

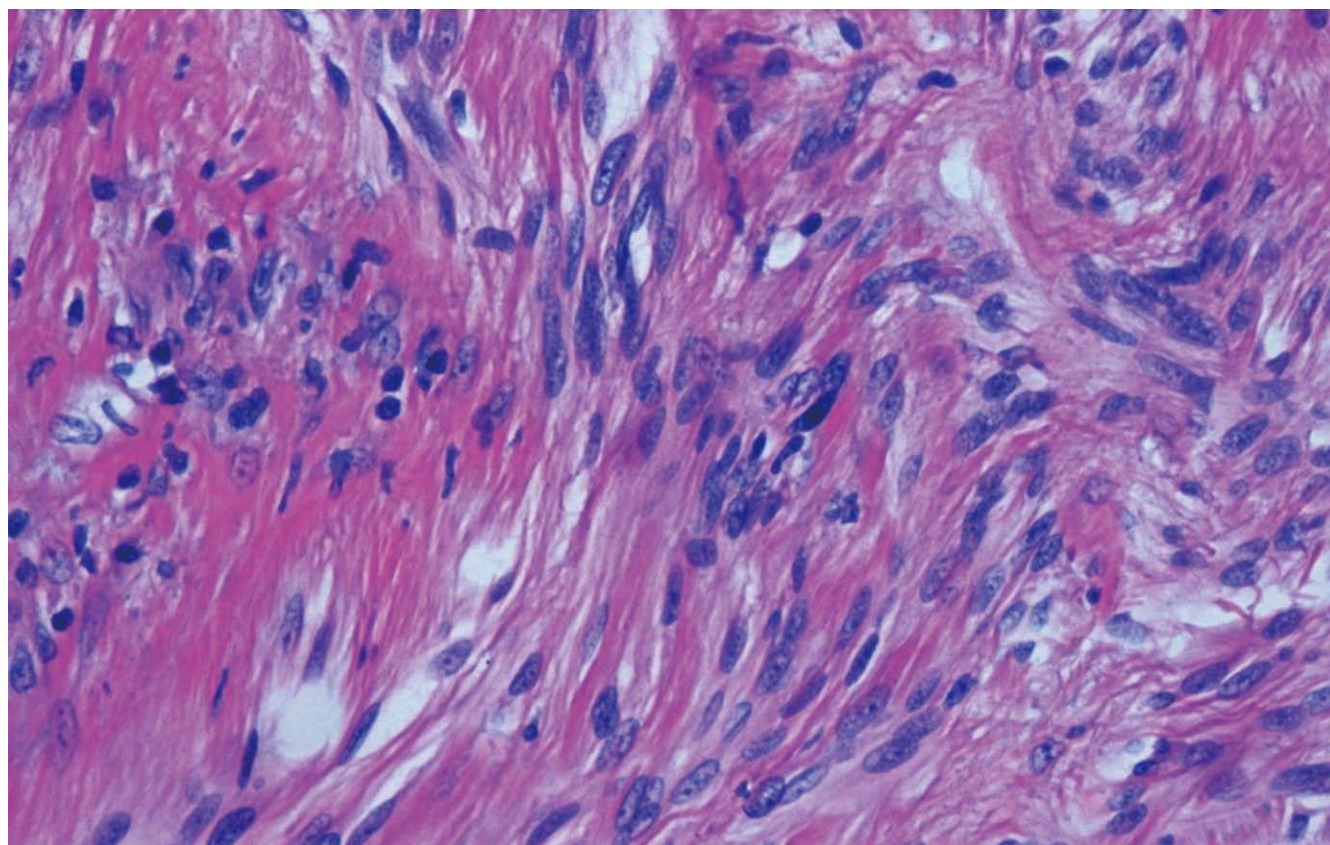
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 2 月 28 日 第 21 卷 第 6 期 (Volume 21 Number 6)



6/2013

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483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70位、广东省40位、江苏省38位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

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

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

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

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
吴泰瑞教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐决副主任医师
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
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

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

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

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年2月28日 第21卷 第6期 (总第410期)

述 评	459 中医药治疗功能性便秘机制的研究进展 冯 硕, 刘绍能
基 础 研 究	464 光敏剂磁性纳米粒子螯合剂在兔VX2肝转移瘤模型中的生物学分布 龚健, 刘煜昊, 葛海燕 471 大鼠肠巨噬细胞TREM-1表达对其侵袭力和肠上皮细胞增殖的影响 张建新, 王坤, 祝文蕊, 沈耀, 王平江, 党胜春
临 床 研 究	478 整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 蛋白及mRNA在胃癌组织中的表达及临床意义 白兴武, 李桃, 齐洁敏 484 超声内镜弹性成像在消化系黏膜下肿瘤诊断中的价值 邹传鑫, 谢明, 戴绍军, 汤绍迁
文 献 综 述	490 食管鳞癌干细胞相关标志物的研究进展 王琳, 李苏宜 498 CD4 ⁺ T淋巴细胞亚群与HBV感染不同临床转归的关系 夏妍, 张淑云 508 脐血间充质干细胞移植治疗肝硬化的研究进展 廖金卯, 胡小宣 514 胆管癌EGFR信号通路与靶向治疗的关系 杨梓琪, 樊利芳
研 究 快 报	521 TNF α 通过TNFR1/PKC α 和TNFR2信号通路诱导人肾小球系膜细胞IP ₃ R1的表达 王育蓉, 章欢, 孙辉, 李翠红, 刘沛
临 床 经 验	527 食管覆膜支架置入治疗恶性肿瘤所致的食管气管瘘21例 王宝明, 杨海山 531 黑龙江地区丙型肝炎病毒的基因亚型 杜博, 金茜, 刘伟, 李兴库, 于雪源, 张淑云 537 乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭死亡相关因素分析127例 邢霖远, 余祖江 541 选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压在肝切除术中的应用 董志涛, 罗昆仑, 吴国忠, 李界明, 周脉涛 547 内镜胆道金属支架联合鼻胆管引流姑息性治疗恶性胆道梗阻 韩今朝, 秦鸣放

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	463 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 470 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 477 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 483 《世界华人消化杂志》出版流程 497 《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) 507 百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMCI收录 513 《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 520 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0.873 526 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 530 《世界华人消化杂志》外文字符标准 540 《世界华人消化杂志》参考文献要求 546 《世界华人消化杂志》修回稿须知 552 《世界华人消化杂志》栏目设置
封面故事	邹传鑫, 谢明, 戴绍军, 汤绍迁. 超声内镜弹性成像在消化系黏膜下肿瘤诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 484-489 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/484.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.484
本期责任人	编务 马帅; 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 田滢; 形式规范审核编辑部主任 李军亮; 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 2013-02-28

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

党双锐, 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

李军亮, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

February 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 6

EDITORIAL	459 Advances in research on mechanism of Chinese medicine treatment of functional constipation <i>Feng S, Liu SN</i>
BASIC RESEARCH	464 Biodistribution of photosensitizer-magnetic nanoparticle chelate complex in rabbits with VX2 metastatic hepatic carcinoma <i>Gong J, Liu YH, Ge HY</i> 471 Effect of TREM-1 expression in intestinal macrophages on their invasion and proliferation of intestinal epithelial cells <i>Zhang JX, Wang K, Zhu WR, Shen Y, Wang PJ, Dang SC</i>
CLINICAL RESEARCH	478 Clinical significance of expression of integrin $\alpha 5\beta 1$ in gastric carcinoma <i>Bai XW, Li T, Qi JM</i> 484 Diagnostic value of EUS elastography in detection of gastrointestinal submucosal tumors <i>Zou CX, Xie M, Dai SJ, Tang SQ</i>
REVIEW	490 Progress in research of markers for cancer stem cells in esophageal squamous cell carcinoma <i>Wang L, Li SY</i> 498 Changes in CD4 ⁺ T lymphocyte subsets and clinical outcomes of hepatitis B virus infection <i>Xia Y, Zhang SY</i> 508 Transplantation of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells for treatment of liver cirrhosis: Research progress <i>Liao JM, Hu XX</i> 514 EGFR signaling pathway and targeted therapy for cholangiocarcinoma <i>Yang ZQ, Fan LF</i>
RAPID COMMUNICATION	521 TNF α induces IP ₃ R1 expression via TNFR1/PKC α and TNFR2 signaling pathways in human mesangial cells <i>Wang YR, Zhang H, Sun H, Li CH, Liu P</i>
CLINICAL PRACTICE	527 Treatment of malignant esophagorespiratory fistula with metallic stents: An analysis of 21 cases <i>Wang BM, Yang HS</i> 531 Analysis of hepatitis C virus subgenotypes in patients in Heilongjiang province <i>Du B, Jin X, Liu W, Li XK, Yu XY, Zhang SY</i> 537 Causes of death in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure: An analysis of 127 cases <i>Xing JY, Yu ZJ</i> 541 Application of selective semi-hepatic vascular occlusion combined with low central venous pressure in hepatectomy <i>Dong ZT, Luo KL, Wu GZ, Li JM, Zhou MT</i> 547 Endoscopic metal biliary endoprosthesis combined with endoscopic nasobiliary drainage for palliative treatment of malignant biliary obstruction <i>Han JZ, Qin MF</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>Zou CX, Xie M, Dai SJ, Tang SQ.</i> Diagnostic value of EUS elastography in detection of gastrointestinal submucosal tumors. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(6): 484-489 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/484.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.484
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</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>Ying Tian</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</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 February 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

Jun-Liang Li, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

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

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

中医药治疗功能性便秘机制的研究进展

冯 硕, 刘绍能

冯硕, 刘绍能, 中国中医科学院广安门医院消化科 北京市 100053

刘绍能, 主任医师, 主要从事消化疾病的中医药防治研究.

作者贡献分布: 本文综述由冯硕完成; 刘绍能修改并审核.

通讯作者: 刘绍能, 主任医师, 博士研究生导师, 100053, 北京市西城区广安门内北线阁5号, 中国中医科学院广安门医院消化科. liushaoneng886@yahoo.com.cn

电话: 010-88001031

收稿日期: 2012-12-04 修回日期: 2013-01-20

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-02-28

Advances in research on mechanism of Chinese medicine treatment of functional constipation

Shuo Feng, Shao-Neng Liu

Shuo Feng, Shao-Neng Liu, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100053, China

Correspondence to: Shao-Neng Liu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100053, China. liushaoneng886@yahoo.com.cn

Received: 2012-12-04 Revised: 2013-01-20

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-02-28

Abstract

Functional constipation is a common disease affecting patients' health and quality of life. Chinese medicine has certain advantages in the treatment of functional constipation. In this article we review the literature and summarize the mechanisms on Chinese medicine treatment of functional constipation. Main mechanisms include lubricating the intestinal tract and increasing intestinal contents, promoting gastro-intestinal motility and defecation, increasing the number of interstitial cells of Cajal in the colon and regulating the amount of intestinal neurotransmitters and hormones. We also put forward ideas and suggestions for future research.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Functional constipation; Chinese medicine treatment; Colon; Cajal interstitial cells; Neurotransmitter

Feng S, Liu SN. Advances in research on mechanism of

Chinese medicine treatment of functional constipation. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(6): 459-463 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/459.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.459>

摘要

功能性便秘是影响患者健康和生活质量的常见疾病, 中医药在治疗功能性便秘方面有一定优势. 本文通过文献分析, 将中医药治疗功能性便秘的机制概括为润滑肠道并增加肠道内容物含量、促进胃肠运动和排便、增加结肠Cajal间质细胞的数量、调控肠神经递质及激素的含量, 并对今后研究提出了思路和建议.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 功能性便秘; 中医药治疗; 结肠; Cajal间质细胞; 神经递质

冯硕, 刘绍能. 中医药治疗功能性便秘机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 459-463 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/459.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.459>

0 引言

功能性便秘(functional constipation, FC)是一组以排便质地改变、排便困难或排便不尽感、粪便干结为主要表现的疾病, 并且经各种检查排除器质性病变. 中医药治疗便秘已有上千年历史, 近年来中草药治疗慢性功能性便秘的报道逐渐增多, 循证医学研究证实^[1], 中医药在治疗功能性便秘方面安全、有效, 能改善功能性便秘患者的临床症状, 在总体疗效方面具有明显的优势. 随着现代医学对神经胃肠病学认识的不断发展, 许多学者开始从更新的领域探讨中医药对功能性便秘的作用机制, 且他们的研究取得了颇多进展. 我们通过查阅近些年来与此相关的文献报道, 现将中医药治疗功能性便秘作用机制的研究进展综述如下.

1 润肠作用

许多中药质润多脂, 含有丰富的油脂, 对肠道具

■背景资料

中医药治疗功能性便秘历史悠久, 临床应用广泛. 随着现代神经胃肠病学的发展, 中医药治疗功能性便秘机制的研究也取得了较大进展. 综述这些进展有助于了解中医药治疗功能性便秘机制的现状, 为进一步研究寻找新的思路 and 途径.

■同行评议者

魏睦新, 教授, 南京医科大学第一附属医院

■研发前沿

肠神经系统的病理学改变,尤其是Cajal间质细胞数量减少、神经递质及激素水平的变化在功能性便秘的病理生理方面担任重要角色。鉴于此,应用中医药治疗功能性便秘是否能扭转此病理生理改变已成为研究的热点。

有润滑作用,可用于功能性便秘的治疗,单味中药即有效。据记载^[2]火麻仁的主要成分中含脂肪油约30%,油中含大黄酚、植酸钙镁等,有润滑肠道的作用,同时在肠道遇碱性溶液后能产生脂肪酸,刺激和润滑肠壁,产生通便作用;牵牛子中含牵牛子脂,是以树脂与糖结合为甙形式存在的,其中含树胶及挥发油,具有润滑肠道的作用;而松子仁中,脂肪油含量可达74%。此外,润肠通便药也可增加肠道内水分含量,软化粪便,使肠腔内容物体积增加,从而刺激肠壁,缩短排便时间,增加排便量,类似于容积性泻剂和高渗性泻剂的导泻作用来实现。周玖瑶等^[3]以麻仁润肠口服液观察小鼠大肠的水分含量,发现麻仁润肠口服液的通便作用可能是通过润肠、增加肠组织水分和肠腔内容物容积来实现的。覃荣等^[4]观察了润肠通便合剂对正常小鼠肠道水分吸收的影响,认为润肠通便合剂具有增加肠腔含水量,从而产生润肠通便的作用。潘希雄等^[5]的研究显示,首乌润肠口服液(何首乌、玄参等)能明显增加大、小肠水分的含量,使肠道容积变大,大便软化,有利于大便的排泻。郁飞虹等^[6]则认为首乌润肠口服液可使肠段膨胀、肠内水分明显增加、肠腔容积变大,发挥机械刺激肠壁的作用,使肠蠕动亢进,而产生润肠通便的作用。另有研究显示^[7,8],肉苁蓉中的半乳糖具有良好的通便作用,其是一种性能良好的水溶性膳食纤维,有较好的持水力且易被肠道内有益菌群选择性利用,降低肠道内环境的pH值,抑制腐败菌的生长,刺激肠黏膜,促进粪便容积增加及肠蠕动,从而加快粪便的排出速度。润肠中药多质润温和,促进排便而不至于峻泻,是临床治疗功能性便秘的常用药物。

2 促胃肠动力作用

结肠动力下降,传导无力是便秘的重要原因,而中药有行气通腑之功效,有增加胃肠动力的作用,可用于治疗功能性便秘。魏睦新^[9]运用离体细胞的制备及其运动记录技术、显微离子通道技术,观察了槟榔的有效成分氢溴酸槟榔碱(Ah)对离体的大鼠结肠平滑肌细胞的收缩效应及细胞Ca²⁺动态移动情况,发现Ah通过M受体引起结肠平滑肌细胞收缩,增加细胞内游离Ca²⁺浓度,从而促进排便。张荣等在^[10]观察了润肠片(黄芪、枳实、莱菔子、番泻叶等)对家兔离体肠管运动的影响,研究表明润肠片对乙酰胆碱及氯化钡引起的离体肠管强直性收缩有明显的拮抗

作用,能拮抗肾上腺素引起的离体肠管的抑制性收缩,起到通便的效果。刘赛等^[11]研究了润肠通便口服液(火麻仁、大黄、枳实、芍药等)对离体豚鼠回肠平滑肌的作用,发现润肠通便口服液可增加平滑肌的收缩力,使处于抑制状态的回肠平滑肌肌张力明显提高,使在体小肠推进性运动增强,加速肠内容物的排泄,这可能是润肠通便口服液治疗便秘的主要作用机制。此外^[12],许多泻下类的中药,如大黄、番泻叶等,其中含有蒽醌苷类物质,他们在肠道内分解释放出蒽醌,刺激结肠推进性蠕动,应用后可排软便或引起腹泻。行气通腑类中药大多数是作用较强的刺激性泻药,通过调节胃肠道平滑肌的电生理活动,增加结肠推进性运动,加快肠内容物的转运,缩短结肠通过时间来起效。这类药物长期使用可导致药物依赖,甚至引起结肠黑变病,形成顽固性便秘,值得临床注意。

3 对结肠组织Cajal间质细胞的影响

现已肯定^[13],Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)是胃肠慢波的起搏细胞及神经兴奋传导细胞。ICC广泛存在于消化道环形肌和纵行肌的肌层交界处区域,可促进胃肠道平滑肌细胞收缩^[14],增加胃肠传导,有利于大便排出。现有学者将目光投向中医药能否纠正ICC的异常形态及增加ICC的数量,寻找中医药治疗功能性便秘的机制。孟萍等^[15]通过单味白术水煎液对慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)大鼠模型进行研究,证实白术可以改善结肠组织中ICC形态并提高ICC数量,并通过不同剂量的对比,证实剂量60 g的生白术能将上述效应发挥最好。李国峰^[16]以自拟方化瘀润肠方(当归、生白术、黄芪、生地、川芎、赤芍、桃仁、甘草)对便秘小鼠进行观察,并测定其小鼠结肠ICC变化,结果表明便秘模型小鼠结肠ICC存在形态及数量异常,化瘀润肠方能够增加便秘模型小鼠结肠ICC的数量。不仅中药能够对ICC产生作用,针灸亦是如此。孙建华等^[17]的研究表明,对功能性便秘的大鼠模型,给予双侧天枢针灸加电刺激时,能够促进结肠平滑肌的结构变化,并能够增加结肠ICC的数量,这可能是针刺能够治疗功能性便秘的作用机制。与ICC相关的C-kit蛋白表达减少可能在STC的病理生理过程中起到重要作用^[18]。杨关根等^[19]以便秘二号方(当归、白术、黄芪、升麻、杏仁、枳实、肉苁蓉)对STC大鼠模型进行观察,对每组大鼠记录C-kit mRNA的表达,结果

■相关报道

目前普遍认为ICC具有控制胃肠自主节律性运动的功能,主要参与胃肠道慢波电位产生和传播,同时在推进电活动的传播以及介导神经信号传递中起着重要作用。Ward等的研究同时表明,Cajal间质细胞网络在某些刺激作用下具有可塑性。

证实便秘二号方能够纠正STC大鼠C-kit mRNA的过低表达,使STC大鼠结肠功能恢复正常。李国峰等^[20]以自拟方养血活血方对便秘模型小鼠进行干预,发现养血活血方大剂量组能够上调C-kit蛋白表达,且几乎接近空白对照组,保证ICC表面C-kit受体的抗原性,从而维持ICC的发育、成熟及功能形态。这些研究从基因和细胞水平上阐明了中医药治疗功能性便秘的作用机制。

4 对结肠神经递质的影响

胃肠道平滑肌中的许多递质以胃肠肽的形式存在于肠神经系统(enteric nervous system, ENS)中,又可以激素的形式参与胃肠运动的调控,影响胃肠道的电生理活动。已经确定的肠神经递质多达数十种,其中兴奋性递质主要包括乙酰胆碱、P物质(substance P, SP)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal polypeptide, VIP)、速激肽、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)等,而一氧化氮(nitric oxide, NO)、三磷酸腺苷等为主的抑制性递质。有研究证实^[21],功能性便秘患者的结肠存在VIP、SP、5-HT及NO等肠道神经递质的异常。中医药可通过调节兴奋性递质与抑制性递质的失衡而治疗功能性便秘。郑晨果等^[22]基于ENS神经递质紊乱会导致该病这一理论,以丹参枳术饮(丹参、枳实、白术、麻子仁)对STC大鼠模型进行研究,通过免疫组化染色对大鼠的VIP、SP神经阳性细胞数量进行半定量分析,得出结论:丹参枳术饮可以增加STC大鼠的肠道肌间神经丛内VIP、SP含量,推测丹参枳术饮治疗STC可能和VIP、SP有关。陈棣兰等^[23]通过对功能性便秘大鼠模型研究,测定大鼠血中VIP与SP含量,提示泰魄颗粒(通幽汤加减)治疗STC可能通过修复或改善肠神经失调,增加SP和VIP等的分泌,从而促进肠道运动,增加推进性运动,并增加肠道水分分泌而达到治疗便秘的目的。高健群等^[24]研究了复方肺肃润肠汤(阿胶、苏子、杏仁、枳实、沉香等)治疗前后的大鼠5-HT免疫反应细胞的形态分布及数量变化,发现该方可以改善药物依赖性便秘大鼠肠道免疫反应细胞5-HT的形态分布和数量,从而促进胃肠蠕动,改善胃肠道的传输功能。NO是ENS中最主要的抑制性神经递质,其在便秘发病机制中的作用受到广泛的关注^[25],NO可通过提高胃肠平滑肌内环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)的浓度而导致平滑肌松弛,引起胃肠运动减弱。吴至久等^[26]以益气养血温阳方(白术、

黄芪、当归、肉苁蓉、槟榔等)作用于大鼠,发现该方通过改变SP、一氧化氮合酶(NOS)的含量,促进结肠运动,起到治疗便秘的作用。邱剑锋等^[27]发现,养血润肠方治疗便秘有效,该药有降低结肠组织匀浆及血清中NO含量的作用。孟萍等^[28]以STC大鼠模型进行研究,对大鼠结肠NOS进行半定量分析,认为白术治疗STC是通过改变STC大鼠结肠黏膜NOS的表达、降低NO的合成而取效。虽然目前学术界对肠神经递质的种类及分类还不十分清楚,但这为中医治疗功能性便秘作用靶点的进一步研究指明了方向。

5 对胃肠道激素的影响

现已知,ENS不仅可以通过递质对胃肠运动进行神经调节,还可分泌胃肠道激素进行体液调节。已知的胃肠激素有20余种,对于调节胃肠运动具有重要的生理意义。其包括胃泌素(gastrin, GAS)、胃动素(motilin, MOT)、促胰液素、降钙素相关基因肽(calcitonin gene related peptide, CGRP)及生长抑素(somatostatin, SS)等。检测功能性便秘患者空腹和餐后胃肠激素显示^[29],近端的MOT分泌增加,远端胃肠激素下降,尤其对那些肠道传输减慢的患者,更是明显。中医药可通过调节胃肠道激素水平而影响胃肠的运动功能,治疗便秘。唐学贵等^[30]研究证实,便塞通合剂(枳术丸加减)对便秘模型大鼠的通便作用,是通过调节血中GAS、MOT等胃肠激素的分泌来实现的,并且便塞通的通便作用呈一定的量效依赖关系。车彦忠等^[31]以经方济川煎对便秘老龄雄性大鼠模型进行研究,利用放射免疫法对小肠组织中MOT及SS的水平进行定量分析,表明济川煎能显著提高老龄大鼠小肠组织MOT的含量,使其恢复到正常水平,从而改善了老龄大鼠胃肠运动的功能,同时降低了SS水平,从而削弱了SS对老龄大鼠胃肠运动的抑制作用。赵小青等^[32]以调肠理气片(白术、枳实、乌台、虎杖)治疗气秘证模型大鼠,并检测结肠组织内MOT、CGRP浓度,认为调肠理气片对功能性便秘有一定的疗效,对相关胃肠激素也有一定的调节作用,作用部位可能以结肠为主。王岚等^[33]以附子、大黄配伍的不同比例,对小鼠阳虚便秘模型进行研究,实验结果提示,附子大黄配伍对阳虚便秘动物具有确切的治疗作用,作用机制可能与其干预MOT、GAS、SS等胃肠激素及肠神经递质的分泌有关。同神经递质一样,胃肠激素的种类繁多,分类不明,且对胃肠运动调节

■创新盘点

本文综述了近年来中医药治疗功能性便秘的机制,主要包括润滑肠道并增加肠道内容物含量、促进胃肠运动和排便、增加结肠Cajal间质细胞的数量、调控肠神经递质、调控胃肠道激素的含量等5个方面。

■应用要点

本文系统地介绍了中医药治疗功能性便秘的作用机制,为今后进一步研究提供方向,并为临床选方用药提供参考。

■名词解释

慢传输型便秘 (STC): 功能性便秘分型之一, 是指结肠的传输功能障碍, 肠内容物传输缓慢引起的便秘, 又称慢通过性便秘, 是以大便次数减少、粪质坚硬、便意少或无便意为主要特点的顽固性便秘。

也十分复杂, 从目前研究来看, 中医药仅对具有代表性的几种激素进行了初步探讨, 众多激素在胃肠运动中的调控及中医药在其中的作用尚待更深入的研究。

6 其他

范一宏等^[34]以自拟枳术通便汤(木香、莱菔子、枳壳、黄芪等)对STC大鼠模型进行研究, 用RT-PCR方法测定结肠神经营养因子(GDNT)的表达, 结果显示高剂量的枳术通便汤对STC大鼠肠道传输有明显改善作用, 其作用机制可能是通过提高结肠GDNF-mRNA表达而促进肠道的动力。王业皇等^[35]以益气润肠液(生白术、生首乌、肉苁蓉、炙黄芪、肉桂、神曲、枳壳)观察患者便秘症状改善情况, 并通过排粪造影、肛管直肠压力测定分析治疗前后肛肠动力学的变化指标, 提示益气润肠液具有改善直肠的感觉功能、提高盆底肌肉的兴奋性的作用。汪兴伟等^[36]报道, 大黄可使便秘大鼠结肠异常的慢波频率和振幅恢复, 可使结肠肌间神经丛的胆碱能神经分布趋于正常, 这可能是其治疗便秘的机制。

7 结论

中医药治疗功能性便秘有较好的临床疗效, 其机制有润滑肠道并增加肠道水分含量、促进胃肠运动和排便、增加结肠Cajal间质细胞的数量、调节肠神经递质及激素的含量等。从目前来看, 中医药治疗功能性便秘的机制研究主要在动物实验中进行, 而在临床上基于临床疗效与机制的相关研究显得不足。在今后的机制研究中, 应当将疗效验证和机制探讨相结合, 从病理生理多个角度研究中医药治疗功能性便秘的机制。中医药在治疗功能性便秘领域有广阔的前景, 随着实验研究的深入和临床经验的积累, 将会越来越引起学术界的重视。

8 参考文献

- 马继征, 刘绍能, 吴泰相, 时磊. 中药治疗慢性功能性便秘效果的系统评价. 中国循证医学杂志 2010; 10: 1213-1221
- 高学敏. 中药学. 第1版. 北京: 中国中医药出版社, 2002: 186-193
- 周玖瑛, 李锐, 廖雪珍, 廖惠芳. 麻仁润肠口服液对肠道及排便的作用的实验研究. 广州中医药大学学报 1996; 13: 36-38
- 覃荣, 陈彦清, 刘云兴, 曾学斌, 叶敏馥. 润肠通便合剂对正常小鼠大肠和小肠水分吸收的影响. 云南中医中药杂志 2009; 30: 50-51
- 潘希雄, 邱明义, 沈雪梅, 邱飞虹, 胡学书. 首乌润肠口服液治疗老年性便秘临床和实验研究. 山东中医杂志 1997; 16: 248-249

- 郁飞虹, 江俊, 蒋冠斌. 首乌润肠通便口服液润肠作用机理分析. 中医药研究 1995; 6: 48-49
- 张百舜, 赵学文, 陈双厚, 刘瑞华, 程慧平. 肉苁蓉各分离部位的通便作用的实验研究. 中国中医药信息杂志 2003; 10: 31-32
- 生庆海, 耿倩, 徐丽, 陈铁涛, de Vries Hprc. 低聚半乳糖润肠通便功能的研究. 中国食品添加剂 2007; 1: 62-65, 79
- 魏睦新. 促胃肠动力中药研究概况. 江苏中医药 2007; 39: 5-6
- 张荣在, 欧卫平, 许庆文, 林建昌, 叶少梅, 刘启德. 润肠片通便作用的实验研究. 中药新药与临床药理 2000; 11: 158-159
- 刘赛, 王春波, 于桂英, 赵永娟, 曲国艺, 刘占涛. 润肠通便口服液对实验性便秘及肠道平滑肌的作用. 青岛医学院学报 1998; 34: 104-106
- 杨宝峰. 药理学. 第6版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 342
- 周吕, 柯美云. 胃肠神经病学与动力. 第1版. 北京: 科学出版社, 2005: 200
- Mostafa RM, Moustafa YM, Hamdy H. Interstitial cells of Cajal, the Maestro in health and disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3239-3248 [PMID: 20614479 DOI: 10.3748/wjg.v16.i26.3239]
- 孟萍, 尹建康, 高晓静, 刘平, 王凡, 王静. 白术对慢传输型便秘大鼠结肠组织Cajal间质细胞的影响. 中医研究 2012; 25: 58-60
- 李国峰. 自拟化痰润肠方对顽固性便秘模型小鼠结肠间质细胞的影响. 世界中西医结合杂志 2011; 6: 806-808
- 孙建华, 郭慧, 陈璐, 吴晓亮, 李浩, 裴丽霞, 彭拥军, 陆斌. 电针"天枢"穴对慢传输型便秘大鼠结肠平滑肌结构及Cajal间质细胞的影响. 针刺研究 2011; 36: 171-175
- Tong WD, Liu BH, Zhang LY, Zhang SB. [Study on distribution of interstitial cells of Cajal in the sigmoid colon of patients with slow transit constipation]. *Zhonghua Waike Zazhi* 2004; 42: 853-856 [PMID: 15363273]
- 杨关根, 刘智勇, 杨琴燕, 金建芬. 便秘二号方对慢传输型便秘大鼠Cajal间质细胞及C-KIT表达的影响. 中国中西医结合外科杂志 2010; 16: 203-206
- 李国峰, 李国栋, 兰春林, 肖诚. 自拟养血活血方对血虚便秘模型小鼠结肠c-kit蛋白表达的影响. 中国中医基础医学杂志 2009; 15: 741-742
- De Giorgio R, Camilleri M. Human enteric neuropathies: morphology and molecular pathology. *Neurogastroenterol Motil* 2004; 16: 515-531 [PMID: 15500508]
- 郑晨果, 叶乐驰, 金纯. 丹参枳术饮对STC大鼠肠道肌间神经丛内VIP、SP表达的影响. 中国中医急症 2010; 19: 1737-1738
- 陈棣兰, 王志刚, 王志国, 施正华, 郭晓华, 葛永盛, 王红. 泰魄颗粒对慢传输型便秘治疗机制的研究. 中国中西医结合消化杂志 2010; 18: 303-305
- 高健群, 巫全胜, 钱摇宁, 吴曙光. 肃肺润肠汤对药物依赖性便秘大鼠大肠杯状细胞、5-HT变化的实验研究. 时珍国医国药 2010; 21: 1814-1815
- 孟萍, 尹建康, 高晓静, 刘平, 王凡, 王静. 白术对慢传输型便秘大鼠结肠黏膜NO及NOS的影响. 江西中医学院学报 2012; 24: 61-63
- 吴至久, 代渊, 王飞. 益气养血温阳方对泻药性便秘大鼠结肠SP、NOS-1的影响. 辽宁中医药大学学报 2012; 14: 70-72
- 邱剑锋, 李国栋, 肖诚, 李国峰, 舒涛, 袁亮, 洪子夫. 养血润肠方对小鼠血虚型慢性功能性便秘结肠组织匀浆及血清中NO的影响. 江西中医学院学报 2007; 19: 68-69

- 28 孟萍, 尹建康, 高晓静, 刘平, 王凡, 王静. 白术对慢传输型便秘大鼠结肠黏膜NO及NOS的影响. 江西中医学院学报 2012; 24: 61-63
- 29 Penning C, Delemarre JB, Bemelman WA, Biemond I, Lamers CB, Masclee AA. Proximal and distal gut hormone secretion in slow transit constipation. *Eur J Clin Invest* 2000; 30: 709-714 [PMID: 10964163]
- 30 唐学贵, 伍静, 刘芳. 便塞通合剂调节慢性便秘大鼠血清GAS、MTL和SP含量实验研究. 中华中医药学刊 2011; 29: 1549-1551
- 31 车彦忠, 陈洪宝, 安立凤, 常丽, 樊小勇. 济川煎对老龄大鼠胃肠蠕动的影晌及相关机制研究. 中国实验方剂学杂志 2007; 13: 44-46
- 32 赵小青, 黄媛, 罗云坚, 陈延, 邓芳柏. 调肠理气片优化方对FC气秘证大鼠肠运动及结肠组织内MOT、CGRP的影响. 中药新药与临床药理 2012; 23: 171-173
- 33 王岚, 彭成, 郭力. 附子大黄配伍对阳虚便秘动物的治疗作用及其机制研究. 中国中西医结合消化杂志 2006; 14: 82-85
- 34 范一宏, 徐国萍, 冯雯, 吕宾. 枳实通便汤对慢传输型便秘大鼠结肠墨汁推进率GDNF及NOS mRNA表达的影响. 中国中西医结合杂志 2012; 32: 486-489
- 35 王业皇, 余苏萍, 肖红兵, 吴金萍, 张金浩, 章蓓. 益气润肠液对虚证便秘肛肠动力作用的研究. 南京中医药大学学报(自然科学版) 2000; 16: 17-19
- 36 汪兴伟, 刘海峰, 徐梅, 王国安, 孙永刚, 房殿春. 大黄对慢传输型便秘大鼠结肠肌间神经丛胆碱能神经的影响. 重庆医学 2008; 37: 1685-1686, 1689

■同行评价

本文选题有临床指导价值, 内容比较丰富, 可读性较好.

编辑 李军亮 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)。

光敏剂磁性纳米粒子螯合剂在兔VX2肝转移癌模型中的生物学分布

龚健, 刘煜昊, 葛海燕

■背景资料

随着纳米技术的发展, 肿瘤磁热疗成为了当前的研究热点, 但由于磁性纳米粒子没有与肿瘤特异性结合的靶向特点, 严重阻碍了肿瘤磁热疗的发展。

龚健, 同济大学附属第十人民医院普外科 上海市 200072
刘煜昊, 同济大学附属第十人民医院重症监护室 上海市 200072

葛海燕, 同济大学附属东方医院胃肠外科 上海市 200120

龚健, 硕士, 主要从事消化系统肿瘤物理治疗方面的研究。

作者贡献分布: 研究过程由龚健与刘煜昊操作完成; 数据整理分析由龚健完成; 论文撰写由龚健与葛海燕完成; 实验设计、课题申请由葛海燕完成。

通讯作者: 葛海燕, 教授, 主任医师, 200120, 上海市浦东新区即墨路150号, 同济大学附属东方医院胃肠外科。

gesurgery@163.com

收稿日期: 2013-01-05 修回日期: 2013-01-22

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

Biodistribution of photosensitizer-magnetic nanoparticle chelate complex in rabbits with VX2 metastatic hepatic carcinoma

Jian Gong, Yu-Hao Liu, Hai-Yan Ge

Jian Gong, Department of General Surgery, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Yu-Hao Liu, Intensive Care Unit, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Hai-Yan Ge, Department of Gastrointestinal Surgery, Shanghai East Hospital, Tongji University, Shanghai 200120, China

Correspondence to: Hai-Yan Ge, Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, Shanghai East Hospital, Tongji University, Shanghai 200120, China. gesurgery@163.com

Received: 2013-01-05 Revised: 2013-01-22

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

Abstract

AIM: To observe the biodistribution of photosensitizer-magnetic nanoparticle chelate complex (PMNCC) in rabbits with VX2 metastatic hepatic carcinoma.

METHODS: After PMNCC was successfully prepared, a rabbit model of VX2 metastatic hepatic carcinoma was developed. PMNCC was administered via the ear vein on the 16th, 18th and 20th day after induction of metastatic carcinoma, and tumor-bearing rabbits were sacrificed on the 22nd day. Tissue specimens were obtained and

the biodistribution of PMNCC was observed by Prussian blue staining, atomic absorption spectroscopy (AAS) and transmission electron microscopy (TEM).

RESULTS: Prussian blue staining and TEM analysis showed that the amount of PMNCC in tumor tissue was significantly higher than those in the liver, spleen, or kidney. The mean relative iron concentration detected by atomic absorption spectroscopy in tumor tissue was $9.09 \text{ mg/L} \pm 2.31 \text{ mg/L}$, significantly higher than those in other organs (all $P < 0.01$).

CONCLUSION: PMNCC was mainly distributed in tumor tissue in rabbits with VX2 metastatic hepatic carcinoma, and PMNCC has the ability to carry magnetic nanoparticles into tumor cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Photosensitizer-magnetic nanoparticle chelate complex; VX2 metastatic carcinoma; Biodistribution

Gong J, Liu YH, Ge HY. Biodistribution of photosensitizer-magnetic nanoparticle chelate complex in rabbits with VX2 metastatic hepatic carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 464-470 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/464.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.464>

摘要

目的: 观察光敏剂磁性纳米粒子螯合物(photo-sensitizer-magnetic nanoparticle chelate complex, PMNCC)进入兔VX2肝转移癌模型体内的生物学分布情况。

方法: 成功制备PMNCC, 建立兔Vx2肝转移癌模型。在成瘤后第16、18、20天经耳缘静脉注射PMNCC, 第22天处死实验兔, 取肿瘤及肝、脾、心、肺、肾组织, 利用普鲁氏染色、原子吸收光谱分析及透射电镜成像检测PMNCC在动物体内的生物学分布情况。

结果: 普鲁氏染色与透射电镜成像检测发现

■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

PMNCC在肿瘤组织内的摄取量明显高于肝脏、脾脏、肾脏等其他脏器组织, 原子吸收光谱分析检测肿瘤组织中Fe相对浓度为 $9.09 \text{ mg/L} \pm 2.31 \text{ mg/L}$, 明显高于其他脏器组织(肝脏 $4.43 \text{ mg/L} \pm 1.10 \text{ mg/L}$ 、脾脏 $5.08 \text{ mg/L} \pm 1.35 \text{ mg/L}$ 、肾脏 $3.95 \text{ mg/L} \pm 1.70 \text{ mg/L}$ 、心脏 $3.88 \text{ mg/L} \pm 0.93 \text{ mg/L}$ 、肺脏 $4.08 \text{ mg/L} \pm 1.02 \text{ mg/L}$), 差异均有显著统计学意义($P < 0.01$)。

结论: PMNCC在兔VX2肝转移癌模型体内主要被肿瘤组织摄取, PMNCC具有促进磁性纳米粒子进入肿瘤细胞内的能力。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 光敏剂磁性纳米粒子螯合物; VX2转移癌; 生物学分布

龚健, 刘煜昊, 葛海燕. 光敏剂磁性纳米粒子螯合剂在兔VX2肝转移癌模型中的生物学分布. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 464-470 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/464.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i6.464>

0 引言

肝转移癌的预后极差, 目前手术治疗仍是肝转移癌患者的主要治疗手段, 但是大部分患者在就诊时就已经失去手术指征, 一般只有约10%-15%的患者适合手术切除^[1]. 经过20多年的发展, 以肝动脉栓塞化疗为主的介入技术已成为肝癌非手术治疗的首选方法. 然而, 介入治疗的效果也远非理想^[2,3]. 近年来, 随着纳米技术的研究进展, 肿瘤磁热疗(magnetically mediated hyperthermia, MMH)成为了肿瘤治疗的研究热点, 也为肿瘤治疗的发展带来了新契机. 磁热疗的特点之一就是靶向性, 这也是肿瘤磁热疗的前提, 靶向性不足将导致严重并发症. 我们的前期研究^[4]已成功将光敏剂与磁性纳米粒子螯合, 并证实利用光敏剂的肿瘤靶向性能将磁性纳米粒子携带入肿瘤组织中. 在此基础上, 本研究通过观察PMNCC进入兔VX2肝移植癌模型体内的生物学分布情况, 明确PMNCC在生物体内是否具有良好的靶向性。

1 材料和方法

1.1 材料 采用健康新西兰大白兔: 20只, 雌雄各半, 体质量2.5-3.0 kg, 由同济大学附属同济医院动物实验中心提供并饲养. 光敏剂: 主要成分为血卟啉单甲醚(HMME)(10 mg/mL), 避光, -20 °C保存, 由上海市第二军医大学红绿光研究所

提供. 磁性纳米粒子: 主要成分为葡聚糖4万色包被的 Fe_3O_4 粒子, Fe含量为1.32 mmol/mL, 水合粒径: 50 nm, 多分散系数PDI = 0.197, 其型号为061010磁粒, 由上海交通大学纳米材料研究所惠赠. LEICA DM IRB显微镜及成像系统: 徕卡仪器有限公司产品. 透射电镜: CM120 Philips公司产品, 电镜成像检测由复旦大学电镜室协助完成. 3510型原子吸收光谱仪: 安捷伦科技上海有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 光敏剂-纳米磁性螯合剂溶液的制备: 光敏剂: 10 μL , 纳米磁性粒子: 150 μL , 0.9%NaCl溶液: 10 mL. 等比值取光敏剂溶液、纳米磁性粒子溶液、0.9%NaCl溶液, 在PH = 7.35-7.45, 避光的条件下混匀, 37 °C水浴30 min, 分装为10 mL. 避光, 使用前配制, 4 °C保存。

1.2.2 兔VX2肝转移癌模型的建立方法及处理: 按3%戊巴比妥钠溶液1.0 mL/kg剂量经耳缘静脉麻醉实验兔. 取仰卧位, 以剑突为中心备皮, 直径约10 cm, 常规消毒. 取正中纵行切口, 长约3 cm, 暴露肝左叶, 轻提该肝叶, 用组织钳一头经肝包膜钝性斜行戳一窦道, 长约1 cm, 将已剪好的直径约1 mm³肿瘤组织块2-3块塞入窦道中, 生理盐水纱布压迫窦道口数分钟后明胶海绵止血, 以防止种植的肿瘤组织块脱出流入腹腔, 逐层关腹. 术后肌注1 mL硫酸庆大霉素预防感染. 在成瘤后第16、18、20天经耳缘静脉注射PMNCC溶液(1 mL/kg), 第22天处死试验兔, 取肿瘤及正常肝、脾、心、肺、肾组织。

1.2.3 普鲁氏蓝染色检测: 麻醉成功后切取大小约1 cm³的组织块, PBS刷洗, 迅速转移至4 °C预冷的4%多聚甲醛固定液中, 4 °C低温保存, 固定24 h. 制成石蜡切片, 经普鲁氏蓝染色中性红复染, 观察各脏器组织内PMNCC聚集及分布情况。

1.2.4 原子吸收光谱仪检测: 准确切取组织0.5 g, 剪碎组织, 按1:30加入0.25%胰酶, 4 °C过夜. 1 500 r/min离心5 min去除胰酶, 按1:5加入红细胞裂解液, 10 min后3 000 r/min离心10 min去除上清液, 取细胞沉淀. 反复加入PBS液冲洗, 离心去除上清液, 直至细胞上清液澄清. 加入浓硝酸使细胞沉淀消化, 调控pH值1-2, 使所有铁元素氧化成游离三价铁离子. 3 000 r/min高速离心5 min, 取上清液. 去离子水定容至10 mL 滤纸过滤使样品澄清. 制定标准曲线. 根据溶液吸光度(A)值计算铁的浓度。

1.2.5 电镜检测: 成功麻醉后活体取样. 于载玻片

■研究前沿

光敏剂与磁性纳米粒子具有螯合基础, 本研究检测螯合剂在动物模型体内的生物学分布情况, 拟证实螯合剂具有良好的肿瘤靶向性。

■相关报道

Basel等利用肿瘤归巢细胞携带磁性纳米粒子治疗胰腺癌小鼠模型,结果显示具有提高肿瘤磁热疗的作用。

上滴1滴4℃预冷的2.5%戊二醛固定液,快速剪取小块组织,在预冷的固定液内修切,大小不超过1 mm³,迅速转移至预冷的4℃固定液内,取材过程在1 min左右完成。常规制作电镜薄片,3%醋酸铀-枸橼酸铅双电子染色,透射电镜观察、拍片。

统计学处理 采用SPSS14.0统计学软件对实验结果进行统计学分析,实验数据用mean±SD表示, $P>0.05$ 被认为差异无统计学意义, $P<0.05$ 被认为差异有统计学意义, $P<0.01$ 被认为差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 肿瘤大体观察 VX2肝转移癌模型于种植肿瘤组织块后左右形成,多为肝脏突起肿块,一个或数个,色白质韧,大小1 cm×1 cm×1 cm至4 cm×4 cm×4 cm不等,与周围边界尚清(图1)。

2.2 普鲁氏蓝染色检测 PMNCC含有游离Fe,经普鲁氏染色后在光镜下表现为天蓝色颗粒,可呈散在或聚集分布。肿瘤组织中可见到大量天蓝色颗粒聚集沉着,均匀散在分布,明显多于其他脏器组织(图2A),同时脾脏、肝脏中也见到少量的天蓝色颗粒(图2B, C),心肺组织中未见天蓝色颗粒(图2E, F),而在肾小球内发现少量天蓝色颗粒,肾间质中未见明显异常表现(图2D),推测PMNCC经肾脏排泄。

2.3 原子光谱吸收仪检测 制定分析检测所需标准曲线。在肿瘤组织中铁相对浓度高达9.09 mg/L±2.31 mg/L,将近为其他脏器组织内的2倍多,分别与肝脏4.43 mg/L±1.10 mg/L、脾脏5.08 mg/L±1.35 mg/L、肾脏3.95 mg/L±1.70 mg/L、心脏3.88 mg/L±0.93 mg/L、肺脏4.08 mg/L±1.02 mg/L中铁相对浓度比较,差异有显著统计学意义,均 $P<0.01$ (t 值分别为5.762、4.744、5.668、6.625、5.682)。而肝脏、脾脏、肾脏、心脏、肺脏中铁相对浓度之间分别比较,均 $P>0.05$ (图3)。

2.4 透射电镜成像检测 PMNCC在透射电镜下表现为黑色细颗粒状,电子密度较高,均匀散在分布。肿瘤细胞核较大,有较多伪足,可见大量PMNCC沉积,均匀散在分布于细胞浆与细胞核内,溶酶体内亦可见到一定量的PMNCC(图4A)。同时也有少量PMNCC在脾脏、肝脏内沉积,主要被脾脏中巨噬细胞与肝脏中kupffer细胞所摄取(图4B, C)。在肾脏肾小管管腔内我们也见到PMNCC,同时管腔周围也有少量PMNCC(图

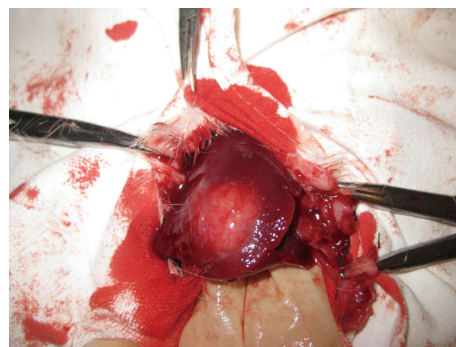


图1 VX2肿瘤兔肝脏模型。肝脏左叶一突起包块,白色质韧,约3 cm×3 cm×4 cm大小。

4D),由此我们推测PMNCC可能经肾脏排泄。心肺细胞超微结构正常,未见异物沉积(图4E, F)。

3 讨论

磁热疗是在肿瘤病灶部位引入磁性介质,磁性介质在外加的交变磁场作用下温度升高到41℃以上而杀死周围的肿瘤细胞^[5]。早在1957年, Gilchrist等^[6]首先将磁性纳米微粒应用于医学研究,将肿瘤热疗推至了磁靶向热疗的新阶段,但由于当时条件所限,诸如材料、温度测定方法、磁场等,研究结果与临床应用相距甚远。

磁热疗理想的状态是磁性纳米粒子只聚集于肿瘤组织,而不出现在其他脏器组织中,从而将治疗局限于病灶,不损伤到正常组织,具有良好的靶向性是其推广至临床的前提。为此,国内外学者对此做了大量的研究,希望能找到合适的方法携带更多磁性纳米粒子选择性进入肿瘤细胞内。文献报导较多的应用于生物医学领域的磁性粒子的表面修饰分子是葡聚糖分子^[7,8]。国内学者Ma等^[9]通过在Fe₃O₄纳米颗粒表面修饰聚乙二醇,也在一定程度上提高了肿瘤细胞对Fe₃O₄纳米颗粒的摄取能力。同样, Sonvico等^[10]及郑元青等^[11]采用叶酸对γ-Fe₂O₃纳米粒子进行表面修饰, Kohler等^[12]使用甲氨喋呤与磁性纳米粒子结合,赵印敏等^[13]利用血管新生肽修饰的氧化铁纳米粒,均被证实具有一定靶向作用,但在体内的摄入量及实际转运效果均尚不理想。近期,张建超等^[14]利用负载γ-Fe₂O₃磁性纳米颗粒及阿霉素的海藻酸钠磁性载药微囊对脑胶质瘤C6细胞热化联合治疗。Basel等^[15]利用肿瘤归巢细胞携带磁性纳米粒子治疗胰腺癌小鼠模型,亦被证实了潜在的应用价值。

光敏剂可选择性积聚于肿瘤组织内,在以特定波长的激光激活肿瘤组织内浓度相对较高

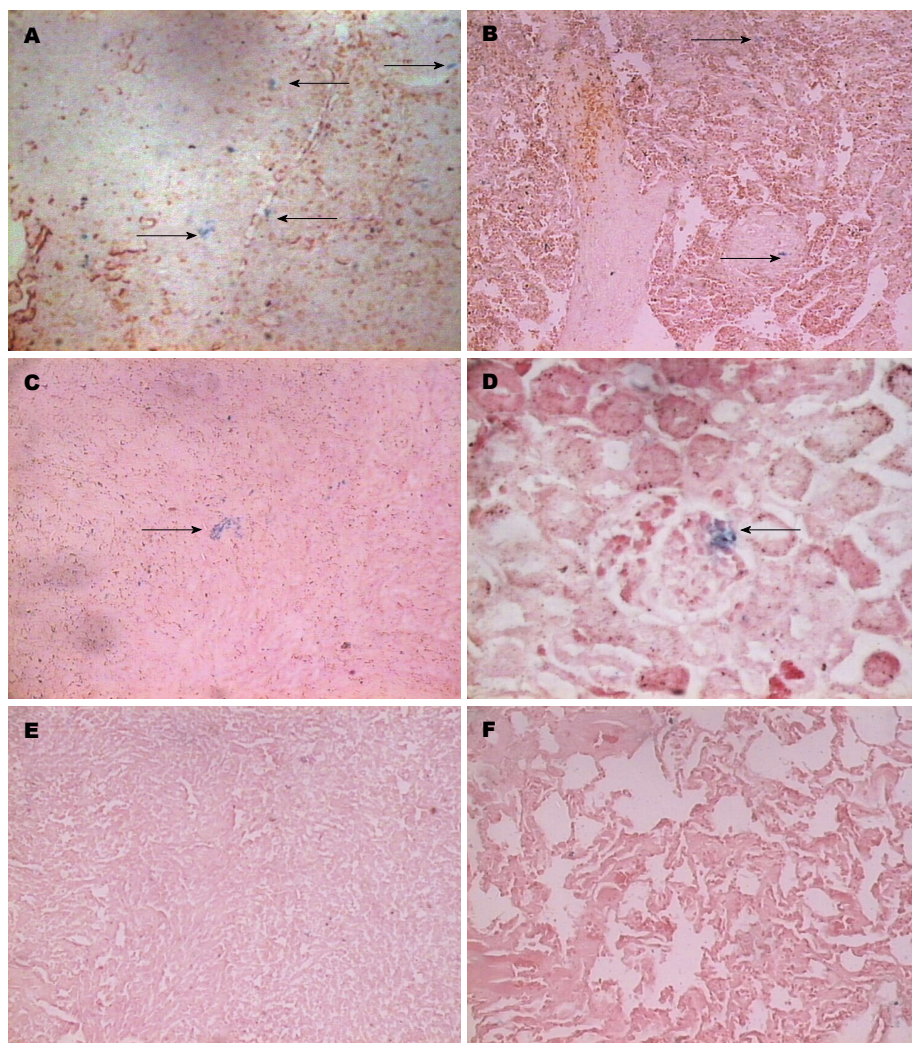


图 2 普鲁氏蓝染色检测PMNCC生物学分布情况(普鲁氏蓝染色中性红复染). A: 肿瘤组织中可见散在分布天蓝色颗粒或小片状沉着, 量较多, 均匀散在分布($\times 200$); B: 脾脏可见天蓝色小颗粒, 散在分布, 量偏少, 大部分组织结构内未见蓝色颗粒($\times 200$); C: 肝脏可见少量散在天蓝色颗粒沉着($\times 200$); D: 肾小球内可见天蓝色颗粒沉着, 周围组织未见明显异常($\times 400$); E: 心脏组织内未见蓝色颗粒沉着($\times 200$); F: 肺脏组织内未见蓝色颗粒沉着($\times 200$). 箭头所指蓝色颗粒为PMNCC.

■创新盘点

本研究独创性的运用光敏剂的亲肿瘤性携带磁性纳米粒子进入肿瘤组织中, 为肿瘤磁热疗靶向性研究方面提供了新的思路.

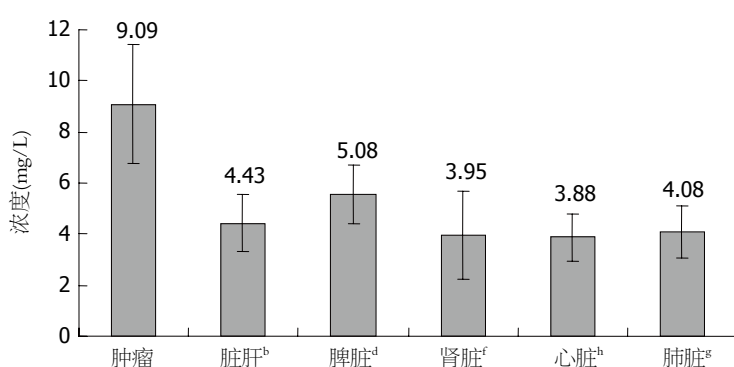


图 3 实验动物体内各个脏器内铁含量分布情况. ^b $P<0.01$, ^d $P<0.01$, ^f $P<0.01$, ^h $P<0.01$, ^g $P<0.01$ vs 肝、脾、肾、心、肺内铁相对浓度比较.

的光敏剂, 通过光化学反应产生自由基、单态氧和血栓素A2, 杀伤肿瘤细胞, 即光动力疗法(photodynamic therapy, PDT). 与其他药物相比, 光敏剂自身具有一定的选择性, 能够相对高浓度的聚集在病变组织, 同时治疗时可以将辐射光源局限于病变组织, 因此PDT具有“二次选择性”, 可相对特异性的杀伤病变细胞而不损伤正常组织^[16]. 目前, PDT已广泛运用于临床诊治中, 包括皮肤肿瘤^[17]、结肠癌^[18]、视网膜血管瘤^[19]、支气管肿瘤^[20]、胆道肿瘤^[21]、食道癌^[22]等多种

疾病.

相对于PDT, MTH目前主要还处于实验室与动物实验研究阶段, 临床上主要尝试应用于前列腺癌、脑胶质细胞瘤等治疗. 2005年, 德国学者Johannsen等^[23]首次将磁性纳米粒子用于人类前列腺癌热疗的临床实验, 结果证实了磁热疗可以作为复发前列腺癌的微创性治疗方法. 同样, Maier-Hauff等^[24]对治愈后再发前列腺癌的10名患者注入生物相容性的超顺磁性纳米粒子, 同样取得了确定疗效. 而在早期, 也有将右旋糖

■应用要点

磁靶向热疗是一种新型的实体肿瘤治疗方法,利用光敏剂的亲肿瘤性携带磁性纳米粒子进入肿瘤细胞内具有创新性.探索光敏剂磁性纳米粒子螯合剂的生物学分布情况为开展肿瘤磁靶向热疗奠定了理论基础.

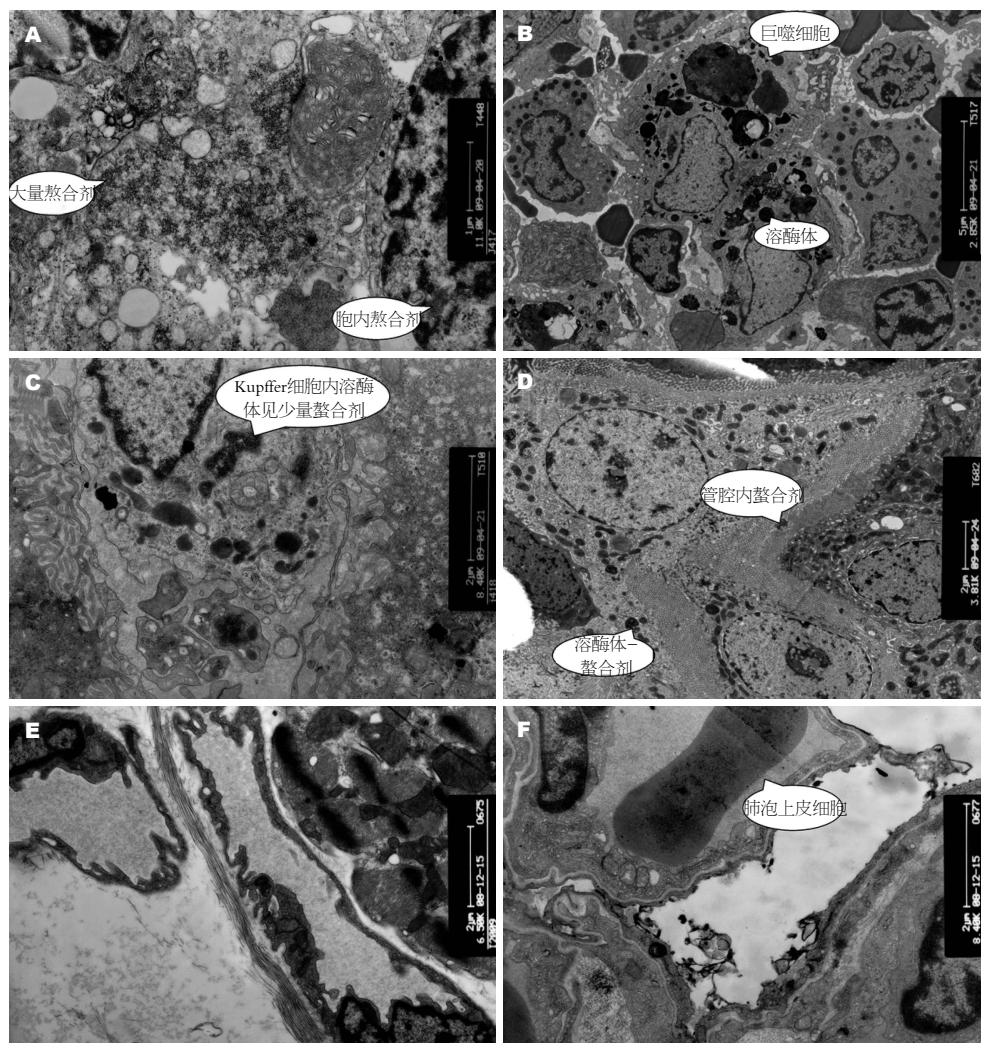


图4 电镜成像检测PMNCC生物学分布情况. A: 肿瘤(11.0K倍), 见细胞核较大, 有较多伪足, 胞浆内、细胞核内有大量螯合剂沉积; B: 脾脏(2.85K倍), 见巨噬细胞内溶酶体里面可见少量异物沉积; C: 肝脏(8.4K倍), 见Kupffer细胞内溶酶体里面可见少量异物沉积; D: 肾脏(3.81K倍), 见肾小管管腔内可见螯合剂沉着, 管腔周围亦可见少量螯合剂沉着; E: 心脏(6.5K倍), 见细胞结构正常, 胞内未见异物沉着; F: 肺脏(8.4K倍), 见细胞结构正常, 胞内未见异物沉着.

酞纳米磁性微粒经静脉注入患者血循环中,而后在外加高频交变磁场中进行全身热疗的报道^[25].同样,利用磁性纳米粒子治疗脑胶质细胞瘤也被证实了其可行性及有效性^[26,27].

我们独创性地利用光敏剂的亲肿瘤性将磁性纳米粒子携带入肿瘤细胞内,为磁热疗的靶向性研究开拓了新的思路,本实验通过普鲁氏蓝染色及透射电镜成像检测,证实肝脏肿瘤组织中PMNCC的摄入量明显高于其他脏器组织.原子吸收光谱检测也提示肿瘤组织中铁含量明显升高,证实了PMNCC在体内具有良好的肿瘤靶向性.

同时我们发现在脾脏、肝脏等网状内皮系统中,虽然PMNCC的摄取量较肿瘤组织明显少,但也有一定量的摄取.分析原子吸收光谱检测结果也提示脾脏中相对含铁量在各个脏器中最

高,此结果与许多国内文献报道相符^[28-30].内皮网状系统对PMNCC的摄取可能会对今后推广至临床实际运用中带来一定的不良反应,这就需要我们进一步检测PMNCC在各个脏器内的代谢动力学情况以及寻求最佳注射剂量,以在达到治疗效果的同时把对网状内皮系统脏器的损伤减到最小.在普鲁氏染色与透射电镜成像检测中,我们还意外发现在肾小球以及肾小管内有少量PMNCC沉着,因此我们有理由推测可能主要通过肾脏排泄PMNCC.

本研究运用3种检测方法检测,所得实验结果相一致,从不同角度证实了PMNCC在兔VX2肝转移癌模型体内主要被肿瘤组织摄取,PMNCC具有强大的携带磁性纳米粒子进入肿瘤细胞内的功能.这一研究成果将为PMNCC在肿瘤磁热疗中的运用及推广提供理论基础.

4 参考文献

- 1 Moroz P, Jones SK, Gray BN. Arterial embolization hyperthermia in porcine renal tissue. *J Surg Res* 2002; 105: 209-214 [PMID: 12121709 DOI: 10.1006/jsre.2002.]
- 2 Takamatsu S, Matsui O, Gabata T, Kobayashi S, Okuda M, Ougi T, Ikehata Y, Nagano I, Nagae H. Selective induction hyperthermia following transcatheter arterial embolization with a mixture of nano-sized magnetic particles (ferucarbotran) and embolic materials: feasibility study in rabbits. *Radiat Med* 2008; 26: 179-187 [PMID: 18509717 DOI: 10.1007/s11604-007-0212-9]
- 3 Fortin JP, Gazeau F, Wilhelm C. Intracellular heating of living cells through Néel relaxation of magnetic nanoparticles. *Eur Biophys J* 2008; 37: 223-228 [PMID: 17641885 DOI: 10.1007/s00249-007-0197-4]
- 4 葛海燕, 常卓林, 李淑萍, 刘煜昊, 龚健. 光敏剂-磁性纳米粒子螯合剂对磁性纳米粒子在VX2肝转移癌细胞内靶向性分布的影响. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3064-3069
- 5 Moroz P, Jones SK, Gray BN. Magnetically mediated hyperthermia: current status and future directions. *Int J Hyperthermia* 2002; 18: 267-284 [PMID: 12079583 DOI: 10.1080/02656730110108785]
- 6 Gilchrist RK, Medal R, Shorey WD, Hanselman RC, Parrott JC, Taylor CB. Selective inductive heating of lymph nodes. *Ann Surg* 1957; 146: 596-606 [PMID: 13470751 DOI: 10.1097/0000658-195710000-00007]
- 7 Kawaguchi T, Hanaichi T, Hasegawa M, Maruno S. Dextran-magnetite complex: conformation of dextran chains and stability of solution. *J Mater Sci Mater Med* 2001; 12: 121-127 [PMID: 15348317]
- 8 Lacava LM, Lacava ZG, Da Silva MF, Silva O, Chaves SB, Azevedo RB, Pelegrini F, Gansau C, Buske N, Sabolovic D, Morais PC. Magnetic resonance of a dextran-coated magnetic fluid intravenously administered in mice. *Biophys J* 2001; 80: 2483-2486 [PMID: 11325747 DOI: 10.1016/S0006-3495(01)76217-0]
- 9 Ma M, Zhang Y, Yu W, Shen HY, Zhang HQ, Gu N. Preparation and characterization of magnetite nanoparticles coated by amino silane. *Eng Aspects* 2003; 212: 219-226
- 10 Sonvico F, Mornet S, Vasseur S, Dubernet C, Jaillard D, Degrouard J, Hoebeke J, Duguet E, Colombo P, Couvreur P. Folate-conjugated iron oxide nanoparticles for solid tumor targeting as potential specific magnetic hyperthermia mediators: synthesis, physicochemical characterization, and in vitro experiments. *Bioconjug Chem* 2005; 16: 1181-1188 [PMID: 16173796 DOI: 10.1021/bc050050z]
- 11 郑元青, 董春义, 王贝, 谢英, 廖红东, 李丹, 刘选明, 叶酸-磁性淀粉纳米颗粒的研制及其肿瘤靶向磁热疗效分析. *科学通报* 2009; 54: 2065-2070
- 12 Kohler N, Sun C, Wang J, Zhang M. Methotrexate-modified superparamagnetic nanoparticles and their intracellular uptake into human cancer cells. *Langmuir* 2005; 21: 8858-8864 [PMID: 16142971 DOI: 10.1021/la0503451]
- 13 赵印敏, 栗波, 杨晓君, 唐亮, 周彩存. 靶向血管新生肽修饰的氧化铁纳米粒对荷瘤裸鼠磁热疗的研究. *肿瘤* 2010; 30: 370-375
- 14 张建超, 杨丰忠. 载药磁性微囊用于脑胶质瘤可控热化疗的研究. *医学研究杂志* 2012; 41: 153-156
- 15 Basel MT, Balivada S, Wang H, Shrestha TB, Seo GM, Pyle M, Abayaweera G, Dani R, Koper OB, Tamura M, Chikan V, Bossmann SH, Troyer DL. Cell-delivered magnetic nanoparticles caused hyperthermia-mediated increased survival in a murine pancreatic cancer model. *Int J Nanomedicine* 2012; 7: 297-306 [PMID: 22287840 DOI: 10.2147/IJN.S28344.]
- 16 Juarranz A, Jaén P, Sanz-Rodríguez F, Cuevas J, González S. Photodynamic therapy of cancer. Basic principles and applications. *Clin Transl Oncol* 2008; 10: 148-154 [PMID: 18321817 DOI: 10.1007/s12094-008-0172-2]
- 17 Wiegell SR, Skødt V, Wulf HC. Daylight-mediated photodynamic therapy of basal cell carcinomas - an explorative study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013 Jan 7. [Epub ahead of print] [PMID: 23294223 DOI: 10.1111/jdv.12076]
- 18 Hatakeyama T, Murayama Y, Komatsu S, Shiozaki A, Kuriu Y, Ikoma H, Nakanishi M, Ichikawa D, Fujiwara H, Okamoto K, Ochiai T, Kokuba Y, Inoue K, Nakajima M, Otsuji E. Efficacy of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy using light-emitting diodes in human colon cancer cells. *Oncol Rep* 2013; 29: 911-916 [PMID: 23291627 DOI: 10.3892/or.2013.2220]
- 19 Papastefanou VP, Pilli S, Stinghe A, Lotery AJ, Cohen VM. Photodynamic therapy for retinal capillary hemangioma. *Eye (Lond)* 2013 Jan 4. [Epub ahead of print] [PMID: 23288135 DOI: 10.1038/eye.2012.259.]
- 20 Moghissi K, Dixon K, Gibbins S. Photodynamic therapy for bronchial carcinoid tumours: complete response over a 10-year follow-up. *Eur J Cardiothorac Surg* 2013 Jan 2. [Epub ahead of print] [PMID: 23284100]
- 21 Pereira SP, Aithal GP, Ragunath K, Devlin J, Owen F, Meadows H. Safety and long term efficacy of porfimer sodium photodynamic therapy in locally advanced biliary tract carcinoma. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2012; 9: 287-292 [PMID: 23200007 DOI: 10.1016/j.pdpdt.2012.03.005]
- 22 Yoon HY, Cheon YK, Choi HJ, Shim CS. Role of photodynamic therapy in the palliation of obstructing esophageal cancer. *Korean J Intern Med* 2012; 27: 278-284 [PMID: 23019392 DOI: 10.3904/kjim.2012.27.3.278]
- 23 Johannsen M, Gneveckow U, Eckelt L, Feussner A, Waldöfner N, Scholz R, Deger S, Wust P, Loening SA, Jordan A. Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic nanoparticles: presentation of a new interstitial technique. *Int J Hyperthermia* 2005; 21: 637-647 [PMID: 16304715 DOI: 10.1080/02656730500158]
- 24 Maier-Hauff K, Rothe R, Scholz R, Gneveckow U, Wust P, Thiesen B, Feussner A, von Deimling A, Waldöfner N, Felix R, Jordan A. Intracranial thermotherapy using magnetic nanoparticles combined with external beam radiotherapy: results of a feasibility study on patients with glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* 2007; 81: 53-60 [PMID: 16773216 DOI: 10.1007/s11060-006-9195-0]
- 25 Wyman R. The temporal stability of the *Drosophila* oocyte. *J Embryol Exp Morphol* 1979; 50: 137-144 [PMID: 110902 DOI: 10.1054/mehy.2000.1089]
- 26 Johannsen M, Gneveckow U, Thiesen B, Taymoorian K, Cho CH, Waldöfner N, Scholz R, Jordan A, Loening SA, Wust P. Thermotherapy of prostate cancer using magnetic nanoparticles: feasibility, imaging, and three-dimensional temperature distribu-

■同行评价

本文对光敏剂磁性纳米粒子螯合物(PMNCC)在兔VX2肝转移癌模型体内生物学分布进行了研究, 结果表明肝转移癌组织内PMNCC的摄入量明显高于其他脏器组织, 为磁热疗的靶向性提供了实验基础。

- tion. *Eur Urol* 2007; 52: 1653-1661 [PMID: 17125906 DOI: 10.1016/j.eururo.]
- 27 Zhao L, Yang B, Wang Y, Yao Z, Wang X, Feng SS, Tang J. Thermochemotherapy mediated by novel solar-planet structured magnetic nanocomposites for glioma treatment. *J Nanosci Nanotechnol* 2012; 12: 1024-1031 [PMID: 22629888 DOI: 10.1166/jnn.2012.4270]
- 28 冯彦林, 谭家驹, 梁生, 孙静, 温广华, 吴校连, 夏姣云. 抗人肝癌¹⁸⁸Re-免疫磁性纳米微粒的生物学分布和肿瘤细胞抑制实验. *国际放射医学核医学杂志* 2007; 31: 321-324, 328
- 29 李贵平, 汪勇先, 张春富, 张辉. ¹⁸⁸Re标记免疫靶向磁性纳米微粒及其生物学分布. *中华核医学杂志* 2006; 26: 231-235
- 30 尹其华, 刘璐, 顾宁. ⁵⁹Fe示踪谷氨酸包被三氧化二铁纳米颗粒的制备及其在小鼠体内的生物学分布. *医学研究生学报* 2005; 18: 312-318

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

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

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

大鼠肠巨噬细胞TREM-1表达对其侵袭力和肠上皮细胞增殖的影响

张建新, 王坤, 祝文蕊, 沈耀, 王平江, 党胜春

张建新, 王坤, 祝文蕊, 沈耀, 王平江, 党胜春, 江苏大学附属医院普外科 江苏省镇江市 212001

张建新, 医学博士, 教授, 博士生导师, 主要从事胰腺疾病及胃肠道肿瘤方向的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81070287

江苏省自然科学基金资助项目, Nos. BK2011484、BK2012704

作者贡献分布: 本研究由张建新、王坤、祝文蕊、沈耀、王平江及党胜春共同完成。

通讯作者: 党胜春, 副教授, 212001, 江苏省镇江市解放路438号, 江苏大学附属医院普外科, dscgu@163.com

电话: 0511-85082208 传真: 0511-85082208

收稿日期: 2012-12-24 修回日期: 2013-01-11

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-02-28

Effect of TREM-1 expression in intestinal macrophages on their invasion and proliferation of intestinal epithelial cells

Jian-Xin Zhang, Kun Wang, Wen-Rui Zhu, Yao Shen, Ping-Jiang Wang, Sheng-Chun Dang

Jian-Xin Zhang, Kun Wang, Wen-Rui Zhu, Yao Shen, Ping-Jiang Wang, Sheng-Chun Dang, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070287; and the National Natural Science Foundation of Jiangsu Province, Nos. BK2011484 and BK2012704

Correspondence to: Sheng-Chun Dang, Associate Professor, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, 438 Jiefang Road, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China. dscgu@163.com

Received: 2012-12-24 Revised: 2013-01-11

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-02-28

Abstract

AIM: To explore the effect of TREM-1 expression in intestinal macrophages on their invasion and proliferation of intestinal epithelial cells to clarify the possible role of intestinal macrophages in the pathogenesis of intestinal barrier dysfunction (IBD).

METHODS: The expression levels of TREM-1 and TNF- α mRNAs in intestinal macrophages were determined by real-time PCR (RT-PCR) *in vitro*. After intestinal macrophages were co-cultured with intestinal epithelial cells in

Transwell chamber, the growth curve of intestinal epithelial cells was determined by MTT assay. The matrigel invasion assay was used to detect the invasion of intestinal macrophages.

RESULTS: The expression levels of TREM-1 and TNF- α in the LPS group were significantly increased compared with the control group and LPS + LP17 group (both $P < 0.05$), but showed no significant difference between the control group and LPS + LP17 group ($P > 0.05$). Compared to the control group, the growth of intestinal epithelial cells was inhibited in the LPS group and LPS + LP17 group (both $P < 0.05$), and the inhibitory effect was more significant in the LPS group ($P < 0.01$). The average numbers of invading cells in the three groups were 29.3 ± 2.1 , 46.0 ± 3.6 , and 34.7 ± 3.1 , respectively. There was a statistically significant difference in the average number of invading cells between the LPS + LP17 group and LPS group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of TREM-1 was inhibited by LP17 in intestinal macrophages, and TREM-1 expression inhibited the invasion of intestinal macrophages to intestinal epithelial cells. TREM-1 may be a new target for treatment of IBD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Intestinal macrophages; Triggering receptor expressed on myeloid cells-1; Intestinal epithelial cells

Zhang JX, Wang K, Zhu WR, Shen Y, Wang PJ, Dang SC. Effect of TREM-1 expression in intestinal macrophages on their invasion and proliferation of intestinal epithelial cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 471-477 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/471.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.471>

摘要

目的: 探讨肠巨噬细胞髓系细胞触发受体-1(triggering receptor expressed on myeloid cells-1, TREM-1)的表达对肠巨噬细胞侵袭

■背景资料

肠巨噬细胞对维持肠屏障功能具有重要作用,其活化可以产生大量肿瘤坏死因子- α 、白介素-6等炎症介质,形成级联反应,引起肠屏障功能障碍,研究肠巨噬细胞在肠屏障功能中的作用具有重大意义。

■同行评议者

虞必光, 教授, 遵义医学院附属医院消化科

■研究前沿

从细胞及分子水平研究肠巨噬细胞髓系细胞触发受体-1(TREM-1)表达水平及其对肠黏膜的影响,探讨TREM-1作为分子靶点治疗肠屏障功能障碍(IBD)的可行性。

力和肠上皮细胞增殖的影响,进一步明确肠巨噬细胞在肠屏障功能障碍(intestinal barrier dysfunction, IBD)中可能的作用。

方法: 体外培养肠巨噬细胞及肠上皮细胞, 逆转录-多聚酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测大鼠肠巨噬细胞的TREM-1和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)基因表达水平, 用Tanswell板将二者共培养, MTT法绘制肠上皮细胞生长曲线, Matrigel侵袭实验检测肠巨噬细胞对肠上皮细胞的侵袭力。

结果: 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)组TREM-1及TNF- α 的基因表达水平高于LPS+LP17组和空白对照(Control)组(均 $P<0.05$); LPS+LP17组与Control组相比无差异。与Control组相比, 两实验组的肠上皮细胞的生长均受到抑制(均 $P<0.05$); LPS组肠上皮细胞生长的抑制大于LPS+LP17组($P<0.05$)。侵袭实验中3组平均穿膜细胞数分别为 29.3 ± 2.1 、 46.0 ± 3.6 和 34.7 ± 3.1 。LPS组与Control组比较差异具有明显统计学意义($P<0.01$), LPS组与LPS+LP17组相比差异具有统计学意义($P<0.05$)。

结论: LP17不但能抑制肠巨噬细胞TREM-1的表达及炎症介质的释放, 还可以抑制肠巨噬细胞对上皮细胞的侵袭。利用LP17阻断TREM-1信号转导可减轻肠巨噬细胞对肠上皮细胞的损害, 有望成为治疗IBD的新靶点。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肠巨噬细胞; 髓系细胞触发受体-1; 肠上皮细胞

张建新, 王坤, 祝文蕊, 沈耀, 王平江, 党胜春. 大鼠肠巨噬细胞TREM-1表达对其侵袭力和肠上皮细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 471-477 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/471.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i6.471>

0 引言

肠黏膜屏障是机体屏障系统的重要组成部分, 多种因素如炎症介质、氧化应激、微循环障碍、缺血再灌注损伤和细胞凋亡均可导致肠黏膜屏障损害^[1,2]。一旦黏膜屏障被破坏, 黏膜下层组织将暴露在肠腔复杂的抗原之中, 启动免疫反应, 产生大量细胞因子, 进一步加重肠黏膜损害^[3]。肠巨噬细胞主要分布在肠黏膜下的固

有层中, 其总数占人体组织中巨噬细胞的绝大部分, 对维持肠屏障功能具有重要作用, 其活化可以产生大量肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)等炎症介质, 形成级联反应, 导致细胞功能障碍, 引起肠屏障功能障碍(intestinal barrier dysfunction, IBD)^[4]。髓系细胞触发受体-1(triggering receptor expressed on myeloid cells-1, TREM-1)主要在中性粒细胞和单核巨噬细胞上表达, 能诱导中性粒细胞和单核细胞分泌TNF- α 等促炎因子^[5-7]。本文拟通过体外细胞实验, 探讨肠巨噬细胞对肠上皮细胞的影响, 进一步明确肠巨噬细胞在IBD中可能的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 SD健康大鼠, 体质量200-250 g, 由江苏大学实验动物中心提供; RPMI 1640培养基、FBS、Penicillin和Streptomycin购自Hyclone公司; 等渗细胞分离液(Percoll solution)购自Biosharp公司; 胶原酶IV购自Worthington公司; LP17多肽购自美国Invitrogen公司; MTT试剂盒购自碧云天公司; Tanswell板购自美国Corning公司。

1.2 方法

1.2.1 肠巨噬细胞的分离: 大鼠麻醉后无菌解剖, 迅速取全肠。用预冷PBS(pH 7.4)液冲洗肠腔, 纵向剖开, 置于含1 g/L EDTA的Hanks平衡盐溶液中, 37 °C水浴振荡60 min。弃上清, 用5 g/L胶原酶IV消化2 h, 所得细胞悬液400目筛网过滤。再以Hanks液洗涤, 重悬于500 g/L等渗细胞分离液, 4 °C 2 000 r/min离心15 min, 收集细胞沉淀即为肠巨噬细胞, 以无钙、镁Hanks液洗涤3遍, 用台盼蓝染色, 细胞活力约为85%。计数肠巨噬细胞, 以RPMI 1640培养基(10% FBS, 100 μ g/mL Penicillin; 100 U/mL Streptomycin)调细胞浓度至 5×10^5 /L。

1.2.2 肠上皮细胞的分离: 全肠置于含1 g/L EDTA的Hanks平衡盐溶液中, 37 °C水浴振荡30 min。收集上清, 用HBSS清洗2次, 悬于40%等渗的细胞分离液中。4 °C, 1 500 r/min离心15 min。收集上层细胞(含有95%肠上皮细胞), 用HBSS洗3遍, 用台盼蓝染色, 细胞活力约为80%, 以DMEM培养基(10%FBS; 20 ng/mL EGF; 5 μ g/mL Insulin; 3.2 mmol/L Glutamine; 100 μ g/mL Penicillin; 100 U/mL Streptomycin)调整细胞密度为 1×10^5 个/mL。细胞培养均置于37 °C、50 mL/L CO₂培养箱中

培养。

1.2.3 分组: (1)空白对照(Control)组: 肠巨噬细胞不做处理; (2)脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)组: 用LPS处理肠巨噬细胞, 培养液LPS终浓度为1 $\mu\text{g/mL}$; (3)LPS+LP17组: 用LPS及LP17联合处理肠巨噬细胞, 培养液LPS终浓度为1 $\mu\text{g/mL}$, LP17终浓度为100 ng/mL。

1.2.4 RT-PCR检测大鼠肠巨噬细胞TREM-1和TNF- α 基因表达: 大鼠肠巨噬细胞分离后置于6孔板中培养, 每孔加入2 mL RPMI 1640培养液, 分组、给药, 培养6 h后提取总RNA。分光光度计测定RNA样品在260 nm、280 nm的吸收值, 按RNA浓度 = $(A_{260}-A_{320}) \times \text{稀释倍数} \times 0.04 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ 计算RNA的浓度, $A_{260/280}$ 等于1.8-2.0的RNA样品为纯度合格, 1.2%甲醛变性琼脂糖电泳检测RNA样品完整性。再根据TransScript Reverse Transcriptase反转录试剂盒说明进行操作合成cDNA。TREM-1和TNF- α 的RT-PCR引物由本室设计, 并由上海生工生物工程技术有限公司合成。TREM-1的mRNA引物序列为F: 5'-ACCCTGTTCTGCTCTTCC-3', R: 5'-AACCTCAGTCGGCTTTGT-3'; TNF- α 的mRNA引物序列为F: 5'-AGGAGGAGAAGTTCCCAAAT-3', R: 5'-GCTACGGGCTTGTCACCTC-3'。以cDNA为模板, 以上述制备的cDNA为模板, 根据TransStart Top Green qPCR SuperMix说明书进行RT-PCR(25 μL 反应体系)。以GAPDH为内参基因, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算TREM-1和TNF- α 的基因表达水平。

1.2.5 大鼠肠巨噬细胞和肠上皮细胞共培养: 将大鼠肠上皮细胞以 1×10^5 个/mL的密度接种于24孔板(Transwell板)中, 每孔500 μL DMEM完全培养基; 再将大鼠肠巨噬细胞以 5×10^5 个/mL的密度接种于24孔板的小室中, 每室500 μL RPMI 1640完全培养基, 将两种细胞共培养, 待细胞状态良好时对肠巨噬细胞进行分组给药(每组6个平行孔), 给药后共培养0、6、12、24、48、72 h后终止培养, 在酶联免疫检测仪上检测肠上皮细胞 A_{490} , 以时间为横坐标 A_{490} 值为纵坐标作图, 根据检测值绘制肠上皮细胞生长曲线。

1.2.6 大鼠肠巨噬细胞基质胶侵袭实验: 取生长良好的肠巨噬细胞, RPMI 1640基础培养基轻洗两次; 加入无血清培养基, 37 $^{\circ}\text{C}$ 、50 mL/L CO_2 培养24 h, 收集细胞培养上清; 4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 r/min离心10 min, 取上清; 0.22 μm 滤膜过滤除菌; 分装后于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。取出-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存的Matrigel, 冰上过夜融化。吸取100 μL Matrigel加入预冷的

300 μL 无血清培养基中, 充分混匀。取稀释好的Matrigel 50 μL 加入Transwell板上室, 覆盖整个聚碳酸酯膜, 37 $^{\circ}\text{C}$ 静置30 min, 使Matrigel聚合成胶, 37 $^{\circ}\text{C}$ 可保存2 wk。用PBS漂洗处理后的细胞3次。0.25%胰酶消化, 终止消化后用RPMI 1640基础培养基制备单细胞悬液($5 \times 10^5/\text{mL}$), 每组细胞各分为两部分。台盼蓝染色, 细胞活力 $>95\%$ 。Transwell培养板上室加入300 μL 细胞悬液(5×10^4 个)。Transwell培养板下室加入500 μL 趋化因子, 37 $^{\circ}\text{C}$ 、50 mL/L CO_2 培养24 h。用湿棉签轻轻擦去Matrigel凝胶和聚碳酸酯膜上表面的细胞。小心取出上室, 用线拴住, 做好标记, 用冰预冷的甲醇固定30 min。苏木素染色1 min。梯度乙醇脱水(80、95、100 mL/L), 二甲苯透明。小心将聚碳酸酯膜自上室基底切取下来, 置载玻片上中性树脂封片。附着于聚碳酸酯膜下表面的细胞在高倍镜下($\times 400$)随机取3个视野计数, 取平均数。

统计学处理 利用SPSS17.0软件进行统计分析。计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 多组比较采用One-Way ANOVA, 两两比较采用SNK法检验。以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠肠巨噬细胞及肠上皮细胞 细胞生长状态良好, 分布均匀, 细胞活力约为80%-85%(图1, 2)。

2.2 肠巨噬细胞TREM-1及TNF- α 的基因表达 经LPS处理后肠巨噬细胞TREM-1的基因表达水平为 3.71 ± 0.18 , TNF- α 基因表达水平为 6.09 ± 1.20 , 与Control组相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 经LPS+LP17处理后肠巨噬细胞TREM-1基因表达水平为 1.65 ± 0.47 , TNF- α 基因表达水平为 1.77 ± 0.48 , 与Control组相比, 无差异($P > 0.05$)。LPS组与LPS+LP17组相比, 肠巨噬细胞TREM-1及TNF- α 的基因表达水平均有差异($P < 0.05$, 图3)。

2.3 LPS对大鼠肠上皮细胞生长的影响 与空白对照组相比, LPS组及LPS+LP17组肠上皮细胞的生长受到抑制(均 $P < 0.05$); 对LPS组肠上皮细胞生长的抑制大于LPS+LP17组($P < 0.05$, 图4)。

2.4 肠巨噬细胞对肠上皮细胞的侵袭 肠巨噬细胞对照组的3个平行样本高倍镜($\times 400$)视野下平均穿膜细胞数为 29.3 ± 2.1 , LPS实验组的3个平行样本高倍镜($\times 400$)视野下平均穿膜细胞数为 46.0 ± 3.6 , LPS+LP17实验组的3个平行样本高倍镜($\times 400$)视野下平均穿膜细胞数为 34.7 ± 3.1 。LPS组与Control组比较差异具有明显统计

■创新盘点

由于肠道环境中存在较多的抗原类物质和各种微生物, 肠巨噬细胞在免疫表型和功能上有显著的特点。结合肠巨噬细胞TREM-1变化在肠道免疫功能中发挥的独特作用, 利用TREM-1的特异性阻断剂干预其表达, 为TREM-1作为IBD分子治疗靶点的提供实验基础及理论依据。

■应用要点

本研究进一步明确肠巨噬细胞在IBD中可能的作用, 为治疗IBD提供实验基础及理论依据。

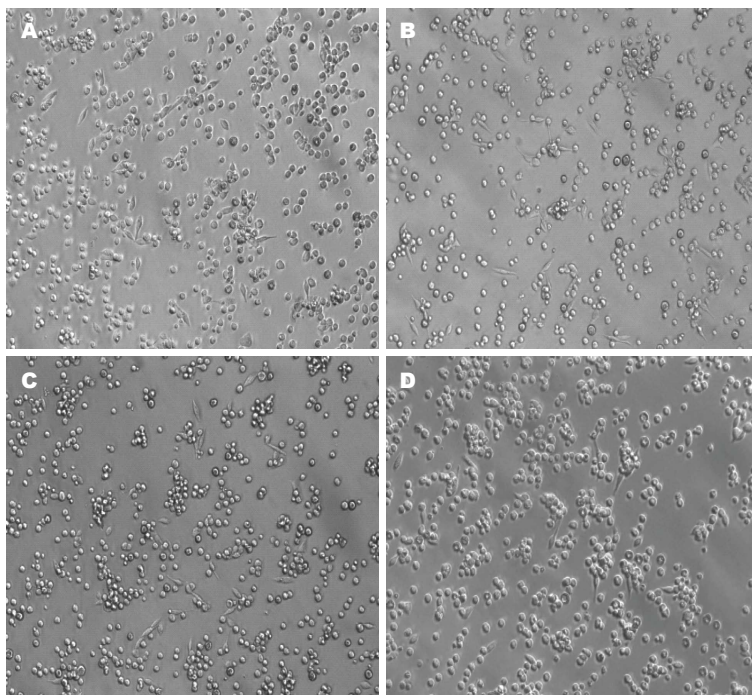


图 1 大鼠肠巨噬细胞($\times 100$, 培养 24 h).

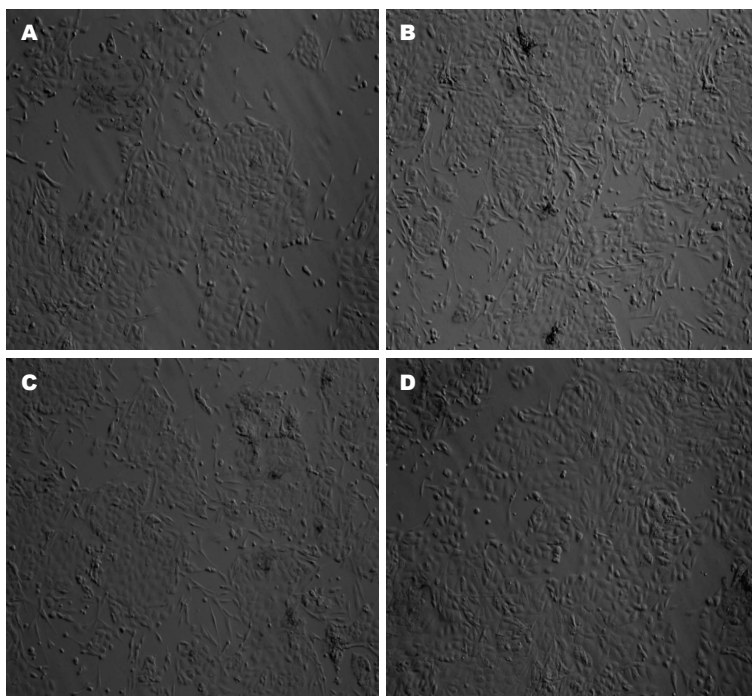


图 2 大鼠肠上皮细胞($\times 100$, 培养 6 h).

学意义($P < 0.01$), LPS组与LPS+LP17组相比差异具有统计学意义($P < 0.05$), 而LPS+LP17组与Control组相比差异无统计学意义($P > 0.05$, 表1, 图5)。

3 讨论

TREM-1为免疫球蛋白超家族成员, 是主要表达于中性粒细胞和单核细胞表面的单次跨膜受体蛋白, 与配体结合后激活TREM-1信号通路, 在炎症级联放大反应和脓毒症发生发展中起重要

作用^[8,9]。TREM-1激活上调可触发多种炎症相关细胞因子如TNF- α 、IL-6, 诱导中性粒细胞脱颗粒和单核巨噬细胞吞噬作用, 从而放大炎症反应^[10]。研究证实, TREM-1分子的活化需要其天然配体与Toll样受体家族(Toll-like receptors, TLR)配体的协同作用^[11,12], 其中TLR4的配体LPS的作用最强^[13,14]。TRL4受体活化后, 其效应蛋白如TNF- α 及白细胞-1 β (IL-1 β)等又能明显上调TREM-1分子在细胞表面的表达^[14]。TNF- α 已被证实是炎症性肠病时引起肠黏膜屏障功能损伤

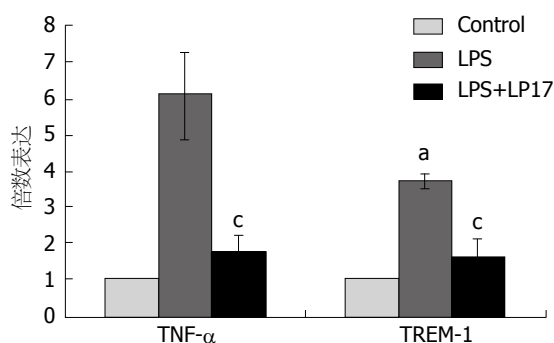


图 3 RT-PCR检测大鼠肠巨噬细胞TNF-α和TREM-1基因表达倍数. TREM-1: 髓系细胞触发受体-1; TNF-α: 肿瘤坏死因子. ^a*P*<0.05 vs Control组; ^c*P*<0.05 vs LPS组.

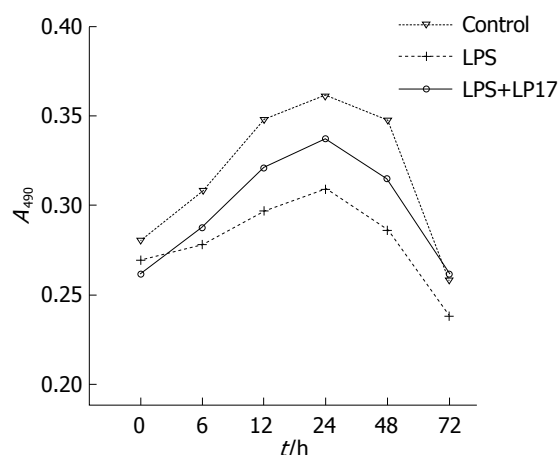


图 4 MTT法检测正常组中不同时间点下大鼠肠上皮细胞的生长曲线.

表 1 各组肠巨噬细胞对肠上皮细胞的侵袭

分组	穿透Matrigel基质细胞数目
Control组	29.3 ± 2.1
LPS组	46.0 ± 3.6 ^b
LPS+LP17组	34.7 ± 3.1 ^c

^b*P*<0.01 vs Control组; ^c*P*<0.05 vs LPS组.

的重要启动因子^[15,16]. 临床研究表明炎症性肠病患者的TNF-α表达异常增高, 且表达水平与肠黏膜通透性相关, 应用TNF-α抗体可以降低这些患者肠黏膜的通透性^[17].

LP17多肽能减弱甚至阻断TREM-1信号通路的激活, 抑制炎症因子过度表达, 调节炎症反应^[12]. 用LPS刺激小鼠脓毒症模型, 给小鼠注射LP17具有保护作用, 且其保护作用与LP17呈剂量相关性, 说明LP17可能有治疗脓毒症作用^[18]. 最新研究表明LP17能抑制SAP时血清sTREM-1的表达, 并显著减轻SAP引起的肝、肾功能障

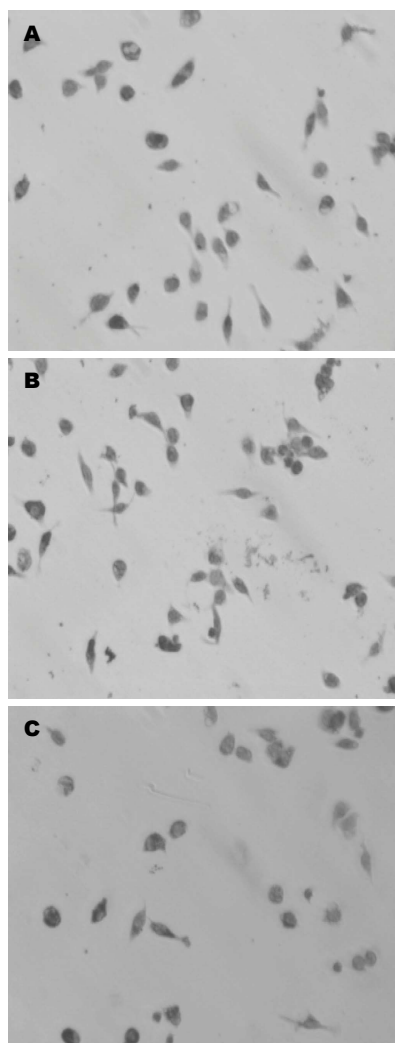


图 5 大鼠肠巨噬细胞实验穿膜细胞. A: Control组; B: LPS组; C: LPS+LP17组.

■名词解释

髓系细胞触发受体-1(TREM-1): 是主要表达于中性粒细胞和单核细胞表面的单次跨膜受体蛋白, 由V型Ig样胞外结构域、含有赖氨酸残基的跨膜结构域及缺乏信号基序的胞浆结构域3部分组成, 与NK细胞受体NKP44、白细胞受体MRF-3和多种免疫球蛋白受体有同源性.

碍^[19]. 本实验中利用RT-PCR检测肠巨噬细胞中TREM-1及TNF-α的基因表达水平, LPS组肠巨噬细胞培养6 h后TREM-1及TNF-α的mRNA表达水平比空白对照组明显升高, 且二者升高幅度呈正相关. 肠巨噬细胞经LPS+LP17处理后TREM-1及TNF-α的mRNA表达水平比LPS组明显下降, TREM-1的基因表达下降更加明显, 但仍高于空白对照组. 结果显示LP17可以明显抑制LPS刺激肠巨噬细胞TREM-1及TNF-α的基因表达. 说明LP17可与肠巨噬细胞TREM-1配体竞争性结合, 抑制炎症因子过度表达. 提示干预肠巨噬细胞TREM-1表达可防治IBD.

肠上皮细胞间的紧密连接是由紧密连接蛋白构成, 主要包括闭锁蛋白、连接相关分子等跨膜蛋白和闭锁小带(zonula occludens, ZO)、丝状肌动蛋白(F-actin)等^[20,21]. TNF-α可通过旁分泌形式作用于邻近肠上皮细胞, 一方面TNF-α可激活上皮细胞间的肌球蛋白轻链激酶, 调整紧密连接蛋白Occludin和ZO-1在紧密连接膜微区

同行评价

本文有一定的科学及临床意义, 新颖性较好。

的分布, 造成紧密连接处功能障碍^[22,23], 增加肠上皮细胞细胞旁的通透性, 是TNF- α 引起肠黏膜屏障通透性增高的主要原因^[24]; 另一方面TNF- α 通过其受体TNFR1和/或TNFR2途径诱导肠上皮细胞凋亡^[25,26], 使肠上皮细胞屏障同一位点上皮细胞脱落, 产生微小腐蚀点, 导致肠黏膜功能紊乱^[27]. 肠上皮凋亡脱落进一步加剧肠黏膜通透性^[28]. 另外, 在NF- κ B介导下, TNF- α 和INF- γ 可上调肠上皮细胞内NOD2基因表达, 提高对LPS的敏感性^[29], 从而加重炎症因子对肠上皮细胞的损害。

本文利用Transwell板将巨噬细胞与肠上皮细胞共培养的, 通过LP17及LPS处理肠巨噬细胞, 检测肠上皮细胞的活性及巨噬细胞的对肠上皮细胞的侵袭. 结果显示LPS刺激肠巨噬细胞释放的炎症因子, 可抑制肠上皮细胞的增殖, 利用LP17阻断TREM-1的表达可以减轻炎症因子对肠上皮细胞生长的抑制. 我们的实验还表明LP17可以减少肠巨噬细胞对肠上皮细胞的侵袭细胞数量, 说明LP17不但能抑制肠巨噬细胞TREM-1的表达, 还可以抑制固有层的肠巨噬细胞向黏膜层迁移, 减轻肠巨噬细胞分泌的炎症因子对肠上皮细胞的损害, 其机制可能与抑制肠巨噬细胞炎症因子的释放, 减弱炎症因子对巨噬细胞的趋化作用有关。

总之, 肠黏膜损伤是个相当复杂的过程, 涉及诸多因素与环节. 肠道细菌移位和炎症介质的过量释放是肠黏膜损伤的主要原因, TREM-1作为炎症放大介质有可能在肠黏膜屏障功能损害中起重要作用, 我们通过探讨肠巨噬细胞TREM-1的表达对肠上皮细胞增殖的影响及肠巨噬细胞对肠上皮细胞的侵袭, 说明利用LP17阻断TREM-1信号转导可减轻肠巨噬细胞对肠上皮细胞的损害, 有望成为治疗IBD的新靶点。

参考文献

- Rahman SH, Ammori BJ, Holmfeld J, Larvin M, McMahon MJ. Intestinal hypoperfusion contributes to gut barrier failure in severe acute pancreatitis. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 26-35; discussion 35-36 [PMID: 12559182]
- Zhang XP, Zhang J, Song QL, Chen HQ. Mechanism of acute pancreatitis complicated with injury of intestinal mucosa barrier. *J Zhejiang Univ Sci B* 2007; 8: 888-895 [PMID: 18257123 DOI: 10.]
- Fillon S, Robinson ZD, Colgan SP, Furuta GT. Epithelial function in eosinophilic gastrointestinal diseases. *Immunol Allergy Clin North Am* 2009; 29: 171-178, xii-xiii [PMID: 19141352 DOI: 10.1016/j.jac.2008.09.003]

- Leveau P, Wang X, Sun Z, Börjesson A, Andersson E, Andersson R. Severity of pancreatitis-associated gut barrier dysfunction is reduced following treatment with the PAF inhibitor lexipafant. *Biochem Pharmacol* 2005; 69: 1325-1331 [PMID: 15826603 DOI: 10.1016/j.bcp.2005.01.023]
- Washington AV, Quigley L, McVicar DW. Initial characterization of TREM-like transcript (TLT)-1: a putative inhibitory receptor within the TREM cluster. *Blood* 2002; 100: 3822-3824 [PMID: 12393607 DOI: 10.1182/blood-2002-02-05232002-02-0523]
- Yoshioka N, Taniguchi Y, Yoshida A, Nakata K, Nishizawa T, Inagawa H, Kohchi C, Soma G. Intracellular localization of CD14 protein in intestinal macrophages. *Anticancer Res* 2009; 29: 865-869 [PMID: 19414321]
- Zhang JX, Dang SC, Qu JG, Wang XQ, Chen GZ. Changes of gastric and intestinal blood flow, serum phospholipase A2 and interleukin-1beta in rats with acute necrotizing pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3578-3581 [PMID: 15962379]
- Gómez-Piña V, Soares-Schanoski A, Rodríguez-Rojas A, Del Fresno C, García F, Vallejo-Cremades MT, Fernández-Ruiz I, Arnalich F, Fuentes-Prior P, López-Collazo E. Metalloproteinases shed TREM-1 ectodomain from lipopolysaccharide-stimulated human monocytes. *J Immunol* 2007; 179: 4065-4073 [PMID: 17785845]
- Liao R, Liu Z, Wei S, Xu F, Chen Z, Gong J. Triggering receptor in myeloid cells (TREM-1) specific expression in peripheral blood mononuclear cells of sepsis patients with acute cholangitis. *Inflammation* 2009; 32: 182-190 [PMID: 19396532 DOI: 10.1007/s10753-009-9119-1]
- Bouchon A, Dietrich J, Colonna M. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes. *J Immunol* 2000; 164: 4991-4995 [PMID: 10799849]
- Wu M, Peng A, Sun M, Deng Q, Hazlett LD, Yuan J, Liu X, Gao Q, Feng L, He J, Zhang P, Huang X. TREM-1 amplifies corneal inflammation after *Pseudomonas aeruginosa* infection by modulating Toll-like receptor signaling and Th1/Th2-type immune responses. *Infect Immun* 2011; 79: 2709-2716 [PMID: 21555403 DOI: 10.1128/IAI.00144-11]
- Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Béné MC, Bollaert PE, Lozniewski A, Mory F, Levy B, Faure GC. A soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 modulates the inflammatory response in murine sepsis. *J Exp Med* 2004; 200: 1419-1426 [PMID: 15557347 DOI: 10.1084/jem.]
- Radsak MP, Salih HR, Rammensee HG, Schild H. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in neutrophil inflammatory responses: differential regulation of activation and survival. *J Immunol* 2004; 172: 4956-4963 [PMID: 15067076]
- Bleharski JR, Kiessler V, Buonsanti C, Sieling PA, Stenger S, Colonna M, Modlin RL. A role for triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in host defense during the early-induced and adaptive phases of the immune response. *J Immunol* 2003; 170: 3812-3818 [PMID: 12646648]
- Rutgeerts P, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, Rachmilewitz D, Wolf DC, Olson A, Bao W, Hanauer SB. Comparison of scheduled and episodic treatment strategies of in-

- fliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 402-413 [PMID: 14762776]
- 16 Zeissig S, Bojarski C, Buerger N, Mankertz J, Zeit M, Fromm M, Schulzke JD. Downregulation of epithelial apoptosis and barrier repair in active Crohn's disease by tumour necrosis factor alpha antibody treatment. *Gut* 2004; 53: 1295-1302 [PMID: 15306588 DOI: 10.1136/gut.2003.036632]
 - 17 Suenart P, Bulteel V, Lemmens L, Noman M, Geypens B, Van Assche G, Geboes K, Ceuppens JL, Rutgeerts P. Anti-tumor necrosis factor treatment restores the gut barrier in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2000-2004 [PMID: 12190167 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05914.x]
 - 18 Gibot S, Massin F, Alauzet C, Derive M, Montemont C, Collin S, Fremont S, Levy B. Effects of the TREM 1 pathway modulation during hemorrhagic shock in rats. *Shock* 2009; 32: 633-637 [PMID: 19333144 DOI: 10.1097/SHK.0b013e3181a53842]
 - 19 Kamei K, Yasuda T, Ueda T, Qiang F, Takeyama Y, Shiozaki H. Role of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in experimental severe acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2010; 17: 305-312 [PMID: 19787284 DOI: 10.1007/s00534-009-0191-6]
 - 20 Ewert P, Aguilera S, Allende C, Kwon YJ, Albornoz A, Molina C, Urzúa U, Quest AF, Olea N, Pérez P, Castro I, Barrera MJ, Romo R, Hermoso M, Leyton C, González MJ. Disruption of tight junction structure in salivary glands from Sjögren's syndrome patients is linked to proinflammatory cytokine exposure. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 1280-1289 [PMID: 20131287 DOI: 10.1002/art.27362]
 - 21 Diesing AK, Nossol C, Panther P, Walk N, Post A, Klues J, Kreutzmann P, Dänicke S, Rothkötter HJ, Kahlert S. Mycotoxin deoxynivalenol (DON) mediates biphasic cellular response in intestinal porcine epithelial cell lines IPEC-1 and IPEC-J2. *Toxicol Lett* 2011; 200: 8-18 [PMID: 20937367 DOI: 10.1016/j.toxlet.]
 - 22 Li Q, Zhang Q, Wang M, Zhao S, Ma J, Luo N, Li N, Li Y, Xu G, Li J. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha disrupt epithelial barrier function by altering lipid composition in membrane microdomains of tight junction. *Clin Immunol* 2008; 126: 67-80 [PMID: 17964857 DOI: 10.1016/j.clim.2007.08.017]
 - 23 Blikslager AT, Moeser AJ, Gookin JL, Jones SL, Odle J. Restoration of barrier function in injured intestinal mucosa. *Physiol Rev* 2007; 87: 545-564 [PMID: 17429041 DOI: 10.1016/j.physrev.2007.08.017]
 - 24 Bruewer M, Luegering A, Kucharzik T, Parkos CA, Madara JL, Hopkins AM, Nusrat A. Proinflammatory cytokines disrupt epithelial barrier function by apoptosis-independent mechanisms. *J Immunol* 2003; 171: 6164-6172 [PMID: 14634132]
 - 25 Piguet PF, Vesin C, Guo J, Donati Y, Barazzzone C. TNF-induced enterocyte apoptosis in mice is mediated by the TNF receptor 1 and does not require p53. *Eur J Immunol* 1998; 28: 3499-3505 [PMID: 9842892 DOI: 10.1002/(SICI)1521-4141]
 - 26 Babu D, Soenen SJ, Raemdonck K, Leclercq G, De Backer O, Motterlini R, Lefebvre RA. TNF- α /cycloheximide-induced oxidative stress and apoptosis in murine intestinal epithelial MODE-K cells. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 4414-4425 [PMID: 22721505]
 - 27 Kiesslich R, Duckworth CA, Moussata D, Gloeckner A, Lim LG, Goetz M, Pritchard DM, Galle PR, Neurath MF, Watson AJ. Local barrier dysfunction identified by confocal laser endomicroscopy predicts relapse in inflammatory bowel disease. *Gut* 2012; 61: 1146-1153 [PMID: 22115910 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300695]
 - 28 Gitter AH, Bendfeldt K, Schulzke JD, Fromm M. Leaks in the epithelial barrier caused by spontaneous and TNF- α -induced single-cell apoptosis. *FASEB J* 2000; 14: 1749-1753 [PMID: 10973924]
 - 29 Rosenstiel P, Fantini M, Bräutigam K, Kühbacher T, Waetzig GH, Seeger D, Schreiber S. TNF- α and IFN- γ regulate the expression of the NOD2 (CARD15) gene in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2003; 124: 1001-1009 [PMID: 12671897 DOI: 10.1053/gast.2003.50157]

编辑 李军亮 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)

整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白及mRNA在胃癌组织中的表达及临床意义

白兴武, 李桃, 齐洁敏

■背景资料

胃癌患者的病情进展快, 相当一部分患者在确诊时就已经发生了转移, 尽管现在胃镜的普及和胃癌手术方法的改进使得胃癌的治愈率有所提高, 但5年生存率仍不高, 主要死亡原因是胃癌的浸润和转移, 所以研究胃癌的浸润、转移机制及寻找胃癌的早期诊断指标对胃癌而言尤其重要。

白兴武, 承德护理职业学院 河北省承德市 067000
李桃, 齐洁敏, 承德医学院病理解剖学教研室 河北省承德市 067000

白兴武, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

作者贡献分布: 白兴武、李桃及齐洁敏对此文所作贡献均等; 此课题由齐洁敏设计; 研究过程由白兴武与李桃操作完成; 数据分析及本论文写作由白兴武、李桃及齐洁敏完成。

通讯作者: 齐洁敏, 教授, 067000, 河北省承德市双桥区上二道河子, 承德医学院病理解剖学教研室: qijiejin@126.com

收稿日期: 2012-12-17 修回日期: 2013-01-20

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

Clinical significance of expression of integrin $\alpha 5\beta 1$ in gastric carcinoma

Xing-Wu Bai, Tao Li, Jie-Min Qi

Xing-Wu Bai, Chengde Nursing Vocational College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Tao Li, Jie-Min Qi, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Correspondence to: Jie-Min Qi, Professor, Department of Pathology, Chengde Medical College, Shuangqiao District, Chengde 067000, Hebei Province, China. qijiejin@126.com

Received: 2012-12-17 Revised: 2013-01-20

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of integrin $\alpha 5\beta 1$ in gastric carcinoma and to analyze its relationship with the development and prognosis of gastric carcinoma.

METHODS: The expression of integrin $\alpha 5\beta 1$ protein and mRNA was analyzed using immunohistochemistry and *in situ* hybridization (ISH) in 80 cases of gastric carcinoma and 50 cases of normal stomach tissue. The relationship between integrin $\alpha 5\beta 1$ expression and clinicopathological parameters of gastric carcinoma was analyzed.

RESULTS: The positive rate of integrin $\alpha 5\beta 1$ protein expression in gastric carcinoma was significantly higher than that in normal stomach

tissue (60% vs 22%, $P < 0.05$). The positive rate of integrin $\alpha 5\beta 1$ mRNA expression in gastric carcinoma was also significantly higher than that in normal stomach tissue (61.25% vs 24%, $P < 0.05$). The expression of integrin $\alpha 5\beta 1$ in gastric carcinoma was closely associated with tumor differentiation, TNM stage, lymph node metastasis, and depth of invasion (all $P < 0.05$), but not with age, gender or pathological type (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: High expression of integrin $\alpha 5\beta 1$ has a close relation with the growth, invasion and metastasis of gastric carcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric carcinoma; Integrin $\alpha 5\beta 1$; Immunohistochemistry; *In situ* hybridization

Bai XW, Li T, Qi JM. Clinical significance of expression of integrin $\alpha 5\beta 1$ in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 478-483 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/478.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.478>

摘要

目的: 探讨整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织中的表达特点以及它在胃癌发生、发展中的作用。

方法: 应用免疫组织化学方法及原位杂交法同步检测80例胃癌组织及50例癌旁正常组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 表达情况, 分析其在胃癌组织中表达的特点以及和临床病理指标的关系。

结果: (1)胃癌组整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白的阳性表达率为60%, 高于癌旁正常组(22%), 差异有统计学意义($P < 0.05$), 胃癌组整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA的阳性表达率为61.25%, 高于癌旁正常组(24%), 差别有统计学意义($P < 0.05$); (2)整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织的表达与胃癌患者的年龄、性别、病理类型无关($P > 0.05$), 与癌组织的分化程

■同行评议者

蒋敬庭, 教授, 常州市第一人民医院(苏州大学附属第三医院)肿瘤生物诊疗中心

度、TNM分期、淋巴结转移、浸润深度密切相关($P<0.05$).

结论: 胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 高表达与胃癌的生长、浸润和转移密切相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃癌; 整合素 $\alpha 5\beta 1$; 免疫组织化学; 原位杂交

白兴武, 李桃, 齐洁敏. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白及mRNA在胃癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 478-483
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/478.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i6.478>

0 引言

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 发病率和死亡率居我国消化系恶性肿瘤之首^[1-3]. 近几年, 随着现代生活的发展, 胃癌出现了年轻化的趋势, 与不良生活习惯及环境污染有很大的关系. 早期胃癌多无症状或仅有轻微症状, 当临床症状明显时, 病变已属晚期. 胃癌转移、复发是患者死亡的主要原因, 也是治疗的最大障碍^[4], 所以研究胃癌的浸润、转移机制及寻找胃癌的早期诊断指标, 不仅有利于提高胃癌的诊疗水平而且对于改善预后亦具有十分重要的意义. 胃癌浸润和转移的首要步骤^[5,6]是癌细胞的黏附力变化, 所以作为细胞黏附分子的整合素 $\alpha 5\beta 1$ ^[7]在胃癌浸润转移中的作用非常重要, 关于整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌中表达情况的研究尚未见报道. 本实验采用免疫组织化学法和原位杂交法检测整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织中的表达特点, 并阐述其在胃癌的发生、发展中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-10/2012-03承德市多家医院手术切除并经病理诊断确诊为胃癌的组织80例, 男51例, 女29例, 平均年龄 64.0 ± 8.2 岁. 癌灶 >10 cm处癌旁正常组织50例, 男31例, 女19例, 平均年龄 61.0 ± 7.9 岁. 经 χ^2 检验, 两组之间年龄及性别构成无明显差异. 全组病例术前均未行化疗和放疗且临床资料完整. 所有标本经中性甲醛溶液固定, 常规石蜡包埋, $5 \mu\text{m}$ 厚连续切片, 检测mRNA标本所用载玻片均经APES处理, 0.1%DEPC水浸泡.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学SP法: 兔抗整合素 $\alpha 5\beta 1$ 多克隆IgG抗体购自北京博奥森生物技术有限公司; 兔免疫组织化学试剂盒为北京四正柏生物科技有限公司产品; 染色步骤严格按照试剂盒使用说明进行, 用已知阳性切片组织作阳性对照, 阴性对照用PBS代替一抗.

1.2.2 原位杂交: 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 原位杂交试剂盒及原位杂交专用盖玻片等购自武汉博士德生物工程有限公司. 原位杂交前将实验所需器皿进行RNA酶处理, 液体试剂均以DEPC水配制. 实验步骤按照试剂盒说明书操作, 用已知阳性切片组织作阳性对照, 以预杂交液代替探针作为空白对照.

1.2.3 结果评定: 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白阳性表达主要定位于细胞膜和/或细胞浆, 呈黄色颗粒状, 整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA的表达位于细胞浆内, 呈棕黄色颗粒状. 表达水平采用阳性细胞数评分和染色强度评分综合确定^[8]. 阳性细胞数评分标准为: 0分为阳性细胞数 $<10\%$; 1分为阳性细胞数 $<25\%$; 2分为阳性细胞数 $<50\%$; 3分为阳性细胞数 $\geq 50\%$. 阳性染色强度评分标准为: 0分为阴性, 与背景色完全一致; 1分为弱阳性染色, 呈淡黄色, 略深于背景色; 2分为阳性染色, 呈中等黄色, 明显深于背景色; 3分为强阳性染色, 呈棕黄色或棕褐色, 胞浆内也可见着色. 每张切片总评分为阳性细胞数评分+阳性染色强度评分, 积分0分=阴性(-), 1-2分=低表达(+), 3-4分为中度表达(++), 5-6分为高表达(+++).

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行统计分析, 计数资料比较采用 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧).

2 结果

2.1 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织、癌旁正常组织中的表达 免疫组织化学结果: 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白在阴性对照片中无表达. 阳性产物定位于细胞膜和/或细胞浆, 呈棕黄色颗粒或线网状分布. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白在胃癌组织中表达的阳性率为60%, 高于癌旁正常组织(22%), 差异有统计学意义($P<0.05$, 表1). 免疫组织化学结果见图1. 原位杂交结果: 整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA阳性信号在癌细胞胞浆内, 为棕黄色颗粒. 阴性对照片无阳性信号检出. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA在胃癌组织中表达的阳性率为61.25%, 高于癌旁正常组织(24%), 差

■ 研究前沿

目前关于恶性肿瘤的研究中, 浸润、转移机制是研究热点. 胃癌中对浸润、转移指标的研究是重点. 胃癌浸润、转移的首要步骤是癌细胞黏附力的变化, 所以作为细胞黏附分子的整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌浸润、转移中的作用非常重要.

■创新盘点

关于整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌中表达情况的研究尚未见报道,本文采用原位杂交技术和免疫组织化学方法分别从基因水平和蛋白水平检测整合素 $\alpha 5\beta 1$ 的表达情况,并阐述整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌发生、发展中的作用。

表 1 胃癌组织和癌旁正常组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 的表达 (n)

项目	组织	n	染色结果				阳性率(%)	P 值
			-	+	++	+++		
整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白	胃癌组织	80	32	11	23	14	60.00	<0.05
	癌旁正常组织	50	39	8	3	0	22.00	
整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA	胃癌组织	80	31	12	25	12	61.25	<0.05
	癌旁正常组织	50	38	9	3	0	24.00	

表 2 胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 的表达与临床病理指标的关系

临床病理特征	n	整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白			整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA		
		阳性数(n)	%	P 值	阳性数(n)	%	P 值
年龄(岁)							
<60	25	14	56.0	>0.05	14	56.0	>0.05
≥ 60	55	34	61.8		35	63.6	
性别							
男	51	31	60.8	>0.05	30	58.8	>0.05
女	29	17	58.6		19	65.5	
分化程度							
高-中分化	35	11	31.0	<0.05	15	42.8	<0.05
低-未分化	45	37	82.0		34	75.6	
TNM分期							
I、II	42	17	40.5	<0.05	20	47.6	<0.05
III、IV	38	31	81.6		29	76.0	
淋巴结转移							
阴性	29	8	27.6	<0.05	11	38.0	<0.05
阳性	51	40	78.0		38	74.5	
浸润深度							
未达浆膜	44	19	43.0	<0.05	21	47.7	<0.05
浸透浆膜	36	29	80.6		28	77.8	
病理类型							
腺癌	46	28	60.9	>0.05	29	63.0	>0.05
印戒细胞癌	34	20	58.8		20	58.8	

别有统计学意义($P<0.05$, 表1). 原位杂交结果见图2.

2.2 胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 的表达与临床病理指标的关系 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白和整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA在胃癌组织中的表达与胃癌患者的年龄、性别及病理类型无关($P>0.05$). 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白和整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA在胃癌组织的表达与胃癌的分化程度、TNM分期、淋巴结转移、浸润深度密切相关($P<0.05$, 表2).

3 讨论

恶性肿瘤的浸润和转移^[9]是肿瘤细胞与宿主细胞之间相互作用的一个复杂、多步骤的过程,

该过程涉及肿瘤细胞的黏附能力、运动能力、增殖能力、对周围基质蛋白水解能力以及肿瘤组织内的肿瘤性血管形成能力等. 肿瘤细胞在向远处转移时首先要脱离原发灶, 黏附在细胞外基质并降解细胞外基质和基底膜, 然后再降解的细胞外基质中移动. 在此过程中细胞黏附分子发挥了非常重要作用.

整合素最早由Richand于1987年提出, 是广泛存在于动植物细胞表面的一类细胞黏附分子^[10,11]. 整合素都是由 α (120-185 kDa)和 β (90-110 kDa)两个亚单位形成的异二聚体, 迄今已发现18种 α 亚单位和9种 β 亚单位, 他们按不同的组合构成20余种整合素^[12,13]. 一般认

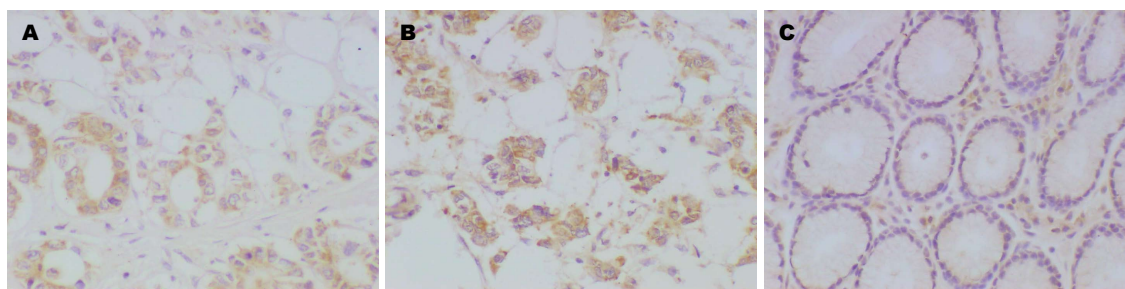


图 1 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达结果(SP $\times 200$). A: 高-中分化胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白的阳性表达结果; B: 低-未分化胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白的阳性表达结果; C: 癌旁正常胃组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白的阴性表达结果.

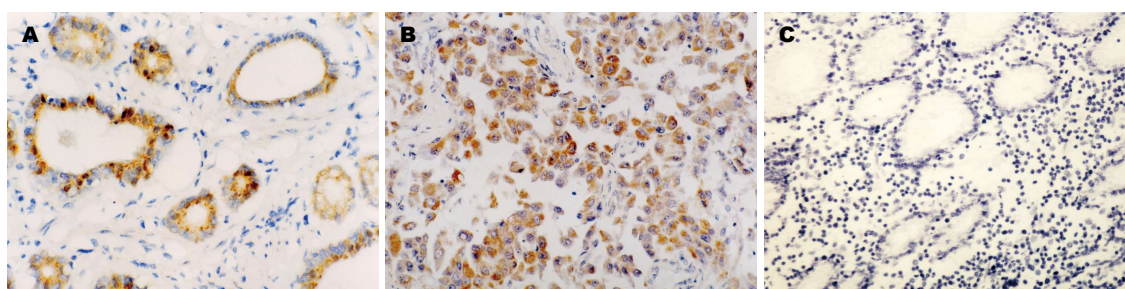


图 2 整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达结果(ISH $\times 200$). A: 高-中分化胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA的阳性表达结果; B: 低-未分化胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA的阳性表达结果; C: 癌旁正常胃组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA的阴性表达结果.

应用要点
研究整合素 $\alpha 5\beta 1$ 与胃癌的关系, 将为胃癌的早期诊断提供新线索, 并且可以作为判断胃癌生物学行为的指标及基因治疗的候选靶点.

为, 整合素在肿瘤的发生发展、浸润转移中主要起两个方面的作用^[14-16]: 一方面整合素介导肿瘤细胞和细胞外基质的黏附, 可改变基质的成分, 调节基质生物学功能. 从而促进肿瘤细胞的浸润和转移; 在循环系统和血小板、白细胞相互作用, 使肿瘤细胞逃避宿主的免疫监视; 另一方面整合素介导信息从细胞外基质向细胞内传递. 而这些信息往往将影响细胞生长和分化. 整合素的异常信息传递可促进肿瘤细胞失控性生长、肿瘤细胞的去分化与远处转移.

整合素 $\alpha 5\beta 1$ 是由 $\alpha 5$ 和 $\beta 1$ 两个亚单位组成的异二聚体^[17]. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 能使肿瘤的同质性黏附下降, 促使肿瘤细胞从瘤体上脱落, 然后再使肿瘤细胞异质性黏附增强, 加强肿瘤细胞与宿主非肿瘤细胞之间的黏附^[18]. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 可与细胞外基质的主要组成成分纤维结合蛋白结合^[19], 介导细胞与细胞外基质、细胞与细胞间的黏附反应, 并且接受、传导级联信号以及调节细胞的存活、运动、增殖等生物学过程^[20,21], 在肿瘤的发生发展和浸润、转移过程中都起着重要作用^[22]. 另外整合素 $\alpha 5\beta 1$ 还可以通过参与调节基质金属蛋白酶的分泌和活化^[23]、肿瘤血

管发生^[24]及肿瘤细胞凋亡^[25]等多方面, 促进肿瘤侵袭转移. 目前大量的临床和实验研究表明整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在多种肿瘤的发生发展过程中都起着很重要作用, 已有研究表明整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在肝癌^[26]、肺癌^[27]、肠癌^[28]等肿瘤细胞中都有表达, 其蛋白表达水平或极性分布随着肿瘤的发生、发展而变化, 这可能与肿瘤的细胞起源、恶性程度和整合素 $\alpha 5\beta 1$ 作用的多样性相关. Prifti等^[29]采用免疫组织化学的方法检测了整合素与子宫内膜黏附和迁移的关系, 结果发现, 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 参与癌细胞的转移. 迟福生等^[30]研究整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA在贲门癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系, 发现贲门癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA的表达明显高于癌旁正常胃黏膜组织, 整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA的表达与癌组织淋巴结转移及病理分期成正相关, 与癌组织分化程度成负相关. 然而整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织中的表达及意义的研究未见报道. 本实验采用免疫组织化学方法与原位杂交技术分别从蛋白水平和基因水平检测整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白和整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA在胃癌及正常胃黏膜中的表达, 并分析整合素 $\alpha 5\beta 1$ 与胃癌临床病理指标间的关系, 所得结论一致, 即整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织中的

■名词解释

细胞黏附分子(CAM): 众多介导细胞间或者细胞与胞外基质间相互接触和结合的分子的统称。黏附分子以受体-配体结合的形式发挥作用, 根据结构特点可分为整合素家族、选择素家族、免疫球蛋白超家族等, 此外还有一些尚未归类的黏附分子。

阳性率高于癌旁正常胃组织, 差别有统计学意义($P<0.05$), 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织的表达与胃癌的分化程度、TNM分期、淋巴结转移、浸润深度密切相关($P<0.05$), 提示整合素 $\alpha 5\beta 1$ 的差异性表达在转录之前就已发生, 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌的发生发展、浸润转移中起了重要作用。

综上所述, 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 与胃癌的生物学特性密切相关, 其表达的上调能促进胃癌的发生与浸润进展, 但其调节作用的机制和途径复杂, 有待于进一步研究。深入研究整合素 $\alpha 5\beta 1$ 与胃癌的关系, 将为胃癌的早期诊断提供新线索, 并且可以作为判断胃癌生物学行为的指标及基因治疗的候选靶点。

4 参考文献

- 瞿春莹, 董国芳, 汪余勤, 陈梅梅, 李定国. 78例早期胃癌患者内镜及组织病理学分析. 实用诊断与治疗杂志 2007; 21: 732-733, 736
- 王康磊, 刘绪舜. CD151在消化系统肿瘤中的表达研究进展. 现代肿瘤医学 2012; 20: 1294-1297
- Takeichi M. Cadherins: a molecular family important in selective cell-cell adhesion. *Annu Rev Biochem* 1990; 59: 237-252 [PMID: 2197976 DOI: 10.1146/annurev.bi.59.070190.001321]
- 张莹, 韦敏怡. CD151与肿瘤侵袭和转移的研究进展. 医学综述 2008; 14: 1165-1168
- Cairns RA, Khokha R, Hill RP. Molecular mechanisms of tumor invasion and metastasis: an integrated view. *Curr Mol Med* 2003; 3: 659-671 [PMID: 14601640 DOI: 10.2174/1566524033479447]
- Eble JA, Haier J. Integrins in cancer treatment. *Curr Cancer Drug Targets* 2006; 6: 89-105 [PMID: 16529540 DOI: 10.2174/156800906776056518]
- 赵婕, 顾红燕, 郭青龙. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 与恶性肿瘤侵袭转移关系的研究进展. 药学服务与研究 2006; 6: 358-360
- 周业江, 时德, 吴斌. 整合蛋白 $\alpha 5\beta 1$ 的表达与胃癌生物学行为及微血管密度的关系. 中国普外基础与临床杂志 2003; 10: 256-259
- 姜维华, 朱辛明, 杨志平, 朱晴, 马春园, 黄宇鹏, 林明轩. 乙酰肝素酶在胃癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系. 中国老年学杂志 2011; 31: 3262-3263
- 金洁琼, 台秀丽, 相世霞. 整合素 $\beta 1$ 在恶性肿瘤组织中的研究进展. 中国医疗前沿 2011; 6: 27-28
- Berman AE, Kozlova NI, Morozovich GE. Integrins: structure and signaling. *Biochemistry (Mosc)* 2003; 68: 1284-1299 [PMID: 14756624]
- Ahmed N, Pansino F, Clyde R, Murthi P, Quinn MA, Rice GE, Agrez MV, Mok S, Baker MS. Overexpression of $\alpha(v)\beta 6$ integrin in serous epithelial ovarian cancer regulates extracellular matrix degradation via the plasminogen activation cascade. *Carcinogenesis* 2002; 23: 237-244 [PMID: 11872628]
- Maubant S, Cruet-Hennequart S, Poulain L, Carreiras F, Sichel F, Luis J, Staedel C, Gauduchon P. Altered adhesion properties and $\alpha v\beta 3$ integrin expression in a cisplatin-resistant human ovarian

carcinoma cell line. *Int J Cancer* 2002; 97: 186-194 [PMID: 11774263]

- 袁建达, 邵志敏, 韩企, 夏沈镇. 整合素亚型 $\alpha 5\beta 1$ 基因抑制乳腺癌增殖和转移的作用. 实用癌症杂志 1999; 14: 1-5
- Gerger A, Hofmann G, Langsenlehner U, Renner W, Weitzer W, Wehrschütz M, Wascher T, Samonigg H, Krippel P. Integrin $\alpha 2$ and $\beta 3$ gene polymorphisms and colorectal cancer risk. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 159-163 [PMID: 18836731 DOI: 10.1007/s00384-008-0587-9]
- Cruz-Monserrate Z, O'Connor KL. Integrin $\alpha 6\beta 4$ promotes migration, invasion through Tiam1 upregulation, and subsequent Rac activation. *Neoplasia* 2008; 10: 408-417 [PMID: 18472958]
- 张雷, 张才全. 整合素与肿瘤. 重庆医学 2003; 32: 1261-1263
- 王肖泽, 王继见. 胃癌转移机制研究新进展. 重庆医学 2010; 39: 479-481
- Podolnikova NP, Yakubenko VP, Volkov GL, Plow EF, Ugarova TP. Identification of a novel binding site for platelet integrins $\alpha IIb\beta 3$ (GPIIb/IIIa) and $\alpha 5\beta 1$ in the gamma C-domain of fibrinogen. *J Biol Chem* 2003; 278: 32251-32258 [PMID: 12799374 DOI: 10.1074/jbc.M300410200]
- Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 1992; 69: 11-25 [PMID: 1555235 DOI: 10.1016/0092-8674(92)90115-S]
- Giancotti FG, Ruoslahti E. Integrin signaling. *Science* 1999; 285: 1028-1032 [PMID: 10446041 DOI: 10.1126/science.285.5430.1028]
- Su JM, Wang LY, Liang YL, Zha XL. Role of cell adhesion signal molecules in hepatocellular carcinoma cell apoptosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4667-4673 [PMID: 16094707]
- Banerji A, Chakrabarti J, Mitra A, Chatterjee A. Effect of curcumin on gelatinase A (MMP-2) activity in B16F10 melanoma cells. *Cancer Lett* 2004; 211: 235-242 [PMID: 15219947 DOI: 10.1016/j.canlet.2004.02.007]
- Kim S, Bell K, Mousa SA, Varner JA. Regulation of angiogenesis in vivo by ligation of integrin $\alpha 5\beta 1$ with the central cell-binding domain of fibronectin. *Am J Pathol* 2000; 156: 1345-1362 [PMID: 10751360 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65005-5]
- Plath T, Detjen K, Welzel M, von Marschall Z, Murphy D, Schirner M, Wiedenmann B, Rosewicz S. A novel function for the tumor suppressor p16(INK4a): induction of anoikis via upregulation of the $\alpha(5)\beta(1)$ fibronectin receptor. *J Cell Biol* 2000; 150: 1467-1478 [PMID: 10995450 DOI: 10.1083/jcb.150.6.1467]
- Zhou GF, Ye F, Cao LH, Zha XL. Over expression of integrin $\alpha 5\beta 1$ in human hepatocellular carcinoma cell line suppresses cell proliferation in vitro and tumorigenicity in nude mice. *Mol Cell Biochem* 2000; 207: 49-55 [PMID: 10888226 DOI: 10.1023/A:1007034012642]
- 韩其政, 郭其森, 贾慧, 升梅. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 与CD44s在非小细胞肺癌中表达的意义. 现代肿瘤医学 2007; 15: 1563-1566
- 赵丽娟, 万义增, 肖马, 杨京京, 何丽馥, 李敬岩, 娄新华. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 和E-选择素蛋白在结直肠癌中的表达及意义. 肿瘤防治研究 2011; 38: 799-802
- Prifti S, Zourab Y, Koumouridis A, Bohlmann M, Strowitzki T, Rabe T. Role of integrins in inva-

sion of endometrial cancer cell lines. *Gynecol Oncol* 2002; 84: 12-20 [PMID: 11748970 DOI: 10.1006/gyno.2001.6410]

30 迟福生, 王振元, 王者生. 贲门癌组织整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA表达及其临床病理意义. *中华肿瘤防治杂志* 2010; 17: 752-754

■同行评价
本文有一定的新颖性.

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

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

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

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

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

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

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 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. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

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

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原创文章、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)

超声内镜弹性成像在消化系黏膜下肿瘤诊断中的价值

邹传鑫, 谢明, 戴绍军, 汤绍迁

■背景资料

对消化系黏膜下肿瘤的患者进行术前超声内镜实时弹性成像, 按照弹性成像5分法对组织弹性成像进行评分, 经手术或内镜下切除获取消化系黏膜下肿瘤病理诊断。

邹传鑫, 谢明, 戴绍军, 汤绍迁, 荆州市中心医院消化内科 湖北省荆州市 434020

邹传鑫, 副主任医师, 主要从事消化系疾病的临床诊治工作。

作者贡献分布: 邹传鑫负责研究设计、数据采集与分析以及文章的撰写; 谢明参与研究设计与文章审阅; 戴绍军主要负责数据采集及指导; 汤绍迁提供技术与材料支持。

通讯作者: 谢明, 主任医师, 434020, 湖北省荆州市荆州区荆中路60号, 荆州市中心医院消化内科。

zhouchuanxin@medmail.com.cn

电话: 07168436341

收稿日期: 2012-12-18 修回日期: 2013-01-23

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

Diagnostic value of EUS elastography in detection of gastrointestinal submucosal tumors

Chuan-Xin Zou, Ming Xie, Shao-Jun Dai, Shao-Qian Tang

Chuan-Xin Zou, Ming Xie, Shao-Jun Dai, Shao-Qian Tang, Department of Gastroenterology, Jingzhou Central Hospital, Jingzhou 434020, Hubei Province, China

Correspondence to: Ming Xie, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Jingzhou Central Hospital, 60 Jingzhong Road, Jingzhou District, Jingzhou 434020, Hubei Province, China. zhouchuanxin@medmail.com.cn

Received: 2012-12-18 Revised: 2013-01-23

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

Abstract

AIM: To summarize the real-time EUS elastographic patterns of gastrointestinal submucosal tumors (SMTs) and investigate the potential use of EUS elastography for the differentiation between benign and malignant conditions.

METHODS: Thirty-four patients who underwent EUS at our department for SMT between January 2009 and October 2011 were enrolled, and real-time elastography was carried out during conventional EUS examination. Elastographic images were scored 1 to 5 based on the elastographic pattern. The final diagnosis was made based on the histopathology of specimens resected by surgery or endoscopy.

RESULTS: The 34 lesions were finally diagnosed as leiomyoma ($n = 6$), lipoma ($n = 1$), liposarcoma ($n = 1$), neurilemmoma ($n = 1$), or

gastrointestinal stromal tumors (GISTs) ($n = 25$). Among the 25 GIST cases with pathological results, 12 were low-risk GISTs, 7 were moderate-risk GISTs, and 6 were high-risk GISTs. The elastographic patterns of benign SMTs tended to be type I, II or III. All moderate-/high-risk GIST showed an elastographic pattern of type IV. There was a significant difference in elastographic pattern between benign and malignant lesions ($P < 0.001$). The sensitivity, specificity and accuracy of real-time EUS elastography in the evaluation of malignant lesions were 92.86%, 95.00% and 94.12%, respectively. There was no significant difference in elastographic pattern between GISTs and leiomyoma.

CONCLUSION: There is an apparent difference in elastographic pattern between benign and malignant lesions of upper gastrointestinal SMTs. Real-time EUS elastography may be a promising method for the differentiation of benign and malignant lesions of upper gastrointestinal SMTs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Submucosal tumors; Endoscopic ultrasonography; Elastography; Diagnosis

Zou CX, Xie M, Dai SJ, Tang SQ. Diagnostic value of EUS elastography in detection of gastrointestinal submucosal tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 484-489
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/484.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.484>

摘要

目的: 初步探讨消化系黏膜下肿瘤的超声内镜实时组织弹性成像特征及其在良恶性鉴别中的价值。

方法: 2009-01/2011-10对34例消化系黏膜下肿瘤的患者进行超声内镜实时弹性成像, 按照弹性成像5分法对组织弹性成像进行评分, 后经手术或内镜下切除获取消化系黏膜下肿瘤病理诊断。

结果: 34例患者最终诊断为平滑肌瘤6例, 脂

■同行评议者

毛高平, 教授, 中国人民解放军空军总医院

脂肪瘤、脂肪肉瘤和神经鞘瘤各1例, 胃肠道间质瘤25例, 其中间质瘤病理低度危险性12例, 中度危险性7例, 高度危险性6例. 弹性成像模式: 良性黏膜下肿瘤的弹性模式多表现为 I、II 和 III 型; 所有的中高度危险性间质瘤表现为 IV 型; 弹性成像分级在良、恶性病变之间差异有统计学意义($P < 0.001$). 诊断恶性病灶的敏感度为92.86%, 特异度为95.00%, 准确率为94.12%. 间质瘤和平滑肌瘤的弹性成像没有明显差别.

结论: 消化系黏膜下肿瘤良恶性组织弹性成像呈不同的图像特征, 超声内镜实时组织弹性成像有助于消化系黏膜下肿瘤良恶性病变的鉴别.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 黏膜下肿瘤; 超声内镜; 弹性成像; 诊断

邹传鑫, 谢明, 戴绍军, 汤绍迁. 超声内镜弹性成像在消化系黏膜下肿瘤诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 484-489 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/484.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.484>

0 引言

超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)借助超声探头对消化系黏膜下肿瘤进行探查, 具有探测距离短、干扰小、组织分辨率高等优点, 已成为消化系黏膜下肿瘤的诊断和鉴别诊断的重要手段, 但EUS的B模式灰阶成像区分肿瘤良、恶性特异性差, 导致EUS的诊断价值受到限制. 超声内镜实时组织弹性成像技术(EUS real-time elastograph imaging)就是在EUS检查中对组织弹性量化和可视化的一种最近发展起来的影像技术^[1], 在明确病变性质和鉴别病变良恶性方面为EUS提供了有效补充, 表现出优越的性能. 实时组织弹性成像技术已成功应用于甲状腺、前列腺、乳腺、肝脏、胰腺等疾病的诊断^[2,3]. 该技术的临床应用在国内外尚处于起步阶段, 在消化系黏膜下肿瘤诊断中的应用目前还尚少, 本研究目的旨在初步探讨消化系黏膜下肿瘤的超声内镜弹性成像特征及其在良恶性病变鉴别诊断中的应用价值.

1 材料和方法

1.1 材料 2009-01/2011-10对34例因发现消化系黏膜下肿瘤而于我科行EUS检查的患者同时行超声内镜实时弹性成像检查. 患者男20例, 女14

例, 年龄40-89岁, 平均63.1岁; 黏膜下肿瘤直径0.8-13 cm, 平均3.6 cm; 其中食管黏膜下肿瘤5例, 胃黏膜下肿瘤23例, 十二指肠黏膜下肿瘤6例.

1.2 方法

1.2.1 超声内镜弹性成像检查: 应用日立公司具有超声实时弹性成像功能的Hitachi EUB-8500型彩色多普勒超声诊断仪及PENTAX公司EG-3630 UR环扫型电子超声内镜(最大末端直径12.1 mm, 工作长度1 250 mm; 扫描范围270度, 超声频率5-10 MHz可变)和EG-3830 UT凸面线阵型电子超声内镜(最大末端直径12.8 mm, 工作长度1 250 mm; 扫描范围120度, 超声频率5-10 MHz可变). 首先应用B模式灰阶成像进行常规探查, 了解病灶的部位、大小、形态及内部回声特征, 然后根据探查结果确定拟行超声弹性成像的目标区域, 将超声影像切换至实时弹性成像模式, 借助呼吸运动、胸、腹腔大动脉搏动及探头的压迫产生加压作用, 从而获取目标部位的弹性成像图像并记录, 以便分析.

1.2.2 超声内镜弹性成像评价标准: 根据组织实时弹性成像的图像颜色类型对病变的软硬度做出判断, 其中蓝色代表硬, 红色代表软, 绿色及黄色则介于两者之间. 按照弹性成像5分法^[4-6]对组织弹性成像进行评价: I型表现为均质绿色, II型表现为绿、黄、红混杂, III型表现为蓝、绿、黄和红色混杂, IV型表现为以蓝色为主, 混杂其他颜色的非均质模式, V型表现为均质蓝色模式.

统计学处理 应用SPSS16.0软件进行统计学分析. 良、恶性病变弹性成像分级之间的比较使用秩和检验; 病变直径与病变弹性成像分级之间的比较使用 χ^2 检验. 以手术或经内镜切除获取消化系黏膜下肿瘤标本的病理学检查为金标准, 计算弹性成像诊断恶性病变的敏感度、特异度和准确率.

2 结果

34例患者均成功进行了超声内镜实时弹性成像检查并获得了满意的弹性成像图像, 无操作相关并发症发生. 经手术或内镜切除获取消化系黏膜下肿瘤标本的病理学检查证实为胃肠道间质瘤25例, 平滑肌瘤6例, 脂肪瘤、脂肪肉瘤和神经鞘瘤各1例, 4种组织的超声内镜、病理及免疫组织图像分别见图1-4; 其中间质瘤低度危险性12例, 中度危险性7例, 高度危险性6例(表1).

参照国内外相关文献报道^[7,8], 将病理提示

■ 相关报道

超声内镜实时组织弹性成像是近年来开始发展的一种技术, 可通过超声内镜检查反映组织的弹性情况. 有些疾病可导致组织硬度改变, 根据其弹性差异, EUS弹性成像可应用于良恶性淋巴结、胰腺或肝脏局灶病变的鉴别, 且对于胃肠道及周围实体性肿瘤的发现与鉴别亦有帮助.

■创新盘点

超声内镜及实时组织弹性成像能有效诊断上消化道黏膜下肿瘤,并能够有效评估其良恶性。

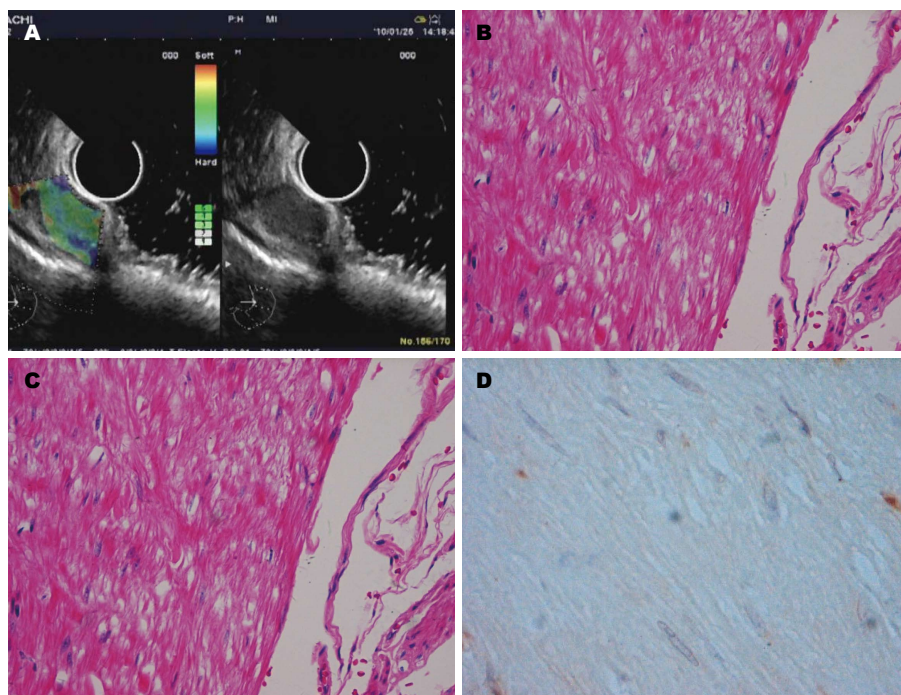


图 1 平滑肌瘤. A: 弹性成像显示均匀绿色, 弹性评价为 I 型; B: 平滑肌肿瘤细胞 (HE $\times 200$); C: 肿瘤细胞 Calponin (+) (EnVision 法 $\times 200$); D: 肿瘤细胞 CD117 (-) (EnVision 法 $\times 200$).

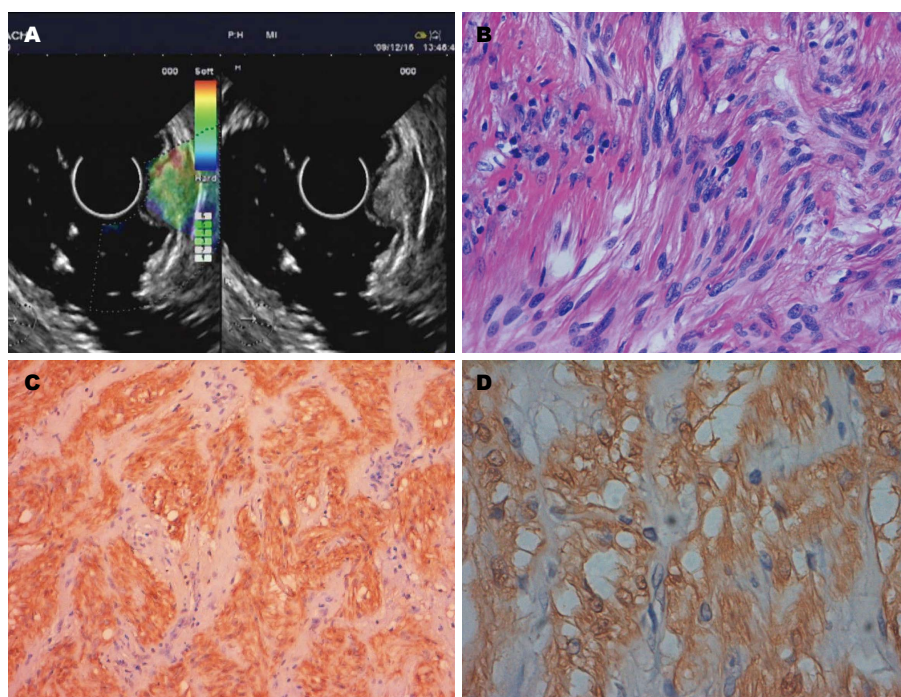


图 2 神经鞘瘤. A: 弹性成像显示绿红黄相混合, 弹性评价为 II 型; B: 神经鞘瘤细胞 (HE $\times 200$); C: 肿瘤细胞 S-100 (+) (EnVision 法 $\times 200$); D: 肿瘤细胞 S-100 (++) (EnVision 法 $\times 200$).

为低度危险性的胃肠道间质瘤按良性病变归类; 而将病理提示为中、高度危险性的胃肠道间质瘤归类为恶性病变. 故我们在分组时, 将平滑肌瘤、脂肪瘤、神经鞘瘤和低度危险性胃肠道间质瘤归为良性, 脂肪肉瘤和中、高度危险性胃肠道间质瘤归为恶性病变. 以此标准, 消化系黏膜下肿瘤病理和弹性模式的对应关系如下: 良性黏膜下肿瘤的弹性模式多表现为 I、II 和 III 型; 所有的中、高度危险性间质瘤表现为 IV 型 (表 1). 弹性成像分级在良、恶性

病变之间差异有统计学意义 (平均秩次分别为 11.02、26.75, $P < 0.001$). 14 个恶性病变中, 13 个表现为 IV 型, 诊断为恶性, 另有 1 个误诊为良性; 20 个良性病变中, 有 1 个表现为 IV 型, 误诊为恶性, 19 个诊断为良性, 诊断恶性病灶的敏感度为 92.86% (13/14), 特异度为 95.00% (19/20), 准确率为 94.12% (32/34). 直径 < 2 cm 的病变主要表现为 I 和 II 型; 直径 > 2 cm 的病变多表现为 III 和 IV 型 (表 2). 弹性成像分级与病变直径之间线性回归分析有统计学意义 ($\chi^2 = 13.24$, $P < 0.01$), 二者之

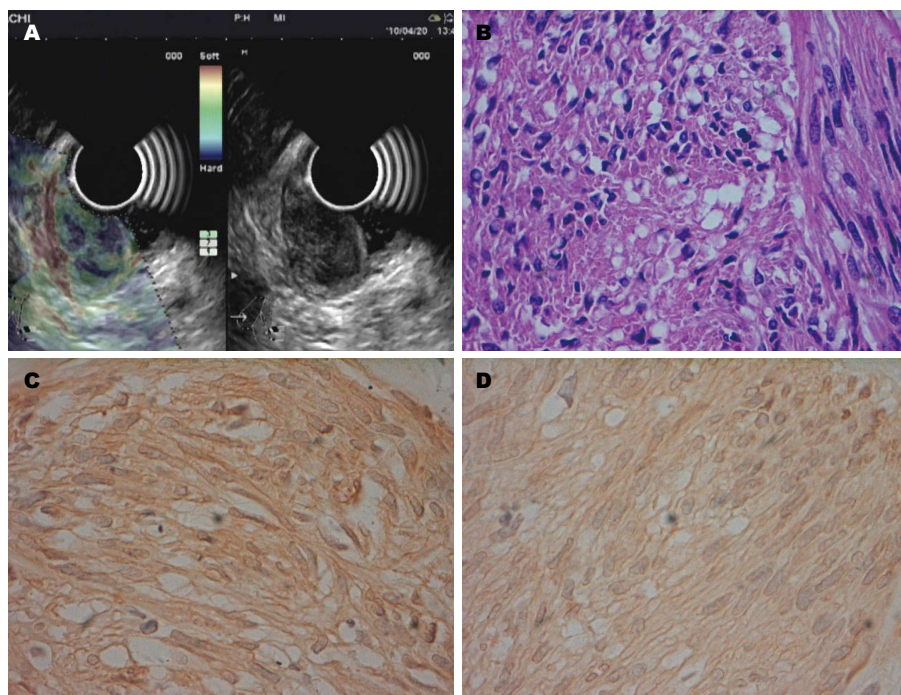


图 3 低度危险性间质瘤. A: 弹性成像显示蓝色与其他颜色混杂, 弹性评价为Ⅲ型; B: 间质瘤(低度危险性)细胞(HE × 400); C: 肿瘤细胞Dog-1(++)(EnVision法 × 200); D: 肿瘤细胞CD117(++)(EnVision法 × 200).

■应用要点

首先应用B模式灰阶成像进行常规探查, 了解病灶的部位、大小、形态及内部回声特征, 然后根据探查结果确定拟行超声弹性成像的目标区域. 将超声影像切换至实时弹性成像模式, 借助呼吸运动、胸、腹腔大动脉搏动及探头的压迫产生加压作用, 从而获取目标部位的弹性成像图像并记录.

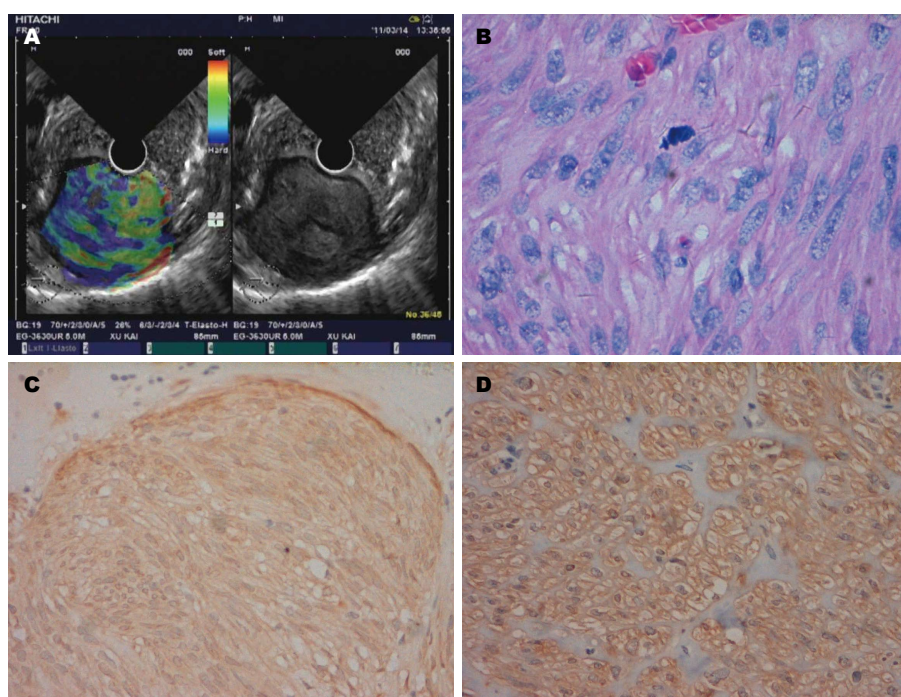


图 4 高度危险性间质瘤. A: 弹性成像显示蓝色与其他颜色相混杂, 以蓝色为主, 弹性评价Ⅳ型; B: 间质瘤(高度危险性)细胞(HE × 400); C: 肿瘤细胞CD117(++)(EnVision法 × 200); D: 肿瘤细胞DOG-1(++)(EnVision法 × 200).

间存在线性相关关系. 低度危险性间质瘤和平滑肌瘤的弹性成像没有明显差别.

3 讨论

消化系黏膜下肿瘤临床鉴别诊断仍比较困难, 无论其良恶性, 在内镜下表现都很相似, 多为表面光滑的隆起性病变, 普通胃镜的活检往往取材过小、过浅, 不足以确定诊断. 而挖掘式取材和圈套活检很不安全, 易出现出血和穿孔等并发症. EUS对诊断胃肠道黏膜下肿瘤和腔外肿瘤

是一种敏感的方法, EUS诊断黏膜下肿瘤的敏感性和准确性分别为95%和87%^[9], 然而仅从病变大小、形态、回声强度等方面区分肿瘤良、恶性, EUS检查结果却不能令人满意, 因而近年来开展EUS引导下细针穿刺(endoscopic ultrasonography guided fine needle aspiration, EUS-FNA)进行必要的细胞病理学诊断^[10-14]. EUS-FNA诊断的总体准确率各文献报道为17%-94%^[13], 但EUS-FNA技术为有创性检查, 具有操作难度大、有一定的并发症发生率等缺点, 并且需要在操作

■名词解释

超声内镜弹性成像: 对生物组织加压使其变形, 由于组织的弹性及软硬度存在差异, 在相同压力作用下, 质地柔软、弹性大的组织加压后变形度大, 质地硬、弹性小的组织行变小, 这种因加压变形所产生的组织位移度差异经量化分析后转化为不同的彩色图像, 弹性大的组织显示为红色, 弹性小的组织显示为蓝色, 弹性系数中等的组织显示为黄色、绿色, 从红色至蓝色的渐变代表组织质地从软到硬。

表 1 上消化道黏膜下肿瘤病理结果与弹性成像比较 (n)

病理结果	弹性成像评价			
	I	II	III	IV
脂肪瘤	1			
神经鞘瘤		1		
平滑肌瘤	4	1	1	
间质瘤(低危)	3	3	5	1
间质瘤(中危)				7
间质瘤(高危)				6
脂肪肉瘤			1	

表 2 上消化道黏膜下肿瘤病灶按直径分组后弹性成像评价 (n)

GIST直径 (cm)	n	弹性成像评价			
		I	II	III	IV
1-2	7	3	2		2
2-3	6			2	4
3-4	5		1	2	2
>4	7			1	6
合计	25	3	3	5	14

过程中有细胞病理学医师在场进行细胞快速固定、染色及病理学诊断, 以指导穿刺的次數及判定穿刺的效果。分化好的肿瘤如消化道间质瘤和淋巴瘤有时单靠细胞学检查亦很难做出正确判断^[14], 加之对于体积较小和位置不便于穿刺的肿瘤, 均使EUS-FNA诊断的可行性受到一定限制。故近年来临床上出现了包括造影增强超声内镜及超声内镜弹性成像技术等一系列的新技术, 以提高超声内镜影像学诊断的准确性^[4-6,15]。

弹性成像技术是对组织物理特性进行描述, 对常规超声图像的信息补充^[16]。实时弹性成像是组织受到外来振动时进行的运动检测, 这种技术的应用进一步提高超声内镜在临床上的应用价值, 其借助呼吸运动、动脉搏动及适当移动超声探头使探头对目标部位形成压迫, 对采集图像内感兴趣区域进行多种声学参数的测定, 得到组织内部位移, 推算出其应变分布及弹性系数分布成像, 并以相应的颜色显示, 使组织弹性系数(软硬度)得以量化和可视化, 在明确病变性质和鉴别病变良恶性方面提供了有效补充, 有良好的应用前景。肿瘤组织、炎症组织及正常组织因含脂肪和/或胶原的不同而表现出不同的弹性系数及顺应性, 恶性肿瘤更加僵硬而顺应性差, 故超声弹性成像可通过判断不同

病变的组织软硬程度以明确病变的特性和鉴别良恶性^[17]。目前, 该技术国内外已在临床逐步展开, 国外Hirooka等^[18]报道了超声内镜弹性成像在胆道及胰腺肿瘤诊断中的应用, 阐述了病变的弹性改变与其病理良恶性相关联。Giovannini等^[4]报道超声内镜弹性成像在胰腺肿块良恶性鉴别诊断中的敏感度和特异度分别为92.3%和80.0%, 对转移性淋巴结的灵敏度和特异度分别达91.8%和82.5%。

我们对34例消化系黏膜下肿瘤的超声内镜弹性成像进行了初步探讨, 良性黏膜下肿瘤的弹性模式多表现为I、II和III型; 多呈现均一绿色或以绿色为主的影像特征, 提示其组织具有良好的、均匀一致的柔韧性及弹性。中高度危险性间质瘤表现为IV型, 以蓝色为主, 混杂其他颜色的非均质影像, 显示其组织僵硬, 弹性及顺应性均差, 而当其组织内存在局部的出血、坏死或液化时组织质地较软, 故影像呈现蓝色与其他颜色相混杂的特征。上述结果显示良性和恶性黏膜下肿瘤的超声内镜弹性成像呈现出明显不同的影像特征及弹性评价。上消化道黏膜下肿瘤弹性成像很少表现为胰腺肿瘤中出现的均质蓝色V型模式, 这可能与较大病变内部中心发生出血、坏死、囊性变等继发性改变有关。我们的研究显示直径<2 cm的病变主要表现为I和II型; 直径>2 cm的病变多表现为III和IV型, 弹性成像分级与病变直径之间有线形相关关系。国外文献^[19,20]报道黏膜下肿瘤大小是判断良恶性的重要指标之一, 直径较大的肿瘤, 表现为形状不规则, 边界不清晰, 回声不均匀, 内部可见肿瘤坏死的无回声区域, 多提示肿瘤的恶性倾向。我们的研究显示低度危险性间质瘤和平滑肌瘤的弹性成像没有明显差别。Gheorghe等^[21]报道弹性成像有助于黏膜下肿瘤的良恶性鉴别, 但无法明确鉴别平滑肌瘤和间质瘤。

总之, 我们的研究初步显示了良恶性黏膜下肿瘤弹性成像差异明显, 超声内镜及实时组织弹性成像能有效诊断上消化道黏膜下肿瘤, 并能够有效评估其良恶性。鉴于其对黏膜下肿瘤良恶性鉴别的准确度和特异度, 超声内镜及实时组织弹性成像应该常规用于黏膜下肿瘤的术前评估^[21]。但是, 超声内镜弹性成像仍是一种影像学手段, 并不能够完全替代细胞病理学检查, 然而在患者不愿或不能行EUS-FNA时, 该技术将为疾病的鉴别诊断提供更进一步的影像学依据。该法简单, 并可追踪复查, 在患者可耐受的

情况下对人体基本无创, 对消化系黏膜下肿瘤的诊断及治疗具有重要价值。

4 参考文献

- 1 Frey H. [Realtime elastography. A new ultrasound procedure for the reconstruction of tissue elasticity]. *Radiologe* 2003; 43: 850-855 [PMID: 14605701 DOI: 10.1007/s00117-003-0943-2]
- 2 Gietka-Czernel M, Kochman M, Bujalska K, Stachlewska-Nasfeter E, Zgliczyński W. Real-time ultrasound elastography - a new tool for diagnosing thyroid nodules. *Endokrynol Pol* 2010; 61: 652-657 [PMID: 21104638]
- 3 Dudea SM, Giurgiu CR, Dumitriu D, Chiorean A, Ciurea A, Botar-Jid C, Coman I. Value of ultrasound elastography in the diagnosis and management of prostate carcinoma. *Med Ultrason* 2011; 13: 45-53 [PMID: 21390343]
- 4 Giovannini M, Thomas B, Erwan B, Christian P, Fabrice C, Benjamin E, Geneviève M, Paolo A, Pierre D, Robert Y, Walter S, Hanz S, Carl S, Christoph D, Pierre E, Jean-Luc VL, Jacques D, Peter V, Andrian S. Endoscopic ultrasound elastography for evaluation of lymph nodes and pancreatic masses: a multicenter study. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1587-1593 [PMID: 19340900 DOI: 10.3748/wjg.15.1587]
- 5 孙思予, 刘香, 葛楠, 王晟, 刘金刚. 内镜超声弹性成像对消化道肿瘤淋巴结转移的诊断价值初探. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 131-133
- 6 Giovannini M, Hookey LC, Bories E, Pesenti C, Monges G, Delpero JR. Endoscopic ultrasound elastography: the first step towards virtual biopsy? Preliminary results in 49 patients. *Endoscopy* 2006; 38: 344-348 [PMID: 16680632 DOI: 10.1007/s00535-004-1383-0]
- 7 Okubo K, Yamao K, Nakamura T, Tajika M, Sawaki A, Hara K, Kawai H, Yamamura Y, Mochizuki Y, Koshikawa T, Inada K. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy for the diagnosis of gastrointestinal stromal tumors in the stomach. *J Gastroenterol* 2004; 39: 747-753 [PMID: 15338368 DOI: 10.1055/s-2006-925158]
- 8 Sakamoto H, Kitano M, Matsui S, Kamata K, Komaki T, Imai H, Dote K, Kudo M. Estimation of malignant potential of GI stromal tumors by contrast-enhanced harmonic EUS (with videos). *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 227-237 [PMID: 21295636 DOI: 10.1016/j.gie.2010.10.011]
- 9 Brand B, Oesterhelweg L, Binmoeller KF, Sriram PV, Bohnacker S, Seewald S, De Weerth A, Soehendra N. Impact of endoscopic ultrasound for evaluation of submucosal lesions in gastrointestinal tract. *Dig Liver Dis* 2002; 34: 290-297 [PMID: 12038814 DOI: 10.1016/S1590-8658(02)80150-5]
- 10 Papanikolaou IS, Triantafyllou K, Kourikou A, Rösch T. Endoscopic ultrasonography for gastric submucosal lesions. *World J Gastrointest Endosc* 2011; 3: 86-94 [PMID: 21772939 DOI: 10.4253/wjge.v3.i5.86]
- 11 Chatzipantelis P, Salla C, Karoumpalis I, Apessou D, Sakellariou S, Doumani I, Papalioti E, Konstantinou P. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumors of the stomach. A study of 17 cases. *J Gastrointest Liver Dis* 2008; 17: 15-20 [PMID: 18392238]
- 12 Varas MJ, Miquel JM, Abad R, Espinós JC, Cañas MA, Fabra R, Bargalló D. [Interventionist endoscopic ultrasonography. A retrospective analysis of 60 procedures]. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99: 138-144 [PMID: 17516826 DOI: 10.4321/S1130-01082007000300004]
- 13 Dumonceau JM, Polkowski M, Larghi A, Vilmann P, Giovannini M, Frossard JL, Heresbach D, Pujol B, Fernández-Esparrach G, Vazquez-Sequeiros E, Ginès A. Indications, results, and clinical impact of endoscopic ultrasound (EUS)-guided sampling in gastroenterology: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline. *Endoscopy* 2011; 43: 897-912 [PMID: 21842456 DOI: 10.1055/s-0030-1256754]
- 14 Pungpapong S, Wallace MB. EUS-guided Trucut needle biopsy: is more tissue really better? *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 602-604 [PMID: 16185977 DOI: 10.1016/j.gie.2005.07.004]
- 15 诸琦, 熊慧芳, 徐凯, 贺益萍, 陈希, 谭继宏, 夏璐. 造影增强超声内镜检查对胰腺占位病变的鉴别诊断初步探讨. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 126-130
- 16 Konofagou EE. Quo vadis elasticity imaging? *Ultrasonics* 2004; 42: 331-336 [PMID: 15047307 DOI: 10.1016/j.ultras.2003.11.010]
- 17 徐凯, 任大宾, 孙晓敏, 王静, 徐萍. 正常胰腺及胰腺占位病变超声内镜弹性成像特点初步研究. *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 461-464
- 18 Hirooka Y, Itoh A, Kawashima H, Ohno E, Ishikawa T, Itoh Y, Nakamura Y, Hiramatsu T, Nakamura M, Miyahara R, Ohmiya N, Ishigami M, Katano Y, Goto H. Clinical oncology for pancreatic and biliary cancers: Advances and current limitations. *World J Clin Oncol* 2011; 2: 217-224 [PMID: 21611098]
- 19 Belloni M, De Fiori E, Mazzarol G, Curti A, Crosta C. Endoscopic ultrasound and Computed Tomography in gastric stromal tumours. *Radiol Med* 2002; 103: 65-73 [PMID: 11859302]
- 20 Palazzo L, Landi B, Cellier C, Cuillerier E, Roseau G, Barbier JP. Endosonographic features predictive of benign and malignant gastrointestinal stromal cell tumours. *Gut* 2000; 46: 88-92 [PMID: 10601061 DOI: 10.1136/gut.46.1.88]
- 21 Gheorghe L, Gheorghe C, Cotruta B, Carabela A. CT aspects of gastrointestinal stromal tumors: adding EUS and EUS elastography to the diagnostic tools. *J Gastrointest Liver Dis* 2007; 16: 346-347 [PMID: 17925934]

■同行评价

本文研究消化系黏膜下肿瘤的弹性成像特征与病变良恶性及病变直径之间的关系, 具有一定的临床意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



食管鳞癌干细胞相关标志物的研究进展

王琳, 李苏宜

■背景资料

肿瘤干细胞在肿瘤细胞中所占比例很小, 但与肿瘤转移、复发、耐药等密切相关, 其在肿瘤发生发展中的作用不可小视, 针对该细胞群体的研究至关重要。肿瘤干细胞标志物在分离肿瘤干细胞起着重要作用, 其研究有助于认识和理解肿瘤发生发展的机制, 指导肿瘤的临床治疗。

王琳, 李苏宜, 东南大学附属中大医院肿瘤科 江苏省南京市 210009

南京市医学科技发展基金资助项目, No. YKK11060

作者贡献分布: 本文综述由王琳完成; 李苏宜负责审校。

通讯作者: 李苏宜, 教授, 主任医师, 210009, 江苏省南京市, 东南大学附属中大医院肿瘤科, lisuyi@cscs.org.cn

收稿日期: 2012-12-14 修回日期: 2013-01-11

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

Progress in research of markers for cancer stem cells in esophageal squamous cell carcinoma

Lin Wang, Su-Yi Li

Lin Wang, Su-Yi Li, Department of Oncology, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China

Supported by: the Medical Science and Technology Development Fund of Nanjing City, No. YKK11060

Correspondence to: Su-Yi Li, Professor, Chief Physician, Department of Oncology, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China. lisuyi@cscs.org.cn

Received: 2012-12-14 Revised: 2013-01-11

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

Abstract

Esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) is one of the most common malignant tumors in China, with high morbidity or mortality. In recent years, there has been a growing amount of evidence supporting the existence of a rare proportion of tumor cells termed cancer stem cells (CSCs) in diverse solid malignancies including ESCC. CSCs are closely related to the poor biological behaviors and drug resistance of ESCC. Markers for CSCs play an important role in the separation of CSCs, and the research on CSC markers can help clarify the mechanisms behind tumor development and guide tumor treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Cancer stem cells; Biomarkers

Wang L, Li SY. Progress in research of markers for cancer stem cells in esophageal squamous cell carcinoma. Shijie

Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(6): 490-497 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/490.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.490>

摘要

食管鳞癌是我国最常见一种恶性肿瘤, 其发病率和死亡率一直处于恶性肿瘤的前列。近年来, 愈来愈多证据支持在包括ESCC恶性实体瘤中肿瘤干细胞的存在, 并与其不良生物学行为及药物耐受密切相关。肿瘤干细胞标志物在分离肿瘤干细胞起着重要作用, 其研究有助于认识和理解肿瘤发生发展的机制, 指导肿瘤的临床治疗。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 食管鳞癌; 肿瘤干细胞; 标志物

王琳, 李苏宜. 食管鳞癌干细胞相关标志物的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 490-497 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/490.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.490>

0 引言

我国食管癌以食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)为主, 2003-2007年间发病率居恶性肿瘤第6位, 死亡率是第4位^[1,2], 复发和转移、肿瘤耐药是治疗失败及死亡主要原因。愈来愈多研究提示ESCC存在肿瘤干细胞, 并与其不良生物学行为及药物耐受密切相关^[3-5]。

1 肿瘤干细胞

恶性肿瘤组织中存在数量极少的具干细胞特征细胞群(不足5%细胞具干细胞特性), 即肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs), 其具有很强的自我更新、无限增殖能力和肿瘤各组分多向分化潜能, 同时能促进肿瘤形成、发展、转移和复发, 且与肿瘤耐药性密切相关。白血病^[6]、乳腺癌^[7]、脑肿瘤^[8]、恶性黑色素瘤^[9]等均已发现CSCs, 或源于组织正常干细胞发生不断累积的致癌性突变^[10], 或源于分化细胞有关基因发生

■同行评议者

卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

突变, 致其重新获得干细胞特征^[11]. CSCs标志物是分离鉴定CSCs的特异性标志物, 有助于肿瘤诊断、预后判断、靶点筛选和治疗. 多种实体瘤中存在CSCs生物标志, 如乳腺癌的CD24/CD44、脑胶质瘤的CD133等^[12,13]. 而ESCC的CSCs生物标志物信息少, 尚未发现肿瘤干细胞特异性细胞表面标志.

2 肿瘤干细胞标志物

2.1 p75NTR p75NTR是一种低亲和性神经营养素受体(low-affinity p75 neurotrophin receptor, p75NTR), 蛋白分子量约75 kDa, 属I型跨膜肿瘤坏死因子超家族成员, 与NGF、BDNF、NT-3和NT-4等低亲和性结合, 在高亲和力受体Trk存在下被活化, 提高对神经营养因子反应性^[14]. 正常食管上皮p75NTR阳性细胞具增殖、自我更新及多向分化能力, 经鉴定为食管上皮干细胞^[15]. 由于肿瘤干细胞与组织干细胞可能具有相同或相似标志, 推测, 食管肿瘤干细胞与食管上皮干细胞二者可能有相似表面标志p75NTR. Okumura等^[16]免疫组织化学法检测p75NTR阳性人ESCC细胞分布, 证实高、中等分化人ESCC组织p75NTR阳性细胞主要分布在肿瘤侵袭性边缘1-2层, 低分化ESCC组织则呈不规则弥散状分布. Huang等^[17]采用FACS法, 研究多种ESCC细胞株p75NTR阳性细胞存在比例, 结果为1.6%-3.7%. Sun等^[18]应用磁珠分选法(magnetic activated cell sorting, MACS)分选出p75NTR阳性细胞, 发现人ESCC中p75NTR阳性细胞具有自我更新、分化、增殖能力, 并具有较强的致瘤能力, p75NTR阳性细胞具有CSCs的特性. 叶仕新等^[19]发现p75NTR阳性ESCC细胞较阴性细胞具有更强的侵袭性、耐化疗药物能力和致瘤能力, 即具有CSCs特性; p75NTR阳性ESCC细胞中可能富集ESCC的CSCs干细胞.

Huang等^[17]发现单个p75NTR阳性细胞可在无血清培养基中悬浮生长并形成干细胞球, 可连续传代30代以上, 其增殖子代细胞既有p75NTR阳性细胞又有p75NTR阴性细胞; 而p75NTR阴性细胞只能贴壁生长, 其增殖子代细胞全部为p75NTR阴性细胞, 说明p75NTR阳性细胞具有自我更新、多向增殖分化的能力. 同时p75NTR阳性细胞较p75NTR阴性细胞表现出明显的耐药性; Sun等^[18]从原代培养的ESCC细胞中分选出p75NTR阳性细胞, 将其移植入免疫缺陷小鼠背部皮下, 发现最低500个即可成瘤,

其肿瘤形成能力大约是p75NTR阴性细胞50倍, 即p75NTR阳性细胞较p75NTR阴性细胞具更强成瘤能力.

由于部分ESCC细胞株中p75NTR阳性细胞高达30.1%, 远高于CSCs正常比例, 推测并非每个p75NTR阳性细胞都是CSCs^[17], 而且p75NTR阴性细胞也有一定成瘤能力, Sun等^[18]就发现p75NTR阴性细胞在软琼脂中也能形成少部分克隆. 部分研究结果未证实p75NTR表达水平与食管癌分级、淋巴结转移等存在联系. 因此, p75NTR并非人食管肿瘤干细胞唯一标志, p75NTR作为ESCC干细胞特异性标志还有待深入研究.

2.2 Podoplanin 分子质量为 38×10^3 的podoplanin是I型跨膜糖蛋白^[20], 主要表达于淋巴管内皮细胞表面, 血管内皮细胞不表达, 是淋巴管内皮细胞特异性标志物, 其过度表达能提高细胞黏附、迁移功能. 最近发现podoplanin还表达于多种恶性肿瘤细胞表面, 98%鳞状细胞癌如肺癌、喉癌、宫颈癌、皮肤癌及食管癌, 和中枢神经系统肿瘤及生殖细胞肿瘤中均有表达^[21], 一般表达在肿瘤边缘单细胞层上. Tong等^[22]发现正常食管上皮组织基底层极低量表达podoplanin, 认为这小部分细胞可能是正常干细胞或者肿瘤起始细胞; 而ESCC术后组织podoplanin表达阳性率80%(45/56), 高表达率37.5%(21/56). 而Rahadiani等^[23]则认为正常食管黏膜上皮不表达podoplanin, 食管上皮内瘤样病变组织podoplanin则为阳性, 且只表达在癌巢外缘. 并发现ESCC组织podoplanin高表达率31.1%(11/61). 袁世发等^[24]发现ESCC组织内淋巴管和肿瘤细胞都有podoplanin表达, 主要位于细胞膜. 表达呈两种模式: 弥散型, 表现为肿瘤组织弥漫性表达; 集中型, 表达于肿瘤增殖区外周.

Rahadiani等^[23]研究发现培养的食管鳞癌podoplanin阳性细胞传代可产生podoplanin阳性细胞和podoplanin阴性细胞, 而podoplanin阴性细胞传代却只能产生极少量细胞. 为了评估podoplanin在肿瘤发生中的作用, 他们采用基因敲除技术阻断podoplanin在podoplanin阳性的ESCC细胞株KYSE-70和TnT中的表达, ESCC细胞出现化疗药物耐受性下降、侵袭性明显降低及成瘤能力显著低下等变化, 但细胞增殖能力并没有受到影响. 而通过对podoplanin阴性的ESCC细胞株TE-1基因转染过表达podoplanin, 则细胞出现耐药性、侵袭性及成瘤能力显著提

■ 研发前沿

白血病、乳腺癌、脑肿瘤、恶性黑色素瘤等均已发现CSCs. CSCs标志物是分离鉴定CSCs的特异性标志物, 有助于肿瘤诊断、预后判断、靶点筛选和治疗. 多种实体瘤中存在CSCs生物标志, 如乳腺癌的CD24/CD44、脑胶质瘤的CD133等.

■相关报道

2003年Okumura等研究报道了食管正常干细胞与食管鳞癌干细胞的共同标志物p75NTR; Rahadiani等研究发现podoplanin很有可能是食管鳞癌的另一肿瘤干细胞标志物; Loebinger等发现ABC转运体的添加可使鳞状细胞癌产生耐药。

高等变化。Atsumi等^[25]利用皮肤SCC细胞系A431得出相似结论,同时他们发现podoplanin(+)的A431细胞与正常鳞状上皮干细胞有共同的音猬因子(sonic hedgehog, SHH)和CD44表达。

为明确podoplanin与ESCC淋巴结转移、肿瘤细胞及患者预后间关系, Rahadiani等^[23]发现podoplanin的表达与T分期($P = 0.0018$)、疾病阶段($P = 0.0073$)、淋巴管浸润($P = 0.0078$)、血管浸润($P = 0.0169$)、肿瘤复发($P = 0.0102$)有关,低表达podoplanin与高表达者相比拥有更好的总生存期(overall survival, OS)($P = 0.0164$)和无病生存期(disease-free survival, DFS)($P = 0.0161$)。Tong等^[22]对56名术前未经过任何化疗或者放疗的患者进行一项回顾性研究发现podoplanin的表达与淋巴结转移(45% vs 19%, $P = 0.013$)、病理分期(60% vs 25%, $P = 0.025$)、患者的无病生存时间显著相关,高表达患者的5年无病生存率(5%)显著低于中度及低表达(27%, 54%)患者($P < 0.001$)。Chao等^[26]对113例患者研究发现,高表达podoplanin的患者与低表达podoplanin的患者相比DSS(5年DSS 40% vs 10%, $P < 0.001$)和DFS较短。

podoplanin表达可作为患者的淋巴结转移、预后的预测因子,可能是ESCC肿瘤干细胞标志物之一,可与其他标志物联合运用来分离食管鳞癌肿瘤干细胞。同时podoplanin可作为一个新治疗靶标,用于预防食管鳞癌的侵袭转移及其他恶性生物学行为。

2.3 ABCG2 三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)结合转运蛋白G超家族成员2(ATP-Binding cassette transporter 2, ABCG2)属ABC转运蛋白家族成员之一,定位于细胞膜。在正常组织中分布广泛,主要分布于具有分泌和排泄功能的组织如小肠、结肠上皮等。目前研究表明,ABC转运体仅表达在干细胞上,并对于细胞的分化起调节作用,是干细胞标志之一,在对CSC的研究中也发现类似特性^[27]。根据肿瘤干细胞来源正常干细胞的理论推测,ABCG2可能也是食管鳞癌肿瘤干细胞的标志物。

正常食管上皮ABCG2表达率约33%-50%^[28,29],而ESCC组织ABCG2表达率在各个研究中表达不一,约15.50%-80.26%^[28-31],且在ESCC组织中ABCG2阳性细胞的比例是不同的(0-100%)。ABCG2主要位于正常食管上皮组织棘细胞层,为连续性,胞膜着色为主;在癌组织中,ABCG2多为集团状分布,主要定位于癌细胞增殖活跃

区域,癌组织血管内皮见ABCG2表达^[29]。多形性胶质细胞瘤ABCG2阳性癌细胞较ABCG2阴性癌细胞增殖速度和侵袭能力均明显上调^[32]。

ABCG2参与肿瘤多药耐药,主要通过主动转运功能将化疗药泵出胞外,推测ABCG2是CSCs耐药相关标志物。侧群细胞是从不同肿瘤和肿瘤细胞株中选取出来具较高克隆形成能力和在免疫缺陷小鼠高致瘤性,是确定及识别CSCs常见方法。鳞状上皮癌细胞(squamous cell carcinomas, SCCs)中存在类干细胞侧群细胞(stem cell-like side population, SP)具有排除Hoechst 33342能力,纯化后SCC-SP体外培养具无限增殖能力和动物体内强致瘤性,添加ABC转运体抑制剂时,SCC-SP对化疗药物表现出敏感性^[33]。Huang等^[5]在食管鳞癌细胞系EC9706和EC109中筛选出的SP细胞中发现,ABCG2在SP细胞中表达,但不在非SP细胞中表达。

ESCC组织ABCG2表达高低与患者中位生存期有关,阴性患者比阳性患者中位生存期多得多(49.3 m vs 21.8 m),复发率则较低表达ABCG2者要高^[34]。此外,ABCG2表达还可能与淋巴结转移有关^[33],与肿瘤分化程度、浸润深度关系不确切^[28,29,34]。

综上所述,ABCG2与ESCC不良预后及化疗耐药的不良生物学效应相关联,同时ABCG2在ESCC中类肿瘤干细胞(SP细胞)的表达提示其可能是肿瘤干细胞的一种标志物,但ABCG2在肿瘤组织表达量变化之大提示我们需要进一步的研究来探明其和食管鳞癌肿瘤干细胞的关系。

2.4 ALDH1 乙醛脱氢酶1(aldehyde dehydrogenase 1, ALDH1)是乙醛脱氢酶家族成员之一,将醛类氧化为乙酸,将视黄醇氧化为视黄酸。人类ALDH1基因表达存在于细胞质中,其基因克隆和定位在9q21染色体,相对分子质量为54.86 kDa。ALDH1在干细胞中表达增高,在维持干细胞特性和干细胞分化中起重要作用,保护干细胞免受外源性或内源性药物或毒物伤害。

ALDH1阳性肿瘤的化疗耐药性可能与ALDH1解毒作用相关,ALDH1能氧化烷化剂环磷酰胺(CTX)的中间代谢产物醛磷酰胺,形成无毒的羧基磷酰胺,而发挥对CTX解毒作用,致肿瘤对CTX耐药^[35]。报道显示乳腺癌^[36]、结肠癌及头颈部鳞癌^[37]ALDH1阳性细胞具肿瘤干细胞特性。国内有实验室采用梯度增加剂量照射法建立了具有干细胞特性食管癌细胞株KYSE150R,并采用基因芯片技术检测到KYSE-

150R细胞中ALDH1各亚型均表达上调,其中以ALDH1A3的升高最显著^[38]. Wang等^[39]第1次报道食管鳞癌ALDH1表达情况, 79例ESCC中的12例(15.2%)ALDH1阳性, 与淋巴结转移和预后关系: 相比于ALDH1阴性者, ALDH1者病理分化差($P = 0.003$), 淋巴结转移率高($P = 0.011$), 5年总生存率差(8.3% vs 52.2%, $P = 0.025$). Minato等^[40]回顾分析152例ESCC患者, 56例直接接受手术, 40例接受新辅助化疗后手术, 56例患者接受化疗. 结果发现, ALDH1阳性是直接手术(RFS, $P = 0.031$; CSS, $P = 0.044$)和新辅助化疗(RFS, $P = 0.026$; CSS, $P = 0.010$)者不良预后预测因子, 但不能预测化疗(PFS, $P = 0.654$; CSS, $P = 0.472$)敏感性.

因此, ALDH1也可能是ESCC的CSCs标志之一, 与ESCC化疗耐药相关联, 还可能与转移等不良临床转归有关, 但还需要进一步的研究.

2.5 CD分子 CD133是一种跨膜糖蛋白, 是脑胶质瘤^[8,41]、肝癌^[42,43]等的CSCs标志物. 郑乃刚等^[44]用免疫荧光/免疫酶染色检测ESCC细胞系, 发现Eca-109和EC9706中CD133或MDR1阳性率达70%-80%, 强阳性细胞一致率40%, 二者表达强弱程度相符, 说明CD133强阳性细胞其多药耐药性也高, 提示CD133与ESCC的CSCs联系密切. 鉴于学者认为形成细胞球的小CD133阳性表达细胞是胶质瘤肿瘤干细胞的观点^[45], 郑乃刚等^[44]分别检测ESCC组织和细胞学标本CD133强阳性小细胞表达, 结果小CD133阳性表达细胞占癌细胞8%, 癌组织中约4%, 主要位于鳞癌上皮基底层、癌珠周缘或癌灶内; ESCC细胞CD133高表达和ESCC组织CD133阳性细胞特殊定位, 直观揭示CD133阳性细胞具克隆形成潜能. 存在相反研究结论, Hang等^[31]发现ESCC中CD133表达与肿瘤细胞分化有关, 与低分化ESCC相比, 高分化ESCC过表达CD133, 但与总生存期关系不大, 因此, Hang等推测CD133不能作为食管鳞癌的标志物.

CD44是一种多功能的跨膜糖蛋白, 据外显子不同分为CD44S和CD44V, 参与细胞黏附、运动、增殖、耐药性. CD44v6为上皮间叶细胞转化标志物, 主要在具有转移能力的肿瘤细胞中表达, 参与肿瘤细胞与宿主细胞、肿瘤细胞与宿主基质的黏附, 并可提高肿瘤细胞的转移能力. Shen等^[46]研究发现, 与邻近组织相比, 其在ESCC组织表达明显增高, 并与肿瘤分化、远处转移、TNM分期有关. Le Bras等^[47]发现ESCC的

CD44上调与E-Cadherin丢失有关, 促MMP介导肿瘤浸润. Zhao等^[48]检测ESCC原代细胞系的实体肿瘤干细胞标志物CD44、CD90、CD133、CD271和CD326表达状态, 发现仅有高表达CD44的ESCC细胞具高的成瘤性和耐药性. 郑乃刚等^[44]检测ESCC组织与细胞系CD44表达, 强阳性细胞占40%, 包含2个亚群: 少数较小CD44阳性细胞亚群定位于鳞癌上皮基底层、癌珠周缘或癌灶内; 较大CD44强阳性细胞亚群主要定位于鳞癌上皮棘细胞层及癌灶中. 据此推测, CD44可能为ESCC的CSCs标志物.

CD166属免疫球蛋白基因超家族成员, 广泛参与多种组织细胞生长发育、参与肿瘤发生发展, 调节MMP-2级联反应而影响肿瘤侵袭. 一项42例ESCC回顾性研究, CD166表达与年龄(60岁为界, 80.1% vs 71.8%, $P = 0.469$)、性别(75% vs 80%, $P = 0.919$)等无关, 与肿瘤分化程度相关(60%[高分化] vs 90%[中低分化], $P = 0.031$). 在侵袭程度较深(88.9%)以及有淋巴结转移(89.7%)患者中, CD166表达阳性率明显高于侵袭较浅(53.3%, $P = 0.029$)和无淋巴结转移(46.2%, $P = 0.015$)患者, 其表达可提示预后欠佳^[49]. 目前还没有关于CD166作为食管鳞癌干细胞标志物的研究.

Sano等^[50]首次报道CD24的ESCC表达, 他们免疫组织化学分析151例ESCC标本, CD24阳性率40.4%(61/151), 高于癌旁组织, 在胞膜和胞质中均有表达. 与ki-67表达(43/70 vs 18/81, $P < 0.001$)、病理分期(9/42 vs 52/109, $P = 0.018$)、淋巴结转移(43/85 vs 18/66, $P = 0.005$)、血管侵犯(49/89 vs 12/62, $P < 0.001$)、无病生存时间($P < 0.001$)有关, 多因素回归分析结果提示为独立预后因素($P = 0.033$). CD29即ITGB1, 有研究称其表达与ESCC细胞多西他赛耐药显著相关, 推测过表达可能与化疗耐药有关^[51].

CD分子在其他一些实体肿瘤如脑胶质瘤、乳腺癌的肿瘤干细胞的分离鉴别中扮演着重要角色, 而且一些CD分子与肿瘤的耐药、分化相关, 众所周知, 肿瘤干细胞存在天然耐药, 且与肿瘤的复发转移有关. 因此, 一些CD分子也许可辅助鉴别分离肿瘤干细胞, 但作为食管鳞癌干细胞标志物的研究目前还较少, 且还存在一些争议, 需要更多的一系列实验来证实.

2.6 干细胞转录调控因子 OCT-3/4、SOX2、Nanog都属于干细胞转录调控因子, 调节胚胎及组织的发育, 参与胚胎干细胞和原始细胞的自

■创新盘点

目前食管鳞癌的肿瘤干细胞标志物尚处于研究阶段, 本文搜集了大量关于ESCC干细胞标志物的信息, 并作总结, 为进一步的研究提供理论资料.

■应用要点

彻底清除CSCs是根治恶性肿瘤的重要途径。如何识别和分离肿瘤干细胞,为提供临床高效的诊断和治疗分子靶点是摆在我们面前的艰巨任务,积极开展针对ESCC的CSCs标志物靶向研究,将对ESCC临床诊疗进展产生重要意义。

我更新,是维持生命全能性所必需的转录因子,被认为是干细胞标志物^[52],但他们在分化或成熟的组织中其表达降低或消失。肿瘤干细胞与干细胞在细胞表型和生物学特性上有很多相似之处,越来越多研究证明, OCT-2/3/4、SOX2、Nanog在肿瘤组织也有表达,可能为CSCs标志物。

2003年Chambers等^[53]和Mitsui等^[54]几乎同时在囊胚内细胞群(inner cell mass, ICM)、原始生殖细胞及胚胎干细胞发现一种新转录因子并命名Nanog。最近研究发现精原细胞癌^[55]、乳腺癌、神经胶质瘤等^[56]肿瘤细胞也表达Nanog。Du等^[57]发现,与周围正常组织相比, ESCC组织过表达Nanog的mRNA和蛋白,并与TNM分期和病理组织学分化、淋巴结转移相关。用siRNA降低ESCC细胞系TE-1、Eca109中Nanog表达,可增强化疗药敏感性。Yang等^[58]在ESCC细胞系EC9706得到同样结果。不过, Li等^[59]认为Nanog既在肿瘤干细胞中表达也在肿瘤细胞中表达, Nanog表达和肿瘤干细胞关系尚无定论。鉴于肿瘤细胞与胚胎干细胞均有无限增殖及保持低分化状态的特征,提示Nanog可能是调节细胞全能性与自我更新的关键因子。

陈清江等^[60]应用原位杂交和免疫组织化学法检测正常食管黏膜组织及ESCC组织SOX2 mRNA和蛋白,显示SOX2正常黏膜组织mRNA表达显著低于ESCC组织; SOX2蛋白表达与其mRNA表达一致。ESCC组织SOX2 mRNA和蛋白表达与组织分化程度、浸润深度、TNM分期及淋巴结转移密切相关。Zhou等^[61]自行培养原代细胞高表达OCT-2/3/4、SOX2、Nanog;此外,肿瘤干细胞球中一些细胞表达Oct4表明Oct4⁺细胞可能是食管鳞癌干细胞样细胞。Wang等^[4]已经发现Sox2和Oct4在ESCC中表达并影响癌细胞凋亡、致瘤能力和耐药性等。低分化ESCC细胞系均表达更高水平Oct3/4和Sox2。高Oct3/4和Sox2蛋白表达水平与ESCC高组织学分级和差生存相关。Oct3/4和Sox2在ESCC发生和肿瘤干细胞特性中作用值得进一步研究。

2.7 其他标志物 HIWI是PIWI在人类的同系物。PIWI是1997年在果蝇的生殖干细胞内被发现的。PIWI家族在进化过程中高度保守,且维持干细胞自我更新、增殖分化、配子发生发育和增殖,及RNAi和转录调控起重要作用,是调节干细胞和生殖细胞关键因子。He等^[3]首次报道了HIWI在ESCC中的表达情况及其与预后的关系,他们对153例ESCC患者的临床研究发

现, HIWI蛋白阳性表达率达89.5%(137/153),胞质与胞核均阳性表达,且胞质HIWI的表达水平与分化程度($P = 0.011$)、T分期($P = 0.035$)、总生存期($P < 0.001$)相关,和年龄、性别、肿瘤部位、肿瘤大小、淋巴转移、临床分期无关。胞核中HIWI的表达与临床病理特点无关。但胞核中的表达与总生存期无关。胞质高表达HIWI者与低表达者相比肿瘤相关死亡风险增加了2.247倍。陈清江等^[62]在另一项针对ESCC组织的研究中得出相似结论:食管癌上皮组织和正常食管上皮组织中的HIWI的阳性表达率分别为69.2%(92/133)和6.7%(1/15)($P < 0.05$)。食管癌组织中的HIWI表达与食管癌分化程度、临床分期有关($P < 0.05$)。同时刘志良等^[63]在食管鳞癌细胞系Eca109中发现HIWI高表达,降低HIWI的表达后能够减慢食管癌细胞的增殖速度,提示HIWI是ESCC干细胞可能的表面标志。

β -catenin蛋白在正常食管组织中包膜大于胞质,而在食管鳞癌标本中,在胞质与胞核中高表达,包膜上低表达^[64]。 β -catenin mRNA表达与病理分期、淋巴结转移及预后相关($P < 0.05$),但蛋白质水平并未显示相关^[65]。胞膜上 β -catenin的表达的减少与可肿瘤的远处转移和不良预后有关^[66]。

3 结论

CSCs在肿瘤发生发展中的作用不可忽视,与肿瘤浸润、复发、转移、耐药等不良生物学效应和肿瘤的不良预后关系密切,彻底清除CSCs是根治恶性肿瘤的重要途径。如何识别和分离肿瘤干细胞,为提供临床高效的诊断和治疗分子靶点是摆在我们面前的艰巨任务,积极开展针对ESCC的CSCs标志物的靶向研究,将对ESCC临床诊疗进展产生重要意义。

4 参考文献

- 1 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 赵平. 2003-2007年中国癌症发病分析. 中国肿瘤 2012; 21: 161-170
- 2 张思维, 陈万青, 郑荣寿, 李霓, 曾红梅, 李光琳, 魏文强, 赵平. 2003-2007年中国癌症死亡分析. 中国肿瘤 2012; 21: 171-178
- 3 He W, Wang Z, Wang Q, Fan Q, Shou C, Wang J, Giercksky KE, Nesland JM, Suo Z. Expression of HIWI in human esophageal squamous cell carcinoma is significantly associated with poorer prognosis. BMC Cancer 2009; 9: 426 [PMID: 19995427 DOI: 10.1186/1471-2407-9-426]
- 4 Wang Q, He W, Lu C, Wang Z, Wang J, Giercksky KE, Nesland JM, Suo Z. Oct3/4 and Sox2 are significantly associated with an unfavorable clinical outcome in human esophageal squamous cell carcinoma.

- cinoma. *Anticancer Res* 2009; 29: 1233-1241 [PMID: 19414369 DOI: 10.1038/nm0809-827a]
- 5 Huang D, Gao Q, Guo L, Zhang C, Jiang W, Li H, Wang J, Han X, Shi Y, Lu SH. Isolation and identification of cancer stem-like cells in esophageal carcinoma cell lines. *Stem Cells Dev* 2009; 18: 465-473 [PMID: 18680391 DOI: 10.1089/scd.2008.0033]
- 6 Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997; 3: 730-737 [PMID: 9212098 DOI: 10.1038/nm0797-730]
- 7 Wright MH, Calcagno AM, Salcido CD, Carlson MD, Ambudkar SV, Varticovski L. Brca1 breast tumors contain distinct CD44+/CD24- and CD133+ cells with cancer stem cell characteristics. *Breast Cancer Res* 2008; 10: R10 [PMID: 18241344 DOI: 10.1186/bcr1855]
- 8 Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J, Dirks PB. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res* 2003; 63: 5821-5828 [PMID: 14522905]
- 9 Fang D, Nguyen TK, Leishear K, Finko R, Kulp AN, Hotz S, Van Belle PA, Xu X, Elder DE, Herlyn M. A tumorigenic subpopulation with stem cell properties in melanomas. *Cancer Res* 2005; 65: 9328-9337 [PMID: 16230395 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1343]
- 10 Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001; 414: 105-111 [PMID: 11689955 DOI: 10.1038/35102167]
- 11 Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 3983-3988 [PMID: 12629218 DOI: 10.1073/pnas.0530291100]
- 12 Gupta PB, Chaffer CL, Weinberg RA. Cancer stem cells: mirage or reality? *Nat Med* 2009; 15: 1010-1012 [PMID: 19734877 DOI: 10.1038/nm0909-1010]
- 13 Marhaba R, Klingbeil P, Nuebel T, Nazarenko I, Buechler MW, Zoeller M. CD44 and EpCAM: cancer-initiating cell markers. *Curr Mol Med* 2008; 8: 784-804 [PMID: 19075676 DOI: 10.2174/156652408786733667]
- 14 Barker PA, Murphy RA. The nerve growth factor receptor: a multicomponent system that mediates the actions of the neurotrophin family of proteins. *Mol Cell Biochem* 1992; 110: 1-15 [PMID: 1315923]
- 15 Okumura T, Shimada Y, Imamura M, Yasumoto S. Neurotrophin receptor p75(NTR) characterizes human esophageal keratinocyte stem cells in vitro. *Oncogene* 2003; 22: 4017-4026 [PMID: 12821936 DOI: 10.1038/sj.onc.1206525]
- 16 Okumura T, Tsunoda S, Mori Y, Ito T, Kikuchi K, Wang TC, Yasumoto S, Shimada Y. The biological role of the low-affinity p75 neurotrophin receptor in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 5096-5103 [PMID: 16951226 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2852]
- 17 Huang SD, Yuan Y, Liu XH, Gong DJ, Bai CG, Wang F, Luo JH, Xu ZY. Self-renewal and chemotherapy resistance of p75NTR positive cells in esophageal squamous cell carcinomas. *BMC Cancer* 2009; 9: 9 [PMID: 19134212 DOI: 10.1186/1471-2407-9-9]
- 18 Sun ZG, Huang SD, Zhang BR, Xu ZY, Liu XH, Gong DJ, Yuan Y. [Isolation and identification of cancer stem cells from human esophageal carcinoma]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2009; 89: 291-295 [PMID: 19563702]
- 19 叶仕新, 曾志勇, 黄盛东, 袁扬, 陈安平, 杨胜生. p75NTR阳性人食管鳞癌细胞的干细胞特性研究. *山东医药* 2012; 52: 41-43
- 20 Breiteneder-Geleff S, Matsui K, Soleiman A, Mera-ner P, Poczewski H, Kalt R, Schaffner G, Kerjaschki D. Podoplanin, novel 43-kd membrane protein of glomerular epithelial cells, is down-regulated in pu-romycin nephrosis. *Am J Pathol* 1997; 151: 1141-1152 [PMID: 9327748]
- 21 Wicki A, Lehembre F, Wick N, Hantusch B, Ker-jaschki D, Christofori G. Tumor invasion in the absence of epithelial-mesenchymal transition: podoplanin-mediated remodeling of the actin cytoskeleton. *Cancer Cell* 2006; 9: 261-272 [PMID: 16616332 DOI: 10.1016/j.ccr.2006.03.010]
- 22 Tong L, Yuan S, Feng F, Zhang H. Role of podo-planin expression in esophageal squamous cell carcinoma: a retrospective study. *Dis Esophagus* 2012; 25: 72-80 [PMID: 21895849 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01211.x]
- 23 Rahadiani N, Ikeda J, Makino T, Tian T, Qiu Y, Mamat S, Wang Y, Doki Y, Aozasa K, Morii E. Tumorigenic role of podoplanin in esophageal squamous-cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1311-1323 [PMID: 20066519 DOI: 10.1245/s10434-009-0895-5]
- 24 袁世发, 同李平, 丰帆, 张洪伟. 食管癌组织podo-planin的表达及其临床意义. *细胞与分子免疫学杂志* 2011; 27: 435-437
- 25 Atsumi N, Ishii G, Kojima M, Sanada M, Fujii S, Ochiai A. Podoplanin, a novel marker of tumor-initiating cells in human squamous cell carcinoma A431. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 373: 36-41 [PMID: 18539139 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.05.163]
- 26 Chao YK, Chuang WY, Yeh CJ, Wu YC, Liu YH, Hsieh MJ, Cheng AJ, Hsueh C, Liu HP. Prognostic significance of high podoplanin expression after chemoradiotherapy in esophageal squamous cell carcinoma patients. *J Surg Oncol* 2012; 105: 183-188 [PMID: 22213642 DOI: 10.1002/jso.22068]
- 27 Mao Q, Unadkat JD. Role of the breast cancer resistance protein (ABCG2) in drug transport. *AAPS J* 2005; 7: E118-E133 [PMID: 16146333 DOI: 10.1208/aapsj070112]
- 28 罗俊辉, 邹良健, 黄盛东, 龚德军, 刘广洛. 食管癌组织中ABCG2的表达变化及意义. *山东医药* 2011; 51: 15-17
- 29 马春生, 龚晓瑾, 古力巴哈尔·阿不力米提, 蒲红伟, 陈晓. P-g p和ABCG2在食管鳞状细胞癌中的表达及临床病理意义. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 728-733
- 30 Tsunoda S, Okumura T, Ito T, Kondo K, Ortiz C, Tanaka E, Watanabe G, Itami A, Sakai Y, Shimada Y. ABCG2 expression is an independent unfavorable prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology* 2006; 71: 251-258 [PMID: 17671398 DOI: 10.1159/000106787]
- 31 Hang D, Dong HC, Ning T, Dong B, Hou DL, Xu WG. Prognostic value of the stem cell markers CD133 and ABCG2 expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2012; 25: 638-644 [PMID: 22236447 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01298.x]
- 32 Wang J, Wang X, Jiang S, Lin P, Zhang J, Wu Y, Xiong Z, Ren JJ, Yang H. Partial biological characterization of cancer stem-like cell line (WJ(2)) of human glioblastoma multiforme. *Cell Mol Neurobiol*

同行评价

本文搜集了该领域大量关于ESCC干细胞标志物的信息, 内容丰富。

- 2008; 28: 991-1003 [PMID: 18350379 DOI: 10.1007/s10571-008-9273-2]
- 33 Loebinger MR, Giangreco A, Groot KR, Prichard L, Allen K, Simpson C, Bazley L, Navani N, Tibrewal S, Davies D, Jones SM. Squamous cell cancers contain a side population of stem-like cells that are made chemosensitive by ABC transporter blockade. *Br J Cancer* 2008; 98: 380-387 [PMID: 18219291 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604185]
 - 34 Hang D, Dong HC, Ning T, Dong B, Hou DL, Xu WG. Prognostic value of the stem cell markers CD133 and ABCG2 expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2012; 25: 638-644 [PMID: 22236447]
 - 35 Sládek NE, Kollander R, Sreerama L, Kiang DT. Cellular levels of aldehyde dehydrogenases (ALDH1A1 and ALDH3A1) as predictors of therapeutic responses to cyclophosphamide-based chemotherapy of breast cancer: a retrospective study. Rational individualization of oxazaphosphorine-based cancer chemotherapeutic regimens. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002; 49: 309-321 [PMID: 11914911 DOI: 10.1007/s00280-001-0412-4]
 - 36 Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, Monville F, Dutcher J, Brown M, Jacquemier J, Viens P, Kleer CG, Liu S, Schott A, Hayes D, Birnbaum D, Wicha MS, Dontu G. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 555-567 [PMID: 18371393 DOI: 10.1016/j.stem.2007.08.014]
 - 37 Chen YC, Chen YW, Hsu HS, Tseng LM, Huang PI, Lu KH, Chen DT, Tai LK, Yung MC, Chang SC, Ku HH, Chiou SH, Lo WL. Aldehyde dehydrogenase 1 is a putative marker for cancer stem cells in head and neck squamous cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 385: 307-313 [PMID: 19450560 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.05.048]
 - 38 苏华芳, 万秋燕, 邹燕, 张力, 李海英, 景钊, 吴式琇. 具干细胞特性食管癌耐放射细胞株基因表达分析. *肿瘤学杂志* 2010; 16: 40-45
 - 39 Wang Y, Zhe H, Gao P, Zhang N, Li G, Qin J. Cancer stem cell marker ALDH1 expression is associated with lymph node metastasis and poor survival in esophageal squamous cell carcinoma: a study from high incidence area of northern China. *Dis Esophagus* 2012; 25: 560-565 [PMID: 22098156 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01279.x]
 - 40 Minato T, Yamamoto Y, Seike J, Yoshida T, Yamai H, Takechi H, Yuasa Y, Furukita Y, Goto M, Bando Y, Tangoku A. Aldehyde dehydrogenase 1 expression is associated with poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 209-217 [PMID: 22847125 DOI: 10.1245/s10434-012-2535-8]
 - 41 Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, Henkelman RM, Cusimano MD, Dirks PB. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 2004; 432: 396-401 [PMID: 15549107 DOI: 10.1038/nature03128]
 - 42 Olempska M, Eisenach PA, Ammerpohl O, Ungelroten H, Fandrich F, Kalthoff H. Detection of tumor stem cell markers in pancreatic carcinoma cell lines. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007; 6: 92-97 [PMID: 17287174]
 - 43 Hermann PC, Huber SL, Herrler T, Aicher A, Ellwart JW, Guba M, Bruns CJ, Heeschen C. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 313-323 [PMID: 18371365 DOI: 10.1016/j.stem]
 - 44 郑乃刚, 阎爱华, 吴景兰, 李金萍, 裴迎新, 董子明. 食管鳞癌的肿瘤干细胞标志. *郑州大学学报(医学版)* 2010; 45: 27-30
 - 45 Bertrand J, Begaud-Grimaud G, Bessette B, Verdier M, Battu S, Jauberteau MO. Cancer stem cells from human glioma cell line are resistant to Fas-induced apoptosis. *Int J Oncol* 2009; 34: 717-727 [PMID: 19212677 DOI: 10.3892/ijo.00000198]
 - 46 Shen WD, Ji Y, Liu PF, Xiang B, Chen GQ, Huang B, Wu S. Correlation of E-cadherin and CD44v6 expression with clinical pathology in esophageal carcinoma. *Mol Med Report* 2012; 5: 817-821 [PMID: 22139342 DOI: 10.3892/mmr.2011.693]
 - 47 Le Bras GF, Allison GL, Richards NF, Ansari SS, Washington MK, Andl CD. CD44 upregulation in E-cadherin-negative esophageal cancers results in cell invasion. *PLoS One* 2011; 6: e27063 [PMID: 22069487 DOI: 10.1371/journal.pone.0027063]
 - 48 Zhao JS, Li WJ, Ge D, Zhang PJ, Li JJ, Lu CL, Ji XD, Guan DX, Gao H, Xu LY, Li EM, Soukiasian H, Koeffler HP, Wang XF, Xie D. Tumor initiating cells in esophageal squamous cell carcinomas express high levels of CD44. *PLoS One* 2011; 6: e21419 [PMID: 21731740 DOI: 10.1371/journal.pone.0021419]
 - 49 朱震, 陈兵, 王金泉, 张俊, 陆昕治, 李雄伟. 肿瘤干细胞标志物CD166 CD44v6在食管癌中的表达及其意义. *浙江临床医学* 2012; 14: 519-521
 - 50 Sano A, Kato H, Sakurai S, Sakai M, Tanaka N, Inose T, Saito K, Sohda M, Nakajima M, Nakajima T, Kuwano H. CD24 expression is a novel prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 506-514 [PMID: 19050962 DOI: 10.1245/s10434-008-0252-0]
 - 51 Mori R, Ishiguro H, Kuwabara Y, Kimura M, Mitsui A, Tomoda K, Mori Y, Ogawa R, Katada T, Harata K, Fujii Y. Targeting beta1 integrin restores sensitivity to docetaxel of esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2008; 20: 1345-1351 [PMID: 19020712 DOI: 10.3892/or.00000150]
 - 52 Okumura-Nakanishi S, Saito M, Niwa H, Ishikawa F. Oct-3/4 and Sox2 regulate Oct-3/4 gene in embryonic stem cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 5307-5317 [PMID: 15557334 DOI: 10.1074/jbc.M410015200]
 - 53 Chambers I, Colby D, Robertson M, Nichols J, Lee S, Tweedie S, Smith A. Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell* 2003; 113: 643-655 [PMID: 12787505 DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00392-1]
 - 54 Mitsui K, Tokuzawa Y, Itoh H, Segawa K, Murakami M, Takahashi K, Maruyama M, Maeda M, Yamanaka S. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell* 2003; 113: 631-642 [PMID: 12787504 DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00393-3]
 - 55 Hart AH, Hartley L, Parker K, Ibrahim M, Looijenga LH, Pauchnik M, Chow CW, Robb L. The pluripotency homeobox gene NANOG is expressed in human germ cell tumors. *Cancer* 2005; 104: 2092-2098 [PMID: 16206293 DOI: 10.1002/cncr.21435]
 - 56 Ben-Porath I, Thomson MW, Carey VJ, Ge R, Bell GW, Regev A, Weinberg RA. An embryonic stem cell-like gene expression signature in poorly differentiated aggressive human tumors. *Nat Genet* 2008; 40: 499-507 [PMID: 18443585 DOI: 10.1038/ng.127.]

- 57 Du Y, Shi L, Wang T, Liu Z, Wang Z. Nanog siRNA plus Cisplatin may enhance the sensitivity of chemotherapy in esophageal cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138: 1759-1767 [PMID: 22714588 DOI: 10.1007/s00432-012-1253-8]
- 58 Yang L, Zhang X, Zhang M, Zhang J, Sheng Y, Sun X, Chen Q, Wang LX. Increased nanog expression promotes tumor development and Cisplatin resistance in human esophageal cancer cells. *Cell Physiol Biochem* 2012; 30: 943-952 [PMID: 23221432 DOI: 10.1159/000341471]
- 59 Li H, Gao Q, Guo L, Lu SH. The PTEN/PI3K/Akt pathway regulates stem-like cells in primary esophageal carcinoma cells. *Cancer Biol Ther* 2011; 11: 950-958 [PMID: 21467840 DOI: 10.4161/cbt.11.11.15531]
- 60 陈清江, 张明治. SOX2在食管鳞癌组织中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1698-1703
- 61 Zhou X, Huang GR, Hu P. Over-expression of Oct4 in human esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Cells* 2011; 32: 39-45 [PMID: 21547540 DOI: 10.1007/s10059-011-2315-5]
- 62 陈艳, 杜亚明. 食管鳞癌组织中HIWI 的表达变化及意义. *山东医药* 2012; 52: 49-50
- 63 刘志良, 石磊芝, 杜亚明. HIWI在食管癌细胞系Eca109中的表达及意义. *山东医药* 2012; 52: 43-45
- 64 Zhou XB, Lu N, Zhang W, Quan LP, Lin DM, Wang QH, Li YL, Xu NZ. [Expression and significance of beta-catenin in esophageal carcinoma]. *Ai Zheng* 2002; 21: 877-880 [PMID: 12478897]
- 65 吕进, 曹秀峰, 朱斌, 纪律, 王冬冬, 李苏卿. Wnt1/ β -catenin与食管鳞状细胞癌临床病理及预后的相关性研究. *中华临床医师杂志(电子版)* 2011; 5: 979-985
- 66 Hsu PK, Li AF, Wang YC, Hsieh CC, Huang MH, Hsu WH, Hsu HS. Reduced membranous beta-catenin protein expression is associated with metastasis and poor prognosis in squamous cell carcinoma of the esophagus. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135: 1029-1035 [PMID: 18455580 DOI: 10.1016/j.jtcvs.2007.11.007]

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

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

CD4⁺T淋巴细胞亚群与HBV感染不同临床转归的关系

夏妍, 张淑云

■背景资料

病毒和机体的相互作用决定乙型肝炎病毒(HBV)感染的不同的临床表现和转归。机体针对HBV产生的特异性细胞免疫反应显得尤为重要。CD4⁺T淋巴细胞是哺乳动物适应性免疫应答的协调中心, 在对抗各种外来抗原侵袭的免疫应答中起核心作用。迄今为止已经发现CD4⁺T淋巴细胞有多种不同的功能亚群, 他们在HBV感染及其临床转归中的作用备受关注。

夏妍, 张淑云, 哈尔滨医科大学附属第二医院科研实验中心
黑龙江省哈尔滨市 150086

夏妍, 硕士, 主要从事临床病毒感染转归机制的研究。

黑龙江省教育厅科学技术研究基金资助项目, No.12521186

作者贡献分布: 本综述由夏妍完成; 张淑云审校。

通讯作者: 张淑云, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院科研实验中心。zhshuyun136@yahoo.com.cn

电话: 0451-86664393 传真: 0451-86664393

收稿日期: 2012-12-12 修回日期: 2013-01-08

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

Changes in CD4⁺ T lymphocyte subsets and clinical outcomes of hepatitis B virus infection

Yan Xia, Shu-Yun Zhang

Yan Xia, Shu-Yun Zhang, Scientific Research Center, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Science and Technology Project of Educational Department of Heilongjiang Province, No. 12521186

Correspondence to: Shu-Yun Zhang, Professor, Chief Physician, Scientific Research Center, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. zhshuyun136@yahoo.com.cn

Received: 2012-12-12 Revised: 2013-01-08

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

Abstract

Various clinical manifestations may develop in people infected with hepatitis B virus (HBV), ranging from asymptomatic infection to acute severe hepatitis B. Some infections become self-limiting when the virus is cleared, while approximately 90% of children and 10% of adults become HBV carriers or patients with chronic hepatitis B, who can further develop cirrhosis and hepatocellular carcinoma. CD4⁺ T lymphocytes play a central role in anti-infection immunity and can be divided into different subsets, including Th1, Th2, Treg, Th17, Th22, Th9 and Tfh. These T lymphocyte subsets all come from the same progenitor cells (Th0), although they have particular differentiation pathway and secrete different kinds of cytokines. Furthermore, they are able to interact with each other and change into each other. Particularly, the balance

of Th1/Th2 and Th17/Treg play a vital role in determining the clinical outcomes of HBV infection.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B virus; CD4⁺ T cell subsets; Outcome; Th1/Th2; Th17/Treg

Xia Y, Zhang SY. Changes in CD4⁺ T lymphocyte subsets and clinical outcomes of hepatitis B virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 498-507 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/498.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.498>

摘要

人体感染乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)后可有无症状的隐性感染、急性乙型肝炎和急性重型乙型肝炎等多种临床表现。此后有的清除病毒, 表现为自限性HBV感染, 而约90%的儿童和10%的成人则转为HBV携带者或慢性乙型肝炎, 并可进一步发展成肝硬化和肝细胞癌。CD4⁺T淋巴细胞在抗感染免疫中起核心作用。他有Th1、Th2、Treg、Th17、Th22、Tfh和Th9等多种亚群, 均可来自于同一祖细胞(Th0), 有着各自的分化途径和分泌不同的细胞因子, 起着不同的作用。但彼此又相互作用和相互转化, 尤其是Th1/Th2和Th17/Treg的平衡在HBV感染的临床转归中发挥着重要作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 乙型肝炎病毒; CD4⁺T淋巴细胞亚群; 转归; Th1/Th2; Th17/Treg

夏妍, 张淑云. CD4⁺T淋巴细胞亚群与HBV感染不同临床转归的关系. *世界华人消化杂志* 2013; 21(6): 498-507 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/498.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.498>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染仍是世界范围内的公共健康问题。人体感染HBV后可有不同的临床表现和转归, 可表现为无症状

■同行评议者

王凯, 教授, 山东大学齐鲁医院肝病科

的隐性感染、急性乙型肝炎和急性重型乙型肝炎, 随后有的清除病毒, 表现为自限性HBV感染, 而在儿童约90%、成人约10%则转为HBV携带者或慢性乙型肝炎, 其中慢性乙型肝炎与肝硬化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的形成密切相关^[1]。长期的基础研究和临床实践表明HBV感染的不同临床转归主要与病毒感染时的年龄、感染途径, 以及病毒载量、基因型和宿主免疫状态等有关, 特别是与机体针对HBV产生的特异性细胞免疫反应相关^[2]。以往对HBV感染研究认为, 在HBV清除过程中CD8⁺细胞毒T淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)对靶细胞的杀伤起主要作用, CD4⁺T淋巴细胞起辅助作用。而HBV感染免疫缺陷小鼠的研究证实了CD8⁺T淋巴细胞的诱导需要CD4⁺T细胞的存在, 缺失则会影响CD8⁺T淋巴细胞的启动^[3]。Bertolotti等^[4]报道CD4⁺T淋巴细胞在HBV感染免疫清除中发挥重要作用, 在缺少CD4⁺T淋巴细胞时CTL的活性降低以及机体免疫产生的抗体无法达到完全清除HBV的需求进而导致感染的持续。这也与基础免疫学的研究相一致, 即CD4⁺T淋巴细胞是哺乳动物适应性免疫应答的协调中心, 在对抗各种外来抗原侵袭的免疫应答中起核心作用^[5]。迄今为止已经发现CD4⁺T淋巴细胞有多种不同的功能亚群, 在HBV感染中不同CD4⁺T细胞亚群的激活可能导致机体对HBV产生不同的免疫反应, 从而导致不同的临床表现和转归, 因此在HBV感染过程中弄清楚各亚群所发挥的作用是很关键的。

1 CD4⁺T淋巴细胞亚群的种类和功能

1986年Mosmann等^[6]通过对小鼠的CD4⁺T淋巴细胞研究发现活化的CD4⁺T淋巴细胞分泌的细胞因子谱不同, 遂将CD4⁺T淋巴细胞分为Th1和Th2两种细胞亚群。1991年Romagnani等^[7]在人体T淋巴细胞研究中也发现了Th1和Th2细胞亚群的存在, 以此为起端进一步研究发现体内初始CD4⁺T淋巴细胞(Th0细胞)受到外来抗原刺激后能够增殖分化为7种不同的功能亚群, 而且这些CD4⁺T淋巴细胞亚群有着各自不同的转录因子, 在不同的分化环境中其所分泌的细胞因子谱也不同。

1.1 Th1细胞 参与Th1细胞分化的细胞因子主要有白介素(interleukin, IL)-12、IL-18、IL-27和干扰素-γ(Interferon-γ, IFN-γ), 其中IL-12起主要作用。Th0细胞首先在IFN-γ和IL-27的作用下表

达IL-12受体, 在IL-12的刺激下激活信号分子STAT4协同转录因子T-bet表达; 与此同时IL-12还能诱导选择性表达在小鼠Th1细胞的IL-18受体^[8]。IL-18通过上调IL-12受体协同IL-12诱导IFN-γ产生^[9]。IFN-γ可以通过增强Th1细胞信号分子STAT1促使T-bet的表达增加, 后者与Th1细胞表面IFN-受体结合, 形成正反馈; IFN-γ同时也对Th17和Th2的分化起负调节作用^[10]。

T-bet是Szabo等^[11]于2000年发现的Th1细胞亚群的特异性转录因子。在Th1细胞分化过程中T-bet具有促进分化的作用, 主要通过STAT1依赖的途径调控IFN-γ基因表达, 进而产生大量IFN-γ, 而后者又可以逆向调控T-bet表达水平形成正反馈, 使IFN-γ大量增多^[12]; T-bet同时也是IL-12 Rβ2强有力的激活剂, 能够加大IL-12对Th0细胞的反应, 进一步促进Th0向Th1细胞分化^[13]。T-bet调节Th1细胞分化的重要性也在T-bet基因敲除小鼠中得到了证实^[14]。T-bet对Th2细胞的抑制功能主要表现在能够直接抑制Th2细胞特异转录因子GATA3的表达, 拮抗GATA3对Th1细胞分化的抑制作用; 抑制IL-4、IL-5、IL-12等Th2型细胞因子的产生, 确保Th0向Th1细胞分化的顺利进行^[11]。

Th1细胞产生的主要细胞因子有IFN-γ、肿瘤坏死因子-β(tumor necrosis factor-β, TNF-β)和IL-2R。他们参与细胞介导的免疫反应、抵抗细菌感染、介导迟发型超敏反应, 以及加强对病毒等细胞内致病因子的清除。

1.2 Th2细胞 Harrington等^[15]于2006年研究发现Th2细胞分化主要通过IL-4/IL-4R信号使Th0细胞的STAT-6激活, 促进GATA-3的表达。IL-4在促进Th2细胞分化的同时也抑制Th17细胞的分化。

GATA-3是1993年发现的具有锌指结构的GATA家族中的成员, 是Th2细胞特异性转录因子。一方面GATA-3强烈激活IL-5启动子, 能直接上调IL-4和IL-5等Th2类细胞因子的表达; 另一方面GATA-3协同转录因子MAF与STAT6共同促进IL-4、IL-5和IL-13表达, 并能以STAT6和IL-4非依赖的方式诱导内源性GATA-3的产生, 形成Th2分化的正反馈使Th2细胞分化增多^[16]。此外, GATA-3还可以通过抑制STAT4合成和活化下调T-bet, 进而抑制Th1细胞分化和IFN-γ产生^[13]。

Th2细胞主要分泌IL-4、IL-5、IL-6、IL-10和IL-13等细胞因子, 其主要功能为促进体液免疫反应, 中和胞外病原体; Th2细胞与B细胞的增

■研发前沿

CD4⁺T淋巴细胞在抗感染免疫中起核心作用。目前研究发现CD4⁺T淋巴细胞有多种不同功能亚群, 各亚群对HBV感染自然进程、疾病进展的影响越来越被重视。

■相关报道

从最早的Th1/Th2和Th17/Treg与HBV感染相关疾病的报道,到最新发现的Treg细胞3个亚群和Th22细胞在HBV感染相关疾病中的作用,人们对CD4⁺T淋巴细胞亚群与HBV感染性疾病的研究从未间断。CD4⁺T淋巴细胞亚群在急性乙型肝炎、慢性乙型肝炎、肝硬化以及肝细胞癌中发挥作用的认知不断得到巩固与更新。

殖、成熟和抗体生成有关,可增强抗体介导的体液免疫应答,参与自身免疫性疾病的发病。

1.3 Treg细胞 Sakaguchi等^[17]于1995年通过小鼠模型描述了一类新的T细胞亚群即调节性T细胞(T regulatory cell, Treg),随后在人体中也发现了高表达CD25的天然Treg细胞。目前已经发现Treg细胞的多种形式。按其起源可分为起源于胸腺的天然型Treg(natural Treg, nTreg)和由转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)诱导的诱导性Treg细胞(induced/inducible Treg, iTreg),iTreg主要通过分泌TGF- β 对Th1、Th2的分化起抑制作用。nTreg主要通过细胞之间的直接接触发挥抑制CD4⁺T、CD8⁺T细胞增殖和分泌细胞因子的作用,并通过TGF- β 和IL-10抑制树突细胞和单核细胞功能^[18]。迄今尚缺乏区分nTreg和iTreg的特征性标志物,两者可能存在协同效应^[19]。

Foxp3是Treg细胞最特异的转录因子,与其发育、功能密切相关以及在一定程度上可反映Treg的水平和功能活性^[20]。Foxp3的主要功能是可以介导与Treg细胞功能密切的分子表达,如CD25、CTLA-4和CD103等。最近Miyara等^[21]根据Foxp3的表达、细胞表面分子以及Foxp3的甲基化程度将人CD4⁺Foxp3⁺T细胞分成3群具有不同表型和功能的亚群即:CD45RA⁺FOXP3lo静息态Treg(resting Treg, rTreg)细胞,CD45RA-FOXP3hi活动态Treg(activated Treg, aTreg)细胞和CD45RA-FOXP3lo非Treg(nonsuppressive T cells, nonTreg)细胞。rTreg和aTreg代表Treg的不同分化阶段并且在体外有抑制功能,non-Treg主要负责细胞因子的分泌,无抑制功能;该研究还发现在脐带血、健康成年人以及免疫抑制疾病的患者外周血中这3种亚群的表达有明显的差异。Treg是维持免疫自稳的中心^[22],在慢性炎症性疾病以及调节过敏性炎症中发挥重要作用^[23]。

1.4 Th17细胞 Park、Harrington和Langrish等^[24-26]于2005年分别发现Th17细胞。Th17细胞主要由Th0细胞在TGF- β 与IL-6共同作用下分化而来,并抑制其向Th1和Th2分化。一方面IL-6/IL-6R信号通过激活STAT3与ROR γ t共同诱导IL-17和IL-23R表达分化成Th17细胞^[27];另一方面IL-21与TGF- β 协同,在IL-17存在时促进STAT-3和ROR γ t表达,增强IL-17分泌,后者又与转录因子ROR γ t协同,正反馈于已分化的Th17细胞,使Th17细胞量扩增^[28]。可见,TGF- β 在Th17细胞分化中发挥着重要的作用。而2010年发表在Nature

上的一篇文章的观点与以往出现了矛盾,作者通过体外分化实验证实,在没有外源性TGF- β 1,以及采用中和抗体完全阻断内源性TGF- β 1活性的条件下,仅仅依靠IL-1 β 、IL-6和IL-23联合作用就可以诱导出Th17细胞,从而证实体内Th17细胞的分化可能不存在依赖于TGF- β 1的途径^[29]。

Ivanov等^[30]于2006发现Th17细胞特征性转录因子ROR γ t,后者主要与STAT-3共同作用上调IL-17的表达^[31]。Th17细胞产生的主要细胞因子有IL-17A、IL-17F、IL-21和IL-22。主要功能是参与某些自身免疫病、移植排斥反应等疾病过程;特别在抵御胞外细菌感染发挥重要作用^[32-34]。

1.5 Th22细胞 Duhen等^[35]和Trifari等^[36]于2009年分别报道一群与皮肤免疫功能相关的亚群,其分泌的主要细胞因子是IL-22。Th22有两种分化途径:一种是由记忆性T细胞分化而来,另一种通过由pDC、IL-6和TNF诱导初始CD4⁺T细胞分化而来。TGF- β 能够抑制Th22的分化,加入IL-1 β 后,能够诱导Th17细胞的分化^[35]。目前已知IL-22与病毒感染、牛皮癣、克罗恩病、间质性肺疾病以及类风湿性关节炎等疾病发生、发展相关^[37-39]。

1.6 Tfh细胞 Tfh细胞是Breitfeld等^[40]和Schaerli等^[41]于2000年分别发现的一类CD4⁺T淋巴细胞亚群,主要存在于次级淋巴器官的淋巴滤泡,主要功能是辅助B细胞参与体液免疫^[42]。Tfh细胞的特征性转录因子为Bcl-6,主要通过分泌IL-21和IL-4等影响B细胞分化进而影响抗体产生^[43]。但是Tfh细胞对B细胞的辅助作用是如何实现的,以及对其他的淋巴细胞是否也有辅助作用,还有待继续研究。目前已在淋巴瘤、自身免疫病中发现Tfh细胞标志物的表达异常增高^[44,45],在感染性疾病中,有研究发现在蠕虫感染中Tfh细胞表达也增高^[46]。

1.7 Th9细胞 Dardalhon等^[47]和Veldhoen等^[48]于2008年分别报道一类可分泌大量IL-9的新的CD4⁺T淋巴细胞亚群。Th9细胞可由两条途径分化而来,一条是IL-4联合TGF- β 刺激CD4⁺初始T细胞,另一条是TGF- β 作用于Th2细胞使之转化为Th9,但是后者需要IL-4和TGF- β 参与^[48]。目前研究发现Th9型细胞因子主要与哮喘性疾病的严重程度成正相关^[49]。

2 CD4⁺T细胞亚群具有可塑性

如上所述,CD4⁺T细胞每种亚群都具有相对特

异的转录因子、细胞因子和特定的免疫学功能,然而各亚群也不是独立存在的,在不同疾病环境下其具有一定的可塑性,主要表现在以下几方面。

2.1 不同CD4⁺T淋巴细胞亚群可分泌同一种细胞因子 前面已述IL-10是Th2型细胞因子但是Th1、Th17、Th9和Treg细胞也可分泌;IL-9并非Th9特异细胞因子, Th2和Th17也能够分泌;IFN- γ 和IL-4除了由Th1和Th2细胞分泌外,也可由Tfh细胞分泌;Th17和Th22都能够分泌IL-22^[50]等。

2.2 CD4⁺T细胞各亚群有可能相互转换 Lee等^[51]研究发现在自身免疫性脑脊髓膜炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)小鼠模型中, Th17细胞除了表达转录因子ROR γ t还表达T-bet, 而且在IL-12的刺激下出现了Th17细胞相关细胞因子和转录因子消失而Th1细胞相关基因表达的现象。Martin-Orozco等^[52]通过实验发现糖尿病小鼠体内一半的Th17细胞是Th17/IFN- γ 双阳性细胞, 后者是处于Th1细胞向Th17细胞分化还是相反方向分化还有待继续研究。还有报道在淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒(lymphocytic choriomeningitis, LCM)感染时, GATA3和T-bet均在Th2细胞表达并有IL-4和IFN- γ 产生^[53]。在TGF- β 缺乏和IL-6存在的情况下, Treg细胞可以转化为Th17细胞^[54], 并且Voo等^[55]在人的外周血中也分离出可以分泌IL-17的Treg细胞; Th1细胞和Th17细胞以及Treg细胞和Th17细胞的密切关系可能是机体维持免疫平衡的一种表现, 这种转化可能使免疫应答增强进而清除病原。

2.3 同一细胞因子对多个亚群具有影响 IL-9是Th9型细胞因子, 其具有调节Th17细胞和Treg分化及其功能的作用^[56]。最近发现Th17细胞在IL-23作用下也能够分泌IL-9, 并且后者与TGF- β 相互协作可以诱导Th0细胞向Th17细胞分化^[57,58]。Th17产生的IL-21能够在体外促进Th9细胞的成熟和分化。Li等研究发现在EAE中IL-9除了能够促进Th1和Th17细胞分化^[59,60]外, 在体外还能够增强Treg细胞的抑制功能, 导致效应细胞的增加进而使EAE病情加重^[61]。Th9与Th1、Th17、Treg在自身免疫性疾病中密切相关这也与基础免疫研究相一致。

3 各亚群及其相互关系与HBV感染转归的相关性

每种亚群发挥的免疫效应不同, 故在HBV感染中也扮演不同角色, 而且各亚群之间的相互关系在HBV感染中也发挥重要作用。

3.1 Th1细胞和Th2细胞与HBV感染的关系 Th1型细胞因子反映特异性细胞免疫的存在与复苏^[62]。IFN- γ 等能够促进CTL的细胞不良反应, 特异性杀伤HBV感染的肝细胞, 使HBV感染表现为急性一过性炎症反应, 在促进HBV感染清除过程中起着关键作用, 在急性乙型肝炎患者体内IFN- γ 的表达增高, 提示Th1细胞反应增强, 机体有效的特异性细胞免疫反应增强, 故机体对病毒清除能力增加形成急性自限性感染^[63]。Th2型细胞因子主要与病毒的持续感染相关, IL-4能促使CTL杀伤效力下降和IFN- γ 减少, 机体不能充分发挥特异性细胞免疫反应, 病毒清除能力下降, 进而导致HBV感染的慢性化^[64]。

Th1/Th2细胞免疫反应失衡是HBV慢性感染的重要机制之一。国内外对Th1/Th2的研究相对成熟。研究表明: HBcAg和HBeAg刺激外周血单个核细胞后分别引起 IL-2、IFN- γ 和IL-4、IL-10分泌增加^[65], 即HBcAg倾向诱导Th1细胞分化, 而HBeAg倾向诱导Th2细胞分化。Manigold等^[66]研究证实HBcAg能诱导IL-18的产生, IL-18的功能主要是促进IFN- γ 的产生, IL-18的分泌量与HBcAg呈剂量依赖性, 而慢性乙型肝炎患者血清中HBV的载量越大, IFN- γ 的产生就越少。此研究还发现在HBeAg阴性患者, HBcAg对IL-18的诱导作用比HBeAg阳性患者更为明显。另一个HBeAg的转基因鼠的实验则发现, HBeAg可通过Fas-FasL介导的细胞凋亡机制优先清除HBcAg和HBeAg特异的Th1细胞, 从而阻碍了Th1细胞发挥清除效应, 导致感染慢性化^[67]。Th1细胞功能低下是HBV相关肝硬化、原发性肝癌发生的重要危险因素, 研究发现, INF- γ 是一种很强的抗纤维化因子, 可显著抑制细胞外ECM合成, 促进胶原降解, 进而抑制肝硬化的形成; 在肝癌组织中Th1型细胞因子也表达弱, Th2类细胞因子表达强的, 肝癌组织局部微环境处于免疫抑制状态, 肿瘤细胞易发生免疫逃逸, Th1/Th2失衡加速肝硬化、肝癌的发生发展^[68]。

3.2 Th17细胞和Treg细胞与HBV感染相关疾病的关系 Th17和Treg细胞在分化过程中有着密切的联系, 并且两者在机体的免疫反应中起着对立统一关系, 在HBV感染中两者发挥的作用不同, 而且两者比例失衡也与HBV感染引起的慢性乙型肝炎、肝硬化以及肝癌密切相关。

目前在人类乙型肝炎病情进展过程中, 宿主对病毒特异性Th17细胞免疫反应的调节机制仍不是十分明确, 高表达的Th17细胞亚群与HBV

■创新盘点

本文全面系统地介绍了CD4⁺T淋巴细胞亚群的分化和各亚群的相互作用。从CD4⁺T淋巴细胞亚群角度系统地综述了各亚群与急性乙型肝炎、慢性乙型肝炎、肝硬化和肝细胞癌之间的关系。

■应用要点

通过本文可较全面地了解CD4⁺T淋巴细胞亚群种类、分化和相互转化的关系,并了解他们在HBV感染中的意义。

感染的进展及肝脏的炎症损伤程度密切相关^[69]。体外用HBcAg刺激慢性HBV感染者的CD4⁺T淋巴细胞发现IL-17和IL-6表达均增多,而且基础免疫已经证实Th17细胞的分化需要IL-6的参与,IL-17是Th17产生的相对特异的细胞因子,该实验结果提示HBcAg能够促进Th17型细胞分化发挥免疫作用^[70]。还有研究发现Th17细胞能够抑制T淋巴细胞的细胞不良反应,增加HBV病毒的持续感染^[71]。HBV的持续感染是肝硬化最常见的原因之一,肝纤维化是肝硬化的前期病变,肝星状细胞活化是肝纤维化形成的关键。肝星状细胞活化可分泌巨噬细胞炎症蛋白-2(macrophage inflammatory protein 2, MIP-2)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)等一些趋化因子,后者一方面与IL-17在功能上相互促进,进一步促进肝纤维化的形成;另一方面这些趋化因子也可引起白细胞在损伤的肝小叶聚集,加速肝纤维化的进程^[72]。Marra等^[73]也证明在慢性活动性乙型肝炎患者的肝脏组织中MCP-1的表达明显高于正常人,以上研究提示Th17细胞在肝硬化进程中可能起重要作用。目前在HCC的研究中有两种结论:一种研究认为Th17细胞的增多是HCC患者总生存率和无病生存率的独立影响因素,HCC患者肿瘤细胞中CCR6的配体CCL20表达显著增加,CCL20与Th17细胞上的CCR6结合,在肿瘤局部诱导Th17细胞增殖,并使外周血循环中的Th17细胞向肿瘤部位聚集^[74],这可能是一个Th17细胞与肿瘤细胞相互作用而致使肿瘤不断恶化的过程;而Zhang等^[75]的研究认为Th17细胞分泌CXCL-9、CXCL-10等趋化因子,能够吸引Th1、CD8⁺T细胞和自然杀伤细胞等效应细胞聚集于肿瘤组织中杀伤肿瘤细胞,对肿瘤细胞发挥间接杀伤效应,此外CXCL-9和CXCL-10还有抗肿瘤血管生成的作用,故认为Th17对肿瘤生长有一定的抑制作用。

Treg细胞在急性和慢性HBV病毒感染阶段对抗病毒T细胞反应起抑制作用。较高的Treg细胞数对HBV的清除造成了障碍^[76,77],可能是由Treg下调特异性CTL的免疫能力造成HBV感染的持续存在^[78]。对于新发现的Treg细胞的3个亚群Zhang等^[79]研究发现:aTreg在慢性活动性乙型肝炎和慢加急性肝衰(acute on chronic liver failure, ACLF)患者中选择性增加,HBcAg能促进aTreg表达,并且与DNA载量成正相关,这可能与慢性HBV患者体内清除HBV的能力弱有关;

在ACLF患者外周血和肝组织中nTreg显著增高,rTreg降低,这意味着nTreg与严重的肝损伤相关;rTreg与肝损伤关系不密切。提示:分别检测Treg细胞的不同亚群可以对HBV的感染状态做更准确的描述,根据Treg细胞的各亚群特点避免免疫耐受,激活机体的免疫应答,有可能成为乙型肝炎治疗的一种新方法。在乙型肝炎肝硬化、肝癌的研究中随着对Treg研究的不断深入,发现Treg细胞与肝硬化和肝癌的分期有关^[80]。而且越来越多的证据表明Treg细胞通过多种机制,参与了肝癌的形成和发展,减少Treg细胞数量能够增强HBV阳性的肝癌患者的抗肿瘤免疫功能,是肝癌预后的独立危险因子^[81,82]。

Treg细胞和Th17细胞的平衡状态是新发现的在抑制过度免疫应答和促进免疫炎症性反应中起重要作用的一对细胞。在HBV感染过程中Treg细胞可以抑制HBcAg诱导的Th17细胞亚群的增殖、分化,并且Treg细胞高表达的Foxp3分子也参与宿主对HBcAg诱导的Th17细胞亚群增殖、分化的抑制过程,造成Th17/Treg失衡^[83]。在乙型肝炎导致的肝硬化和肝癌的研究中发现,HBsAg阳性、HBeAg阳性的慢性乙型肝炎患者维持Treg/Th17平衡能够促进肝星状细胞活化,进一步加快HBV肝硬化的进程,加大罹患肝癌的风险^[84]。

3.3 Th22细胞与HBV感染引起的相关疾病的关系 由Th22细胞分泌的IL-22与HBV感染引起的相关疾病之间的关系近年成为研究的热点,IL-22能够通过JAK-STAT途径激活STAT3,STAT3的激活导致抗氧化蛋白、急性时相反应蛋白、促有丝分裂蛋白和抗凋亡蛋白的上调,显著改善刀豆蛋白A引起的肝细胞损伤、坏死和凋亡,从而起到保护肝脏的作用。研究表明在慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)和急性乙型肝炎(acute hepatitis B, AHB)患者的肝内IL-22表达增加^[85,86]。在急性乙型肝炎时,IL-22通过促进非抗原特异性炎症细胞浸润,从而加大抗原特异性CTL细胞介导的肝细胞损伤,最终在HBV感染者肝内表现为促炎作用,亦可通过STAT3上调促存活和增殖反应进而保护肝细胞免受损伤。在慢性乙型肝炎时,T细胞一方面介导抗病毒免疫,另一方面也导致肝脏炎症损伤,后者又会引起肝细胞保护性细胞因子的代偿性增加,进而阻止炎症发展和修复肝脏损伤起抗炎的作用。IL-22也能够促进癌的发生,IL-22受体信号通路被激活后,肝细胞的迁

移能力和增殖能力增加进而能够促使肝组织再生, 同时激活的肝细胞抗凋亡能力增强、增殖活性增加和肝癌易感性增加^[87]。通过对IL-22转基因小鼠和IL-22基因敲除小鼠的研究发现, IL-22转基因小鼠肝切除后的再生速度加快, 并且对二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)诱导肝细胞癌的易感性增加, 可能与高浓度的IL-22有关; 而在IL-22基因敲除小鼠, DEN诱导肝细胞癌形成的易感性却明显低于IL-22转基因小鼠, IL-22能够诱导和促进肝癌的发生^[85,88]。HBV感染时, IL-22的上调可能既提高了肝细胞的存活率, 又加速肝炎向肝癌细胞的转化。在急性乙型肝炎IL-22短期升高可能会促进损伤肝细胞的存活, 从而起到保护肝脏的作用, 在慢性乙型肝炎IL-22的长期刺激可能促进肝炎向肝癌的发展。

IL-22可能既有抗炎作用也有促炎作用, 既能促进肝细胞生长也能导致肝癌形成, IL-22的这种双重功能可能在不同的环境下发挥的作用也有所不同。总之, IL-22与HBV感染相关疾病的关系还需进一步阐明, IL-22在治疗肝炎和预防肝癌方面的前景也值得探索。

3.4 Tfh与乙型肝炎的关系 Tfh与乙型肝炎关系研究的较少。Feng等^[89]于2011年发现自身免疫性肝炎患者外周血以及HBV转基因鼠脾脏均有不同程度的Tfh细胞增高, 而用阿德福韦酯治疗后的慢性乙型肝炎患者外周血Tfh频率下降, 提示Tfh可能与HBV感染者发挥免疫活动的积极状态有关。目前还未见Th9与HBV感染的相关报道。

4 结论

近年来, 随着对CD4⁺T淋巴细胞功能亚群研究不断深入, 发现CD4⁺T淋巴细胞功能亚群可能在不同疾病微环境下, 具有一定可塑性并且能够相互转化。有些亚群能加大HBV清除力度, 有些却与慢性化、肝硬化和肝癌密切相关, 这些亚群的不同功能及其不同表达量可能是引起HBV感染不同结局的关键因素。但是至今在HBV感染中各亚群如何相互转化、各亚群转化途径以及所需的微环境还不是十分明确。因此研究清楚HBV感染不同阶段各亚群变化特点及其相互关系, 在HBV感染者中营造恰当的分化环境, 使Th0细胞的分化向有利于HBV清除方向进行漂移, 将会是指导研发抗病毒药物和治疗性疫苗的新方向, 可能会成为治疗HBV的新手段。

5 参考文献

- 1 Pol S. [Natural history of hepatitis B infection]. *Presse Med* 2006; 35: 308-316 [PMID: 16493335 DOI: 10.1016/S0755-4982(06)74576-6]
- 2 Shi YH, Shi CH. Molecular characteristics and stages of chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3099-3105 [PMID: 19575488 DOI: 10.3748/wjg.15.3099]
- 3 Yang PL, Althage A, Chung J, Maier H, Wieland S, Isogawa M, Chisari FV. Immune effectors required for hepatitis B virus clearance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 798-802 [PMID: 20080755 DOI: 10.1073/pnas.0913498107]
- 4 Bertolotti A, Ferrari C. Innate and adaptive immune responses in chronic hepatitis B virus infections: towards restoration of immune control of viral infection. *Gut* 2012; 61: 1754-1764 [PMID: 22157327 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301073.]
- 5 Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood* 2008; 112: 1557-1569 [PMID: 18725574 DOI: 10.1182/blood-2008-05-078154.]
- 6 Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136: 2348-2357 [PMID: 2419430]
- 7 Romagnani S. Human TH1 and TH2 subsets: doubt no more. *Immunol Today* 1991; 12: 256-257 [PMID: 1680337 DOI: 10.1016/0167-5699(91)90120-I]
- 8 Manetti R, Parronchi P, Giudizi MG, Piccinini MP, Maggi E, Trinchieri G, Romagnani S. Natural killer cell stimulatory factor (interleukin 12 [IL-12]) induces T helper type 1 (Th1)-specific immune responses and inhibits the development of IL-4-producing Th cells. *J Exp Med* 1993; 177: 1199-1204 [PMID: 8096238 DOI: 10.1084/jem.177.4.1199]
- 9 Hwang ES, Szabo SJ, Schwartzberg PL, Glimcher LH. T helper cell fate specified by kinase-mediated interaction of T-bet with GATA-3. *Science* 2005; 307: 430-433 [PMID: 15662016 DOI: 10.1126/science.1103336]
- 10 Bettelli E, Sullivan B, Szabo SJ, Sobel RA, Glimcher LH, Kuchroo VK. Loss of T-bet, but not STAT1, prevents the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med* 2004; 200: 79-87 [PMID: 15238607 DOI: 10.1084/jem.20031819]
- 11 Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell* 2000; 100: 655-669 [PMID: 10761931 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80702-3]
- 12 Lighvani AA, Frucht DM, Jankovic D, Yamane H, Aliberti J, Hissong BD, Nguyen BV, Gadina M, Sher A, Paul WE, O'Shea JJ. T-bet is rapidly induced by interferon-gamma in lymphoid and myeloid cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 15137-15142 [PMID: 11752460 DOI: 10.1073/pnas.261570598]
- 13 Usui T, Nishikomori R, Kitani A, Strober W. GATA-3 suppresses Th1 development by downregulation of Stat4 and not through effects on IL-12Rbeta2 chain or T-bet. *Immunity* 2003; 18: 415-428 [PMID: 12648458 DOI: 10.1016/S1074-7613(03)00057-8]
- 14 Szabo SJ, Sullivan BM, Stemmann C, Satoskar AR, Sleckman BP, Glimcher LH. Distinct effects of T-bet in TH1 lineage commitment and IFN-gamma production in CD4 and CD8 T cells. *Science* 2002; 295: 338-342 [PMID: 11786644 DOI: 10.1126/science.1065543]

■名词解释

祖细胞: 在彻底分化前, 能转化成某种中间细胞, 这种中间细胞被称作祖细胞或前体细胞。祖细胞属于成体干细胞, 是未分化的多能或专能干细胞。

■同行评价

本文创新点明确,能够结合国内外研究报告进行综合分析,结构合理,具有一定的参考价值。

- 15 Harrington NP, Surujballi OP, Prescott JF. Cervine (*Cervus elaphus*) cytokine mRNA quantification by real-time polymerase chain reaction. *J Wildl Dis* 2006; 42: 219-233 [PMID: 16870845]
- 16 Djuretic IM, Levanon D, Negreanu V, Groner Y, Rao A, Ansel KM. Transcription factors T-bet and Runx3 cooperate to activate *Ifng* and silence *Il4* in T helper type 1 cells. *Nat Immunol* 2007; 8: 145-153 [PMID: 17195845 DOI: 10.1038/ni1424]
- 17 Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155: 1151-1164 [PMID: 7636184]
- 18 Vigouroux S, Yvon E, Biagi E, Brenner MK. Antigen-induced regulatory T cells. *Blood* 2004; 104: 26-33 [PMID: 15026316 DOI: 10.1182/blood-2004-01-0182]
- 19 Curotto de Lafaille MA, Lafaille JJ. Natural and adaptive foxp3+ regulatory T cells: more of the same or a division of labor? *Immunity* 2009; 30: 626-635 [PMID: 19464985 DOI: 10.1016/j.immuni.2009.05.002.]
- 20 Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol* 2005; 6: 345-352 [PMID: 15785760 DOI: 10.1038/ni1178]
- 21 Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A, Shima T, Wing K, Niwa A, Parizot C, Taflin C, Heike T, Valeyre D, Mathian A, Nakahata T, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M, Amoura Z, Gorochoy G, Sakaguchi S. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity* 2009; 30: 899-911 [PMID: 19464196 DOI: 10.1016/j.immuni.2009.03.019.]
- 22 Zhou X, Bailey-Bucktrout SL, Jeker LT, Penaranda C, Martínez-Llordella M, Ashby M, Nakayama M, Rosenthal W, Bluestone JA. Instability of the transcription factor Foxp3 leads to the generation of pathogenic memory T cells in vivo. *Nat Immunol* 2009; 10: 1000-1007 [PMID: 19633673 DOI: 10.1038/ni.1774.]
- 23 Bluestone JA, Abbas AK. Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 253-257 [PMID: 12658273 DOI: 10.1038/nri1032]
- 24 Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, Wang Y, Hood L, Zhu Z, Tian Q, Dong C. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol* 2005; 6: 1133-1141 [PMID: 16200068 DOI: 10.1038/ni1261]
- 25 Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, Weaver CT. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005; 6: 1123-1132 [PMID: 16200070 DOI: 10.1038/ni1254]
- 26 Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, McClanahan T, Kastelein RA, Cua DJ. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med* 2005; 201: 233-240 [PMID: 15657292 DOI: 10.1084/jem.20041257]
- 27 Zhou L, Ivanov IL, Spolski R, Min R, Shenderov K, Egawa T, Levy DE, Leonard WJ, Littman DR. IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. *Nat Immunol* 2007; 8: 967-974 [PMID: 17581537 DOI: 10.1038/ni1488]
- 28 Tesmer LA, Lundy SK, Sarkar S, Fox DA. Th17 cells in human disease. *Immunol Rev* 2008; 223: 87-113 [PMID: 18613831 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00628.x.]
- 29 Ghoreschi K, Laurence A, Yang XP, Tato CM, McGeachy MJ, Konkel JE, Ramos HL, Wei L, Davidson TS, Bouladoux N, Grainger JR, Chen Q, Kanno Y, Watford WT, Sun HW, Eberl G, Shevach EM, Belkaid Y, Cua DJ, Chen W, O'Shea JJ. Generation of pathogenic T(H)17 cells in the absence of TGF- β signalling. *Nature* 2010; 467: 967-971 [PMID: 20962846 DOI: 10.1038/nature09447]
- 30 Ivanov IL, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelletier A, Lafaille JJ, Cua DJ, Littman DR. The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell* 2006; 126: 1121-1133 [PMID: 16990136 DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.035]
- 31 Brüstle A, Heink S, Huber M, Rosenplänter C, Stadelmann C, Yu P, Arpaia E, Mak TW, Kamradt T, Lohoff M. The development of inflammatory T(H)-17 cells requires interferon-regulatory factor 4. *Nat Immunol* 2007; 8: 958-966 [PMID: 17676043 DOI: 10.1038/ni1500]
- 32 Klimczak A, Lange A. Th17 mediated alloreactivity is facilitated by the pre-transplant microbial burden of the recipient. *Bone Marrow Res* 2012; 2012: 960280 [PMID: 23091728 DOI: 10.1155/2012/960280]
- 33 Ngalamika O, Zhang Y, Yin H, Zhao M, Gershwin ME, Lu Q. Epigenetics, autoimmunity and hematologic malignancies: a comprehensive review. *J Autoimmun* 2012; 39: 451-465 [PMID: 23084980 DOI: 10.1016/j.jaut.2012.09.002]
- 34 Dubin PJ, Kolls JK. Interleukin-17A and interleukin-17F: a tale of two cytokines. *Immunity* 2009; 30: 9-11 [PMID: 19144313 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.12.010]
- 35 Duhon T, Geiger R, Jarrossay D, Lanzavecchia A, Sallusto F. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells. *Nat Immunol* 2009; 10: 857-863 [PMID: 19578369 DOI: 10.1038/ni.1767]
- 36 Trifari S, Kaplan CD, Tran EH, Crellin NK, Spits H. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from T(H)-17, T(H)1 and T(H)2 cells. *Nat Immunol* 2009; 10: 864-871 [PMID: 19578368 DOI: 10.1038/ni.1770]
- 37 Wolk K, Witte E, Hoffmann U, Doecke WD, Endesfelder S, Asadullah K, Sterry W, Volk HD, Wittig BM, Sabat R. IL-22 induces lipopolysaccharide-binding protein in hepatocytes: a potential systemic role of IL-22 in Crohn's disease. *J Immunol* 2007; 178: 5973-5981 [PMID: 17442982]
- 38 Ikeuchi H, Kuroiwa T, Hiramatsu N, Kaneko Y, Hiromura K, Ueki K, Nojima Y. Expression of interleukin-22 in rheumatoid arthritis: potential role as a proinflammatory cytokine. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1037-1046 [PMID: 15818686 DOI: 10.1002/art.20965]
- 39 Whittington HA, Armstrong L, Uppington KM, Millar AB. Interleukin-22: a potential immunomodulatory molecule in the lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31: 220-226 [PMID: 15039135 DOI: 10.1165/rcmb.2003-0285OC]
- 40 Breitfeld D, Ohl L, Kremmer E, Ellwart J, Sallusto F, Lipp M, Förster R. Follicular B helper T cells express CXC chemokine receptor 5, localize to B cell

- follicles, and support immunoglobulin production. *J Exp Med* 2000; 192: 1545-1552 [PMID: 11104797 DOI: 10.1084/jem.192.11.1545]
- 41 Schaerli P, Willmann K, Lang AB, Lipp M, Loetscher P, Moser B. CXCR chemokine receptor 5 expression defines follicular homing T cells with B cell helper function. *J Exp Med* 2000; 192: 1553-1562 [PMID: 11104798 DOI: 10.1084/jem.192.11.1553]
 - 42 Fazilleau N, Mark L, McHeyzer-Williams LJ, McHeyzer-Williams MG. Follicular helper T cells: lineage and location. *Immunity* 2009; 30: 324-335 [PMID: 19303387 DOI: 10.1016/j.immuni.2009.03.003]
 - 43 Johnston RJ, Poholek AC, DiToro D, Yusuf I, Eto D, Barnett B, Dent AL, Craft J, Crotty S. Bcl6 and Blimp-1 are reciprocal and antagonistic regulators of T follicular helper cell differentiation. *Science* 2009; 325: 1006-1010 [PMID: 19608860 DOI: 10.1126/science.1175870]
 - 44 Rodríguez-Pinilla SM, Atienza L, Murillo C, Pérez-Rodríguez A, Montes-Moreno S, Roncador G, Pérez-Seoane C, Domínguez P, Camacho FI, Piris MA. Peripheral T-cell lymphoma with follicular T-cell markers. *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 1787-1799 [PMID: 18779728 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31817f123e]
 - 45 Rodríguez Pinilla SM, Roncador G, Rodríguez-Peralto JL, Mollejo M, García JF, Montes-Moreno S, Camacho FI, Ortiz P, Limeres-González MA, Torres A, Campo E, Navarro-Conde P, Piris MA. Primary cutaneous CD4⁺ small/medium-sized pleomorphic T-cell lymphoma expresses follicular T-cell markers. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 81-90 [PMID: 18987541 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31818e52fe]
 - 46 King IL, Mohrs M. IL-4-producing CD4⁺ T cells in reactive lymph nodes during helminth infection are T follicular helper cells. *J Exp Med* 2009; 206: 1001-1007 [PMID: 19380638 DOI: 10.1084/jem.20090313]
 - 47 Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, Galileos G, Gao W, Sobel RA, Mitsdoerffer M, Strom TB, Elyaman W, Ho IC, Khoury S, Oukka M, Kuchroo VK. IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3⁺ T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9⁺ IL-10⁺ Foxp3(-) effector T cells. *Nat Immunol* 2008; 9: 1347-1355 [PMID: 18997793 DOI: 10.1038/ni.1677]
 - 48 Veldhoen M, Uyttenhove C, van Snick J, Helmby H, Westendorf A, Buer J, Martin B, Wilhelm C, Stockinger B. Transforming growth factor-beta 'reprograms' the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. *Nat Immunol* 2008; 9: 1341-1346 [PMID: 18931678 DOI: 10.1038/ni.1659]
 - 49 Xing J, Wu Y, Ni B. Th9: a new player in asthma pathogenesis? *J Asthma* 2011; 48: 115-125 [PMID: 21294663 DOI: 10.3109/02770903.2011.554944]
 - 50 O'Shea JJ, Paul WE. Mechanisms underlying lineage commitment and plasticity of helper CD4⁺ T cells. *Science* 2010; 327: 1098-1102 [PMID: 20185720 DOI: 10.1126/science.1178334]
 - 51 Lee YK, Turner H, Maynard CL, Oliver JR, Chen D, Elson CO, Weaver CT. Late developmental plasticity in the T helper 17 lineage. *Immunity* 2009; 30: 92-107 [PMID: 19119024 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.11.005]
 - 52 Martin-Orozco N, Chung Y, Chang SH, Wang YH, Dong C. Th17 cells promote pancreatic inflammation but only induce diabetes efficiently in lymphopenic hosts after conversion into Th1 cells. *Eur J Immunol* 2009; 39: 216-224 [PMID: 19130584 DOI: 10.1002/eji.200838475]
 - 53 Hegazy AN, Peine M, Helmstetter C, Panse I, Fröhlich A, Berghaler A, Flatz L, Pinschewer DD, Radbruch A, Löhning M. Interferons direct Th2 cell reprogramming to generate a stable GATA-3(+)T-bet(+) cell subset with combined Th2 and Th1 cell functions. *Immunity* 2010; 32: 116-128 [PMID: 20079668 DOI: 10.1016/j.immuni.2009.12.004]
 - 54 Beriou G, Costantino CM, Ashley CW, Yang L, Kuchroo VK, Baecher-Allan C, Hafler DA. IL-17-producing human peripheral regulatory T cells retain suppressive function. *Blood* 2009; 113: 4240-4249 [PMID: 19171879 DOI: 10.1182/blood-2008-10-183251]
 - 55 Voo KS, Wang YH, Santori FR, Boggiano C, Wang YH, Arima K, Bover L, Hanabuchi S, Khalili J, Marinova E, Zheng B, Littman DR, Liu YJ. Identification of IL-17-producing FOXP3⁺ regulatory T cells in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 4793-4798 [PMID: 19273860 DOI: 10.1073/pnas.0900408106]
 - 56 Elyaman W, Bradshaw EM, Uyttenhove C, Dardalhon V, Awasthi A, Imitola J, Bettelli E, Oukka M, van Snick J, Renauld JC, Kuchroo VK, Khoury SJ. IL-9 induces differentiation of TH17 cells and enhances function of FoxP3⁺ natural regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 12885-12890 [PMID: 19433802 DOI: 10.1073/pnas.0812530106]
 - 57 Nowak EC, Weaver CT, Turner H, Begum-Haque S, Becher B, Schreiner B, Coyle AJ, Kasper LH, Noelle RJ. IL-9 as a mediator of Th17-driven inflammatory disease. *J Exp Med* 2009; 206: 1653-1660 [PMID: 19596803 DOI: 10.1084/jem.20090246]
 - 58 Locksley RM. Nine lives: plasticity among T helper cell subsets. *J Exp Med* 2009; 206: 1643-1646 [PMID: 19635860 DOI: 10.1084/jem.20091442]
 - 59 Li H, Nourbakhsh B, Ciric B, Zhang GX, Rostami A. Neutralization of IL-9 ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis by decreasing the effector T cell population. *J Immunol* 2010; 185: 4095-4100 [PMID: 20805418 DOI: 10.4049/jimmunol.1000986]
 - 60 Jäger A, Dardalhon V, Sobel RA, Bettelli E, Kuchroo VK. Th1, Th17, and Th9 effector cells induce experimental autoimmune encephalomyelitis with different pathological phenotypes. *J Immunol* 2009; 183: 7169-7177 [PMID: 19890056 DOI: 10.4049/jimmunol.0901906]
 - 61 Elyaman W, Bassil R, Bradshaw EM, Orent W, Lahoud Y, Zhu B, Radtke F, Yagita H, Khoury SJ. Notch receptors and Smad3 signaling cooperate in the induction of interleukin-9-producing T cells. *Immunity* 2012; 36: 623-634 [PMID: 22503540 DOI: 10.1016/j.immuni.2012.01.020]
 - 62 Hultgren C, Milich DR, Weiland O, Sällberg M. The antiviral compound ribavirin modulates the T helper (Th) 1/Th2 subset balance in hepatitis B and C virus-specific immune responses. *J Gen Virol* 1998; 79: 2381-2391 [PMID: 9780043]
 - 63 Mizukoshi E, Sidney J, Livingston B, Ghany M, Hoofnagle JH, Sette A, Rehermann B. Cellular immune responses to the hepatitis B virus polymerase. *J Immunol* 2004; 173: 5863-5871 [PMID: 15494540]
 - 64 Jiang R, Feng X, Guo Y, Lu Q, Hou J, Luo K, Fu N. T helper cells in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115: 422-424

- [PMID: 11940380]
- 65 Milich DR, Schödel F, Hughes JL, Jones JE, Peterson DL. The hepatitis B virus core and e antigens elicit different Th cell subsets: antigen structure can affect Th cell phenotype. *J Virol* 1997; 71: 2192-2201 [PMID: 9032353]
 - 66 Manigold T, Böcker U, Chen J, Gundt J, Traber P, Singer MV, Rossol S. Hepatitis B core antigen is a potent inducer of interleukin-18 in peripheral blood mononuclear cells of healthy controls and patients with hepatitis B infection. *J Med Virol* 2003; 71: 31-40 [PMID: 12858406 DOI: 10.1002/jmv.10445]
 - 67 Milich DR, Chen MK, Hughes JL, Jones JE. The secreted hepatitis B precore antigen can modulate the immune response to the nucleocapsid: a mechanism for persistence. *J Immunol* 1998; 160: 2013-2021 [PMID: 9469465]
 - 68 Chen L, Zhang Q, Chang W, Du Y, Zhang H, Cao G. Viral and host inflammation-related factors that can predict the prognosis of hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer* 2012; 48: 1977-1987 [PMID: 22325840 DOI: 10.1016/j.ejca.2012.01.015]
 - 69 Wu W, Li J, Chen F, Zhu H, Peng G, Chen Z. Circulating Th17 cells frequency is associated with the disease progression in HBV infected patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 750-757 [PMID: 20492330 DOI: 10.1111/j.1440-1746.20]
 - 70 Zhang F, Yao S, Yuan J, Zhang M, He Q, Yang G, Gao Z, Liu H, Chen X, Zhou B. Elevated IL-6 receptor expression on CD4+ T cells contributes to the increased Th17 responses in patients with chronic hepatitis B. *Virol J* 2011; 8: 270 [PMID: 21639870 DOI: 10.1186/1743-422X-8-270]
 - 71 Hou W, Kang HS, Kim BS. Th17 cells enhance viral persistence and inhibit T cell cytotoxicity in a model of chronic virus infection. *J Exp Med* 2009; 206: 313-328 [PMID: 19204109 DOI: 10.1084/jem.20082030]
 - 72 Gao B, Waisman A. Th17 cells regulate liver fibrosis by targeting multiple cell types: many birds with one stone. *Gastroenterology* 2012; 143: 536-539 [PMID: 22842060 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.07.031]
 - 73 Marra F, Annunziato F. Immunomodulation: a new approach to the therapy of cirrhosis? *Gut* 2010; 59: 868-869 [PMID: 20581231 DOI: 10.1136/gut.2009.203109]
 - 74 Kuang DM, Peng C, Zhao Q, Wu Y, Chen MS, Zheng L. Activated monocytes in peritumoral stroma of hepatocellular carcinoma promote expansion of memory T helper 17 cells. *Hepatology* 2010; 51: 154-164 [PMID: 19902483 DOI: 10.1002/hep.23291]
 - 75 Zhang JP, Yan J, Xu J, Pang XH, Chen MS, Li L, Wu C, Li SP, Zheng L. Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *J Hepatol* 2009; 50: 980-989 [PMID: 19329213 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.12.033]
 - 76 Stoop JN, van der Molen RG, Kuipers EJ, Kusters JG, Janssen HL. Inhibition of viral replication reduces regulatory T cells and enhances the antiviral immune response in chronic hepatitis B. *Virology* 2007; 361: 141-148 [PMID: 17184802 DOI: 10.1016/j.virol.2006.11.018]
 - 77 You J, Zhuang L, Zhang YF, Chen HY, Sriplung H, Geater A, Chongsuvivatwong V, Piratvisuth T, McNeil E, Yu L, Tang BZ, Huang JH. Peripheral T-lymphocyte subpopulations in different clinical stages of chronic HBV infection correlate with HBV load. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3382-3393 [PMID: 19610139 DOI: 10.3748/wjg.15.3382]
 - 78 Akbar SM, Horiike N, Chen S, Michitaka K, Abe M, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. Mechanism of restoration of immune responses of patients with chronic hepatitis B during lamivudine therapy: increased antigen processing and presentation by dendritic cells. *J Viral Hepat* 2011; 18: 200-205 [PMID: 20367796 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2010.01300.x]
 - 79 Zhang M, Zhou J, Zhao T, Huang G, Tan Y, Tan S, Fu X, Niu W, Meng G, Chen X, Shang X, Liu D, Ni B, Wang L, Wu Y. Dissection of a circulating and intrahepatic CD4(+)Foxp3(+) T-cell subpopulation in chronic hepatitis B virus (HBV) infection: a highly informative strategy for distinguishing chronic HBV infection states. *J Infect Dis* 2012; 205: 1111-1120 [PMID: 22357657 DOI: 10.1093/infdis/jis011]
 - 80 Tran DQ, Andersson J, Wang R, Ramsey H, Unutmaz D, Shevach EM. GARP (LRRC32) is essential for the surface expression of latent TGF-beta on platelets and activated FOXP3+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 13445-13450 [PMID: 19651619 DOI: 10.1073/pnas.0901944106]
 - 81 Zhao W, Su W, Kuang P, Zhang L, Liu J, Yin Z, Wang X. The role of hepatic stellate cells in the regulation of T-cell function and the promotion of hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2012; 41: 457-464 [PMID: 22641338 DOI: 10.3892/ijo.2012.1497]
 - 82 Zhang HH, Mei MH, Fei R, Liu F, Wang JH, Liao WJ, Qin LL, Wei L, Chen HS. Regulatory T cells in chronic hepatitis B patients affect the immunopathogenesis of hepatocellular carcinoma by suppressing the anti-tumour immune responses. *J Viral Hepat* 2010; 17 Suppl 1: 34-43 [PMID: 20586932]
 - 83 Li J, Wu W, Peng G, Chen F, Bai M, Zheng M, Chen Z. HBcAg induces interleukin-10 production, inhibiting HBcAg-specific Th17 responses in chronic hepatitis B patients. *Immunol Cell Biol* 2010; 88: 834-841 [PMID: 20498672 DOI: 10.1038/icb.2010.63]
 - 84 Li J, Qiu SJ, She WM, Wang FP, Gao H, Li L, Tu CT, Wang JY, Shen XZ, Jiang W. Significance of the balance between regulatory T (Treg) and T helper 17 (Th17) cells during hepatitis B virus related liver fibrosis. *PLoS One* 2012; 7: e39307 [PMID: 22745730 DOI: 10.1371/journal.pone.0039307]
 - 85 Park O, Wang H, Weng H, Feigenbaum L, Li H, Yin S, Ki SH, Yoo SH, Dooley S, Wang FS, Young HA, Gao B. In vivo consequences of liver-specific interleukin-22 expression in mice: Implications for human liver disease progression. *Hepatology* 2011; 54: 252-261 [PMID: 21465510 DOI: 10.1002/hep.24339]
 - 86 Zhang Y, Cobleigh MA, Lian JQ, Huang CX, Booth CJ, Bai XF, Robek MD. A proinflammatory role for interleukin-22 in the immune response to hepatitis B virus. *Gastroenterology* 2011; 141: 1897-1906 [PMID: 21708106 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.06.051]
 - 87 Wang Z, Yang L, Jiang Y, Ling ZQ, Li Z, Cheng Y, Huang H, Wang L, Pan Y, Wang Z, Yan X, Chen Y. High fat diet induces formation of spontaneous liposarcoma in mouse adipose tissue with overexpression of interleukin 22. *PLoS One* 2011; 6: e23737 [PMID: 21897855 DOI: 10.1371/journal.pone.0023737]
 - 88 Jiang R, Tan Z, Deng L, Chen Y, Xia Y, Gao Y, Wang X, Sun B. Interleukin-22 promotes human

hepatocellular carcinoma by activation of STAT3. *Hepatology* 2011; 54: 900-909 [PMID: 21674558 DOI: 10.1002/hep.24486]
89 Feng J, Lu L, Hua C, Qin L, Zhao P, Wang J, Wang

Y, Li W, Shi X, Jiang Y. High frequency of CD4⁺CXCR5⁺ TFH cells in patients with immune-active chronic hepatitis B. *PLoS One* 2011; 6: e21698 [PMID: 21750724 DOI: 10.1371/journal.pone.0021698]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



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

• 消息 •

百世登出版集团推出 12 种开放获取生物医学期刊全部被 PubMed 和 PMC 收录

本刊讯 由美国国立医学图书馆(U.S. National Library of Medicine, 简称NLM), 美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称NCBI)和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, 简称NIH), 共同于2010-2011年, 收录了百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Co., Limited, 简称BPG)出版的12种开放获取生物医学期刊。12种期刊被NLM, NCBI和NIH共同主办的PubMed Central和PubMed平台, 公开面向全球发布, 读者免费阅读和下载全文。12种期刊被收录的名称及网址如下:

- 1 World Journal of Biological Chemistry (世界生物化学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1495/>
- 2 World Journal of Cardiology (世界心脏病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1320/>
- 3 World Journal of Clinical Oncology (世界临床肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1494/>
- 4 World Journal of Diabetes (世界糖尿病杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1498/>
- 5 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy (世界胃肠内镜杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1323/>
- 6 World Journal of Gastrointestinal Oncology (世界胃肠肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1324/>
- 7 World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology (世界胃肠病理生理学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1496/>
- 8 World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics (世界胃肠药理学与治疗杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1497/>
- 9 World Journal of Gastrointestinal Surgery (世界胃肠外科杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1325/>
- 10 World Journal of Hepatology (世界肝病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1321/>
- 11 World Journal of Radiology (世界放射学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1322/>
- 12 World Journal of Stem Cells (世界干细胞杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1470/>

(总编辑: 马连生2011-05-30)

脐血间充质干细胞移植治疗肝硬化的研究进展

廖金卯, 胡小宣

■背景资料

肝硬化的基础内科治疗不理想, 人脐血间充质干细胞移植作为近年来开展起来的一种全新的治疗手段, 为肝硬化患者的治疗带来希望。

廖金卯, 胡小宣, 湖南省人民医院肝病内科 湖南省长沙市 410006

廖金卯, 硕士, 主要从事肝硬化的治疗。

作者贡献分布: 本文综述由廖金卯完成; 胡小宣审校。

通讯作者: 胡小宣, 教授, 主任医师, 410006, 湖南省长沙市解放西路61号, 湖南省人民医院肝病内科。hxx5527392@sina.com
电话: 0731-83928059

收稿日期: 2012-12-22 修回日期: 2013-01-20

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-02-28

Transplantation of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells for treatment of liver cirrhosis: Research progress

Jin-Mao Liao, Xiao-Xuan Hu

Jin-Mao Liao, Xiao-Xuan Hu, Department of Hepatology, People's Hospital of Hunan Province, Changsha 410006, Hunan Province, China

Correspondence to: Xiao-Xuan Hu, Professor, Chief Physician, Department of Hepatology, People's Hospital of Hunan Province, Changsha 410006, Hunan Province, China. hxx5527392@sina.com

Received: 2012-12-22 Revised: 2013-01-20

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-02-28

Abstract

Cirrhosis is a serious threat to human health. Currently, there have been no available radical measures that can effectively block the process of this disease. The research progress in the field of stem cells brings an opportunity for the treatment of cirrhosis. Having a wide variety of sources, weak immunogenicity, and strong proliferation and differentiation ability, human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells have been demonstrated to be promising in the treatment of liver cirrhosis. This article reviews the biological characteristics of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells and their application in the treatment of cirrhosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cord blood; Mesenchymal stem cells; Liver cirrhosis; Transplantation

Liao JM, Hu XX. Transplantation of umbilical cord

blood-derived mesenchymal stem cells for treatment of liver cirrhosis: Research progress. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(6): 508-513 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/508.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.508>

摘要

肝硬化是严重威胁人类健康的疾病之一, 目前尚无一种能够普遍开展的有效阻断该疾病进程的根治措施。干细胞领域的研究进展为肝硬化的治疗带来了契机。具有来源广泛、免疫原性弱、增殖分化能力强等优势的人脐血间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)已在相关的基础及临床研究报道中展现出诱人临床应用价值。本文就脐血MSCs的生物学特性及其在治疗肝硬化方面的应用研究作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 脐血; 间充质干细胞; 肝硬化; 移植

廖金卯, 胡小宣. 脐血间充质干细胞移植治疗肝硬化的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 508-513 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/508.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.508>

0 引言

肝硬化是各种慢性肝病发展的终末期表现, 以肝纤维组织增生, 假小叶形成为典型特征, 此时正常的肝细胞大量受损破坏, 肝实质细胞数量减少, 当肝脏受到的损害超过其代偿功能时, 将导致肝其合成、储备、解毒、免疫等各项功能的严重不足, 随之产生一系列与之相应的临床症状和表现, 严重威胁人们的健康。目前对于肝硬化尚缺乏有效的治疗措施, 肝移植由于种种条件的限制, 阻碍了其在临床的广泛开展。寻求和探索一种新的肝硬化治疗技术成为了人们努力的方向。干细胞领域的研究探索, 使具有来源广泛、免疫原性弱、增殖分化能力强等优势的人脐血MSCs在治疗终末期肝病方面, 展现出诱人的临床应用价值, 有望为相关终末期肝病的治疗带来突破^[1-5]。

■同行评议者

徐洪, 副主任医师, 上海复旦大学附属中山医院

1 脐血MSCs的生物学特性

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是机体内存在的一类具有自我增殖和多向分化潜能^[6-9]的多能干细胞. 大量研究表明MSCs能向各个胚层来源的多种细胞分化, 具有强大的可塑性. 在一定的微环境中MSCs可被诱导分化为肝细胞、成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、神经细胞、骨骼肌细胞等^[10-18], 在组织工程、基因工程以及临床应用上有着很大的应用价值. 目前科研工作者已经在骨髓^[19]、脂肪^[20]、皮肤^[21]、脑^[22]等许多组织中分离出了MSCs, 且普遍认为骨髓是其最主要的来源. 然而骨髓的采集是有创性操作, 会给取材者带来痛苦, 且所采集的MSCs的增殖能力、数量与供者的年龄及身体条件等相关. 自2000年Erices等^[23]首次从人类脐血中分离出MSCs以后, 人们发现脐血MSCs与其他来源的MSCs相比具有来源广、采集方便、取材无痛苦、免疫原性低、更原始、增值分化能力更强以及不涉及伦理问题等优点.

MSCs在形态上类似成纤维细胞, 呈梭行平行排列或漩涡样生长, 其核浆比值大, 核仁明显. 目前研究认为, 脐血MSCs具有多种细胞表面抗原, 但无特异性的表面抗原特征, 据已有的报道, 迟作华等^[24]总结了脐血MSCs表达的主要分子, 包括: (1)黏附分子: 如CD13、CD44、CD51、CD54等; (2)整合素家族: 如CD29、CD49b、CD49e等; (3)其他: 如CD90、CD105、HLA-ABG、ASMA、CD73等. 但不表达CD34、CD45、CD2、CD3、CD4、CD8、CD14、CD15、CD16、CD19、CD24、CD33、CD38、CD117、CD133、CD135等造血谱系的细胞标记, 也不表达B7-1、B7-2及HLA-DR抗原等. 目前主要通过观察细胞形态, 检测免疫表型以及观察其多向分化功能等对其进行鉴定^[25,26].

2 脐血MSCs的分离与培养

目前脐血MSCs的分离方法主要有密度梯度离心、羟乙基淀粉沉降法、单克隆抗体流式细胞仪分析法、免疫磁珠分选法等. 羟乙基淀粉沉降法, 存在细胞回收率低、所需时间较长, 操作复杂等不足; 单克隆抗体流式细胞仪分析法、免疫磁珠分选法通过识别不同的细胞表面分子标记而分选细胞, 所分离细胞的纯度和活力均较高, 但由于所需费用较多, 而限制了在实验研究中广泛应用; 密度梯度离心法: 此方法最初从脐带血中分离出的是单个核细胞层, 需要再依

据MSCs体外培养贴壁生长的特性, 使用细胞贴壁筛选法将其从单个核细胞中分离出来. 此法简单有效, 节省时间, 成本低, 对细胞的损伤小, 且能较好的保持细胞活性, 但最初成分相对复杂、纯度不高, 需进行后续的培养纯化^[27].

人脐血MSCs的培养目前还没有形成统一确定的培养条件, 存在多种因素影响细胞的分离和培养, 如胎龄、收集的脐带血量、单个核细胞数、脐血分离时间、接种的细胞密度、传代和换液的时间以及培养基的选择等. DMEM低糖培养基联合胎牛血清是目前常用的培养条件. 但是研究认为, 在某些情况下胎牛血清促MSCs分化的作用要强于促进其增殖的作用, 因此在以细胞扩增为目的的培养时, 选择低血清或无血清培养基可能更适宜^[28]. Bieback等^[29]研究表明, 从脐血中提取MSCs需要注意: 收集的脐血应尽早进行处理, 以不超过15 h为宜; 每份脐血量不能少于33 mL; 脐血中所含单个核细胞的数不能少于 1×10^8 . 此外, Campagnoli等^[30]指出, 相比足月儿, 在早产儿的脐血中所含的MSCs可能更原始, 有更强的增殖分化能力, 脐血中MSCs数量也会随着妊娠时间的延长而逐渐减少. 因此, 早期报道脐血中分离不出MSCs可能与此相关.

3 脐血MSCs在肝硬化方面的应用

3.1 肝纤维化及肝硬化的损伤与修复机制 正常情况下, 肝脏的各种细胞和细胞外基质有着精确的比例和特定的空间结构, 通过各种细胞因子的信号调控, 而维持一个相对稳定的微环境. 肝脏受损后, 典型的修复过程涉及两个时期: 一个是再生期, 新生的肝细胞替代受损肝细胞发挥作用. 新生肝细胞来源包括: (1)成熟肝细胞, 通过有限的有丝分裂补充肝细胞的数量, 其增殖能力及修复作用有限; (2)肝前体细胞, 其分类上属于专能干细胞的一种, 肝脏受损时可定向增殖分化为肝细胞或胆管上皮细胞参与肝脏修复, 能起到一定的代偿修复作用, 但肝内的所含数量有限, 在增殖分化能力上可能弱于多能干细胞; (3)非肝源性多能干细胞, 如脐血MSCs、骨髓MSCs等, 此类细胞具有强大的增殖分化能力, 数量有限但在肝损害的微环境下可以增殖分化出较多的肝细胞, 因此是理想的肝脏修复原料^[31]. 另一个则是纤维组织增生期, 该阶段纤维结缔组织代替了肝正常的实质组织. 肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)是形成肝纤

■研发前沿

在治疗肝硬化方面, 脐血间充质干细胞发挥治疗作用的机制是目前研究的热点, 其远期安全性需进一步探讨.

■相关报道

国内利用脐血干细胞移植治疗肝硬化的基础及临床研究正相继开展,胡小宣等均证实采用脐血干细胞治疗肝硬化患者可以取得一定的疗效。

维化的最主要细胞,在肝脏受到刺激而被激活时,一系列细胞因子、生长因子、趋化因子均参与到了纤维化形成的过程中,如IL-13、IL-21、MMPs、TIMPs、TGF- β 1、PDGF、VEGF等^[32],使得细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成增加,胶原合成过多,此外,肝Kupffer细胞和肝细胞自身亦有合成胶原的功能。这些代偿尽管初期是有益的,但若持续进行,修复过程会导致ECM的过度积累,而最终导致肝硬化和肝衰竭^[33]。

3.2 脐血间充质干细胞的移植途径 移植途径的选择可能会直接影响到移植细胞的归巢定植量,进而影响治疗效果。临床上细胞的移植途径主要包括经股动脉介入移植、门静脉移植、肝内移植、脾内移植、外周静脉移植、腹腔移植等。

3.2.1 经股动脉介入移植:在X线监视下,股动脉穿刺插管至肝动脉,将制备好的脐血MSCs沿导管从肝动脉缓慢注入。由于介入技术广泛开展,此种方法操作熟练,在临床上开展也较多。

3.2.2 门静脉移植:门静脉血液中含有丰富的促进细胞生长的营养成分,移植的细胞经血流到达肝血窦后,可缓慢向肝索迁移,并在肝脏损伤所释放的细胞因子诱导下在肝内定植,重复的门静脉移植可增加细胞在肝内定植数,起到更好的治疗效果,相比外周血更具有优势^[34]。但门静脉移植时具有出血倾向,受到凝血功能的限制,且肝硬化时如果门脉压显著增高,移植的细胞可随侧支循环较多分散到其他部位。

3.2.3 肝内移植:此方法也是进行干细胞移植的治疗途径之一,但由于具有出血倾向,以及移植的细胞可能直接进入中央静脉而使产生肺栓塞的风险增加,故临床上很少开展。

3.2.4 脾内移植:可减少因肝脏微环境严重破坏,而导致的移植细胞不易存活;可降低因门静脉直接注射而导致的栓塞的风险,但脾内定植的细胞多呈结节样生长,且对于肝脏损伤的确切疗效尚不明确。

3.2.5 外周静脉移植:此方法移植的细胞是否会因在全身分散定植而增加致癌性,是否会由于肺脏的滤筛等而导致最终归巢细胞数量不足,以及能否最终发挥治疗的效果,仍没有确切定论。

3.2.6 腹腔移植:腹腔移植简单,但所需细胞量大,可能导致腹腔内粘连,移植的细胞难直接进入受损肝脏,疗效待考证,且在腹腔内所处环境存活时间不长。

3.3 脐血MSCs的在治疗肝硬化方面的应用研究

3.3.1 基础研究:间充质干细胞作为一种具有横

向分化能力的多能干细胞,近年来大量研究表明在合适的培养条件下在内外均可以向肝细胞分化。2000年,日本学者Oh等^[35]使用大鼠骨髓干细胞,加入不同浓度的HGF进行体外诱导培养之后检测到了鼠源性CK18、CK8、AFP等肝细胞特异性标志,发现了骨髓干细胞可以分化为肝样细胞;2002年, Danet等^[2]经过体外实验证实脐血干细胞也是可以向肝细胞分化的,随后Hong等^[3]提出了同样的观点。任红英等^[36]通过实验指出,脐血MSCs不仅可以在体外分化为有功能的肝样细胞,而且证实了其免疫原性低。2003年, Kakinuma等^[37]通过报道指出,脐血MSCs在体外和体内均可诱导成为肝样细胞。Beerheide等^[38]将从脐带血中分离的MSCs荧光标记后移植到严重联合免疫缺陷(severe combined immunodeficiency disease, SCID)大鼠的肝脏内,移植后1 wk检测发现移植的细胞已整合到SCID鼠的肝脏组织里面,并检出了人源性的白蛋白的表达。Tang等^[39]还通过脐血干细胞移植的动物实验指出,移植的脐带血干细胞不仅对老鼠的重型肝炎具有疗效,而且对合并的心肌损伤也有治疗作用。

目前对于移植的MSCs发挥治疗作用的具体机制还不是很明确。部分研究认为脐血MSCs产生治疗作用的机制可能包括:(1)直接分化:在肝脏微环境的影响下定植,增殖,并分化成为肝细胞,发挥作用,改善肝功能;(2)旁分泌途径:在肝损伤环境中MSCs可以分泌不同水平的细胞因子相互影响,表现出抗炎症反应的作用,并可能激活肝内的肝干细胞,促进肝细胞再生^[40];(3)细胞融合:MSCs可能直接与肝细胞融合,进而启动细胞的增殖过程;(4)抑制产生细胞外基质的HSC的活化,有研究表明在体外HSC的增殖活性会受到MSCs的明显抑制^[41];(5)直接降解肝内过量沉积的ECM,减轻肝纤维化。Yamamoto等^[42]通过实验证明MSCs通过高表达基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)而降解ECM,逆转肝纤维化;(6)激活受损肝细胞,在一定程度上启动内源性肝细胞增殖过程等。基础研究的开展给脐血干细胞的临床应用提供了理论指导。

3.3.2 临床应用研究:脐血干细胞移植在肝病治疗方面的临床研究证实,经干细胞治疗后的患者,其临床一般情况好转,肝功能改善。胡小宣等^[43]统计了34例失代偿期肝硬化患者经脐血干细胞移植治疗后的效果,术后1 mo, 32例患者食欲改善, 29例患者体力好转, 28例腹胀减轻。25

例并发腹水患者术后1 mo, 15例腹水明显减少, 9例腹水消失。术后6 mo血清白蛋白(albumin, ALB)逐渐升高, 由 $30.9 \text{ g/L} \pm 0.6 \text{ g/L}$ 升至 $35.5 \text{ g/L} \pm 2.5 \text{ g/L}$; 丙氨酸氨基转移酶(alanine amino-transferase, ALT)由 $57 \text{ U/L} \pm 7 \text{ U/L}$ 降至 $46 \text{ U/L} \pm 10 \text{ U/L}$; 总胆红素由 $47 \mu\text{mol/L} \pm 5 \mu\text{mol/L}$ 下降至 $25 \mu\text{mol/L} \pm 4 \mu\text{mol/L}$; 凝血酶原时间由 (17.9 ± 0.7) 降至 (16.4 ± 1.3) ; 术后未发现严重不良反应, 提示脐血干细胞移植安全可行, 可不同程度改善肝功能。Zhang等^[44]统计20例肝硬化失代偿期患者脐血干细胞移植的临床疗效, 患者腹腔积液减少率为75%, 乏力好转率为80%, 肝病面容、肝掌及蜘蛛痣减轻率为70%。乔飞等^[45]、杨宏丽等^[46]采用脐血干细胞移植治疗肝硬化也均取得了一定疗效。上述研究报道虽然存在纳入病例数较少, 暂无法长期追踪观察进行疗效评价等局限性, 但是初步临床疗效是积极肯定的, 这均表明脐血间充质干细胞移植不失为治疗肝硬化、终末期肝病的另一种有效治疗选择。

3.4 脐血MSCs移植的安全性 安全性是细胞移植治疗应用于临床前需要特别关注的问题, 目前对于安全性的探讨包括多个方面: 如: (1)血栓性微血管病(thrombotic microangiopathies, TMA): 是指以病理表现为微血管内皮损伤、宫腔狭窄和微血栓形成的一组疾病, 严重的可导致多器官功能衰竭, 病死率高^[47]。在干细胞移植的过程中, 由于细胞的体外分离、培养, 原始的一些生物学特性可能受到干预, 细胞移植后可能在各种细胞因子的作用下而导致血管内皮细胞的损害, 诱发TMA^[48]; (2)免疫排斥: 目前认为脐血MSCs作为一种较原始细胞, 不表达MHC II类分子, 低表达或不表达MHC I类分子, 免疫源性很低, 可逃脱宿主的免疫排斥反应, 并有可能成为同种异体细胞移植的来源; (3)致癌作用: 这是细胞移植治疗后的一个很重要的问题, 也是近年来研究者所关注的, 在肿瘤起源学说中有人指出“肿瘤细胞的产生可能最初来源于异常分化的干细胞”^[49]。原始的MSCs在整个体内的含量都较少, 一份脐血所能直接提取的MSCs有限, 需要通体外的适当扩增才能满足移植的需求, 然而, 在离开自身脐血环境下的分离培养、传代扩增等, 都会对细胞产生一定的影响, 随着时间的延长, 损伤可能导致细胞染色体结构的变化, 当最后累积的损伤到达一定程度时而导致有害基因突变。Kunkel等^[50]指出, 在细胞过程中, 每一次分裂就有一次基因突变的可能。遗传

性状的改变最终可能使移植的干细胞出现意想不到的分化, 甚至瘤样分化。

4 结论

脐血MSCs自身的独特优势和其在基础及临床上的研究进展, 使之在治疗肝硬化方面显示了诱人的临床应用前景。然而在此技术成熟的开展前所亟待解决的问题也还有很多: (1)MSCs经提取后是进行直接体内移植还是体外培养较纯化后进行移植? (2)MSCs提取的最佳方式、体外培养的最适应环境, 能否达成统一的执行标准? (3)移植的最佳细胞数目, 移植的最佳时间、反复移植的疗效评价标准? (4)移植细胞的归巢定植的具体机制? (5)移植细胞发挥治疗作用的具体机制? (6)远期安全性的评价? 是否会具有致癌作用? 等都是需要继续努力的方向。为使脐血MSCs作为种子细胞, 在临床终末期肝病的治疗道路上发挥决定性作用, 不断的研究和探索工作任重而道远。

5 参考文献

- 1 Capla JM, Grogan RH, Callaghan MJ, Galiano RD, Tepper OM, Ceradini DJ, Gurtner GC. Diabetes impairs endothelial progenitor cell-mediated blood vessel formation in response to hypoxia. *Plast Reconstr Surg* 2007; 119: 59-70 [PMID: 17255657 DOI: 10.1097/01.prs.0000244830.16906.3f]
- 2 Danet GH, Luongo JL, Butler G, Lu MM, Tenner AJ, Simon MC, Bonnet DA. C1qR defines a new human stem cell population with hematopoietic and hepatic potential. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 10441-10445 [PMID: 12140365 DOI: 10.1073/pnas.162104799]
- 3 Hong SH, Gang EJ, Jeong JA, Ahn C, Hwang SH, Yang IH, Park HK, Han H, Kim H. In vitro differentiation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 330: 1153-1161 [PMID: 15823564 DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.03.086]
- 4 陈海鸥, 胡小宣, 刘红娟, 钱林. 脐血干细胞移植治疗肝硬化的疗效观察. *中华肝脏病杂志* 2010; 18: 537-538
- 5 Jung KH, Shin HP, Lee S, Lim YJ, Hwang SH, Han H, Park HK, Chung JH, Yim SV. Effect of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in a cirrhotic rat model. *Liver Int* 2009; 29: 898-909 [PMID: 19422480 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.02031.x]
- 6 Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41-49 [PMID: 12077603 DOI: 10.1038/nature00870]
- 7 Yang CC, Shih YH, Ko MH, Hsu SY, Cheng H, Fu YS. Transplantation of human umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly after complete

■应用要点

国内外脐血间充质干细胞移植治疗肝硬化取得了很大进展, 但诸多问题仍亟待解决。

■名词解释

间充质干细胞: 干细胞家族的重要成员, 来源于发育早期的中胚层和外胚层, 是可形成多种细胞类型的多能干细胞, 但不具备发育为完整个体的能力。

- transection of the rat spinal cord. *PLoS One* 2008; 3: e3336 [PMID: 18852872 DOI: 10.1371/journal.pone.0003336]
- 8 Chang SJ, Weng SL, Hsieh JY, Wang TY, Chang MD, Wang HW. MicroRNA-34a modulates genes involved in cellular motility and oxidative phosphorylation in neural precursors derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells. *BMC Med Genomics* 2011; 4: 65 [PMID: 21923954 DOI: 10.1186/1755-8794-4-65]
- 9 Zhao Z, Chen Z, Zhao X, Pan F, Cai M, Wang T, Zhang H, Lu JR, Lei M. Sphingosine-1-phosphate promotes the differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells into cardiomyocytes under the designated culturing conditions. *J Biomed Sci* 2011; 18: 37 [PMID: 21645412 DOI: 10.1186/1423-0127-18-37]
- 10 Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-147 [PMID: 10102814 DOI: 10.1126/science.284.5411.143]
- 11 Ni WF, Yin LH, Lu J, Xu HZ, Chi YL, Wu JB, Zhang N. In vitro neural differentiation of bone marrow stromal cells induced by cocultured olfactory ensheathing cells. *Neurosci Lett* 2010; 475: 99-103 [PMID: 20347932 DOI: 10.1016/j.neulet.2010.03.056]
- 12 Gang EJ, Hong SH, Jeong JA, Hwang SH, Kim SW, Yang IH, Ahn C, Han H, Kim H. In vitro mesenchymal potential of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 321: 102-108 [PMID: 15358221 DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.06.111]
- 13 Goodwin HS, Bicknese AR, Chien SN, Bogucki BD, Quinn CO, Wall DA. Multilineage differentiation activity by cells isolated from umbilical cord blood: expression of bone, fat, and neural markers. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7: 581-588 [PMID: 11760145 DOI: 10.1053/bbmt.2001.v7.pm11760145]
- 14 Gang EJ, Jeong JA, Hong SH, Hwang SH, Kim SW, Yang IH, Ahn C, Han H, Kim H. Skeletal myogenic differentiation of mesenchymal stem cells isolated from human umbilical cord blood. *Stem Cells* 2004; 22: 617-624 [PMID: 15277707 DOI: 10.1634/stemcells.22-4-617]
- 15 Lee OK, Kuo TK, Chen WM, Lee KD, Hsieh SL, Chen TH. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood* 2004; 103: 1669-1675 [PMID: 14576065 DOI: 10.1182/blood-2003-05-1670]
- 16 Kim JW, Kim SY, Park SY, Kim YM, Kim JM, Lee MH, Ryu HM. Mesenchymal progenitor cells in the human umbilical cord. *Ann Hematol* 2004; 83: 733-738 [PMID: 15372203 DOI: 10.1007/s00277-004-0918-z]
- 17 Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, Konishi F, Kodama H, Pan J, Sano M, Takahashi T, Hori S, Abe H, Hata J, Umezawa A, Ogawa S. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest* 1999; 103: 697-705 [PMID: 10074487 DOI: 10.1172/JCI5298]
- 18 Lee KD, Kuo TK, Whang-Peng J, Chung YF, Lin CT, Chou SH, Chen JR, Chen YP, Lee OK. In vitro hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Hepatology* 2004; 40: 1275-1284 [PMID: 15562440 DOI: 10.1002/hep.20469]
- 19 Krampera M, Marconi S, Pasini A, Galiè M, Rigotti G, Mosna F, Tinelli M, Lovato L, Anghileri E, Andreini A, Pizzolo G, Sbarbati A, Bonetti B. Induction of neural-like differentiation in human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, fat, spleen and thymus. *Bone* 2007; 40: 382-390 [PMID: 17049329 DOI: 10.1016/j.bone.2006.09.006]
- 20 Hoogduijn MJ, Crop MJ, Peeters AM, Van Osch GJ, Balk AH, Ijzermans JN, Weimar W, Baan CC. Human heart, spleen, and perirenal fat-derived mesenchymal stem cells have immunomodulatory capacities. *Stem Cells Dev* 2007; 16: 597-604 [PMID: 17784833 DOI: 10.1089/scd.2006.0110]
- 21 Bernard BA. [Human skin stem cells]. *J Soc Biol* 2008; 202: 3-6 [PMID: 18460303 DOI: 10.1051/jbio:]
- 22 Jordan PM, Ojeda LD, Thonhoff JR, Gao J, Boehning D, Yu Y, Wu P. Generation of spinal motor neurons from human fetal brain-derived neural stem cells: role of basic fibroblast growth factor. *J Neurosci Res* 2009; 87: 318-332 [PMID: 18803285 DOI: 10.1002/jnr.21856]
- 23 Erices A, Conget P, Minguel JJ. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol* 2000; 109: 235-242 [PMID: 10848804 DOI: 10.1046/j.1365-2141.2000.01986.x]
- 24 迟作华, 张涇. 脐带血间充质干细胞的研究进展. 国际生物医学工程杂志 2006; 29: 29-34
- 25 Chang YJ, Tseng CP, Hsu LF, Hsieh TB, Hwang SM. Characterization of two populations of mesenchymal progenitor cells in umbilical cord blood. *Cell Biol Int* 2006; 30: 495-499 [PMID: 16731010 DOI: 10.1016/j.cellbi.2005.12.009]
- 26 Wexler SA, Donaldson C, Denning-Kendall P, Rice C, Bradley B, Hows JM. Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem' cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. *Br J Haematol* 2003; 121: 368-374 [PMID: 12694261 DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04284.x]
- 27 金光鑫, 吴德全. 脐带血间充质干细胞研究进展. 国际移植与血液净化杂志 2006; 4: 45-48
- 28 程范军, 邹萍, 仲照东, 郭荣, 肖娟. 人脐血间充质干/祖细胞的生长特征. 中国实验血液学杂志 2003; 11: 565-568
- 29 Bieback K, Kern S, Klüter H, Eichler H. Critical parameters for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Stem Cells* 2004; 22: 625-634 [PMID: 15277708 DOI: 10.1634/stemcells.22-4-625]
- 30 Campagnoli C, Roberts IA, Kumar S, Bennett PR, Bellantuono I, Fisk NM. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood* 2001; 98: 2396-2402 [PMID: 11588036 DOI: 10.1182/blood.V98.8.2396]
- 31 Sell S. Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells. *Hepatology* 2001; 33: 738-750 [PMID: 11230756 DOI: 10.1053/jhep.2001.21900]
- 32 Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-1669 [PMID: 18471545 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]
- 33 Serrano AL, Mann CJ, Vidal B, Ardite E, Perdiguerro E, Muñoz-Cánoves P. Cellular and molecular mechanisms regulating fibrosis in skeletal muscle repair and disease. *Curr Top Dev Biol* 2011; 96: 167-201 [PMID: 21621071 DOI: 10.1016/B978-0-12-385940-2.00007-3]
- 34 Haga J, Wakabayashi G, Shimazu M, Tanabe M, Takahara T, Azuma T, Sato Y, Hakamata Y, Ko-

- bayashi E, Kitajima M. In vivo visualization and portally repeated transplantation of bone marrow cells in rats with liver damage. *Stem Cells Dev* 2007; 16: 319-328 [PMID: 17521242 DOI: 10.1089/scd.2006.0086]
- 35 Oh SH, Miyazaki M, Kouchi H, Inoue Y, Sakaguchi M, Tsuji T, Shima N, Higashio K, Namba M. Hepatocyte growth factor induces differentiation of adult rat bone marrow cells into a hepatocyte lineage in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 279: 500-504 [PMID: 11118315 DOI: 10.1006/bbrc.2000.3985]
- 36 任红英, 赵钦军, 邢文, 杨少光, 卢士红, 任倩, 张磊, 韩忠朝. 脐带间充质干细胞体外分化为有功能的低免疫原性肝细胞样细胞. *中国医学科学院学报* 2010; 32: 190-194
- 37 Kakinuma S, Tanaka Y, Chinzei R, Watanabe M, Shimizu-Saito K, Hara Y, Teramoto K, Arii S, Sato C, Takase K, Yasumizu T, Teraoka H. Human umbilical cord blood as a source of transplantable hepatic progenitor cells. *Stem Cells* 2003; 21: 217-227 [PMID: 12634418 DOI: 10.1634/stemcells.21-2-217]
- 38 Beerheide W, von Mach MA, Ringel M, Fleckenstein C, Schumann S, Renzing N, Hildebrandt A, Brenner W, Jensen O, Gebhard S, Reifenberg K, Bender J, Oesch F, Hengstler JG. Downregulation of beta2-microglobulin in human cord blood somatic stem cells after transplantation into livers of SCID-mice: an escape mechanism of stem cells? *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 294: 1052-1063 [PMID: 12074584 DOI: 10.1016/S0006-291X(02)00596-X]
- 39 Tang XP, Yang X, Zhang M, Wang WL, Chen LM. [Clinical and experimental study of the therapeutic effect of umbilical cord blood stem cell transplantation on liver failure and heart damage in severe viral hepatitis patients]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2005; 13: 259-263 [PMID: 15850511]
- 40 Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, Carter EA, Berthiaume F, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One* 2007; 2: e941 [PMID: 17895982 DOI: 10.1371/journal.pone.0000941]
- 41 Kim WH, Matsumoto K, Bessho K, Nakamura T. Growth inhibition and apoptosis in liver myofibroblasts promoted by hepatocyte growth factor leads to resolution from liver cirrhosis. *Am J Pathol* 2005; 166: 1017-1028 [PMID: 15793283 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62323-1]
- 42 Yamamoto N, Terai S, Ohata S, Watanabe T, Omori K, Shinoda K, Miyamoto K, Katada T, Sakaida I, Nishina H, Okita K. A subpopulation of bone marrow cells depleted by a novel antibody, anti-Liv8, is useful for cell therapy to repair damaged liver. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 313: 1110-1118 [PMID: 14706657 DOI: 10.1016/j.bbrc.2003.12.044]
- 43 胡小宣, 陈海鸥, 钱林, 刘莉, 陈峰, 张征, 刘洪娟. 经肝动脉脐血干细胞移植治疗肝硬化的临床应用. *中华全科医生杂志* 2011; 10: 58-60
- 44 Zhang LX, Xing LH, Zhag LL, Tao QQ, Liu Y, Guo LJ, Huang YH. The therapeutic effect of the umbilical blood stem cell transplantation in the patients with cirrhosis. *Chinese General Practice* 2010; 13: 2680-2682
- 45 乔飞, 张馨, 盛云峰, 耿家宝, 陈小军, 钟晶, 赵颖, 隋云华, 何长伦, 高蕾, 汪茂荣. 脐带血干细胞治疗肝硬化失代偿期疗效观察. *中国肝脏病杂志* 2011; 3: 10-13
- 46 杨宏丽, 于发涛, 李桂杰, 陈自平, 李坤, 徐昌青. 脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化86例疗效观察. *山东医药* 2010; 50: 16-17
- 47 Uccelli A, Pistoia V, Moretta L. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression? *Trends Immunol* 2007; 28: 219-226 [PMID: 17400510 DOI: 10.1016/j.it.2007.03.001]
- 48 胡菱, 韩明子, 薛洪璐, 景德怀. 干细胞移植的安全性分析. *胃肠病学和肝病杂志* 2011; 20: 18-20
- 49 Tsai RY. A molecular view of stem cell and cancer cell self-renewal. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 684-694 [PMID: 15010332 DOI: 10.1016/j.biocel.2003.10.016]
- 50 Kunkel TA, Bebenek K. DNA replication fidelity. *Annu Rev Biochem* 2000; 69: 497-529 [PMID: 10966467 DOI: 10.1146/annurev.biochem.69.1.497]

■同行评价

本文综述了脐血MSCs移植治疗肝硬化的进展, 具有较好的参考价值; 文章内容较为全面, 基本涵盖脐血MSCs机制、临床等方面的研究进展。

编辑 李军亮 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%。

胆管癌EGFR信号通路与靶向治疗的关系

杨梓琪, 樊利芳

■背景资料

胆管癌是原发于肝内或肝外胆管上皮的恶性肿瘤, 近年来其发病率在全球范围内升高, 表皮生长因子受体(EGFR)的信号传导关乎细胞的凋亡、增殖、分化、迁移和周期循环, 与肿瘤的形成和恶化息息相关, 综合阐述胆管癌EGFR信号通路、*k-ras*基因及其有效的靶向治疗方法, 对于发展胆管癌治疗的新方向具有十分重要的意义。

杨梓琪, 樊利芳, 武汉大学基础医学院病理教研室 湖北省武汉市 430071

杨梓琪, 主要从事消化系统疾病的病理研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81000987

作者贡献分布: 本文综述由杨梓琪完成; 樊利芳审核。

通讯作者: 樊利芳, 副教授, 430071, 湖北省武汉市东湖路185号, 武汉大学基础医学院病理教研室. lifangfan@whu.edu.cn
电话: 027-68759735

收稿日期: 2012-09-27 修回日期: 2012-11-11

接受日期: 2012-11-23 在线出版日期: 2013-02-28

EGFR signaling pathway and targeted therapy for cholangiocarcinoma

Zi-Qi Yang, Li-Fang Fan

Zi-Qi Yang, Li-Fang Fan, Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81000987

Correspondence to: Li-Fang Fan, Associate Professor, Department of Pathology, School of Basic Medical Science, Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China. lifangfan@whu.edu.cn

Received: 2012-09-27 Revised: 2012-11-11

Accepted: 2012-11-23 Published online: 2013-02-28

Abstract

Cholangiocarcinoma has a poor prognosis and is difficult to detect in early stage. Overexpression of epidermal growth factor receptor (EGFR) plays an important role in the evolution of malignant tumors, and EGFR-targeted therapy has become a hotspot in cancer treatment. Various monoclonal antibodies and small molecule tyrosine kinase inhibitors targeting EGFR have been developed. Currently, there have been only very few reported clinical trials that assessed the efficacy of EGFR-targeted drugs in the management of cholangiocarcinoma. A comprehensive description of the EGFR signaling pathway and EGFR-targeted treatment for cholangiocarcinoma has great significance for the treatment of this malignancy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cholangiocarcinoma; EGFR signaling

pathway; *k-ras*; Cetuximab; Tyrosine kinase inhibitors; Targeted therapy

Yang ZQ, Fan LF. EGFR signaling pathway and targeted therapy for cholangiocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 514-520 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/514.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.514>

摘要

胆管癌早期诊断困难, 预后差。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的过表达在恶性肿瘤的演进中起重要作用。以EGFR为靶点进行靶向治疗已成为肿瘤治疗的热点, 研究人员已开发出针对EGFR家族的一些抗体及抑制剂, 并进行细胞学实验及临床试验, 取得了初步效果。目前用于EGFR靶向性治疗肿瘤的药物主要分为两类: EGFR单克隆抗体和小分子酪氨酸激酶拮抗剂。这些EGFR靶向性治疗药物在胆管癌方面的研究, 主要限于体外实验阶段, 临床仅有极少量试验性报道。因此, 综合阐述胆管癌EGFR信号通路、对其有效的靶向治疗方法及*k-ras*等基因的状况对于EGFR靶向治疗和胆管癌预后的影响, 对于发展胆管癌治疗的新方向、深入胆管癌临床治疗的研究具有十分重要的意义。

© 2013版权归Baishideng所有。

关键词: 胆管癌; 表皮生长因子受体信号通路; *k-ras*; 西妥昔; 酪氨酸酶抑制剂; 靶向治疗

杨梓琪, 樊利芳. 胆管癌EGFR信号通路与靶向治疗的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 514-520 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/514.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.514>

0 引言

胆管癌是原发于肝内或肝外胆管上皮的恶性肿瘤, 过去曾被认为是少见病, 但近年来随着影像诊断技术的发展, 胆管癌的检出率不断增高, 其发病率在全球范围内升高^[1-3]。在肝脏原发性肿瘤中, 肝内胆管癌的发病率仅次于肝癌^[4,5]。因胆

■同行评议者
陈进宏, 副主任医师, 复旦大学附属华山医院普外科

管癌常规化疗效果不佳, 其治疗以手术为主, 由于胆管癌所处的解剖位置特殊及其向周围组织、血管、神经浸润的特点, 外科根治性切除率低, 切除率仅为33.7%, 治疗后5年生存率仅3.7%-4.0%, 且其发病机制仍不清楚^[6]。目前认为, 胆管癌的发生发展是多因素、多步骤的病理过程^[7]。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的信号传导关乎细胞的凋亡、增殖、分化、迁移和细胞周期循环, 与肿瘤的形成和恶化息息相关, 早在20多年前, Mendelsohn等^[8]就提出EGFR可以作为肿瘤治疗的靶点。近年来受到研究者的关注, 以EGFR为靶点进行靶向治疗已成为肿瘤治疗的热点^[9]。通过对EGFR结构的分析, 选择其特定部位作为靶点, 通过干扰EGFR信号传导, 如小分子酪氨酸激酶抑制剂、单克隆抗体及基因治疗等来抗肿瘤的疗法不断出现, 成为国内外研究的焦点。研究人员已开发出针对EGFR家族的一些抗体及抑制剂, 并进行细胞学实验^[10]及临床试验^[11,12], 虽取得了初步效果, 但对于其在胆管癌治疗方面的应用却很有限。因此, 综合阐述胆管癌EGFR信号通路、*k-ras*基因及其有效的靶向治疗方法, 对于发展胆管癌治疗的新方向、胆管癌临床治疗的深入研究具有十分重要的意义。

1 EGFR信号通路

EGFR是位于细胞膜的蛋白激酶受体, 属Erb-B酪氨酸蛋白激酶家族, 由胞外区、跨膜区及胞内区3部分组成。EGFR膜外区域由配体结合位点和两个富含半胱氨酸区域所构成, 能结合具有激动功能的多种配体, 主要有表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)和转化生长因子- α (transforming growth factor- α , TGF- α)。EGFR与配体结合后发生二聚化, 导致其胞质区中的酪氨酸残基磷酸化, 从而激活了受体胞内酪氨酸蛋白激酶的活性, 使C末端特异的酪氨酸残基磷酸化, 为细胞内信号转导因子提供结合位点, 由此启动Ras/MAPK、PI3K/Akt、PLC- γ 、JAK/STAT等多条信号转导途径, 调节细胞增殖和分化^[13,14]。其过度激活可促进肿瘤细胞增殖, 抑制肿瘤细胞凋亡, 促进肿瘤血管生成及提高侵袭能力^[15]。EGFR被激活后发生酪氨酸残基磷酸化, 激活下游的Ras信号, 诱导MEK/ERK1/2的磷酸化。当EGFR发生基因数目扩增或点突变时, 引起自身结构性激活, 还可通过PI3K介导的信号激活下游的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶

Akt, 活化的Akt通过磷酸化作用激活或抑制其下游靶蛋白Bad、Caspase 9、核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、GSK-3、FKHR、p21Cip1及p27Kip1等, 进而调节细胞的增殖、分化、凋亡及迁移。PI3K/Akt信号通路某些成员突变所导致的功能获得或功能缺失可引起细胞转化^[16]。

人第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)是一种具有双特异性磷酸酶活性的抑癌基因, 对PI3K/Akt通路活性起负调控作用, PTEN功能减弱或缺失时, 可引起EGFR下游通路中的Akt过度活化, 降低细胞对凋亡的敏感性^[17]。

2 EGFR信号通路与胆管癌

EGFR在许多上皮组织、间质以及神经源性组织稳定表达。EGFR的过表达在恶性肿瘤的演进中起重要作用。EGFR在多株胆管癌细胞系及胆管癌组织手术切除组织表达, 胆管癌EGFR表达率约46%-60%^[18], 我们前期用免疫组织化学法检测56例胆管癌EGFR表达率为76.4%^[19]。在一项大样本(236例)回顾性研究报道肝内胆管癌EGFR表达率为27.5%, 肝外胆管癌则仅为8.5%^[20]。胆管癌EGI-1、HuH8、OZ、FK-1、KMBC及QBC939细胞株和人胆管癌上皮细胞株均表达EGFR^[12,21,22]。胆管癌EGFR突变率较低约13.6%-17.0%。我们前期用高融合曲线法检测56例胆管癌, 无一例发生EGFR突变^[19]。

对于胆管癌EGFR扩增的研究, Paule等^[23]在对9例无法手术切除的胆管癌患者进行姑息治疗时检测其EGFR, 发现所有病例均为EGFR高表达但无基因扩增。在另一项对221例胆管癌患者的回顾性研究中发现, EGFR过表达率为8.1%, 同时进一步对过表达的肿瘤细胞通过荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)检测其EGFR扩增, 发现扩增率高达77%。但在对此大样本中的28例肝内胆管癌患者单独进行基因检测时, 其ErbB-2和EGFR表达率为21.4%, 未发现伴随基因扩增, 提示在对胆管癌患者选择化学治疗时应以原癌基因ErbB-2编码的185 kDa的细胞膜受体(human epidermal growth factor receptor-2, ErbB-2)和EGFR的过表达为检测指标^[24]。

关于EGFR信号通路在胆管癌发病机制中的作用, 近年有少量报道: 胆管癌细胞株KMBC表达EGFR的配体EGF和TGF- α 。TGF- α 依赖方

■研究前沿

EGFR靶向药物结合放化疗在临床上用于治疗EGFR阳性肿瘤已经取得了一定的疗效。但这些EGFR靶向性治疗药物在胆管癌方面的研究, 主要限于体外实验阶段, 目前仅发现4例临床试验性报道, 其临床应用还有待进一步的研究。

■相关报道

Sprinzi等报道对1例不能进行手术切除的胆管癌患者联合应用西妥昔单抗和细胞毒性化疗药,呈现出良好的治疗效果;Lubner等报道一项联合应用埃罗替尼和阿瓦斯汀治疗49例晚期胆管癌患者的II期临床研究,4项报道均取得了一定的效果。

式激活EGFR在体内外促进胆管上皮增生,而TGF- α 激活的EGFR具有潜在的促细胞有丝分裂作用,胆酸主要通过TGF- α 依赖方式激活EGFR,诱导EGFR磷酸化^[21]。因而胆酸刺激胆管上皮并激活EGFR信号通路,可能在胆管癌的发生机制中起着重要作用^[25]。

3 *k-ras*基因与胆管癌

与胆管癌有关的*ras*基因主要是*k-ras*,其次为*n-ras*。文献报道胆管癌*k-ras*突变率约4.7%-54.0%,且地区差异较大^[26,27]。*k-ras*突变主要位于第12和第13位密码子。Boberg等^[28]发现原发性硬化性胆管炎发展而来的胆管癌患者中*k-ras*突变率为33%,而原发性硬化性胆管炎患者的胆管组织未发现*k-ras*突变。Isa等^[29]应用限制性片段长度多态性(polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)法对23例肝内胆管癌的*k-ras*基因进行分析,发现*k-ras*基因突变率为39.1%(9/23),伴有淋巴结转移的患者发生*k-ras*突变率与无淋巴结转移的患者相比有显著性差异,而发生*k-ras*基因突变的患者其生存期显著低于无突变的患者。这些研究结果提示,*k-ras*基因点突变与胆管癌的生物行为密切相关,*k-ras*基因点突变可能是判断胆管癌预后的一个独立性指标。

近年来多个大样本临床研究显示:西妥昔单抗(cetuximab)联合无论是以奥沙利铂(oxaliplatin)还是以伊立替康(irinotecan)为基础的化疗,都只能使*k-ras*野生型患者受益,而不能使*k-ras*突变型的患者受益,提示*k-ras*突变可作为预测cetuximab疗效的分子标志。*k-ras*突变作为抗EGFR单抗疗效阴性预测因子已得到广泛共识,欧洲药品评价局(European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, EMEA)、美国食品与药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)及美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)均建议接受抗EGFR单抗治疗前需要检测*k-ras*基因状态,仅限于*k-ras*野生型患者接受抗EGFR单抗治疗。

4 EGFR靶向治疗

近年来,随着肿瘤分子生物学的深入研究,尤其是分子信号通路对肿瘤细胞增殖和生长作用机制的阐明,开发了特异性靶点的药物治疗。目前用于EGFR靶向性治疗肿瘤的药物主要分为两类:EGFR单克隆抗体和小分子酪氨酸激酶拮抗剂。

4.1 EGFR单克隆抗体 抗EGFR单抗能结合其胞外结构域,通过封闭配体结构域来竞争受体结合,从而阻滞配体诱导的EGFR酪氨酸激酶活化。抗EGFR单克隆抗体能特异性识别EGFR,因此他对该受体具有高度选择性。目前已有3种抗EGFR单克隆抗体西妥昔(cetuximab)、帕尼单抗(panitumumab)和泰欣生(nimotuzumab)上市,与其他化疗药物相比,这些抗体具有靶向性强、不良反应相对较小的特点,在临床上取得了较好的疗效。Cetuximab是2004-02美国食品药品监督管理局批准上市的抗EGFR人/鼠嵌合单克隆抗体,他可竞争性地与EGFR结合,以阻止EGF激活受体,抑制下游信号传导从而干扰肿瘤生长、侵袭和转移以及细胞修复和血管生成^[30]。cetuximab可增加在常规化疗药物治疗失败结直肠癌患者无进展生存期、总生存期和改善生活质量^[31]。但如前文所述,*k-ras*突变作为抗EGFR单抗疗效阴性预测因子已得到广泛共识,*k-ras*突变可作为预测cetuximab疗效的分子标志。

另外近期研究显示,鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌性同源体B1基因(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, BRAF)和PTEN的基因状态也可影响EGFR分子靶向药物疗效,PTEN对肿瘤细胞的调控与脂质酶的磷酸化有密切关系。转染前后肿瘤细胞的凋亡率有显著意义的改变也提示PTEN可使细胞停滞于G₁期^[32]。此结果与国内外的报道一致^[33,34]。BRAF突变或PTEN基因缺失的患者对cetuximab治疗均无反应。另有研究报道,EGFR基因扩增可影响EGFR单抗的疗效^[35]。

4.2 小分子酪氨酸激酶抑制剂 吉非替尼(gefitinib)和埃罗替尼(erlotinib)作为小分子酪氨酸激酶抑制剂,可抑制EGFR自磷酸化和下游的信号传导,抑制肿瘤细胞的生长及血管生成^[36,37]。

小分子酪氨酸激酶抑制剂常用于非小细胞肺癌的临床治疗。2004年,美国FDA批准盐酸erlotinib用于一线化疗失败的局部晚期或转移性非小细胞肺癌的治疗^[38]。其主要的作用机制为,可逆性地与ATP竞争,选择性地阻断人EGFR酪氨酸激酶并降低EGFR的自身磷酸化作用,从而导致细胞生长停止并走向凋亡;对EGFR过度表达的肿瘤细胞的EGFR自身磷酸化有明显的抑制作用;能选择性地抑制EGF介导的肿瘤细胞增殖^[39-41]。临床试验发现,gefitinib疗效的个体差异较大,其对非吸烟肺腺癌女性患者的效果较好,与欧洲同类患者相比,gefitinib对日本患

者的疗效更佳. 美国和日本科学家联合对119例原发性非小细胞肺癌患者的EGFR基因测序发现, EGFR的突变与患者的临床特征有密切关系, 在疗效较好的日本女性肺腺癌患者中的发生率更高, 最高突变率达57%^[42]. 有效的大样本临床研究显示: EGFR突变的非小细胞肺癌患者对gefitinib、erlotinib治疗敏感, 有效率在70%以上; 而无EGFR突变的患者对gefitinib、erlotinib治疗有效率在10%以下^[43]. 此外, 很多EGFR突变的病例服用gefitinib后的生存时间明显延长^[44,45]. 因此, 晚期非小细胞肺癌选择小分子酪氨酸激酶抑制剂之前进行EGFR基因突变检测应是必要的.

而对于小分子酪氨酸激酶抑制剂对于肝癌和胆管癌的抑制作用, 多停留在体外细胞实验阶段, 关于其临床应用进展, 目前仅有两例报道, 1例为联合gefitinib、卡培他滨(capecitabine)及塞来昔布(celecoxib)治疗39例晚期实体瘤患者的I期临床试验^[46], 另一为联合应用erlotinib和阿瓦斯汀(bevacizumab)治疗49例晚期胆管癌患者的II期临床研究^[47], 均取得了一定的效果.

5 胆管癌EGFR靶向治疗现状

5.1 胆管癌EGFR靶向治疗体外研究 对于EGFR单克隆抗体在胆管癌靶向治疗的体外研究, Werneburg等^[21]发现, 胆管癌细胞株KMBC表达EGFR的配体EGF和TGF- α , 胆酸主要通过TGF- α 依赖方式激活EGFR, 诱导EGFR磷酸化, 这种作用可被EGFR抗体阻断.

2011年, Xu等^[10]检测4株胆管癌细胞株EGFR表达和*k-ras*等位基因, 发现4株细胞均表达EGFR, 仅EGI-1细胞株有*k-ras*基因突变. 用EGFR单抗西妥昔单抗处理EGI-1细胞株和1株野生型*k-ras*胆管癌细胞, 发现西妥昔不能影响细胞生长, 但可促进EGI-1细胞株的凋亡, 提示*k-ras*基因表型可影响西妥昔疗效.

对于小分子酪氨酸激酶抑制剂在胆管癌治疗中的体外研究, Yoon等^[48]发现, 与肝癌细胞株比较, EGF可持续激活胆管癌细胞株的EGFR, 导致MAPK激活, 促进细胞增生, 而这种作用可被激酶抑制剂阻断. Gefitinib可诱导胆管癌TFK-1细胞凋亡, 并可通过诱导G₁期阻滞, 剂量依赖性抑制细胞增殖. 细胞放射线暴露后给予gefitinib处理, 则可降低细胞存活率^[49]. Yoshikawa等^[50]对4株胆管癌细胞株使用凡德他尼(vandetanib, 一种激酶抑制剂), 仅TKKK株敏感, 而TKKK株为唯一同时具有*k-ras*野生型和EGFR扩增的细胞

株, 提示K-ras和EGFR为可能的小分子激酶抑制剂治疗的疗效预测因子.

EGFR和ErbB-2的双重抑制剂NVP-AEE788可显著抑制人胆管癌细胞的生长, 还可显著缩小嵌合体鼠模型肿瘤体积, 其机制主要为celecoxib(COX-2抑制剂)可抑制QBC939细胞增殖, 促进细胞凋亡, 诱导细胞周期阻滞于G₀/G₁期. 联合用药则可显著降低p-MAPK、p-Akt及PGE2表达. 提示celecoxib和erlotinib均可抑制胆管癌细胞的生长, 而联合用药具有协同作用, 能同时阻断EGFR和COX-2信号通路, 在胆管癌治疗中具有一定应用前景^[21].

5.2 EGFR靶向药物治疗胆管癌临床实验 对于EGFR靶向治疗在胆管癌治疗中的应用, 目前只有少量文献报道: Sprinzl等^[51]报道对一例不能进行切除的胆管癌患者联合应用cetuximab和细胞毒性化疗药, 呈现出良好的治疗效果. 69例患者接受每两周1次的吉西他滨(gemcitabine, 1 000 mg/m²)和1次/wk的cetuximab(250 mg/m²)姑息化疗. 整个化疗为9.7 mo, 结果提示对于肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)患者, 细胞毒性化疗结合cetuximab可显著延长生存期, 并且提高患者的生活质量.

Paule等^[23]对9例EGFR表达但无扩增、无法手术切除且对一线化疗药吉西他滨-奥沙利铂无反应的肝内胆管癌患者联合使用cetuximab和gemcitabine进行姑息治疗: 对患者使用首次用量400 mg/m², 以后用量250 mg/m²(每周第1天)的cetuximab, 并给予1 000 mg/m²[以10 mg/(m²·min)滴速输注, 每3 wk的第1天]的gemcitabine和85 mg/m²(4 h输注, 每3 wk的第1天)的奥沙利铂. 治疗3 mo时, 3例患者有部分反应, 3例病情稳定, 3例病情恶化. 6 mo时, 电子计算机X射线断层扫描技术(computed tomography, CT)显示1例患者有完全反应, 1例部分反应, 1例病情稳定, 6例病情恶化, 其中5例患者死亡, 9例患者中剩余的4例患者的平均随访时间为11 mo. 治疗期间, 无治疗导致的死亡、贫血和神经毒现象. 自治疗日起的中位生存期为10 mo. 由此可见, 即使对于无EGFR扩增的胆管癌患者, cetuximab与gemcitabine联合使用对于早期胆管癌的治疗仍具有良好的耐受性且能够改善生存质量. 因此, cetuximab有望成为对一线化疗药无反应的肝内胆管癌患者的姑息治疗药物.

在联合gefitinib、capecitabine及celecoxib治疗39例晚期实体瘤患者(含2例胆管癌, EGFR突

■创新盘点

对于EGFR单抗和小分子酪氨酸激酶抑制剂对于肝癌和胆管癌的抑制作用的研究, 多停留在细胞实验阶段, 关于其临床应用进展, 目前仅有4例报道, 本文将重要的胆管癌EGFR靶向治疗体外实验和4例临床试验报导进行总结概括, 认为联合应用EGFR单克隆抗体和小分子酪氨酸激酶抑制剂对于胆管癌患者的姑息治疗具有一定的意义.

■应用要点

抗EGFR单抗和小分子酪氨酸激酶抑制剂在许多实体肿瘤治疗中显著,但对于不同类型肿瘤需要设计不同研究终点和化疗方案,EGFR靶向治疗虽已成为肿瘤治疗的热点,但对于特定的肿瘤临床治疗应该采取何种最佳个性化治疗方案仍有待深入研究,本文就胆管癌的EGFR靶向治疗的体内、外研究现状进行总结,旨在帮助研究者理清思路,探讨胆管癌EGFR靶向治疗新方案。

变或基因扩增检测结果未知)的I期临床试验中,1例胆管癌患者表现出可证实的部分反应^[46]。另一项联合应用erlotinib和bevacizumab, (VEGF抑制剂)治疗49例晚期胆管癌患者的II期临床研究显示,约12%患者表现出确切反应,且携带野生型*k-ras*或EGFR内显子多态性低重复与预后改善相关,提示联合应用erlotinib和bevacizumab可能是晚期胆管癌治疗的新方案^[47]。

6 结论

尽管EGFR靶向药物结合放化疗在临床上用于治疗EGFR阳性肿瘤已经取得了一定的疗效,为肿瘤患者带来了新的曙光。但这些EGFR靶向性治疗药物在胆管癌的研究,主要限于体外实验阶段,临床仅有极少量试验性报道,EGFR靶向性治疗药物在胆管癌的临床应用还有待进一步研究,比如EGFR在胆管癌发病机制中的作用、与酪氨酸激酶抑制剂疗效相关的EGFR基因扩增与突变情况、与EGFR单克隆抗体疗效密切相关的*k-ras*和BRAF基因突变及PTEN失活情况等。因此,深入系统地研究胆管癌的EGFR信号转导通路在胆管癌的发生发展中的作用,对胆管癌的靶向治疗有着极其重要的临床意义。

7 参考文献

- Khan SA, Thomas HC, Davidson BR, Taylor-Robinson SD. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005; 366: 1303-1314 [PMID: 16214602 DOI: 10.1016/S0140-6736(05)67530-7]
- Shaib Y, El-Serag HB. The epidemiology of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 115-125 [PMID: 15192785 DOI: 10.1055/s-2004-828889]
- Patel T. Increasing incidence and mortality of primary intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States. *Hepatology* 2001; 33: 1353-1357 [PMID: 11391522 DOI: 10.1053/jhep.2001.25087]
- Khan SA, Taylor-Robinson SD, Toledano MB, Beck A, Elliott P, Thomas HC. Changing international trends in mortality rates for liver, biliary and pancreatic tumours. *J Hepatol* 2002; 37: 806-813 [PMID: 12445422 DOI: 10.1016/S0168-8278(02)00297-0]
- Shaib YH, El-Serag HB, Davila JA, Morgan R, McGlynn KA. Risk factors of intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States: a case-control study. *Gastroenterology* 2005; 128: 620-626 [PMID: 15765398 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.12.048]
- Taylor-Robinson SD, Toledano MB, Arora S, Keegan TJ, Hargreaves S, Beck A, Khan SA, Elliott P, Thomas HC. Increase in mortality rates from intrahepatic cholangiocarcinoma in England and Wales 1968-1998. *Gut* 2001; 48: 816-820 [PMID: 11358902 DOI: 10.1136/gut.48.6.816]
- Berthiaume EP, Wands J. The molecular pathogenesis of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 127-137 [PMID: 15192786 DOI: 10.1055/s-2004-828890]
- Mendelsohn J, Baselga J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2787-2799 [PMID: 12860957 DOI: 10.1200/JCO.2003.01.504]
- Lemmon MA. The EGF receptor family as therapeutic targets in breast cancer. *Breast Dis* 2003; 18: 33-43 [PMID: 15687687]
- Xu L, Hausmann M, Dietmaier W, Kellermeier S, Pesch T, Stieber-Gunckel M, Lippert E, Klebl F, Rogler G. Expression of growth factor receptors and targeting of EGFR in cholangiocarcinoma cell lines. *BMC Cancer* 2010; 10: 302 [PMID: 20565817 DOI: 10.1186/1471-2407-10-302]
- Huang TW, Wang CH, Hsieh CB. Effects of the anti-epidermal growth factor receptor antibody cetuximab on cholangiocarcinoma of the liver. *Onkologie* 2007; 30: 129-131 [PMID: 17341899 DOI: 10.1159/000098853]
- Wiedmann MW, Mössner J. Molecular targeted therapy of biliary tract cancer--results of the first clinical studies. *Curr Drug Targets* 2010; 11: 834-850 [PMID: 20388063 DOI: 10.2174/138945010791320818]
- Hendriks BS, Orr G, Wells A, Wiley HS, Lauffenburger DA. Parsing ERK activation reveals quantitatively equivalent contributions from epidermal growth factor receptor and HER2 in human mammary epithelial cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 6157-6169 [PMID: 15572377 DOI: 10.1074/jbc.M410491200]
- de Jong JS, van Diest PJ, van der Valk P, Baak JP. Expression of growth factors, growth-inhibiting factors, and their receptors in invasive breast cancer. II: Correlations with proliferation and angiogenesis. *J Pathol* 1998; 184: 53-57 [PMID: 9582527 DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(199801)184:1<53::AID-PATH6>3.0.CO;2-7]
- Krause DS, Van Etten RA. Tyrosine kinases as targets for cancer therapy. *N Engl J Med* 2005; 353: 172-187 [PMID: 16014887 DOI: 10.1056/NEJMra044389]
- Adjei AA. Blocking oncogenic Ras signaling for cancer therapy. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 1062-1074 [PMID: 11459867 DOI: 10.1093/jnci/93.14.1062]
- Downes CP, Bennett D, McConnachie G, Leslie NR, Pass I, MacPhee C, Patel L, Gray A. Antagonism of PI 3-kinase-dependent signalling pathways by the tumour suppressor protein, PTEN. *Biochem Soc Trans* 2001; 29: 846-851 [PMID: 11709086 DOI: 10.1042/BST0290846]
- Xu LB, Liu C, Gao GQ, Yu XH, Zhang R, Wang J. Nerve growth factor-beta expression is associated with lymph node metastasis and nerve infiltration in human hilar cholangiocarcinoma. *World J Surg* 2010; 34: 1039-1045 [PMID: 20119692 DOI: 10.1007/s00268-010-0417-4]
- Fan LF, Datta V, Riley-Portuges A, Lopategui J, Lin F, Xu H, Wang HL. EGFR expression and K-ras mutation in cholangiocarcinoma: implication in EGFR-targeted therapies. *Mod Pathol* 2010; 23: 354a
- Yoshikawa D, Ojima H, Iwasaki M, Hiraoka N, Kosuge T, Kasai S, Hirohashi S, Shibata T. Clinicopathological and prognostic significance of EGFR, VEGF, and HER2 expression in cholangiocarcinoma. *Br J Cancer* 2008; 98: 418-425 [PMID: 18087285 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604129]
- Werneburg NW, Yoon JH, Higuchi H, Gores GJ. Bile acids activate EGF receptor via a TGF-alpha-

- dependent mechanism in human cholangiocyte cell lines. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: G31-G36 [PMID: 12606307]
- 22 李勤裕, 施敏敏, 杨卫平, 彭承宏. 埃罗替尼和塞来昔布协同抑制胆管癌细胞生长. *外科理论与实践* 2010; 15: 398-405
 - 23 Paule B, Herelle MO, Rage E, Ducreux M, Adam R, Guettier C, Bralet MP. Cetuximab plus gemcitabine-oxaliplatin (GEMOX) in patients with refractory advanced intrahepatic cholangiocarcinomas. *Oncology* 2007; 72: 105-110 [PMID: 18025804 DOI: 10.1159/111117]
 - 24 Nakazawa K, Dobashi Y, Suzuki S, Fujii H, Takeda Y, Ooi A. Amplification and overexpression of c-erbB-2, epidermal growth factor receptor, and c-met in biliary tract cancers. *J Pathol* 2005; 206: 356-365 [PMID: 15892172 DOI: 10.1002/path.1779]
 - 25 Alpini G, Glaser S, Robertson W, Phinzy JL, Rodgers RE, Caligiuri A, LeSage G. Bile acids stimulate proliferative and secretory events in large but not small cholangiocytes. *Am J Physiol* 1997; 273: G518-G529 [PMID: 9277433]
 - 26 Tannapfel A, Benicke M, Katalinic A, Uhlmann D, Köckerling F, Hauss J, Wittekind C. Frequency of p16(INK4A) alterations and K-ras mutations in intrahepatic cholangiocarcinoma of the liver. *Gut* 2000; 47: 721-727 [PMID: 11034592]
 - 27 Kakar S, Burgart LJ. Tumours of the biliary system. *Current Diagnostic Pathology* 2005; 11: 34-43 [DOI: 10.1016/j.cdip.2004.10.007]
 - 28 Boberg KM, Schrupf E, Bergquist A, Broomé U, Pares A, Remotti H, Schjölberg A, Spurkland A, Clausen OP. Cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis: K-ras mutations and Tp53 dysfunction are implicated in the neoplastic development. *J Hepatol* 2000; 32: 374-380 [PMID: 10735605 DOI: 10.1016/S0168-8278(00)80386-4]
 - 29 Isa T, Tomita S, Nakachi A, Miyazato H, Shimoji H, Kusano T, Muto Y, Furukawa M. Analysis of microsatellite instability, K-ras gene mutation and p53 protein overexpression in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 604-608 [PMID: 12063950]
 - 30 Burtess B. The role of cetuximab in the treatment of squamous cell cancer of the head and neck. *Expert Opin Biol Ther* 2005; 5: 1085-1093 [PMID: 16050785 DOI: 10.1517/14712598.5.8.1085]
 - 31 Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Karapetis CS, Zalberg JR, Tu D, Au HJ, Berry SR, Krahn M, Price T, Simes RJ, Tebbutt NC, van Hazel G, Wierzbicki R, Langer C, Moore MJ. Cetuximab for the treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2007; 357: 2040-2048 [PMID: 18003960 DOI: 10.1056/NEJMoa071834]
 - 32 刘民锋, 徐立宁, 左右, 罗剑, 郭伟, 董涇青, 邹声泉. 体外转染PTEN抑制胆管癌QBC939细胞生长及下调mTOR表达的研究. *中国普通外科杂志* 2006; 15: 181-184
 - 33 Ramaswamy S, Nakamura N, Vazquez F, Batt DB, Perera S, Roberts TM, Sellers WR. Regulation of G1 progression by the PTEN tumor suppressor protein is linked to inhibition of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 2110-2115 [PMID: 10051603 DOI: 10.1073/pnas.96.5.2110]
 - 34 汤聪, 孙华文, 李子禹, 邹声泉. 导入PTEN基因抑制胰腺癌细胞体外生长的研究. *中华实验外科杂志* 2003; 20: 242-243
 - 35 Cappuzzo F, Varella-Garcia M, Finocchiaro G, Skokan M, Gajopathy S, Carnaghi C, Rimassa L, Rossi E, Ligorio C, Di Tommaso L, Holmes AJ, Toschi L, Tallini G, Destro A, Roncalli M, Santoro A, Jänne PA. Primary resistance to cetuximab therapy in EGFR FISH-positive colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2008; 99: 83-89 [PMID: 18577988 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604439]
 - 36 Solomon B, Hagekyriakou J, Trivett MK, Stacker SA, McArthur GA, Cullinan C. EGFR blockade with ZD1839 ("Iressa") potentiates the antitumor effects of single and multiple fractions of ionizing radiation in human A431 squamous cell carcinoma. Epidermal growth factor receptor. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 55: 713-723 [PMID: 12573759 DOI: 10.1016/S0360-3016(02)04357-2]
 - 37 Bunn PA, Franklin W. Epidermal growth factor receptor expression, signal pathway, and inhibitors in non-small cell lung cancer. *Semin Oncol* 2002; 29: 38-44 [PMID: 12422312 DOI: 10.1053/sonc.2002.35646]
 - 38 Laskin JJ, Sandler AB. Epidermal growth factor receptor: a promising target in solid tumours. *Cancer Treat Rev* 2004; 30: 1-17 [PMID: 14766123 DOI: 10.1016/j.ctrv.2003.10.002]
 - 39 Hirata A, Ogawa S, Kometani T, Kuwano T, Naito S, Kuwano M, Ono M. ZD1839 (Iressa) induces antiangiogenic effects through inhibition of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer Res* 2002; 62: 2554-2560 [PMID: 11980649]
 - 40 Dazzi C, Cariello A, Maioli P, Solaini L, Scarpi E, Rosti G, Lanzanova G, Marangolo M. Prognostic and predictive value of intratumoral microvessels density in operable non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 1999; 24: 81-88 [PMID: 10444058 DOI: 10.1016/S0169-5002(99)00036-7]
 - 41 何伍, 凌霄. 小分子EGFR酪氨酸激酶抑制剂研究进展. *中国药理学杂志* 2007; 42: 1685-1688
 - 42 Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, Herman P, Kaye FJ, Lindeman N, Boggon TJ, Naoki K, Sasaki H, Fujii Y, Eck MJ, Sellers WR, Johnson BE, Meyerson M. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004; 304: 1497-1500 [PMID: 15118125 DOI: 10.1126/science.1099314]
 - 43 Mitsudomi T, Kosaka T, Yatabe Y. Biological and clinical implications of EGFR mutations in lung cancer. *Int J Clin Oncol* 2006; 11: 190-198 [PMID: 16850125 DOI: 10.1007/s10147-006-0583-4]
 - 44 Mitsudomi T, Kosaka T, Endoh H, Horio Y, Hida T, Mori S, Hataoka S, Shinoda M, Takahashi T, Yatabe Y. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene predict prolonged survival after gefitinib treatment in patients with non-small-cell lung cancer with postoperative recurrence. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2513-2520 [PMID: 15738541 DOI: 10.1200/JCO.2005.00.992]
 - 45 Takano T, Ohe Y, Sakamoto H, Tsuta K, Matsuno Y, Tateishi U, Yamamoto S, Nokihara H, Yamamoto N, Sekine I, Kunitoh H, Shibata T, Sakiyama T, Yoshida T, Tamura T. Epidermal growth factor receptor gene mutations and increased copy numbers predict gefitinib sensitivity in patients with recurrent non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 6829-6837 [PMID: 15998907 DOI: 10.1200/JCO.2005.01]
 - 46 Lam ET, O'Bryant CL, Basche M, Gustafson DL,

■名词解释

表皮生长因子受体(EGFR): 一种糖蛋白, 属于酪氨酸激酶型受体, 细胞膜贯穿, 靠与配体结合激活, 表皮生长因子和转化生长因子- α 激活后, EGFR由单体转化为二聚体, 并可以激活他位于细胞内的激酶通路。其过表达在恶性肿瘤的演进中起重要作用。

■同行评价

本文阐述EGFR信号通路、*k-ras*基因及EGFR两种靶向治疗药物(EGFR单克隆抗体和小分子酪氨酸激酶拮抗剂)在胆管癌治疗中的作用,较为系统的介绍胆管癌EGFR信号通路与靶向治疗的关系,对胆管癌的靶向治疗有着一定的临床指导意义。

- Serkova N, Baron A, Holden SN, Dancey J, Eckhardt SG, Gore L. A phase I study of gefitinib, capecitabine, and celecoxib in patients with advanced solid tumors. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 3685-3694 [PMID: 19074845 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0436]
- 47 Lubner SJ, Mahoney MR, Kolesar JL, Loconte NK, Kim GP, Pitot HC, Philip PA, Picus J, Yong WP, Horvath L, Van Hazel G, Erlichman CE, Holen KD. Report of a multicenter phase II trial testing a combination of biweekly bevacizumab and daily erlotinib in patients with unresectable biliary cancer: a phase II Consortium study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3491-3497 [PMID: 20530271 DOI: 10.1200/JCO.2010.28.4075]
- 48 Yoon JH, Gwak GY, Lee HS, Bronk SF, Werneburg NW, Gores GJ. Enhanced epidermal growth factor receptor activation in human cholangiocarcinoma cells. *J Hepatol* 2004; 41: 808-814 [PMID: 15519654 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.07.016]
- 49 Yabuuchi S, Katayose Y, Oda A, Mizuma M, Shirasou S, Sasaki T, Yamamoto K, Oikawa M, Rikiyama T, Onogawa T, Yoshida H, Ohtuska H, Motoi F, Egawa S, Unno M. ZD1839 (IRESSA) stabilizes p27Kip1 and enhances radiosensitivity in cholangiocarcinoma cell lines. *Anticancer Res* 2009; 29: 1169-1180 [PMID: 19414361]
- 50 Yoshikawa D, Ojima H, Kokubu A, Ochiya T, Kasai S, Hirohashi S, Shibata T. Vandetanib (ZD6474), an inhibitor of VEGFR and EGFR signalling, as a novel molecular-targeted therapy against cholangiocarcinoma. *Br J Cancer* 2009; 100: 1257-1266 [PMID: 19319137 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604988]
- 51 Sprinzl MF, Schimanski CC, Moehler M, Schadmand-Fischer S, Galle PR, Kanzler S. Gemcitabine in combination with EGF-Receptor antibody (Cetuximab) as a treatment of cholangiocarcinoma: a case report. *BMC Cancer* 2006; 6: 190 [PMID: 16846514 DOI: 10.1186/1471-2407-6-190]

编辑 翟欢欢 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。

TNF α 通过TNFR1/PKC α 和TNFR2信号通路诱导人肾小球系膜细胞IP₃R1的表达

王育蓉, 章欢, 孙辉, 李翠红, 刘沛

王育蓉, 章欢, 孙辉, 李翠红, 江西省南昌大学附属医院九江市第一人民医院消化科 江西省九江市 332000
刘沛, 中国医科大学附属一院肝病中心 辽宁省沈阳市 110001

王育蓉, 副主任医师, 主要从事肝脏疾病临床与实验方面的研究。
江西省卫生厅科研基金资助项目, No. 20123192

作者贡献分布: 本课题由王育蓉、孙辉及刘沛合作设计; 整个实验及操作由王育蓉、章欢及李翠红完成; 数据整理由章欢与李翠红完成; 论文撰写由王育蓉完成。

通讯作者: 王育蓉, 副主任医师, 332000, 江西省九江市塔岭南路48号, 江西省南昌大学附属医院九江市第一人民医院消化科。
hldwyr2010@163.com

电话: 0792-8508798

收稿日期: 2012-10-17 修回日期: 2012-11-21

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-02-28

TNF α induces IP₃R1 expression via TNFR1/PKC α and TNFR2 signaling pathways in human mesangial cells

Yu-Rong Wang, Huan Zhang, Hui Sun, Cui-Hong Li, Pei Liu

Yu-Rong Wang, Huan Zhang, Hui Sun, Cui-Hong Li, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nanchang University, Jiujiang First People's Hospital, Jiujiang 332000, Jiangxi Province, China

Pei Liu, Center for Liver Diseases, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: the Research Foundation of Health Bureau of Jiangxi Province, No. 20123192

Correspondence to: Yu-Rong Wang, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nanchang University, Jiujiang First People's Hospital, 48 Taling South Road, Jiujiang 332000, Jiangxi Province, China. hldwyr2010@163.com

Received: 2012-10-17 Revised: 2013-11-21

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-02-28

Abstract

AIM: To investigate the role of PKC and TNFR in TNF α -induced expression of IP₃R1 in human mesangial cells (HMCs).

METHODS: Quantitative real-time polymerase chain reaction and immunoblot assay were used to examine the effect of TNF α treatment on IP₃R1 mRNA and protein expression. Depletion of PKC with PMA, treatment with PKC kinase

inhibitors, and overexpression of dominant negative mutant of PKC α were used to examine the role of PKC in TNF α -induced expression of IP₃R1 in HMCs. The expression of total PKC α and p-PKC α was assayed by Western blot. The contribution of TNFR1 and TNFR2 to PKC α activation and TNF α -induced IP₃R1 expression was also detected by Western blot.

RESULTS: Treatment with TNF α increased IP₃R1 mRNA and protein expression in HMCs, and this effect could be blocked by prolonged incubation with PMA, Safringol treatment and transfection with domain negative PKC α construct. TNF α could promote PKC α autophosphorylation. Both anti-TNFR1 and TNFR2 antibodies attenuated TNF α -induced IP₃R1 expression, while only anti-TNFR1 antibody attenuated TNF α -induced PKC α activity.

CONCLUSION: TNF α increases the expression of IP₃R1 through the TNFR1/PKC α and TNFR2 signaling pathways in HMCs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatorenal syndrome; Tumor necrosis factor α ; IP₃R1; PKC α ; Tumor necrosis factor receptor

Wang YR, Zhang H, Sun H, Li CH, Liu P. TNF α induces IP₃R1 expression via TNFR1/PKC α and TNFR2 signaling pathways in human mesangial cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 521-526 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/521.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.521>

摘要

目的: 探讨肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF α)对人肾小球系膜细胞(human mesangial cells, HMCs)IP₃R1蛋白和mRNA表达的影响及PKC和肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)在此信号通路中的作用, 以期对肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)肾小球滤过率下降的发生机制和防治思路提供理论依据。

■背景资料

肝肾综合征(HRS)发生时肾脏血流量明显减少, 其主要原因是肾脏血管收缩, 具体机制不十分清楚。肾小球系膜细胞内有丰富的IP₃R1, IP₃与IP₃R1结合, 促进细胞内储备Ca²⁺释放, 引起肾血流减少。TNF α 是引起重症肝炎发生的重要细胞因子, 那么TNF α 能否上调人肾小球系膜细胞IP₃R1表达? 在此信号转导事件中, 蛋白激酶C及肿瘤坏死因子受体的作用如何? 为解决这一问题, 本文研究了TNF α 对人肾小球系膜细胞IP₃R1表达的影响并深入研究TNF α 上调IP₃R1表达的信号转导机制。

■同行评议者

黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

■相关报道

肝肾综合征时TNF α 浓度升高,许多文献报道TNF α 可通过多种机制参与病理状态时的血管收缩.文献报道,动物模型及在神经元细胞中,TNF α 可上调IP₃R1的表达.

方法:用实时定量PCR和免疫印记法检测IP₃R1 mRNA和蛋白表达的情况,并分别用PMA耗竭内源性蛋白激酶C(endogenous protein kinase C, PKC), PKC α 特异性抑制剂Safingol和PKC δ 特异性抑制剂Rottlerin及HA-DN-PKC α 质粒转染干预上述诱导实验.同时,用免疫印记法检测TNF α 对PKC α 和p-PKC α 的表达的影响.此外,免疫印记法检测TNFR对PKC α 的活化及IP₃R1蛋白表达的影响.

结果:TNF α 作用HMCs后,IP₃R1蛋白和mRNA表达均明显增加.PMA、PKC α 抑制剂Safingol, HA-DN-PKC α 质粒转染均能明显阻断TNF α 诱导的IP₃R1蛋白的上调,而PKC δ 抑制剂Rottlerin无明显阻断作用.TNF α 刺激HMCs,各不同时间组总PKC α 蛋白表达无明显差异,而TNF α 刺激8 h p-PKC α 蛋白表达明显增加.TNFR1抗体+TNF α 组和TNFR2抗体+TNF α 组,IP₃R1蛋白表达均有明显的不同程度的下降.TNFR1抗体+TNF α 组p-PKC α 蛋白表达明显下降,而TNFR2抗体+TNF α 组,p-PKC α 蛋白表达无明显变化.

结论:TNF α 能上调HMCs中IP₃R1蛋白及IP₃R1 mRNA的表达.活化的PKC α 可能在TNF α 上调IP₃R1的表达中起重要作用.TNF α 可能通过TNFR1/PKC α 途径及TNFR2途径上调IP₃R1的表达.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词:肝肾综合征;肿瘤坏死因子 α ; I型1,4,5-三磷酸肌醇受体;蛋白激酶C α ;肿瘤坏死因子受体

王育蓉, 章欢, 孙辉, 李翠红, 刘沛. TNF α 通过TNFR1/PKC α 和TNFR2信号通路诱导人肾小球系膜细胞IP₃R1的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 521-526 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/521.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.521>

0 引言

肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)是重症肝病的严重并发症,病死率高达70%.目前认为肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR)下降是HRS的主要发病机制^[1].1,4,5-三磷酸肌醇受体(IP₃R)是胞内钙贮库,IP₃R与IP₃结合后发生构象改变,内质网中的储备钙被释放到细胞质中,胞质游离Ca²⁺浓度升高引起细胞收缩^[2].肾小球系膜细胞(glomerular mesangial cells, GMCs)收缩可导致GFR下降^[3].国内外研究表明高表达的I型1,4,5-三磷酸肌醇受体(IP₃R1)介导Ca²⁺失

衡、细胞收缩敏感性增加,与许多疾病的进展如房颤、哮喘、阿尔茨海默及帕金森氏病等关系密切^[4-6].TNF α 与重型肝炎发生发展密切相关^[7].体外实验表明TNF α 可上调IP₃R1表达^[6,8,9].TNF α 可诱导神经元细胞IP₃R1表达;在肝硬化大鼠及暴发性肝衰竭小鼠模型中,肾小球系膜细胞(glomerular mesangial cells, GMCs)IP₃R1蛋白表达明显增加.

综上所述,我们认为TNF α 通过上调IP₃R1表达,为胞内IP₃提供足够的IP₃R,促进GMCs内Ca²⁺释放,引起GMCs收缩,导致GFR下降,这可能是HRS时肾脏对缩血管物质发生高敏的分子基础.为深入探讨IP₃R1表达的分子机制,我们以人肾小球系膜细胞(human mesangial cells, HMCs)为研究对象,探讨TNF α 对IP₃R1表达的影响,并进一步研究PKC及TNFR在此信号通路中的作用,希望能在揭示肝肾综合征GFR下降的分子机制方面有所突破,并为干预肝肾综合征发生发展的新策略提供理论基础及作用靶点.

1 材料和方法

1.1 材料 HMCs和人肾小球系膜细胞专用培养基(mesangial cell medium, MCM)(4201): science cell公司; TNF α 、兔抗人TNFR1、兔抗人TNFR2抗体: R&D公司; 兔抗人I型IP₃R抗体: Chemicon International公司; Rottlerin、Safingol: Calbiochen公司; TRIzol: Invitrogen公司; 引物合成, 逆转录试剂盒ExScriptTM RT Reagent Kit、PCR试剂盒SYBR[®] premix EX TaqTM: Takara公司; 人野生型PKC α (pHACE-WT-PKC α)质粒, 活性失活PKC α (pHACE-DN-PKC α)质粒及pCD-NA3.0质粒由韩国大学博士惠赠(经大连宝生物工程公司测序分析).

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及给药:应用MCM将原代HMCs细胞在37℃、5%CO₂恒温培养箱中进行培养,适时换液,消化传代,取4-8代细胞做后继实验.待细胞生长到约80%-90%融合时,吸弃旧培养基,换成无血清(free serum medium, FSM)MCM同步饥饿24 h后继续加药处理.

不同细胞模型分组: (1)分为不同时间(0、2、4、8、24 h)组, TNF α (100 ng/mL)刺激HMCs, 实时定量PCR和免疫印迹检测IP₃R1 mRNA和蛋白表达; (2)多种信号抑制剂预处理HMCs分组: TNF α 处理0 h组(T0h组); TNF α 处理24 h组(T24h组); Rottlerin/Safingol单独处理组; TNF α +抑制

剂组. PKC δ 特异性抑制剂Rottlerin(5 μ mol/L), PKC α 特异性抑制剂Safingol(5 μ mol/L)预处理血清饥饿的HMCs 1 h后, 再予TNF α 刺激24 h; (3) 质粒转染分组: TNF α 处理0 h组(T0h组); 空载体组(pCDNA3.0)+TNF α ; DN-PKC α +TNF α ; WT-PKC α +TNF α 每组设3个孔; (4) 正常对照组(T0h组); TNF α 刺激8 h或24 h组(T8h, T24h); TNFR1抗体+TNF α 组(TR1+T组); TNFR2抗体+TNF α 组(TR2+T组).

1.2.2 实时定量PCR: 细胞总RNA提取, 反转录为cDNA. 采用SYBR Green I 荧光染料嵌合法, 分别制作目的基因(IP $_3$ R1)和管家基因(GAPDH)的标准曲线. 检测各实验组中IP $_3$ R1目的基因的相对表达量. 引物: IP $_3$ R1-F: 5'-ACAGGGTTTCGC-CATGTTGAC-3'; IP $_3$ R1-R: 5'-AGGCTCAGTG-GCTCATGCCTA-3'; GAPDH-F: 5'-GCACC-GTCAAGGCTGAGAAC-3'; GAPDH-R: 5'-TG-GTGAAGACGCCAGTGGA-3'. IP $_3$ R1/GAPDH mRNA的相对表达量 = IP $_3$ R1基因拷贝数/GAPDH基因拷贝数, 校正结果以T0h为1, 其余组与之比较.

1.2.3 Western blot: 提取细胞总蛋白, 经SDS-PAGE电泳后, 电转移至PVDF膜后加一抗孵育过夜; 加二抗室温孵育2 h; TBST洗膜3次, ECL发光法检测. 以分子量45 kDa的 β -actin作为内参, 应用数码凝胶成像软件分析. 目的蛋白含量 = 目的蛋白灰度值/同一样本 β -actin灰度值.

1.2.4 质粒瞬时转染: 质粒转化(转化大肠杆菌DH5 α 感受态菌)、扩增、氨苄青霉素筛选、小提质粒后酶切鉴定、测序证明(TAKARA公司完成)相应质粒为野生型或显性负突变体进一步中提质粒, -20 $^{\circ}$ C冻存备用. 采用脂质体瞬时转染, 制备转染试剂、转染试剂/空载体、转染试剂/重组质粒转染复合物. 转染复合物加到各个培养瓶中并轻轻摇动. 每组重复3次. 转染操作按说明书进行. 转染后培养48 h, 分析结果.

统计学处理 实验数据以mean \pm SD表示, 计量资料各组间的比较采用方差分析, 所有数据均在SPSS15.0软件分析处理, $P<0.05$ 被认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 实时定量PCR及Western blot检测IP $_3$ R1 mRNA和蛋白的表达 与对照组相比, TNF α 处理后2 h到8 h IP $_3$ R1 mRNA表达逐渐增加, 于8 h达高峰($P<0.01$, 图1A); IP $_3$ R1蛋白表达于TNF α 刺

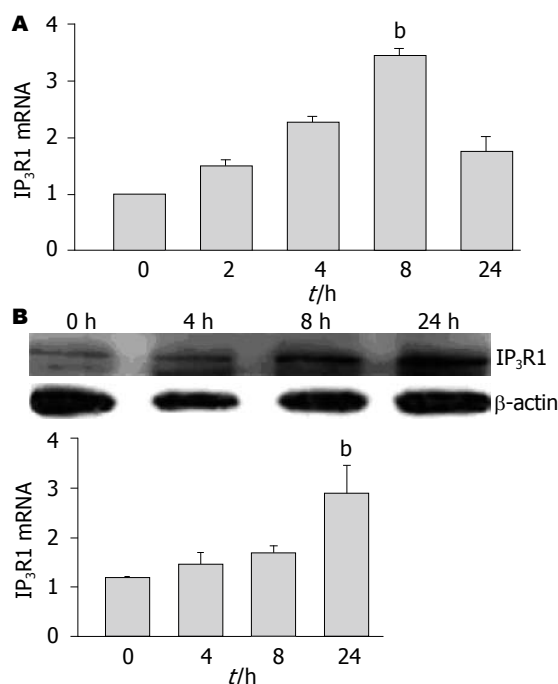


图1 TNF α 刺激HMCs不同时间IP $_3$ R1 mRNA和IP $_3$ R1蛋白的表达. ^b $P<0.01$ vs T0h组.

激4 h开始升高, 至24 h IP $_3$ R1蛋白表达增加达高峰($P<0.01$, 图1B).

2.2 Western blot检测PKC信号抑制剂对IP $_3$ R1蛋白表达的影响 PMA预处理耗竭内源性PKC(传统型PKC、cPKC和新型PKC、nPKC), 再予TNF α 刺激, IP $_3$ R1蛋白表达明显下降($P<0.01$, 图2A). PMA刺激HMCs 24 h后, 总PKC的表达与对照组相比明显下降(图2B), 证实了PMA 24 h孵育对内源性PKC的耗竭作用. 说明cPKC和/或nPKC可能参与人系膜细胞中IP $_3$ R1蛋白的表达. 为进一步探究PKC亚型在IP $_3$ R1蛋白表达中的作用, PKC α 和PKC δ 的选择性抑制剂Safingol和Rottlerin预处理HMCs 1 h后, 再予TNF α 刺激, Sa+T组IP $_3$ R1蛋白表达明显下降($P<0.01$); 而rot+T组IP $_3$ R1蛋白表达无明显变化($P>0.05$, 图3), 提示PKC α 可能参与人系膜细胞中TNF α 上调IP $_3$ R1的表达.

2.3 Western blot检测质粒瞬时转染对IP $_3$ R1蛋白表达的影响 与T24h组比较, pHACE-WT-PKC α +TNF α 组IP $_3$ R1蛋白表达明显增加($P<0.01$), 而pHACE-DN-PKC α +TNF α 组IP $_3$ R1蛋白表达明显降低($P<0.01$); 与T0h比较, T24h组和pCDNA3.0组+TNF α 组IP $_3$ R1蛋白表达均明显增加, 而此两组间比较无明显差异($P>0.05$), 说明质粒的转染并不影响细胞的活性(图4).

2.4 Western blot检测TNF α 对PKC α 和p-PKC α 蛋

■ 创新盘点

目前对肝肾综合征时肾血管收缩机制的研究主要集中在多种神经体液因素对血流动力学的影响方面, 而对其分子水平发病机制及胞内信号转导机制还知之甚少. 在人系膜细胞中, TNF α 对IP $_3$ R1表达的影响及相应的信号转导机制国内外还没有相关报道.

■应用要点

本文发现TNF α 明显上调IP₃R1蛋白及mRNA表达, TNF α 可通过TNFR1/PKC α 途径及非依赖PKC α 的TNFR2信号转导途径上调IP₃R1的表达, 为进一步深入研究肾脏血管收缩机制提供了帮助。

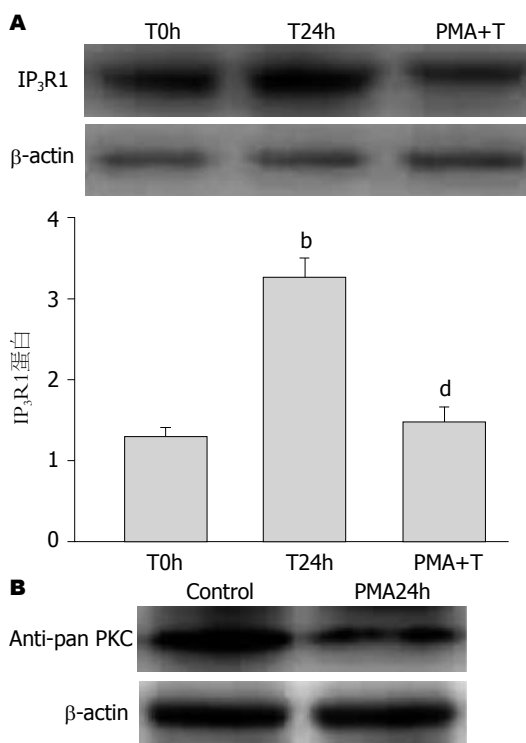


图2 PMA预处理HMCs 24 h后, Western blot检测IP₃R1蛋白表达的变化。^b $P < 0.01$ vs T0h组; ^d $P < 0.01$ vs T24h组。

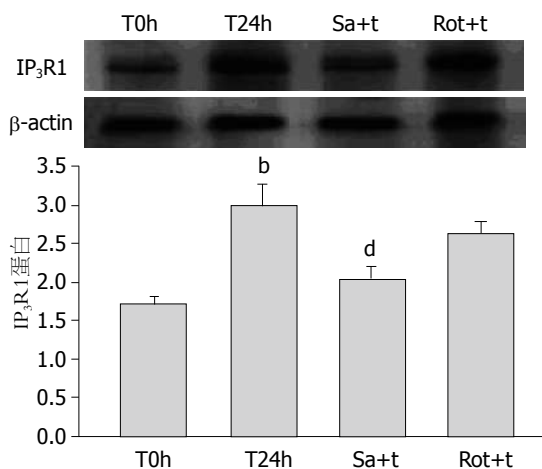


图3 Western blot检测PKC抑制剂对IP₃R1蛋白表达的影响。^b $P < 0.01$ vs T0h组; ^d $P < 0.01$ vs T24h组。

白表达的影响 TNF α 处理各时间组PKC α 蛋白表达无明显差异($P > 0.05$, 图5A)。TNF α 刺激HMCs 8 h, p-PKC α 蛋白表达明显增加($P < 0.01$, 图5B)。

2.5 Western blot检测TNFR1和TNFR2在p-PKC α 和IP₃R1蛋白表达中的作用 与T24h组比较, TNFR1抗体+TNF α 组和TNFR2抗体+TNF α 组, IP₃R1蛋白表达均有明显下降($P < 0.01$, 图6A); 与T8h组比较, TNFR1抗体+TNF α 组p-PKC α 蛋白表达明显下降($P < 0.01$); 而TNFR2抗体+TNF α 组, p-PKC α 蛋白表达无明显变化($P > 0.05$, 图6B)。

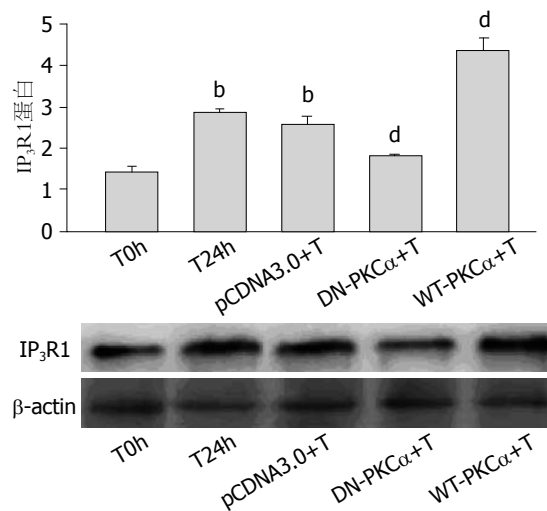


图4 Western blot检测质粒转染对IP₃R1蛋白表达的影响。^b $P < 0.01$ vs T0h组; ^d $P < 0.01$ vs T24h组。

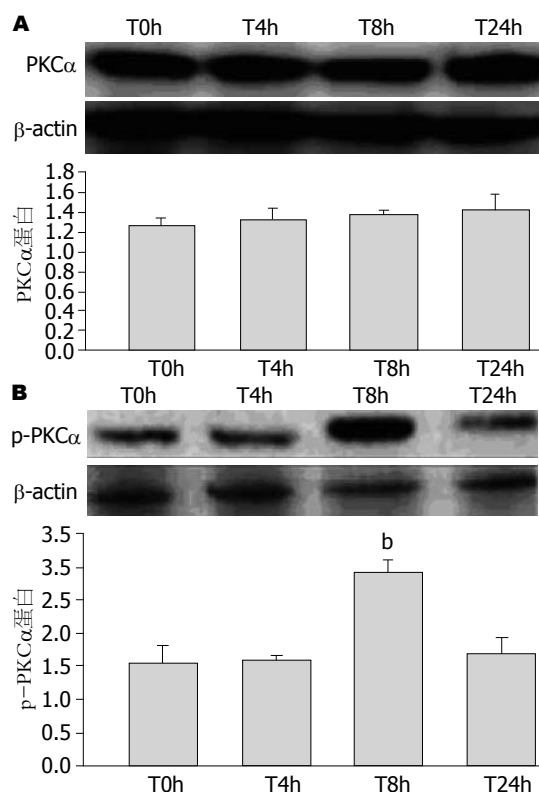


图5 Western blot检测TNF α 对PKC α 蛋白和p-PKC α 蛋白表达的影响。^b $P < 0.01$ vs T0h组。

3 讨论

IP₃R是对第二信使IP₃应答的一种普遍存在的胞内Ca²⁺释放通道, 研究表明IP₃R数目和结构的变化会影响细胞内Ca²⁺信号的幅度和频率, 直接影响细胞收缩, 并与多种疾病发生发展密切相关, 如转化生长因子 β 下调IP₃R1表达, 降低GMCs和肾脏平滑肌收缩的敏感性, 与糖尿病肾病发生发展密切相关^[10]; 肝硬化动物模型中肾小球系

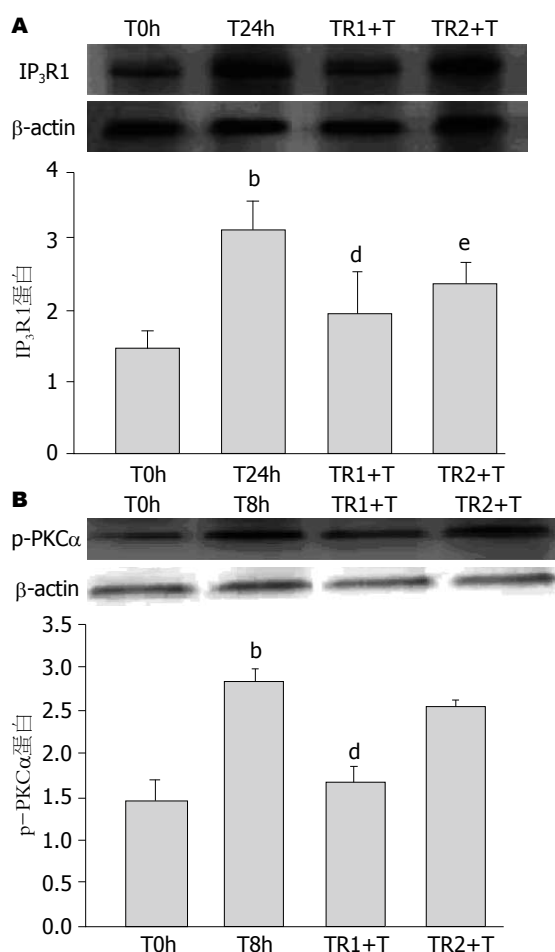


图6 TNFR1抗体或TNFR2抗体预处理HMCs后对IP $_3$ R1和p-PKC α 蛋白表达的影响。^b $P < 0.01$ vs T0h组; ^d $P < 0.01$ vs T24h(T8h)组; ^e $P < 0.05$ vs T24h组。

膜细胞和入球小动脉平滑肌中IP $_3$ R1表达增加可能与肾脏低灌注有关^[8,9]。肾脏IP $_3$ R1主要存在于肾小球系膜细胞、血管平滑肌细胞^[11]。

系膜细胞在肾脏疾病中不仅是主要的靶细胞,也是病变过程的主要参与者。重型肝炎患者血清中TNF α 明显增加^[7]。本实验中,我们首先应用实时定量PCR方法和免疫印迹法,从基因和蛋白水平验证了TNF α 可上调HMCs的IP $_3$ R1表达,这与国内动物实验及国外学者在神经元细胞中研究结果是一致的^[6]。IP $_3$ R1 mRNA在时相上首先出现表达升高,是IP $_3$ R1蛋白表达增加的始动因素。

蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)是一类钙和磷脂依赖性磷酸化激酶,广泛分布于各组织和器官中。文献表明系膜细胞的舒缩功能也与PKC激活有密切关系,激活的PKC可通过调节系膜细胞骨架分布来影响肾小球滤过功能^[11]。PKC家族至少包括12种亚型^[12],其中PKC α 约占肾脏PKC的1/3,对维持肾脏生理功能有重要的

作用^[11]。本实验中,我们利用PMA耗竭内源性敏感的PKC这一特性^[13],及选择性化学抑制剂的方法初步确定了PKC α 参与TNF α 上调IP $_3$ R1的表达。通过瞬时转染pHACE-DN-PKC α 质粒,使PKC α 活性失活,排除化学抑制剂潜在影响其他蛋白的因素,IP $_3$ R1的表达明显下降,进一步证实了活化的PKC α 在上调IP $_3$ R1表达中的重要作用。继续的实验结果:TNF α 刺激HMCs 8 h, p-PKC α 表达明显增加,表明TNF α 以时间依赖性活化PKC α , PKC α 蛋白Thr638位点的磷酸化代表PKC α 的活化^[14],但PKC α 总蛋白无明显变化,说明TNF α 增加了PKC α 从非磷酸化转变成磷酸化的形式,活化的PKC α 参与了下游IP $_3$ R1的表达。

TNF α 主要通过DAG和非DAG依赖的途径如活化胆绿素还原酶、活性氧、酪氨酸等途径活化PKC α ^[15-17]。而在HMCs中, TNF α 是通过何种途径活化PKC α 进而促进IP $_3$ R1的表达? TNF α 作为一种多效性细胞因子,是通过与TNFR结合才得以实现的。TNF α 两种受体TNFR1和TNFR2均存在于多种组织细胞和免疫细胞表面,他们胞外结构区有30%的同源性,但胞内结构区差别很大,提示他们在细胞内信号传递上有差异,并可诱发不同的生物学作用^[18]。本实验中,我们利用特异性抗TNFR的单克隆抗体封闭细胞表面TNF α 受体,研究TNFR的作用。有趣的是,我们发现两组单克隆抗体封闭组,IP $_3$ R1表达都不同程度地明显下降,抗TNFR1组下调IP $_3$ R1蛋白达53%,而抗TNFR2组下调IP $_3$ R1蛋白42%,此结果表明了TNFR1和TNFR2都参与了IP $_3$ R1表达的上调,那么, TNFR与PKC α 活化的关系如何?我们发现抗TNFR1单克隆抗体封闭组, p-PKC α 显著减少,而抗TNFR2单克隆抗体封闭组p-PKC α 表达无明显变化,说明TNFR1介导了PKC α 的活化,文献表明: TNF α 可通过TNFR1胞内特定部位,即接头蛋白FAN,活化PC-PLC, PC-PLC水解细胞膜磷脂酰胆碱生成胆碱和DAG进而活化PKC^[19]。

综上所述,我们认为人系膜细胞中, TNF α 至少可通过TNFR1/PKC α 途径及非依赖PKC α 的TNFR2信号传导途径上调IP $_3$ R1的表达,高表达的IP $_3$ R1为胞内IP $_3$ 提供足够的IP $_3$ R,促进胞内Ca²⁺释放,增加肾小球系膜细胞收缩,导致GFR下降,进而促进HRS的发生与发展。但在TNF α 上调IP $_3$ R1表达的信号事件中, TNFR1与TNFR2的具体作用机制,是独立作用或存在相互作用,或者与其他信号分子相关联等问题目前尚不清楚,仍有待于进一步实验研究。

■名词解释

肝肾综合征:又称功能性肾功能衰竭,是指严重肝脏疾病患者体内代谢产物的损害,血液动力学的改变及血流量的异常,导致肾脏血流量的减少和滤过率降低所引起,而其肾脏并无解剖和组织学方面的病变。临床表现为进行性少尿、无尿、氮质血症、低钠血症等症候群。

■同行评价

本文立题新颖,实验方法较先进,实验依据充分,实验结果能客观证实研究结论,学术价值较好.研究结果对于探讨肝肾综合征的发病机制有一定的理论价值.

4 参考文献

- 1 Lata J. Hepatorenal syndrome. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4978-4984 [PMID: 23049205 DOI: 10.3748/wjg.v18.i36.4978]
- 2 Taylor CW, da Fonseca PC, Morris EP. IP(3) receptors: the search for structure. *Trends Biochem Sci* 2004; 29: 210-219 [PMID: 15082315 DOI: 10.1016/j.tibs.2004.02.010]
- 3 Yao J, Kitamura M, Oite T. [Characteristics of glomerular mesangial cells]. *Nihon Jinzo Gakkai Shi* 2008; 50: 554-560 [PMID: 18767481]
- 4 Brightling C, Berry M, Amrani Y. Targeting TNF- α : a novel therapeutic approach for asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 5-10; quiz 11-12 [PMID: 18036647 DOI: 10.1016/j.jaci.2007.10.028]
- 5 Liang X, Xie H, Zhu PH, Hu J, Zhao Q, Wang CS, Yang C. Enhanced activity of inositol-1,4,5-trisphosphate receptors in atrial myocytes of atrial fibrillation patients. *Cardiology* 2009; 114: 180-191 [PMID: 19602879 DOI: 10.1159/000228584]
- 6 Park KM, Yule DI, Bowers WJ. Impaired TNF- α control of IP3R-mediated Ca²⁺ release in Alzheimer's disease mouse neurons. *Cell Signal* 2010; 22: 519-526 [PMID: 19922794 DOI: 10.1016/j.cellsig.2009.11.006]
- 7 Lu JW, Wang H, Yan-Li J, Zhang C, Ning H, Li XY, Zhang H, Duan ZH, Zhao L, Wei W, Xu DX. Differential effects of pyrrolidine dithiocarbamate on TNF- α -mediated liver injury in two different models of fulminant hepatitis. *J Hepatol* 2008; 48: 442-452 [PMID: 18215436 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.10.014]
- 8 Wen Y, Cui W, Liu P. Type I inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptors increase in kidney of mice with fulminant hepatic failure. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2344-2348 [PMID: 17511035]
- 9 王静艳, 孙锦春, 吕飒, 刘沛. 肿瘤坏死因子- α 增强大鼠肾小球前小动脉平滑肌细胞内I型1,4,5-三磷酸肌醇受体表达. *中华内科学杂志* 2002; 41: 86-89
- 10 Sharma K, Deelman L, Madesh M, Kurz B, Ciccone E, Siva S, Hu T, Zhu Y, Wang L, Henning R, Ma X, Hajnoczky G. Involvement of transforming growth factor- β in regulation of calcium transients in diabetic vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: F1258-F1270 [PMID: 12876066]
- 11 Tuttle KR, Anderberg RJ, Cooney SK, Meek RL.

Oxidative stress mediates protein kinase C activation and advanced glycation end product formation in a mesangial cell model of diabetes and high protein diet. *Am J Nephrol* 2009; 29: 171-180 [PMID: 18781061 DOI: 10.1159/000154470]

- 12 Zeng L, Webster SV, Newton PM. The biology of protein kinase C. *Adv Exp Med Biol* 2012; 740: 639-661 [PMID: 22453963 DOI: 10.1007/978-94-007-2888-2_28]
- 13 Govekar RB, Kawle PD, Advani SH, Zingde SM. Reduced PKC α Activity Induces Senescent Phenotype in Erythrocytes. *Anemia* 2012; 2012: 168050 [PMID: 22988493]
- 14 Kim JM, Noh EM, Kwon KB, Kim JS, You YO, Hwang JK, Hwang BM, Kim BS, Lee SH, Lee SJ, Jung SH, Youn HJ, Lee YR. Curcumin suppresses the TPA-induced invasion through inhibition of PKC α -dependent MMP-expression in MCF-7 human breast cancer cells. *Phytomedicine* 2012; 19: 1085-1092 [PMID: 22921746 DOI: 10.1016/j.phymed.2012.07.002]
- 15 Pal D, Outram SP, Basu A. Novel regulation of protein kinase C- η . *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 425: 836-841 [PMID: 22892130 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.07.163]
- 16 Zhang Z, Cui W, Li G, Yuan S, Xu D, Hoi MP, Lin Z, Dou J, Han Y, Lee SM. Baicalein protects against 6-OHDA-induced neurotoxicity through activation of Keap1/Nrf2/HO-1 and involving PKC α and PI3K/AKT signaling pathways. *J Agric Food Chem* 2012; 60: 8171-8182 [PMID: 22838648 DOI: 10.1021/jf301511m]
- 17 Miralem T, Lerner-Marmarosh N, Gibbs PE, Tudor C, Hagen FK, Maines MD. The human biliverdin reductase-based peptide fragments and biliverdin regulate protein kinase C δ activity: the peptides are inhibitors or substrate for the protein kinase C. *J Biol Chem* 2012; 287: 24698-24712 [PMID: 22584576 DOI: 10.1074/jbc.M111.326504]
- 18 Cabal-Hierro L, Lazo PS. Signal transduction by tumor necrosis factor receptors. *Cell Signal* 2012; 24: 1297-1305 [PMID: 22374304 DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.02.006]
- 19 Bertram A, Ley K. Protein kinase C isoforms in neutrophil adhesion and activation. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2011; 59: 79-87 [PMID: 21298489 DOI: 10.1007/s00005-011-0112-7]

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》2011 年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿,保证稿件尽快公平、公正的处理,《世界华人消化杂志》编辑部研究决定,从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费.审稿周期及发表周期不变.(《世界华人消化杂志》编辑部)

食管覆膜支架置入治疗恶性肿瘤所致的食管气管瘘21例

王宝明, 杨海山

王宝明, 杨海山, 吉林大学第三临床医院放射科 吉林省长春市 130021

王宝明, 中国医科大学附属第四医院放射科 辽宁省沈阳市 110032

王宝明, 主治医师, 主要从事介入治疗方向的研究.

作者贡献分布: 王宝明与杨海山对此文所作贡献均等; 此论文由杨海山设计; 研究过程由王宝明与王刚等操作完成.

通讯作者: 王宝明, 主治医师, 110032, 辽宁省沈阳市崇山东路4号, 中国医科大学附属第四医院放射科.

wangbaoming1976@126.com

收稿日期: 2012-10-08 修回日期: 2013-02-19

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-02-28

Treatment of malignant esophagorespiratory fistula with metallic stents: An analysis of 21 cases

Bao-Ming Wang, Hai-Shan Yang

Bao-Ming Wang, Hai-Shan Yang, Department of Radiology, the Third Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China

Bao-Ming Wang, Department of Interventional Radiology, the Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110032, Liaoning Province, China

Correspondence to: Bao-Ming Wang, Attending Physician, Department of Interventional Radiology, the Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110032, Liaoning Province, China. wangbaoming1976@126.com

Received: 2012-10-08 Revised: 2013-02-19

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-02-28

Abstract

AIM: To assess the efficacy and safety of metallic stent implantation in the treatment of malignant esophagorespiratory fistula.

METHODS: Twenty-one patients with malignant esophagorespiratory fistula were included in this study. They had pulmonary infection, dystrophism and choke before stent implantation. The stent was introduced under DSA guidance. The success rate, complication rate and curative effect were observed.

RESULTS: Stents were placed successfully in 21 patients. Dysphagia was relieved and the food intake ability was improved in all 21 patients. The mean KPS increased significantly from 40.0

± 10.8 before stent placement to 70.3 ± 14.0 one week after placement ($P < 0.01$). The median survive time was 30 weeks.

CONCLUSION: Stent implantation under DSA guidance is a safe and effective treatment for malignant esophagorespiratory fistula, and it can improve patients' life quality and clinical symptoms.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Metallic stent; Esophagorespiratory fistula

Wang BM, Yang HS. Treatment of malignant esophagorespiratory fistula with metallic stents: An analysis of 21 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 527-530
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/527.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.527>

摘要

目的: 观察与评价金属覆膜支架置入治疗食管气管瘘的疗效.

方法: 21例食管气管瘘患者, 术前伴明显的肺部感染、营养不良及进食呛咳等症状, 在DSA导引下经口置入金属覆膜支架, 观察支架置入疗效和并发症等指标.

结果: 21例患者成功置入支架21枚, 支架置入术后患者进食困难均有改善, 肺部感染得到明显控制, 支架置入后患者KPS评分由 40.0 ± 10.8 增加至 70.3 ± 14.0 ($P < 0.01$), 随访平均生存时间30 wk(4-80 wk).

结论: DSA导引下金属覆膜支架置入术对食管气管瘘患者是有效、安全的治疗手段, 能改善症状, 提高患者的生存质量, 延长生存时间.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 金属支架; 食管气管瘘

王宝明, 杨海山. 食管覆膜支架置入治疗恶性肿瘤所致的食管气管瘘21例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(6): 527-530
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/527.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.527>

■背景资料

食管癌是一种以进行性吞咽困难为主要症状的常见的消化系统恶性肿瘤. 我国是食管癌最高发地区, 每年约有25万新发病例, 该病死亡率占我国恶性肿瘤死亡率的第4位, 部分患者发生食管气管瘘, 严重影响患者生存质量及生存时间.

■同行评议者

姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科

■研发前沿

带膜金属内支架的置入,可以有效解决食管气管瘘患者的进食、控制吸入性肺炎、防止窒息,可以延长患者的生存时间,提高患者的生存质量。

0 引言

食管气管瘘(esophagobronchial fistula, ERF)是晚期食管恶性肿瘤常见并发症之一,多数患者死于肺部严重感染和营养不良导致的衰竭。近年来金属覆膜支架置入术在恶性肿瘤所致的食管气管瘘方面取得了较为满意的疗效。2007-05/2012-02我们对21例ERF患者采用食管内金属覆膜支架置入治疗,现对21例患者的疗效及随访情况报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 21例ERF均为本院收治患者,其中男17例,女4例。平均年龄50.2岁(40-72岁)。18例经胃镜和病理证实为食管鳞癌,3例经支气管镜确认为中心型肺癌穿透食管。患者均伴有肺部感染、进食水后呛咳,2例为食管癌术后复发,瘘口均发生在食管病灶范围内。

1.2 方法 所有患者术前均行肺CT及食管造影(泛影葡胺)检查明确瘘口位置及食管病变长度。用利多卡因凝胶作咽喉部及食管表面麻醉后,在DSA监视下,将导丝及5F-cobra导管通过病变段并送入胃腔,撤出导丝,造影明确导管远端位于胃内,缓慢后撤导管,同时缓慢注入少量造影剂,显示瘘口位置后,更换长加强导丝至胃腔内,再根据病变的长度选择合适的支架。支架长度选择以超过病变两侧各2 cm为标准,形态为中央呈圆柱形,两端为喇叭开口的哑铃型。将支架释放器沿导丝送入病变段,支架要完全覆盖病灶,定位准确后完成支架释放操作,释放动作要缓慢,待支架完全释放后退置管器。术前、术后1 wk应用KPS功能状态评分标准对患者进行评估。

统计学处理 配对数据应用SPSS13.0软件进行分析。

2 结果

21例患者术前口服泛影葡胺造影,均可见造影剂外溢至气管。术中泛影葡胺造影,均可见造影剂外溢至气管(图1A),支架置入后患者口服造影剂,可见瘘口封闭(图1B, C)。

21例ERF中,21例1次置入食管覆膜支架成功,成功率100%,其中2例系支架移位导致瘘口暴露,重新置入覆膜支架成功,2例患者出现呼吸困难,1例经吸氧、对症治疗后好转,1例置入一枚气管支架。支架置入后禁食3 d,3 d后进食均无呛咳,成功置入支架后,21例肺部感染术后得到有效控制。KPS功能状态评分:术前

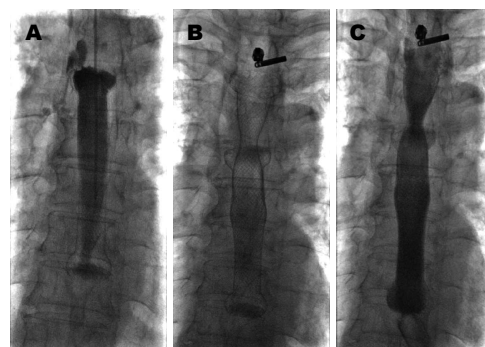


图1 患者食管造影检查结果。A: 患者曾置入食管支架一枚,造影可见原支架上方造影剂外溢至气管; B: 在原支架上方再次置入覆膜支架一枚; C: 患者口服造影剂,未见造影剂外溢,瘘口封闭。

患者 40.0 ± 10.8 ,术后1 wk患者KPS评分 $70.3 \pm 14.0(P < 0.01)$ 。对所有患者进行随访,其中,2例失访,其余18例随访至2012-08,生存时间4-80 wk,平均30 wk。

3 讨论

食管气管瘘是临床上非常棘手的急、重病症之一,恶性肿瘤所致的食管气管瘘主要继发于食管癌侵犯气管,其次为中心型肺癌向食管侵犯,本组21例患者,食管癌为18例,中心型肺癌3例。恶性肿瘤所致的食管气管瘘很难自行愈合,由于食物及分泌物误吸常引起反复肺内严重感染及频发刺激性呛咳,危及患者生命,并严重影响患者日常生活及休息,生活质量极差,多数患者因营养不良、吸入性肺炎、窒息而在短期内死亡,其自然病程仅为1-4 wk^[1-5]。

3.1 治疗方法及疗效 传统外科的方法包括胃肠食管旁路手术、胃肠造瘘术等,但此类患者多恶性消耗,一般状态欠佳,对手术耐受力差,且手术费用高、风险大、并发症较多。胃空肠营养管置入仅能解决食物误吸问题,无法解决唾液及食管分泌物误吸。Frimberger首先用自膨式金属支架对食管恶性狭窄进行治疗,为食管癌姑息性治疗的新途径^[6-8]。金属覆膜支架置入术可有效封堵瘘口、同时解决食管狭窄、恢复经口进食、改善全身状况、提高生存质量、延长生存时间的目的。本组21例,成功置入食管覆膜支架21枚,金属带膜支架置入后,患者吞咽困难、进食呛咳等症状迅速消失,生存时间平均提高到30 wk,本组患者KPS功能状态评分:术前患者 40.0 ± 10.8 ,术后1 wk患者KPS评分 $70.3 \pm 14.0(P < 0.01)$,有统计学意义。

■创新盘点

本文在术前评估及术中治疗具体方案选择方面更为细致,减少患者痛苦,降低了手术风险。

3.2 术前检查 本组21例, 术前均行胸部CT及食管造影检查。CT检查可明确肿瘤与周围组织的关系, 要特别注意肿瘤对周围血管的侵犯情况, CT还可显示肿瘤的长度与大小, 纵隔与肺部的感染程度, 并可以了解气管有无狭窄及狭窄的程度, 对确定治疗方案至关重要。如肿瘤压迫气管较重, 应首先行气管内支架置入后, 再行食管内覆膜支架置入术封堵瘘口。对气管狭窄程度不重的患者, 根据CT评估, 选用直径较小的支架不至于对气管产生较重的压迫。对于怀疑有食管气管瘘的患者, 行食管造影检查时, 造影剂应禁用钡剂, 钡剂误吸入肺后一般不易排出, 可采用泛影葡胺等含碘造影, 即使少量进入肺内, 也可吸收。食管造影可以了解食管病变的位置、长度及瘘口的部位、瘘的严重程度, 了解瘘口近端食管扩张情况, 对于选择支架长度有重要意义。

3.3 支架置入注意事项 覆膜支架置入治疗食管气管瘘最重要的是要精确定位, 食管支架两端要超出食管病变2 cm。术中需经导管造影进一步明确瘘口位置, 并明确病变近端及远端情况, 并证实导管全程位于消化道内, 避免将支架远端置入纵隔或气管。

食管气管瘘患者多合并食管狭窄, 对于这类患者置入覆膜支架后, 我们认为最好慎用球囊扩张, 球囊扩张可能引起瘘口扩大及大出血等并发症, 如食管重度狭窄, 支架植入后膨胀不佳, 支架直径<1 cm, 可用<15 mm球囊扩张, 如置入支架后支架直径>1 cm, 可不予扩张, 支架多可在3 d左右进一步展开, 满足进食要求。

我们认为支架置入成功后, 患者禁食是非常必要的, 支架置放成功后支架与食管壁间可能暂时贴合不良^[9-11], 因为狭窄段上方食管常伴有不同程度的扩张, 且食管肿瘤表面多凹凸不平, 与光滑支架间往往有潜在的小间隙, 不能与支架上端很好贴合, 过早进食可能造成食物残留在支架食管壁之间, 易反复感染, 同时过早进食, 促进食管蠕动可增加支架移位风险。禁食后, 食管逐渐弹性回缩, 同时支架充分展开, 两者间逐渐贴合良好, 可降低上述风险。本组21例患者经禁食3 d后逐渐由全流食过渡到软食。

3.4 并发症 支架移位是术后较常见并发症, 在胃癌术后复发所致的食管气管瘘中发生率更高, 因为合并食管气管瘘患者需置入覆膜支架, 加膜支架比普通支架光滑, 与食管间摩擦阻力小, 较容易发生移位, 本组2例发生移位。我们认为

最好不用球囊扩张支架, 充分利用金属支架本身明显的膨胀性, 尽量贴伏在食管壁上, 既保证解决狭窄和堵漏的需要, 又能增加支架与食管壁之间的摩擦阻力, 防止移位的发生^[12-14]。另外支架长度的选择很重要, 我们认为两端各留出2 cm撑在未受病变累及的食管壁上, 以保持支架的稳定。尽可能选用两端均带喇叭口的支架。

本组中2例患者术后出现呼吸困难, 主要因为肿瘤对气管压迫较重, 随着支架置入、扩张, 进一步加重了气管的狭窄程度, 支架置入后, 患者因胸痛不敢用力咳嗽, 使痰液堵塞狭窄的气道加重呼吸困难, 1例经吸氧、化痰、对症治疗后好转, 1例置入一枚气管支架后呼吸困难缓解。

总之, 带膜金属内支架的置入, 可以有效解决食管气管瘘患者的进食、控制吸入性肺炎、防止窒息, 可以提高患者的生存率及生存质量。

4 参考文献

- 1 吴在德, 吴肇汉. 外科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 349-353
- 2 Chen J, Chen ZM, Pang LW, Zhu YJ, Chen G, Ma QY, Miao F. Deployment of self-expanding metallic stents under fluoroscopic guidance in patients with malignant esophagorespiratory fistula. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 64-68 [PMID: 21510288]
- 3 He J, Gu D, Wu X, Reynolds K, Duan X, Yao C, Wang J, Chen CS, Chen J, Wildman RP, Klag MJ, Whelton PK. Major causes of death among men and women in China. *N Engl J Med* 2005; 353: 1124-1134 [PMID: 16162883 DOI: 10.1056/NEJMsa050467]
- 4 Siddaiah L, Adhyapak S, Jaydev S, Shetty G, Varghese K, Patil C, Iyengar S. Intra-aortic balloon pump in toxic myocarditis due to aluminum phosphide poisoning. *J Med Toxicol* 2009; 5: 80-83 [PMID: 19415593 DOI: /10.1007/BF03161093]
- 5 李牧, 郑民, 王玮. 带膜支架材料治疗晚期食管癌30例. *中国组织工程研究与临床康复* 2011; 15: 1511-1514
- 6 徐德亮. 覆膜支架治疗食管气管瘘的临床应用. *中国内镜杂志* 2010; 16: 1219-1221
- 7 Darbari A, Tandon S, Chaudhary S, Bharadwaj M, Kumar A, Singh GP. Esophageal injuries due to aluminum phosphide tablet poisoning in India. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2008; 16: 298-300 [PMID: 18670022]
- 8 Balazs A, Galambos Z, Kupcsulik PK. Characteristics of esophagorespiratory fistulas resulting from esophageal cancers: a single-center study on 243 cases in a 20-year period. *World J Surg* 2009; 33: 994-1001 [PMID: 19288038 DOI: 10.1007/s00268-009-9988-3]
- 9 赵剑波, 曾庆乐, 陈勇, 何晓峰, 卢伟, 梅雀林, 李彦豪. 食管支架术后支架贴壁不良综合征的初步探讨. *介入放射学杂志* 2010; 19: 141-145
- 10 Kim KR, Shin JH, Song HY, Ko GY, Kim JH, Yoon HK, Sung KB. Palliative treatment of malignant esophagopulmonary fistulas with covered expandable metallic stents. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 193: W278-W282 [PMID: 19770295 DOI: 10.2214/AJR.08.2176]
- 11 周政, 邹建伟, 朱晓黎, 刘一之. 全覆膜支架治疗不同

■应用要点
DSA导引下金属覆膜支架植入, 在治疗恶性食管气管瘘应用前景广泛。

■同行评价

本技术应用前景
广泛,值得推广。

原因食管瘘的有效性及安全性分析. 介入放射学杂志 2011; 20: 403-406

12 贾广志, 尹华, 张子东, 李建明, 白淑芳, 高同锁. 加膜支架对食管气管瘘的临床应用. 放射学实践 2002; 17: 219-221

13 刘变英, 潘胜武, 栗彤, 雷宇峰, 尹海萍. 金属带膜支架治疗多种类型食管瘘. 中华消化杂志 2000; 20:

139-140

14 Homann N, Noftz MR, Klingenberg-Noftz RD, Ludwig D. Delayed complications after placement of self-expanding stents in malignant esophageal obstruction: treatment strategies and survival rate. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 334-340 [PMID: 17597412 DOI: 10.1007/s10620-007-9862-9]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

黑龙江地区丙型肝炎病毒的基因亚型

杜博, 金茜, 刘伟, 李兴库, 于雪源, 张淑云

杜博, 金茜, 刘伟, 李兴库, 于雪源, 张淑云, 哈尔滨医科大学附属第二医院科研实验中心 黑龙江省哈尔滨市 150086
作者贡献分布: 杜博与金茜对此文献均等, 完成所有检测和资料整理; 刘伟与李兴库实施了技术指导; 于雪源完成了数据统计; 张淑云实施了本文的设计、指导及撰写论文。
通讯作者: 张淑云, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院科研实验中心。zhshuyun136@yahoo.com.cn
电话: 0451-86664393 传真: 0451-86664393
收稿日期: 2012-12-12 修回日期: 2013-01-20
接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

Analysis of hepatitis C virus subgenotypes in patients in Heilongjiang province

Bo Du, Xi Jin, Wei Liu, Xing-Ku Li, Xue-Yuan Yu, Shu-Yun Zhang

Bo Du, Xi Jin, Wei Liu, Xing-Ku Li, Xue-Yuan Yu, Shu-Yun Zhang, Scientific Research Center, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Shu-Yun Zhang, Professor, Chief Physician, Scientific Research Center, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. zhshuyun136@yahoo.com.cn
Received: 2012-12-12 Revised: 2013-01-20
Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

Abstract

AIM: To analyze the distribution of different hepatitis C virus (HCV) subgenotypes in Heilongjiang province, China.

METHODS: Serum samples from 1 313 patients with HCV infection, including 627 (47.75%) males and 686 (52.25%) females, were subgenotyped using multiplex nested PCR assay. The associations of HCV subgenotypes with gender, age, viral load, and ALT level were analyzed.

RESULTS: Of 1 313 patients, 927 (70.60%) were successfully subgenotyped. Among typable subgenotypes, 1b⁺/2a⁻ was found in 388 (41.86%) cases, 2a⁺/1b⁻ in 318 (34.30%) cases, 1b+2a in 197 (21.25%) cases, and 1a+/2b in 24 (2.59%) cases. The percentage of patients with 2a⁺/1b⁻ subgenotype was significantly higher in females (37.50%) and patients with HCVRNA of (1.000-9.999) ×

10⁴ (54.55%), ALT level >200 (60.87%) or ≤ 40 (41.02%) (all *P* < 0.05). The percentage of patients with 2 1b⁺/2a⁻ subgenotype was significantly lower in patients with HCVRNA of (1.000-9.999) × 10⁴ (24.24%) or ALT level >200 (13.04%) (both *P* < 0.05).

CONCLUSION: Genotypes 1b and 2a are the most prevalent genotypes in Heilongjiang province. The distribution of different HCV subgenotypes is associated with gender, viral load, and ALT level.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis C virus; PCR; Subgenotype

Du B, Jin X, Liu W, Li XK, Yu XY, Zhang SY. Analysis of hepatitis C virus subgenotypes in patients in Heilongjiang province. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 531-536
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/531.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.531>

摘要

目的: 分析黑龙江地区丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)基因型的流行特征和相关的影响因素, 以便对HCV感染的控制和个体化治疗提供依据。

方法: 采用型特异性巢式多重PCR法对外周血血浆中HCV基因亚型1a、1b、2a和2b进行检测, 分析HCV基因亚型的组成及其与性别、年龄、HCV RNA定量和丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)水平的关系。

结果: 通过对1 313例HCV感染者外周血血浆标本的检测和分析, HCV基因亚型检出率为70.60%(927/1 313), 其中以1b、2a和1b与2a混合感染为主, 尚包括少量分别与1a和2b的混合感染, 即1b⁺/2a⁻为388例(41.86%)、2a⁺/1b⁻为318例(34.30%)和1b+2a为197例(21.25%), 单纯1a或2b以及二者混合(1a+/2b)仅检出24例, 占2.59%。2a⁺/1b⁻在女性组(37.50%)、HCV RNA(1.000-9.999) × 10⁴组(54.55%)、ALT水平>200组(60.87%)和≤40组(41.02%)比率均较相应的其他各组有意义的增高(*P* < 0.05),

■背景资料

丙型肝炎病毒(HCV)感染是造成慢性肝炎、肝硬化及肝癌的重要原因之一。目前HCV感染仍然是全球性健康问题。HCV在长期进化过程中已形成1-6个基因型和100多个基因亚型, HCV 1型和2型呈世界流行, 但其也在不断演变。通过采用综合和个体化治疗方案, 已使持续病毒反应(SVR)率大大提高, HCV 2/3型达95%, 1型达79%, 在巴基斯坦HCV 2型已消失。HCV基因型的检测和动态分析备受关注。

■同行评议者

刘正稳, 教授, 西安交通大学医学院第一附属医院

■ 研发前沿

为了更好地指导HCV感染的预防和治疗,除了对感染者进行基因型的检测外,更要全面检测和动态分析不同人群中HCV基因型的变化趋势,同时要积极开展个体遗传相关基因的检测和研究,制定有效的预防和个体化治疗方案。

而1b⁺/2a⁻在HCV RNA(1.000-9.999)×10⁴组(24.24%)和ALT水平>200组(13.04%)均较相应的其他各组有意义的降低($P<0.05$),未发现与年龄有关。

结论:本地区HCV主要流行株是1b和2a,其分布可能与性别、HCV RNA水平和ALT水平有关,随着医疗条件的改善和联合治疗的开展,本地区HCV感染有望得到较好的控制。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 丙型肝炎病毒; PCR; 基因分型

杜博, 金茜, 刘伟, 李兴库, 于雪源, 张淑云. 黑龙江地区丙型肝炎病毒的基因亚型. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 531-536
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/531.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.531>

0 引言

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染是造成慢性肝炎、肝硬化及肝癌的重要原因之一。目前HCV感染仍然是全球性健康问题。HCV RNA全长约9.6 kb, 易发生变异, 在长期的进化中形成了不同的基因型(genotype)、基因亚型(subgenotype)、病毒株(isolate)和准种(quasispecies), 核酸序列差异率>30%为不同基因型, 差异率在15%-30%之间为不同基因亚型^[1-3]。1974年Goldfield^[4]首次报道了非甲非乙型肝炎, 启动了对其病因的探索。尤其是在1982-1988年期间美国Chiron公司Houghton实验室的研究人员Choo等^[5]用分子杂交和克隆等技术, 在感染的黑猩猩血液标本中获得了一种能导致非甲非乙型肝炎的病毒片断, 并正式将其命名为“丙型肝炎病毒(HCV)”。1991年国际病毒命名委员会将HCV归入了黄病毒科(Flavivirus)丙型肝炎病毒属^[5,6]。1993年Simmonds等^[7]通过对NS5B区扩增测序后进行系统进化树分析, 确定了6种基因型和一系列基因亚型。2005年将其作为国际通用的命名方法, 即以阿拉伯数字1-6表示基因型, 以小写的英文字母(abc等)表示基因亚型^[8]。目前已报道的较公认的基因型有6种, 基因亚型已超过100种^[9]。国内外研究表明, HCV不同基因(亚)型在地区分布、传播途径、疾病进展和抗病毒治疗上均有差异, 基因分型及动态变化已成为制定HCV感染防控策略的重要依据^[3,10-13]。为了解黑龙江地区HCV基因型分布状况, 探讨HCV基因型流行特征, 以便更好地指导HCV感染的治疗和预防,

我们对本地区1 313例HCV感染患者外周血血浆标本进行了HCV基因亚型的检测和分析。

1 材料和方法

1.1 材料 2009-06/2011-12就诊于哈尔滨医科大学附属第二医院的HCV感染患者1 313例, 均为抗-HCV阳性和拟进行抗病毒治疗。其中男627例, 女686例, 年龄12-87岁, 平均50.68岁±11.14岁。HCV感染诊断符合《丙型肝炎防治指南》(2004)。TRIzol购自北京博迈德科技发展有限公司; AMV反转录试剂盒购自ABI公司; Taq DNA聚合酶购自Fermentas公司; HCV RNA型特异性引物引自文献[14], 由南京金思特科技有限公司合成。引物序列如下: P1: 5'-ATGTACCCCATGAGGTCGGC-3'; P2: 5'-CGCGCGACTAGGAAGACTTC-3'; P共用: 5'-AGGAAGACTTCCGAGCGGTC-3'; Plα型: 5'-TGCCTTGGGGATAGGCTGAC-3'; Plb型: 5'-GAGCCATCCTGCCACCCCA-3'; P2a型: 5'-CCAAGAGGGACGGGAACCTC-3'; P2b型: 5'-ACCCTCGTTTCCGTACAGAG-3'。

1.2 方法 根据试剂使用说明书采用TRIzol法提取HCV感染患者外周血血浆中病毒RNA和进行AMV反转录; 参考文献[14]进行巢式多重PCR扩增; 取第二轮PCR扩增产物10 μL和MarkerDL2000 10 μL, 经3%琼脂糖凝胶电泳, Tanon凝胶成像系统成像、保存和观察结果。

统计学处理 数据处理采用统计学软件SPSS17.0, 计数资料的比较均采用 χ^2 检验(chi-square test), 计量资料比较采用秩和检验(rank-sum test), 其中基因型在年龄以及HCV RNA和ALT水平上总体比较使用Kruskal-Wallis检验, 组间比较使用Mann-Whitney检验, $P<0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 HCV基因亚型电泳结果 采用型特异性巢式多重PCR法对HCV RNA进行1a、1b、2a和2b基因亚型检测, 电泳结果见图1, 1a: 49 bp; 1b: 144 bp; 2a: 174 bp; 2b: 123 bp。

2.2 1 313例HCV感染者病毒基因亚型分布 在1 313例患者HCV RNA基因亚型检测中, 927例检出基因型, 检出率为70.60%, 其中以1b、2a和1b与2a混合感染为主, 尚包括少量分别与其他型(1a/2b)的混合感染, 即1b⁺/2a⁻为388例(41.86%)、2a⁺/1b⁻为318例(34.30%)和1b+2a为197例(21.25%), 单纯1a或2b以及二者混合(1a+/2b)仅

表 1 不同性别的HCV感染者外周血中病毒基因亚型分布情况及比较 $n(\%)$

性别		检出(率)	1b ⁺ /2a ⁻	2a ⁺ /1b ⁻	1b+2a	1a+/2b
男	627(47.75)	439(70.02)	194(44.19)	135(30.75)	100(22.78)	10(2.28)
女	686(52.25)	488(71.14)	194(39.75)	183(37.50) ^a	97(19.88)	14(2.87)
合计	1313	927(70.60)	388(41.86)	318(34.30)	197(21.25)	24(2.59)

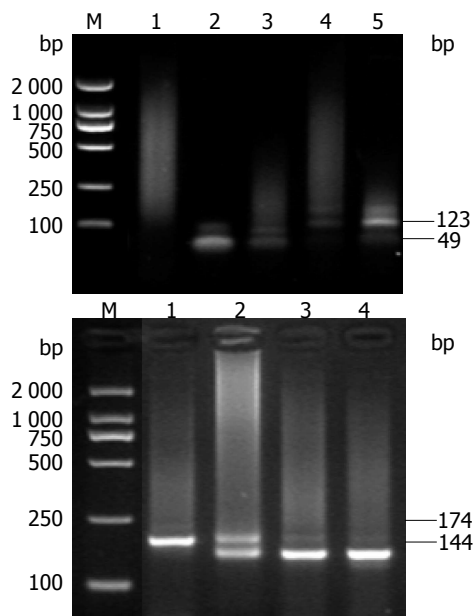
^a $P < 0.05$ vs 男性组.

图 1 HCV 4种基因亚型电泳结果图示. 1a: 49 bp; 1b: 144 bp; 2a: 174 bp; 2b: 123 bp.

检出24例, 占2.59%(图2).

2.3 不同性别HCV感染者病毒基因亚型分布情况 在1 313例患者中, 男627例, 占47.75%, 检出HCV基因亚型439例, 检出率为70.02%; 女686例, 占52.25%, 检出HCV基因亚型488例, 检出率为71.14%. 男女比例匹配. 在两组中基因亚型分布总体未见差异($\chi^2 = 5.383$, $P = 0.146$), 只是2a⁺/1b⁻在女性组中比例明显高于男性组, 有统计学意义($\chi^2 = 4.670$, $P = 0.031$, 表1).

2.4 不同年龄的HCV感染者病毒基因亚型分布情况 在1 313例患者中1 283份有年龄记录, 其中906例检出HCV基因亚型, 检出率70.62%, 与总检出率70.60%未有明显差异($\chi^2 = 0.000$, $P = 0.994$). 通过进一步的分层分析, 各基因亚型组在不同年龄组中的比率也均未见差异($\chi^2 = 11.754$, $P = 0.860$). 又通过秩检验1b⁺/2a⁻、2a⁺/1b⁻、1b+2a和1a+/2b 4组年龄秩均值分别为459.71、449.50、447.28和457.46, 总体上也未见统计学差异($\chi^2 = 0.400$, $P = 0.940$). 基因亚型分布可能与年龄无关. 在不同年龄段HCV基因

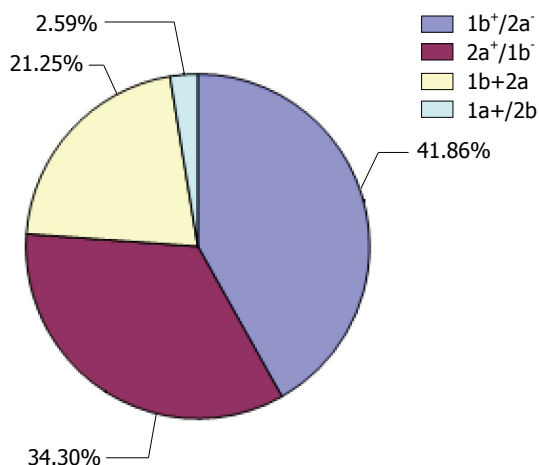


图 2 黑龙江省HCV基因亚型分布情况.

亚型分布见表2.

2.5 不同HCV RNA水平的HCV感染者病毒基因亚型分布情况 在1 313例患者中548例有HCV RNA定量记录, 其中407例检出HCV基因亚型, 检出率74.27%, 与总检出率70.60%未有明显差异($\chi^2 = 2.563$, $P = 0.109$). 在不同HCV RNA水平上HCV基因亚型总体分布见表3, 差异显著($\chi^2 = 34.001$, $P = 0.003$), 主要体现在 $(1.000-9.999) \times 10^4$ 组中1b⁺/2a⁻比率较其他各组显著降低(24.24% vs 48.28%, $\chi^2 = 5.382$, $P = 0.020$; 24.24% vs 40.00%, $\chi^2 = 4.797$, $P = 0.029$; 24.24% vs 38.93%, $\chi^2 = 4.219$, $P = 0.040$; 24.24% vs 57.14%, $\chi^2 = 7.901$, $P = 0.005$), 而2a⁺/1b⁻比率较其他各组则显著增高(54.55% vs 26.67%, $\chi^2 = 6.457$, $P = 0.011$; 54.55% vs 31.54%, $\chi^2 = 9.715$, $P = 0.002$; 54.55% vs 35.88%, $\chi^2 = 6.273$, $P = 0.012$; 54.55% vs 14.29%, $\chi^2 = 10.440$, $P = 0.001$). 又通过秩检验1b⁺/2a⁻、2a⁺/1b⁻、1b+2a和1a+/2b 4组的HCV RNA水平秩均值分别为214.26、192.52、213.10和131.27, 总体上未见统计学差异($\chi^2 = 7.342$, $P = 0.062$).

2.6 不同ALT水平的HCV感染者病毒基因亚型分布情况 在1 313例患者中535例有ALT水平记录, 其中401例检出HCV基因亚型, 检出率74.95%, 与总检出率70.60%未有明显差异($\chi^2 = 3.560$, $P =$

■ 相关报道

赵璐等较全面地综述了HCV基因型在我国和世界上的流行情况; I-Shyan等较系统地分析了HCV感染治疗的影响因素.

■创新盘点

本研究在检测本地区流行的HCV基因型的同时,更用不同的统计学方法分析了HCV基因型与不同HCV RNA和ALT水平的相关性。

表 2 不同年龄的HCV感染者病毒基因亚型分布情况 $n(\%)$

年龄(岁)	n	检出(率)	1b ⁺ /2a ⁻	2a ⁺ /1b ⁻	1b+2a	1a+/2b
<20	8	8(100.00)	4(50.00)	3(37.50)	1(12.50)	0(0)
20-29	49	36(73.47)	10(27.78)	18(50.00)	7(19.44)	1(2.78)
30-39	122	91(74.59)	35(38.46)	29(31.87)	24(26.37)	3(3.30)
40-49	365	243(66.58)	109(44.86)	83(34.16)	44(18.10)	7(2.88)
50-59	471	343(72.82)	140(40.82)	118(34.40)	78(22.74)	7(2.04)
60-69	226	155(68.58)	68(43.87)	51(32.90)	32(20.65)	4(2.58)
≥70	42	30(71.43)	12(40.00)	11(36.66)	5(16.67)	2(6.67)
合计	1 283	906(70.62)	378(41.72)	313(34.55)	191(21.08)	24(2.65)

表 3 不同HCV RNA水平的HCV感染者病毒基因亚型分布和比较 $n(\%)$

HCV RNA(copies/mL)	n	检出(率)	1b ⁺ /2a ⁻	2a ⁺ /1b ⁻	1b+2a	1a+/2b
$\leq 1.000 \times 10^3$	65	29(44.62)	14(48.28)	10(34.48)	2(6.90)	3(10.34)
$(1.001-9.999) \times 10^3$	47	30(63.83)	10(33.33)	8(26.67)	10(33.33)	2(6.67)
$(1.000-9.999) \times 10^4$	92	66(71.74)	16(24.24) ^a	36(54.55) ^c	12(18.18)	2(3.03)
$(1.000-9.999) \times 10^5$	170	130(76.47)	52(40.00)	41(31.54)	35(26.92)	2(1.54)
$(1.000-9.999) \times 10^6$	150	131(87.33)	51(38.93)	47(35.88)	32(24.43)	1(0.76)
$\geq 1.000 \times 10^7$	24	21(87.50)	12(57.14)	3(14.29)	5(23.81)	1(4.76)
合计	548	407(74.27)	155(38.08)	145(35.63)	96(23.59)	11(2.70)

^a $P < 0.05$ vs $\leq 1.000 \times 10^3$ 、 $(1.000-9.999) \times 10^5$ 、 $(1.000-9.999) \times 10^6$ 和 $\geq 1.000 \times 10^7$ 组; ^c $P < 0.05$ vs $(1.001-9.999) \times 10^3$ 、 $(1.000-9.999) \times 10^5$ 、 $(1.000-9.999) \times 10^6$ 和 $\geq 1.000 \times 10^7$ 组。

表 4 不同ALT水平的HCV感染者病毒基因亚型分布情况 $n(\%)$

ALT水平(μ /L)	n	检出(率)	1b ⁺ /2a ⁻	2a ⁺ /1b ⁻	1b+2a	1a+/2b
≤ 40	248	178(71.77)	63(35.39)	73(41.02) ^c	35(19.66)	7(3.93)
41-80	157	126(80.25)	57(45.24)	35(27.78)	33(26.19)	1(0.79)
81-200	99	74(74.75)	31(41.89)	22(29.73)	20(27.03)	1(1.35)
>200	31	23(74.19)	3(13.04) ^a	14(60.87) ^e	6(26.09)	0(0)
合计	535	401(74.95)	154(38.40)	144(35.92)	94(23.44)	9(2.24)

^a $P < 0.05$ vs ≤ 40 组、41-80组和81-200组; ^c $P < 0.05$ vs 81-200组; ^e $P < 0.05$ vs 41-80组和81-200组。

0.059)。在不同ALT水平上HCV基因亚型总体分布见表4, 差异显著($\chi^2 = 20.612$, $P = 0.014$), 主要体现在ALT水平>200组中1b⁺/2a⁻比率较其他各组均显著降低(≤ 40 组: 13.04% vs 35.39%, $\chi^2 = 4.613$, $P = 0.032$; 41-80组: 13.04% vs 45.24%, $\chi^2 = 8.381$, $P = 0.004$; 81-200组: 13.04% vs 41.89%, $\chi^2 = 6.414$, $P = 0.011$); 而2a⁺/1b⁻比率较41-80组和81-200组均显著增高(60.87% vs 27.78%, $\chi^2 = 9.650$, $P = 0.002$; 60.87% vs 29.73%, $\chi^2 = 7.290$, $P = 0.007$)。在ALT水平 ≤ 40 组2a⁺/1b⁻比率较81-200组有意义的增高(41.02% vs 29.73%, $\chi^2 = 5.641$, $P = 0.018$)。又通过秩检验1b⁺/2a⁻、2a⁺/1b⁻、1b+2a

和1a+/2b 4组的ALT水平秩均值分别为203.05、192.39、220.20和103.17, 在总体上也有统计学差异($\chi^2 = 9.835$, $P = 0.020$), 但组间(1b⁺/2a⁻、2a⁺/1b⁻和1b+2a)两两比较并无差异, 只是分别与1a+/2b组之间比较有差异($u = -2.565$, $P = 0.010$; $u = -2.241$, $P = 0.025$; $u = -2.786$, $P = 0.005$)。说明主要HCV基因型分布在ALT水平秩均值上无差异, 但在不同ALT水平上有差异。

3 讨论

我们对本地区1 313例慢性HCV感染患者外周血中HCV基因型1a、1b、2a和2b检测结果的回顾

性分析发现, 在检出的基因型中以1b(41.86%)、2a(34.30%)及二者的混合型(21.25%)为主, 1a和2b少见, 说明该地区流行的HCV基因型是1b和2a, 高达97%, 与我国HCV基因型的分布相符^[3,15], 反映了该地区HCV基因型的流行特征和趋势. 根据报道1b和2a的感染比率已逐年下降^[16,17], 2a在巴基斯坦等国家已根除^[15]. 一方面原因是1b和2a的传播主要与输血、血液制品的应用、手术和拔牙或牙处理等传统传播途径有关, 随着医疗政策的完善和医疗条件的改善, 二者的感染比率已逐年下降; 另外一个重要原因是2a对抗病毒治疗有持续的高反应性^[18,19], 尤其是目前的联合治疗又大大提高了1b对抗病毒治疗的反应性, 由原来的40%升高到70%以上^[20-22]. 所以本地区HCV感染有望得到较好的控制.

我们也分析了基因型分布与性别、年龄、HCV RNA水平和ALT水平等的关系, 发现了一些有意义的差异, 如2a在女性组、HCV RNA $(1.000-9.999) \times 10^4$ 组、ALT水平>200组和 ≤ 40 组比率均有意义的增高, 而1b在HCV RNA $(1.000-9.999) \times 10^4$ 组和ALT水平>200组均有意义的降低, 但未发现与年龄有关. 在Yan等^[16]对中国东南地区1 208例患者的基因型分布情况和变化的报道中, 2a在女性中比例较高, Roman等^[23]也有类似的报道. Yan等^[16]认为主要基因型分布与HCV RNA平均水平无关, 但我们与Ali和Rong等^[24,25]的研究均发现主要基因型分布在不同HCV RNA水平上是有差异的, 这可能与资料的选择和统计学方法有关, 本研究资料的秩和检验的秩均值也未发现主要基因型分布与HCV RNA水平有关. 同样的原因也可能说明主要基因型分布在不同ALT水平上有差异, 但在秩和检验的秩均值中未发现差异的现象^[26]. 据报道基因型分布在年龄上的差异主要是由于当地优势传播途径的变化, 使得年轻人中以3型和6型为主, 而30或40岁以上感染的HCV仍以亚型1b和2a为主^[16]. 在本研究中, 我们只检测了1型和2型, 但检出率达70%以上, 且以1b和2a为主, 说明本地区未发生优势传播途径的变化, 所以未发现基因型分布与年龄有关. 但70.60%的检出率略显低, 分析其原因: (1)未严格控制HCV RNA的含量, 有较低或未检出者影响了检出率; (2)可能存在其他基因型或本地区特征性基因型, 有必要开展进一步研究; (3)方法学需要改进^[27].

总之, 通过本研究了解了本地区HCV主要流行株是1b和2a. 2a在女性组、HCV RNA

$(1.000-9.999) \times 10^4$ 组、ALT水平>200组和 ≤ 40 组比率均有意义的增高, 而1b在HCV RNA $(1.000-9.999) \times 10^4$ 组和ALT水平>200组均有意义的降低, 未发现与年龄有关. 随着医疗条件的改善和联合治疗的开展, 本地区HCV感染有望得到较好的控制, 但也面临着巨大挑战^[28-30].

4 参考文献

- 1 Negro F, Alberti A. The global health burden of hepatitis C virus infection. *Liver Int* 2011; 31 Suppl 2: 1-3 [PMID: 21651699 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02537.x]
- 2 Alghamdi AS, Sanai FM, Ismail M, Alghamdi H, Alswat K, Alqutub A, Altraif I, Shah H, Alfaleh FZ. SASLT practice guidelines for the management of hepatitis C virus infection: summary of recommendations. *Saudi J Gastroenterol* 2012; 18: 293-298 [PMID: 23006455 DOI: 10.4103/1319-3767.101121]
- 3 赵璐, 冯悦, 夏雪山. HCV基因型的差异性流行与进化. *遗传* 2012; 34: 666-672
- 4 Goldfield M. Some epidemiologic studies of transfusion-associated hepatitis. *Infusionstherapie* 1974; 1: 645-649 [PMID: 4219402]
- 5 Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-362 [PMID: 2523562]
- 6 Houghton M. Discovery of the hepatitis C virus. *Liver Int* 2009; 29 Suppl 1: 82-88 [PMID: 19207970 DOI: 10.1111/j.1478-3231]
- 7 Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, Chan SW, McOmish F, Irvine B, Beall E, Yap PL, Kolberg J, Urdea MS. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J Gen Virol* 1993; 74: 2391-2399 [PMID: 8245854 DOI: 10.1099/0022-1317-74-11-2391]
- 8 Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S, Halfon P, Inchauspé G, Kuiken C, Maertens G, Mizokami M, Murphy DG, Okamoto H, Pawlotsky JM, Penin F, Sablon E, Shin-I T, Stuyver LJ, Thiel HJ, Viazov S, Weiner AJ, Widell A. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005; 42: 962-973 [PMID: 16149085 DOI: 10.1002/hep.20819]
- 9 Attaullah S, Khan S, Ali I. Hepatitis C virus genotypes in Pakistan: a systemic review. *Virol J* 2011; 8: 433 [PMID: 21902822 DOI: 10.1186/1743-422X-8-433]
- 10 Alexopoulou A, Papatheodoridis GV. Current progress in the treatment of chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6060-6069 [PMID: 23155334 DOI: 10.3748/wjg.v18.i42.6060]
- 11 Mangia A, Mottola L. What's new in HCV genotype 2 treatment. *Liver Int* 2012; 32 Suppl 1: 135-140 [PMID: 22212584 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02710.x]
- 12 Tian D, Li L, Liu Y, Li H, Xu X, Li J. Different HCV genotype distributions of HIV-infected individuals in Henan and Guangxi, China. *PLoS One* 2012; 7: e50343 [PMID: 23226265 DOI: 10.1371/journal.pone.0050343]
- 13 Cho EJ, Jeong SH, Han BH, Lee SU, Yun BC, Park ET. Hepatitis C virus (HCV) genotypes and the influence of HCV subtype 1b on the progression of

■名词解释

准种: 感染者体内形成的以一个优势株为主的相关突变株病毒群.

■同行评价

本文思路清晰, 设计合理, 能与临床密切结合, 有一定实用意义.

- chronic hepatitis C in Korea: a single center experience. *Clin Mol Hepatol* 2012; 18: 219-224 [PMID: 22893873 DOI: 10.3350/cmh.2012.18.2.219]
- 14 陈玮, 谢祥红, 周建丽, 王海滨. 多重PCRHCV基因分型检测方法的建立及初步应用. *传染病信息* 2007; 20: 163-164
- 15 Sievert W, Altraif I, Razavi HA, Abdo A, Ahmed EA, Alomair A, Amarapurkar D, Chen CH, Dou X, El Khayat H, Elshazly M, Esmat G, Guan R, Han KH, Koike K, Largen A, McCaughan G, Mogawer S, Monis A, Nawaz A, Piratvisuth T, Sanai FM, Sharrara AI, Sibbel S, Sood A, Suh DJ, Wallace C, Young K, Negro F. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Asia, Australia and Egypt. *Liver Int* 2011; 31 Suppl 2: 61-80 [PMID: 21651703 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02540.x]
- 16 Yan Z, Fan K, Wang Y, Fan Y, Tan Z, Deng G. Changing pattern of clinical epidemiology on hepatitis C virus infection in southwest china. *Hepat Mon* 2012; 12: 196-204 [PMID: 22550528 DOI: 10.5812/hepatmon.857]
- 17 Butt S, Idrees M, Shahid M, Amin I, Younas S, Afzal S, Akbar H, Ur Rehman I. Change in hepatitis C virus clades: a cross-sectional study of chronic HCV patients in Pakistan from 2000-2010. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30: 669-672 [PMID: 21210169 DOI: 10.1007/s10096-010-1138-1]
- 18 Idrees M, Riazuddin S. A study of best positive predictors for sustained virologic response to interferon alpha plus ribavirin therapy in naive chronic hepatitis C patients. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 5 [PMID: 19152711 DOI: 10.1186/1471-230X-9-5]
- 19 Grassi E, Aghemo A. How to optimize HCV therapy in genotype 2 patients. *Liver Int* 2013; 33 Suppl 1: 35-40 [PMID: 23286844 DOI: 10.1111/liv.12056]
- 20 Asselah T. Triple therapy with boceprevir or telaprevir for prior HCV non-responders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2012; 26: 455-462 [PMID: 23199504 DOI: 10.1016/j.bpg.2012.09.003]
- 21 Jesudian AB, Jacobson IM. Optimal treatment with telaprevir for chronic HCV infection. *Liver Int* 2013; 33 Suppl 1: 3-13 [PMID: 23286840 DOI: 10.1111/liv.12079]
- 22 I-Shyan S, Chun-Yen L, Wen-Juei J, Chang-Wen H, Chien-Hao H, Ji-Yih C. Patients younger than forty years old with hepatitis C virus genotype-1 chronic infection had treatment responses similar to genotype-2 infection and not related to interleukin-28B polymorphism. *Ann Hepatol* 2013; 12: 62-69 [PMID: 23293195]
- 23 Roman F, Hawotte K, Struck D, Ternes AM, Servais JY, Arendt V, Hoffman P, Hemmer R, Staub T, Seguin-Devaux C, Schmit JC. Hepatitis C virus genotypes distribution and transmission risk factors in Luxembourg from 1991 to 2006. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1237-1243 [PMID: 18300350 DOI: 10.3748/wjg.14.1237]
- 24 Ali A, Nisar M, Ahmad H, Saif N, Idrees M, Bajwa MA. Determination of HCV genotypes and viral loads in chronic HCV infected patients of Hazara Pakistan. *Virol J* 2011; 8: 466 [PMID: 21982599 DOI: 10.1186/1743-422X-8-466]
- 25 Rong X, Lu L, Wang J, Xiong H, Huang J, Chen J, Huang K, Xu R, Wang M, Zhang X, Guo T, Liu Y, Gao G, Fu Y, Nelson KE. Correlation of Viral Loads with HCV Genotypes: Higher Levels of Virus Were Revealed among Blood Donors Infected with 6a Strains. *PLoS One* 2012; 7: e52467 [PMID: 23285053 DOI: 10.1371/journal.pone.0052467]
- 26 Zhang GY, Pu SB, Yu XY, Yang J, Shi JF, Xu AL, Guo ZH, Qiao MG, Zhang J, Jing YZ. [Study on hepatitis C virus genotypes in Yantai district, Shandong province]. *Zhonghua Shiyan He Linchuang Bingduxue Zazhi* 2012; 26: 259-262 [PMID: 23189838]
- 27 Cai Q, Zhao Z, Liu Y, Shao X, Gao Z. Comparison of three different HCV genotyping methods: Core, NS5B sequence analysis and line probe assay. *Int J Mol Med* 2013; 31: 347-352 [PMID: 23241873 DOI: 10.3892/ijmm.2012.1209]
- 28 Nucara S, Caroleo B, Guadagnino V, Perrotti N, Trapasso F. Natural history and clinical response: "it's the virus, stupid, or is it the host?". *BMC Infect Dis* 2012; 12 Suppl 2: S6 [PMID: 23173731 DOI: 10.1186/1471-2334-12-S2-S6]
- 29 Petta S, Craxi A. How to optimize HCV therapy in genotype 1 patients: predictors of response. *Liver Int* 2013; 33 Suppl 1: 23-29 [PMID: 23286842 DOI: 10.1111/liv.12053]
- 30 Chopra A, Klein PL, Drinnan T, Lee SS. How to optimize HCV therapy in genotype 1 patients: management of side-effects. *Liver Int* 2013; 33 Suppl 1: 30-34 [PMID: 23286843 DOI: 10.1111/liv.12080]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭死亡相关因素分析127例

邢霖远, 余祖江

邢霖远, 余祖江, 郑州大学第一附属医院感染科 河南省郑州市 450052

邢霖远, 硕士, 主要从事病毒性肝炎抗病毒治疗的研究.

作者贡献分布: 本研究由邢霖远与余祖江共同完成.

通讯作者: 余祖江, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院感染科. 18037688733@163.com

收稿日期: 2013-01-07 修回日期: 2013-01-27

接受日期: 2013-01-29 在线出版日期: 2013-02-28

Causes of death in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure: An analysis of 127 cases

Ji-Yuan Xing, Zu-Jiang Yu

Ji-Yuan Xing, Zu-Jiang Yu, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Zu-Jiang Yu, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, China. 18037688733@163.com

Received: 2013-01-07 Revised: 2013-01-27

Accepted: 2013-01-29 Published online: 2013-02-28

Abstract

AIM: To analyze the causes of death in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure (HBV-ACLF) and discuss independent risk factors for death associated with HBV-ACLF.

METHODS: Clinical data for 127 patients with HBV-ACLF were retrospectively analyzed. Univariate analysis was initially performed to identify significant factors affecting death in patients with HBV-ACLF. The identified significant factors were then included in multivariate and unconditioned Logistic regression analysis.

RESULTS: Logistic regression analysis revealed that total bilirubin, blood ammonia, creatinine and blood sodium were significantly associated with death in patients with HBV-ACLF ($EXP = 1.025, 1.063, 0.611, 1.047$, all $P < 0.05$). Patients often died from a variety of complications, including hepatorenal syndrome (27%) and hepatic encephalopathy (21%).

CONCLUSION: Total bilirubin, blood ammonia and creatinine are independent risk factors for death associated with HBV-ACLF, while blood sodium is an independent protective factor.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B virus; Liver failure; Hepatitis B

Xing JY, Yu ZJ. Causes of death in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure: An analysis of 127 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 537-540
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/537.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i6.537>

摘要

目的: 分析乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭(HBV-ACLF)的死亡原因, 探讨引起HBV-ACLF死亡的独立危险因素.

方法: 回顾性分析乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭患者127例的临床资料. 以 t 检验筛选出有统计学意义的危险因素, 再进行Logistic回归分析影响死亡的危险因素.

结果: 经单因素分析和多因素非条件Logistic回归分析结果显示, 两组间血清总胆红素、血氨、血肌酐、血钠的差异有显著性(EXP 值分别为1.025、1.063、0.611、1.047, 均 $P < 0.05$). 死亡组患者均死于多种并发症, 其中, 肝肾综合征27%、肝性脑病21%.

结论: 血清总胆红素、血氨、血肌酐是HBV-ACLF患者死亡的独立危险因素, 血钠是独立保护因素.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 乙型肝炎病毒; 肝衰竭; 乙型肝炎

邢霖远, 余祖江. 乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭死亡相关因素分析127例. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 537-540
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/537.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i6.537>

■背景资料

乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭(HBV-ACLF)是指在慢性肝病(通常是指肝硬化)的基础上, 在急性损伤因素的作用下, 短期(2-4 wk)内发生急性肝功能失代偿的一种严重的临床综合征, 临床表现为黄疸、凝血机制障碍和多脏器功能衰竭等, 经积极救治后, 病死率仍很高. HBV-ACLF是我国肝衰竭中最常见的类型, 占80%-90%.

■同行评议者

赵秀英, 副教授, 首都医科大学附属北京佑安医院; 白浪, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心; 彭亮, 副主任医师, 中山大学附属第三医院感染科

■相关报道

目前研究证明: 甲胎蛋白、凝血酶原活动度、MELD评分对于判断HBV-ACLF的预后及转归均有重要意义。

0 引言

乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭(hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure, HBV-ACLF)是指在慢性肝病(通常是指肝硬化)的基础上,在急性损伤因素的作用下,短期(2-4 wk)内发生急性肝功能失代偿的一种严重的临床综合征,临床表现为黄疸、凝血机制障碍和多脏器功能衰竭等,经积极救治后,病死率仍很高。HBV-ACLF是我国肝衰竭中最常见的类型,占80%-90%^[1]。目前,对于HBV-ACLF的内科治疗还缺乏特效药物和手段,多采取综合治疗措施,积极防治各种并发症。我们通过采用Logistic回归分析HBV-ACLF死亡的独立危险因素,以期为该病的早期防治提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2005-05/2012-09郑州大学第一附属医院感染科HBV-ACLF患者127例的临床病例资料,其中男84例,年龄11-77岁,住院时间13-74 d。每份病历按统一的调查表格进行登记,记录患者住院号、姓名、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、肝功能、凝血酶原活动度(prothrombin activity, PTA)、肌酐、甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、总胆红素(total bilirubin, TB)、血氨、终末期肝病模型(model for end-stage liver disease, MELD)评分^[2]、Child-Pugh评分^[3]、住院经过及疾病转归。其中BMI、MELD评分、Child-Pugh评分标准如下: BMI = 体质量(kg)/身高(m²)。肝、肾功能检测采用深圳Mindray BS-400型全自动生化分析仪,试剂购自日本和光纯药。凝血酶原活动度(PTA)检测采用德国BE公司Compact全自动血凝分析仪,试剂为美国生产的Biopool配套试剂。血氨检测采用日本产YM3PA4130型血氨分析仪和随仪器配用的血氨测定试纸条。AFP检测采用罗氏p800全自动生化分析仪放射免疫法测定。

1.2 方法

1.2.1 分组: 以在院内死亡或自动出院随访至死亡为终点判断。存活组为出院时症状体征基本消失,肝功能明显改善(血清总胆红素<50 μmol/L, PTA>40%);死亡组为患者在院内死亡或自动出院后随访至死亡。将所收集患者临床病例资料分为存活组与死亡组,其中存活组患者76例,死亡组患者51例。

1.2.2 诊断标准: 患者诊断符合2006年中华医学会感染病学分会及肝病学会修订的《肝衰竭

表 1 Child-Pugh评分标准

临床生化指标	1分	2分	3分
肝性脑病	无	1-2	3-4
腹水	无	轻度	中、重度
总胆红素(μmol/L)	<34	34-51	>51
白蛋白(g/L)	>35	28-35	<28
凝血酶原延长(s)	<4	4-6	>6

诊疗指南》,排除合并有其他病毒性肝炎、药物及酒精性肝损害,遗传代谢性肝脏疾病、自身免疫性疾病、肿瘤;或合并严重的心、脑、肺、肾等脏器器质性病变及中、重度肝性脑病和合并胃肠道出血者。

1.2.3 MELD评分标准: 统计所有患者的肌酐、胆红素、国际标准化比值,按照以下公式进行计算: $R = 9.6 \times \ln(\text{肌酐mg/dL}) + 3.8 \times \ln(\text{胆红素mg/dL}) + 11.2 \times \ln(\text{INR}) + 6.4 \times \text{病因}$,结果取整数(胆汁淤积性和酒精性肝硬化为0,病毒等其他原因肝硬化为1)。Child-Pugh评分标准见表1。

1.2.4 患者临床资料收集: 对于两组患者分别收集治疗前、治疗中和病情最重时肝肾功能、凝血酶原活动度、甲胎蛋白、国际标准化比值、血氨、血钠等指标,对诊断为慢加急性肝衰竭时的各项基线数据进行以下分析,同时对两组并发症进行统计,进行构成比分析。

统计学处理 使用SPSS17.0软件对患者临床病例资料进行t检验,将单因素分析后差异性显著的指标进行多因素非条件Logistic回归分析,计算出独立危险因素的EXP值,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组间HBV-ACLF各指标单因素分析 两组患者在年龄、BMI、总胆红素、血氨、甲胎蛋白、血钠、血肌酐、凝血酶原活动度、MELD评分等指标均有统计学意义($P < 0.05$),Child-Pugh评分无统计学意义(表2)。

2.2 两组间各指标的多因素非条件Logistic回归分析 将上述两组间HBV-ACLF死亡因素有意义的9个变量进行多因素非条件Logistic回归分析,结果显示: 总胆红素、血肌酐、血氨是HBV-ACLF死亡的独立危险因素,血钠是HBV-ACLF死亡的独立保护因素。其他指标未进入方程(表3)。

2.3 两组死因构成比分析 存活组76例患者均未出现以下5种并发症。死亡组51例患者均死于

表 2 各指标对于生存组与死亡组之间的差异性比较

	存活组	死亡组	P值
年龄(岁)	41.11 ± 8.43	46.80 ± 9.69	0.001
体质指数	29.85 ± 1.09	20.13 ± 2.17	0
总胆红素TB(μmol/L)	292.50 ± 85.54	514.20 ± 163.13	0
血氨(μmol/L)	39.93 ± 21.65	77.88 ± 28.41	0
甲胎蛋白(ng/mL)	37.17 ± 46.89	13.78 ± 13.79	0.001
血钠(mmol/L)	137.10 ± 4.23	131.85 ± 3.18	0
凝血酶原活动度(%)	26.81 ± 7.40	14.90 ± 5.20	0
血肌酐(μmol/L)	100.41 ± 33.56	143.80 ± 42.49	0
MELD评分	20.22 ± 2.23	30.01 ± 1.29	0.001
Child-Pugh评分	3.00 ± 1.32	4.00 ± 1.11	0.122

■ 研究前沿

血肌酐是肝衰竭晚期肝肾综合征并发症的检测指标之一, 肾功能受损是肝衰竭晚期最严重的并发症之一。有资料证明, 严重肝病时的肾功能衰竭与内毒素血症密切相关。

表 3 两组间各指标的多因素非条件Logistic回归分析

因素	B	SE	Wald	P值	EXP	EXP值95%CI
总胆红素	0.025	0.008	9.373	0.002	1.025	1.009–1.041
血氨	0.062	0.023	7.243	0.007	1.063	1.017–1.112
血钠	-0.493	0.162	9.263	0.002	0.611	0.444–0.839
血肌酐	0.046	0.020	5.274	0.022	1.047	1.007–1.089

B: 偏回归系数; SE: 偏回归系数的标准误; Wald: 统计量; EXP: 优势比; EXP值95%CI: 优势比的可信区间。

多种并发症, 其中, 肝肾综合征27%、肝性脑病21%、上消化道出血10%、重度感染12%、电解质紊乱10%、合并两种或以上20%。

3 讨论

肝衰竭是多种因素引起的严重肝脏损害, 导致肝脏合成、解毒、排泄和生物转化等功能发生严重障碍或失代偿, 出现以凝血机制障碍和黄疸、肝性脑病、腹水等为主要表现的一组临床症候群。可分为4类: 急性肝衰竭、亚急性肝衰竭、慢加急性肝衰竭和慢性肝衰竭。慢加急性肝衰竭是我国肝衰竭中最常见的类型之一^[4,5], 其中HBV感染占绝对主导地位^[6]。本研究对于引起HBV-ACLF死亡的临床资料及各实验室指标进行回顾性分析, 探讨引起该病死亡的独立危险因素, 指导临床治疗。由于临床限制, 本研究的病例资料样本量较小, 还不能进行大样本的统计分析。目前研究证明: 甲胎蛋白、凝血酶原活动度、MELD评分对于判断HBV-ACLF的预后及转归均有重要意义^[7-9]。而本研究对于上述指标结果显示, 未进入Logistic回归方程, 这可能是几种指标综合作用的结果。

肝脏是胆红素摄取、结合、代谢及排泄的

场所, 一旦肝细胞病变, 其功能发生障碍, 导致血中胆红素升高。有研究显示随着血氨浓度升高, 重型肝炎的预后越差, 病死率越高。重型肝炎合并肝性脑病患者血氨浓度明显高于未合并肝性脑病的患者, 其变化随肝细胞损伤程度加重而增加, 死亡者达到最高水平, 提示血氨浓度升高是发生肝性脑病的重要预测性指标^[10]。血肌酐是肝衰竭晚期肝肾综合征并发症的检测指标之一, 肾功能受损是肝衰竭晚期最严重的并发症之一。有资料证明, 严重肝病时的肾功能衰竭与内毒素血症密切相关^[11]。全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)是促成ACLF患者发生多脏器衰竭的重要原因, 与内毒素血症有关的中性粒细胞吞噬功能缺陷与并发感染、器官功能衰竭及病死率具有显著相关性^[12,13]。本组资料发现血清总胆红素、血氨、血肌酐对于HBV-ACLF患者死亡是独立危险因素, 以上指标有助于判断HBV-ACLF的预后和转归, 指导临床综合性治疗。肝衰竭患者常合并低钠血症, 加重肝性脑病, 导致病情恶化, 甚至死亡^[14]。失代偿期肝硬化常发生机体水平衡紊乱, 导致水潴留和稀释性低钠血症, 腹水患者稀释性低钠血症的发生率可达30%, 严重低

■同行评价

本文文献引用合理, 结果可靠, 选题虽然不新颖, 但对临床医师有一定指导意义。

钠血症常提示预后不良^[15]。而HBV-ACLF患者出现稀释性低钠血症更难以纠正, 本组资料显示血钠是HBV-ACLF死亡的独立保护因素, 有助于在临床上实施有效干预稀释性低钠血症的治疗至关重要。

对于本研究, 由于临床资料局限性, 缺乏大样本的统计分析, 我们将继续收集关于HBV-ACLF的临床资料, 以期下一步进行大样本的统计分析, 获得更可靠的结果。HBV-ACLF症状复杂, 进展迅速, 病死率高, 预后不良, 原则上强调早期诊断, 早期治疗, 积极防治各种并发症。血氨、总胆红素、血肌酐、血钠作为HBV-ACLF死亡的独立因素, 在临床上应着重监测, 对于判断患者预后及转归有重要意义, 采取综合治疗, 高度警惕常见并发症的发生, 可给予积极预防性治疗, 降低病死率。

4 参考文献

- 1 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 643-646
- 2 刘青, 王泰岭. 应用MELD系统预测慢性重型肝炎的预后及其治疗效果. 中华医学杂志 2005; 85: 1773-1777
- 3 宋春辉, 陈黎明, 徐长江, 陈菊梅. 应用两种评分系统对409例肝硬化和重型肝炎病例的评估分析. 胃肠病

学和肝病杂志 2007; 16: 73-75

- 4 宋传芳, 刘冰熔. 急性肝衰竭的综合治疗. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3237-3243
- 5 徐贞秋, 徐龙, 龙涛, 程欣. 慢加亚急(急)性肝衰竭与慢性肝衰竭的临床分析. 中外医疗 2009; 27: 52
- 6 刘晓燕, 胡瑾华, 王慧芬, 陈菊梅. 1977例急性、亚急性、慢加急性肝衰竭患者的病因与转归分析. 中华肝脏病杂志 2008; 16: 772-775
- 7 夏刚, 李显勇. 甲胎蛋白含量在慢加急性肝衰竭中的临床意义. 华西医学 2009; 24: 916-917
- 8 肖时湘, 韩涛, 阚志超. 凝血酶原活动度等指标与慢性重型肝炎预后. 天津医科大学学报 2007; 13: 104, 110
- 9 陈学兵, 朱霞, 唐红. 终末期肝病3种评分体系对急性肝衰竭患者预后的评估. 世界华人消化杂志 2011; 19: 855-859
- 10 李晓光, 于永光, 王丽艳, 郭欣, 王连明. 血氨检测在临床肝脏疾病中的应用价值. 国际检验医学杂志 2012; 33: 1340-1342
- 11 韩德五. 肝功能衰竭发病机制的研究-肠源性内毒素血症假说. 肝脏病杂志 1995; 3: 134-137
- 12 Sen S, Williams R, Jalan R. The pathophysiological basis of acute-on-chronic liver failure. *Liver* 2002; 22 Suppl 2: 5-13 [PMID: 12220296]
- 13 Mookerjee RP, Stadlbauer V, Lidder S, Wright GA, Hodges SJ, Davies NA, Jalan R. Neutrophil dysfunction in alcoholic hepatitis superimposed on cirrhosis is reversible and predicts the outcome. *Hepatology* 2007; 46: 831-840 [PMID: 17680644]
- 14 郭俊芝, 刘近春. 肝硬化低钠血症转归分析. 山西医药杂志 2005; 34: 15-16
- 15 方嘉庆, 谢渭芬, 陈岳祥. 肝硬化患者稀释性低钠血症的发生机制及治疗进展. 国际消化病杂志 2010; 30: 71-72, 89

编辑 李军亮 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。

选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压在肝切除术中的应用

董志涛, 罗昆仑, 吴国忠, 李界明, 周脉涛

董志涛, 罗昆仑, 吴国忠, 李界明, 中国人民解放军第101医院普通外科 江苏省无锡市 214044

周脉涛, 中国人民解放军第101医院麻醉科 江苏省无锡市 214044

董志涛, 主治医师, 主要从事肝胆外科的相关研究。

南京军区医学科技创新课题基金资助项目, No. 10MA008

作者贡献分布: 本课题由董志涛、罗昆仑、吴国忠、李界明及周脉涛设计; 研究过程由董志涛、罗昆仑、吴国忠、李界明及周脉涛操作完成; 研究所用分析工具由董志涛提供; 数据分析由董志涛与罗昆仑完成; 论文写作由董志涛、罗昆仑、吴国忠及李界明完成。

通讯作者: 罗昆仑, 教授, 214044, 江苏省无锡市兴源北路101号, 中国人民解放军第101医院普通外科。luokl2011@126.com

电话: 0510-85142114 传真: 0510-85142057

收稿日期: 2012-12-18 修回日期: 2013-01-19

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

Application of selective semi-hepatic vascular occlusion combined with low central venous pressure in hepatectomy

Zhi-Tao Dong, Kun-Lun Luo, Guo-Zhong Wu, Jie-Ming Li, Mai-Tao Zhou

Zhi-Tao Dong, Kun-Lun Luo, Guo-Zhong Wu, Jie-Ming Li, Department of General Surgery, the 101st Hospital of Chinese PLA, Wuxi 214044, Jiangsu Province, China

Mai-Tao Zhou, Department of Anesthesiology, the 101st Hospital of Chinese PLA, Wuxi 214044, Jiangsu Province, China

Supported by: the Medical Science and Technology Innovation Research Fund of the Nanjing Military Region, No. 10MA008

Correspondence to: Kun-Lun Luo, Professor, Department of General Surgery, the 101st Hospital of Chinese PLA, Wuxi 214044, Jiangsu Province, China. luokl2011@126.com

Received: 2012-12-18 Revised: 2013-01-19

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

Abstract

AIM: To investigate the application of selective semi-hepatic vascular occlusion combined with low central venous pressure (LCVP) in hepatectomy, and to analyze its effect on liver and kidney function and systemic haemodynamics.

METHODS: The clinical data for 44 patients with liver diseases who underwent hepatectomy from January 2008 to January 2011 at our hospital

were retrospectively analyzed. The patients were randomly divided into an experimental group (group A, $n = 22$) and a control group (Group B, $n = 22$). When patients in Group A underwent hepatectomy, the central venous pressure (CVP) was controlled between 2-4 mm Hg (1 mmHg = 0.133 kPa) and blood pressure ≥ 90 mmHg, and selective semi-hepatic vascular occlusion was performed. Conventional surgical treatment was given to patients in group B. Intraoperative blood loss, blood pressure, heart rate, changes in liver and kidney function, postoperative hospital stay, and postoperative complications were compared between the two groups.

RESULTS: Intraoperative blood loss was significantly lower in group A than in group B ($350.2 \text{ mL} \pm 175.4 \text{ mL}$ vs $450.3 \text{ mL} \pm 135.1 \text{ mL}$, $P < 0.05$). Serum alanine aminotransferase (ALT) was significantly better in group A than in group B on postoperative days 1 and 3 (day 1: $514.3 \text{ U/L} \pm 215.6 \text{ U/L}$ vs $720.2 \text{ U/L} \pm 350.7 \text{ U/L}$, $P < 0.05$; day 3: $360.1 \text{ U/L} \pm 146.4 \text{ U/L}$ vs $489.1 \text{ U/L} \pm 231.5 \text{ U/L}$, $P < 0.05$). Serum albumin (ALB) on postoperative day 1 was significantly higher in group A than in group B ($37.5 \text{ g/L} \pm 2.2 \text{ g/L}$ vs $35.4 \text{ g/L} \pm 3.9 \text{ g/L}$, $P < 0.05$). There were no statistical differences in intraoperative blood pressure ($131.1 \text{ mmHg} \pm 18.8 \text{ mmHg}$ vs $129.2 \text{ mmHg} \pm 14.7 \text{ mmHg}$, $P > 0.05$), heart rate ($83.1 \text{ times/min} \pm 11.2 \text{ times/min}$ vs $75.4 \text{ times/min} \pm 12.3 \text{ times/min}$, $P > 0.05$), postoperative renal function ($P > 0.05$), hospital stay ($11.3 \text{ d} \pm 2.4 \text{ d}$ vs $12.1 \text{ d} \pm 2.2 \text{ d}$, $P > 0.05$) or rate of complications (18.2% vs 22.7% , $P > 0.05$) between the two groups.

CONCLUSION: During hepatectomy, selective semi-hepatic vascular occlusion combined with low central venous pressure is effective in reducing intraoperative blood loss, protecting liver function, reducing ischemia-reperfusion injury, and has no significant influence on renal function, postoperative hospital stay and systemic hemodynamics.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

■背景资料

肝脏切除术目前应用日益广泛, 临床上常用的阻断方法为阻断第一肝门法(Pringle法), 但此方法对肝脏功能影响较大, 易引起缺血再灌注损伤。另外, 肝门阻断后肝脏手术过程中出血主要来自肝静脉, 如何预防肝静脉出血已成为减少术中出血量的关键。本研究主要探讨选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压在肝切除术中的应用安全性及有效性, 以寻找减少肝切除手术出血的安全有效的方法。

■同行评议者

赵青川, 教授, 主任医师, 西京医院消化外科

■ 研究前沿

近年来各种肝血流阻断技术不断被报道,研究证实选择性半肝血流阻断技术可以有效地减少术中出血,减少缺血再灌注损伤。而低中心静脉压技术可以降低下腔静脉压力,降低肝静脉的压力和肝窦内的压力,可以减少肝静脉出血。

Key Words: Liver; Hepatectomy; Central venous pressure

Dong ZT, Luo KL, Wu GZ, Li JM, Zhou MT. Application of selective semi-hepatic vascular occlusion combined with low central venous pressure in hepatectomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 541-546 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/541.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.541>

摘要

目的: 探讨选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压技术(low central venous pressure, LCVP)在肝切除术中的应用及对肝肾功能及全身血流动力学的影响。

方法: 2008-01/2011-01施行肝切除术的患者44例,随机分为实验组(A组, 22例)和常规手术组(B组, 22例)。A组切肝时经药物处理使低中心静脉压(central venous pressure, CVP)维持在2-4 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa)、收缩压 \geq 90 mmHg,同时根据肝切除的不同部位选择行半肝血流阻断,对照组则按常规手术处理。比较两组术中出血量、心率、血压、肝肾功能、术后住院时间及术后并发症。

结果: A组和B组术中出血量分别为350.2 mL \pm 175.4 mL和450.3 mL \pm 135.1 mL,差异有统计学意义($P<0.05$); A组术后第1天,第3天ALT指标明显好于B组两组,差异有统计学意义(第1天: 514.3 U/L \pm 215.6 U/L vs 720.2 U/L \pm 350.7 U/L, $P<0.05$; 第3天: 360.1 U/L \pm 146.4 U/L vs 489.1 U/L \pm 231.5 U/L, $P<0.05$), A组术后第1天白蛋白水平与B组相比差异有统计学意义(37.5 g/L \pm 2.2 g/L vs 35.4 g/L \pm 3.9 g/L, $P<0.05$)。两组术中心率(83.1次/min \pm 11.2次/min vs 75.4次/min \pm 12.3次/min, $P>0.05$)、术后收缩压(131.1 mmHg \pm 18.8 mmHg vs 129.2 mmHg \pm 14.7 mmHg, $P>0.05$)、肾功能($P>0.05$)、住院时间(11.3 d \pm 2.4 d vs 12.1 d \pm 2.2 d, $P>0.05$)及并发症率(18.2% vs 22.7%, $P>0.05$)差异均无统计学意义。

结论: 在肝切除术中,选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压技术可以有效地减少术中出血量,保护肝功能,减少缺血再灌注损伤,且对患者肾功能,术后住院时间及全身血流动力学无影响。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝; 肝切除术; 中心静脉压

董志涛, 罗昆伦, 吴国忠, 李界明, 周脉涛. 选择性半肝血

流阻断联合低中心静脉压肝切除术中的应用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(6): 541-546 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/541.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.541>

0 引言

肝脏外科手术风险较高,术中出血是影响肝切除手术效果的主要原因之一。大量研究表明手术死亡率与术中出血量相关,大量失血可增加术后并发症的发生率和死亡率,也是肿瘤术后复发的高危因素之一。目前临床上常用的肝血流阻断方法为阻断第一肝门法(Pringle法),但此方法对肝功能影响较大,可引起肝脏缺血再灌注损伤。此外,阻断入肝血流后,出血主要来自肝静脉,如何控制肝静脉出血亦是手术的关键。本研究主要探讨选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压(low central venous pressure, LCVP)技术在肝切除术中对术中出血量,肝肾功能及全身血流动力学的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-01/2011-01由我院同一组医生施行肝切除术的患者44例,根据美国麻醉医师协会麻醉分级(ASA)为I-II级,其中:男29例,女15例,年龄21-75岁,随机分为实验组及对照组,其中:实验组(A组)22例:男15例,女7例,年龄34-72岁,中位年龄56岁,体质量50 kg \pm 18 kg,术前肝功能Child-Pugh分级:A级16例,B级6例;包括:原发性肝癌14例(其中右肝癌6例,左肝癌8例),合并肝炎后肝硬化8例,肿瘤直径7.5 cm \pm 2.1 cm。右肝血管瘤2例、右肝脓肿1例、左肝内胆管结石3,右肝内胆管结石2例;行左肝外叶切除6例,左半肝切除5例,右前叶切除4例,右后叶切除4例,右半肝切除3例。对照组(B组)22例:男14例,女8例,年龄31-71岁,中位年龄54岁,体质量52 kg \pm 13 kg,术前肝功能Child-Pugh分级A级17例,B级5例。其中原发性肝癌12例(其中右肝癌5例,左肝癌7例),合并肝炎后肝硬化6例,肿瘤直径6.9 cm \pm 3.1 cm、右肝血管瘤2例,左肝血管瘤1例、左肝内胆管结石4例,右肝内胆管结石3例。行左肝外叶切除5例,左半肝切除7例,右前叶切除2例,右后叶切除4例,右半肝切除4例。所有病例均行超声及增强CT检查。两组性别构成、年龄、体质量、肝硬化例数和Child-Pugh分级,手术方式差异均无统计学意义($P>0.05$)。

病例排除标准:术前合并有贫血(Hb $<$ 100 g/L)、

表 1 两组手术及术后恢复情况 ($n = 22$)

分组	术中出血(mL)	输血(mL)	手术时间(min)	肝门阻断时间(min)	术后住院时间(d)
A组	350.2 ± 175.4	312.6 ± 155.3	132.2 ± 25.3	17.3 ± 5.6	11.3 ± 2.4
B组	450.3 ± 135.1	370.1 ± 125.4	125.1 ± 21.7	18.4 ± 7.2	12.1 ± 2.2
<i>t</i> 值	2.085	1.931	1.680	1.010	1.730
<i>P</i> 值	0.027	0.082	0.215	0.162	0.179

■ 相关报道

冯龙等报道控制性低中心静脉压技术应用在精准肝切除手术中可明显降低术中出血量且对患者肾功能无明显影响。

高血压、糖尿病、心肺功能异常、凝血功能异常、肾功能不全、肝功能明显异常、腹腔脏器粘连严重, 肝门部血管解剖变异, 肿瘤侵犯肝门。

1.2 方法

1.2.1 手术方法: A组行半肝血流阻断, 通过Glisson鞘膜外途径, 不解剖第一肝门, 在第一肝门横沟上缘, 直角钳紧贴Glisson鞘膜外向后、下方分离。在食指的引导下, 直角钳在门静脉分支部和尾状叶包膜后向前穿出, 引入右肝蒂阻断带; 直角钳经左肝蒂, 小网膜囊后向前穿出, 引入左肝蒂阻断带; 切肝时, 将阻断带收紧, 即可阻断左或右肝蒂。半肝血流阻断后可见清晰的左右半肝分界线。B组应用常规Pringle法切肝, 两组均间歇性阻断血流, 每次阻断时间 ≤ 20 min, 间隔5 min; 术中处理: A组麻醉后采取15度头低倾斜位^[1], 从麻醉插管开始到肝切除完成, 控制输液速度 ≤ 75 mL/h, 尿量 ≥ 25 mL, 收缩压 ≥ 90 mmHg, 静脉使用硝酸甘油0.5-2.0 mg, 控制CVP在2-4 mmHg之间, 如效果欠佳, 可加用呋塞米10-20 mg, 如血压偏低可调节硝酸甘油的剂量及间断液体冲击。肿瘤切除并充分止血后, 用晶体液和胶体液恢复容量。术中当出血量超过全身血容量的25%或血红蛋白 < 80 g/L时开始输血。B组手术麻醉方法同A组, 术中连续监测CVP、血压及心率, 不使用硝酸甘油。

1.2.2 检测及观察指标: (1)用Datex多功能监护仪连续监测肝切除术前及术毕时血压、心率及中心静脉压; (2)术中出血量: 手术结束时根据吸引瓶中血量和纱布吸血量之和计算患者术中总出血量; (3)肝蒂阻断时间、输血量、总手术时间及术后住院时间; (4)术前及术后第1、3、7天的肝肾功能指标, 包括: 总胆红素(total bilirubin, TBIL)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、白蛋白(albumin, ALB)、尿素(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, Cr); (5)术后并发症的发生率。

统计学处理 采用SPSS软件12.0, 计量资料以mean \pm SD表示, 组间比较采用*t*检验或秩和检

验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

两组患者手术均顺利进行, 无围手术期死亡, 无术后肝衰及术后出血的发生。

2.1 两组手术及术后恢复情况 如表1所示A组术中出血量与B组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组术中输血量、肝门阻断时间、手术时间及术后住院时间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 术后肝肾功能的比较 如表2所示, A组: 术后1 d及3 d ALT与B组相比差异有统计学意义($P < 0.05$); 术后1 d白蛋白水平与B组相比差异有统计学意义($P < 0.05$); BUN、Cr、TBIL在术后各时间点比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 血流动力学变化 A组在肝切除术前收缩压水平及中心静脉压水平与B组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者肝切除术后血流动力学差异无明显统计学意义($P > 0.05$, 表3)。

2.4 并发症 术后并发症主要有肺部感染、膈下积液和胸腔积液, A组4例、B组5例, 两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组未发生术中下腔静脉及肝静脉出血和空气栓塞。术后并发膈下积液共4例, 均经超声引导下穿刺抽液治愈。胸腔积液2例, 一例自愈, 另一例经抽液治愈。肺部感染3例, 均经对症治疗后治愈。术后无大出血、胆瘘、肝功能衰竭、死亡等其他并发症发生(表4)。

3 讨论

肝切除手术中出血直接影响到治疗效果和并发症的发生率。有资料表明术中出血量与患者手术后病死率有密切关系^[2], 而大量输血可增加术后感染并发症的发生率和死亡率, 也是恶性肿瘤术后复发的危险因素。因此, 各种减少肝切除术中出血量的方法已经广泛应用于临床, 以减少术后并发症及术后肿瘤复发的发生。各种肝血流阻断方法先后应用于临床, 包括入肝血流

■创新盘点

目前肝癌切除手术中单独应用半肝血流阻断技术或者应用Pringle法联合低CVP技术的报道较多,但半肝血流阻断联合低CVP技术联合应用报告较少。

表 2 两组术前、术后肝肾功能指标的比较分析

分组	ALT(U/L)	ALB(g/L)	TBIL(μ mol/L)	BUN(μ mol/L)	Cr(μ mol/L)
A组					
术前	32.7 \pm 14.4	42.1 \pm 5.6	15.3 \pm 4.8	4.7 \pm 1.4	62 \pm 12
术后1 d	514.3 \pm 215.6 ^a	37.5 \pm 2.2 ^a	23.6 \pm 9.2	4.9 \pm 1.2	64 \pm 12
术后3 d	360.1 \pm 146.4 ^a	35.2 \pm 2.8	24.1 \pm 8.7	5.2 \pm 1.1	58 \pm 11
术后7 d	124.5 \pm 83.3	36.8 \pm 2.7	19.5 \pm 3.8	4.8 \pm 1.2	54 \pm 14
B组					
术前	34.3 \pm 12.4	41.6 \pm 4.8	16.3 \pm 3.8	4.6 \pm 1.1	63 \pm 14
术后1 d	720.2 \pm 350.7	35.4 \pm 3.9	25.7 \pm 10.2	4.8 \pm 1.4	65 \pm 12
术后3 d	489.1 \pm 231.5	34.5 \pm 2.6	23.3 \pm 9.4	5.3 \pm 1.3	61 \pm 13
术后7 d	130.4 \pm 24.8	36.5 \pm 3.6	20.7 \pm 4.9	4.7 \pm 1.2	57 \pm 15

^a $P < 0.05$ vs B组, ALT: 谷丙转氨酶; ALB: 白蛋白; TBIL: 总胆红素; BUN: 尿素; Cr: 肌酐。

表 3 两组血流动力学指标的变化

分组	心率(次/min)		收缩压(mmHg)		中心静脉压(mmHg)	
	肝切除前	术毕	肝切除前	术毕	肝切除前	术毕
A组	83.1 \pm 11.2	89.4 \pm 13.3	96.2 \pm 5.10	131.1 \pm 18.80	3.2 \pm 0.6	7.8 \pm 1.1
B组	75.4 \pm 12.3	91.5 \pm 15.2	122.5 \pm 24.3	129.2 \pm 14.70	8.1 \pm 1.5	8.2 \pm 1.4
<i>t</i> 值	1.560	1.120	2.214	1.430	2.839	0.958
<i>P</i> 值	0.069	0.139	0.021	0.368	0.005	0.174

表 4 两组并发症情况比较分析 ($n = 22$)

分组	并发症 n (%)	肺部感染	胸腔积液	膈下积液	胆瘘	术后出血	肝衰竭
A组	4(18.2)	1	1	2	0	0	0
B组	5(22.7)	2	1	2	0	0	0

阻断法、全肝血流阻断法和绕肝提拉法肝血流阻断。目前临床上使用最多的还是Pringle法和半肝血流阻断法,但Pringle法最大缺点是肝脏热缺血损害明显^[3],半肝血流阻断法的优点是保留了健侧肝脏正常血供,尤其是肠系膜血流仍可通过健侧肝脏回流入体循环,不会发生因肝门阻断造成的肠菌及内毒素移位和肠黏膜损伤,既可以减少术中失血^[4],同时也避免了健侧肝脏的缺血-再灌注损伤,半肝阻断技术可以有效延长肝血流阻断时间,国外报道可延长至60 min^[5]。术者可以从容对肝断面进行精细处理,有效防止肝切除术后肝断面出血、胆瘘、膈下感染的发生。术后肝功能损害轻,恢复快,可降低肝功能衰竭发生率,尤其适用于肝硬化和慢性肝病患者^[6]。

当肝门阻断后,出血的风险主要来自分离肝实质过程中肝静脉和肝短静脉的出血。尽管全

肝血流阻断或者阻断下腔静脉能减少肝静脉血流,但是操作复杂,创伤较大,对全身血流动力学影响较大,可能会增加并发症的发生率^[7]。文献报道,CVP的降低可减少肝切除手术出血^[8,9],所导致的大量出血。依据泊肃叶层流公式知道,肝静脉血管损伤引起的出血量与血管壁的压差和血管半径的4次方成正比($Q = \Delta p r^4$),当CVP下降时,下腔静脉压力随之下降,肝静脉的压力和肝窦内的压力亦随之下降,使血管壁的压差降低,同时也缩小了血管半径,因而能明显降低患者术中的出血量^[10]。术中低CVP可以使腔静脉及其分支静脉塌陷,利于肝脏后侧和主要静脉的解剖,因此在横断肝实质时的出血量大为减少,节省了手术时间,还可使由于无意损伤的静脉特别是肝静脉主干导致的大出血变得更容易控制。目前临床肝切除术中的低CVP一般是指CVP < 5 mmHg^[11],结合国内外研究现状,我们将

CVP水平设置在2-4 mmHg之间。

综合两种方法各自的优点, 本研究将选择性半肝血流阻断联合低技术应用于肝切除术中, 取得了预期的效果。A组出血量明显少于对照组, 而手术时间及住院时间无明显延长, 并发症指标差异无统计学意义, 说明在采用半肝血流阻断联合低CVP技术, 可以明显减少术中出血量, 有利于手术操作及患者的恢复。A组术后ALT、ALB水平均低于单一应用Pringle法, 说明选择性半肝血流阻断技术可以减轻肝脏的缺血再灌注损伤, 对肝功能损害较轻^[12]。术后两组肾功能及血流动力学指标差异无统计学意义, 说明在低中心静脉压状态下各组织器官仍可以得到有效的灌注, 不会对肾功能造成影响, 对全身血流动力学亦无明显影响^[13], 是安全可靠的。

本研究结果显示, 半肝血流阻断联合低中心静脉压技术有以下优点^[14,15]: (1)降低下腔静脉压力, 有效减少术中肝静脉及肝短静脉出血; (2)防止健侧肝脏缺血再灌注损伤, 可减少对肝功能的损害^[16], 尤其适合肝硬化和慢性肝病患者; (3)操作简便, 不需解剖肝门部, 降低了手术风险, 尤其适用基层医院开展; (4)可延长阻断时间, 从容对肝断面进行精细处理, 减少术后并发症的发生; (5)本研究术中控制CVP的技术并不复杂, 在一般医院即能开展实施; (6)可保持全身血流动力学稳定, 对其他脏器功能影响较小。

但该联合技术应用时需注意以下几个问题: (1)术前需通过影像学了解肝门部血管解剖有无变异; (2)注意预防肾功能损害: 术中收缩压维持在90 mmHg以上; 术中每小时尿量至少25 mL; 肝切除后立即扩容; (3)术中防止静脉栓塞: 头低脚高位增加回心血流量; 尽快缝合肝脏断面; 麻醉时避免使用笑气, 并加强呼气末CO₂的监测。

本研究结果显示, 选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压技术在肝切除术中是安全、有效的, 可操作性强, 有进一步临床研究及应用价值。

4 参考文献

- 1 Sand L, Rizell M, Houlitz E, Karlsen K, Wiklund J, Odenstedt Hergès H, Stenqvist O, Lundin S. Effect of patient position and PEEP on hepatic, portal and central venous pressures during liver resection. *Acta Anaesthesiol Scand* 2011; 55: 1106-1112 [PMID: 22092208 DOI: 10.1111/j.1399-6576.2011.02502.x]
- 2 Hanazaki K, Kajikawa S, Shimozawa N, Matsushita A, Machida T, Shimada K, Yazawa K, Koide N, Adachi W, Amano J. Perioperative blood transfusion and survival following curative hepatic resection for hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 524-529 [PMID: 15816471]
- 3 Kaneko H, Tamura A, Ishii T, Maeda T, Katagiri T, Ishii J, Kubota Y, Suzuki T, Tsuchiya M, Otsuka Y, Yamazaki K, Watanabe M, Tatsuo T. Bacterial translocation in small intestinal ischemia-reperfusion injury and efficacy of Anti-CINC antibody treatment. *Eur Surg Res* 2007; 39: 153-159 [PMID: 17337893 DOI: 10.1159/000100328]
- 4 Furrer K, Deoliveira ML, Graf R, Clavien PA. Improving outcome in patients undergoing liver surgery. *Liver Int* 2007; 27: 26-39 [PMID: 17241378 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01416.x]
- 5 Wen T, Chen Z, Yan L, Li B, Zeng Y, Wu G, Zheng G. Continuous normothermic hemihepatic vascular inflow occlusion over 60 min for hepatectomy in patients with cirrhosis caused by hepatitis B virus. *Hepatol Res* 2007; 37: 346-352 [PMID: 17441807 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2007.00061.x]
- 6 Ercolani G, Ravaioli M, Grazi GL, Cescon M, Del Gaudio M, Vetrone G, Zanello M, Pinna AD. Use of vascular clamping in hepatic surgery: lessons learned from 1260 liver resections. *Arch Surg* 2008; 143: 380-387; discussion 388 [PMID: 18427026 DOI: 10.1001/archsurg.143.4.380]
- 7 Fu SY, Lau WY, Li AJ, Yang Y, Pan ZY, Sun YM, Lai EC, Zhou WP, Wu MC. Liver resection under total vascular exclusion with or without preceding Pringle manoeuvre. *Br J Surg* 2010; 97: 50-55 [PMID: 20013928 DOI: 10.1002/bjs.6841]
- 8 Uchiyama K, Ueno M, Ozawa S, Hayami S, Kawai M, Tani M, Mizumoto K, Haba M, Hatano Y, Yamae H. Half clamping of the infrahepatic inferior vena cava reduces bleeding during a hepatectomy by decreasing the central venous pressure. *Langenbecks Arch Surg* 2009; 394: 243-247 [PMID: 18343943 DOI: 10.1007/s00423-008-0297-3]
- 9 Alkozai EM, Lisman T, Porte RJ. Bleeding in liver surgery: prevention and treatment. *Clin Liver Dis* 2009; 13: 145-154 [PMID: 19150318 DOI: 10.1016/j.cld.2008.09.012]
- 10 Vassiliou I, Arkadopoulos N, Stafyla V, Theodoraki K, Yiallourou A, Theodosopoulos T, Kotis G, Fragoulidis G, Kotsis T, Smyrniotis V. The introduction of a simple maneuver to reduce the risk of postoperative bleeding after major hepatectomies. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009; 16: 552-556 [PMID: 19381431 DOI: 10.1007/s00534-009-0100-z]
- 11 Smyrniotis V, Kostopanagiotou G, Theodoraki K, Tsantoulas D, Contis JC. The role of central venous pressure and type of vascular control in blood loss during major liver resections. *Am J Surg* 2004; 187: 398-402 [PMID: 15006570 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2003.12.001]
- 12 Tsujita E, Taketomi A, Kitagawa D, Itoh S, Harimoto N, Gion T, Kohnoe S, Maehara Y. Selective hepatic vascular exclusion for the hepatic resection of HCC. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 527-530 [PMID: 17523313]
- 13 Ryu HG, Nahm FS, Sohn HM, Jeong EJ, Jung CW. Low central venous pressure with milrinone during living donor hepatectomy. *Am J Transplant* 2010; 10: 877-882 [PMID: 20420642 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2010.03051.x]
- 14 Feng ZY, Xu X, Zhu SM, Bein B, Zheng SS. Effects of low central venous pressure during preanhepatic phase on blood loss and liver and renal function in liver transplantation. *World J Surg* 2010; 34: 1864-1873 [PMID: 20372900 DOI: 10.1007/s00268-

■应用要点

选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压技术在肝切除术中是安全、有效的, 可操作性强, 有进一步临床研究及应用价值。

■同行评价

本文对临床工作具有一定的指导意义。

- 010-0544-y]
- 15 Figueras J, Llado L, Ruiz D, Ramos E, Busquets J, Rafecas A, Torras J, Fabregat J. Complete versus selective portal triad clamping for minor liver resections: a prospective randomized trial. *Ann*

Surg 2005; 241: 582-590 [PMID: 15798459 DOI: 10.1097/01.sla.0000157168.26021.b8]

- 16 周松, 薛小军, 李冉冉, 陈达丰, 陈文有, 刘广欣, 柯恩明, 郑硕云. 肝断面血流阻断器在肝癌切除术中的应用. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 790-794

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》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)所有作者均审阅过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

2 稿件修改

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

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期); 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《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。

内镜胆道金属支架联合鼻胆管引流姑息性治疗恶性胆道梗阻

韩今朝, 秦鸣放

韩今朝, 天津医科大学研究生院 天津市 300070
秦鸣放, 天津市南开医院, 天津微创外科中心 天津市 300100
韩今朝, 硕士, 主要从事中西医结合的临床研究。
作者贡献分布: 韩今朝与秦鸣放对此文所作贡献均等; 此研究由韩今朝与秦鸣放设计; 研究过程由秦鸣放操作完成; 资料采集与数据分析由韩今朝完成; 论文写作由韩今朝完成。
通讯作者: 秦鸣放, 教授, 300100, 天津市南开区三纬路, 天津市南开医院, 天津微创外科中心。 ila157@yahoo.com.cn
电话: 022-27435266
收稿日期: 2012-12-19 修回日期: 2013-01-20
接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

Endoscopic metal biliary endoprosthesis combined with endoscopic nasobiliary drainage for palliative treatment of malignant biliary obstruction

Jin-Zhao Han, Ming-Fang Qin

Jin-Zhao Han, Graduate School of Tianjin Medical University, Tianjin 300100, China
Ming-Fang Qin, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin Minimally Invasive Surgery Center, Tianjin 300100, China
Correspondence to: Ming-Fang Qin, Professor, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin Minimally Invasive Surgery Center, Sanwei Road, Nankai District, Tianjin 300100, China. ila157@yahoo.com.cn
Received: 2012-12-19 Revised: 2013-01-20
Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

Abstract

AIM: To explore the clinical effect of endoscopic metal biliary endoprosthesis (EMBE) combined with endoscopic nasobiliary drainage (ENBD) in the palliative treatment of malignant biliary obstruction.

METHODS: The clinical data for 68 patients with malignant biliary obstruction who underwent endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) for EMBE and ENBD from April 2010 to October 2012 were reviewed and analyzed.

RESULTS: ERCP and biliary stent placement were successful in 64 of 68 cases, and the suc-

cess rate was 94.12%. Jaundice obviously subsided in 95.31% of patients one week after stent placement. Postoperatively, liver function was improved significantly. There were 5 cases of complications, including hyperamylasemia in 3 cases, acute pancreatitis in 1 case and acute cholangitis in 1 case. Fifty-eight patients were followed postoperatively, and their average survival time was 10 mo \pm 2.30 mo (3-26 mo). The half-year, 1-year and 2-year survival rates were 67.24% (39/58), 43.10% (25/58) and 5.17% (3/58), respectively. The average stent patency time was 4 mo \pm 2.26 mo (0-9 mo).

CONCLUSION: EMBE combined with ENBD can effectively relieve biliary obstruction and improve liver function in patients with malignant biliary obstruction, and is a safe and effective palliative treatment with less invasiveness and fewer complications.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Endoscopy; Endoscopic metal biliary endoprosthesis; Endoscopic nasobiliary drainage; Malignant biliary obstruction

Han JZ, Qin MF. Endoscopic metal biliary endoprosthesis combined with endoscopic nasobiliary drainage for palliative treatment of malignant biliary obstruction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 547-552 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/547.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.547>

摘要

目的: 探讨内镜胆道金属支架置入术(endoscopic metal biliary endoprosthesis, EMBE)联合鼻胆管引流术(endoscopic naso-biliary drainage, ENBD)姑息性治疗恶性胆道梗阻的临床效果及应用价值。

方法: 回顾了2010-04至2012-10行内镜逆行胆胰管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)并放置EMBE联合ENBD的68例恶性胆道梗阻患者的临床资料, 对其疗

■背景资料

恶性胆道梗阻在临床上较为常见, 该病起病隐匿, 一旦就诊时多已发展至晚期, 失去手术根治的机会, 如何解除梗阻、消除黄疸, 进行有效的胆道引流, 从而减轻患者的痛苦、延长生存时间、提高生存质量成为了治疗此类疾病的关键。

■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

■ 研发前沿

近年来随着内镜及介入技术的发展与成熟,经内镜下胆道引流术已广泛应用于各种原因导致的恶性胆道梗阻,他对解除梗阻、恢复胆汁引流、缓解患者的全身症状具有确切的疗效,在恶性胆道梗阻的治疗中发挥了越来越大的作用。

效、并发症、术后生存时间及支架通畅时间进行分析。

结果: 68例患者中行ERCP并放置胆道金属支架成功64例,失败4例,成功率为94.12%(64/68);支架置入术后1 wk黄疸明显消退,肝功能各项指标较术前显著改善,黄疸消退有效率为95.31%;术后并发症5例,其中高淀粉酶血症3例,急性胰腺炎1例、急性胆管炎1例,经保守治疗后痊愈;术后随访58例患者,平均生存时间为10.00 mo \pm 2.30 mo(3-26 mo),半年生存率为67.24%(39/58),1年生存率为43.10%(25/58),2年生存率为5.17%(3/58);平均支架通畅时间为4.00 mo \pm 2.26 mo(0-9 mo)。

结论: 胆道金属支架置入术联合鼻胆管引流术可以有效解除胆道梗阻,改善肝功能,同时具有创伤小、疗效确切、并发症少、符合生理、方便术后观察等优点,已成为目前治疗恶性胆道梗阻的重要方法之一,是一种安全有效的姑息性治疗手段。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 内镜;胆道金属支架;鼻胆管引流;恶性胆道梗阻

韩今朝, 秦鸣放. 内镜胆道金属支架联合鼻胆管引流姑息性治疗恶性胆道梗阻. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 547-552
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/547.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.547>

0 引言

恶性胆道梗阻在临床上较为常见,主要由肝门部胆管癌、壶腹周围癌、中段胆管癌、胰头癌或者肿瘤转移等压迫胆总管、肝总管及周围主干而引起梗阻性黄疸,临床上主要表现为黄疸进行性加重,可导致肝功能逐渐恶化,并易合并胆道感染等并发症,病情凶险,病死率高。该病起病隐匿,一旦因黄疸就诊时,多已发展至晚期,失去根治性手术的机会,故临床上主要采取胆道减压、减黄的姑息性治疗手段。随着内镜介入技术的发展与成熟,经内镜下胆道引流术已广泛应用于各种原因导致的恶性胆道梗阻,他对解除梗阻、恢复胆汁引流、缓解患者的全身症状具有确切的疗效^[1],从而延长了患者的生存时间,提高了患者的生存质量,现已成为治疗恶性胆道梗阻的首选方法。本研究对2010-04/2012-10该院普通外科收治的恶性胆道梗阻患者,通过内镜逆行胆胰管造影术

(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)行胆道金属支架置入术(endoscopic metal biliary endoprosthesis, EMBE)联合鼻胆管引流术(endoscopic naso-biliary drainage, ENBD)进行治疗,取得较好的效果,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-04/2012-10该院普通外科收治的恶性胆道梗阻患者68例,其中男39例,女29例,年龄42-88岁,平均64.28岁 \pm 8.10岁;根据临床症状、体征及腹部B超、CT、磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)等检查确诊并证实为无法手术切除或拒绝手术治疗的恶性胆道梗阻患者,包括胆管癌38例、壶腹部癌17例、胰头癌7例、胆囊癌侵犯胆管5例、肝癌侵犯胆管1例;临床表现为不同程度的黄疸,血清总胆红素(total bilirubin, TBIL)58.72-456.47 μ mol/L, 平均318.32 μ mol/L \pm 103.50 μ mol/L, 直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)26.53-281.56 μ mol/L, 平均158.81 μ mol/L \pm 82.32 μ mol/L, 其余肝功能指标也有不同程度的异常,并伴有皮肤瘙痒、小便色深、纳差、体质量减轻等症状,其中陶土样便30例,寒战发热18例,上腹部胀痛29例,6例有少量腹水。采用日本FUJINON公司的ED-250电子十二指肠镜、标准ERCP造影导管、美国COOK公司标准乳头切开刀、针状切开刀、德国ERBE-ICC80高频电发生器、美国BOSTON公司标准及超滑亲水导丝、气囊导管、胆道扩张探条、胆管推送导管、支架释放导管、WALLSTEN和STERCKER可膨胀胆道金属支架(直径8-10 mm, 长度50-80 mm)、鼻胆引流管(7.0-8.5 Fr)等。

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 所有患者术前行血常规、肝肾功能、血凝常规测定,行胸片、心电图常规检查,对肝功能异常者,术前3 d给予保肝、调整凝血功能等治疗。空腹8 h以上,术晨应用广谱抗生素一剂,术前口服利多卡因胶浆10 mL咽部局部麻醉,肌肉注射地西洋10 mg、哌替啶50 mg、山莨菪碱10 mg,常规心电、血压、呼吸、血氧饱和度监测。

1.2.2 手术方法: 术前仔细阅读MRCP影像资料,初步判定胆道梗阻的部位以选择拟引流区域。先行ERCP检查,经口将十二指肠镜送达十二指肠降段,寻找并观察十二指肠乳头形态,行常规乳头插管,采用以导丝引导下的选择性胆管插

表 1 治疗前后患者肝功能指标比较 (mean ± SD)

项目	TBIL(μmol/L)	DBIL(μmol/L)	ALP(U/L)	GGT(U/L)	ALT(U/L)
术前	318.32 ± 103.50	158.81 ± 82.32	284.53 ± 147.26	368.47 ± 98.52	163.56 ± 47.21
术后1 wk	133.56 ± 62.65	53.47 ± 39.25	136.66 ± 52.74	150.35 ± 56.92	70.36 ± 43.50
P值	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

TBIL: 血清总胆红素; DBIL: 直接胆红素; ALP: 碱性磷酸酶; GGT: 谷氨酰转氨酶; ALT: 谷丙转氨酶。

■ 相关报道

内镜下放置胆道塑料支架(ERBD)首先由德国的Soehendra于1979年报道;胆道金属支架于1989年由McClean等首先应用于胆道疾病,成为治疗恶性梗阻性黄疸的常规方法。

管,如遇插管困难,则行乳头括约肌预切开术。在X光透视下,使用多种方法使导丝越过胆管狭窄段,超选至扩张最明显、引流最广泛的胆管,先抽取胆汁后缓慢注入30%泛影葡胺进行造影,进一步确定梗阻部位及病变范围,判断病变可能的性质,必要时取活检或以细胞刷刷取相应组织行细胞学病理检查。再行EMBE,先插入导丝判断置入支架的可行性,然后行内镜下十二指肠乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST),通过造影管将导丝插入至胆管狭窄部以上2 cm左右处,后留置导丝退出造影管,对于胆管狭窄严重者可应用胆道扩张探条或气囊先行胆道扩张,之后选择扩张明显且引流范围最广的胆管,根据胆管狭窄的长度选择合适的胆道金属支架进行引流:将支架套于内支撑管上,由外推进器在导丝引导下将其送到预定位置,在持续X光透视和内镜控制下缓慢释放,进一步调整支架位置,以达到最佳部位,造影复查支架膨胀程度、位置及通畅情况,同时注意避免支架堵塞胆囊管及胰管开口,必要时行胰管口切开。最后放置ENBD,将引流段置入支架上方,退出导丝与内支撑管,内镜下见胆汁流入十二指肠腔内,退出外推进器,术毕。ERCP不成功者改行经皮经肝胆管引流术(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)行体外引流。

1.2.3 术后处理:术后禁食水24 h,监测生命体征(体温、脉搏、血压、呼吸),观察有无腹胀、腹痛、恶心、呕吐等症状及腹部体征,6 h后复查尿淀粉酶,1-2 d后可进流质或半流质,1 wk后可进普通饮食。术后使用广谱抗生素3-5 d及营养支持治疗,密切观察ENBD引流胆汁的情况,必要时予鼻胆管冲洗以保证其引流通畅。术后1 wk复查肝肾功能,观察黄疸消退情况及有无早期并发症出现。对于术中胰管显影次数较多者,可给予抑制胰酶分泌的药物防止术后胰腺炎发生,对于术后出现寒战发热等急性胆管炎表现的患者给予抗生素抗感染治疗。术后5-7 d经鼻胆管

造影,查看胆道通畅情况及金属支架的开放程度并决定拔除ENBD。

1.2.4 疗效评定标准:术后复查肝功能。满意:黄疸迅速消退,1 wk内TBIL下降超过1/3,或2 wk内降至50 μmol/L以下;一般:黄疸有所下降,1 wk内TBIL下降不足1/3,或2 wk内未降至50 μmol/L以下;无效:黄疸下降程度不明显甚至上升^[2]。总有效率为满意与一般之和。

1.2.5 随访:术后电话随访患者的生存时间和支架畅通时间,生存时间为自支架置入至患者死亡的时间,支架畅通时间为自支架置入至支架堵塞或患者死亡的时间。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析,计量数据以mean±SD表示,采用t检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功率 68例患者中行ERCP并放置胆道支架成功64例,成功率为94.12%。失败4例,其中2例因胆管插管困难行乳头预切开后插管仍未成功;2例为肝门部胆管癌患者,导丝未能通过肿瘤狭窄部位以上,无法放置胆道支架,改行PTCD。

2.2 疗效 支架置入术后1 wk黄疸明显消退,其中满意36例(56.25%),一般25例(39.06%),无效3例(4.69%),总有效率(满意+一般)为95.31%。肝功能各项指标较术前显著改善,差异有统计学意义($P<0.05$,表1)。患者皮肤黄染、瘙痒等症状明显减轻,大便颜色转黄,尿色变浅,食欲增加,腹痛、腹胀明显缓解。术后出现5例胆汁引流不畅,经鼻胆管行盐水冲洗,1-2 d后胆汁引流正常。5-7 d后经鼻胆管造影,显示金属支架膨胀及位置良好,胆道引流通畅,造影剂可快速排泄进入肠道,无延迟排空现象,从而放心拔除ENBD。

2.3 并发症 术后并发高淀粉酶血症3例(4.41%),急性胰腺炎1例(1.47%)、急性胆管炎1例(1.47%),早期并发症发生率为7.35%,均经保守治疗后痊愈,未见出血、穿孔及死亡发生。

■创新盘点

国内少有胆道金属支架联合鼻胆管引流治疗恶性胆道梗阻的报道, 本研究中EMBE联合ENBD为治疗的独到之处, 具备诸多优点, 为治疗此类疾病的突破与亮点。

2.4 术后生存时间及支架通畅时间 术后随访58例患者, 平均生存时间为 $10\text{ mo} \pm 2.30\text{ mo}$ (3-26 mo), 半年生存率为67.24% (39/58), 1年生存率为43.10% (25/58), 2年生存率为5.17% (3/58); 平均支架通畅时间为 $4.00\text{ mo} \pm 2.26\text{ mo}$ (0-9 mo)。

3 讨论

恶性胆道梗阻在临床上十分常见, 主要的病因包括胰头癌、胆管癌、十二指肠壶腹癌、胆囊癌及各种转移性恶性肿瘤压迫胆管所致^[3]。他可引起进行性加重的梗阻性黄疸, 导致肝功能迅速恶化, 并易发生严重的感染、胃肠道出血及肾功能衰竭, 病死率很高^[4]。根治性的外科手术是其首选治疗方案, 但该病起病隐匿, 绝大多数患者就诊时已属临床晚期, 常因原发肿瘤侵犯范围广泛、出现远处转移、患者极度消耗等原因失去了外科手术切除肿瘤的机会。有报道^[5], 胆管癌、胰腺癌引起的梗阻性黄疸手术切除率为20%-60%, 根治性切除率仅占7%, 且术后并发症发生率及手术死亡率均较高, 术后死亡率可高达15%-60%。如不及时解除梗阻, 患者往往死于长期胆道梗阻所致的肝肾功能衰竭或严重的胆道感染^[6], 而非肿瘤本身或癌肿的广泛转移。未经任何治疗的恶性胆道梗阻患者的生存期通常是3-5 mo。因此, 建议绝大部分患者行姑息性减压、减黄治疗。而如何解除胆道梗阻、消除黄疸, 进行有效的胆道引流, 以达到胆管减压、减黄的目的, 从而减轻患者的痛苦、延长生存时间、提高生存质量便成了治疗的关键。

近年来随着消化内镜及介入技术的飞速发展, 以内镜技术为代表的微创技术在恶性胆道梗阻的治疗中发挥了越来越大的作用, 在某些特殊病例中甚至已逐步取代了手术治疗。目前恶性胆道梗阻的内镜治疗主要是通过ERCP进行的, 其主要目的在于引流胆汁, 缓解胆道梗阻, 达到减轻黄疸的目的^[7]。内镜下胆管引流术具有较开腹手术更广的适应证, 通常不受年龄的限制, 有少量腹水及肝功能变化、凝血功能轻度异常的患者仍可谨慎实施。他的方法主要包括已被广泛开展的鼻胆管引流术和胆道支架置入术。

ENBD为外引流, 他可以缓解胆道压力、降低黄疸、有助于了解胆管引流效果, 控制胆道感染, 尤其对胆源性胰腺炎、急性梗阻性化脓性胆管炎等作用十分显著, 同时可为手术以及其他治疗争取时机, 避免了部分急诊开腹手术,

具有微创、便于冲洗及临床观察等特点, 临床适用范围较为广泛。但该技术将胆汁引流至体外, 易引起电解质紊乱和消化不良, 故目前只作为临时性减黄措施^[8]。

内引流方式更为合理, 适用于恶性肿瘤导致胆管狭窄、黄疸重、身体条件差、需要引流时间较长的患者。内引流并不扰乱胆汁的肝肠循环, 可减少胆汁丢失引起的电解质紊乱, 有利于患者肝功能和营养状态的改善, 同时减少了内毒素和炎性介质的释放, 但他存在胆道逆行感染的可能。目前内引流主要指胆道支架置入术, 可分为ERBD和EMBE。

ERBD首先由德国的Soehendra于1979年报道^[9], 它具有安全可靠、胆汁引流符合生理、临床护理简单等优点, 且塑料支架价格低廉, 技术相对成熟, 临床应用较为普遍, 他还可以随时更换, 重复放置, 具有较大的灵活性, 比较适合短期的治疗。ERBD也有其缺点: 管径较小、无扩张性、易被细菌黏附及胆红素钙沉淀和胆泥沉积而发生阻塞^[10]、放置后保留时间较短, 有报道^[11], 7-12 Fr的胆道塑料支架3 mo的阻塞率为20%-30%, 6 mo的阻塞率为60%-70%。

胆道金属支架于1989年由McClean等首先应用于胆道疾病^[12], 成为治疗恶性梗阻性黄疸的常规方法。其应用于临床, 具有操作简便、管径较大、扩张支撑效果好、不易堵塞等优点。与胆道塑料支架相比, 金属支架释放膨胀后外径可达7-12 mm, 能达到有效的引流效果, 金属材料表面光洁度高, 金属丝与细菌的接触面积小, 可被胆道黏膜上皮细胞所覆盖, 使得细菌和胆泥不易黏附发生阻塞, 从而预防了细菌滋生, 保持了支架的持久畅通, 所以其通畅性显著优于塑料支架。有报道^[13], 金属支架6 mo的阻塞率仅为15%, 明显低于塑料支架(60%-70%)。同时, 金属支架具有持续的弹性扩张力, 这既可维持胆道内腔的开放也能有效防止支架的移位。由于其符合生理, 安全有效, 目前已成为无法行根治切除或身体条件差、无法耐受麻醉和手术的患者进行姑息治疗的首选^[14]。尽管金属支架具备诸多优点, 但其价格昂贵, 通常是塑料支架的6-10倍, 所以临床应用常受到经济条件的限制, 尤其是恶性胆道梗阻患者采用支架治疗多属晚期, 生存时间可能不会太长, 放置金属支架是否具有更高的费效比值得研究。有学者认为^[15], 金属支架对于生存期超过6 mo的患者总花费及住院天数低于使用塑料支架者, 而生存期不超过6 mo

者则应用塑料支架更为合适. 因此对于恶性胆道梗阻患者, 选用金属支架要根据患者的生存期及经济情况综合决定. 另外因肿瘤向两端生长超出支架、血凝块或结石形成、肿瘤组织通过网眼长入支架等也会导致金属支架发生阻塞, 但金属支架堵塞后仍可进一步在原支架内继续放置金属或塑料支架, 以保持其通畅性. 为防止肿瘤生长, 最近研发出一种新型覆膜金属支架, 依靠覆膜阻挡肿瘤生长, 抑制胆泥淤积和结石形成, 延缓支架的阻塞, 与无覆膜金属支架相比, 其通畅时间更长, 能有效阻止肿瘤向内生长, 而且易于取出^[16].

PTCD也是目前对于恶性胆道梗阻姑息性治疗的一个重要手段, 他通过体外引流胆汁, 解决了胆管减压, 缓解了胆道梗阻, 达到减轻黄疸的目的. 与ERCP下放置胆道支架相比, PTCD操作相对容易, 费用较低, 手术适应证更加广泛, 很多ERCP失败的患者也常采用此方法进行姑息性治疗. 然而PTCD引流效果不稳定, 引流范围较局限, 引流导管易阻塞、滑脱, 胆汁长期引流至体外导致电解质平衡紊乱, 影响消化吸收功能, 且患者依从性差, 需长期携带引流袋, 临床护理困难, 带来生活不便, 使生活质量明显下降^[17]. 以该院同期行PTCD治疗的66例恶性胆道梗阻患者的临床资料进行对比分析, 发现其消除黄疸的效率与内镜治疗相当, 且费用较低, 但其住院时间相对较长, 术后患者易出现穿刺孔疼痛及引流管脱落等并发症, 这些缺点导致了其临床应用的局限性.

ERCP术后的早期并发症有出血、穿孔、急性胆管炎、急性胰腺炎或高淀粉酶血症等. 出血和穿孔大多与术者的技术水平和临床经验有关, 本组患者中无出血和穿孔发生. 本组患者中出现1例急性胰腺炎, 3例高淀粉酶血症, 经抗炎、抑酶等保守治疗后痊愈, 分析发生原因可能与有导丝插入胰管、EST时乳头灼伤导致胰管开口水肿、金属支架压迫有关. 术后发生急性胆管炎也较为常见, 特别是肝门部胆管癌, 国内有文献报道, ERCP术后胆管炎或胆管感染的发生率为0.35%-20.40%^[18], 这可能与术后早期金属支架膨胀不全, 引流较差有关. 本组仅出现1例, 这可能是我们强调了以下几点的结果: 根据术前CT或MRCP影像资料判断最佳引流部位; 导丝超选进入后, 造影管跟进并通过狭窄段后再行造影, 避免不必要的胰管显影; 造影前尽量抽出胆汁, 以免注入造影剂使胆道压力增大, 感

染胆汁逆流入血; 避免过多过快注入造影剂, 防止胰腺腺泡显影或胰管反复充盈; 避免造影剂进入不能充分引流的胆管而引起感染; 退镜前尽量抽出造影剂和胆汁; 尽可能缩短手术时间, 避免反复插管, 防止术后乳头严重水肿; 术后定期检查鼻胆管引流是否通畅, 及时处理. 总结起来, 针对术后早期并发症, 临床中要注意严格无菌操作、改善造影方法、提高技术水平、预防性使用抗生素等. 晚期并发症主要是支架阻塞, 已如前述. 术后患者的生存期与原发肿瘤的情况、恶性胆道梗阻的肝内外转移等密切相关. 造成患者死亡的主要原因是肿瘤自身的生长, 支架治疗仅能解除胆道梗阻, 而对肿瘤本身并无直接的治疗作用, 为延长患者的生存期, 还应配合其他治疗, 如动脉灌注化疗、定位放疗、生物免疫治疗、射频消融、光动力疗法等^[19].

在行内镜操作时还应注意以下几点: 支架长度的选择要合适, 精确测量梗阻或狭窄段上缘到乳头的距离是选择合适支架的关键, 在此长度上增加1 cm左右的支架较为合适; 进行合理、适当的EST可以使支架的放置更为容易, 并且有利于术后胆道的引流; 必要时行胆道扩张, 在实际操作中常会遇到支架难以越过狭窄段的情况, 这时可使用胆道扩张探条或气囊行胆道扩张, 多可完成支架的放置; 如为高位胆道梗阻, 支架末端不必暴露于乳头外, 可置于胆管内^[20].

本组患者在放置胆道金属支架的同时联合鼻胆管引流, 既起到了ENBD常规支撑水肿或痉挛的Oddi氏括约肌, 通畅胆汁胰液引流, 解除胆胰管汇合区暂时性梗阻的作用, 同时放置于梗阻近端的鼻胆管也可以辅助未完全膨胀的胆道金属支架引流胆汁, 缓解胆道高压和黄疸. 此外, 术后通过ENBD还可以动态观察胆道的引流, 及早发现有无胆道出血、堵塞等情况, 而且方便进行生理盐水冲洗及创面喷洒止血药等处理, 明显提高了治疗的针对性和有效性, 在很大程度上避免了行二次ERCP的可能.

目前, 内镜下放置胆道支架治疗恶性胆道梗阻的方法已日臻成熟, 对于无法手术根治的恶性胆道梗阻患者, 经ERCP放置胆道金属支架是一种安全有效的姑息性治疗手段. 他可较为持久地控制黄疸, 降低胆道感染的几率, 减轻患者的症状, 改善其生活质量, 延长生存时间, 同时具有操作简便、成功率高、创伤小、并发症少、胆汁引流符合生理、术后无需特殊护理等优点, 已成为治疗此类疾病的主要选择. 在临床

■应用要点
EMBE联合ENBD可利用鼻胆管辅助早期未完全膨胀的胆道金属支架引流胆汁, 还可通过ENBD术后观察胆道引流, 及早发现有无胆道出血、堵塞等情况, 明显提高了治疗的针对性和有效性.

■同行评议者
本文立意较新颖，
具有一定的指导
意义。

实践中，应不断归纳总结，根据不同的患者实行个体化内镜治疗方案，为恶性胆道梗阻的治疗开辟新的微创途径。

4 参考文献

- 1 刘岩, 杨光, 于友涛. 经皮肝穿刺胆道支架置放结合动脉化疗栓塞治疗恶性梗阻性黄疸. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1495-1497
- 2 龚彪. 经内镜胆道金属支架引流术治疗恶性胆道梗阻的价值. 实用肿瘤杂志 2007; 22: 911-913
- 3 Jemal A, Murray T, Samuels A, Ghafoor A, Ward E, Thun MJ. Cancer statistics, 2003. *CA Cancer J Clin* 2003; 53: 5-26 [PMID: 12568441 DOI: 10.3322/canj-clin.53.1.5]
- 4 张景成, 康丽, 王悦友, 田国利, 董来春. 经内镜塑料支架置入治疗恶性胆道梗阻17例. 中国中西医结合消化杂志 2009; 17: 61-62
- 5 夏永辉, 徐克, 苏洪英, 冯博. 晚期恶性梗阻性黄疸经皮介入治疗近期并发症的临床观察及处理. 当代医学 2009; 3: 88-90
- 6 黄志强. 胆道癌外科治疗世纪回眸. 中华普通外科杂志 2001; 16: 69-72
- 7 麻树人, 邵晓冬, 张宁. 治疗性ERCP在胆胰疾病中的应用价值. 中华消化内镜杂志 2006; 23: 31-34
- 8 董琳, 郭建阳, 黄允宁, 杨世杰, 杨勇. 内镜下双支架联合治疗恶性梗阻性黄疸的探讨. 临床肝胆病杂志 2012; 28: 103-104
- 9 Soehendra N. H. Joachim Burhenne Lecture. Common areas of interest between interventional biliary radiology and endoscopy. *AJR Am J Roentgenol* 1995; 164: 547-551 [PMID: 7863870]
- 10 Katsinelos P, Paikos D, Kountouras J, Chatzimavroudis G, Paroutoglou G, Moschos I, Gatopoulou A, Beltsis A, Zavos C, Papaziogas B. Tannenbaum and metal stents in the palliative treatment of malignant distal bile duct obstruction: a comparative study of patency and cost effectiveness. *Surg Endosc* 2006; 20: 1587-1593 [PMID: 16897286 DOI: 10.1007/s00464-005-0778-1]
- 11 Huibregtse K, Carr-Locke DL, Cremer M, Domschke W, Fockens P, Foerster E, Hagenmüller F, Hatfield AR, Lefebvre JF, Liquori CL. Biliary stent occlusion--a problem solved with self-expanding metal stents? European Wallstent Study Group. *Endoscopy* 1992; 24: 391-394 [PMID: 1505486 DOI: 10.1055/s-2007-1010505]
- 12 Rieber A, Brambs HJ. Metallic stents in malignant biliary obstruction. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1997; 20: 43-49 [PMID: 8994723 DOI: 10.1007/s002709900107]
- 13 朱明, 潘俊江, 江华山, 宇明, 杨武. ERCP放置胆道内支架治疗晚期恶性胆道梗阻42例临床分析. 重庆医学 2008; 37: 1665-1667
- 14 Reddy SB, Patel T. Current approaches to the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma. *Curr Gastroenterol Rep* 2006; 8: 30-37 [PMID: 16510032 DOI: 10.1007/s11894-006-0061-1]
- 15 Nguyen K, Sing JT. Review of endoscopic techniques in the diagnosis and management of cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2995-2999 [PMID: 18494049 DOI: 10.3748/wjg.14.2995]
- 16 李兆申, 王凯旋. 胆道恶性梗阻的内镜治疗. 肝胆外科杂志 2008; 16: 326-327
- 17 胡冰, 周岱云, 龚彪, 钱光相, 陈汉, 吴孟超. 可膨式金属胆道支架解除恶性肿瘤胆管梗阻的临床应用及其疗效分析. 中华外科杂志 1999; 37: 282-285
- 18 李兆申, 许国铭, 孙振兴, 邹晓平, 金震东, 邹多武. 诊断性与治疗性ERCP早期并发症与处理. 中华消化内镜杂志 2002; 19: 77-80
- 19 Bruha R, Pettrýl J, Kubecova M, Marecek Z, Dufek V, Urbanek P, Kodadova J, Chodounsky Z. Intraluminal brachytherapy and selfexpandable stents in nonresectable biliary malignancies--the question of long-term palliation. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 631-637 [PMID: 11462891]
- 20 吴瑜, 秦鸣放, 王庆, 勾承月, 李宁. 内镜金属支架姑息性治疗胆管远端恶性梗阻272例分析. 中国内镜杂志 2011; 17: 383-385

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》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类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 $37.6\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $45.6\text{岁} \pm 24\text{岁}$, $56.4\text{ d} \pm 0.5\text{ d}$, $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 应为 $3.56\text{ ng/L} \pm 0.27\text{ ng/L}$ 。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $1 \times 10^9/\text{L}$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 与 $5 \times 10^{-7}\text{ g}$ 之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq \text{分母} \leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/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/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<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

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

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!

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

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

傅思源 副教授
东方肝胆外科医院肝外三科

高英堂 研究员
天津市第三中心医院, 天津市肝胆疾病研究所分子细胞室

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

郭永红 副主任医师
西安交通大学医学院第二附属医院传染病学

韩天权 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

郝立强 副教授
上海长海医院普外二科

何向辉 教授
天津医科大学总医院普通外科

黄培林 教授
东南大学肿瘤学

姜慧卿 教授
河北医科大学第二医院消化科

李革 副教授
延边大学附属医院

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

刘炳亚 研究员
上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

门秀丽 教授
河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

倪才方 教授
苏州大学附属第一医院介入科

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

孙文兵 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

王蔚虹 教授
北京大学第一医院消化内科

王文跃 主任医师
中日友好医院普通外科

魏睦新 教授
南京医科大学第一附属医院

徐泱 副主任医师
复旦大学附属中山医院肝外科复旦大学肝癌研究所

姚树坤 教授
卫生部中日友好医院消化内科

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

袁红霞 研究员
天津中医药大学

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

张志坚 教授
福州总医院消化内科

周国雄 主任医师
南通大学附属医院消化内科

周晓武 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究,进一步改进了核心期刊评价方法,使之更趋科学合理,力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章:





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>

