等^[26]指出餐后酸反流可能是因为胃排空延迟所致。因此胃动力可能与酸袋的形成相关。

2.4 酸袋的形成与进食食物种类关系 Fletcher等^[6,23]报道在进食高脂食物后,酸袋向食管的近端移动;同样地,另有学者认为进食高脂、高蛋白、香辣等食物后酸袋易出现,其原因可能为这类食物延长胃排空的时间,从而增加食管下括约

肌一过性松弛有关^[6]。

2.5 其他 还有研究者认为,酸袋的形成与餐后食管的部分缩短、胃食管交界部的唾液中和能力不同有关^[6]。

3 胃内酸袋与胃食管反流病

GERD可分为非糜烂性反流病(non-erosive reflux disease, NERD)、糜烂性食管炎(erosive esophagitis, EE)和Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)三种类型,也可称为GERD相关疾病。林三仁等^[27]认为GERD的三种类型相对独立,相互之间不转化或很少转化,但有些学者则认为这三者之间可能有一定相关性^[28]。GERD是种常见多发病,在西方,该病发病率约为10%-20%,亚洲国家发病率约为5%,并呈上升趋势^[29,30]。GERD是一种多因素促成的上消化道动力障碍性疾病,解剖学与功能学异常共同参与其发病机制^[31,32]。目前有共识的发病机制是反流物对食管黏膜攻击作用增强和食管黏膜抗反流的防御机制下降。此外食管裂孔疝、胃排空延缓、遗传与环境因素、不良的饮食习惯以及吸烟等不良嗜好也与GERD有关^[33-35]。

近年来,胃内酸袋作为胃食管反流病的可能发病机制之一,也越来越受到众多学者关注。有研究报道称胃贲门部的炎症及胃食管交界处的肠化生具有很高的发病率,这可能与酸袋的存在有关^[8,36]。GERD是种酸相关疾病。在这种情况下,在贲门部酸袋的存在,对于酸反流可能有较大的影响^[37]。为比较正常人与严重GERD患者之间酸袋的形成、解剖学位置的差异,Clarke等^[8]用双导管pH监测仪以及测压法对12例健康者和16例严重GERD患者进行研究。通过放射性显影确定酸袋的位置,餐后15 min监测pH,且餐前、餐后均行钡餐检查。结果显示GERD患者酸袋发病率(23/32)较健康者(11/24)显著高,形成的酸袋平均长约3 cm,明显长于健康对照组(2 cm),由此推测餐后胃食管交界处以下部位的扩大的酸袋可能是其病因之一。Vo等^[38]和Hila等^[39]研究发现健康者同样存在酸袋^[7]。尽管Clarke等^[8]通过提拉式pH计研究报道酸袋在健康者中比在反流患者中要少见,但目前仍无大量证据证实酸袋在GERD患者中比在正常人中更常见^[40]。国内胡晔东等^[41]使用4通道食管测压系统确定受试者食管下括约肌位置,将单通道pH电极置于LES远端下方1 cm处监测空腹pH值0.5 h,给予标准餐后继续监测pH值2 h,然后将探针移至LES近端

上方5 cm处行24 h动态pH监测. 结果显示反流性食管炎患者与健康者均存在酸袋. 并发现反流性食管炎组较健康组有异常酸反流, 且酸袋出现时间早、平均pH值低, 其食管黏膜损伤可能与此有关, 从而也说明了酸袋与GERD相关. 同样Rohof等^[42]通过研究餐后酸反流、酸袋、食管裂孔疝的关系, 也认为酸袋在GERD的发病机制中起重要作用. 因此酸袋的发现为GERD的研究提供了新思路, 应引起足够重视.

4 胃内酸袋与胃食管反流病治疗

酸袋除了上述在GERD患者中作为食管酸暴露的可能发病机制外, 已有研究报道还可作为一种独特的治疗靶向^[42-45]. Kwiatek等^[46]研究发现藻酸盐(一种从海带中分离出的天然多糖类聚合物), 可以去除酸袋, 因其在胃腔上面形成一层凝胶样的屏障. 其原理是在与胃酸的接触过程中, 藻酸盐沉淀成接近中性的低密度黏性凝胶. 由于pH的改变, 使包含在其中的碳酸氢钠产生出CO₂, 这样包含有CO₂的凝胶漂浮在胃内容物上面如同“筏”一样, 从而直接或间接影响酸袋或酸膜的生成, 进而达到治疗GERD的目的.

GERD治疗中最主要的治疗是抑酸治疗, Morgan等^[47]比较了3种不同的质子泵抑制剂在80例西班牙裔GERD患者中认为是酸袋区的抑酸效果. 他们发现通过抑酸处理后, 虽然说酸袋仍存在, 但是其体积变小、在此区域的24 h pH监测中有超过61%的时间内其值接近中性, 即经过抑酸处理后酸袋的酸性减弱, 但是他们并没有进一步去比较不同药物的治疗效果. Vo等^[38]研究雷贝拉唑在酸袋区的治疗效果, 结果也显示治疗后酸袋体积变小, 且pH值由1升到4, 说明抑酸治疗是可以改变酸袋的存在而减少酸反流的. Tytgat^[48]的研究也认为酸袋在GERD的发病中起重要作用, 而去除酸袋是可以达到治疗目标的.

此外, 促动力药通过促进胃排空, 进而干扰酸袋的形成, 从而可以达到治疗GERD的目的^[49]. Boeckstaens等研究证实红霉素(促动力剂)可以抑制酸袋的形成, 而Sumatriptan(一种动力抑制剂)没有. 同样地, Rohof等研究阿奇霉素(促动力剂)对合并有小食管裂孔疝的酸袋的作用, 发现其也可抑制酸袋的存在, 并可使裂孔疝变小、酸反流频率降低, 但在合并有大裂孔疝的患者中却没有发现此作用. 另有在健康志愿者中的研究证实γ-氨基丁酸受体激动剂-巴氯芬明显

减少酸袋的体积, 且能增加LES压力, 减少酸反流^[4,50,51].

尽管GERD治疗中抑酸治疗是主要的也是疗效较好的方式, 但还是有部分难治性GERD患者对抑酸治疗效果欠佳, 对于此部分患者可考虑行手术治疗. 目前RYGB术被认为是控制GERD症状的有效术式. 此手术后显示酸袋区域变小、患者的症状明显改善, 且手术还不会影响正常胃酸分泌^[5,52]. Herbella等^[17-20]也证实了上述观点, 他们研究在有酸袋的GERD患者中经过Nissen胃底折叠术或远端胃大部切除术或RYGB手术后, 再次监测发现酸袋是几乎不存在的. 因此手术可以作为难治性GERD患者的一种治疗选择.

5 结论

胃酸可杀死随食物摄入的潜在致病微生物, 因此形成的酸袋能在进餐时作为维持酸屏障而存在. 但是酸袋对于远端食管的酸暴露具有不利的影响, 与此部位的食管炎、肠化生及癌变等并发症有潜在的相关性. 酸袋的提出对于认识餐后酸反流模式及他们与胃内pH间的关系是非常有价值的; 同时为餐后酸反流提供了一个合理的解释. 然而, 这个短暂改变的酸袋与反流性疾病的关系仍不太清楚^[5]. 一方面酸袋如何逃避食物缓冲的具体机制到目前为止仍不明确; 另一方面在有不同严重程度的GERD患者中酸袋的大小与持续时间和他们发病的相关性等仍需要进一步阐释.

总之, 对酸袋的发现及认识将可能为胃食管反流病的发病机制与治疗等带来新的突破, 但是存在的问题, 仍需众多学者进一步深入研究.

6 参考文献

- 1 Beaumont H, Bennink RJ, de Jong J, Boeckxstaens GE. The position of the acid pocket as a major risk factor for acidic reflux in healthy subjects and patients with GORD. *Gut* 2010; 59: 441-451 [PMID: 19651625 DOI: 10.1136/gut.2009.178061]
- 2 Barlow AP, Hinder RA, DeMeester TR, Fuchs K. Twenty-four-hour gastric luminal pH in normal subjects: influence of probe position, food, posture, and duodenogastric reflux. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 2006-2010 [PMID: 7942727]
- 3 Fletcher J, Wirz A, Young J, Vallance R, McColl KE. Unbuffered highly acidic gastric juice exists at the gastroesophageal junction after a meal. *Gastroenterology* 2001; 121: 775-783 [PMID: 11606490 DOI: 10.1053/gast.2001.27997]
- 4 Kahrilas PJ, McColl K, Fox M, O'Rourke L, Sifrim D, Smout AJ, Boeckxstaens G. The acid pocket: a target for treatment in reflux disease? *Am J Gastro-*

■创新盘点

本文在广泛阅读国内外关于酸袋的研究进展后, 从酸袋的定义、其在胃食管反流病的发病病因及治疗中的作用等方面对二者之间的关系进行了深入地总结.

■应用要点

酸袋可能参与胃食管反流病的发病病因,因此,针对酸袋的治疗如通过抑酸药、抗酸剂、促动力药、外科手术等治疗来改变酸袋的存在,从而有可能达到治疗胃食管反流病的目的,在临床治疗方面有较好地指导意义。

- enterol 2013; 108: 1058-1064 [PMID: 23629599 DOI: 10.1038/ajg.2013.132]
- 5 Herbella FA, Vicentine FP, Silva LC, Patti MG. Postprandial proximal gastric acid pocket and gastroesophageal reflux disease. *Dis Esophagus* 2012; 25: 652-655 [PMID: 22171648 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01293.x]
 - 6 白璐, 胡晔东, 刘菲. 胃内酸袋及其与胃食管反流病相关性的研究进展. *国际消化病杂志* 2009; 29: 250-251
 - 7 Simonian HP, Vo L, Doma S, Fisher RS, Parkman HP. Regional postprandial differences in pH within the stomach and gastroesophageal junction. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 2276-2285 [PMID: 16416175 DOI: 10.1007/s10620-005-3048-0]
 - 8 Clarke AT, Wirz AA, Manning JJ, Ballantyne SA, Alcorn DJ, McColl KE. Severe reflux disease is associated with an enlarged unbuffered proximal gastric acid pocket. *Gut* 2008; 57: 292-297 [PMID: 17272648]
 - 9 Kuiken S, Van Den Elzen B, Tytgat G, Bennink R, Boeckstaens G. Evidence for pooling of gastric secretions in the proximal stomach in humans using single photon computed tomography. *Gastroenterology* 2002; 123: 2157-2158; author reply 2158 [PMID: 12454881 DOI: 10.1053/gast.2002.37299]
 - 10 Pandolfino JE, Zhang Q, Ghosh SK, Post J, Kwiatek M, Kahrilas PJ. Acidity surrounding the squamocolumnar junction in GERD patients: "acid pocket" versus "acid film". *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2633-2641 [PMID: 17714553 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01488.x]
 - 11 Kahrilas PJ, Lin S, Chen J, Manka M. The effect of hiatus hernia on gastro-oesophageal junction pressure. *Gut* 1999; 44: 476-482 [PMID: 10075953 DOI: 10.1136/gut.44.4.476]
 - 12 Kahrilas PJ, Dodds WJ, Hogan WJ. Effect of peristaltic dysfunction on esophageal volume clearance. *Gastroenterology* 1988; 94: 73-80 [PMID: 3335301]
 - 13 Kasapidis P, Vassilakis JS, Tzovaras G, Chrysos E, Xynos E. Effect of hiatal hernia on esophageal manometry and pH-metry in gastroesophageal reflux disease. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 2724-2730 [PMID: 8536537]
 - 14 McColl KE, Clarke A, Seenan J. Acid pocket, hiatus hernia and acid reflux. *Gut* 2010; 59: 430-431 [PMID: 20332515]
 - 15 Grigolon A, Cantú P, Bravi I, Caparello C, Penagini R. Subcardial 24-h wireless pH monitoring in gastroesophageal reflux disease patients with and without hiatal hernia compared with healthy subjects. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 2714-2720 [PMID: 19638965]
 - 16 Clarke AT, Wirz AA, Seenan JP, Manning JJ, Gillen D, McColl KE. Paradox of gastric cardia: it becomes more acidic following meals while the rest of stomach becomes less acidic. *Gut* 2009; 58: 904-909 [PMID: 19060017]
 - 17 Herbella FA, Vicentine FP, Del Grande JC, Patti MG, Arasaki CH. Postprandial proximal gastric acid pocket in patients after Roux-en-Y gastric bypass. *J Gastrointest Surg* 2010; 14: 1742-1745 [PMID: 20717738 DOI: 10.1007/s11605-010-1309-5]
 - 18 Herbella FA, Vicentine FP, Del Grande JC, Patti MG. Postprandial proximal gastric acid pocket and gastric pressure in patients after gastric surgery. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 52-55, e4 [PMID: 20946544]
 - 19 Herbella FA, Vicentine FP, Del Grande JC, Patti MG. Postprandial proximal gastric acid pocket in patients after laparoscopic Nissen fundoplication. *Surg Endosc* 2011; 25: 3198-3201 [PMID: 21487860 DOI: 10.1007/s00464-011-1688-z]
 - 20 Herbella FA, Vicentine FP, Silva LC, Patti MG. Postprandial proximal gastric acid pocket in patients after distal gastrectomy. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 1081-1083 [PMID: 21936879 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2011.01790.x]
 - 21 Katzka DA, Gideon RM, Castell DO. Normal patterns of acid exposure at the gastric cardia: a functional midpoint between the esophagus and stomach. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 1236-1242 [PMID: 9707044 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1998.00402.x]
 - 22 Goetze O, Treier R, Fox M, Steingotter A, Fried M, Boesiger P, Schwizer W. The effect of gastric secretion on gastric physiology and emptying in the fasted and fed state assessed by magnetic resonance imaging. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 725-e42 [PMID: 19344341 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2009.01293.x]
 - 23 Fletcher J, Wirz A, Henry E, McColl KE. Studies of acid exposure immediately above the gastro-oesophageal squamocolumnar junction: evidence of short segment reflux. *Gut* 2004; 53: 168-173 [PMID: 14724145 DOI: 10.1136/gut.2003.022160]
 - 24 Pandolfino JE, Lee TJ, Schreiner MA, Zhang Q, Roth MP, Kahrilas PJ. Comparison of esophageal acid exposure at 1 cm and 6 cm above the squamocolumnar junction using the Bravo pH monitoring system. *Dis Esophagus* 2006; 19: 177-182 [PMID: 16722995 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2006.00561.x]
 - 25 Boeckstaens V, Bisschops R, Blondeau K, Vos R, Scarpellini E, De Wulf D, Tack J. Modulation of the postprandial acid and bile pockets at the gastro-oesophageal junction by drugs that affect gastric motility. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 1370-1377 [PMID: 21517922 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04664.x]
 - 26 Yamashita Y, Mason RJ, Demeester TR. Postprandial acid reflux is reduced by delayed gastric emptying. *J Smooth Muscle Res* 2003; 39: 87-93 [PMID: 14692694]
 - 27 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. *胃肠病学* 2007; 12: 233-239
 - 28 Fass R, Ofman JJ. Gastroesophageal reflux disease--should we adopt a new conceptual framework? *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1901-1909 [PMID: 12190152]
 - 29 El-Serag HB, Ergun GA, Pandolfino J, Fitzgerald S, Tran T, Kramer JR. Obesity increases oesophageal acid exposure. *Gut* 2007; 56: 749-755 [PMID: 17127706 DOI: 10.1136/gut.2006.100263]
 - 30 Dent J, El-Serag HB, Wallander MA, Johansson S. Epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut* 2005; 54: 710-717 [PMID: 15831922 DOI: 10.1136/gut.2004.051821]
 - 31 Festi D, Scafoli E, Baldi F, Vestito A, Pasqui F, Di Biase AR, Colecchia A. Body weight, lifestyle, dietary habits and gastroesophageal reflux disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1690-1701 [PMID: 19360912 DOI: 10.3748/wjg.15.1690]
 - 32 Chen M, Xiong L, Chen H, Xu A, He L, Hu P. Prevalence, risk factors and impact of gastroesophageal reflux disease symptoms: a population-based study in South China. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40:

- 759-767 [PMID: 16118911 DOI: 10.1080/00365520510015610]
- 33 Mohammed I, Cherkas LF, Riley SA, Spector TD, Trudgill NJ. Genetic influences in gastro-oesophageal reflux disease: a twin study. *Gut* 2003; 52: 1085-1089 [PMID: 12865263 DOI: 10.1136/gut.52.8.1085]
- 34 Kaltenbach T, Crockett S, Gerson LB. Are lifestyle measures effective in patients with gastroesophageal reflux disease? An evidence-based approach. *Arch Intern Med* 2006; 166: 965-971 [PMID: 16682569 DOI: 10.1001/archinte.166.9.965]
- 35 Mohammed I, Nightingale P, Trudgill NJ. Risk factors for gastro-oesophageal reflux disease symptoms: a community study. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 821-827 [PMID: 15801917 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2005.02426.x]
- 36 Sifrim D, Holloway R, Silny J, Xin Z, Tack J, Lerut A, Janssens J. Acid, nonacid, and gas reflux in patients with gastroesophageal reflux disease during ambulatory 24-hour pH-impedance recordings. *Gastroenterology* 2001; 120: 1588-1598 [PMID: 11375941 DOI: 10.1053/gast.2001.24841]
- 37 Holloway RH, Sifrim DA. The acid pocket and its relevance to reflux disease. *Gut* 2008; 57: 285-286 [PMID: 18268050 DOI: 10.1136/gut.2006.118414]
- 38 Vo L, Simonian HP, Doma S, Fisher RS, Parkman HP. The effect of rabeprazole on regional gastric acidity and the postprandial cardia/gastro-oesophageal junction acid layer in normal subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 1321-1330 [PMID: 15932362]
- 39 Hila A, Bouali H, Xue S, Knuff D, Castell DO. Postprandial stomach contents have multiple acid layers. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 612-617 [PMID: 16917403 DOI: 10.1097/00004836-200608000-00010]
- 40 Sifrim D, Holloway R, Silny J, Tack J, Lerut A, Janssens J. Composition of the postprandial refluxate in patients with gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 647-655 [PMID: 11280529 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.03598.x]
- 41 胡晔东, 白璐, 刘菲, 徐文, 李炜. 酸袋在反流性食管炎中作用的研究. *中华消化杂志* 2010; 30: 882-884
- 42 Rohof WO, Bennink RJ, de Ruigh AA, Hirsch DP, Zwinderman AH, Boeckxstaens GE. Effect of azithromycin on acid reflux, hiatus hernia and proximal acid pocket in the postprandial period. *Gut* 2012; 61: 1670-1677 [PMID: 22267599 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300926]
- 43 Rohof WO, Bennink RJ, Smout AJ, Thomas E, Boeckxstaens GE. An alginate-antacid formulation localizes to the Acid pocket to reduce Acid reflux in patients with gastroesophageal reflux disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 1585-1591 [PMID: 23669304 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.04.046]
- 44 Netzer P, Schmitt B, Inauen W. Effects of ABT-229, a motilin agonist, on acid reflux, oesophageal motility and gastric emptying in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1481-1490 [PMID: 12182748 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01324.x]
- 45 Sweis R, Kaufman E, Anggiansah A, Wong T, Dettmar P, Fried M, Schwizer W, Avvari RK, Pal A, Fox M. Post-prandial reflux suppression by a raft-forming alginate (Gaviscon Advance) compared to a simple antacid documented by magnetic resonance imaging and pH-impedance monitoring: mechanistic assessment in healthy volunteers and randomised, controlled, double-blind study in reflux patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37: 1093-1102 [PMID: 23600790]
- 46 Kwiatek MA, Roman S, Fareeduddin A, Pandolfino JE, Kahrilas PJ. An alginate-antacid formulation (Gaviscon Double Action Liquid) can eliminate or displace the postprandial 'acid pocket' in symptomatic GERD patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 59-66 [PMID: 21535446 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04678.x]
- 47 Morgan D, Pandolfino J, Katz PO, Goldstein JL, Barker PN, Illueca M. Clinical trial: gastric acid suppression in Hispanic adults with symptomatic gastro-oesophageal reflux disease - comparator study of esomeprazole, lansoprazole and pantoprazole. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 200-208 [PMID: 20456300 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04335.x]
- 48 Tytgat GN. Recent developments in gastroesophageal reflux disease and Barrett's esophagus: ANNO 2012. *J Dig Dis* 2012; 13: 291-295 [PMID: 22624551 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00598.x]
- 49 Lee YY, Whiting JG, Robertson EV, Derakhshan MH, Wirz AA, Smith D, Morrison D, Kelman A, Connolly P, McColl KE. Kinetics of transient hiatus hernia during transient lower esophageal sphincter relaxations and swallows in healthy subjects. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 990-e539 [PMID: 22680279 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01948.x]
- 50 Kawai M, Kawahara H, Hirayama S, Yoshimura N, Ida S. Effect of baclofen on emesis and 24-hour esophageal pH in neurologically impaired children with gastroesophageal reflux disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38: 317-323 [PMID: 15076634 DOI: 10.1097/00005176-200403000-00017]
- 51 Treier R, Steingoetter A, Goetze O, Fox M, Fried M, Schwizer W, Boesiger P. Fast and optimized T1 mapping technique for the noninvasive quantification of gastric secretion. *J Magn Reson Imaging* 2008; 28: 96-102 [PMID: 18581398 DOI: 10.1002/jmri.21400]
- 52 Yuasa N, Abe T, Sasaki E, Fukaya M, Nimura Y, Miyahara R. Comparison of gastroesophageal reflux in 100 patients with or without prior gastroesophageal surgery. *J Gastroenterol* 2009; 44: 650-658 [PMID: 19434363 DOI: 10.1007/s00535-009-0055-5]

同行评价

本论文选题新颖, 行文流畅, 论据充分, 能够从学术前沿的角度提出全新的理念, 有助于今后在这一领域继续研究探讨, 具有一定临床指导价值。

编辑 田滢 电编 闫晋利



胃癌HER2检测的进展

丁然, 余英豪

■背景资料

近期ToGA试验证实采用曲妥珠单抗联合化疗治疗人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)阳性的晚期胃癌和胃食管连接部腺癌, 使患者的总生存期从单纯化疗的11.1 mo提高到13.8 mo. 该结果为晚期胃癌和胃食管连接部腺癌患者带来新希望.

丁然, 余英豪, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科福建省福州市 350025

丁然, 主要从事肿瘤病理的诊断与研究.

作者贡献分布: 本文综述由丁然完成; 余英豪审校.

通讯作者: 余英豪, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 350025, 福建省福州市西二环北路156号, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科. yuyinghao0808@126.com

电话: 0591-83717703

收稿日期: 2013-09-15 修回日期: 2013-10-22

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-12-28

New advances in HER2 testing in gastric cancer

Ran Ding, Ying-Hao Yu

Ran Ding, Ying-Hao Yu, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Correspondence to: Ying-Hao Yu, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, 156 Xierhuan North Road, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. yuyinghao0808@126.com

Received: 2013-09-15 Revised: 2013-10-22

Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-12-28

Abstract

Gastric cancer is one of the most common malignancies and represents the second leading cause of cancer death worldwide. The ToGA trial has shown that the humanized anti-HER2 (human epidermal growth factor receptor-2) monoclonal antibody Trastuzumab is effective in prolonging survival in patients with HER2-positive carcinoma of the stomach and the gastroesophageal junction (GEJ). Trastuzumab in combination with chemotherapy can be considered as a new standard option for patients with HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer. Therefore, it is crucial to accurately screen patients with HER2-positive gastric cancer. This article mainly discusses the recent advances in HER2 testing in gastric cancer.

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

Key Words: Gastric cancer; Gastroesophageal junction carcinoma; HER2; Immunohistochemistry; Fluorescence *in situ* hybridization

■同行评议者

张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院

Ding R, Yu YH. New advances in HER2 testing in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4098-4103
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4098.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4098>

摘要

胃癌是常见恶性肿瘤之一, 是癌症相关死亡的第二大常见肿瘤. ToGA试验证实人源化抗人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)单克隆抗体曲妥珠单抗能够有效延长HER2阳性胃癌、胃食管连接部腺癌患者的生存期, 并将曲妥珠单抗联合化疗作为胃癌、胃食管连接部腺癌的标准治疗方案. 因此, 精准的筛选HER2阳性的胃癌患者至关重要. 本文对胃癌HER2检测的方法标准、指导方针以及一些新观点进行简要综述.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 胃食管连接部腺癌; 类表皮生长因子受体2; 免疫组织化学; 荧光原位杂交

核心提示: 本文主要从人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)表达的异质性、原发性与转移灶HER2表达的一致性、内窥镜活检标本可否用于HER2检测、HER2点突变等方面阐述近年来胃癌HER2检测的新进展.

丁然, 余英豪. 胃癌HER2检测的进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(36): 4098-4103 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4098.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4098>

0 引言

胃癌是常见的恶性肿瘤之一, 近年来虽然全球范围内胃癌发病率有所下降, 但其依然是癌症相关死亡的第二大常见肿瘤^[1], 据估计每年有930000新发病例, 年死亡人数超过700000例^[2], 其发病率存在较大的地域差异, 与饮食、生活方式、经济状况以及幽门螺旋杆菌感染流行相关^[3]. 超过2/3新发病例和死亡病例发生于发展中

国家, 其中东亚占42.4%(主要是中国). 2010年中国男女发病率分别为28.7/10000和13.8/10000^[4].

虽然胃癌的诊断技术日趋成熟, 但大多数患者在初诊时已处于胃癌晚期或已经转移, 失去了手术的最佳时间^[5]. 近来, 一项涉及全球24个国家的国际多中心临床III期试验即ToGA试验, 该研究采用曲妥珠单抗联合化疗治疗人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)阳性的晚期胃癌和胃食管连接部腺癌, 总生存期提高到13.8 mo, 单纯化疗总生存期为11.1 mo^[6]. 该结果为晚期胃癌和胃食管连接部腺癌患者带来了新希望.

胃癌中HER2阳性率报道从6%-35%不等^[7-11], 造成这种结果的原因可能有种族不同, 样本量过小, 非标准化实验的使用等因素, 但更重要的是HER2阳性判定缺乏统一重复性好的标准^[12]. 合适筛选HER2阳性患者而使更多的患者受益, 是病理工作者必须面对的问题. 为此, 本文就HER2在胃癌检测中的评分标准、常见问题及近年来的新进展和亟待解决问题做全面的阐释.

1 免疫组织化学评分标准

由于乳腺癌和胃癌临床病理特点不同, 简单地将乳腺癌的HER2评分标准引入胃癌观察显然是不恰当的^[13]. 使用乳腺癌HER2的评分标准来判断胃癌HER2表达, 将导致胃癌中阳性病例数降低^[14]. 因为HER2在胃癌和乳腺癌的表达上存在两大不同点: (1)免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)胃癌细胞呈不完整膜着色比乳腺癌更常见^[15]; (2)胃癌组织异质比乳腺癌更常见^[16]. Hofmann等^[17]在乳腺癌HER2评分标准基础上修订的胃癌HER2检测标准, 在ToGA试验中得到验证并被广泛接受. 由于较多的胃癌细胞保留了腔面的分泌功能而不被染色, 从而形成“U”型(基底膜和侧面)不完整膜着色. 修改后的评分标准包含了“完全细胞膜着色”及“不完全细胞膜着色”并用的标准. 另外, 由于胃癌组织HER2表达的异质性较高, 因此以 $\geq 10\%$ 瘤细胞着色作为判断阳性的标准适用于手术切除标本, 而不适用于活检组织标本. 精准的评分标准应以组织学特点为基础, 而不是基于主观判断. Rüschoff等^[18]进行了HER2 IHC评分标准在实验室和观察者间的可重复性的实验, 结果出人意料, 实验显示造成阳性判定不一致的原因为观察者对IHC评分的认知不同. 基于这种情况, 他们提出了新的量化标准, 即放大倍数规则:

肉眼或低倍镜下($\times 2.5/\times 5$)可见膜着色为3+; 中倍镜下($\times 10$)可见膜着色为2+; 高倍镜下($\times 20/\times 40$)可见膜着色为1+; 否则视为阴性.

Rüschoff等^[18]还对HER2 IHC评分的常见问题作了完善总结, 提出HER2阳性的判定应排除非肿瘤性病变造成的非特定染色(如肠上皮化生、边缘的破碎组织和坏死物)以及所有模棱两可的膜着色(如颗粒状膜着色).

2 荧光原位杂交与IHC HER2表达的一致性

乳腺癌与胃癌的荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)评分标准相似^[19]. Hofmann等^[17]在分析168例胃及胃食管连接部腺癌时, 取HER2/17号染色体着丝粒(centromere enumerator probe 17, CEP-17)比值 ≥ 2.0 定义为HER2基因扩增, 显示FISH和IHC的一致性为93.5%. ToGA试验采用比值 ≥ 2.0 这一评分标准, 胃癌的FISH和IHC一致率为87%^[20]. 通过应用曲妥珠单抗联合化疗治疗HER2阳性胃及胃食管连接部腺癌, 患者总生存期和中位生存期有明显提高, 认为该评分标准与临床研究有较好的相关性. 多数研究结果均显示IHC和FISH具有较高的一致性^[21-23]. 如近期Yan等^[24]的一项研究发现, 新加坡胃癌患者HER2基因扩增和蛋白过表达率分别为11.7%(15/128)和9.4%(12/128), 两者具有明显的符合率, 但是存在部分病例HER2蛋白过表达和基因扩增不一致.

关于HER2蛋白过表达和基因扩增不一致的原因, 目前大致有以下观点: (1)组织固定处理、抗体批次不同及观察者之间的判读差异^[25]; (2)胃癌HER2表达的高度异质性, 选择组织切片不同、观察的肿瘤区域不同^[26]; (3)17号染色体多倍体. Liu等^[27]实验发现38% IHC3+/FISH-病例和54% IHC2+/FISH-病例为17号染色体多倍体, 提示17号染色体多倍体能够引起HER2蛋白过表达; (4)HER2点突变, 这种病例少见^[28].

3 HER2表达的异质性

如前所述, 胃癌HER2的表达具有明显的异质性^[29], 包括局部异质性和遗传异质性. 局部异质性系指IHC膜染色阳性的瘤细胞占有肿瘤细胞的10%-70%; 遗传异质性是指 $> 5\%$ 至 $< 50\%$ 的肿瘤细胞HER2/CEP-17比率高于2.0^[30]. 部分患者病灶中存在一定比例的HER2基因异质性扩增, 具有肿瘤的遗传异质性, 但是FISH判读为阴性. 在国内这部分病例的比例尚未见报道, 这些患者

■**研发前沿**
胃癌患者靶向治疗获益明显, 如何筛选HER2阳性的患者至关重要. 因此, HER2的检测成为研究热点, 尤其是EHR2的异质性.

■相关报道

研究报道HER2 IHC和FISH检测具有高符合率, 原发灶和转移灶HER2表达具有一致性. 内窥镜活检标本与外科手术标本在HER2表达方面具有一致性.

可否在靶向治疗中获益值得关注.

研究表明, 乳腺癌中HER2遗传异质性缺乏特异性的临床病理特征, 但因为肿瘤中确实存在一定数量HER2基因扩增的肿瘤细胞, 因此推测可能从赫赛汀靶向治疗中获益^[31]. Fusco等^[32]的研究显示在HER2阳性的胃癌患者中, HER2的异质性表达高达71%. 韩国近期的一项关于胃癌HER2表达的研究显示, 局部异质性与HER2蛋白弱表达(IHC2+)密切相关, 在组织学上与肠型或混合型腺癌密切相关. 该实验观察到44例银染原位杂交(silver in situ hybridization, SISH)病例中有5例具有遗传异质性, 其中4例基因扩增为阴性. 具有遗传异质性病例与HER2基因扩增病例两者在临床病理研究中未发现显著差异($P>0.05$). 这种遗传异质性和17号染色体多倍体被认为是HER2基因未扩增病例中HER2蛋白弱表达(IHC2+)的原因^[33]. Lee等^[34]的最新研究显示HER2的异质性表达比同质性表达的无病生存期更长. 而Seol等^[35]的研究认为HER2瘤内异质性的表达与靶向治疗耐药相关. 因此有学者^[36]推荐将HER2的异质性表达情况写入FISH病理报告, 包括HER2扩增细胞所占的比例, 还需注明HER2扩增细胞是散在分布还是簇状分布, 以供临床医生参考.

基于胃癌HER2表达的高度异质性, 因此, 在条件具备的情况下应进行全面的多组织切片检测, 以免使患者错失靶向治疗的机会.

4 原发灶和转移灶HER2表达的一致性

通过比较胃癌原发灶和转移灶中HER2的表达, 发现原发灶和转移灶的表达具有高度一致性^[37-39]. 一项FISH检测对比研究结果显示49例胃癌原发灶与淋巴结转移灶表达一致, 未发现不一致病例^[38]. 但有学者提出该实验采用组织芯片, 可能低估了肿瘤的异质性, 尚需对肿瘤原发灶和转移灶进行更广泛的评估. 当然亦有研究发现原发灶和转移灶不一致的情况, Kim等^[26]对325例胃癌进行研究, 他们首先选择了原发灶的3个不同区域进行检测, 发现HER2蛋白表达具有明显差异. 随后对124例原发灶和区域淋巴结转移灶进行HER2蛋白检测, 发现27例存在不一致, 其中19例原发灶阴性, 而淋巴结转移灶HER2蛋白过表达(阳性转变), 8例原发灶HER2蛋白过表达, 而淋巴结转移灶HER2阴性(阴性转变). FISH检测到5例不一致, 其中4例IHC检测HER2蛋白表达也不一致, 这些病例原发灶中无HER2基因

扩增, 但是转移灶中出现HER2基因扩增, 另1例为阴性转变. 随后采用多张组织切片再分析, 4例阳性转变患者中3例原发灶和转移灶均存在HER2异质性扩增, 1例阴性转变病例在原发灶中存在HER2异质性扩增, 转移灶中无扩增.

既然原发灶和转移灶中HER2表达具有较高的一致性, 因此在不能获取原发灶的情况下, 转移灶的检测为晚期患者带来了希望. 转移灶可否替代原发灶作为靶向治疗选择的依据, 还需大规模病例的深入研究. 在少数不一致的病例中, 转移灶阳性转变的患者是否能在靶向治疗中获益同样有待于进一步研究.

5 内窥镜活检标本的HER2检测

因胃癌HER2表达的异质性, 活检取样未必是肿瘤HER2表达的典型区域, 因此有学者认为活检标本不适合用于胃癌HER2的检测. 大样本研究显示HER2表达在黏膜层和黏膜下层未见明显差异($P<0.05$), 表明内窥镜活检标本用于胃癌HER2检测是可行的^[33]. 评分指南将活检组织与外科手术标本区分开来, 将判定活检组织阳性(IHC3+)的标准定义为 ≥ 5 个肿瘤细胞膜着色^[18], 并得到了广泛的认同. 但是, 关于活检标本的判读标准尚不完善, 还有待进一步研究.

正如Grabsch等^[40]在其文章中所述: “在积极倡导应用胃癌内窥镜活检标本HER2表达结果用于筛选靶向治疗患者之前, 应进行胃癌内窥镜活检标本和外科手术标本一致性的研究”. 意大利学者对活检标本和外科手术标本HER2的表达做了对比研究, 结果显示活检标本和外科手术标本IHC和FISH的符合率分别为80%和95%, 两者具有较高的一致性, 但8%的病例不能用活检标本进行准确预测. 该研究认为活检标本HER2表达的检测具有较高的预测价值; 对于活检标本IHC1+/2+的病例需进一步做FISH检测^[41]. 另一项研究显示导致内窥镜活检标本和外科手术标本不一致的主要因素是HER2异质性^[42].

为避免肿瘤的异质性对结果的影响, 活检标本应尽可能多点取材; 对于活检标本阴性的病例必要时可再次检测; 另外判读上要谨慎, 需排除HER2假阳性病例, 如边缘或坏死组织的着色、肿瘤细胞胞浆着色等.

6 HER2突变

HER2突变位点位于外显子18-21, 已知HER2共

有13种突变类型. Lee等^[43]研究58例有淋巴结转移的胃癌患者, 发现仅1例发生了*HER2*基因突变, 该患者*EGFR*、*K-RAS*、*PIK3CA*和*BRAF*基因未发生突变. 该实验证实胃癌并淋巴结转移患者偶发*HER2*突变, 其突变在胃癌转移中起一定作用. 近期研究发现, 在乳腺癌中存在少数*HER2*活化突变但无扩增的病例, 8种突变分别为G309A、D769H、D769Y、V777L、P780ins、V842I、R896C的激活突变, 755-759框内缺失. 该实验通过构建小鼠模型, 证实*HER2*突变小鼠可从赫赛汀靶向治疗中获益, 但结果还有待大规模临床试验的进一步研究. 同时该实验认为*HER2*突变是*HER2*扩增的一个替代机制, 同样具有促进肿瘤进展的作用^[44]. 虽然*HER2*突变患者比例很小, 不可否认的是这些病例可能是靶向治疗的获益者.

7 HER2作为胃癌的独立预后因素

*HER2*能否作为胃癌的独立预后因素尚存争议, 但*HER2*阳性对胃癌患者具有很高的预测价值, 在筛选患者以及选择最佳的治疗方案时获益匪浅^[45-47]. 早在20多年前, 科学家就已证实了*HER2*阳性与不良预后存在相关性^[48]. 但时至今日*HER2*阳性与预后的关系并未得到统一结论, 其原因是复杂多样的, 可能由于种族不同, 样本含量过小, *HER2*阳性的判定标准不一等. 近来, 多个研究小组进行大量回顾性研究, 试图从中确定两者之间的关系. 例如: Chua等^[49]系统回顾了有关*HER2*蛋白过表达对生存期影响的35项研究报告, 2项(6%)研究显示*HER2*蛋白过表达患者总体生存期明显延长, 13项(37%)研究显示*HER2*蛋白过表达患者总体生存期明显较差, 20项(57%)研究认为两者总体生存期无差异. 该作者认为*HER2*过表达与生存期差有联系^[25]. 随后, Jørgensen等^[50]进行大样本回顾性研究, 结果显示71%病例*HER2*阳性与不良预后相关, 该结果显著倾向于*HER2*阳性为胃癌预后不良的潜在因素. 国内大样本量的研究中, 发现*HER2*基因过表达是肠型胃癌和早期胃癌的独立预后因素^[27].

8 结论

*HER2*在胃癌领域的研究和发展为胃癌患者提供了新的治疗方案, 延长了患者生存期, 提高了患者的生活质量, 为胃癌患者带来新的希望. 靶向治疗取得最佳疗效实质在于精确的筛选患者以及避免明显的药物细胞不良反应^[51]. 因此对于

确诊的胃癌患者, 应积极进行*HER2*检测, 以指导选择最佳的治疗方案; 同时应客观认知*HER2*评分标准, 在实践中不断积累经验, 尽量减少判别错误.

9 参考文献

- Gordon MA, Gundacker HM, Benedetti J, Macdonald JS, Baranda JC, Levin WJ, Blanke CD, Elatre W, Weng P, Zhou JY, Lenz HJ, Press MF. Assessment of *HER2* gene amplification in adenocarcinomas of the stomach or gastroesophageal junction in the INT-0116/SWOG9008 clinical trial. *Ann Oncol* 2013; 24: 1754-1761 [PMID: 23524864 DOI: 10.1093/annonc/mdt106]
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]
- Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 1893-1907 [PMID: 20647400 DOI: 10.1158/1055-9965]
- Shin HR, Masuyer E, Ferlay J, Curado MP. Cancer in Asia - Incidence rates based on data in cancer incidence in five continents IX (1998-2002). *Asian Pac J Cancer Prev* 2010; 11 Suppl 2: 11-16 [PMID: 20553065]
- D'Angelica M, Gonen M, Brennan MF, Turnbull AD, Bains M, Karpeh MS. Patterns of initial recurrence in completely resected gastric adenocarcinoma. *Ann Surg* 2004; 240: 808-816 [PMID: 15492562 DOI: 10.1097/01.sla.0000143245.28656.15]
- Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of *HER2*-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687-697 [PMID: 20728210 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X]
- Tapia C, Glatz K, Novotny H, Lugli A, Horcic M, Seemayer CA, Tornillo L, Terracciano L, Spichtin H, Mirlacher M, Simon R, Sauter G. Close association between *HER-2* amplification and overexpression in human tumors of non-breast origin. *Mod Pathol* 2007; 20: 192-198 [PMID: 17361205 DOI: 10.1038/modpathol.3800729]
- Ananiev J, Gulubova MV, Manolova IM. Prognostic significance of CD83 positive tumor-infiltrating dendritic cells and expression of TGF-beta 1 in human gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 1834-1840 [PMID: 22086706 DOI: 10.5754/hge10320]
- Yan SY, Hu Y, Fan JG, Tao GQ, Lu YM, Cai X, Yu BH, Du YQ. Clinicopathologic significance of *HER-2/neu* protein expression and gene amplification in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1501-1506 [PMID: 21472111 DOI: 10.3748/wjg.v17.i11.1501]
- Begnami MD, Fukuda E, Fregnani JH, Nonogaki S, Montagnini AL, da Costa WL, Soares FA. Prognostic implications of altered human epidermal growth factor receptors (*HERs*) in gastric carcinomas: *HER2* and *HER3* are predictors of poor outcome. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3030-3036 [PMID: 21709195 DOI:

■创新盘点

本文从病理专业角度, 简明扼要地介绍了*HER2*在胃癌检测中的评分标准、常见问题, 并对近年来的新进展和亟待解决问题做了全面的阐释.

■应用要点

对于临床医生来说, 确诊的胃癌患者应积极进行HER2检测, 以指导选择最佳的治疗方案; 对病理医师来说, 应客观认知HER2评分标准, 在实践中不断积累经验, 尽量减少鉴别错误。

- 10.1200/JCO.2010.33.6313]
- 11 Cho EY, Srivastava A, Park K, Kim J, Lee MH, Do I, Lee J, Kim KM, Sohn TS, Kang WK, Kim S. Comparison of four immunohistochemical tests and FISH for measuring HER2 expression in gastric carcinomas. *Pathology* 2012; 44: 216-220 [PMID: 22437741 DOI: 10.1097/PAT.0b013e3283513e8b]
 - 12 Im SA, Kim JW, Kim JS, Kim MA, Jordan B, Pickl M, Han SW, Oh DY, Lee HJ, Kim TY, Kim WH, Yang HK, Bang YJ. Clinicopathologic characteristics of patients with stage III/IV (M(0)) advanced gastric cancer, according to HER2 status assessed by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *Diagn Mol Pathol* 2011; 20: 94-100 [PMID: 21532492 DOI: 10.1097/PDM.0b013e3181fc02b7]
 - 13 Park YS, Hwang HS, Park HJ, Ryu MH, Chang HM, Yook JH, Kim BS, Jang SJ, Kang YK. Comprehensive analysis of HER2 expression and gene amplification in gastric cancers using immunohistochemistry and in situ hybridization: which scoring system should we use? *Hum Pathol* 2012; 43: 413-422 [PMID: 21855114 DOI: 10.1016/j.humpath.2011.05.019]
 - 14 Albarello L, Pecciarini L, Doglioni C. HER2 testing in gastric cancer. *Adv Anat Pathol* 2011; 18: 53-59 [PMID: 21169738 DOI: 10.1097/PAP.0b013e3182026d72]
 - 15 陈娟, 李东石, 余英豪, 王烈, 欧阳学农, 谢飞来, 熊喜生. Her-2蛋白在胃癌中的表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1375-1379
 - 16 Yang J, Luo H, Li Y, Li J, Cai Z, Su X, Dai D, Du W, Chen T, Chen M. Intratumoral heterogeneity determines discordant results of diagnostic tests for human epidermal growth factor receptor (HER) 2 in gastric cancer specimens. *Cell Biochem Biophys* 2012; 62: 221-228 [PMID: 21927816 DOI: 10.1007/s12013-011-9286-1]
 - 17 Hofmann M, Stoss O, Shi D, Büttner R, van de Vijver M, Kim W, Ochiai A, Rüschoff J, Henkel T. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology* 2008; 52: 797-805 [PMID: 18422971 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2008.03028.x]
 - 18 Rüschoff J, Nagelmeier I, Baretton G, Dietel M, Höfler H, Schildhaus HU, Büttner R, Schlake W, Stoss O, Kreipe HH. [Her2 testing in gastric cancer. What is different in comparison to breast cancer?]. *Pathologe* 2010; 31: 208-217 [PMID: 20443098 DOI: 10.1007/s00292-010-1278-1]
 - 19 Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GH, van de Vijver M, Wheeler TM, Hayes DF. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 118-145 [PMID: 17159189 DOI: 10.1200/JCO.2006.09.2775]
 - 20 Ross JS. Update on HER2 testing for breast and upper gastrointestinal tract cancers. *Biomark Med* 2011; 5: 307-318 [PMID: 21657840 DOI: 10.2217/bmm.11.31]
 - 21 Hofmann M, Stoss O, Gaiser T, Kneitz H, Heinmöller P, Gutjahr T, Kaufmann M, Henkel T, Rüschoff J. Central HER2 IHC and FISH analysis in a trastuzumab (Herceptin) phase II monotherapy study: assessment of test sensitivity and impact of chromosome 17 polysomy. *J Clin Pathol* 2008; 61: 89-94 [PMID: 17412870 DOI: 10.1136/jcp.2006.043562]
 - 22 Kunz PL, Mojtahed A, Fisher GA, Ford JM, Chang DT, Balise RR, Bangs CD, Cherry AM, Pai RK. HER2 expression in gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma in a US population: clinicopathologic analysis with proposed approach to HER2 assessment. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2012; 20: 13-24 [PMID: 21617522 DOI: 10.1097/PAI.0b013e31821c821c]
 - 23 Fox SB, Kumarasinghe MP, Armes JE, Bilous M, Cummings MC, Farshid G, Fitzpatrick N, Francis GD, McCloud PI, Raymond W, Morey A. Gastric HER2 Testing Study (GaTHER): an evaluation of gastric/gastroesophageal junction cancer testing accuracy in Australia. *Am J Surg Pathol* 2012; 36: 577-582 [PMID: 22314190 DOI: 10.1097/PAS.0b013e318244adbb]
 - 24 Yan B, Yau EX, Bte Omar SS, Ong CW, Pang B, Yeoh KG, Salto-Tellez M. A study of HER2 gene amplification and protein expression in gastric cancer. *J Clin Pathol* 2010; 63: 839-842 [PMID: 20696687 DOI: 10.1136/jcp.2010.076570]
 - 25 钟山, 余英豪. 胃癌HER-2基因检测方法及其靶向治疗的研究现状. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2785-2789
 - 26 Kim MA, Lee HJ, Yang HK, Bang YJ, Kim WH. Heterogeneous amplification of ERBB2 in primary lesions is responsible for the discordant ERBB2 status of primary and metastatic lesions in gastric carcinoma. *Histopathology* 2011; 59: 822-831 [PMID: 22092393 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2011.04012.x]
 - 27 Liu W, Zhong S, Chen J, Yu Y. HER-2/neu overexpression is an independent prognostic factor for intestinal-type and early-stage gastric cancer patients. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: e31-e37 [PMID: 22064554 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31823457ea]
 - 28 Sasaki H, Shimizu S, Endo K, Takada M, Kawahara M, Tanaka H, Matsumura A, Iuchi K, Haneda H, Suzuki E, Kobayashi Y, Yano M, Fujii Y. EGFR and erbB2 mutation status in Japanese lung cancer patients. *Int J Cancer* 2006; 118: 180-184 [PMID: 16003726 DOI: 10.1002/ijc.21301]
 - 29 Pagni F, Zannella S, Ronchi S, Garanzini C, Leone BE. HER2 status of gastric carcinoma and corresponding lymph node metastasis. *Pathol Oncol Res* 2013; 19: 103-109 [PMID: 22907801 DOI: 10.1007/s12253-012-9564-2]
 - 30 Vance GH, Barry TS, Bloom KJ, Fitzgibbons PL, Hicks DG, Jenkins RB, Persons DL, Tubbs RR, Hammond ME. Genetic heterogeneity in HER2 testing in breast cancer: panel summary and guidelines. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133: 611-612 [PMID: 19391661 DOI: 10.1043/1543-2165-133.4.611]
 - 31 Ohlschlegel C, Zahel K, Kradolfer D, Hell M, Jochum W. HER2 genetic heterogeneity in breast carcinoma. *J Clin Pathol* 2011; 64: 1112-1116 [PMID: 22011446 DOI: 10.1136/jclinpath-2011-200265]
 - 32 Fusco N, Rocco EG, Del Conte C, Pellegrini C, Bulfamante G, Di Nuovo F, Romagnoli S, Bosari S. HER2 in gastric cancer: a digital image analysis in pre-neoplastic, primary and metastatic lesions. *Mod Pathol* 2013; 26: 816-824 [PMID: 23348899 DOI: 10.1038/modpathol.2012.228]
 - 33 Cho J, Jeong J, Sung J, Sung CO, Kim KM, Park CK, Choi MG, Sohn TS, Bae JM, Kim S. A Large Cohort of Consecutive Patients Confirmed Frequent HER2

- Positivity in Gastric Carcinomas with Advanced Stages. *Ann Surg Oncol* 2012 Dec 30. [Epub ahead of print] [PMID: 23274580]
- 34 Lee HE, Park KU, Yoo SB, Nam SK, Park do J, Kim HH, Lee HS. Clinical significance of intratumoral HER2 heterogeneity in gastric cancer. *Eur J Cancer* 2013; 49: 1448-1457 [PMID: 23146959 DOI: 10.1016/j.ejca.2012.10.018]
- 35 Seol H, Lee HJ, Choi Y, Lee HE, Kim YJ, Kim JH, Kang E, Kim SW, Park SY. Intratumoral heterogeneity of HER2 gene amplification in breast cancer: its clinicopathological significance. *Mod Pathol* 2012; 25: 938-948 [PMID: 22388760 DOI: 10.1038/modpathol.2012.36]
- 36 杨飞, 杨文涛, 步宏. 乳腺癌HER2检测中的新问题. *中华病理学杂志* 2012; 41: 289-292
- 37 Bozzetti C, Negri FV, Lagrasta CA, Crafa P, Bassano C, Tamagnini I, Gardini G, Nizzoli R, Leonardi F, Gasparro D, Camisa R, Cavalli S, Silini EM, Ardizoni A. Comparison of HER2 status in primary and paired metastatic sites of gastric carcinoma. *Br J Cancer* 2011; 104: 1372-1376 [PMID: 21487407 DOI: 10.1038/bjc.2011.121]
- 38 Marx AH, Tharun L, Muth J, Dancau AM, Simon R, Yekebas E, Kaifi JT, Mirlacher M, Brümmendorf TH, Bokemeyer C, Izbicki JR, Sauter G. HER-2 amplification is highly homogenous in gastric cancer. *Hum Pathol* 2009; 40: 769-777 [PMID: 19269014 DOI: 10.1016/j.humpath.2008.11.014]
- 39 Reichelt U, Duesedau P, Tsourlakis MCh, Quaas A, Link BC, Schurr PG, Kaifi JT, Gros SJ, Yekebas EF, Marx A, Simon R, Izbicki JR, Sauter G. Frequent homogeneous HER-2 amplification in primary and metastatic adenocarcinoma of the esophagus. *Mod Pathol* 2007; 20: 120-129 [PMID: 17143264 DOI: 10.1038/modpathol.3800712]
- 40 Grabsch H, Sivakumar S, Gray S, Gabbert HE, Müller W. HER2 expression in gastric cancer: Rare, heterogeneous and of no prognostic value - conclusions from 924 cases of two independent series. *Cell Oncol* 2010; 32: 57-65 [PMID: 20208134 DOI: 10.3233/CLO-2009-0497]
- 41 Grillo F, Fassan M, Ceccaroli C, Giacometti C, Curto M, Zagonel V, Ceppa P, Nitti D, Castoro C, Fiocca R, Rugge M, Mastracci L. The Reliability of Endoscopic Biopsies in Assessing HER2 Status in Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer: A Study Comparing Biopsies with Surgical Samples. *Transl Oncol* 2013; 6: 10-16 [PMID: 23418612]
- 42 Pirrelli M, Caruso ML, Di Maggio M, Armentano R, Valentini AM. Are biopsy specimens predictive of HER2 status in gastric cancer patients? *Dig Dis Sci* 2013; 58: 397-404 [PMID: 22918687 DOI: 10.1007/s10620-012-2357-3]
- 43 Lee JW, Soung YH, Kim SY, Park WS, Nam SW, Kim SH, Lee JY, Yoo NJ, Lee SH. ERBB2 kinase domain mutation in a gastric cancer metastasis. *APMIS* 2005; 113: 683-687 [PMID: 16309427]
- 44 Bose R, Kavuri SM, Searleman AC, Shen W, Shen D, Koboldt DC, Monsey J, Goel N, Aronson AB, Li S, Ma CX, Ding L, Mardis ER, Ellis MJ. Activating HER2 mutations in HER2 gene amplification negative breast cancer. *Cancer Discov* 2013; 3: 224-237 [PMID: 23220880 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0349]
- 45 Okines AF, Cunningham D. Trastuzumab in gastric cancer. *Eur J Cancer* 2010; 46: 1949-1959 [PMID: 20542421 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.05.003]
- 46 Zhang XL, Yang YS, Xu DP, Qu JH, Guo MZ, Gong Y, Huang J. Comparative study on overexpression of HER2/neu and HER3 in gastric cancer. *World J Surg* 2009; 33: 2112-2118 [PMID: 19636613 DOI: 10.1007/s00268-009-0142-z]
- 47 Jørgensen JT. Targeted HER2 treatment in advanced gastric cancer. *Oncology* 2010; 78: 26-33 [PMID: 20185938 DOI: 10.1159/000288295]
- 48 Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A, Fushida S, Kimura H, Ohoyama S, Miyazaki I, Endou Y, Tanaka M, Sasaki T. Evaluation of immunoreactivity for erbB-2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 1034-1038 [PMID: 1670998]
- 49 Chua TC, Merrett ND. Clinicopathologic factors associated with HER2-positive gastric cancer and its impact on survival outcomes--a systematic review. *Int J Cancer* 2012; 130: 2845-2856 [PMID: 21780108 DOI: 10.1002/ijc.26292]
- 50 Jørgensen JT, Hersom M. HER2 as a Prognostic Marker in Gastric Cancer - A Systematic Analysis of Data from the Literature. *J Cancer* 2012; 3: 137-144 [PMID: 22481979 DOI: 10.7150/jca.4090]
- 51 Fornaro L, Lucchesi M, Caparello C, Vasile E, Caponi S, Ginocchi L, Masi G, Falcone A. Anti-HER agents in gastric cancer: from bench to bedside. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 8: 369-383 [PMID: 21647199 DOI: 10.1038/nrgastro.2011.81]

同行评价

本文是一篇有关病理专业对胃癌HER2检测方法综述。对胃癌HER2检测的方法标准、指导方针以及一些新观点进行综述。题目较新颖, 论点清晰, 文笔流畅, 结论明确。参考文献较新。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



急性肝衰竭肝移植围手术期治疗的研究进展

高加林, 施晓雷

■背景资料

由于供肝短缺患者需等待时间较长以及移植后复杂的术后并发症、免疫抑制剂和抗生素的大量使用等问题的存在, 使得急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)患者在肝移植围手术期面临着各种各样的难题, 并直接关系到肝移植手术成功率以及术后并发症的发生率、病死率。

高加林, 南京中医药大学 江苏省南京市 210000
施晓雷, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科 江苏省南京市 210008
高加林, 主要从事普通外科的相关研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81170418
作者贡献分布: 本文综述由高加林完成; 施晓雷审校。
通讯作者: 施晓雷, 副教授, 博士生导师, 210008, 江苏省南京市中山路321号, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科。
njsxl2000@163.com
收稿日期: 2013-09-22 修回日期: 2013-10-28
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-28

Perioperative management in liver transplantation for acute liver failure

Jia-Lin Gao, Xiao-Lei Shi

Jia-Lin Gao, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China
Xiao-Lei Shi, Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81170418
Correspondence to: Xiao-Lei Shi, Associate Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Drum-Tower Hospital of Nanjing University Medical School, 321 Zhongshan Road, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China. njsxl2000@163.com
Received: 2013-09-22 Revised: 2013-10-28
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-28

Abstract

Acute liver failure occurs abruptly with rapid progression. Traditional medical treatment and simple non-bioartificial liver support system cannot reverse the prognosis of acute liver failure (ALF), and liver transplantation is the only effective treatment. However, donor liver shortage, the need of a life-long immunosuppressive therapy as well as complex postoperative complications make ALF patients facing a variety of challenges in the perioperative period of liver transplantation, which are directly related to the success rate of surgery and the mortality. This article aims to discuss perioperative difficulties and preventive measures in liver transplantation for ALF by exploring how to extend the lives of patients before liver transplantation and how to deal with postoperative complications.

■同行评议者

郑素军, 副教授, 副主任医师, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

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

Key Words: Acute liver failure; Liver transplantation; Perioperative management; Advance

Gao JL, Shi XL. Perioperative management in liver transplantation for acute liver failure. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4104-4109 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4104.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4104>

摘要

急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)起病急、病情进展快, 传统的内科治疗及单纯的非生物人工肝治疗难以逆转ALF预后, 肝移植是目前临床唯一有效治疗手段, 但由于供肝短缺患者需等待时间较长, 以及移植后复杂的术后并发症、免疫抑制剂和抗生素的大量使用等问题的存在, 使得ALF患者在肝移植围手术期面临着各种各样的难题, 并直接关系到肝移植手术成功率以及术后并发症的发生率、病死率。本文从术前如何延长患者生命以及术后并发症处理新进展两方面, 探讨ALF肝移植围手术期难点及其防治措施。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 急性肝衰竭; 肝移植; 围手术期; 进展

核心提示: 本文探讨急性肝衰竭(acute liver failure)肝移植围手术期难点及其防治措施。术前采用细胞移植或生物人工肝支持治疗, 在供肝则采用抗氧化和细胞保护治疗等缺血预处理方式充分保障移植肝的功能, 术后通过免疫抑制剂个体化用药及围手术期处理相关规范的制定。

高加林, 施晓雷. 急性肝衰竭肝移植围手术期治疗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(36): 4104-4109 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4104.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4104>

0 引言

肝脏具有生物合成、解毒及代谢等功能, 是人

体重要器官. 急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)是由于肝炎病毒、药物或其他各种原因, 引发的急剧且广泛的肝细胞死亡、肝功能严重损害, 导致大量内源性毒素和炎性介质在体内蓄积, 进而影响各重要脏器功能, 主要表现为黄疸、肝性脑病和凝血功能障碍等, 具有起病急、进展快、病情复杂、病死率高等特点^[1]. 传统的内科治疗及单纯的非生物人工肝治疗难以逆转ALF预后, 肝移植是目前临床唯一有效治疗手段, 经肝移植治疗后的重症肝病患者1年生存率在60%-90%. 但由于供肝短缺患者需等待时间较长, ALF导致移植前肝脏功能损害严重、病情进展快, 以及移植后复杂的术后并发症、免疫抑制剂和抗生素的大量使用, 使得ALF患者在肝移植手术后面临着各种各样的问题^[2], 并直接关系到肝移植手术成功率以及术后并发症的发生率、病死率. 本文就ALF肝移植围手术期将会遇到的难点以及如何处理好这些问题做一综述.

1 ALF肝移植术前治疗

ALF病情凶险, 短期内即出现肝性脑病等严重临床表现, 自然死亡率高达80%以上^[1]. 20世纪80年代中期肝移植开始应用于治疗急性肝功能衰竭, 能明显提高这类患者的生存率, 成为目前抢救这类患者唯一有效的手段, 但存在供肝短缺等难题^[3]. 因此, ALF肝移植术前治疗措施主要围绕着延长患者生存时间以等待合适供肝这一焦点, 包括内科治疗、细胞移植以及人工肝支持系统等.

1.1 内科治疗 目前ALF的内科治疗尚缺乏特效药物和手段, 主张早期诊断、早期治疗, 在一般支持治疗的基础上针对不同病因采取相应的治疗措施, 如对HBV DNA阳性的ALF患者采用核苷类似物(拉米夫定、恩替卡韦等), 对药物性ALF首先停用可能导致肝损害的药物, 对毒蕈中毒患者使用飞蓟素或青霉素G以及使用促肝细胞生长素和前列腺素E1脂质体等药物促进肝细胞再生等; 此外, 还需积极防治肝性脑病、脑水肿及感染等各种并发症.

1.2 细胞移植 肝细胞移植(hepatocyte transplantation, HCT)是将正常成年肝细胞、不同发育阶段的肝细胞、肝潜能细胞、修饰型肝细胞以及相关生长刺激因子, 通过不同途径移植到受体适当的靶位, 使之定居、增殖、重建肝组织结构, 并发挥正常肝功能的肝组织工程学手段^[4].

早在上世纪初期, 就有众多学者设想通过移

植健康的细胞或脏器碎片来治疗严重肝及代谢性疾病, 但直到机械和酶消化结合分离肝细胞获得成功, 及改良原位两步酶灌注分离技术的出现, 大量高度纯化的肝细胞可以快速方便的取得, 肝细胞移植才获得实质性进展. 而其研究方向正是将肝脏细胞移植技术应用于临床, 使之成为治疗肝脏疾病的一种有效手段, 并有可能替代因供肝缺乏而受到限制的肝移植. 对于等待肝移植的患者, 可接受简便的肝细胞移植, 防止肝功能衰竭.

目前报道的有肝细胞移植临床研究约40余例^[5-10], 研究发现早期肝细胞移植对急性肝衰竭治疗有效, 肝细胞移植能改善肝性脑病, 降低血氨和胆红素水平, 但不能改善患者生存率, 其中18例急性肝衰竭患者在接受了肝细胞移植后有6例患者成功过渡至原位肝移植. 研究表明, 肝细胞移植在肝衰竭的治疗中发挥了重要作用, 他既有可能使某些患者完全恢复肝功能, 又可对等待肝移植的患者起到桥梁治疗作用, 但目前仍处于研究阶段, 且存在免疫排斥、肝细胞来源缺乏等难题; 相比之下, 干细胞能自我复制且具有分化潜能, 能诱导定向分化成肝细胞^[11], 较肝细胞有更小的免疫排斥可能, 可用于细胞移植治疗ALF, 目前干细胞移植治疗在动物模型及早期临床实验中取得了部分成功^[12,13], 但仍需探索更成熟的干细胞分离、纯化、鉴定、培养以及分化技术, 移植的最佳时机, 移植后干细胞转归以及是否具有致瘤性等问题, 有待进一步研究.

1.3 人工肝支持系统 人工肝支持系统(artificial liver support system, ALSS)是指用人工方式代替ALF患者肝功能, 为患者提供支持治疗的装置与方法^[14]. 体外ALSS分为非生物人工肝(non bio-artificial liver, NBAL)和生物人工肝(bioartificial liver, BAL). NBAL是通过血液透析、血液滤过、血液灌流、血浆置换及白蛋白透析等办法, 去除水中的水溶性及脂溶性毒素如氨、胆红素及各种炎症因子等, 从而改善ALF患者的各项指标, 从而达到治疗的目的, 但无法替代肝脏的合成分泌及生物转化功能. 1986年Demetriou^[15]教授首次提出了BAL的概念, 即由肝细胞和人工解毒装置共同组成的循环系统, 该系统不仅有NBAL的清除毒素的作用, 还能发挥肝细胞的合成和代谢功能, 是治疗ALF的有效手段之一.

目前进入临床试验的BAL主要有: (1)采用微粒包裹冻存过的猪肝细胞和中空纤维管式反

■研究前沿
肝移植手术技术越来越成熟, 许多肝移植中心的手术成功率超过90%, 5年生存率>70%, 围手术期处理也逐渐标准化, 但仍存在一些处理上的难点, 一方面是术前如何延长患者生存时间以等待供肝; 另一方面则是如何处理好移植肝无功能、病毒再感染及胆道并发症等围手术期难题.

■相关报道

施晓雷等研究发现干细胞能自我复制且具有分化潜能,能诱导定向分化成肝细胞; Horwitz及Masuda等研究发现干细胞较肝细胞有更小的免疫排斥可能,可用于细胞移植治疗ALF,目前干细胞移植治疗在动物模型及早期临床实验中取得了部分成功。

反应器的HepatAssit,在美国和20个临床医疗中心的171例包括爆发性肝衰和无功能移植肝患者的随机临床试验中,患者以1:1随机分为标准内科治疗组和HepatAssit治疗组,结果显示HepatAssit不能改善患者生存率,但能显著降低ALF患者的移植前风险,提高HepatAssit治疗后肝移植患者的生存率^[16-19]; (2)采用C3A细胞株和中空纤维管式反应器的ELAD(extracorporeal liver assist device),在Millis等^[20]的随机对照试验中,ELAD治疗组12例有11例(92%)最终顺利过渡至肝移植,而对照组7例只有3例(43%)安全过渡至肝移植,有统计学差异,显示ELAD治疗在作为肝移植桥接手段上有着显著作用,ELAD的临床试验已于07年在我国正式启动; (3)采用猪肝细胞和中空纤维管式反应器的BLSS(bioartificial liver support system),在I期临床试验中,Mazaregios报道^[21],4例急性肝衰竭患者都能耐受治疗且血胆红素和血氨都有所下降,其主要不良反应是治疗过程中可能会发生的低血压,且未发现猪逆转录病毒PERV(porcine endogenous retrovirus)感染; (4)由荷兰阿姆斯特丹大学研究人员研发的AMC-BAL(Amsterdam Medical Center-Bioartificial Liver),成功将11例患者过渡到肝移植,所有患者均耐受治疗且血氨、血胆红素以及神经系统功能均得到改善^[22]; (5)德国柏林Gerlach小组在1996年研发的MELS模块型体外肝支持系统(modular extracorporeal liver support system, MELS),在8例ALF患者参与的I期临床试验中显示,患者对治疗过程能较好地耐受,血小板减少是观察到的唯一的不良反应,所有患者均成功过渡到肝移植,其中有3例患者生活了3年,且所有患者均未观察到PERV感染^[23]; (6)南京大学医学院附属鼓楼医院自行研发的新型生物人工肝支持系统,该系统采用猪肝细胞与骨髓间充质干细胞的2:1共培养体系为细胞材料^[24],并结合自主研发的基于壳聚糖纳米纤维支架的多层平板式生物反应器^[25],最初应用于38例肝功能衰竭患者共48例次的治疗后统计结果是:临床治愈9例,好转25例,其中7例患者经顺利过渡到肝移植,并完善了异种细胞的病毒和免疫安全性评估,未发现PERV传播及免疫排斥风险^[26]。以上临床研究显示,BAL能改善终末期肝病患者神经系统状态和生化指标,延长患者生存时间,顺利过渡至肝移植,但未能证明在生存率方面的改善。目前BAL仍有一些问题尚待优化,例如如何获得足量有功能的细胞材料,如何优化细

胞体外培养环境及能使肝细胞长期稳定生存的生物反应器的研制等。

2 ALF肝移植术后处理

肝移植术后面临的主要问题是保持移植长期稳定的功能发挥和提高患者的长期生活质量。肝移植术后并发症主要有移植肝功能障碍或无功能、感染、胆道并发症、血管并发症及肾功能不全等。ALF肝移植术后围手术期处理的难点和焦点主要集中在移植肝功能丧失、病毒再感染及胆道并发症等常见并发症的防治上。

2.1 移植肝功能丧失 术后早期移植肝无功能的发生是多因素所致,包括供体相关因素、取肝及保存相关因素、受者相关因素等。供体相关危险因素包括:供体年龄>50岁^[27],供肝活检发现脂肪肝(>30%)^[28],供体有严重的高钠血症(血清钠超过170 mmol/L)^[29]及保存时间>18 h^[30-32]。受体因素也是影响术后移植肝无功能的重要因素,主要有免疫反应、免疫抑制药物的使用及病毒再感染等,若出现无法解释的移植肝无功能,则可能是宿主免疫反应。临床评估对辨别移植肝功能丧失有重要意义,移植肝无功能的患者往往在肝移植术后早期即出现急性肝功能衰竭(肝性脑病、腹水、凝血异常、不稳定的血流动力学)、肝酶谱升高和继发性多器官功能衰竭等表现,而肝性脑病的好转、尿量充足以及不存在代谢性酸中毒等则预示移植肝功能正常^[26]。另外,在大量输血的患者,出现代谢性碱中毒是移植肝功能不良的敏感指标,其原因是移植肝不能将库存血中的枸橼酸盐代谢为碳酸氢盐^[33]。

对移植肝无功能尚无有效的治疗方法,移植肝功能丧失一般是不可逆的,患者的生存只能寄希望于早期再移植。文献报道,发生原发性移植肝无功能需要再次移植的比例为6.9%-8.5%。预防缺血再灌注损伤可降低早期移植肝功能丧失的可能性^[34],抗氧化和细胞保护治疗等缺血预处理是其主要手段^[31,32],其作用机制可能与抑制促细胞凋亡相关蛋白表达有关^[35-37]。

2.2 病毒再感染 在我国,ALF中慢性肝病急性衰竭占大多数,且多由病毒性肝炎肝硬化发展而来,HBV再感染是移植肝功能丧失及患者死亡的重要原因,HBV再感染后,病毒复制较移植前大量增加,可以迅速导致持续的移植肝功能损害、肝硬化及肝功能衰竭,最终导致患者死亡或再次肝移植,严重影响了肝移植的远期疗效^[38]。病毒再感染的影响因素很多,现普遍认为移植

后免疫抑制剂的应用、术前病毒复制状态、病毒基因型、术后乙型肝炎复发预防方案、排斥反应等^[39]。因此, 如何预防并处理HBV/HCV的复发是ALF肝移植术后一大难题。

目前研究认为, 肝移植术后HBsAg在血液中再次出现为HBV再感染的标志, HBcAg与HBV DNA阳性为HBV高复制状态的标志。在约20年前, 由于缺乏有效预防措施, HBV再感染的发生率可达到75%, 平均再感染时间在术后3.2 mo^[40]; 而在采用大剂量静脉注射HBIg联合拉米夫定预防后, 病毒再感染发生率降至10%以下, 且再感染时间一般出现在术后1年内^[38,41,42], 对于存在术后HBV再感染高危因素如术前HBeAg阳性患者, 可在术后早期加大HBIg用量, 确保HBsAb浓度>200 IU/L, 可有效降低肝移植术后HBV再感染率。另外, 对于合并有HDV感染的HBV患者, 移植术后HBV再感染率较低, 其原因是HDV抑制了HBV的复制^[38]。HCV再感染在肝移植术后患者也很常见, 术后9 d是HCV复制高发期^[43], Samuel等^[44]发现丙肝移植术后患者HCV抗原在20 d内检出率为37%, 而在术后6 mo达90%, 其主要影响因素为术前HCV的病毒量^[45], 干扰素和利巴韦林治疗肝移植术后HCV病毒感染的持续病毒学应答率(sustained virological response, SVR)为10%-30%, 派罗欣和利巴韦林治疗其SVR可以达到25%-45%, 能有效降低HCV复制水平^[46]。

另一方面, 由于至今尚缺乏有效的指标来指导用药, 术后免疫抑制药物使用不当也是导致移植术后病毒复发的一个重要原因^[47]。近年来, 在临床肝移植工作中有学者发现约20%左右的肝移植受体在停用免疫抑制剂后肝脏功能仍保持稳定且能够长期存活, 这种现象被称为临床可操作性免疫耐受(clinical operational tolerance, COT)^[48], 通过基因筛查指导临床个体化用药最终实现COT的研究, 或许可使移植患者降低术后病毒再复发及移植肝无功能的可能性, 并脱离长期服用免疫抑制剂所带来的感染和肿瘤的风险。

2.3 胆道并发症 肝移植术后胆道并发症主要有胆漏、胆道狭窄和胆道结石等, 其中胆漏在围手术期多见, 发生率为4.3%^[49], 通常是由外科吻合口破裂、肝动脉血栓形成引起的缺血性损伤或拔出T管引起^[50]。胆漏的症状和体征包括引流胆汁样液体、腹痛和/或肩部疼痛、胆红素升高、恶心、呕吐及发热等。多数情况下, 超声诊断并不能直接提示胆漏^[51], 超声引导下穿刺可帮

助诊断; 胆道核素扫描是无创的检查技术, 但仅能发现较大的胆汁渗漏; 若胆总管内留置导管, 胆道造影可以明确诊断^[52]。移植后若发现胆漏应积极处理, 予以超声引导下穿刺置管引流或经内镜下置管引流等处理, 保守治疗无效者, 需手术治疗或二次肝移植^[53]。胆道狭窄及梗阻、胆道结石等胆道并发症多发生于移植后晚期。胆道狭窄和结石者多采用内镜下介入治疗, 放置胆道支架, 疗效不理想时改为手术治疗; 围手术期也可见胆道梗阻, 多继发于水肿, 一般保守治疗。

3 结论

近年来, 肝移植手术技术越来越成熟, 我国肝移植数量增长迅速, 许多肝移植中心的手术成功率超过90%, 5年生存率>70%, 围手术期处理也逐渐标准化, 但仍存在一些处理上的难点, 一方面是术前如何延长患者生存时间以等待供肝, 另一方面则是如何处理好移植肝无功能、病毒再感染及胆道并发症等围手术期难题。随着临床及科研的不断进步, 可以预见: 术前采用细胞移植或生物人工肝支持治疗, 改善患者相关指标, 起到桥梁治疗作用, 使患者顺利过渡至肝移植; 在供肝则采用抗氧化和细胞保护治疗等缺血预处理方式充分保障移植肝的功能; 术后, 通过免疫抑制剂个体化用药及围手术期处理相关规范的制定, 充分避免术后并发症的发生, 保证患者的远期存活率。这些都让我们拭目以待。

4 参考文献

- 1 Lee WM. Acute liver failure. *N Engl J Med* 1993; 329: 1862-1872 [PMID: 8305063 DOI: 10.1056/NEJM199312163292508]
- 2 Millis JM, Losanoff JE. Technology insight: liver support systems. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 398-405; quiz 434 [PMID: 16265430 DOI: 10.1038/ncpgasthep0254]
- 3 Harper AM, Rosendale JD, McBride MA, Cherikh WS, Ellison MD. The UNOS OPTN waiting list and donor registry. *Clin Transpl* 1998; 73-90 [PMID: 10503086]
- 4 Rust C, Gores GJ. Hepatocyte transplantation in acute liver failure: a new therapeutic option for the next millennium? *Liver Transpl* 2000; 6: 41-43 [PMID: 10648576 DOI: 10.1002/lt.500060115]
- 5 Mito M, Kusano M, Kawaura Y. Hepatocyte transplantation in man. *Transplant Proc* 1992; 24: 3052-3053 [PMID: 1466053]
- 6 Strom SC, Fisher RA, Thompson MT, Sanyal AJ, Cole PE, Ham JM, Posner MP. Hepatocyte transplantation as a bridge to orthotopic liver transplantation in terminal liver failure. *Transplantation* 1997; 63: 559-569 [PMID: 9047152 DOI: 10.1097/00007890-199702270-00014]
- 7 Strom SC, Fisher RA, Rubinstein WS, Barranger

■创新盘点

由于供肝短缺患者需等待时间较长, ALF导致移植前肝脏功能损害严重、病情进展快, 以及移植后复杂的术后并发症、免疫抑制剂和抗生素的大量使用, 使得患者在肝移植手术前后面临着很多问题, 本文从术前延长患者生命以及术后并发症处理新进展两方面, 探讨ALF肝移植围手术期难点及其防治措施。

■应用要点

术前采用细胞移植或生物人工肝支持治疗,改善患者相关指标,起到桥梁治疗作用,使患者顺利过渡至肝移植;在供肝则采用抗氧化和细胞保护治疗等缺血预处理方式充分保障移植肝的功能;术后,通过免疫抑制剂个体化用药及围手术期处理相关规范的制定,充分避免术后并发症的发生,保证患者的远期存活率。

- JA, Towbin RB, Charron M, Miele L, Pizarov LA, Dorko K, Thompson MT, Reyes J. Transplantation of human hepatocytes. *Transplant Proc* 1997; 29: 2103-2106 [PMID: 9193547 DOI: 10.1016/S0041-1345(97)00252-2]
- 8 Strom SC, Chowdhury JR, Fox IJ. Hepatocyte transplantation for the treatment of human disease. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 39-48 [PMID: 10349682 DOI: 10.1055/s-2007-1007096]
- 9 Bilir BM, Guinette D, Karrer F, Kumpe DA, Krysl J, Stephens J, McGavran L, Ostrowska A, Durham J. Hepatocyte transplantation in acute liver failure. *Liver Transpl* 2000; 6: 32-40 [PMID: 10648575 DOI: 10.1002/lt.500060113]
- 10 Habibullah CM, Syed IH, Qamar A, Taher-Uz Z. Human fetal hepatocyte transplantation in patients with fulminant hepatic failure. *Transplantation* 1994; 58: 951-952 [PMID: 7940741 DOI: 10.1097/00007890-199410270-00016]
- 11 Shi XL, Mao L, Xu BY, Xie T, Zhu ZH, Chen JH, Li L, Ding YT. Optimization of an effective directed differentiation medium for differentiating mouse bone marrow mesenchymal stem cells into hepatocytes in vitro. *Cell Biol Int* 2008; 32: 959-965 [PMID: 18486499 DOI: 10.1016/j.cellbi.2008.04.013]
- 12 Horwitz EM, Maziarz RT, Kebriaei P. MSCs in hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17: S21-S29 [PMID: 21195306 DOI: 10.1016/j.bbmt.2010.11.026]
- 13 Masuda S, Ageyama N, Shibata H, Obara Y, Ikeda T, Takeuchi K, Ueda Y, Ozawa K, Hanazono Y. Cotransplantation with MSCs improves engraftment of HSCs after autologous intra-bone marrow transplantation in nonhuman primates. *Exp Hematol* 2009; 37: 1250-1257.e1 [PMID: 19638293 DOI: 10.1016/j.exphem.2009.07.008]
- 14 Onodera K, Sakata H, Yonekawa M, Kawamura A. Artificial liver support at present and in the future. *J Artif Organs* 2006; 9: 17-28 [PMID: 16614798 DOI: 10.1007/s10047-005-0320-1]
- 15 Demetriou AA, Whiting J, Levenson SM, Chowdhury NR, Schechner R, Michalski S, Feldman D, Chowdhury JR. New method of hepatocyte transplantation and extracorporeal liver support. *Ann Surg* 1986; 204: 259-271 [PMID: 3530153 DOI: 10.1097/0000658-198609000-00005]
- 16 Demetriou AA, Rozga J, Podesta L, Lepage E, Morsiani E, Moscioni AD, Hoffman A, McGrath M, Kong L, Rosen H. Early clinical experience with a hybrid bioartificial liver. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1995; 208: 111-117 [PMID: 7777790 DOI: 10.3109/00365529509107771]
- 17 Coffman KL, Hoffman A, Rosenthal P, Demetriou A, Makowka L. Neurological and psychological sequelae in transplant recipients after bridging with the bioartificial liver. *Gen Hosp Psychiatry* 1996; 18: 20S-24S [PMID: 8937919 DOI: 10.1016/S0163-8343(96)00080-1]
- 18 Watanabe FD, Shackleton CR, Cohen SM, Goldman DE, Arnaout WS, Hewitt W, Colquhoun SD, Fong TL, Vierling JM, Busuttill RW, Demetriou AA. Treatment of acetaminophen-induced fulminant hepatic failure with a bioartificial liver. *Transplant Proc* 1997; 29: 487-488 [PMID: 9123096 DOI: 10.1016/S0041-1345(96)00219-9]
- 19 Detry O, Arkadopoulos N, Ting P, Kahaku E, Watanabe FD, Rozga J, Demetriou AA. Clinical use of a bioartificial liver in the treatment of acetaminophen-induced fulminant hepatic failure. *Am Surg* 1999; 65: 934-938 [PMID: 10515538]
- 20 Millis JM, Cronin DC, Johnson R, Conjeevaram H, Faust TW, Trevino S, Conlin C, Brotherton J, Traglia D, Maguire P, Dane G. Bioartificial liver support: report of the longest continuous treatment with human hepatocytes. *Transplant Proc* 2001; 33: 1935 [PMID: 11267578 DOI: 10.1016/S0041-1345(00)02719-6]
- 21 Mazariegos GV, Patzer JF, Lopez RC, Giraldo M, Devera ME, Grogan TA, Zhu Y, Fulmer ML, Amiot BP, Kramer DJ. First clinical use of a novel bioartificial liver support system (BLSS). *Am J Transplant* 2002; 2: 260-266 [PMID: 12096789 DOI: 10.1034/j.1600-6143.2002.20311.x]
- 22 van de Kerkhove MP, Di Florio E, Scuderi V, Mancini A, Belli A, Bracco A, Dauri M, Tisone G, Di Nicuolo G, Amoroso P, Spadari A, Lombardi G, Hoekstra R, Calise F, Chamuleau RA. Phase I clinical trial with the AMC-bioartificial liver. *Int J Artif Organs* 2002; 25: 950-959 [PMID: 12456036]
- 23 Sauer IM, Zeilinger K, Pless G, Kardassis D, Theruvath T, Pascher A, Goetz M, Neuhaus P, Gerlach JC. Extracorporeal liver support based on primary human liver cells and albumin dialysis—treatment of a patient with primary graft non-function. *J Hepatol* 2003; 39: 649-653 [PMID: 12971979]
- 24 Gu J, Shi X, Zhang Y, Chu X, Hang H, Ding Y. Establishment of a three-dimensional co-culture system by porcine hepatocytes and bone marrow mesenchymal stem cells in vitro. *Hepatol Res* 2009; 39: 398-407 [PMID: 19207578 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2008.00472.x]
- 25 Chu XH, Shi XL, Feng ZQ, Gu JY, Xu HY, Zhang Y, Gu ZZ, Ding YT. In vitro evaluation of a multi-layer radial-flow bioreactor based on galactosylated chitosan nanofiber scaffolds. *Biomaterials* 2009; 30: 4533-4538 [PMID: 19500837 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.05.020]
- 26 施晓雷, 韩冰, 郑以山, 张悦, 肖江强, 任昊桢, 马虎成, 杨永锋, 赵伟, 丁义涛. 新型多层平板型生物人工肝体外支持系统治疗肝功能衰竭的临床研究. *中华器官移植杂志* 2012; 33: 212-216
- 27 Brokelman W, Stel AL, Ploeg RJ. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation in the University of Wisconsin solution era. *Transplant Proc* 1999; 31: 2087-2090 [PMID: 10455977 DOI: 10.1016/S0041-1345(99)00270-5]
- 28 Figueras J, Busquets J, Grande L, Jaurrieta E, Perez-Ferreiro J, Mir J, Margarit C, Lopez P, Vazquez J, Casanova D, Bernardos A, De-Vicente E, Parrilla P, Ramon JM, Bou R. The deleterious effect of donor high plasma sodium and extended preservation in liver transplantation. A multivariate analysis. *Transplantation* 1996; 61: 410-413 [PMID: 8610352 DOI: 10.1097/00007890-199602150-00016]
- 29 Lindell SL, Hansen T, Rankin M, Danielewicz R, Belzer FO, Southard JH. Donor nutritional status—a determinant of liver preservation injury. *Transplantation* 1996; 61: 239-247 [PMID: 8600631 DOI: 10.1097/00007890-199601270-00014]
- 30 Nakano H, Boudjema K, Jaecq D, Alexandre E, Imbs P, Chenard MP, Nagasaki H, Kumada K, Wolf P, Cinqualbre J. Amelioration of hepatocellular integrity and inhibition of sinusoidal oxidative stress by N-acetylcysteine pretreatment in cold ischemia-reperfusion injury of rat liver. *Eur Surg Res* 1996; 28: 245-255 [PMID: 8813648 DOI: 10.1159/000129463]
- 31 Qing D, Han B. Tolerance limits of liver grafts with 30 minutes of warm ischemia to cold preservation

- in swine. *Transplant Proc* 2005; 37: 409-412 [PMID: 15808661 DOI: 10.1016/j.transproceed.2004.11.064]
- 32 Muiesan P, Girlanda R, Jassem W, Melendez HV, O'Grady J, Bowles M, Relá M, Heaton N. Single-center experience with liver transplantation from controlled non-heartbeating donors: a viable source of grafts. *Ann Surg* 2005; 242: 732-738 [PMID: 16244548]
- 33 Gerlach H, Gossé F, Rossaint R, Bechstein WO, Neuhaus P, Falke KJ. [The relevance of perioperative coagulation parameters for indications for blood transfusion. A retrospective analysis of 300 liver transplantations]. *Anaesthesist* 1994; 43: 168-177 [PMID: 8179166]
- 34 Weigand K, Brost S, Steinebrunner N, Büchler M, Schemmer P, Müller M. Ischemia/Reperfusion injury in liver surgery and transplantation: pathophysiology. *HPB Surg* 2012; 2012: 176723 [PMID: 22693364 DOI: 10.1155/2012/176723]
- 35 Kamo N, Shen XD, Ke B, Busuttill RW, Kupiec-Weglinski JW. Sotrastaurin, a protein kinase C inhibitor, ameliorates ischemia and reperfusion injury in rat orthotopic liver transplantation. *Am J Transplant* 2011; 11: 2499-2507 [PMID: 21883905 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03700.x]
- 36 Yeh CH, Hsu SP, Yang CC, Chien CT, Wang NP. Hypoxic preconditioning reinforces HIF- α -dependent HSP70 signaling to reduce ischemic renal failure-induced renal tubular apoptosis and autophagy. *Life Sci* 2010; 86: 115-123 [PMID: 19962996 DOI: 10.1016/j.lfs.2009.11.022]
- 37 Glanemann M, Strenziok R, Kuntze R, Münchow S, Dikopoulos N, Lippek F, Langrehr JM, Dietel M, Neuhaus P, Nussler AK. Ischemic preconditioning and methylprednisolone both equally reduce hepatic ischemia/reperfusion injury. *Surgery* 2004; 135: 203-214 [PMID: 14739856 DOI: 10.1016/j.surg.2003.08.011]
- 38 McCaughan GW. Prevention of post liver transplant HBV recurrence. *Hepatology* 2011 Aug 10. [Epub ahead of print] [PMID: 22020819 DOI: 10.1007/s12072-011-9293-8]
- 39 Roche B, Samuel D. Hepatitis: viral load predicts HBV recurrence after liver transplant. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 657-658 [PMID: 21124520 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.165]
- 40 Samuel D, Muller R, Alexander G, Fassati L, Ducot B, Benhamou JP, Bismuth H. Liver transplantation in European patients with the hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med* 1993; 329: 1842-1847 [PMID: 8247035 DOI: 10.1056/NEJM199312163292503]
- 41 Steinmüller T, Seehofer D, Rayes N, Müller AR, Settmacher U, Jonas S, Neuhaus R, Berg T, Hopf U, Neuhaus P. Increasing applicability of liver transplantation for patients with hepatitis B-related liver disease. *Hepatology* 2002; 35: 1528-1535 [PMID: 12029640 DOI: 10.1053/jhep.2002.33681]
- 42 Sousa JM, Pareja F, Serrano J, Gómez MA, García I, Tamayo MJ, Díaz C, Martín C, Pascasio JM, Hinojosa R, Pérez-Bernal JB, Cañas E, Sayago M, Bernardos A. Comparison between levels of anti-HBS with a fixed administration dose of HBIG and a combination of HBIG and lamivudine for the prophylaxis of hepatitis B after liver transplantation. *Transplant Proc* 2003; 35: 723-724 [PMID: 12644112]
- 43 Saraf N, Fiel MI, Deboccardo G, Emre S, Schiano TD. Rapidly progressive recurrent hepatitis C virus infection starting 9 days after liver transplantation. *Liver Transpl* 2007; 13: 913-917 [PMID: 17539015 DOI: 10.1002/lt.21188]
- 44 Samuel D, Forns X, Berenguer M, Trautwein C, Burroughs A, Rizzetto M, Trepo C. Report of the monothematic EASL conference on liver transplantation for viral hepatitis (Paris, France, January 12-14, 2006). *J Hepatol* 2006; 45: 127-143 [PMID: 16723165 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.05.001]
- 45 Roche B, Samuel D. Risk factors for hepatitis C recurrence after liver transplantation. *J Viral Hepat* 2007; 14 Suppl 1: 89-96 [PMID: 17958649 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2007.00920.x]
- 46 Marino M, Iemmolo RM, Montalti R, Bertolotti M, Di Benedetto F, De Ruvo N, Cautero N, Guerrini G, De Blasiis MG, Gerunda GE. Predictive factors of lack of response to antiviral therapy among in patients with recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Transplant Proc* 2010; 42: 1223-1225 [PMID: 20534266 DOI: 10.1016/j.transproceed.2010.03.052]
- 47 Ousteky DH, Riera AR, Rothstein KD. Long-term management of the liver transplant recipient: pearls for the practicing gastroenterologist. *Gastroenterol Clin North Am* 2011; 40: 659-681 [PMID: 21893279 DOI: 10.1016/j.gtc.2011.06.006]
- 48 Trotter JF, O'Grady J. Operational tolerance after liver transplantation: raising the bar or tripping up? *Am J Transplant* 2010; 10: 2193-2194 [PMID: 20840484 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2010.03252.x]
- 49 Singh AK, Nachiappan AC, Verma HA, Uppot RN, Blake MA, Saini S, Boland GW. Postoperative imaging in liver transplantation: what radiologists should know. *Radiographics* 2010; 30: 339-351 [PMID: 20228321 DOI: 10.1148/rg.302095124]
- 50 Wojcicki M, Silva MA, Jethwa P, Gunson B, Bramhall SR, Mayer D, Buckels JA, Mirza DF. Biliary complications following adult right lobe ex vivo split liver transplantation. *Liver Transpl* 2006; 12: 839-844 [PMID: 16628692 DOI: 10.1002/lt.20729]
- 51 Xu X, Wei X, Ling Q, Wang K, Bao H, Xie H, Zhou L, Zheng S. Inaccurate preoperative imaging assessment on biliary anatomy not increases biliary complications after living donor liver transplantation. *Eur J Radiol* 2012; 81: e457-e460 [PMID: 21641138 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.05.008]
- 52 Tarantino I, Barresi L, Petridis I, Volpes R, Traina M, Gridelli B. Endoscopic treatment of biliary complications after liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4185-4189 [PMID: 18636664]
- 53 Holt AP, Thorburn D, Mirza D, Gunson B, Wong T, Haydon G. A prospective study of standardized nonsurgical therapy in the management of biliary anastomotic strictures complicating liver transplantation. *Transplantation* 2007; 84: 857-863 [PMID: 17984838]

同行评价

本文有较高的学术价值, 对临床有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



炎症性肠病血清学标志物的研究进展

王建强, 黄缘

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的病因及发病机制尚不清楚, 诊断主要依靠临床表现、实验室和放射性检查、内镜及病理学检查。研究发现, 特异性血清学标志物的检测对IBD诊断及鉴别诊断具有重要的指导价值。因此, 了解特异性血清学标志物可提高临床医生对IBD的诊断。

王建强, 黄缘, 南昌大学第二附属医院消化内科 江西省南昌市 330006

王建强, 在读硕士, 主要从事肝脏及胃肠道疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由黄缘设计; 文献收集与写作由王建强完成; 黄缘审核。

通讯作者: 黄缘, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科。huang9815@yahoo.com 电话: 0791-86292163

收稿日期: 2013-09-15 修回日期: 2013-11-09

接受日期: 2013-11-25 在线出版日期: 2013-12-28

Serological markers of inflammatory bowel disease

Jian-Qiang Wang, Yuan Huang

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

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

Received: 2013-09-15 Revised: 2013-11-09

Accepted: 2013-11-25 Published online: 2013-12-28

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is an intestinal inflammatory disease of unknown etiology with two main distinguishable entities, Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC). Current diagnosis of IBD relies on the clinical, endoscopic, radiological, histological and biochemical features, but these approaches have shortcomings, especially in cases of overlapping symptoms of CD and UC. The detection of serological markers can improve the diagnosis of IBD, because an aberrant immune response against microbial or endogenous antigens in a genetically susceptible host seems to be implicated in IBD pathogenesis. Current evidence suggests that the detection of serum immunology markers is useful in differential diagnosis of CD versus UC and can be a valuable aid in stratifying patients according to disease phenotype and risk of complications.

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

Key Words: Inflammatory bowel disease; Ulcerative

colitis; Crohn's disease; Serological markers

Wang JQ, Huang Y. Serological markers of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4110-4115 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4110.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4110>

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是病因未明的肠道炎症性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)。目前, IBD的诊断需要结合临床表现、实验室和放射性检查、内镜及病理学检查。但这些方法都有其局限性, 尤其是针对和UC、CD具有相似临床表现或类似特征的肠道或其他系统疾病。血清免疫学标志物的检测可以提高IBD的诊断, 因为易感宿主体内, 针对微生物和内源性抗原的异常免疫反应是IBD发生的病理机制。研究表明, 血清学标志物的检测对于UC和CD的鉴别诊断具有重要的意义, 并将是患者疾病分型及严重程度的宝贵依据。

© 2013年版权归百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; 血清学标志物

核心提示: 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的病因及发病机制不明, 其诊断及鉴别诊断是临床研究热点。众多基础及临床研究发现, 特异性血清学标志物的检测对IBD的诊断具有重要的指导价值。本文综述了与IBD有关血清学标志物的研究进展, 为临床实验室检查提供了理论基础, 为探讨IBD的病因及发病机制提供了新方向。

王建强, 黄缘. 炎症性肠病血清学标志物的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(36): 4110-4115 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4110.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4110>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)

■同行评议者

白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

专指病因未明的IBD, 临床表现有腹痛、血便和消化不良等. 主要亚型包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD). UC和CD的临床表现相似, 但在组织学和内镜检查方面存在很大差异^[1-4].

一般而言, IBD主要发生在青春期至30岁之间, 约10%的患者发生在18岁以下^[5]. 目前, IBD的诊断依靠临床表现、内镜、放射性检查和实验室检查, 以排除具有相似临床表现的非IBD患者. 大多数病例中, UC或CD的诊断依赖于内镜和组织活检^[3,6-8]. 尽管拥有多种诊断方法, 仍有5%-15%的结肠病变患者诊断不明确, 而此类患者的临床表现既有UC的特征, 又有CD的特征, 即结肠IBD类型待定(colonic IBD type unclassified, IBDU), 其中的80%最终被诊断为UC或CD^[2,9,10].

越来越多的证据表明, IBD的发生是由于易感宿主在共生肠道菌群的刺激下, 肠道黏膜免疫系统异常反应所导致^[4,11-14]. 但是, 目前打破肠道菌群免疫耐受和免疫防御的刺激因子仍未被发现. IBD患者的血清免疫学反应, 包括抗酿酒酵母抗体(anti-saccharomices cerevisiae, ASCA)、抗细胞外膜孔道蛋白C抗体(anti-outer membrane porin C, anti-Omp C)、I2抗体(anti-I2)等抗体, 提示共生菌群可能是一刺激因子. 另一方面, IBD患者有其肠外表现(如皮肤炎、外周关节炎等), 且血清学抗中性粒细胞胞浆抗体(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA)、抗胰腺腺泡抗体(antibodies against exocrine pancreas, PAB)、抗杯状细胞抗体(antibodies to goblet cells, GAB)阳性, 因此自身免疫相关抗体的产生与其发病及诊断密切相关^[15-17]. 本文就目前已知的IBD患者血清学标志物进行简要综述.

1 血清学标志物

一般而言, 与IBD有关的血清学抗体包括两类: 抗细菌抗原抗体和自身抗体. 抗细菌抗原抗体包括: 抗多糖抗体[如抗酿酒酵母抗体(ASCA)、抗乙糖苷壳糖抗体(anti-chitobioside, ACCA)、抗乙糖苷昆布糖抗体(anti-laminaribioside, ALCA)、抗海带多糖抗体(anti-laminarin, anti-L)、抗壳质多糖抗体(anti-chitin, anti-C)等]、抗细胞外膜孔道蛋白C抗体(anti-Omp C)、I2抗体(anti-I2)、抗细菌鞭毛蛋白CBir1抗体(anti-CBir1 flagellin); 自身抗体包括: ANCA、PAB和GAB^[18].

1.1 抗多糖抗体 抗多糖抗体的抗原大多为细菌、酵母菌等微生物细胞壁中的多糖成分^[19,20]. 此类抗体中, 最为人所知的是ASCA. ASCA的抗原主要是分子量约200 kDa的磷酸肽类甘露聚糖, 如常见的啤酒酵母细胞壁成分. 通过对酿酒酵母的研究, 发现UC、CD以及正常对照者三者最大的差异在于磷酸肽类甘露聚糖, 其中甘露四糖的不同最为重要^[16,21]. 目前关于甘露聚糖诱导免疫反应的理论有三种. 第一种理论认为, ASCA的产生是因为食用酵母或移位至肠道的酵母增加了其抗原活性, 改变了肠道黏膜屏障的渗透性, 最终引起免疫反应^[21-23]; 第二种理论认为, 免疫反应的发生与酿酒酵母和分子杆菌属享有共同表位抗原有关; 第三种理论认为, 酿酒酵母中的低聚甘露糖成分与人体中低聚甘露糖结构的同源性, 导致了免疫反应的发生.

许多研究报道指出, ASCA是大多数CD患者的血清学标志物^[24], 是一种对CD具有高度特异性的抗体, 存在IgG和IgA两个亚型. 这种特异性的表达, 不仅是肠道受累时的一种简单伴随现象, 还是CD患者的一种家族性(夫妇除外)免疫应答表现. 依据是^[25]: (1)在已发病或未发病家族成员中抗甘露聚糖抗体水平呈组内相关性; (2)CD患者已发病家族成员与先证者(指首先罹病的患者)的血清学反应一致; 如Sutton等^[26]报道, 血清学阳性率及ASCA抗体水平在CD先证者及已发病亲属中分别为56.3%及51.9%, 明显高于未发病亲属的9.3%及健康对照组的3.7%. 然而, 有学者认为, CD的发病与酿酒酵母菌无关, 原因是酿酒酵母菌是一种普遍存在于人体中的微生物, 罕有引起明显感染, 其抗体的产生可能是对菌体本身的抗原反应所致, 也可能由目前尚未得到鉴定的交叉抗原引起^[27]. 因此, ASCA是否为CD的特异性标志物尚存争议, 有待进一步证实. 目前, ASCA的检测方法有间接免疫荧光法(IIF法)和酶联免疫吸附法(ELISA法)^[28-30], 两种方法的敏感性均较低.

Dotan应用聚糖阵列技术和ELISA法研究IBD患者血清中的多糖抗体, 发现了ALCA和ACCA. 乙糖苷昆布糖是一种由海带多糖构成的多糖, 而乙糖苷壳糖则由N-乙酰氨基葡萄糖构成. 乙糖苷昆布糖和乙糖苷壳糖是细菌等微生物的细胞壁成分, 可刺激机体产生免疫反应. 现认为, ALCA和ACCA对UC、CD有重要的诊断和鉴别价值. 相关报道指出, 44%ASCA阴性的CD患者ALCA和ACCA阳性, 在抗甘露聚糖、

■研发前沿

至今, IBD的特异性血清学标志物尚未被完全认识, 有待进一步探讨. 而已发现的标志物虽对IBD的诊断具有重要的指导价值, 但较低的检测率限制了其在临床上的应用, 所以应探寻新的检测方法提高检测率或寻找新的特异性血清学标志物.

■相关报道

抗中性粒细胞胞浆抗体是一种自身抗体, 分为胞质型和核周型. 核周型在溃疡性结肠炎患者中的阳性率和特异性高; 抗酿酒酵母抗体属于抗细菌抗原抗体, 对克罗恩病的诊断具有较高的特异性.

■创新盘点

目前,关于IBD血清学标志物的报道较少,且更多是关于抗中性粒细胞胞浆抗体和抗酿酒酵母抗体的报道。本文较全面的综述了与IBD有关的特异性血清学标志物,对临床诊治具有重要的指导价值。

ALCA、ACCA阳性的患者中,CD的敏感性是77.4%,特异性是90.6%^[31];另外,小肠发病部位与高滴度的ALCA和ACCA显著相关。

最近,发现了与IBD相关的抗海带多糖(anti-L)IgA抗体、抗壳质多糖(anti-C)IgA抗体^[32]。与ASCA相似,这些抗体对CD患者有特异性,但敏感性较低。

1.2 抗细胞外膜孔道蛋白C抗体 OmpC最初被认为可与ANCA发生交叉免疫反应^[33],后国外学者通过遗传学、生物化学和抗原抗体反应证实了其来源于大肠杆菌的外膜孔道蛋白C。研究发现,OmpC抗体存在IgG和IgA两个亚型,UC患者尤其是ANCA阳性者血清中可检测到抗OmpC IgG抗体,而抗OmpC IgA抗体则在CD患者血清中分泌过多^[34,35],但较低的检测率限制了其在临床诊断中的应用。另外,OmpC抗体能发现一部分其他血清学指标无法诊断的IBD患者。

1.3 I2抗体 2000年,研究者在CD患者结肠黏膜中发现了与ptxR和tetR细菌转录因子具有同源性的DNA序列(I2基因序列),提示微生物I2基因产物可能与CD的病理生理有关^[36]。I2基因序列最初发现于假单胞杆菌^[37]。现已证实,重组体I2蛋白的IgA血清学反应对CD具有特异性。ELISA结果显示,与UC或其他免疫性疾病不同,CD患者血清中的免疫球蛋白A反应异常,可代表疾病的严重程度,而OmpC IgA抗体和I2抗体的同时存在则增加了IBD的持续时间。

1.4 抗细菌鞭毛蛋白CBir1抗体 细菌鞭毛蛋白是一种常见的细菌抗原,抗原性高,存在于大多数肠道细菌中,因此,鞭毛蛋白在肠道黏膜反应中起着重要的作用。在结肠炎鼠模型中,血清抗鞭毛蛋白抗体IgG2升高,而鞭毛蛋白CBir1为免疫反应抗原,可引起强烈的B细胞和T细胞反应。ELISA法分析CD患者血清学标志物,结果显示,CD患者血清中抗鞭毛蛋白CBir1 IgG反应升高,而在UC或其他IBD中,反应很低。另外,抗细菌鞭毛蛋白CBir1抗体与成人CD回肠受累相关,并与狭窄和穿透性病变相关^[38]。因此,认为抗细菌鞭毛蛋白CBir1抗体对CD具有一定的特异性,但敏感性较差。

1.5 ANCA ANCA是一组自身抗体,以中性粒细胞和单核细胞胞浆成分为抗原,可通过毛细血管中的中性粒细胞、单核细胞或肠上皮细胞释放溶菌酶,损伤大面积血管和肠组织,另可通过T细胞介导的细胞免疫协同作用造成组织损伤^[39]。现已知,ANCA与小血管系统性血管炎如韦格纳

肉芽肿病,变应性肉芽肿等疾病相关。临床上,ANCA常用于疾病的诊断、预后的评估和判断炎症的反应程度。根据国际共识声明^[40],应用间接免疫荧光法(IIF法)可在正常外周血中检测到ANCA的存在,分为胞质型(cANCA)和核周型(pANCA),而核周型与IBD的发生相关,且在UC患者中的阳性率、特异性最高,但与疾病的活动度、病变程度、治疗及缓解情况不相关。

目前,多数学者认为,ANCA可能是免疫调节紊乱的标志,可能为IBD的遗传易感性的标志。依据是流行病学提示,不同人群及人种间,ANCA阳性率差异较大,尤其是IBD患者亲属的ANCA阳性率高于普通人群^[41,42]。

国外报道,pANCA产生于肠黏膜固有层和肠系膜淋巴结中的淋巴细胞,针对细胞核周围的靶抗原,在UC患者中的阳性率为40%-80%,CD为15%-25%,现被认为是UC相关的血清学标志物^[43,44]。研究发现,pANCA的高表达患者通常累及左半结肠,且于狭窄和/或穿孔相关^[45]。因此,pANCA可作为一个评价UC患者手术风险和预后的指标。

1.6 PAB 1987年,Stöcker等^[46]在IBD患者的血清中发现了PAB。他们指出,在CD患者血清中,基本都可检测到PAB(尽管敏感性较差),提示PAB以胰蛋白酶敏感的大分子蛋白质为抗原。人类或灵长类胰腺组织中,用间接免疫荧光法(IIF法)测定PAB有两种染色类型:第一种类型以在胰腺腺泡内出现水滴状荧光染色(IgG1和IgG2)为特点,第二种类型的特点是在胰腺腺泡细胞内出现均匀的斑点样荧光(IgG1)。最近,胰腺腺泡细胞的酶原颗粒膜糖蛋白(glycoprotein 2 zymogen granule membrane, GP2),一种糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白,被认为是一种PAB相关自身抗原^[47]。胰腺在激素或神经元的刺激下,GP2被转运至腺泡细胞的顶点,并在此释放至胰腺导管。除了胰腺腺泡细胞,人类M细胞特异性表达GP2,鼠肠上皮细胞亦表达GP2^[48,49]。Roggenbuck^[47]发现,与UC患者结肠活检组织相比,CD患者GP2在mRNA和蛋白质水平明显升高,支持抗GP2抗体直接参与CD病理生理的假设,而不是作为伴随现象存在。同样,国内研究发现,CD患者PAB阳性率为30%-40%,而UC和正常人仅为0.5%-6.4%。PAB阳性在增加IBD持续时间的同时并不影响其活动度,且与比PAB阴性者相比,胰腺外分泌功能更易受损。虽然PAB对CD的特异性较高,但因敏感性太低而降低了其在临床

表 1 炎症性肠病与相关的血清学标志物

炎症性肠病	抗细菌抗原抗体	自身抗体
溃疡性结肠炎	-	抗中性粒细胞胞浆抗体
克罗恩病	抗多糖抗体(抗酿酒酵母抗体、抗乙糖苷昆布糖抗体等)、I2抗体、抗细胞外膜孔道蛋白C抗体(IgA)、抗细菌鞭毛蛋白CBir1抗体	抗胰腺腺泡抗体

■应用要点
实验室检查是IBD重要的诊断手段,全面了解与IBD有关的血清学标志物,可降低漏诊率和误诊率,使更多患者得到正确、合理、及时的治疗。

应用中的价值.

1.7 ANCA 肠上皮细胞作为物理屏障,可防止细菌或其他抗原从肠腔进入血液循环.杯状细胞,作为肠上皮的特殊细胞,调节肠黏液和因子的产生,而这些有助于肠上皮细胞的修复和炎症调节^[4].在成人UC患者中,GAB的检测率为15.0%-46.6%,而CD患者为1.4.0%-33%^[15,46,50,51].GAB检测率的不同与检测方法不同有关,包括检测部位及检测数量.

总之,血清学标志物对IBD的诊断具有重要的指导作用,但不同的血清学标志物对UC或CD的特异性不同(表1).

2 应用现状

UC和CD是IBD的两个主要亚型,临床表现相似,但治疗方案不同.因此,UC和CD的鉴别诊断尤为重要.目前,IBD血清学标志物的检测方法主要是间接免疫荧光法(IIF法)和酶联免疫吸附法(ELISA法).在IBD的血清学标志物中,ANCA和ASCA是IBD临床检查中常见且重要的标志物,对UC和CD的鉴别诊断有重要作用,但敏感性较低,因此有待新检测方法的探寻.另外,ALCA、ACCA和OmpC抗体等相关抗体较低的检测率限制了其在临床上的应用,如果提高他们的检测率及敏感性并运用至临床,将会大大提高IBD亚型的诊断,会使更多的IBD患者得到正确、及时、合理的治疗.目前,联合检测两种或以上抗体对IBD诊断价值的报道不一,尚有争议.如高翔等^[52]运用间接免疫荧光生物薄片法检测29例UC、34例CD及25例正常对照者血清中ASCA和pANCA的表达,结果发现ASCA和pANCA阳性有利于IBD的诊断却不能敏感地筛选患者,且ASCA和pANCA联合检测不能作为汉族UC和CD鉴别诊断的指标.总之,为提高IBD的诊断率,应提高已发现血清学标志物的检测率,同时进一步探寻新的、敏感性高、特异性高的标志物.

3 结论

目前,IBD的病因及发病机制尚不十分清楚,有关IBD的诊断及鉴别诊断的研究是临床研究的热点之一.现越来越多的资料显示,血清学标志物的检测有助于IBD的诊断及鉴别诊断,且方便快捷,但较低检测率限制了其在临床诊断中的应用.因此,为使更多的患者得到正确、及时、合理的治疗,改善已发现的血清学标志物的检测方法,从而提高IBD及其亚型的诊断是目前的首要工作.

4 参考文献

- 1 Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1713-1725 [PMID: 22047562 DOI: 10.1056/NEJMra1102942]
- 2 Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002; 347: 417-429 [PMID: 12167685 DOI: 10.1056/NEJMra020831]
- 3 Wilkins T, Jarvis K, Patel J. Diagnosis and management of Crohn's disease. *Am Fam Physician* 2011; 84: 1365-1375 [PMID: 22230271]
- 4 Abraham C, Cho JH. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2009; 361: 2066-2078 [PMID: 19923578 DOI: 10.1056/NEJMra0804647]
- 5 Hanauer SB. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12 Suppl 1: S3-S9 [PMID: 16378007 DOI: 10.1097/01.MIB.0000195385.19268.68]
- 6 Travis SP, Stange EF, Lémann M, Oresland T, Chowers Y, Forbes A, D'Haens G, Kitis G, Cortot A, Prantera C, Marteau P, Colombel JF, Gionchetti P, Bouhnik Y, Turet E, Kroesen J, Starlinger M, Mortensen NJ. European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: current management. *Gut* 2006; 55 Suppl 1: i16-i35 [PMID: 16481629 DOI: 10.1136/gut.2005.081950b]
- 7 Stange EF, Travis SP, Vermeire S, Beglinger C, Kupcinkas L, Geboes K, Barakauskiene A, Villanacci V, Von Herbay A, Warren BF, Gasche C, Tilg H, Schreiber SW, Schölmerich J, Reinisch W. European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *Gut* 2006; 55 Suppl 1: i1-15 [PMID: 16481628 DOI: 10.1136/gut.2005.081950a]
- 8 Carter MJ, Lobo AJ, Travis SP. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in

■名词解释

自身抗体: 自身抗体是指针对自身组织、器官、细胞及细胞成分的抗体。正常的免疫反应有保护性防御作用, 即对自身组织、成分不发生反应。一旦自身耐受的完整性遭到破坏, 则机体视自身组织、成分为“异物”, 而发生自身免疫反应, 产生自身抗体。

- adults. *Gut* 2004; 53 Suppl 5: V1-16 [PMID: 15306569 DOI: 10.1136/gut.2004.043372]
- 9 Mokrowiecka A, Kumor A, Jakubczyk E, Pietruczuk M, Malecka-Panas E. The application of Montreal classification in different clinical and serological IBD subtypes. *Hepatogastroenterology* 2010; 57: 787-793 [PMID: 21033230]
 - 10 Arai R. Serologic markers: impact on early diagnosis and disease stratification in inflammatory bowel disease. *Postgrad Med* 2010; 122: 177-185 [PMID: 20675980 DOI: 10.3810/pgm.2010.07.2184]
 - 11 Tsianos EV, Katsanos K. Do we really understand what the immunological disturbances in inflammatory bowel disease mean? *World J Gastroenterol* 2009; 15: 521-525 [PMID: 19195052 DOI: 10.3748/wjg.15.521]
 - 12 Hart AL, Ng SC, Mann E, Al-Hassi HO, Bernardo D, Knight SC. Homing of immune cells: role in homeostasis and intestinal inflammation. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1969-1977 [PMID: 20848507 DOI: 10.1002/ibd.21304]
 - 13 Siegmund B, Zeitz M. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3178-3183 [PMID: 21912465 DOI: 10.3748/wjg.v17.i27.3178]
 - 14 Danese S, Fiocchi C. Etiopathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4807-4812 [PMID: 16937461]
 - 15 Homsak E, Micetić-Turk D, Bozic B. Autoantibodies pANCA, GAB and PAB in inflammatory bowel disease: prevalence, characteristics and diagnostic value. *Wien Klin Wochenschr* 2010; 122 Suppl 2: 19-25 [PMID: 20517666 DOI: 10.1007/s00508-010-1344-y]
 - 16 Mendoza JL, Abreu MT. Biological markers in inflammatory bowel disease: practical consideration for clinicians. *Gastroenterol Clin Biol* 2009; 33 Suppl 3: S158-S173 [PMID: 20117339 DOI: 10.1016/S0399-8320(09)73151-3]
 - 17 Reumaux D, Sendid B, Poulain D, Duthilleul P, Dewit O, Colombel JF. Serological markers in inflammatory bowel diseases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17: 19-35 [PMID: 12617880 DOI: 10.1053/bega.2002.0347]
 - 18 Kuna AT. Serological markers of inflammatory bowel disease. *Biochem Med (Zagreb)* 2013; 23: 28-42 [PMID: 23457764 DOI: 10.11613/BM.2013.006]
 - 19 Dotan N, Altstock RT, Schwarz M, Dukler A. Antigli can antibodies as biomarkers for diagnosis and prognosis. *Lupus* 2006; 15: 442-450 [PMID: 16898180 DOI: 10.1191/0961203306lu2331oa]
 - 20 Rieder F, Schleider S, Wolf A, Dirmeier A, Strauch U, Obermeier F, Lopez R, Spector L, Fire E, Yarden J, Rogler G, Dotan N, Klebl F. Serum anti-glycan antibodies predict complicated Crohn's disease behavior: a cohort study. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1367-1375 [PMID: 20024902 DOI: 10.1002/ibd.21179]
 - 21 Sendid B, Colombel JF, Jacquinet PM, Faille C, Fruit J, Cortot A, Lucidarme D, Camus D, Poulain D. Specific antibody response to oligomannosidic epitopes in Crohn's disease. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996; 3: 219-226 [PMID: 8991640]
 - 22 Ukabam SO, Clamp JR, Cooper BT. Abnormal small intestinal permeability to sugars in patients with Crohn's disease of the terminal ileum and colon. *Digestion* 1983; 27: 70-74 [PMID: 6414866 DOI: 10.1159/000198932]
 - 23 Standaert-Vitse A, Jouault T, Vandewalle P, Mille C, Seddik M, Sendid B, Mallet JM, Colombel JF, Poulain D. Candida albicans is an immunogen for anti-Saccharomyces cerevisiae antibody markers of Crohn's disease. *Gastroenterology* 2006; 130: 1764-1775 [PMID: 16697740 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.02.009]
 - 24 Vind I, Riis L, Jespersgaard C, Jess T, Knudsen E, Pedersen N, Elkjaere M, Hansen TS, Andersen IB, Paerregaard A, Bondesen S, Loch H, Larsen SO, Moesgaard F, Bendtsen F, Andersen PS, Munkholm P. Genetic and environmental factors as predictors of disease severity and extent at time of diagnosis in an inception cohort of inflammatory bowel disease, Copenhagen County and City 2003-2005. *J Crohns Colitis* 2008; 2: 162-169 [PMID: 21172207 DOI: 10.1016/j.crohns.2008.01.004]
 - 25 Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599-603 [PMID: 11385576 DOI: 10.1038/35079107]
 - 26 Sutton CL, Yang H, Li Z, Rotter JI, Targan SR, Braun J. Familial expression of anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies in affected and unaffected relatives of patients with Crohn's disease. *Gut* 2000; 46: 58-63 [PMID: 10601056 DOI: 10.1136/gut.46.1.58]
 - 27 Annese V, Andreoli A, Andriulli A, Dinca R, Gionchetti P, Latiano A, Lombardi G, Piepoli A, Poulain D, Sendid B, Colombel JF. Familial expression of anti-Saccharomyces cerevisiae Mannan antibodies in Crohn's disease and ulcerative colitis: a GISC study. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2407-2412 [PMID: 11513182 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.04043.x]
 - 28 Prideaux L, De Cruz P, Ng SC, Kamm MA. Serological antibodies in inflammatory bowel disease: a systematic review. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 1340-1355 [PMID: 22069240 DOI: 10.1002/ibd.21903]
 - 29 Desplat-Jégo S, Johanet C, Escande A, Goetz J, Fabien N, Olsson M, Ballot E, Sarles J, Baudon JJ, Grimaud JC, Veyrac M, Chamouard P, Humbel RL. Update on Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies, anti-nuclear associated anti-neutrophil antibodies and antibodies to exocrine pancreas detected by indirect immunofluorescence as biomarkers in chronic inflammatory bowel diseases: results of a multicenter study. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2312-2318 [PMID: 17511029]
 - 30 Mokrowiecka A, Daniel P, Slomka M, Majak P, Malecka-Panas E. Clinical utility of serological markers in inflammatory bowel disease. *Hepatogastroenterology* 2009; 56: 162-166 [PMID: 19453050]
 - 31 Dotan I, Fishman S, Dgani Y, Schwartz M, Karban A, Lerner A, Weishauss O, Spector L, Shtevi A, Altstock RT, Dotan N, Halpern Z. Antibodies against laminaribioside and chitobioside are novel serologic markers in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2006; 131: 366-378 [PMID: 16890590 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.04.030]
 - 32 Seow CH, Stempak JM, Xu W, Lan H, Griffiths AM, Greenberg GR, Steinhart AH, Dotan N, Silverberg MS. Novel anti-glycan antibodies related to inflammatory bowel disease diagnosis and phenotype. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1426-1434 [PMID: 19491856]

- DOI: 10.1038/ajg.2009.79]
- 33 Cohavy O, Bruckner D, Gordon LK, Misra R, Wei B, Eggena ME, Targan SR, Braun J. Colonic bacteria express an ulcerative colitis pANCA-related protein epitope. *Infect Immun* 2000; 68: 1542-1548 [PMID: 10678972 DOI: 10.1128/IAI.68.3.1542-1548.2000]
- 34 Landers CJ, Cohavy O, Misra R, Yang H, Lin YC, Braun J, Targan SR. Selected loss of tolerance evidenced by Crohn's disease-associated immune responses to auto- and microbial antigens. *Gastroenterology* 2002; 123: 689-699 [PMID: 12198693 DOI: 10.1053/gast.2002.35379]
- 35 Joossens S, Colombel JF, Landers C, Poulain D, Geboes K, Bossuyt X, Targan S, Rutgeerts P, Reinisch W. Anti-outer membrane of porin C and anti-I2 antibodies in indeterminate colitis. *Gut* 2006; 55: 1667-1669 [PMID: 16687433 DOI: 10.1136/gut.2005.089623]
- 36 Sutton CL, Kim J, Yamane A, Dalwadi H, Wei B, Landers C, Targan SR, Braun J. Identification of a novel bacterial sequence associated with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000; 119: 23-31 [PMID: 10889151 DOI: 10.1053/gast.2000.8519]
- 37 Wei B, Huang T, Dalwadi H, Sutton CL, Bruckner D, Braun J. *Pseudomonas fluorescens* encodes the Crohn's disease-associated I2 sequence and T-cell superantigen. *Infect Immun* 2002; 70: 6567-6575 [PMID: 12438326 DOI: 10.1128/IAI.70.12.6567-6575.2002]
- 38 孙瑾, 于成功. 炎症性肠病临床表型与免疫标记物的相关性. *胃肠病学* 2013; 18: 371-373
- 39 Vergara T, Cofré P, Cifuentes S, Pulgar U, Puebla C, Velasco S. [Presence of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and anti *Saccharomyces cerevisiae* antibodies (ASCA) among patients with ulcerative colitis]. *Rev Med Chil* 2006; 134: 960-964 [PMID: 17130982 DOI: 10.4067/S0034-98872006000800003]
- 40 Savige J, Dimech W, Fritzler M, Goeken J, Hagen EC, Jennette JC, McEvoy R, Pusey C, Pollock W, Trevisin M, Wiik A, Wong R. Addendum to the International Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies. Quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. *Am J Clin Pathol* 2003; 120: 312-318 [PMID: 14502794 DOI: 10.1309/WAEPADW0K4LPUHFN]
- 41 Basu D, Lopez I, Kulkarni A, Sellin JH. Impact of race and ethnicity on inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2254-2261 [PMID: 16181378 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.00233.x]
- 42 Lawrance IC, Murray K, Hall A, Sung JJ, Leong R. A prospective comparative study of ASCA and pANCA in Chinese and Caucasian IBD patients. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2186-2194 [PMID: 15555001 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.40486.x]
- 43 Reese GE, Constantinides VA, Simillis C, Darzi AW, Orchard TR, Fazio VW, Tekkis PP. Diagnostic precision of anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2410-2422 [PMID: 16952282 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00840.x]
- 44 Spivak J, Landers CJ, Vasiliauskas EA, Abreu MT, Dubinsky MC, Papadakis KA, Ippoliti A, Targan SR, Flesher PR. Antibodies to I2 predict clinical response to fecal diversion in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 1122-1130 [PMID: 17119386 DOI: 10.1097/01.mib.0000235833.47423.d7]
- 45 Klebl FH, Bataille F, Bertea CR, Herfarth H, Hofstädter F, Schölmerich J, Rogler G. Association of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies and anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies with Vienna classification subtypes of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2003; 9: 302-307 [PMID: 14555913 DOI: 10.1097/00054725-200309000-00003]
- 46 Stöcker W, Otte M, Ulrich S, Normann D, Finkbeiner H, Stöcker K, Jantschek G, Scriba PC. Autoimmunity to pancreatic juice in Crohn's disease. Results of an autoantibody screening in patients with chronic inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1987; 139: 41-52 [PMID: 3324299 DOI: 10.3109/00365528709089774]
- 47 Roggenbuck D, Hausdorf G, Martinez-Gamboa L, Reinhold D, Büttner T, Jungblut PR, Porstmann T, Laass MW, Henker J, Büning C, Feist E, Conrad K. Identification of GP2, the major zymogen granule membrane glycoprotein, as the autoantigen of pancreatic antibodies in Crohn's disease. *Gut* 2009; 58: 1620-1628 [PMID: 19549613 DOI: 10.1136/gut.2008.162495]
- 48 Terahara K, Yoshida M, Igarashi O, Nochi T, Pontes GS, Hase K, Ohno H, Kurokawa S, Mejima M, Takayama N, Yuki Y, Lowe AW, Kiyono H. Comprehensive gene expression profiling of Peyer's patch M cells, villous M-like cells, and intestinal epithelial cells. *J Immunol* 2008; 180: 7840-7846 [PMID: 18523247]
- 49 Ohno H, Hase K. Glycoprotein 2 (GP2): grabbing the FimH bacteria into M cells for mucosal immunity. *Gut Microbes* 2010; 1: 407-410 [PMID: 21468225 DOI: 10.4161/gmic.1.6.14078]
- 50 Hibi T, Ohara M, Kobayashi K, Brown WR, Toda K, Takaishi H, Hosoda Y, Hayashi A, Iwao Y, Watanabe M. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and immunoprecipitation studies on anti-goblet cell antibody using a mucin producing cell line in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1994; 35: 224-230 [PMID: 8307474 DOI: 10.1136/gut.35.2.224]
- 51 Lakatos PL, Altorjay I, Szamosi T, Palatka K, Vitalis Z, Tumppek J, Sipka S, Udvardy M, Dinya T, Lakatos L, Kovacs A, Molnar T, Tulassay Z, Miheller P, Bartha Z, Stocker W, Papp J, Veres G, Papp M. Pancreatic autoantibodies are associated with reactivity to microbial antibodies, penetrating disease behavior, perianal disease, and extraintestinal manifestations, but not with NOD2/CARD15 or TLR4 genotype in a Hungarian IBD cohort. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 365-374 [PMID: 18972554 DOI: 10.1002/ibd.20778]
- 52 高翔, 胡品津, 何瑶, 廖山婴, 彭穗, 陈昊湖. 炎症性肠病患者血清中自身抗体检测的临床意义. *中华内科杂志* 2005; 44: 428-430

■同行评价

IBD的病因及发病机制尚不十分清楚, 有关IBD的诊断及鉴别诊断的研究是临床研究的热点之一. 作者对IBD血清学标志物研究进展进行了综述, 具有一定的临床参考价值.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



miR-126调控胃癌细胞VEGFA及其下游靶蛋白Akt、mTOR、Erk1/2的表达

雷宇鹏, 陈红霞, 周晓东

■背景资料

胃癌的发病率和死亡率居我国恶性肿瘤之首。目前研究发现, 肿瘤血管的新生在胃癌的发生和发展中可能有重要的地位, 但尚未找到有效靶点。

雷宇鹏, 周晓东, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省南昌市 330006

陈红霞, 南昌大学第一附属医院妇产科 江西省南昌市 330006

雷宇鹏, 住院医师, 主要从事消化系统肿瘤的基础研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81160307

作者贡献分布: 雷宇鹏与陈红霞对本文所作贡献均等; 此课题由周晓东设计; 研究过程由雷宇鹏与陈红霞操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由周晓东提供; 数据分析由雷宇鹏完成; 本论文写作由周晓东与雷宇鹏完成; 课题指导工作由周晓东完成。

通讯作者: 周晓东, 副教授, 副主任医师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科。

yfyzxd@163.com

电话: 0791-8692505

收稿日期: 2013-09-15 修回日期: 2013-11-06

接受日期: 2013-11-25 在线出版日期: 2013-12-28

MiR-126 regulates the expression of vascular endothelial growth factor A and its downstream target proteins Akt, mTOR and Erk1/2 in gastric cancer cells

Yu-Peng Lei, Hong-Xia Chen, Xiao-Dong Zhou

Yu-Peng Lei, Xiao-Dong Zhou, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Hong-Xia Chen, Department of Gynecology and Obstetrics, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160307

Correspondence to: Xiao-Dong Zhou, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. yfyzxd@163.com

Received: 2013-09-15 Revised: 2013-11-06

Accepted: 2013-11-25 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To determine the regulatory effect of miR-126 on expression of vascular endothelial growth factor A (VEGFA) and its downstream proteins including protein kinase B (Akt), mammalian target of rapamycin protein (mTOR) and extracellular regulated protein kinases (Erk1/2) in gastric cancer cells.

METHODS: Recombinant lentivirus LV-miR-126 and miRCURY LNA™ miR-126 inhibitor were used to up-regulate or down-regulate the miR-126 expression in SGC-7901 cells. The cells were divided into a mock group, a lenti-miR-126 group, a lenti-control group, a locked nucleic acid (LNA)-antimiR-126 oligonucleotides group and a LNA-control group. Real-time PCR was used to confirm the relative expression of miR-126, and Western blot was used to detect the expression levels of Akt, mTOR, Erk and VEGFA proteins in different groups.

RESULTS: Western blot analysis demonstrated that the expression of VEGFA and its downstream proteins Akt, mTOR and Erk1/2 was significantly decreased in the lenti-miR-126 group than in the mock group (1.00 ± 0.00 vs 1.60 ± 0.19 , 1.00 ± 0.00 vs 1.89 ± 0.23 , 1.00 ± 0.00 vs 2.11 ± 0.38 , 1.00 ± 0.00 vs 1.52 ± 0.36 , all $P < 0.01$). In contrast, the expression of VEGFA and its downstream proteins Akt, Erk1/2 and mTOR was significantly increased in the LNA-miR-126 group than in the mock group (2.46 ± 0.31 vs 1.60 ± 0.19 , 3.09 ± 0.44 vs 1.89 ± 0.23 , 3.83 ± 0.64 vs 2.11 ± 0.38 , 2.26 ± 0.30 vs 1.52 ± 0.36 , all $P < 0.01$).

CONCLUSION: Our results indicate that miR-126 could regulate the expression of VEGFA and its downstream proteins Akt, Erk1/2 and mTOR. These findings suggest that there may be a miR-126/VEGFA signaling pathway regulating angiogenesis in gastric cancer.

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

Key Words: MiR-126; Vascular endothelial growth factor-A; Gastric cancer; Angiogenesis

Lei YP, Chen HX, Zhou XD. MiR-126 regulates the expression of vascular endothelial growth factor A and its downstream target proteins Akt, mTOR and Erk1/2 in gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4116-4120 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4116.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4116>

■同行评议者
黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

摘要

目的: 本研究拟明确miR-126对胃癌细胞血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor-A, VEGFA)及其下游磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3 kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)和丝裂原活化蛋白激酶/细胞外调节蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases/extracellular regulated protein kinases, MAPK/Erk)两条信号通路上核心蛋白Akt、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin protein, mTOR)和细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, Erk1/2)表达的调控作用, 从而来初步探讨miR-126影响胃癌细胞恶性表型的可能机制。

方法: 选取人胃腺癌细胞SGC-7901作为实验细胞, 分空白组(mock)、miR-126慢病毒实验组(Lenti-miR-126)、慢病毒对照组(Lenti-control)、miR-126寡核苷酸抑制组(locked nucleic acid anti miR-126 oligonucleotides group, LNA-miR-126)与寡核苷酸对照组(LNA-control)共5组。利用miR-126慢病毒和miR-126 LNA power inhibitor探针转染SGC-7901细胞系, 转染后72 h观察绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的表达情况, 感染效率>70%, 提取细胞总小RNA和总蛋白, 利用实时定量PCR检测miR-126的表达情况, 同时通过Western blot检测VEGFA及下游信号通路上核心蛋白Erk、Akt、mTOR的表达。

结果: Western blot显示miR-126慢病毒实验组的VEGFA及其下游靶蛋白Akt、mTOR、Erk1/2表达较空白组明显降低(1.00 ± 0.00 vs 1.60 ± 0.19 , 1.00 ± 0.00 vs 1.89 ± 0.23 , 1.00 ± 0.00 vs 2.11 ± 0.38 , 1.00 ± 0.00 vs 1.52 ± 0.36 , 均 $P < 0.01$), miR-126寡核苷酸抑制组的VEGFA及其下游靶蛋白Akt、mTOR、Erk1/2表达较空白组明显升高(2.46 ± 0.31 vs 1.60 ± 0.19 , 3.09 ± 0.44 vs 1.89 ± 0.23 , 3.83 ± 0.64 vs 2.11 ± 0.38 , 2.26 ± 0.30 vs 1.52 ± 0.36 , 均 $P < 0.01$)。

结论: miR-126可调控胃癌细胞VEGFA及其下游靶蛋白的表达, 胃癌中可能存在miR-126/VEGFA信号通路调控胃癌的血管新生。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: miR-126; 血管内皮生长因子A; 胃癌血管新生

核心提示: 本文探讨了miR-126对胃癌细胞血

管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor-A, VEGFA)及其下游靶蛋白的调控作用, 同时结合大量的前人研究及本课题组前期的研究, 初步推测胃癌中可能存在miR-126/VEGFA信号通路调控胃癌的血管新生。

雷宇鹏, 陈红霞, 周晓东. miR-126调控胃癌细胞VEGFA及其下游靶蛋白Akt、mTOR、Erk1/2的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4116-4120 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4116.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4116>

0 引言

胃癌的发病率和死亡率居我国恶性肿瘤之首, 占胃恶性肿瘤的95%。目前研究发现, 肿瘤血管的新生在胃癌的发生和发展中可能有重要的地位, 但尚未找到有效靶点。大量的研究包括我们前期的研究发现, 胃癌(gastric cancer, GC)过高表达血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR), 其过表达与胃癌的血管新生及恶性表型密切相关^[1-5]。丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K)是VEGF/VEGFR信号通路重要的下游靶蛋白, 经VEGF介导的MAPK/ERK和PI3K/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)两条信号通路在调节肿瘤细胞和内皮细胞的存活、稳定、增殖、迁移乃至血管新生中发挥着重要作用^[6,7]。Feng等^[8]研究发现, 与正常组织相比较, miR-126在胃癌组织中有着明显的低表达。在SGC-7901胃癌细胞中miR-126的异位表达能够通过诱导细胞进入G₀/G₁期来抑制细胞的生长, 说明了在胃癌中miR-126扮演着抑制肿瘤的角色。miR-126在生理性血管生长中具有强大的调控功能, 他能否抑制肿瘤的血管新生仍不清楚。故此, 我们提出: GC细胞下调表达miR-126与高表达VEGF/VEGFR可能存在某种负调控关联? 刘博等^[9]通过生物信息学研究发现, miR-126和VEGF的3'端非编码区(untranslated region, 3'UTR)存在互补序列, 并通过报告基因方法初步证明了miR-126可通过与VEGFA 3'UTR的互补而抑制VEGFA的翻译, 因此VEGFA可能是miR-126负调控的靶基因。因此, 本课题将通过体外实验来诱导胃癌细胞miR-126过表达和miR-126低表达来观察VEGFA的变化及下游PI3K/Akt和MAPK/Erk两条信号通路上核心蛋

■ 研发前沿

目前已有大量的研究证实血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在胃癌的发生和发展中的重要作用, 但是其具体的作用机制及潜在靶点尚不明确, 尚需进一步研究。

■ 相关报道

目前已有许多研究显示VEGF主要通过介导MAPK/Erk和/或PI3K/Akt两条信号通路调控肿瘤血管生长, 同时也有研究报道miR-126参与血管新生, 具体机制仍不清楚。

■创新亮点

本文第一次证实了胃癌细胞中miR-126对VEGFA的调控作用,其作用机制有待进一步研究。

白的表达变化,以明确miR-126对GC细胞VEGFA的靶向调控作用及其对VEGFA下游关键信号通路的影响,从而初步探讨胃癌细胞中miR-126的表达与胃癌血管新生的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 中分化的人胃腺癌细胞系SGC-7901为南昌大学第一附属医院消化研究所保存;鼠抗人Akt、兔抗人mTOR和鼠抗人Erk1/2多克隆抗体购自Cell Signaling公司;鼠抗人VEGFA多克隆抗体购自Abcam公司;has-miR-126慢病毒产品购自上海吉凯基因化学技术有限公司;miRCURY LNA Power inhibitor探针购自EXIQON公司;Lipofectamine 2000购自Invitrogen公司;Small RNA提取试剂盒、cDNA逆转录试剂盒及Real-time PCR反应试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 miR-126慢病毒转染SGC-7901细胞(miR-126慢病毒组): 细胞40%融合时,将miR-126慢病毒感染SGC-7901细胞,同时取空病毒载体实验作为阴性对照,非感染细胞为空白对照。感染12 h后观察细胞状态,待48 h更换为正常培养基,感染72 h观察绿色荧光蛋白GFP的表达情况,一般感染效率>70%即可进入后续实验。

1.2.2 miRCURY LNA Power inhibitor探针转染SGC-7901细胞(miR-126探针组): 细胞40%融合时,将miR-126 LNA Power inhibitor探针转染SGC-7901细胞,按Exiqon miRCURY™ LNA Power inhibitor转染试剂盒操作说明,Lipofectamine 2000作为转染媒介,取无关ir-antagomir转染作为对照,非转染细胞为空白对照,感染12 h后更换新鲜培养基,感染72 h观察绿色荧光蛋白GFP的表达情况,一般感染效率>70%即可进入后续实验。

1.2.3 实时定量PCR检测miR-126表达: 采用实时定量PCR对5组细胞的miR-126进行检测,操作按Small RNA提取试剂盒、cDNA逆转录试剂盒及Real-time PCR反应试剂盒说明书进行。

1.2.4 Western blot蛋白印迹检测VEGFA及下游信号通路上核心蛋白Akt、mTOR、Erk的表达: 用冰PBS清洗细胞2次,以去除死细胞和培养基,用滤纸尽量吸干残余的PBS。加入含蛋白酶抑制剂与磷酸酶抑制剂的蛋白提取液400 μ L,反复在冰上摇匀,使提取液与细胞充分接触30 min。离心12000 r/min, 30 min,回收并分装上清液,分别提

表1 GC-7901各组细胞miR-126的表达情况目的/内参比($n=3$, mean \pm SD)

分组	SGC-7901
Lenti-miR-126	9.57 \pm 1.24 ^b
Lenti-control	1.63 \pm 0.46
LNA-miR-126	0.04 \pm 0.012 ^b
LNA-control	1.17 \pm 0.25
mock	1.00 \pm 0.00

^b $P<0.01$ vs mock.

取5组细胞总蛋白。以 β -actin的水平作为等量蛋白质上样对照,每个样本至少重复3遍,取50 μ g蛋白质样品进行SDS-PAGE电泳,并转至硝酸纤维素膜上,室温封闭2 h后,用TBST缓冲液漂洗3次,分别加入相应的一抗4 $^{\circ}$ C孵育过夜, TBST漂洗3次后加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔或羊抗鼠二抗(1:2000),室温摇床孵育2 h,增强化学发光显色系统显色,使用分子成像仪成像,条带灰度值分析(图1)。

1.2.5 图像分析: 采用美国Image Lab图像分析系统对Western blot印迹结果进行图像分析,以miR-126慢病毒实验组设为参考条带,计算各条带的相对灰度值。

统计学处理 实验数据由SPSS17.0统计软件处理,计量资料用mean \pm SD表示。应用Student's *t*检验、方差分析(ANOVA)对实验结果进行统计分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-126慢病毒和miR-126 LNA power inhibitor 探针转染胃癌细胞SGC-7901后miR-126的表达 实时定量PCR检测5组细胞miR-126的表达水平显示,miR-126慢病毒实验组的miR-126的表达是空白组的9.57倍(9.567 \pm 1.243 vs 1.000 \pm 0.000, $P<0.01$),慢病毒对照组miR-126的表达与空白组无明显差异($P>0.05$); miR-126探针组miR-126的表达明显低于空白组(0.037 \pm 0.012 vs 1.000 \pm 0.000, $P<0.01$),寡核苷酸对照组miR-126的表达与空白组无明显差异($P>0.05$)(表1)。

2.2 miR-126的表达与VEGFA的关系 SGC-7901细胞中,miR-126慢病毒实验组的VEGFA表达明显低于空白组(1.00 \pm 0.00 vs 1.60 \pm 0.19, $P<0.01$),miR-126探针组的VEGFA表达明显高于空白组(2.46 \pm 0.31 vs 1.60 \pm 0.19, $P<0.01$)(表2)。

2.3 miR-126的表达与Akt、mTOR、Erk1/2的关

■应用要点

VEGF在胃癌血管新生发挥至关重要的作用,肿瘤的血管新生在肿瘤的发生发展中扮演着重要角色,本文阐述了miR-126与VEGFA的关系,为如何调控胃癌恶性表型提供了新的研究方向。

表 2 SGC-7901各组细胞蛋白的表达情况目的/内参灰度比(n = 3, mean ± SD)

分组	Akt	Erk1/2	VEGFA	mTOR
Lenti-miR-126	1.00 ± 0.00 ^b	1.00 ± 0.00 ^b	1.00 ± 0.00 ^b	1.00 ± 0.00 ^b
Lenti-control	1.59 ± 0.20	1.50 ± 0.32	1.52 ± 0.28	2.08 ± 0.16
LNA-miR-126	3.09 ± 0.44 ^b	2.26 ± 0.30 ^b	2.46 ± 0.31 ^b	3.83 ± 0.64 ^b
LNA-control	2.03 ± 0.23	1.57 ± 0.30	1.64 ± 0.20	2.16 ± 0.55
Mock	1.89 ± 0.23	1.52 ± 0.36	1.60 ± 0.19	2.11 ± 0.38

^bP<0.01 vs mock. VEGFA: 血管内皮生长因子A; Akt: 蛋白激酶B; Erk1/2: 细胞外调节蛋白激酶; mTOR: 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白.

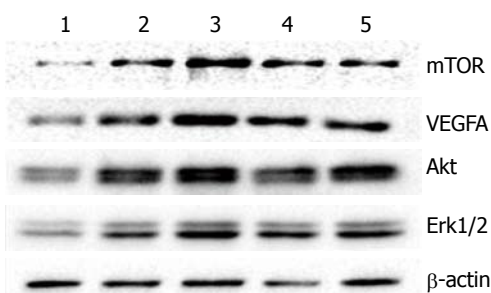


图 1 Western blot检测SGC-7901细胞蛋白的表达. 1: Lenti-miR-126; 2: Lenti-control; 3: LNA-miR-126; 4: LNA-control; 5: mock. mTOR: 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; VEGFA: 血管内皮生长因子A; Akt: 蛋白激酶B; Erk1/2: 细胞外调节蛋白激酶.

系 SGC-7901细胞中, miR-126慢病毒实验组的Akt、mTOR、Erk1/2表达明显低于空白组(1.00 ± 0.00 vs 1.89 ± 0.23, 1.00 ± 0.00 vs 2.11 ± 0.38, 1.00 ± 0.00 vs 1.52 ± 0.36, P<0.01), miR-126探针组的Akt、mTOR、Erk1/2表达明显高于空白组(3.09 ± 0.44 vs 1.89 ± 0.23, 3.83 ± 0.64 vs 2.11 ± 0.38, 2.26 ± 0.30 vs 1.52 ± 0.36, P<0.01)(表2).

3 讨论

miRNAs是一类长度在22 nt左右的内源性、非编码RNA基因产物, 通过与mRNA的3'端非翻译区(3'UTR)互补结合而抑制翻译, 或通过与mRNA翻译区结合而直接引起mRNA的剪切, 从而负调控靶基因^[10]. 前期本课题组综合运用miRNAs靶基因预测软件TargetScan和miRanda等对miR-126进行了分析和刘博等^[9]通过生物学信息研究均发现miR-126和VEGF的3'UTR存在多个互补位点, 这预示着miR-126可通过与VEGFA 3'UTR的互补而抑制VEGFA的翻译, 因此VEGFA可能是miR-126负调控的靶基因. 在本研究中, 抑制胃癌细胞miR-126的表达, VEGFA及相应的下游靶蛋白明显的升高; 相反, 诱导胃癌细胞miR-126的表达, VEGFA及其相应的下游

靶蛋白明显的降低. 因此, 我们推测, 在胃癌细胞中miR-126表达下调, 对VEGFA表达的抑制作用减弱, VEGFA表达量增加, 其下游信号通路PI3K/Akt及MAPK/Erk上的核心靶蛋白表达量也随之增加; 相反, miR-126表达上调, 对VEGFA表达的抑制作用增强, VEGFA表达量减少, 其下游信号通路PI3K/Akt及MAPK/Erk上的核心靶蛋白表达量也随之减少.

既往的研究已证实VEGF是目前发现促进肿瘤血管新生作用最强大的因子, VEGFA是VEGF家族中调控血管生成最重要的一员. VEGF/VEGFR胞内信号途径主要有两条^[11]: MAPK/Erk与PI3K/Akt. Claesson-Welsh等^[12]综述了VEGFA和肿瘤血管的关系, 其发现VEGFA主要是通过MAPK/ERK、MAPK/P38、PI3K/AKT及FAK等来调控肿瘤血管新生. 甚至包括我们前期对GC的研究证实, GC中存在VEGF/PI3K/Akt信号通路调控GC细胞的凋亡、增殖、化疗耐药及血管新生^[13-15]. 因此, 我们推测VEGFA可能通过PI3K/Akt和/或MAPK/Erk信号通路参与胃癌血管新生的调控.

Nicoli等^[16]在对经典的斑马鱼生理性血管生长模型中的实验发现, miR-126在血管生长中扮演着“分子开关”的角色. Li等^[17]和Feng等^[8]的研究成果显示, miR-126在胃癌中呈下调表达. Chen等^[18]在1194例亚洲胃癌患者与1618例正常对照组做了一项荟萃分析, 结果发现, 与对照组相比, VEGF在患有胃癌的亚洲患者体内表达显著增高. 加之我们前期研究发现, GC过高表达VEGF和VEGFR^[1-3]. 结合本研究的研究结果, 我们推测胃癌中可能存在miR-126/VEGFA信号通路调控胃癌的血管新生.

4 参考文献

1 刘晋, 于皆平, 王晓玲, 周晓东, 于红刚. 环氧化酶-2和血管内皮生长因子与胃癌淋巴管转移. 中华内科杂志

■名词解释
miRCURY LNA™
miRNA: 是一种寡核苷酸RNA抑制剂, 可以抑制靶细胞相应RNA的表达.

■同行评价

本文初步探讨了miR-126对胃癌细胞VEGFA及其下游靶蛋白的调控作用,对该领域的进一步研究提供了实验依据,有一定学术价值。

- 2004; 43: 841-844
- 2 Liu J, Yu HG, Yu JP, Wang XL, Zhou XD, Luo HS. Overexpression of cyclooxygenase-2 in gastric cancer correlates with the high abundance of vascular endothelial growth factor-C and lymphatic metastasis. *Med Oncol* 2005; 22: 389-397 [PMID: 16260857 DOI: 10.1385/MO: 22: 4: 389]
 - 3 Zhou XD, Yu JP, Liu J, Luo HS, Chen HX, Yu HG. Overexpression of cellular FLICE-inhibitory protein (FLIP) in gastric adenocarcinoma. *Clin Sci (Lond)* 2004; 106: 397-405 [PMID: 14636156 DOI: 10.1042/CS20030238]
 - 4 Iordache S, Saftoiu A, Georgescu CV, Ramboiu S, Gheonea DI, Filip M, Schenker M, Ciurea T. Vascular endothelial growth factor expression and microvessel density--two useful tools for the assessment of prognosis and survival in gastric cancer patients. *J Gastrointest Liver Dis* 2010; 19: 135-139 [PMID: 20593045]
 - 5 Wang X, Cao W, Mo M, Wang W, Wu H, Wang J. VEGF and cortactin expression are independent predictors of tumor recurrence following curative resection of gastric cancer. *J Surg Oncol* 2010; 102: 325-330 [PMID: 20589712 DOI: 10.1002/jso.21644]
 - 6 Graupera M, Guillermet-Guibert J, Foukas LC, Phng LK, Cain RJ, Salpekar A, Pearce W, Meek S, Millan J, Cutillas PR, Smith AJ, Ridley AJ, Ruhrberg C, Gerhardt H, Vanhaesebroeck B. Angiogenesis selectively requires the p110alpha isoform of PI3K to control endothelial cell migration. *Nature* 2008; 453: 662-666 [PMID: 18449193 DOI: 10.1038/nature06892]
 - 7 Kerbel RS. Tumor angiogenesis. *N Engl J Med* 2008; 358: 2039-2049 [PMID: 18463380 DOI: 10.1056/NEJMra0706596]
 - 8 Feng R, Chen X, Yu Y, Su L, Yu B, Li J, Cai Q, Yan M, Liu B, Zhu Z. miR-126 functions as a tumour suppressor in human gastric cancer. *Cancer Lett* 2010; 298: 50-63 [PMID: 20619534 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.06.004]
 - 9 刘博, 秦永文, 吴弘, 马莉萍. miR-126的表达谱分析及其功能的初步研究. 上海: 第二军医大学, 2009
 - 10 Doench JG, Sharp PA. Specificity of microRNA target selection in translational repression. *Genes Dev* 2004; 18: 504-511 [PMID: 15014042 DOI: 10.1101/gad.1184404]
 - 11 Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 259-269 [PMID: 16557279 DOI: 10.1038/nrc1840]
 - 12 Claesson-Welsh L, Welsh M. VEGFA and tumour angiogenesis. *J Intern Med* 2013; 273: 114-127 [PMID: 23216836 DOI: 10.1111/joim.12019]
 - 13 周晓东, 于皆平, 于红刚, 罗和生, 吕农华, 朱萱. 蛋白激酶B(PKB)在胃癌中的表达及其生物学意义. 中华消化杂志 2005; 25: 401-405
 - 14 Yu HG, Ai YW, Yu LL, Zhou XD, Liu J, Li JH, Xu XM, Liu S, Chen J, Liu F, Qi YL, Deng Q, Cao J, Liu SQ, Luo HS, Yu JP. Phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway plays an important role in chemoresistance of gastric cancer cells against etoposide and doxorubicin induced cell death. *Int J Cancer* 2008; 122: 433-443 [PMID: 17935137 DOI: 10.1002/ijc.23049]
 - 15 Zhou XD, Chen HX, Guan RN, Lei YP, Shu X, Zhu Y, Lv NH. Protein kinase B phosphorylation correlates with vascular endothelial growth factor A and microvessel density in gastric adenocarcinoma. *J Int Med Res* 2012; 40: 2124-2134 [PMID: 23321169]
 - 16 Nicoli S, Standley C, Walker P, Hurlstone A, Fogarty KE, Lawson ND. MicroRNA-mediated integration of haemodynamics and Vegf signalling during angiogenesis. *Nature* 2010; 464: 1196-1200 [PMID: 20364122 DOI: 10.1038/nature08889]
 - 17 Li X, Zhang Y, Zhang Y, Ding J, Wu K, Fan D. Survival prediction of gastric cancer by a seven-microRNA signature. *Gut* 2010; 59: 579-585 [PMID: 19951901 DOI: 10.1136/gut.2008.175497]
 - 18 Chen J, Li T, Wu Y, He L, Zhang L, Shi T, Yi Z, Liu M, Pang X. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma: a meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1799-1812 [PMID: 21918901 DOI: 10.1007/s00432-011-1057-2]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



骨桥蛋白在肝纤维化组织中的表达及其与肝星状细胞活化的关系

戴文玲, 黄海峰, 陆翠华

戴文玲, 盐城市第一人民医院重症监护 江苏省盐城市 224000

黄海峰, 盐城市振阳医院检验科 江苏省盐城市 224000

陆翠华, 南通大学附属医院消化内科 江苏省南通市 226000

戴文玲, 主治医师, 主要从事肝纤维化的研究.

作者贡献分布: 陆翠华主要参加课题的设计, 在研究过程中给予指导; 戴文玲主要是完成实验、数据分析、论文的写作修改; 黄海峰主要参与各检测方法的指导及协助完成实验.

通讯作者: 陆翠华, 主任医师, 226001, 江苏省南通市崇川区西寺路20号, 南通大学附属医院消化内科. lch670608@sina.com
电话: 0513-81161826

收稿日期: 2013-11-06 修回日期: 2013-12-03

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2013-12-28

Correlation between expression of osteopontin and activation of hepatic stellate cells in hepatic fibrosis

Wen-Ling Dai, Hai-Feng Huang, Cui-Hua Lu

Wen-Ling Dai, Department of Intensive Care Unit, the First People's Hospital of Yancheng City, Yancheng 224000, Jiangsu Province, China

Hai-Feng Huang, Department of Laboratory Medicine, Zhenyang Hospital of Yancheng City, Yancheng 224000, Jiangsu Province, China

Cui-Hua Lu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Cui-Hua Lu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. lch670608@sina.com

Received: 2013-11-06 Revised: 2013-12-03

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of osteopontin (OPN) in hepatic fibrosis and explore its correlation with the expression of alpha-smooth muscle actin (α -SMA) and transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) as well as the activation of hepatic stellate cells (HSCs).

METHODS: Forty healthy male SD rats were randomly divided into a normal control group and a carbon tetrachloride treatment group. The rats in the treatment group were given a subcutaneous injection of carbon tetrachloride, and

sacrificed at weeks 2, 4 and 6 after injection. The mRNA and protein expression of OPN, α -SMA and TGF- β 1 was assayed by reverse transcription-polymerase chain reaction, Western blot and immunohistochemistry.

RESULTS: PN, α -SMA and TGF- β 1 were slightly expressed in normal liver tissues. After injection of carbon tetrachloride, the expression of OPN, α -SMA and TGF- β 1 began to increase at week 2 and was significantly higher at weeks 4 and 6 ($P < 0.05$), showing a gradually rising trend. The expression of OPN was positively correlated with that of α -SMA and TGF- β 1 ($r = 0.625, 0.587$, both $P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of OPN, α -SMA and TGF- β 1 increases with the development of hepatic fibrosis. OPN probably participates in the activation of HSCs and the synthesis of extracellular matrix (ECM) in the development of hepatic fibrosis.

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

Key Words: Hepatic fibrosis; Osteopontin; Hepatic stellate cells; α -smooth muscle actin; Transforming growth factor- β 1

Dai WL, Huang HF, Lu CH. Correlation between expression of osteopontin and activation of hepatic stellate cells in hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4121-4126 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4121.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4121>

摘要

目的: 探讨骨桥蛋白(osteopontin, OPN)在肝纤维化组织中的表达及其与 α 平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)转化生长因子(transforming growth factor beta 1, TGF- β 1)的相关性, 了解OPN与肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)活化的关系.

方法: 健康♂SD大鼠40只, 随机分成正常对照

■背景资料

肝纤维化是各种原因引起的慢性肝损伤所共有的病理改变, 也是进一步向肝硬化发展的中间环节. 目前已明确肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)的激活和增殖是肝纤维化发生、发展的中心环节. HSC是肝纤维化形成中起关键作用的细胞. 肝纤维化时HSCs可在多种细胞因子及活性氧自由基的作用下激活并转化为肌成纤维细胞, 产生大量以I、III型胶原为主的细胞外基质, 并分泌转化生长因子(transforming growth factor beta 1, TGF- β 1)、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)等各种促纤维化因子, 促进肝纤维化的发生和发展.

■同行评议者

刘绍能, 主任医师, 中国中医科学院广安门医院消化科

■ 相关报道

既往研究显示OPN与肿瘤发生和转移有很大的关系,近期发现OPN与细胞外基质的分泌和纤维化有关,研究还证实OPN参与皮肤肌纤维母细胞的分化和激活,并能促进伤口愈合,在急性心肌炎病理过程中,OPN的表达水平与心肌纤维化程度相关,这些研究都提示OPN与纤维化发生发展密切相关。

组和四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)诱导的肝纤维化模型组。于造模2、4、6 wk末分批处死动物,分别采用RT-PCR和Western blot、免疫组织化学方法联合检测OPN、 α -SMA及TGF- β 1在肝纤维化组织中的表达。

结果: 正常对照组肝脏组织中OPN、 α -SMA及TGF- β 1均有极少量表达, CCl_4 注射2 wk后, OPN、 α -SMA、TGF- β 1表达开始增强, 2、4、6 wk肝组织中的表达强度呈明显递增趋势 ($P < 0.05$), OPN与 α -SMA及TGF- β 1表达均呈显著相关 ($r = 0.625$ 、 0.587 , $P < 0.05$)。

结论: OPN的阳性表达随着肝纤维化程度的加重而增强。在肝纤维化过程中OPN可能参与了HSC活化以及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝纤维化; 骨桥蛋白; 肝星状细胞; α -平滑肌肌动蛋白; 转化生长因子 β 1

核心提示: 本结果表明, 正常肝组织 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、骨桥蛋白(osteopontin, OPN)微量表达, 而随着 CCl_4 注射时间的延长, 肝纤维化程度的加重, α -SMA、OPN的表达均逐步增强, 至6 wk时达到高峰。统计学结果表明, OPN与 α -SMA在肝组织中的表达均同步增加, 两者呈显著动态相关。 α -SMA被认为是HSC激活的标志, 提示OPN可能与HSC的活化有关。

戴文玲, 黄海峰, 陆翠华. 骨桥蛋白在肝纤维化组织中的表达及其与肝星状细胞活化的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4121-4126 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4121.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4121>

0 引言

肝纤维化是肝脏对各种慢性肝损伤的代偿反应, 导致细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、细胞群和细胞因子的复杂改变^[1], 其特征是以胶原为主的ECM各成分因合成增多、降解相对不足而在肝内过量沉积。骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是一种分泌性磷酸化糖蛋白, 广泛分布于各种组织中, 结构上与多种细胞外基质蛋白相似, 功能上具有细胞因子的特点, 在多种疾病的发生发展中起着重要作用。既往研究显示OPN与肿瘤发生和转移有很大的关系, 近期发现OPN与细胞外基质的分泌和纤维化有关^[2,3], 研究还证实OPN参与皮肤肌纤维母细胞的分化和

激活, 并能促进伤口愈合^[4], 在急性心肌炎病理过程中, OPN的表达水平与心肌纤维化程度相关^[5], 这些研究都提示OPN与纤维化发生发展密切相关。研究证实OPN在肺纤维化和肾纤维化的发生发展中发挥着重要作用。在肝纤维化的进展过程中可以检测到OPN, 并且其表达与肝纤维化的进程具有相关性。本研究采用四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)皮下注射制备肝纤维化模型, 分别用免疫组织化学、RT-PCR和Western blot联合检测OPN及与肝纤维化密切相关的 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)A及转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)在肝纤维组织中的动态表达, 在进一步了解OPN在肝纤维化发生发展中的意义。

1 材料和方法

1.1 材料 δ Sprague-Dawley大鼠40只, 体质量150 g \pm 20 g, 由南通大学动物实验中心提供; T-PCR两步法试剂盒购自大连宝生物有限公司产品; PCR扩增用引物由上海生工生物工程技术服务有限公司设计并合成; 一抗兔抗大鼠OPN与TGF- β 1、 α -SMA、二抗均购自武汉博士德生物工程技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 分组及给药: 用随机抽签法把SD大鼠分为正常对照组和模型组。正常对照组($n = 8$)给予橄榄油溶液3 mL/kg皮下注射, 2次/wk, 共6 wk; 模型组($n = 32$)分2、4、6 wk组, 给予600 mL/L CCl_4 (精制橄榄油配置)3 mL/kg皮下注射, 2次/wk, 每周称体质量1次, 根据体质量调整药物用量。

1.2.2 标本处理: 于造模2、4、6 wk末分批处死大鼠, 大鼠处死时距离 CCl_4 注射时间为72 h。第2、4周末分别处死模型组大鼠8只, 正常对照组2只; 第6周末处死模型组大鼠14只(死亡2只), 正常对照组4只。大鼠处死后, 取出肝脏, 取200 g冷生理盐水灌注冲洗残血后采用液氮快速冷冻并置-80 °C冰箱中保存待测; 另一部分于40 g/L甲醛固定, 用于免疫组织化学及纤维化组织病理学观察。

1.2.3 RT-PCR检测OPN与 α -SMA、TGF- β 1 mRNA的表达: 从GenBank查取OPN与 α -SMA、TGF- β 1基因序列, 以Primer5软件设计引物各一对, OPN: 5'-ACTACAACCATGAGACTGGCAGTGGTTTGC-3', 5'-GAACTCTCTAATTCATGAGAAATGCGGAATTTCA-

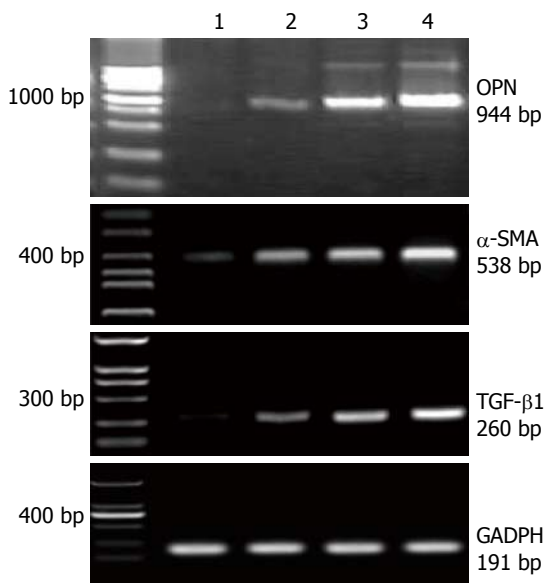


图 1 OPN、 α -SMA、TGF- β 1 mRNA在各组中的表达。1: 正常对照组; 2: 2 wk模型组; 3: 4wk模型组; 4: 6 wk模型组。OPN: 骨桥蛋白; α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白; TGF- β 1: 转化生长因子。

GATAC-3', 片段大小944 bp; α -SMA: 5'-CAGCCAGTCGCCATCAGGAACCT-3', 5'-GGCACGTTGTGAGTCACGCCA-3', 片段大小538 bp; TGF- β : 5'-GCTGCCCGAGGCGGTGCTC-3', 5'-TCTGCAGGCGCAGCTCTGCA-3', 片段大小260 bp; 内参照GAPDH: 5'-AACGACCCCTTCATTGAC-3', 5'-TCCACGACATACTCAGCAC-3', 片段大小191 bp. 上述引物均由上海生工生物技术服务有限公司合成。采用TRIzol法提取肝组织总RNA, 对样本的定量与纯度分析, cDNA合成, PCR扩增, 产物经20 g/L琼脂糖凝胶电泳, 观察扩增条带。

1.2.4 Western blot检测OPN与 α -SMA、TGF- β 1蛋白的表达: 取100 mg肝组织匀浆, 裂解液裂解后蛋白定量, 然后通过SDS-PAGE电泳分离, 硝酸纤维膜转膜后封闭2 h, 分别加入OPN与 α -SMA、TGF- β 1和 β -actin一抗孵育过夜, 加OPN与 α -SMA、TGF- β 1和 β -actin二抗孵育1 h后, 化学发光法显示蛋白条带, 胶片显影、定影。

1.2.5 免疫组织化学检测OPN与 α -SMA、TGF- β 1的表达: 在高倍镜下, 每张切片随机观察5个高倍视野, 根据细胞着色深度及阳性细胞数分别记分为0-3分, 着色深度以多数细胞呈棕色程度为准。凡细胞质或腺腔内黏液着浅棕色者为1分、棕色者为2分、深棕色者为3分、不着色为0分; 整块切片中阳性细胞占有所有细胞中的比例<30%为1分、30%-70%为2分、>70%为3分、

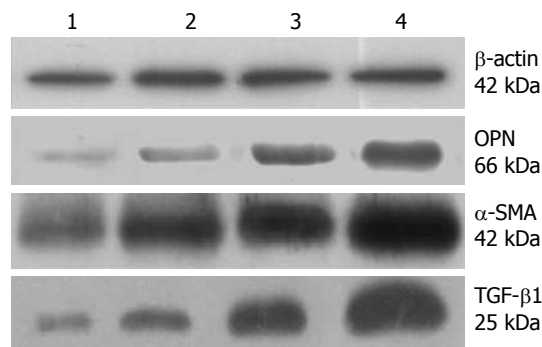


图 2 OPN、 α -SMA、TGF- β 1蛋白在各组中的表达。1: 正常对照组; 2: 2 wk模型组; 3: 4 wk模型组; 4: 6 wk模型组。OPN: 骨桥蛋白; α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白; TGF- β 1: 转化生长因子。

无细胞着色为0分。根据上述2项指标相加的总分为4级, 0分为阴性(-)、2-3分为弱阳性(+), 4分为阳性(++), 5-6分为强阳性(+++), 4分以上为过表达, 同时设定阴性对照。

统计学处理 所有数据由Stata7.0统计软件进行分析。免疫组织化学资料采用秩变换方差分析统计和处理。RT-PCR资料采用捷达801分析软件中的凝胶分析软件对条带进行分析, 以各样本的平均积分吸光度值(LA)/各自GAPDH平均积分吸光度值(LA)来表示各目的基因的相对表达强度, 从而对各目的基因表达的强度作半定量分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OPN与 α -SMA、TGF- β 1 mRNA的表达 在肝纤维化模型组, 均扩增出944 bp大小的OPN片段, 正常对照组仅微量表达, OPN mRNA在2、4、6 wk表达逐渐增强, 内参照GAPDH片段大小为191 bp. 经灰度扫描和与内参照比较分析发现, 随着 CCl_4 注射时间的延长, 肝纤维化程度的加重, OPN mRNA的表达逐渐增强, 到第6周时达到高峰。 α -SMA及TGF- β 1 mRNA在肝组织中的表达及变化趋势同OPN, 扩增的 α -SMA、TGF- β 1 mRNA的片段大小分别为538、260 bp, 上述3种mRNA的表达在各模型组与正常对照组表达差异有统计学意义($P<0.05$, 图1)。将RT-PCR半定量结果分析后发现, 随着 CCl_4 注射时间的延长, 肝纤维化程度的加重, 以上3种mRNA的表达逐渐增强, OPN与 α -SMA及TGF- β 1均有相关性有统计学意义($r = 0.625, 0.587, P<0.05$)。

2.2 Western blot检测OPN与 α -SMA及TGF- β 1蛋白的表达 OPN蛋白的相对分子质量为66 kDa,

■ 创新盘点

本研究采用 CCl_4 皮下注射制备肝纤维化模型, 分别用免疫组织化学、RT-PCR和Western blot联合检测OPN及与肝纤维化密切相关的 α -SMA及TGF- β 1在肝纤维组织中的动态表达, 在进一步了解OPN在肝纤维化发生发展中的意义。

应用要点

各种肝损伤因素促发HSC活化并大量表达OPN, 其后OPN上调TGF- β 1的水平, 并在其介导下进一步诱导HSC的活化和增殖, 加速肝纤维化的进程. 所以抑制OPN的表达, 有望能抑制HSC的活化, 从而减轻肝纤维化.

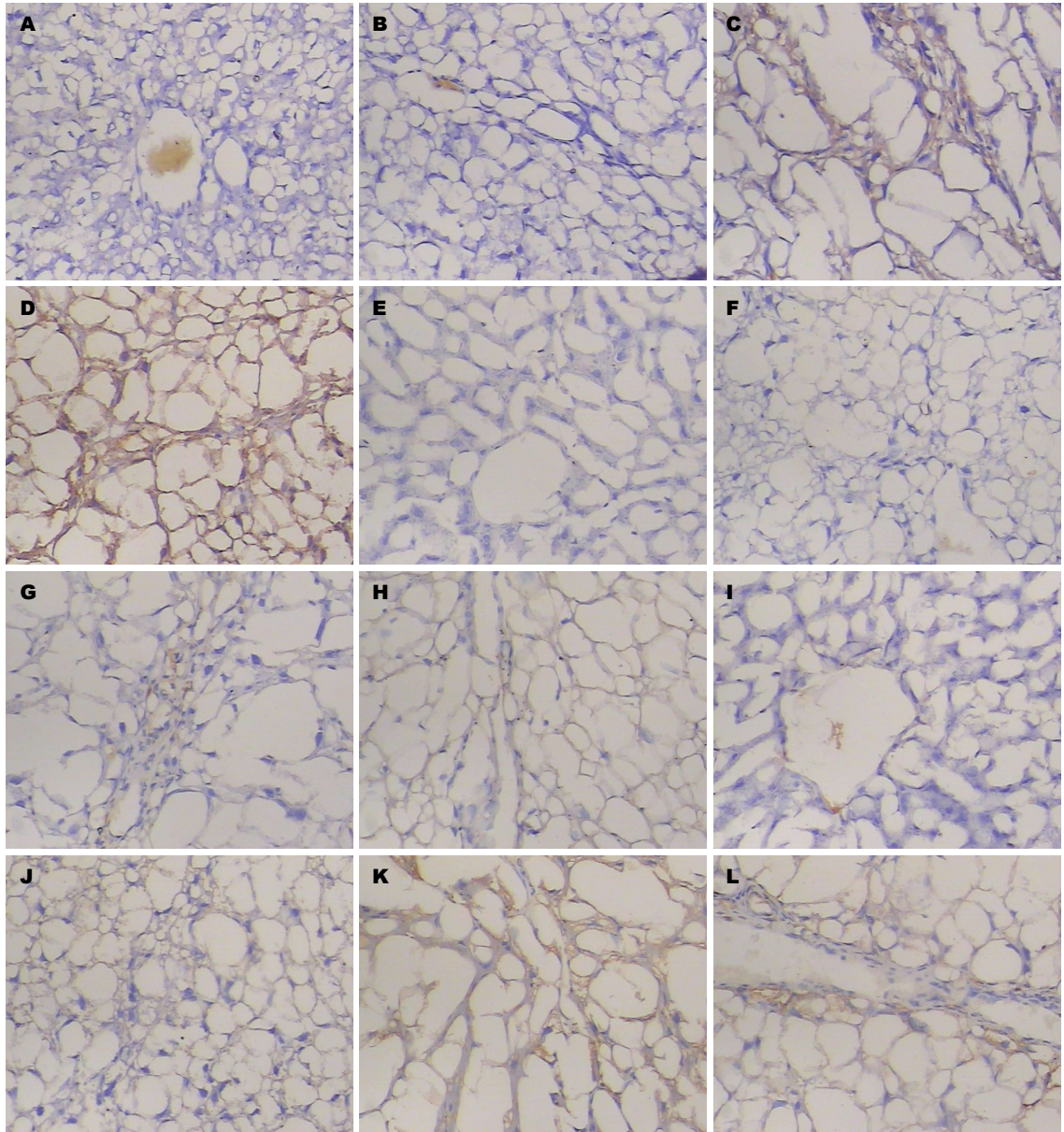


图3 免疫组织化学检测随肝纤维化加重, OPN、 α -SMA、TGF- β 1的变化($\times 200$). A-D: OPN的表达; E-H: α -SMA的表达; I-L: TGF- β 1的表达. OPN: 骨桥蛋白; α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白; TGF- β 1: 转化生长因子.

在正常对照组微量表达, 随着 CCl_4 注射时间的延长, 表达逐渐增强, α -SMA及TGF- β 1的分子量分别为42和25 kDa, 表达趋势同OPN蛋白. 经统计学分析, OPN与 α -SMA及TGF- β 1在各组间的表达差异有统计学意义($P < 0.05$), 在6 wk组的表达显著高于正常对照组($P < 0.05$, 图2).

2.3 免疫组织化学检测OPN与 α -SMA及TGF- β 1的表达 所需组织经由40 g/L甲醛固定, 脱水, 石蜡切片, 脱蜡至水, 自动免疫组织化学染色仪染色, 苏木素复染, 自来水冲洗, 蓝化, 切片经梯度酒精脱水干燥, 二甲苯透明, 中性树脂胶封固. 正常肝脏组织OPN有微量表达, α -SMA及TGF- β 1表达弱阳性. CCl_4 注射2 wk后, α -SMA及TGF- β 1

开始表达, OPN表达增多, 主要分布在中央静脉及窦周细胞; 随着 CCl_4 注射时间的延长, 以上三者的表达逐渐增强, 主要分布在门静脉、汇管区等纤维增生区域; 到第6周时, 上述3种蛋白质的表达最强. 三者的表达部位相同(图3).

3 讨论

肝纤维化是各种原因引起的慢性肝损伤所共有的病理改变, 也是进一步向肝硬化发展的中间环节. 目前已明确HSC的激活和增殖是肝纤维化发生、发展的中心环节^[6]. HSC是肝纤维化形成中起关键作用的细胞^[7]. 肝纤维化时HSCs可在多种细胞因子及活性氧自由基的作用下激

活并转化为肌成纤维细胞, 产生大量以 I、III 型胶原为主的细胞外基质, 并分泌 TGF- β 1、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)等各种促纤维化因子, 促进肝纤维化的发生和发展. 从本研究结果看, OPN 在正常对照组仅微量表达, 而随着 CCl₄ 注射时间的延长, 伴随肝纤维化程度的加重, OPN 的表达逐步增强, 提示 OPN 可能参与了大鼠肝纤维化的形成过程, 其表达水平的上调与肝纤维化的发生和发展有关.

Lenga 等^[4]研究发现 OPN 在 CCl₄ 诱导的肝纤维化模型及培养的活化 HSC 中都高表达; 通过 cDNA 芯片检测发现, OPN 随着 HSC 活化的进展, 表达逐渐升高, 可能 OPN 的上调表达是 HSC 活化的一个关键通路^[8]. 陈宏辉等^[9]在酒精性肝纤维化大鼠模型中, 发现模型组从第 4 周开始中央静脉和邻近肝窦内皮细胞中 OPN 的表达即显著上调, 并与胶原纤维面积明显呈正相关. 有研究在博来霉素诱导 OPN 缺失的小鼠肺纤维化中发现了 OPN 缺失的小鼠肺纤维化组织中 I 型胶原、TGF- β 1、MMP-2 表达减少^[10].

本结果表明, 正常肝组织 α -SMA、OPN 微量表达, 而随着 CCl₄ 注射时间的延长, 肝纤维化程度的加重, α -SMA、OPN 的表达均逐步增强, 至 6 wk 时达到高峰. 统计学结果表明, OPN 与 α -SMA 在肝组织中的表达均同步增加, 两者呈显著动态相关. α -SMA 被认为是 HSC 激活的标志, 提示 OPN 可能与 HSC 的活化有关. Lee 等^[11]的一项体外研究证实 OPN 可诱导大鼠肝星状细胞迁移、增殖以及 TIMP-2 和 MT1-MMP 的表达, 增加 MMP-2 的活性, 激活 HSC.

肝纤维化时, TGF- β 1 通过刺激 HSC 活化而在 ECM 的合成及纤维结构的重塑中发挥重要作用^[12], TGF- β 1 是公认的 HSC 活化最强烈的刺激因子^[13,14], 可通过 TGF- β 1/smads 信号传导通路直接激活 HSC 而形成肝纤维化. 本实验结果也证实, 在大鼠纤维化肝组织中, TGF- β 1 的表达较对照组明显增加, 随着 CCl₄ 注射时间的延长, 表达逐渐增强. 有研究^[11]显示了重组体 OPN 促进转化生长因子受体 TGF β R II 的表达, OPN 在 HSCs 中可通过促进 TGF β R II 的表达而诱导 HSC 分泌胶原. 另有研究显示 OPN 能直接诱导 TGF- β 1 mRNA 上调而引起肝纤维化^[15]. 本研究相关性分析表明, 随着肝纤维化程度的加重, TGF- β 1 与 OPN 的表达呈显著正相关, 结合本实验研究结果, 我们推测, 各种肝损伤因素促发 HSC 活化并

大量表达 OPN, 其后 OPN 上调 TGF- β 1 的水平, 并在其介导下进一步诱导 HSC 的活化和增殖, 加速肝纤维化的进程. 所以抑制 OPN 的表达, 有望能抑制 HSC 的活化, 从而减轻肝纤维化.

4 参考文献

- 1 Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2006; 364: 33-60 [PMID: 16139830 DOI: 10.1016/j.cca.2005.06.014]
- 2 Zahradka P. Novel role for osteopontin in cardiac fibrosis. *Circ Res* 2008; 102: 270-272 [PMID: 18276921 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.170555]
- 3 Philip S, Bulbule A, Kundu GC. Matrix metalloproteinase-2: mechanism and regulation of NF-kappaB-mediated activation and its role in cell motility and ECM-invasion. *Glycoconj J* 2004; 21: 429-441 [PMID: 15750784 DOI: 10.1007/s10719-004-5533-7]
- 4 Lenga Y, Koh A, Perera AS, McCulloch CA, Sodek J, Zohar R. Osteopontin expression is required for myofibroblast differentiation. *Circ Res* 2008; 102: 319-327 [PMID: 18079410 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.160408]
- 5 Szalay G, Sauter M, Haberland M, Zuegel U, Steinmeyer A, Kandolf R, Klingel K. Osteopontin: a fibrosis-related marker molecule in cardiac remodeling of enterovirus myocarditis in the susceptible host. *Circ Res* 2009; 104: 851-859 [PMID: 19246678 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.193805]
- 6 Mattioli B, Straface E, Quaranta MG, Giordani L, Viora M. Leptin promotes differentiation and survival of human dendritic cells and licenses them for Th1 priming. *J Immunol* 2005; 174: 6820-6828 [PMID: 15905523]
- 7 Taub R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 836-847 [PMID: 15459664 DOI: 10.1038/nrm1489]
- 8 Tokairin T, Nishikawa Y, Watanabe H, Doi Y, Omori Y, Yoshioka T, Yamamoto Y, Yoshida M, Nishimura T, Li Q, Arai H, Ishida A, Takada G, Enomoto K. Osteopontin expression in the liver with severe perisinusoidal fibrosis: autopsy case of Down syndrome with transient myeloproliferative disorder. *Pathol Int* 2008; 58: 64-68 [PMID: 18067644 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2007.02191.x]
- 9 陈宏辉, 张明亮, 阳学风, 封英娟, 严悦卿. 骨桥蛋白在酒精性肝纤维化中的表达. *胃肠病学和肝病杂志* 2005; 14: 45-48
- 10 Berman JS, Serlin D, Li X, Whitley G, Hayes J, Rishikof DC, Ricupero DA, Liaw L, Goetschkes M, O'Regan AW. Altered bleomycin-induced lung fibrosis in osteopontin-deficient mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286: L1311-L1318 [PMID: 14977630 DOI: 10.1152/ajplung.00394.2003]
- 11 Lee SH, Seo GS, Park YN, Yoo TM, Sohn DH. Effects and regulation of osteopontin in rat hepatic stellate cells. *Biochem Pharmacol* 2004; 68: 2367-2378 [PMID: 15548383 DOI: 10.1016/j.bcp.2004.08.022]
- 12 Sato M, Shegogue D, Gore EA, Smith EA, McDermott PJ, Trojanowska M. Role of p38 MAPK in transforming growth factor beta stimulation of collagen production by scleroderma and healthy dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol* 2002; 118: 704-711 [PMID: 11918720 DOI: 10.1046/j.1523-1747.2002.01719.x]
- 13 Saxena NK, Ikeda K, Rockey DC, Friedman SL,

同行评价
本研究设计合理, 结果可靠, 讨论比较丰富, 具有一定的学术价值.

- Anania FA. Leptin in hepatic fibrosis: evidence for increased collagen production in stellate cells and lean littermates of ob/ob mice. *Hepatology* 2002; 35: 762-771 [PMID: 11915021 DOI: 10.1053/jhep.2002.32029]
- 14 Dooley S, Delvoux B, Lahme B, Mangasser-Stephan K, Gressner AM. Modulation of transforming growth factor beta response and signaling during transdifferentiation of rat hepatic stellate cells to myofibroblasts. *Hepatology* 2000; 31: 1094-1106 [PMID: 10796885 DOI: 10.1053/he.2000.6126]
- 15 Kawashima R, Mochida S, Matsui A, YouLuTuZ Y, Ishikawa K, Toshima K, Yamanobe F, Inao M, Ikeda H, Ohno A, Nagoshi S, Uede T, Fujiwara K. Expression of osteopontin in Kupffer cells and hepatic macrophages and Stellate cells in rat liver after carbon tetrachloride intoxication: a possible factor for macrophage migration into hepatic necrotic areas. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 256: 527-531 [PMID: 10080931 DOI: 10.1006/bbrc.1999.0372]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

• 消息 •

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)。

益生菌对大鼠非酒精性脂肪肝的治疗作用及机制

王丽, 李显辉

王丽, 天津医学高等专科学校教务处 天津市 300222
李显辉, 天津市第三中心医院肾内科 天津市 300170
王丽, 硕士, 讲师, 主要从事医学微生物学与免疫学的相关研究。
作者贡献分布: 王丽与李显辉对此文所作贡献均等; 本研究由王丽与李显辉共同设计; 实验流程操作由王丽完成; 数据分析由李显辉完成; 本论文写作由李显辉与王丽完成。
通讯作者: 李显辉, 主治医师, 300170, 天津河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院肾内科。tcmlxh@sina.com
电话: 022-84331729
收稿日期: 2013-11-22 修回日期: 2013-12-09
接受日期: 2013-12-11 在线出版日期: 2013-12-28

Effect of probiotics treatment on rat non-alcoholic fatty liver disease

Li Wang, Xian-Hui Li

Li Wang, Educational Administration Centre of Tianjin Medical College, Tianjin 300222, China
Xian-Hui Li, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China
Correspondence to: Xian-Hui Li, Attending Physician, Tianjin Third Central Hospital, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. tcmlxh@sina.com
Received: 2013-11-22 Revised: 2013-12-09
Accepted: 2013-12-11 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To assess the effect of probiotics treatment on rat non-alcoholic fatty liver disease (NALFD).

METHODS: SD rats were fed a high-fat diet to induce NAFLD. After 8 weeks, the model rats were randomly divided into a saline-treated group and a therapy group [bifidobacterium triple viable enteric-coated pills 5 g/(kg·d)]. At the end of 16 weeks, all rats were killed. Weight of the body and the liver, the indexes of serum lipid, liver enzyme and adenosine were measured. Pathological changes such as inflammatory cell infiltration and steatosis in the liver were observed.

RESULTS: Compared to the normal control group, serum levels of glutamic-oxalacetic transaminase (AST), glutamic-pyruvic transaminase (ALT), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), liver mass index, interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) in

the NAFLD model group markedly increased, and obvious steatosis and inflammatory cell infiltration were noted. After treatment with probiotics, TG, AST, ALT, liver mass index, steatosis and inflammatory cell infiltration were improved significantly, and the level of adiponectin was increased.

CONCLUSION: Probiotics can remarkably alleviate dyslipidemia and liver steatosis in a rat model of NAFLD.

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

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Probiotics; Intestinal flora disturbance; Adipokine

Wang L, Li XH. Effect of probiotics treatment on rat non-alcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4127-4132 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4127.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4127>

摘要

目的: 观察益生菌制剂对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠的防治作用。

方法: 以高脂饲料喂养制备大鼠肥胖并发脂肪肝模型。8 wk后将造模成功大鼠分为治疗组和脂肪肝对照组。治疗组给予双歧杆菌三联活菌肠溶胶囊5g/(kg·d)灌胃; 脂肪肝对照组给予相同体积的生理盐水灌胃。于16 wk末处死大鼠, 称量肝脏及脂肪质量, 计算肝指数, 肝脏组织制作石蜡切片行HE染色, 观察病理变化; 检测各组大鼠血清中血脂、肝功能、脂肪因子等指标。

结果: 模型组大鼠与对照组相比, 血脂、肝功能水平及肝指数增高, 血清中白介素6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)水平显著升高, 光镜下肝脏出现明显脂肪变性及炎细胞浸润; 益生菌干

背景资料

在全球范围内, 非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的高发病率及对人类的危害已成为全球医学关注和研究的热点, 但目前尚无良好治疗措施。肠道菌群失调在NAFLD的发病机制中的作用逐渐成为关注的热点, 国内外不少学者都在进行“肠道屏障功能”的研究, 目前在此方面已取得较多新进展。

同行评议者

迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院消化内科; 郭永红, 副主任医师, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

■ 研发前沿

越来越多的医师倾向于将益生菌制剂等调整肠道菌群平衡的药物用于防治NAFLD的临床实践,但由于伦理条件所限,目前此类研究尚少,且缺少组织学变化结果支持。

预后的大鼠,与模型组大鼠比较,肝指数、肝功能、血脂降低,光镜下的肝脏脂肪变性及炎症细胞浸润明显改善,血清中脂联素水平明显上升,IL-6、TNF- α 、HOMA-IR水平显著下降。

结论: 益生菌制剂可显著减轻NAFLD大鼠肝脏脂肪变性,改善肝功能,对NAFLD有显著治疗效果。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 非酒精性脂肪肝; 益生菌; 肠道菌群紊乱; 脂肪因子

核心提示: 本研究应用高脂饮食诱导造成肥胖伴非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠模型,通过不良反应少,耐受性好的益生菌制剂-金双歧进行干预治疗,证实了益生菌制剂可显著减轻NAFLD大鼠肝脏脂肪变性,改善肝功能,对NAFLD有显著治疗效果。

王丽, 李显辉. 益生菌对大鼠非酒精性脂肪肝的治疗作用及机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4127-4132 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4127.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4127>

0 引言

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除外酒精和其他明确的损肝因素,以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床病理综合征,根据病变是否伴有炎症和纤维化分为单纯性脂肪肝、NAFLD及相关性肝硬化^[1]。目前认为NAFLD是代谢综合征的肝脏表现,其发病机制尚未完全阐明,近期研究发现其发生过程与肠道菌群的变化密切相关,肠道菌群紊乱和肠壁通透性增加等通过免疫反应介导,在NAFLD的发生、发展中有重要作用^[2]。有研究表明以乳酸菌、双歧杆菌为代表的益生菌与胆固醇代谢、胃肠道感染、细菌移位等有直接关系^[3]。目前益生菌制剂在NAFLD的应用上并不多见,且对NAFLD的治疗效果及机制并不清楚。

本实验中我们应用高脂饮食喂养造成大鼠NAFLD模型,应用益生菌制剂-金双歧进行干预治疗,观察益生菌对肝功能、肝脏内脂肪沉积及炎症因子的影响,为NAFLD的防治提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料 5周龄健康清洁级♂SD大鼠50只,体质量 150 ± 10 g,由天津医科大学实验动物中心

提供,清洁级实验动物编号: TJ23320130489。双歧杆菌乳杆菌三联活菌片(商品名: 金双歧)为内蒙古双奇药业股份有限公司产品;胰岛素放射免疫试剂盒购自上海森雄科技实业有限公司;大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、脂联素、白介素6(interleukin-6, IL-6)放射免疫试剂盒(ELISA法)为武汉博士德生物科技有限公司提供。基础饲料配方: 标准粉35%、麸皮15.5%、大豆粉20%、玉米粉20%、豆油0.5%、鱼粉5%、骨粉2.5%、酵母粉1%; 高脂饲料配方: 基础饲料60%、熟猪油15%、鸡蛋黄粉10%、脱脂奶粉8%、干酪素5%、白砂糖2%。日本产日立U22000型双光束分光光度计,7170型全自动生化分析仪,旋涡混匀器,低温高速离心机,OLYMPUS IX71型倒置显微镜。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及模型制备: 50只SD大鼠适应性喂养1 wk后,随机取12只作为正常对照组,喂以基础饲料;其余38只用于建立肥胖并发脂肪肝模型,喂以高脂饲料。饲养环境控制温度 22 ± 2 °C,湿度40%-70%,明暗周期为12 h,自由摄食饮水。8 wk末以造模大鼠体质量大于正常对照组平均体质量30%确定为肥胖大鼠,未达到此标准的大鼠舍弃。

1.2.2 药物干预: 对照组与模型组各取2只处死行肝脏HE染色,确定造模成功。将造模成功的24只大鼠分为2组,每组12只,继续喂以高脂饲料。对照组继续喂以基础饲料。治疗组给予双歧杆菌乳杆菌三联活菌溶液(4片加入20 mL蒸馏水混合均匀)5 g/(kg·d)灌胃,每日1次;模型组给予相同体积的生理盐水灌胃。药物干预8 wk,第16周末,处死大鼠,取血待测。

1.2.3 标本的采集及处理: 给药8 wk末大鼠禁食水12 h后,断头处死大鼠,迅速打开腹腔,经腹主动脉取血,以12000 r/min分离血清, -80 °C低温贮存备用,用于检测血清中脂肪因子、血脂、肝功能;取出肝脏,称质量;取固定部位小块肝组织,置于40 g/L中性甲醛液中固定,常规石蜡包埋、切片后,行HE染色,用于病理观察;其余肝脏即刻入液氮中冷冻,并移至-80 °C冰箱冻存备用。

1.2.4 指标检测: 肝指数: 分别称量肝脏湿质量与体质量,计算肝/体比值,即为肝指数;总胆固醇(serum total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、丙氨酸转氨酶(glutamic-pyruvic transaminase, ALT)、门冬氨酸转氨酶(glutamic-oxalacetic transaminase, AST)、空腹血糖(fasting

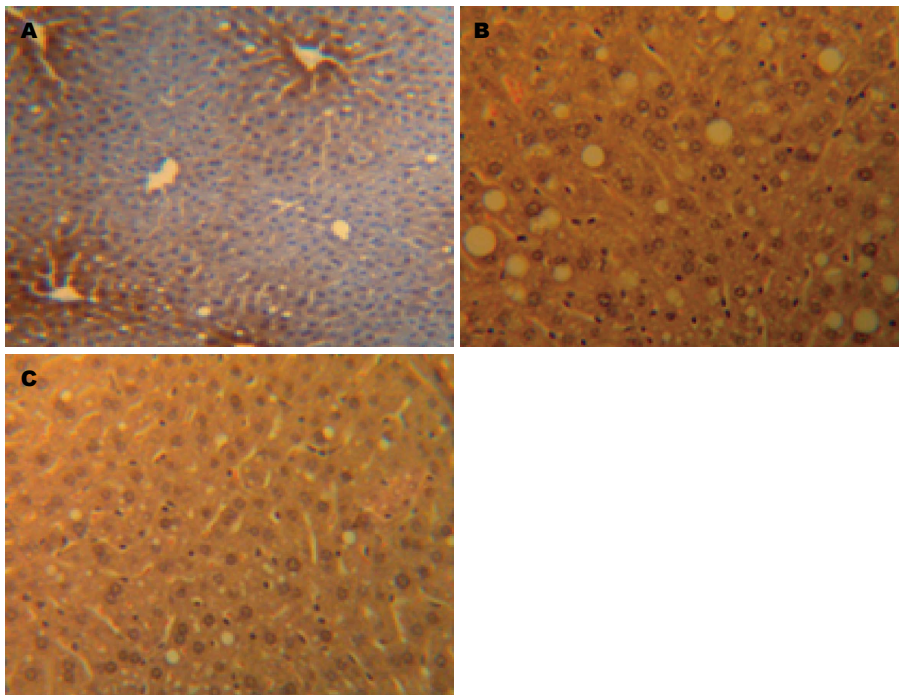


图 1 各组大鼠肝脏脂肪变性情况(HE × 400). A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组.

■ 相关报道
Marshall等出了“肠-肝轴”的概念。肝-肠为解剖上的“远亲”，功能上的“近邻”，屏障功能受损的肠道被认为是多脏衰的“发动者”，在NAFLD的发展过程中“肝-肠对话”扮演了重要角色。肠道菌群在人体免疫、营养代谢等多方面起到重要作用。

表 1 各组大鼠血脂、肝功能、肝指数的比较(mean ± SD)

分组	n	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	ALT(U/L)	AST(U/L)	肝指数
对照组	10	1.72 ± 0.16	0.48 ± 0.09	41.2 ± 7.2	145.8 ± 3.1	2.45 ± 0.24
模型组	12	2.30 ± 0.11	0.92 ± 0.08 ^b	88.4 ± 4.3 ^b	223.6 ± 4.9 ^b	3.78 ± 0.33 ^b
治疗组	12	2.24 ± 0.13	0.52 ± 0.03	55.1 ± 5.9	157.6 ± 2.7	2.58 ± 0.19

肝指数计算公式: 肝指数 = 肝湿重(g)/体质量(g) × 100%。^bP < 0.01 vs 模型组. TC: 血清总胆固醇; TG: 甘油三酯; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

blood-glucose, FBG)均由全自动生化分析仪测定。空腹胰岛素(fasting insulin, FNS): 放免法测定, 计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = FPG × FNS/22.5, 血清中TNF-α、脂联素、IL-6采用ELISA法测定; 肝组织病理: 常规石蜡包埋、切片, 行苏木精-伊红(HE)染色。光镜下对每张切片观察5个×400视野, 对肝脂肪变性程度和炎性细胞浸润程度进行分级。由有经验的病理系教师盲法阅片做出诊断。

统计学处理 数据采用mean ± SD描述。应用SPSS16.0统计学软件进行分析, 两组间比较用t检验, 组间比较采用单因素方差分析, P < 0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血脂、肝功能及肝指数的比较 模型组大鼠血清中TC、TG、ALT、AST及肝指数与正常对照组相比均显著增高(P < 0.01); 与模型

组相比, 治疗组大鼠的TG、转氨酶及肝指数明显降低(P < 0.05); 但与正常对照组比较仍然有所升高(P < 0.05); 而治疗组TC水平较模型组无明显下降(P > 0.05, 表1)。

2.2 各组大鼠肝脏病理学变化 光镜下观察, 正常对照组大鼠肝小叶结构完整、清晰, 肝细胞围绕中央静脉呈放射状分布, 无脂质浸润, 汇管区及肝小叶内无炎细胞浸润(图1A)。NAFLD模型组肝脏病理切片可见肝细胞排列紊乱、稀疏, 边界欠清晰, 肝小叶内呈现以大泡性为主的混合性脂肪变性。同时可见局灶性汇管区炎细胞浸润, 炎细胞以淋巴细胞为主(图1B, 2B), 与正常对照组相比有显著差异(P < 0.01)。与对照组相比, 治疗组仍存在脂肪变性, 肝细胞排列较稀疏; 但脂滴较小, 且范围局限, 汇管区浸润的炎细胞数量明显下降, 与模型组相比有显著差异(P < 0.01, 图1C, 2C)。

2.3 各组大鼠血清炎症因子及胰岛素抵抗指数

■创新盘点

本文从肠道生物屏障入手,介绍导致肠道菌群在NAFLD机制中的作用,又应用益生菌制剂,进行肠道菌群的调节以观察肝脏的组织学改变,具有较好的创新性和科学学术价值。

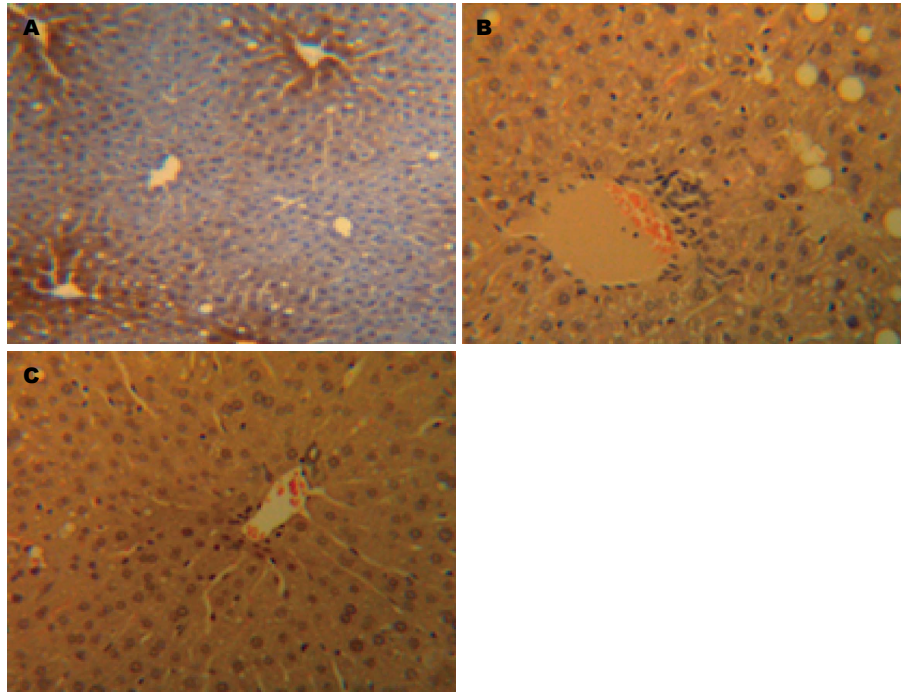


图 2 各组大鼠肝脏炎症细胞浸润情况(HE × 400). A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组.

表 2 各组大鼠血清炎症因子、胰岛素抵抗指数的比较(mean ± SD)

分组	n	IL-6(ng/L)	脂联素(μg/L)	TNF-α(ng/L)	HOMA-IR
对照组	10	0.45 ± 0.18	2.18 ± 0.39	1.92 ± 0.21	5.38 ± 1.12
模型组	12	1.13 ± 0.11 ^b	1.42 ± 0.08 ^b	2.47 ± 0.13 ^b	10.16 ± 0.29 ^b
治疗组	12	0.64 ± 0.13	2.03 ± 0.13	2.09 ± 0.36	6.26 ± 1.23

^b $P < 0.01$ vs 模型组. IL-6: 白介素6; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; HOMA-IR: 稳态胰岛素评价指数.

的比较 16 wk末,相对于正常对照组大鼠,模型组大鼠血清中IL-6、TNF-α及HOMA-IR显著升高,而脂联素水平却明显降低($P < 0.01$).原本为NAFLD大鼠,经过8 wk的益生菌治疗,血清中HOMA-IR及IL-6、TNF-α水平明显下降($P < 0.05$),脂联素水平有所上升,但仍未回到血清中正常水平($P > 0.05$,表2).

3 讨论

近年来,随着生活水平的提高,我国NAFLD的发病率逐年增加.对于NAFLD发病的具体机制尚无定论,既往研究中被广泛接受的是“二次打击”学说,其核心理论为胰岛素抵抗及脂肪的氧化应激^[4].但该理论尚存争议.基于解剖及功能上的相关性,“肠-肝轴”概念的提出,指出肝脏与肠道存在多方面的相互作用,共同为对方的免疫完整性提供条件^[5].肠道屏障功能在NAFLD的发病机制的作用逐渐成为学者研

究的重要方面.肠道黏膜屏障是指肠道能防止肠腔内的有害物质如细菌和毒素等穿过肠黏膜进入体内其他组织器官和血液循环的结构和功能的总和^[6].肠道屏障从功能上分类,包括机械屏障、化学屏障、免疫屏障、生物屏障.具体来说,机械屏障即肠道正常解剖结构,包括黏液层、肠道上皮细胞及上皮间紧密连接;化学屏障主要包括胃酸、各种消化酶、胆汁等;免疫屏障主要由淋巴细胞及肠道黏膜分泌的免疫球蛋白A组成;生物屏障由正常菌群的平衡构成,是能量吸收,储存的重要环境因素^[7].肠道屏障功能损伤主要表现为肠道菌群失调、小肠细菌过多生长、肠道黏膜通透性增高等.肠道生物屏障保持着动态平衡.Spencer等^[8]的人体实验显示,在极短时间内予饮食结构改变,不同个体的肠道菌群构成即存在变化.目前在肠道屏障功能损伤已取得较多新进展.研究证实^[9],在NAFLD的发病过程中存在小肠细菌过度生长

现象. 正常情况下, 肠道黏膜可有少量细菌及内毒素移位; 而在肝功能受损, 小肠内细菌, 尤其是革兰阴性需氧菌出现过度生长, 导致肠道黏膜生物屏障功能障碍, 内毒素在经过肝脏时未被完全清除, 过量的内毒素随血液进入到体循环, 形成肠源性内毒素血症. 内毒素进入体循环后可通过对肝细胞的直接作用而损伤肝脏, 并进一步激活枯否细胞产生TNF- α 、IL-6等炎症因子, 通过细胞因子的相互激活, 产生“瀑布效应”, 增加肠道黏膜通透性, 进一步加重肠道菌群紊乱, 形成恶性循环. 当肠道内菌群平衡被打破时, 人体能量代谢也相应发生改变^[10]. 正常人体肠道菌群发酵人的消化器官未消化的食物, 增加能量代谢效率, 从而给宿主提供更多能量^[11]. 而肠道菌群平衡被打破时, 条件致病菌增多, 而相应正常菌群减少, 使得能量代谢发生障碍. 当然, NAFLD同时也反过来促进肠道的菌群失调. 在NAFLD的发展过程中, 伴随着多种炎症介质的产生. IL-1、干扰素可抑制摄食中枢, 使食欲下降, 反射性使胃肠运动减弱; 前列腺素2、血小板激活因子能引起肠道运动功能异常, 胃肠功能紊乱, 移型性运动复合减弱或者消失, 其最重要的后果是使小肠部内容物淤滞, 从而导致菌群失调^[12].

本实验中, 我们应用高脂饮食诱导成功造成肥胖伴NAFLD大鼠模型, 照比应用药物损伤造模, 更接近于人类脂肪肝的成因. 本研究结果显示模型组大鼠与正常对照组大鼠相比出现了肥胖、血脂增高, 肝功能损害. 光镜下可见肝脏病理切片肝细胞排列紊乱, 广泛脂肪空泡及局灶性汇管区淋巴细胞浸润. NAFLD的发病机制错综复杂, 除了肠道菌群紊乱, 还有胰岛素抵抗及多种炎症因子都参与了其发生、发展过程. 多种致病因素在NAFLD中的作用及相互关系仍不清楚.

NAFLD的治疗目前尚无理想的药物, 近年来研究发现^[13]益生菌制剂对NAFLD的治疗有一定疗效. 其治疗原理正是利用肠道-肝脏的相互影响, 促进正常微生物的生长繁殖以抑制治病菌的生长, 减少细菌内毒素、炎症因子等有害物质的产生, 快速构建胃肠道微生态平衡, 维持肠道生物黏膜屏障的稳固. 基于此, 越来越多的医师倾向于将益生菌等调整肠道屏障的药物用于防治NAFLD的临床实践, 但由于临床大规模实验研究较少, 且存在伦理学问题, 结果尚存争议^[14,15].

本研究所应用的益生菌制剂是长型双歧杆菌、保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌的活菌制剂. 三者组成了一个在不同条件下都能生长、作用快而持久的联合菌群.

本研究证实了益生菌制剂能够改善NADLD大鼠肝功能及血脂异常, 并能够显著改善肝细胞的脂肪变性, 其机制可能与其调节肠道菌群从而减少炎症因子, 改善胰岛素抵抗有关. 肠道菌群失调在NAFLD发病机制中的作用不容忽视, 而益生菌制剂有不良反应少, 耐受性好等众多优点, 但就脂肪肝的防治方面, 其远期疗效及与胰岛素抵抗的因果关系还有待更深入的研究.

4 参考文献

- 1 Fassio E, Alvarez E, Domínguez N, Landeira G, Longo C. Natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a longitudinal study of repeat liver biopsies. *Hepatology* 2004; 40: 820-826 [PMID: 15382171]
- 2 Shanab AA, Scully P, Crosbie O, Buckley M, O'Mahony L, Shanahan F, Gazareen S, Murphy E, Quigley EM. Small intestinal bacterial overgrowth in nonalcoholic steatohepatitis: association with toll-like receptor 4 expression and plasma levels of interleukin 8. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1524-1534 [PMID: 21046243 DOI: 10.1007/s10620-010-1447-3]
- 3 Festi D, Colecchia A, Sacco T, Bondi M, Roda E, Marchesini G. Hepatic steatosis in obese patients: clinical aspects and prognostic significance. *Obes Rev* 2004; 5: 27-42 [PMID: 14969505 DOI: 10.1111/j.1467-789X.2004.00126.x]
- 4 Anstee QM, Goldin RD. Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research. *Int J Exp Pathol* 2006; 87: 1-16 [PMID: 16436109 DOI: 10.1111/j.0959-9673.2006.00465.x]
- 5 Compare D, Coccoli P, Rocco A, Nardone OM, De Maria S, Carteni M, Nardone G. Gut-liver axis: the impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012; 22: 471-476 [PMID: 22546554]
- 6 蒋朱明, 蔡威. 临床肠外与肠内营养. 第1版. 北京: 科学技术文献出版社, 2000: 364-365
- 7 张燕, 罗予. 肠道黏膜受损及保护机制的研究进展. *中国微生态学杂志* 2010; 22: 85-87, 91
- 8 Spencer MD, Hamp TJ, Reid RW, Fischer LM, Zeisel SH, Fodor AA. Association between composition of the human gastrointestinal microbiome and development of fatty liver with choline deficiency. *Gastroenterology* 2011; 140: 976-986 [PMID: 21129376 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.11.049]
- 9 Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444: 1027-1031 [PMID: 17183312 DOI: 10.1038/nature05414]
- 10 Panchal SK, Poudyal H, Waanders J, Brown L. Coffee extract attenuates changes in cardiovascular and hepatic structure and function without decreasing obesity in high-carbohydrate, high-fat diet-fed male rats. *J Nutr* 2012; 142: 690-697 [PMID: 22378327 DOI: 10.3945/jn.111.153577]

■应用要点

本实验从肠肝相互作用失调角度探讨益生菌对于由高脂饮食诱导的NAFLD的形成预防作用, 为进一步研究NAFLD发病机制及药物治疗开辟新的思路.

■同行评价

本文选题较新颖,从体外实验探讨益生菌对大鼠NAFLD的防治作用及机制,值得临床医生阅读。

- 11 Cao JJ, Gregoire BR, Gao H. High-fat diet decreases cancellous bone mass but has no effect on cortical bone mass in the tibia in mice. *Bone* 2009; 44: 1097-1104 [PMID: 19264159 DOI: 10.1016/j.bone.2009.02.017]
- 12 Gadaleta RM, van Mil SW, Oldenburg B, Siersema PD, Klomp LW, van Erpecum KJ. Bile acids and their nuclear receptor FXR: Relevance for hepatobiliary and gastrointestinal disease. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1801: 683-692 [PMID: 20399894]
- 13 Yokota A, Fukiya S, Islam KB, Ooka T, Ogura Y, Hayashi T, Hagio M, Ishizuka S. Is bile acid a determinant of the gut microbiota on a high-fat diet? *Gut Microbes* 2012; 3: 455-459 [PMID: 22825495 DOI: 10.4161/gmic.21216]
- 14 Loguercio C, De Simone T, Federico A, Terracciano F, Tuccillo C, Di Chicco M, Carteni M. Gut-liver axis: a new point of attack to treat chronic liver damage? *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2144-2146 [PMID: 12190198 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05942.x]
- 15 Loguercio C, Federico A, Tuccillo C, Terracciano F, D'Auria MV, De Simone C, Del Vecchio Blanco C. Beneficial effects of a probiotic VSL#3 on parameters of liver dysfunction in chronic liver diseases. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 540-543 [PMID: 15942443 DOI: 10.1097/01.mcg.0000165671.25272.0f]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

• 消息 •

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。

TPRV1、TPRV2在腹泻型肠易激综合征大鼠中的表达及其与内脏敏感性的关系

黄适, 张涛, 陈远能, 黄斌, 王坚

黄适, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410007
张涛, 陈远能, 黄斌, 广西中医药大学附属瑞康医院 广西壮族自治区南宁市 530011
王坚, 重庆医科大学药学院 重庆市 400016
黄适, 副主任医师, 硕士生导师, 主要从事肠易激综合征中西医结合防治的研究。
广西自然科学基金资助项目, No. 2012GXNSFAA053099
广西科学研究与技术开发计划基金资助项目, No. 桂科攻1298003-7-2
作者贡献分布: 黄适负责课题设计; 数据处理、论文撰写由黄适与张涛共同完成; 研究过程由陈远能、黄斌及王坚完成。
通讯作者: 张涛, 副主任医师, 530011, 广西壮族自治区南宁市华东路10号, 广西中医药大学附属瑞康医院。
453636438@qq.com
收稿日期: 2013-09-18 修回日期: 2013-10-28
接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-28

Relationship between expression of TPRV1 and TPRV2 and visceral hypersensitivity in rats with irritable bowel syndrome

Shi Huang, Tao Zhang, Yuan-Neng Chen, Bin Huang, Jian Wang

Shi Huang, Hunan University of TCM, Changsha 410007, Hunan Province, China
Tao Zhang, Yuan-Neng Chen, Bin Huang, the Affiliated Ruikang Hospital of Guangxi University of TCM, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Jian Wang, Chongqing University of Medicine, Chongqing 400016, China
Supported by: the Guangxi Natural Science Foundation. No. 2012GXNSFAA053099; and the Guangxi Science and Technology Development Program. No. 1298003-7-2
Correspondence to: Tao Zhang, Associate Chief Physician, the Affiliated Ruikang Hospital of Guangxi University of TCM, 10 Huadong Road, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 453636438@qq.com
Received: 2013-09-18 Revised: 2013-10-28
Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To analyze the pathogenesis of irritable bowel syndrome (IBS) by observing the expression of TPRV1 and TPRV2 in the hypothalamus-pituitary-colon and visceral hypersensitivity in rats.

METHODS: Forty rats were divided into two groups randomly: a normal group and an IBS

group. Diarrhea-predominate IBS was induced by intragastrical administration of folium senae and bondage stress. At the end of the fourth week, all rats were sacrificed by intraperitoneal anesthesia. Histopathological changes were detected by HE staining. The expression of mast cells was detected by toluidine blue staining. The protein and mRNA expression of VR1 and VR2 was assayed by Western blot and real-time PCR. Visceral hypersensitivity was evaluated by colorectal distension and abdominal wall tension.

RESULTS: IBS was characterized by visceral hypersensitivity and mast cell activation. The expression of VR1 and VR2 in the hypothalamus-pituitary-colon was significantly increased in the IBS group compared with the normal group (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: High expression of VR1 and VR2 may mediate visceral hypersensitivity and plays an important role in the development of IBS.

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

Key Words: Transient receptor potential vanilloid-1; Transient receptor potential vanilloid-2; Visceral hypersensitivity; Irritable bowel syndrome

Huang S, Zhang T, Chen YN, Huang B, Wang J. Relationship between expression of TPRV1 and TPRV2 and visceral hypersensitivity in rats with irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4133-4139 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4133.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4133>

摘要

目的: 检测肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)大鼠下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2表达, 探讨其与内脏敏感性的关系。

方法: 40只SPF级♂SD大鼠按体质量随机分为两组, 每组20只。除正常组外, 其余大鼠均采用番泻叶灌胃+束缚应激刺激4 wk法制备模型,

背景资料

内脏敏感性在肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)发病中占据关键地位已为消化专家所共识, 我们发现TPRV1作为配体门控非选择性阳离子通道受体, 在疼痛传导中至关重要, 基于上述研究角度出发, 探讨TPRV1表达在IBS发病中的意义, 将有望为IBS的防治提供新的靶点。

同行评议者

杜群, 副研究员, 广州中医药大学脾胃研究所药理室

■ 研究前沿

本研究发现IBS下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2 mRNA及其蛋白表达呈上升趋势,我们认为辣素受体升高可能通过增进内脏疼痛感觉从而影响肠道运动,导致腹痛、腹泻等症状发生。通过阻断辣素受体通道对于缓解疼痛无疑是有益的。

第4周末处死全部大鼠,截取下丘脑、垂体、结肠。应用HE染色、甲苯胺蓝染色分别检测结肠组织病理学及肥大细胞表达;应用Real-time PCR、Western blot技术分别检测下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2表达;应用腹部回缩反射结合腹壁紧张度综合评估大鼠内脏敏感性。

结果:模型组大鼠存在内脏敏感性增高和肥大细胞大量活化的特点,其下丘脑-垂体-结肠TPRV1和TPRV2 mRNA及其蛋白呈高表达变化;与正常组比较,有统计学意义($P < 0.05$)。

结论:TPRV1和TPRV2高表达与肠易激综合征大鼠内脏敏感性增高呈正相应关系。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:辣素受体-1;辣素受体-2;内脏敏感性;肠易激综合征

核心提示:肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)究其发病的重要病理机制是内脏敏感性增高,其中脑肠互动在IBS发病中占据关键地位。TPRV1、TPRV2作为重要的神经递质参与内脏疼痛信号转导的作用不容忽视,TPR通道在内脏痛觉感受和增敏机制占据重要地位,以TPRV1、TPRV2拮抗为靶点开展药物研究,将有望为IBS防治提供新的思路。

黄适,张涛,陈远能,黄斌,王坚. TPRV1、TPRV2在腹泻型肠易激综合征大鼠中的表达及其与内脏敏感性的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4133-4139 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4133.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4133>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是指一组包括持续或间歇发作的腹痛、腹胀、排便习惯和大便形状异常而又缺乏生化学和形态学可资解释的症候群^[1]。几十年来人们不断提出各种各样的假说试图阐明IBS的发病机制及病理生理,但几乎没有一种单一的发病机制能解释所有IBS的临床表现^[2,3]。随着对IBS动力、感觉、炎症、免疫、激素、心理、等方面的研究不断深入,内脏感觉敏感性增高引发IBS为消化专家所共识,从辣素诱导辣素受体敏化→电压门控通道改变→ Ca^{2+} 内流→内脏敏感性异常的模型中,可知内脏敏感性异常在IBS的发病地位不容忽视^[4]。神经、免疫、内分泌系统的多种细胞及活性物质可能参与IBS患者内脏敏感性异

常的调节,内脏感觉异常是IBS的病理基础^[5]。本研究从下丘脑-垂体-结肠轴TPRV1、TPRV2蛋白及其mRNA表达,探讨其与内脏敏感性关系。

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级♂SD大鼠40只,体质量200 g±20 g,由广西中医药大学动物实验中心提供[许可证号:SCXK(桂)2005-0021]。全部大鼠适应性喂养1 wk后进行实验研究。40 g/L甲醛、无水乙醇、二甲苯、Harris苏木精液、伊红染色液、APES、1%盐酸乙醇等。手术器械、研钵、直灌胃针、金属夹、石蜡油、一次性注射器(1、5、10 mL);0.5及1.5 mL Eppendorf管购自美国AEGEN公司。TP1020自动脱水机、RM2135徕卡切片仪、HI1210徕卡摊片机、HI1220徕卡烘片机、EG1160徕卡自动包埋机等。甲苯胺蓝及无水乙醇购自上海国药集团,TPRV1、TPRV2一抗购自Santa公司、二抗、DAB显色液均购自武汉博士德生物科技公司,实时荧光定量PCR、Western blot委托广州吉坤生物技术有限公司完成。番泻叶生药:购自本院药方。生产单位为:广东康美中药饮片厂。将番泻叶置60℃烘箱中密封水浸泡12 h,纱布过滤、浓缩为1g生药/100 mL药液。浓缩的条件为60℃冷风吹液面。4℃储存备用。

1.2 方法

1.2.1 IBS模型制备:♂SD大鼠40只,适应性喂养1 wk后称体质量,随机分为正常组、模型组,每组20只。同步饲养,等剂量生理盐水灌胃4 wk,模型组大鼠予4℃的10 g/kg番泻叶液每日1次/d,连续4 wk,第3周开始模型组灌胃后用宽胶纸束缚两前肢1 h,1次/d。持续到第4周。第4周末处死全部大鼠,取下丘脑、垂体、全部结肠,分两部分,分别置于10%中性甲醛中固定及放入液氮中冷冻备用。

1.2.2 指标检测:(1)结肠组织病理学检测:常规石蜡包埋,4 μm切片,HE染色,光镜下分析肠道病理变化;(2)甲苯胺蓝染色检测结肠MC表达:50℃烘片2 h后,石蜡切片常规脱蜡至水。将切片浸入10%甲苯胺蓝液1 min,自来水清洗至肉眼未见染料附着。继而将切片浸入90%乙醇分色,显微镜下观察分色情况,至紫红色颗粒清晰,约30-60 s,蒸馏水清洗1 min中止分色。常规脱水、透明、封片。应用Image-pro PLUS 4.1版图像分析软件,每例切片随机选择3个视野,光镜下观察,放大20倍,进行肥大细胞计数;(3)Western

表 1 TPRV1、TPRV2、GAPDH引物序列

引物序列	上游	下游	扩增片段(bp)
TPRV1	5'-TTGGATTTCCACAGCCGTAG-3'	5'-AGAGTTACCTGGCCTGCAGG-3'	113
TPRV2	5'-GGCATACACAGAAGGCTCCAC-3'	5'-TCCCTGTCAATCTGCAGCAG-3'	108
GAPDH	5'-CGTGTTCCTACCCCAATGT-3'	5'-TGTCATCATACTTGGCAGGTTTCT-3'	73

表 2 大鼠腹部回缩反射腹部撤离反射评分比较(n = 20, mean ± SD, mL)

分组	腹部抬高	背部拱起
正常组	0.72 ± 0.08	1.14 ± 0.12
模型组	0.38 ± 0.03 ^a	0.57 ± 0.06 ^a

^aP<0.05 vs 正常组.

blot检测下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2蛋白表达: 应用Western blot法, 检测TPRV1、TPRV2蛋白表达(具体步骤: 蛋白制备-SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳-转膜、封闭、抗原抗体反应-显色、检测分析); (4)实时荧光定量PCR检测下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2 mRNA表达: 应用实时荧光定量PCR法(Real-time PCR), 检测TPRV1、TPRV2 mRNA表达(具体步骤: 组织总RNA提取-Primer5.0软件设计引物-逆转录cDNA-Real time PCR反应体系扩增-目的基因相对mRNA表达水平的计算分析). 引物序列(GenBank上查找目的基因mRNA序列, 在CDS区设计特异性引物), 反应条件为: 93 °C 3 min, 然后93 °C 30 s, 55 °C 45 s, 72 °C 45 s, 共40循环(表1).

1.2.3 大鼠内脏敏感性检测: (1)评估大鼠的腹部撤离反射(abdominal withdrawal reflex, AWR): 采用结肠扩张法(colorectal distension, CRD)刺激^[6], 乙醚麻醉下, 将石蜡油润滑后的动脉栓子清除术导管经肛门插入, 气囊末端距离肛门1 cm. 用胶布把导管和大鼠尾巴根部缠在一起, 固定气囊. 大鼠苏醒后, 将其放在特制的透明塑料笼内, 大鼠在此笼内只能前后运动, 不能转身. 30 min后待大鼠适应环境后, 逐渐注气扩张肠道, 分别观察引起大鼠腹部抬起以及背部拱起的容量阈值, 进行评估. 用AWR行为评分, AWR 1分看做是大鼠感觉容量阈值, 2分作为痛觉敏感阈值 4分作为痛觉最大耐受容量阈值; (2)评估大鼠的腹壁紧张度^[7]: 每组随机挑选3只大鼠, 用苯巴比妥(30 mg/kg)麻醉, 将一银制双极电极缝合到腹股沟韧带上方、距中线1.5 cm的一侧腹外斜肌

上. 电极的游离端经皮下隧道置于颈后, 用胶布固定. 手术后5 d开始肌电记录. 乙醚麻醉下, 将上述球囊导管经肛门插入直肠内, 球囊末端距离肛门1 cm, 电极导线的两端连接电生理记录仪. 大鼠苏醒30 min后, 分别在0、0.4、0.8、1.2和1.6 mL不同容量下进行直肠扩张. 每次膨胀持续5 min, 记录5 min内腹壁收缩数量, 每次扩张结束时, 将水回抽, 检测球囊有无漏水. 用Power Lab电生理记录仪记录腹壁肌电活动, 高频滤过设置在10 Hz, 低频滤过在1 kHz, 电压在1 mV. 肌电活动增高超过基线水平100 μV以上认为是一次有意义的腹壁收缩活动.

统计学处理 实验数据以mean ± SD表示, 用SPSS11.5 For Windows One-way Analysis Of Variance(One-way ANOVA)进行多组间方差分析, 方差齐时用LSD法, 方差不齐时用Tamane'S T2法.

2 结果

2.1 大鼠一般情况变化 正常组大鼠体质量明显增加, 大便正常, 耗食量正常; 造模大鼠均出现不同程度体质量增长缓慢或下降, 自第2天始出现大便次数增多、稀便、肛门口污秽、拱背、萎靡、蜷卧少动、喜聚堆等表现.

2.2 大鼠内脏敏感性检测

2.2.1 大鼠腹部回缩反射: 正常组引起大鼠腹部抬高和背部拱起的扩张容量阈值分别为0.72 mL ± 0.08 mL和1.14 mL ± 0.12 mL; 模型组腹部抬高和背部拱起阈值分别为0.38 mL ± 0.03 mL和0.57 mL ± 0.06 mL(表2).

2.2.2 大鼠腹壁紧张度: 球囊无扩张时, 大鼠腹壁外斜肌通常无肌电活动, 5 min记录期间内由于大鼠偶尔身体移动, 会记录到幅度较小的腹壁收缩反应. 在0.4 mL容量时, 正常组腹壁收缩并不明显, 模型组腹壁收缩数目达4.27次/5 min ± 0.21次/5 min, 有统计学意义(P<0.05). 0.8 mL扩张容量下, 模型组腹壁收缩活动均较正常组显著增高, 收缩数目达8.43次/5 min ± 1.15次/5 min(P<0.05).

■ 相关报道

国外文献报道TPRV1和PGP5蛋白共表达在IBS内脏敏感性增高及腹痛有着重要意义, 但相关TPRV1受体拮抗剂因价格昂贵、不良反应大而无法市场化. 我们研究发现TPRV1和TPRV2在IBS发病中的地位不容忽视, 这对于IBS的新药物研发提供新的思路, 合成广泛选择性TRPV阻断剂对于IBS防治是值得深入探讨.

■创新盘点

课题组从下丘脑-垂体-结肠轴即脑肠轴角度,探讨TRPV表达及其意义,不同于以往研究仅观察结肠TRPV表达在IBS发病中的意义是本文的创新之处。

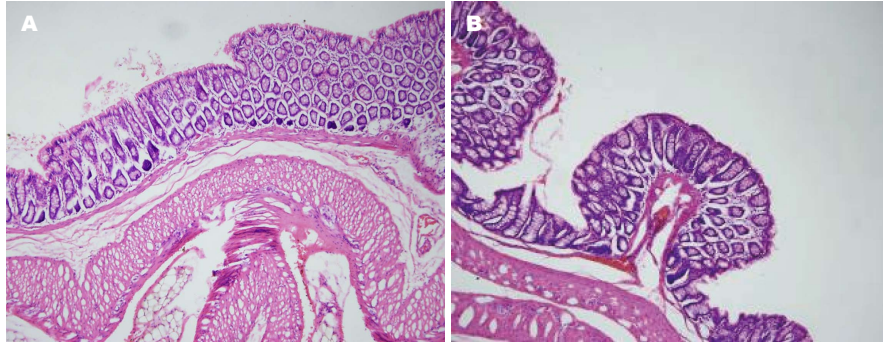


图1 肠易激综合征病理结果($\times 10$). A: 模型组; B: 正常组。

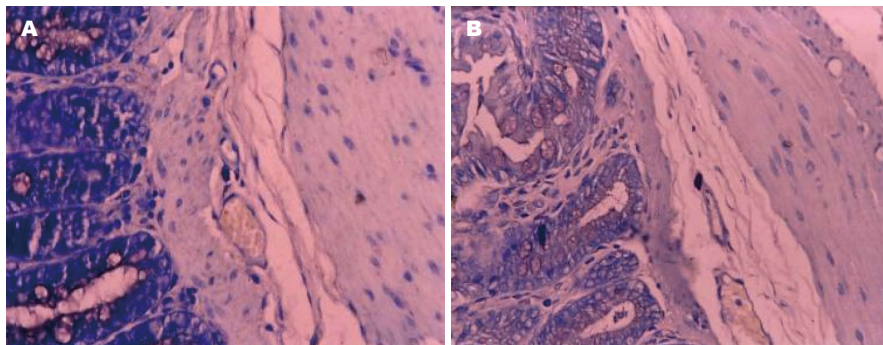


图2 肠易激综合征甲苯胺蓝染色肥大细胞表达结果($\times 20$). A: 模型组; B: 正常组。

表3 不同浓度下大鼠腹壁紧张度评分比较 ($n = 20$, mean \pm SD, mL)

分组	0.4 mL	0.8 mL	1.6 mL
正常组	0.53 \pm 0.12	3.12 \pm 1.01	17.58 \pm 4.31
模型组	4.27 \pm 0.21 ^a	8.43 \pm 1.15 ^a	18.14 \pm 5.26 ^a

^a $P < 0.05$ vs 正常组。

1.6 mL扩张容量下所有大鼠的腹壁收缩数目差异均无显著性($P > 0.05$, 表3)。

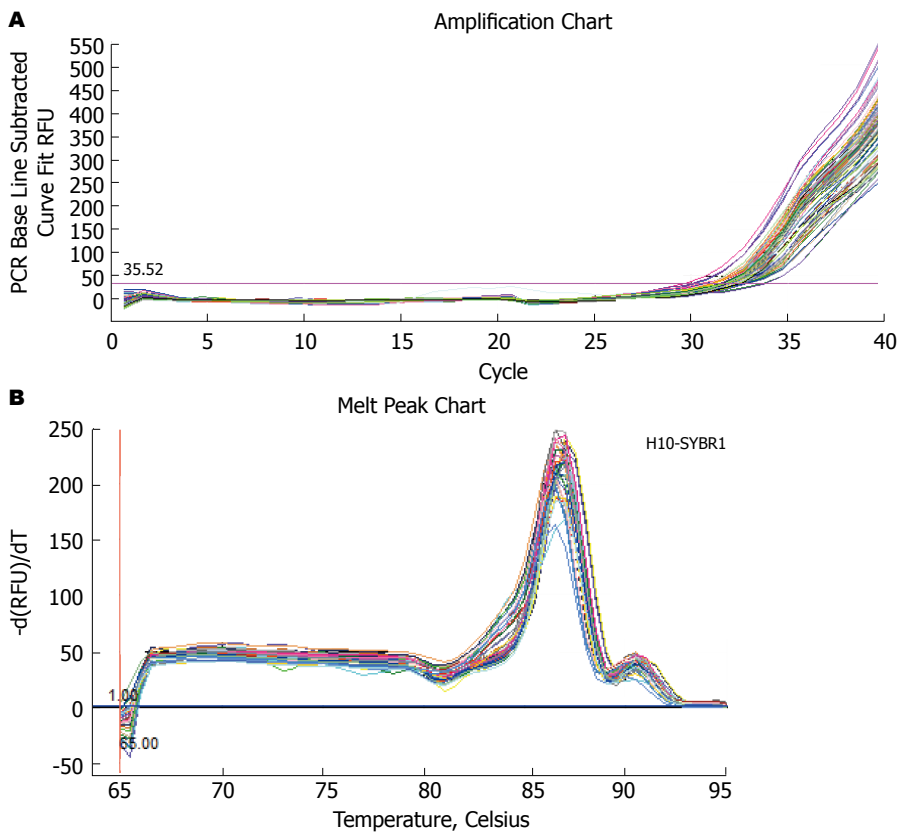
2.3 大鼠组织病理学变化 模型组大鼠结肠HE染色,镜下提示结肠壁各层结构均未见明显异常改变,偶见结肠黏膜下层轻度血管扩张,少量炎细胞浸润。与正常组比较,无明显差异(图1)。

2.4 大鼠甲苯胺蓝染色肥大细胞表达 甲苯胺蓝染色法结果表明,镜下见MC胞浆被染成紫红色,胞核呈蓝色,散布于黏膜层和黏膜下层的小血管周围,细胞呈圆形或梭形或形状不规则,紫红色颗粒围绕细胞核散在分布或呈不规则形状,其中脱颗粒者胞膜破裂,有颗粒涌出,细胞不规则;未脱颗粒者胞膜完整,胞质均匀。与正常组比较,模型组MC活化数目显著增多(图2)。

2.5 IBS下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2 mRNA表达 正常组下丘脑-垂体-结肠TPRV1、

TPRV2 mRNA表达分别为TPRV1(0.37 \pm 0.11, 0.39 \pm 0.07, 0.45 \pm 0.04); TPRV2(0.52 \pm 0.10, 0.47 \pm 0.08, 0.59 \pm 0.09)。模型组下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2 mRNA表达分别为TPRV1(1.06 \pm 0.12, 1.00 \pm 0.07, 1.43 \pm 0.23); TPRV2(1.15 \pm 0.16, 1.09 \pm 0.09, 1.29 \pm 0.14),两组比较有统计学意义($P < 0.05$)(图3)。

2.6 IBS下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2蛋白表达 正常组下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2蛋白表达,分别为TPRV1(0.23 \pm 0.01, 0.31 \pm 0.03, 0.52 \pm 0.08); TPRV2(0.21 \pm 0.01, 0.43 \pm 0.04, 0.37 \pm 0.07)。模型组下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2蛋白表达分别为TPRV1(0.56 \pm 0.05, 0.67 \pm 0.03, 1.32 \pm 0.12); TPRV2(0.69 \pm 0.06, 0.72 \pm 0.04, 1.27 \pm 0.17),有统计学意义($P < 0.05$)(图4)。



■应用要点
课题组发现 TPRV1、TPRV2 蛋白及其 mRNA 表达在 IBS 的发病中占据重要地位, 有望为 IBS 新药研发以及 IBS 防治提供新的思路。

图 3 肠易激综合征下丘脑-垂体-结肠 TPRV1、TPRV2 mRNA 表达。A: TPRV1 样本扩增曲线图; B: TPRV1 样本溶解曲线图。

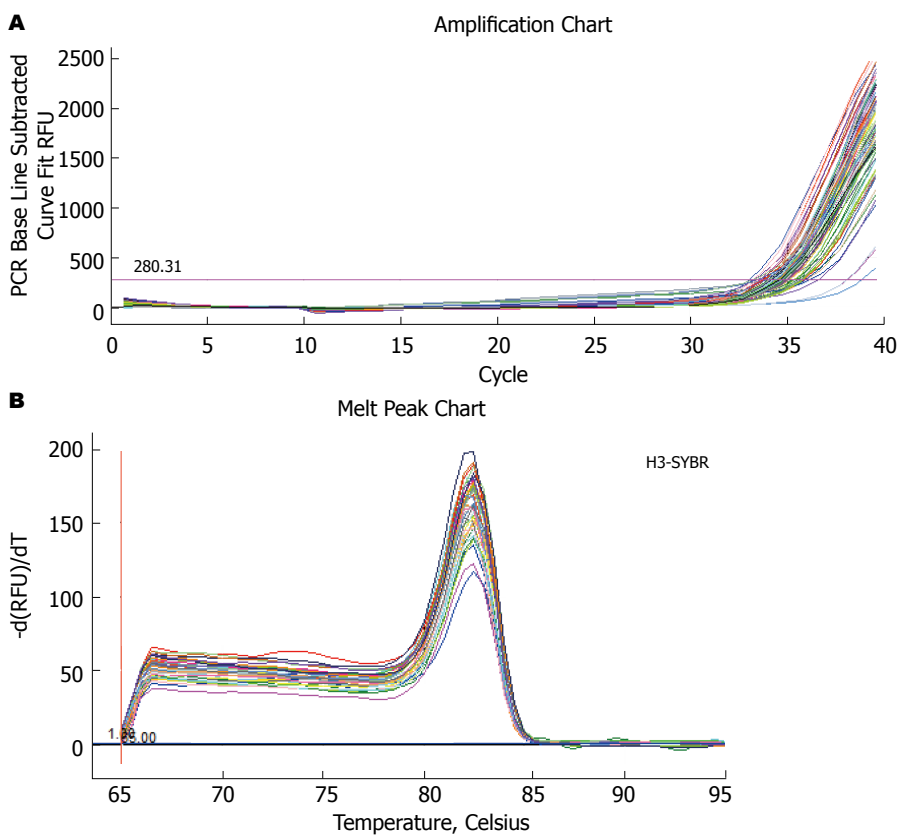


图 4 肠易激综合征-D 下丘脑-垂体-结肠 TPRV1、TPRV2 蛋白表达。A: TPRV2 样本扩增曲线图; B: TPRV2 样本溶解曲线图。

同行评价

本文研究方法可靠, 结论可信, 对于IBS的机制研究探讨有一定意义。

3 讨论

流行病学资料表明^[8], 发达国家普通人群中IBS发病率很高, 英国、美国人群IBS患病率为5%-25%。国内学者在北京地区的调查发现^[9], 符合Manning标准和Rome标准校正后的IBS人群患病率分别为7.01%和0.82%。广州市居民IBS患病率为5.6%, 普通门诊及消化专科门诊中IBS所占比例分别为10.1%、34.3%。女性高于男性, 便秘型占27.0%, 腹泻型占62.3%, 其他型占9.8%^[10]。IBS目前发病机制尚未明确, 因而尚缺乏有效针对性的治疗手段, 由此每年因此而耗费数百亿元^[11]。依据罗马III标准, 腹痛或腹部不适是诊断IBS的必备条件, 而内脏敏感性增高时腹痛或腹部不适的主要病理基础^[12], IBS究其发病的重要病理机制目前主要是内脏敏感性增高, 其中脑肠互动在IBS发病中占据关键地位。TPRV1、TPRV2作为重要的神经递质参与内脏疼痛信号转导的作用不容忽视^[13]。

TPR(辣椒素受体)家族是存在于细胞膜或胞内细胞器膜上的一个配体门控非选择性阳离子通道, 可被辣椒素、H⁺和伤害性热刺激(>43 °C)激活^[14]。TPRV1是一种多型信号探测器及多种疼痛刺激的整合器, 主要分布在背根神经中, 可以被多种炎症介质激活, 如: 生长因子、神经递质、肽类物质、小分子蛋白、类脂、化学增殖素及细胞增殖素等, 在痛觉的产生和内脏痛觉敏感性增强中扮演重要角色^[6,15]。蛋白水解酶可通过激活蛋白酶激活型受体2、蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)途径增强TRPV1的敏感性, 结肠内给药, 引起内脏痛觉过敏。TPRV2主要分布在感受伤害性热和机械刺激的有髓A δ 神经和少部分C神经纤维中, 与TPRV1有50%的同源性, 与炎症引起的痛觉增敏可能相关^[16,17]。本研究发现, IBS下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2 mRNA及其蛋白表达呈上升趋势, 与正常组比较, 有统计学意义; 上述指标变化与内脏敏感性增高呈正相关。我们认为辣素受体升高可能通过增进内脏疼痛感觉从而影响肠道运动, 导致腹痛、腹泻等症状发生。

总之, TPR通道在内脏痛觉感受和增敏机制占据重要地位, 以TPRV1、TPRV2拮抗为靶点开展药物研究, 将有望为IBS防治提供新的思路。

4 参考文献

- 1 Drossman DA, Dumitrascu DL. Rome III: New standard for functional gastrointestinal disorders. *J Gastrointest Liver Dis* 2006; 15: 237-241 [PMID: 17013448]

- 2 Barbara G, Stanghellini V. Biomarkers in IBS: when will they replace symptoms for diagnosis and management? *Gut* 2009; 58: 1571-1575 [PMID: 19923339 DOI: 10.1136/gut.2008.169672]
- 3 Vidlock EJ, Adeyemo M, Licudine A, Hirano M, Ohning G, Mayer M, Mayer EA, Chang L. Childhood trauma is associated with hypothalamic-pituitary-adrenal axis responsiveness in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2009; 137: 1954-1962 [PMID: 19737564 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.08.058]
- 4 Akbar A, Walters JR, Ghosh S. Review article: visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome: molecular mechanisms and therapeutic agents. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30: 423-435 [PMID: 19493256 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04056.x]
- 5 孙刚, 杨云生, 彭丽华, 王巍峰. 肠易激综合征大鼠内脏敏感性和脊髓背角5-HT和c-fos的表达. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2718-2722
- 6 Winston J, Shenoy M, Medley D, Naniwadekar A, Pasricha PJ. The vanilloid receptor initiates and maintains colonic hypersensitivity induced by neonatal colon irritation in rats. *Gastroenterology* 2007; 132: 615-627 [PMID: 17258716 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.11.014]
- 7 Ren TH, Wu J, Yew D, Ziea E, Lao L, Leung WK, Berman B, Hu PJ, Sung JJ. Effects of neonatal maternal separation on neurochemical and sensory response to colonic distension in a rat model of irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G849-G856 [PMID: 17110521 DOI: 10.1152/ajpgi.00400.2006]
- 8 Camilleri M. Genetics and irritable bowel syndrome: from genomics to intermediate phenotype and pharmacogenetics. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2318-2324 [PMID: 19655247 DOI: 10.1007/s10620-009-0903-4]
- 9 潘国宗, 鲁素彩, 柯美云, 韩少梅, 郭慧平, 方秀才. 北京地区肠易激综合征的流行病学研究: 一个整群、分层、随机的调查. *中华流行病学杂志* 2000; 21: 26-30
- 10 熊理守, 陈旻湖, 陈惠新, 许岸高, 王伟岸, 胡品津. 广东省社区人群肠易激综合征的流行病学研究. *中华医学杂志* 2004; 84: 14-16
- 11 Zhao Y, Zou D, Wang R, Ma X, Yan X, Man X, Gao L, Fang J, Yan H, Kang X, Yin P, Hao Y, Li Q, Dent J, Sung J, Halling K, Wernersson B, Johansson S, He J. Dyspepsia and irritable bowel syndrome in China: a population-based endoscopy study of prevalence and impact. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 562-572 [PMID: 20497141 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04376.x]
- 12 姜敏, 汤浩, 刘峥艳, 张义侠, 傅宝玉. 肠易激综合征内脏感知异常与临床症状的相关性. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 561-564
- 13 Holzer P. Transient receptor potential (TRP) channels as drug targets for diseases of the digestive system. *Pharmacol Ther* 2011; 131: 142-170 [PMID: 21420431 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2011.03.006]
- 14 Akbar A, Yiangou Y, Facer P, Brydon WG, Walters JR, Anand P, Ghosh S. Expression of the TRPV1 receptor differs in quiescent inflammatory bowel disease with or without abdominal pain. *Gut* 2010; 59: 767-774 [PMID: 20551462 DOI: 10.1136/gut.2009.194449]
- 15 van den Wijngaard RM, Klooker TK, Welting O, Stanisor OI, Wouters MM, van der Coelen D, Bulmer DC, Peeters PJ, Aerssens J, de Hoogt R, Lee K,

- de Jonge WJ, Boeckstaens GE. Essential role for TRPV1 in stress-induced (mast cell-dependent) colonic hypersensitivity in maternally separated rats. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 1107-1e94 [PMID: 19523146]
- 16 Peng HY, Chen GD, Tung KC, Lai CY, Hsien MC, Chiu CH, Lu HT, Liao JM, Lee SD, Lin TB. Colon mustard oil instillation induced cross-organ reflex sensitization on the pelvic-urethra reflex activity in rats. *Pain* 2009; 142: 75-88 [PMID: 19167822 DOI: 10.1016/j.pain.2008.11.017]
- 17 Scalera A, Loguercio C. Focus on irritable bowel syndrome. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012; 16: 1155-1171 [PMID: 23047498]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病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、中医中药学、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。

高清晰结肠镜下锯齿状腺瘤的形态学特点

刘揆亮, 司空银河, 林香春, 吴静, 刘红

■背景资料

腺瘤-腺癌序列是结直肠癌发生的主要途径之一, 近年研究发现锯齿状腺瘤(serrated adenoma, SA)是一种新的腺瘤类型, 其可能通过“增生性息肉-锯齿状腺瘤-腺癌”这一锯齿状通路发展为结直肠癌(colorectal cancer, CRC).

刘揆亮, 司空银河, 林香春, 吴静, 刘红, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科北京市 100038
刘揆亮, 医学博士, 医师, 主要从事结直肠癌及其癌前病变的基础与临床研究.

作者贡献分布: 本文由林香春设计; 研究过程由刘揆亮、司空银河、林香春、吴静及刘红共同完成; 数据分析由刘揆亮、司空银河及林香春完成; 论文写作由刘揆亮与林香春完成.

通讯作者: 林香春, 副教授, 主任医师, 100038, 北京市海淀区羊坊店铁医路10号, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科. xiangchunlin@hotmail.com

电话: 010-63926370

收稿日期: 2013-09-16 修回日期: 2013-10-22

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-12-28

Colonoscopic characteristics of serrated adenomas

Kui-Liang Liu, Yin-He Sikong, Xiang-Chun Lin, Jing Wu, Hong Liu

Kui-Liang Liu, Yin-He Sikong, Xiang-Chun Lin, Jing Wu, Hong Liu, Beijing Shijitan Hospital, CMU, Beijing 100038, China

Correspondence to: Xiang-Chun Lin, Chief Physician, Associate Professor, Beijing Shijitan Hospital, CMU, 10 Yangfangdian Tieyi Road, Haidian District, Beijing 100038, China. xiangchunlin@hotmail.com

Received: 2013-09-16 Revised: 2013-10-22

Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the morphologic features of serrated adenomas (SA) by regular high-resolution colonoscopy with narrow band imaging (NBI).

METHODS: A retrospective analysis was performed of the imaging data for patients with colorectal SA who underwent colonoscopy between March 2010 and June 2013. A comparison of colonoscopic features was made between SA and hyperplastic polyps (HP) with comparable predicted diameter.

RESULTS: A total of 50 SA from 35 patients and 50 HP from 42 patients were included. More SA were located in the right colon than in the left colon (48% vs 36%, $P > 0.05$). Type IIa or laterally spreading tumors (LST) were more commonly seen in SA ($P = 0.019$) and II-O pit pattern was more commonly seen in HP ($P = 0.000$). SA

more frequently showed the features of vague margins, irregular shape, cloud-like surface and dark bleeding spots in crypts (all $P < 0.001$). The sensitivities of II-O pit pattern, cloud-like surface, indistinct border, irregular shape and dark bleeding spots in the crypts for predicting SA were 44%, 92%, 30%, 66% and 76%, respectively, and the specificities were 98%, 98%, 98%, 94% and 92%, respectively. The sensitivity and specificity of the presence of three or more above characteristics for predicting SA were 80% and 100%, respectively.

CONCLUSION: SA have certain colonoscopic features, which can aid in differentiating SA from HP.

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

Key Words: Serrated adenoma; Hyperplastic polyp; Colonoscopy

Liu KL, Sikong YH, Lin XC, Wu J, Liu H. Colonoscopic characteristics of serrated adenomas. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4140-4145 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4140.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4140>

摘要

目的: 探讨高清晰结肠镜白光及窄带成像(narrow band imaging, NBI)模式下锯齿状腺瘤(serrated adenoma, SA)的形态特点及其与增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)的鉴别要点.

方法: 回顾性分析2010-03/2013-06在我院消化内科经高清晰结肠镜(CF-H260)检查诊断的结肠SA的内镜下形态学特点(边界、外观、血管网形态),与按大小配对的HP进行比较.

结果: 共纳入来自35例患者的SA 50例,来自42例患者的HP 50例. SA位于右半结肠者多于HP(48% vs 36%),但差异没有统计学意义($P > 0.05$). SA大体形态呈II a及LST型者多于HP(11例 vs 0例, $P < 0.05$). SA中隐窝开口呈I型者少于HP(25例 vs 0例, $P < 0.001$);呈II型开

■同行评议者

卢宁, 副主任医师, 兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

大型(II-O)者多于HP(22例 vs 0例, $P < 0.001$). SA中出现边界不清、形态不规整、积云样结构及息肉表面隐窝内点状血管者比例均高于HP($P < 0.001$). II-O型隐窝、积云样结构、边界模糊、形态不规整、隐窝内点状血管预测SA的敏感性分别为44%、92%、30%、66%和76%, 特异性分别为98%、98%、98%、94%和92%; 同时具备3种或3种以上形态学特点预测SA的敏感性为80%, 特异性为100%.

结论: SA具有一定的表面形态特点, 高清晰非放大内镜下对病变表面形态特征观察有助于SA与HP的鉴别.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 锯齿状腺瘤; 增生性息肉; 结肠镜

核心提示: 本文结合Hazewinkel等与Kimura有关放大内镜联合窄带成像(narrow band imaging, NBI)下无蒂锯齿状腺瘤(sessile serrated adenoma/polyp, SSA/P)表面形态学特征报道, 对高清晰非放大内镜白光及窄带成像内镜(narrow band imaging)下锯齿状腺瘤(serrated adenoma, SA)的表面形态学特点进行回顾分析, 发现SA与增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)具有一定的表面形态差异. 这些特点用于SA与HP的鉴别时具有高度特异性, 有助于充分排除HP的可能性. 由于部分SA可表现为与HP相似的较小息肉, 内镜下易于活检切除, 而SA具有较高的癌变潜能, 更应务求完全切除, 因此, 内镜下实时鉴别SA与HP, 具有重要的临床意义.

刘揆亮, 司空银河, 林香春, 吴静, 刘红. 高清晰结肠镜下锯齿状腺瘤的形态学特点. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4140-4145
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4140.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4140>

0 引言

腺瘤-腺癌序列是结直肠癌(colorectal cancer, CRC)发生的主要途径之一^[1], 近年研究发现锯齿状腺瘤(serrated adenoma, SA)是一种新的腺瘤类型, 其可能通过“增生性息肉-锯齿状腺瘤-腺癌”这一锯齿状通路发展为CRC^[2]. 结肠镜检查作为CRC及其癌前病变筛查的有效手段广泛应用于临床, 在降低结直肠癌的发病率方面具有重要作用. SA在结肠镜下形态特点不突出, 部分病变与增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)鉴别困难^[3], 目前有关SA表面形态特点的研究较少. 本研究旨在对我院近年诊断的结直肠SA及HP

的内镜下形态学特点进行总结和比较, 探讨结肠镜白光及窄带成像内镜(narrow band imaging, NBI)模式下SA与HP的鉴别要点.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性收集2010-03/2013-06于首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科内镜室结肠镜检查诊断为结直肠SA的资料. 病理学诊断由1位有经验的消化病理医师完成, 采用Longacre等^[4]标准: 有一定程度的锯齿状腺体; 有未成熟的杯状细胞存在; 腺体有异型增生. 入选标准: (1)用奥林巴斯CF-H260高清晰结肠镜完成全结肠检查并发现病变; (2)完成白光及NBI模式下抵近观察并保存图像; (3)对所观察的病变进行活检或内镜下切除并进行病理学检查; (4)病理学诊断为SA. 排除标准: (1)肠道准备不佳, 影响观察; (2)内镜图像不清晰, 影响观察; (3)图像不能反映病变全貌; (4)病理学判定同时存在HP及SA成分.

1.2 方法 按上述标准共入选SA 50例, 根据病变大小以1:1比例随机匹配同期发现的HP 50例. 记录病变的部位、大小、形态(参照多田正大等^[5])等资料. 观察白光及NBI模式下入选病变图片, 参照工藤分型^[6]进行隐窝分型; 参照Kimura等^[7]报道判断II型开大型隐窝(II-open, II-O)开口; 参照Hazewinkel等^[8]报道, 在白光及NBI模式下评价息肉是否具有以下形态特点: (1)息肉边缘模糊: 病变与周围正常黏膜界限不清楚; (2)息肉外形不规整: 病变外形非圆形, 呈非对称性; (3)息肉表面呈积云样结构: 表面不平, 柔和的结节、类似积云的结构; (4)息肉表面隐窝内可见点状血管: 在NBI模式下观察隐窝内是否有棕色的点状血管.

统计学处理 采用SPSS17.0进行统计学分析. 正态分布数据采用mean±SD表示, 非正态分布数据采用中位数及范围表示, 计量资料的比较采用t检验或u检验, 计数资料的比较采用 χ^2 检验, 等级资料的比较采用u检验. 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义. 形态特点对于SA与HP的鉴别价值采用敏感性、特异性、准确性及优势比(odds ratio, OR)描述.

2 结果

2.1 SA与HP的一般资料 纳入病变包括SA 50例(35例患者, 男23例, 女12例), HP 50例(42例患者, 男25例, 女17例), 病变位于盲肠6例、升结肠

■研究前沿

结肠镜检查作为CRC及其癌前病变筛查的有效手段广泛应用于临床, 在降低结肠癌的发病率方面具有重要作用, SA在结肠镜下形态学特点不突出, 部分病变的形态与增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)鉴别困难. 目前有关SA表面形态特点的研究较少.

■相关报道

Hazewinkel等最近对SSA/P的形态特征进行了系统总结. 他们发现放大内镜联合NBI下积云样外观、边界不清楚、外形不规则以及隐窝内点状血管是息肉组织学类型为SSA/P的预测因素, 其OR值分别为4.91(95%CI: 2.42-9.97)、2.38(95%CI: 1.44-4.96)、3.17(95%CI: 1.59-6.29)及2.05(95%CI: 1.02-4.11).

■ 创新盘点

本文紧跟国际研究报道,对高清晰非放大结肠镜白光及其NBI模式下SA的表面形态学特点及其与HP的鉴别要点进行总结,发现SA与HP在高清晰非放大内镜下的表面形态特点具有一定的差异。

表 1 SA与HP的一般资料

	SA	HP
大小(cm, 中位数与范围)	0.5(0.3-1.5)	0.5(0.3-1.5)
形态		
Is(n)	39 ^a	47
Isp(n)	0	2
Ip(n)	0	1
IIa(n)	6	0
LST(n)	5	0
部位		
右半结肠(n)	24	18
升结肠与盲肠(n)	11	9
横结肠(n)	13	9
左半结肠及直肠(n)	26	32
降结肠(n)	4	5
乙状结肠(n)	14	16
直肠(n)	9	11

^a $P < 0.05$ vs HP. SA: 锯齿状腺瘤; HP: 增生性息肉。

表 2 SA与HP的表面形态学特征比较

	SA(例)	HP(例)
隐窝开口		
I型	0 ^b	25
II型	28	24
II型开大型	22 ^b	1
边界不清楚	15 ^b	1
形态不规整	33 ^b	3
积云样结构	46 ^b	1
点状血管网	38 ^b	4

^b $P < 0.01$ vs HP. SA: 锯齿状腺瘤; HP: 增生性息肉。

14例、横结肠22例、降结肠9例、乙状结肠30例、直肠19例; SA中, 24例(48%)位于右半结肠(脾区以上); HP中, 18例(36%)位于右半结肠, 二者比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。SA组大小为0.5 cm(0.3-1.5 cm), HP组大小为0.5 cm(0.3-1.5 cm), 两组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 SA与HP的大体形态比较 SA中, 呈Is型者39例, 呈IIa型者6例, 侧向发育型腺瘤(laterally spreading tumor, LST)型5例; HP中, 呈Is型者47例, 呈Isp型者2例, 呈Ip型者1例。SA呈Is型者少于HP($P < 0.05$); 呈IIa及LST型者11例, 多于HP(0例, $P < 0.05$)(表1)。

2.3 SA与HP的表面形态学特征比较

2.3.1 边界及形态: SA中15例边界与周围黏膜界限不清, HP中1例可见边界界限不清; SA中33例

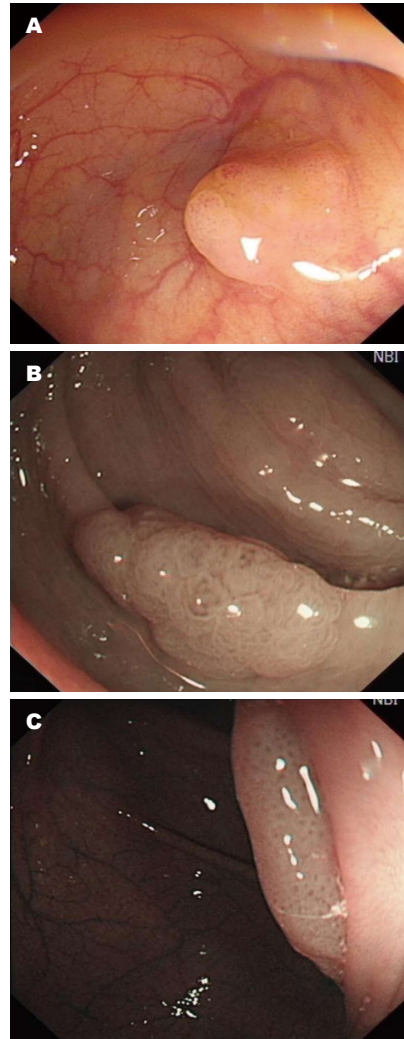


图 1 锯齿状腺瘤的内镜下表面形态学特点。A: 息肉外形不规整, 边缘模糊(白光下观察); B: 息肉表面呈积云样结构, 可见II型开大型隐窝(NBI下); C: 息肉隐窝表面可见点状血管(NBI下)。NBI: 窄带成像。

出现病变形态不规整, HP中3例呈形态不规整; 两组之间差异具有统计学意义($P < 0.001$)(表2, 图1A)。

2.3.2 隐窝开口形态: 根据工藤分型对息肉的隐窝开口形态的分析结果显示, SA中, 隐窝形态呈II型者28例, 占56.0%; II-O型者22例占44.0%; HP中, 隐窝形态呈I型者25例, 占50.0%; II型者24例, 占48.0%; II-O型者1例, 占2.0%。SA呈I型隐窝者少于HP($P < 0.001$), 呈II型隐窝者多于HP($P > 0.05$), 呈II-O型者多于HP($P < 0.001$)(表2, 图1B)。

2.3.3 表面积云样结构: 50例SA中, 46例表面呈积云样结构, 占92%; 50例HP中, 1例表面呈积云样结构, 占2%; 两组之间差异具有统计学意义($P < 0.001$)(表2, 图1B)。

2.3.4 NBI模式下息肉表面血管网: 50例SA中, 38

表 3 表面形态学特征对SA的预测作用

	OR(95%CI)	敏感性(%)	特异性(%)	准确性(%)
II-O型隐窝	38.5(4.9-301.2)	44(22/50)	98(49/50)	71(71/100)
边界不清楚	21.0(2.7-166.5)	30(15/50)	98(49/50)	64(64/100)
形态不规整	30.4(8.2-112.2)	66(33/50)	94(47/50)	80(80/100)
积云样结构	563.5(60.7-5229.7)	92(46/50)	98(49/50)	95(95/100)
点状血管	36.4(10.9-122.2)	76(38/50)	92(46/50)	84(84/100)
3种或3种以上特征	-	80(40/50)	100(50/50)	90(90/100)
不具备任一特征 ¹	-	84(42/50)	100(50/50)	92(92/100)

¹此处的敏感性、特异性及准确性是就预测HP而言. SA: 锯齿状腺瘤; HP: 增生性息肉.

例表面可见隐窝内点状血管, 占76%; 50例HP中, 4例表面可见隐窝内点状血管, 占8.0%; 两组之间差异具有统计学意义($P < 0.001$) (表2, 图1C).

2.4 不同部位SA形态特点的比较 位于右半结肠与左半结肠及直肠的SA相比, 大小、形态分型、隐窝分型、息肉表面血管网、积云样结构、边界及形态特点均无明显差异($P > 0.05$).

2.5 表面形态学特征对病理诊断的预测作用 I型隐窝预测HP的敏感性为50%, 特异性为100%, 准确性为75%. II-O型隐窝预测SA的OR为38.5(95%CI: 4.9-301.2), 敏感性为44%, 特异性为98%, 准确性为71%; 边界模糊预测SA的OR为21.0(95%CI: 2.7-166.5), 敏感性为30%, 特异性为98%, 准确性为64%; 形态不规整预测SA的OR为30.4(95%CI: 8.2-112.2), 敏感性为66%, 特异性为94%, 准确性为80%. 积云样结构预测SA的OR为563.5(95%CI: 60.7-5229.7), 敏感性为92%, 特异性为98%, 准确性为95%. 隐窝内点状血管预测SA的OR为36.4(95%CI: 10.9-122.2), 敏感性为76%, 特异性为92%, 准确性为84%. 除隐窝开口外的4种特点中, HP中2例同时具备2种特点(呈II型隐窝), 6例具有1种特点(1例呈II-O型隐窝); SA中1例同时具有4种特点(呈II型隐窝), 32例同时具有3种特点(13例呈II-O型隐窝); 16例同时具有2种特点(7例呈II-O型隐窝), 1例具有1种特点(呈II-O型隐窝). 总之, 将II-O型隐窝与其他4种形态特点一起考虑时, SA共40例同时具备3种或3种以上形态学特点, HP为0例; HP共42例不具备任何一种形态学特点, SA为0例. 因此, 同时具备3种或3种以上形态学特点用于预测SA的敏感性为80%, 特异性为100%, 准确性为90%; 不具备任何一种形态学特点用于预测HP的敏感性为84%, 特异性为100%, 准确性为92%(表3).

3 讨论

SA最早于1990年由Longacre等^[4]命名, 2000年WHO正式将其定义为继管状腺瘤、绒毛状腺瘤和混合型腺瘤之后的第四种腺瘤病理形态^[9]. 近年研究发现此前统称为SA的病变实际上具有一定程度的异质性, 位于右半结肠和左半结肠的SA在大小、形态、隐窝开口类型上均有区别^[10,11], 而右半结肠SA的恶性潜能高于左半结肠^[10], 并且与HP易于混淆^[12]. 因此, Torlakovic等^[12]提出对SA进行进一步区分. 2010年WHO分类^[13]确定锯齿状病变主要包括HP、无蒂锯齿状腺瘤(sessile serrated adenoma/polyp, SSA/P)及传统锯齿状腺瘤(traditional serrated adenoma, TSA)等, 依此分类, 过去统称为SA的病变将分别诊断为SSA/P与TSA^[14]. 随着放大内镜和NBI等技术的发展, 近年研究开始关注SA的内镜下表面形态特点. 有研究提出TSA较少, 常为有蒂病变, 色较红, 与SSA/P及HP有明显差异; 而SSA/P与HP大体形态上均表现为无蒂病变, 内镜下容易混淆^[15]. 因此SA与HP之间的鉴别可能主要是SSA/P与HP的鉴别, 因而本研究主要参考相关文献报道的SSA/P的表面形态学特点进行分析验证.

一些研究提出SSA/P的表面具有大量黏液, 形成“黏液帽”, 并因此表现为结节或颗粒样不平^[16]. Hazewinkel等^[8]最近对SSA/P的形态特征进行了系统总结. 他们归纳了放大内镜联合NBI下SSA/P较HP更为常见的6种特征, 然后在SSA/P、HP和腺瘤(各30例)中进行验证后发现放大内镜联合NBI下积云样外观、边界不清楚、外形不规则以及隐窝内点状血管是息肉组织学类型为SSA/P的预测因素, 其OR值分别为4.91(95%CI: 2.42-9.97)、2.38(95%CI: 1.44-4.96)、3.17(95%CI: 1.59-6.29)及2.05(95%CI: 1.02-4.11). 我们在本研究中通

应用要点

本研究提示SA与HP在高清晰非放大内镜下的表面形态特点具有一定的差异, 而这些特点用于SA与HP的鉴别时具有高度特异性, 有助于充分排除HP的可能性, 并提示我们选择更为彻底的处理方法.

■名词解释

锯齿状腺瘤：最早于1990年命名，2000年WHO正式将其定义为继管状腺瘤、绒毛状腺瘤和混合型腺瘤之后的第四种腺瘤病理形态。近年研究发现此前统称为SA的病实际上具有一定程度的异质性。2010年WHO分类确定锯齿状病变主要包括增生性息肉、无蒂锯齿状腺瘤及传统锯齿状腺瘤等。

过回顾既往所采集的内镜图片对该研究总结的以上形态特点进行了验证，证实上述形态特点在SA与HP间均存在显著差异。我们对这4种特点各自预测SA的价值进行了分析，显示其敏感性在30%-92%，以积云样结构最高；特异性在92%-98%，积云样结构、边界不清均较高。这些结果提示采用高清晰非放大结肠镜(奥林巴斯CF-H260)，借助NBI模式，可借助以上形态特点对SA及HP进行鉴别，见到积云样结构时尤其提示病变为SA。虽然其他几项特点敏感性较差，但特异性均较高，这提示内镜下一旦见到上述特点时应高度怀疑SA，并可基本排除HP的可能性。

Hazewinkel等^[8]认为隐窝分型对SSA/与HP没有鉴别作用，Boparai等^[7]指出隐窝的工藤分型用于鉴别SSA/P与HP的诊断准确性仅为55%。不过，Kimura等^[7]提出SSA/P具有独特的II-O型隐窝开口，其预测SSA/P的敏感性达65.5%，特异性达97.3%，Ishigooka等^[16]报道其敏感性为83.7%，特异性为85.7%。SSA/P的隐窝开口更大可能与SSA/P常产生大量黏液有关^[8]。不过，这两项研究均在放大内镜模式下观察隐窝开口。有研究证实高清晰非放大肠镜的NBI模式下抵近观察可对隐窝形态做出准确判断^[18]，因此，我们在本研究中对无放大常规高清晰内镜下NBI模式图像的隐窝开口形态进行了分析，结果发现也可清楚地观察到II-O型的隐窝开口，并且SSA/P的隐窝形态均为II型或II-O型，而HP中则以I型开口多见。这提示NBI模式下观察隐窝形态，尤其是发现II-O型隐窝有助于SA与HP的鉴别。我们的结果显示II-O型隐窝预测SA的敏感性较低(44%)，但特异性较高(98%)，这一结果与Kimura等^[7]类似，也提示虽然SA隐窝开口未必为II-O型，但内镜下见到II-O型隐窝时高度提示病变为SA；反之，内镜下见到I型隐窝则高度提示病变为HP。另外，Hazewinkel等^[8]提出，在NBI下观察时，对于同时具有前述4种形态学特征(不含隐窝开口)或不具有任一形态特征的息肉进行分析，这些形态学特征诊断SSA/P的敏感性、特异性和准确性分别为89%、96%和93%。本组资料中，我们将前述4种特点与II-O型隐窝相结合，发现具备以上5种特点中3种或3种以上时，预测SA的敏感性达80%，特异性达100%；而不具备任一特征对预测HP的敏感性达84%，特异性也达100%。这一结果提示内镜下对上述形态特征进行综合分析高度有助于鉴别SA与HP。而不具备上述任何形态特征的病变应高度怀疑

为HP。

有研究发现，过去所认为的一部分存在癌变潜能的所谓HP实际上多数是SSA/P^[19]。Lu等^[20]随访了40例SSA/P和55例HP患者，CRC发生率分别为12.5%和1.8%，提示SSA/P可能为一种高危病变。由于部分SA可表现为与HP相似的较小息肉，内镜下易于活检钳除，而SA具有较高的癌变潜能，更应务求完全切除^[8]，因此，内镜下实时鉴别SA与HP具有重要的临床意义。本研究提示SA与HP在高清晰非放大内镜下的表面形态特点具有一定的差异，而这些特点用于SA与HP的鉴别时具有高度特异性，有助于充分排除HP的可能性，并提示我们选择更为彻底的处理方法。不过，本研究为回顾性研究，而本院病理科近年来尚沿用Longacre等^[4]的SA诊断标准，因此未进一步区分SSA/P和TSA，可能存在一定局限性。这些形态特点用于内镜下实时判断病变性质的作用还有待前瞻性研究的验证。

4 参考文献

- 1 Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 1988; 319: 525-532 [PMID: 2841597 DOI: 10.1056/NEJM198809013190901]
- 2 Mäkinen MJ, George SM, Jernvall P, Mäkelä J, Vihko P, Karttunen TJ. Colorectal carcinoma associated with serrated adenoma--prevalence, histological features, and prognosis. *J Pathol* 2001; 193: 286-294 [PMID: 11241406 DOI: 10.1002/1096-9896(2000)9999:9999<: AID-PATH800>3.0.CO; 2-2]
- 3 Jaramillo E, Watanabe M, Rubio C, Slezak P. Small colorectal serrated adenomas: endoscopic findings. *Endoscopy* 1997; 29: 1-3 [PMID: 9083728 DOI: 10.1055/s-2007-1004052]
- 4 Longacre TA, Fenoglio-Preiser CM. Mixed hyperplastic adenomatous polyps/serrated adenomas. A distinct form of colorectal neoplasia. *Am J Surg Pathol* 1990; 14: 524-537 [PMID: 2186644 DOI: 10.1097/0000478-199006000-00003]
- 5 多田正大, 大川清孝, 三户冈英树. 内镜诊断与鉴别诊断图谱: 下消化道. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2005: 25
- 6 Kudo S, Tamura S, Nakajima T, Yamano H, Kusaka H, Watanabe H. Diagnosis of colorectal tumorous lesions by magnifying endoscopy. *Gastrointest Endosc* 1996; 44: 8-14 [PMID: 8836710 DOI: 10.1016/S0016-5107(96)70222-5]
- 7 Kimura T, Yamamoto E, Yamano HO, Suzuki H, Kamimae S, Nojima M, Sawada T, Ashida M, Yoshikawa K, Takagi R, Kato R, Harada T, Suzuki R, Maruyama R, Kai M, Imai K, Shinomura Y, Sugai T, Toyota M. A novel pit pattern identifies the precursor of colorectal cancer derived from sessile serrated adenoma. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 460-469 [PMID: 22233696 DOI: 10.1038/ajg.2011.457]
- 8 Hazewinkel Y, López-Cerón M, East JE, Rastogi A, Pellisé M, Nakajima T, van Eeden S, Tytgat KM,

- Fockens P, Dekker E. Endoscopic features of sessile serrated adenomas: validation by international experts using high-resolution white-light endoscopy and narrow-band imaging. *Gastrointest Endosc* 2013; 77: 916-924 [PMID: 23433877 DOI: 10.1016/j.gie.2012.12.018]
- 9 World Health Organization classification. Pathology and genetics of the digestive system. Lyon, France: IARC Press, 2000: 105-118
- 10 Oka S, Tanaka S, Hiyama T, Ito M, Kitadai Y, Yoshihara M, Haruma K, Chayama K. Clinicopathologic and endoscopic features of colorectal serrated adenoma: differences between polypoid and superficial types. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 213-219 [PMID: 14745394 DOI: 10.1016/S0016-5107(03)02693-2]
- 11 Jaramillo E, Tamura S, Mitomi H. Endoscopic appearance of serrated adenomas in the colon. *Endoscopy* 2005; 37: 254-260 [PMID: 15731942 DOI: 10.1055/s-2005-861007]
- 12 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 DOI: 10.1097/0000478-200301000-00008]
- 13 World Health Organization classification. Tumours of the digestive system. Lyon, France: IARC 2010: 160-165
- 14 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]
- 15 Yamada A, Notohara K, Aoyama I, Miyoshi M, Miyamoto S, Fujii S, Yamamoto H. Endoscopic features of sessile serrated adenoma and other serrated colorectal polyps. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 45-51 [PMID: 21510285]
- 16 Ishigooka S, Nomoto M, Obinata N, Oishi Y, Sato Y, Nakatsu S, Suzuki M, Ikeda Y, Maehata T, Kimura T, Watanabe Y, Nakajima T, Yamano HO, Yasuda H, Itoh F. Evaluation of magnifying colonoscopy in the diagnosis of serrated polyps. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4308-4316 [PMID: 22969193 DOI: 10.3748/wjg.v18.i32.4308]
- 17 Boparai KS, van den Broek FJ, van Eeden S, Fockens P, Dekker E. Hyperplastic polyposis syndrome: a pilot study for the differentiation of polyps by using high-resolution endoscopy, autofluorescence imaging, and narrow-band imaging. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 947-955 [PMID: 19595313 DOI: 10.1016/j.gie.2009.03.1172]
- 18 刘红, 吴静, 林香春, 高炳霞, 魏南, 姜国俊, 王沧海. 普通窄带成像内镜对结肠增生性息肉和腺瘤的鉴别诊断价值. *中华消化杂志* 2011; 31: 798-802
- 19 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/DRFQ0WFUF1G13CTK]
- 20 Lu FI, van Niekerk de W, Owen D, Tha SP, Turbin DA, Webber DL. Longitudinal outcome study of sessile serrated adenomas of the colorectum: an increased risk for subsequent right-sided colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 927-934 [PMID: 20551824 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181e4f256]

同行评价

本文探讨了高清晰结肠镜白光及NBI模式下SA的形态特点及其与HP的鉴别要点,表明SA具有一定的表面形态特点,高清晰非放大内镜下对病变表面形态特征的观察有助于SA与HP的鉴别。由于部分SA可表现为与HP相似的较小息肉,内镜下易于活检钳除,而SA具有较高的癌变潜能,更应务求完全切除。内容客观全面,观点新颖,具有一定的科学意义。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



基于iTRAQ结合2D-LC-MS/MS筛选胃癌血清差异表达蛋白

韦春回, 赖铭裕, 莫喜晶

■背景资料

目前诊断胃癌主要依靠对有症状患者行胃镜及手术病理活检等方法, 但因其为有创检查, 不能对胃癌高危人群进行筛查。其他辅助诊断如血液生化及影像学等检查由于准确性等原因, 不能如实反映胃癌实际情况。临床上迫切需要找到特异性及敏感性更高的胃癌诊断指标。

韦春回, 赖铭裕, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科广西壮族自治区南宁市 530021

莫喜晶, 广西中医药大学第一附属医院仁爱分院 广西壮族自治区南宁市 530001

韦春回, 硕士, 住院医师, 主要从事胃癌发病机制方面的研究。

广西科学研究与技术开发计划基金资助项目, No. 桂科攻1140003A-13

作者贡献分布: 韦春回与赖铭裕对此文所作贡献均等; 此课题由赖铭裕与韦春回设计; 研究过程由韦春回、赖铭裕与莫喜晶操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由赖铭裕提供; 数据分析由韦春回与莫喜晶完成; 本论文撰写由韦春回完成。

通讯作者: 赖铭裕, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科。laimingyu2005103@yahoo.com.cn

电话: 0771-5356620

收稿日期: 2013-09-21 修回日期: 2013-10-23

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-28

Screening differentially expressed serum proteins in gastric cancer by iTRAQ labeling coupled with 2D-LC-MS/MS

Chun-Hui Wei, Ming-Yu Lai, Xi-Jing Mo

Chun-Hui Wei, Ming-Yu Lai, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Xi-Jing Mo, Kindheartedness Branch of the First Affiliated Hospital of Guangxi Chinese Medical University, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Science and Technical Development Program of Guangxi, No. gkg1140003A-13

Correspondence to: Ming-Yu Lai, Professor, Chief Physician, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. laimingyu2005103@yahoo.com.cn

Received: 2013-09-21 Revised: 2013-10-23

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To screen serum differentially expressed proteins in gastric cancer (GC) patients and search biomarkers for GC diagnosis.

METHODS: Forty-five serum samples from GC patients and 45 from normal controls were collected. High-abundance proteins in serum were

removed by immune-chromatography assay. Isobaric tags for relative and absolute quantitation (iTRAQ) coupled with two-dimensional liquid chromatography/tandem mass spectrometry (2D-LC-MS/MS) were used to analyze and identify differentially expressed serum proteins between the two groups. Bioinformatics was used to analyze the identified differentially expressed proteins, and the expression of representative differential proteins was verified by Western blot.

RESULTS: The iTRAQ coupled with 2D-LC-MS/MS analysis led to the identification of a total of 199 proteins, of which 17 were differentially expressed proteins between the two groups, including 12 up-regulated ones and 5 down-regulated ones in GC patients. These differentially expressed proteins are involved in 10 biological processes, 9 molecular functions and 2 cellular components. Western blot results showed that compared with the normal control controls, the expression of representative differential protein ITIH4 in serum of GC patients was significantly up-regulated (1.7517 ± 0.247 vs 1 ± 0 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: ITIH4 may be used as a new potential biomarker for diagnosis of GC.

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

Key Words: Gastric cancer; iTRAQ; Western blot; Biomarker; ITIH4

Wei CH, Lai MY, Mo XJ. Screening differentially expressed serum proteins in gastric cancer by iTRAQ labeling coupled with 2D-LC-MS/MS. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4146-4152 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4146.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4146>

摘要

目的: 筛选胃癌血清差异表达蛋白, 寻找胃癌血清标志物。

■同行评议者

高泽立, 副教授, 上海交大医学院九院周浦分院

方法: 采集胃癌患者血清和正常对照人群血清各45例, 所有血清样本去除高丰度血清蛋白质后, 采用相对和绝对定量同位素标志(isobaric tags for relative and absolute quantitation, iTRAQ)技术联合二维液相色谱-串联质谱(two-dimensional liquid chromatography/tandem mass spectrometry, 2D-LC-MS/MS)分析和鉴定两组间的差异表达蛋白; 采用生物信息学对差异蛋白进行分析; 用Western blot对蛋白组中的代表性血清差异表达蛋白进行表达验证。

结果: iTRAQ标记联合2D-LC-MS/MS分析一共鉴定出10540条独特肽段, 对应199个非冗余蛋白, 其中符合条件的差异蛋白17个, 其中12个蛋白在胃癌患者中表达上调, 5个蛋白在胃癌患者中表达下调。17种差异表达蛋白参与10种生物学过程、9种分子作用和2种细胞组分, 涉及的5个生物代谢途径。Western blot结果显示, 与正常对照人群相比, 代表性差异表达蛋白ITIH4在胃癌患者血清中表达量上调, 差异具有统计学意义(1.7517 ± 0.247 vs 1 ± 0 , $P < 0.05$)。

结论: ITIH4可能是诊断胃癌新的潜在生物标志物。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; iTRAQ; Western blot; 标志物; ITIH4

核心提示: 胃癌(gastric cancer, GC)是严重危害人类健康的常见病和多发病, 可见早期诊断的意义尤为重要。本研究通过iTRAQ结合2D-LC-MS/MS筛选GC血清差异表达蛋白并通过Western blot验证, 初步筛选得到ITIH4为GC差异表达蛋白, ITIH4可能是诊断GC的潜在生物标志物。表明该技术用于GC生物标志物的血清蛋白质组学研究具有良好的前景。

韦春回, 赖铭裕, 莫喜晶. 基于iTRAQ结合2D-LC-MS/MS筛选胃癌血清差异表达蛋白. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4146-4152 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4146.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4146>

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是人类常见的恶性肿瘤之一, 居全球肿瘤发病率的第4位和肿瘤死亡率的第2位^[1], 在中国, 其发病率和死亡率分别为第2和第3位^[2]。虽然近年来对胃癌的治疗取得了进展, 其方法有手术、放化疗等, 但多数患者

出现临床症状时已处于中晚期并出现转移, 生存率低, 有研究显示^[3,4], 如果胃癌在早期就被诊断, 患者的5年生存率可达约90%, 相反, 胃癌中晚期患者的5年生存率不足10%。因此早期发现并治疗是提高胃癌疗效的关键因素。近年来已发现一些潜在标志物用于临床诊断肿瘤, 但CEA、CA-199、CA72-4等用于诊断胃癌的特异性和敏感性不高, 研究显示他们的敏感性仅为18%-57%^[5]。因此目前诊断胃癌主要依靠对有症状患者行影像学、胃镜及手术病理活检等方法, 尚缺乏特异性标志物对胃癌高危人群进行筛查。

蛋白质组学(proteomics)是以全部蛋白质为对象, 研究其组成及变化规律, 以了解机体生理病理过程的科学^[6]。目前用于研究肿瘤的蛋白质组学, 采用蛋白质组学技术为手段, 揭示肿瘤发生的可能分子机制, 筛选出能用于临床的肿瘤生物标志物及肿瘤生物治疗的靶标。随着蛋白质组学技术的迅速发展, 已有可能同时筛选和疾病发生机制、临床诊断、治疗及预后相关的差异表达蛋白^[7]。相对和绝对定量同位素标志(isobaric tags for relative and absolute quantitation, iTRAQ)技术是美国ABI公司于2004年研发的一种新的多肽体外同位素标记相对和绝对定量技术^[8]。iTRAQ试剂由平衡基团、报告基团及肽段反应基团等三部分构成。iTRAQ试剂由等量异位标签构成, 他们的分子均量为145 kDa, 其中报告基团的质量为114、115、116、117、118、119、120和121 kDa。自有学者^[9]于2004年首次应用iTRAQ标记技术筛选及鉴定野生型酵母菌株及其同源突变株差异表达蛋白, 其结果显示iTRAQ标记对蛋白质定量分析有较高的覆盖率后, 该技术在生命科学领域特别是肿瘤研究方面已得到广泛应用, 如在肺癌^[10]、肝癌^[11]、口腔癌^[12]、卵巢癌^[13]、子宫癌^[14]、结肠癌^[15]等的研究中均有采用iTRAQ标记技术筛选肿瘤标志物和治疗靶标方面的报道, 但用于筛选胃癌血清差异表达蛋白的研究报道较少。

本研究采用iTRAQ标记联合二维液相色谱-串联质谱(two-dimensional liquid chromatography/tandem mass spectrometry, 2D-LC-MS/MS)技术对胃癌患者和正常人群血清进行蛋白谱表达研究, 筛选胃癌血清差异表达蛋白, 采用生物信息学对血清差异蛋白进行分析, 并对差异蛋白进行表达验证, 旨在寻找与胃癌相关的新的潜在生物标志物。

■ 研发前沿

相对和绝对定量同位素标志(isobaric tags for relative and absolute quantitation, iTRAQ)联合二维液相色谱-串联质谱(two-dimensional liquid chromatography/tandem mass spectrometry, 2D-LC-MS/MS)技术是近年来最新开发的一种定量蛋白质组学技术, 用于检测样品中低丰度蛋白, 有灵敏度高、蛋白覆盖率高、重复性好等优势。通过iTRAQ技术可能为无创诊断胃癌提供更多有价值的标志物。

■ 相关报道

Hendrick等采用iTRAQ联合2D-LC-MS/MS技术研究胃癌AGS和MKN7细胞株及正常胃黏膜上皮细胞蛋白时,发现43个差异表达蛋白,其中颗粒蛋白GRN在胃癌细胞株中高表达。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-02/2012-02广西医科大学第一附属医院就诊的胃癌患者血清45例,入选标准为:(1)经手术或胃镜活检病理确诊为胃癌患者;(2)在本实验抽取血液前均未接受包括治疗性手术、化放疗以及其他任何相关治疗;(3)排除肝肾等其他脏器肿瘤以及急慢性感染性疾病。最终符合条件的男27例,女18例;年龄52-70岁,平均年龄59岁 \pm 10.53岁;按胃癌第七版TNM分期, I期12例, II期18例, III期15例;45例均为低分化腺癌;20例无淋巴结转移, 25例已有淋巴结转移。正常对照人群来自同时期广西医科大学第一附属医院的健康体检者血清45例,入选标准为:(1)近半年内曾行胃镜检查,报告显示无明显异常;(2)无胃胀胃痛、反酸、嗝气等不适主诉;(3)经血常规、尿常规、肝肾功能、肿瘤生物标志物、心电图及腹部B超等检查排除肝肾等其他脏器疾病以及急慢性感染性疾病。最终符合条件的男26例,女19例;年龄41-59岁,平均年龄47.53岁 \pm 5.69岁;所有受试者均知情同意,实验经过获得医院伦理委员会审批。多重亲和MARS human 14色谱柱购自Agilent公司; iTRAQ试剂盒、QSTAR XL质谱仪、Protein Pilot 4.2软件均购自美国应用生物系统公司;乙腈(ACN)、氯化钾、丙酮、甲酸等购自荷兰Valkenswaard公司;一抗:山羊抗人ITIH4,购自美国Santa Cruz公司、二抗:辣根酶标记兔抗山羊IgG,购自北京中杉金桥生物技术有限公司、PVDF膜,购自美国Milipore公司、液相色谱仪RPCL(岛津20AD),购自日本岛津公司;强离子交换柱, 2.1 mm \times 100 mm, 5 μ m, 300Å,购自美国Nest Group, Inc.公司;反相离子交换柱, ZORBAX 300SB-C18 column(5 μ m, 300Å, 0.1 mm \times 150mm)购自美国Microm公司; ECL化学发光底物系统,购自上海碧云天生物技术有限公司;垂直电泳槽,购自美国Bio-Rad公司;凝胶成像仪,购自上海梅特勒-托利多公司。

1.2 方法

1.2.1 样本采集与制备:抽取4 mL空腹静脉血,置于采用血清分离管(serum separation tubes, SST)中,冰上凝结30 min后, 4 $^{\circ}$ C离心10 min(2000 r/min),取上清液,以200 μ L分装入1.5 mL EP管中,编号后保存于-80 $^{\circ}$ C超低温冰箱以备用。

1.2.2 去除高丰度蛋白:按照多重亲和和去除系统human14色谱柱操作说明,去除高丰度蛋白,收集到的馏分用冻干机浓缩。

1.2.3 脱盐和蛋白含量检测:用3000 MWCO超滤离心管,加入50 mmol/L pH 8.5三乙胺碳酸氢缓冲液,反复3次,脱盐和收集蛋白片段;通过bradford法进行蛋白定量,每组低丰度蛋白取100 μ g/管,冻干。

1.2.4 iTRAQ标记:取各组样品各100 μ g加入还原剂, 60 $^{\circ}$ C反应1 h,加入半胱氨酸封闭试剂室温下放置10 min。加入胰蛋白酶, 37 $^{\circ}$ C酶解过夜,离心使样品沉至管底。各管iTRAQ标记试剂分别加入各管样品中,室温下反应1 h。加入三倍体积超纯水,使标记试剂分解,标记和样品对应关系为:iTRAQ 116:胃癌组, iTRAQ 118:正常对照组。将iTRAQ标记好的各组样品混合至最低吸附管,真空离心蒸干, -80 $^{\circ}$ C储存备用。

1.2.5 2D-LC-MS/MS:不同标记的iTRAQ标记蛋白样品混合,经第一维强阳离子柱(SCX)分离,共收取20个馏分进行第二维分析;第二维反相色谱-质谱联用(RPLC-MS),色谱分离90 min后行质谱鉴定,MS扫描范围m/z 400-1800, MS/MS扫描范围m/z 100-2000。

1.2.6 质谱数据分析:采用Protein Pilot 4.2软件检索质谱分析所得数据,设置蛋白鉴定置信度为95%,即Prot Score $>$ 1.3,且至少有一个肽段和库中的肽段95%以上相匹配。同时进行蛋白反库搜索,设置假阳性率(FDR) $<$ 5%, Ratio $>$ 1.6或Ratio $<$ 0.625即认为该蛋白存在表达差异。

1.2.7 生物信息学分析:采用Uniprot数据库中的注释信息分析iTRAQ筛选出来的血清差异表达蛋白,进行GO分析,用Reactome数据库中的生物代谢途径数据分析血清差异蛋白涉及生物代谢途径。STRING9.0数据库构建参胃癌血清差异表达蛋白相互作用网络图。

1.2.8 Western blot验证ITIH4蛋白的表达:将20 μ L血清样品加入1 \times 还原型上样缓冲液混匀,变性,将样品加入凝胶孔道中进行电泳, 100 mA稳流状态下转膜,将蛋白转至PVDF膜,用5%脱脂牛奶封闭,再把膜置于一抗(1:500)稀释液中摇床冰上孵育过夜,次日用TBST洗膜后置于二抗(1:10000)稀释液中室温孵育1 h,洗膜,显影,定影,经凝胶分析软件分析其灰度值,计算ITIH4蛋白在各组表达条带的灰度值,两者灰度值的比值反映各组蛋白的表达。

统计学处理 应用SPSS16.0软件进行统计学分析。计量资料以mean \pm SD表示,两样本均数间的比较采用t检验。P $<$ 0.05为差异有统计学意义。

■创新盘点

本研究运用血清蛋白质组学技术对胃癌患者和正常人群血清进行蛋白谱表达研究, 筛选胃癌血清差异表达蛋白, 采用生物信息学对血清差异蛋白进行分析, 并对差异蛋白进行表达验证, 发现ITIH4可以作为胃癌血清候选标志物。

表 1 胃癌组与正常对照组血清差异表达蛋白筛选结果

蛋白名称	116:118	生物学过程	分子作用	细胞组分
补体C4-B	1.94089	补体激活	肽链内切酶抑制	细胞外区
载脂蛋白B	1.6904	脂质代谢过程	脂质转运	细胞外区
纤连蛋白	0.4285	细胞黏附	蛋白结合	细胞外区
抗凝血酶III	2.8576	血液凝固	丝氨酸型肽链内切酶抑制剂	细胞外区
载脂蛋白A1	1.8197	脂质代谢过程	脂质转运	细胞外区
α胰蛋白酶抑制剂重链H1	0.4447	肽酶活性的负调控	丝氨酸型肽链内切酶抑制剂	细胞外区
α胰蛋白酶抑制剂重链H2	0.4699	肽酶活性的负调控	丝氨酸型肽链内切酶抑制剂	细胞外区
α胰蛋白酶抑制剂重链H3	3.0479	肽酶活性的负调控	丝氨酸型肽链内切酶抑制剂	细胞外区
α胰蛋白酶抑制剂重链H4	2.5822	肽酶活性的负调控	丝氨酸型肽链内切酶抑制剂	细胞外区
α抗胰蛋白酶	3.1915	血液凝固	蛋白结合	细胞外区
补体C6	1.6596	免疫反应	蛋白结合	细胞外区
纤胶凝蛋白2	0.4285	补体激活	钙依赖蛋白结合	细胞外区
脂多糖结合蛋白	1.8879	非特异性免疫反应	蛋白结合	细胞外区
血清淀粉样蛋白A	17.2187	急性期反应	g蛋白耦合受体结合	细胞外区
角蛋白, II型细胞骨架1	0.0787	补体激活	受体激活	中间纤维
C反应蛋白	5.8076	炎症反应	蛋白结合	细胞外区
血浆铜蓝蛋白	3.4040	离子转运	铁氧化酶	细胞外区

2 结果

2.1 质谱鉴定结果 依据设定的ProteinPilot4.2软件搜库条件要求, 共检测到10540个条独特肽段, 199个非冗余蛋白质. 按Ratio>1.6(上调的差异蛋白)或者Ratio<0.625(下调的差异蛋白)的标准进一步筛选所鉴定的蛋白. 胃癌组与正常对照组血清差异表达蛋白筛选, 共筛选出17个差异蛋白, 其中补体C4-B(C4B)、载脂蛋白B-100(APOB)、抗凝血酶III(SERPINC1)、α胰蛋白酶抑制剂重链H4(ITIH4)、α-1-抗胰蛋白酶(SERPINA1)等12个蛋白在胃癌患者中表达上调, 纤连蛋白(FN1)、α胰蛋白酶抑制剂重链H1(ITIH1)、α胰蛋白酶抑制剂重链H 2(ITIH2)、角蛋白, II型细胞骨架1(KRT1)和纤胶凝蛋白2(FCN2), 共5个蛋白在胃癌患者中表达下调(表1), 其中代表性差异蛋白ITIH4的肽段相对定量信息(图1).

2.2 生物信息学分析 通过Uniprot数据库中的注释信息对本实验获得的17种差异表达蛋白进行GO分析, 这些蛋白主要参与10种生物学过程、9种分子作用和2种细胞组分(表1). 使用Reactome数据库中的生物代谢途径数据分析血清差异蛋白涉及的5个生物代谢途径: 免疫系统代谢途径、止血代谢途径、脂质与脂蛋白代谢途径、信号转导代谢途径以及跨膜转运小分子代谢途径. 蛋白质相互作用网络图可见大部分差异蛋白存在相互作用(图2).

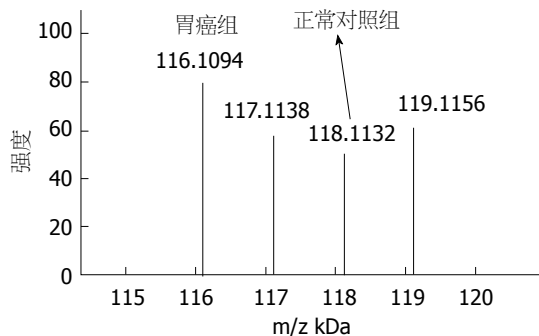


图 1 来自ITIH4的匹配肽段NPLVWVHA的串联图谱及iTRAQ定量信息.

2.3 Western blot 经条带灰度分析, 与正常对照组相比, 胃癌组ITIH4蛋白条带明显增强, 蛋白表达量上调, 差异具有统计学意义(1.7517±0.247 vs 1±0, P<0.05)(图3), 蛋白表达趋势与质谱鉴定结果一致.

3 讨论

iTRAQ标记技术是近年来新开发的定量蛋白质组学研究方法, 对差异蛋白有良好的定量鉴定效果, 且操作重复性高, 可同时对四种或八种复杂样品、细胞裂解液、细胞器、组织及血清等不同样品进行相对和绝对定量分析, 可标记样本中所用的蛋白质且其报告离子的分子量小(113-121 kDa), 既提高了蛋白的覆盖率也提高了质谱检测的灵敏度, 适合用于筛选和鉴定生物标志物. 近年来已有学者采用iTRAQ技术

应用要点

深入研究胃癌的候选血清标志物在胃癌发生发展过程的作用, 将为胃癌的无创诊断提供新的思路。

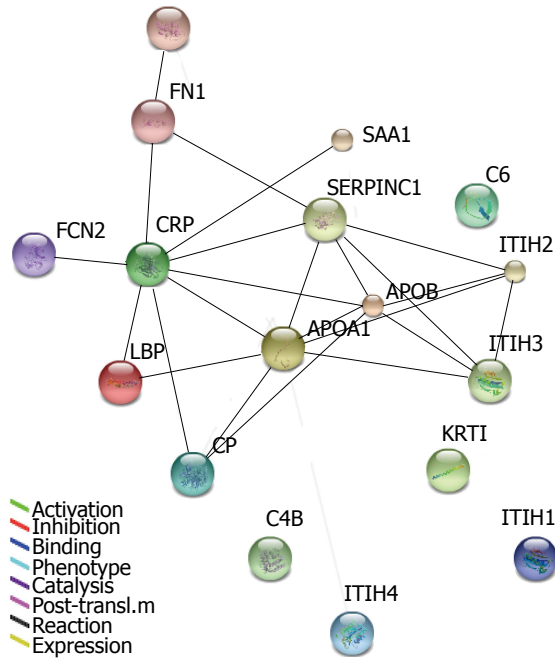


图 2 胃癌血清差异表达蛋白相互作用网络图。

筛选出一些肿瘤生物标志物, 如筛选出真核翻译延长因子1A1(eEF1A1)、溶酶体相关膜蛋白1(LAMP-1)及前梯度同源蛋白2(AGR2), 分别可作为前列腺癌^[16]、卵巢癌^[17]及肺腺癌^[10]的生物标志物, 也有iTRAQ标记技术用于胃癌差异蛋白的研究, 而其中对于胃癌细胞的研究占大多数。例如, 有学者^[18]采用iTRAQ联合2D-LC-MALDI-TOF/TOF MS技术对胃癌细胞株进行研究认为钙结合蛋白(caldesmon)可作为一个潜在胃癌转移相关蛋白; Loei等^[19]iTRAQ联合2D-LC-MS/MS技术检测胃癌细胞株蛋白谱, 共鉴定出47中差异表达蛋白; Yang等^[20]采用iTRAQ串联质谱技术对胃癌细胞株进行研究发现组织蛋白酶(s)在胃癌细胞转移和浸润方面发挥重要作用; Deng等^[21]采用iTRAQ联合ESI-Q-TOF-MS技术发现可溶抗药性相关钙结合蛋白(sorcini)在胃癌细胞中表达上调。而血液样品采集方便, 对受试者损伤小, 较易接受, 且由于机体代谢时, 血液作为载体为组织及器官供输营养物质并带走代谢产物, 可较真实的反应机体的生理病理状态。因此, 对血液标本的研究在探索肿瘤发病机制及寻找肿瘤生物标志物等方面存在巨大潜能。

本研究采用iTRAQ标记联合2D-LC-MS/MS技术筛选出胃癌患者和正常人群血清中的17种差异表达蛋白, 其中12种蛋白表达上调, 5种蛋白表达下调, 采用GO分析显示这些蛋白主要参

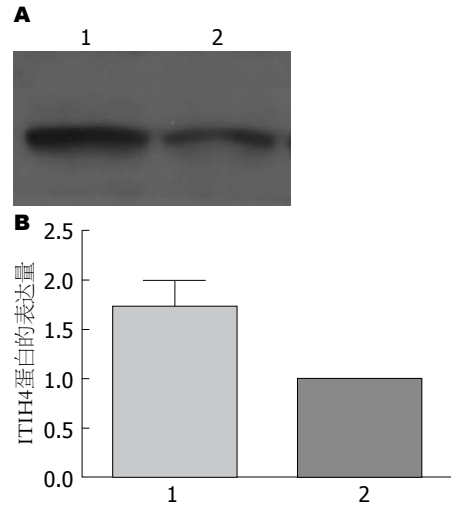


图 3 不同人群血清中 ITIH4 蛋白的表达。A: Western blot 检测结果; B: 蛋白相对表达直方图。1: 胃癌患者; 2: 正常对照人群。

与10种生物学过程、9种分子作用和2种细胞组分; 生物代谢途径数据分析显示涉及5个生物代谢途径: 免疫系统代谢途径、止血代谢途径、脂质与脂蛋白代谢途径、信号转导代谢途径以及跨膜转运小分子代谢途径, 提示胃癌的发生发展可能与上述5种代谢途径密切相关; 蛋白质相互作用网络图显示大部分表达蛋白存在相互联系; Western blot验证代表性差异蛋白ITIH4的表达, 结果显示, 其蛋白表达趋势与质谱鉴定结果一致。

ITIH4又称血浆激肽释放酶敏感糖蛋白, 是新发现的间 α 胰蛋白酶抑制剂重链家族成员, 其相对分子量为120 kDa^[22,23], 和其他家族成员(ITIH1-3, ITIH5-7)不同, ITIH4以重链亚型的形式存在血液中^[24], 易被血浆激肽释放酶系统裂解为25和85 kDa的片段, 后者可进一步裂解为57和28 kDa的片段^[25], 而至今尚未有检测到28 kDa的片段的研究报道, 提示其可能裂解为无法检测到的更小片段。

目前, ITIH4蛋白的确切作用仍然不清楚, Piñeiro等^[26]认为ITIH4是一个急性期反应蛋白, 在手术后患者的血清样本中明显升高。报道显示ITIH4与急性反应期发展中的细胞增殖和迁移有关, 在感染和炎症发展过程中发挥重要作用^[27]。Saroha等^[25]研究结果显示ITIH4蛋白在类风湿性关节炎患者血浆中表达升高。也有研究结果证实ITIH4蛋白在路易体痴呆患者脑脊液中表达升高^[28]。大量研究显示, ITIH4还和肿瘤有密切关系。Song等^[29]采用MALDI-TOF-MS技

术发现ITIH4片段在乳腺癌患者和前列腺癌患者血清中表达上调, 对ITIH4完整蛋白和肿瘤关系的研究也有报道, 有学者^[30]采用iTRAQ联合2D-LC-MS/MS技术对乳腺癌患者血清进行检测, 发现ITIH4表达升高。目前, 研究ITIH4和胃癌的关系报道较少, Hamm等^[23]采用RT-PCR技术检测ITIH4 mRNA在胃部肿瘤组织表达的研究显示ITIH4在63%的胃部肿瘤组织中表达下调, 在其余的胃癌组织中表达上调。而本研究应用Western blot分析胃癌患者血清发现ITIH4蛋白表达比正常对照人群升高, 提示ITIH4和胃癌的发生发展有着密切关系, 其结果与蛋白质组学鉴定结果一致, ITIH4可能是诊断胃癌的潜在生物标志物。

总之, 本研究通过iTRAQ结合2D-LC-MS/MS筛选胃癌血清差异表达蛋白并通过Western blot验证, 初步筛选得到ITIH4为胃癌差异表达蛋白, 表明该技术用于胃癌生物标志物的血清蛋白质组学研究具有良好的前景。但这些蛋白在胃癌发生、发展中的作用尚未完全清楚, 需要进一步评价该血清差异蛋白作为诊断胃癌的候选标志物的可靠性。

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]
- 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 曾红梅, 邹小农, 赵平, 吴良有, 李光琳, 赫捷. 中国2009年恶性肿瘤发病和死亡分析. *中国肿瘤* 2013; 22: 2-12
- Ohta H, Noguchi Y, Takagi K, Nishi M, Kajitani T, Kato Y. Early gastric carcinoma with special reference to macroscopic classification. *Cancer* 1987; 60: 1099-1106 [PMID: 3607727]
- Peddanna N, Holt S, Verma RS. Genetics of gastric cancer. *Anticancer Res* 1995; 15: 2055-2064 [PMID: 8572602]
- Ebert MP, Röcken C. Molecular screening of gastric cancer by proteome analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 847-853 [PMID: 16825900]
- Blackstock WP, Weir MP. Proteomics: quantitative and physical mapping of cellular proteins. *Trends Biotechnol* 1999; 17: 121-127 [PMID: 10189717]
- Aebersold R, Mann M. Mass spectrometry-based proteomics. *Nature* 2003; 422: 198-207 [PMID: 12634793 DOI: 10.1038/nature01511]
- Ross PL, Huang YN, Marchese JN, Williamson B, Parker K, Hattan S, Khainovski N, Pillai S, Dey S, Daniels S, Purkayastha S, Juhasz P, Martin S, Bartlett-Jones M, He F, Jacobson A, Pappin DJ. Multiplexed protein quantitation in *Saccharomyces cerevisiae* using amine-reactive isobaric tagging reagents. *Mol Cell Proteomics* 2004; 3: 1154-1169 [PMID: 15385600 DOI: 10.1074/mcp.M400129-MCP200]
- Wu WW, Wang G, Baek SJ, Shen RF. Comparative study of three proteomic quantitative methods, DIGE, cICAT, and iTRAQ, using 2D gel- or LC-MALDI TOF/TOF. *J Proteome Res* 2006; 5: 651-658 [PMID: 16512681 DOI: 10.1021/pr050405o]
- Chung K, Nishiyama N, Wanibuchi H, Yamano S, Hanada S, Wei M, Suehiro S, Kakehashi A. AGR2 as a potential biomarker of human lung adenocarcinoma. *Osaka City Med J* 2012; 58: 13-24 [PMID: 23094510]
- Wang C, Jiang K, Kang X, Gao D, Sun C, Li Y, Sun L, Zhang S, Liu X, Wu W, Yang P, Guo K, Liu Y. Tumor-derived secretory clusterin induces epithelial-mesenchymal transition and facilitates hepatocellular carcinoma metastasis. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44: 2308-2320 [PMID: 23010347 DOI: 10.1016/j.biocel.2012.09.012]
- Lo WY, Wang HJ, Chiu CW, Chen SF. miR-27b-regulated TCTP as a novel plasma biomarker for oral cancer: from quantitative proteomics to post-transcriptional study. *J Proteomics* 2012; 77: 154-166 [PMID: 22902387 DOI: 10.1016/j.jprot.2012.07.039]
- Shetty V, Hafner J, Shah P, Nickens Z, Philip R. Investigation of ovarian cancer associated sialylation changes in N-linked glycopeptides by quantitative proteomics. *Clin Proteomics* 2012; 9: 10 [PMID: 22856521 DOI: 10.1186/1559-0275-9-10]
- Yokoyama T, Enomoto T, Serada S, Morimoto A, Matsuzaki S, Ueda Y, Yoshino K, Fujita M, Kyo S, Iwahori K, Fujimoto M, Kimura T, Naka T. Plasma membrane proteomics identifies bone marrow stromal antigen 2 as a potential therapeutic target in endometrial cancer. *Int J Cancer* 2013; 132: 472-484 [PMID: 22729361 DOI: 10.1002/ijc.27679]
- Hammoudi A, Song F, Reed KR, Jenkins RE, Meniel VS, Watson AJ, Pritchard DM, Clarke AR, Jenkins JR. Proteomic profiling of a mouse model of acute intestinal Apc deletion leads to identification of potential novel biomarkers of human colorectal cancer (CRC). *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 440: 364-370 [PMID: 23998936 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.08.076]
- Rehman I, Evans CA, Glen A, Cross SS, Eaton CL, Down J, Pesce G, Phillips JT, Yen OS, Thalmann GN, Wright PC, Hamdy FC. iTRAQ identification of candidate serum biomarkers associated with metastatic progression of human prostate cancer. *PLoS One* 2012; 7: e30885 [PMID: 22355332 DOI: 10.1371/journal.pone.0030885]
- Marzinke MA, Choi CH, Chen L, Shih IeM, Chan DW, Zhang H. Proteomic analysis of temporally stimulated ovarian cancer cells for biomarker discovery. *Mol Cell Proteomics* 2013; 12: 356-368 [PMID: 23172893 DOI: 10.1074/mcp.M112.019521]
- Hou Q, Tan HT, Lim KH, Lim TK, Khoo A, Tan IB, Yeoh KG, Chung MC. Identification and functional validation of caldesmon as a potential gastric cancer metastasis-associated protein. *J Proteome Res* 2013; 12: 980-990 [PMID: 23265641 DOI: 10.1021/pr3010259]
- Loei H, Tan HT, Lim TK, Lim KH, So JB, Yeoh KG, Chung MC. Mining the gastric cancer secretome: identification of GRN as a potential diagnostic marker for early gastric cancer. *J Proteome Res* 2012; 11: 1759-1772 [PMID: 22204653 DOI: 10.1021/pr201014h]
- Yang Y, Lim SK, Choong LY, Lee H, Chen Y, Chong PK, Ashktorab H, Wang TT, Salto-Tellez M, Yeoh

同行评价

本文紧扣当前胃癌防治研究热点, 对研究对象的选择较科学, 结果有可比性, 对胃癌临床研究提供一定理论依据。

- 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]
- 21 Deng L, Su T, Leng A, Zhang X, Xu M, Yan L, Gu H, Zhang G. Upregulation of soluble resistance-related calcium-binding protein (sorcin) in gastric cancer. *Med Oncol* 2010; 27: 1102-1108 [PMID: 19885748 DOI: 10.1007/s12032-009-9342-5]
- 22 Cai T, Yu P, Monga SP, Mishra B, Mishra L. Identification of mouse itih-4 encoding a glycoprotein with two EF-hand motifs from early embryonic liver. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1398: 32-37 [PMID: 9602042]
- 23 Hamm A, Veeck J, Bektas N, Wild PJ, Hartmann A, Heindrichs U, Kristiansen G, Werbowetski-Ogilvie T, Del Maestro R, Knuechel R, Dahl E. Frequent expression loss of Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain (ITIH) genes in multiple human solid tumors: a systematic expression analysis. *BMC Cancer* 2008; 8: 25 [PMID: 18226209 DOI: 10.1186/1471-2407-8-25]
- 24 Zhuo L, Kimata K. Structure and function of inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chains. *Connect Tissue Res* 2008; 49: 311-320 [PMID: 18991084 DOI: 10.1080/03008200802325458]
- 25 Saroha A, Kumar S, Chatterjee BP, Das HR. Jacalin bound plasma O-glycoproteome and reduced sialylation of alpha 2-HS glycoprotein (A2HSG) in rheumatoid arthritis patients. *PLoS One* 2012; 7: e46374 [PMID: 23056292 DOI: 10.1371/journal.pone.0046374]
- 26 Piñeiro M, Andrés M, Iturralde M, Carmona S, Hirvonen J, Pyörälä S, Heegaard PM, Tjørnehøj K, Lampreave F, Piñeiro A, Alava MA. ITIH4 (inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4) is a new acute-phase protein isolated from cattle during experimental infection. *Infect Immun* 2004; 72: 3777-3782 [PMID: 15213118 DOI: 10.1128/iai.72.7.3777-3782.2004]
- 27 Yang MH, Yang YH, Lu CY, Jong SB, Chen LJ, Lin YF, Wu SJ, Chu PY, Chung TW, Tyan YC. Activity-dependent neuroprotector homeobox protein: A candidate protein identified in serum as diagnostic biomarker for Alzheimer's disease. *J Proteomics* 2012; 75: 3617-3629 [PMID: 22554909 DOI: 10.1016/j.jprot.2012.04.017]
- 28 Dieks JK, Gawinecka J, Asif AR, Vargas D, Gmitterova K, Streich JH, Dihazi H, Heinemann U, Zerr I. Low-abundant cerebrospinal fluid proteome alterations in dementia with Lewy bodies. *J Alzheimers Dis* 2013; 34: 387-397 [PMID: 23254635 DOI: 10.3233/jad-121810]
- 29 Song J, Patel M, Rosenzweig CN, Chan-Li Y, Sokoll LJ, Fung ET, Choi-Miura NH, Goggins M, Chan DW, Zhang Z. Quantification of fragments of human serum inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4 by a surface-enhanced laser desorption/ionization-based immunoassay. *Clin Chem* 2006; 52: 1045-1053 [PMID: 16574760 DOI: 10.1373/clinchem.2005.065722]
- 30 Opstal-van Winden AW, Krop EJ, Kåredal MH, Gast MC, Lindh CH, Jeppsson MC, Jönsson BA, Grobbee DE, Peeters PH, Beijnen JH, van Gils CH, Vermeulen RC. Searching for early breast cancer biomarkers by serum protein profiling of pre-diagnostic serum; a nested case-control study. *BMC Cancer* 2011; 11: 381 [PMID: 21871081 DOI: 10.1186/1471-2407-11-381]

编辑 田滢 电编 闫晋利



戊型肝炎患者血清ORF2抗原的检测及临床意义

耿彦生, 李红权, 张宏馨, 廉海晨, 李军, 耿坤静, 周艳春

耿彦生, 李红权, 张宏馨, 廉海晨, 李军, 周艳春, 河北大学医学部 河北省保定市 071000
耿坤静, 河北省保定市传染病院 河北省保定市 071000
耿彦生, 博士, 副教授, 主要从事戊型肝炎病毒的研究。
河北省科技计划基金资助项目, No. 12277726
河北省自然科学基金资助项目, No. H2013201066
作者贡献分布: 实验设计由耿彦生完成; 实验检测由耿彦生、李红权、张宏馨及周艳春完成; 样本收集由耿坤静、廉海晨及李军完成; 数据分析及论文撰写由耿彦生完成。
通讯作者: 耿彦生, 副教授, 071000, 河北省保定市裕华东路342号, 河北大学医学部, ysgeng09@aliyun.com
电话: 0312-5078526
收稿日期: 2013-11-18 修回日期: 2013-11-27
接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2013-12-28

Clinical significance of serum hepatitis E virus ORF2 antigen detection in hepatitis E patients

Yan-Sheng Geng, Hong-Quan Li, Hong-Xin Zhang, Hai-Chen Lian, Jun Li, Kun-Jing Geng, Yan-Chun Zhou

Yan-Sheng Geng, Hong-Quan Li, Hong-Xin Zhang, Hai-Chen Lian, Jun Li, Yan-Chun Zhou, Center for Medical Sciences, Hebei University, Baoding 071000, Hebei Province, China
Kun-Jing Geng, Baoding Hospital for Infectious Diseases, Baoding 071000, Hebei Province, China
Supported by: the Science and Technology Program of Hebei Province, No. 12277726; and the Natural Science Foundation of Hebei Province, China, No. H2013201066
Correspondence to: Yan-Sheng Geng, Associate Professor, Health Science Center, Hebei University, 342 Yuhua East Road, Baoding 071000, Hebei Province, China. ysgeng09@aliyun.com
Received: 2013-11-18 Revised: 2013-11-27
Accepted: 2013-11-29 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To analyze the correlation of serum hepatitis E virus (HEV) ORF2 antigen with other serum markers of HEV infection and assess the significance of HEV ORF2 antigen detection for the diagnosis of HEV infection.

METHODS: Serum samples collected from sporadic hepatitis E patients were detected for anti-HEV IgM, anti-HEV IgG and HEV-Ag using ELISA kits. HEV RNA was detected by RT-Nested-PCR. The use of hepatitis E virus antigen as an early diagnostic marker for HEV

infection was evaluated by comparing with HEV RNA detection.

RESULTS: Among 116 samples collected for the first time after patient admission to the hospital, 5, 21, 63 and 27 were IgM⁺IgG⁻, IgM⁺IgG⁺, IgM⁻IgG⁺ and IgM⁻IgG⁻, respectively, and the HEV-Ag positive rate in each group was 100% (5/5), 90.5% (19/21), 61.9% (39/63) and 3.7% (1/27), respectively. Out of the 64 HEV-Ag positive samples, 40 (62.5%, 40/64) were HEV RNA positive; while out of the 52 HEV-Ag negative samples, only 1 (1.9%, 1/52) was HEV RNA positive. The consistency between ELISA for ORF2 antigen detection and RT-PCR for HEV RNA was good (Kappa value = 0.582).

CONCLUSION: The presence of HEV antigen is correlated with HEV RNA in serum samples of hepatitis E patients. HEV antigen detection is useful for the early diagnosis of acute hepatitis E.

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

Key Words: Hepatitis E virus; Hepatitis E; HEV ORF2 protein; Antigen detection; ELISA

Geng YS, Li HQ, Zhang HX, Lian HC, Li J, Geng KJ, Zhou YC. Clinical significance of serum hepatitis E virus ORF2 antigen detection in hepatitis E patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4153-4157 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4153.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4153>

摘要

目的: 研究戊型肝炎患者戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)-Ag与其他检测指标的相关关系, 评价HEV-Ag检测在临床诊断戊型肝炎中的意义。

方法: 116例急性戊型肝炎患者血清标本应用酶联免疫吸附试验试剂盒进行抗HEV IgM、抗HEV IgG和HEV-Ag检测, 应用RT-Nested-PCR进行HEV RNA检测。通过比较分析血清中HEV-Ag与HEV RNA检测结果, 对HEV-Ag检测的临床意义进行评价。

■背景资料

HEV RNA的检测有助于戊型肝炎的早期诊断及慢性肝炎的诊断, 但由于实验程序复杂、成本高等原因, 实际应用较少。HEV感染时血清中能检测到抗HEV ORF2抗原, 目前我国已开发了抗HEV ORF2抗原的ELISA检测试剂盒。

■同行评议者

姚登福, 教授, 南通大学附属医院

■创新盘点

本研究显示戊型肝炎患者血清HEV-Ag与HEV RNA的检测结果具有较好一致性; HEV-Ag检测有助于戊型肝炎的早期诊断。

结果: 诊断为戊型肝炎的116例患者初次采集的血清进行HEV感染标志物的检测, 其中55.2%(64/116)为HEV-Ag阳性。116例患者中分别有5、21、63和27例为抗HEV IgM⁻ IgG⁻、IgM⁺ IgG⁻、IgM⁺ IgG⁺和IgM⁻ IgG⁺, 这4组中HEV-Ag的检出率分别为100%、90.5%、61.9%和3.7%。64例抗原阳性样本中40例(62.5%, 40/64)为HEV RNA阳性, 而52例抗原阴性样本中只有1例(1.9%, 1/52)为HEV RNA阴性, 对HEV-Ag检测和HEV RNA检测的结果进行相关性分析, Kappa指数为0.582, 显示血清中HEV-Ag检测和HEV RNA检测具有比较好的一致性。

结论: HEV-Ag与HEV RNA的检测结果具有较好的一致性, HEV-Ag检测有助于戊型肝炎的早期诊断及慢性感染的诊断。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 戊型肝炎病毒; 戊型肝炎; HEV ORF2蛋白; 抗原检测; 酶联免疫吸附试验

核心提示: 一些戊型肝炎患者初次就诊时, 血清中尚未出现抗HEV抗体, 但能检测到HEV-Ag或HEV RNA; HEV-Ag与HEV RNA的出现存在较好一致性; 检测抗HEV IgM的同时开展HEV-Ag的检测, 能够提高戊型肝炎的临床诊断水平。

耿彦生, 李红权, 张宏馨, 廉海晨, 李军, 耿坤静, 周艳春. 戊型肝炎患者血清ORF2抗原的检测及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4153-4157 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4153.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4153>

0 引言

戊型肝炎是由戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)感染引起的一种病毒性肝炎。我国是戊型肝炎的主要流行区之一, 近年来戊肝发病率有上升趋势。戊型肝炎以急性肝炎为主, 也可引起重症肝炎。免疫功能低下的患者感染HEV后, 可发展为持续性感染和慢性戊型肝炎。

急性戊型肝炎的临床表现与甲型肝炎类似, 典型的特征为一过性的病毒血症和转氨酶升高。戊型肝炎的潜伏期为15-60 d, 发病后1 wk左右血清中能够检测到HEV RNA, 3-4 wk后HEV RNA消失; 粪便中HEV RNA的出现和消失都稍晚于血清, 持续时间2-3 wk; 发病后转氨酶水平升高, 一般3 wk左右恢复正常^[1,2]。由于戊型肝炎与其他急性病毒性肝炎的临床表现类似, 需要通过

病原学检测进行确诊。目前急性戊型肝炎的实验诊断比较常用的方法是应用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清中的抗HEV IgM抗体, 或对抗HEV IgG抗体进行动态检测^[2,3]。但由于病毒抗体的产生需要一定时间, 一些患者就诊时可能尚处于病毒感染的“窗口期”, 即已有病毒血症但不能检测到抗体, 因此PCR检测血清中的HEV RNA有助于急性戊型肝炎的早期诊断^[4]。HEV慢性感染通常发生在免疫抑制患者, 由于免疫力低下, 抗体的产生受到影响, 患者体内虽然有病毒, 但可能检测不到抗HEV抗体, 因此慢性戊型肝炎的诊断主要依靠对HEV RNA的检测。虽然HEV RNA检测是诊断HEV感染的可靠方法, 但由于进行RT-PCR的样本保存条件要求高、检测程序复杂、检测成本高以及易污染产生假阳性等原因, 在实际临床诊断中很少应用。病毒抗原检测的方法易操作、成本低, 已成功用于一些病毒性疾病的诊断中^[5-7]。HEV感染后在血清和粪便样本中能检测到HEV抗原, 我国已经开发了HEV抗原(HEV-Ag)ELISA试剂盒^[8]。本文旨在研究戊型肝炎患者血液中HEV-Ag的出现与HEV RNA的相关关系, 分析HEV ORF2抗原检测在戊型肝炎临床诊断中的意义。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-07/2012-06于辽宁省和河北省的两地市级传染病院疑似戊型肝炎并根据医嘱进行抗HEV抗体检测的患者, 保留其静脉血清, -80 °C冻存备用。戊型肝炎的诊断参照戊型病毒性肝炎诊疗规范^[4], 排除酒精、药物、自身免疫性肝损害, 同时排除HAV、HBV、HCV、HDV及CMV和EBV感染。诊断为戊型肝炎的患者, 应用留存的血清进行抗HEV IgM、抗HEV IgG、HEV-Ag及HEV RNA检测。本研究方案经河北大学医学部伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 抗HEV抗体及HEV-Ag检测: 应用北京万泰生物药业有限公司的酶联免疫吸附法检测试剂盒进行血清抗HEV IgM、抗HEV IgG及HEV-Ag的检测。其中HEV-Ag ELISA检测试剂盒采用双抗体加心法, 应用单克隆抗体捕获并检测HEV ORF2蛋白。检测过程按照试剂盒说明书进行, 反应终止后用酶标仪进行吸光度(A)值测定, 计算S/CO值(S = 样本A值, CO = 临界值), S/CO值>1判断为阳性。

1.2.2 HEV RNA的检测: 应用北京全式金生物有

表 1 患者入院时血清抗HEV抗体及HEV-Ag检测结果

血清抗体 (抗HEV IgM/抗HEV IgG)	n	抗原阳性	
		病例数	阳性率(%)
IgM ⁻ /IgG ⁻	5	5	100
IgM ⁺ /IgG ⁻	21	19	90.5
IgM ⁺ /IgG ⁺	63	39	61.9
IgM ⁻ /IgG ⁺	27	1	3.7
Total	116	64	55.2

■应用要点

目前戊型肝炎的特异性诊断主要通过ELISA方法检测血清中抗HEV IgM抗体, 同时进行HEV-Ag检测, 有助于提高戊型肝炎的诊断水平。

限公司的EasyPure Viral DNA/RNA Kit对血清样本进行RNA提取。按照试剂盒说明书从200 μL血清中提取病毒RNA, 用40 μL纯水对所提取的RNA进行回收。取10 μL RNA提取物, 应用全式金TransScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix试剂盒, 使用随机引物合成基因组cDNA, 反应条件为42 °C 30 min。取7 μL第一链进行cDNA RT-Nested-PCR的第一轮扩增, 引物为SEB01: 5'-AAY TAT GCW CAG TAC CGG GTT G-3', SEE01: 5'-CCC TTA TCC TGC TGA GCA TTC TC-3'; 取第一轮PCR产物2 μL作为模板进行第二轮扩增, 引物为SEB11: 5'-GTY ATG YTY TGC ATA CAT GGC T-3', SEB11: 5'-GTY ATG YTY TGC ATA CAT GGC T-3'。PCR反应条件与以前报道相同^[9]。扩增片段长348 nt, 位于HEV基因组的ORF2区域。

1.2.3 基因序列的测定及分析: PCR产物DNA序列测定由北京华大基因科技有限公司进行, 测序引物为SEB11和SEE11, 双向进行。应用DNA Star、MEGA5.2等生物软件对测得PCR片段的基因序列与GenBank中的有代表性不同基因型HEV基因序列进行比对及基因进化树分析, 确定病毒的基因型。

统计学处理 应用SPSS17.0进行统计学分析, 组间率的比较应用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义; 应用Kappa指数对HEV-Ag检测与HEV RNA检测的一致性进行分析。

2 结果

2.1 抗HEV抗体及HEV-Ag检测 选择2010-07/2012-06根据戊型病毒性肝炎诊断标准(行业标准ws301-2008, 卫生部)诊断为戊型肝炎并且其留存静脉血清允许进行本研究的患者共116例。入院后第1次(入院后1-3 d)采集的静脉血血清抗HEV抗体及抗原检测, 结果抗HEV IgM和抗HEV IgG均为阴性(IgM⁻IgG⁻)、抗HEV IgM阳性而抗HEV IgG阴性(IgM⁺IgG⁻)、抗HEV IgM阳性和

抗HEV IgG均阳性(IgM⁺IgG⁺), 以及抗HEV IgM阴性而抗HEV IgG阳性(IgM⁻IgG⁺)的病例数分别为所占比例分别为4.3%(5/116), 18.1%(21/116), 54.3%(63/116)和23.3%(27/116), 其中血清抗HEV IgM⁺IgG⁺的病例所占比例最高。

在116位患者初次就诊时, 64例血清HEV-Ag阳性, 阳性率为55.2%(表1)。在以抗HEV抗体的出现为标志的病毒感染的不同时期, 患者血清抗原阳性率有明显差异, 有5例患者入院时抗HEV IgM和抗HEV IgG为阴性但HEV-Ag为阳性, 阳性率为100%(表1)。而另外3组血清HEV抗原阳性率分别为90.5%(19/21)、58.7%(39/63)和3.7%(1/27), 显示随着血清中抗体的变化抗原从出现到减弱的过程(表1)。

本研究中, 5例入院时血清抗HEV IgM-IgG-的患者, 入院后第2周又进行了抗HEV IgM和抗HEV IgG检测, 结果抗HEV IgM均转为阳性, 表明血清中HEV-Ag的出现可能会早于抗HEV IgM。

2.2 HEV-Ag与HEV RNA的相关关系 对116例患者的入院后初次采集的血清进行HEV RNA检测, 其中41例为HEV RNA阳性, 阳性率为35.3%。血清中HEV-Ag的出现与HEV RNA的出现具有相关性, 在HEV-Ag阳性的64个血清样本中40个为HEV RNA, 检出率为62.5%; 而52个HEV-Ag阴性的样本中只有1个为HEV RNA阳性, 检出率为1.9%, 前者的检出率高于后者($\chi^2 = 21.2$, $P < 0.01$)(表2)。对HEV-Ag与HEV RNA两种指标检测结果进行相关性检测, Kappa指数为0.582, 显示两种检测结果的一致性较好, 只是HEV-Ag的检出率高于HEV RNA。62个HEV-Ag阳性样本中的41个HEV RNA同时阳性的样本, S/CO值的中位数为9.74; 而22个HEV RNA阴性样本S/CO值的中位数为3.58。总体来看, 在HEV-Ag阳性样本中能检测到HEV RNA的样本, 其ELISA的S/CO值高于未检测到HEV RNA的样本(图1)。

2.3 戊型肝炎患者HEV基因分型 对41例患者血

■同行评价
本文具有一定临
床指导意义。

表 2 HEV-Ag与HEV RNA的相关关系(n)

HEV-Ag	HEV RNA		合计	Kappa值
	阳性	阴性		
阳性	40	24	64	0.582
阴性	1	51	52	
合计	41	75	116	

清中HEV RNA的PCR扩增产物进行序列测定, 基因进化树分析显示41个HEV病毒分离株中分别有37株、3株和1株各属于基因4型、基因1型和基因3型. 这些基因序列已提交GenBank(基因型序列登录号为: KF691570-KF691670).

3 讨论

我国是戊型肝炎的流行区, 许多地区曾有规模不等的戊型肝炎的暴发流行, 近年散发病例的报告数有增加趋势. 长期以来, 戊型肝炎的特异性诊断主要应用ELISA方法检测抗HEV IgM和IgG抗体. 抗HEV IgM检测灵敏度较高、方法简便、易于操作, 但若初诊患者采血时间在HEV感染窗口期, HEV抗体未产生, ELISA检测则无法给出可靠的检测结果. 而核酸可在HEV感染的早期或窗口期检出, 有利于HEV感染的早期诊断^[8]. 与2008年卫生部制定的《戊型病毒性肝炎诊断标准》(ws301-2008)相比, 中国医师协会2009年制定的《戊型病毒性肝炎诊疗规范》中HEV急性感染的诊断指标增加了HEV RNA的检测: 在诊断为急性肝炎的基础上, (1)血清HEV-IgM阳性; (2)急性期和恢复期血清具有HEV-IgG抗体滴度4倍及以上增长; (3)血清和/或粪便HEV RNA阳性, 三项指标中一项阳性即可作为急性戊型肝炎的诊断依据^[4]. 本研究中, 有5例患者入院时初次检测抗HEV IgM和IgG均为阴性, 但HEV RNA检测为阳性, 1 wk后抗HEV IgM检测结果均转为阳性, 这个结果与以前的报告一致, 表明在抗HEV抗体出现之前, 一些患者血清中即可检测到HEV RNA.

虽然血清中RNA的检测有助于急性戊型肝炎的早期诊断, 但目前应用PCR检测HEV RNA在临床诊断中很少应用, 其原因除了检测结果不稳定, 容易出现假阳性或假阴性外, 更主要的原因是样本采集及保存条件要求严格、实验操作程序复杂及检测成本高. 而HEV-Ag检测则简单、易操作、成本低. 目前HEV-Ag检测主要针对HEV ORF2抗原. HEV病毒基因组包含3个

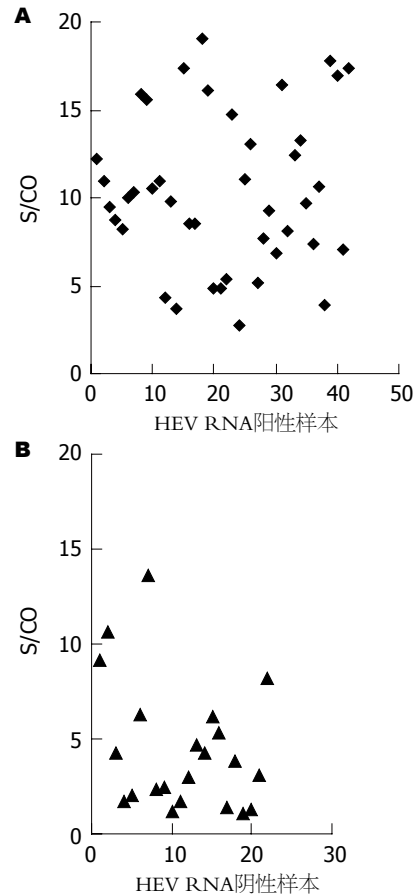


图 1 64个HEV-Ag阳性样本ELISA测定的S/CO值分布图. A: HEV RNA阳性; B: HEV RNA阴性.

开放读码框(ORFs), 分别编码三种蛋白分子, 其中ORF2蛋白为病毒衣壳蛋白, 在病毒感染、吸附、入侵及包装等一系列病毒活动过程中具有重要作用^[10]. 研究发现戊型肝炎患者和感染HEV的实验动物血清和粪便中能检测到ORF2抗原, 并且ORF2抗原的出现与HEV RNA的存在具有相关性, 提示检测到的ORF2蛋白可能是存在于病毒体的成分, 而非游离于病毒体外, 因此HEV ORF2抗原阳性可能代表样本中有HEV的存在, ORF2抗原可以作为HEV感染的一个重要标志物用于戊型肝炎临床实验诊断^[11]. 本次研究在116例戊型肝炎患者中64例血清HEV Ag阳性, 阳性率为55.2%, 其中5例在感染早期抗-IgM尚未出现之前, 血清中同时检测到了HEV RNA和HEV-Ag, 表明HEV-Ag检测可能能够替代HEV RNA用于戊型肝炎的早期诊断. 随着血清中抗HEV IgM、HEV-IgG出现时, HEV-Ag检出的阳性率逐渐下降, 其变化规律与血清中HEV RNA的变化规律相同, 显示这两种检测指标具有关联性, 这一结果也与最近报告的一些研究结果一致^[12-14].

在116例患者入院时进行HEV感染标志物检测, 其中HEV-Ag与HEV RNA均为阳性41例, 均为阴性51例, 两项指标检出的一致率为78.5%(91/116). 应用Kappa指数, Kappa指数为0.582, 显示两种检测结果一致性较好. 对HEV-Ag阳性的64个样本ELISA检测S/CO值进行分析, 总体上看42个HEV RNA阳性样本的S/CO值高于24个HEV RNA阳性样本的S/CO值(图1), 进一步表明HEV RNA与HEV-Ag检测结果具有较强的关联性.

本次实验的116个样本中HEV-Ag和HEV RNA的阳性率分别为55.2%和35.3%, 血清样本HEV-Ag的检测率高于HEV RNA($\chi^2 = 21.2$, $P < 0.01$). PCR检测的灵敏度受很多因素影响, 前期的研究显示RT-Nested-PCR灵敏度低于Real-time PCR^[11]. 但由于Real-time PCR检测成本更高, RT-Nested-PCR检测HEV RNA在临床检测中的使用更为普遍, 因此本研究应用了RT-Nested-PCR与HEV-Ag的检测进行比较. 目前我国人群中流行的HEV主要为基因4型, 在一些地区还有1和3型^[15]. 为了能够检测到不同基因型HEV, 同时保证检测的灵敏度, 本次研究中应用RT-Nested-PCR扩增ORF2区域348 nt的基因片段进行HEV RNA检测, 所用引物为保守区域的简并引物, 能够检测1、3、4型及兔HEV.

总之, 本研究显示戊型肝炎患者血清HEV-Ag检测与HEV检测结果一致性比较好. 在不具备核酸检测条件时, 可检测HEV抗原作为IgM抗体检测的补充, 有利于急性戊型肝炎的早期诊断以及慢性戊型肝炎的确诊.

4 参考文献

- Mushahwar IK. Hepatitis E virus: molecular virology, clinical features, diagnosis, transmission, epidemiology, and prevention. *J Med Virol* 2008; 80: 646-658 [PMID: 18297720 DOI: 10.1002/jmv.21116]
- Aggarwal R. Hepatitis E: clinical presentation in disease-endemic areas and diagnosis. *Semin Liver Dis* 2013; 33: 30-40 [PMID: 23564387 DOI: 10.1055/s-0033-1338112]
- Teshale EH, Hu DJ. Hepatitis E: Epidemiology and prevention. *World J Hepatol* 2011; 3: 285-291 [PMID:

- 22216368 DOI: 10.4254/wjh.v3.i12.285]
- 中国医师协会感染科医师分会. 戊型病毒性肝炎诊疗规范. *中华临床感染病杂志* 2009; 2: 260-263
- Prendergast C, Papenburg J. Rapid antigen-based testing for respiratory syncytial virus: moving diagnostics from bench to bedside? *Future Microbiol* 2013; 8: 435-444 [PMID: 23534357 DOI: 10.2217/fmb.13.9]
- Ding X, Hu D, Chen Y, Di B, Jin J, Pan Y, Qiu L, Wang Y, Wen K, Wang M, Che X. Full serotype- and group-specific NS1 capture enzyme-linked immunosorbent assay for rapid differential diagnosis of dengue virus infection. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18: 430-434 [PMID: 21228146 DOI: 10.1128/CVI.00462-10]
- Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Saijo M, Morikawa S. Serological assays based on recombinant viral proteins for the diagnosis of arenavirus hemorrhagic fevers. *Viruses* 2012; 4: 2097-2114 [PMID: 23202455 DOI: 10.3390/v4102097]
- Zhang F, Li X, Li Z, Harrison TJ, Chong H, Qiao S, Huang W, Zhang H, Zhuang H, Wang Y. Detection of HEV antigen as a novel marker for the diagnosis of hepatitis E. *J Med Virol* 2006; 78: 1441-1448 [PMID: 16998897]
- Geng Y, Zhao C, Fan J, Harrison TJ, Zhang H, Lian H, Geng K, Wang Y. Genotype analysis of hepatitis E virus from sporadic hepatitis E cases in northern China. *Infect Genet Evol* 2013; 20: 413-417 [PMID: 24140474 DOI: 10.1016/j.meegid.2013.10.003]
- Ahmad I, Holla RP, Jameel S. Molecular virology of hepatitis E virus. *Virus Res* 2011; 161: 47-58 [PMID: 21345356 DOI: 10.1016/j.virusres.2011.02.011]
- Zhao C, Li L, Harrison TJ, Wang Q, Song A, Fan J, Ma H, Zhang C, Wang Y. Relationships among viral diagnostic markers and markers of liver function in acute hepatitis E. *J Gastroenterol* 2009; 44: 139-145 [PMID: 19214676 DOI: 10.1007/s00535-008-2281-7]
- 郝娃, 赵晨燕, 李卓, 严艳, 牛京勤, 殷继明, 王佑春. 急性戊型肝炎患者血清病毒抗原检测的临床意义. *中国误诊学杂志* 2009; 9: 4285-4286
- Majumdar M, Singh MP, Pujhari SK, Bhatia D, Chawla Y, Ratho RK. Hepatitis E virus antigen detection as an early diagnostic marker: report from India. *J Med Virol* 2013; 85: 823-827 [PMID: 23408566 DOI: 10.1002/jmv.23529]
- Gupta E, Pandey P, Pandey S, Sharma MK, Sarin SK. Role of hepatitis E virus antigen in confirming active viral replication in patients with acute viral hepatitis E infection. *J Clin Virol* 2013; 58: 374-377 [PMID: 23965185 DOI: 10.1016/j.jcv.2013.07.019]
- Liu P, Li L, Wang L, Bu Q, Fu H, Han J, Zhu Y, Lu F, Zhuang H. Phylogenetic analysis of 626 hepatitis E virus (HEV) isolates from humans and animals in China (1986-2011) showing genotype diversity and zoonotic transmission. *Infect Genet Evol* 2012; 12: 428-434 [PMID: 22306814 DOI: 10.1016/j.meegid.2012.01.017]

编辑 田滢 电编 闫晋利



血浆肾素-血管紧张素系统与非酒精性脂肪肝病的相关性

罗晓英, 曾峥

■背景资料

非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的患病率逐年上升且发病年龄日趋提前,其发病机制复杂,与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、氧化应激、脂质代谢紊乱等多因素密切相关。研究表明,肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)能促进IR及脂肪细胞肥大, RAS中的血管紧张素 II (Ang II)在NAFLD的发病发挥重要作用。本研究旨在探讨血浆RAS与NAFLD发生进展的相关性,为NAFLD机制探讨提供理论依据。

■同行评议者

王炳元, 教授, 中国医科大学附属第一医院消化内科

罗晓英, 曾峥, 广州医科大学附属广州市第一人民医院老年病科 广东省广州市 510180

罗晓英, 在读硕士, 住院医师, 主要从事消化系统疾病的研究。

2011年广州市卫生局中西医结合基金资助项目, No. 20112A011009

作者贡献分布: 本课题由曾峥设计; 研究过程和数据分析由罗晓英操作完成; 病例收集由罗晓英完成; 论文写作由罗晓英与曾峥共同完成; 曾峥负责审核。

通讯作者: 曾峥, 主任医师, 510180, 广州市越秀区盘福路1号, 广州市第一人民医院老年病科. sunnyzeng@163.com

电话: 020-81046965

收稿日期: 2013-09-23 修回日期: 2013-11-17

接受日期: 2013-11-27 在线出版日期: 2013-12-28

Relationship between plasma renin-angiotensin system and nonalcoholic fatty liver disease

Xiao-Ying Luo, Zheng Zeng

Xiao-Ying Luo, Zheng Zeng, Department of Geriatrics, Guangzhou First People's Hospital Affiliated to Guangzhou Medical University, Guangzhou 510180, Guangdong Province, China

Supported by: the Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Foundation of Guangzhou Sanitary Bureau, NO. 20112A011009

Correspondence to: Zheng Zeng, Chief Physician, Department of Geriatrics, Guangzhou First People's Hospital, 1 Panfu Road, Yuexiu District, Guangzhou 510180, Guangdong Province, China. sunnyzeng@163.com

Received: 2013-09-23 Revised: 2013-11-17

Accepted: 2013-11-27 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between plasma renin-angiotensin system (RAS) and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

METHODS: Three hundred and fifty hospitalized patients and outpatients who had complete medical records were collected and divided into two groups: a NAFLD group and a control group. NAFLD was diagnosed by abdominal CT and clinical symptoms. Plasma renin activity (PRA), angiotensin I (Ang I), angiotensin II (Ang II), as well as serum biochemical parameters were measured. The association between those indexes and NAFLD was analyzed.

RESULTS: The concentrations of plasma RAS

(including PRA, Ang I, and Ang II) in the NAFLD group were higher than those in the control group (all $P < 0.05$); but HDL-C in NAFLD patients was lower ($P < 0.01$). PRA, Ang I and Ang II were positively associated with the severity of NAFLD ($P = 0.000$), but negatively with the ratio of CT value of the liver to that of the spleen ($P < 0.05$). PRA was an independent risk factor for the occurrence of NAFLD ($B = 0.034$, $OR = 1.034$, $P = 0.012$).

CONCLUSION: Increased plasma RAS plays a significant role in the occurrence and progress of NAFLD.

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

Key Words: Renin-angiotensin system; Plasma renin activity; Angiotensin; Nonalcoholic fatty liver disease

Luo XY, Zeng Z. Relationship between plasma renin-angiotensin system and nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4158-4163
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4158.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4158>

摘要

目的: 探讨血浆肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)与非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)发生进展的相关性。

方法: 收集350例住院和体检者,经腹部CT检查及临床诊断分NAFLD组与对照组,检测血浆肾素活性(plasma renin activity, PRA)、血管紧张素 I (angiotensin I, Ang I)、血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)及生化指标,统计分析上述因素与NAFLD的关系。

结果: NAFLD组的血浆RAS(包括PRA、Ang I、Ang II)含量均较对照组显著升高($P < 0.05$); PRA、Ang I、Ang II均与NAFLD的严重程度(正常、轻度、中度、重度)呈正相关($P = 0.000$),而与肝/脾CT值比呈负相关($P < 0.05$)。PRA可作为NAFLD发病的独立危险

因素($B = 0.034$, $OR = 1.034$, $P = 0.012$).

结论: 血浆RAS的激活对NAFLD的发生进展有重大影响.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肾素-血管紧张素系统; 血浆肾素活性; 血管紧张素; 非酒精性脂肪肝病

核心提示: 本研究结果显示, 非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)患者血浆肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)[包括血浆肾素活性(plasma renin activity, PRA)、血管紧张素 I (angiotensin I, Ang I)、血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)]浓度均明显升高, 且随着NAFLD的进展血浆RAS浓度有上升趋势; RRA是NAFLD发生的独立危险因素, 提示RAS是NAFLD发生进展的机制之一.

罗晓英, 曾峥. 血浆肾素-血管紧张素系统与非酒精性脂肪肝病的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4158-4163
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4158.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4158>

0 引言

伴随人们生活水平的提高和不良生活方式的扩大化, 非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的人数逐年增加且发病年龄日趋提前. 据统计, 广东省NAFLD患病率已达15%^[1], 广州市城市居民的患病率亦升至13.7%^[2]. NAFLD发病机制复杂, 至今尚未完全明确. 肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)是一类血管调节因子, 通过内分泌作用, 能分泌肾素(renin, REN)、血管紧张素 I (angiotensin I, Ang I)和血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II). 近期研究表明^[3], 血浆RAS和肝脏RAS与脂肪肝、肝纤维化、肝硬化有密切联系, 其中Ang II为主要活性物质在胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、氧化应激、炎症、增生等发病过程中具有重要作用^[4-6], 但多数研究局限在细胞和动物水平, 临床研究尚不足, 且仅针对RAS中Ang II对NAFLD的作用, 而REN对NAFLD的影响国内外鲜有报道. 本研究对广州市第一人民医院350例住院和体检者(其中临床诊断为NAFLD的159例, 非NAFLD的191例)检测其血浆肾素活性(plasma renin activity, PRA)、Ang I及Ang II, 分析血浆RAS在NAFLD发生进展的变化, 进一步探讨血浆RAS在NAFLD发生进展

的作用机制, 为NAFLD发生、转归的评价寻求合适的诊断指标.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-01/2013-06广州市第一人民医院住院和体检者350例, 年龄在20-95岁, 根据肝脏CT结果及临床诊断, 分为NAFLD组159例和对照组191例. 肾素、血管紧张素 I 及血管紧张素 II (增强化学发光法)试剂盒均购自广东虹业抗体科技有限公司. 320排螺旋CT(东芝Aquilion ONE)、全自动生化分析仪(日立7600型)、虹业化学发光免疫分析仪.

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)NAFLD组: 按照“中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学会的非酒精性脂肪肝病诊疗指南”^[7]标准诊断为NAFLD, 并根据肝/脾CT值比结果分轻度($0.7 < CT值比 < 1.0$)、中度($0.5 < CT值比 \leq 0.7$)、重度($CT值比 \leq 0.5$); (2)对照组: 无饮酒史或饮酒折合乙醇量 < 140 g/wk(男), < 70 g/wk(女); 肝脏CT提示无明显异常.

1.2.2 排除标准: (1)排除病毒性肝炎、酒精性肝病、肝硬化、原发性肝癌、药物性肝损害、甲状腺功能亢进或减退症、自身免疫性疾病、高血压、严重心律失常、冠心病、醛固酮增多症、肾上腺肿瘤、糖尿病、肾功能不全; (2)排除长期服用RAS阻断剂(包括肾素抑制剂、血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素受体拮抗剂)、醛固酮拮抗剂及降脂药的患者; (3)排除精神病及严重神经官能症者.

1.2.3 资料采集: (1)一般情况: 姓名、性别、年龄、饮酒史、吸烟史、既往病史; (2)腹部CT: 由CT医师检查, 于同一CT层面上测出肝和脾的CT值, 计算肝/脾CT值比.

1.2.4 血液标本测定: 所有研究对象空腹8 h后, 取仰卧位, 采静脉血6 mL. (1)采用全自动生化分析仪检测生化指标: 谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、 γ -谷氨酰转氨酶(γ glutamyl transferase, GGT)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、空腹血

■ 研发前沿

近年研究发现RAS和肝脏RAS与脂肪肝、肝硬化、肝纤维化有密切联系. RAS在NAFLD的发病机制的作用逐渐成为研究热点, 但多数研究局限在细胞和动物水平, 临床研究尚不足, 且仅针对RAS中Ang II对NAFLD的作用, 而肾素(renin, REN)对NAFLD的影响国内外鲜有报道, 有待进一步探讨.

■ 相关报道

RAS在NAFLD发病发挥关键作用, 动物实验和临床研究均发现, RAS的激活增加了机体胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)及肝脏脂质过氧化致使肝组织发生脂肪变、炎症及纤维化; 而肝脏损伤能上调肝脏中局部RAS, 在慢性肝病和肝硬化患者中系统和局部RAS活性增加, 如此相互作用形成恶性循环.

■ 创新盘点

本研究全面比较NAFLD患者与正常者血浆RAS(PRA、Ang I、Ang II)浓度,分析血浆RAS与NAFLD严重程度及生化指标的相关性,并运用多因素Logistic回归分析探讨了RAS中对NAFLD发生的关键危险因素。

表 1 对照组和NAFLD组各指标比较(mean ± SD)

指标	分组		值	P值
	对照组	NAFLD组		
<i>n</i>	191	159		
ALT(U/L)	14.25 ± 8.23	22.79 ± 14.11 ^b	-6.720	0.000
AST(U/L)	19.94 ± 6.18	21.87 ± 9.17 ^a	-2.254	0.025
GGT(U/L)	28.65 ± 20.85	39.70 ± 27.80 ^b	-4.118	0.000
CHE(U/L)	6795.35 ± 1546.98	7820.03 ± 1826.13 ^b	-4.881	0.000
ALP(U/L)	78.34 ± 41.06	77.02 ± 21.20	0.334	0.739
TG(mmol/L)	1.24 ± 0.81	1.98 ± 1.20 ^b	-6.509	0.000
TC(mmol/L)	4.55 ± 0.92	4.83 ± 1.04 ^b	-2.650	0.008
HDL-C(mmol/L)	1.22 ± 0.31	1.05 ± 0.23 ^b	5.690	0.000
LDL-C(mmol/L)	2.59 ± 0.77	2.86 ± 0.84 ^b	-3.127	0.002
FBG(mmol/L)	5.32 ± 0.96	5.66 ± 1.15 ^b	-2.835	0.005
2 h PBG(mmol/L)	9.24 ± 4.86	9.78 ± 3.98	-0.885	0.377
HbA1c(%)	6.04 ± 1.17	6.20 ± 1.15	-1.016	0.311
PRA(pg/mL)	27.58 ± 22.75	41.94 ± 32.97 ^b	-4.465	0.000
Ang I(ng/mL)	2.05 ± 1.37	3.10 ± 1.98 ^b	-5.095	0.000
Ang II(pg/mL)	73.43 ± 99.60	129.32 ± 138.03 ^b	-3.865	0.000

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组. ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; GGT: γ -谷氨酰转氨酶; CHE: 胆碱酯酶; ALP: 碱性磷酸酶; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇; FBG: 空腹血糖; 2 h PBG: 餐后2 h血糖; HbA1c: 糖化血红蛋白; PRA: 血浆肾素活性; NAFLD: 非酒精性脂肪肝病; Ang I: 血管紧张素I; Ang II: 血管紧张素II.

糖(fasting blood glucose, FBG)、餐后2 h血糖(2 h postprandial blood glucose, 2 h PBG)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c); (2)采用增强化学发光法测定血浆肾素活性(卧位)(plasma renin activity, PRA)、血Ang I、Ang II.

统计学处理 SPSS17.0软件处理,计数资料进行Spearson相关,计量资料进行 t 检验和Pearson相关,并行多因素非条件Logistic回归分析,检验均取双侧 $\alpha = 0.05$ 为显著性临界水平, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

本研究对象350例,男189例,女161例。NAFLD组159例,男:女=93:66;对照组191例,男:女=96:95。NAFLD组平均年龄53.9岁±20.7岁,对照组平均年龄57.1岁±16.0岁。两组性别和年龄均无统计学差异($P > 0.05$)。

2.1 NAFLD组与对照组血液指标比较 经两独立样本 t 检验,与对照组相比,NAFLD组的ALT、AST、GGT、CHE、TG、TC、LDL-C)、FBG、血浆RAS(PRA、Ang I、Ang II)均显著升高($P < 0.05$),而HDL-C则显著降低($P < 0.01$),差异有统计学意义(表1)。

2.2 血浆RAS与NAFLD发生进展及生化指标的关系

2.2.1 血浆RAS(PRA、Ang I、Ang II)与NAFLD发生进展的相关性: PRA、Ang I、Ang II均与NAFLD的严重程度(正常、轻度、中度、重度)呈正相关($P = 0.000$)。PRA、Ang I、Ang II均与肝/脾CT值比呈负相关($P < 0.05$,表2)。

2.2.2 血浆RAS与生化指标的相关性: (1)血浆RAS与肝功能呈正相关: PRA与GGT呈正相关($P = 0.000$); Ang I与ALT、GGT、CHE呈正相关($P < 0.05$); Ang II与ALT、GGT呈正相关($P < 0.05$); (2)血浆RAS与血脂指标的相关性: PRA与LDL-C呈正相关($P = 0.010$),但与TG、TC、HDL-C无明显相关性($P > 0.05$); Ang I与TG呈正相关($P = 0.016$),但与TC、LDL-C无明显相关性($P > 0.05$); Ang II与血脂指标无明显相关($P > 0.05$); (3)血浆RAS与FBG均无明显相关性($P > 0.05$,表2)。

2.3 NAFLD发生的多因素分析 以“是否患NAFLD”为应变量,“TG、TC、HDL-C、LDL-C、FBG、PRA、Ang I、Ang II”为自变量,进行多因素Logistic回归分析: PRA和TG可分别作为NAFLD发病的独立危险因素($B = 0.034$, $OR = 1.034$, $P = 0.012$; $B = 0.659$,

表 2 血浆RAS(PRA、Ang I、Ang II)与NAFLD严重程度及生化指标的关系

指标	PRA		Ang I		Ang II	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
NAFLD严重程度 ¹	0.276 ^b	0.000	0.303 ^d	0.000	0.280 ^f	0.000
肝/脾CT值比 ¹	-0.190 ^a	0.029	-0.182 ^c	0.035	-0.210 ^e	0.014
ALT	0.112	0.052	0.167 ^d	0.004	0.159 ^f	0.006
AST	0.055	0.342	0.107	0.065	0.079	0.174
GGT	0.225 ^b	0.000	0.202 ^d	0.000	0.252 ^f	0.000
CHE	0.101	0.139	0.159 ^c	0.019	0.080	0.239
TG	0.073	0.212	0.139 ^c	0.016	0.107	0.065
TC	0.112	0.054	0.049	0.403	0.053	0.359
HDL-C	-0.114	0.050	-0.114 ^c	0.049	-0.100	0.086
LDL-C	0.149 ^a	0.010	0.096	0.098	0.081	0.163
FBG	-0.024	0.693	-0.002	0.979	-0.039	0.514
PRA	-	-	0.674 ^d	0.000	0.756 ^f	0.000
Ang I	0.674 ^b	0.000	-	-	0.653 ^f	0.000
Ang II	0.756 ^b	0.000	0.653 ^d	0.000	-	-

¹运用Spearman相关, 其余指标运用Pearson相关; ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs PRA; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs Ang I; ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ vs Ang II. NAFLD: 非酒精性脂肪肝病; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; GGT: γ -谷氨酰转氨酶; CHE: 胆碱酯酶; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇; FBG: 空腹血糖; PRA: 血浆肾素活性; Ang I: 血管紧张素I; Ang II: 血管紧张素II.

表 3 NAFLD发病的多因素Logistic回归分析

自变量	B	SE	Wald χ^2	OR	95%CI for OR	P值
常数项	-2.868	1.610	3.173	0.057		0.075
TG	0.659	0.317	4.322	1.933	1.038-3.598	0.038
TC	-1.281	0.784	2.672	0.278	0.060-1.290	0.102
HDL-C	-0.693	1.405	0.243	0.500	0.032-7.853	0.622
LDL-C	0.237	0.817	0.084	1.268	0.256-6.293	0.771
FBG	0.279	0.183	2.337	1.322	0.924-1.892	0.126
PRA	0.034	0.013	6.339	1.034	1.008-1.062	0.012
Ang I	-0.007	0.151	0.002	0.993	0.739-1.334	0.962
Ang II	0.000	0.002	0.078	0.999	0.995-1.004	0.780

NAFLD: 非酒精性脂肪肝病; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇; FBG: 空腹血糖; PRA: 血浆肾素活性; Ang I: 血管紧张素I; Ang II: 血管紧张素II.

OR = 1.933, $P = 0.038$), 回归方程为: $\ln[p/(1-p)] = -2.868 + 0.034\chi^1 + 0.659\chi^2$. 而TC、HDL-C、LDL-C、FBG、Ang I、Ang II未能进入回归方程($P > 0.05$, 表3).

3 讨论

3.1 RAS与NAFLD发生进展的关系 NAFLD是一种受遗传基因、生活方式、社会环境等多因素影响的肝脏脂肪性病变. NAFLD与IR、肥胖、2型糖尿病、高脂血症及心血管疾病等代谢综合征密切相关^[8]. 而NAFLD的发病机制至今尚未

完全明确, 目前认为IR、氧化应激等因素能导致脂肪性肝病发生炎症、坏死和纤维化^[9]. RAS由RE)、血管紧张素原和Ang组成, 循环中的血管紧张素原在REN作用下, 生成Ang I, Ang I经过血管紧张素转换酶的作用生成Ang II, Ang II最具广泛生物学活性, 作用于全身多个器官. 循环中REN的增多可导致组织内Ang II持续生成, 进而导致疾病的发生^[10]. 国内外基础实验发现RAS的激活, 可促进炎症反应、氧化应激、交感神经系统的活性等引起IR及肝脏脂质过氧化致使肝组织发生脂肪变、炎症及纤维化^[11-14]; 既往

■应用要点

本研究通过增强化学发光法检测PRA、Ang I及Ang II浓度, 该检测方法准确、快速、简便, 能定量分析血浆RAS在NAFLD发生进展中的作用; 且血浆RAS的浓度与NAFLD的严重程度呈正相关, 提示血浆RAS活性检测可作为NAFLD严重程度评价的辅助指标之一.

■名词解释

非酒精性脂肪肝病: 除酒精和其他明确的肝损害因素所致, 以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变和脂肪贮积为主要特征的临床病理综合征; RAS: 由REN、血管紧张素原和Ang组成, 循环中的血管紧张素原在REN作用下, 生成Ang I, Ang I经过血管紧张素转换酶的作用生成Ang II, Ang II最具广泛生物学活性, 作用于全身多个器官。此外, 检测人体血浆中REN含量以血浆肾素活性表达。

临床研究发现慢性肝炎和肝硬化患者中循环和局部RAS浓度有所增加^[15,16], 肝细胞的损伤亦能上调肝脏中局部RAS活性^[17,18]。本研究亦发现NAFLD患者血浆RAS(包括PRA、Ang I、Ang II)浓度均明显升高, PRA、Ang I、Ang II分别与肝/脾CT值比呈负相关, 与NAFLD严重程度呈正相关, 揭示了随着NAFLD的进展血浆RAS活性有上升趋势; 与对照组相比, NAFLD组肝功能(ALT、GGT)较高, 提示NAFLD患者肝细胞有一定程度损害, 而肝功能与血浆RAS含量呈正相关, 再次揭示肝细胞损害能上调RAS。经多因素Logistic回归分析, PRA的升高可作为NAFLD发生的独立危险因素, 提示一旦PRA增加, 循环中Ang II持续增加, 循环RAS得到激活, 从而促进机体IR和氧化应激, 能增加NAFLD发病的危险性甚至加速NAFLD的恶化。RAS的激活与肝脏脂肪变、炎症发展如此相互作用形成恶性循环。此外, 本研究发现血浆RAS与血脂有一定的相关性(如PRA与LDL-C呈正相关, Ang I与TG呈正相关), 据报道RAS的激活亦可通过上调血管紧张素受体-1(angiotensin type 1 receptor, ATR1)而影响肝脏脂肪酸代谢^[19], 提示RAS的激活可能直接使脂质代谢紊乱而致肝脂肪变。总之, 血浆RAS是NAFLD发病的关键机制之一。

3.2 PRA的检测可作为NAFLD发生进展的辅助评价指标 本研究通过Logistic回归分析发现PRA是NAFLD发生的独立危险因素, 而Ang I、Ang II虽对NAFLD的发生进展呈正相关, 但未能进入回归方程, 说明PRA对NAFLD发病的影响强于Ang I和Ang II, 可认为Ang I和Ang II对NAFLD发生进展的作用可能因PRA的增加, 经RAS激活途径, 从而以生物活性最强的Ang II发挥作用。可见PRA可作为NAFLD发生进展评价的辅助指标。NAFLD诊断的金标准是肝活检病理诊断, 但手术创伤性和风险性较大、且费用高、在临床上难以普遍开展, 不适于NAFLD的普查和转归预后的评价。本研究通过增强化学发光法检测血浆RAS(PRA、Ang I、Ang II)浓度, 该方法具准确、快速、简便等优点, 因此可考虑运用增强化学发光法检测PRA辅助评价NAFLD的严重程度, 为NAFLD早期诊断和转归的评价有重要意义。

4 参考文献

- 1 周永健, 李瑜元, 马金香, 聂玉强. 广东省城市成人脂肪肝患病率调查. 广东医学 2008; 29: 1085-1087
- 2 曹创裕, 曾峥, 李瑜元. 非酒精性脂肪肝病的流行现状

- 3 及自然病程调查. 广东医学 2010; 31: 2850-2852
- 4 汪亮, 张霞. 肾素-血管紧张素系统在非酒精性脂肪肝病发病中的作用. 重庆医学 2010; 39: 3139-3149
- 5 Manrique C, Lastra G, Gardner M, Sowers JR. The renin angiotensin aldosterone system in hypertension: roles of insulin resistance and oxidative stress. *Med Clin North Am* 2009; 93: 569-582 [PMID: 19427492 DOI: 10.1016/j.mcna.2009.02.014]
- 6 Kitade M, Yoshiji H, Noguchi R, Ikenaka Y, Kaji K, Shirai Y, Yamazaki M, Uemura M, Yamao J, Fujimoto M, Mitoro A, Toyohara M, Sawai M, Yoshida M, Morioka C, Tsujimoto T, Kawaratani H, Fukui H. Crosstalk between angiogenesis, cytokeratin-18, and insulin resistance in the progression of non-alcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5193-5199 [PMID: 19891019 DOI: 10.3748/wjg.15.5193]
- 7 Singh VP, Le B, Rhode R, Baker KM, Kumar R. Intracellular angiotensin II production in diabetic rats is correlated with cardiomyocyte apoptosis, oxidative stress, and cardiac fibrosis. *Diabetes* 2008; 57: 3297-3306 [PMID: 18829990 DOI: 10.2337/db08-0805]
- 8 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 161-163
- 9 Ampuero J, Romero-Gómez M. [Influence of non-alcoholic fatty liver disease on cardiovascular disease]. *Gastroenterol Hepatol* 2012; 35: 585-593 [PMID: 22541252 DOI: 10.1016/j.gastrohep.2012.02.005]
- 10 Brunt EM. Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 195-203 [PMID: 20195271 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.21]
- 11 Iravanian S, Dudley SC. The renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) and cardiac arrhythmias. *Heart Rhythm* 2008; 5: S12-S17 [PMID: 18456194 DOI: 10.1016/j.hrthm.2008.02.025]
- 12 崔卫东, 张年宝, 黄帧桢, 丁伯平. 局部肾素-血管紧张素系统与相关疾病. 中国医药导报 2011; 8: 12-13
- 13 张利莉, 袁莉. 血管紧张素II信号系统与胰岛素信号传导. 国际内科学杂志 2008; 35: 8-12
- 14 张凤, 周华梅, 张霞. 肾素-血管紧张素系统阻断剂治疗代谢综合征的进展. 中国药业药专论 2012; 21: 21-24
- 15 Pereira RM, dos Santos RA, da Costa Dias FL, Teixeira MM, Simões e Silva AC. Renin-angiotensin system in the pathogenesis of liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2579-2586 [PMID: 19496186 DOI: 10.3748/wjg.15.2579]
- 16 Helmy A, Jalan R, Newby DE, Hayes PC, Webb DJ. Role of angiotensin II in regulation of basal and sympathetically stimulated vascular tone in early and advanced cirrhosis. *Gastroenterology* 2000; 118: 565-572 [PMID: 10702208 DOI: 10.1016/S0016-5085(00)70263-0]
- 17 Powell EE, Edwards-Smith CJ, Hay JL, Clouston AD, Crawford DH, Shorthouse C, Purdie DM, Jonsson JR. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000; 31: 828-833 [PMID: 10733535 DOI: 10.1053/he.2000.6253]
- 18 Paizis G, Cooper ME, Schembri JM, Tikellis C, Burrell LM, Angus PW. Up-regulation of components of the renin-angiotensin system in the bile duct-ligated rat liver. *Gastroenterology* 2002; 123: 1667-1676 [PMID: 12404241 DOI: 10.1053/gast.2002.36561]

18 Ueki M, Koda M, Yamamoto S, Matsunaga Y, Murawaki Y. Preventive and therapeutic effects of angiotensin II type 1 receptor blocker on hepatic fibrosis induced by bile duct ligation in rats. *J Gastroenterol* 2006; 41: 996-1004 [PMID: 17096069 DOI:

10.1007/s00535-006-1891-1]
19 de Kloet AD, Krause EG, Woods SC. The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. *Physiol Behav* 2010; 100: 525-534 [PMID: 20381510 DOI: 10.1016/j.physbeh.2010.03.018]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



■同行评价
RAS与NAFLD密切相关, 本文从临床角度探讨血浆RAS是NAFLD发生进展的机制之一, 有一定的创新意义。

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

乌鲁木齐市体检人群非酒精性脂肪肝与肠易激综合征样症状的相关性

柯月, 杨涛, 姚萍

■背景资料

随着生活水平及生活压力提高, 饮食结构和生活方式改变, 脂肪肝患病率有增无减, 且伴有肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)样症状, 同样功能性胃肠病的患者也会出现高脂血症、脂肪肝等脂代谢相关疾病。当前两者之间的相关性在临床上尚未有大样本的研究。

柯月, 杨涛, 姚萍, 新疆医科大学第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

柯月, 硕士, 主要从事非酒精性脂肪肝的研究。

作者贡献分布: 此课题由姚萍设计; 研究过程由姚萍、柯月及杨涛操作完成; 数据分析由柯月及杨涛完成; 论文写作、修改由柯月、杨涛与姚萍完成。

通讯作者: 姚萍, 教授, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院消化内科。

pingyaozh@sina.com

电话: 0991-4362608

收稿日期: 2013-09-21 修回日期: 2013-10-30

接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2013-12-28

Association between nonalcoholic fatty liver disease and irritable bowel syndrome in populations undergoing health examination in Urumqi

Yue Ke, Tao Yang, Ping Yao

Yue Ke, Tao Yang, Ping Yao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Ping Yao, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. pingyaozh@sina.com

Received: 2013-09-21 Revised: 2013-10-30

Accepted: 2013-11-11 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To detect the prevalence of irritable bowel syndrome (IBS) in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) patients and normal people undergoing health examination in Urumqi to investigate the correlation between the two diseases.

METHODS: Using simple random sampling method, we divided people undergoing health examination in Urumqi into two groups: NAFLD patients and normal controls. The screened NAFLD patients underwent a questionnaire survey, biochemical tests and abdominal ultrasound to demonstrate whether they had IBS. The prevalence of IBS was compared

between the two groups. Univariate and multivariate analyses were performed to analyze the risk factors for IBS.

RESULTS: The detection rate of IBS was 12.5% in normal people and 23.2% in NAFLD patients, and there was a significant difference between the two groups ($P < 0.01$). The detection rate was significantly different among people with severe, moderate or mild NAFLD ($P < 0.05$). Body mass index (BMI) (OR = 0.918), triglyceride (OR = 0.855), fatty liver (OR = 0.525) and ethnicity ($P = 0.316$) might serve as the most important risk factors for IBS.

CONCLUSION: The detection rate of IBS was higher in NAFLD patients than in normal controls, suggesting that IBS and NAFLD have a close relation.

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

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Irritable bowel syndrome; Detection rates; Risk factors

Ke Y, Yang T, Yao P. Association between nonalcoholic fatty liver disease and irritable bowel syndrome in populations undergoing health examination in Urumqi. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4164-4169
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4164.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4164>

摘要

目的: 研究乌鲁木齐市健康体检人群非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)和正常人群中肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)样症状的检出率, 以探讨二者的相互关系。

方法: 用单纯随机抽样方法, 对乌鲁木齐市健康体检人群中NAFLD人群作为初筛, 以正常人群为对照组, 再对筛出的人群进行问卷调查, 结合生化、腹部超声检查等相关资料, 分析体检人群NAFLD及正常人群中IBS样症状

■同行评议者
迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院
消化内科

的检出率, 比较两者出现IBS样症状的差异. 采用秩和检验、单因素和多因素logistic回归分析对NAFLD与IBS样症状进行相关性分析.

结果: 正常人群和NAFLD中IBS样症状检出率分别为12.5%、23.2%, 两者检出率有显著差异($P<0.01$); NAFLD的严重程度致IBS样症状的检出率有差别($P<0.05$), 且差别存在于轻度、中度及重度脂肪肝之间; 经多因素回归分析, 体质量指数、甘油三酯、脂肪肝及族别为IBS样症状最具可能性的危险因素, 其OR值分别为0.918、0.855、0.525及0.316.

结论: 乌鲁木齐市体检人群NAFLD中IBS样症状的检出率较高, IBS样症状与NAFLD有密切关系.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 非酒精性脂肪肝; 肠易激综合征样症状; 检出率; 危险因素

核心提示: 目前较多研究从多个方面均显示非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease)与肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)有着密切联系, 而本次研究亦表明两者之间存在相关性, 且不同严重程度脂肪肝影响着IBS样症状的检出率. 根据研究结果, 可为临床治疗提供一定的依据, 值得临床中进一步推广.

柯月, 杨涛, 姚萍. 乌鲁木齐市体检人群非酒精性脂肪肝与肠易激综合征样症状的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4164-4169 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4164.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4164>

0 引言

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除酒精和其他明确的损肝因素外所致的, 与胰岛素抵抗和遗传易感性相关的代谢应激性肝损伤^[1,2]. 肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种腹痛或腹部不适伴排便习惯改变和/或大便性状异常, 并缺乏可解释症状的形态学改变和生化异常的功能性肠病^[3]. 近年来, 随着生活水平及生活压力提高, 饮食结构和生活方式改变, 脂肪肝患病率有增无减, 临床上发现诸如脂肪肝、高脂血症等脂代谢紊乱相关疾病的患者, 同时出现腹痛、腹胀、腹泻等IBS样症状, 许多诊断为功能性胃肠病的患者也会出现高脂血症、脂肪肝等脂代谢相关疾病. 以上两者之间在临床上的相关性尚未见有大样

本的研究, 故本文就2012-01/2012-06在新疆医科大学第一附属医院进行健康体检人群中NAFLD与IBS样症状的相关性研究结果报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 采用单纯随机抽样方法, 排除妊娠妇女、有饮酒史、糖尿病、甲状腺疾病、明显心肝肾肾功能异常、腹部手术史、慢性胆囊炎、胆石症及诊断明确病毒性肝炎、肝硬化和肝癌患者. 将2012-01/2012-06在新疆医科大学第一附属医院进行体检的人群作为研究对象, 共计945例, 其中NAFLD人群470例, 失访22例(失访率4.7%), 正常人群475例, 失访43例(失访率9.1%), 有效研究对象880例, 男424例, 女456例, 年龄20-80岁; 汉族822例, 维吾尔族58例.

1.2 方法

1.2.1 一般情况调查: 设计使用统一的流行病学调查问卷, 由经专门培训人员进行问卷调查, 再分别将NAFLD人群与正常人群分为A、B两组, 两组人群在性别构成、年龄、民族、文化程度及既往病史(高血压病史)经检验差异无统计学意义($P>0.05$, 表1).

1.2.2 体格测量: 测量身高、体质量并计算体质量指数(body mass index, BMI) = 体质量(kg)/身高²(m²), 坐位测量右上臂肱动脉血压.

1.2.3 生化指标检测: 禁食12 h后清晨空腹肘静脉血2 mL, 检测血脂(甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇)、肝功能、肾功能(尿酸). 行血、尿常规检查.

1.2.4 B超检查及判断标准: 使用统一LOGIQ-S6型号的超声检查仪, 探头频率为5.0 Hz. 固定由1名高年资超声诊断科医师进行肝脏超声检查后出具诊断报告. 脂肪肝诊断标准^[4]: (1)肝区近场回声弥漫性增强(强于肾脏和脾脏), 远场回声逐渐衰减; (2)肝内管道结构显示不清; (3)肝脏轻至中度肿大, 边缘角圆钝; (4)彩色多普勒血流显像提示肝内彩色血流信号减少或不易显示, 但肝内血管走向正常; (5)肝右叶包膜及横膈回声显示不清或不完整. 具备上述第1项及第2-4项中一项者为轻度脂肪肝; 具备上述第1项及第2-4项中两项者为中度脂肪肝; 具备上述第1项及第2-4项中两项和第5项者为重度脂肪肝.

1.2.5 其他诊断标准: NAFLD诊断标准按中华医学会肝脏病分会脂肪肝和酒精性肝病学组“非酒精性脂肪性肝病诊疗指南”2006年修订的诊断标准^[5], 空腹肝脏彩超提示弥漫性脂肪肝, 同

■ 研发前沿

近年来, 研究发现肠道黏膜屏障、炎症因素及肠道菌群对非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)及IBS发病均有所影响, 目前NAFLD及IBS均缺乏有效的药物治疗方法, 通过对两者间相关性的阐明, 以求进一步解决临床治疗这一难题.

■ 相关报道

Szabo等在NAFLD发病机制方面的研究表明NAFLD发病过程中可引发IBS样症状,两者有着相关性,与本文结果相符,而在临床上两者间相关性的证据还不充分,仍需进一步验证。

表 1 两组人群性别、年龄、族别、文化程度及既往病史对比

分组	性别		年龄(岁)		民族		文化程度		既往病史	
	男	女	≤50	>50	汉族	维吾尔族	文盲	非文盲	有高血压	无高血压
A组	226	222	318	130	422	26	4	444	44	404
B组	198	234	322	110	400	32	4	428	27	405
χ^2 值	1.875		1.401		0.919		0.003		3.782	
<i>P</i> 值	0.178		0.256		0.345		1.000		0.063	

A组: NAFLD人群; B组: 正常人群。

表 2 正常人群与NAFLD人群肠易激综合征样症状检出率的比较

分组	肠易激综合征样症状		非肠易激综合征样症状	
	<i>n</i>	检出率(%)	<i>n</i>	检出率(%)
正常人群	54	12.5	378	87.5
NAFLD人群	104	23.2 ^b	344	76.8
总计	158	18.0	722	82.0

^b*P*<0.01 vs 正常人群. NAFLD: 非酒精性脂肪肝。

时符合无饮酒史或饮酒量折合乙醇量男<20 g/d, 女<10 g/d, 并除外病毒性肝炎、药物性肝病、肝豆状核变性、全胃肠外营养和自身免疫性肝病。IBS样症状诊断标准主要根据罗马III标准^[6]并排除既往有腹部大手术、消化性溃疡、溃疡性结肠炎、糖尿病及甲状腺功能亢进等疾病。超重/肥胖: 以BMI≥24 kg/m²为超重, BMI≥28 kg/m²为肥胖; 高血压: 收缩压(systolic blood pressure, SBP)≥140 mmHg和/或舒张压(diastolic blood pressure, DBP)≥90 mmHg, 或既往有高血压病史者; 高血脂: 总胆固醇(total cholesterol, TC)≥5.2 mmol/L和/或甘油三酯(triglyceride, TG)≥1.7 mmol/L; 空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)≥7.0 mmol/L诊断为糖尿病, 空腹血糖≥6.1 mmol/L定义为高血糖。

统计学处理 采用Excel建立数据库, 对所有数据进行整理, 采用SPSS17.0统计软件进行统计分析。率的比较用 χ^2 检验, 以*P*<0.05差异有统计学意义; 同时对非参数等级资料进行秩和检验; 相关性分析采用Logistic回归分析。

2 结果

2.1 正常人群与NAFLD人群中IBS样症状检出率的比较 在体检人群中, 正常人群IBS样症状检出率为12.5%; NAFLD人群IBS样症状检出率为23.2%, NAFLD中IBS样症状检出率高于正常人群, 且差异有统计学意义(*P*<0.01, 表2)。

2.2 不同程度NAFLD人群中IBS样症状检出率的比较 NAFLD的程度分为轻、中、重度, 分别设定为A、B、C 3组, A组共212例, IBS样症状检出率为11.3%; B组共188例, IBS样症状检出率为27.7%; C组共48例, IBS样症状检出率为58.3%。3组间有明显差异, 且具有统计学意义(*P*<0.05, 表3)。

对3组进一步作两两比较, 应用拓展的T检验法, (1)A组与B组比较后*T*值为3.00, *P*<0.05, 两组差别有统计学差异, B组较A组IBS样症状检出人数多; (2)B组与C组比较后*T*值为3.48, *P*<0.05, 两组差别有统计学差异; C组较B组IBS样症状检出人数多; (3)A组与C组比较后*T*值为5.40, *P*<0.001, 两组差别有统计学差异; C组较A组IBS样症状检出人数多。

2.3 IBS的危险因素分析

2.3.1 单因素分析: 以IBS样症状为因变量, 将与IBS样症状可能相关的族别(汉族、维吾尔族)、脂肪肝、BMI等11个变量赋值后, 进行单因素logistic回归分析, 结果显示4个变量有统计学意义(*P*<0.05, 表4)。

2.3.2 多因素分析: 通过向前逐步引入法, 在校正混杂因素的影响后, 经多因素Logistic回归分析结果显示, IBS样症状与族别、脂肪肝、BMI及甘油三酯4个变量密切相关(*P*<0.05), 其危险度由大到小依次为BMI、甘油三酯、脂肪肝及族别, 具体数值如表5。

表 3 不同程度非酒精性脂肪肝人群中肠易激综合征样症状检出率的比较(*n*)

分组	肠易激综合征样症状	非肠易激综合征样症状	合计
A组	24	188	212
B组	52	136	188
C组	28	20	48
<i>H</i> 值		52.003	
<i>P</i> 值		0.000	

■创新亮点

本文采用单纯随机抽样方法进行大样本研究, 运用医学统计学方法进行分析, 客观的评价NAFLD与IBS样症状的相关性. 同时提出对NAFLD及IBS样症状的临床治疗方法, 这是之前相关研究报道中较少提及的.

表 4 肠易激综合征样症状危险因素单因素分析结果

因素	χ^2 值	OR值	95%CI	<i>P</i> 值
族别	7.414	0.288	0.118–0.706	0.006
高脂饮食	0.366	0.794	0.376–1.677	0.545
高血压	3.580	0.225	0.480–1.055	0.058
脂肪肝	4.690	0.475	0.242–0.932	0.03
文化程度	0.013	1.018	0.748–1.386	0.91
年龄	0.422	1.010	0.980–1.042	0.516
体质指数	4.064	0.907	0.824–0.997	0.044
甘油三酯	5.022	0.829	0.704–0.977	0.025
总胆固醇	0.300	1.002	0.978–1.027	0.862
尿酸	0.000	1.000	0.996–1.004	0.987
性别	0.064	0.918	0.472–1.784	0.801

OR: 比值比; 95%CI: 95%置信区间.

表 5 肠易激综合征样症状多因素条件logistic回归分析

因素	χ^2 值	OR值	95%CI	<i>P</i> 值
族别	6.927	0.316	0.134–0.745	0.008
脂肪肝	3.947	0.525	0.278–0.991	0.047
BMI	3.877	0.918	0.844–1.000	0.049
甘油三酯	4.493	0.855	0.739–0.988	0.034

OR: 比值比; 95%CI: 95%置信区间.

3 讨论

目前已有许多关于脂肪肝患病状况及相关危险因素流行病学报道, 其患病率不断增高, 且不同地区差别较大. 国外学者认为NAFLD有可能成为欧美等发达国家第一大肝病, 并且儿童及青少年NAFLD发病率亦成快速递增趋势, 并有部分可发生肝纤维化, 甚至进展为肝硬化^[7]. 国外研究表明, NAFLD与代谢综合征(metabolic syndrome, MS)密切相关, NAFLD被认为是MS在肝脏的表现, 并且将NAFLD纳入MS的诊断标准中^[8,9]. 同时近年来, 许多研究表明脂代谢紊乱与肠道内菌群有着密切联系, 脂代谢的异常会直接影响肠道菌群的数量及分布, 肠道菌群的

失调常常引发临床上出现功能性胃肠病, 诸如IBS、功能性消化不良等. 因此NAFLD可能与功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)有密切关系, 并且成为FGIDs发生的危险因素. 已有较多学者进行了NAFLD与FGIDs的相关性研究, 而对NAFLD与IBS的研究则较少, 故本研究以NAFLD与IBS的相关性研究为目的进行临床调查研究.

本次研究调查结果显示, 乌鲁木齐市成人IBS样症状人群中65.8%患有NAFLD, 而NAFLD组中23.2%出现IBS样症状, 正常人群中仅有12.5%出现IBS样症状, 随着NAFLD人群中脂肪肝程度的加重IBS样症状检出率亦有所增加, 差

■应用要点

本文针对NAFLD与IBS样症状之间的相关性,对两者在临床上的治疗提出观点,对于NAFLD患者进行治疗的同时可给予调节肠道菌群及加强肠道黏膜屏障药物,使肝脏疾病的治疗有更好的疗效。出现IBS样症状的患者在予以调节肠道菌群、促进胃肠动力、胃肠解痉及保护肠道黏膜治疗的同时,可适当给予保肝、调脂等辅助治疗减轻临床上IBS样症状。

异有统计学意义($P<0.05$),可见NAFLD与IBS样症状是相关联的。多因素logistic回归分析结果显示,BMI、甘油三酯、脂肪肝及族别(汉族、维吾尔族)是IBS样症状发生的独立危险因素,相对危险度分别为0.918、0.855、0.525及0.316,说明考虑混杂因素的影响后,随着BMI、甘油三酯、脂肪肝的严重程度增加及汉族与维吾尔族间的差异,IBS样症状的发生危险度比正常人有所增加。BMI、甘油三酯、脂肪肝及族别是IBS样症状发生的独立危险因素,进一步说明IBS样症状与脂肪肝密切相关。

根据NAFLD发病过程中肠道的病理生理作用可进一步阐明IBS样症状与脂肪肝的相关性。现有的研究对于NAFLD发病的具体机制并没有定论,“二次打击”学说是被最广泛认可的^[10]。首先,在解剖水平上肠道与肝脏进行直接“交通”,肠道屏障功能完整时,有害物质通常不能进入人体,机体正常循环物质水平的稳态得以维持^[11]。已有研究报道,NAFLD时可削弱肠黏膜屏障功能进一步推动非酒精性脂肪肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的发生,肠黏膜屏障损伤的出现,使其通透性增强,促进炎性细胞因子和/或炎性细胞在肝脏聚集,造成肝脏微环境变化,继而诱发或加剧肝脏发生炎症和氧化应激损伤,触发或加剧NASH这一病理过程,肠道黏膜屏障损伤是促进NASH形成时重要的“第二次打击”的门户之一^[12];其次,NAFLD发生时肝脏微环境的稳态受到炎症、氧化应激及代谢等多个水平的影响^[13],同时IBS亦为一种轻度炎症改变的疾病。较多研究均提示肠道感染为IBS的重要发病诱因。潘国宗等^[14]对肠道急性感染与IBS的关系进行了研究,结果表明肠功能紊乱的发病率随着炎症病程的延长而增加,且发现肠道感染的IBS患者肠黏膜中白介素1(interleukin-1, IL-1)mRNA的表达增高,从而说明炎症及其随后引起的免疫反应可能参与IBS的发病机制。最后,除了以上提及的肠道黏膜屏障、炎症因素对NAFLD及IBS发病有所影响外,肠道菌群亦有着重要作用。近来研究显示,在NAFLD的发病中肠道菌群的失衡起着重要作用,肠道菌群是一个巨大而复杂的微生态系统,是一个有机的整体,对维持人体健康必不可少。正常菌群在宿主营养、免疫和物质代谢吸收等方面起着重要作用,肝脏病变可能破坏肝-肠平衡,引起肠道菌群改变,进而发生腹泻、腹胀、腹痛等为临床表现的IBS样症状^[15]。王玉玲等^[16]经过研

究可推测功能性胃肠病患者体内发生肠道菌群失调,导致大肠内菌群定位转移,致使游离胆汁酸大量滞留在小肠内,影响甘油三酯和脂肪酸的吸收,从而引起不适症状。说明长期功能性胃肠病可使肝功能进一步受损,增加脂肪肝的发病率。本研究结果同现有研究结果相符,显示正常人群和NAFLD中IBS样症状检出率有显著差异,且轻度、中度及重度脂肪肝间IBS样症状的检出率亦有差别。说明NAFLD与IBS密切相关,两者之间存在恶性循环。

目前NAFLD及IBS尚缺乏有效的药物治疗方法,且患者多因临床治疗效果较差而反复就诊。临床上对NAFLD患者通常采用保肝调脂、改变不良生活方式及积极治疗代谢危险因素等治疗方法,但仍有患者存在IBS样症状,通过此次研究结果,我们应考虑NAFLD与IBS样症状有紧密相关性,NAFLD患者可存在IBS样症状,我们可以同时给予调节肠道菌群及加强肠道黏膜屏障药物,使肝脏疾病的治疗有更好的疗效。反之,出现IBS样症状的患者在予以调节肠道菌群、促进胃肠动力、胃肠解痉及保护肠道黏膜治疗的同时,可适当给予保肝、调脂等辅助治疗减轻临床上IBS样症状。或许我们可以通过积极控制及改善NAFLD以减少临床上IBS样症状的发生,同时又可通过对IBS样症状的治疗减轻肝脏的损伤。

4 参考文献

- 1 郑娉娉, 王炳元. 非酒精性脂肪性肝病与酒精性肝病的异同. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 715-717
- 2 陈三妹, 王蓉蓉, 牛三强, 吴亮, 肖艳, 陈丽玲, 陈国荣. 糖尿病非酒精性脂肪肝病大鼠肝组织胰岛素受体、瘦素受体mRNA的表达. 中国病理生理杂志 2009; 25: 1370-1375
- 3 张鸣鸣, 姜敏. 肠易激综合征发病机制研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2484-2490
- 4 杨建忠, 黄美丽, 解永军, 贺静芳, 王萍. B超在脂肪肝诊疗中的诊断价值. 中国超声诊断杂志 2003; 4: 190-192
- 5 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性脂肪肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 164-166
- 6 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组. 肠易激综合征诊断和治疗共识意见(长沙, 2009). 中华消化杂志 2008; 28: 38-40
- 7 Burke A, Lucey MR. Non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and orthotopic liver transplantation. *Am J Transplant* 2004; 4: 686-693 [PMID: 15084161 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2004.00432.x]
- 8 Watanabe S, Yaginuma R, Ikejima K, Miyazaki A. Liver diseases and metabolic syndrome. *J Gastroenterol* 2008; 43: 509-518 [PMID: 18648737 DOI: 10.1007/s00535-008-2193-6]
- 9 Boppidi H, Daram SR. Nonalcoholic fatty liver dis-

■名词解释

代谢综合征(metabolic syndrome, MS): 是高血压、血糖异常、血脂紊乱和肥胖症等多种疾病在人体内集结的一种状态,直接导致严重心血管疾病的发生,并造成死亡。功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs): 是一组表现为慢性或反复性发作性的胃肠道综合征,临床表现主要是胃肠道的相关症状,因症状特征而有不同命名。常伴有失眠、焦虑、抑郁、等其他功能性症状,需经检查排除器质性疾病方可确诊。

- ease: hepatic manifestation of obesity and the metabolic syndrome. *Postgrad Med* 2008; 120: E01-E07 [PMID: 18654060 DOI: 10.3810/pgm.2008.07.1800]
- 10 Harmon RC, Tiniakos DG, Argo CK. Inflammation in nonalcoholic steatohepatitis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 5: 189-200 [PMID: 21476914 DOI: 10.1586/egh.11.21]
- 11 Koek GH, Liedorp PR, Bast A. The role of oxidative stress in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Chim Acta* 2011; 412: 1297-1305 [PMID: 21514287 DOI: 10.1016/j.cca.2011.04.013]
- 12 刘玉兰, 李晶. 肠道在非酒精性脂肪性肝病发病中的病理生理作用. *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 651-652
- 13 Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006; 444: 860-867 [PMID: 17167474 DOI: 10.1038/nature05485]
- 14 潘国宗. 肠易激综合征发病机制研究的进展. *胃肠病学和肝病学杂志* 2004; 13: 333-334
- 15 Szabo G, Bala S. Alcoholic liver disease and the gut-liver axis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1321-1329 [PMID: 20238398 DOI: 10.3748/wjg.v16.i11.1321]
- 16 王玉玲, 聂向荣, 甘兰庄, 吕志红. 蒙脱石散联合双歧杆菌活菌胶囊治疗功能性腹泻60例疗效观察. *河北中医* 2009; 31: 1752-1753

■同行评价

本研究立题有一定新意, 设计合理, 分析方法得当, 结论明确, 具有一定临床参考价值。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

多频生物电阻抗对肝硬化患者细胞内外液的探讨

吴圣楠, 齐玉梅, 陈亚军, 肖慧娟, 郝春满, 王昕

■背景资料

肝硬化的营养不良发生率很高, 而营养不良会使体内水分分布发生异常。但分布异常发生的时间、程度尚未明确; 多频生物电阻抗法是检测患者水分分布的一种技术; 本文运用多频生物电阻抗法对肝硬化患者水分分布情况进行评估并从营养的角度分析肝硬化患者水分分布异常的机制。

吴圣楠, 天津医科大学三中心临床学院 天津市 300170
齐玉梅, 陈亚军, 肖慧娟, 王昕, 天津市第三中心医院营养科 天津市 300170
郝春满, 北京市天坛医院营养科 北京市 100050
吴圣楠, 在读硕士, 主要从事疾病状态下物质代谢的研究。
作者贡献分布: 研究设计由齐玉梅、陈亚军及吴圣楠完成; 资料由肖慧娟、陈亚军、郝春满、王昕及吴圣楠收集整理; 数据统计分析由吴圣楠完成; 本文写作由吴圣楠完成。
通讯作者: 齐玉梅, 教授, 307170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院营养科。qym0305@yahoo.com.cn
电话: 022-84112224
收稿日期: 2013-07-04 修回日期: 2013-09-13
接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-12-28

Intracellular and extracellular water distribution in patients with liver cirrhosis

Sheng-Nan Wu, Yu-Mei Qi, Ya-Jun Chen,
Hui-Juan Xiao, Chun-Man Hao, Xin Wang

Sheng-Nan Wu, the Third Central Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjing 300170, China
Yu-Mei Qi, Ya-Jun Chen, Hui-Juan Xiao, Xin-Wang, Department of Nutrition, the Third Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300170, China
Chun-Man Hao, Nutrition Department, Tiantan Hospital of Beijing, Beijing 100050, China
Correspondence to: Yu-Mei Qi, Professor, Department of Nutrition, the Third Central Hospital of Tianjin, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. qym0305@yahoo.com.cn
Received: 2013-07-04 Revised: 2013-09-13
Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate intracellular water (ICW) and extracellular water (ECW) distribution in patients with cirrhosis.

METHODS: One hundred and four cirrhotic patients were divided into three groups based on Child-Pugh class (A, B, C), and 24 healthy volunteers were used as controls (N). Total body water (TBW), ICW and ECW were measured by multi-frequency bioelectrical impedance. ICW% was calculated as $ICW/TBW \times 100\%$, and ECW% as $ECW/TBW \times 100\%$.

RESULTS: Intracellular and extracellular fluid distribution changed in patients with cirrhosis. With the increase in Child-Pugh class, ECW and

ECW% increased and ICW% and ICW/TBW decreased (ECW: 13.011 ± 2.517 L, 14.463 ± 2.720 L, 14.587 ± 2.976 L vs 13.300 ± 2.073 L; ECW%: $38.93\% \pm 1.10\%$, $39.87\% \pm 1.00\%$, $40.52\% \pm 1.32\%$ vs $38.52\% \pm 0.95\%$; ICW%: $61.07\% \pm 1.10\%$, $60.03\% \pm 1.00\%$, $59.48\% \pm 1.32\%$ vs $61.48\% \pm 0.95\%$; ICW/ECW: 1.571 ± 0.072 , 1.510 ± 0.063 , 1.470 ± 0.789 , 1.598 ± 0.065).

CONCLUSION: Intracellular and extracellular fluid distribution has changed at the beginning of the disease in cirrhotic patients, which manifests as increased ECW and ECW% and decreased ICW% and ICW/TBW.

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

Key Words: Liver cirrhosis; Intracellular; Extracellular; Water distribution; MFBIA

Wu SN, Qi YM, Chen YJ, Xiao HJ, Hao CM, Wang X. Intracellular and extracellular water distribution in patients with liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4170-4174 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4170.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4170>

摘要

目的: 探讨肝硬化患者细胞内外液分布的变化及机制。

方法: 采用多频生物电阻抗法对104例肝硬化患者根据Child-Pugh分级, 分为A、B、C三组, 并选择24例健康者作为对照组(N组), 进行检测, 各组受试者的细胞内液(intracellular water, ICW)、细胞外液(extracellular water, ECW)和身体总水(total body water, TBW), 计算细胞内液/身体总水(ICW/TBW, ICW%)、细胞外液/身体总水(ECW/TBW, ECW%)和细胞外液/细胞内液(ICW/ECW), 比较各组受试者细胞内、外液分布差异。

结果: 肝硬化患者各组间细胞内、外液分布发生变化, ICW%、ICW/ECW随肝功能恶化而降低, ECW随肝功能恶化而增加, ECW%随肝功能恶化而升高。A、B、C、N四组ICW%

■同行评议者

竺亚斌, 研究员, 宁波大学医学院人体解剖与组胚学系

分别为 $61.07\% \pm 1.10\%$ 、 $60.03\% \pm 1.00\%$ 、 $59.48\% \pm 1.32\%$ 、 $61.48\% \pm 0.95\%$, ICW/ECW分别为 1.571 ± 0.072 、 1.510 ± 0.063 、 1.470 ± 0.789 、 1.598 ± 0.065 , ECW分别为 $13.011 \text{ L} \pm 2.517 \text{ L}$ 、 $14.463 \text{ L} \pm 2.720 \text{ L}$ 、 $14.587 \text{ L} \pm 2.976 \text{ L}$ 、 $13.300 \text{ L} \pm 2.073 \text{ L}$, ECW%分别为 $38.93\% \pm 1.10\%$ 、 $39.87\% \pm 1.00\%$ 、 $40.52\% \pm 1.32\%$ 、 $38.52\% \pm 0.95\%$ 。

结论: 在肝硬化初期患者即发生了水分分布异常, 表现为ICW%降低, ECW%升高, ICW/ECW降低, 并随肝功能恶化而加剧。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝硬化; 细胞内液; 细胞外液; 水分分布; 多频生物电阻抗

核心提示: 肝硬化患者在疾病早期即发生了营养不良、水分分布异常, 也许二者之间存在一定的因果关系, 应关注肝硬化患者的营养状态。

吴圣楠, 齐玉梅, 陈亚军, 肖慧娟, 郝春满, 王昕. 多频生物电阻抗对肝硬化患者细胞内外液的探讨. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 4170-4174 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4170.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.4170>

0 引言

肝硬化患者随着病情发展会出现水分分布异常, 临床表现为水肿、腹水、胸水。然而少量腹水无明显症状和体征^[1], 组织间隙液体增加大于正常值的30%时临床才能观察到^[2]。营养不良的发生率与肝病程度成正相关。蛋白质营养不良的发生率在Child-Pugh A级患者中约占20%, 而C级患者中则超过60%^[3]。早在1987年就有报道, 营养不良会导致水分分布异常, 表现为细胞内液(intracellular water, ICW)减少, 细胞外液(extracellular water, ECW)增多, 且水分分布异常程度与营养不良的程度呈正相关^[4]。但肝功能与细胞内、外液分布关系的报道较少。本研究采用多频生物电阻抗法^[5]对不同Child-Pugh分级肝硬化患者身体总水(total body water, TBW)、ECW、ICW进行检测分析, 探索不同程度肝功能损害患者细胞内外液分布变化的情况, 以指导临床治疗。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-09/2012-09之间肝内科肝硬化住院患者104例作为观察组, 男59例, 女45例, 平

均年龄 $58.9 \text{ 岁} \pm 11.31 \text{ 岁}$, 所有患者均符合2000年9月中华医学会传染病与寄生虫病分会、肝病学会联合修订的《病毒性肝炎防治方案》对肝硬化的诊断标准^[6]。依据Child-Pugh分级标准将受试者分为A级(A组, $n = 28$)、B级(B组, $n = 46$)、C级(C组, $n = 30$)。选择同期来我院健康体检的24例作为正常对照组N组, 男11例, 女13例, 平均年龄 $55.8 \text{ 岁} \pm 9.21 \text{ 岁}$ 。所有受试对象均非肿瘤患者。

1.2 方法

1.2.1 身高、体质量的测量: 身高采用RGZ-120身高体质量计测量, 误差不超过0.1 cm。

1.2.2 身体体质量指数(body mass index, BMI): $\text{BMI} = \text{体质量}(\text{kg}) / \text{身高}(\text{m}^2)$

1.2.3 细胞内液、细胞外液、身体总水: ICW、ECW、TBW采用InBody 720人体成分分析仪(韩国Biospace公司)检测。

检测原理: 采用多频生物电阻抗法对身体水分进行测量。**检测方法:** 测试对象受检之前2 h禁止进食、饮水、洗澡、剧烈运动, 并排空大小便, 除去电子物品及金属物品。用酒精棉球和电解质湿巾依次擦拭电极。嘱测试对象赤足站立于机器上, 足前掌和足后跟分别接触底部电极, 待机器显示体质量后输入被测者基本资料(年龄、性别、身高), 然后嘱其双手接触手部电极, 双臂向外张开15度, 不与身体接触, 保持1-2 min接受测量。

1.2.4 ICW%、ECW%及ICW/ECW的计算: 将得到的ICW、ECW进行计算, 细胞内液占身体总水百分数 $\text{ICW}\% = \text{ICW}/\text{TBW} \times 100\%$, 细胞外液占身体总水百分数 $\text{ECW}\% = \text{ECW}/\text{TBW} \times 100\%$ 。ICW/ECW即为细胞内液与细胞外液的比值。

统计学处理 采用SPSS17.0进行统计分析, 计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验; 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用SNK- q 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本特征 各组受试者年龄、性别、身高、体质量、BMI差异无统计学意义(表1)。

2.2 不同组ICW、ECW、TBW 各组间ICW、TBW差异无统计学意义。B组、C组ECW高于A组、N组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2), 对男性、女性分别进行分析, 各组间ICW、ECW、

■ 研发前沿

多种假说对肝硬化患者水分分布异常的机制进行了阐述, 而从营养的角度对该问题进行分析的研究尚少, 且目前国内对于肝硬化患者水分分布异常的描述较少。

■ 相关报道

Figueiredo和他的同事们研究表明阐明了肝硬化患者在早期即出现了营养不良, 导致身体成分构成异常。

■创新盘点

本文从营养的角度研究肝硬化患者水分分布异常机制, 相关方面研究尚未见报道。

表 1 各组基本资料比较 (*n*, mean ± SD)

性别	分组	<i>n</i>	年龄(岁)	身高(cm)	体质量(kg)	BMI(kg/m ²)
男	A组	14	56.1 ± 12.8	168.4 ± 6.99	68.8 ± 10.91	24.1 ± 2.64
	B组	21	57.2 ± 11.3	169.8 ± 5.52	72.4 ± 13.81	25.1 ± 4.02
	C组	16	53.9 ± 8.23	170.3 ± 6.19	70.1 ± 9.90	24.1 ± 2.80
	N组	11	55.9 ± 11.7	170.0 ± 4.73	76.5 ± 4.57	26.5 ± 1.84
女	A组	14	61.0 ± 9.46	157.4 ± 6.13	59.6 ± 9.93	23.9 ± 2.99
	B组	17	66.1 ± 0.84	158.7 ± 7.36	64.2 ± 11.4	25.4 ± 3.24
	C组	14	57.9 ± 10.0	157.8 ± 5.91	59.5 ± 11.3	23.7 ± 4.89
	N组	13	57.7 ± 9.67	158.1 ± 6.01	62.6 ± 5.64	24.6 ± 2.39

A: Child-A组; B: Child-B组; C: Child-C组; N: 对照组. BMI: 体质量指数.

表 2 各组ICW、ECW、TBW、ICW%、ECW%、ICW/ECW比较 (*n*, mean ± SD)

分组	<i>n</i>	ICW(L)	ECW(L)	TBW(L)	ICW(%)	ECW(%)	ICW/ECW
A组	28	20.461 ± 4.26	13.011 ± 2.517 ^{ac}	33.471 ± 6.738	61.07 ± 1.10 ^{ac}	38.93 ± 1.10 ^{ac}	1.571 ± 0.072 ^{ac}
B组	46	21.857 ± 4.32	14.463 ± 2.720	36.320 ± 7.003	60.13 ± 1.00 ^{ce}	39.87 ± 1.00 ^{ce}	1.510 ± 0.063 ^{ce}
C组	30	21.353 ± 4.06	14.587 ± 2.976	35.940 ± 6.975	59.48 ± 1.32 ^e	40.52 ± 1.32 ^e	1.470 ± 0.789 ^e
N组	24	21.304 ± 3.74	13.300 ± 2.073	34.604 ± 5.790	61.48 ± 0.95	38.52 ± 0.95	1.598 ± 0.065

^a*P*<0.05 vs B组; ^c*P*<0.05 vs C组; ^e*P*<0.05 vs N组. A: Child-A组; B: Child-B组; C: Child-C组; N: 对照组. ICW: 细胞内液; ECW: 细胞外液; TBW: 身体总水; ICW/ECW: 细胞内液/细胞外液.

表 3 不同性别各组ICW、ECW、TBW比较 (*n*, mean ± SD)

性别	分组	<i>n</i>	ICW(L)	ECW(L)	TBW(L)	ICW(%)	ECW(%)	ICW/ECW
男	A组	14	23.35 ± 3.33	14.78 ± 1.76	38.14 ± 5.03	61.15 ± 1.08 ^{ace}	38.84 ± 1.07 ^{ace}	1.57 ± 0.074 ^{ace}
	B组	21	23.72 ± 3.55	15.61 ± 2.21	39.33 ± 5.70	60.25 ± 1.03 ^{ce}	39.74 ± 1.03 ^{ce}	1.47 ± 0.057 ^{ce}
	C组	16	24.00 ± 2.87	16.33 ± 2.15	40.33 ± 4.93	59.54 ± 1.22 ^e	40.45 ± 1.22 ^e	1.49 ± 0.086 ^e
	N组	11	26.67 ± 2.02	15.12 ± 1.27	39.78 ± 3.22	62.03 ± 0.85	37.95 ± 0.857	1.57 ± 0.057
女	A组	14	17.57 ± 2.94 ^b	11.23 ± 1.81 ^b	28.81 ± 4.70 ^b	60.98 ± 1.15 ^{ac}	39.01 ± 1.15 ^{ac}	1.57 ± 0.072 ^{ac}
	B组	17	18.67 ± 3.65 ^b	12.49 ± 2.40 ^b	31.17 ± 6.03 ^b	59.90 ± 0.93 ^e	40.10 ± 0.93 ^e	1.51 ± 0.066 ^e
	C组	14	18.32 ± 2.97 ^b	12.59 ± 2.52 ^b	30.92 ± 5.44 ^b	59.40 ± 1.46 ^e	40.59 ± 1.46 ^e	1.47 ± 0.074 ^e
	N组	13	18.46 ± 2.09 ^b	11.76 ± 1.14 ^b	30.22 ± 3.19 ^b	60.08 ± 1.30 ^b	38.99 ± 0.21 ^b	1.63 ± 0.056 ^b

^a*P*<0.05 vs 同性别B组; ^c*P*<0.05 vs 同性别C组; ^e*P*<0.05 vs 同性别N组; ^b*P*<0.01 vs M组. A: Child-A组; B: Child-B组; C: Child-C组; N: 对照组. ICW: 细胞内液; ECW: 细胞外液; TBW: 身体总水; ICW/ECW: 细胞内液/细胞外液.

TBW差异无统计学意义(表3).

2.3 不同组ICW%、ECW%、ICW/ECW B组、C组ICW%、ICW/ECW低于A组、N组, 差异有统计学意义(*P*<0.05), ECW%高于A组、N组, 差异有统计学意义(*P*<0.05, 表2).

2.4 不同性别ICW、ECW、TBW、ICW%、ECW%、ICW/ECW 各组男性ICW、ECW、TBW均高于女性, 差异有统计学意义(*P*<0.01, 表3), 正常对照组男性ICW%、ECW%、ICW/ECW均高于女性, 差异有统计学意义(*P*<0.01,

表3), 肝硬化各组男、女ICW%、ECW%、ICW/ECW差异无统计学差异.

分性别分析, 男性A、B、C各组ICW%、ICW/ECW均低于N组, 逐级递减, 差异有统计学意义(*P*<0.05); A、B、C各组ECW%均高于N组, 逐级递增, 差异有统计学意义(*P*<0.05); 女性B组、C组ICW%、ICW/ECW低于A组、N组, 差异有统计学意义(*P*<0.05); B组、C组ECW%高于A组和N组, 差异有统计学意义(*P*<0.05)(表3).

■应用要点

通过检测肝硬化患者的水分分布情况, 可以判断患者的营养状况, 为患者的营养治疗提供依据, 为延缓肝硬化病程进展提供新思路、方法, 对指导临床有一定的意义.

3 讨论

通常男性较女性体形大, 故细胞外液较女性多; 男性体细胞数多于女性, 且肌肉含量较女性多, 肌肉含水量(76%)远大于脂肪的(15%)^[7], 故细胞内液含量较女性多. 本研究中男性细胞内液、细胞外液、身体总水、细胞内、外液占身体总水比例及细胞内液/细胞外液均高于女性, 符合男性、女性水分分布特点. 肝硬化患者各组男性细胞内液、外液、总水均高于女性, 与男性较女性体形大有关, 而细胞内、外液占身体总水比例及细胞内液/细胞外液无性别差异, 因为肝硬化患者水分分布异常, 掩盖了性别对水分分布的影响.

本研究发现, 细胞内液占身体总水的比例随着肝功能恶化逐步下降. 可能的原因一方面是肝硬化患者食欲减退, 摄入的能量和蛋白质长期低于需要量, 致使机体缺乏能量及合成蛋白的原料, 使骨骼肌蛋白分解增加, 以释放出氨基酸作为糖异生及合成蛋白的原料^[8]; 有研究表明^[9]当身体总蛋白质丢失15%时, 其细胞内液将减少15%-20%; 另一方面, 肝硬化患者因疾病消耗、摄入不足等原因, 多数处于营养不良状态, 会导致细胞内蛋白质被分解消耗, 细胞内渗透压降低, 细胞内液外移^[10]; 营养不良还会导致体细胞群减少, 进而导致身体整体的细胞内液减少^[11].

肝硬化患者细胞外液占身体总水比例高于对照组, 且肝功能越差, 细胞外液占身体总水比例越多, 呈逐级递增趋势. 我们发现虽然肝硬化患者早期没有出现腹水、胸水或水肿等临床症状, 但细胞外液占身体总水比例已经升高. 本结论与国外报道一致^[12,13]. 肝硬化患者因肝脏合成能力下降、摄入不足等原因造成蛋白质合成减少, 血浆、细胞内蛋白水平下降, 胶体渗透压降低, 水分由管腔内、细胞内游移到组织间隙并且滞留, 导致细胞外液增多^[14,15]. 由此可见, 肝硬化患者水滞留、营养不良与肝功能三者之间具有相互关系.

细胞内液/细胞外液反映身体水分在细胞内、外分布情况, 细胞内液/细胞外液增加可能是因为细胞内液增加或细胞外液减少, 或者二者同时存在; 细胞内液/细胞外液下降可能是细胞内液减少或细胞外液增多, 或二者并存. 本研究中肝硬化患者细胞内液/细胞外液较对照组减少, 可能是因骨骼肌消耗、瘦体组织减少、细

胞内缺水、过量的水分聚在组织间隙多种原因共同造成的. 细胞内液/细胞外液可以同时反映肝脏功能及营养状况.

总之, 肝硬化患者在疾病初期即发生水分分布异常, 这可能与营养不良有一定关系. 对肝硬化患者进行细胞内外液检测有助于了解患者瘦体组织群、骨骼肌含量及身体储备, 为营养评估、营养诊断、营养治疗提供依据.

4 参考文献

- 1 谢渭芬. 肝硬化腹水的诊断及鉴别诊断. 中华肝脏病杂志 2003; 3: 181-182
- 2 孙芳, 周怡伦, 刘靖, 马丽洁, 韩彬, 沈洋, 崔太根. 多频生物电阻抗法评价血液透析患者体液分布. 中国血液净化 2009; 8: 375-378
- 3 Plauth M, Cabré E, Campillo B, Kondrup J, Marchesini G, Schütz T, Shenkin A, Wendon J. ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition: hepatology. *Clin Nutr* 2009; 28: 436-444 [PMID: 19520466 DOI: 10.1016/j.clnu.2009.04.019]
- 4 Barac-Nieto M, Spurr GB, Lotero H, Maksud MG. Body composition in chronic undernutrition. *Am J Clin Nutr* 1978; 31: 23-40 [PMID: 413427]
- 5 张德平, 刘静民, 郑秀媛. 人体水分测量技术综述. 中国医学物理学杂志 2012; 29: 3184-3187
- 6 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华传染病杂志 2001; 19: 56-62
- 7 于润江, 朱蕾, 王燕英. 体液代谢的平衡与紊乱. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 1-27
- 8 Kotoh K, Nakamuta M, Fukushima M, Matsuzaki C, Enjoji M, Sakai H, Nawata H. High relative fat-free mass is important for maintaining serum albumin levels in patients with compensated liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1356-1360 [PMID: 15761975]
- 9 Finn PJ, Plank LD, Clark MA, Connolly AB, Hill GL. Progressive cellular dehydration and proteolysis in critically ill patients. *Lancet* 1996; 347: 654-656 [PMID: 8596380 DOI: 10.1016/S0140-6736(96)91204-0]
- 10 叶燕明, 黄艳庆. 30例肝硬化腹水合并低钠血症的治疗体会. 医学理论与实践 2008; 21: 1046-1047
- 11 Kawaguchi T, Taniguchi E, Itou M, Ibi R, Okada T, Mutou M, Shiraishi S, Uchida Y, Otsuka M, Umeki Y, Oriishi T, Hayabuchi H, Tanaka S, Takakura M, Sata M. Body cell mass is a useful parameter for assessing malnutrition and severity of disease in non-ascitic cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma or esophageal varices. *Int J Mol Med* 2008; 22: 589-594 [PMID: 18949378]
- 12 Figueiredo FA, De Mello Perez R, Kondo M. Effect of liver cirrhosis on body composition: evidence of significant depletion even in mild disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 209-216 [PMID: 15683423 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2004.03544.x]
- 13 Figueiredo FA, Perez RM, Freitas MM, Kondo M. Comparison of three methods of nutritional assessment in liver cirrhosis: subjective global assessment, traditional nutritional parameters, and body composition analysis. *J Gastroenterol*

■名词解释

人体成分可分为脂肪组织和瘦体组织, 而瘦体组织主要由肌肉、水分、骨骼组织等构成.

■同行评价

本文探讨肝硬化患者在细胞内外液分布上的变化以及与肝功能恶化程度的关系,方案设计较合理,实验结果具有一定的科学意义。

2006; 41: 476-482 [PMID: 16799890 DOI: 10.1007/s00535-006-1794-1]
14 邵茉莉, 刘冰熔. 肝硬化腹水形成机制的研究现状. 世

界华人消化杂志 2013; 21: 160-165
15 刘江华. 肝硬化腹水形成原因及治疗的临床体会. 医学信息 2011; 24: 145-146

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

细胞外HSP70/HSP70-PCs通过HIF-1 α 影响肝癌细胞HepG2 Glut1与VEGF的表达

李航宇, 杨福全, 李岩, 刘丹, 刘金钢

李航宇, 杨福全, 李岩, 刘丹, 刘金钢, 中国医科大学附属盛京医院普通外科 辽宁省沈阳市 110004
李航宇, 副教授, 主要从事以肝胆胰为主的消化系统肿瘤及腹壁疝外科的临床和实验室研究。
国家自然科学基金面上资助项目, No. 81071955
辽宁省教育厅科技项目计划基金资助项目, No. L2010634
作者贡献分布: 此课题由李航宇与刘金钢设计; 研究过程由李岩完成; 数据分析由杨福全完成; 论文书写由刘丹完成。
通讯作者: 刘金钢, 教授, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院普通外科. liujg@sj-hospital.org
电话: 024-96615-31611
收稿日期: 2013-08-13 修回日期: 2013-09-17
接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-12-28

Extracellular HSP70 peptide complexes alter expression of Glut1 and VEGF in HepG 2 cells via HIF-1 α

Hang-Yu Li, Fu-Quan Yang, Yan Li, Dan Liu, Jin-Gang Liu

Hang-Yu Li, Fu-Quan Yang, Yan Li, Dan Liu, Jin-Gang Liu, Department of Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81071955; and the Scientific Research Foundation of Educational Department of Liaoning Province, No. L2010634
Correspondence to: Jin-Gang Liu, Professor, Department of Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. liujg@sj-hospital.org
Received: 2013-08-13 Revised: 2013-09-17
Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of extracellular heat shock protein 70 (HSP70)-peptide complexes (HSP70-PCs) on the expression of glucose transporter 1 (Glut1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in HepG2 cells and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: HepG2 cells were randomly divided into three groups: a control group, an extracellular HSP70 PC (final concentration, 2 μ g/mL) group and an extracellular HSP70/HSP70-PCs + HIF-1 α siRNA group. The expression of HIF-1 α , Glut1 and VEGF was examined by real-time RT-

PCR and Western blot.

RESULTS: Compared with the control group, the expression of HIF-1 α , Glut1 and VEGF was significantly increased in the extracellular HSP70-PC group (all $P < 0.05$), suggesting that extracellular HSP70 PCs promote the expression of HIF-1 α , Glut1 and VEGF in HepG2 cells. SiRNA-mediated blockage of HIF-1 α significantly inhibited the up-regulation of Glut1 and VEGF expression in HepG2 cells (both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Extracellular HSP70-PCs promote the expression of Glut1 and VEGF via HIF-1 α in HepG 2 cells.

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

Key Words: Extracellular HSP70/HSP70-PCs; Hepatocellular carcinoma; Hypoxia-inducible factor-1 α ; Glut1; Vascular endothelial growth factor

Li HY, Yang FQ, Li Y, Liu D, Liu JG. Extracellular HSP70 peptide complexes alter expression of Glut1 and VEGF in HepG 2 cells via HIF-1 α . *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4175-4179 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4175.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4175>

摘要

目的: 探讨细胞外的热休克蛋白70及HSP70肽复合物(heat shock protein 70/peptide complexes, HSP70/HSP70-PCs)对肝癌细胞HepG2缺氧诱导因子1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)、葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter 1, Glut1)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达的影响及可能机制。

方法: 将肝癌细胞分为3组: 正常对照组、细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导实验组(终浓度2 μ g/mL)、细胞外HSP70/HSP70-PCs+siRNA转染组。应用Real-time RT-PCR与Western blot法检测HIF-1 α 、Glut1和VEGF的表达变化。

■背景资料

肝癌是最常见的恶性肿瘤之一, 占全世界癌症死亡原因的第三位, 我国是世界上肝癌发病率最高的国家。热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)在细胞中广泛表达, 他可以参与肿瘤细胞内的多种信号转导通路的调节。HSP70不仅在细胞内发挥重要作用, 还能被多种肿瘤细胞释放到细胞外, 释放到肿瘤微环境中的HSP70及HSP70肽复合物不仅能够调控肿瘤的免疫反应, 还参与调控肿瘤的多种生物学行为, 因此研究细胞外HSP70/HSP70PCs如何调控肝癌细胞中相关信号转导通路对于降低患者死亡率至关重要, 并为肝癌的治疗提供了新的理论和实验依据。

■同行评议者

单云峰, 副主任医师, 温州医学院第一附属医院肝胆外科

■ 研发前沿

肝细胞癌的发生发展过程非常复杂,细胞外HSP70/HSP70PCs对肝癌的影响机制日益引起人们的关注,对于细胞外HSP70/HSP70PCs如何调控肝癌的发展是目前研究的热点问题。

结果: 细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导实验组HIF-1 α 、VEGF与Glut1蛋白表达显著升高,与对照组相比有显著差异($P<0.05$),表明细胞外HSP70/HSP70-PCs促进肝癌细胞的HIF-1 α 、Glut1和VEGF表达;应用siRNA阻断HIF-1 α 后,细胞外HSP70/HSP70-PCs对Glut1和VEGF的上调表达作用消失,与对照组相比有显著差异($P<0.05$)。

结论: 细胞外HSP70/HSP70-PCs可以上调肝癌细胞HepG2中Glut1和VEGF表达,并且这一作用是通过HIF-1 α 来实现的。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 细胞外HSP70/HSP70-PCs; 肝癌细胞; 缺氧诱导因子1 α ; 葡萄糖转运蛋白1; 血管内皮生长因子

核心提示: 本研究证实细胞外热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)/HSP70肽复合物(HSP70-peptide complexes, HSP70-PCs)能够通过缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α)促进Glut1与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)的表达,这对肝癌的侵袭和转移机制的研究及治疗具有一定的价值。如果能够抑制HSP70/HSP70-PCs释放到肝癌微环境中,就有可能阻碍肝癌细胞的能量代谢过程,阻止癌细胞的侵袭和转移,这为临床上肝癌的治疗提供了新的思路。

李航宇, 杨福全, 李岩, 刘丹, 刘金钢. 细胞外HSP70/HSP70-PCs通过HIF-1 α 影响肝癌细胞HepG2 Glut1与VEGF的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4175-4179 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4175.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4175>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的恶性肿瘤之一,占全世界癌症死亡原因的第3位^[1]。我国是世界上肝癌发病率最高的国家,肝癌占癌症死亡原因的第2位,死亡率约26.26/10万人^[2]。热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70),在细胞中广泛表达。他在肿瘤中可以作为肽的运载工具,发挥“分子伴侣”的作用,也可以参与肿瘤细胞内的信号调节^[3]。HSP70不仅在细胞内发挥重要作用,还能被多种肿瘤细胞释放到细胞外^[4]。研究发现,释放到肿瘤微环境中的HSP70及HSP70肽复合物(HSP70-peptide complexes, HSP70-PCs)不仅能够调控肿瘤的免疫反应,还参与调控肿瘤的

多种生物学行为^[5]。缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)在肿瘤中普遍表达,介导肿瘤细胞适应缺氧微环境,参与调控肿瘤的多种生物学行为,包括增殖、凋亡、侵袭等^[6]。Wu等^[7]的研究表明,在喉癌中HIF-1 α 与葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter 1, Glut1)的表达明显相关。Skinner等^[8]研究并阐述了HIF-1 α 能够调节VEGF的转录活性。Glut1是人类葡萄糖跨膜转运最主要的载体,与细胞葡萄糖转运和能量代谢关系密切,恶性肿瘤细胞对葡萄糖的摄取及代谢均处于增高状态,研究表明Glut1及其基因的异常高表达与肿瘤细胞的高能量代谢状态密切相关^[9]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)通过参与肿瘤新生血管的形成也能调控肿瘤的能量代谢^[10]。我们的前期研究发现,肿瘤微环境中的HSP70/HSP70PCs能够上调HIF-1 α 的表达。那么,微环境中的HSP70/HSP70-PCs是否通过调控HIF-1 α 的表达影响Glut1与VEGF进而对肿瘤的能量代谢产生影响值得研究。

本实验拟观察在肝癌细胞HepG2中,细胞外HSP70/HSP70PCs对HIF-1 α 调控Glut1与VEGF表达的影响及其可能机制,为进一步治疗肝癌提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞株HepG2购自中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所;小鼠抗人HIF-1 α 单克隆抗体购博士的生物技术有限公司;VEGF购自Santa Cruze公司;鼠抗人多克隆GAPDH抗体购自Sigma公司;HRP标记的羊抗鼠、羊抗兔二抗购自武汉博士德公司;逆转录试剂盒与PCR试剂盒购自Promega公司;TRIzol Reagent购自美国Invitrogen公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 细胞分成3组: 正常对照组、细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导实验组(终浓度10 μ g/mL)、细胞外HSP70/HSP70-PCs+siRNA转染组。细胞以含100 mL/L胎牛血清的高糖DMEM培养基,于37 $^{\circ}$ C、50 mL/L CO₂培养箱中培养,胰酶消化、传代,取对数生长期细胞实验。

1.2.2 细胞外HSP70/HSP70-PCs的构建: GST-HSP70融合蛋白购自Sigma公司,采用Blachere等^[11]的方法进行抗原肽和GST-HSP70体外结合。反应体系含1 mmol/L ADP、1 mmol/L MgCl₂、75 μ g/mL 抗原肽、250 μ g/mL GST-HSP70, 37 $^{\circ}$ C水浴2 h。

■ 相关报道

HSP70在细胞中广泛表达,他可以参与多种肿瘤细胞内的信号调节。HSP70不仅在细胞内发挥重要作用,还能被多种肿瘤细胞释放到细胞外。研究发现,释放到肿瘤微环境中的HSP70及HSP70肽复合物不仅能够调控肿瘤的免疫反应,还参与调控肿瘤的多种生物学行为。

表 1 Real-time RT-PCR引物序列

引物名称	引物序列
HIF-1 α	F: 5'-CTTCTGGATGCTGGTG-3'
	R: 5'-TCGGCTAGTTAGGGTAC-3'
Glut1	F: 5'-GGTTGTGCCATACTCATGACC-3'
	R: 5'-CAGATAGGACATCCAGGGTAGC
VEGF	F: 5'-AGGAGGAGGGCAGAATC-3'
	R: 5'-ATGTGCTGGCCTTGGT-3'
GAPDH	F: 5'-GGATTTGGTCGTATTGGG-3'
	R: 5'-TCGCTCCTGGAAGATGG-3'

HIF-1 α : 缺氧诱导因子1 α ; Glut1: 葡萄糖转运蛋白1; VEGF: 血管内皮生长因子; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶.

1.2.3 Western blot检测HIF-1 α 、VEGF与Glut1蛋白的表达: 提取细胞总蛋白, BCA法测定各组蛋白浓度. 根据浓度上样行电泳后, 转膜至PVDF膜上, 5%脱脂奶粉的TBST封闭1 h, 加一抗(HIF-1 α 1:500、VEGF 1:500、Glut1 1:500、GAPDH 1:5000), 4 $^{\circ}$ C杂交过夜, TBST漂洗, 加二抗(1:5000)室温孵育2 h, TBST漂洗, 化学发光试剂检测蛋白条带, 测定各条带积分吸光度(A)值, 定量分析.

1.2.4 Real-time RT-PCR检测HIF-1 α 、VEGF与Glut1 mRNA的表达: 细胞外HSP70/HSP70-PCs刺激24 h后, 分别收集各组细胞, 采用TRIzol试剂提取细胞总RNA, 紫外分光光度计测定 $A_{260/280}$ 为1.75-1.95. 取2 μ g RNA, 应用逆转录试剂盒按20 μ L逆转录体系合成cDNA. PCR引物由应用软件Primer5.0设计(表1), 由北京鼎国合成. 荧光定量PCR反应体系为25 μ L, 内含500 ng cDNA模板, 终浓度为250 nmol/L的上下游引物及SYBR Green Real-time PCR Master Mix 12.5 μ L. 反应条件为95 $^{\circ}$ C 60 s, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 退火15 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s, 荧光收集, 40个循环. 每个样本重复3次. 以相对CT值(即 $2^{-\Delta\Delta Ct}$)表示目的基因的相对表达量, 以空白细胞为对照.

1.2.5 针对HIF-1 α 特异性siRNA转染: 接种适量细胞至六孔板, 确保第2天细胞约30%铺满, 采用Lipofectamine 2000转染, 6 h后更换新鲜培养基, 48 h检测蛋白水平的变化. siRNA靶向HIF-1 α 的序列是siRNA上链序列是5'-GT-GAAAGGATTCATATCTA-3', 下链序列是3'-GACACAGCCTCGATATGAA-5'.

统计学处理 所有实验均重复3次以上, 用SPSS13.0软件进行统计分析, 定量结果采用

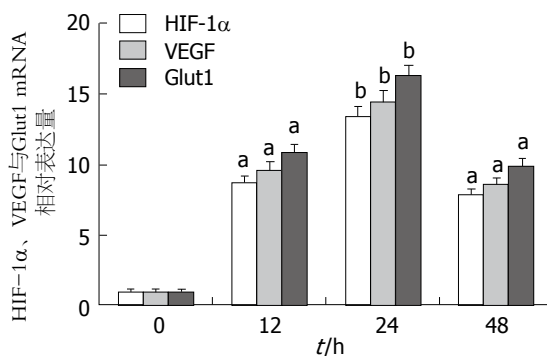


图 1 细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导细胞不同时间, Real-time RT-PCR检测HIF-1 α 、VEGF与Glut1 mRNA表达的变化. $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ vs 对照组. HIF-1 α : 缺氧诱导因子1 α ; Glut1: 葡萄糖转运蛋白1; VEGF: 血管内皮生长因子.

mean \pm SD表示, 多组均数间比较采用单因素方差分析, 两两组间比较采用组间 t 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 细胞外HSP70/HSP70-PCs促进肝癌细胞系HepG2细胞HIF-1 α 、VEGF与Glut1表达 Real-time RT-PCR检测各组细胞HIF-1 α 、VEGF与Glut1 mRNA的表达(图1), 结果显示: 细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导实验组HIF-1 α 、VEGF与Glut1 mRNA表达显著升高, 与对照组相比有显著差异($P<0.05$). 通过Western blot检测各组细胞HIF-1 α 、VEGF与Glut1蛋白的表达(图2), 结果与Real-time RT-PCR结果一致, 细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导实验组HIF-1 α 、VEGF与Glut1蛋白表达显著升高, 与对照组相比有显著差异($P<0.05$).

2.2 细胞外HSP70/HSP70-PCs通过HIF-1 α 调控肝癌细胞HepG2中VEGF与Glut1蛋白表达 我们通过siRNA阻断HIF-1 α 的表达验证细胞外HSP70/HSP70-PCs通过HIF-1 α 调控肝癌细胞HepG2中VEGF与Glut1蛋白表达. 如图3A所示: 特异性siRNA能够有效阻断HIF-1 α mRNA与蛋白的表达. 图3B, C显示, 经过siRNA预处理肝癌细胞HepG2细胞24 h后, 在细胞外HSP70/HSP70-PCs的作用下, VEGF与Glut1蛋白表达显著降低, 与对照组相比有明显差异($P<0.05$).

3 讨论

HSP70是在生物体内普遍存在的蛋白质家族, 根据分布位置不同分为细胞内HSP70与细胞外HSP70. 人们对细胞内HSP70的作用了解比较清楚, 生理状态下作为分子伴侣参与蛋白的折

■创新亮点

本实验应用HSP70/HSP70PCs对肝癌细胞HepG2进行体外干预, 探讨细胞外HSP70/HSP70PCs对HIF-1 α 调控Glut1与VEGF表达的影响及其可能机制, 旨在为将来组织水平研究肝癌的发生发展提供理论基础, 并为肝癌的治疗打开一个新的思路. 截至目前, 细胞外HSP70/HSP70PCs在肝癌中的研究鲜见报道.

■应用要点

本研究结果表明细胞外HSP70/HSP70PCs可以上调肝癌细胞HepG2中Glut1和VEGF表达, 并且这一作用是通过HIF-1 α 来实现的. 这为肝癌的治疗提供理论基础.

■名词解释

热休克蛋白70: 在细胞中广泛表达. 他在肿瘤中可以作为肽的运载工具, 发挥“分子伴侣”的作用, 也可以参与肿瘤细胞内的信号调节; 缺氧诱导因子-1 α : 在肿瘤中普遍表达, 介导肿瘤细胞适应缺氧微环境, 参与调控肿瘤的多种生物学行为, 包括增殖、凋亡、侵袭等; GLUT-1: 人类葡萄糖跨膜转运最主要的载体, 与细胞葡萄糖转运和能量代谢关系密切, GLUT-1及其基因的异常高表达与肿瘤细胞的高能量代谢状态密切相关.

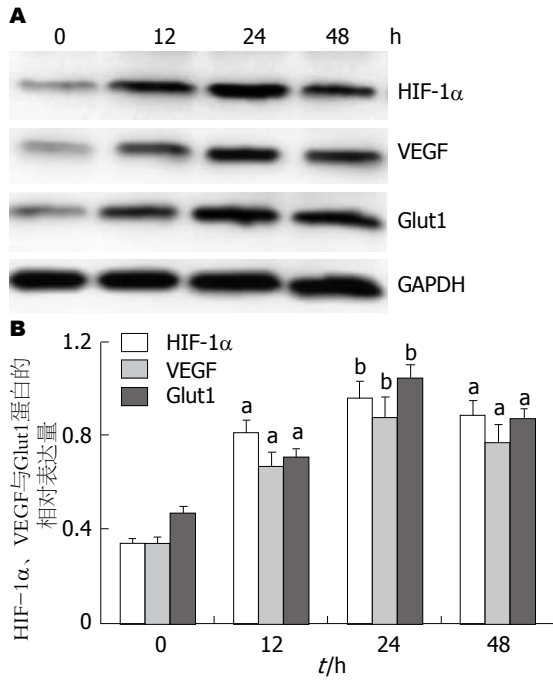


图2 细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导细胞不同时间, Western blot检测HIF-1 α 、VEGF与Glut1蛋白表达的变化. * $P < 0.05$ vs 0 h. HIF-1 α : 缺氧诱导因子1 α ; Glut1: 葡萄糖转运蛋白1; VEGF: 血管内皮生长因子; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶.

叠、构象、修复以及跨膜转运; 应激时呈高表达, 起到应激保护作用. Mambula等^[12]研究发现HSP70不仅存在于细胞内, 还能释放到肿瘤微环境中. Sims等^[13]研究表明, 细胞外存在的HSP70参与肿瘤的侵袭转移.

肿瘤细胞新陈代谢速度快, 繁殖能力强等特点决定了肿瘤对于氧气、葡萄糖等能量物质的需求要远高于正常细胞. 同时, 肿瘤细胞体积的不断增加, 致使肿瘤细胞远离了营养丰富的血管, 进一步导致了肿瘤微环境的缺氧情况. 在缺氧条件下, HIF-1相关的基因被诱导^[14]. HIF-1由 α 和 β 亚基组成, 其中HIF-1 α 是受氧分子调节的主要功能亚基. 有研究发现, HIF-1是下游基因Glut1的重要调控因子, 对糖代谢有明显影响^[15]. 活化的HIF-1与Glut1 5'端的增强子DNA的结合位点结合, 诱导Glut1过度表达^[16]. HIF-1 α 也能够上调VEGF的转录活性, 促进VEGF的表达, 调节新生血管的生成, 为肿瘤的代谢提供营养^[17]. 通过Real-time RT-PCR与Western blot检测发现, 细胞外HSP70/HSP70-PCs能够上调HIF-1 α mRNA与蛋白的表达, 同时伴随Glut1与VEGF mRNA与蛋白的表达上调. 通过siRNA技术阻断HIF-1 α 的表达发现, 阻断HIF-1 α 的表达能够有效抑制细胞外HSP70/HSP70-PCs对Glut1与VEGF的上调作用. 该结果提示, 细胞外HSP70/HSP70-PCs

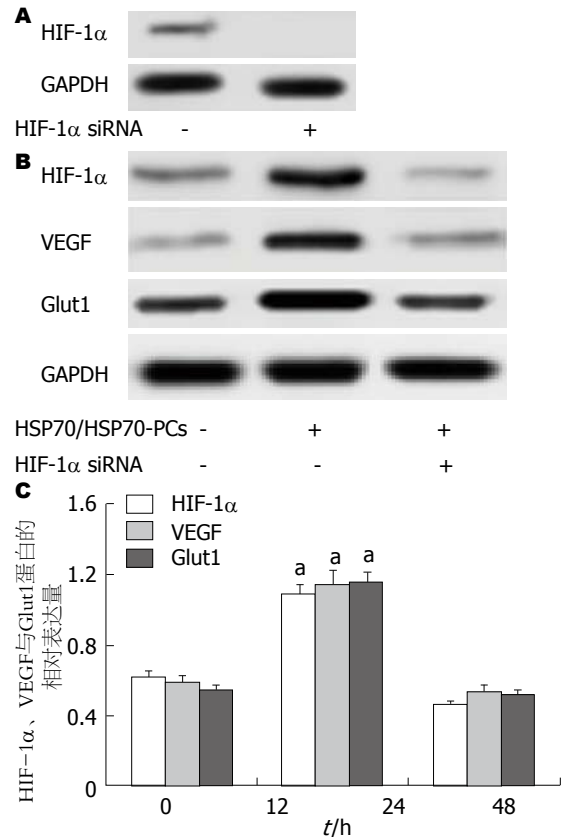


图3 HIF-1 α siRNA后细胞外HSP70/HSP70-PCs对VEGF与Glut1蛋白表达的影响. A: 应用siRNA阻断HIF-1 α 的表达; B, C: Western blot检测阻断HIF-1 α 后VEGF与Glut1蛋白表达的变化. * $P < 0.05$ vs 对照组. HIF-1 α : 缺氧诱导因子1 α ; Glut1: 葡萄糖转运蛋白1; VEGF: 血管内皮生长因子; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; HSP70/HSP70-PCs: 热休克蛋白70及HSP70肽复合物.

是通过HIF-1 α 调控Glut1与VEGF的表达.

总之, 细胞外HSP70/HSP70-PCs能够促进Glut1与VEGF的表达, 这种作用是通过HIF-1 α 途径来实现的. 本研究结果为肝癌的治疗提供了新的理论和实验依据.

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]
- Chen JG, Zhang SW. Liver cancer epidemic in China: past, present and future. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 59-69 [PMID: 21144900 DOI: 10.1016/j.semcancer]
- Duffy DJ, Millane RC, Frank U. A heat shock protein and Wnt signaling crosstalk during axial patterning and stem cell proliferation. *Dev Biol* 2012; 362: 271-281 [PMID: 22155526 DOI: 10.1016/j.ydbio]
- Schmitt E, Gehrman M, Brunet M, Multhoff G, Garrido C. Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy. *J Leukoc Biol* 2007; 81: 15-27 [PMID: 16931602 DOI: 10.1189/jlb.0306167]
- Wu FH, Yuan Y, Li D, Liao SJ, Yan B, Wei JJ, Zhou YH, Zhu JH, Zhang GM, Feng ZH. Extracellular

- HSPA1A promotes the growth of hepatocarcinoma by augmenting tumor cell proliferation and apoptosis-resistance. *Cancer Lett* 2012; 317: 157-164 [PMID: 22115967 DOI: 10.1016/j.canlet]
- 6 李姗姗, 姚登福, 董志珍. 肝缺氧诱导因子-1 α 与肝癌发生、发展及治疗研究新进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 361-367
 - 7 Wu XH, Chen SP, Mao JY, Ji XX, Yao HT, Zhou SH. Expression and significance of hypoxia-inducible factor-1 α and glucose transporter-1 in laryngeal carcinoma. *Oncol Lett* 2013; 5: 261-266 [PMID: 23255932 DOI: 10.3892/ol.2012.941]
 - 8 Skinner HD, Zheng JZ, Fang J, Agani F, Jiang BH. Vascular endothelial growth factor transcriptional activation is mediated by hypoxia-inducible factor 1 α , HDM2, and p70S6K1 in response to phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling. *J Biol Chem* 2004; 279: 45643-45651 [PMID: 15337760]
 - 9 Kunkel M, Reichert TE, Benz P, Lehr HA, Jeong JH, Wieand S, Bartenstein P, Wagner W, Whiteside TL. Overexpression of Glut-1 and increased glucose metabolism in tumors are associated with a poor prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma. *Cancer* 2003; 97: 1015-1024 [PMID: 12569601 DOI: 10.1002/cncr.11159]
 - 10 Finley SD, Popel AS. Effect of tumor microenvironment on tumor VEGF during anti-VEGF treatment: systems biology predictions. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105: 802-811 [PMID: 23670728 DOI: 10.1093/jnci/djt093]
 - 11 Blachere NE, Li Z, Chandawarkar RY, Suto R, Jai-karia NS, Basu S, Udono H, Srivastava PK. Heat shock protein-peptide complexes, reconstituted in vitro, elicit peptide-specific cytotoxic T lymphocyte response and tumor immunity. *J Exp Med* 1997; 186: 1315-1322 [PMID: 9334371]
 - 12 Mambula SS, Calderwood SK. Heat shock protein 70 is secreted from tumor cells by a nonclassical pathway involving lysosomal endosomes. *J Immunol* 2006; 177: 7849-7857 [PMID: 17114456]
 - 13 Sims JD, McCreedy J, Jay DG. Extracellular heat shock protein (Hsp)70 and Hsp90 α assist in matrix metalloproteinase-2 activation and breast cancer cell migration and invasion. *PLoS One* 2011; 6: e18848 [PMID: 21533148 DOI: 10.1371/journal.pone.0018848]
 - 14 Rankin EB, Wu C, Khatri R, Wilson TL, Andersen R, Araldi E, Rankin AL, Yuan J, Kuo CJ, Schipani E, Giaccia AJ. The HIF signaling pathway in osteoblasts directly modulates erythropoiesis through the production of EPO. *Cell* 2012; 149: 63-74 [PMID: 22464323 DOI: 10.1016/j.cell.2012.01.051]
 - 15 Marx J. Cell biology. How cells endure low oxygen. *Science* 2004; 303: 1454-1456 [PMID: 15001751 DOI: 10.1126/science.303.5663.1454]
 - 16 Hayashi M, Sakata M, Takeda T, Yamamoto T, Okamoto Y, Sawada K, Kimura A, Minekawa R, Tahara M, Tasaka K, Murata Y. Induction of glucose transporter 1 expression through hypoxia-inducible factor 1 α under hypoxic conditions in trophoblast-derived cells. *J Endocrinol* 2004; 183: 145-154 [PMID: 15525582 DOI: 10.1677/joe.1.05599]
 - 17 Na YR, Han KC, Park H, Yang EG. Menadione and ethacrynic acid inhibit the hypoxia-inducible factor (HIF) pathway by disrupting HIF-1 α interaction with p300. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 434: 879-884 [PMID: 23618863 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.04.044]

■同行评价

本实验应用HSP70/HSP70PCs对肝癌细胞HepG2进行体外干预, 探讨细胞外HSP70/HSP70PCs对HIF-1 α 调控Glut1与VEGF表达的影响及其可能机制. 为肝癌的治疗提供了理论基础. 论文选题新颖, 设计合理, 论据充分.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



联合介入应用于DSA阴性胃肠道出血患者的效果评价

应勇, 罗家芳, 张文红, 王小农, 何晓

■背景资料

消化系出血是临床上常见的急诊病症, 目前数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)技术已成为胃肠道出血重要的诊断及治疗手段, 其阳性率往往可以达到50%-94%。但是, 临床上仍有数量相当的患者在经DSA检查后未能发现出血病灶, 而在检查后反复出血, 特别是在出血间歇期造影的阳性率更低。

应勇, 张文红, 王小农, 何晓, 赣南医学院第一附属医院普外科 江西省赣州市 510080

罗家芳, 赣南医学院第三附属医院普外科 江西省赣州市 510080

应勇, 副主任医师, 主要从事胃肠病外科治疗的研究。

江西省卫生厅课题基金资助项目, No. 20141108

作者贡献分布: 此课题由应勇设计; 研究过程由应勇与罗家芳实施完成; 数据分析及影像支持由张文红、王小农及应勇完成; 本论文写作由应勇、张文红、王小农及罗家芳共同完成; 何晓指导及审阅文章。

通讯作者: 何晓, 主任医师, 510080, 江西省赣州市青年路23号, 江西省赣南医学院第一附属医院普外科。

hexiaogxz@163.com

收稿日期: 2013-08-07 修回日期: 2013-09-30

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-28

Effects of vasopressin infusion aided prophylactic gastroduodenal artery embolization in DSA-negative gastrointestinal bleeding patients

Yong Ying, Jia-Fang Luo, Wen-Hong Zhang, Xiao-Nong Wang, Xiao He

Yong Ying, Wen-Hong Zhang, Xiao-Nong Wang, Xiao He, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Gannan Medical College, Ganzhou 510080, Jiangxi Province, China

Jia-Fang Luo, Department of General Surgery, the Third Affiliated Hospital of Gannan Medical College, Ganzhou 510080, Jiangxi Province, China

Supported by: the Science and Technology Foundation of Health Department of Jiangxi Province. No. 20141108

Correspondence to: Xiao He, Chief Physician, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Gannan Medical College, 23 Qingnian Road, Ganzhou 510080, Jiangxi Province, China. hexiaogxz@163.com

Received: 2013-08-07 Revised: 2013-09-30

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the effects of prophylactic gastroduodenal artery embolization and/or prophylactic mesenteric artery catheter infusion of vasopressin in digital subtraction angiography (DSA)-negative gastrointestinal bleeding patients.

METHODS: One hundred subjects recruited at our hospital from May 2012 to June 2013 with

negative DSA examination results were randomly divided into three groups to receive preventive embolization and vasopressin therapy, embolization alone, and conservative treatment. Therapeutic effects and adverse events were compared between the three groups.

RESULTS: The success rate was greater in the preventive embolization and vasopressin treatment group (91.2%) than in the embolization alone group (81.8%) and the conservative treatment group (57.6%), and the difference between the combination group and conservative treatment group was statistically significant ($P < 0.05$). Adverse reactions were rare in patients of each group, and the combination group had a relatively low incidence (5.9%).

CONCLUSION: Preventive gastroduodenal artery embolization and/or prophylactic mesenteric artery catheter infusion of vasopressin have important therapeutic value in DSA negative gastrointestinal bleeding patients.

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

Key Words: Gastrointestinal bleeding; Digital subtraction angiography; Embolization; Vasopressin

Ying Y, Luo JF, Zhang WH, Wang XN, He X. Effects of vasopressin infusion aided prophylactic gastroduodenal artery embolization in DSA-negative gastrointestinal bleeding patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4180-4184 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4180.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4180>

摘要

目的: 探讨预防性胃十二指肠动脉栓塞和/或预防性肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素在数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)检查阴性胃肠道出血患者治疗中的应用价值。

方法: 将2010-05/2013-06在我院行DSA检查阴性胃肠道出血患者100例随机分为3组, 分别进

■同行评议者

陈贻胜, 教授, 福建省立医院; 姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科

行预防性介入栓塞和垂体后叶素治疗、介入栓塞治疗和内科保守治疗, 观察比较其治疗效果及不良反应发生情况。

结果: 预防性介入栓塞和垂体后叶素治疗组治疗成功率(91.2%)高于单纯介入栓塞治疗组及内科保守治疗组(57.6%), 且与内科保守治疗组相比差异有统计学意义。各组患者不良反应均较少, 仅预防性介入栓塞和垂体后叶素治疗组麻痹性肠梗阻有较低的发生倾向(本研究中发生率为5.9%)。

结论: 预防性胃十二指肠动脉栓塞和/或预防性肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素在DSA检查阴性胃肠道出血患者中有重要的治疗价值。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃肠道出血; 数字减影血管造影; 介入栓塞; 垂体后叶素

核心提示: 本研究对数字减影血管造影(digital subtraction angiography)阴性患者行预防性肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素, 临床止血率较高, 注药期间部分出现腹痛、高血压症状, 给予暂时停药后, 腹痛症状均获缓解, 同时给予硝酸甘油静滴, 以控制血压, 因此出现心动过缓、心率失常等不良反应极少。

应勇, 罗家芳, 张文红, 王小农, 何晓. 联合介入应用于DSA阴性胃肠道出血患者的效果评价. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4180-4184 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4180.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4180>

0 引言

消化系出血是临床上常见的急诊病症, 目前数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)技术已成为胃肠道出血重要的诊断及治疗手段^[1-3], 其阳性率往往可以达到50%-94%^[4]。但是, 临床上仍有数量相当的患者在经DSA检查后未能发现出血病灶, 而在检查后反复出血。特别是在出血间歇期造影的阳性率更低^[5]。

经DSA检查呈阴性的胃肠道出血患者, 仍有进行介入栓塞治疗以及垂体后叶素治疗的必要性, 有文献指出^[6], 胃肠道出血的生存率与介入治疗时间的早晚密切相关, 拖延时间过久可能会直接影响止血效果。并且, 过长时间且无效的内科保守治疗可能会增加介入栓塞治疗的危险性。

因此, 本文将对预防性胃十二指肠动脉栓塞和/或预防性肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素

在DSA检查阴性胃肠道出血患者治疗中的应用价值进行探讨。

1 材料和方法

1.1 材料 2010-05/2013-06在我院行DSA检查阴性胃肠道出血患者100例。研究对象需满足, 因“呕血和/或解黑便”等主诉入院, 经胃镜检查排除食道胃底曲张静脉破裂出血, 给予内科保守治疗3-5 d后, 出血症状仍无明显改善, 血色素进行性下降的愿意参加本次研究的患者。将纳入的患者随机分为3组, 最终100例患者中, 预防性栓塞联合肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素组34例, 预防性栓塞组33例, 阴性对照组(内科保守治疗)33例。

1.2 方法 对于预防性栓塞联合肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素组, 采用Seldinger技术, 选用5F RH肝管。选择性腹腔动脉造影, 必要时分别超选至肝固有动脉、胃十二指肠动脉及胃左动脉造影, 常规肠系膜上、下动脉造影。以明胶海绵颗粒及弹簧圈栓塞止血, 术后将5 F RH肝管留置于肠系膜上动脉开口处, 经微量泵泵入垂体后叶素, 速度为0.1-0.2 U/min, 持续4-8 h, 留置导管3 d。预防性栓塞组处理类似, 但不留置肝管, 不泵入垂体后叶素。阴性对照组, 采用常规内科保守方式治疗。

统计学处理 使用SPSS16.0进行数据录入和统计分析。基线比较, 使用方差分析比较实验组特征均衡性。结果分析主要分析方法为Kruskal-Wallis *H*检验, 使用*H*检验对不同治疗组间治疗效果进行比较, 若检验出差异, 则对3组进行两两比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者特征 本次研究纳入的100例患者中, 以男性居多, 占75.0%, 平均年龄51.7岁, 身体质量指数BMI平均为24.7 kg/m²。3组间差异没有统计学意义, 提示该分组均衡可比(表1)。患者均经DSA诊断胃肠道出血阴性(图1A)。治疗措施胃十二指肠动脉栓塞如图1B所示。

2.2 不同组别治疗结果比较 以完全止血、止血不彻底、复发三级指标来评价不同处理组别的治疗结果, 如表2所示, 经Kruskal-Wallis *H*检验, 3组间 $P = 0.004$, 差异具有显著的统计学意义, 其中, 预防性栓塞联合肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素组高于预防性栓塞组, 预防性栓塞组高于内科保守治疗组。校正 α 后进行两两比较,

■ 研发前沿

经DSA检查呈阴性的胃肠道出血患者, 仍有进行介入栓塞治疗以及垂体后叶素治疗的必要性, 有文献指出, 胃肠道出血的生存率与介入治疗时间的早晚密切相关, 拖延时间过久可能会直接影响止血效果。并且, 过长时间且无效的内科保守治疗可能会增加介入栓塞治疗的危险性。

■ 相关报道

有文献指出胃肠道出血的生存率与介入治疗时间的早晚有关, 拖延介入治疗的实施时间会直接影响导管止血的疗效。

表 1 不同分组基本特征比较

特征指标	预防性栓塞+血管加压素	预防性栓塞	内科保守治疗	P值
年龄(岁)	52.1 ± 8.1	53.3 ± 7.6	49.8 ± 7.4	>0.05
性别(男女比例, %)	76.5	75.8	72.7	>0.05
体质量指数(kg/m ²)	24.8 ± 0.3	24.6 ± 0.3	24.7 ± 0.3	>0.05

表 2 不同处理阴性消化系出血患者治疗结果(n)

分组 类型	n	治疗结果 ¹		
		完全止血	止血不彻底	复发
预防性栓塞+血管加压素	34	31	2	1
预防性栓塞	33	27	4	2
内科保守治疗	33	19	9	5
合计	100	77	15	8

¹进行Kruskal-Wallis H检验, 3组间P = 0.004. 以 $\alpha = 0.017$ 为界值进行组间两两比较, 预防性栓塞+血管加压素与内科保守治疗间P = 0.002 < 0.017.

表 3 阴性胃肠道出血患者治疗后不良反应发生情况 n(%)

分组 类型	n	不良反应			
		肠梗阻	肠管坏死	心动过缓	心率失常
预防性栓塞+血管加压素	34	2(5.9)	0(0.0)	1(2.9)	0(0.0)
预防性栓塞	33	0(0.0)	0(0.0)	1(3.0)	0(0.0)
内科保守治疗	33	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

预防性栓塞联合肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素组与内科保守治疗组间差异具有统计学意义。

2.3 不同组别不良反应发生情况比较 消化系栓塞止血最严重的并发症是节段性肠缺血坏死, 其次为肠梗阻. 介入栓塞合并垂体后叶素之后, 肠梗阻发生的可能性增加. 单独使用垂体后叶素的患者, 如果有心血管系统的基础疾病, 也易于发生心动过缓、心率失常等不良反应. 本研究中针对这些不良反应的发生进行剂量的调整和前瞻性控制, 使得不良反应发生率较低(表3).

3 结论

近年来由于数字减影技术的广泛开展, 用导管治疗消化系出血已经取得了广泛的应用. DSA已成为不明原因消化道出血尤其是动脉性大出血的首选诊治方案^[1-3]. 但是, DSA在不明原因消化系出血的诊治中也存在缺陷, 特别是目前检查的阳性率偏低. Rollins等^[5]曾报道36例消化系出血患者的DSA检查, 其中16例明确诊断, 阳性

率为44%. 而在出血间歇期造影则阳性率更低. DSA阴性可能和以下因素有关: (1)出血间歇期造影. 临床经验证明, 血管造影所能显示的出血速度须要在1.0-1.5 mL/min以上^[7], 而出血间歇期时胃肠道出血量小, 出血速度往往低于1.0-1.5 mL/min或出血停止, 因而选择性动脉造影检出阳性率可以降低到25%-50%^[8,9]; (2)不明原因的消化系出血DSA阴性患者往往以血管畸形、血管瘤、消化道溃疡、憩室病变居多^[10], 此类病变所导致的胃肠道出血通常在血管造影时特征性改变较少或无明显特征性改变.

介入栓塞因其良好的治疗效果, 已经成为上消化道出血的首选治疗方法^[11], 其治疗机制包括降低出血部位动脉灌注压力、诱导局部血管痉挛、局部血凝块形成等. 上消化道出血动脉包括肝动脉及其分支、胃左动脉、胃十二指肠动脉、胃网膜动脉等, 其相互之间有丰富的侧支循环, 行栓塞治疗术时通常不存在组织坏死的危险. 对上消化道出血的患者, 即使DSA检查血管造影无阳性发现, 也可根据内镜检查提示的出血部位对应区域的供血动脉进行介入栓



图1 胃肠道出血阴性患者介入栓塞影像示例. A: DSA诊断胃肠道出血阴性示例; B: 胃十二指肠动脉栓塞示例.

塞, 以减少局部血流、降低血管内压力, 从而诱导自体凝血机制发挥作用, 最终达到止血目的. 下消化道动脉较细, 末梢侧枝循环不丰富, 若未发现血管异常征象, 不提倡预防性或经验性栓塞, 以免导致肠缺血和梗塞.

经动脉灌注血管加压素是消化系出血的另外一种重要的介入治疗方法^[12]. 其机制是, 血管加压素可以大范围收缩小动脉等血管床, 减低局部血流量及血流流速, 从而达到止血目的^[13]. 这一治疗方式尤其对血管畸形、胃肠道浅表溃疡及广泛细小的出血灶有明确的治疗效果, 文献报道血管加压素灌注的方式治疗下消化系出血的有效率在80%-90%^[14]. 然而, 血管加压素在应用过程中经常会出现痉挛性腹痛、恶心、头昏或一过性高血压的症状. 本研究对DSA阴性患者行预防性肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素, 临床止血率较高, 注药期间部分出现腹痛、高血压症状, 给予暂时停药后, 腹痛症状均获缓解, 同时给予硝酸甘油静滴, 以控制血压, 因此出现心动过缓、心率失常等不良反应极少.

本研究的联合介入治疗包括经导管动脉内垂体后叶素灌注治疗和栓塞治疗. 一项研究报告^[15], 19例中3例行药物灌注暂时止血后, 再行栓塞治疗, 因为药物灌注治疗可以很好的控制较小血管出血并降低出血速度, 最终获得良好的治疗效果, 而栓塞治疗起效较快并且止血效

果较为持久^[16]. 联合介入在临床上应当尽早实施, 有文献^[17]指出胃肠道出血的生存率与介入治疗时间的早晚有关, 拖延介入治疗的实施时间会直接影响导管止血的疗效. 过长时间且效果不佳的内科保守治疗可能会增加介入栓塞的危险性.

在本研究中, 预防性栓塞联合肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素组的DSA诊断阴性患者中, 仅有2例止血不彻底, 1例复发, 效果明显优于对照组. 部分患者栓塞治疗后出现程度不同的腹痛症状, 持续1-3 d, 应该与栓塞后组织缺血反应有关, 但不久后腹痛均自行缓解. 预防性栓塞联合血管加压素组有较高的治愈率, 但有较高的肠梗阻发生的可能性, 陈克敏等^[12]也曾对栓塞治疗联合血管加压素治疗中易于发生肠梗阻的现象做过相关报道. 在应用预防性栓塞联合血管加压素治疗时应予以注意, 并将预后的可能性详尽地告知患者, 由患者对治疗措施进行知情选择. 为避免或减少肠缺血坏死的发生, 在栓塞治疗中, 应采用小剂量、大颗粒的栓塞方式进行栓塞治疗.

由于因胃肠道出血入院的患者中存在相当比例的DSA阴性患者, 尽管阴性患者较多伴随较轻出血症状, 有可能会过度治疗的情况. 但综合考虑, 为提高临床成功率, 挽救更多患者的生命, 我们认为胃十二指肠动脉预防性栓塞和/或肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素可能是一种有意义的尝试, 本研究结果可以推动这一治疗方式的进一步研究.

4 参考文献

- 1 单鸿, 罗鹏飞, 李彦豪. 临床介入诊疗学. 广东科技出版社, 1997: 193-194
- 2 陈勇, 陈卫国, 何晓峰. 经导管动脉栓塞治疗消化道动脉性出血. 中华放射学杂志 1998; 32: 345-347
- 3 Scheppach W, Wittenberg G, Hahn D, Langenfeld H, Burghardt W, Van Aerssen M, Ott G, Thiede A, Kasper H. [Massive hemorrhage from jejunal varices]. *Z Gastroenterol* 1997; 35: 195-198 [PMID: 9173688]
- 4 周经兴, 江容坚. 疑难肠出血选择性血管造影阳性率影响因素的探讨(附21例分析). 广东医学 1997; 18: 84-85
- 5 Rollins ES, Picus D, Hicks ME, Darcy MD, Bower BL, Kleinhoffer MA. Angiography is useful in detecting the source of chronic gastrointestinal bleeding of obscure origin. *AJR Am J Roentgenol* 1991; 156: 385-388 [PMID: 1898820 DOI: 10.2214/ajr.156.2.1898820]
- 6 石振旺, 杨善峰, 李祥, 王志红, 李兆梅. 内镜下止血夹联合肾上腺素治疗消化道出血12例. 实用全科医学 2008; 6: 459-460
- 7 Walsh RM, Anain P, Geisinger M, Vogt D, Mayes J,

■创新盘点

近年来由于数字减影技术的广泛开展, 用导管治疗消化系出血已经取得了广泛的应用. DSA已成为不明原因消化系出血尤其是动脉性大出血的首选治疗方案.

■同行评价

本文设计合理, 结果实用, 对临床医师有很好的参考价值。

- Grundfest-Broniatowski S, Henderson JM. Role of angiography and embolization for massive gastroduodenal hemorrhage. *J Gastrointest Surg* 1999; 3: 61-65; discussion 66 [PMID: 10457326 DOI: 10.1016/S1091-255X(99)80010-9]
- 8 Lewis BS. Small intestinal bleeding(Renew). *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29: 67-95 [DOI: 10.1016/S0889-8553(05)70108-4]
- 9 Zuckerman DA, Bocchini TP, Birnbaum EH. Massive hemorrhage in the lower gastrointestinal tract in adults: diagnostic imaging and intervention. *AJR Am J Roentgenol* 1993; 161: 703-711 [PMID: 8372742 DOI: 10.2214/ajr.161.4.8372742]
- 10 罗泽斌, 吴剑波. 消化道出血的选择性血管造影诊断及介入治疗. *广东医学院学报* 1998; 16: 327-328, 334
- 11 李国华, 武广利, 杨卫宏, 宋颖妹, 白永明, 窦瑞新. 在消化道出血中DSA诊断与介入治疗的临床应用. *医学影像学杂志* 2006; 16: 49-51
- 12 陈克敏, 沈天真, 陈星荣. 小肠出血的介入放射学治疗. *国外医学(临床放射学分册)* 1989; 36: 324-326
- 13 Guy GE, Shetty PC, Sharma RP, Burke MW, Burke TH. Acute lower gastrointestinal hemorrhage: treatment by superselective embolization with polyvinyl alcohol particles. *AJR Am J Roentgenol* 1992; 159: 521-526 [PMID: 1503016]
- 14 Palmaz JC, Walter JF, Cho KJ. Therapeutic embolization of the small-bowel arteries. *Radiology* 1984; 152: 377-382 [PMID: 6610888]
- 15 梁恩海, 官新立, 郑欣. 消化道出血腹腔动脉造影及介入栓塞应用价值. *中华全科医学* 2008; 6: 1083-1084
- 16 冯耀良, 李麟荪, 王杰. 不明原因消化道出血的血管造影诊断及介入治疗. *介入放射学杂志* 2001; 10: 141-142
- 17 石振旺, 杨善峰, 李祥, 王志红, 李兆梅. 内镜下止血夹联合肾上腺素治疗消化道出血12例. *实用全科医学* 2008; 6: 459-460

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

壶腹部肿瘤的诊断与局部切除

陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 秦仁义

陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 秦仁义, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科 湖北省武汉市 430030
陈冬, 在读博士, 主要从事胰腺胆道肿瘤方面的研究。
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81071775, 81272659
作者贡献分布: 课题设计由陈冬与秦仁义完成; 手术由秦仁义完成; 课题数据收集及统计分析由陈冬、朱峰、王敏及田锐完成; 论文撰写由陈冬与秦仁义完成; 课题监督由秦仁义完成。
通讯作者: 秦仁义, 教授, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科。
ryqin@tjh.tjmu.edu.cn
电话: 027-83665314
收稿日期: 2013-09-17 修回日期: 2013-11-04
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-28

Diagnosis and local resection of ampullary tumors

Dong Chen, Feng Zhu, Min Wang, Rui Tian, Ren-Yi Qin

Dong Chen, Feng Zhu, Min Wang, Rui Tian, Ren-Yi Qin, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81071775 and 81272659
Correspondence to: Ren-Yi Qin, Professor, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. ryqin@tjh.tjmu.edu.cn
Received: 2013-09-17 Revised: 2013-11-04
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the diagnosis and local resection of ampullary tumors.

METHODS: Clinical and pathological data for 86 patients with ampullary tumors treated at our hospital from January 2011 to September 2013 were retrospectively analyzed.

RESULTS: Of the 86 patients, 83 had biliary and pancreatic duct dilation, and type-B ultrasound could detect biliary and pancreatic duct dilation in all the 83 patients (100%). Thin-slice CT detected an ampullary lump or gallbladder wall enhancement in 80 of 86 patients (93.0%), while MRCP detected biliary and pancreatic duct dilation or an ampullary lump in 69 of 86 patients (80.2%). Fifty-two cases underwent EUS (endoscopic ultrasonography) and biopsy, and a

low echo mass was found in 49 cases (94.2%), of which 40 were malignant tumors. Biopsy proved malignancy in 7 of the 40 patients (17.5%). Intraoperative rapid frozen section proved malignancy in 72/77 (93.5%) of patients. Twenty-two patients underwent local excision of ampullary tumors and pancreaticobiliary duct plasty, of whom 9 were confirmed with benign diseases (high grade intraepithelial neoplasia in 5) and 13 with local malignancies. There was no death or complication after surgery and no recurrence during 2 to 32 months of follow-up.

CONCLUSION: Thin slice CT, MRCP and EUS are important tools for the diagnosis of ampullary tumors, while rapid intraoperative pathological examination has a high accuracy but with certain false negatives. Local excision of duodenal papilla and pancreaticobiliary duct plasty are safe, with minor trauma, few complications and low recurrence rate, particularly for ampullary benign tumors and localized malignant tumors.

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

Key Words: Ampullary tumors; Diagnosis; Local resection

Chen D, Zhu F, Wang M, Tian R, Qin RY. Diagnosis and local resection of ampullary tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4185-4188 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4185.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4185>

摘要

目的: 探讨壶腹部肿瘤的诊断及局部切除的安全性和疗效。

方法: 回顾性分析2011-01/2013-09我院收治的86例壶腹部肿瘤患者的临床病理资料。

结果: 86例患者中, 83例胆胰管扩张, B超可见胆胰管扩张83例(83/83, 100%), 薄层CT扫描可见壶腹部肿块或者胆管壁强化80例(80/86, 93.0%), MRCP可见胆胰管扩张或壶腹部肿块69例(69/86, 80.2%), 52例患者行超声内

■背景资料

壶腹部肿瘤一般较小, 诊断较为困难, 随着医疗技术水平的提高及微创化手术理念的不断深入, 早期诊断及局部切除的方法被国内外文献不断报道。

■同行评议者

李宗芳, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院

■ 研发前沿

如何早期诊断及局部切除术的手术指征、安全性、手术技巧和效果是壶腹部肿瘤研究的热点和重点。

镜及穿刺活检,可见低回声肿块49例(49/52, 94.2%),其中恶性肿瘤40例,穿刺提示恶性7例(7/40, 17.5%),77例恶性肿瘤患者术中快速病检提示恶性72例(72/77, 93.5%);十二指肠乳头局部切除+胆胰管成形术22例,其中良性9例(5例为高级别上皮内瘤变),局部恶性13例,术后无死亡病例及手术并发症,随访2-32 mo无复发。

结论:薄层CT、MRCP及超声内镜具有重要的诊断作用,术中快速病检诊断肿瘤性质准确率高,但存在一定的假阴性;壶腹部肿瘤局部切除+胆胰管成形术是一种安全可靠的手术方式,创伤小,术后并发症及死亡率低,壶腹部良性肿瘤及局部恶变肿瘤局部切除后效果好,复发率低。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:壶腹部肿瘤;诊断;局部切除

核心提示:薄层CT, MRCP及超声内镜,术中快速病检对于壶腹部肿瘤的诊断具有非常重要的作用;壶腹部肿瘤局部切除+胆胰管成形术是一种安全可靠的手术方式,创伤小,术后并发症及死亡率低,壶腹部良性肿瘤及局部恶变肿瘤局部切除后效果好,复发率低。

陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 秦仁义. 壶腹部肿瘤的诊断与局部切除. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4185-4188 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4185.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4185>

0 引言

壶腹部肿瘤是指十二指肠乳头内胆管、胰管及十二指肠大乳头区域的肿瘤。此部位肿瘤较小,诊断较为困难,一直以来,胰十二指肠切除术(pancreaticoduodenectomy, PD)都是壶腹部肿瘤首选的经典术式。随着医疗技术水平的提高及微创化手术理念的不断深入,我们必须更加精准地对此类患者进行诊断和治疗,现将我们的诊治经验报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本组男41例,女45例。年龄43-67岁(57.78岁±7.76岁)。腹部隐痛不适82例,占95.3%,乏力、纳差伴皮肤巩膜黄染69例,占80.2%。

1.2 方法 22例良性及局部恶变患者采用了壶腹部肿瘤局部切除+胆胰管成形术。

统计学处理 所有数据均用SPSS13.0软件进行统计学分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术前检查及术中快速病检准确率 86例患者中,83例胆胰管扩张,B超可见胆胰管扩张83例(83/83, 100%),薄层CT扫描可见壶腹部肿块或者胆管壁强化80例(80/86, 93.0%),MRCP可见胆胰管扩张或壶腹部肿块69例(69/86, 80.2%),52例患者行超声内镜及穿刺活检,可见低回声肿块49例(49/52, 94.2%),其中恶性肿瘤40例,穿刺提示恶性7例(7/40, 17.5%),77例恶性肿瘤患者术中快速病检提示恶性72例(72/77, 93.5%)(表1)。

2.2 局部切除术后并发症及随访 22例患者顺利完成了壶腹部肿瘤局部切除+胆胰管成形术(图1),其中良性9例(5例为腺瘤高级别上皮内瘤变),局部恶性13例,术后无死亡病例及手术并发症,随访2-32 mo无复发。

2.3 术后病理结果 64例为腺癌,13例为腺瘤伴局部恶变,9例为良性病变,其中7例为腺瘤,5例伴有高级别上皮内瘤变,1例为炎性息肉,1例为腺瘤样增生。

3 讨论

以往一般认为壶腹部肿瘤基本都为恶性,但随着人们生活水平的提高及诊断技术水平的发展,国内外不断有良性及局部恶性的病例报道^[1,2]。Cattell^[3]于1950年首次报道了壶腹部癌可能存在腺瘤→上皮内瘤变→局部恶变→腺癌这一转化过程的现象,Beger也报道腺瘤癌变率为16.6%^[4]。这些报道及现象对我们胆胰外科医生提出了更高的要求:早期诊断和术前术中准确的定性诊断以及微创化的手术方式。

壶腹部肿瘤位于十二指肠乳头内胆管和胰管以及十二指肠大乳头区域,很早便可引起胆胰管排出不畅甚至梗阻,导致腹部不适及乏力、纳差、间歇性黄疸等相对轻微的临床症状,不易引起患者的重视。对于此类患者,我们建议常规行B超检查,B超无创,廉价,虽然受到肠气干扰,难以清晰显示肿块,但诊断胆胰管扩张准确率却很高,非常适合进行大规模普查,对于此类疾病的早期诊断具有非常重要的临床价值。如果发现胆胰管扩张可进一步行CA199检测、薄层CT扫、MRCP、超声内镜、ERCP等检查。有文献报道,CA199对壶腹部恶性肿瘤诊断的阳性率为84.4%^[5]。本组患者中,恶性患者91%升高,可

■ 相关报道

壶腹部肿瘤的诊断和治疗是肝胆胰外科领域的难点和重点,目前国内外的文献报道较多,分别总结了各自的诊治经验。

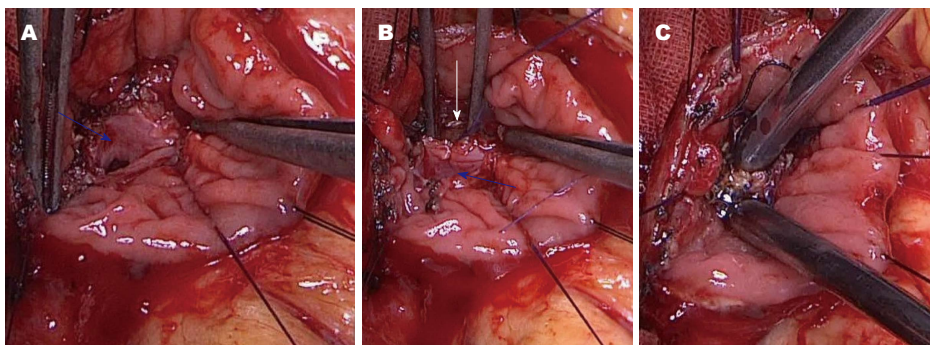


图 1 壶腹部肿瘤局部切除+胆胰管成形手术过程. A: 肿瘤切除后正常的胰管断端; B: 肿瘤切除后正常的胰管和胆管断端, 白色箭头为胆管, 蓝色箭头为胰管; C: 胆总管和胰管开口及十二指肠黏膜之间完全内膜化, 胆胰管口成形呈“∞”形.

■创新盘点
 本文结合国内外大量的文献报道及自己的诊治经验, 全面系统地总结了早期诊断的各种方法和准确率, 并重点介绍了局部切除的指征、疗效、手术技巧.

表 1 术前检查及术中快速病检结果

检查	准确率
B超	提示胆胰管扩张(83/83, 100%)
CT	提示肿块或管壁强化(80/86, 93.0%)
MRCP	提示胆胰管扩张或肿块69例(69/86, 80.2%)
超声内镜	可见低回声肿块49例(49/52, 94.2%)
术前穿刺活检	提示恶性7例(7/40, 17.5%)
术中快速病检	提示恶性72例(72/77, 93.5%)

见CA199对于诊断壶腹部恶性肿瘤具有很大的提示作用, 但缺乏特异性. 另外, 薄层CT扫描、MRCP、超声内镜及ERCP在此类疾病的诊断过程中也具有非常重要的作用和地位. 我们认为薄层CT扫描是诊断非常重要的检查, 他能快速连续扫描, 在短时间内获得大量信息, 大大减少了图像的部分容积效应, 图像质量高, 能清晰显示肿块和强化, 也能准确评估肿瘤与周围血管的关系^[6,7]. MRCP可以非常清楚地显示出胆胰管扩张的形态, 并且对于鉴别结石和肿瘤以及内生性和外压型梗阻具有相当重要的作用. ERCP可直视十二指肠乳头病变, 并可同时进行组织钳夹活检和胆胰管造影, 可提供较有价值的信息, 但其为有创性检查, 可能并发胰腺炎、穿孔、感染, 临床应用受限. 超声内镜诊断价值高^[8], 是内镜与超声两种技术相结合的检查方法, 既可通过内镜直接观察肿瘤黏膜表面的形态, 又可通过超声观察管壁各组织层次情况, 从而弥补了体表超声受胃肠气体干扰的缺陷, 也克服了内镜不能判断黏膜下病变及病变浸润深度的缺陷, 准确率高. 术前穿刺活检及术中快速病检是手术决策前肿瘤定性诊断的重要手段, 对手术方式的选择起到了至关重要的作用. 本组患者中穿刺活检的准确率为17.5%, 主要是假阴性的存在影响了其临床价值. 术中快速病检准确率高, 可达90%以上, 但应

尽量完整切除后送检, 避免细针穿刺或者部分切除, 即便如此, 有些局部恶变的肿瘤仍难以确诊, 但从此类患者局部切除后的效果来看, 并不影响我们手术的决策, 是我们整个诊断过程中最重要最核心的检查.

PD是壶腹部肿瘤的经典手术方式, 但在当代外科将其作为唯一的手术方式早已不合时宜, Knox等^[9]报道了25例壶腹部癌局部切除, 无手术死亡, 5年生存率为51%, 疗效和PD相似, Tarazi等^[10]报道57例壶腹部癌, 其中局部切除11例, 根治性切除46例, 2年、5年生存率分别为: 37.8%、60.4%和40.9%、54.6%, 两组患者生存率没有显著性差异. 支持这一术式的学者认为壶腹部肿瘤多发生于Vater壶腹处, 常波及胆胰管而影响胆汁及胰液排出, 故其临床症状出现早, 有利于早期诊断和治疗, 故就诊患者多为肿瘤早期, 淋巴转移机会少, 切缘无肿瘤残存即可达到与PD术相似的治疗效果. 从我们的治疗经验来看, 壶腹部良性肿瘤及局部恶变的肿瘤局部切除的效果均好, 但术前很难判断肿瘤是否为早期, 且肿瘤早期发生淋巴转移并不少见, Yoon等^[11]报道早期十二指肠乳头癌(pTis、pT1)中存在淋巴结转移的占9%, 肿瘤<1 cm的癌淋巴结转移率为11.6%, 高分化癌淋巴结转移率为23.5%, 而肿瘤复发的多因素分析发现, 淋巴结转移是有统计学意义的独立预后指标, 局部切除术没有清扫淋巴结, 存在根治性的问题. 而且为了达到切除彻底性, 切缘距肿瘤越远越好, Farouk等^[12]主张至少距肿瘤边缘1 cm, 而局部切除时, 操作空间狭小, 此点很难做到, 所以很难保证切除的彻底性. 另外目前文献报道的局部切除术的例数尚少, 缺乏临床多中心大样本的前瞻性随机对照研究来进行最终疗效评定. 故我们认为应严格把握局部切除的手术指征, 对于壶腹

■应用要点
 本文对于壶腹部肿瘤的早期诊断及手术方式的选择和局部切除术后并发症的预防都具有非常重要的指导意义.

■同行评价
本文具有很强的
临床指导价值。

部良性肿瘤及局部恶变的肿瘤可行局部切除术, 一般情况差, 年龄大的恶性肿瘤患者也可以考虑行局部切除术。

壶腹部肿瘤局部切除术虽然创伤小, 但技术难度高, 不应忽视并发症的防治及其肿瘤切除的彻底性。Böttger等^[13]总结99例壶腹部癌局部切除术的手术死亡率7.1%。国外文献报道壶腹部癌局部切除术并发症发生率0%-25%, 国内报道48例局部切除并发症发生率为9.6%, 即便是对于壶腹部良性肿瘤, 也有复发的报道^[14,15]。为防止复发及术后并发症, 我们的手术体会是在显露出十二指肠乳头后沿乳头部边缘正常组织环形切开黏膜, 沿肿瘤边缘外侧约0.5 cm切开肌层进入胰腺实质, 向肿瘤上端游离直至显露出正常的胆管、胰管, 继续切断胆管、胰管, 将肿瘤由基底部完整切除, 如果肿瘤较大或者术中快速病检示切缘阳性, 可同时切除肿瘤周围部分胰腺组织。最后通过观察触摸、术中快速病检准确判断切缘有无癌细胞残留, 可保证切缘的阴性及手术范围的彻底性。切除后将十二指肠黏膜、胰腺实质、胆胰管壁用4.0 prolene无损伤缝线间断环形缝合, 胆总管和胰管开口及十二指肠黏膜之间完全内膜化, 胆胰管口成形呈“∞”形, 可防止术后并发症的发生。

4 参考文献

- 1 黄留业, 刘运祥, 吴承荣, 曹晓凌. 内镜下切除十二指肠乳头良性病变, 中华内镜消化杂志 2006; 23: 286-287
- 2 郑本波, 李波, 李敬东. 胰十二指肠切除治疗胰腺良性疾病的心得. 肝胆外科杂志 2003; 11: 419-421
- 3 Cattell RB, Pyrttek LJ. Premalignant lesions of the ampulla of Vater. *Surg Gynecol Obstet* 1950; 90: 21-30, illust [PMID: 15396551]
- 4 Beger HG, Treitschke F, Gansauge F, Harada N,

Hiki N, Mattfeldt T. Tumor of the ampulla of Vater: experience with local or radical resection in 171 consecutively treated patients. *Arch Surg* 1999; 134: 526-532 [PMID: 10323425]

- 5 Tanaka N, Okada S, Ueno H, Okusaka T, Ikeda M. The usefulness of serial changes in serum CA19-9 levels in the diagnosis of pancreatic cancer. *Pancreas* 2000; 20: 378-381 [PMID: 10824692]
- 6 Chang S, Lim JH, Choi D, Kim SK, Lee WJ. Differentiation of ampullary tumor from benign papillary stricture by thin-section multidetector CT. *Abdom Imaging* 2008; 33: 457-462 [PMID: 17712590]
- 7 Tublin ME, Tessler FN, Cheng SL, Peters TL, McGovern PC. Effect of injection rate of contrast medium on pancreatic and hepatic helical CT. *Radiology* 1999; 210: 97-101 [PMID: 9885593]
- 8 Demetriades H, Zacharakis E, Kirou I, Pramateftakis MG, Sapidis N, Kanellos I, Betsis D. Local excision as a treatment for tumors of ampulla of Vater. *World J Surg Oncol* 2006; 4: 14 [PMID: 16524478]
- 9 Knox RA, Kingston RD. Carcinoma of the ampulla of Vater. *Br J Surg* 1986; 73: 72-73 [PMID: 3947884]
- 10 Tarazi RY, Hermann RE, Vogt DP, Hoerr SO, Es-selstyn CB, Cooperman AM, Steiger E, Grundfest S. Results of surgical treatment of periampullary tumors: a thirty-five-year experience. *Surgery* 1986; 100: 716-723 [PMID: 3764694]
- 11 Yoon YS, Kim SW, Park SJ, Lee HS, Jang JY, Choi MG, Kim WH, Lee KU, Park YH. Clinicopathologic analysis of early ampullary cancers with a focus on the feasibility of ampullectomy. *Ann Surg* 2005; 242: 92-100 [PMID: 15973106]
- 12 Farouk M, Niotis M, Branum GD, Cotton PB, Meyers WC. Indications for and the technique of local resection of tumors of the papilla of Vater. *Arch Surg* 1991; 126: 650-652 [PMID: 2021350]
- 13 Böttger TC, Boddin J, Heintz A, Junginger T. Clinicopathologic study for the assessment of resection for ampullary carcinoma. *World J Surg* 1997; 21: 379-383 [PMID: 9143568]
- 14 Branum GD, Pappas TN, Meyers WC. The management of tumors of the ampulla of Vater by local resection. *Ann Surg* 1996; 224: 621-627 [PMID: 8916877]
- 15 Meneghetti AT, Safadi B, Stewart L, Way LW. Local resection of ampullary tumors. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 1300-1306 [PMID: 16332486]

编辑 田滢 电编 闫晋利



单气囊小肠镜在小肠疾病诊断治疗中的应用

朱鸣, 唐杰, 金晓维, 毛高平, 宁守斌, 张静, 李彦飞

朱鸣, 唐杰, 金晓维, 毛高平, 宁守斌, 张静, 李彦飞, 中国人民解放军空军总医院消化科 北京市 100142

朱鸣, 副主任医师, 主要从事老年消化病学研究。

作者贡献分布: 朱鸣负责临床资料的整理、统计; 小肠镜的操作由朱鸣、唐杰、金晓维、毛高平、宁守斌、张静及李彦飞完成。

通讯作者: 朱鸣, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院消化内科。

zhuming20121226@sina.cn

收稿日期: 2013-09-18 修回日期: 2013-11-11

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-28

Single balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of small intestinal diseases

Ming Zhu, Jie Tang, Xiao-Wei Jin, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Jin Zhang, Yan-Fei Li

Ming Zhu, Jie Tang, Xiao-Wei Jin, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Jin Zhang, Yan-Fei Li, Department of Gastroenterology, the General Air Force Hospital, Beijing 100142, China
Correspondence to: Ming Zhu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the General Air Force Hospital, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. zhuming20121226@sina.cn

Received: 2013-09-18 Revised: 2013-11-11

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To evaluate the value of single balloon enteroscopy (SBE) in the diagnosis and treatment of small intestinal diseases.

METHODS: A total of 406 patients (255 males and 151 females) with suspected or confirmed small intestinal diseases underwent 629 SBE examinations (356 via the oral approach and 273 via the anal approach). A total of 292 cases (139 patients) underwent endoscopic therapy.

RESULTS: Of all the 406 cases, 300 were diagnosed with small intestinal diseases, and the diagnostic yield was 73.9% (300/406). The procedure time was 54.18 min ± 11.870 min for the oral approach, and 64.53 min ± 11.821 min for the anal approach. The intubation depth was 236.47 cm ± 90.397 cm for the oral approach, and 184.18 cm ± 65.716 cm for the anal approach. The main lesions were Peutz-Jeghers syndrome (119 cases), small intestinal inflammatory changes (45 cases), small

intestinal ulcer (23 cases), Crohn's disease (23 cases), carcinoma of the small intestine (17 cases), small intestinal stromal tumors (15 cases), small bowel polyps (13 cases), and Meckel's diverticulum (10 cases). A total of 139 patients underwent 292 endoscopic therapies, of whom 112 underwent the resection of polyps, 9 underwent endoscopic hemostatic therapy, 16 underwent small intestinal stent implantation, and 2 underwent foreign body removal.

CONCLUSION: SBE has a high diagnostic yield in small intestinal diseases and can be used therapeutically, representing a safe and reliable method for diagnosis and treatment of intestinal diseases.

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

Key Words: Single balloon enteroscopy; Intestinal disease; Clinical data

Zhu M, Tang J, Jin XW, Mao GP, Ning SB, Zhang J, Li YF. Single balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of small intestinal diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4189-4193 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4189.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4189>

摘要

目的: 评价单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE)在小肠疾病诊断和治疗中的临床应用价值。

方法: 对怀疑或证实有小肠疾病的406例患者(男255例,女151例)在麻醉状态下行629例次(经口356例次,经肛273例次)SBE检查。并对292例次(139例患者)行SBE下治疗。

结果: 406例患者中有300例诊断出小肠疾病,检出阳性率为73.9%(300/406), SBE检查时间(经口54.18 min ± 11.870 min, 经肛64.53 min ± 11.821 min), 插镜深度(经口236.47 cm ± 90.397 cm, 经肛184.18 cm ± 65.716 cm)。检出的主要病变有: Peutz-Jeghers综合征(119例)、小肠炎性改变(45例)、小肠溃疡(23例)、克罗

背景资料

2007年Olympus公司在双气囊小肠镜的基础上研发出单气囊小肠镜,但是,目前对单气囊小肠镜的临床应用报道以小样本资料为多,作为一项较新的小肠检查手段,其临床价值还需要进一步探讨和证实。

同行评议者

董蕾, 教授, 主任医师, 博士生导师, 西安交通大学第二附属医院消化内科

■ 研究前沿

气囊辅助小肠镜检查是目前用于诊治小肠小肠疾病的重要手段,单气囊小肠镜作为一项较新的小肠检查治疗手段其临床价值还需要较大样本临床资料的积累和研究。

恩病(23例)、小肠癌(17例)、小肠间质瘤(15例)、小肠息肉(13例)、Meckel's憩室(10例)。对139例患者行292例次镜下治疗,其中112例患者行息肉切除术,镜下止血治疗9例,小肠支架植入术16例,镜下异物取出2例。

结论: SBE对小肠疾病有较高的诊断率,并可进行多种镜下治疗,是一种安全可靠的小肠疾病诊疗手段。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 单气囊小肠镜; 小肠疾病; 临床资料

核心提示: 单气囊小肠镜是一项较新的小肠检查治疗手段,目前的临床应用报道以小样本资料为多。本文总结了该院2009年以来629例次单气囊小肠镜检查的资料,认为单气囊小肠镜是一种安全可靠的小肠疾病诊疗手段。

朱鸣,唐杰,金晓维,毛高平,宁守斌,张静,李彦飞. 单气囊小肠镜在小肠疾病诊断治疗中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4189-4193 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4189.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4189>

0 引言

气囊辅助小肠镜是目前用于诊治小肠小肠疾病的重要手段,目前临床应用的小肠镜主要是双气囊小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)和单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE),二者均通过带气囊的外套管辅助进行。2007年Olympus公司在DBE的基础上研发出SBE,与DBE相比,SBE只有外套管一个气囊,镜身前端少了一个气囊,其镜端的可曲度及视角范围明显增加,操作更加简便^[1]。但是,目前对SBE的临床应用报道以小样本资料为多,作为一项较新的小肠检查手段,其临床价值还需要进一步探讨和证实。本文总结了该院2009年以来积累的629例次SBE检查的资料,进行回顾性总结分析。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2009-07/2013-05在我院消化内镜室行单气囊小肠镜检查治疗的629例(406例患者)的临床资料。器械: Olympus SIF-Q260单气囊小肠镜。

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 患者术前均签署小肠镜检查知情同意书及麻醉同意书。常规检查血常规、凝

血功能、肝肾功能、心电图等,无胃肠镜检查及静脉麻醉的禁忌证。患者术前1 d进食流质饮食,晚餐后禁食,并口服蓖麻油40 mL,饮水500 mL,第2天上午服用复方聚乙二醇电解质散剂137 g加入2000 mL水中清洁肠道,检查结束前不能进食。行小肠镜检查患者均给予丙泊酚静脉麻醉辅助内镜检查。检查前10 min肌肉注射山莨菪碱10 mg,并全程行心电监护及氧饱和度监测。分别记录每例次小肠镜检查时间、插镜深度、诊断以及是否做镜下治疗及有无并发症。检查时间为进镜时间至退出内镜结束,其中如有镜下治疗,则扣除镜下治疗时间。

1.2.2 单气囊小肠镜检查: 采用Olympus SIF-Q260型单气囊小肠镜。由内镜主机EVIS Lucera系统、奥林巴斯SIF-Q260单气囊小肠镜及外套管、小肠镜专用气囊控制系统及相关附件组成。内镜工作长度200 cm,外径9.2 mm,钳道直径2.8 mm,带气囊的外套管有效长度140 cm,外径13.2 mm,内径11 mm,视角140度。外套管前端装有1个可充气、放气的气囊,连接于可自动调整充气量的气泵。检查前应先观察外套管头端的气囊有无漏气,然后将外套管套在小肠镜镜身上,并注入润滑剂,将气泵的注气管道与气囊相连,给气囊充气和放气,确认气泵工作正常。由两名内镜医师(一名为主要检查者、另一名为辅助检查者)进行检查及一名麻醉医师配合检查。通过调整镜身角度和外套管反复充气、放气、钩拉、滑行等动作,将肠管不断地套在SBE镜身上,直至到达病灶。1个气囊注气及抽气均由气泵自动控制,抽气时压力为-6.0--6.5 kPa;注气时压力为7.0-7.5 kPa。估计病变在中上小肠肠段者选择经口腔进镜,估计病变在远端小肠者选择经肛门进镜。经一端进镜未发现病变者,内镜抵达相应部位后,以注射针黏膜下注射美蓝多点标记,继续另一侧进镜检查。

1.2.3 耐受性与安全性: 患者均能耐受检查,未发生麻醉意外。少数患者在术后出现腹痛、腹胀症状,无需特殊处理均可自行缓解,未发生麻痹性肠梗阻、胰腺炎等严重并发症。SBE检查时,3例P-J综合征患者在行息肉摘除术时出现肠穿孔,1例在息肉切除过程中发生出血,均予以外科手术治疗后治愈。

统计学处理 应用SPSS19.0统计学软件,进镜时间及进镜深度以mean±SD表示, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

■ 相关报道

目前国内关于单气囊小肠镜的研究多数认为其进镜时间及插镜深度较双气囊小肠镜无明显差异。双气囊小肠镜通过气囊固定肠腔,单气囊小肠镜通过镜身前端成角勾住肠管,仅需1个气囊交替充放气,镜端灵活、视角大,具有操作上的优势。

2 结果

对406例患者行629例次检查, 患者年龄10-80岁(41.01岁±16.380岁); 男255例, 女151例。经口侧检查356例, 进镜时间20-90 min(54.18 min±11.87 min); 插镜深度10-460 cm(236.47 cm±90.397 cm)。经肛侧检查273例, 进镜时间35-98 min(64.53 cm±11.821min); 插镜深度10-400 cm(184.18 cm±65.716 cm)。共151例患者行双侧SBE检查, 仅有9例患者完成对接检查。

406例患者中有300例诊断出小肠疾病, 检出阳性率为73.9%。其中Peutz-Jeghers综合征: 119例, 小肠炎性改变45例, 小肠溃疡23例, 克罗恩病23例, 小肠癌17例, 小肠间质瘤15例, 小肠息肉13例, Meckel's 憩室10例, 其他小肠憩室7例, 小肠炎性改变并出血4例, 小肠毛细血管扩张3例, 小肠狭窄3例, 十二指肠外压狭窄改变2例, 小肠淋巴管扩张2例, 吻合口溃疡及吻合口炎2例, 十二指肠球部溃疡2例, 胃溃疡1例, 十二指肠壅积症1例, 蓝色橡皮疱痣综合征1例, 小肠淋巴瘤1例, 小肠血管出血1例, 空肠假牙1例, 小肠胶囊滞留1例, 盲肠瘘孔1例, R-Y吻合术后吻合口成角改变1例, 直肠炎1例。另106例未发现小肠病变。

常见受检及镜下治疗原因为诊断或疑为P-J综合征、消化系出血、腹痛、腹胀、腹泻等, 常见受检原因的阳性检出率如表1。

共139例(292例次)患者行镜下治疗, 其中P-J综合征行镜下息肉切除术105例, 其他小肠息肉切除7例, 最多1次镜下切除息肉40枚, 最大切除息肉为8 cm×10 cm。3例P-J综合征患者在行息肉摘除术时出现肠穿孔, 1例在息肉切除过程中发生出血, 均予以外科手术治疗后治愈。镜下止血9例(喷洒止血药2例, 注射肾上腺素盐水2例, 注射聚桂醇2例, 电凝2例, 钛夹夹闭血管1例), 小肠梗阻支架植入术16例, 空肠异物取出2例(1例为假牙, 1例为未排出的胶囊)。

3 讨论

气囊辅助内镜是小肠疾病检查手段上的突破性进展, 理论上可以在不开腹的情况下对全小肠进行直视行检查。2001年日本学者Yamamoto等^[2]率先报道了DBE进行全小肠检查的研究, DBE图像清晰, 操作精确, 发现病变可以取活检、做标记, 并且可以行治疗, 是一种可靠的小肠疾病诊治手段^[3]。SBE是在DBE的基础上改进而来的, 同样具有图像清晰、操作精确, 可镜下治疗等优点, 从操作原理上看, DBE通过气囊固定肠腔,

表 1 单气囊小肠镜的常见受检原因及阳性检出率

受检原因	n	检出小肠病变(n)	检出阳性率(%)
疑为或诊断的	121	120	99.2
P-J综合征			
腹痛	92	48	52.2
黑便及呕血	43	38	88.4
便潜血阳性	38	14	36.8
便血	35	33	94.3
梗阻	35	33	94.3
腹泻	20	11	55.0
腹胀	22	3	13.6
总计	406	300	73.9

而SBE通过镜身前端成角勾住肠管, 仅需1个气囊交替充放气, 镜端灵活、视角大, 具有操作上的优势^[4]。DBE因为有反复注气和放气的操作, 有操作者出错的可能^[5], 而SBE则一般不会出错, 这使得其操作更简便。由于SBE无需安装内镜前端的充气囊, 因此准备时间平均约5 min, 明显短于DBE的准备时间^[6]。

本组资料总结了406例患者的629例次检查, 其中经口侧检查356例, 进镜时间为54.18 min±11.87 min; 插镜深度236.470 cm±90.397 cm。经肛侧检查273例, 进镜时间为64.530 min±11.821 min; 插镜深度184.180 cm±65.716 cm。

目前国内外关于SBE的研究报道还不是很多, 多数认为SBE在进镜时间及插镜深度方面较DBE无明显差异。任玮等^[6]将50例患者随机分组进行60例小肠镜检查, 认为SBE在准备时间、操作方面明显优于DBE, 但在检查时间、插镜深度、病变发现率方面无明显差异。多中心前瞻性研究比较DBE和SBE在小肠疾病患者100例中的应用, 结果显示在检查前准备时间和经口操作时间上SBE占优, 而全小肠检查完成率上则DBE占优势^[7]。Efthymiou等^[8]对53例次SBE及66例次DBE进行分析, 认为在插镜深度及进镜时间上二者并无统计学差异。Lenz等^[9]对904例患者进行分析, 其中1052例行DBE、515例行SBE, 数据显示SBE相对于DBE, 其插入深度较低, 但诊断率较高。而我科从2004年引进DBE, 2009年引进SBE, 积累了丰富的小肠镜操作经验, 从我们的经验看, SBE在进镜时间、深度及疾病检出率等方面, 并不处于劣势, 且在准备时间、操作性能方面优于DBE^[10]。

本研究中SBE的阳性检出率为73.9%, 与其他相关报道的结果相似^[11-13], 在途径选择方面,

■创新盘点

目前对单气囊小肠镜的临床应用报道以小样本资料为多, 作为一项较新的小肠检查手段, 其临床价值还需要进一步探讨和证实。本文总结了该院2009年以来积累的629例次单气囊小肠镜检查的资料。

■应用要点

我们认为单气囊小肠镜是一种安全、可靠的小肠疾病诊疗手段, 对小肠疾病又较高的检出率, 可进行多种镜下治疗, 并发症少, 具有较好的临床应用前景。

原则上是根据症状和其他辅助检查预判断病变的位置后, 选择经肛或经口途径。但目前发达国家常常先采用胶囊内镜对整个消化系进行一次检查, 再决定SBE的进镜方式, 这样可以提示SBE的进镜途径, 因SBE并非均能做到对接检查, 胶囊内镜有可能观察到小肠中部到达不了的盲区, 从而提高疾病的阳性检出率^[14,15], 但检查费用可能会有所增加。对于无相关症状或检查提示病变部位的患者, SBE可先行经口途径检查, 操作中内镜应尽可能下行, 完成全小肠的2/3长度的检查, 使经肛检查的操作相对容易。

本组资料中共151例患者行双侧SBE检查, 仅有9例患者完成对接检查。SBE理论上可实现全小肠检查, 少数医师甚至可以实现经肛或经口的一次性全小肠检查, 但目前SBE完成全小肠检查的成功率为5%-25%, 低于DBE^[5,7]。

本组资料中检出疾病依次为: Peutz-Jeghers综合征、小肠炎性改变、小肠溃疡、克罗恩病、小肠癌、小肠间质瘤、小肠息肉、Meckel's憩室, 与DBE检出的疾病谱类似^[16]。其中主诉为消化系出血及小肠梗阻的检出阳性率较高, 而主诉为腹胀者的检出阳性率较低。

共139例(292例次)患者行镜下治疗, 其中112例行镜下息肉切除术(105例为Peutz-Jeghers综合征), 9例行镜下止血, 16例行小肠梗阻支架植入术, 2例行空肠异物取出。

Peutz-Jeghers综合征(黑色素斑-胃肠多发息肉综合征)是一种常染色体显性遗传性疾病, 临床表现为皮肤黏膜黑斑和消化系多发息肉。由于多发及巨大的胃肠息肉可以引起出血、腹痛、肠套叠和肠梗阻等严重临床症状, 而且息肉癌变率也较高, 给患者生命健康带来严重危害^[17]。传统的外科手术治疗存在创伤大, 术后并发症多, 需要反复手术治疗使患者无法承受等诸多缺陷。我院为全军小肠疾病诊疗中心。因此, 来我院行检查治疗的P-J综合征患者较多。本组资料中通过SBE对105例P-J综合征患者镜下息肉切除术, 最多1次镜下切除息肉40枚, 最大切除息肉为8 cm×10 cm。除4例患者出现肠穿孔或出血的并发症外, 均予以外科手术治疗后治愈, 其余检查及治疗的患者均未发生并发症。说明SBE是治疗Peutz-Jeghers综合征的一种有效方法, 可使多数患者避免开腹手术。

小肠梗阻的原因可能为克罗恩病、小肠肿瘤、肠壁外肿物外压或肠黏连等, 对于已经失去手术机会的肿瘤晚期患者, 为解除梗阻症状,

可采用支架植入术, 多数患者植入支架后, 梗阻症状明显缓解, 但其中2例患者因梗阻前方成角或存在多处狭窄, 放入支架后仍不能解除肠梗阻的症状。

对于小肠出血的患者, 可根据病变的不同, 选择不同的止血方法, 如喷洒止血药、注射肾上腺素盐水、注射聚桂醇、电凝2例或钛夹夹闭血管。本组资料中1例10岁男性患儿, 临床表现为反复消化系出血及贫血, 诊断为蓝色橡皮大疱性痣综合征(blue rubber bleb nevus syndrome, BRBNS), BRBNS是一种极其罕见的皮肤及内脏器官等多处血管畸形的综合征, 多于儿童期发病, 组织学检查表现为毛细血管瘤或海绵状血管瘤, 以皮肤、胃肠道血管畸形以及消化系出血、贫血等为主要临床表现, 甚至可发生致命性消化系大出血, 该病为常染色体显性遗传性疾病, 可能与9号染色体短臂点突变有关, 1958年William Bean报道了2例该病例^[18]。本例患儿经SBE下多次聚桂醇注射治疗, 消化系出血症状基本缓解。

通过总结以上的临床资料, 我们认为SBE是一种安全、可靠的小肠疾病诊疗手段, 对小肠疾病又较高的检出率, 且在准备时间、操作性能方面优于DBE, 并可进行多种镜下治疗, 并发症少, 具有较好的临床应用前景。

4 参考文献

- 1 Tsujikawa T, Saitoh Y, Andoh A, Imaeda H, Hata K, Minematsu H, Senoh K, Hayafuji K, Ogawa A, Nakahara T, Sasaki M, Fujiyama Y. Novel single-balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of the small intestine: preliminary experiences. *Endoscopy* 2008; 40: 11-15 [PMID: 18058613]
- 2 Yamamoto H, Sekine Y, Sato Y, Higashizawa T, Miyata T, Iino S, Ido K, Sugano K. Total enteroscopy with a nonsurgical steerable double-balloon method. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 216-220 [PMID: 11174299 DOI: 10.1067/mge.2001.112181]
- 3 May A, Nachbar L, Pohl J, Ell C. Endoscopic interventions in the small bowel using double balloon enteroscopy: feasibility and limitations. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 527-535 [PMID: 17222315 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01063.x]
- 4 Manno M, Barbera C, Bertani H, Manta R, Mirante VG, Dabizzi E, Caruso A, Pigo F, Olivetti G, Conigliaro R. Single balloon enteroscopy: Technical aspects and clinical applications. *World J Gastrointest Endosc* 2012; 4: 28-32 [PMID: 22347529 DOI: 10.4253/wjge.v4.i2.28]
- 5 Kawamura T, Yasuda K, Tanaka K, Uno K, Ueda M, Sanada K, Nakajima M. Clinical evaluation of a newly developed single-balloon enteroscope. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 1112-1116 [PMID: 18599052 DOI: 10.1016/j.gie.2008.03.1063]
- 6 任玮, 王雷, 宁琳洪, 李宜辉, 赵晓晏. 单气囊及双气囊

- 小肠镜在小肠疾病诊断中的应用比较. 中国基层医药 2011; 18: 1653-1655
- 7 May A, Färber M, Aschmoneit I, Pohl J, Manner H, Lotterer E, Möschler O, Kunz J, Gossner L, Mönke-müller K, Ell C. Prospective multicenter trial comparing push-and-pull enteroscopy with the single- and double-balloon techniques in patients with small-bowel disorders. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 575-581 [PMID: 20051942 DOI: 10.1038/ajg.2009.712]
 - 8 Efthymiou M, Desmond PV, Brown G, La Nauze R, Kaffes A, Chua TJ, Taylor AC. SINGLE-01: a randomized, controlled trial comparing the efficacy and depth of insertion of single- and double-balloon enteroscopy by using a novel method to determine insertion depth. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 972-980 [PMID: 22980289 DOI: 10.1016/j.gie.2012.06.033]
 - 9 Lenz P, Roggel M, Domagk D. Double- vs. single-balloon enteroscopy: single center experience with emphasis on procedural performance. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 1239-1246 [PMID: 23503664 DOI: 10.1007/s00384-013-1673-1]
 - 10 金晓维, 张静, 朱鸣, 毛高平, 宁守斌, 唐杰, 李彦飞. 单气囊小肠镜与双气囊小肠镜的临床对比. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3019-3023
 - 11 马丽黎, 陈世耀, 秦文政, 胡健卫, 徐关东, 钟芸诗, 张轶群, 陈巍峰, 姚礼庆. 单气囊小肠镜在小肠疾病诊断中的应用. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 399-401
 - 12 陈白, 熊理, 高翔, 王锦辉, 张宁, 崔毅. 单气囊小肠镜诊治治疗小肠疾病的安全性及其临床价值观察. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 134-137
 - 13 Gong W, Zhi FC, Bai Y, Xiao B, De Liu S, Xu ZM, Jiang B. Single-balloon enteroscopy for small bowel diseases: results from an initial experience at a single Chinese center. *J Dig Dis* 2012; 13: 609-613 [PMID: 23134075]
 - 14 李晓波, 戈之铮, 戴军, 高云杰, 刘文忠, 胡运彪, 萧树东. 胶囊内镜检查对双气囊小肠镜进镜方式选择的指导作用. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1828-1832
 - 15 Nakamura M, Niwa Y, Ohmiya N, Miyahara R, Ohashi A, Itoh A, Hirooka Y, Goto H. Preliminary comparison of capsule endoscopy and double-balloon enteroscopy in patients with suspected small-bowel bleeding. *Endoscopy* 2006; 38: 59-66 [PMID: 16429356 DOI: 10.1055/s-2005-870446]
 - 16 毛高平, 宁守斌, 白莉, 唐杰, 曹传平, 杨春敏, 陈英, 周平, 杜斌. 双气囊电子小肠镜在小肠疾病诊断中的应用价值. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3049-3053
 - 17 宁守斌, 毛高平, 曹传平, 白莉, 唐杰, 杨春敏, 周平, 陈英, 杜斌. 双气囊小肠镜对Peutz-Jeghers综合征患者小肠息肉的治疗价值. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1588-1591
 - 18 Moodley M, Ramdial P. Blue rubber bleb nevus syndrome: case report and review of the literature. *Pediatrics* 1993; 92: 160-162 [PMID: 8516068]

■同行评价

单气囊小肠镜是一种新的小肠疾病检查方法, 临床有推广价值. 本文样本量较大, 有一定的临床体会和经验.

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注角码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献, 包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>). 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

电子小肠镜在小肠疾病中的诊断价值

陈尚霖, 谢华平, 吴小力, 黎培员, 刘梅, 田德安, 周琦

■背景资料

小肠长期以来都是消化系检查的盲区, 小肠结肠计算机体层成像(computed tomography, CT) 双期扫描在对病变定位、定性方面有一定局限性, 而电子小肠镜因具有深部可视化诊断和组织学诊断等独特优势而对小肠疾病有较强的诊断能力, 其临床应用日益广泛。

陈尚霖, 华中科技大学同济医学院附属同济医院第二临床学院 湖北省武汉市 430030

谢华平, 吴小力, 黎培员, 刘梅, 田德安, 周琦, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

陈尚霖, 在读本科生, 主要从事临床医学相关方面的研究。
作者贡献分布: 本课题由周琦与田德安设计; 谢华平、吴小力、黎培员、刘梅及周琦进行小肠镜操作; 陈尚霖与周琦进行病例收集、数据统计分析、论文撰写和修改; 周琦进行论文审阅和修改。

通讯作者: 周琦, 副教授, 副主任医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科. zhouqi@tjh.tjmu.edu.cn

电话: 027-83663334

收稿日期: 2013-09-11 修回日期: 2013-10-23

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-12-28

Diagnostic value of electronic enteroscopy in small bowel diseases

Shang-Lin Chen, Hua-Ping Xie, Xiao-Li Wu, Pei-Yuan Li, Mei Liu, De-An Tian, Qi Zhou

Shang-Lin Chen, Second Clinical College, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Hua-Ping Xie, Xiao-Li Wu, Pei-Yuan Li, Mei Liu, De-An Tian, Qi Zhou, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Qi Zhou, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, China. zhouqi@tjh.tjmu.edu.cn

Received: 2013-09-11 Revised: 2013-10-23

Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To evaluate the diagnostic value of electronic enteroscopy in small bowel diseases by comparing with enterocolonic double phase computed tomography (CT).

METHODS: A retrospective analysis of 273 electronic enteroscopy procedures were carried out in 170 patients with suspected small bowel diseases, 129 of whom received enterocolonic double phase CT scan at the same time. The indications, detection rate, positive findings, and diagnostic yield of electronic enteroscopy were compared with those of CT. The diagnostic ac-

curacy of electronic enteroscopy and CT was determined by comparing with pathological diagnosis.

RESULTS: Obscure gastrointestinal bleeding (OGIB) was the most common indication (60.6%, 103/170) for electronic enteroscopy. Inflammatory lesions, polyposis or tumors, and vascular lesions made up the first three positive findings of electronic enteroscopy in patients with suspected small bowel diseases. The detection rate and diagnostic yield of electronic enteroscopy were higher than those of CT [89.4% (152/170) vs 63.6% (82/129), 67.6% (115/170) vs 34.1% (44/129), both $P < 0.05$]. In patients with OGIB, the detection rate and diagnostic yield of electronic enteroscopy were also higher than those of CT [95.1% (98/103) vs 52.6% (41/78), 68.9% (71/103) vs 21.8% (17/78), both $P < 0.05$].

CONCLUSION: The diagnostic capacity of electronic enteroscopy is better than that of CT. Suspected OGIB is the most common indication for electronic enteroscopy, which has a relatively high detection rate and diagnostic yield. Electronic enteroscopy is a safe and effective diagnostic modality for small bowel diseases.

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

Key Words: Electronic enteroscopy; Computed tomography; Small bowel disease; Diagnosis

Chen SL, Xie HP, Wu XL, Li PY, Liu M, Tian DA, Zhou Q. Diagnostic value of electronic enteroscopy in small bowel diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4194-4199 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4194.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4194>

摘要

目的: 分析电子小肠镜的适应证、病变检出率、阳性发现和诊断率并与小肠结肠计算机体层成像(computed tomography, CT)双期扫描进行对比, 从而探讨电子小肠镜对小肠疾病的诊断价值。

■同行评议者

姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科

方法: 回顾性分析我院消化科疑诊为小肠疾病的患者170例, 所有患者均行电子小肠镜检查共273例次(经口检查152例次, 经肛检查121例次, 双侧对接检查103例次)。其中, 129例患者同时经过了小肠结肠CT双期扫描检查。对比分析小肠镜和CT的适应证、病变检出率及阳性发现, 并将小肠镜诊断、CT结果与病理诊断(内镜下活检病理或/和手术病理)进行比较, 判断小肠镜和CT的诊断准确率。

结果: 小肠镜检查适应证中, 不明原因消化系出血占60.6%(103/170)。炎性病变、息肉或肿瘤以及血管性病变是小肠镜的三大阳性发现。疑患小肠疾病患者中, CT的病变总检出率为63.6%(82/129), 整体诊断率为34.1%(44/129); 小肠镜的病变总检出率为89.4%(152/170), 整体诊断率为67.6%(115/170), 均明显高于CT($P<0.05$)。其中, 对于不明原因消化系出血患者, CT的病变检出率为52.6%(41/78), 诊断率为21.8%(17/78); 小肠镜的病变检出率为95.1%(98/103), 诊断率为68.9%(71/103), 小肠镜对不明原因消化道出血的病变检出率和诊断率亦高于CT($P<0.05$)。

结论: 电子小肠镜对小肠疾病的病变检出和诊断能力均明显优于CT, 并且对不明原因消化系出血有相对较高的病变检出率和诊断率, 是一种安全高效的小肠疾病检查方法。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 电子小肠镜; 计算机体层成像; 小肠疾病; 诊断

核心提示: 电子小肠镜对小肠疾病的病变检出和诊断能力均明显优于小肠结肠CT双期扫描, 并且对不明原因消化系出血有相对较高的病变检出率和诊断率。但考虑到CT的无创性, 临床上建议进行联合检查。

陈尚霖, 谢华平, 吴小力, 黎培员, 刘梅, 田德安, 周琦. 电子小肠镜在小肠疾病中的诊断价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4194-4199 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4194.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4194>

0 引言

小肠疾病起病隐匿、症状特异性不高, 且检查手段有限, 一直是胃肠道疾病诊治中的盲区。常规检查手段如钡剂造影、腹部B超等的敏感性及特异性均较差; 传统的推进式小肠镜所能探察到的小肠深度有限, 内镜仅能到达屈氏韧带

下40-150 cm处; 胶囊内镜由于其有较高的假阴性率、移动不能控制、容易漏诊单一病变, 尤其在临床上的运用^[1]。电子小肠镜包括了双气囊和单气囊小肠镜, 是近十年来先后发展起来的一项用于深部小肠检查的新方法^[1,2]。国内外初步的临床应用表明, 电子小肠镜对小肠疾病有很好的诊断能力, 检查并发症少。但由于其设备昂贵, 操作要求高, 且需要麻醉配合, 限制了其在临床上的广泛使用。小肠结肠CT双期扫描为非创伤性检查, 临床应用十分广泛。本文就我院自2009年以来积累的273例次电子小肠镜检查的病例作总结和分析, 并与小肠结肠CT双期扫描结果进行比较。

1 材料和方法

1.1 材料 2009-01/2013-03华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科, 对已接受电子胃镜和结肠镜检查未能确诊, 疑诊为小肠疾病的170例患者, 男103例, 女67例, 平均年龄43.0岁(15-82岁), 进行了273例次电子小肠镜检查, 其中经口152例次, 经肛121例次, 双侧对接检查103例次, 全小肠检查率为60.6%(103/170)。无一例发生并发症。170例患者中, 共有129例经过了小肠结肠CT双期扫描, 男78例, 女51例, 平均年龄43.5岁(15-82岁)。单气囊电子小肠镜系统由奥林巴斯公司生产, 包括主机(CV 260)、内镜(OLYMPUS SIF TYPE Q260)、外套管(ST-SB1)和气泵(OBCU)等。双气囊电子小肠镜系统由富士能公司生产, 包括主机(System 4400)、内镜(Fujinon EN-450P5/20)、外套管(Fujinon TS-13140)和气泵(PB-20)等。

1.2 方法

1.2.1 电子小肠镜检查: 患者于术前12 h清洁肠道, 口服复方聚乙二醇256 g。检查中予以丙泊酚与芬太尼全程静脉麻醉。根据患者的临床表现和相关检查结果提示选择首先从口腔和/或肛门进镜。当内镜抵达相应部位后如仍未发现病变, 用美蓝喷洒标记或印度墨水标记, 再由另一侧进镜完成全小肠的检查。

1.2.2 小肠结肠CT双期扫描: 采用美国通用电器公司生产的宝石CT(CT750 HD), 扫描条件为120 kV, 螺距0.984, 采集层厚5 mm, 重建层厚1.25 mm。患者于检查前1 h口服蒸馏水1000 mL。检查时静脉注入造影剂(碘帕醇注射液), 主动脉强化值达100-120 Hu时智能触发进行动脉期扫

■ 研发前沿
电子小肠镜的出现使内镜下完成全小肠的检查成为可能, 消除了检查盲区, 并可对小肠病变进行定位和活组织检查, 使小肠疾病的诊断有了显著进展。而小肠结肠CT双期扫描也具有一定诊断价值。目前国内对两者在小肠疾病中诊断价值的对比研究尚较缺乏。

■ 相关报道

国外有研究认为双气囊电子小肠镜是小肠疾病非手术诊断的金标准。2012年, Honda 比较了电子小肠镜与对比增强CT在小肠肿瘤诊断价值方面的差异, 结果显示前者的诊断准确率更高。但也有CT对小肠壁及肠外病变更具诊断优势的报道。因此, 陈李华等建议对疑患小肠疾病者进行二者的联合检查。

表 1 小肠镜和CT检查的适应证及病变检出率比较

适应证	小肠镜		CT		P值
	阳性例数(总数)	病变检出率(%)	阳性例数(总数)	病变检出率(%)	
不明原因消化系出血	98(103)	95.1	41(78)	52.6	<0.05
慢性腹痛	36(46)	78.3	26(33)	78.8	>0.05
不完全性肠梗阻	8(10)	80.0	9(10)	90.0	>0.05
慢性腹泻	6(6)	100.0	3(4)	75.0	- ¹
慢性腹胀	3(4)	75.0	2(3)	66.7	- ¹
不明原因纳差	1(1)	100.0	1(1)	100.0	- ¹
合计	152(170)	89.4	82(129)	63.6	<0.05

¹由于样本量较小而未计算P值。

表 2 小肠镜和CT在所有被检者及不明原因消化系出血者中的阳性发现(n)

阳性发现	小肠镜		CT	
	所有被检者	不明原因消化系出血	所有被检者	不明原因消化系出血
炎性病变	96	54	38	15
息肉或肿瘤	23	18	20	12
血管性病变	14	13	4	4
憩室	11	8	1	1
其他 ¹	8	5	19	9
合计	152	98	82	41

¹小肠镜的“其他”发现包括寄生虫2例, 隆起性病变性待查5例, 十二指肠、空肠交汇处狭窄(外压可能)1例; CT的“其他病变”包括不能确定病因的淋巴结增多、肠壁增厚, 定性不明的结论如无法确定炎性或肿瘤性病变, 以及其他无法明确病因的阳性发现如肠梗阻。

描, 延迟30 s进行静脉期扫描, 采集的数据经过ADW4.5系统进行图像处理分析并进行重建。

1.2.3 病理诊断: 包括内镜下活检或/和手术病理证实。无法通过内镜直视下明确诊断的病例, 对病灶及其周围组织进行多处取材并送病检。因发现占位性病变或诊断不明而行手术治疗的病例, 术后行病理检查明确病变性质。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件, 运用 χ^2 检验分析数据, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小肠镜和CT检查的适应证 170例疑患小肠疾病的患者均接受了小肠镜检查, 检查原因以不明原因消化系出血最为常见, 占60.6%(103/170), 其余为慢性腹痛27.1%(46/170), 不完全性肠梗阻5.9%(10/170), 慢性腹泻3.5%(6/170), 慢性腹胀2.4%(4/170), 不明原因纳差0.6%(1/170)。129例患者接受CT检查, 适应证与小肠镜相同, 其中不明原因消化系出血占60.5%(78/129)。

2.2 两者检查的病变检出率和阳性发现比较

2.2.1 病变检出率: 小肠镜和CT的病变总检出率分别为89.4%(152/170)和63.6%(82/129), 差异有统计学意义($P<0.05$)。对不明原因消化系出血的病变检出率小肠镜为95.1%(98/103), CT为52.6%(41/78), 差异有统计学意义($P<0.05$)。在不完全性肠梗阻、慢性腹泻、慢性腹胀中, 小肠镜的病变检出率分别为80.0%(8/10)、100.0%(6/6)、75.0%(3/4), CT则分别为90.0%(9/10)、75.0%(3/4)、66.7%(2/3), 二者差异无统计学意义。二者对慢性腹痛的病变检出率相近。两种检查手段的适应证和病变检出率的对比如表1。

2.2.2 阳性发现: 小肠镜的阳性发现中, 炎性病变(63.2%, 96/152)最为常见(表2), 其后依次为息肉或肿瘤(15.1%, 23/152)、血管性病变(9.2%, 14/152)、憩室(7.2%, 11/152)以及其他病变(5.3%, 8/152)。CT的前两位阳性发现与小肠镜相同, 但比例有差异, 分别为炎性病变46.3%(38/82)、息肉或肿瘤24.4%(20/82)。其中,

表 3 小肠镜和CT检查在不同适应证中的诊断率比较

适应证	小肠镜		CT		P值
	确诊数(检查总数)	诊断率(%)	确诊数(检查总数)	诊断率(%)	
不明原因消化系出血	71(103)	68.9	17(78)	21.8	<0.05
慢性腹痛	29(46)	63.0	19(33)	57.6	>0.05
不完全性肠梗阻	6(10)	60.0	5(10)	50.0	>0.05
慢性腹泻	5(6)	83.3	1(4)	25.0	-
慢性腹胀	3(4)	75.0	1(3)	33.3	-
不明原因纳差	1(1)	100.0	1(1)	100.0	-
合计	115(170)	67.6	44(129)	34.1	<0.05

■ 创新盘点

本文的创新之处在于, 比较电子小肠镜和小肠结肠CT二期扫描在适应证、病变检出率及阳性发现等方面的差异, 病例样本较多, 并将小肠镜诊断、CT结果与病理诊断这一金标准进行对照, 判断小肠镜和CT的诊断准确率, 使结论更加可信。

小肠镜的“其他病变”包括寄生虫病2例, 隆起性病变性质待定5例, 十二指肠、空肠交汇处狭窄(外压可能)1例; CT的“其他病变”包括不能确定病因的淋巴结增多、肠壁增厚, 定性不明的结论如无法确定炎性或肿瘤性病变, 以及其他无法明确病因的阳性发现如肠梗阻。

2.3 小肠镜与CT的诊断情况比较 我们将小肠疾病的诊断定义为: 经内镜下活检和/或手术病理证实, 并能够解释患者临床表现的综合诊断。170例患者中共有91例进行了内镜下活检, 并有35例因发现占位性病变或诊断不明等行手术治疗, 术后行病理检查明确病变性质。

2.3.1 小肠镜和CT的诊断率比较: 170例接受小肠镜检查的患者中, 经病理证实, 有115例的小肠镜结果与病理诊断相符, 小肠镜的整体诊断率为67.6%(115/170)。129例经CT检查的患者, 经病理证实有44例的CT结果与病理诊断一致, 整体诊断率为34.1%(44/129), 小肠镜对小肠疾病的整体诊断率高于CT($P<0.05$)。对于不明原因消化系出血的患者, 小肠镜的诊断率为68.9%(71/103), 显著高于CT的21.8%(17/78), 差异有统计学意义($P<0.05$)。两种检查手段对慢性腹痛、不完全性肠梗阻、慢性腹泻、慢性腹胀以及不明原因纳差的诊断率之间的差异无统计学意义(表3)。

2.3.2 小肠镜和CT对不同疾病的诊断准确率比较: 共有91例患者同时接受小肠镜和CT检查并经过了病理证实, 其中89例的小肠镜诊断与病理诊断一致, 而仅44例CT结果与病理诊断一致, 小肠镜的诊断准确率显著高于CT且差异有统计学意义($P<0.05$)。病理证实的炎性病变共61例, 包括非特异性炎症39例, 克罗恩病11例, 小肠多发溃疡7例, 小肠结核3例以及小肠淋巴管扩张1例。小肠镜对非特异性炎症等炎性病变的诊断准确率高于CT($P<0.05$)。17例息肉或肿瘤

性病变包括息肉6例, 间质瘤5例, 淋巴瘤4例, 平滑肌瘤1例, 腺癌1例。小肠镜和CT对小肠息肉或肿瘤的诊断率准确率分别为88.2%(15/17)和76.5%(13/17); 对血管性病变的诊断准确率分别为100.0%(6/6)和33.3%(2/6); 对小肠憩室的诊断准确率分别为100.0%(6/6)和0%(0/6), 但以上差异均无统计学意义(表4)。

3 讨论

电子小肠镜包括双气囊和单气囊电子小肠镜, 他们的先后问世使小肠疾病的诊断也由此有了引人注目的进展。与推进式小肠镜和其他传统诊断工具相比, 电子小肠镜在进镜深度、活检、标记、止血、息肉切除、狭窄扩张、支架植入及异物取出(包括留滞的胶囊内镜)等诸多方面有显著优势^[3]。目前, 双气囊电子小肠镜被认为是小肠疾病非手术诊断的金标准^[4], 其对小肠疾病的整体诊断率达到60%-80%^[5-9]。同时, 包括小肠结肠CT二期扫描等形式在内的CT检查以往多用于实质性脏器疾病的诊断, 随着空间分辨率和时间分辨率显著改善, 现已应用于各种空腔脏器包括小肠病变的诊断。文献报道CT对小肠疾病有一定的诊断价值, 能清晰反映肠壁和肠腔外的病变^[10,11], 但CT对不同性质病变的检出率和诊断率高低不等, 也缺乏其与小肠镜的对比分析。

所有疑诊小肠疾病中, 不明原因消化系出血仍是小肠镜最主要的检查适应证(60.6%, 103/170)。根据美国胃肠病学会(American Gastroenterology Association, AGA)的定义^[12], 不明原因消化系出血是指经过食管、胃、十二指肠镜检查、结肠镜检查、小肠放射学检查如小肠钡餐造影或小肠钡灌肠检查, 无明确病因的持续或者反复胃肠道出血。其余检查适应证依次为慢性腹痛、不完全性肠梗阻、慢性腹泻、慢

■应用要点

电子小肠镜对小肠疾病的定位、定性作用优势明显,同时小肠结肠CT双期扫描属无创性检查,本文为临床医师对小肠疾病的诊断提供了清晰的思路,即可联合以上二者对疑患小肠疾病者进行检查,这对于临床规范化处理小肠疾病尤其是不明原因消化系出血有一定指导意义。

表 4 91例病理证实病变中小肠镜与CT的诊断准确率比较 $n(\%)$

病理诊断	n	小肠镜	CT	P 值
炎性病变	61	61(100.0)	28(45.9)	<0.05
非特异性炎症	39	39(100.0)	16(41.0)	<0.05
克罗恩病 ¹	11	11(100.0)	6(54.5)	-
多发溃疡	7	7(100.0)	3(42.9)	-
结核	3	3(100.0)	3(100.0)	-
淋巴管扩张	1	1(100.0)	0(0)	-
息肉或肿瘤	17	15(88.2)	13(76.5)	>0.05
息肉 ²	6	6(100.0)	3(50.0)	-
间质瘤	5	4(80.0)	5(100.0)	-
淋巴瘤	4	3(75.0)	3(75.0)	-
平滑肌瘤	1	1(100.0)	1(100.0)	-
腺癌	1	1(100.0)	1(100.0)	-
血管性病变	6	6(100.0)	2(33.3)	-
憩室	6	6(100.0)	0(0)	-
粘连性肠梗阻	1	1(100.0)	1(100.0)	-
合计	91	89(97.8)	44(48.4)	<0.05

¹克罗恩病中有1例为同时合并白塞氏病; ²包括1例P-J综合征。

性腹胀以及不明原因纳差。170例患者的小肠镜阳性发现中,小肠炎性病变占63.2%,息肉或肿瘤15.1%,血管性病变9.2%,并且以上三种病变同样为不明原因消化系出血的三大阳性发现,这与国际上的大样本研究结果基本一致^[5]。炎性病变所占比例最大,内镜下发现的96例炎性病变有61例得到病理证实,包括非特异性炎症(39例),克罗恩病(11例)、小肠多发溃疡(7例)、小肠结核(3例)以及小肠淋巴管扩张(1例)。

本研究中电子小肠镜对不明原因消化系出血的病变检出率达到了95.1%(98/103),高于国内外其他研究结果^[6-8,13,14]。这可能与内镜下行全小肠检查的比例高低有关,亦受不同内镜中心对小肠镜检查适应证把握不同的影响。一项收集了1000例以上病例的系统评价显示其汇总的内镜下全小肠检查率为44.0%^[5],而我院经小肠镜行全小肠检查的比例达60.6%,明显高于文献报道水平,并且接受小肠镜检查的患者均已经通过常规胃镜、结肠镜检查排除了小肠以外部位的病变,因此小肠镜的病变检出率较高。同时,本研究中电子小肠镜对不明原因消化系出血的诊断率为68.9%(71/103)。但CT对不明原因消化系出血的病变检出率(52.6%, 41/78)和诊断率(21.8%, 17/78)均较低,原因可能为CT对较小出血灶尤其是炎性病变出血的敏感性较低,而后者正是导致消化系出血的最主要病因。本研究共纳入病例170例,同时研究电子小

肠镜(包括双气囊、单气囊小肠镜)和CT对小肠疾病的病变检出率和诊断率,CT的病变检出率为63.6%(82/129),诊断率为34.9%(45/129);小肠镜的病变检出率为89.4%(152/170),诊断率为67.6%(115/170),均高于CT,二者差异均有统计学意义($P<0.05$)。陈李华等^[15]对70例病例的研究结果与本研究一致。结合小肠镜对不明原因消化系出血的病变检出率和诊断率,本研究充分证实了电子小肠镜在小肠疾病尤其是不明原因消化系出血的病变检出和诊断方面的优势。这与小肠镜对小肠黏膜的观察更直观、清晰,可以通过控制镜身对可疑部位反复观察,尤其对可疑病变能够通过活检获得病理学诊断有直接关系。

国内鲜有报道CT对小肠炎性病变的诊断能力,本组经病理证实的病例中,小肠镜对炎性病变的诊断准确率远大于CT(100.0% vs 45.9%, $P<0.05$),可见小肠镜对炎性病变的确诊能力优于后者。对于小肠息肉或肿瘤,小肠镜和CT的诊断率准确率分别为88.2%和76.5%($P>0.05$)。

此外,通过对比小肠镜和CT检查结果与病理诊断的符合情况,不难发现在经病理证实的病例中,小肠镜有着很高的诊断准确率而CT却表现出较高的假阴性率,尤其在小肠炎性病变中,仅有45.9%的CT结果与病理诊断相符。这也提醒我们对于CT结果阴性的病例,并不能据此完全排除小肠病变。

■名词解释

不明原因消化系出血(OGIB):指经过食管、胃、十二指肠镜检查、结肠镜检查、小肠放射学检查如小肠钡餐造影或小肠钡灌肠检查,无明确病因的持续或者反复胃肠道出血。

虽然小肠镜较CT有更高的病变检出率和诊断率, 但存在检查有创、费用较高等不足, 而后者安全、无创、经济, 临床上仍将其广泛应用于小肠疾病的诊断。而且CT能够发现小肠壁及肠外的病变情况, 尽管其对小肠肿瘤的检出和诊断能力受肿瘤直径和类型的影响, 但仍有研究建议联合增强CT与内镜手段以获得满意的诊断效果^[9]。

总之, 电子小肠镜对小肠疾病有较高的病变检出率和诊断率, 尤其在不明原因消化系出血的诊断方面更具优势, 可作为小肠疾病的主要检查方式。CT因其检查的安全、无创性以及临床的广泛应用, 可作为小肠疾病的初步筛查手段。但电子小肠镜对小肠病变的定位、定性作用优势明显, 因此我们建议对疑患小肠疾病的患者进行联合检查。

4 参考文献

- Leighton JA. The role of endoscopic imaging of the small bowel in clinical practice. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 27-36; quiz 37 [PMID: 20978483 DOI: 10.1038/ajg.2010.410]
- Yamamoto H, Sekine Y, Sato Y, Higashizawa T, Miyata T, Iino S, Ido K, Sugano K. Total enteroscopy with a nonsurgical steerable double-balloon method. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 216-220 [PMID: 11174299 DOI: 10.1067/mge.2001.112181]
- Yamamoto H, Kita H, Sunada K, Hayashi Y, Sato H, Yano T, Iwamoto M, Sekine Y, Miyata T, Kuno A, Ajibe H, Ido K, Sugano K. Clinical outcomes of double-balloon endoscopy for the diagnosis and treatment of small-intestinal diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 1010-1016 [PMID: 15551254 DOI: 10.1016/s1542-3565(04)00453-7]
- May A, Färber M, Aschmoneit I, Pohl J, Manner H, Lotterer E, Möschler O, Kunz J, Gossner L, Mönkemüller K, Ell C. Prospective multicenter trial comparing push-and-pull enteroscopy with the single- and double-balloon techniques in patients with small-bowel disorders. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 575-581 [PMID: 20051942 DOI: 10.1038/ajg.2009.712]
- Xin L, Liao Z, Jiang YP, Li ZS. Indications, detectability, positive findings, total enteroscopy, and complications of diagnostic double-balloon endoscopy: a systematic review of data over the first decade of use. *Gastrointest Endosc* 2011; 74: 563-570 [PMID: 21620401 DOI: 10.1016/j.gie.2011.03.1239]
- Tanaka S, Mitsui K, Yamada Y, Ehara A, Kobayashi T, Seo T, Tatsuguchi A, Fujimori S, Gudis K, Sakamoto C. Diagnostic yield of double-balloon endoscopy in patients with obscure GI bleeding. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 683-691 [PMID: 18561920 DOI: 10.1016/j.gie.2008.03.1062]
- Sun B, Rajan E, Cheng S, Shen R, Zhang C, Zhang S, Wu Y, Zhong J. Diagnostic yield and therapeutic impact of double-balloon enteroscopy in a large cohort of patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2011-2015 [PMID: 16848814 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00664.x]
- Heine GD, Hadithi M, Groenen MJ, Kuipers EJ, Jacobs MA, Mulder CJ. Double-balloon enteroscopy: indications, diagnostic yield, and complications in a series of 275 patients with suspected small-bowel disease. *Endoscopy* 2006; 38: 42-48 [PMID: 16429354 DOI: 10.1055/s-2005-921188]
- Honda W, Ohmiya N, Hirooka Y, Nakamura M, Miyahara R, Ohno E, Kawashima H, Itoh A, Watanabe O, Ando T, Goto H. Enteroscopic and radiologic diagnoses, treatment, and prognoses of small-bowel tumors. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 344-354 [PMID: 22817787 DOI: 10.1016/j.gie.2012.04.443]
- Amitai MM, Arazi-Kleinman T, Hertz M, Apter S, Portnoy O, Guranda L, Chowers Y, Avidan B. Multislice CT compared to small bowel follow-through in the evaluation of patients with Crohn disease. *Clin Imaging* 2008; 32: 355-361 [PMID: 18760722 DOI: 10.1016/j.clinimag.2008.01.025]
- Anzidei M, Napoli A, Zini C, Kirchin MA, Catalano C, Passariello R. Malignant tumours of the small intestine: a review of histopathology, multidetector CT and MRI aspects. *Br J Radiol* 2011; 84: 677-690 [PMID: 21586504 DOI: 10.1259/bjr/20673379]
- Raju GS, Gerson L, Das A, Lewis B. American Gastroenterological Association (AGA) Institute medical position statement on obscure gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology* 2007; 133: 1694-1696 [PMID: 17983811 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.06.008]
- Hsu CM, Chiu CT, Su MY, Lin WP, Chen PC, Chen CH. The outcome assessment of double-balloon enteroscopy for diagnosing and managing patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 162-166 [PMID: 17160468 DOI: 10.1007/s10620-006-9554-x]
- 李运红, 吕瑛, 张晓琦, 刘明东, 姚玉玲, 于成功, 吴毓麟, 邹晓平. 单气囊小肠镜对不明原因消化道出血的诊断价值. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 510-512
- 陈李华, 曹海军, 章宏, 单国栋, 张冰凌, 姜玲玲, 李霖, 陈洪潭, 方英, 程瑛, 吴忱姣, 厉有名. 双气囊小肠镜与腹部CT在小肠疾病诊断中的临床价值. *中华医学杂志* 2008; 88: 3305-3308

同行评价

本文较新颖, 具有一定创新性和可读性, 能较好地反映我国胃肠病学临床的先进水平。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



阿莫西林联合雷贝拉唑在NSAIDs相关性溃疡治疗中的作用

苗凤英, 李彦飞, 步晓华, 张福成

■背景资料

非甾体类消炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)所引起的消化性溃疡的临床发生机制常为服用NSAIDs过多, 直接刺激胃黏膜分泌较多胃酸, 最终对胃黏膜的破坏程度大于其自身的修复程度, 导致胃黏膜损伤出现溃疡, 在中老年人中发病率较高, 降低了患者生活质量。

苗凤英, 张福成, 中国人民解放军空军总医院药学部 北京市 100142

李彦飞, 步晓华, 中国人民解放军空军总医院消化内科 北京市 100142

苗凤英, 主要从事药学的相关研究。

作者贡献分布: 此研究由苗凤英、李彦飞、步晓华及张福成共同设计完成; 研究过程由李彦飞与步晓华完成; 研究使用的药品由苗凤英提供; 数据分析与论文写作由苗凤英、李彦飞及步晓华共同完成; 张福成负责指导与文章修改。

通讯作者: 苗凤英, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院药学部, miaofengying@yahoo.cn

收稿日期: 2013-10-18 修回日期: 2013-11-07

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2013-12-28

Clinical effects of amoxicillin combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules for NSAIDs associated peptic ulcer

Feng-Ying Miao, Yan-Fei Li, Xiao-Hua Bu, Fu-Cheng Zhang

Feng-Ying Miao, Fu-Cheng Zhang, Department of Pharmacy, Air General Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100142, China

Yan-Fei Li, Xiao-Hua Bu, Department of Gastroenterology, Air General Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100142, China

Correspondence to: Feng-Ying Miao, Department of Pharmacy, Air General Hospital of Chinese People's Liberation Army, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. miaofengying@yahoo.cn

Received: 2013-10-18 Revised: 2013-11-07

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To assess the effects of amoxicillin combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules for NSAIDs associated peptic ulcer.

METHODS: One hundred and eighty-four patients with NSAIDs associated peptic ulcer (NSAIDs use \geq 4 wk) were divided into an observation group (amoxicillin combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules) and a control group (placebo combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules), with 92 patients in each group. Each cycle consisted of 4 weeks of continuous administration. Therapeutic results and clinical symptoms were recorded,

and bleeding events and adverse reactions were also recorded in the follow-up period.

RESULTS: The total effective rate was significantly higher in the observation group than in the control group (97.8% vs 90.2%, $\chi^2 = 4.604$, $P < 0.05$). The time to remission of gastric pain also differed between the two groups (2.9 d \pm 1.1 d vs 4.3 d \pm 1.6 d, $t = 6.916$, $P < 0.05$). The rates of gastrointestinal bleeding events at 6 mo and 1 year in the observation group were significantly lower than those in the control group (5.4% vs 14.1%, 8.7% vs 22.8%, $\chi^2 = 4.301$, 7.491, both $P < 0.05$). No adverse reactions were found in both groups.

CONCLUSION: Amoxicillin combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules is effective and safe in the treatment of NSAIDs associated peptic ulcer.

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

Key Words: Amoxicillin; Rabeprazole sodium enteric-coated capsules; NSAIDs associated peptic ulcer

Miao FY, Li YF, Bu XH, Zhang FC. Clinical effects of amoxicillin combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules for NSAIDs associated peptic ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4200-4203 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4200.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4200>

摘要

目的: 对阿莫西林联合雷贝拉唑在非甾体类消炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)相关性溃疡治疗中的作用进行探讨。

方法: 选取服用NSAIDs \geq 4 wk且经胃镜确诊为NSAIDs相关性溃疡的患者184例, 随机分为观察组(阿莫西林+雷贝拉唑钠肠溶胶囊)92例和对照组(安慰剂+雷贝拉唑钠肠溶胶囊)92例, 治疗4 wk为1个疗程。对患者治疗结果和临床症状缓解情况进行统计, 并随访记录患者消化系统出血事件和不良反应发生情况。

结果: 观察组的总有效率为97.8%, 显著高于

■同行评议者

季国忠, 教授, 南京医科大学第二附属医院消化科

对照组(90.2%), 差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.604, P < 0.05$). 腹痛缓解时间观察组与对照组分别为 $2.9 \text{ d} \pm 1.1 \text{ d}$ 和 $4.3 \text{ d} \pm 1.6 \text{ d}$, 观察组明显优于对照组, 组间差异具有统计学意义($t = 6.916, P < 0.05$). 观察组患者随访6 mo、1年的消化系出血事件发生率分别为5.4%和8.7%, 显著低于对照组(14.1%和22.8%), 差异有统计学意义($\chi^2 = 4.301, 7.491, P < 0.05$). 两组患者在治疗和随访过程中均无大出血等不良反应的发生, 肝肾功能无影响.

结论: 阿莫西林联合雷贝拉唑钠在治疗NSAIDs相关消化性溃疡中, 起效时间快, 安全有效, 值得临床推广.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 阿莫西林; 济诺(雷贝拉唑钠肠溶胶囊); 非甾体类消炎药相关性溃疡

核心提示: 采用阿莫西林联合雷贝拉唑对非甾体类消炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs)引起的消化性溃疡进行治疗, 患者痊愈率高, 疗效显著, 治疗后半年内以及1年内的消化系出血发生率显著低于单用质子泵抑制剂组, 且安全无不良反应, 有效改善患者的生活质量.

苗凤英, 李彦飞, 步晓华, 张福成. 阿莫西林联合雷贝拉唑在NSAIDs相关性溃疡治疗中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4200-4203 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4200.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4200>

0 引言

消化性溃疡是一种消化性疾病且往往因胃酸过多而引起, 幽门螺旋杆菌感染和非甾体类消炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)的服用也是消化性溃疡的重要发病因素^[1]. 其中NSAIDs会减少前列腺素(prostaglandin, PG)的合成导致屏障功能减弱, 并透过胃肠道黏膜上皮细胞进入胞体内电离出 H^+ , 破坏细胞黏膜, 从而导致炎症反应和溃疡的形成^[2-4]. 特别在大剂量服用的老年患者以及药物依赖性患者中更易发生^[5]. 我们采用阿莫西林联合雷贝拉唑对NSAIDs引起的消化性溃疡进行治疗, 效果较好, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2011-01/2012-04消化性溃疡患者共184例. 所有患者均有长期NSAIDs服用

史(服用时间 $\geq 4 \text{ wk}$), 并经胃镜镜检与活组织检测确诊为NSAIDs相关性溃疡. 其中男126例, 女58例, 年龄33-73岁, 平均年龄 $43 \text{ 岁} \pm 5.6 \text{ 岁}$. 根据随机数字表法将其分为观察组与对照组各92例. 观察组中男62例, 女30例, 平均年龄为 $41 \text{ 岁} \pm 1.7 \text{ 岁}$, 其中曾服用非选择性NSAIDs 71例, 环氧合酶-2选择性NSAIDs 21例; 对照组中男59例, 女33例, 平均年龄 $43 \text{ 岁} \pm 1.7 \text{ 岁}$, 其中曾服用非选择性NSAIDs 71例, 环氧合酶-2选择性NSAIDs 21例; 所有患者均排除妊娠哺乳期妇女, 排除合并糖尿病、高血压、冠心病、房颤、慢性阻塞性肺疾病或严重肾功能不全者, 排除曾施行消化系手术患者, 排除有药物过敏史者或伴血液疾病者, 排除临床上需长期使用质子泵抑制剂类药物进行治疗的消化性溃疡患者. 两组患者在性别、年龄、服用NSAIDs的种类、黏膜损伤部位、损伤程度上差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者均停止服用NSAIDs, 治疗之前均做青霉素皮试, 无过敏者. 对照组患者采用济诺(雷贝拉唑钠肠溶胶囊, 江苏济川制药有限公司)进行治疗, 口服 20 mg/次 , 1 次/d , 于清晨空腹整粒吞服, 餐后口服安慰剂胶囊, 2 粒/次 , 3 次/d . 观察组患者服用济诺, 用量同对照组, 餐后服用阿莫西林胶囊(沈阳药业股份有限公司, 0.25 g/粒), 2 粒/次 , 3 次/d . 两组患者均 4 wk 为1个疗程. 连续观察至止血 24 h 以上. 1 mo 后行胃镜检查, 所有患者均随访1年对消化系出血情况进行监测和统计.

1.2.2 观察指标: (1)对两组患者治疗前后肝肾功能情况进行常规检测, 记录不良反应; (2)对患者临床症状进行观察和分析; (3)连续胃镜检查患者临床痊愈情况. 当患者溃疡愈合或瘢痕消失, 且炎症情况消失则判为痊愈; 患者溃疡愈合、瘢痕消失, 周围炎症明显好转则判为显效; 患者溃疡面积缩小50%及以上, 周围炎症有所好转则判为有效; 患者溃疡面积缩小不到50%或无变化, 周围炎症无好转甚至加重, 则判为无效. 其中痊愈、显效、有效统计为总有效.

统计学处理 采用SPSS18.0软件包进行统计学分析, 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 并采用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验. $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较 观察组中经治疗痊

■ 研发前沿

随着NSAIDs的应用越来越广泛, 对患者胃肠黏膜的损害成为该类药物的主要不良反应. NSAIDs类消化性溃疡幽门螺旋杆菌的感染率较高, 而幽门螺旋杆菌可对多种抗菌药物耐药, 较难根治, 单联药物往往难以奏效, 需多联药物进行治疗.

■ 相关报道

目前多数人认为胃酸过多仍是NSAIDs消化性溃疡的主要原因, 且多表现为消化系出血, 目前治疗主要以单纯的质子泵抑制剂进行抑酸治疗为主, 必要时添加胃黏膜保护剂, 该方法对于减少消化系出血有一定的作用, 但整体根治率较低.

■创新盘点

本研究采用质子泵抑制剂和β-内酰胺类抗生素治疗NSAIDs消化性溃疡,在对胃酸进行抑制的同时,对消化系中可能存在的幽门螺杆菌进行杀灭,协同作用,维持消化系内的菌群平衡,疗效较好,患者复发率低。

表 1 两组患者胃镜下疗效比较($n = 92$)

分组	痊愈	显效	有效	无效	痊愈率(%)	总有效率(%)
观察组	45	36	9	2	48.9	97.8 ^a
对照组	32	40	11	9	34.8	90.2

$\chi^2 = 4.604$, ^a $P < 0.05$ vs 对照组。

表 2 两组患者腹痛缓解情况和随访消化系出血情况比较($n = 92$)

分组	腹痛缓解时间 (d)	消化系出血 n (%)		
		3 mo	6 mo	1年
观察组	2.9 ± 1.1	3(3.3)	5(5.4)	8(8.7)
对照组	4.3 ± 1.6	8(8.7)	13(14.1)	21(22.8)
t/χ^2 值	6.916	2.533	4.301	7.491
P 值	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05

愈45例,痊愈率48.9%,总有效率97.8%。高于对照组痊愈率34.8%(32/92),总有效率90.2%。观察组的总有效率显著高于对照组,差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.604$, $P < 0.05$)(表1)。

2.2 两组患者腹痛缓解情况和随访出血事件发生情况 观察组与对照组腹痛缓解时间分别为2.9 d ± 1.1 d和4.3 d ± 1.6 d,观察组腹痛缓解明显较对照组快,且差异具有统计学意义($t = 6.916$, $P < 0.05$)。观察组患者随访3、6 mo和1年的消化系出血发生率分别为3.3%、5.4%和8.7%,观察组患者随访3、6 mo和1年的消化系出血发生率分别为8.7%、14.1%和22.8%,观察组患者随访6 mo和1年的消化系出血发生率均显著低于对照组,差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.301$ 、7.491, $P < 0.05$)(表2)。

2.3 不良反应发生情况 两组患者均顺利治疗并完成随访,治疗中和治疗后均无大出血等不良反应的发生,常规观测肝肾情况,与治疗前相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

消化性溃疡的临床发生机制常为胃黏膜的破坏程度大于其自身的修复程度,超出了其防御水平所导致^[6]。NSAIDs所引起的消化性溃疡也同样具有酸依赖性的特点。他主要通过对胃肠道黏膜上皮的损害而产生作用。透过上皮细胞进入胞体内抑制了环氧合酶-1的合成,进而减少了胃黏膜中具有保护作用的PG。解离出大量的H⁺,造成胃酸过多的同时影响细胞代谢,从而使得胃黏膜发生损伤^[7,8]。同时,他的代谢毒性破坏了

细胞间的完整性,增大细胞膜通透性增加了炎性蛋白分子,促进了胃黏膜的糜烂和溃疡形成。脑肠相互作用机制受到酸的刺激后大脑信号增强,产生高敏症状,从而导致腹痛、消化不良、恶心等临床症状^[9]。

雷贝拉唑是近年来较新一代质子泵抑制剂,通过抑制胃壁细胞中H⁺-K⁺-ATP酶的活性从而抑制因刺激引起的胃酸分泌,使溃疡受损部位得到缓解,减轻对胃黏膜的破坏,影响神经末梢的感觉信息传入,从而影响肠道动力^[10,11]。临床已有大量研究证明质子泵抑制剂是治疗溃疡的有效方法^[12]。阿莫西林适用于溶血链球菌、肺炎链球菌、葡萄球菌、流感嗜血杆菌、大肠埃希菌、幽门螺杆菌等引起的各类感染^[13,14]。虽然传统学说认为消化性溃疡是由胃酸与胃蛋白酶导致胃肠的防御菌群不均衡所致,但近年来有研究表明,大约80%以上的胃溃疡和十二指肠溃疡均由幽门螺杆菌感染所致,而阿莫西林与质子泵抑制剂联合治疗可根除85%的幽门螺杆菌,且用药4 wk根除效果较好^[15]。

在本次研究中,观察组的总有效率为97.8%,显著高于对照组(90.2%),差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.604$, $P < 0.05$)。观察组与对照组腹痛缓解时间分别为2.9 d ± 1.1 d和4.3 d ± 1.6 d,观察组腹痛缓解明显较对照组快,间差异具有统计学意义($P < 0.05$)。在随访过程中,随访6 mo和1年消化系出血事件的发生率观察组均少于对照组,组间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者在治疗和随访过程中均无大出血等不良反应的发生。

总之,济诺(雷贝拉唑)联合阿莫西林在治疗

■应用要点

雷贝拉唑联合阿莫西林在治疗NSAIDs相关消化性溃疡,症状缓解以及起效时间快,疗效显著,治疗后半年及1年内消化系出血发生率低,有效降低细菌耐药率,且患者无明显不良反应以及并发症,值得临床推广使用。

NSAIDs相关消化性溃疡中, 症状缓解起效时间明显优于雷贝拉唑联合安慰剂组, 且安全有效, 值得推广使用。

4 参考文献

- 1 吴春城, 杜志毅, 谢会忠. 非甾体抗炎药和幽门螺杆菌感染与消化性溃疡发病的关系. *中国医药* 2011; 6: 1363-1365
- 2 陈樵. 非甾体类消炎药导致消化道溃疡伴出血临床研究. *中国现代药物应用* 2012; 6: 7-8
- 3 赵青山. 上消化道溃疡伴出血患者危险因素分析. *岭南急诊医学杂志* 2013; 18: 275-276
- 4 Morgner A, Miehke S, Labenz J. Esomeprazole: prevention and treatment of NSAID-induced symptoms and ulcers. *Expert Opin Pharmacother* 2007; 8: 975-988 [PMID: 17472543 DOI: 10.1517/14656566.8.7.975]
- 5 Yeomans ND, Naesdal J. Systematic review: ulcer definition in NSAID ulcer prevention trials. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 465-472 [PMID: 18194499 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03610]
- 6 Leontiadis GI, Sreedharan A, Dorward S, Barton P, Delaney B, Howden CW, Orhewere M, Gisbert J, Sharma VK, Rostom A, Moayyedi P, Forman D. Systematic reviews of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of proton pump inhibitors in acute upper gastrointestinal bleeding. *Health Technol Assess* 2007; 11: iii-iv, 1-164 [PMID: 18021578]
- 7 Jones R, Rubin G, Berenbaum F, Scheiman J. Gastrointestinal and cardiovascular risks of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Med* 2008; 121: 464-474 [PMID: 18501223 DOI: 10.1016/j.amjmed.2008.01.045]
- 8 曾云. 奥美拉唑与泮托拉唑治疗消化道溃疡出血的比较. *贵阳医学院学报* 2008; 33: 282-283, 286
- 9 Rao SS. Advances in diagnostic assessment of fecal incontinence and dyssynergic defecation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 910-919 [PMID: 20601142 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.06.004]
- 10 王莉, 邹晓平, 曹俊, 田觅. 雷贝拉唑抑制大鼠胃壁细胞泌酸功能的机制研究. *中华消化杂志* 2008; 28: 617-620
- 11 刘莉, 王芳, 洪喆, 吴琦, 於健. 以雷贝拉唑和兰索拉唑为基础的三联疗法治疗复发性消化道溃疡的疗效比较. *中国临床医学* 2010; 17: 513-514
- 12 上海市医学会消化分会胃肠动力学组. 多中心临床观察雷贝拉唑联合多潘立酮治疗胃食管反流病的症状缓解情况. *中华消化杂志* 2011; 31: 761-765
- 13 何明顺, 漆红, 李志. 四联疗法治疗幽门螺杆菌阳性十二指肠球部溃疡疗效观察. *中华全科医学* 2011; 13: 1163-1164
- 14 柯金珍, 郑建伟, 张志阳, 陈雅真. 阿莫西林与阿莫西林双氯西林钠对幽门螺杆菌根治的对照研究. *中国临床药理学杂志* 2013; 29: 106-108
- 15 刘北京, 朱铭. 雷贝拉唑联合阿莫西林治疗幽门螺杆菌阳性消化性溃疡并出血疗效观察. *中国基层医药* 2010; 17: 397-398

■同行评价
本文对临床应用具有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



MLH1基因启动子甲基化和结肠癌关系的Meta分析

曾锦荣, 阮族明, 莫林芳, 陈晖

■背景资料

DNA错配修复基因的失活被认为是结直肠癌发生的一种重要发病机制, Mutl homolog1(*MLH1*)基因是DNA错配修复基因的主要基因, 其启动子的甲基化对于结直肠癌的发生和发展起重要作用。但我国少有这方面的研究在证实这方面的关系。

曾锦荣, 阮族明, 莫林芳, 陈晖, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

曾锦荣, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤早期诊断和治疗方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由曾锦荣与陈晖共同设计完成; 文献检索由曾锦荣与莫林芳完成; 数据采集由曾锦荣与莫林芳完成; 数据分析由曾锦荣与阮族明完成; 论文写作由曾锦荣与陈晖完成。

通讯作者: 陈晖, 副主任医师, 硕士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科. chenhui680804@163.com

电话: 0771-5356596

收稿日期: 2013-09-18 修回日期: 2013-10-29

接受日期: 2013-11-13 在线出版日期: 2013-12-28

Relationship between *MLH1* promoter methylation and colorectal cancer: A meta-analysis

Jin-Rong Zeng, Zu-Ming Ruan, Lin-Fang Mo, Hui Chen

Jin-Rong Zeng, Zu-Ming Ruan, Lin-Fang Mo, Hui Chen, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Hui Chen, Associate Chief Physician, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. chenhui680804@163.com

Received: 2013-09-18 Revised: 2013-10-29

Accepted: 2013-11-13 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between mutL homolog 1 (*MLH1*) promoter hypermethylation and colorectal cancer (CRC).

METHODS: Relevant trials were identified by searching electronic databases including PubMed, Embase, Web of Science, Cochrane Library, CBM, CNKI, WANGFANG and VIP database updated to July 2013. The English search terms included *MLH1*, mutL homolog 1, promoter methylation, colon cancer and CRC, and the Chinese search terms included *MLH1* gene promoter methylation and colorectal cancer. Stata11.0 software was used for statistical analysis.

RESULTS: A total of 11 articles involving 1496 CRC cases and 382 controls were analyzed in the

study. Statistically significant odds ratios (OR) of *MLH1* promoter methylation were obtained between total cases and controls (OR = 7.863, 95%CI: 4.537-13.627, $P < 0.05$), between tumor tissues of CRC patients and those of healthy persons (OR = 8.246, 95%CI: 3.522-19.307, $P < 0.05$), and between tumor tissues and non-tumorous tissues of CRC patients (OR = 7.549, 95%CI: 3.685-15.464, $P < 0.05$).

CONCLUSION: *MLH1* promoter hypermethylation may contribute to the development of colon cancer and has appreciated value in the diagnosis of this malignancy.

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

Key Words: *MLH1* promoter; Methylation; Colon cancer; Meta-analysis

Zeng JR, Ruan ZM, Mo LF, Chen H. Relationship between *MLH1* promoter methylation and colorectal cancer: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4204-4209 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4204.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4204>

摘要

目的: 探讨Mutl homolog1(*MLH1*)基因启动子甲基化对结肠癌(colorectal cancer, CRC)的影响。

方法: 以*MLH1*、Mutl homolog1、promoter methylation、Colon cancer、CRC为英文检索词, *MLH1*基因启动子甲基化、结直肠癌为中文检索词, 在Pubmed、Web of science、Embase、Cochrane Library、中国生物医学文献数据库、清华同方数据库、万方数据库及维普数据库收集截止至2013-08-01有关于研究*MLH1*基因启动子甲基化和结肠癌关系的文献, 应用Stata11.0软件对符合条件的研究结果进行统计分析。

结果: 符合纳入标准的共11篇文献, 包含有结肠癌患者1496例, 对照382例。数据合并结果显示: *MLH1*基因启动子甲基化在总病例组和总对照组的比值比(odds ratios, OR)为7.863, 95%

■同行评议者

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

的可信区间(95%CI): 4.537-13.627, $P < 0.05$. 病例组和健康人组的OR = 8.246, 95%CI为3.522-19.307, $P < 0.05$. 病例组和非癌组的OR为7.549, 95%CI: 3.685-15.464, $P < 0.05$.

结论: *MLH1*基因甲基化和结肠癌的发生可能有密切关系, 在结肠癌的诊治中有一定的价值.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: *MLH1*启动子; 甲基化; 结直肠肿瘤; Meta分析

核心提示: 不论是总的对照组, 或是对照组中的癌旁组织、健康人组织, 结肠癌的Mutl homolog1(*MLH1*)基因启动子甲基化数目都大于对照组. 证实了*MLH1*基因启动子的甲基化和结肠癌的发生可能存在密切相关.

曾锦荣, 阮族明, 莫林芳, 陈晖. *MLH1*基因启动子甲基化和结肠癌关系的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4204-4209
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4204.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4204>

0 引言

结肠癌(colorectal cancer, CRC)在全世界具有高发病率, 尤其在西方发达国家, 其发病率位居肿瘤第2位. 世界范围内, 结肠癌的发病率居男性恶性肿瘤的第3位, 女性发病率仅次于乳腺癌, 居第2位^[1]. 虽然我国结肠癌发病率远低于欧美等发达国家地区. 但近年来, 尤其是我国的大城市地区, 发病率明显上升, 且发病年轻化^[2]. 结肠癌的发生发展是一个多步骤、多阶段及多基因参与的复杂过程. 结肠癌的病因至今还不是很明确, 但结肠癌的发生可认为三大原因: 第一是非典型增生; 第二是微卫星不稳定; 第三是基因异常甲基化^[3]. 第三种原因占了所有原因30%, 且被认为是后天逐渐发展形成的. 近年研究表明, Mutl homolog1(*MLH1*)基因是DNA错配修复基因的重要组成部分^[4], *MLH1*基因启动子甲基化后, 导致DNA错配修复基因的失活, 使得错配的基因不能得到及时的修复, 导致基因突变, 进而导致结直肠肿瘤的发生^[5,6]. 该机制被认为是结直肠癌的一种重要发病机制, 尤其见于遗传性非息肉型结肠癌. 但Lee研究认为, *MLH1*基因启动子的甲基化和结肠癌无明显关联^[7]. Bai等^[8]、Psosfaki等^[9]研究发现*MLH1*基因在腺瘤中仅低水平甲基化. 故本研究针对*MLH1*基因启动子甲基

化和结肠癌的关系进行了Meta分析.

1 材料和方法

1.1 材料 计算机检索Pubmed、Web of science、Embase、中国生物医学文献数据库、清华万方数据库、万方数据库及维普数据库, 英文检索词包括*MLH1*、Mutl homolog1、promoter methylation、Colon cancer、CRC, 中文检索词包括*MLH1*基因启动子甲基化、结直肠癌. 所有文章的搜索不设时间限制, 截止时间为2013-08-01. 为避免漏查, 对检索到文章中的参考文献进行补充检索.

1.2 方法

1.2.1 文章的纳入标准: (1)必须是以人为研究对象、*MLH1*基因启动子甲基化和结直肠癌的关系为研究对象; (2)必须有病例组和对照组; (3)研究所用的标本为结直肠黏膜组织; (4)能获得全文且有综合的统计指标: 有效率的比值比(odds ratios, OR). 剔除标准: (1)病例组中没有*MLH1*基因启动子甲基化和非甲基化, 或对照组中没有*MLH1*基因启动子甲基化和非甲基化的文章; (2)数据不全; (3)无法获取全文者.

1.2.2 数据提取: 作者, 文章发表年限, 实验方法, 原始四格表数据.

统计学处理 采用Stata11.0软件对资料进行统计分析. Meta分析之前, 先进行异质性检验分析, 若 $P > 0.1$, $I^2 < 50\%$, 表明异质性不明显, 则采用固定效应模型分析; 若 $P < 0.1$, $I^2 > 50\%$, 表明存在明显的异质性, 可采用随机效应模型估计合并效应量. 若异质性过于明显则需要对异质性的来源进行分析及敏感性分析. 计数资料的效应量表达采用OR值及95%CI, $P < 0.05$ 表示有统计学意义. 若纳入的文献达11篇以上, 则绘制漏斗图, 用以发表偏倚分析.

2 结果

2.1 文献检测结果 最初检测到的结果129篇文献, 最终纳入标准的共11篇. 11篇入选的文献中, 有2篇文章有肿瘤组织和癌旁组织对照研究, 有7篇文章是肿瘤组织和健康人组织对照研究, 有2篇文章是肿瘤组织和非肿瘤组织对照研究. 其中病例组结肠癌患者1496例, 对照组共382例, 健康人组织134例, 非健康人组织248例(表1).

2.2 *MLH1*基因甲基化和结肠癌的Meta分析结果

2.2.1 *MLH1*基因在总病例组和总对照组中的甲

■ 研发前沿

*MLH1*作为DNA错配修复基因的主要组成部分, 其基因的突变或甲基化, 均会导致细胞DNA错配修复功能的缺陷. 进而导致了结直肠癌的发生. 多项研究表明了, *MLH1*基因启动子甲基化对结直肠癌的发生、发展和转移都起重要作用.

■ 相关报道

美国国立综合癌症网络2013年发布的临床实践指南中指出, DNA错配修复基因(如*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*)突变和修饰会导致错配修复(mismatch repair, MMR)蛋白缺失. II期结肠癌患者中, MMR蛋白缺失是预后良好的标志. 专家组MMR蛋白检测应强烈建议在所有50岁以下的结肠癌患者中开展.

■ 创新盘点

近年来国内外对 *MLH1* 基因启动子甲基化和结肠直肠癌的关系十分关注, 本研究采用 Meta 分析对近 20 年来已发表的有关 *MLH1* 基因启动子甲基化和结肠直肠癌关系的研究文献进行综合分析, 对 *MLH1* 基因启动子甲基化在正常组织及非癌组织中表达差异进行评价, 并估计其危险值 OR, 为结肠直肠癌的诊断提供依据。

表 1 纳入文献的基本数据

文献编号	作者	发表时间	国家	CRC组/对照组	甲基化检测方法	tp	fn	fp	tn
1	Miyakura等 ^[24]	2001	日本	肿瘤/癌旁组织	PCR	40	48	10	78
2	Koinuma等 ^[25]	2005	日本	肿瘤/癌旁组织	COBRA	8	8	0	8
3	Joensuu等 ^[26]	2008	芬兰	肿瘤/正常组织	MSP	19	89	0	40
4	Wong等 ^[27]	2010	澳大利亚	肿瘤/正常组织	PCR	96	850	0	21
5	Nuovo等 ^[28]	2006	美国	肿瘤/正常组织	MSP	4	3	0	10
6	Psofaki等 ^[9]	2010	希腊	肿瘤/正常	MSP	13	7	6	14
7	Ahliquist等 ^[29]	2008	挪威	肿瘤/正常	MSP	11	41	0	21
8	Vaughn等 ^[30]	2010	美国	肿瘤/正常	MethyLight	11	19	0	12
9	Fujiwara等 ^[31]	2008	日本	肿瘤/正常	ABC	4	7	2	18
10	Lee等 ^[7]	2011	韩国	肿瘤/非肿瘤	MSP	2	110	0	112
11	Anacleto等 ^[32]	2005	巴西	肿瘤/非肿瘤	MSP	19	87	0	30

tp: 真阳性数; fn: 假阴性数; fp: 假阳性数; tn: 真阴性数; 非肿瘤: 包括了腺瘤、息肉等非癌组织。CRC结肠直肠癌。COBRA: 结合重亚硫酸盐的限制性内切酶法; MSP: 甲基化特异性PCR; ABC: 过氧化物酶复合法。

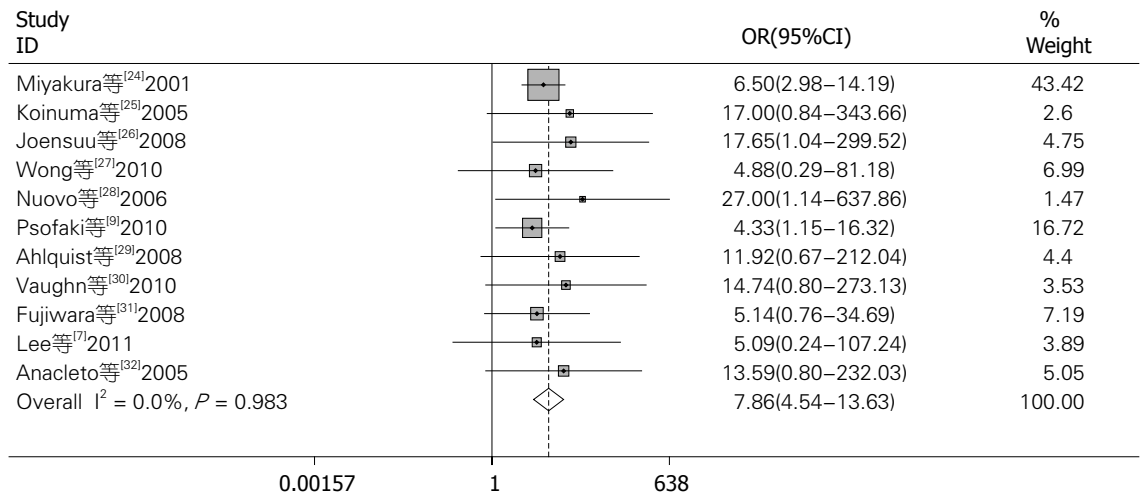


图 1 *MLH1* 基因在总病例组和总对照组甲基化 Meta 分析结果森林图。

甲基化: 11 个研究病例组和对照组对 *MLH1* 基因启动子甲基化与结肠直肠癌的关系进行比较, 共有结肠癌患者 1496 例, 对照 382 例。其中有 227 例 (15.17%) 肿瘤组织和 74 例 (4.71%) 对照组发生甲基化。Meta 分析显示: 异质性结果 $I^2 = 0.0\%$, $P > 0.05$, 不存在明显的异质性 (图 1), 采用固定效应模型分析: 得到合并的 OR = 7.863, 95%CI: 4.537-13.627, $P < 0.05$ 两组间差异有统计学意义。

2.2.2 *MLH1* 基因在肿瘤组织和正常组织的甲基化: 7 个研究实验组和对照组对 *MLH1* 甲基化与结肠直肠癌的关系进行比较, 结肠癌组织 1174 例, 健康组织 144 例。其中有 158 例 (13.46%) 肿瘤组织和 8 例 (5.56%) 正常组织发生甲基化。Meta 分析显示: 异质性结果 $I^2 = 0.00\%$, $P > 0.05$ (图 2), 采用固定效应模型: 得到合并的 OR = 8.246, 95%CI:

3.522-19.307, $P < 0.05$ 两组间的差别有统计学意义。

2.2.3 *MLH1* 基因在肿瘤组织和非健康人组织的甲基化: 4 个研究实验组和对照组对 *MLH1* 甲基化与结肠直肠癌的关系进行比较, 结肠癌肿瘤组织 322 例, 非健康人组织 238 例。其中有 69 例 (21.43%) 肿瘤组织和 10 例 (4.20%) 癌旁组织发生甲基化。Meta 分析显示: 异质性结果 $I^2 = 0.0\%$, $P > 0.05$, 不存在明显的异质性, 采用固定效应模型分析: 得到合并的 OR = 7.549, 95%CI: 3.685-15.464, $P < 0.05$ 两组间差异有统计学意义 (图 3)。

2.3 发表性偏倚估计 对本研究的 11 篇文章数据采用 Egger's test 方法进行发表性检测, $t = 2.16$, $P > 0.05$ 。显示本研究发表性偏倚较小, 结论较可靠。

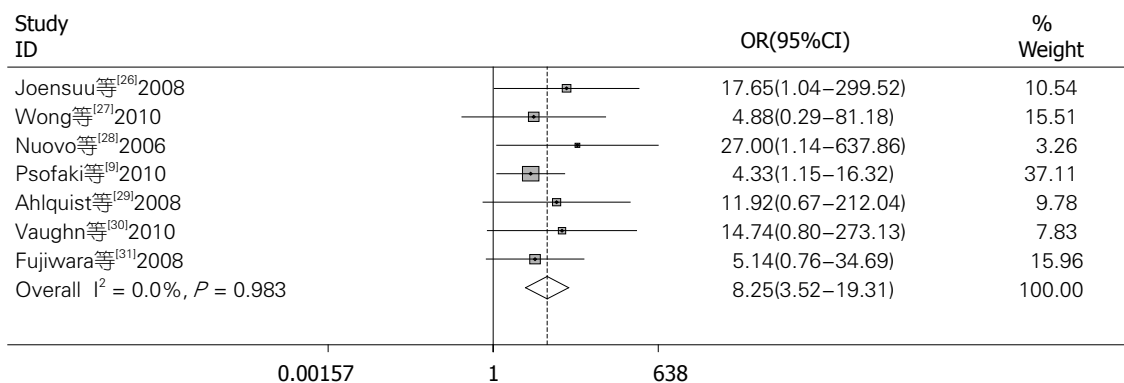


图 2 *MLH1*基因在肿瘤组织和正常组织的甲基化Meta分析结果的森林图。

应用要点
*MLH1*基因启动子甲基化在正常组织及非癌组织中表达具有显著差异, 和结肠癌的发生和发展有密切的关系, 所以对*MLH1*基因启动子甲基化进行检测, 对临床结肠癌的诊断和靶向治疗有临床指导意义。

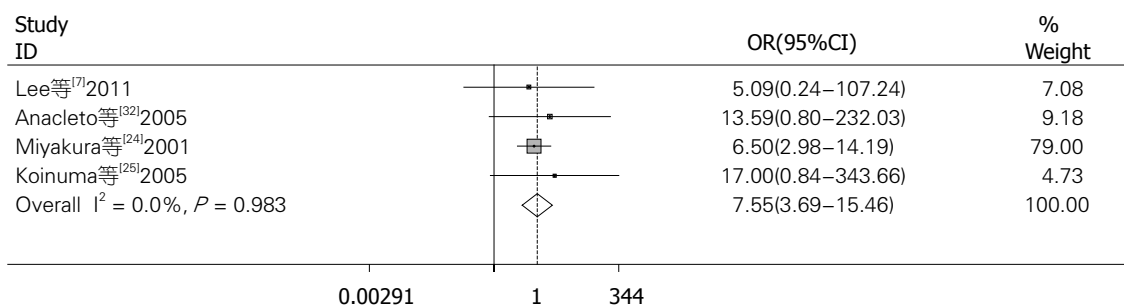


图 3 *MLH1*基因在肿瘤组织和非健康人组织的甲基化Meta分析结果森林图。

3 讨论

结肠癌是常见的恶性肿瘤之一, 随着近年来生活水平的提高, 饮食结构的改变, 其发病率逐年上升。由于结肠癌的高发病率和高致死率, 因此对于结肠癌的发病机制的研究具有重要意义。DNA错配修复基因的失活被认为是结直肠癌的一种重要发病机制^[10]。DNA错配修复系统由一系列特异性修复DNA碱基错配分子组成, 是人体修复DNA碱基错配的安全保障系统。DNA错配修复基因[主要是*MLH1*, MutS homolog 2(*MSH2*), *MSH6*, postmeiotic segregation increased 1(*PMS1*), *PMS2*]的突变或甲基化, 均会导致细胞DNA错配修复功能的缺陷, 产生遗传不稳定和肿瘤易感^[11]。*MLH1*基因是由19个外显子组成, 定位于3p21.3, 是DNA错配修复的主要基因, 在多种组织中均有表达。*MLH1*基因启动区是一个CPG岛高密度分布区, 这里极易产生甲基化作用, 启动区CPG岛的甲基化后, 引起*MLH1*基因的沉默, 导致了错配修复(mismatch repair, MMR)的失活, 进而导致结直肠的肿瘤的发生^[12-14]。近年来国内外对*MLH1*基因启动子甲基化对结肠癌的影响的研究较多, 但各研究的结果并不一致。国外Miyakura等^[15]的研究中提示了*MLH1*基因启动子甲基化是结直肠癌重要

发病机制。国内吉敏等^[16]研究也有同样观点。但是Lee等^[7]在韩国人中研究发现h*MSH2*和*MGMT*的CpG岛的甲基化和结直肠癌密切相关, 而不是*MLH1*基因。Bai等^[8]、Psofaki等^[9]研究发现*MLH1*基因在腺瘤中仅低水平甲基化。Kim等^[17]研究发现*MLH1*在腺瘤、腺癌、转移性肿瘤中并无明显区别。

本研究按询证医学设计的要求, 筛选出的11篇文章, 并以此为依据利用了Meta分析软件进行分析。为避免入选的文章存在异质性, 本研究对纳入的文章进行了发表性偏倚的估计, 结果显示本研究受发表性偏倚影响较小, 结论较可靠。对*MLH1*基因甲基化和结肠癌的关系荟萃分析, 结果显示: 结肠癌病例组发生*MLH1*基因启动子甲基化的可能性是对照组的7.863倍, 95%CI: 4.537-13.627, 两组间差异有统计学意义($P < 0.05$); 结肠癌病例组发生*MLH1*基因启动子甲基化的可能性是正常组织的8.246倍, 95%CI: 3.522-19.307, 两组间差异有统计学意义($P < 0.05$); 结肠癌病例组发生*MLH1*基因启动子甲基化的可能性是非健康人组织的7.549倍, 95%CI: 3.685-15.464, 两组间的差别有统计学意义($P < 0.05$)。以上结果表明, 不论是总的对照组, 或是对照组中的癌旁组织、健康人组织, 结肠

■名词解释

DNA错配修复(MMR)系统是人体修复DNA碱基错配的安全保障体系,有一系列特异性错配修复基因组成(如MLH1, MSH2, MSH6)。错配修复基因发生甲基化或突变,均会导致细胞的DNA错配修复功能缺陷,产生遗传不稳定和肿瘤易感。

癌的MLH1基因启动子甲基化数目都大于对照组。证实了MLH1基因启动子的甲基化和结肠癌的发生可能存在密切相关。

Meta分析本质上属于观察性研究,所收集的文献及在对文献的统计分析过程中,必然存在着偏倚,偏倚对Meta分析结果的真实性和可靠性有很大影响。关于MLH1基因启动子甲基化和结肠癌的文章较少,本研究经过筛选后最终只有11篇文章入选,但发表性偏倚检测 $P>0.05$,提示发表性偏倚较小,结论较可靠。本研究纳入的文献均为英文文献,未检测出国内和其余外语的国家对于MLH1基因启动子甲基化和结肠癌关系相类似的研究,这是本研究的局限性。且由于纳入的文献较少,无法对MLH1基因启动子甲基化是否在腺瘤和腺癌中存在差别及是否和肿瘤的转移和分期有关进行研究。另外,MLH1基因启动子甲基化受年龄、人种等因素影响^[18,19],及MLH1基因启动子甲基化可发生在多个基因位点,陶卫平等^[20]与Lipken等^[21]研究认为MLH1基因415G/C多态性会增加结肠癌的易感性,Allan等^[22]与Raptis等^[23]研究认为MLH1基因93G/A多态性会增加结直肠癌的发病风险。本文在文献检索时,没有收集到更多关于MLH1基因启动子相关位点多态性对结直肠癌的影响的文献,所以无法对MLH1启动子相关位点多态性对结直肠癌的影响进行进一步Meta的分析。以后更多相关文献报道后,可对年龄、人种等因素对MLH1基因启动子甲基化影响和不同位点多态性对结直肠癌的影响进行更深层次的研究。

总之,MLH1基因启动子甲基化和结肠癌的发生和发展有密切的关系,对临床结肠癌的诊断和靶向治疗有临床指导意义。随着甲基化技术的进步和检测水平的提高,Meta分析将对此做出更准确的评价,以指导临床运用。

4 参考文献

- Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 106-130 [PMID: 16514137 DOI: 10.3322/canjclin.56.2.106]
- Fengju S, Guanglin W, Kexin C. Incidence of colon cancer in Tianjin, China, 1981-2000. *Asia Pac J Public Health* 2005; 17: 22-25 [PMID: 16044828 DOI: 10.1177/101053950501700106]
- Mirchev MB, Kahl P, Friedrichs N, Kotzev IA, Buettner R. DNA methylation in patients with colorectal cancer--correlation with some clinical and morphological features and with local tumour invasion. *Folia Med (Plovdiv)* 2010; 52: 22-30 [PMID: 20836393 DOI: 10.2478/v10153-010-0043-9]

- Auclair J, Vaissière T, Desseigne F, Lasset C, Bonadona V, Giraud S, Saurin JC, Joly MO, Leroux D, Faivre L, Audouyand C, Montmain G, Ruano E, Herceg Z, Puisieux A, Wang Q. Intensity-dependent constitutional MLH1 promoter methylation leads to early onset of colorectal cancer by affecting both alleles. *Genes Chromosomes Cancer* 2011; 50: 178-185 [PMID: 21213371 DOI: 10.1002/gcc.20842]
- Kuismanen SA, Holmberg MT, Salovaara R, Schweizer P, Aaltonen LA, de La Chapelle A, Nyström-Lahti M, Peltomäki P. Epigenetic phenotypes distinguish microsatellite-stable and -unstable colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 12661-12666 [PMID: 10535979 DOI: 10.1073/pnas.96.22.12661]
- Cunningham JM, Christensen ER, Tester DJ, Kim CY, Roche PC, Burgart LJ, Thibodeau SN. Hypermethylation of the hMLH1 promoter in colon cancer with microsatellite instability. *Cancer Res* 1998; 58: 3455-3460 [PMID: 9699680]
- Lee KH, Lee JS, Nam JH, Choi C, Lee MC, Park CS, Juhng SW, Lee JH. Promoter methylation status of hMLH1, hMSH2, and MGMT genes in colorectal cancer associated with adenoma-carcinoma sequence. *Langenbecks Arch Surg* 2011; 396: 1017-1026 [PMID: 21706233 DOI: 10.1007/s00423-011-0812-9]
- Bai AH, Tong JH, To KF, Chan MW, Man EP, Lo KW, Lee JF, Sung JJ, Leung WK. Promoter hypermethylation of tumor-related genes in the progression of colorectal neoplasia. *Int J Cancer* 2004; 112: 846-853 [PMID: 15386372 DOI: 10.1002/ijc.20485]
- Psofaki V, Kalogera C, Tzambouras N, Stephanou D, Tsianos E, Seferiadis K, Kolios G. Promoter methylation status of hMLH1, MGMT, and CDKN2A/p16 in colorectal adenomas. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3553-3560 [PMID: 20653064 DOI: 10.3748/wjg.v16.i28.3553]
- Liu J, Albarracín CT, Chang KH, Thompson-Lanza JA, Zheng W, Gershenson DM, Broaddus R, Luthra R. Microsatellite instability and expression of hMLH1 and hMSH2 proteins in ovarian endometrioid cancer. *Mod Pathol* 2004; 17: 75-80 [PMID: 14631366 DOI: 10.1038/sj.modpathol.3800017]
- 陶卫平, 胡胜, 谢忆山, 蒋振旻. 错配修复基因MLH1突变与散发结肠癌易感性的研究. *中华实验外科杂志* 2009; 26: 752-754
- Kane MF, Loda M, Gaida GM, Lipman J, Mishra R, Goldman H, Jessup JM, Kolodner R. Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. *Cancer Res* 1997; 57: 808-811 [PMID: 9041175]
- 邢玉林, 皋岚湘, 高小玲. MSI-H单发性肠癌中hMLH1基因启动区甲基化测定在癌症临床诊断和早期治疗中的作用和意义. *中国现代医学杂志* 2005; 15: 3731-3732
- Herman JG, Umar A, Polyak K, Graff JR, Ahuja N, Issa JP, Markowitz S, Willson JK, Hamilton SR, Kinzler KW, Kane MF, Kolodner RD, Vogelstein B, Kunkel TA, Baylin SB. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 6870-6875 [PMID: 9618505 DOI: 10.1073/pnas.95.12.6870]
- Miyakura Y, Sugano K, Akasu T, Yoshida T, Maekawa M, Saitoh S, Sasaki H, Nomizu T, Konishi F, Fujita S, Moriya Y, Nagai H. Extensive but hemiallelic methylation of the hMLH1 promoter

- region in early-onset sporadic colon cancers with microsatellite instability. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 147-156 [PMID: 15017620 DOI: 10.1016/S1542-3565(03)00314-8]
- 16 吉敏, 盛剑秋, 付蕾. 遗传性非息肉病性结直肠癌错配修复基因MLH1启动子甲基化研究. *胃肠病学和肝病学杂志* 2008; 17: 291-293
- 17 Kim YH, Petko Z, Dzieciatkowski S, Lin L, Ghiassi M, Stain S, Chapman WC, Washington MK, Willis J, Markowitz SD, Grady WM. CpG island methylation of genes accumulates during the adenoma progression step of the multistep pathogenesis of colorectal cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2006; 45: 781-789 [PMID: 16708352 DOI: 10.1002/gcc.20341]
- 18 Schafmayer C, Buch S, Egberts JH, Franke A, Brosch M, El Sharawy A, Conring M, Koschnick M, Schwiedernoch S, Katalinic A, Kremer B, Fölsch UR, Krawczak M, Fändrich F, Schreiber S, Tepel J, Hampe J. Genetic investigation of DNA-repair pathway genes PMS2, MLH1, MSH2, MSH6, MUYH, OGG1 and MTH1 in sporadic colon cancer. *Int J Cancer* 2007; 121: 555-558 [PMID: 17417778 DOI: 10.1002/ijc.22735]
- 19 Nakagawa H, Nuovo GJ, Zervos EE, Martin EW, Salovaara R, Aaltonen LA, de la Chapelle A. Age-related hypermethylation of the 5' region of MLH1 in normal colonic mucosa is associated with microsatellite-unstable colorectal cancer development. *Cancer Res* 2001; 61: 6991-6995 [PMID: 11585722]
- 20 陶卫平, 胡胜, 冯觉平, 谢忆山. MLH1基因415G/C多态与结肠癌遗传易感性的关联研究. *中华医学遗传学杂志* 2009; 26: 317
- 21 Lipkin SM, Rozek LS, Rennert G, Yang W, Chen PC, Hacia J, Hunt N, Shin B, Fodor S, Kokoris M, Greenson JK, Fearon E, Lynch H, Collins F, Gruber SB. The MLH1 D132H variant is associated with susceptibility to sporadic colorectal cancer. *Nat Genet* 2004; 36: 694-699 [PMID: 15184898 DOI: 10.1038/ng1374]
- 22 Allan JM, Shorto J, Adlard J, Bury J, Coggins R, George R, Katory M, Quirke P, Richman S, Scott D, Scott K, Seymour M, Travis LB, Worrillow LJ, Bishop DT, Cox A. MLH1 -93G > A promoter polymorphism and risk of mismatch repair deficient colorectal cancer. *Int J Cancer* 2008; 123: 2456-2459 [PMID: 18712731 DOI: 10.1002/ijc.23770]
- 23 Raptis S, Mrkonjic M, Green RC, Pethe VV, Monga N, Chan YM, Daftary D, Dicks E, Younghusband BH, Parfrey PS, Gallinger SS, McLaughlin JR, Knight JA, Bapat B. MLH1 -93G > A promoter polymorphism and the risk of microsatellite-unstable colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 463-474 [PMID: 17374836 DOI: 10.1093/jnci/djk095]
- 24 Miyakura Y, Sugano K, Konishi F, Ichikawa A, Maekawa M, Shitoh K, Igarashi S, Kotake K, Koyama Y, Nagai H. Extensive methylation of hMLH1 promoter region predominates in proximal colon cancer with microsatellite instability. *Gastroenterology* 2001; 121: 1300-1309 [PMID: 11729109]
- 25 Koinuma K, Kaneda R, Toyota M, Yamashita Y, Takada S, Choi YL, Wada T, Okada M, Konishi F, Nagai H, Mano H. Screening for genomic fragments that are methylated specifically in colorectal carcinoma with a methylated MLH1 promoter. *Carcinogenesis* 2005; 26: 2078-2085 [PMID: 16033773 DOI: 10.1093/carcin/bgi184]
- 26 Joensuu EI, Abdel-Rahman WM, Ollikainen M, Ruosaari S, Knuutila S, Peltomäki P. Epigenetic signatures of familial cancer are characteristic of tumor type and family category. *Cancer Res* 2008; 68: 4597-4605 [PMID: 18559504 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6645]
- 27 Wong JJ, Hawkins NJ, Ward RL, Hitchins MP. Methylation of the 3p22 region encompassing MLH1 is representative of the CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Mod Pathol* 2011; 24: 396-411 [PMID: 21102416 DOI: 10.1038/modpathol.2010.212]
- 28 Nuovo GJ, Nakagawa H, Sotamaa K, Chapelle Ade L. Hypermethylation of the MLH1 promoter with concomitant absence of transcript and protein occurs in small patches of crypt cells in unaffected mucosa from sporadic colorectal carcinoma. *Diagn Mol Pathol* 2006; 15: 17-23 [PMID: 16531764]
- 29 Ahlquist T, Lind GE, Costa VL, Meling GI, Vatn M, Hoff GS, Rognum TO, Skotheim RI, Thiis-Evensen E, Lothe RA. Gene methylation profiles of normal mucosa, and benign and malignant colorectal tumors identify early onset markers. *Mol Cancer* 2008; 7: 94 [PMID: 19117505 DOI: 10.1186/1476-4598-7-4]
- 30 Vaughn CP, Wilson AR, Samowitz WS. Quantitative evaluation of CpG island methylation in hyperplastic polyps. *Mod Pathol* 2010; 23: 151-156 [PMID: 19855373 DOI: 10.1038/modpathol.2009.150]
- 31 Fujiwara I, Yashiro M, Kubo N, Maeda K, Hirakawa K. Ulcerative colitis-associated colorectal cancer is frequently associated with the microsatellite instability pathway. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1387-1394 [PMID: 18546042 DOI: 10.1007/s10350-008-9212-9]
- 32 Anacleto C, Leopoldino AM, Rossi B, Soares FA, Lopes A, Rocha JC, Caballero O, Camargo AA, Simpson AJ, Pena SD. Colorectal cancer "methylator phenotype": fact or artifact? *Neoplasia* 2005; 7: 331-335 [PMID: 15967110 DOI: 10.1593/neo.04502]

同行评价

本文采取Meta分析的方法对*MLH1*基因启动子甲基化在结肠癌和非癌组织中表达的差异进行评价,对临床结肠癌的诊断和靶向治疗有临床指导意义。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



酷似肝脓肿的肉瘤样肝细胞癌1例

张文娟, 郭昱, 蒋树林, 巩翠洁, 高咏梅

■背景资料

肉瘤样肝细胞癌是一种少见的恶性肿瘤, 临床上表现不典型, 时有误诊的发生, 随着人们生活方式等改变, 近几年该病似有增多的趋势, 提高对该病的认识、准确诊断显得尤为重要。

张文娟, 郭昱, 蒋树林, 巩翠洁, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000

高咏梅, 河北北方学院附属第一医院消化内科 河北省张家口市 075000

张文娟, 在读硕士, 主要从事肝病的基础与临床研究。

作者贡献分布: 本文由张文娟撰写; 郭昱审校; 蒋树林指导临床治疗; 巩翠洁与高咏梅收集资料。

通讯作者: 郭昱, 副教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平路215号, 河北医科大学第二医院消化内科。

guoyu123123@sina.com

电话: 0311-66002958

收稿日期: 2013-10-09 修回日期: 2013-11-05

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-28

Sarcomatoid hepatocellular carcinoma resembling a liver abscess: A case report

Wen-Juan Zhang, Yu Guo, Shu-Lin Jiang, Cui-Jie Gong, Yong-Mei Gao

Wen-Juan Zhang, Yu Guo, Shu-Lin Jiang, Cui-Jie Gong, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Yong-Mei Gao, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China

Correspondence to: Yu Guo, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. guoyu123123@sina.com

Received: 2013-10-09 Revised: 2013-11-05

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-28

Abstract

Sarcomatoid hepatocellular carcinoma is a rare malignant tumor, which lacks characteristic imaging and clinical manifestations and is easy to be misdiagnosed. Here we report a case of sarcomatoid hepatocellular carcinoma resembling a liver abscess, which was finally confirmed by pathology. A differential diagnosis of sarcomatoid hepatocellular carcinoma should be based on combined laboratory tests and imaging results, not rely too much on imaging results. Liver biopsy should be performed as early as possible when necessary to avoid misdiagnosis.

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

Key Words: Liver; Sarcomatoid carcinoma; Differ-

ential diagnosis

Zhang WJ, Guo Y, Jiang SL, Gong CJ, Gao YM. Sarcomatoid hepatocellular carcinoma resembling a liver abscess: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4210-4212 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4210.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4210>

摘要

肉瘤样肝细胞癌是发生于肝脏的一种少见的恶性肿瘤, 影像学及临床表现缺乏特异性, 易造成误诊, 本例患者的临床及影像学表现均似肝脓肿, 最终病理证实为肉瘤样肝细胞癌。实际诊疗过程中不能过分依赖影像学结果, 充分结合实验室检查, 进行鉴别诊断, 必要时及早进行病理学检查, 避免误诊及延误病情。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝脏; 肉瘤样癌; 鉴别诊断

核心提示: 肉瘤样肝细胞癌是一种少见的恶性肿瘤, 表现不典型, 诊断困难, 国内仅有散在报道, 本病例与之前报道又有不同之处, 现对一酷似肝脓肿的肉瘤样肝细胞癌病例作一报道。

张文娟, 郭昱, 蒋树林, 巩翠洁, 高咏梅. 酷似肝脓肿的肉瘤样肝细胞癌1例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(36): 4210-4212 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4210.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4210>

0 引言

肉瘤样肝细胞癌是临床上一种少见的恶性肿瘤, 表现不典型, 诊断存在一定困难, 国内仅有散在报道, 本病例与之前报道又有不同之处, 临床及影像学表现极似肝脓肿, 现报道如下。

1 病例报告

女, 56岁, 主因食欲不振半个月, 发热、右上腹部疼痛3 d入院。查体: 生命体征平稳, 皮肤巩膜无黄染; 心肺查体未见异常; 腹平坦, 软, 无压痛、反跳痛及肌紧张, 肝脾未触及, 肝区无明显叩击痛, 移动性浊音阴性, 肠鸣音正常存在, 双

■同行评议者
虞必光, 教授, 遵义医学院附属医院消化科



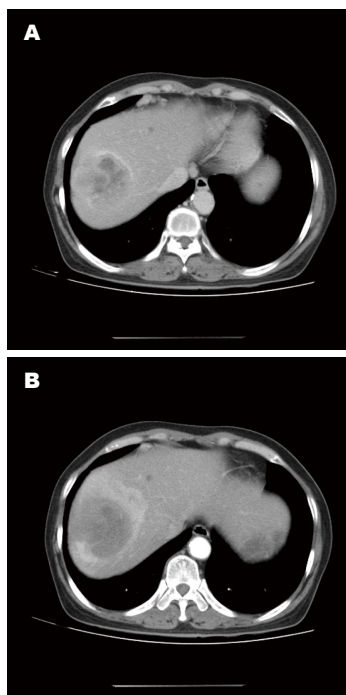


图1 影像学资料. A: 肝脏CT平扫; B: 肝脏增强扫描. 肝右叶团块影似见厚壁, 增强后呈明显强化, 病变上部边界清晰, 后部边界模糊, 呈明显不均匀强化, 病变内可见斑片状低密度区, 增强后未见明显强化.

下肢无水肿. 既往有高血压、糖尿病病史. 实验室检查: 血常规WBC $10.8 \times 10^9/L$, NE% 77.2%, Hb 96 g/L, PLT $717 \times 10^9/L$; 肝功能ALT 126 U/L, AST 56 U/L, ALB 33.5 g/L; 血沉140 mm/L; CRP 196 mg/L; AFP 1.99 ng/mL; 乙肝五项及丙肝抗体均阴性; 影像学表现: 上腹部CT平扫+强化: (1)肝右叶团块状混杂密度影, 考虑肝脓肿可能性大, 建议密切结合临床资料及实验室检查并1 wk后复查; (2)肝内多发囊肿(图1). 诊断为肝脓肿, 给予抗感染及保肝治疗, 患者症状缓解, 无发热、腹痛等不适, 但复查CT肝脏病变较前无明显变化, 并进一步查MRI示: (1)肝右叶第VIII肝段病变, 符合肝脓肿改变; (2)肝内多发散在囊肿. 多次复查血沉、CRP仍处于较高水平, 后拟行肝脓肿穿刺及肝组织活检术, B超引导下未见明显的液化, 未穿出脓液, 于病变中心穿出白色胶冻样物质送病理, 并于病变边缘取肝组织送病理检查. 结果病理回报:考虑两瓶组织均为肉瘤样肝细胞肝癌(图2). 免疫组织化学结果显示: 广CK(+++), Vim(+++), AFP(-), SmA(-), CD34(++血管), Ki67(30%). 患者拒绝进一步转科手术治疗出院, 8 mo时随访, 后患者行手术治疗, 大体所见: 肝组织9 cm×8 cm×4 cm, 切开几乎均为肿物, 切面灰白质脆, 膈肌受侵. 术后患者一般情况可. 目前健在.

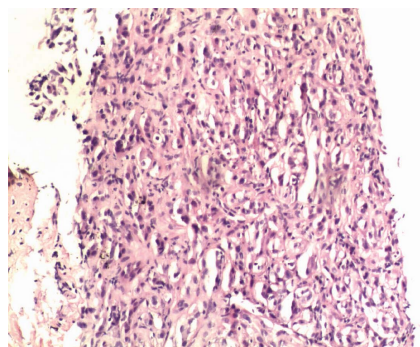


图2 肿瘤组织(H&E染色×200). 镜下肿瘤细胞由大量梭形细胞组成.

2 讨论

肉瘤样肝细胞癌(sarcomatoid hepatocellular carcinoma, SHC)是发生于肝脏的一种少见的恶性肿瘤, 恶性程度高, 预后较差, 1年生存率几乎为零^[1]. 也有报道SHC较普通肝细胞癌体积大, 其预后尚不清楚^[2]. 组织学上, SHC是由恶性上皮性成分和梭形细胞肉瘤样成分构成的. 其本质是一种特殊类型的癌而非肉瘤或癌肉瘤, 其组织来源一直存有争议. 国内偶有报道^[3], 对此病的认识尚不足. 临床上, 肉瘤样肝细胞癌与普通肝细胞癌的发生率在年龄和性别的分布上没有差异, 腹痛和发热可能是最常见的症状, 血清AFP不高是他的一个特征^[4], 本例于此一致. 患者的影像学表现极似肝脓肿, CT及MR平扫强化均提示符合肝脓肿的表现, 抗感染治疗后, 一般状况好转, 腹痛、发热消失, AFP正常, 被误诊为肝脓肿. 但长疗程抗感染后复查CT无明显变化, 血沉、CRP炎症指标高居不下, 虽然AFP正常, CT表现不支持, 但根据临床经验血沉持续>100 mm/h, 多见于肿瘤、免疫系统疾病等, 随进一步行肝组织活检, 结果病理提示肉瘤样肝细胞癌. 肉瘤样肝细胞癌具有肉瘤和肝细胞癌的双重特征^[5], 临床及CT表现均较普通型肝细胞癌相对不典型, 而近年来, 随着抗生素的应用、就诊时间的不同, 肝脓肿的临床及CT表现也多种多样^[6], 给诊断带来困难. 通过此病例我们得出: (1)实际诊疗过程中不能过分依赖影像学结果; (2)临床医生应做到见微知著, 不应忽略任何有异常的化验结果, 例如本例患者血沉异常升高、轻度贫血等均提示肿瘤可能; (3)认真做好鉴别诊断工作, 病理为诊断的金标准, 必要时尽早进行组织活检. 丰富临床经验及扎实基础知识是临床诊疗的基础, 结合患者的临床表现、辅助检查和临床思维、经验, 才能更好地诊断疾病, 避免误诊和延误病情.

■相关报道

国内可见散在的报道, 多集中于分析肉瘤样肝细胞癌的CT及病理表现, 提示肉瘤样肝细胞癌具有肉瘤和一般类型肝细胞癌的双重特征.

■创新盘点

本病例的临床及影像学表现等各方面极似肝脓肿, 是该病与肝脓肿鉴别的一个很好的实例, 并提醒广大医务工作者, 不能过分依赖影像学检查, 在鉴别诊断过程中血清学指标也不容忽视, 例如血沉在许多疾病中起重要作用等.

■同行评价

本文对临床医生提高对该病的认识有一定的价值。

3 参考文献

- 1 Seok JY, Kim YB. [Sarcomatoid hepatocellular carcinoma]. *Korean J Hepatol* 2010; 16: 89-94 [PMID: 20375648 DOI: 10.3350/kjhep.2010.16.1.89]
- 2 Shin HP, Jeon JW, Park JJ, Cha JM, Joo KR, Lee JJ, Kim GY, Kang SY. A case of leukemoid reaction in a patient with sarcomatous hepatocellular carcinoma. *Korean J Hepatol* 2011; 17: 226-228 [PMID: 22102390 DOI: 10.3350/kjhep.2011.17.3.226]
- 3 金光玉, 延光海, 赵志梅. 肉瘤样肝细胞癌1例. *中国临床医学影像杂志* 2009; 20: 955-956
- 4 Han JH, Park YN, Jung WH, Chi HS, Park C. A case with sarcomatoid hepatocellular carcinoma. *Yonsei Med J* 1998; 39: 390-394 [PMID: 9752807]
- 5 杨炼, 陈立波, 潘华雄, 韩萍. 原发性肉瘤样肝细胞癌的CT诊断. *临床放射学杂志* 2009; 28: 21
- 6 朱石柱, 黄丽雪, 吴俊峰, 赵瑞华. 非典型肝脓肿CT误诊原因分析. *疑难病杂志* 2012; 11: 59-61

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、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。

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

《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology, WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如 $37.6\text{ }^\circ\text{C} \pm 1.2\text{ }^\circ\text{C}$, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 应为 $3.56\text{ ng/L} \pm 0.27\text{ ng/L}$. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $1 \times 10^9/\text{L}$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r 明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 与 $5 \times 10^{-7}\text{ g}$ 之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量 γ 改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 95 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数±标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之之一的精密度. 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 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1 000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcj@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcyj@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会
会议地点: 美国旧金山
联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia
会议地点: 美国
联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周
(CNW 2013)
会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城
联系方式: http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会
会议地点: 美国休斯顿
联系方式: http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1]

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议
会议地点: 美国
联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)
会议地点: 加拿大
联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议
会议地点: 新加坡
联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛
会议地点: 深圳市
联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会
会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛
联系方式: http://www.centrsurg.org/meeting/futuremtgs.html

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)
会议地点: 北京市
联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛
会议地点: 瑞士
联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会
会议地点: 西安市
联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会
会议地点: 西安市
联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会
会议地点: 美国芝加哥
联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤
营养与支持治疗学术会议
会议地点: 武汉市
联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学学术论坛
会议地点: 张家界市
联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 银川市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会
会议地点: 天津市
联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

党双锁 教授
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

杜雅菊 主任医师
哈尔滨医科大学附属第二医院

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊红 教授
东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

傅华群 教授
南昌大学第二附属医院

官泳松 教授
四川大学华西医院放射科

关玉盘 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

刘连新 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

林潮双 主任医师
中山大学附属第三医院

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

倪润洲 教授
南通大学附属医院消化内科

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

石毓君 副研究员
四川大学华西医院

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

度必光 教授
遵义医学院附属医院

王刚 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

王蔚虹 教授
北京大学第一医院

魏睦新 教授
南京医科大学第一附属医院

吴君 主任医师
贵阳医学院附属医院感染科

肖秀英 主治医师
上海市徐汇区中心医院

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院脾胃病研究所

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：



2012年1月
图书馆



百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

