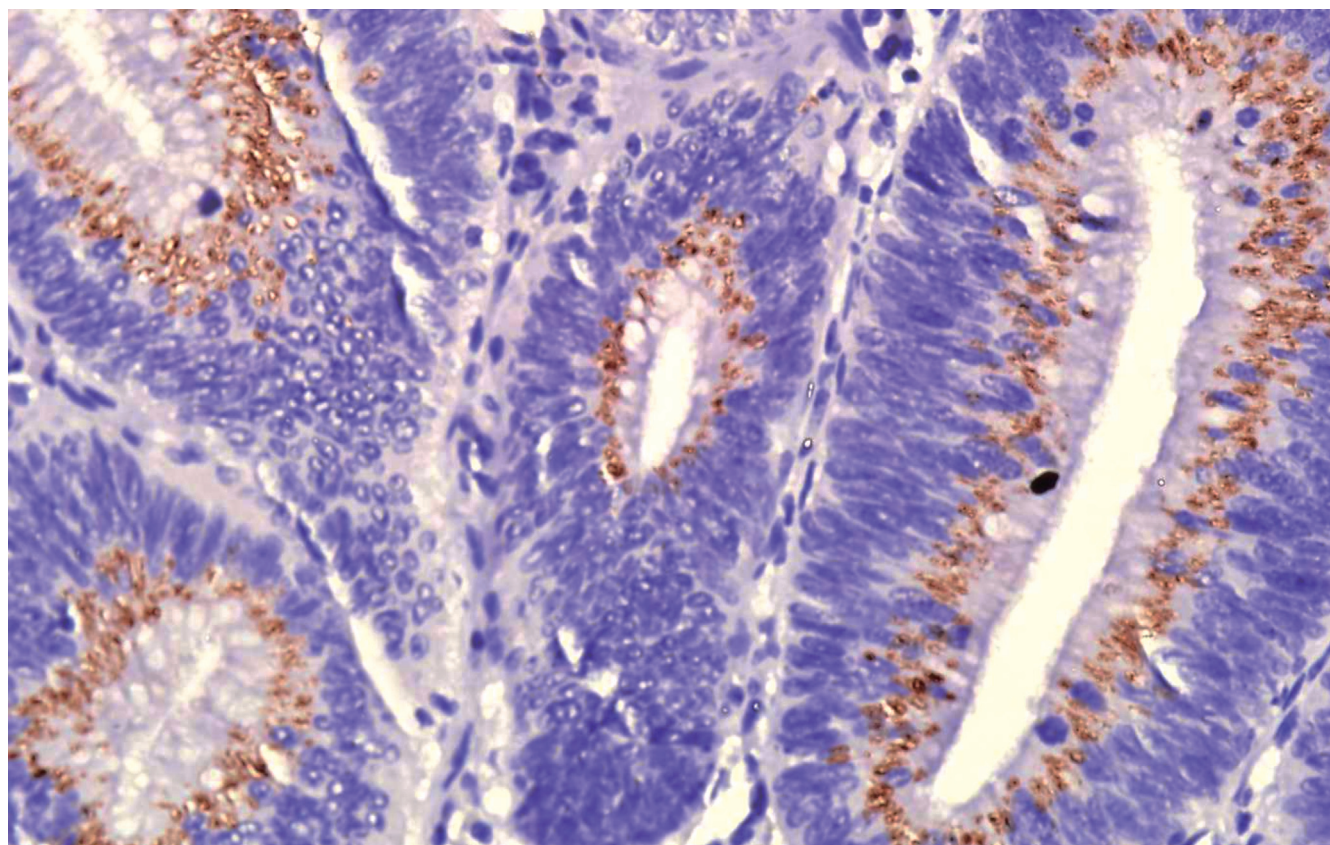


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 3 月 18 日 第 21 卷 第 8 期 (Volume 21 Number 8)



8/2013

ISSN 1009-3079



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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由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
杨思风教授
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
徐泐副主任医师
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3月18日 第21卷 第8期 (总第412期)

基础研究

- 641 短期间歇性闭合式腹腔灌洗治疗大鼠早期重症胰腺炎的免疫机制
杨超, 范红, 岳伟, 陈艳敏, 宋正己, 寻琳婷
- 647 复方苦参汤对溃疡性结肠炎DOR- β -arrestin1-Bcl-2信号转导通路的干预作用
范恒, 张丽娟, 钟敏, 刘星星, 段雪云, 左冬梅, 唐庆

临床研究

- 655 经典Wnt通路关键成员在Peutz-Jeghers综合征息肉组织中的表达
陆相吉, 顾国利, 魏学明, 任力, 宁守斌, 李德昌
- 661 PI3Kp110不同亚单位在结直肠癌腺癌变中的表达及相关性
孟晓, 吴淑华, 李扬扬, 田东

文献综述

- 667 PNPLA3 rs738409基因多态性在肝病中的作用
陈林姣, 温晓玉, 牛俊奇
- 673 Lgr5与结肠癌关系的研究进展
陈小燕, 赵逵
- 679 功能性消化不良与幽门螺杆菌感染的关系
全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 姜海燕

研究快报

- 685 NRP-1在大鼠肝纤维化组织中的表达及其与细胞外基质成分的相关性
魏海艳, 潘亮, 黄华, 肖明兵, 陆翠华

临床经验

- 690 异丙酚及其联合芬太尼应用于老年无痛胃镜30例
黎永军, 齐翠花, 田江, 吴秀玲
- 694 酒精及代谢性因素对慢性乙型肝炎患者肝纤维化的作用
阎道博, 哈利达·夏尔甫哈孜, 冯涓, 桑伟, 范晓棠, 何方平
- 700 超声内镜引导细针穿刺诊断肝尾状叶肿瘤4例
许东强, 丁祥武, 王道蓉, 高山, 王伟, 田爱霞, 张勤
- 705 自身免疫性胰腺炎患者胰腺外器官受累时的超声表现
张云飞, 欧国成, 王学梅
- 709 上消化道息肉临床特征分析2 376例
刘婉薇, 马娟, 余莲英, 沙卫红, 王启仪
- 714 老年大肠息肉的临床、内镜与病理分析248例
罗显克, 唐雪媛, 谭建荣
- 719 USP22和Nanog在结肠癌组织中的表达及临床意义
贾莹莹, 王进, 杨丽敏
- 724 MDA-MSP技术检测粪便miR34b/c甲基化及其在结直肠癌早期诊断中的意义
张丰云, 管静芝, 赵慧霞, 李秋文, 董伟伟, 段昕好, 朱建华, 王如良, 郝怡鑫, 叶明, 肖文华
- 729 II / III期直肠癌术后奥沙利铂联合5-FU同步放化疗的疗效
李永恒, 李小凡, 李金奎, 朱向高, 徐博, 蔡勇
- 734 c-Met蛋白在结直肠癌中的表达及其与肿瘤血管生成的关系
侯雷, 赵明明, 孙宝明, 田艳涛

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	646 《世界华人消化杂志》栏目设置 660 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 678 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 684 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 689 《世界华人消化杂志》修回稿须知 693 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 699 《世界华人消化杂志》出版流程 708 《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) 713 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0.873 723 《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 728 《世界华人消化杂志》参考文献要求
封面故事	孟晓, 吴淑华, 李扬扬, 田东. PI3Kp110不同亚单位在结直肠腺瘤癌变中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 661-666 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/661.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.661
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 2013-03-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

March 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 8

BASIC RESEARCH	<p>641 Effect of short-term intermittent peritoneal lavage on immune function in rats with early severe acute pancreatitis <i>Yang C, Fan H, Yue W, Chen YM, Song ZJ, Xun LT</i></p> <p>647 Intervention effect of Compound Sophorae Flavescentis decoction on DOR-β-arrestin1-Bcl-2 signal transduction pathway in rats with ulcerative colitis <i>Fan H, Zhang LJ, Zhong M, Liu XX, Duan XY, Zuo DM, Tang Q</i></p>
CLINICAL RESEARCH	<p>655 Expression of key members of classical Wnt signal pathway in Peutz-Jeghers syndrome <i>Lu XJ, Gu GL, Wei XM, Ren L, Ning SB, Li DC</i></p> <p>661 Expression of PI3Kp110α and PI3Kp110β in colorectal canceration <i>Meng X, Wu SH, Li YY, Tian D</i></p>
REVIEW	<p>667 Role of PNPLA3 polymorphism in pathogenesis of liver diseases <i>Chen LJ, Wen XY, Niu JQ</i></p> <p>673 Progress in understanding the relationship between Lgr5 and colorectal cancer <i>Chen XY, Zhao K</i></p> <p>679 Relationship between functional dyspepsia and <i>Helicobacter pylori</i> infection <i>Tong JZ, Qu B, Wang BB, Jiang HY</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>685 Correlation between expression of neuropilin-1 and that of extracellular matrix components in liver fibrosis in rats <i>Wei HY, Pan L, Huang H, Xiao MB, Lu CH</i></p>
CLINICAL PRACTICE	<p>690 Use of propofol versus propofol combined with fentanyl during painless gastroscopy in elderly patients <i>Li YJ, Qi CH, Tian J, Wu XL</i></p> <p>694 Risk factors for hepatic fibrosis in CHB patients <i>Yan DB, Halida-Xiaerfuhazi, Feng J, Sang W, Fang XT, He FP</i></p> <p>700 Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of hepatic caudate lobe malignancy: Report of four cases <i>Xu DQ, Ding XW, Wang DR, Gao S, Wang W, Tian AX, Zhang Q</i></p> <p>705 Ultrasonographic findings of extrapancreatic lesions associated with autoimmune pancreatitis <i>Zhang YF, Ou GC, Wang XM</i></p> <p>709 Clinical characteristics of upper gastrointestinal tract polyps: An analysis of 2 376 cases <i>Liu WW, Ma J, Yu LY, Sha WH, Wang QY</i></p> <p>714 Clinical, endoscopic and pathological characteristics of colorectal polyps in elderly patients: An analysis of 248 cases <i>Luo XK, Tang XY, Tan JR</i></p> <p>719 Clinical significance of expression of USP22 and Nanog in colon cancer <i>Jia YY, Wang J, Yang LM</i></p> <p>724 Clinical significance of detection of stool miR34b/c methylation by MDA-MSP in patients with colorectal cancer <i>Zhang FY, Guan JZ, Zhao HX, Li QW, Dong WW, Duan XY, Zhu JH, Wang RL, Hao YX, Ye M, Xiao WH</i></p> <p>729 Therapeutic effect of postoperative radiotherapy in combination with oxaliplatin and 5-Fu in patients with stage II/III rectal cancer <i>Li YH, Li XF, Li JL, Zhu XG, Xu B, Cai Y</i></p> <p>734 Correlation between c-Met expression and tumor angiogenesis in colorectal cancer <i>Hou L, Zhao MM, Sun BM, Tian YT</i></p>

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>Meng X, Wu SH, Li YY, Tian D.</i> Expression of PI3Kp110 α and PI3Kp110 β in colorectal canceration. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(8): 661-666 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/661.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.661
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 March 18, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

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.

短期间歇性闭合式腹腔灌洗治疗大鼠早期重症胰腺炎的免疫机制

杨超, 范红, 岳伟, 陈艳敏, 宋正己, 寻琳婷

杨超, 范红, 岳伟, 陈艳敏, 宋正己, 寻琳婷, 昆明医科大学附属昆华医院, 云南省第一人民医院消化科 云南省昆明市 650032

杨超, 在读硕士, 主要从事消化内科方面的研究.

云南省自然科学基金资助项目, No. 2011WS0001

作者贡献分布: 动物实验由杨超与宋正己完成; 范红为项目负责人; 资料整理和统计分析由岳伟与宋正己完成; 资料整理由陈艳敏与寻琳婷完成.

通讯作者: 范红, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市金碧路157号, 昆明医科大学附属昆华医院, 云南省第一人民医院消化科. fanhong1080@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012-12-27 修回日期: 2013-01-21

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

Effect of short-term intermittent peritoneal lavage on immune function in rats with early severe acute pancreatitis

Chao Yang, Hong Fan, Wei Yue, Yan-Min Chen, Zheng-Ji Song, Lin-Ting Xun

Chao Yang, Hong Fan, Wei Yue, Yan-Min Chen, Zheng-Ji Song, Lin-Ting Xun, the Affiliated Kunhua Hospital of Kunming Technological University, the People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Supported by: Natural Science Foundation of Yunnan Province, No. 2011WS0001

Correspondence to: Hong Fan, Professor, Chief Physician, the Affiliated Kunhua Hospital of Kunming Technological University, the People's Hospital of Yunnan Province, 157 Jinbi Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. fanhong1080@yahoo.com.cn

Received: 2012-12-27 Revised: 2013-01-21

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To analyze the role of Toll-like receptor 4 (TLR4), soluble CD14 (sCD14) on monocyte-macrophage cell surface, and nuclear factor κ B (NF- κ B) in immune mechanisms involved in the therapeutic effect of peritoneal lavage against *L*-arginine-induced severe acute pancreatitis in rats.

METHODS: Severe acute pancreatitis was induced in rats by intraperitoneal injection of *L*-arginine (3.5 g/100 g) at a concentration of

70 g/L. Forty-eight rats were randomly divided into three groups: severe acute pancreatitis group (for testing at 12, 24, and 36 h, 6 rats per subgroup), control group (12, 24, and 36 h, 4 rats per subgroup), and lavage group (12, 24, and 36 h, 6 rats per subgroup). Rats of the severe acute pancreatitis group were killed at 12, 24 and 36 h after modeling. Rats of the control group were also killed at the above point of time after intraperitoneal injection of normal saline. Rats of the lavage group were catheterized in the upper and lower abdomen for peritoneal lavage at 1 h after modeling (100 mL, once per 6 h, lavage speed at 60 drops/min; 12 h subgroup, twice; 24 h subgroup, four times; 36 h subgroup, six times). After the lavage was finished, the rats were killed. The contents of serum amylase and lipase and the concentrations of TLR4 and sCD14 in the blood were determined, and histopathological changes and expression levels of NF- κ B in the pancreatic tissue were observed.

RESULTS: The rat model of severe acute pancreatitis was successfully replicated by intraperitoneal injection of *L*-arginine. The contents of serum amylase and lipase in the lavage group were significantly lower than those in the severe acute pancreatitis group (12 h: 1253.3 ± 195.2 vs 1953.3 ± 316.9 , 20.0 ± 6.5 vs 86.3 ± 36.8 ; 24 h: 2299.2 ± 416.4 vs 4047.7 ± 589.3 , 33.7 ± 15.5 vs 238.2 ± 73.2 ; 36 h: 1581.3 ± 391.6 vs 2327.8 ± 354.6 , 22.0 ± 9.3 vs 158.3 ± 38.5 , all $P < 0.05$), but showed no significant difference compared to the control group (all $P > 0.05$). Pathological changes in the pancreatic tissue in the lavage group were significantly improved compared to the severe acute pancreatitis group and control group (both $P < 0.05$). The concentrations of TLR4 and sCD14 in the blood were significantly lower in the lavage group than in the severe acute pancreatitis group ($P < 0.05$), but showed no statistically significant difference compared with the control group at various time points. Expression of NF- κ B in the pancreatic tissue was lower in the lavage group than in the severe acute pancreatitis group, but was almost undetectable in the control group.

■背景资料

重症急性胰腺炎(SAP)是病死率较高的疾病,其发病机制尚未完全阐明,近年来发现促抗炎失衡与其发病密切相关,该过程中免疫因子的研究已成为热点.作为血液净化治疗的手段之一,腹腔灌洗可非选择性清除过度释放的促抗炎因子,调节免疫及恢复机体内稳态,取得了较好的治疗效果.本文采用腹腔灌洗治疗早期SAP,并对重要免疫因子进行初步研究,结合下一步的临床实验,希望为探索SAP的新疗法提供一些帮助.

■同行评议者

潘阳林, 副主任医师, 副教授, 中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

■研究前沿

目前,腹腔灌洗引流还存在很大争议,临床治疗发现:腹腔镜腹腔灌洗引流可以有效控制炎症反应,对免疫起到抑制作用,但其确切机制尚不明确,其对SAP病程中炎症反应干预机制还有待研究。

CONCLUSION: Short-term intermittent peritoneal lavage has a remarkable inhibitory effect on immune function in rats with early severe acute pancreatitis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Short-term intermittent; Peritoneal lavage; Severe acute pancreatitis; Immune mechanism

Yang C, Fan H, Yue W, Chen YM, Song ZJ, Xun LT. Effect of short-term intermittent peritoneal lavage on immune function in rats with early severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 641-646 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/641.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.641>

摘要

目的: 建立L-精氨酸诱导的重症急性胰腺炎大鼠模型,研究腹膜透析液腹腔灌洗治疗下Toll样受体4(Toll like receptor 4, TLR4)、单核-巨噬细胞表面可溶性抗原(soluble CD14, sCD14)、核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)在其免疫机制中的作用。

方法: 腹腔注射70 g/L的L-精氨酸(3.5 g/100 g)制成重症急性胰腺炎大鼠模型。48只大鼠,随机分成3组: SAP模型组(12、24、36 h, 每组6只); 对照组(12、24、36 h, 每组4只); 灌洗组(12、24、36 h, 每组6只)。模型组和对照组分别腹腔注射70 g/L的L-精氨酸(3.5 g/100 g, 分3次注射, 1次/h)和等量0.9%生理盐水(分3次注射, 1次/h)后12、24、36 h麻醉处死。灌洗组在造模后1 h于腹部上、下方置管行腹膜透析液腹腔灌洗(1次/6 h, 100 mL/次, 灌洗速度60滴/min左右; 12 h组灌洗2次, 24 h组灌洗4次, 36 h组灌洗6次), 完成灌洗后即刻处死大鼠。测定血清淀粉酶、脂肪酶含量及血TLR4、sCD14浓度, 观察胰腺组织病理学改变和胰腺组织NF-κB表达水平。

结果: L-精氨酸诱导重症急性胰腺炎大鼠模型成功。灌洗组血清淀粉酶、脂肪酶含量较模型组降低(12 h: $1\ 253.3 \pm 195.2$ vs $1\ 953.3 \pm 316.9$, 20.0 ± 6.5 vs 86.3 ± 36.8 ; 24 h: $2\ 299.2 \pm 416.4$ vs $4\ 047.7 \pm 589.3$, 33.7 ± 15.5 vs 238.2 ± 73.2 ; 36 h: $1\ 581.3 \pm 391.6$ vs $2\ 327.8 \pm 354.6$, 22.0 ± 9.3 vs 158.3 ± 38.5 , 均 $P < 0.05$), 较对照组无明显统计学意义($P > 0.05$)。灌洗组胰腺组织病理学评分较模型组和对照组均有统计学意义($P < 0.05$)。灌洗组血TLR4、sCD14浓度在各时点较模型组降低($P < 0.05$), 较对照组无明显统计学意义($P > 0.05$)。灌洗组胰腺组织

NF-κB表达水平较模型组下降, 对照组NF-κB表达较少或基本无表达。

结论: 短期间歇性闭合式腹腔灌洗对早期重症急性胰腺炎大鼠有较好的免疫抑制作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 短期间歇性; 腹腔灌洗; 重症急性胰腺炎; 免疫机制

杨超, 范红, 岳伟, 陈艳敏, 宋正己, 寻琳婷. 短期间歇性闭合式腹腔灌洗治疗大鼠早期重症胰腺炎的免疫机制. *世界华人消化杂志* 2013; 21(8): 641-646 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/641.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.641>

0 引言

尽管重症监护水平得到加强, 但重症急性胰腺炎(severe acute pancreatic, SAP)的死亡率仍很高, 达10%-25%^[1]。随着对SAP发病机制的深入探索, 对其治疗策略逐渐由首选手术治疗转变为首选综合治疗^[2]。近年来发现促抗炎机制紊乱与其发病密切相关, 研究证实多种细胞因子如肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)、IL-6等活化在急性胰腺炎的发生进展中起着重要作用^[3], 而Toll样受体4(Toll like receptor 4, TLR4)、核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)与这些细胞因子的活化关系紧密。可溶性抗原(soluble CD14, sCD14)介导脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)性细胞反应, 能诱导产生IL-1、IL-6等细胞因子^[4], 以及细胞不良反应, 干预免疫。本实验通过腹膜透析液腹腔灌洗治疗L-精氨酸诱导的重症急性胰腺炎大鼠模型, 研究TLR4、NF-κB、sCD14在其免疫机制中的作用, 为进一步分析奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料 健康♂SD大鼠(清洁级)48只, 2-3 mo, 体质量 250 ± 20 g, 由昆明医科大学动物科提供, 随机分成3组: SAP模型组($n = 18$, SAP 12 h, SAP 24 h, SAP 36 h, 每组6只); 对照组($n = 12$, 生理盐水12 h, 生理盐水24 h, 生理盐水36 h, 每组4只); 灌洗组($n = 18$, 灌洗12 h, 灌洗24 h, 灌洗36 h, 每组6只)。

1.2 方法

1.2.1 造模: 模型组参照尚宏清等^[5]方法经改良^[6]

表 1 大鼠血清淀粉酶、脂肪酶检测结果

分组	观测时点(h)	n	血清淀粉酶(U/L)	脂肪酶(U/L)
模型组	12	6	1 953.3 ± 316.9	86.3 ± 36.8
	24	6	4 047.7 ± 589.3	238.2 ± 73.2
	36	6	2 327.8 ± 354.6	158.3 ± 38.5
对照组	12	4	921.75 ± 208.6	11.0 ± 4.2
	24	4	1 371.2 ± 109.6	16.3 ± 1.5
	36	4	1 209.8 ± 78.6	15.5 ± 4.0
灌洗组	12	6	1 253.3 ± 195.2	20.0 ± 6.5
	24	6	2 299.2 ± 416.4	33.7 ± 15.5
	36	6	1 581.3 ± 391.6	22.0 ± 9.3

大剂量L-精氨酸(浓度70 g/L, 3.5 g/100 g)ip制备大鼠AP模型. 对照组腹腔注射等量0.9%生理盐水. 灌洗组在造模后1 h于腹部上、下方置管行腹膜透析液腹腔灌洗. 1次/6 h, 100 mL/次, 灌洗速度60滴/min左右; 12 h组灌洗2次, 24 h组灌洗4次, 36 h组灌洗6次. 所有大鼠实验前禁食12 h, 自由饮水.

1.2.2 标本采集和保存: (1)血样采集: 经腹主动脉采血10 mL, 分离上清液(1 500 r/min, 5 min)至4 °C冷藏送检, 剩余血浆-20 °C保存; (2)胰腺组织取样: 取下胰腺组织置于40 g/L甲醛溶液保存. 1.2.3 观察指标和检测: 血清淀粉酶、脂肪酶活性测定, 采用全自动生化检测仪检测, 单位U/L. 血TLR4、sCD14浓度测定, 采用双抗夹心ELISA法(试剂盒购自美国RD公司). 病理学检查, 取胰腺组织置于40 g/L甲醛溶液固定24 h后, 石蜡包埋切片5 μm, HE染色后以Olympus显微镜观察, 并参考Kusske等^[7]标准进行组织病理学评分. 对大鼠胰腺组织在光镜下的表现按水肿、炎细胞浸润、坏死3方面的轻重程度评分. 胰腺组织NF-κB表达水平检测, 采用免疫组织化学染色DAB法(试剂盒购自上海劲马实验设备有限公司), 切片处理同前, DAB染色后以Olympus显微镜观察并照相.

统计学处理 所有计量资料以mean±SD表示, 应用SPSS17.0统计软件分析, 组与组间均数比较采用方差分析和 q 检验, 3组间病理评分应用秩和检验, SigmaPlot12.0版科学绘图软件进行相关作图.

2 结果

2.1 血清淀粉酶、脂肪酶水平 灌洗组血清淀粉酶、脂肪酶含量较模型组降低($P<0.05$), 较对照组无明显统计学意义($P>0.05$); 模型组血清淀粉

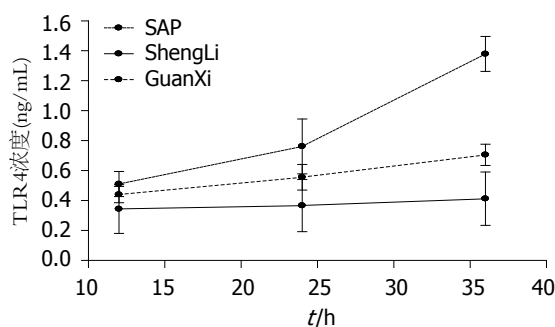


图 1 Toll样受体4变化趋势.

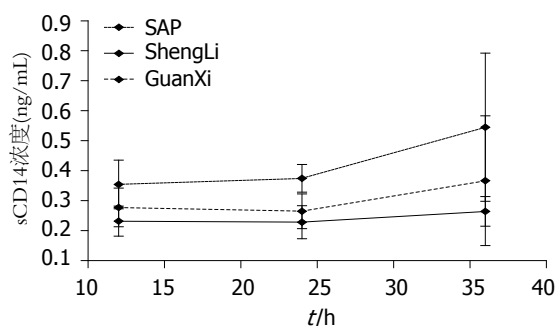


图 2 单核-巨噬细胞表面可溶性抗原变化趋势.

酶、脂肪酶含量在各时点均较对照组高, 在24 h达高峰, 其脂肪酶水平升高, 提示胰腺组织有坏死(表1).

2.2 血TLR4浓度 灌洗组血TLR4浓度在各时点较模型组降低($P<0.05$), 较对照组无明显统计学意义($P>0.05$). 黑线为对照组血TLR4浓度趋势线, 基本随时点无变化(图1).

2.3 血sCD14浓度 灌洗组血sCD14浓度较模型组明显降低($P<0.05$), 12、24 h较对照组无明显统计学意义, 36 h较明显($P>0.05$). 红线为对照组血sCD14浓度趋势线, 基本随时点无变化(图2).

2.4 胰腺组织NF-κB表达水平 灌洗组胰腺组织NF-κB表达水平较模型组下降, 对照组NF-κB表

■相关报道

血液净化治疗临床不同人群(老年人、儿童、孕妇及并发症患者)都取得了较好的临床疗效, 具有广泛的治疗前景, 但报道多为临床回顾分析, 缺少基础研究支持.

■创新盘点

腹腔注射大剂量L-精氨酸诱导急性胰腺炎模型,具有方法简便、成本低、可重复性好的优点,且动物模型成功率高,模拟出的组织改变较为一致。采用经皮穿刺置管的闭合式腹腔灌洗法,避免了开放式操作充分暴露腹腔可能引发的感染等,并减少了实验动物的创伤。

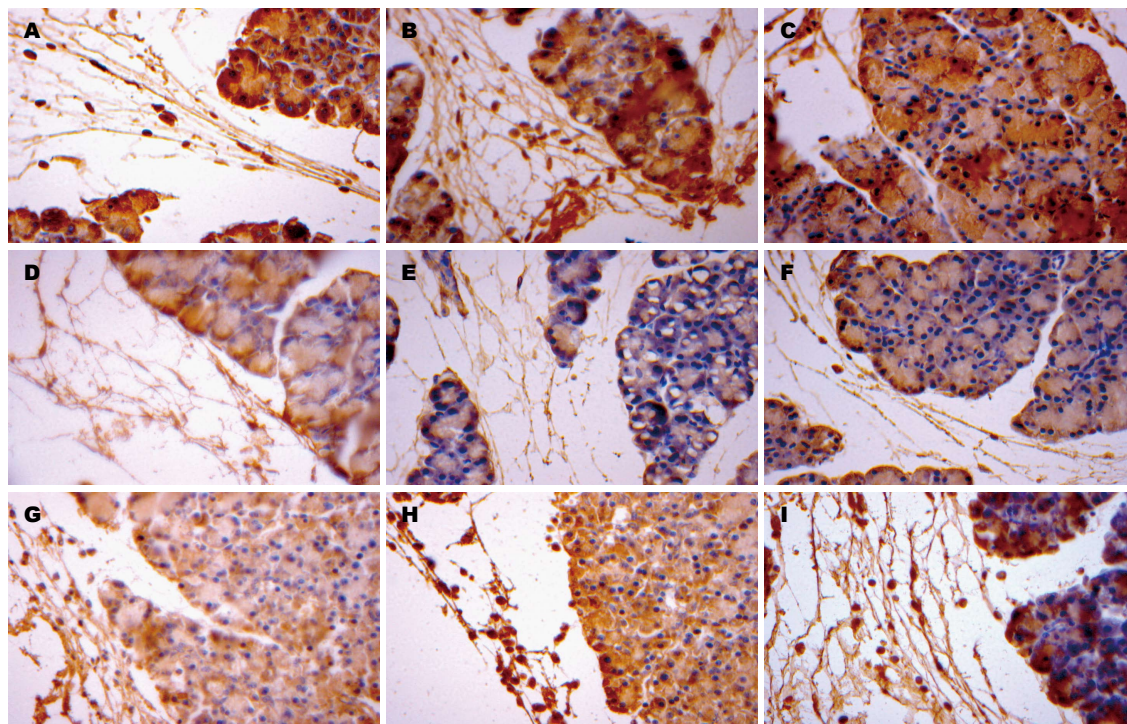


图3 胰腺组织NF-κB表达水平(10×40倍)。A-C: 模型组12、24、36 h胰腺组织NF-κB表达; D-F: 对照组12、24、36 h胰腺组织NF-κB表达; G-I: 灌洗组12、24、36 h胰腺组织NF-κB表达。

表2 病理分级标准评分

指标	分级标准	评分
水肿	无	0
	小叶间灶性水肿	1
	小叶间弥散性水肿	2
	腺体紊乱分离	3
炎症细胞浸润	无	0
	局限导管内	1
	实质内(<50%小叶)	2
	实质内(>50%小叶)	3
腺泡坏死	无	0
	导管周围坏死(<5%)	1
	灶性坏死(5%~20%)	2
	弥散性实质坏死(>20%)	3

达较少或基本无(图3)。

2.5 胰腺组织病理学 胰腺组织病理学见表2和3。

3 讨论

腹腔注射L-精氨酸诱导急性胰腺炎模型,方法简便、成本低、可重复性好、动物损伤小,病变程度在不同的胰腺部位比较一致,克服了侵入性模型需行剖腹术的缺点,减少了外源性细菌污染机会,与人类ANP的病程及组织学改变相似,是目前研究ANP发病机制及防治措施较为理想、值得推广的动物模型^[8]。由于L-精氨酸诱

导大鼠ANP所使用方法、剂量和浓度在国内外报道不一^[9],之前有文献报道^[10],使用80 g/L及以上L-精氨酸浓度注射时大鼠死亡率高,不利于观察12 h以后的变化;当注射浓度降低到6%时胰腺损伤以水肿为主,坏死少见,且须增加ip次数(3次)才能诱导出满意的ANP模型。本实验通过70 g/L ip预实验摸索,在注射L-精氨酸4 h后得到理想的重症急性胰腺炎模型。大鼠重症胰腺炎目前尚无明确的判定标准及类似于APACH II或者RANSON评分报道,主要通过淀粉酶、脂肪酶升高及病理组织改变进行确定。

本次试验中,模型组大鼠全部发生了重症急性胰腺炎(大鼠正常淀粉酶值从450-2 300 U/L均有报道^[10-12])。其血清淀粉酶、脂肪酶水平增高,高峰出现在24 h。灌洗组大鼠血清淀粉酶、脂肪酶水平各时点均较模型组下降。随观察时点的延长,模型组大鼠组织病理学改变加重,胰腺组织坏死明显、病理评分高。灌洗组大鼠组织病理学改变及评分各时点均较模型组降低。腹腔灌洗对早期大鼠SAP模型有较好的免疫抑制作用,初步研究可能与下列因素有关:(1)TLR4: Toll样受体的发现使人们认识到其作为炎症反应上游始动环节的重要作用^[13],其中TLR4被认为是最重要的成员之一,对革兰氏阴性菌反应起作用,主要介导内毒素的信号转

表 3 3组大鼠病理评分 (mean ± SD)

分组	n	12 h	24 h	36 h
模型组	6	5.33 ± 0.52 ^a	6.83 ± 0.41 ^a	7.67 ± 0.52 ^a
对照组	4	0.50 ± 0.57 ^c	0.50 ± 0.57 ^c	0.50 ± 0.57 ^c
灌洗组	6	3.83 ± 0.75	4.50 ± 0.55	5.67 ± 0.52

^aP<0.05, ^cP<0.05 vs 灌洗组.

导^[14]. 重症急性胰腺炎时, TLR4表达不仅在胰腺中存在上调趋势^[15], 其他组织如肝、肺、回肠等表达也明显增加^[16]. 研究表明, 内毒素、炎症因子与发病密切相关, 并对病情发展与转归起决定性作用^[17]. 同时, TLR4经过一系列信号转导途径激活NF-κB, 随之产生大量细胞因子(如TNF-α、IL-1)的过度释放^[18], 而这些与急性胰腺炎关系密切的细胞因子, 在基因表达上均受NF-κB调控. 虽然TLR4缺失并不影响胰腺炎的严重程度, 但能引起早期前炎症因子的释放减少和腹部脓毒症时细菌的繁殖增加^[19]. 本实验血TLR4浓度随炎症性反应时点增高而增高, 但在腹腔灌洗后增高趋势下降明显; (2)NF-κB: NF-κB是一类能与多种基因启动子部位的κB点发生特异性结合促进转录的DNA结合蛋白总称. 目前认为其是参与胰腺炎合并意外器官损伤的关键因子^[20]. 研究表明, 多种ANP动物模型的共同机制都与其相关, 他能与多种细胞因子、黏附分子的基因启动子结合, 增强这些基因的转录和表达^[21]. NF-κB的早期激活可能通过扳机样作用触发炎症递质的级联放大反应, 使得炎症不断扩散, 恶化^[22], 在急性胰腺炎炎症细胞的浸润、聚集过程中起着极其重要的介导和促进作用^[23]. 本实验诱导ANP模型后12-36 h观察到胰腺组织NF-κB表达水平增强, 应用腹腔灌洗治疗可抑制其表达, 减轻病理损害. 研究发现, 当NF-κB表达被抑制后, 炎症细胞因子合成减少, 这对减轻ANP有利^[24]; (3)sCD14: CD14作为脂多糖受体, 在免疫系统中发挥着非常重要的作用^[25]. sCD14是介导内毒素反应应答的功能性受体, 他与循环中的LPS结合形成sCD14-LPS复合物, 可提高多种细胞对内毒素的敏感性, 使内毒素的活性增高数倍, 产生增敏效应, 影响预后, 针对CD14进行免疫调理成为新的研究途径之一^[26]. 急性胰腺炎早期单核细胞对sCD14表达和分泌明显增加, 其信号途径的激活也明显加强^[27].

在临床工作中, 连续性血液净化治疗重症急

性胰腺炎取得了很好的临床疗效. 不同人群^[28-30] (老年人、儿童、孕妇及并发症患者)临床指标及症状上均较对照组有明显改善.

SAP早期, 胰酶活化、炎症介质、细胞因子和氧自由基的诱生引发的机体超强的炎症反应, 是造成早期病理损害的主要原因. 随后的肠源性细菌移位导致的严重感染、内毒素血症、细胞因子诱生及DIC的发生造成了后期病理生理的恶性循环, 引起严重的多器官功能障碍综合征, 形成SAP病理变化的第二“高峰”.

TLR4、NF-κB、sCD14在介导炎症反应中起重要作用, 他们触发了炎症递质的级联放大反应, 从而引发恶性循环. 腹腔灌洗能够有效地降低这些化学因子, 在胰腺炎发病的早期有效地起到抑制免疫的作用.

4 参考文献

- Bai Y, Liu Y, Jia L, Jiang H, Ji M, Lv N, Huang K, Zou X, Li Y, Tang C, Guo X, Peng X, Fang D, Wang B, Yang B, Wang L, Li Z. Severe acute pancreatitis in China: etiology and mortality in 1976 patients. *Pancreas* 2007; 35: 232-237 [PMID: 17895843 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3180654d20]
- Frossard JL, Steer ML, Pastor CM. Acute pancreatitis. *Lancet* 2008; 371: 143-152 [PMID: 18191686]
- Liu HS, Pan CE, Liu QG, Yang W, Liu XM. Effect of NF-kappaB and p38 MAPK in activated monocytes/macrophages on pro-inflammatory cytokines of rats with acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2513-2518 [PMID: 14606087]
- Yehuda S, Mostofsky DI. Nutrients, Stress, and Medical Disorders. Totowa: Humana Press, 2005: 267-278
- 尚宏清, 李非, 张再兴, 孙家邦. 分次大剂量L-精氨酸腹腔内注射致大鼠急性坏死性胰腺炎模型的研究. 首都医科大学学报 2000; 21: 322-324
- 谭至柔, 唐国都, 姜海行, 邓德海, 袁海峰. 抗氧化剂对急性胰腺炎大鼠核因子-κB和一氧化氮合酶的影响. 世界华人消化杂志 2004; 12: 711-713
- Kusske AM, Rongione AJ, Ashley SW, McFadden DW, Reber HA. Interleukin-10 prevents death in lethal necrotizing pancreatitis in mice. *Surgery* 1996; 120: 284-288; discussion 289 [PMID: 8751594]
- Bell WH, Fonseca RJ, Kenney JW, Levy BM. Bone healing and revascularization after total maxillary osteotomy. *J Oral Surg* 1975; 33: 253-260 [PMID: 1054396]
- Czakó L, Takács T, Varga IS, Hai DQ, Tiszlavicz

■应用要点

对探索实验动物模拟急性胰腺炎模型有一定意义, 在研究药物治疗方式和评价疗效上有优势, 可作为一种新的分析策略, 并可成为进一步开展临床治疗方法的前期工作之一.

■同行评价

本文设计及统计分析合理,对探索重症急性胰腺炎的新疗法有一定意义。

- 10 赖铭裕, 梁志海, 唐国都, 孙学成. 腹腔注射左旋精氨酸诱导急性坏死性胰腺炎大鼠模型. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2233-2236
- 11 向珂, 田伏洲, 汤礼军, 刘文清, 罗皓, 崔建峰, 唐铭骏, 李永继. 蛋白酶抑制剂短期腹腔灌洗治疗重症急性胰腺炎的实验观察. 西南国防医药 2009; 19: 485-487
- 12 余少鸿, 雷正明, 张培明, 陈永兵. 大黄素对大鼠重症胰腺炎TNF α 、IL-6及胰腺腺泡细胞凋亡的影响. 中国中西医结合外科杂志 2003; 9: 209-211
- 13 Ding SP, Li JC, Jin C. A mouse model of severe acute pancreatitis induced with caerulein and lipopolysaccharide. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 584-589 [PMID: 12632523]
- 14 Hietaranta A, Mustonen H, Puolakkainen P, Haapiainen R, Kemppainen E. Proinflammatory effects of pancreatic elastase are mediated through TLR4 and NF-kappaB. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 323: 192-196 [PMID: 15351720 DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.08.077]
- 15 Li Y, Zhou ZG, Xia QJ, Zhang J, Li HG, Cao GQ, Wang R, Lu YL, Hu TZ. Toll-like receptor 4 detected in exocrine pancreas and the change of expression in cerulein-induced pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30: 375-381 [PMID: 15841051]
- 16 Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 499-511 [PMID: 15229469 DOI: 10.1038/nri1391]
- 17 Oruc N, Ozutemiz AO, Yukselen V, Nart D, Celik HA, Yuce G, Batur Y. Influximab: a new therapeutic agent in acute pancreatitis? *Pancreas* 2004; 28: e1-e8 [PMID: 14707742]
- 18 Sawa H, Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, Shinzeki M, Nakajima T, Kuroda Y. Role of toll-like receptor 4 in the pathophysiology of severe acute pancreatitis in mice. *Surg Today* 2007; 37: 867-873 [PMID: 17879036 DOI: 10.1007/s00595-007-3520-x]
- 19 van Westerloo DJ, Weijer S, Bruno MJ, de Vos AF, Van't Veer C, van der Poll T. Toll-like receptor 4 deficiency and acute pancreatitis act similarly in reducing host defense during murine Escherichia coli peritonitis. *Crit Care Med* 2005; 33: 1036-1043 [PMID: 15891333 DOI: 10.1097/01.CCM.0000162684.11375.85]
- 20 Rakonczay Z, Hegyi P, Takács T, McCarroll J, Saluja AK. The role of NF-kappaB activation in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Gut* 2008; 57: 259-267 [PMID: 17675325 DOI: 10.1136/gut]
- 21 Wu HS, Zhang L, Chen Y, Guo XJ, Wang L, Xu JB, Wang CY, Zhang JH. Effect of nitric oxide on toll-like receptor 2 and 4 gene expression in rats with acute lung injury complicated by acute hemorrhage necrotizing pancreatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2005; 4: 609-613 [PMID: 16286274]
- 22 王昆宁, 徐敏, 吴凯, 王兴鹏. 抑制核因子- κ B对Toll样受体4在急性坏死性胰腺炎大鼠胰腺组织中表达的影响. 中国临床医学 2008; 15: 360-363
- 23 潘涛, 王一平. 胰腺微循环障碍与急性胰腺炎的关系及临床意义. 华西医学 2003; 18: 289-290
- 24 Rakonczay Z, Jármay K, Kaszaki J, Mándi Y, Duda E, Hegyi P, Boros I, Lonovics J, Takács T. NF-kappaB activation is detrimental in arginine-induced acute pancreatitis. *Free Radic Biol Med* 2003; 34: 696-709 [PMID: 12633747]
- 25 Ziegler-Heitbrock HW, Ulevitch RJ. CD14: cell surface receptor and differentiation marker. *Immunol Today* 1993; 14: 121-125 [PMID: 7682078 DOI: 10.1016/0167-5699(93)90212-4]
- 26 Kitchens RL, Thompson PA. Impact of sepsis-induced changes in plasma on LPS interactions with monocytes and plasma lipoproteins: roles of soluble CD14, LBP, and acute phase lipoproteins. *J Endotoxin Res* 2003; 9: 113-118 [PMID: 12803885 DOI: 10.1177/09680519030090020701]
- 27 程青虹, 薛欣盛, 刘宁, 应明英. 急性胰腺炎早期外周血CD14表达水平及临床意义. 农垦医学 2004; 26: 168-169
- 28 柯丽娜, 刘景霞, 李斌. 妊娠合并急性胰腺炎6例临床分析. 邵阳医学院学报 2009; 28: 72-73
- 29 于颖, 孟建中, 赵雷, 吕苏一, 岳冀. 连续性血液净化对老年重症急性胰腺炎的临床治疗与观察. 中国现代医学杂志 2011; 5: 641-644
- 30 马威, 王家祥, 杨合英, 张大, 郑守华. 短时静-静脉血液滤过在小儿重症急性胰腺炎治疗中的应用. 中华小儿外科杂志 2011; 32: 179-182

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》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。

复方苦参汤对溃疡性结肠炎DOR- β -arrestin1-Bcl-2信号转导通路的干预作用

范恒, 张丽娟, 钟敏, 刘星星, 段雪云, 左冬梅, 唐庆

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

段雪云, 湖北中医药大学附属医院药剂科 湖北省武汉市 430061

范恒, 教授, 主任医师, 主要从事中西医结合治疗消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81072944

作者贡献分布: 此课题由范恒设计; 研究过程由张丽娟、钟敏、刘星星、段雪云、左冬梅及唐庆操作完成; 数据分析由张丽娟完成; 论文写作由张丽娟与范恒完成。

通讯作者: 范恒, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市江汉区汉口解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. fanheng009@yahoo.com.cn

电话: 027-85726395

收稿日期: 2012-12-20 修回日期: 2013-01-20

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

Intervention effect of Compound Sophorae Flavescentis decoction on DOR- β -arrestin1-Bcl-2 signal transduction pathway in rats with ulcerative colitis

Heng Fan, Li-Juan Zhang, Min Zhong, Xing-Xing Liu, Xue-Yun Duan, Dong-Mei Zuo, Qing Tang

Heng Fan, Li-Juan Zhang, Min Zhong, Xing-Xing Liu, Dong-Mei Zuo, Qing Tang, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

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

Supported by: National Natural Sciences Foundation of China, No. 81072944

Correspondence to: Heng Fan, Professor, Chief Physician, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. fanheng009@yahoo.com.cn

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

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To explore the intervention effect of Compound Sophorae Flavescentis decoction on the DOR- β -arrestin1-Bcl-2 signal transduction pathway in rats with ulcerative colitis.

METHODS: Eighty-four Sprague-Dawley rats were equally and randomly divided into normal control group, model group, mesalazine group, high-, medium-, and low-dose Compound Sophorae Flavescentis decoction groups. Except for the normal control group, ulcerative colitis was induced with trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) in rats of other groups. After induction of ulcerative colitis, bloody stools, mental state and diarrhea were observed and recorded daily. Two rats in the model group were randomly selected and executed on day 3 for observing pathological changes in the colon tissue. Rats in the mesalazine group and Compound Sophorae Flavescentis decoction groups were lavaged with mesalazine solution and Compound Sophorae Flavescentis decoction for 15 d, while those in the normal control group and model group were given equal volume of distilled water for the same duration. On day 16, the remaining rats were executed to detect histopathological changes in the colon tissue and the mRNA and protein expression of DOR, β -arrestin1 and Bcl-2 in the colon tissue by real-time PCR and immunohistochemistry, respectively.

RESULTS: The mRNA and protein expression of DOR, β -arrestin1 and Bcl-2 differed significantly among each group ($P < 0.05$). Compared to the normal control group, the mRNA and protein expression of DOR, β -arrestin1 and Bcl-2 protein was significantly increased (24.11 ± 12.61 vs 11.88 ± 5.90 , 38.90 ± 5.30 vs 14.34 ± 8.97 , 23.57 ± 9.96 vs 9.68 ± 3.94 , all $P < 0.05$) in the colon mucosa in the model group. Compared to the model group, the mRNA and protein expression of DOR, β -arrestin1 and Bcl-2 in the colon mucosa was significantly decreased in the mesalazine group and Compound Sophorae Flavescentis decoction groups; however, the mRNA and protein expression of DOR, β -arrestin1 and Bcl-2 did not differ significantly between the mesalazine group and Compound Sophorae Flavescentis decoction groups.

CONCLUSION: The expression of DOR, β -arrestin1

■背景资料

溃疡性结肠炎(UC)是一种发病机制尚不明确慢性非特异性炎症性肠道疾病。近几十年来在我国其发病率逐年增加。肠黏膜免疫调节功能紊乱,在其发病中起关键性作用。在遗传和环境作用下,机体肠道菌群产生异常免疫反应,最终导致肠道慢性炎症的发生。治疗上目前也没有较成熟的方案。因此,对本病的发病机制和治疗上的研究显得十分必要。

■同行评议者

张春虎, 副教授, 中南大学湘雅医院中西医结合研究所; 李勇, 副教授, 上海中医药大学附属市中医院消化科

■研究前沿

本研究运用实施荧光定量PCR和免疫组织化学的方法,从基因和蛋白水平来分析 δ 阿片受体(DOR)、 β -arrestin1及Bcl-2表达的作用机制,阐明复方苦参汤对UC的治疗作用。

and Bcl-2 is elevated in ulcerative colitis. The DOR- β -arrestin1-Bcl-2 signal transduction pathway may be involved in the pathogenesis of ulcerative colitis, and Compound Sophorae Flavescentis decoction may have a significant therapeutic effect against ulcerative colitis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Delta opioid receptor; β -arrestin1; B-cell lymphoma-2; Signal transduction pathway; Ulcerative colitis; Compound Sophorae Flavescentis decoction

Fan H, Zhang LJ, Zhong M, Liu XX, Duan XY, Zuo DM, Tang Q. Intervention effect of Compound Sophorae Flavescentis decoction on DOR- β -arrestin1-Bcl-2 signal transduction pathway in rats with ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 647-654 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/647.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.647>

摘要

目的: 探讨复方苦参汤对溃疡性结肠炎大鼠DOR- β -arrestin1-Bcl-2信号转导通路的干预作用。

方法: SD δ 大鼠84只(体质量200 g \pm 20 g)随机分为空白对照组、模型组、美沙拉嗪组、复方苦参汤大剂量组、复方苦参汤中剂量组和复方苦参汤小剂量组,每组14只。除对照组外,其余5组均依据Morris等三硝基苯磺酸(trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)建立大鼠溃疡性结肠炎模型。造模后观察记录大鼠的大便和精神状态,并于第3天随机处死2只造模大鼠,取结肠镜下观察其病理组织学变化发现:大鼠结肠糜烂、充血及溃疡,证明造模成功。建立大鼠溃疡性结肠炎模型后给予美沙拉嗪组大鼠3 mL/d(0.5 g/L)美沙拉嗪混悬液灌胃,复方苦参汤大、中、小剂量组分别按不同含生药浓度的复方苦参汤液3 mL/d(0.67、0.34、0.17 g/L)灌胃,对照组和模型组给予等量的生理盐水3 mL/d灌胃,连续灌胃15 d后,禁食24 h,处死大鼠,取结肠组织石蜡包埋切片,HE染色比较各组结肠组织病理组织学改变,Real time-PCR和免疫组织化学技术检测实验大鼠结肠组织的Bcl-2、 β -arrestin1及 δ 阿片受体(delta opioid receptor, DOR) mRNA和蛋白表达变化。

结果: 各组大鼠结肠组织中Bcl-2、 β -arrestin1和DOR表达有显著差异($P<0.05$)。与对照组比较,模型组的大鼠结肠黏膜组织Bcl-2、 β -arrestin1和DOR表达明显升高(24.11 \pm 12.61 vs 11.88 \pm 5.90, 38.90 \pm 5.30 vs 14.34 \pm 8.97,

23.57 \pm 9.96 vs 9.68 \pm 3.94, 均 $P<0.05$);与模型组比较,美沙拉嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组的大鼠结肠黏膜组织Bcl-2、 β -arrestin1、DOR表达均显著下降,但美沙拉嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组之间比较Bcl-2、 β -arrestin1、DOR表达无显著差异。

结论: 在实验性溃疡性结肠炎大鼠结肠组织中DOR、 β -arrestin1和Bcl-2的表达升高,DOR- β -arrestin1-Bcl-2信号转导通路可能参与了溃疡性结肠炎的病理过程,复方苦参汤可改善溃疡性结肠炎大鼠的结肠组织病理学改变,机制可能与调节该信号通路有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: δ 阿片受体; β -arrestin1; Bcl-2; 信号转导通路; 溃疡性结肠炎; 复方苦参汤

范恒, 张丽娟, 钟敏, 刘星星, 段雪云, 左冬梅, 唐庆. 复方苦参汤对溃疡性结肠炎DOR- β -arrestin1-Bcl-2信号转导通路的干预作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(8): 647-654 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/647.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.647>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的病因及发病机制尚不明确^[1]。目前认为溃疡性结肠炎是由环境、遗传、感染、肠黏膜屏障功能缺陷等多种因素相互作用导致的肠道黏膜免疫功能失调所致的复杂结果。肠黏膜免疫调节功能紊乱在溃疡性结肠炎发病机制中起关键性作用,在某些环境和遗传因素的作用下,肠道微环境改变,肠上皮细胞防御屏障遭到破坏,肠腔抗原物质激活多种炎症相关信号转导通路,引起肠黏膜异常免疫反应,导致肠道炎症的发生。活化的T淋巴细胞在肠黏膜内过度聚集是溃疡性结肠炎发病机制中的关键环节之一,致使溃疡性结肠炎迁延不愈^[2-4]。 δ 阿片受体(delta opioid receptor, DOR)是一种G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCR),活化的DOR信号能诱导 β -arrestin1向细胞核内转移, β -arrestin1募集组蛋白乙酰化酶p300至Bcl-2编码基因的启动子序列,促进Bcl-2基因转录和Bcl-2表达,Bcl-2通过阻断半胱天冬酶(caspase)的活化和细胞色素C的释放抑制T细胞凋亡^[5-10]。复方苦参汤治疗溃疡性结肠炎取得了较好的治疗效果。通过建立三硝基苯磺酸(trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)诱导的溃疡性结肠炎模型,研究DOR- β -arrestin1-Bcl-2信号转导通路在溃疡性结肠炎

发病机制中的作用, 探讨复方苦参汤对治疗溃疡性结肠炎的作用机制, 证明该通路参与了溃疡性结肠炎的发病机制, 复方苦参汤通过调节DOR- β -arrestin1-Bcl-2信号转导通路有效改善溃疡性结肠炎的组织病理学变化, 为治疗溃疡性结肠炎提供了新的治疗方法和途径。

1 材料和方法

1.1 材料 健康成年SD δ 大鼠84只, 清洁级, 体质量200 g \pm 20 g, 由华中科技大学同济医学院动物中心提供[实验动物质量合格证SCXK(鄂)2004-0007及使用许可证SYXK(鄂)2004-0028]; 5%、2、4、6-TNBS(Sigma公司); 美沙拉嗪(法国爱的发制药集团), 规格500 mg \times 10袋/盒; 复方苦参汤中药饮片(购自武汉协和医院药剂科); 中药在湖北中医药大学药剂科经药用砂锅煎煮浓缩并消毒。 β -arrestin1多克隆抗体(abcam, ab30299); DOR多克隆抗体(Enzo Life Sciences, ADI-905-745-100); Bcl-2多克隆抗体(BioVision, 3033-100); 即用型免疫组织化学Elivision plus试剂盒(鼠/兔)(迈新KIT-9901); 实时定量ToalRNA提取剂(D9108A), 逆转录(DRR036A)及PCR扩增试剂盒(DRR420A)均购自TaKaRa公司; 用Primer6.0软件设计DOR、Bcl-2、 β -arrestin1及 β -actin引物, 其序列如下: DOR上游: 5'-GCATCTGGGTCTTGGCTTCA-3', 下游: 5'-GCGAAGAGGAACACGCAGAT-3', 扩增产物片段长度151 bp; Bcl-2上游: 5'-TTT-GATTTCTCCTGGCTGTCT-3', 下游: 5'-CT-GATTGACCATTTGCCTG-3', 扩增产物片段长度151 bp; β -arrestin1上游: 5'-GCTGTGGAAGT-GCCCTTTACC-3', 下游5'-CCATCATCCTCTTC-GTCCTTG-3', 扩增产物片段197 bp; β -actin上游: 5'-CGTTGACATCCGTAAAGACCTC-3', 下游: 5'-TAGGAGCCAGGGCAGTAATCT-3', 扩增产物片段长度110 bp。 上述引物均由大连宝生物公司合成。

1.2 方法

1.2.1 分组: 清洁级成年 δ SD大鼠84只, 随机分为6组: (1)空白对照组; (2)模型对照组; (3)美沙拉嗪组; (4)复方苦参汤大剂量组; (5)复方苦参汤中剂量组; (6)复方苦参汤小剂量组, 每组14只。

1.2.2 模型建立及评价: 依据Morris等提出的方法采用TNBS灌肠建立大鼠溃疡性结肠炎模型^[11-14], 操作如下: 各组大鼠禁食不禁水24 h, 用10%水合氯醛腹腔注射麻醉, 将直径为2 mm的

橡胶软管经肛门缓缓插入8 cm, 用1 mL注射器注入5%TNBS 0.6 mL(溶于50%乙醇), 然后提起大鼠尾部倒立30 s防药液流出, 造模结束让大鼠平躺, 自然清醒后自由饮食。

1.2.3 药物干预和标本处理: 观察各组大鼠大便、精神状态及皮毛等变化3 d, 随机处死2只大鼠解剖, 镜下观察结肠组织大体病理变化情况, 造模成功后, 美沙拉嗪组的大鼠用美沙拉嗪悬液(0.5 g/L)3 mL/d灌胃, 复方苦参汤大、中、小剂量组的大鼠分别给予复方苦参汤药液(0.67、0.34、0.17 g/L)3 mL/d灌胃, 而模型组与正常对照组给予蒸馏水3 mL/d灌胃, 连续15 d。 每天观察记录实验大鼠的精神状态、大便和饮食情况。 第16天各组实验大鼠禁食不禁水24 h后处死, 选取距肛门8 cm处病变最明显结肠组织, 结肠组织分两部分, 一部分4%多聚甲醛固定, 石蜡包埋切片并HE染色, 镜下观察标本病理学改变; 另一部分标本组织液氮冰冻保存备用。 实验过程中各组均有因为灌胃操作、穿孔、误吸等死亡, 最后纳入统计为: 对照组11只、模型组12只、复方苦参汤大剂量组10只、中剂量组12只、小剂量组12只、美沙拉嗪组11只。

1.2.4 免疫组织化学法检测大鼠结肠黏膜组织DOR、 β -arrestin1、Bcl-2蛋白表达: 常规石蜡包埋, 切片; 切片脱蜡和水化; 微波高压修复抗原, 冷却; 3%双氧水阻断内源性过氧化物酶; 正常山羊血清封闭液(5%BSA)孵育; 分别按稀释度1:400滴加兔抗鼠DOR多克隆抗体、1:200滴加兔抗鼠 β -arrestin1多克隆抗体、1:500滴加兔抗鼠多克隆抗体, 4 $^{\circ}$ C过夜; 每张切片滴加50 μ L聚合酶增加剂A; 每张切片滴加50 μ L试剂B酶标羊抗鼠兔抗IgG聚合物; 显色; 苏木素复染, 盐酸酒精分化, 切片脱水干燥, 透明, 中性树胶封片。 在显微镜下观察免疫组织化学结果, 用图像分析软件Image-Pro Plus 6.0进行图像分析, 以黄色或棕黄色染色为阳性表达, 测定平均光密度值(mean density)。

1.2.5 Real time-PCR检测结肠标本中Bcl-2、 β -arrestin1及DOR mRNA表达: 将TRIzol 1 mL加入5 mL匀浆器, 然后将大约100 mg结肠组织放入匀浆器, 研磨; 将液体转入离心管中, 加入1/5RNAisoPlus体积量的氯仿, 上下颠倒充分混匀后, 冰上静置5 min, 4 $^{\circ}$ C条件12 000 r/min离心, 15 min; 取上清液约300 μ L于另一新的离心管内, 加入等体积异丙醇, 静置, 4 $^{\circ}$ C条件12 000 r/min离心, 10 min; 弃上清, 向沉淀中加入现配75%冰

■相关报道
临床上本课题组用复方苦参汤溶胶囊治疗UC取得良好的临床效果。

■创新盘点

本文通过研究大鼠结肠中DOR、 β -arrestin1及Bcl-2的表达情况及DOR- β -arrestin1-Bcl-2信号通路作用机制,为阐明复方苦参汤治疗作用靶点提供理论依据。

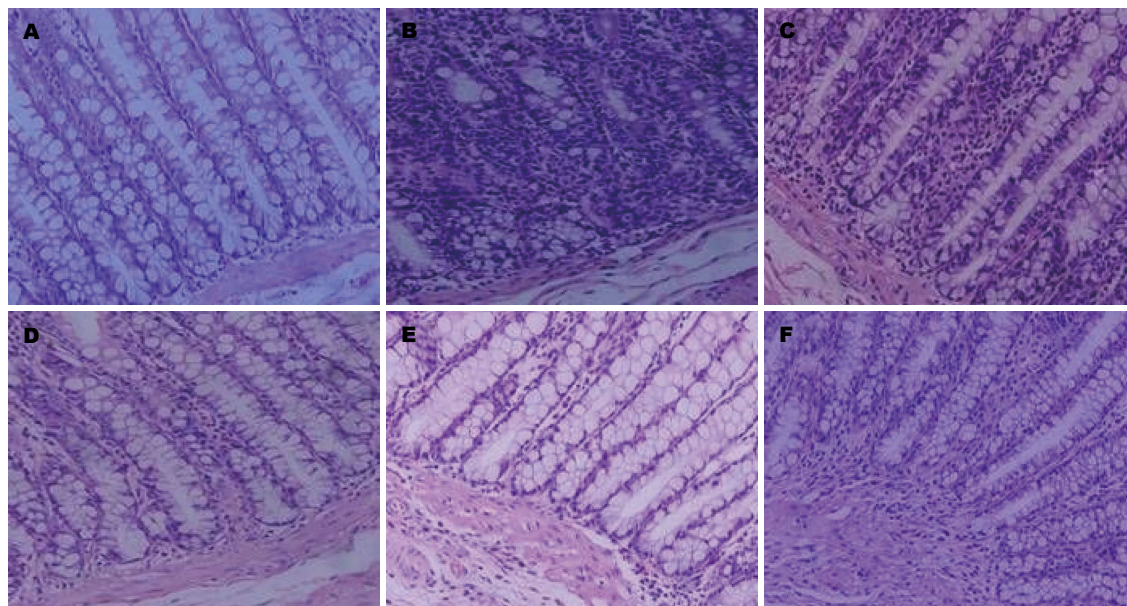


图1 大鼠结肠组织HE染色($\times 400$)。A: 正常对照组; B: 模型组; C: 美沙拉嗪组; D: 复方苦参汤大剂量组; E: 复方苦参汤中剂量组; F: 复方苦参汤小剂量组。

表1 实验大鼠结肠黏膜组织 δ 阿片受体、 β -arrestin1、Bcl-2蛋白表达

分组	<i>n</i>	δ 阿片受体	β -arrestin1	Bcl-2
正常组	11	9.68 ± 3.94^b	14.34 ± 8.97^b	11.88 ± 5.90^b
模型组	12	23.57 ± 9.96^a	38.90 ± 5.30^a	24.11 ± 12.61^a
美沙拉嗪组	11	8.22 ± 4.37^c	21.55 ± 13.16^c	13.42 ± 6.09^c
中药大剂量组	10	13.17 ± 4.88^c	17.52 ± 8.77^c	9.10 ± 4.37^c
中药中剂量组	12	10.37 ± 2.71^c	25.75 ± 6.78^c	12.85 ± 7.29^c
中药小剂量组	12	10.90 ± 4.69^c	28.33 ± 7.32^c	10.92 ± 5.97^c

^a $P < 0.05$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组, 在灌胃过程中不慎灌至大鼠气管中窒息死亡, 大剂量组死亡2只。

乙醇1 mL清洗沉淀, 4 °C 条件7 500 r/min离心; 弃上清, 加入20 μ L DEPC水溶解沉淀; 核酸分析仪检测RNA浓度。逆转录(10 μ L体系): 5 \times Prime Script Buffer 2 μ L, Total RNA 0.5 μ L, RNase 7.5 μ L, 在逆转录PCR仪上设置反转录条件: 37 °C 15 min, 85 °C 5 s, 4 °C, 运行程序, 将反转录合成的cDNA, 用SYBR Green荧光染料实时定量PCR法检测。PCR扩增(10 μ L体系): SYBR Premix ExTaq(2 \times)5 μ L, 上下游引物(各0.2 pmol/ μ L)(10 μ mol/L)0.4 μ L, ROX Reference Dye(50 \times)0.2 μ L, ddH₂O 3.4 μ L, cDNA(10倍稀释)1 μ L; 反应条件: 95 °C 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 40个循环, 4 °C 终止反应。PCR扩增使用Step One™ Software v2.1 扩增仪用2 $^{-\Delta\Delta CT}$ 方法进行相对定量分析。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行统计学分析。多组间两两比较采用单因素方差分

析(One Way ANOVA)的LSD检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠结肠组织病理学改变 溃疡性结肠炎大鼠病变结肠组织切片常规HE染色后见正常对照组结肠组织黏膜纹理清晰, 结构完整, 腺体排列整齐, 无炎性细胞浸润; 模型组结肠黏膜腺体排列紊乱, 杯状细胞明显减少, 黏膜及黏膜下层充血水肿, 黏膜层可见炎性细胞浸润; 复方苦参汤大、中、小剂量组和美沙拉嗪组结肠黏膜结构尚完整, 黏膜层和固有层炎性细胞浸润减轻, 杯状细胞较模型组增多, 腺体排列较整齐(图1)。

2.2 实验大鼠结肠组织中 δ 阿片受体、 β -arrestin1和Bcl-2蛋白表达 免疫组织化学技术研究证明与空白组比较, 模型组结肠组织中DOR、

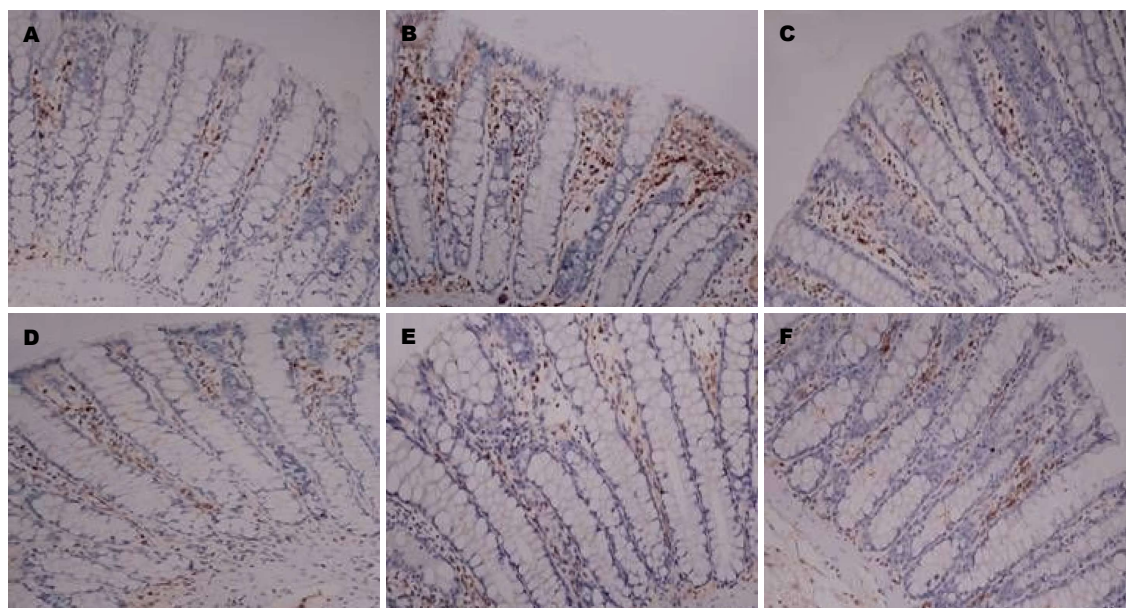


图2 实验大鼠结肠组织 δ 阿片受体表达($\times 400$). A: 正常对照组; B: 模型组; C: 美沙拉嗪; D: 复方苦参汤大剂量组; E: 复方苦参汤中剂量组; F: 复方苦参汤小剂量组.

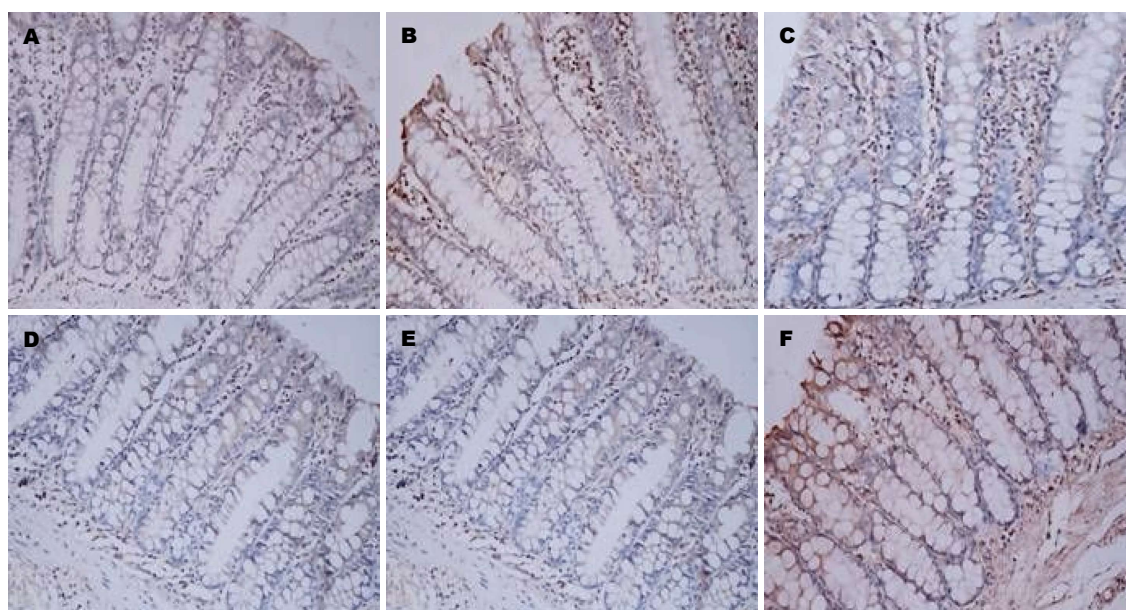


图3 实验大鼠结肠组织 β -arrestin1表达($\times 400$). A: 正常对照组; B: 模型组; C: 美沙拉嗪; D: 复方苦参汤大剂量组; E: 复方苦参汤中剂量组; F: 复方苦参汤小剂量组.

β -arrestin1和Bcl-2蛋白表达水平显著增高($P<0.05$). 与模型组比较, 美沙拉嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组结肠组织中DOR、 β -arrestin1和Bcl-2蛋白表达明显下降($P<0.05$). 但美沙拉嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组4组间采取两两比较, DOR、 β -arrestin1和Bcl-2蛋白表达无显著差异(图2-4, 表1).

2.3 各组大鼠结肠组织中DOR、 β -arrestin1和Bcl-2 mRNA表达 与空白组比较, 模型组结肠组织中DOR、 β -arrestin1和Bcl-2mRNA表达水

平显著增高($P<0.05$). 与模型组比较, 美沙拉嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组脾脏和结肠组织中DOR、 β -arrestin1和Bcl-2 mRNA表达明显下降($P<0.05$). 但美沙拉嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组4组间采取两两比较, DOR、 β -arrestin1和Bcl-2 mRNA表达无显著差异(图5-7).

3 讨论

目前, 溃疡性结肠炎与肠黏膜免疫功能失调相

■应用要点

本研究发现复方苦参汤和美沙拉嗪均可以有效治疗溃疡性结肠炎, 特别复方苦参汤对该病有较好的治疗作用, 却没有西药的不良反应, 值得进一步研究和开发, 有一定的临床应用前景.

■名词解释

复方苦参汤：由苦参、地榆、青黛、白及、甘草等组成。

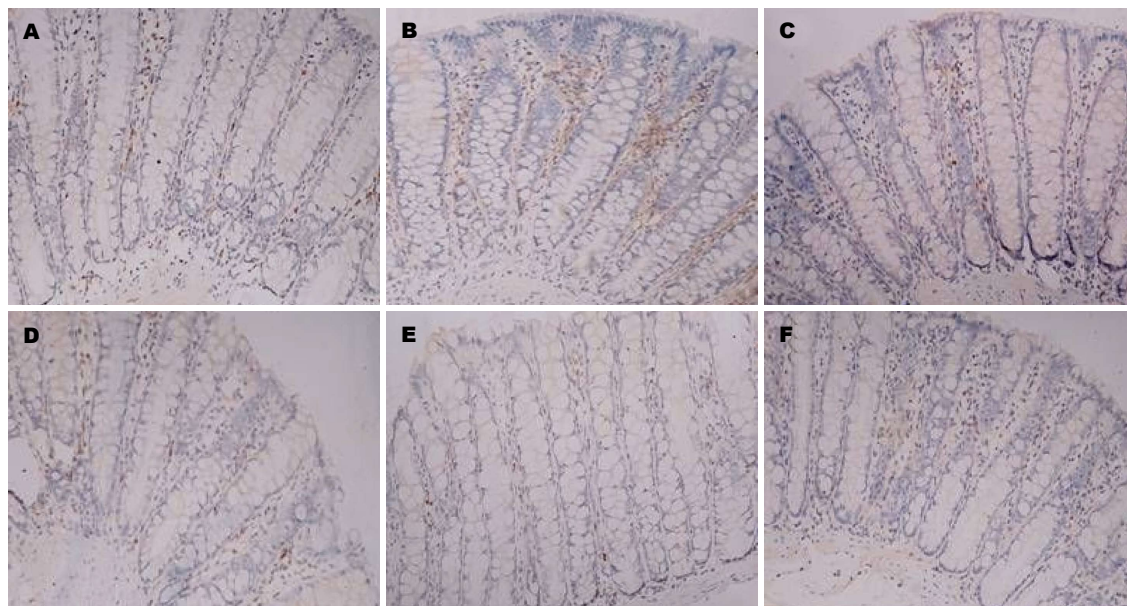


图4 实验大鼠结肠组织Bcl-2表达($\times 400$)。A: 正常对照组; B: 模型组; C: 美沙拉嗪组; D: 复方苦参汤大剂量组; E: 复方苦参汤中剂量组; F: 复方苦参汤小剂量组。

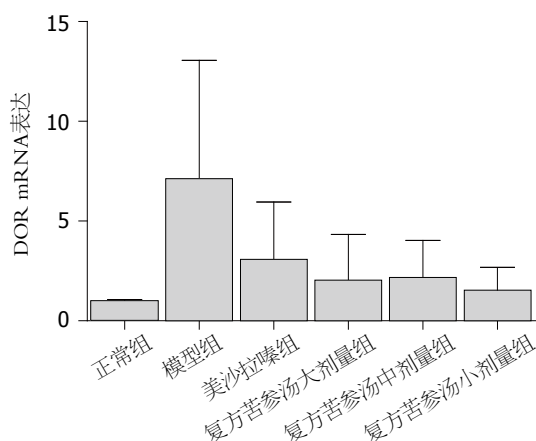


图5 各组 δ 阿片受体 mRNA表达。

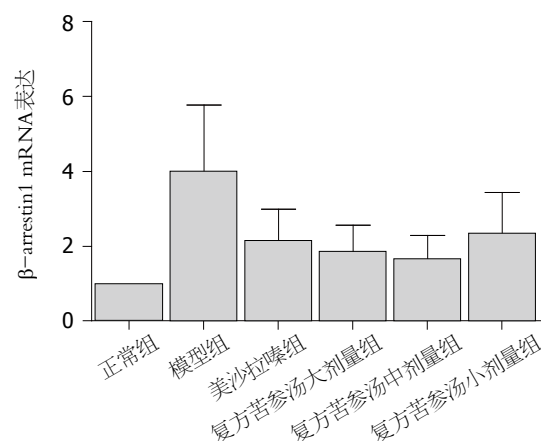


图6 各组 β -arrestin1 mRNA表达。

关,主要表现为结肠黏膜表浅广泛缺失及固有层炎症改变,与细胞坏死和细胞凋亡有关^[15],虽然其病因及发病机制尚未明确,但是细胞凋亡在结肠黏膜的缺失及溃疡形成中的作用已达成共识^[16]。DOR是GPCR家族成员^[17]。 β -arrestin1为arrestins家族的主要成员之一,是一种可溶蛋白质,在细胞质和细胞核内都有分布^[18]。 β -arrestin1分子的经典功能是终止GPCR下游信号转导,可以通过其下游的效应因子相互作用调节G蛋白信号,同时,其还是细胞质和细胞核之间传递GPCR信号的信使分子^[19,20]。 β -arrestin1不仅可以介导GPCRS的内吞^[21-23],还是其信号转导的转换者,与G蛋白下游信号分子形成复合物,调节G-蛋白偶联受体信号转导^[24]。

Bcl-2为凋亡相关基因,Bcl-2基因家族对细

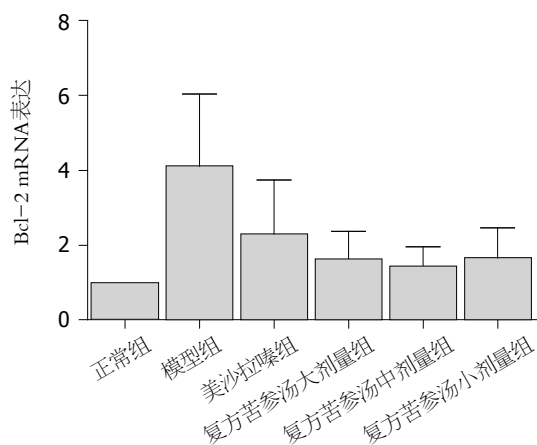


图7 各组Bcl-2 mRNA表达。

胞凋亡基因调控起着关键作用,Bcl-2基因位于染色体18q21,其编码一个26 kDa的蛋白,有延长

细胞寿命, 增加细胞对多种凋亡刺激因素抗性的生物功能^[25]. Bcl-2是一种细胞凋亡抑制蛋白, 同时Bcl-2也是 β -arrestin1调控的靶基因. 当DOR激活, GPCR信号通路的细胞质和细胞核间信号传递分子 β -arrestin1, 能将GPCR膜上的信号传递至细胞核中^[26], 并在p27启动子区聚集, 使此区的组蛋白H4乙酰化, 促进p27和BCL-2的基因转录, 并且介导组蛋白乙酰化酶p300在此区域的招募从而调控基因表达^[27,28].

我们研究表明与正常对照组相比, 模型组实验大鼠结肠组织中DOR、 β -arrestin1及Bcl-2蛋白和mRNA表达均明显升高($P<0.05$), 可能通过激活DOR信号、调节 β -arrestin1功能和促进抗凋亡蛋白Bcl-2表达, 抑制了溃疡性结肠炎肠黏膜的CD4⁺T细胞凋亡, 结肠黏膜内CD4⁺T细胞过度持续聚集, 致使溃疡性结肠炎反复发作, 故我们认为DOR- β -arrestin1-Bcl-2信号转导通路可能参与了溃疡性结肠炎的发病过程.

溃疡性结肠炎属于祖国医学“痢疾”“泄泻”、“休息痢”等范畴, 《难经》称为“大瘕泄”. 本病是本虚标实的病症, 急性期主要以表实为主, 即湿热蕴结、血热妄行为主, 故治以清热燥湿凉血, 通过实验和临床研究发现, 复方苦参汤治疗急性发作期疗效较好. 复方苦参汤(compound sophorae flavescentis decoction, CSFD)由苦参、地榆、青黛、白及、甘草等组成. 现代药理研究表明苦参的主要成分氧化苦参碱及苦参碱等具有抗炎、抗菌、抗病毒和抗肿瘤作用, 抑制体液免疫和调节细胞免疫, 并可直接用于治疗UC; 青黛能降低毛细血管的通透性, 对平滑肌有抑制作用, 可调节机体免疫功能, 具有类皮质激素样作用, 具有较强的抗肿瘤、抗病毒和抗菌功效, 能有效清除氧自由基, 稳定细胞膜通透性, 具有较好的镇痛作用, 为治疗UC提供了依据; 地榆能缩短凝血时间, 使烫伤面积减少, 有抗菌及收敛止泄作用; 白及能在溃疡面上形成保护膜, 促进肠黏膜的修复, 抑制病菌的生长, 止血作用明显, 较强的黏附能力, 能将药物黏附于病变组织发挥作用. CSFD具有生肌止血、消肿敛疮、清热解毒、燥湿、杀虫、凉血止血之功效^[29-31]. 实验发现经复方苦参汤和美沙拉嗪治疗后, 实验大鼠体质量、饮食较前增加, 大便次数减少, 成形, 无脓血便, 毛发光滑等得到明显的改善, 与模型组相比, 4个治疗组实验大鼠结肠组织中Bcl-2、 β -arrestin1及DOR mRNA和蛋白表达均明显降低($P<0.05$). 美沙拉

嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组之间比较Bcl-2、 β -arrestin1及DOR mRNA和蛋白表达, 无显著差异, 表明复方苦参汤和美沙拉嗪可能通过对DOR- β -arrestin1-Bcl-2信号转导通路的干预, 对溃疡性结肠炎达到治疗的目的, 与西药相比中药汤剂价格便宜, 不良反应小, 故我们认为复方苦参汤可能通过对DOR- β -arrestin1-Bcl-2信号转导通路的干预, 促使肠道内T细胞的凋亡, 为复方苦参汤治疗溃疡性结肠炎提供新的分子机制理论.

总之, 在实验大鼠结肠黏膜组织中Bcl-2、 β -arrestin1及DOR表达明显升高, 致使UC肠黏膜T细胞凋亡抑制, 在肠黏膜过度聚集致使UC反复发作. 经复方苦参汤治疗后, 实验大鼠体质量、饮食较前增加, 大便次数减少, 成形, 无脓血便, 毛发光滑等症状得到明显的改善, Bcl-2、 β -arrestin1及DOR表达显著降低, 故复方苦参汤可能通过对DOR- β -arrestin1-Bcl-2信号通路活化环节的干预, 促进肠黏膜中T细胞凋亡, 减轻溃疡性结肠炎的症状, 达到治疗的效果.

4 参考文献

- 1 Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ. Ulcerative colitis. *Lancet* 2012; 380: 1606-1619 [PMID: 22914296 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60150-0]
- 2 Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 2007; 369: 1627-1640 [PMID: 17499605 DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60750-8]
- 3 Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006; 3: 390-407 [PMID: 16819502 DOI: 10.1038/ncpgasthep0528]
- 4 Monteleone G, Caprioli F. T-cell-directed therapies in inflammatory bowel diseases. *Clin Sci (Lond)* 2010; 118: 707-715 [PMID: 20350293 DOI: 10.1042/CS20100027]
- 5 Filippi J, Roger PM, Schneider SM, Durant J, Breitmayer JP, Benzaken S, Bernard A, Dellamonica P, Hébuterne X. Infliximab and human immunodeficiency virus infection: Viral load reduction and CD4⁺ T-cell loss related to apoptosis. *Arch Intern Med* 2006; 166: 1783-1784 [PMID: 16983059 DOI: 10.1001/archinte.166.16.1783]
- 6 Van den Brande JM, Koehler TC, Zelinkova Z, Benink RJ, te Velde AA, ten Cate FJ, van Deventer SJ, Peppelenbosch MP, Hommes DW. Prediction of antitumour necrosis factor clinical efficacy by real-time visualisation of apoptosis in patients with Crohn's disease. *Gut* 2007; 56: 509-517 [PMID: 17082252]
- 7 Kucharzik T, Maaser C, Lügering A, Kagnoff M, Mayer L, Targan S, Domschke W. Recent understanding of IBD pathogenesis: implications for future therapies. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 1068-1083 [PMID: 17075348 DOI: 10.1097/01.mib.0000235827.21778.d5]

■同行评价

本文实验动物模型选择合理, 实验命题明确, 研究方法选用得当, 讨论条理尚清晰, 结果尚客观, 有一定的学术价值.

- 8 Mudter J, Neurath MF. Apoptosis of T cells and the control of inflammatory bowel disease: therapeutic implications. *Gut* 2007; 56: 293-303 [PMID: 16956919 DOI: 10.1136/gut.2005.090464]
- 9 Shi Y, Feng Y, Kang J, Liu C, Li Z, Li D, Cao W, Qiu J, Guo Z, Bi E, Zang L, Lu C, Zhang JZ, Pei G. Critical regulation of CD4⁺ T cell survival and autoimmunity by beta-arrestin 1. *Nat Immunol* 2007; 8: 817-824 [PMID: 17618287 DOI: 10.1038/ni1489]
- 10 Frederick TJ, Miller SD. Arresting autoimmunity by blocking beta-arrestin 1. *Nat Immunol* 2007; 8: 791-792 [PMID: 17641656 DOI: 10.1038/ni0807-791]
- 11 Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szwczuk MR, Wallace JL. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96: 795-803 [PMID: 2914642]
- 12 Giriş M, Depboylu B, Doğru-Abbasoğlu S, Erbil Y, Olgaç V, Aliş H, Aykaç-Toker G, Uysal M. Effect of taurine on oxidative stress and apoptosis-related protein expression in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis. *Clin Exp Immunol* 2008; 152: 102-110 [PMID: 18241224 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2008.03599.x]
- 13 Fan H, Shen L, Tang Q, Xiong P, Shou Z, Liao Y, Liang L, Chen X. Effect of Wumeiwan on cytokines TNF-alpha, IL-6, IL-8, IL-10 and expression of NF-kappaBp65 in rats with ulcerative colitis. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2009; 29: 650-654 [PMID: 19821103 DOI: 10.1007/s11596-009-0523-4]
- 14 Fan H, Qiu MY, Mei JJ, Shen GX, Liu SL, Chen R. Effects of four regulating-intestine prescriptions on pathology and ultrastructure of colon tissue in rats with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4800-4806 [PMID: 16097047]
- 15 Seidelin JB, Nielsen OH. Epithelial apoptosis: cause or consequence of ulcerative colitis? *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 1429-1434 [PMID: 19958058]
- 16 Li Z, Zhang de K, Yi WQ, Ouyang Q, Chen YQ, Gan HT. NF-kappaB p65 antisense oligonucleotides may serve as a novel molecular approach for the treatment of patients with ulcerative colitis. *Arch Med Res* 2008; 39: 729-734 [PMID: 18996285 DOI: 10.1016/j.arcmed.2008.08.001]
- 17 Piestrzeniewicz MK, Fichna J, Janecka A. [Opioid receptors and their selective ligands]. *Postepy Biochem* 2006; 52: 313-319 [PMID: 17201067]
- 18 Ibrahim IA, Kurose H. β -arrestin-mediated signaling improves the efficacy of therapeutics. *J Pharmacol Sci* 2012; 118: 408-412 [PMID: 22447307 DOI: 10.1254/jphs.11R10CPois10.1254/jphs.11R10CP]
- 19 Warren JS. Intrapulmonary interleukin 1 mediates acute immune complex alveolitis in the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 175: 604-610 [PMID: 1826836 DOI: 10.1152/physiol.00042.2007]
- 20 Shenoy SK, Lefkowitz RJ. β -Arrestin-mediated receptor trafficking and signal transduction. *Trends Pharmacol Sci* 2011; 32: 521-533 [PMID: 21680031 DOI: 10.1016/j.tips.2011.05.002]
- 21 Alvarez CE. On the origins of arrestin and rhodopsin. *BMC Evol Biol* 2008; 8: 222 [PMID: 18664266 DOI: 10.1186/1471-2148-8-222]
- 22 Patel PA, Tilley DG, Rockman HA. Physiologic and cardiac roles of beta-arrestins. *J Mol Cell Cardiol* 2009; 46: 300-308 [PMID: 19103204 DOI: 10.1016/j.yjmcc.2008.11.015]
- 23 Shenoy SK, Lefkowitz RJ. Seven-transmembrane receptor signaling through beta-arrestin. *Sci STKE* 2005; 2005: cm10 [PMID: 16267056]
- 24 范恒, 廖奕, 唐庆, 梁丽, 陈小艳. β -arrestin信号转导通路在炎症性肠病发生过程中的作用机制. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3114-3120
- 25 Cvejic D, Selemetjev S, Savin S, Paunovic I, Petrovic I, Tatic S. Apoptosis and proliferation related molecules (Bcl-2, Bax, p53, PCNA) in papillary microcarcinoma versus papillary carcinoma of the thyroid. *Pathology* 2008; 40: 475-480 [PMID: 18604733 DOI: 10.1080/00313020802026989]
- 26 Kang J, Shi Y, Xiang B, Qu B, Su W, Zhu M, Zhang M, Bao G, Wang F, Zhang X, Yang R, Fan F, Chen X, Pei G, Ma L. A nuclear function of beta-arrestin1 in GPCR signaling: regulation of histone acetylation and gene transcription. *Cell* 2005; 123: 833-847 [PMID: 16325578 DOI: 10.1016/j.cell.2005.09.011]
- 27 Ulukaya E, Acilan C, Yilmaz Y. Apoptosis: why and how does it occur in biology? *Cell Biochem Funct* 2011; 29: 468-480 [PMID: 21773978 DOI: 10.1002/cbf.1774]
- 28 Martinou JC, Youle RJ. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics. *Dev Cell* 2011; 21: 92-101 [PMID: 21763611 DOI: 10.1016/j.devcel.2011.06.017]
- 29 范恒, 庄雄, 段雪云, 梁丽, 廖奕, 唐庆. 复方苦参结肠溶胶囊对溃疡性结肠炎患者的治疗作用及其机制. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2429-2432
- 30 范恒, 寿折星, 吕建芳, 沈霖, 杨胜兰, 陈瑞. 复方苦参结肠溶胶囊治疗溃疡性结肠炎11例临床研究. *中国中西医结合消化杂志* 2007; 15: 60, 61
- 31 梁丽, 范恒, 唐庆, 陈小艳. 复方苦参结肠溶胶囊治疗溃疡性结肠炎(湿热型)40例临床观察. *中西医结合研究* 2010; 2: 7-10

编辑 李军亮 电编 闫晋利



经典Wnt通路关键成员在Peutz-Jeghers综合征息肉组织中的表达

陆相吉, 顾国利, 魏学明, 任力, 宁守斌, 李德昌

陆相吉, 河北北方学院 河北省张家口市 075000
顾国利, 魏学明, 中国人民解放军空军总医院普通外科 北京市 100142
任力, 李德昌, 中国人民解放军空军总医院病理科 北京市 100142
宁守斌, 中国人民解放军空军总医院消化内科 北京市 100142
陆相吉, 主要从事普外科的临床研究。
全军“十二五”后勤科研课题面上基金资助项目, No. CWS11J193
首都市民健康项目培育课题、空军总医院临床攻关课题基金资助项目, No. KZG2009006
作者贡献分布: 本课题由顾国利选题; 资料标本收集由顾国利、陆相吉及宁守斌完成; 实验操作由陆相吉与李德昌完成; 结果判定由任力与李德昌完成; 写作由陆相吉与魏学明完成; 修改及审校由顾国利完成。
通讯作者: 顾国利, 副教授, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院普通外科。
kzggl@163.com
电话: 010-68410099-6302
收稿日期: 2012-12-28 修回日期: 2013-02-08
接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

Expression of key members of classical Wnt signal pathway in Peutz-Jeghers syndrome

Xiang-Ji Lu, Guo-Li Gu, Xue-Ming Wei, Li Ren, Shou-Bin Ning, De-Chang Li

Xiang-Ji Lu, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China
Guo-Li Gu, Xue-Ming Wei, Department of General Surgery, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China
Li Ren, De-Chang Li, Department of Pathology, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China
Shou-Bin Ning, Department of Digestive Disease, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China

Supported by: the General Project of the PLA “Twelfth Five-Year” Logistics Research Subject, No. CWS11J193; the Capital Citizen Health Cultivation Project and the Clinical Key Project of Air Force General Hospital of Chinese PLA, No. KZG2009006

Correspondence to: Guo-Li Gu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China. kzggl@163.com

Received: 2012-12-28 Revised: 2013-02-08
Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To detect the expression of E-cadherin

(E-Cad), β -catenin (β -Cat), matrix metalloproteinase-7 (MMP-7), c-Myc and Cyclin D1 proteins in Peutz-Jeghers syndrome (PJS).

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the protein expression of E-Cad, β -Cat, MMP-7, C-Myc and Cyclin D1 in 40 cases of PJS, 20 cases of colorectal cancer and 20 cases of normal colorectal mucosa. The clinical data for the included patients were analyzed retrospectively.

RESULTS: The positive rates of E-Cad and β -Cat expression on the membrane, β -Cat expression in the nucleus, and MMP-7, c-Myc and Cyclin D1 expression differed significantly among the normal mucosa group, PJS group and colorectal cancer group. In the PJS group, the expression of E-Cad and β -Cat on the membrane increased with the increase in patient age or polyp size, and the expression of β -Cat in the nucleus and the expression of MMP-7, c-Myc and Cyclin D1 increased with the increase in polyp size. The expression of E-Cad and β -Cat on the membrane had a negative correlation with that of β -Cat in the nucleus and the expression of MMP-7, c-Myc and Cyclin D1 in PJS.

CONCLUSION: The aberrant activation of classical Wnt pathway and the epithelial-mesenchymal transition mediated by Wnt signalling may play an important role in the tumorigenesis and development of PJS. This may correlate with the crosstalk with the LKB1/mTOR pathway.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Peutz-Jeghers syndrome; β -catenin; E-cadherin; C-Myc; Matrix metalloproteinase-7; Cyclin D1; Immunohistochemistry

Lu XJ, Gu GL, Wei XM, Ren L, Ning SB, Li DC. Expression of key members of classical Wnt signal pathway in Peutz-Jeghers syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 655-660 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/655.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.655>

■背景资料

Peutz-Jeghers综合征(PJS)消化系统息肉可继发肠套叠、梗阻、出血、恶变等严重并发症,具有发病早、病程迁延反复的特点。目前的手术、内镜治疗无法达到预防息肉生长的目标;这使众多PJS患者常常陷入“消极被动地等待息肉复发、恶变”的悲惨境遇。如能明确PJS息肉组织中细胞信号通路的活化状态,并对异常活化者进行干预和抑制,就有可能抑制PJS息肉的发生发展。从而使众多PJS患者摆脱目前的临床治疗困境。

■同行评议者

万军,教授,中国人民解放军总医院南楼老年消化科

■研究前沿

PJS息肉好发于小肠(特别是高位空肠),这是传统内镜的检查盲区,也是导致众多PJS患者被漏诊的重要原因。我院依托双气囊电子小肠镜技术在近3年就积累了120余例PJS病例。这为本研究提供了丰富的临床资料。目前,国内尚未重视针对PJS的研究,而细胞信号通路在PJS息肉组织中的活化状态的研究鲜有报道。

摘要

目的:探讨经典Wnt信号通路的关键成员-上皮性钙黏附素(E-Cadherin, E-Cad), β -链接素(β -catenin, β -Cat), 基质金属蛋白酶-7(matrix metalloproteinase-7, MMP-7), C-Myc和细胞周期素D1(Cyclin D1)在黑斑息肉病(Peutz-Jeghers syndrome, PJS)息肉组织中的表达及意义。

方法:应用免疫组织化学SP法检测40例PJS息肉组织、20例大肠癌组织及20例正常大肠道黏膜组织中E-Cad、 β -Cat、MMP-7、C-Myc、Cyclin D1蛋白的表达情况,并结合其临床病理材料进行回顾性分析。

结果:E-Cad、 β -Cat、MMP-7、C-Myc、Cyclin D1蛋白在正常黏膜组、PJS息肉组和大肠癌组中的表达具有显著差异。PJS息肉组中E-Cad和膜表达 β -Cat随着患者年龄增长、息肉增大而表达减弱;而核表达 β -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7则随着息肉增大而表达增强。E-Cad和膜表达 β -Cat呈明显正相关,而与核表达 β -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7均呈明显的负相关。而膜表达 β -Cat与核表达 β -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7呈明显的负相关;核表达 β -Cat与Cyclin D1、C-Myc、MMP-7呈明显的正相关;Cyclin D1与C-Myc、MMP-7呈明显的正相关;C-Myc与MMP-7呈明显的正相关。

结论:经典Wnt信号通路的异常活化,以及由Wnt所介导的上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)可能在PJS息肉的发生发展过程中扮演着重要角色。这可能与LKB1/mTOR信号通路的整合有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词:黑斑息肉病; β -链接素; 上皮性钙黏附蛋白; C-Myc; 基质金属蛋白酶-7; 细胞周期素D1; 免疫组织化学

陆相吉, 顾国利, 魏学明, 任力, 宁守斌, 李德昌. 经典Wnt通路关键成员在Peutz-Jeghers综合征息肉组织中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 655-660 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/655.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.655>

0 引言

Peutz-Jeghers综合征(Peutz-Jeghers syndrome, PJS)是一种以皮肤黏膜色素斑和消化系多发错构瘤息肉为临床特征的常染色体显性遗传病^[1,2]。PJS息肉可继发肠套叠、梗阻、出血、恶变等

严重并发症;目前其治疗以手术为主,配合内镜下息肉切除,无法达到预防息肉发生发展的目的。众多PJS患者常常陷入“消极被动地等待息肉复发、恶变”的悲惨境遇。研究发现:多种细胞信号通路可能参与PJS息肉的发生发展。如对PJS息肉中异常的细胞信号通路加以阻断,就有可能抑制PJS息肉的发生和发展。研究发现^[3,4]:经典Wnt信号通路在肿瘤的生物进程扮演着重要角色;但是研究其在PJS息肉中的作用的文章鲜有报道。本研究通过研究经典Wnt信号通路的关键成员-上皮性钙黏附素(E-Cadherin, E-Cad)、 β -链接素(β -catenin, β -Cat)、细胞周期素D1(Cyclin D1)、基质金属蛋白酶-7(matrix metalloproteinase-7, MMP-7)、人c-myc癌基因产物(C-Myc)在PJS息肉组织中的表达状态,探讨其在PJS息肉发生、发展过程中的作用,为将Wnt通路抑制剂用于PJS息肉的靶向治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 随机选取2010-06/2012-06在空军总医院普通外科手术治疗和消化内科小肠镜下治疗的40例PJS患者组成实验组,全部病例符合PJS诊断标准^[5],并经组织学证实均为错构瘤。随机选取同期行根治性手术的20例结直肠癌患者组成阳性对照组,选取在门诊肠镜检查的20例健康人组成阴性对照组。具体资料见表1。

1.2 方法 选取上述3组病例的组织石蜡块切片染色。上述标本均经HE染色确诊。E-Cad鼠抗人mAb(克隆系4A2C7, ZM-0092)、 β -Cat鼠抗人mAb(克隆系CAT-5H10, ZM-0442)、Cyclin D1兔抗人mAb(克隆系EP12, ZM-0101)、MMP-7鼠抗人mAb(克隆系1D2, ZM-0334)、C-Myc鼠抗人mAb(克隆系9E10, ZM-0079)工作液、SP试剂盒、DAB显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物公司。试验由LAB vision Autostainer 360自动染色仪系统(福建迈新公司)程控完成、镜下图像以Olympus Dp70图像采集分析仪采集。采用免疫组织化学SP染色法^[6], E-Cad、 β -Cat、Cyclin D1、C-Myc经抗原热修复, MMP-7不需处理。30 mL/L H₂O₂孵育10 min,蒸馏水冲洗,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)浸泡5 min,滴加正常兔血清工作液,孵育10 min后倾去,不洗;滴加一抗37 °C孵育2 h, PBS冲洗3 min×3次。滴加二抗,孵育15 min, PBS冲洗3 min×3次。滴加三抗,孵育15 min, PBS冲洗3 min×3次, DAB

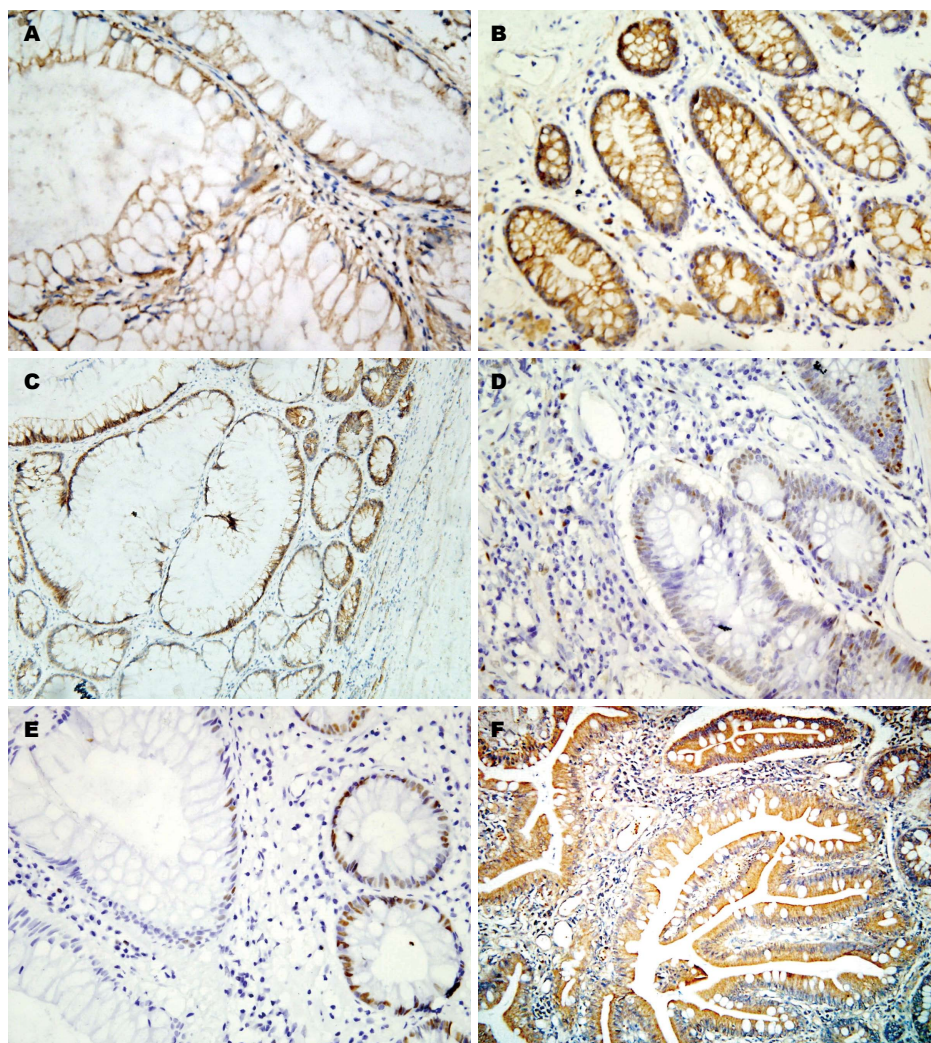


图1 E-Cad、 β -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7的表达(SP \times 200). A: E-Cad的表达; B: β -Cat的膜表达; C: β -Cat的核表达; D: Cyclin D1的表达; E: C-Myc的表达; F: MMP-7的表达.

应用要点

本研究有助于明确PJS息肉组织中经典Wnt信号通路的活化状态,为针对Wnt信号通路的分子靶向药物应用于PJS息肉的预防性治疗提供有益的理论参考,从而有可能使PJS患者摆脱目前的临床治疗困境.

显色, 苏木素复染, 脱水, 透明, 封片. PBS代替一抗作阴性对照, 已知阳性切片作阳性对照. 在200倍的视野下随机选取10个视野, 记数每个视野中正常黏膜或肿瘤细胞的染色情况, 取平均值. E-Cad和 β -Cat定位于细胞膜, β -Cat也可在细胞浆和细胞核中表达; MMP-7定位于细胞浆, Cyclin D1和C-Myc定位于细胞核. 依据染色强度和阳性细胞率来计算评分^[6-8]. 染色强度: 无染色为0分; 染色弱为1分; 染色强为2分. 阳性细胞率: E-Cad和 β -Cat在细胞膜阳性细胞数<70%为0分, 70%-90%为3分, >90%为5分; β -Cat在细胞核阳性细胞数<3%为0分, 3%-5%为3分, >5%为5分; Cyclin D1和C-Myc在细胞核阳性细胞数<10%为0分, 10%-30%为3分, >30%为5分; MMP-7在细胞浆阳性细胞数<10%为0分, 10%-30%为3分, >30%为5分. 以染色强度与阳性细胞率之和计算评分, 0-2分为阴性(-), 3-5分为一般阳性(+), 6-7分为强阳性(+++). 评分过程由两名高年资病理科医生双盲法独立完成.

统计学处理 应用SPSS19.0统计软件包进行

统计分析. 计数资料采用2个(或多个)样本率比较的 χ^2 检验, 正态分布的计量资料采用随机设计的两总体均数的 t 检验, 偏态分布的计量资料采用两组完全随机设计的Mann-Whitney秩和检验. 积分相关性采用Spearman等级相关分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 E-Cad、 β -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7的表达特征 E-Cad和 β -Cat表达于上皮细胞的细胞膜上, 呈棕黄色颗粒, 间质不染色(图1A, B), β -Cat也可在细胞质和细胞核中异位表达(图1C). Cyclin D1和C-Myc主要表达于细胞核(图1D, E), 呈棕黄色颗粒, 细胞间质不染色. MMP-7主要表达于细胞浆, 呈棕黄色颗粒, 间质不染色(图1F).

2.2 E-Cad、 β -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7在3组中的表达情况 3组中E-Cad、 β -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7蛋白的表达情况见表2. 各组间比较均具有统计学差异.

2.3 E-Cad、 β -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7

■名词解释

Peutz-Jeghers综合征(PJS): 一种由LKB1/STK11突变引起的常染色体显性遗传病, 以特定部位皮肤黏膜色素斑、消化系统多发错构瘤息肉和家族遗传性为特征性的临床表现; 故又称黑斑息肉病。

表 1 3组病例的临床资料 (n)

分组	n	男	女	年龄 (mean ± SD, 岁)	标本大小 (cm)	取材部位					
						十二指肠	空肠	回肠	右半结肠	左半结肠	直肠
正常黏膜组	20	14	6	35-64(47.8 ± 8.1)	0.3-0.5				12	12	4
PJS组	40	24	16	12-45(24.7 ± 5.6)	0.5-8.2	3	19	16		2	
结直肠癌组	20	12	8	38-81(66.9 ± 7.2)	2.6-9.7				14	4	2

表 2 E-Cad、β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7在3组中的表达情况 (n)

分组	n	E-Cad			膜表达β-Cat			核表达β-Cat			Cyclin D1			c-Myc			MMP-7		
		+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-
正常黏膜组	20	15	4 ^{ac}	1	16	3 ^{ac}	1	1	1 ^{ac}	18	2 ^{ac}	4	14	2	2 ^{ac}	16	1	1 ^{ac}	18
PJS组	40	14	20 ^a	6	10	20 ^a	10	6	23 ^a	11	8 ^a	19	13	9	13 ^b	18	16	12 ^a	12
结直肠癌组	20	1	1	18	1	2	17	15	4	1	17	2	1	14	4	2	18	1	1
χ ² 值			52.80			48.13			55.98			40.44			27.37			44.14	

^aP<0.05 vs 结直肠癌组; ^cP<0.05 vs PJS组。

表 3 E-Cad、β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7表达与PJS临床病理的关系 (n)

项目	n	E-Cad			膜表达β-Cat			核表达β-Cat			Cyclin D1			c-Myc			MMP-7		
		(+)-(+++)	-		(+)-(+++)	-		(+)-(+++)	-		(+)-(+++)	-		(+)-(+++)	-		(+)-(+++)	-	
性别																			
男	24	20	4		18	6		17	7		17	7		13	11		16	8	
女	16	14	2		12	4		12	4		10	6		9	7		12	4	
年龄(岁)																			
<15	13	12	1		11	2		9	4		8	5		5	8		9	4	
15-30	18	17	1		15	3		13	5		12	6		10	8		13	5	
>30	9	5 ^a	4		4 ^a	5		7	2		7	2		7	2		6	3	
部位																			
十二指肠	3	2	1		3	0		1	2		2	1		1	2		1	2	
空肠	19	16	3		13	6		14	5		13	6		10	9		14	5	
回肠	16	14	2		12	4		13	3		11	5		9	7		12	4	
结直肠	2	2	0		2	0		1	1		1	1		0	2		1	1	
息肉大小(cm)																			
<1	11	11	0		10	1		5	6		4	7		4	7		4	7	
1-3	16	15	1		15	1		12	4		11	5		7	9		12	4	
>3	13	8 ^c	5		5 ^c	8		12 ^c	1		12 ^c	1		11 ^c	2		12 ^c	1	

^aP≤0.05, ^cP≤0.05 vs 每项目下分区间比较。

表达与PJS临床病理的关系 分析PJS组E-Cad、β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7表达与其临床病理特征的关系见表3。可见E-Cad和膜表达β-Cat随着患者年龄增长、息肉增大而表达减弱; 而核表达β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7则随着息肉增大而表达增强。

2.4 PJS息肉组织中E-Cad、β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7表达的相关性 将PJS息肉组织

中E-Cad、β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7表达积分数据进行Spearman等级相关分析显示: PJS息肉组中E-Cad和膜表达β-Cat呈明显正相关, 而与核表达β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7均呈明显的负相关。而膜表达β-Cat与核表达β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7呈明显的负相关; 核表达β-Cat与Cyclin D1、C-Myc、MMP-7呈明显正相关; Cyclin D1与C-Myc、

表 4 PJS息肉中E-Cad、 β -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7表达的相关性

项目	E-Cad	膜表达 β -Cat	核表达 β -Cat	C-Myc	MMP-7
膜表达 β -Cat					
相关系数	0.914 ^b				
P值	0.000				
核表达 β -Cat					
相关系数	-0.531 ^b	-0.560 ^b			
P值	0.000	0.000			
C-Myc					
相关系数	-0.398 ^a	-0.433 ^b	0.714 ^b		
P值	0.011	0.005	0.000		
MMP-7					
相关系数	-0.323 ^a	-0.453 ^b	0.611 ^b	0.582 ^b	
P值	0.042	0.003	0.000	0.000	
Cyclin D1					
相关系数	-0.439 ^b	-0.483 ^b	0.874 ^b	0.720 ^b	0.712 ^b
P值	0.005	0.002	0.000	0.000	0.000

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$.

MMP-7呈明显正相关; C-Myc与MMP-7呈明显正相关(表4).

3 讨论

PJS是常染色体显性遗传病, 流行病学调查显示^[9]: PJS的发病率为1: 25 000. 因此, PJS并不罕见. 造成其在临床漏诊的一个重要原因: PJS息肉好发于小肠(特别是高位空肠), 而这是传统内镜检查的盲区. 我院依托双气囊电子小肠镜技术, 在近3年内就积累了120余例PJS病例. 目前临床治疗PJS以手术和内镜为主, 仅能达到解救各种并发症的作用, 无法预防息肉发生发展. 这使PJS患者常常陷入“息肉反复治疗却反复生长, 最终恶变而致命”的悲惨困境, 给患者本人及其家庭带来了巨大的精神痛苦和沉重的经济负担. 因此, 探索PJS息肉的预防性治疗应是PJS的临床科研方向. 研究显示^[10]: 异常活化的Wnt/ β -catenin信号通路可是 β -cat在胞浆中聚集并进入胞核, 启动下游靶基因产物(*c-myc*、cyclin D1、Survivin、gastrin、VEGF、ASEF、MMP-7等)的表达. 这些靶基因产物参与基因转录、细胞周期、细胞增殖、细胞凋亡等生物活动. 因此, Wnt/ β -cat信号通路在胚胎发育和肿瘤发生发展过程中扮演着重要角色^[11,12].

本研究发现: PJS错构瘤息肉中E-Cad和 β -Cat在胞膜的表达明显高于结直肠癌组, 但低于正常黏膜组; 这与文献报道的E-Cad和膜表达 β -Cat在正常黏膜→腺瘤性息肉→腺癌的演化过

程中的表达趋势一致^[13]. 由于E-Cad的表达降低是EMT的主要标志之一^[14,15]. 因此, 本研究结果显示: 由Wnt所介导的EMT可能在PJS的发生发展中也扮演着重要角色. 本研究发现: E-Cad与膜表达 β -Cat呈正相关, 与核表达 β -Cat呈负相关. 这说明: E-Cad可通过调节 β -Cat在PJS错构瘤息肉细胞的胞膜和胞核中的表达水平来调控经典Wnt信号通路的活化水平, 影响其下游靶基因产物的表达. 由于E-Cad和 β -Cat与细胞骨架系统相联系, 参与细胞间黏附和维持组织结构^[16]; 而细胞间黏附的紊乱是肿瘤侵袭和转移的先决条件. 因此, PJS错构瘤息肉细胞膜上E-Cad和 β -Cat的表达降低将会影响其组织细胞间黏附, 这提示PJS具有潜在恶性倾向.

MMP-7、C-Myc、Cyclin D1均为经典Wnt通路的下游靶基因产物, 其中MMP-7可通过降解细胞外基质而参与肿瘤的侵袭转移^[17,18]. C-Myc作为一种转录因子和正性细胞周期调控因子, 可刺激细胞增殖和诱导细胞凋亡. 而Cyclin D1在细胞周期一系列调控点发挥调节作用, 其过度表达则使细胞周期的G₁期缩短, 加速细胞增殖^[19]. 本研究发现: MMP-7、C-Myc、Cyclin D1在PJS错构瘤息肉组织中表达明显高于正常黏膜, 但低于结直肠癌组织. 而且MMP-7、C-Myc、Cyclin D1的表达与核表达 β -Cat呈正相关, 与E-Cad成负相关^[20]. 本研究还发现: PJS息肉组织中E-Cad和膜表达 β -Cat随着患者年龄增长、息肉增大而表达减弱; 而核表达 β -Cat、

同行评价

本文立题明确, 设计合理, 数据可靠, 为在临床上将Wnt通路抑制剂如非甾体抗炎药阿司匹林及舒林酸等应用于PJS息肉的治疗提供了可能的理论依据.

Cyclin D1、C-Myc、MMP-7表达则随着息肉增大而增强。这说明PJS息肉从错构瘤向腺癌转变一个渐进的过程。这显示:经典Wnt信号通路的异常活化后,其下游靶基因产物的过表达可能参与了PJS息肉发生发展的全部生物学过程。

4 参考文献

- 1 陆相吉, 顾国利. mTOR通路与Peutz-Jeghers综合征. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2443-2447
- 2 Mehenni H, Resta N, Guanti G, Mota-Vieira L, Lerner A, Peyman M, Chong KA, Aissa L, Ince A, Cosme A, Costanza MC, Rossier C, Radhakrishna U, Burt RW, Picard D. Molecular and clinical characteristics in 46 families affected with Peutz-Jeghers syndrome. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 1924-1933 [PMID: 17404884 DOI: 10.1007/s10620-006-9435-3]
- 3 Kopacova M, Tacheci I, Rejchrt S, Bures J. Peutz-Jeghers syndrome: diagnostic and therapeutic approach. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5397-5408 [PMID: 19916169 DOI: 10.3748/wjg.15.5397]
- 4 Lai C, Robinson J, Clark S, Stamp G, Poulson R, Silver A. Elevation of WNT5A expression in polyp formation in Lkb1^{+/} mice and Peutz-Jeghers syndrome. *J Pathol* 2011; 223: 584-592 [PMID: 21341271 DOI: 10.1002/path.2835]
- 5 全国遗传性大肠癌协作组. 中国人遗传性大肠癌筛查标准的实施方案. 中华肿瘤杂志 2004; 26: 191-192
- 6 顾国利, 魏学明, 王石林, 任力, 郑爱民, 黄蓉蓉, 胡益云. 大肠癌E-cadherin, β -catenin, MMP-7表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2007; 15: 375-380
- 7 吴民华, 陈小毅, 梁艳清. STAT5和C-myc在大肠癌中的表达及意义. 肿瘤防治研究 2011; 38: 806-808
- 8 龚龙, 易春华, 童彦初, 陈文奎, 薛新波. Menin蛋白和细胞周期素D1在甲状腺腺瘤中的表达及临床意义. 中国现代医学杂志 2011; 21: 3708-3709
- 9 Ollila S, Mäkelä TP. The tumor suppressor kinase LKB1: lessons from mouse models. *J Mol Cell Biol* 2011; 3: 330-340 [PMID: 21926085 DOI: 10.1093/jmcb/mjr016]
- 10 Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways. *Science* 2004; 303: 1483-1487 [PMID: 15001769 DOI: 10.1126/science.1094291]
- 11 Tan LP, Ng BK, Balraj P, Lim PK, Peh SC. No difference in the occurrence of mismatch repair defects and APC and CTNNB1 genes mutation in a multi-racial colorectal carcinoma patient cohort. *Pathology* 2007; 39: 228-234 [PMID: 17454753]
- 12 Bryja V, Cajánek L, Grahm A, Schulte G. Inhibition of endocytosis blocks Wnt signalling to beta-catenin by promoting dishevelled degradation. *Acta Physiol (Oxf)* 2007; 190: 55-61 [PMID: 17428233 DOI: 10.1111/j.1365-201X.2007.01688.x]
- 13 占春玲, 吴保平, 张亚历. β -catenin基因在Peutz-Jeghers综合征组织中的突变及表达. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1739-1744
- 14 Mohamet L, Hawkins K, Ward CM. Loss of function of e-cadherin in embryonic stem cells and the relevance to models of tumorigenesis. *J Oncol* 2011; 2011: 352616 [PMID: 21197469 DOI: 10.1155/2011/352616]
- 15 Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119: 1420-1428 [PMID: 19487818 DOI: 10.1172/JCI39104]
- 16 Ma Y, Zhang G, Fu X, Xia O, Zhan C, Li L, Wang Z, Wu B. Wnt signaling may be activated in a subset of Peutz-Jeghers syndrome polyps closely correlating to LKB1 expression. *Oncol Rep* 2010; 23: 1569-1576 [PMID: 20428811 DOI: 10.3892/or.00000797]
- 17 顾国利, 王石林, 魏学明, 任力, 熊梅, 胡益云, 李德昌, 邹福先, 成健. COX-2、 β -cat、MMP-7表达与遗传性非息肉病性大肠癌特殊侵袭转移行为的关系. 世界华人消化杂志 2009; 17: 151-157
- 18 Ougolkov AV, Yamashita K, Mai M, Minamoto T. Oncogenic beta-catenin and MMP-7 (matrilysin) cosegregate in late-stage clinical colon cancer. *Gastroenterology* 2002; 122: 60-71 [PMID: 11781281 DOI: 10.1053/gast.2002.30306]
- 19 Hedberg Y, Ljungberg B, Roos G, Landberg G. Expression of cyclin D1, D3, E, and p27 in human renal cell carcinoma analysed by tissue microarray. *Br J Cancer* 2003; 88: 1417-1423 [PMID: 12778072 DOI: 10.1038/sj.bjc.6600922]
- 20 蒋晓忠, 陈历恒, 严律南, 朱勇, 李富贵, 杜一平, 龚光. Peutz-Jeghers综合征及其合并癌变的临床分析. 中国普外基础与临床杂志 2006; 13: 709-711

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

PI3Kp110不同亚单位在结直肠腺瘤癌变中的表达及相关性

孟晓, 吴淑华, 李扬扬, 田东

孟晓, 吴淑华, 滨州医学院病理学教研室 山东省滨州市 256603

李扬扬, 田东, 滨州医学院附属医院病理科 山东省滨州市 256603

孟晓, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的相关研究。

山东省科技攻关基金资助项目, No. 2010GSF10259

作者贡献分布: 本课题由孟晓与吴淑华设计; 研究过程由孟晓与李扬扬操作完成; 研究所用试剂由吴淑华提供; 切片阅片及结果判断由吴淑华、田东及孟晓完成; 本论文写作由孟晓完成。

通讯作者: 吴淑华, 教授, 硕士生导师, 256603, 山东省滨州市黄河二路661号, 滨州医学院病理学教研室。wsh6108@126.com
电话: 0543-3258653

收稿日期: 2012-12-24 修回日期: 2013-01-20

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

Expression of PI3Kp110 α and PI3Kp110 β in colorectal canceration

Xiao Meng, Shu-Hua Wu, Yang-Yang Li, Dong Tian

Xiao Meng, Shu-Hua Wu, Department of Pathology, Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China

Yang-Yang Li, Dong Tian, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China

Supported by: the Scientific and Technological Project of Shandong Province, No. 2010GSF10259

Correspondence to: Shu-Hua Wu, Professor, Department of Pathology, 661 Huanghe 2 Road, Binzhou 256603, Shandong Province, China. wsh6108@126.com

Received: 2012-12-24 Revised: 2013-01-20

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of PI3Kp110 α and PI3Kp110 β in colorectal canceration and to analyze their correlation.

METHODS: PI3Kp110 α and PI3Kp110 β expression was detected by immunohistochemistry in 30 cases of normal colorectal mucosa, 46 cases of low-grade intraepithelial neoplasia (LGIN), 32 cases of high-grade intraepithelial neoplasia (HGIN) and 60 cases of colorectal carcinoma.

RESULTS: The expression of PI3Kp110 α in colorectal carcinoma was significantly higher than that in normal colorectal mucosa and LGIN (both $P < 0.05$), but there was no significant difference between colorectal carcinoma and

HGIN ($P > 0.05$). The expression of PI3Kp110 β was highest in colorectal carcinoma, followed by HGIN, LGIN and normal colorectal mucosa ($P < 0.05$). PI3Kp110 α expression was correlated with patient age, tumor size and tumor differentiation (all $P < 0.05$). PI3Kp110 β expression was correlated with TNM stage and degree of tumor differentiation (both $P < 0.05$). The expression of PI3Kp110 α was positively correlated with that of PI3Kp110 β in LGIN ($P < 0.05$). There was no significant correlation between the expression of PI3Kp110 α and that of PI3Kp110 β in colorectal carcinoma, HGIN or normal colorectal mucosa (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: PI3Kp110 α and p110 β may play different roles in colorectal canceration.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Intraepithelial neoplasia; Adenoma canceration; PI3Kp110 α ; PI3Kp110 β

Meng X, Wu SH, Li YY, Tian D. Expression of PI3Kp110 α and PI3Kp110 β in colorectal canceration. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 661-666 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/661.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.661>

摘要

目的: 探讨PI3Kp110不同亚单位p110 α 、p110 β 在结直肠腺瘤癌变过程中的表达及其相关性。

方法: 随机选择低级别上皮内瘤变(low-grade intraepithelial neoplasia, LGIN)腺瘤组织46例、高级别上皮内瘤变(high-grade intraepithelial neoplasia, HGIN)腺瘤组织32例、结直肠腺瘤癌变组织60例以及30例正常黏膜组织, 应用免疫组织化学染色法, 分别检测p110 α 、p110 β 的表达情况, 分析两者表达的相关性及其与临床病理因素的关系。

结果: (1)p110 α 在癌组织中的表达明显高于LGIN腺瘤及正常组织($P < 0.05$), 但与HGIN腺瘤无明显差异($P > 0.05$); 而在HGIN腺瘤

■背景资料

结直肠癌是最常见的消化系统肿瘤之一, 在我国, 随着生活水平的提高和饮食习惯的改变, 发病率日趋升高。探讨结直肠癌发生发展过程中的分子机制, 对于寻找分子靶向治疗的新的靶点尤为重要。

■同行评议者

斯坎德尔·白克力, 教授, 新疆医科大学基础医学院生物化学教研室

■ 研发前沿

p110 α 、p110 β 已证实多种恶性肿瘤中高表达, 本实验选取经腺瘤癌变的腺癌组织, 删除经其他方式癌变的癌组织, 为保证均衡性仅选择管状腺瘤组织, 探索p110 α 、p110 β 在结直肠癌腺瘤癌变过程中表达的相关性。

中的表达高于LGIN腺瘤及正常组织, 且差异有统计学意义(58.64 ± 15.37 vs 37.80 ± 14.47 , $P < 0.05$)。p110 β 在癌组织、HGIN腺瘤、LGIN腺瘤及正常组织中的表达逐渐降低, 且差异有统计学意义($P < 0.05$)。 (2) 癌组织中p110 α 的表达与年龄、肿瘤直径、分化程度有相关性($P < 0.05$), 而与患者的性别、肿瘤的发病部位、TNM分期及淋巴结转移等因素无关($P > 0.05$)。p110 β 的表达与肿瘤的分化程度、TNM分期等临床因素间具有相关性($P < 0.05$), 与患者的性别、年龄、肿瘤直径、发病部位及淋巴结转移等因素无关($P > 0.05$)。 (3) p110 α 、p110 β 在LGIN腺瘤中的表达呈正相关关系($r = 0.419$, $P < 0.05$), 而在癌组织、HGIN腺瘤、正常组织中的表达无相关性($r = 0.145$ 、 -0.036 、 0.242 , $P > 0.05$)。

结论: p110 α 与p110 β 分别在腺瘤向腺癌转化过程的不同阶段中发挥重要作用, 联合检测p110 α 、p110 β 的表达可作为早期预测腺瘤癌变的指标。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 上皮内瘤变; 腺瘤癌变; PI3Kp110 α ; PI3Kp110 β

孟晓, 吴淑华, 李扬扬, 田东. PI3Kp110不同亚单位在结直肠腺瘤癌变中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 661-666 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/661.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.661>

0 引言

PI3Kp110是磷酸肌醇-3-激酶(phosphoinositide 3-kinases, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)细胞信号通路中核心分子PI3Ks的催化亚基^[1]。PI3K/AKT细胞信号通路的活化可通过影响下游信号因子调节细胞的生长、生存、增殖以及迁移等^[2-5], 而PI3Ks的突变可导致PI3K/AKT细胞信号通路异常, 与结直肠癌的发生、发展密切相关^[6,7]。90%的结直肠癌来自腺瘤的恶变, 即腺瘤-腺癌序列^[8], 但在此过程中PI3Kp110的不同亚单位所发挥的作用及其相关性尚不明确。本文分别在正常组织、低级别上皮内瘤变腺瘤组织、高级别上皮内瘤变腺瘤组织以及由腺瘤癌变的癌组织中对PI3Kp110的不同亚单位p110 α 、p110 β 的表达情况进行了研究, 进一步探索PI3Kp110不同亚单位在结直肠腺瘤癌变过程中的表达情况及其意义。

1 材料和方法

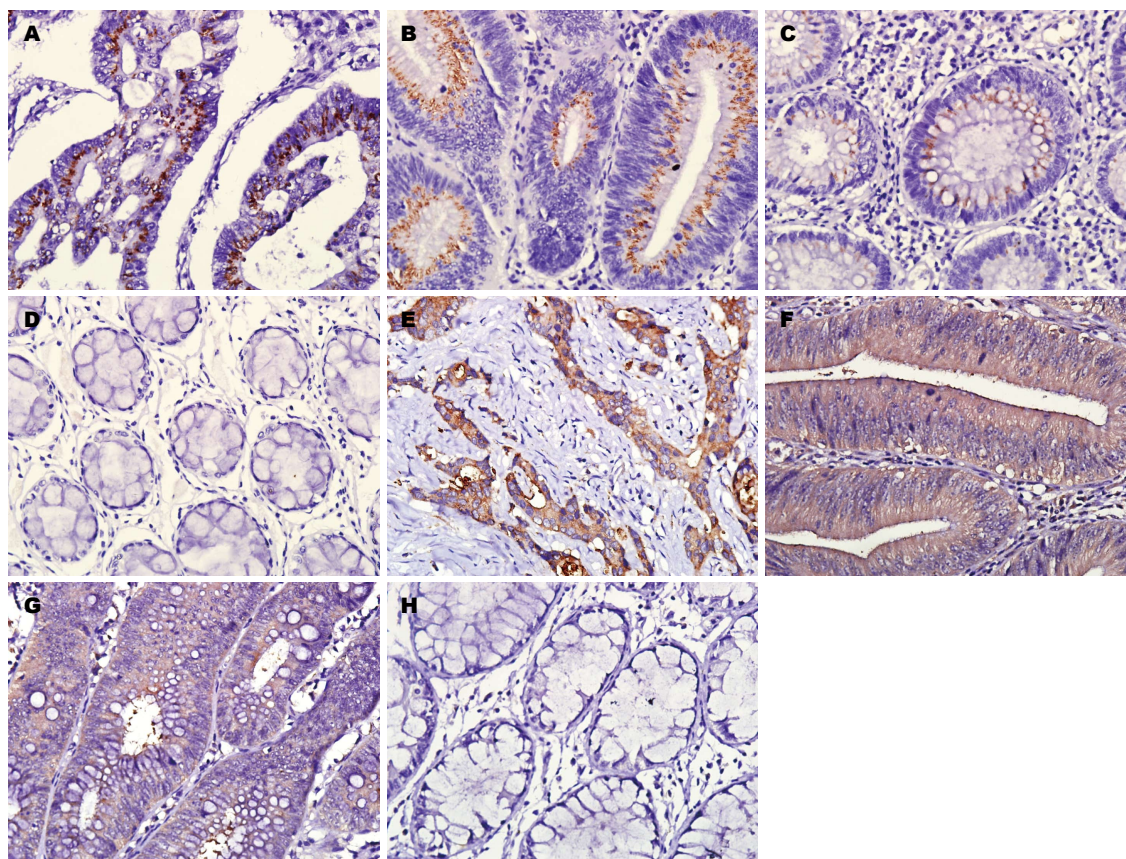
1.1 材料 收集滨州医学院附属医院病理科2011-01/2012-03存档的结直肠组织蜡块共168例。其中, 结直肠腺瘤癌变60例, HGIN腺瘤组织32例, LGIN腺瘤组织46例, 正常黏膜组织30例。选取的所有病例均为首次发现, 术前未进行任何放化疗且未发现其他部位的原发癌灶。正常黏膜组织取自距肿瘤边缘5 cm处。根据2010年消化系统肿瘤WHO分类标准^[9], 由两位高年资病理医师重新阅片诊断。腺瘤癌变组中, 男42例, 女18例; 年龄: 45-85岁, 平均62.9岁。肿瘤直径: ≥ 5 cm者28例, < 5 cm者32例; 发病部位: 结肠30例, 直肠30例; 肿瘤分化程度: 高分化腺癌26例, 中、低分化34例; 淋巴结转移26例, 无淋巴结转移34例。按美国肿瘤研究联合会(AJCC)和国际癌症防治联合会(UICC)共同制定的2009年的TNM分期, I期和II期共42例, III期和IV期共18例。所有标本均经40 g/L甲醛固定, 常规脱水, 石蜡包埋, 3 μ m厚度切片。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色: 兔抗人PI3Kp110 α 单克隆抗体浓缩液(HongKong, 批号ab71090)和小鼠抗人PI3Kp110 β 单克隆抗体浓缩液(HongKong, 批号ab55593)购自Abcam公司; 通用型二抗以及其他辅助试剂均购自北京中杉金桥公司; 将石蜡包埋组织制成3 μ m切片, PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 一抗稀释度分别为1:150、1:200, 分别用已知阳性表达的脑组织、乳腺癌组织做阳性对照, 均用PBS代替一抗做空白对照, 免疫组织化学染色采用EnVision法, 染色步骤按说明书进行。

1.2.2 结果判断: p110 α 以上皮细胞胞浆内出现棕黄色颗粒为阳性标志, p110 β 以上皮细胞胞浆均质黄染为阳性标志。在高倍镜下($\times 400$)随机选取5个不同视野, 用Imageproplus 6.0病理图像分析软件分别测试每个视野下p110 α 、p110 β 蛋白阳性表达的平均吸光度, 以5个视野平均吸光度的平均值作为该例组织的测量值, 平均吸光度值越高该例组织中目的蛋白的表达水平越高。

统计学处理 所有实验数据采用SPSS16.0统计软件分析, 各组吸光度值以mean \pm SD表示。不同病变各组均数比较用方差分析; p110 α 、p110 β 表达相关性用Pearson相关分析; p110 α 、p110 β 的表达与结直肠癌临床病理等因素的关系采用多元线性回归分析。以 $P = 0.05$ 为检验水准, $P \leq 0.05$ 为具有统计学意义。



■ 相关报道

近年来的研究显示,在多种恶性肿瘤中存在PIK3CA基因的突变以及其编码的蛋白p110α的过度表达,且p110α在调控细胞的增殖、分化、存活、侵袭、转移等方面发挥着重要作用。在前列腺癌、乳腺癌、子宫内膜癌、恶性胶质瘤等恶性肿瘤中均存在p110β的高表达,且p110β是在细胞的周期调控、增殖和凋亡等活动中发挥着重要作用。

图1 PI3Kp110α和PI3Kp110β在各组织中的表达(EnVision法, ×400)。A: 癌组织PI3Kp110α强阳性; B: HGIN腺瘤PI3Kp110α阳性; C: LGIN腺瘤PI3Kp110α阳性; D: 正常组织PI3Kp110α阴性; E: 癌组织PI3Kp110β强阳性; F: HGIN腺瘤PI3Kp110β阳性; G: LGIN腺瘤PI3Kp110β弱阳性; H: 正常组织PI3Kp110β阴性。

表1 p110α、p110β在结直肠不同病变组织中的表达(平均吸光度)

分组	n	p110α	p110β
正常组	30	30.74 ± 9.96	29.50 ± 7.34
LGIN组	46	37.80 ± 14.47	50.99 ± 23.52
HGIN组	32	58.64 ± 15.37	58.12 ± 11.83
腺癌组	60	58.51 ± 28.34	78.97 ± 46.39

LGIN: 低级别上皮内瘤变; HGIN: 高级别上皮内瘤变。

2 结果

2.1 结直肠不同病变组织中p110α、p110β的表达 p110α、p110β的阳性表达部位均位于上皮细胞的胞浆内(图1)。结果显示, p110α在癌组织中的表达明显高于LGIN腺瘤组及正常组织($P < 0.05$), 而与HGIN腺瘤中的表达无差异($P > 0.05$); 在HGIN腺瘤中p110α的表达明显高于LGIN腺瘤、正常组织, 其差异有统计学意义($P < 0.05$); 而LGIN腺瘤中的表达与正常组织间无差异($P > 0.05$)。p110β在癌组织、HGIN、LGIN、正常组织中的表达逐渐降低, 且各组间的差异均有统计学意义($P < 0.05$, 表1)。

2.2 结直肠癌组织p110α、p110β的表达与临床病理因素的关系 经多元线性回归分析, 癌组织组中p110α的表达与年龄、肿瘤直径、分化程度有相关性($P < 0.05$), 而与患者的性别、肿瘤的发病部位、TNM分期及淋巴结转移等因素无关($P > 0.05$, 表2); p110β的表达与肿瘤的分化程度、TNM分期等临床因素间具有相关性($P < 0.05$), 与患者的性别、年龄、肿瘤直径、发生部位及淋巴结转移等因素无关($P > 0.05$, 表2)。

2.3 结直肠不同病变组织PI3Kp110α、PI3Kp110β表达的相关性 应用Pearson相关分析p110α、p110β表达的相关性, 在LGIN腺瘤组织

■创新盘点

为深入研究结直肠癌-腺癌变机制,本文特选取结直肠癌变的癌组织,在同一例组织中同时检测了p110 α 和p110 β 的表达情况,分析两者在腺癌-腺癌序列中的表达特点及相关性以及临床病理因素的关系。

表 2 p110 α 、p110 β 表达水平与结直肠癌临床病理的关系 (平均吸光度, $n = 60$, mean \pm SD)

分组	n	p110 α	P 值	p110 β	P 值
性别			0.331		0.708
男	42	61.59 \pm 29.74		70.67 \pm 51.62	
女	18	51.31 \pm 23.99		98.33 \pm 21.82	
年龄(岁)			0.002		0.666
≤ 50	6	102.17 \pm 31.0		53.22 \pm 20.69	
50-60	14	62.81 \pm 28.35		82.75 \pm 74.69	
≥ 60	40	50.45 \pm 21.35		81.50 \pm 35.03	
肿瘤部位			0.821		0.650
结肠	30	54.26 \pm 28.42		82.78 \pm 59.43	
直肠	30	62.75 \pm 28.089		75.15 \pm 28.58	
肿瘤直径(cm)			0.004		0.257
< 5	32	45.18 \pm 24.95		64.72 \pm 29.27	
≥ 5	28	73.74 \pm 24.28		95.24 \pm 56.60	
分化程度			0.038		0.044
低、中	34	62.23 \pm 29.72		105.86 \pm 44.36	
高	26	53.64 \pm 26.19		43.79 \pm 14.51	
分期			0.469		0.024
I+II	42	61.28 \pm 28.98		58.84 \pm 24.07	
III+IV	18	52.03 \pm 26.42		125.92 \pm 52.31	
淋巴结转移			0.118		0.428
无	34	62.19 \pm 29.29		50.99 \pm 19.70	
有	26	53.69 \pm 26.84		115.56 \pm 45.93	

表 3 p110 α 、p110 β 在结直肠腺癌变不同阶段表达的相关性

分组	n	r 值	P 值
正常组	30	0.242	0.197
LGIN组	46	0.419	0.004
HGIN组	32	-0.036	0.844
腺癌组	60	0.145	0.286

中两者的表达呈正相关($P < 0.05$),而在癌组织、HGIN腺癌组织、正常组织中两者表达水平无相关性($P > 0.05$,表3)。

3 讨论

结直肠癌在消化系统肿瘤中发病率仅次于胃癌和食管癌,位于第3位^[10],且发病率逐年增高,发病年龄日趋年轻化。结直肠癌在大肠良性上皮性肿瘤中的发病率最高,且伴有不同程度的上皮内瘤变,其发病率随年龄增长逐年增高。由于绝大部分结直肠癌由腺瘤演变而来,寻找早期的分子学诊断标志物,探寻腺瘤向腺癌演变的癌变机制,从而做到结直肠癌的早发现、早诊断、早治疗,已经成为提高结直肠癌患者5年生存率、减少复发的关键。PI3K/AKT细胞信号转

导通路的异常参与肿瘤发生发展的进程,且与细胞的增殖、分化、转移等密切相关^[11-13],而PI3Ks作为该通路的核心分子,其催化亚基p110 4个亚单位中的2个亚型p110 α 、p110 β 在腺癌癌变过程中的作用及其相关性尚不明确,需要进一步研究。

PI3Kp110 α 是原癌基因PIK3CA编码的蛋白,研究发现,在多种恶性肿瘤中存在PIK3CA基因的突变以及其编码的蛋白p110 α 的过度表达,尤其在大肠癌、神经胶质细胞瘤、胃癌中PIK3CA突变率较高^[14,15]。p110 α 在调控细胞的增殖、分化、存活、侵袭、转移等方面发挥着重要作用^[16,17]。Samuel等^[18]认为,PIK3CA的突变可能发生在细胞即将获得侵袭能力时或在获得侵袭能力的同时。Weber等^[19]通过shRNA(Short hairpin RNA, 短发夹RNA)干扰多形性成胶质细胞瘤中PIK3CA表达发现,p110 α 的表达降低后细胞的增殖、迁移能力降低,提示PIK3CA在细胞转变为癌的过程中可能起到重要作用。Miron等^[20]通过对处于3种不同分期的乳腺癌中PIK3CA突变位点的研究发现,3种乳腺癌组织中PIK3CA的突变频率并无明显差异,从而推测PIK3CA的突变可能在肿瘤的起始过程发挥

一定的作用. 本实验研究结果显示, p110 α 在结直肠癌组织中的表达明显高于正常黏膜组织、LGIN腺瘤, 提示在结直肠癌中存在PIK3CA基因的突变, 可能在腺瘤癌变过程中发挥作用. 而在结直肠癌组织中p110 α 的表达与HGIN腺瘤无明显差异, 提示p110 α 的突变可能发生在癌变的早期阶段, 可能是结直肠癌发生的始动因素之一. 在研究中发现, p110 α 的表达与患者的性别、肿瘤的发病部位、TNM分期及有无淋巴结转移等无相关性; 而肿瘤的分化程度越低、年龄越大、肿瘤直径越大, p110 α 的表达程度越高, 提示在年龄越大的人群中, 更容易发生PIK3CA的突变, p110 α 的高表达与大肠癌的恶性潜能相关.

PI3Kp110 β 是原癌基因PIK3CB编码的蛋白, 在细胞的增殖、周期调控和凋亡等活动中发挥着重要作用, 且与肿瘤的耐药密切相关^[21-23]. 目前的研究证实p110 β 参与多种类型肿瘤的发生发展, 在前列腺癌、乳腺癌、子宫内膜癌、恶性胶质瘤^[24-28]等恶性肿瘤中均存在p110 β 的高表达. Liu等^[29]通过特异性靶向shRNA干扰p110 β 的表达后发现, p110 β 的表达降低后抑制了肿瘤细胞的增殖、促进了肿瘤细胞的凋亡. Wee等^[30]通过shRNA干扰技术干扰PTEN缺失的癌细胞中的PIK3CB编码的蛋白的表达, 发现在p110 β 表达降低后PI3K/AKT信号通路失活, 且在体内和体外实验中均出现细胞生长抑制, 提示p110 β 在PTEN缺失肿瘤的进展过程中发挥重要作用. 目前对于p110 β 的研究已成为国内外研究的热点. 本实验研究结果显示, p110 β 在正常黏膜组织、LGIN腺瘤、HGIN腺瘤、癌组织中的表达呈逐渐增高趋势, 提示p110 β 可能在腺瘤向腺癌的演进过程的不同阶段均发挥重要作用. 研究同时发现, p110 β 的表达与患者的性别、年龄、肿瘤直径、发病部位及有无淋巴结转移等无相关性; TNM分期越高、肿瘤的分化程度越低, p110 β 的表达程度越高, 提示p110 β 与肿瘤的生物特性密切相关.

目前关于PI3Ks在肿瘤发生发展中所起到的作用日趋受到关注, p110 α 、p110 β 在肿瘤发生中的作用也已经逐渐被认识, 但在同一组织中p110 α 、p110 β 的表达情况及其相关性尚不明确. 本研究在结直肠腺瘤癌变不同阶段中同步检测了p110 α 、p110 β 的表达并分析其相关性, 结果显示p110 α 与p110 β 在LGIN腺瘤中的表达呈正相关, 而在癌组织、HGIN腺瘤、正常组织中的表达无相关性. 我们推测在腺瘤-腺癌序列的起

始阶段, 即在细胞开始出现异型增生时, p110 α 与p110 β 有协同促进细胞增殖及异型程度进展的作用, 而随着细胞异型程度的增加及癌变过程的进展, p110 α 与p110 β 分别在腺瘤向腺癌转化过程的不同阶段中发挥重要作用, 而两者在癌组织中的同时高表达促进了肿瘤细胞的分化.

总之, 在结直肠癌变过程中存在p110 α 、p110 β 的高表达, 并均与肿瘤的分化程度呈正相关, 但其在腺瘤-腺癌序列中的表达情况不完全相同. p110 α 在HGIN腺瘤中表达显著异常, 而p110 β 在结直肠癌变过程中随病变的异型程度增加, 其表达逐渐升高. 因此, 我们认为, p110 α 的异常表达可能在腺瘤即将发生癌变时起作用, 而p110 β 的异常表达可能在结直肠腺瘤癌变的整个发生发展过程中发挥作用. 由此可见, PI3Kp110的不同亚单位在腺瘤向腺癌转化过程的不同阶段中分别发挥促癌变作用. 因此, p110 α 、p110 β 均可作为结直肠癌早期诊断的分子标志物, 联合检测p110 α 、p110 β 对于早期预测腺瘤癌变具有临床意义, 并且也为结直肠癌的分子靶向治疗提供了新的思路.

4 参考文献

- 1 Funaki M, Katagiri H, Inukai K, Kikuchi M, Asano T. Structure and function of phosphatidylinositol-3, 4 kinase. *Cell Signal* 2000; 12: 135-142 [DOI: 10.1016/S0898-6568(99)00086-8]
- 2 Liu P, Cheng H, Roberts TM, Zhao JJ. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2009; 8: 627-644 [PMID: 19644473 DOI: 10.1038/nrd2926]
- 3 Carnero A. The PKB/AKT pathway in cancer. *Curr Pharm Des* 2010; 16: 34-44 [PMID: 20214616 DOI: 10.2174/138161210789941865]
- 4 Kolasa IK, Rembiszewska A, Felisiak A, Ziolkowska-Seta I, Murawska M, Moes J, Timorek A, Dansonka-Mieszkowska A, Kupryjanczyk J. PIK3CA amplification associates with resistance to chemotherapy in ovarian cancer patients. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 21-26 [PMID: 19029838 DOI: 10.4161/cbt.8.1.7209]
- 5 Samuels Y, Ericson K. Oncogenic PI3K and its role in cancer. *Curr Opin Oncol* 2006; 18: 77-82 [PMID: 16357568 DOI: 10.1097/01.cco.0000198021.99347.b9]
- 6 Armaghany T, Wilson JD, Chu Q, Mills G. Genetic alterations in colorectal cancer. *Gastrointest Cancer Res* 2012; 5: 19-27 [PMID: 22574233]
- 7 Catasus L, Gallardo A, Cuatrecasas M, Prat J. PIK3CA mutations in the kinase domain (exon 20) of uterine endometrial adenocarcinomas are associated with adverse prognostic parameters. *Mod Pathol* 2008; 21: 131-139 [PMID: 18084252]
- 8 Abdou AG, Aiad H, Asaad N, Abd El-Wahed M, Serag El-Dien M. Immunohistochemical evaluation of vascular endothelial growth factor (VEGF) in

■应用要点

本研究采用免疫组织化学法检测p110 α 、p110 β 在结直肠腺瘤癌变不同阶段中的表达情况, 有助于阐释p110 α 和p110 β 在腺瘤-腺癌序列中所起到的作用及其两者在腺瘤癌变过程中表达的相关性, 为寻找分子靶向治疗的新靶点提供了参考依据.

同行评价

本文在寻找结直肠早期诊断的分子标志物研究中具有重要的意义,符合伦理学要求,也有一定的新颖性。

- colorectal carcinoma. *J Egypt Natl Canc Inst* 2006; 18: 311-322 [PMID: 18301455]
- 9 周晓军, 樊祥山. 解读2010年消化系统肿瘤WHO分类(I). 临床与实验病理学杂志 2011; 27: 341-346
- 10 Kerr D. Clinical development of gene therapy for colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 615-622 [PMID: 12894249 DOI: 10.1038/nrc1147]
- 11 Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell* 2007; 129: 1261-1274 [PMID: 17604717 DOI: 10.1016/j.cell.2007.06.009]
- 12 Yuan TL, Cantley LC. PI3K pathway alterations in cancer: variations on a theme. *Oncogene* 2008; 27: 5497-5510 [PMID: 18794884 DOI: 10.1038/onc.2008.245]
- 13 夏曙, 于世英. PI3K/Akt信号转导通路在恶性肿瘤中的研究进展. 肿瘤 2006; 26: 576-578
- 14 Karakas B, Bachman KE, Park BH. Mutation of the PIK3CA oncogene in human cancers. *Br J Cancer* 2006; 94: 455-459 [PMID: 16449998 DOI: 10.1038/sj.bjc.6602970]
- 15 Li VS, Wong CW, Chan TL, Chan AS, Zhao W, Chu KM, So S, Chen X, Yuen ST, Leung SY. Mutations of PIK3CA in gastric adenocarcinoma. *BMC Cancer* 2005; 5: 29 [PMID: 15784156 DOI: 10.1186/1471-2407-5-29]
- 16 Zhou XK, Tang SS, Yi G, Hou M, Chen JH, Yang B, Liu JF, He ZM. RNAi knockdown of PIK3CA preferentially inhibits invasion of mutant PIK3CA cells. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3700-3708 [PMID: 21990951]
- 17 Liu JF, Zhou XK, Chen JH, Yi G, Chen HG, Ba MC, Lin SQ, Qi YC. Up-regulation of PIK3CA promotes metastasis in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4986-4991 [PMID: 20954287]
- 18 Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, Silliman N, Ptak J, Szabo S, Yan H, Gazdar A, Powell SM, Riggins GJ, Willson JK, Markowitz S, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science* 2004; 304: 554 [PMID: 15016963 DOI: 10.1126/science.1096502]
- 19 Weber GL, Parat MO, Binder ZA, Gallia GL, Riggins GJ. Abrogation of PIK3CA or PIK3R1 reduces proliferation, migration, and invasion in glioblastoma multiforme cells. *Oncotarget* 2011; 2: 833-849 [PMID: 22064833]
- 20 Miron A, Varadi M, Carrasco D, Li H, Luongo L, Kim HJ, Park SY, Cho EY, Lewis G, Kehoe S, Iglehart JD, Dillon D, Allred DC, Macconail L, Gelman R, Polyak K. PIK3CA mutations in in situ and invasive breast carcinomas. *Cancer Res* 2010; 70: 5674-5678 [PMID: 20551053 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2660]
- 21 Jia S, Liu Z, Zhang S, Liu P, Zhang L, Lee SH, Zhang J, Signoretti S, Loda M, Roberts TM, Zhao JJ. Essential roles of PI(3)K-p110beta in cell growth, metabolism and tumorigenesis. *Nature* 2008; 454: 776-779 [PMID: 18594509]
- 22 Cirao E, Iezzi M, Marone R, Marengo S, Curcio C, Costa C, Azzolino O, Gonella C, Rubinetto C, Wu H, Dastrù W, Martin EL, Silengo L, Altruda F, Turco E, Lanzetti L, Musiani P, Rückle T, Rommel C, Backer JM, Forni G, Wymann MP, Hirsch E. Phosphoinositide 3-kinase p110beta activity: key role in metabolism and mammary gland cancer but not development. *Sci Signal* 2008; 1: ra3 [PMID: 18780892 DOI: 10.1126/scisignal.1161577]
- 23 Dbouk HA, Backer JM. A beta version of life: p110β takes center stage. *Oncotarget* 2010; 1: 729-733 [PMID: 21321382]
- 24 Zhu Q, Youn H, Tang J, Tawfik O, Dennis K, Teranova PF, Du J, Raynal P, Thrasher JB, Li B. Phosphoinositide 3-OH kinase p85alpha and p110beta are essential for androgen receptor transactivation and tumor progression in prostate cancers. *Oncogene* 2008; 27: 4569-4579 [PMID: 18372911 DOI: 10.1038/onc.2008.91]
- 25 Yip SC, El-Sibai M, Hill KM, Wu H, Fu Z, Condeelis JS, Backer JM. Over-expression of the p110beta but not p110alpha isoform of PI 3-kinase inhibits motility in breast cancer cells. *Cell Motil Cytoskeleton* 2004; 59: 180-188 [PMID: 15468162 DOI: 10.1002/cm.20032]
- 26 Crowder RJ, Phommaly C, Tao Y, Hoog J, Luo J, Perou CM, Parker JS, Miller MA, Huntsman DG, Lin L, Snider J, Davies SR, Olson JA, Watson MA, Saporita A, Weber JD, Ellis MJ. PIK3CA and PIK3CB inhibition produce synthetic lethality when combined with estrogen deprivation in estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 3955-3962 [PMID: 19366795 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4450]
- 27 An HJ, Cho NH, Yang HS, Kwak KB, Kim NK, Oh DY, Lee SW, Kim HO, Koh JJ. Targeted RNA interference of phosphatidylinositol 3-kinase p110-beta induces apoptosis and proliferation arrest in endometrial carcinoma cells. *J Pathol* 2007; 212: 161-169 [PMID: 17427168 DOI: 10.1002/path.2158]
- 28 Pu P, Kang C, Zhang Z, Liu X, Jiang H. Downregulation of PIK3CB by siRNA suppresses malignant glioma cell growth in vitro and in vivo. *Technol Cancer Res Treat* 2006; 5: 271-280 [PMID: 16700623]
- 29 Liu W, Wang G, Cao X, Luo X, Li Z, Deng Y, Li X, Wang S, Liu M, Hu J, Wang J. Down-regulation of p110β expression increases chemosensitivity of colon cancer cell lines to oxaliplatin. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2012; 32: 280-286 [PMID: 22528234 DOI: 10.1007/s11596-012-0049-z]
- 30 Wee S, Wiederschain D, Maira SM, Loo A, Miller C, deBeaumont R, Stegmeier F, Yao YM, Lengauer C. PTEN-deficient cancers depend on PIK3CB. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 13057-13062 [PMID: 18755892 DOI: 10.1073/pnas.0802655105]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



PNPLA3 rs738409基因多态性在肝病中的作用

陈林姣, 温晓玉, 牛俊奇

陈林姣, 温晓玉, 牛俊奇, 吉林大学第一医院肝胆胰内科 吉林省长春市 130021
国家自然科学基金资助项目, No. 81072430
作者贡献分布: 本文综述由陈林姣完成; 温晓玉与牛俊奇审校.
通讯作者: 牛俊奇, 教授, 博士生导师, 130021, 吉林省长春市新民大街, 吉林大学第一医院肝胆胰内科. junqiniu@yahoo.com.cn
电话: 0431-85612708
收稿日期: 2012-12-21 修回日期: 2013-01-20
接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-03-18

Role of PNPLA3 polymorphism in pathogenesis of liver diseases

Lin-Jiao Chen, Xiao-Yu Wen, Jun-Qi Niu

Lin-Jiao Chen, Xiao-Yu Wen, Jun-Qi Niu, Department of Hepatology, the First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81072430
Correspondence to: Jun-Qi Niu, Professor, Department of Hepatology, the First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China. junqiniu@yahoo.com.cn
Received: 2012-12-21 Revised: 2013-01-20
Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-03-18

Abstract

Hepatic fat accumulation, a common phenomenon in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and alcoholic liver disease (ALD), is associated with liver inflammation development and disease progression. Besides, hepatic fat accumulation is also seen in HCV-infected patients, which influences the response to anti-HCV therapy. Although the causes of fatty accumulation in the above three diseases are different, hereditary factors causing fatty accumulation have attracted more and more attention. PNPLA3, a member of patatin-like phospholipase family, has the activity of triglyceride hydrolase and can influence the liver fatty metabolism. In recent years, PNPLA3 polymorphism has become a hot topic in research of NAFLD, ALD, and HCV, and important results have been achieved. This article describes the expression of PNPLA3 in human tissues and review recent progress in understanding the role of PNPLA3 polymorphism in the pathogenesis of the above three liver diseases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: PNPLA3; Polymorphism; Nonalcoholic fatty liver disease; Alcoholic liver disease; Hepatitis C virus

Chen LJ, Wen XY, Niu JQ. Role of PNPLA3 polymorphism in pathogenesis of liver diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 667-672 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/667.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.667>

摘要

肝脏脂肪蓄积是非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)的普遍现象, 并与炎症发展、疾病进程有关, 在丙型肝炎病毒(hepatitis V virus, HCV)感染患者中也多见报道, 并影响抗HCV治疗效果. 虽然引起三者脂肪蓄积的因素不尽相同, 但是不同肝病的肝细胞脂肪蓄积的遗传因素越来越引起人们关注. PNPLA3作为patatin样磷脂酶家族成员, 考虑其可能有三酰甘油水解酶活性从而影响肝脏脂肪代谢. 近年来PNPLA3 rs738409基因多态性成为NAFLD、ALD、HCV的研究热点并取得诸多重要成果. 本文就PNPLA3在人体内的表达及其rs738409基因多态性在上述疾病中的研究现状作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: PNPLA3; 多态性; 非酒精性脂肪肝; 酒精性肝病; 丙型肝炎病毒

陈林姣, 温晓玉, 牛俊奇. PNPLA3 rs738409基因多态性在肝病中的作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(8): 667-672 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/667.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.667>

0 前言

PNPLA3(patatin-like phospholipase domain containing 3)是一种属于patatin样磷脂酶家族的非分泌性蛋白^[1], 具有非特异的脂肪酰基水解酶活性^[2-4]. PNPLA3在人体的表达受到多种

■背景资料

PNPLA3是一种属于patatin样磷脂酶家族的非分泌性蛋白, 具有非特异的脂肪酰基水解酶活性, 该基因rs738409(C>G)变异的PNPLA3丧失脂肪酰基水解活性, 从而导致肝脏脂肪蓄积. 目前研究表明PNPLA3 rs738409(C>G)变异与非酒精性脂肪肝(NAFLD)、酒精性肝病(ALD)及HCV感染患者的易感性、脂肪变、纤维化进展密切相关.

■同行评议者

莫发荣, 副教授, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室

■研究前沿

PNPLA3 rs738409多态性对HCV感染患者疾病进展和抗病毒疗效的影响是目前研究的热点和重点。

因素的影响,如饮食、肥胖、胰岛素水平等。其rs738409(C>G)变异与肝脏脂肪代谢、非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)、丙型肝炎病毒(hepatitis V virus, HCV)感染患者的疾病进展相关,近年来在国外被广泛研究,但国内未见相关研究报道,对其成果也缺乏综合整理与分析。为紧跟国际前沿,本文就PNPLA3分子机制、影响因素及其rs738409基因多态性在临床肝病中的研究现状作一综述。

1 PNPLA3的分子特性及其表达调控

PNPLA3是一个由481个氨基酸组成的非分泌性蛋白,又称为adiponectin,属于patatin样磷脂酶家族^[1]。PNPLA3结构与非钙离子依赖的磷脂酶A2(PNPLA2)相似,具有非特异的脂肪酰基水解酶活性^[2-4]。体外实验证实PNPLA3有三酰甘油水解酶和部分酰基甘油转酰基酶活性,但其在体内表达的生物学活性尚无统一结论。

PNPLA3基因位于22号染色体(22q13.31)^[5]。目前,PNPLA3基因多态性研究最多和最热的是rs738409 C>G位点,该位点编码PNPLA3蛋白的148位氨基酸,C>G转换使异亮氨酸转化为蛋氨酸,蛋氨酸将阻止底物结合到有催化活性的47位丝氨酸上^[6],从而使其丧失脂肪酰基水解活性^[4,6]。因此,PNPLA3 I148M通过阻止甘油三酯水解而增加甘油三酯的蓄积。此外还有rs6006460、rs2294918、rs2281135等位点,但PNPLA3 rs738409(I148M)变异与肝脏脂肪代谢、NAFLD、ALD、HCV感染患者的相关性最强。

人体PNPLA3主要表达在肝脏,其次为皮肤和脂肪组织^[7]。PNPLA3的表达由脂肪组织及肝脏代谢调控^[1,8,9]。根据目前研究,PNPLA3的表达受以下因素影响:(1)饮食:PNPLA3 mRNA在空腹状态下很低,进食碳水化合物后明显升高^[1,8,9]。相关实验表明,2 d的低热量饮食可以将PNPLA3 mRNA表达降低至原来的1/3^[10]。Perttilä等^[11]通过染色体免疫沉淀反应发现PNPLA3启动子区存在碳水化合物反应元件(ChRE, carbohydrate response element),葡萄糖通过该元件结合蛋白(ChREBP)在转录水平调节PNPLA3的表达;(2)体质指数(body mass index, BMI)和肥胖:PNPLA3 mRNA在肝脏中的表达与BMI和肥胖及肝脏脂肪含量正相关^[12,13];(3)胰岛素和葡萄糖:二者都可以刺激脂肪组织中PNPLA3的表

达:胰岛素正常的高血糖患者PNPLA3水平为正常人的2.2倍;血糖正常而伴有高胰岛素血症患者为正常人的2.5倍;高血糖高胰岛素血症患者为正常人的4.8倍^[10];(4)基因变异:PNPLA3 rs738409G等位基因与NAFLD及健康人群的低水平PNPLA3相关,即该位点变异可导致其蛋白和mRNA表达下降^[14]。但是在HCV感染患者中因存在PNPLA3抵抗,故PNPLA3 rs738409基因突变与其表达在HCV感染患者中不存在相关性^[14]。

2 PNPLA3 rs738409基因多态性对组织代谢、肝脏酶学的影响

(1)增加肝内细胞脂质沉积:研究表明^[11]在存在过量游离脂肪酸的情况下,PNPLA3 rs738409突变增加甘油三酯在细胞内的蓄积。在人体及体外实验研究均表明PNPLA3 rs738409突变影响apo-B脂蛋白的分泌,且该突变通过降低极低密度脂蛋白(very low-density lipoprotein, VLDL)而提高肝细胞内脂质沉积^[15];(2)降低血脂水平:Krærup等^[16]对1 357例糖调节异常的个体进行分析发现rs738409G等位基因与下降的空腹血清甘油三酯和血清总胆固醇水平显著相关。Palmer等^[17]也发现rs738409G等位基因的肥胖患者具有更低的血清甘油三酯水平;(3)对血清胰岛素及胰岛素敏感性的影响:多数研究表明rs738409G等位基因对肝内及外周胰岛素抵抗没有影响^[16,18],rs738409基因突变与血清胰岛素、胰岛素敏感性和糖耐量不相关^[12,19-21]。但Palmer等^[17]的研究提出PNPLA3 I148与胰岛素抵抗相关。Wang等^[22]在最近的研究报道中也有类似的发现;(4)对脂肪细胞大小的影响:与CC型患者相比,GG型患者脂肪细胞更小^[18];(5)对肝脏酶学的影响:多项研究均表明PNPLA3 rs738409基因突变可引起普通人群^[23]、肥胖人群^[19]、肝病患者肝脏酶学谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)增高,且该基因变异对肝损伤的影响从儿童时期即开始^[19]。Li等^[23]对1532例墨西哥群体进行大样本、随机对照研究发现PNPLA3 rs738409变异与ALT显著相关;在男性患者中,与AST也相关,可能与性激素水平有关。

3 PNPLA3基因多态性与临床肝病的关系

3.1 PNPLA3基因多态性与NAFLD的关系 多项

研究表明PNPLA3 rs738409变异增加脏脂肪蓄积,与成人及儿童的NAFLD严重程度有关,并最终增加脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的发生风险^[24-28]。(1)PNPLA3 rs738409突变与肝脏脂肪含量显著相关:GG型患者肝脏脂肪含量高于CC型患者2.7倍。调整年龄、性别、BMI、糖尿病、酒精摄入和种族等因素的影响,PNPLA3变异与肝脏脂肪含量的相关性依然非常显著^[12,28-33],研究证明PNPLA3基因是肝脏脂肪变的独立危险因素^[33],能够增加肝脏的脂肪蓄积^[18,19]。此外,其他研究还表明PNPLA3 rs738409突变与内脏脂肪、皮下脂肪、胰腺脂肪不相关,唯独增加肝内脂肪蓄积^[20];(2)与NAFLD的易感性相关:多项研究表明PNPLA3 rs738409突变增加NAFLD的易感性^[28,29,34];(3)PNPLA3 rs738409突变与NAFLD患者肝损伤相关:该位点突变可引起NAFLD患者血清ALT升高^[19,28,29,34,35],AST升高^[19,36]。此外,PNPLA3 rs738409 GG基因型与NAFLD患者的肝组织下脂肪变、炎症评分、纤维化、M-D小体相关,即与肝组织损伤程度及疾病进展相关^[27,28,37-39]。经过对529例NAFLD和932例健康对照的日本群体进行全基因组关联分析,Kawaguchi等^[37]研究发现PNPLA3 rs738409多态性与NAFLD发生的相关性最强($P = 1.4 \times 10^{-10}$),并且与Matteoni等^[40]提出的NAFLD组织损伤程度分级最为相关。该研究表明PNPLA3 rs738409基因突变与NAFLD严重性及NASH进展强烈相关。另一项研究也表明rs738409G等位基因与NASH的易感性、严重性及纤维化的发生相关^[41];(4)PNPLA3 rs738409突变可能与NAFLD的预后相关:研究显示rs738409SNP与透明质酸、HbA1c、肝内铁沉积相关^[37],三者均为NAFLD预后相关的临床指标;(5)PNPLA3基因突变与总胆固醇、低密度脂蛋白水平显著相关^[29,42],可引起总胆固醇累计^[29],高密度脂蛋白下降^[20]。

3.2 PNPLA3多态性与ALD的关系 2010年,Tian等^[43]首次报道了PNPLA3 rs738409多态性与酒精性肝病之间的相关性:该位点突变与过量饮酒、发生酒精性肝病及酒精性肝硬化相关。随后,众多研究者对此进行了进一步深入研究。Trépo等^[44]对330例ALD患者进行研究发现:PNPLA3 rs738409G等位基因与ALD患者发生脂肪变、纤维化和肝硬化显著相关,多因素分析显示该基因型为ALD患者发生肝硬化的最强独立危险因素。Stickel等^[45]对1 047例ALD患者及376例高危饮酒者的德国样本进行研究

发现:与没有肝损伤的酒精性肝病患者相比,rs738409GG基因型在酒精性肝硬化患者中明显增高($OR = 2.79$),在ALT升高的酒精性肝炎患者中也明显升高($OR = 2.33$),这表明PNPLA3 rs738409GG基因型与饮酒者发生肝损害、酒精性肝炎、酒精性肝硬化相关。

3.3 PNPLA3多态性与HCV感染患者的关系 (1)PNPLA3 rs738409G等位基因与HCV感染患者的脂肪变及其严重程度有关。Valenti等^[46]发现rs738409突变影响HCV患者脂肪变进展。经分析972例HCV-1型白种人,Clark等^[47]发现了PNPLA3危险等位基因和明显的脂肪变(肝细胞脂肪含量>5%)、严重脂肪变(肝细胞脂肪含量>32%)之间的相关性;(2)PNPLA3 rs738409G等位基因与HCV患者纤维化进展有关。Valenti和Trépo等^[46,48]通过分析欧洲大样本HCV患者,2011年首次报道了rs738409G等位基因不仅与HCV感染者组织性确定的肝脏脂肪变有关,还与其纤维化进展及肝硬化有关;(3)PNPLA3基因突变对抗HCV治疗效果的影响:Valenti等^[46]只是在HCV-1和HCV-4型患者中发现PNPLA3 rs738409G等位基因与抗HCV治疗效果有关,GG基因型患者持续性病毒应答(sustained virologic response, SVR)率10%,CG/CC基因型SVR率36%($P = 0.02$),然而在所有基因型HCV患者中未发现PNPLA3 rs738409基因突变与SVR率之间存在相关性。另一项由意大利和澳大利亚联合开展的对602例HCV患者进行研究^[49]也得到同样结论:PNPLA3 rs738409GG基因型与PegIFN α 联合利巴韦林的抗HCV治疗的SVR率之间缺乏相关性,而与HCV-1/HCV-4型的严重纤维化或肝硬化患者的SVR和早期病毒学应答(early virological response, EVR)相关^[41]。但是Trépo在他们的样本中不能复现Valenti的研究结果。且经过对Clark等^[47]和Valenti等研究中的1 500多例患者进行分析发现PNPLA3基因多态性对PegIFN联合利巴韦林治疗的SVR率很少或没有影响。

3.4 PNPLA3多态性与肝癌发生的相关性 PNPLA3 rs738409G等位基因增加肥胖人群发生肝细胞癌的概率^[49]。有研究发现PNPLA3 rs738409GG基因型是酒精性肝硬化患者发生肝癌的危险因素,与正常人相比,其肝癌发生的OR值为16.8^[50]。Corradini等^[51]的研究发现PNPLA3 rs738409GG型患者发生肝细胞癌的概率更高。多因素分析也确实显示rs738409GG基因型是HCC发生的独立危险因素,其OR值为2.23^[51]。

■ 相关报道

Valenti等只是在HCV-1和HCV-4型患者中发现PNPLA3 rs738409G等位基因与抗HCV治疗效果有关,然而在所有基因型HCV患者中未发现PNPLA3 rs738409基因突变与SVR率之间存在相关性。该研究提示PNPLA3 rs738409变异可能与抗HCV疗效相关,但是抗HCV疗效受到基因分型、纤维化程度、机体免疫等因素的影响,因此有必要对HCV感染患者进行分层分组的进一步研究,以明确该位点与抗HCV疗效的关系。

■创新盘点

本文对近几年来PNPLA3相关文献进行了综合整理和阐述,重点介绍了PNPLA3多态性与临床肝病(NAFLD、ALD、HCV感染患者、HCC)的相关性,内容新颖,资料详实。

4 结论

PNPLA3属于patatin样磷脂酶家族,具有非特异的脂肪酰基水解酶活性^[2-4]。PNPLA3 I148M变异蛋白通过阻止甘油三酯水解而增加肝脏脂肪蓄积。PNPLA3在人体内主要表达在肝脏^[7],其在体内的表达受到饮食、肥胖、胰岛素水平、基因变异等因素的影响。PNPLA3 rs738409(C>G)变异可引起普通人群、肥胖人群及肝病患者(NAFLD、ALD、HCV感染患者)的肝脏酶学(ALT、AST)增高^[19,23]。该位点的突变与临床肝病(NAFLD、ALD、HCV感染患者)发生的易感性、肝脂肪变、肝脏损害及纤维化进展相关。PNPLA3基因多态性与抗HCV治疗效果之间的关系尚未得出统一结论,因此有必要进一步开展该方面研究。此外,研究还发现该位点变异是肥胖人群、ALD患者发生肝细胞癌的危险因素,但相关研究还极少,故需更多相关研究进一步论证。

5 参考文献

- Baulande S, Lasnier F, Lucas M, Pairault J. Adiponutrin, a transmembrane protein corresponding to a novel dietary- and obesity-linked mRNA specifically expressed in the adipose lineage. *J Biol Chem* 2001; 276: 33336-33344 [PMID: 11431482]
- Rydel TJ, Williams JM, Krieger E, Moshiri F, Stallings WC, Brown SM, Pershing JC, Purcell JP, Alibhai MF. The crystal structure, mutagenesis, and activity studies reveal that patatin is a lipid acyl hydrolase with a Ser-Asp catalytic dyad. *Biochemistry* 2003; 42: 6696-6708 [PMID: 12779324]
- Jenkins CM, Mancuso DJ, Yan W, Sims HF, Gibson B, Gross RW. Identification, cloning, expression, and purification of three novel human calcium-independent phospholipase A2 family members possessing triacylglycerol lipase and acylglycerol transacylase activities. *J Biol Chem* 2004; 279: 48968-48975 [PMID: 15364929]
- Huang Y, Cohen JC, Hobbs HH. Expression and characterization of a PNPLA3 protein isoform (I148M) associated with nonalcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem* 2011; 286: 37085-37093 [PMID: 21878620 DOI: 10.1074/jbc.M111.290114]
- 徐静, 辛永宁, 宣世英. PNPLA3基因多态性与非酒精性脂肪性肝病关系的研究进展. *临床肝胆病杂志* 2012; 28: 316-320
- He S, McPhaul C, Li JZ, Garuti R, Kinch L, Grishin NV, Cohen JC, Hobbs HH. A sequence variation (I148M) in PNPLA3 associated with nonalcoholic fatty liver disease disrupts triglyceride hydrolysis. *J Biol Chem* 2010; 285: 6706-6715 [PMID: 20034933 DOI: 10.1074/jbc.M109.064501]
- 李冬阳, 林连捷, 郑长青. PNPLA3基因在非酒精性脂肪性肝病中的作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1796-1801
- Lake AC, Sun Y, Li JL, Kim JE, Johnson JW, Li D, Revett T, Shih HH, Liu W, Paulsen JE, Gimeno RE. Expression, regulation, and triglyceride hydrolase activity of Adiponutrin family members. *J Lipid Res* 2005; 46: 2477-2487 [PMID: 16150821]
- Rae-Whitcombe SM, Kennedy D, Voyles M, Thompson MP. Regulation of the promoter region of the human adiponutrin/PNPLA3 gene by glucose and insulin. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 402: 767-772 [PMID: 21036152 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.10.106]
- Liu YM, Moldes M, Bastard JP, Bruckert E, Viguerie N, Hainque B, Basdevant A, Langin D, Pairault J, Clément K. Adiponutrin: A new gene regulated by energy balance in human adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2684-2689 [PMID: 15181042]
- Perttilä J, Huaman-Samanez C, Caron S, Tanhuanpää K, Staels B, Yki-Järvinen H, Olkkonen VM. PNPLA3 is regulated by glucose in human hepatocytes, and its I148M mutant slows down triglyceride hydrolysis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012; 302: E1063-E1069 [PMID: 22338072 DOI: 10.1152/ajpendo.00125.2011]
- Kotronen A, Johansson LE, Johansson LM, Roos C, Westerbacka J, Hamsten A, Bergholm R, Arkkilä P, Arola J, Kiviluoto T, Fisher RM, Ehrenborg E, Orho-Melander M, Ridderstråle M, Groop L, Yki-Järvinen H. A common variant in PNPLA3, which encodes adiponutrin, is associated with liver fat content in humans. *Diabetologia* 2009; 52: 1056-1060 [PMID: 19224197 DOI: 10.1007/s00125-009-1285-z]
- Johansson LE, Hoffstedt J, Parikh H, Carlsson E, Wabitsch M, Bondeson AG, Hedenbro J, Tornqvist H, Groop L, Ridderstråle M. Variation in the adiponutrin gene influences its expression and associates with obesity. *Diabetes* 2006; 55: 826-833 [PMID: 16505250]
- Valenti L, Rametta R, Ruscica M, Dongiovanni P, Steffani L, Motta BM, Canavesi E, Fracanzani AL, Mozzi E, Roviato G, Magni P, Fargion S. The I148M Pnpla3 polymorphism influences serum adiponectin in patients with fatty liver and healthy controls. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 111 [PMID: 22898488]
- Pirazzi C, Adiels M, Burza MA, Mancina RM, Levin M, Ståhlman M, Taskinen MR, Orho-Melander M, Perman J, Pujia A, Andersson L, Maglio C, Montalcini T, Wiklund O, Borén J, Romeo S. Patatin-like phospholipase domain-containing 3 (PNPLA3) I148M (rs738409) affects hepatic VLDL secretion in humans and in vitro. *J Hepatol* 2012; 57: 1276-1282 [PMID: 22878467 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.07.030]
- Krurup NT, Grarup N, Banasik K, Friedrichsen M, Færch K, Sandholt CH, Jørgensen T, Poulsen P, Witte DR, Vaag A, Sørensen T, Pedersen O, Hansen T. The PNPLA3 rs738409 G-allele associates with reduced fasting serum triglyceride and serum cholesterol in Danes with impaired glucose regulation. *PLoS One* 2012; 7: e40376 [PMID: 22792295 DOI: 10.1371/journal.pone.0040376]
- Palmer CN, Maglio C, Pirazzi C, Burza MA, Adiels M, Burch L, Donnelly LA, Colhoun H, Doney AS, Dillon JF, Pearson ER, McCarthy M, Hattersley AT, Frayling T, Morris AD, Peltonen M, Svensson PA, Jacobson P, Borén J, Sjöström L, Carlsson LM, Romeo S. Paradoxical lower serum triglyceride levels and higher type 2 diabetes mellitus susceptibility in obese individuals with the PNPLA3 148M variant. *PLoS One* 2012; 7: e39362 [PMID: 22724004 DOI: 10.1371/journal.pone.0039362]
- Santoro N, Kursawe R, D'Adamo E, Dykas DJ, Zhang CK, Bale AE, Calí AM, Narayan D, Shaw MM, Pierpont B, Savoye M, Lartaud D, Eldrich S, Cushman SW, Zhao H, Shulman GI, Caprio S. A

- common variant in the patatin-like phospholipase 3 gene (PNPLA3) is associated with fatty liver disease in obese children and adolescents. *Hepatology* 2010; 52: 1281-1290 [PMID: 20803499 DOI: 10.1002/hep.23832]
- 19 Romeo S, Sentinelli F, Cambuli VM, Incani M, Congiu T, Matta V, Pilia S, Huang-Doran I, Cossu E, Loche S, Baroni MG. The 148M allele of the PNPLA3 gene is associated with indices of liver damage early in life. *J Hepatol* 2010; 53: 335-338 [PMID: 20546964 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.02.034]
- 20 Goran MI, Walker R, Le KA, Mahurkar S, Vikman S, Davis JN, Spruijt-Metz D, Weigensberg MJ, Al-layee H. Effects of PNPLA3 on liver fat and metabolic profile in Hispanic children and adolescents. *Diabetes* 2010; 59: 3127-3130 [PMID: 20852027 DOI: 10.2337/db10-0554]
- 21 Romeo S, Sentinelli F, Dash S, Yeo GS, Savage DB, Leonetti F, Capoccia D, Incani M, Maglio C, Iacovino M, O'Rahilly S, Baroni MG. Morbid obesity exposes the association between PNPLA3 I148M (rs738409) and indices of hepatic injury in individuals of European descent. *Int J Obes (Lond)* 2010; 34: 190-194 [PMID: 19844213 DOI: 10.1038/ijo.2009.216]
- 22 Wang CW, Lin HY, Shin SJ, Yu ML, Lin ZY, Dai CY, Huang JF, Chen SC, Li SS, Chuang WL. The PNPLA3 I148M polymorphism is associated with insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in a normoglycaemic population. *Liver Int* 2011; 31: 1326-1331 [PMID: 21745282 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02526.x]
- 23 Li Q, Qu HQ, Rentfro AR, Grove ML, Mirza S, Lu Y, Hanis CL, Fallon MB, Boerwinkle E, Fisher-Hoch SP, McCormick JB. PNPLA3 polymorphisms and liver aminotransferase levels in a Mexican American population. *Clin Invest Med* 2012; 35: E237-E245 [PMID: 22863562]
- 24 Speliotes EK, Yerges-Armstrong LM, Wu J, Hernaez R, Kim LJ, Palmer CD, Gudnason V, Eiriksdottir G, Garcia ME, Launer LJ, Nalls MA, Clark JM, Mitchell BD, Shuldiner AR, Butler JL, Tomas M, Hoffmann U, Hwang SJ, Massaro JM, O'Donnell CJ, Sahani DV, Salomaa V, Schadt EE, Schwartz SM, Siscovick DS, Voight BF, Carr JJ, Feitosa MF, Harris TB, Fox CS, Smith AV, Kao WH, Hirschhorn JN, Borecki IB. Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits. *PLoS Genet* 2011; 7: e1001324 [PMID: 21423719 DOI: 10.1371/journal.pgen.1001324]
- 25 Valenti L, Alisi A, Galmozzi E, Bartuli A, Del Menco B, Alterio A, Dongiovanni P, Fargion S, Nobili V. I148M patatin-like phospholipase domain-containing 3 gene variant and severity of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 1274-1280 [PMID: 20648474 DOI: 10.1002/hep.23823]
- 26 Valenti L, Al-Serri A, Daly AK, Galmozzi E, Rametta R, Dongiovanni P, Nobili V, Mozzi E, Roviato G, Vanni E, Bugianesi E, Maggioni M, Fracanzani AL, Fargion S, Day CP. Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 51: 1209-1217 [PMID: 20373368 DOI: 10.1002/hep.23622]
- 27 Speliotes EK, Butler JL, Palmer CD, Voight BF, Hirschhorn JN. PNPLA3 variants specifically confer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease. *Hepatology* 2010; 52: 904-912 [PMID: 20648472 DOI: 10.1002/hep.23768]
- 28 Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2011; 53: 1883-1894 [PMID: 21381068 DOI: 10.1002/hep.24283]
- 29 Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet* 2008; 40: 1461-1465 [PMID: 18820647 DOI: 10.1038/ng.257]
- 30 Sookoian S, Castaño GO, Burgueño AL, Gianotti TF, Rosselli MS, Pirola CJ. A nonsynonymous gene variant in the adiponutrin gene is associated with nonalcoholic fatty liver disease severity. *J Lipid Res* 2009; 50: 2111-2116 [PMID: 19738004 DOI: 10.1194/jlr.P900013-JLR200]
- 31 Kantartzis K, Peter A, Machicao F, Machann J, Wagner S, Königsrainer I, Königsrainer A, Schick F, Fritsche A, Häring HU, Stefan N. Dissociation between fatty liver and insulin resistance in humans carrying a variant of the patatin-like phospholipase 3 gene. *Diabetes* 2009; 58: 2616-2623 [PMID: 19651814 DOI: 10.2337/db09-0279]
- 32 Wagenknecht LE, Palmer ND, Bowden DW, Rotter JL, Norris JM, Ziegler J, Chen YD, Haffner S, Scherzinger A, Langefeld CD. Association of PNPLA3 with non-alcoholic fatty liver disease in a minority cohort: the Insulin Resistance Atherosclerosis Family Study. *Liver Int* 2011; 31: 412-416 [PMID: 21281435 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02444.x]
- 33 Hyysalo J, Stojkovic I, Kotronen A, Hakkarainen A, Sevestianova K, Makkonen J, Lundbom N, Rissanen A, Krauss RM, Melander O, Orholm-Melander M, Yki-Järvinen H. Genetic variation in PNPLA3 but not APOC3 influences liver fat in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 951-956 [PMID: 22141340 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07045.x]
- 34 Lin YC, Chang PF, Hu FC, Yang WS, Chang MH, Ni YH. A common variant in the PNPLA3 gene is a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease in obese Taiwanese children. *J Pediatr* 2011; 158: 740-744 [PMID: 21168155 DOI: 10.1016/j.jpeds.2010.11.016]
- 35 Yuan X, Waterworth D, Perry JR, Lim N, Song K, Chambers JC, Zhang W, Vollenweider P, Stirnadel H, Johnson T, Bergmann S, Beckmann ND, Li Y, Ferrucci L, Melzer D, Hernandez D, Singleton A, Scott J, Elliott P, Waeber G, Cardon L, Frayling TM, Kooner JS, Mooser V. Population-based genome-wide association studies reveal six loci influencing plasma levels of liver enzymes. *Am J Hum Genet* 2008; 83: 520-528 [PMID: 18940312 DOI: 10.1016/j.ajhg.2008.09.012]
- 36 Hoekstra M, Li Z, Kruijck JK, Van Eck M, Van Berkel TJ, Kuiper J. The expression level of non-alcoholic fatty liver disease-related gene PNPLA3 in hepatocytes is highly influenced by hepatic lipid status. *J Hepatol* 2010; 52: 244-251 [PMID: 20015565 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.11.004]
- 37 Kawaguchi T, Sumida Y, Umemura A, Matsuo K, Takahashi M, Takamura T, Yasui K, Saibara T,

■应用要点

本文内容新颖、资料丰富、思路清晰,为读者了解PNPLA3的作用、研究现状及研究热点提供了重要的资料。

■同行评价

本文内容新颖,对PNPLA3的作用机制以及今后临床肝病的研究有一定的指导意义。

- Hashimoto E, Kawanaka M, Watanabe S, Kawata S, Imai Y, Kokubo M, Shima T, Park H, Tanaka H, Tajima K, Yamada R, Matsuda F. Genetic polymorphisms of the human PNPLA3 gene are strongly associated with severity of non-alcoholic fatty liver disease in Japanese. *PLoS One* 2012; 7: e38322 [PMID: 22719876 DOI: 10.1371/journal.pone.0038322]
- 38 Petta S, Grimaudo S, Cammà C, Cabibi D, Di Marco V, Licata G, Pipitone RM, Craxi A. IL28B and PNPLA3 polymorphisms affect histological liver damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2012; 56: 1356-1362 [PMID: 22314430 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.01.007]
- 39 Rotman Y, Koh C, Zmuda JM, Kleiner DE, Liang TJ. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 894-903 [PMID: 20684021 DOI: 10.1002/hep.23759]
- 40 Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-1419 [PMID: 10348825]
- 41 Valenti L, Aghemo A, Stättermayer AF, Maggioni P, De Nicola S, Motta BM, Rumi MG, Dongiovanni P, Ferenci P, Colombo M, Fargion S. Implications of PNPLA3 polymorphism in chronic hepatitis C patients receiving peginterferon plus ribavirin. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 1434-1442 [PMID: 22530607 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05109.x]
- 42 Kollerits B, Coassin S, Beckmann ND, Teumer A, Kiechl S, Döring A, Kavousi M, Hunt SC, Lamina C, Paulweber B, Kutalik Z, Nauck M, van Duijn CM, Heid IM, Willeit J, Brandstätter A, Adams TD, Mooser V, Aulchenko YS, Völzke H, Kronenberg F. Genetic evidence for a role of adiponutrin in the metabolism of apolipoprotein B-containing lipoproteins. *Hum Mol Genet* 2009; 18: 4669-4676 [PMID: 19729411 DOI: 10.1093/hmg/ddp424]
- 43 Tian C, Stokowski RP, Kershenovich D, Ballinger DG, Hinds DA. Variant in PNPLA3 is associated with alcoholic liver disease. *Nat Genet* 2010; 42: 21-23 [PMID: 19946271 DOI: 10.1038/ng.488]
- 44 Trépo E, Gustot T, Degré D, Lemmers A, Verset L, Demetter P, Ouziel R, Quertinmont E, Vercruysse V, Amininejad L, Deltenre P, Le Moine O, Devière J, Franchimont D, Moreno C. Common polymorphism in the PNPLA3/adiponutrin gene confers higher risk of cirrhosis and liver damage in alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2011; 55: 906-912 [PMID: 21334404 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.01.028]
- 45 Stickel F, Buch S, Lau K, Meyer zu Schwabedissen H, Berg T, Ridinger M, Rietschel M, Schafmayer C, Braun F, Hinrichsen H, Günther R, Arlt A, Seeger M, Müller S, Seitz HK, Soyka M, Lerch M, Lammert F, Sarrazin C, Kubitz R, Häussinger D, Hellerbrand C, Bröring D, Schreiber S, Kiefer F, Spanagel R, Mann K, Datz C, Krawczak M, Wodarz N, Völzke H, Hampe J. Genetic variation in the PNPLA3 gene is associated with alcoholic liver injury in caucasians. *Hepatology* 2011; 53: 86-95 [PMID: 21254164 DOI: 10.1002/hep.24017]
- 46 Valenti L, Rumi M, Galmozzi E, Aghemo A, Del Menico B, De Nicola S, Dongiovanni P, Maggioni M, Fracanzani AL, Rametta R, Colombo M, Fargion S. Patatin-like phospholipase domain-containing 3 I148M polymorphism, steatosis, and liver damage in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2011; 53: 791-799 [PMID: 21319195 DOI: 10.1002/hep.24123]
- 47 Clark PJ, Thompson AJ, Zhu Q, Vock DM, Zhu M, Patel K, Harrison SA, Naggie S, Ge D, Tillmann HL, Urban TJ, Shianna K, Fellay J, Goodman Z, Noviello S, Pedicone LD, Afdhal N, Sulkowski M, Albrecht JK, Goldstein DB, McHutchison JG, Muir AJ. The association of genetic variants with hepatic steatosis in patients with genotype 1 chronic hepatitis C infection. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2213-2221 [PMID: 22543885 DOI: 10.1007/s10620-012-2171-y]
- 48 Trépo E, Pradat P, Potthoff A, Momozawa Y, Quertinmont E, Gustot T, Lemmers A, Berthillon P, Amininejad L, Chevallier M, Schlué J, Kreipe H, Devière J, Manns M, Trépo C, Sninsky J, Wedemeyer H, Franchimont D, Moreno C. Impact of patatin-like phospholipase-3 (rs738409 C > G) polymorphism on fibrosis progression and steatosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2011; 54: 60-69 [PMID: 21488075 DOI: 10.1002/hep.24350]
- 49 Burza MA, Pirazzi C, Maglio C, Sjöholm K, Mancina RM, Svensson PA, Jacobson P, Adiels M, Baroni MG, Borén J, Ginanni Corradini S, Montalcini T, Sjöström L, Carlsson LM, Romeo S. PNPLA3 I148M (rs738409) genetic variant is associated with hepatocellular carcinoma in obese individuals. *Dig Liver Dis* 2012; 44: 1037-1041 [PMID: 22704398 DOI: 10.1016/j.dld.2012.05.006]
- 50 Nischalke HD, Berger C, Luda C, Berg T, Müller T, Grünhage F, Lammert F, Coenen M, Krämer B, Körner C, Vidovic N, Oldenburg J, Nattermann J, Sauerbruch T, Spengler U. The PNPLA3 rs738409 148M/M genotype is a risk factor for liver cancer in alcoholic cirrhosis but shows no or weak association in hepatitis C cirrhosis. *PLoS One* 2011; 6: e27087 [PMID: 22087248 DOI: 10.1371/journal.pone.0027087]
- 51 Corradini SG, Burza MA, Molinaro A, Romeo S. Patatin-like phospholipase domain containing 3 sequence variant and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2011; 53: 1776; author reply 1777 [PMID: 21351112 DOI: 10.1002/hep.24244]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



Lgr5与结肠癌关系的研究进展

陈小燕, 赵 逵

陈小燕, 赵逵, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省遵义市 563099

陈小燕, 在读硕士, 主要从事大肠癌的研究工作.

贵州省高层次人才科研条件特助基金资助项目, No. TZJF-2011-32

作者贡献分布: 陈小燕完成本文综述; 赵逵审校.

通讯作者: 赵逵, 教授, 主任医师, 563099, 贵州省遵义市大连路 149号, 遵义医学院附属医院消化内科. kuizhao95868@msn.com

收稿日期: 2013-01-14 修回日期: 2013-02-05

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

Progress in understanding the relationship between Lgr5 and colorectal cancer

Xiao-Yan Chen, Kui Zhao

Xiao-Yan Chen, Kui Zhao, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 536099, Guizhou Province, China

Supported by: the Guizhou Provincial Special Scientific Research Condition Fund for High-level Talents, No. TZJF-2011-32

Correspondence to: Kui Zhao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Zunyi 536099, Guizhou Province, China. kuizhao95868@msn.com

Received: 2013-01-14 Revised: 2013-02-05

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

Abstract

Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5 (Lgr5), a member of the G protein-coupled receptor family, contains 17 leucine-rich repeats and N- and C-terminal cysteine-rich flanking domains. Lgr5 is a marker for stem cells in the stomach, small intestine, colon, and hair follicles. Recently, Lgr5 has been identified as a target of Wnt signaling. As a potential marker for colorectal cancer stem cells, Lgr5 might be responsible for the initiation and progression of colorectal cancer. In this article we review recent progress in understanding the relationship between Lgr5 and colorectal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Stem cell markers; Lgr5; Wnt pathway; Colorectal cancer

Chen XY, Zhao K. Progress in understanding the relationship between Lgr5 and colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 673-678 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/673.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.673>

摘要

Lgr5(leucine-rich repeat-containing g-protein coupled receptor 5)属于G蛋白耦联受体家族, 含17个富含亮氨酸重复序列和7次a螺旋跨膜区, 其N-和C-末端尾部侧翼富含半胱氨酸序列, 可在胃肠道、毛囊等多种组织中表达. Lgr5是最新发现的Wnt通路的靶基因, 而且是潜在的结肠癌干细胞标志物, 与结肠癌的发生和发展密切相关, 现就Lgr5与结肠癌的关系作一综述.

© 2013版权归Baishideng所有.

关键词: 干细胞标志物; Lgr5; Wnt通路; 结肠癌

陈小燕, 赵逵. Lgr5与结肠癌关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(8): 673-678 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/673.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.673>

0 引言

结肠癌是胃肠道中最常见的恶性肿瘤之一, 居全球肿瘤发病率的第3位^[1], 但其发病机制尚不明确. 新近研究表明Lgr5是Wnt通路的目标基因, 与R-脊椎蛋白(R-spondins, RSPOs)结合能够增强Wnt/ β -catenin信号, 进而参与结肠癌等肿瘤的发生. 许多研究发现Lgr5⁺干细胞是结肠癌的起始细胞, 作为潜在的结肠癌干细胞标志物的Lgr5在结肠癌中大量表达, 并与结肠癌的转移、复发以及患者的预后密切相关. 本文将系统阐述Lgr5与结肠癌发生发展关系的研究进展.

1 Lgr5的分子生物学特性

Lgr5, 又名GPR49、HG38、FEX、GPR67和MGC117008, 是7次跨膜(seven-transmembrane, TM)蛋白, 属于G蛋白耦联受体(G-protein-

■背景资料

Lgr5属于G蛋白耦联受体家族, 含17个富含亮氨酸重复序列和7次a螺旋跨膜区, 可在胃肠道、毛囊等多种组织中表达. Lgr5是最新发现的Wnt通路的靶基因, 而且是潜在的结肠癌干细胞标志物, 与结肠癌的发生和发展密切相关, 本文主要介绍Lgr5与结肠癌关系的研究进展.

■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

许多研究发现Lgr5⁺干细胞是结肠癌的起始细胞,作为潜在的结肠癌干细胞标志物的Lgr5在结肠癌中大量表达,并与结肠癌的转移、复发以及患者的预后密切相关,表明其可作为结肠癌治疗的一个潜在靶点。

coupled receptors, GPCRS)家族的成员,其胞外区含有与糖蛋白配体作用的17个富含亮氨酸重复序列,7次 α 螺旋跨膜区高度保守,N-端和C-端尾部侧翼富含半胱氨酸序列。最初因未发现其生理性配体,故称为孤儿受体。目前研究发现Lgr5的配体为R-脊椎蛋白,两者的结合能够增强Wnt/ β -catenin信号,并对干细胞生长起多效作用^[2]。Lgr蛋白通过其胞外的N-端与R-脊椎蛋白结合,但是现有证据指出其并不利用G蛋白^[2,3]。Lgr5与G蛋白偶联受体相关,例如促甲状腺激素(thyroid-stimulating hormone, TSH)、卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)及促黄体激素(luteinizing hormone, LH)。这些激素受体在胞外N-端富含亮氨酸并含有9个与糖蛋白激素相结合的重复单位。DNA的杂交分析表明Lgr5基因在哺乳动物的进化中高度保守。人类lgr5基因定位于染色体12q22-23, cDNA全长4 208 bp,含有22个外显子和21个内含子,转录产生8个不同的mRNA,其中5个为选择性剪切体,可读框编码由907个氨基酸残基组成的多肽链,其中信号肽21个,外功能区540个,跨膜区263个,C-端尾部83个。相比TSH等糖蛋白激素的限制性表达,Lgr5可在多种组织中表达,例如骨骼肌^[4]、胃肠道^[5]、毛囊^[6-8]、大脑^[9]、脊髓、乳腺^[10]、眼睛及生殖器官等。

2 Lgr5与结直肠癌

2.1 Lgr5与Wnt/ β -catenin通路 在关于结肠癌的研究中发现Lgr5是许多自我更新组织包括肠道和毛囊等的干细胞标志物,而且是与结肠癌发生密切相关的Wnt通路的靶基因^[5,11,12]。Wnt信号诱导Axin与磷酸化的LRP结合,降解复合体分离, β -catenin在胞浆中稳定存在并转位入核,与Tcf/Lef结合,形成转录复合体,激活Lgr5及gastrin等靶基因的转录^[13,14]。Lgr5家族可介导R-脊椎蛋白参与Wnt经典信号通路^[15,16],并证实Lgr受体与R-脊椎蛋白密切结合,即使是少量Wnt信号刺激时也能够增强Wnt的信号作用,进而参与肿瘤的发生。Carmon等^[17]关于Lgr5与Wnt受体的相互作用的研究表明,Lgr5是Wnt信号复合体的一部分,并在膜水平增强Wnt/ β -catenin信号。Fan等^[18]运用免疫组织化学检测102例结肠癌患者中Lgr5和 β -catenin的表达,结果显示,Lgr5与 β -catenin的表达呈正相关,由此推测Lgr5可能通过Wnt/ β -catenin通路参与结肠癌的发生。Barker等^[12]通过消除Lgr5-cre阳性表达小鼠肠干细胞的APC基因,3-5 wk后发生转变的肠干细胞仍存留在隐窝底部,并形成由微腺瘤到肉眼可见的Lgr5⁺的腺瘤,并伴有细胞核内 β -catenin高表达,这说明Lgr5可促进 β -catenin表达,启动Wnt通路。关于Lgr5是如何增强Wnt信号的机制依然不清楚^[3]。然而,一些学者却提出了相反的观点,认为Lgr5非但不能增强Wnt信号,反而起负性调节作用。Walker等^[19]通过RNA干扰技术调控Lgr5的表达,发现Lgr5的表达减少会诱导肿瘤侵袭和锚地依赖性生长以及致瘤性增强。相反,Lgr5的过表达导致细胞黏附增强,集落生成及致瘤性减弱。表达谱同样显示,基因敲出Lgr5的细胞使Wnt信号增强和EMT基因上调,这与Lgr5高表达细胞中改变是相反的。由此证实在结肠癌细胞株中,Lgr5拮抗Wnt信号和调控细胞黏附,负性调节肿瘤的发展。Garcia等^[20]关于Lgr5对胚胎期小肠上皮发育的作用的研究也发现Lgr5基因敲除导致了Wnt通路靶基因的过度表达,进一步证实了Lgr5作为Wnt信号通路的负调控因子。此外,有研究显示肿瘤坏死因子受体家族成员-Troy,可抑制Lgr5⁺肠道干细胞中Wnt信号转导^[21]。

2.2 Lgr5与结肠癌干细胞 结肠黏膜上皮的再生,是通过位于结肠隐窝底部潘氏细胞之间的肠干细胞(intestinal stem cells, ISCs)而维持。ISCs的特点就是Lgr5高表达,对Wnt信号的调节非常敏感。ISCs的后代被称为短暂扩充(transient amplifying, TA)细胞,经数次有丝分裂并沿着隐窝轴向上迁移而得到扩充。TA细胞离开隐窝向肠腔靠近时,TA细胞经历细胞周期阻滞和终末分化。最近的研究采用生物标志物技术以便更准确地评估这些干细胞在肠隐窝的定位。这些新的标记中,最值得注意的是Lgr5。Lgr5是ISCs分裂活跃的标记^[22]。鼠的小肠^[23]、结肠^[12]和胃^[3]的干细胞均可特异性表达Lgr5。Lgr5⁺肠干细胞寿命长,持续增殖并且能够分化为不同的终末分化上皮细胞类型,包括吸收细胞、杯状细胞、肠内分泌细胞、帕内特细胞^[24],同时也能保持其干细胞状态。单个Lgr5⁺隐窝干细胞在体外可以形成类器官结构,Yui等^[25]将一个Lgr5⁺结肠干细胞植入到小鼠结肠表面受损的GFP⁺细胞中以检测Lgr5⁺结肠干细胞的移植能力,其结果发现,4 wk后Lgr5⁺结肠干细胞形成单层上皮细胞,并且还形成功能和组织学均正常的而且具有自我更新能力的肠隐窝,6 mo之后,Lgr5⁺结肠干细胞在体外不断扩增形成了移植组织。Snippert等^[26]通过运用多色的Cre重组酶受体对Lgr5⁺干细胞

进行追踪发现肠隐窝动态平衡依赖于Lgr5⁺干细胞的对称分裂. Schepers等^[27]再次运用谱系追踪小鼠肠腺瘤中Lgr5⁺干细胞活性发现, 占腺瘤细胞5%-10%的Lgr5⁺细胞产生额外的Lgr5⁺细胞以及所有其他腺瘤细胞类型, 并且加速腺瘤生长. 在大多数情况下, 肠道肿瘤的发生是受Wnt信号转导通路突变的驱动. 小鼠中, Lgr5⁺细胞比其他Wnt信号通路突变的肠上皮细胞群更容易引起肠道肿瘤^[12]. 这一结果表明Lgr5⁺干细胞是结肠癌的起始细胞^[28,29]. 换言之, Lgr5是结肠癌干细胞的标志物^[30].

2.3 Lgr5在结肠癌中的表达、定位 已经证实人类多种类型的肿瘤中^[31-33], 例如卵巢瘤、脑胶质瘤等, 特别是结肠癌^[34], 可见Lgr5的高表达. 由Lgr5在肠腺瘤中限制性表达的模式推测: Lgr5可能在结肠癌干细胞中也是选择性表达. Takahashi等^[35]随后报道了Lgr5限制性表达通常在人腺瘤细胞的基底层, 肿瘤和间质细胞的交界处. Becker等^[36]运用免疫组织化学的方法比较正常结肠、癌前病变以及结肠腺瘤Lgr5的表达发现, 正常的组织中Lgr5在隐窝基底部表达, 而在癌前病变的组织中Lgr5的表达并不局限于隐窝基底部且表达量较高, 结肠腺瘤中Lgr5较少在基底部表达, 而是在腺腔的表面大量表达. 此研究表明Lgr5是人肠道干细胞的一个潜在标志物, 其失巢表达是干细胞向癌前病变转变的早期事件, 并在肿瘤的发生中起重要作用. Takeda等^[37]也采用免疫组织化学对17例低分化和13例高分化的腺瘤以及30例腺癌分析Lgr5的表达, 结果显示腺瘤中, Lgr5的表达部位与肿瘤分化有关, 在腔面表达与分化呈负相关, 然而隐窝部表达与分化呈正相关; 腺癌中, Lgr5的表达部位与肿瘤分期有关, 在腔面表达与分期呈负相关, 隐窝部表达与分期呈正相关, 进一步表明结肠癌发生的各个阶段中, Lgr5的空间分布存在着明显的差异, 这与Simon等^[38]的研究不谋而合. 此外, Amsterdam等^[39]研究同样发现, 在正常组织中, 只在隐窝有散在的Lgr5⁺细胞, 胞膜和胞浆均有染色; 在癌旁组织中, 隐窝部位Lgr5⁺细胞更密集, 包括上皮细胞都有着色; 在癌组织中, Lgr5⁺细胞主要集中在低分化肿瘤中, 而高分化的肿瘤只散在分布着Lgr5⁺细胞. 许多研究表明Lgr5在癌组织及癌旁组织大量表达, 但Uchida等^[33]的研究显示, Lgr5在肿瘤间质中不表达, 这与Takahashi等^[35]报道相一致. 以上的研究均表明, Lgr5的表达定位与结肠癌发生发展密切相关.

2.4 Lgr5与结直肠癌患者的预后 Lgr5在多种类型的癌症中都过度表达, 并能促进的肿瘤细胞的增长和转移^[31,32,40,41]. 研究表明, 在转移性结肠癌细胞系中, Lgr5的表达较高. Kleist等^[42]比较原发性结肠癌和转移性结肠癌的Lgr5的表达发现, 后者的Lgr5表达水平远超过前者. Uchida等^[33]对结肠癌Lgr5的表达与其临床病理意义进行评估, 结果显示Lgr5蛋白表达水平与淋巴结转移、淋巴管浸润、血管浸润及肿瘤分期呈正相关, 而与患者年龄、性别、肿瘤的分化程度、位置及大小无明显相关, 这与付焱等^[43]的研究结果相似. 但是Wu等^[44]为了确定Lgr5是否是一个潜在的结肠癌干细胞的标志物以及其与患者预后是否相关, 检测结肠癌中Lgr5与Ki-67在大肠癌中的表达, 发现Lgr5的表达不仅与浸润深度、淋巴结转移以及远处转移有关, 而且与组织学分级亦呈正相关, 结果还表明Lgr5是作为一个独立的影响结肠癌患者预后的因素. 这与Takahashi等^[35]的研究结果相一致, 也显示Lgr5表达可能是大肠癌患者的不良预后因素. Saigusa等^[45,46]采用实时定量PCR技术测定术前放化疗后直肠癌患者的Lgr5基因表达水平, 发现Lgr5基因高表达, 其无病生存期越短, 两者呈正相关. 上述结果均表明Lgr5过表达可能促进肿瘤的转移, 对结肠癌的进展发挥重要作用, 由此表明Lgr5可以作为一个判断结肠癌患者预后的指标, 是一个潜在的结肠癌治疗新靶点.

3 Lgr5⁺结肠癌细胞的分离

许多作者认为Lgr5可以作为结肠癌干细胞最为理想的标志物之一^[42,47]. Kemper等^[48]甚至认为Lgr5不仅可以作为一个肠干细胞的生物学和功能性标志物, 而且是结肠癌干细胞的选择标志物. 鉴于Lgr5对结肠癌的发生和发展有重要作用, 因此越来越多的研究学者更迫切希望对Lgr5⁺的结肠癌干细胞进行研究, 以便对其有更为深入的了解. 那么如何分选Lgr5⁺的结肠癌干细胞呢? 我们可以通过分选SP(side population, SP)细胞以及悬浮培养法分离肿瘤干细胞, 但是上述两种方法只能够富集包括Lgr5⁺细胞在内的肿瘤干细胞, 而不能直接分选出Lgr5⁺的结肠癌干细胞. 因此, 只有应用细胞表面特异性标志进行分选.

研究发现结肠癌干细胞较已分化的肿瘤干细胞相比, Wnt信号更强, 表明可以用Wnt信号强度来识别干细胞, 因此有人猜想可以通过

■相关报道
Becker等报道了Lgr5是人肠道干细胞的一个潜在标志物, 其表达异常是干细胞向癌前病变转变的早期事件, 并在肿瘤的发生中起重要作用.

■创新盘点

本文总结了Lgr5与结肠癌的关系, 如与Wnt/ β -catenin通路、结肠癌干细胞、结肠癌患者预后等, 并提出了关于Lgr5⁺结肠癌干细胞分选的相关问题。

构建Wnt的受体来分离结肠癌干细胞^[49]。但是结肠癌干细胞中Wnt信号增强的表现就是核 β -catenin升高, 显然基于 β -catenin的方法是可行的。Lgr5是一个7个跨膜糖蛋白, 关于其在细胞的定位仍存在着较大争议, 通过免疫组织化学或免疫荧光技术发现Lgr5在胞膜上或胞质中亦或是胞膜上和胞质中都有表达, 原因主要在于现有抗体对Lgr5抗原表位的识别。要通过细胞表面特异性标记法运用荧光激活细胞分选术 (fluorescence-activated cell sorting, FACS) 又称流式细胞技术或磁珠分选技术, 需要该抗体识别Lgr5的胞外部分。然而, 到目前为止, 已发现多种Lgr5的抗体, 但都不能用于FACS分析。

King等^[50]一系列的研究表明CD24在肠道的空间分布与Lgr5极其相似, 于是推测通过膜蛋白CD24可以分离Lgr5⁺结肠上皮干细胞, 他们用FACS检测发现, Lgr5-EGFP小鼠中CD24⁺细胞中含有大部分Lgr5⁺结肠上皮干细胞。最近, Kemper等^[48]针对Lgr5设计出3种新的单克隆抗体, 通过无血清方法富集结肠癌干细胞之后再进行流式分选, 但需同时加入3种Lgr5抗体, 在Epcam⁺细胞中Lgr5⁺细胞比例在1.9%-11.1%之间。然而这3种抗体运用还不够成熟, 流式分选时所需抗体多, 成本高, 而且不能用于Lgr5的Western blot和免疫组织化学检测。因此, 我们的建议是最好先经无血清培养法富集肿瘤干细胞, 再运用FACS技术经CD24间接分选出Lgr5⁺结肠癌细胞。

4 参考文献

- Grizzi F, Celesti G, Basso G, Laghi L. Tumor budding as a potential histopathological biomarker in colorectal cancer: hype or hope? *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6532-6536 [PMID: 23236225 DOI: 10.3748/wjg.v18.i45.6532]
- Carmon KS, Gong X, Lin Q, Thomas A, Liu Q. R-spondins function as ligands of the orphan receptors LGR4 and LGR5 to regulate Wnt/ β -catenin signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 11452-11457 [PMID: 21693646 DOI: 10.1073/pnas.1106083108]
- de Lau W, Barker N, Low TY, Koo BK, Li VS, Teunissen H, Kujala P, Haegbarth A, Peters PJ, van de Wetering M, Stange DE, van Es JE, Guardavaccaro D, Schasfoort RB, Mohri Y, Nishimori K, Mohammed S, Heck AJ, Clevers H. Lgr5 homologues associate with Wnt receptors and mediate R-spondin signalling. *Nature* 2011; 476: 293-297 [PMID: 21727895 DOI: 10.1038/nature]
- Rot S, Taubert H, Bache M, Greither T, Würfl P, Eckert AW, Schubert J, Vordermark D, Kappler M. A novel splice variant of the stem cell marker LGR5/GPR49 is correlated with the risk of tumor-related death in soft-tissue sarcoma patients. *BMC Cancer* 2011; 11: 429 [PMID: 21978106 DOI: 10.1186/1471-2407-11-429]
- Barker N, Huch M, Kujala P, van de Wetering M, Snippert HJ, van Es JH, Sato T, Stange DE, Begthel H, van den Born M, Danenberg E, van den Brink S, Korving J, Abo A, Peters PJ, Wright N, Poulsom R, Clevers H. Lgr5(+ve) stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units in vitro. *Cell Stem Cell* 2010; 6: 25-36 [PMID: 20085740]
- Plaks V, Brenot A, Lawson DA, Linnemann JR, Van Kappel EC, Wong KC, de Sauvage F, Klein OD, Werb Z. Lgr5-expressing cells are sufficient and necessary for postnatal mammary gland organogenesis. *Cell Rep* 2013; 3: 70-78 [PMID: 23352663 DOI: 10.1016/j.celrep.2012.12.017]
- da Silva-Diz V, Solé-Sánchez S, Valdés-Gutiérrez A, Urpí M, Riba-Artés D, Penin RM, Pascual G, González-Suárez E, Casanovas O, Viñals F, Paramio JM, Batlle E, Muñoz P. Progeny of Lgr5-expressing hair follicle stem cell contributes to papillomavirus-induced tumor development in epidermis. *Oncogene* 2012 Sep 3. [Epub ahead of print] [PMID: 22945646 DOI: 10.1038/onc.2012.375]
- Mardaryev AN, Meier N, Poterlowicz K, Sharov AA, Sharova TY, Ahmed MI, Rapisarda V, Lewis C, Fessing MY, Ruenger TM, Bhawan J, Werner S, Paus R, Botchkarev VA. Lhx2 differentially regulates Sox9, Tcf4 and Lgr5 in hair follicle stem cells to promote epidermal regeneration after injury. *Development* 2011; 138: 4843-4852 [PMID: 22028024 DOI: 10.1242/dev.070284]
- Nakata S, Campos B, Bageritz J, Bermejo JL, Becker N, Engel F, Acker T, Momma S, Herold-Mende C, Lichter P, Radlwimmer B, Goidts V. LGR5 is a marker of poor prognosis in glioblastoma and is required for survival of brain cancer stem-like cells. *Brain Pathol* 2013; 23: 60-72 [PMID: 22805276 DOI: 10.1111/j.1750-3639.2012.00618.x]
- de Visser KE, Ciampricotti M, Michalak EM, Tan DW, Speksnijder EN, Hau CS, Clevers H, Barker N, Jonkers J. Developmental stage-specific contribution of LGR5(+) cells to basal and luminal epithelial lineages in the postnatal mammary gland. *J Pathol* 2012; 228: 300-309 [PMID: 22926799 DOI: 10.1002/path.4096]
- Ruffner H, Sprunger J, Charlat O, Leighton-Davies J, Grosshans B, Salathe A, Zietzling S, Beck V, Therier M, Isken A, Xie Y, Zhang Y, Hao H, Shi X, Liu D, Song Q, Clay I, Hintzen G, Tchorz J, Bouchez LC, Michaud G, Finan P, Myer VE, Bouwmeester T, Porter J, Hild M, Bassilana F, Parker CN, Cong F. R-Spondin potentiates Wnt/ β -catenin signaling through orphan receptors LGR4 and LGR5. *PLoS One* 2012; 7: e40976 [PMID: 22815884 DOI: 10.1371/journal.pone.0040976]
- Barker N, Ridgway RA, van Es JH, van de Wetering M, Begthel H, van den Born M, Danenberg E, Clarke AR, Sansom OJ, Clevers H. Crypt stem cells as the cells-of-origin of intestinal cancer. *Nature* 2009; 457: 608-611 [PMID: 19092804]
- Clevers H, Nusse R. Wnt/ β -catenin signaling and disease. *Cell* 2012; 149: 1192-1205 [PMID: 22682243 DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.012]
- MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/ β -catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell* 2009; 17: 9-26 [PMID: 19619488 DOI: 10.1016/j.devcel.2009.06.012]
- Glinka A, Dolde C, Kirsch N, Huang YL, Kazanskaya O, Ingelfinger D, Boutros M, Cruciat CM,

- Niehrs C. LGR4 and LGR5 are R-spondin receptors mediating Wnt/ β -catenin and Wnt/PCP signalling. *EMBO Rep* 2011; 12: 1055-1061 [PMID: 21909076 DOI: 10.1038/embor.2011.175]
- 16 de Lau W, Barker N, Low TY, Koo BK, Li VS, Teunissen H, Kujala P, Haegbarth A, Peters PJ, van de Wetering M, Stange DE, van Es JE, Guadavaccaro D, Schasfoort RB, Mohri Y, Nishimori K, Mohammed S, Heck AJ, Clevers H. Lgr5 homologues associate with Wnt receptors and mediate R-spondin signalling. *Nature* 2011; 476: 293-297 [PMID: 21727895 DOI: 10.1038/nature10337]
- 17 Carmon KS, Lin Q, Gong X, Thomas A, Liu Q. LGR5 interacts and cointernalizes with Wnt receptors to modulate Wnt/ β -catenin signaling. *Mol Cell Biol* 2012; 32: 2054-2064 [PMID: 22473993 DOI: 10.1128/MCB.00272-12]
- 18 Fan XS, Wu HY, Yu HP, Zhou Q, Zhang YF, Huang Q. Expression of Lgr5 in human colorectal carcinogenesis and its potential correlation with β -catenin. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 583-590 [PMID: 20195621 DOI: 10.1007/s00384-010-0903-z]
- 19 Walker F, Zhang HH, Odorizzi A, Burgess AW. LGR5 is a negative regulator of tumorigenicity, antagonizes Wnt signalling and regulates cell adhesion in colorectal cancer cell lines. *PLoS One* 2011; 6: e22733 [PMID: 21829496 DOI: 10.1371/journal.pone.0022733]
- 20 Garcia MI, Ghiani M, Lefort A, Libert F, Strollo S, Vassart G. LGR5 deficiency deregulates Wnt signaling and leads to precocious Paneth cell differentiation in the fetal intestine. *Dev Biol* 2009; 331: 58-67 [PMID: 19394326 DOI: 10.1016/j.ydbio.2009.04.020]
- 21 Fafilek B, Krausova M, Vojtechova M, Pospichalova V, Tumova L, Sloncova E, Huranova M, Stancikova J, Hlavata A, Svec J, Sedlacek R, Luksan O, Oliverius M, Voska L, Jirsa M, Paces J, Kolar M, Krivjanska M, Klimesova K, Tlaskalova-Hogenova H, Korinek V. Troy, a Tumor Necrosis Factor Receptor Family Member, Interacts With Lgr5 to Inhibit Wnt Signaling in Intestinal Stem Cells. *Gastroenterology* 2012 Nov 7. [Epub ahead of print] [PMID: 23142137 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.10.048]
- 22 Yan KS, Chia LA, Li X, Ootani A, Su J, Lee JY, Su N, Luo Y, Heilshorn SC, Amieva MR, Sangiorgi E, Capecchi MR, Kuo CJ. The intestinal stem cell markers Bmi1 and Lgr5 identify two functionally distinct populations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 466-471 [PMID: 22190486 DOI: 10.1073/pnas.1118857109]
- 23 Barker N, van Es JH, Kuipers J, Kujala P, van den Born M, Cozijnsen M, Haegbarth A, Korving J, Begthel H, Peters PJ, Clevers H. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. *Nature* 2007; 449: 1003-1007 [PMID: 17934449]
- 24 Gerbe F, van Es JH, Makrini L, Brulin B, Mellitzer G, Robine S, Romagnolo B, Shroyer NF, Bourgaux JF, Pignodel C, Clevers H, Jay P. Distinct ATOH1 and Neurog3 requirements define tuft cells as a new secretory cell type in the intestinal epithelium. *J Cell Biol* 2011; 192: 767-780 [PMID: 21383077 DOI: 10.1083/jcb.201010127]
- 25 Yui S, Nakamura T, Sato T, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Ichinose S, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Clevers H, Watanabe M. Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5⁺ stem cell. *Nat Med* 2012; 18: 618-623 [PMID: 22406745 DOI: 10.1038/nm.2695]
- 26 Snippert HJ, van der Flier LG, Sato T, van Es JH, van den Born M, Kroon-Veenboer C, Barker N, Klein AM, van Rheenen J, Simons BD, Clevers H. Intestinal crypt homeostasis results from neutral competition between symmetrically dividing Lgr5 stem cells. *Cell* 2010; 143: 134-144 [PMID: 20887898 DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.041]
- 27 Schepers AG, Snippert HJ, Stange DE, van den Born M, van Es JH, van de Wetering M, Clevers H. Lineage tracing reveals Lgr5⁺ stem cell activity in mouse intestinal adenomas. *Science* 2012; 337: 730-735 [PMID: 22855427 DOI: 10.1126/science.1224676]
- 28 Sato T, Vries RG, Snippert HJ, van de Wetering M, Barker N, Stange DE, van Es JH, Abo A, Kujala P, Peters PJ, Clevers H. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. *Nature* 2009; 459: 262-265 [PMID: 19329995]
- 29 Schuijers J, Clevers H. Adult mammalian stem cells: the role of Wnt, Lgr5 and R-spondins. *EMBO J* 2012; 31: 2685-2696 [PMID: 22617424 DOI: 10.1038/emboj.2012.149]
- 30 Leushacke M, Barker N. Lgr5 and Lgr6 as markers to study adult stem cell roles in self-renewal and cancer. *Oncogene* 2012; 31: 3009-3022 [PMID: 22002312]
- 31 McClanahan T, Koseoglu S, Smith K, Grein J, Gustafson E, Black S, Kirschmeier P, Samatar AA. Identification of overexpression of orphan G protein-coupled receptor GPR49 in human colon and ovarian primary tumors. *Cancer Biol Ther* 2006; 5: 419-426 [PMID: 16575208]
- 32 Tanese K, Fukuma M, Yamada T, Mori T, Yoshikawa T, Watanabe W, Ishiko A, Amagai M, Nishikawa T, Sakamoto M. G-protein-coupled receptor GPR49 is up-regulated in basal cell carcinoma and promotes cell proliferation and tumor formation. *Am J Pathol* 2008; 173: 835-843 [PMID: 18688030 DOI: 10.2353/ajpath.2008.071091]
- 33 Uchida H, Yamazaki K, Fukuma M, Yamada T, Hayashida T, Hasegawa H, Kitajima M, Kitagawa Y, Sakamoto M. Overexpression of leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5 in colorectal cancer. *Cancer Sci* 2010; 101: 1731-1737 [PMID: 20384634 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01571.x]
- 34 Merlos-Suárez A, Barriga FM, Jung P, Iglesias M, Céspedes MV, Rossell D, Sevillano M, Hernando-Momblona X, da Silva-Diz V, Muñoz P, Clevers H, Sancho E, Mangués R, Battle E. The intestinal stem cell signature identifies colorectal cancer stem cells and predicts disease relapse. *Cell Stem Cell* 2011; 8: 511-524 [PMID: 21419747 DOI: 10.1016/j.stem.2011.02.001]
- 35 Takahashi H, Ishii H, Nishida N, Takemasa I, Mizushima T, Ikeda M, Yokobori T, Mimori K, Yamamoto H, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. Significance of Lgr5(+ve) cancer stem cells in the colon and rectum. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1166-1174 [PMID: 21125339 DOI: 10.1245/s10434-11-1934-4]
- 36 Becker L, Huang Q, Mashimo H. Immunostaining of Lgr5, an intestinal stem cell marker, in normal and premalignant human gastrointestinal tissue. *ScientificWorldJournal* 2008; 8: 1168-1176 [PMID: 19030762 DOI: 10.1100/tsw.2008.148]
- 37 Takeda K, Kinoshita I, Shimizu Y, Matsuno Y, Shi-

■名词解释

Lgr5: 又名GPR49、HG38、FEX、GPR67和MGC117008, 是一个7次跨膜(TM)蛋白, 属于G蛋白耦联受体(GPCR)家族的成员, 其胞外区含有与糖蛋白配体作用的17个富含亮氨酸重复序列, 7次a螺旋跨膜区高度保守, N-端和C-端尾部侧翼富含半胱氨酸序列。最初因未发现其生理性配体, 故称为孤儿受体。

■同行评价

本文针对Lgr5的结构和功能进行了综述,标志物与结肠癌的发生和发展密切相关。这些进展的介绍有利于读者获取新知识,为结肠癌的研究提供了新的思路。

- chinohe T, Dosaka-Akita H. Expression of LGR5, an intestinal stem cell marker, during each stage of colorectal tumorigenesis. *Anticancer Res* 2011; 31: 263-270 [PMID: 21273608]
- 38 Simon E, Petke D, Böger C, Behrens HM, Warneke V, Ebert M, Röcken C. The spatial distribution of LGR5+ cells correlates with gastric cancer progression. *PLoS One* 2012; 7: e35486 [PMID: 22530031 DOI: 10.1371/journal.pone.0035486]
- 39 Amsterdam A, Raanan C, Schreiber L, Freyhan O, Fabrikant Y, Melzer E, Givol D. Differential localization of LGR5 and Nanog in clusters of colon cancer stem cells. *Acta Histochem* 2012 Oct 23. [Epub ahead of print] [PMID: 23098761 DOI: 10.1016/j.acthis]
- 40 Gao Y, Kitagawa K, Hiramatsu Y, Kikuchi H, Isobe T, Shimada M, Uchida C, Hattori T, Oda T, Nakayama K, Nakayama KI, Tanaka T, Konno H, Kitagawa M. Up-regulation of GPR48 induced by down-regulation of p27Kip1 enhances carcinoma cell invasiveness and metastasis. *Cancer Res* 2006; 66: 11623-11631 [PMID: 17178856]
- 41 Al-Kharusi MR, Smartt HJ, Greenhough A, Collard TJ, Emery ED, Williams AC, Paraskeva C. LGR5 promotes survival in human colorectal adenoma cells and is upregulated by PGE2: implications for targeting adenoma stem cells with NSAIDs. *Carcinogenesis* 2013 Feb 13. [Epub ahead of print] [PMID: 23349017]
- 42 Kleist B, Xu L, Li G, Kersten C. Expression of the adult intestinal stem cell marker Lgr5 in the metastatic cascade of colorectal cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2011; 4: 327-335 [PMID: 21577318]
- 43 付焱,刘志苏,江从庆,钱群,唐胜利,李景,刘凌.肠道干细胞标记基因Lgr5在结直肠癌中的表达及其意义. *中华实验外科杂志* 2011; 28: 1142-1144
- 44 Wu XS, Xi HQ, Chen L. Lgr5 is a potential marker of colorectal carcinoma stem cells that correlates with patient survival. *World J Surg Oncol* 2012; 10: 244 [PMID: 23153436]
- 45 Saigusa S, Inoue Y, Tanaka K, Toiyama Y, Kawamura M, Okugawa Y, Okigami M, Hiro J, Uchida K, Mohri Y, Kusunoki M. Significant correlation between LKB1 and LGR5 gene expression and the association with poor recurrence-free survival in rectal cancer after preoperative chemoradiotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 131-138 [PMID: 22986809 DOI: 10.1007/s00432-012-1308-x]
- 46 Saigusa S, Inoue Y, Tanaka K, Toiyama Y, Matsushita K, Kawamura M, Okugawa Y, Hiro J, Uchida K, Mohri Y, Kusunoki M. Clinical significance of LGR5 and CD44 expression in locally advanced rectal cancer after preoperative chemoradiotherapy. *Int J Oncol* 2012; 41: 1643-1652 [PMID: 22923071 DOI: 10.3892/ijo.2012.1598]
- 47 Takahashi H, Ishii H, Nishida N, Takemasa I, Mizushima T, Ikeda M, Yokobori T, Mimori K, Yamamoto H, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. Significance of Lgr5(+ve) cancer stem cells in the colon and rectum. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1166-1174 [PMID: 21125339]
- 48 Kemper K, Prasetyanti PR, De Lau W, Rodermond H, Clevers H, Medema JP. Monoclonal antibodies against Lgr5 identify human colorectal cancer stem cells. *Stem Cells* 2012; 30: 2378-2386 [PMID: 22969042 DOI: 10.1002/stem.1233]
- 49 Vermeulen L, De Sousa E Melo F, van der Heijden M, Cameron K, de Jong JH, Borovski T, Tuynman JB, Todaro M, Merz C, Rodermond H, Sprick MR, Kemper K, Richel DJ, Stassi G, Medema JP. Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment. *Nat Cell Biol* 2010; 12: 468-476 [PMID: 20418870]
- 50 King JB, von Furstenberg RJ, Smith BJ, McNaughton KK, Galanko JA, Henning SJ. CD24 can be used to isolate Lgr5+ putative colonic epithelial stem cells in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G443-G452 [PMID: 22723265]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

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

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

功能性消化不良与幽门螺杆菌感染的关系

全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 姜海燕

全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 姜海燕, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科, 黑龙江省哈尔滨市 150086

全甲钊, 在读硕士, 主要从事功能性胃肠疾病与幽门螺杆菌关系的研究。

哈尔滨市科委青年科技创新人才基金资助项目, No. 2018rfqys103

作者贡献分布: 本文综述由全甲钊、王蓓蓓及姜海燕完成; 曲波审校。

通讯作者: 曲波, 副教授, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科。

qubo_1970@hotmail.com

电话: 0451-86605143

收稿日期: 2012-11-05 修回日期: 2012-12-04

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

Relationship between functional dyspepsia and *Helicobacter pylori* infection

Jia-Zhao Tong, Bo Qu, Bei-Bei Wang, Hai-Yan Jiang

Jia-Zhao Tong, Bo Qu, Bei-Bei Wang, Hai-Yan Jiang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Young Talent Science and Technology Innovation Fund of Harbin Municipal Science and Technology Commission, No. 2018rfqys103

Correspondence to: Bo Qu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. qubo_1970@hotmail.com

Received: 2012-11-05 Revised: 2012-12-04

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

Abstract

Functional dyspepsia is one of the most common clinical functional gastrointestinal disorders. Currently, many pathogenic factors have been proposed to explain the pathogenesis of functional dyspepsia. Although the relationship between *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and functional dyspepsia has been studied extensively, the results obtained are contradictory. In recent years, the better understanding of functional dyspepsia and several revisions of the Roman standards have led to the revelation of shortcomings of previous studies. In this paper we discuss the relationship between *H. pylori* infection and functional dyspepsia.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Dyspepsia; Functional dyspepsia; *Helicobacter pylori*

Tong JZ, Qu B, Wang BB, Jiang HY. Relationship between functional dyspepsia and *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 679-684 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/679.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.679>

摘要

功能性消化不良是临床上最常见的一种功能性胃肠病。目前, 多种致病因素被认为与其有关。其中, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与功能性消化不良之间的关系虽然已经得到了广泛的研究, 但仍然没有得出确切一致的结论。近些年来, 随着对功能性消化不良疾病认识的逐渐加深, 且由于罗马标准的几经修改, 较多先前的研究已经显现出自身的弊端, 且各种观点相差甚远。本文旨在对功能性消化不良与*H. pylori*之间关系的研究及目前各方面的观点作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 消化不良; 功能性消化不良; 幽门螺杆菌

全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 姜海燕. 功能性消化不良与幽门螺杆菌感染的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 679-684 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/679.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.679>

0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)的发病机制目前尚未完全清楚, 且其具有慢性、复发性和难以缓解性^[1], 因而不仅明显的影响患者的生活质量, 而且也造成了相当高的医疗费用支出。目前认为幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)可能是FD的致病因素之一, 然而对其可能存在的潜在病理生理机制以及根除*H. pylori*的确切疗效方面, 仍然存在较多的争议。过去的研究^[2]主要集中在根除*H. pylori*治疗的消化不良症状消失率与使用安慰剂效果的对比上, 而对FD的其他潜在影响因素并没有进行严格的控

■背景资料

功能性消化不良(FD)是临床上最常见的一种功能性胃肠病, 且被认为与多种致病因素有关。目前认为幽门螺杆菌(*H. pylori*)可能是FD的致病因素之一, 然而对其可能存在的潜在病理生理机制以及根除*H. pylori*的确切疗效方面, 仍然存在较多的争议。

■同行评议者

陆伦根, 教授, 上海交通大学附属第一人民医院消化科

■ 研发前沿

目前对于*H. pylori*与FD疾病之间关系的研究是功能性胃肠疾病领域的一个热点,但FD疾病致病因素较多,制约了*H. pylori*与FD疾病之间关系的研究。

制,这样得出的结果或许可信度较低。目前国内对外对*H. pylori*阳性FD的多方面因素提出了一些新的观点。下面就FD与*H. pylori*之间关系的研究及目前各种观点做一系统论述,以期促进对其病理生理学机制的深入研究,从而为临床治疗提供帮助。

1 功能性消化不良的定义及目前状况

1.1 功能性消化不良 FD是指主要表现于上腹部区域的不适症状,包括胃疼、烧心、餐后不适和胃部饱胀感等,而不能通过器质性原因来解释这些症状的消化不良被称为FD,他也是众多功能性胃肠疾病(functional gastrointestinal disorders, FGID)的其中之一^[3]。目前,FD的诊断主要依靠罗马III标准,他被定义为^[3]起源于胃十二指肠区域的症状,而且排除可以解释这些症状的任何器质性、全身性或代谢性疾病。这些症状包括上腹痛、上腹烧灼感、餐后饱胀和早饱。诊断之前至少6 mo出现症状,近3 mo符合症状诊断标准。

1.2 功能性消化不良疾病的目前状况 据对一所西方大学医院门诊患者的连续性研究得出^[4],40%以腹部症状为主诉的患者被诊断为FGID。而FD作为FGID的其中之一,在西方国家的成年人中的发病率约为15%,其中约25%的患者将会寻求医疗服务^[5]。在我国,消化不良患者约占普通内科门诊的10%,占消化内科门诊的50%^[2]。不幸的是,尽管存在如此多的FD患者,但在严格的临床研究中,几乎没有显示出比安慰剂更为有效的治疗方法^[6]。由于治疗效果的不理想,患者不断求医,且检查和治疗这种疾病的花费很大,因而使治疗FD的费效比很高^[7]。同时,FD也造成了重大的社会负担。

2 功能性消化不良的致病因素与幽门螺杆菌

2.1 功能性消化不良的致病因素 目前,许多致病因素被认为可能与FD有关,包括:胃动力异常、内脏高敏感性、社会心理学因素、胃酸分泌过多、*H. pylori*、遗传、环境、饮食^[8-10]、生活方式^[11]和感染后FD^[12]。其中,胃动力异常和内脏高敏感性被认为是症状表现的主要因素,但其他因素之间也互相影响且通过调节胃动力、内脏敏感性来起作用^[3]。在致病因素中,社会心理学因素获得了较多的关注。国外研究发现FD患者常具有更多的负性生活事件,而负性生活事件则与功能性胃肠病的发生和抑郁、焦虑症的发病有直接关联,而童年受虐待史是成年后FD发

病的报警因素^[13,14]。临床研究也显示FD患者对安慰剂的有效率比其他疾病患者高35%-40%,这很大程度上表明FD涉及心理学因素,并且催眠疗法也显示出对FD患者有效^[15]。吴改玲等^[16]也通过研究认为存在抑郁和焦虑状态的FD患者更易出现自主功能受损,从而影响胃肠道的感觉和运动。遗传性方面,Holtmann等^[17]发现消化不良症状与G-蛋白 $\beta 3$ 亚族基因825位置的单核苷酸多态性基因型有关,这一发现也激发了很多在FD领域遗传学的研究^[18-20],并得出FD与遗传的关系可能随民族和地理区域的不同而改变^[3]。其他因素在FD疾病中亦有可能起着较重要的作用。因此,我们认为胃动力异常和内脏高敏感性可能是功能性消化不良症状的直接因素,而其他因素在FD的发生、发展、相互作用过程中所起的作用亦不能忽视,但其病理生理学机制尚需进一步的研究。

2.2 幽门螺杆菌的发现及其与FD的关系 *H. pylori*是发现于胃黏膜上皮细胞表面的一种革兰氏阴性细菌,他首先由Marshall和Warren两人分离出来^[21]。*H. pylori*能够导致胃上皮黏膜层的慢性炎症,且全世界内约有50%的人感染*H. pylori*^[22]。众多的人群基数研究显示^[23],与对照组相比,在消化不良患者的胃黏膜中更容易发现*H. pylori*。且国内外多数研究^[24-30]显示,对*H. pylori*阳性FD患者进行根除*H. pylori*治疗有助于FD症状的改善。因此,*H. pylori*感染被认为可能是引起FD症状的因素之一。

3 功能性消化不良与幽门螺杆菌之间相关性的研究

3.1 根除幽门螺杆菌与功能性消化不良症状改善的关系 多年来,*H. pylori*与FD之间的关系已经得到了广泛的研究,且目前国内外的主流共识意见对*H. pylori*阳性FD明确推荐根除*H. pylori*,然而先前的部分研究除了得出根除*H. pylori*在消除消化不良症状方面有轻微的优势外,其余研究资料尚不足以证明*H. pylori*感染与FD之间存在因果关系^[2]。并且很多严格、高质量的随机、双盲对照临床研究对于根除*H. pylori*是否有助于改善FD症状的问题仍然存在高度争议^[30,31]。McColl等^[30]认为在治疗*H. pylori*感染的非溃疡性FD患者时,应用奥美拉唑和抗生素联合根除*H. pylori*感染比单独使用奥美拉唑更有可能缓解FD症状。而Blum等^[31]则得出相反结论,他们认为对非溃疡性消化不良患者根除*H. pylori*不大

可能缓解FD症状。

一篇Meta分析^[32]显示根除*H. pylori*能够明显地改善FD患者的症状, 但效果不明显: 在每15个经过治疗的患者中, 仅有1例可得到症状的完全消除。Moayyedi等^[33]认为根除*H. pylori*的效果是微小的, 且绝大多数明确诊断为FD的患者将不会得到任何益处。考虑到这些结果, 很难使人相信幽门螺杆菌感染是功能性消化不良病理生理学机制的一个重要因素^[3]。然而, 对FD患者进行根除*H. pylori*治疗仍得到了一些作者的认同^[34]。这主要的益处或许不在于比安慰剂来说更为有效的症状缓解, 而是确保没有*H. pylori*相关性消化性溃疡引起的症状^[35]。亚洲的*H. pylori*感染临床实践指导方针^[36]主张对伴有*H. pylori*感染的FD予以根除*H. pylori*。然而, 他们也意识到这种措施的有限性, 这个声明或许是考虑到通过根除*H. pylori*来预防溃疡和癌症所给社会带来的益处。我国*H. pylori*感染处理的庐山共识(2007年)^[2], 推荐对“有消化不良症状的慢性胃炎”根除*H. pylori*, 也多是考虑根除*H. pylori*对FD患者所带来的其他益处, 包括: 改善胃黏膜组织学、预防消化性溃疡、有可能降低胃癌发病率等因素。

最近, Mazzoleni等^[29]在巴西初级医疗中进行了一个大型随机对照试验, 得出对初级医疗中的*H. pylori*阳性FD患者应用质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)三联疗法比应用PPI联合安慰剂抗生素更加有效, 而且得出这种疗效能够持续到治疗后的12 mo。他们认为从初级医疗中选择研究人群更富有代表性, 因此结果比先前的研究更为可靠。

我国众多学者在此方面也做了大量的研究, 除极少部分学者^[37]得出*H. pylori*感染与FD之间并无相关联系之外, 大多数学者^[24-27]认为根除*H. pylori*可在较长时间内改善FD症状。

3.2 功能性消化不良疾病中幽门螺杆菌因素以往研究的不确定性 目前普遍认为FD是多种因素综合作用的结果。而先前几乎所有调查FD与*H. pylori*关系的研究仅通过两个基本的、非常广泛的标准(罗马标准和正常上消化道内镜表现)来招募患者, 且几乎都没有控制引起FD症状的其他因素, 这必然使结果可信度低, 且得出不一致的结论^[2,6,30,31]。回想起来, 这种方法是有缺陷的, 因为他假设所有的FD患者具有相似的病理生理学, 因而把所有的FD患者分在一个大的、非匀质的范畴里面^[38]。

据此, Lacy等^[38]提出建立新的实验设计方

法, 包括对FD患者进行准确的分类、重视合适目的症状的应用和使用生物标记、功能测试、问卷调查表。而Lacy等^[38]仅根据罗马III标准把FD患者分类为上腹痛综合征和餐后不适综合征两类, 也没有考虑FD的社会心理学、生活方式、遗传等其他影响因素。因此, 我们在进行后续实验设计时, 或许需要把FD症状的诸多因素同时考虑在内, 严格控制其他影响因素, 这样得出的结果才具有可信性。

3.3 功能性消化不良疾病中幽门螺杆菌因素的新观点 根据罗马III标准, FD为一组症状群, 他着重强调消化不良症状。而*H. pylori*感染后自发清除少见, 长期感染则不可避免地形成慢性胃炎, 其则主要强调胃黏膜组织学改变^[2]。因此, *H. pylori*阳性FD可被认为具有FD的症状, 同时也具有慢性胃炎的组织病理学改变。而仅少数(约30%)慢性胃炎患者可有消化不良症状, 这也与多数*H. pylori*感染患者不会有任何明显的临床症状相符^[39], 且与先前的多数研究得出根除*H. pylori*对部分*H. pylori*阳性FD患者有效相一致。因此, Moayyedi^[40]认为根除*H. pylori*或许治疗了内镜下漏掉的消化性溃疡, 预防了随访期间消化性溃疡的发生。另一方面, 有学者^[41]对*H. pylori*感染动物模型进行研究, 得出能够诱导出类似FD患者的胃感觉和运动异常症状。而Moayyedi^[40]认为根除*H. pylori*减少了胃黏膜层的炎症, 导致胃动力问题的逆转, 但或许并不是*H. pylori*在其中起主要作用。因为在*H. pylori*感染阴性患者的上消化道中也能看到炎症改变^[12]。Hu等^[42]通过研究得出胃部其他细菌与*H. pylori*感染的伴发率很高, 这些非*H. pylori*性细菌或许也在胃部疾病中起着一定的重要作用。

因此, *H. pylori*阳性FD或许是两种疾病的重叠, *H. pylori*感染以及其他细菌所导致的消化不良症状应当被认为一种独立的疾病, 需要与FD本身相区别。Suzuki等^[23]认为FD是一种高度异质性疾病, 传统的病理生理模式, 不足以解释观察到的现象变化。目前的主要症状分类也未能确定FD患者具体的治疗方法; 另一方面, *H. pylori*感染不仅在胃黏膜层, 而且在胃肌层和十二指肠都能够引起明显的炎症改变。并且*H. pylori*感染的诊断似乎比较同质化, 因此不能简单的把*H. pylori*相关性消化不良归类为非器质性疾病。Anagnostopoulos等^[43]亦对目前FD疾病的诊断及治疗提出质疑。对*H. pylori*感染引起的消化不良, 他们认为这是由于*H. pylori*感染引起的器质性病

■同行评价

本文对功能性消化不良与*H. pylori*之间关系的研究及一些观点做了综述, 具有一定指导意义。

变所引起,且这种病变能够通过内镜,尤其是放大内镜所观察到。此外,*H. pylori*感染还能影响一个重要的胃内分泌功能,如胃饥饿素动力学^[44]。通过根除*H. pylori*,一定程度上能够逆转胃酸分泌和胃饥饿素水平^[45-47]。这些生理机制改变的恢复或许能够说明根除*H. pylori*给*H. pylori*阳性患者消化不良症状所带来的有益效应。他们还认为在某些器质性消化不良患者中,患者的持续症状或许与FD症状具有重叠,这样才能更好地解释那些治疗“器质性疾病”后仍然消化不良的情况^[48]。

然而,由于目前FD的病理生理学机制复杂多样,以往的FD与*H. pylori*相关性临床试验得出的结论也不一致。因此,单纯*H. pylori*感染与FD的确切关系还需要进一步的研究。

4 结论

FD的病因涉及多种因素,且他们在引起FD症状表现的过程中相互影响,从而造成了FD病理生理学机制的复杂性^[3]。*H. pylori*感染目前被认为可能与FD有关,且主流意见推荐对其进行根除*H. pylori*治疗。而我国是*H. pylori*高感染率国家,FD中*H. pylori*阳性患者占39%-87%,如果对如此大的人群进行根除*H. pylori*治疗,必须考虑其可能产生的其他不利影响,例如肠道菌群状态和耐药变化^[49]。并且FD为多因素疾病,如果不对其其他影响因素进行控制,单从*H. pylori*阳性FD人群方面进行限制的研究,得出的结果必然可信度低。因此,*H. pylori*是否真正与FD有关?对*H. pylori*阳性FD根除*H. pylori*治疗是改善了FD的症状,还是通过改善胃黏膜组织学改变带来的影响?且*H. pylori*感染性消化不良是否需要排除于FD之外?这都需要我们设计更加精确的实验去明确根除*H. pylori*对FD症状的影响,且探究这种影响的深层病理生理学机制。相信在不久的将来,我们一定能够更好地治疗这种常见且代价昂贵的疾病。

5 参考文献

- 1 Ford AC. Eradicating *Helicobacter pylori* in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2012; 142: 1613-1614 [PMID: 22537648]
- 2 刘文忠. 幽门螺杆菌感染与非溃疡性消化不良. 现代消化及介入诊疗 2010; 15: 91-97
- 3 Miwa H, Watari J, Fukui H, Oshima T, Tomita T, Sakurai J, Kondo T, Matsumoto T. Current understanding of pathogenesis of functional dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 53-60 [PMID: 21443711 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06633.x]
- 4 Okumura T, Tanno S, Ohhira M, Tanno S. Prevalence of functional dyspepsia in an outpatient clinic with primary care physicians in Japan. *J Gastroenterol* 2010; 45: 187-194 [PMID: 19997854 DOI: 10.1007/s00535-009-0168-x]

- 5 Thompson WG, Heaton KW. Functional bowel disorders in apparently healthy people. *Gastroenterology* 1980; 79: 283-288 [PMID: 7399231]
- 6 Talley NJ, Vakil N. Guidelines for the management of dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2324-2337 [PMID: 16181387 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.00225.x]
- 7 柯美云. 功能性胃肠病并非单纯性功能病. 中国实用内科杂志 2006; 26: 721-722
- 8 Pilichiewicz AN, Horowitz M, Holtmann GJ, Talley NJ, Feinle-Bisset C. Relationship between symptoms and dietary patterns in patients with functional dyspepsia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 317-322 [PMID: 18929687]
- 9 Kusano M, Zai H, Hosaka H, Shimoyama Y, Nagoshi A, Maeda M, Kawamura O, Mori M. New frontiers in gut nutrient sensor research: monosodium L-glutamate added to a high-energy, high-protein liquid diet promotes gastric emptying; a possible therapy for patients with functional dyspepsia. *J Pharmacol Sci* 2010; 112: 33-36 [PMID: 20093786 DOI: 10.1254/jphs.09R08FM]
- 10 Gonlachanvit S. Are rice and spicy diet good for functional gastrointestinal disorders? *J Neurogastroenterol Motil* 2010; 16: 131-138 [PMID: 20535343 DOI: 10.5056/jnm.2010.16.2.131]
- 11 Mahadeva S, Yadav H, Rampal S, Goh KL. Risk factors associated with dyspepsia in a rural Asian population and its impact on quality of life. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 904-912 [PMID: 20179699 DOI: 10.1038/ajg.2010.26]
- 12 Futagami S, Shindo T, Kawagoe T, Horie A, Shim-puku M, Gudis K, Iwakiri K, Itoh T, Sakamoto C. Migration of eosinophils and CCR2-/CD68-double positive cells into the duodenal mucosa of patients with postinfectious functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1835-1842 [PMID: 20461070 DOI: 10.1038/ajg.2010.151]
- 13 Miranda A. Early life stress and pain: an important link to functional bowel disorders. *Pediatr Ann* 2009; 38: 279-282 [PMID: 19476301]
- 14 Sherbourne CD, Edelen MO, Zhou A, Bird C, Duan N, Wells KB. How a therapy-based quality improvement intervention for depression affected life events and psychological well-being over time: a 9-year longitudinal analysis. *Med Care* 2008; 46: 78-84 [PMID: 18162859]
- 15 Miller V, Whorwell PJ. Hypnotherapy for functional gastrointestinal disorders: a review. *Int J Clin Exp Hypn* 2009; 57: 279-292 [PMID: 19459089 DOI: 10.1080/00207140902881098]
- 16 吴改玲, 蓝宇. 符合罗马Ⅲ标准FD患者心理测试及自主神经功能观察44例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1473-1477
- 17 Holtmann G, Siffert W, Haag S, Mueller N, Lang-kafel M, Senf W, Zotz R, Talley NJ. G-protein beta 3 subunit 825 CC genotype is associated with unexplained (functional) dyspepsia. *Gastroenterology* 2004; 126: 971-979 [PMID: 15057736]
- 18 Camilleri CE, Carlson PJ, Camilleri M, Castillo EJ, Locke GR, Geno DM, Stephens DA, Zinsmeister AR, Urrutia R. A study of candidate genotypes associated with dyspepsia in a U.S. community. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 581-592 [PMID: 16464220 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00481.x]

- 19 Oshima T, Nakajima S, Yokoyama T, Toyoshima F, Sakurai J, Tanaka J, Tomita T, Kim Y, Hori K, Matsumoto T, Miwa H. The G-protein beta3 subunit 825 TT genotype is associated with epigastric pain syndrome-like dyspepsia. *BMC Med Genet* 2010; 11: 13 [PMID: 20102604 DOI: 10.1186/1471-2350-11-13]
- 20 Tahara T, Arisawa T, Shibata T, Wang F, Nakamura M, Sakata M, Hirata I, Nakano H. Homozygous 825T allele of the GNB3 protein influences the susceptibility of Japanese to dyspepsia. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 642-646 [PMID: 17717746 DOI: 10.1007/s10620-007-9923-0]
- 21 Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 1273-1275 [PMID: 6134060]
- 22 Everhart JE. Recent developments in the epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29: 559-578 [PMID: 11030073]
- 23 Suzuki H, Nishizawa T, Hibi T. Can *Helicobacter pylori*-associated dyspepsia be categorized as functional dyspepsia? *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 42-45 [PMID: 21443708 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06629.x]
- 24 吴叔明, 高琴琰, 潘燕, 张德中, 萧树东, 王杏梅, 叶凌云. 根除幽门螺杆菌对功能性消化不良的影响. *中华消化杂志* 2001; 21: 684-686
- 25 卢世建. 根除幽门螺杆菌治疗功能性消化不良. *临床医学* 2008; 28: 79-80
- 26 沈洲立, 陈秀英. 联合根除幽门螺杆菌治疗功能性消化不良362例的临床分析. *重庆医学* 2009; 38: 1779-1780
- 27 李爱平. 根除幽门螺杆菌在以罗马Ⅲ为诊断标准的功能性消化不良中的作用. *中国中医药咨讯* 2010; 2: 18-19, 27
- 28 de Artaza Varasa T, Valle Muñoz J, Pérez-Grueso MJ, García Vela A, Martín Escobedo R, Rodríguez Merlo R, Cuenca Boy R, Carrobes Jiménez JM. [Effect of *Helicobacter pylori* eradication on patients with functional dyspepsia]. *Rev Esp Enferm Dig* 2008; 100: 532-539 [PMID: 19025303]
- 29 Mazzoleni LE, Sander GB, Francesconi CF, Mazzoleni F, Uchoa DM, De Bona LR, Milbradt TC, Von Reisswitz PS, Berwanger O, Bressel M, Edelweiss MI, Marini SS, Molina CG, Folador L, Lunkes RP, Heck R, Birkhan OA, Spindler BM, Katz N, Colombo Bda S, Guerrieri PP, Renck LB, Grando E, Hoyer de Moura B, Dahmer FD, Rauber J, Prolla JC. *Helicobacter pylori* eradication in functional dyspepsia: HEROES trial. *Arch Intern Med* 2011; 171: 1929-1936 [PMID: 22123802 DOI: 10.1001/archinternmed.2011.533]
- 30 McColl K, Murray L, El-Omar E, Dickson A, El-Nujumi A, Wirz A, Kelman A, Penny C, Knill-Jones R, Hilditch T. Symptomatic benefit from eradicating *Helicobacter pylori* infection in patients with nonulcer dyspepsia. *N Engl J Med* 1998; 339: 1869-1874 [PMID: 9862941 DOI: 10.1056/NEJM199812243392601]
- 31 Blum AL, Talley NJ, O'Moráin C, van Zanten SV, Labenz J, Stolte M, Louw JA, Stubberöd A, Theodórs A, Sundin M, Bolling-Sternevald E, Jung-ward O. Lack of effect of treating *Helicobacter pylori* infection in patients with nonulcer dyspepsia. Omeprazole plus Clarithromycin and Amoxicillin Effect One Year after Treatment (OCAY) Study Group. *N Engl J Med* 1998; 339: 1875-1881 [PMID: 9862942 DOI: 10.1056/NEJM199812243392602]
- 32 Laine L, Schoenfeld P, Fennerty MB. Therapy for *Helicobacter pylori* in patients with nonulcer dyspepsia. A meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med* 2001; 134: 361-369 [PMID: 11242496]
- 33 Moayyedi P, Deeks J, Talley NJ, Delaney B, Forman D. An update of the Cochrane systematic review of *Helicobacter pylori* eradication therapy in nonulcer dyspepsia: resolving the discrepancy between systematic reviews. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2621-2626 [PMID: 14687807 DOI: 10.1016/j.amjgastroenterol.2003.07.003]
- 34 Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* eradication in functional dyspepsia: new evidence for symptomatic benefit. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13 Suppl 2: S9-S11 [PMID: 11686231]
- 35 Holtmann G, Gapasin J. Failed therapy and directions for the future in dyspepsia. *Dig Dis* 2008; 26: 218-224 [PMID: 18463439 DOI: 10.1159/000121350]
- 36 Fock KM, Katelaris P, Sugano K, Ang TL, Hunt R, Talley NJ, Lam SK, Xiao SD, Tan HJ, Wu CY, Jung HC, Hoang BH, Kachintorn U, Goh KL, Chiba T, Rani AA. Second Asia-Pacific Consensus Guidelines for *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1587-1600 [PMID: 19788600 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.05982.x]
- 37 李尚勤, 孟丽秋. 功能性消化不良与幽门螺杆菌感染的相关性研究. *医学综述* 2005; 11: 952-953
- 38 Lacy BE, Talley NJ, Camilleri M. Functional dyspepsia: time to change clinical trial design? *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2525-2529 [PMID: 21131922 DOI: 10.1038/ajg.2010.266]
- 39 McColl KE. Clinical practice. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2010; 362: 1597-1604 [PMID: 20427808]
- 40 Moayyedi P. *Helicobacter pylori* eradication for functional dyspepsia: what are we treating? : comment on "*Helicobacter pylori* eradication in functional dyspepsia". *Arch Intern Med* 2011; 171: 1936-1937 [PMID: 22123803 DOI: 10.1001/archinternmed.2011.541]
- 41 Bercík P, De Giorgio R, Blennerhassett P, Verdú EF, Barbara G, Collins SM. Immune-mediated neural dysfunction in a murine model of chronic *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 2002; 123: 1205-1215 [PMID: 12360482 DOI: 10.1053/gast.2002.36024]
- 42 Hu Y, He LH, Xiao D, Liu GD, Gu YX, Tao XX, Zhang JZ. Bacterial flora concurrent with *Helicobacter pylori* in the stomach of patients with upper gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1257-1261 [PMID: 22468090 DOI: 10.3748/wjg.v18.i11.1257]
- 43 Anagnostopoulos GK, Yao K, Kaye P, Fogden E, Fortun P, Shonde A, Foley S, Sunil S, Atherton JJ, Hawkey C, Ragunath K. High-resolution magnification endoscopy can reliably identify normal gastric mucosa, *Helicobacter pylori*-associated gastritis, and gastric atrophy. *Endoscopy* 2007; 39: 202-207 [PMID: 17273960]
- 44 Osawa H, Nakazato M, Date Y, Kita H, Ohnishi H, Ueno H, Shiiya T, Satoh K, Ishino Y, Sugano K. Impaired production of gastric ghrelin in chronic gastritis associated with *Helicobacter pylori*. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 10-16 [PMID: 15483107 DOI: 10.1210/jc.2004-1330]
- 45 Iijima K, Ohara S, Sekine H, Koike T, Kato K, Asaki

- S, Shimosegawa T, Toyota T. Changes in gastric acid secretion assayed by endoscopic gastrin test before and after *Helicobacter pylori* eradication. *Gut* 2000; 46: 20-26 [PMID: 10601049 DOI: 10.1136/gut.46.1.20]
- 46 Osawa H, Kita H, Ohnishi H, Hoshino H, Mutoh H, Ishino Y, Watanabe E, Satoh K, Sugano K. *Helicobacter pylori* eradication induces marked increase in H⁺/K⁺-adenosine triphosphatase expression without altering parietal cell number in human gastric mucosa. *Gut* 2006; 55: 152-157 [PMID: 15872000 DOI: 10.1136/gut.2005.066464]
- 47 Osawa H, Kita H, Ohnishi H, Nakazato M, Date Y, Bowlus CL, Ishino Y, Watanabe E, Shiiya T, Ueno H, Hoshino H, Satoh K, Sugano K. Changes in plasma ghrelin levels, gastric ghrelin production, and body weight after *Helicobacter pylori* cure. *J Gastroenterol* 2006; 41: 954-961 [PMID: 17096064 DOI: 10.1007/s00535-006-1880-4]
- 48 Sugano K. Should we still subcategorize *Helicobacter pylori*-associated dyspepsia as functional disease? *J Neurogastroenterol Motil* 2011; 17: 366-371 [PMID: 22148105]
- 49 陈渝萍, 梁玉环, 龚飞跃, 孙达春. 功能性消化不良患者抗幽门螺杆菌治疗后肠道微生态变化及意义. *中华消化杂志* 2002; 22: 174

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。

NRP-1在大鼠肝纤维化组织中的表达及其与细胞外基质成分的相关性

魏海艳, 潘亮, 黄华, 肖明兵, 陆翠华

魏海艳, 江苏省阜宁县人民医院消化内科 江苏省盐城市 224400

潘亮, 黄华, 肖明兵, 陆翠华, 南通大学附属医院消化内科 江苏省南通市 226001

魏海艳, 主治医师, 主要从事肝纤维化的研究。

作者贡献分布: 此课题由陆翠华与魏海艳设计; 研究过程由魏海艳完成; 免疫组织化学及RT-PCR部分由魏海艳在潘亮与黄华指导下完成; 数据处理由魏海艳与肖明兵完成; 论文写作由魏海艳与陆翠华完成。

通讯作者: 陆翠华, 副教授, 主任医师, 硕士生导师, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南通大学附属医院消化内科。

lch670608@sina.com

收稿日期: 2013-01-28 修回日期: 2013-02-17

接受日期: 2013-03-01 在线出版日期: 2013-03-18

Correlation between expression of neuropilin-1 and that of extracellular matrix components in liver fibrosis in rats

Hai-Yan Wei, Liang Pan, Hua Huang, Ming-Bing Xiao, Cui-Hua Lu

Hai-Yan Wei, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Funing City, Yancheng 224400, Jiangsu Province, China

Liang Pan, Hua Huang, Ming-Bing Xiao, Cui-Hua Lu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Cui-Hua Lu, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. lch670608@sina.com

Received: 2013-01-28 Revised: 2013-02-17

Accepted: 2013-03-01 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of neuropilin-1 (NRP-1) in liver fibrosis in rats and to analyze its correlation with the expression of extracellular matrix components.

METHODS: Hepatic fibrosis was induced in rats using carbon tetrachloride. The mRNA and protein expression of NRP-1, collagen I, collagen III and α smooth muscle actin (α -SMA) in hepatic tissue of the rats was examined by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-

PCR) and immunohistochemistry, respectively. Correlation between the expression of NRP-1 and that of collagen I, collagen III and α -SMA was analyzed.

RESULTS: The expression of NRP-1, α -SMA, collagen I, and collagen III proteins was low in the liver tissue of normal rats. In rats with experimental liver fibrosis, the expression of NRP-1, α -SMA, collagen I, and collagen III proteins increased with the progression of hepatic fibrosis. At weeks 4 and 6, the expression of the above four proteins were significantly higher in liver fibrosis than in normal hepatic tissue (all $P < 0.05$). NRP-1 mRNA expression in fibrotic liver tissue was significantly higher than that in normal hepatic tissue ($P < 0.05$). Expression of α -SMA, collagen I, and collagen III mRNAs was low in normal liver tissue but was significantly increased at weeks 2, 4, and 6 after injection of carbon tetrachloride. The expression of NRP-1, α -SMA, collagen I, and collagen III mRNAs was gradually increased with the progression of hepatic fibrosis. NRP-1 expression had no apparent correlation with collagen I and collagen III expression at week 2, but showed a significant correlation at weeks 4 ($r = 0.645, 0.530$) and 6 ($r = 0.834, 0.613$). NRP-1 expression had a significant correlation with α -SMA expression during the whole process of hepatic fibrosis ($r = 0.621, 0.690, 0.820$, all $P < 0.05$).

CONCLUSION: NRP-1 is overexpressed in hepatic fibrosis, which correlates with the expression of collagen I and collagen III.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatic fibrosis; Neuropilin-1; Hepatic stellate cell

Wei HY, Pan L, Huang H, Xiao MB, Lu CH. Correlation between expression of neuropilin-1 and that of extracellular matrix components in liver fibrosis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 685-689 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/685.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.685>

■背景资料

肝纤维化是各种慢性肝损伤后组织修复过程中的代偿反应, 以细胞外基质(ECM)的大量沉积为主要病理特征, 是各种慢性肝病的共同病理过程。肝星状细胞(HSC)的活化与增殖在肝纤维化的发生发展中起主导作用, α -平滑肌收缩蛋白(α -SMA)是HSC活化的标志。

■同行评议者

吴俊华, 副教授, 南京大学医学院; 钱林学, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院

■研究前沿

近年来随着细胞和分子生物学技术的发展,已经证实肝纤维化的发生发展是一个涉及多种细胞和细胞因子的复杂过程,HSC在肝纤维化形成中起关键作用。

摘要

目的: 研究神经纤毛蛋白1(neuropilin-1, NRP-1)在肝纤维化组织中的动态表达及其与细胞外基质成分的相关性。

方法: 将动物分为正常对照组和模型组,用CCl₄复制肝纤维化模型,采用RT-PCR和免疫组织化学方法联合检测NRP-1、I、III型胶原和 α -平滑肌肌动蛋白(α smooth muscle actin, α -SMA)在肝纤维化组织中的表达并进行统计学分析。

结果: 随着肝纤维化程度的加重,NRP-1、 α -SMA和I、III型胶原的表达均逐步增加。在2 wk时NRP-1与I、III型胶原的相关性不明显,但与 α -SMA呈显著相关,其相关系数为0.621;在4 wk时与I、III型胶原和 α -SMA的相关系数分别为0.645、0.530和0.690;在6 wk时与I、III型胶原和 α -SMA的相关系数分别为0.834、0.613和0.820。

结论: NRP-1在肝纤维化的发生发展中起重要作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝纤维化; 神经纤毛蛋白1; 肝星状细胞

魏海艳, 潘亮, 黄华, 肖明兵, 陆翠华. NRP-1在大鼠肝纤维化组织中的表达及其与细胞外基质成分的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 685-689 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/685.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.685>

0 引言

肝纤维化是各种慢性肝损伤后组织修复过程中的代偿反应,以细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的大量沉积为主要病理特征,是各种慢性肝病的共同病理过程^[1]。肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)的活化与增殖在肝纤维化发生发展中起主导作用^[2,3], α -平滑肌收缩蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)是HSC活化的标志^[4]。Cao首次发现在体外培养的人和大鼠活化的HSC中,神经纤毛蛋白(neuropilin-1, NRP-1)呈明显高表达。为了进一步研究NRP-1在肝纤维化发生中的作用,本研究在大鼠肝纤维化模型上,检测NRP-1与 α -SMA及I、III型胶原在肝纤维化组织中的动态表达,以进一步探讨NRP-1在肝纤维化发生发展中的作用及其与细胞外基质的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 ♂ SD大鼠40只,体质量150-180 g,由南通大学动物实验中心提供;兔抗大鼠 α -SMA、I、III型胶原均购自武汉博士得生物工程公司;兔抗大鼠NRP-1购自上海晶天生物工程公司。

1.2 方法

1.2.1 分组: 随机分成正常对照组(8只)和模型组(32只)。肝纤维化制备:用橄榄油配成60%CCl₄溶液,每100 g体质量0.3 mL大鼠皮下注射,2次/wk,共6 wk。正常对照组用同样方法皮下注射橄榄油。模型组动物第5周和第6周各死亡1只,其余无死亡。剩余大鼠在第2、4、6周末分批处死,动物处死时距离末次CCl₄注射时间为72 h,动物被处死后取出肝组织,一部分采用液氮快速冻存,另一部分用40 g/L甲醛固定,用于免疫组织化学检测及纤维化组织病理学观察。

1.2.2 免疫组织化学方法检测NRP-1、 α -SMA及I、III型胶原的表达: 所需肝组织由40 g/L甲醛固定,脱水,石蜡切片,脱蜡至水,自动免疫组织化学染色仪染色,苏木素复染,0.1% HCl分化,自来水冲洗,蓝化,切片经梯度乙醇脱水干燥,二甲苯透明,中性树胶封固。显微镜观察以出现明显棕黄色或褐色为阳性。在高倍镜下,每张切片随机观察5个高倍视野,每个视野计数至少200个细胞,结果判定标准:阴性(-):阳性细胞数<5%;弱阳性(+):阳性细胞数5%-25%;中等阳性(++):阳性细胞数25%-50%;强阳性(+++):阳性细胞数>50%。同时设PBS为阴性对照。

1.2.3 RT-PCR检测NRP-1与 α -SMA、I、III型胶原基因的表达: TRIzol法提取肝组织总RNA,每样本取RNA 5 μ g为逆转录模板,NRP-1、 α -SMA、I、III型胶原的引物各1对,其序列分别为:NRP-1:上游引物:5'-CCGCTCTGGCTGTCCCGTCC-3',下游引物:5'-AAGGCCCGCAGGGTCTCTGT-3',片段大小423 bp; α -SMA上游引物:5'-CAGCGATAAACCAACAACA-3',下游引物:5'-ATAGGGACCTCAGCACAAA-3',片段大小570 bp;I型胶原:上游引物:5'-GGCAAGACAGTCATCGAATACA-3',下游引物:5'-GATTGGGATGGAGGGAGTTTA-3',片段大小147 bp;III型胶原上游引物:5'-CCACCCTGAAGTCAAGAGC-3',下游引物:5'-TGAAGTGAAGCCACCATT-3',片段大小212 bp;内参GAPDH上游引物:5'-AACGACCCCTTCATTGAC-3',下游引物:5'-TCCACGACATACTCAGCAC-3',片段大小191 bp。按两步法RT-PCR试

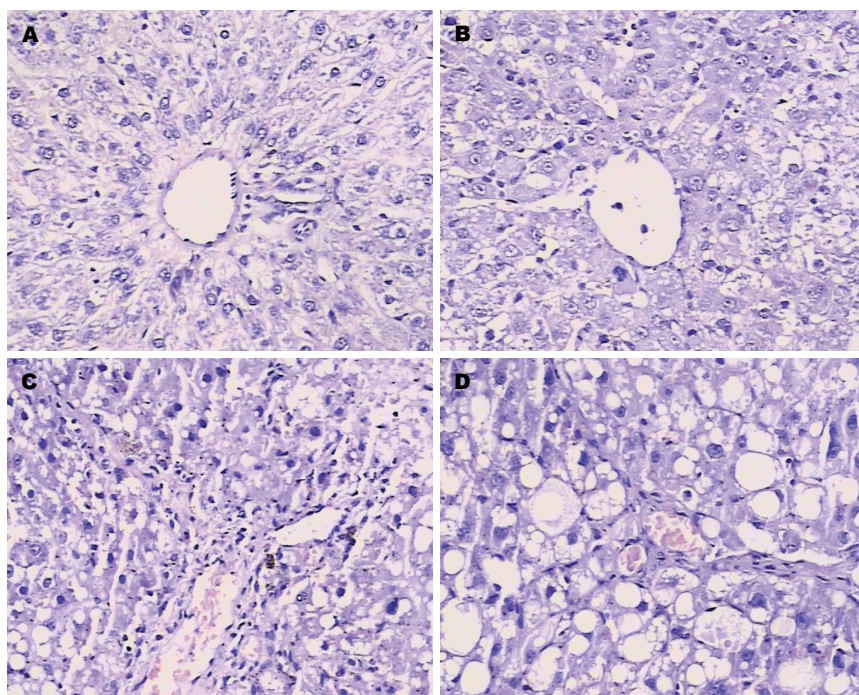


图1 肝脏病理HE染色($\times 100$). A: 对照组; B: 2 wk组; C: 4 wk组; D: 6 wk组.

■应用要点
NRP-1有望成为
肝纤维化治疗的
新靶点.

剂盒(美国GENMED公司产品)操作说明逆转录cDNA, 并进行PCR扩增, 反应条件: 95°C 2 min; 95°C 退火30 s, 55°C 变性1 min, 70°C 延伸30 s, 共35个循环; 70°C 5 min. PCR产物经1.7%琼脂糖电泳采用灰度扫描经与内参照比较分析后计算NRP-1与 α -SMA、I、III型胶原mRNA的表达水平.

统计学处理 所有数据由SPSS13.0统计软件进行分析. 免疫组织化学资料采用秩和检验分析统计. 计量数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 采用 t 检验、方差分析进行统计学处理, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 光镜下HE染色形态学变化 模型组随着 CCl_4 注射时间的延长, HE染色显示大鼠肝细胞出现明显的脂肪变性坏死及炎细胞浸润, 逐渐出现汇管区扩大, 汇管区胶原纤维沉积, 结缔组织增生明显并自汇管区呈放射状扩展, 向小叶周围延伸(图1).

2.2 免疫组织化学观察NRP-1、 α -SMA和I、III型胶原蛋白的表达 NRP-1与I、III型胶原在正常对照组均微量表达, 主要分布于门静脉、汇管区及中央静脉周围, 而 α -SMA表达阴性. 至2 wk末, 上述4种蛋白表达开始增加, 并随着 CCl_4 注射时间的延长, 肝纤维化程度的加重, 其表达亦逐渐增加, 至第6周时, 表达达高峰.

2.3 半定量RT-PCR检测NRP-1、 α -SMA及I、

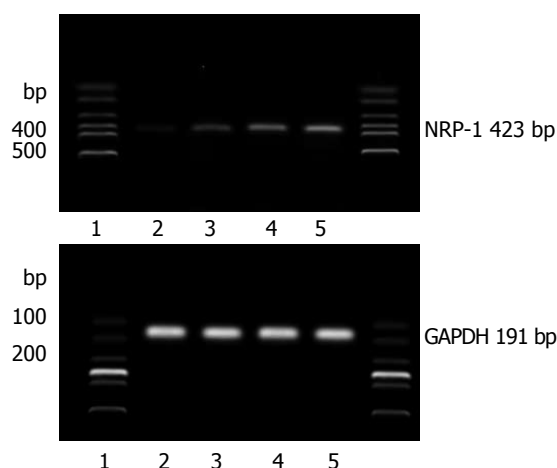


图2 NRP-1 mRNA在各组中的表达. 1: DNA Marker; 2: 正常对照组; 3: 2 wk模型组; 4: 4 wk模型组; 5: 6 wk模型组.

III型胶原的表达 在正常对照组和各肝纤维化模型组, 均扩增出NRP-1 mRNA片段, NRP-1 mRNA在第2、4、6周表达逐渐增强. 经灰度扫描和与内参照比较分析, NRP-1 mRNA在正常组、2 wk、4 wk和6 wk各组中的相对含量分别为 0.199 ± 0.38 、 0.529 ± 0.13 、 1.045 ± 0.13 和 2.018 ± 0.42 , 模型第2、4、6周NRP-1 mRNA的表达与正常对照组相比较差异有显著性, $P < 0.05$. 模型组各组间的比较差异均有显著性, $P < 0.05$ (图2).

2.4 半定量RT-PCR检测 α -SMA、I、III型胶原mRNA的表达 在正常组和各肝纤维化模型组, 均分别扩增出 α -SMA、I、III型胶原mRNA的条带, 其大小分别为570、147和212 bp, 内参照GAPDH扩增片段为191 bp. 上述3种mRNA在第

■同行评价

本文内容很好,具有一定指导意义。

2、4、6周表达逐渐增强。经灰度扫描和与内参照比较分析,其mRNA表达与正常对照组相比较均有显著差异, $P < 0.05$ 。模型各组间的两两比较差异均有显著性, $P < 0.05$ 。

2.5 半定量RT-PCR分析及相关性比较 随着CCL₄注射时间的延长, NRP-1表达的增加, α -SMA、I、III型胶原mRNA的表达逐渐增加,到第6周时上述4种mRNA的表达达高峰,第2周时NRP-1与I、III型胶原的相关性不明显,但与 α -SMA明显相关,其相关系数为0.621;第4周时其与I、III型胶原、 α -SMA的相关系数分别为0.645、0.530和0.690;第6周时其与I、III型胶原、 α -SMA的相关系数分别为0.834、0.613和0.820,上述相关均有显著性, $P < 0.05$ 。

3 讨论

近年来随着细胞和分子生物学技术的发展,已经证实肝纤维化的发生发展是一个涉及多种细胞和细胞因子的复杂过程^[5], HSC是肝纤维化形成中起关键作用的细胞。正常情况下HSC处于静止状态, α -SMA表达阴性,在慢性损伤及炎症刺激下, HSC的表型发生转化,由一般状况时的静止状态激活并向纤维母细胞转化, α -SMA开始表达^[6-8], 他的激活和增殖引起肝脏ECM合成增加、降解减少,还分泌层黏蛋白、蛋白多糖等其他ECM,构成肝纤维化发生、发展的基础,是整个肝纤维化发生发展的中心环节。在这一过程中转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)以及肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)发挥着重要调控作用^[9-12]。目前临床研究仍致力于抑制HSC的活性、控制其增殖和减少其胶原蛋白的分泌,达到抗肝纤维化的作用。

NRP-1是1995年Satoda等^[13]首次报道的相对分子质量为 1.3×10^5 的一种跨膜糖蛋白,他最初被发现于形成中的神经纤维轴突上,是信号素3A(Sema3A)和血管内皮生长因子165(VEGF₁₆₅)的受体,他主要表达于神经系统、心血管系统及骨骼系统,目前他与肿瘤的相关性研究很多,但国内外关于NRP-1与肝纤维化关系的研究尚少。

本实验中分别采用RT-PCR法和免疫组织化学法联合检测NRP-1、 α -SMA及I、III型胶原肝纤维化发展过程中的表达情况,结合统计学分析显示,随着肝纤维化程度的加重, NRP-1与

α -SMA在肝组织中的表达均同步增加,两者呈动态显著相关。提示NRP-1可能与HSC的活化有关。Cao等^[14]的研究表明,在丙肝和脂肪肝引起的两种大鼠肝纤维化模型中, NRP-1高表达于肝纤维化组织中,且与TGF- β 1的高表达相伴,结合本研究我们推测NRP-1可能通过上调TGF- β 1而促进HSC的活化,促进肝纤维化的发生。本研究还发现,在2 wk时NRP-1与I、III型胶原的相关性不明显,表明在早期I、III型胶原尚存在着不同程度地降解,4、6 wk时 NRP-1与I、III型胶原的相关系数分别为0.645、0.530及0.834、0.613,进一步说明了NRP-1在肝纤维化发生发展中的作用。有研究表明, NRP-1可以通过选择性地作用于小GTP蛋白的Rac-1,促进PDGF受体 β 亚单位与HSC的结合,促进PDGF在HSC内的信号转导,增强Rac-1通路下游PDGF受体 β 亚单位的磷酸化作用,发挥刺激HSC增殖和迁移的作用^[13]。因此我们推测, NRP-1一方面能增强TGF- β 1的表达,促进HSC的活化,另外尚增强PDGF在HSC内的信号转导,增强了HSC增殖活性。因此, NRP-1有望为肝纤维化的治疗提供新的靶点。

4 参考文献

- 1 Tsukada S, Parson CJ, Ripple RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Clin Acta* 2006; 364: 33-60 [DOI: 10.1016/j.cca.2005.06.014]
- 2 Safadi R, Friedman SL. Hepatic fibrosis--role of hepatic stellate cell activation. *MedGenMed* 2002; 4: 27 [PMID: 12466770]
- 3 Gäbele E, Brenner DA, Rippe RA. Liver fibrosis: signals leading to the amplification of the fibrogenic hepatic stellate cell. *Front Biosci* 2003; 8: d69-d77 [PMID: 12456323 DOI: 10.2741/887]
- 4 李志刚, 杨晋翔, 张伟. 甘心宁对大鼠肝纤维化 α -SMA、MMP-13及TIMP-1蛋白表达的影响. *北京中医药* 2009; 28: 56-558
- 5 Liu Y, Wang Z, Wang J, Lam W, Kwong S, Li F, Friedman SL, Zhou S, Ren Q, Xu Z, Wang X, Ji L, Tang S, Zhang H, Lui EL, Ye T. A histone deacetylase inhibitor, largazole, decreases liver fibrosis and angiogenesis by inhibiting transforming growth factor- β and vascular endothelial growth factor signalling. *Liver Int* 2012 Oct 30. [Epub ahead of print] [PMID: 23279742]
- 6 Qi Z, Atsuchi N, Ooshima A, Takeshita A, Ueno H. Blockade of type beta transforming growth factor signaling prevents liver fibrosis and dysfunction in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 2345-2349 [PMID: 10051644 DOI: 10.1073/pnas.96.5.2345]
- 7 武稀润, 吕敏和, 王绮, 师水生, 郭文栋. α -平滑肌肌动蛋白表达及血浆转化生长因子 β 1变化在肝纤维化发生发展中的作用. *中华肝脏病杂志* 2004; 12: 400-402
- 8 王欣欣, 郎振为, 孟忻, 孙琳, 王泰龄, 赵景民, 张世杰. α -SMA在慢性乙型病毒性肝炎肝组织中的表达. *临床肝胆病杂志* 2005; 21: 76-78
- 9 Flisiak R, Maxwell P, Prokopowicz D, Timms PM,

- Panasiuk A. Plasma tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and transforming growth factor beta 1--possible non-invasive biomarkers of hepatic fibrosis in patients with chronic B and C hepatitis. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 1369-1372 [PMID: 12239944]
- 10 Campbell JS, Hughes SD, Gilbertson DG, Palmer TE, Holdren MS, Haran AC, Odell MM, Bauer RL, Ren HP, Haugen HS, Yeh MM, Fausto N. Platelet-derived growth factor C induces liver fibrosis, steatosis, and hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 3389-3394 [PMID: 15728360 DOI: 10.1073/pnas.0409722102]
- 11 Friedman SL, Arthur MJ. Activation of cultured rat hepatic lipocytes by Kupffer cell conditioned medium. Direct enhancement of matrix synthesis and stimulation of cell proliferation via induction of platelet-derived growth factor receptors. *J Clin Invest* 1989; 84: 1780-1785 [PMID: 2556445 DOI: 10.1172/JCI114362]
- 12 Wong L, Yamasaki G, Johnson RJ, Friedman SL. Induction of beta-platelet-derived growth factor receptor in rat hepatic lipocytes during cellular activation in vivo and in culture. *J Clin Invest* 1994; 94: 1563-1569 [PMID: 7929832 DOI: 10.1172/JCI117497]
- 13 Satoda M, Takagi S, Ohta K, Hirata T, Fujisawa H. Differential expression of two cell surface proteins, neuropilin and plexin, in *Xenopus* olfactory axon subclasses. *J Neurosci* 1995; 15: 942-955 [PMID: 7823191]
- 14 Cao S, Yaqoob U, Das A, Shergill U, Jagavelu K, Huebert RC, Routray C, Abdelmoneim S, Vasdev M, Leof E, Charlton M, Watts RJ, Mukhopadhyay D, Shah VH. Neuropilin-1 promotes cirrhosis of the rodent and human liver by enhancing PDGF/TGF-beta signaling in hepatic stellate cells. *J Clin Invest* 2010; 120: 2379-2394 [PMID: 20577048 DOI: 10.1172/JCI41203]

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

异丙酚及其联合芬太尼应用于老年无痛胃镜30例

黎永军, 齐翠花, 田江, 吴秀玲

■背景资料

无痛胃镜是在胃镜检查过程中, 经静脉给予患者适当的麻醉镇静剂, 使受检者在安静、舒适、无痛苦的状态下完成胃镜诊治的一种新技术。因为常规胃镜不仅在身体上而且在精神上给患者特别是老年人带来痛苦, 无痛胃镜则克服了上述缺点, 促进了该技术在临床上的应用和推广。

黎永军, 齐翠花, 石河子大学第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市 832002

田江, 吴秀玲, 石河子大学第三附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市 832002

黎永军, 副主任医师, 主要从事消化内科及内窥镜医疗、教学及科研工作。

作者贡献分布: 本文研究设计由黎永军完成; 手术治疗中麻醉由吴秀玲完成; 齐翠花与田江共同参与本研究。

通讯作者: 黎永军, 副主任医师, 832002, 新疆维吾尔自治区石河子市北二路, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科。

liyongjun012345@sina.com

收稿日期: 2012-12-27 修回日期: 2013-02-28

接受日期: 2013-03-01 在线出版日期: 2013-03-18

Use of propofol versus propofol combined with fentanyl during painless gastroscopy in elderly patients

Yong-Jun Li, Cui-Hua Qi, Jiang Tian, Xiu-Ling Wu

Yong-Jun Li, Cui-Hua Qi, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Jiang Tian, Xiu-Ling Wu, Department of Gastroenterology, the Third Hospital of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Yong-Jun Li, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Shihezi University, Beier Road, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. liyongjunandhua@163.com

Received: 2012-12-27 Revised: 2013-02-28

Accepted: 2013-03-01 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To assess the advantages and disadvantages of two intravenous anesthesia strategies used for painless gastroscopy in elderly patients.

METHODS: Sixty elderly patients who underwent gastroscopy at our hospital from May 2008 to February 2011 were included. The patients were randomly and equally divided into two groups (A and B) and underwent treatment with either intravenous propofol or propofol combined with fentanyl. The OAAS criteria were adopted, and a score < 2 was used as the critical value. Those who did not reach the critical value were additionally given propofol 10-30 mg. The time required for reaching the critical value, recovery time, and orientation recovery time were compared. Using

the time point at 20 min prior to anesthesia as the basic point, the heart rate (HR), blood pressure (BP), respiratory rate (RR), and SPO₂ at 5 min after anesthesia were compared.

RESULTS: All the 60 patients felt asleep and completed gastroscopy. 46 cases waked up 1-5 min after gastroscopy, and 14 cases became completely conscious in 15 min. Both the time of reaching the critical value and anilepsia in group A were significantly lower than those in group B (19.5 min ± 2.6 min vs 14.9 min ± 3.1 min, 17.5 min ± 2.2 min vs 11.1 min ± 1.7 min, both $P < 0.01$). The orientation recovery time did not significantly differed between the two groups ($P > 0.05$). HR, BP, RR, and SPO₂ were all decreased to some extent in both groups in the first 5 min. The decreasing amplitude of HR in group A was significantly higher than that in group B (-9.9 time/min ± 5.1 time/min vs -13.2 time/min ± 4.7 time/min, $P < 0.05$), but the decreasing amplitude of systolic pressure was significantly lower in group A than in group B ($P < 0.01$). The decreasing amplitude of RR and SPO₂ showed no significant difference between the two groups (both $P > 0.05$).

CONCLUSION: Intravenous propofol combined with fentanyl is an effective and safe anesthesia method in painless endoscopy in elderly patients, with less stimulation of pharyngeal reflex and less effect on the circulatory and respiratory systems.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastroscopy; Aged; Fentanyl

Li YJ, Qi CH, Tian J, Wu XL. Use of propofol versus propofol combined with fentanyl during painless gastroscopy in elderly patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 690-693 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/690.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.690>

摘要

目的: 观察老年人应用异丙酚、芬太尼联合异丙酚两种不同静脉麻醉方法行无痛胃镜检查的优劣性。

方法: 选取2008-05/2011-02于我院就诊的行胃

■同行评议者

邵先玉, 教授, 泰山医学院附属医院消化内科; 王承党, 教授, 福建医科大学附属第一医院消化内科

镜检查的老年患者60例为研究对象, 随机分为A、B两组, 各30例, 分别应用异丙酚、芬太尼联合异丙酚浅静脉麻醉, 采用警觉与镇静评分(OAA/S)标准评分 ≤ 2 分为无痛胃镜检查的界值, 未达到界值者酌情应用异丙酚10-30 mg追加使用。比较分析两组达到无痛检查界值的时间、苏醒时间及定向力恢复时间。以麻醉前20 min检查结果为基点, 比较分析两组患者检查中5 min时心率(heart rate, HR)、血压(blood pressure, BP)、呼吸(respiratory rate RR)、动脉血氧分压(partial pressure of oxygen in arterial blood, SPO₂)波动情况。

结果: 本组60例均安静入睡, 完成胃镜诊疗, 其中于诊疗结束1-5 min内苏醒46例, 15 min内完全清醒14例; A组患者达到无痛检查界值时间19.5 min \pm 2.6 min及苏醒时间17.5 min \pm 2.2 min均显著低于B组患者14.9 min \pm 3.1 min、11.1 min \pm 1.7 min($P<0.01$), 两组患者定向力恢复时间差异无统计学意义($P>0.05$); 两组患者检查中5 min时HR、BP、RR、SPO₂均有所下降, 其中A组HR下降幅度-9.9次/min \pm 5.1次/min高于B组-13.2次/min \pm 4.7次/min($P<0.05$), 但收缩压下降幅度显著低于B组($P<0.01$); 两组RR、SPO₂、下降幅度差异无统计学意义($P>0.05$)。

结论: 芬太尼联合异丙酚静脉麻醉对老年人有减轻咽反射刺激的作用, 对呼吸、循环系统影响小, 是一种安全有效的麻醉方法。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胃镜检查; 老年人; 芬太尼

黎永军, 齐翠花, 田江, 吴秀玲. 异丙酚及其联合芬太尼应用于老年无痛胃镜30例. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 690-693
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/690.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.690>

0 引言

无痛胃镜是在胃镜检查过程中, 经静脉给予患者适当的麻醉镇静剂, 使受检者在安静、舒适、无痛苦的状态下完成胃镜诊治的一种新技术。因为常规胃镜不仅在身体上而且在精神上给患者特别是老年人带来痛苦, 无痛胃镜则克服了上述缺点, 促进了该技术在临床上的应用和推广。异丙酚具有起效快、复苏快等优点, 常应用于无痛胃镜麻醉, 但其镇痛作用弱, 所用剂量大, 常与其他药物联合使用。因此, 选择科学合理的药物配伍, 以提高麻醉效果, 保证麻醉安

全, 减少不良反应一直是无痛胃镜检查过程中所关注的课题。我院于2008-05/2011-02对60例老年患者采用异丙酚、芬太尼联合异丙酚浅静脉麻醉行无痛胃镜检查的效果进行研究, 现将研究结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-05/2011-02于我院就诊的行胃镜检查的老年患者60例为研究对象。入选标准: (1)老年患者, 年龄60-90岁; (2)具有上腹部疼痛及饱胀、反酸、纳差、烧心等消化不良病史; (3)无麻醉药物过敏史。检查前签署胃镜及经静脉药物麻醉知情同意书。所有入选患者随机分为两组: 异丙酚组(A组)、芬太尼联合异丙酚组(B组)。

1.2 方法

1.2.1 检查前准备: 检查前患者禁食6-8 h; 右前臂浅静脉建立静脉通道; 左侧卧位, 给予1.5-3.0 L/min持续吸氧, 心电监护, 包括心率(heart rate, HR)、血压(blood pressure, BP)、呼吸(respiratory rate, RR)、动脉血氧分压(partial pressure of oxygen in arterial blood, SPO₂), 固定好牙垫。

1.2.2 麻醉方法: A组患者接受异丙酚1.5-2.0 mg/kg缓慢静脉注射; B组患者经麦菲试管先滴入芬太尼0.01-0.02 mg/kg, 然后静脉注射异丙酚(方法同A组)。在操作过程中, 未达到界值者酌情应用异丙酚10-30 mg追加使用。

1.2.3 观察指标: 观察患者意识, 睡眠状态、睫毛反射、肢体活动、呼吸情况; 采用警觉与镇静评分(OAA/S)标准进行评分, 设评分 ≤ 2 分为无痛胃镜检查的界值。比较两组达到无痛检查界值的时间、苏醒时间及定向力恢复时间。以麻醉前20 min检查结果为基点, 比较分析两组患者检查中5 min时HR、BP、RR、SPO₂波动情况。

统计学处理 应用SPSS11.0软件处理数据, 采用 χ^2 检验, 有统计学差异。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 本组60例均为我院门诊和住院患者, 男33例, 女27例, 年龄60-84岁, 平均64.7岁 \pm 8.1岁, 其中合并高血压36例, 冠心病9例, 心电图示心肌缺血7例, 心房颤动2例, 右前分支传导阻滞2例, 糖尿病且血糖平稳4例, 慢性支气管炎、阻塞性肺气肿4例。其中, A组男16例, 女14例, 年龄62-83岁, 平均65.3岁 \pm 6.7岁; B组男17例, 女13例, 年龄60-84岁, 平均64.9岁 \pm 7.3岁, 两

■ 研发前沿

异丙酚具有起效快、复苏快等优点, 常应用于无痛胃镜麻醉, 但其镇痛作用弱, 所用剂量大, 常与其他药物联合使用。

■应用要点

芬太尼联合异丙酚具有更好的安全性,尤其可减轻由于血压降低引起的代偿性心率加快,从而有效减少心肌耗氧量,减轻心脏负荷。

表 1 两组达到无痛阈值、苏醒、定向力恢复时间的比较 (mean \pm SD, $n = 30$, min)

分组	达到无痛检查阈值时间	苏醒时间	定向力恢复时间
A组	19.5 \pm 2.6	17.5 \pm 2.2	11.5 \pm 2.8
B组	14.9 \pm 3.1	11.1 \pm 1.7	10.8 \pm 1.8
<i>t</i> 值	6.227	12.608	1.153
<i>P</i> 值	<0.01	<0.01	>0.05

表 2 两组患者检查中5 min时HR、BP、RR、SPO₂波动情况比较 ($n = 30$)

	HR(次/min)	BP(mmHg)		RR(次/min)	SPO ₂ (%)
		收缩压	舒张压		
A组	-9.9 \pm 5.1	-11.4 \pm 3.7	-3.2 \pm 1.4	-5.5 \pm 1.8	-4.2 \pm 1.3
B组	-13.2 \pm 4.7	-8.7 \pm 2.5	-2.9 \pm 1.6	-5.1 \pm 2.0	-4.5 \pm 1.1
<i>t</i> 值	2.605	-3.312	-0.773	-0.814	0.965
<i>P</i> 值	<0.05	<0.01	>0.05	>0.05	>0.05

HR: 心率; BP: 血压; RR: 呼吸; SPO₂: 动脉血氧分压。

组在性别、年龄、病情等差异均无统计学意义, $P > 0.05$ 。

2.2 试验完成情况 60例患者均安静入睡, 完成胃镜诊疗。

2.3 无痛检查阈值时间及苏醒时间 B组患者达到无痛检查阈值时间及苏醒时间均显著低于A组患者($P < 0.01$), 两组患者定向力恢复时间无显著性差异($P > 0.05$, 表1)。

2.4 生命征和SPO₂变化 在检查过程中, 两组5 min时的HR、BP、RR、SPO₂均有所下降, 其中B组HR下降幅度高于A组($P < 0.05$), 但收缩压下降幅度显著低于A组($P < 0.01$); 两组RR、SPO₂下降幅度无显著性差异($P > 0.05$, 表2)。

2.5 不良反应 检查过程中共有3例(A组1例、B组2例)血压下降至70/50 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa)以下, 静脉注射麻黄素10 mg好转; 3例(A组2例、B组1例)心率降至50次/min左右, 经阿托品0.5-1.0 mg静脉注射恢复正常。两组间差异均无统计学意义, $P > 0.05$ 。

3 讨论

我国已进入老龄化时代, 老年消化系统疾病患者逐年增多, 胃镜检查患者中老年人所占比重越来越高^[1-3]。作为诊断消化系统疾病最直观的方法之一, 传统的胃镜检查存在操作时间长、痛苦大、患者耐受性差等缺陷, 尤其老年患者对胃镜检查的恐惧及咽部刺激引起的应激性的心、肺负荷增大, 可发生严重并发症^[4,5]。随着麻醉技

术的进步, 无痛胃镜检查技术得到兴起并逐步推广, 其具有操作时间短、安全性高、耐受性好等优势日益显现。目前国内常用的无痛胃镜检查药物种类较多, 使用方法也不尽相同^[6]。

我们对异丙酚、芬太尼联合异丙酚浅静脉麻醉行无痛胃镜检查的效果进行研究, 结果显示: 本组60例均安静入睡, 完成胃镜诊疗, 其中于诊疗结束1-5 min内苏醒46例, 15 min内完全清醒14例。提示无痛胃镜检查具有较高的安全性。两组比较, B组患者达到无痛检查阈值时间及苏醒时间均显著低于A组患者($P < 0.01$), 两组患者定向力恢复时间差异无统计学意义($P > 0.05$), 表明芬太尼联合异丙酚在无痛胃镜检查中具有起效快、效果稳定, 安全性高等特点。两组患者检查中5 min时HR、BP、RR、SPO₂均有所下降, 是应用麻醉药物的正常反应。其中B组HR下降幅度高于A组($P < 0.05$), 但收缩压下降幅度显著低于A组($P < 0.01$); 表明芬太尼联合异丙酚具有更好的安全性, 尤其可减轻由于血压降低引起的代偿性心率加快, 从而有效减少心肌耗氧量, 减轻心脏负荷。

芬太尼为阿片受体激动剂, 属强效麻醉性镇痛药, 镇痛作用产生快, 但持续时间较短^[7-10]; 异丙酚常用于全身麻醉的诱导和维持, 常与脊髓麻醉和硬脊膜外麻醉同时应用^[11-15]。异丙酚和通常的麻醉前给药如神经肌肉阻滞药, 吸入麻醉药以及镇痛药同用, 能抑制应激激素的分泌和心血管反应^[7]。研究发现, 芬太尼联合异丙酚在

胃镜检查中具有协调作用^[16-18], 可通过扩张外周血管, 减少外周阻力, 降低心肌耗氧量, 使心肌整体对氧供/需保持相对平衡^[19]。

临床实践发现, 在老年患者实施无痛胃镜检查过程中, 要注意以下几个方面: (1)推药速度不宜过快; (2)需要有经验的麻醉医师协作, 并预备好急救设备; (3)严密监测HR、BP、RR、SPO₂等生命体征; (4)术后应有专人观察苏醒过程, 避免摔倒或坠床; (5)术后禁食禁水2 h, 防止术后出血、呛咳、误吸等情况^[10]。

4 参考文献

- 1 徐富星, 季大年. 无痛消化内镜技术临床应用现状. 中国实用内镜杂志 2005; 25: 221-222
- 2 Clark J, Voss L, Barnard J, Sleight J. Implicit memory formation in sedated ICU patients after cardiac surgery. *Br J Anaesth* 2003; 91: 810-814 [PMID: 14633750 DOI: 10.1093/bja/aeg274]
- 3 苗茜, 崔东风, 刘跃民. 不同静脉麻醉药复合异丙酚用于胃镜检查术的对比观察. 重庆医学 2009; 38: 965-967
- 4 徐灿霞, 姜希望, 唐五良, 肖定华. 异丙酚和咪唑安定在胃镜检查中的应用研究. 中华消化内镜杂志 2002; 19: 327-330
- 5 李群, 吴新民, 蒋建渝. 靶控输注芬太尼对异丙酚的药动力学的研究. 中华麻醉学杂志 2003; 23: 737-739
- 6 Tagle M, Siu H, Ramos M. [Propofol in combination with meperidine and midazolam in colonoscopy and upper endoscopy: first prospective study in private practice in Peru]. *Rev Gastroenterol Peru* 2007; 27: 367-373 [PMID: 18183278]
- 7 郭廷俊. 不同剂量芬太尼复合异丙酚麻醉用于胃镜检查术的效果比较. 重庆医学 2009; 38: 2733-2734
- 8 赵宏, 孙艺丹, 尹极峰. 丙泊酚用于无痛胃镜检查对认知功能的影响. 临床麻醉学杂志 2007; 23: 282-283
- 9 Clarke AC, Chiragakis L, Hillman LC, Kaye GL. Sedation for endoscopy: the safe use of propofol by general practitioner sedationists. *Med J Aust* 2002; 176: 158-161 [PMID: 11913915]
- 10 Beilin Y, Galea M, Zahn J, Bodian CA. Epidural ropivacaine for the initiation of labor epidural analgesia: a dose finding study. *Anesth Analg* 1999; 88: 1340-1345 [PMID: 10357342]
- 11 Phillips MR, Zaheer S, Drugas GT. Gastric trichobezoar: case report and literature review. *Mayo Clin Proc* 1998; 73: 653-656 [PMID: 9663194 DOI: 10.1016/S0025-6196(11)64889-1]
- 12 Hirai S, Ogawa T, Shigeta Y, Ando E, Hirabayashi R, Ikawa T, Kasama S, Fukushima S, Matsuka Y. Characteristics of mandibular movements in patients with square mandible. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108: e75-e81 [PMID: 19836717 DOI: 10.1016/j.tripleo.2009.07.008]
- 13 Ranjan Dohil, Eric Hassall, Marsha Kay. Gastritis, Gastropathy, and Ulcer Disease Pediatric Gastrointestinal and Liver Disease. 4th Edition. Philadelphia: Elsevier, 2011: 277-292
- 14 Hooks VH, Bowden TA, Mansberger AR. Focal vascular dysplasia in the cecum demonstrated by intraoperative endoscopic transillumination. *Gastrointest Endosc* 1979; 25: 69-71 [PMID: 314920 DOI: 10.1016/S0016-5107(79)73365-7]
- 15 Pollard EJ, Roberts RK, Nye JA. Strangulated small intestinal obstruction following upper gastrointestinal panendoscopy. *Gastrointest Endosc* 1977; 23: 166-167 [PMID: 838253 DOI: 10.1016/S0016-5107(77)73632-6]
- 16 Ranjan Dohil, Eric Hassall. Gastritis, gastropathy and ulcer disease. In: Pediatric Gastrointestinal and Liver Disease. 3rd Edition. Philadelphia: Elsevier, 2006: 373-407 [DOI: 10.1016/B978-0-7216-3924-6.50029-9]
- 17 Thompson NW, Ernst CB, Fry WJ. The spectrum of emetogenic injury to the esophagus and stomach. *Am J Surg* 1967; 113: 13-26 [PMID: 6016701 DOI: 10.1016/0002-9610(67)90251-6]
- 18 Watts HD. Mallory-Weiss syndrome occurring as a complication of endoscopy. *Gastrointest Endosc* 1976; 22: 171-172 [PMID: 1248717 DOI: 10.1016/S0016-5107(76)73737-4]
- 19 Ben-Horin S, Bardan E, Barshack I, Zaks N, Livneh A. Cholesterol crystal embolization to the digestive system: characterization of a common, yet overlooked presentation of atheroembolism. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1471-1479 [PMID: 12873565 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07532.x]

■同行评价

本文对基层医院的麻醉内镜开展具有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

●消息●

《世界华人消化杂志》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)

酒精及代谢性因素对慢性乙型肝炎患者肝纤维化的作用

阎道博, 哈利达·夏尔甫哈孜, 冯涓, 桑伟, 范晓棠, 何方平

■背景资料

肝硬化是消化系统常见疾病, 其中乙型肝炎所致的肝硬化在我国最为常见。近年来肝脂肪变性与慢性乙型病毒性肝炎在同一个体中合并存在的现象明显增多, 据估计慢性乙型肝炎人群中约12%-30%合并肝脂肪变性, 探讨代谢性因素在慢性乙型肝炎人群中是否促进肝脏纤维化发展也已是必然。

阎道博, 哈利达·夏尔甫哈孜, 冯涓, 桑伟, 范晓棠, 何方平, 新疆医科大学第一附属医院肝病科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 831000

阎道博, 硕士, 主要从事肝脏疾病的临床及基础研究。

新疆维吾尔自治区科技计划基金资助项目, No. 2011141137
国家自然科学基金资助项目, No. 30760220

作者贡献分布: 本文病例资料整理、分析与文章撰写由阎道博完成; 哈利达·夏尔甫哈孜、冯涓、桑伟及范晓棠提供病例资料; 何方平对文章进行审阅与修改。

通讯作者: 何方平, 教授, 831000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市新市区鲤鱼山南路137号, 新疆医科大学第一附属医院肝病科, hefp@sina.com

电话: 0991-4366305

收稿日期: 2013-01-06 修回日期: 2013-01-25

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

Risk factors for hepatic fibrosis in CHB patients

Dao-Bo Yan, Halida-Xiaerfuhazi, Juan Feng, Wei Sang, Xiao-Tang Fan, Fang-Ping He

Dao-Bo Yan, Halida-Xiaerfuhazi, Juan Feng, Wei Sang, Xiao-Tang Fan, Fang-Ping He, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the Science and Technology Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 2011141137; National Natural Science Foundation of China, No. 30760220

Correspondence to: Fang-Ping He, Professor, Department of Hepatology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. hefp@sina.com

Received: 2013-01-06 Revised: 2013-01-25

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To compare the difference in clinical characteristics and hepatic pathological changes between patients with CHB and those with CHB and fatty degeneration, and to identify risk factors associated with the degree of hepatic fibrosis.

METHODS: The liver biopsy of 275 patients with newly diagnosed CHB was analyzed. On the basis of pathological results, the patients were divided into two groups: those with simple CHB and those with CHB and fatty degeneration. The age, waistline, uric acid, and blood fat were compared between the two groups. Multiple linear regression was used to analyze each risk factor for hepatic fibrosis.

RESULTS: Of 275 CHB patients, 104 had steatosis. Significant differences were noted in waistline ($84.2 \text{ cm} \pm 9.9 \text{ cm}$ vs $80.1 \text{ cm} \pm 7.8 \text{ cm}$, $P = 0.03$), uric acid ($325.05 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 98.32 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $275.57 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 74 \text{ } \mu\text{mol/L}$, $P = 0.001$), TG ($1.68 \text{ mmol/L} \pm 1.03 \text{ mmol/L}$ vs $1.13 \text{ mmol/L} \pm 0.65 \text{ mmol/L}$, $P = 0.001$), LDL ($2.7 \text{ mmol/L} \pm 0.77 \text{ mmol/L}$ vs $2.29 \text{ mmol/L} \pm 0.60 \text{ mmol/L}$, $P = 0.001$), TC ($4.30 \text{ mmol/L} \pm 0.83 \text{ mmol/L}$ vs $3.97 \text{ mmol/L} \pm 0.79 \text{ mmol/L}$, $P = 0.02$) between patients with simple CHB and those with CHB and fatty degeneration. Patients with CHB and fatty degeneration had a greater body mass index. A significant difference in the degree of fibrosis was also noted between the two groups ($\chi^2 = 5.364$, $P = 0.021$). Multiple regression analysis revealed that age, level of inflammation, drinking and HBeAg negativity were independent risk factors for fibrosis progression in patients with CHB (all $P < 0.05$). Fat deposition was negatively correlated with hepatic fibrosis in patients with CHB ($t = -2.689$, $P = 0.008$).

CONCLUSION: Dyslipidemia, obesity and metabolic syndrome are primary causes of hepatic steatosis, which has no significant association with alcohol factors. Age, level of inflammation, e antigen negativity, and drinking are independent risk factors for the progression of liver fibrosis in CHB patients. The increase in the degree of fibrosis is associated with a decrease in the degree of hepatic steatosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B; Hepatic steatosis; Hepatic pathology

Yan DB, Halida-Xiaerfuhazi, Feng J, Sang W, Fang XT, He FP. Risk factors for hepatic fibrosis in CHB patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 694-699 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/694.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.694>

摘要

目的: 了解单纯慢性乙型肝炎患者与慢性乙型肝炎合并脂肪变性者的肝脏病变特点及临床改变的差异, 并寻找与肝纤维化程度改变相关的危险因素。

■同行评议者

白岚, 教授, 主任医师, 南方医院惠侨科

方法: 分析275例初治HBsAg阳性患者的肝组织病理情况, 依据肝脏病理检查结果将病例分为单纯乙型肝炎组和乙型肝炎合并脂肪变性组, 用 t 检验比较两组患者在年龄、腰围、尿酸、血脂方面的差异, 利用多元线性回归法分析各危险因素对肝脏纤维化的影响。统计学处理采用SPSS Statistics 17.0统计软件, $P < 0.05$ 有统计学意义。

结果: 275例乙型肝炎患者中有脂肪变性者104例。慢性乙型肝炎合并脂肪肝组相比单纯慢性乙型肝炎组在腰围($84.2 \text{ cm} \pm 9.9 \text{ cm}$ vs $80.1 \text{ cm} \pm 7.8 \text{ cm}$, $P = 0.03$), 尿酸($325.05 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 98.32 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $275.57 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 74.00 \text{ } \mu\text{mol/L}$, $P = 0.001$), 甘油三酯($1.68 \text{ mmol/L} \pm 1.03 \text{ mmol/L}$ vs $1.13 \text{ mmol/L} \pm 0.65 \text{ mmol/L}$, $P = 0.001$), 低密度脂蛋白($2.70 \text{ mmol/L} \pm 0.77 \text{ mmol/L}$ vs $2.29 \text{ mmol/L} \pm 0.60 \text{ mmol/L}$, $P = 0.001$), 胆固醇($4.30 \text{ mmol/L} \pm 0.83 \text{ mmol/L}$ vs $3.97 \text{ mmol/L} \pm 0.79 \text{ mmol/L}$, $P = 0.02$)水平上存在统计学意义, 合并脂肪变性组相对于单纯慢性乙型肝炎组有着更大的体质指数。而且单纯慢性乙型肝炎组与脂肪变性组在纤维化水平上存在差异($\chi^2 = 5.364$, $P = 0.021$)。通过多元回归分析发现: 年龄、炎症水平分级、饮酒以及HBeAg阴性状态是慢性乙型肝炎患者纤维化进展加重的独立危险因素(均 $P < 0.05$); 脂肪沉积对肝脏纤维化的影响为负相关, 即肝脏纤维化程度较重, 脂肪沉积越轻($t = -2.689$, $P = 0.008$)。

结论: 肝组织病理及临床资料显示: 血脂紊乱, 肥胖等代谢综合征是肝细胞脂肪变性的主要原因, 而与酒精因素无关。年龄、炎症水平、e抗原阴性状态、饮酒是CHB(hepatitis B virus infection)患者肝组织纤维化进展相关的独立危险因素, 但随着纤维化程度的加重, 肝细胞脂肪变程度反而减轻。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 慢性乙型肝炎; 脂肪变性; 肝脏病理

阎道博, 哈利达·夏尔甫哈孜, 冯涓, 桑伟, 范晓棠, 何方平. 酒精及代谢性因素对慢性乙型肝炎患者肝纤维化的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 694-699 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/694.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.694>

0 引言

肝硬化是消化系常见疾病, 肝纤维化最常见的原因包括各种病毒性肝炎以及大量饮酒所致的

酒精性肝硬化, 其中乙型肝炎病毒感染所致肝硬化我国最为常见。随着近年来非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的增多, 约12%-22%的普通人群B超下可检出脂肪肝变^[1], 肝脂肪变性与慢性乙型病毒性肝炎(hepatitis B virus infection, CHB)在同一个体中合并存在现象也逐渐增多, 临床流行病学调查慢性乙型肝炎人群中约12%-30%合并肝脏脂肪变性^[2]。NAFLD分为单纯脂肪变, 非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH), 以及脂肪性肝硬化。其中在NASH和肝硬化基础上可以出现肝细胞性肝癌, 目前已有文献报导当慢性乙型肝炎合并NAFLD时会大幅度增加HCC的风险^[3,4]。提示当多种损伤因素作用于肝脏时, 患者可能出现特征性的疾病表现和临床转归, 研究表明NAFLD与慢性乙型肝炎合并时, 其脂肪变主要由患者合并的脂代谢紊乱, 胰岛素抵抗, 肥胖等代谢性因素引起, 而与乙型肝炎病毒自身感染无关, 这点与丙肝完全不同^[5]。多种损肝因素混合存在, 各因素对肝组织纤维化影响的研究报导较少。目前多数研究已证实慢性乙型肝炎患者肝纤维化程度与年龄、病毒载量及血HBeAg表达存在相关性^[6,7], 但对CHB患者合并脂肪变性时的肝组织纤维化进展程度以及是否加重肝脏局部炎症方面目前仍存在争议, 并且相应研究文献也不多, 病理学研究显示当单纯脂肪性肝病向脂肪性肝炎进展时, 会启动肝细胞内脂质气球样变以及肝脏的纤维化, 而随着纤维化的启动及进展脂滴会由单纯大泡形转变成大小不一的脂滴, 甚至消失代之以纤维化组织, 当进展至肝硬化时, 脂肪完全消失, 因此隐匿性肝硬化少有脂肪沉积^[8]。在新疆地区, 慢性乙型肝炎患者合并肥胖, 饮酒在现实患者中十分普遍。所以当乙型肝炎病毒、代谢性因素、酒精共同作用于同一个体, 3种损肝因素对于肝脏炎症和纤维化的影响程度目前报导极少。本文主要对现将2010-2012年本院收治住院的、经肝组织活检的275例慢性乙型肝炎患者, 按是否存在脂肪变性分为两组, 对其临床及病理特点进行归纳并对可能影响肝纤维化的相关因素进行分析, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选自2010-02/2012-03在新疆医科大学第一附属医院住院治疗的275例经临床诊断为慢性乙型肝炎的初治患者275例, 所有患者均接

■ 研究前沿

目前已有文献报导当慢性乙型肝炎合并NAFLD时会大幅度增加HCC的风险。还有大量研究表明NAFLD与慢性乙型肝炎合并时, 其脂肪变主要由患者代谢性因素引起。但对CHB患者合并脂肪变性时的肝组织纤维化进展程度以及是否加重肝脏局部炎症方面目前仍存在争议, 并且相应研究文献也不多。

■相关报道

对CHB患者合并脂肪变性时的肝组织纤维化进展程度以及是否加重肝脏局部炎症方面目前仍存在争议,并且相应研究文献也不多。

受肝组织学检查,慢性乙型肝炎诊断标准均符合2006年修订的《慢性乙型肝炎防治指南》^[9]。其中男178例,女97例,年龄最15-67岁,平均38.37岁±9.78岁。所有患者均排除甲、丙、丁、戊型肝炎病毒感染及自身免疫性肝炎及先天遗传性肝病等。所有慢性HBV感染者肝脏组织病理学诊断标准参照2000年病毒性肝炎防治方案中的慢性肝炎病理分级、分期标准,将炎症活动度(G)划分为0-4级,纤维化程度(S)划分为0-4期。按照《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》2006版将肝细胞脂肪变性分为4度(F)^[10]。病历中个人史记录“规律饮酒、少量饮酒”均列入酒精因素,具体饮酒量未能计算,但其中有大量酗酒者5人,从不饮酒者纳入无酒精因素。依据病理结果是否存在肝脂肪变性将所有患者分单纯慢性乙型肝炎组和慢性乙型肝炎合并脂肪变性组,并收集临床资料分析两组在相关指标上的差异。

1.2 方法

1.2.1 血清学指标: 每例患者于肝活检前后3 d内,空腹抽取静脉血检测乙型肝炎病毒标志物(HBeAg、抗-HBe)、HBV-DNA定量、甘油三酯、低密度脂蛋白、尿酸等。将BMI>24 kg/m²定义为超重,将病毒载量≥4log值者定为高病毒载量组,<4log值者定为低载量组,腰围以厘米计数,血糖异常的诊断标准确定为既往有糖尿病病史,或者入院后行糖耐量实验确诊为2型糖尿病以及糖耐量异常者均列入血糖异常组。

1.2.2 肝组织病理学检查: 肝组织活检应用巴德活检针B超引导下1 s快速穿刺活检术,组织长度>2.5 cm,内部结构至少包含6个完整的汇管区。病理标本用10%中性甲醛溶液固定,石蜡包埋,常规制片,苏木素-伊红、Masson、网状纤维染色,光学显微镜多视野观察。肝组织病理学诊断标准参照2000年《病毒性肝炎防治方案》中的慢性肝炎病理分级、分期标准,按照《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》2006版将肝细胞脂肪变性分为4度(F),由病理学专业人员盲法阅片分级。

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件进行统计学处理。计量资料采用mean±SD表示,2组均数比较采用t检验;计数资料用例数和百分比表示,率和构成比的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。利用多元线性回归法,分析各危险因素对肝脏纤维化的影响。

2 结果

2.1 一般情况 275例感染者中男178例(64.7%),

表 1 患者基本情况

基本情况	
年龄(岁)	38.37±9.78
性别 n(%)	178(64.7)
男	
种族 n(%)	
汉族	247(89.81)
血糖异常 n(%)	16(5.8)
血脂异常 n(%)	64(23.3)
HBeAg+ n(%)	111(40.4)
HBV-DNA(低/高)	117/158
肝活检无脂肪变 n(%)	171(62.2)

女97例(35.3%);年龄38.37岁±9.78岁;汉族247例,其余少数民族28例;HBeAg阳性者111例(40.4%),阴性者164例(59.6%);其中纳入酒精因素的患者77例(28%),其中大量酗酒者5人;血糖异常者16例(5.8%)(表1)。

2.2 肝纤维化危险因素分析 慢性乙型肝炎合并脂肪变性组在腰围、尿酸、甘油三酯、低密度脂蛋白、胆固醇水平上均高于单纯的慢性乙型肝炎患者,且存在统计学差异(均 $P<0.05$),而两组之间在年龄上未见差异(表2)。性别方面,慢性乙型肝炎合并脂肪变的患者主要以男性为主,且存在统计学意义($\chi^2 = 12.8, P = 0.01$),两组在纤维化水平上存在差异,其中合并脂肪变性组的纤维化程度较低($\chi^2 = 5.364, P = 0.021$),两组在炎症程度,病毒载量及血糖和酒精因素方面未见差异(表3)。在肝纤维化程度与相关危险因素的多线性回归中,以纤维化分级为因变量,以性别、年龄、民族、炎症、脂肪沉积、糖尿病、饮酒、HbeAg阴性、尿酸、甘油三酯、低密度脂蛋白、胆固醇、病毒载量为自变量的多线性回归显示,回归方程的拟合优度R²为0.506,回归方程的显著性检验统计量F为20.044, $P<0.001$,提示所拟回归方程有统计学意义。如表4所示,年龄、炎症、酒精因素、HBeAg阴性状态是肝脏纤维化进展的独立危险因素($P<0.05$),而脂肪沉积与纤维化呈现负相关,即肝脏纤维化程度较重,脂肪沉积越轻。而高脂血症及相关代谢性因素与纤维化水平均无关联,本组研究中病毒载量也未提示与肝纤维化的关系。

3 讨论

肝硬化是终末期肝病的一种,在我国绝大多数肝硬化由慢性乙型肝炎发展而来,肝纤维化是

表 2 单纯慢性乙型肝炎与慢性乙型肝炎合并脂肪变的患者在相关指标的差异

	<i>n</i>	男/女	年龄(岁)	腰围 (cm)	尿酸 (μmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	低密度脂蛋白 (mmol/L)	胆固醇 (mmol/L)
A组	172	98/74	37.79 ± 10.21	80.1 ± 7.8	275.57 ± 74.00	1.13 ± 0.65	2.29 ± 0.60	3.97 ± 0.79
B组	103	80/23	39.35 ± 8.89	84.2 ± 9.9	325.05 ± 98.32	1.68 ± 1.03	2.70 ± 0.77	4.30 ± 0.83
<i>P</i> 值			0.201	0.03	0.001	0.001	0.001	0.02

A组: 单纯慢性乙型肝炎组; B组: 慢性乙型肝炎合并脂肪变性组。

表 3 单纯慢性乙型肝炎与慢性乙型肝炎合并脂肪变的患者的肝脏病变特点及相关危险因素

	A组	B组	χ^2 值	<i>P</i> 值
<i>n</i>	172	103		
男/女 <i>n</i> (%)	98/74	80/23	12.8	0.01
G0	4(2.3)	3(2.9)		
G1	95(55.2)	52(50.5)		
G2	52(30.2)	42(40.8)	0.102	0.749
G3	21(12.2)	6(5.8)		
S0	34(19.8)	27(26.2)		
S1	64(37.2)	46(44.7)		
S2	34(19.8)	16(15.5)	5.364	0.021
S3	28(16.3)	10(9.7)		
S4	12(7)	4(3.9)		
HBeAg(+/-)	69/103	42/61	0.012	0.914
病毒载量(低/高)	73/99	44/59	0.02	0.964
血糖异常 <i>n</i> (%)	8(4.7)	8(7.8)	2.562	0.119
超质量 <i>n</i> (%)	22(12.79)	28(27.18)	1.17	0.02
饮酒 <i>n</i> (%)	46(26.7)	31(30.1)	0.359	0.549

A组: 单纯慢性乙型肝炎组; B组: 慢性乙型肝炎合并脂肪变性组。

应用要点

对于慢性乙型肝炎合并脂肪变性的患者来说, 由于其脂肪变性程度会随着纤维化的加重而减轻, 所以当我们面对此类患者时, 若其脂肪变减轻, 我们需考虑纤维化进展的可能性, 并及早予以干预。对于相关危险因素, 如饮酒, 需及时告知患者禁酒的重要意义。

慢性肝炎进展到肝硬化的必有阶段, 纤维化程度是肝硬化发生的独立预测危险因素, 因此探讨纤维化的危险因素有助于早起预测肝硬化风险。且本组数据中, 合并脂肪变性的患者为103人, 所占的比例达到37.5%, 此结果与Altıparmak等^[11]的结果相符合。单纯慢性乙型肝炎与慢性乙型肝炎合并脂肪变组在相关代谢性指标, 包括体质指数、腰围、尿酸、甘油三酯、低密度脂蛋白、胆固醇指标上存在显著性提示肝脏脂肪沉积主要与患者代谢性因素有关, 而与乙型肝炎病毒本身无关。两组初治患者在DNA水平高低, HBeAg表达, 血糖水平上并不存在显著性差异。我们所有患者中有77例存在酒精因素, 其中只有5例达到酒精性肝病诊断标准, 酒精性肝病的概念是指连续饮酒5年以上, 男日均>20 g纯酒精; 女日均>10 g纯酒精, 在这种状况下可引起酒精性肝病。通过 χ^2 检验我们发现合并饮酒的

人群中, 酒精并不改变肝脏脂肪沉积的量, 合并酒精因素也没有增加肝脏脂肪变性比例, 肝脏的脂肪变主要与慢性乙型肝炎患者合并的血脂异常, 肥胖, 胰岛素抵抗因素相关。因此我们提出代谢紊乱是CHB患者肝细胞脂肪变发生的主要原因, 这也与施军平等的研究相符^[12,13]。我们这组数据中显示; 慢性乙型肝炎患者合并脂肪沉积时两组之间炎症水平没有改变, 脂肪沉积并没有改变炎症或者增加炎症程度。而炎症时众所周知的存进肝纤维化进展的独立危险因素, 回归分析中我们发现: 年龄, e抗原阴性都是肝纤维化加重的危险因素, 这点我们考虑在临床上这两个因素往往代表着慢性乙型肝炎病程的长短, 乙型肝炎病程越长, 纤维化程度越重, 这与相关报道相一致^[14]。炎症水平是代表肝纤维化进展的重要因素, 在我们这组数据中炎症仍是肝脏纤维化进展的最主要的独立危险因素, 这同

■同行评价

本文分析了275例肝穿病理结果,探讨了慢性乙型肝炎及脂肪变性等相关危险因素,具有一定的实用价值。

表 4 各危险因素对肝脏纤维化影响的回归分析 ($n = 275$)

变量	偏回归系数	标准误	标准偏回归系数	t 值	P 值
常数项	-0.531	0.388	-	-1.370	0.172
性别	0.086	0.137	0.036	0.623	0.534
年龄	0.019	0.005	0.165	3.512	0.001
民族	0.010	0.165	0.003	0.062	0.951
炎症	1.007	0.074	0.630	13.538	0.000
脂肪沉积	-0.304	0.113	-0.131	-2.689	0.008
糖尿病	0.158	0.225	0.032	0.705	0.482
饮酒	0.141	0.125	0.057	1.127	0.026
HbeAg(-)	0.175	0.124	0.076	1.413	0.049
尿酸	0.000	0.001	-0.023	-0.388	0.698
甘油三酯	0.060	0.074	0.046	0.809	0.419
低密度脂蛋白	-0.083	0.084	-0.051	-0.985	0.326
胆固醇	-0.056	0.063	-0.049	-0.896	0.371
病毒载量	0.064	0.122	0.028	0.522	0.602

样和既往的研究相一致。我们前面介绍过合并酒精因素虽然没有增加肝脏脂肪变性,多元回归显示,酒精因素显著性加重了慢性乙型肝炎患者的纤维化程度,我们这组慢性乙型肝炎人群仅5人达到酒精性肝病标准,这提示慢性乙型肝炎患者尽管是少量饮酒,同样也会促进肝纤维化进展^[15]。其导致损害的量可能小于目前的公认标准,但确切剂量无报道,因此对于此类患者需坚决禁酒。在这里需要特别提出的是脂肪沉积水平和纤维化水平的负相关,也就是说,随着肝纤维化程度越重,脂肪沉积量越少,我们认为脂肪变不能被简单的理解为是肝脏纤维化的保护性因素,而因考虑到脂肪沉积会随着炎症进展而减少,这一因素的进一步研究是非常必要的。

综上所述,乙型肝炎、酒精、代谢性因素混杂的慢性乙型肝炎患者,其e抗原阴性、年龄、炎症程度和酒精都是这类患者肝纤维化进展的独立危险因素;即使酒精未达标,仍可加重患者的肝纤维化水平,但酒精因素并不参与肝脏内脂肪沉积量的改变。纤维化水平与脂肪沉积负相关,但不能认为脂肪变是肝纤维化的保护性因素,而是随着纤维化的进展导致脂滴消失。所以慢性乙型肝炎患者合并脂肪变时是否促进纤维化的发展有待于进一步的研究。我们这组基于病理学和临床资料的分析为临床慢性乙型肝炎、酒精、脂代谢紊乱相关的这类患者的疾病转归提供了有益的提示。

4 参考文献

- 1 Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic

fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]

- 2 施军平, 范建高, 武瑞, 高晓倩, 张莉, 王浩. 慢性乙型肝炎患者肝细胞脂肪变的发生率及其危险因素分析. *中华肝脏病杂志* 2008; 16: 519-523
- 3 Torres DM, Harrison SA. Nonalcoholic steatohepatitis and noncirrhotic hepatocellular carcinoma: fertile soil. *Semin Liver Dis* 2012; 32: 30-38 [PMID: 22418886 DOI: 10.1055/s-0032-1306424]
- 4 Kawamura Y, Arase Y, Ikeda K, Seko Y, Imai N, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Sezaki H, Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, Ohmoto Y, Amakawa K, Tsuchi H, Kumada H. Large-scale long-term follow-up study of Japanese patients with non-alcoholic Fatty liver disease for the onset of hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 253-261 [PMID: 22008893 DOI: 10.1038/ajg.2011.327]
- 5 Imazeki F, Yokosuka O, Fukai K, Kanda T, Kojima H, Saisho H. Prevalence of diabetes mellitus and insulin resistance in patients with chronic hepatitis C: comparison with hepatitis B virus-infected and hepatitis C virus-cleared patients. *Liver Int* 2008; 28: 355-362 [PMID: 18290778 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2007.01630.x]
- 6 刘顺庆, 朱晓骏, 孙学华, 李曼, 高月求. ALT轻度升高的HBeAg阳性和阴性慢性乙型肝炎患者肝组织病理学特点. *中华肝脏病杂志* 2012; 20: 348-352
- 7 杨创国, 于乐成, 陈金军, 孙剑, 郭亚兵, 骆抗先, 朱幼芙, 侯金林. 1686例慢性乙型肝炎中HBeAg阴性与阳性患者临床和病毒学特点比较分析. *中华内科杂志* 2005; 44: 648-651
- 8 厉有名. 非酒精性脂肪性肝病的流行病学和自然史特征. *内科理论与实践* 2008; 3: 8-12
- 9 中华医学会肝病学分会, 感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. *中华肝脏病杂志* 2005; 13: 881-891
- 10 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病组. 酒精性肝病诊断标准. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 161-163
- 11 Altıparmak E, Koklu S, Yalinkilic M, Yuksel O, Cicek B, Kayacetin E, Sahin T. Viral and host causes of fatty liver in chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3056-3059 [PMID: 15918189]
- 12 施军平, 范建高, 武瑞, 张丽, 荀运浩, 姜国强. 102例慢性乙型肝炎肝细胞脂肪变患者肝纤维化进展的研究.

- 中华临床感染病杂志 2008; 1: 73-76
- 13 Vilacosta I, San Roman JA, Roca V. Eustachian valve endocarditis. *Br Heart J* 1990; 64: 340-341 [PMID: 2245118]
- 14 范慧敏, 张春兰, 应若素. 慢性乙型肝炎患者肝脏病理特点与血清HBeAg和HBV-DNA的关系. *中华实验和临床病毒学杂志* 2008; 22: 130-132
- 15 牛凤丽, 洪尚游, 万谟彬. 饮酒对慢性乙型病毒性肝炎患者肝脏炎症和纤维化的病理影响. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2610-2612

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)

超声内镜引导细针穿刺诊断肝尾状叶肿瘤4例

许东强, 丁祥武, 王道蓉, 高山, 王玮, 田爱霞, 张勤

■背景资料

超声内镜已迅速发展为一种消化系统、肝胆系统及其他结构的良恶性病变诊断和分期的重要手段。内镜超声引导下细针穿刺活检(EUS-FNA)已经成为胃肠道管壁及周围器官疾病诊治的必备手段。

许东强, 丁祥武, 王道蓉, 高山, 王玮, 田爱霞, 襄阳市中心医院消化内科 湖北省襄阳市 441021

张勤, 襄阳市中心医院病理科 湖北省襄阳市 441021

许东强, 副主任医师, 主要从事消化内镜和消化系统疾病的临床研究。

襄阳市科技孵化与引导计划基金资助项目, No. 2009GG3C02
作者贡献分布: 此课题由许东强与丁祥武设计; 超声内镜引导下细针穿刺由丁祥武完成; 病理学检查由张勤完成; 资料收集与整理由许东强、王道蓉、高山、王玮及田爱霞完成; 论文写作由丁祥武与许东强完成。

通讯作者: 丁祥武, 副主任医师, 441021, 湖北省襄阳市襄城区荆州街39号, 襄阳市中心医院(湖北文理学院附属医院)消化内科。xwding@hotmail.com

电话: 0710-3524237

收稿日期: 2013-01-06 修回日期: 2013-01-18

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of hepatic caudate lobe malignancy: Report of 4 cases

Dong-Qiang Xu, Xiang-Wu Ding, Dao-Rong Wang, Shan Gao, Wei Wang, Ai-Xia Tian, Qin Zhang

Dong-Qiang Xu, Xiang-Wu Ding, Dao-Rong Wang, Shan Gao, Wei Wang, Ai-Xia Tian, Department of Gastroenterology, Xiangyang Central Hospital, Xiangyang 441021, Hubei Province, China

Qin Zhang, Department of Pathology, Xiangyang Central Hospital, Xiangyang 441021, Hubei Province, China

Supported by: the Incubation and Guidance Project of Xiangyang Science and Technology Commission, No. 2009GG3C02

Correspondence to: Xiang-Wu Ding, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Xiangyang Central Hospital (Affiliated Hospital of Hubei College of Arts and Sciences), Xiangyang 441021, Hubei Province, China. xwding@hotmail.com

Received: 2013-01-06 Revised: 2013-01-18

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To investigate the diagnostic value of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration (EUS-FNA) in the detection of hepatic caudate lobe masses.

METHODS: Clinical data for four patients with hepatic malignancy (three males and one female, aged 50 to 69 years) were retrospectively analyzed. The diagnostic accuracy of EUS-FNA was assessed by cell smear and histological exami-

nation. All patients were closely monitored for complications after EUS-FNA.

RESULTS: Nine solid lesions were aspirated (4 in the caudate lobe, 1 in the left lobe, 2 in the pancreatic head, 1 in the hilar lymph node, and 1 in the retroperitoneal lymph node). All aspirates (9/9) were available for cell smear and 88.9% (8/9) for histological analysis. The diagnosis rates of cell smear and HE staining were 100% (9/9) and 100% (8/8), respectively. All 4 patients were diagnosed with hepatic malignancy (2 cases of primary liver cancer and 2 cases of liver metastasis from pancreatic cancer). No obvious complications were observed in all patients.

CONCLUSION: Given the relationship between hepatic caudate lobe and the cardia in topographic anatomy, EUS allows for easily scanning enlarged porta hepatis and retroperitoneal lymph nodes simultaneously and guiding FNA. EUS and EUS-FNA have important clinical value in the diagnosis of hepatic caudate lobe tumors.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration; Hepatic caudate lobe; Malignancy

Xu DQ, Ding XW, Wang DR, Gao S, Wang W, Tian AX, Zhang Q. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of hepatic caudate lobe malignancy: Report of 4 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 700-704 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/700.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.700>

摘要

目的: 复习肝脏尾状叶肿瘤的病例资料, 评价超声内镜引导下细针穿刺肝尾状叶对恶性肿瘤的诊断价值。

方法: 4例患者其他影像学检查发现肝脏占位, 并行相应的辅助检查。总结其主要临床特点。肝脏尾状叶占位和相关部位行EUS-FNA, 穿刺物行细胞学检查和组织学检查。内镜超声在食管胃连接处探头指向右侧扫查到肝尾状叶, 穿刺肝尾状叶。

■同行评议者

刘海峰, 主任医师, 北京市武警总医院消化科

结果: 4例患者, 男3例, 女1例, 年龄50岁-69岁。穿刺9个部位(肝尾状叶4, 肝左叶1, 胰腺2, 肝门淋巴结1, 腹膜后淋巴结1)。9个穿刺部位中, 肝门部淋巴结未获得足够的组织学标本, 仅作细胞学涂片诊断腺癌转移; 其他8个病灶均获得足够的组织学标本进行细胞学涂片和组织学检查, 均获得明确的病理学诊断和临床诊断。所有患者均未出现并发症。诊断胰头癌并肝转移2例, 胆管细胞癌并肝门淋巴结转移1例, 原发性肝癌并腹腔转移1例。

结论: 内镜超声在食管胃连接处探头指向右侧可非常容易扫查到肝尾状叶, 行内镜超声引导下细针穿刺路径短, 可精准穿刺到肝尾状叶的占位, 安全性高, 内镜超声引导下细针穿刺肝尾状叶肿瘤有重要的临床价值。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 超声内镜引导细针穿刺术; 肝尾状叶; 恶性肿瘤

许东强, 丁祥武, 王道蓉, 高山, 王伟, 田爱霞, 张勤. 超声内镜引导细针穿刺诊断肝尾状叶肿瘤4例. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 700-704 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/700.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.700>

0 引言

肝癌是临床最常见的恶性肿瘤之一。近年影像学 and 血清学标志物的进展迅速, 许多肝脏恶性肿瘤可获得临床诊断^[1], 但肝脏细针穿刺活检仍然是可疑肝脏肿瘤确诊的关键手段^[2]。比如对肝硬化患者的影像学监测发现小病灶, 然后作细针穿刺活检, 如能早期诊断肝细胞癌, 就能早期治疗; 再如, 对于疑诊肝癌尤其可能不能耐受手术的患者, 作肝脏细针穿刺进行鉴别诊断和准确分期, 有助于制定良好的治疗计划^[3]。获得肝脏病理学标本的方法中, 以CT或超声引导经皮细针穿刺最为常用, 效果好、花费少^[3], 但是经皮穿刺获得深部肝脏占位难度大、风险高。内镜超声扫查深部肝脏有一定优势, 如肝尾状叶位置深在, 其膈面呈左前至右后走行、后依膈, 此面的左侧与食管腹段及胃底紧邻^[4], 内镜超声在食管胃连接处探头指向右侧可非常容易扫查到肝尾状叶, 行内镜超声引导下细针穿刺路径短, 可精准穿刺到肝尾状叶的占位, 安全性大。我院近期4例肝尾状叶肿瘤进行超声内镜引导下细针穿刺, 现报道如下, 并复习相关文献。

1 材料和方法

1.1 材料 对2009-10/2012-05因肝尾状叶占位行EUS-FNA的患者进行复习。患者其他影像学(CT、MRI或经腹部B超)检查发现肝脏占位, 并行相应的辅助检查。EUS-FNA前常规行血常规、凝血功能和乙型肝炎表面抗原检查以及相关评估, 确定无内镜检查和穿刺的禁忌证。术者向患者详细介绍了穿刺术的目的、方法、过程、可能出现的并发症及处理措施等, 患者均签署知情同意书。Pentax EG 3830UT超声内镜、3500内镜主机和HITACHI 5500超声主机, 22 G穿刺针选用Olympus NA-200H-8022。

1.2 方法

1.2.1 穿刺方法: 术中内镜超声监控, 穿刺肝尾状叶时探头置于食管胃连接处, 肝门淋巴结和肝胃间占位部位在胃体近端, 胰头穿刺部位在十二指肠。细针从活检孔道快速刺入病灶, 穿刺时注意拉直镜身。各部位穿刺2-3次, 穿刺不用针芯, 10 mL负压, 每次在病灶内反复提插约50下, 以穿刺者认为标本量足够为准。有两个病灶时, 先穿刺疑诊的转移病灶, 再穿刺原发灶。

1.2.2 标本处理: 每次的穿刺物立即用针芯或注射器推出后置于玻片上, 随后即刻在玻片上各涂片3张, 自然干燥, 送病理科细胞室, 行瑞-姬复合染色, 20 min后阅片。条索样物用福尔马林固定, 送病理科, 石蜡包埋、切片, 行HE染色, 如切片量足够, 根据标本的来源和HE染色结果行相关免疫组织化学实验。细胞学涂片和组织学各由2名病理医师阅片, 并达成共识。细胞学涂片和组织学任一项有恶性的证据定义为病理学确诊为恶性。

1.2.3 术后处理及随访: 患者予静脉注射抗生素2 d, 术后第1、3和5天随访, 了解有无并发症。随访过程中详细记录小并发症(咽痛、轻微腹痛)及大并发症(发热、消化系大出血、局部血肿、消化系穿孔、急性胰腺炎等)发生情况。

2 结果

本组病例中男3例, 女1例; 病理学均确诊, 其中原发性肝细胞癌1例, 胆管细胞癌1例, 胰腺癌肝转移2例。均在丙泊酚静脉麻醉后行EUS-FNA, 穿刺9个部位(肝尾状叶4, 肝左叶1, 胰腺2, 肝门1, 肝胃间隙1)。4例患者均未发生并发症。9个穿刺部位中, 肝门部淋巴结未获得足够的组织学标本, 作细胞学涂片诊断腺癌转移; 其余8个病灶均获得满意的组织学标本, 标本为较多的线

■ 研究前沿

肝尾状叶位置深在, 局部解剖复杂, 经皮肝穿刺路径长, 风险巨大。从毗邻解剖观察, 其膈面呈左前至右后走行, 后依膈, 此面的左份尚与食管腹段及胃底紧邻。因此内镜超声在食管胃连接处探头指向右侧可非常容易扫查到肝尾状叶, 行内镜超声引导下细针穿刺路径短, 可精准穿刺到肝尾状叶的占位。

■相关报道

最近发表的欧洲消化内镜学会临床指南指出EUS-FNA用于肝脏实性肿块穿刺是安全的,并推荐以下情况进行EUS-FNA:如果病理学结果证实为恶性可能影响治疗决策,并且经皮FNA比较困难或EUS检查时发现肝脏新病灶或此前已经皮FNA未能明确诊断。EUS-FNA是获得肝左叶、尾状叶和部分肝右叶等部位病灶组织学标本的最佳方法。

表 1 接受超声内镜引导下细针穿刺患者的主要特点

序号	性别	年龄	主要病例特点	EUS-FNA和病理学结果	诊断
1	男	69	上腹疼痛3 mo. 体检无特殊异常. 辅检: ALP 472 U/L, TBil 8.4 μ mol/L, GGT 1 284 U/L, ALT 255 U/L, ASL 105 U/L, Glu 11.5 mmol/L, CA19-9>1 200 U/mL, AFP 6.8 ng/mL. 上腹部MRI和CT: 胰头占位(直径约30 mm), 胰管和胆总管上段扩张, 肝内多发结节	(1)胰头细胞学腺癌, 组织学黏液腺癌; (2)肝尾状叶约13 mm中等回声: 细胞学和组织学: 转移性腺癌	胰头癌并肝转移
2	女	54	上腹部不适2 mo伴皮肤巩膜黄染. 辅检: ALP 672 U/L, TBil 185.3 μ mol/L, DBil 114.6 μ mol/L, GGT 2 140 U/L, ALT 276 U/L, AST 156 U/L, Glu 11.28 mmol/L, CEA 7.8 ng/mL, CA19-9 > 1 200.00 U/mL. 上腹部CT: 胰头占位(45 mm不规则低回声包绕肠系膜上静脉)合并胰管、上段胆总管扩张并胆汁淤积, 肝内多发结节	(1)胰头细胞学腺癌, 组织学黏液腺癌; (2)肝尾状叶16 mm细胞学和组织学: 转移性腺癌	胰头癌并肝转移
3	男	50	皮肤黄染半月伴皮肤瘙痒. 查体: 神清, 生命体征稳定, 全身皮肤巩膜黄染, 余无特殊异常. 辅检: AFP 5.9 ng/mL, ALP 531 U/L, TBil 204.8 μ mol/L, DBil 132.8 μ mol/L, GGT 765 U/L, AFP 8.9 ng/mL, ALT 97 U/L, AST 76 U/L, HbsAg(-). 超声内镜: 肝脏多发性占位; 肝门、胰头、左肾低回声占位	(1)肝尾状叶15 mm和肝左叶17 mm中等回声: 细胞学腺癌; 组织学胆管细胞癌; (2)肝门淋巴结细胞学: 腺癌	胆管细胞癌并肝门淋巴结转移, 胰头和左肾转移可能
4	男	55	乙型肝炎3年, 发现肝内占位3 d. 辅检: ALP 299 U/L, TBil 23.6 μ mol/L, DBil 10.6 μ mol/L, GGT 351 U/L, ALT 50 U/L, AST 71 U/L, AFP 697.39 ng/mL, CEA 6.65 ng/mL. CT: (1)肝硬化, 肝内多发性低密度灶; (2)肝脾间隙巨大软组织肿块; (3)双肺多发转移性病变	(1)肝尾状叶20 mm低回声细胞学和组织学: 原发性肝癌; (2)肝胃间占位细胞学和组织学: 腺癌	乙型肝炎, 肝硬化, 原发性肝癌并腹腔和肺转移

AKP: 碱性磷酸酶; TBil: 总胆红素; DBil: 直接胆红素; GGT: 谷氨酰转氨酶; ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 天门冬氨酸转氨酶; Glu: 葡萄糖; CA19-9: 糖链抗原19-9; AFP: 甲胎蛋白。

条样组织和少许血性物。4位患者的临床和病理学特点见表1。

3 讨论

近年来关于细针穿刺(fine needle aspiration, FNA)诊断肝癌的价值有争论^[2,5,6]。影像学检查(CT/MRI)的进展迅速, 诊断原发性肝癌的准确率、敏感性和特异性分别达到99.6%、100%和98.9%^[7], 无疑削减了常规的病理学确诊的需要。争论较多的问题是穿刺针道导致种植转移和血行转移的风险^[8-10], 可能使一个可手术切除的患者转变为有转移灶状态。另外对于分化良好的小病灶, 穿刺活检病理学的诊断也常常困难^[11,12]。这些原因使得有些人为了规避FNA的缺点, 不推荐术前FNA, 而只作影像学检查。但影像学诊断一旦为假阳性, 患者就可能接受不必要的外科手术甚至无效的肝移植^[7]。对于是否应选择FNA, Schölmerich等^[13]认为需要回答以下问题: (1)活检方法的优势以及是否为最佳的选择; (2)该方

法的危险性以及是否可影响后续治疗; (3)活检是否能改变预后。CT或US引导经皮FNA是最常用的方法。也可在剖腹术或腹腔镜术中直视活检。经皮FNA病理诊断肝脏恶性肿瘤的敏感性约90%(67%-100%), 特异性为100%^[5,14,15]。影响结果的因素有: 病灶的大小部位和影像学特点、穿刺方法、盲穿或引导下穿刺、穿刺次数、术者的技巧、细胞学涂片的质量、联合细胞学和组织学检查以及相关分子水平的辅助检测、病理科医生的经验等。一项大样本的研究中, 肝脏恶性肿瘤FNA的阳性预测值为100%, 阴性预测值为59.1%, 病理学确诊率为92.4%, 几乎无假阳性^[5]。

超声内镜引导细针穿刺术(EUS-FNA)安全、准确、适用范围广, 但需要术者丰富的经验和技巧^[16]。有多篇文献报道用EUS和FNA用于诊断原发性肝癌、肝门部胆管癌、肝左叶转移灶, 敏感性从82%-94%, 阳性预测值达到100%^[17-24], 并能使肝脏肿瘤的分期更精确^[25]。对于CT/MRI未能发现的小且深在的肝左叶病灶

或经皮穿刺路径很长而不能穿刺部位的病灶, EUS-FNA有肯定的优势^[23]. 这些报道穿刺的病灶在肝脏左叶和部分右叶, 而对于肝尾状叶的穿刺未特别指出. 最近发表的欧洲消化内镜学会临床指南^[16]指出EUS-FNA用于肝脏实性肿块穿刺是安全的, 并推荐以下情况进行EUS-FNA: 如果病理学结果证实为恶性可能影响治疗决策, 并且经皮FNA比较困难或EUS检查时发现肝脏新病灶或此前已经皮FNA未能明确诊断.

本文中4例患者内镜超声引导细针穿刺肝尾状叶肿瘤均获得了满意的诊断. 本文中EUS-FNA同时作胰腺和肝脏病灶穿刺, 一次操作同时确诊了胰腺原发灶和肝脏转移灶. 原发性肝癌主要通过血行转移, 淋巴结转移的病例有少见的报道^[26], 本文中有1例原发性肝癌肝门淋巴结转移. 需要注意的是, 如果对疑诊为恶性肿瘤的患者进行FNA, 如果有多个病灶, 为了避免针道转移, 穿刺的顺序应为怀疑转移的最远病灶开始到原发病灶.

本文所用的穿刺针为22 G. 有人常有疑问22 G穿刺针能否获得足够的标本作细胞学涂片和组织病理学检查. 本文9个病灶中, 有8个病灶获得满意的线条样组织学标本, 血性物少. EUS-FNA时, 所用负压、穿刺的次数、提插的速度和次数、标本的处理方法以及涂片的质量对诊断结果均有影响. 我们的经验是, 肝脏、胰腺或淋巴结FNA时, 用10 mL负压、每次穿刺时快速的提插约50下, 基本上能获得很好的组织条, 并且血性物少. 另外穿刺获得的血性物可能对组织量少的组织病理学诊断有影响, 标本处理前应用纱布沾去血性物, 留下的线样组织再作细胞学涂片和固定.

肝脏FNA的并发症少见. 并发症包括: 腹腔内出血、针道种植、所谓的穿刺过程导致的血行播散引起肿瘤复发、增加肝移植术后复发率以及少见的致命性并发症等^[8-10]. 争论最多的并发症是罕见的针道种植, 检测到种植的证据和活检的间隔时间从数月^[8-10]到3年^[8-10], 而这个时间往往长于肝癌患者的生存时间. 本文中4例患者近期均未出现并发症.

总之, 内镜超声在食管胃连接处探头指向右侧可非常容易扫描到肝尾状叶, 行内镜超声引导下细针穿刺路径短, 可精准穿刺到肝尾状叶的占位, 有重要的临床价值. 本文中例数较少, 穿刺手法和标本处理的技巧需要在临床实践中不断总结, 有待更多病例的研究进一步深入探讨.

4 参考文献

- Di Martino M, De Filippis G, De Santis A, Geiger D, Del Monte M, Lombardo CV, Rossi M, Corradini SG, Mennini G, Catalano C. Hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients: prospective comparison of US, CT and MR imaging. *Eur Radiol* 2012 Nov 18. [Epub ahead of print] [PMID: 23179521]
- Fassina A. 'The map is not the territory': FNA the map and liver the territory. *Cytopathology* 2011; 22: 285-286 [PMID: 21923726 DOI: 10.1111/j.1365-2303.2011.00928.x.]
- Wee A. Fine needle aspiration biopsy of hepatocellular carcinoma and hepatocellular nodular lesions: role, controversies and approach to diagnosis. *Cytopathology* 2011; 22: 287-305 [PMID: 21762411 DOI: 10.1111/j.1365-2303.2011.00882.x.]
- Abdalla EK, Vauthey JN, Couinaud C. The caudate lobe of the liver: implications of embryology and anatomy for surgery. *Surg Oncol Clin N Am* 2002; 11: 835-848 [PMID: 12607574 DOI: 10.1016/S1055-3207(02)00035-2]
- Wang P, Meng ZQ, Chen Z, Lin JH, Ping B, Wang LF, Wang BH, Liu LM. Diagnostic value and complications of fine needle aspiration for primary liver cancer and its influence on the treatment outcome-a study based on 3011 patients in China. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 541-546 [PMID: 17764885 DOI: 10.1016/j.ejso.2007.07.013]
- Caturelli E, Solmi L, Anti M, Fusilli S, Roselli P, Andriulli A, Fornari F, Del Vecchio Blanco C, de Sio I. Ultrasound guided fine needle biopsy of early hepatocellular carcinoma complicating liver cirrhosis: a multicentre study. *Gut* 2004; 53: 1356-1362 [PMID: 15306600 DOI: 10.1136/gut.2003.032359]
- Torzilli G, Minagawa M, Takayama T, Inoue K, Hui AM, Kubota K, Ohtomo K, Makuuchi M. Accurate preoperative evaluation of liver mass lesions without fine-needle biopsy. *Hepatology* 1999; 30: 889-893 [PMID: 10498639 DOI: 10.1002/hep.510300411]
- Durand F, Regimbeau JM, Belghiti J, Sauvanet A, Vilgrain V, Terris B, Moutardier V, Farges O, Valla D. Assessment of the benefits and risks of percutaneous biopsy before surgical resection of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2001; 35: 254-258 [PMID: 11580148 DOI: 10.1016/S0168-8278(01)00108-8]
- Stigliano R, Marelli L, Yu D, Davies N, Patch D, Burroughs AK. Seeding following percutaneous diagnostic and therapeutic approaches for hepatocellular carcinoma. What is the risk and the outcome? Seeding risk for percutaneous approach of HCC. *Cancer Treat Rev* 2007; 33: 437-447 [PMID: 17512669 DOI: 10.1016/j.ctrv.2007.04.001]
- Tung WC, Huang YJ, Leung SW, Kuo FY, Tung HD, Wang JH, Hung CH, Lee CM, Changchien CS, Yeh SA, Sun LM, Huang EY, Hsu HC, Wang CJ, Lu SN. Incidence of needle tract seeding and responses of soft tissue metastasis by hepatocellular carcinoma postradiotherapy. *Liver Int* 2007; 27: 192-200 [PMID: 17311613 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01399.x]
- de Boer WB, Segal A, Frost FA, Sterrett GF. Cytopathology of well differentiated hepatocellular carcinoma: can indeterminate diagnoses be reduced? *Cancer* 1999; 87: 270-277 [PMID: 10536352 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(19991025)87:5<270::AID-CNCR6>3.0.CO;2-L]
- Wee A, Nilsson B. Highly well differentiated hepatocellular carcinoma and benign hepatocellular lesions. Can they be distinguished on fine needle

■创新盘点

有多篇文献报道用EUS和FNA用于诊断原发性肝癌、肝门胆管癌、肝左叶转移灶, 效果好, 并能使肝脏肿瘤的分期更精确. 对于CT/MRI未能发现的小且深在的肝左叶病灶或经皮穿刺路径很长而不能穿刺部位的病灶, EUS-FNA有肯定的优势. 这些报道穿刺的病灶在多为肝脏左叶和部分右叶, 而对于肝尾状叶的穿刺未特别指出.

同行评价

本文可读性较好, 有一定的技术创新性, 为诊断肝脏尾状叶肿瘤尝试了一种新的方法, 对临床工作具有一定的指导意义。

- 13 Schölmerich J, Schacherer D. Diagnostic biopsy for hepatocellular carcinoma in cirrhosis: useful, necessary, dangerous, or academic sport? *Gut* 2004; 53: 1224-1226 [PMID: 15306574 DOI: 10.1136/gut.2004.040816]
- 14 Hertz G, Reddy VB, Green L, Spitz D, Massarani-Wafai R, Selvaggi SM, Kluskens L, Gattuso P. Fine-needle aspiration biopsy of the liver: a multicenter study of 602 radiologically guided FNA. *Diagn Cytopathol* 2000; 23: 326-328 [PMID: 11074627 DOI: 10.1002/1097-0339(200011)23:5<326::AID-DC8>3.0.CO;2-1]
- 15 Kuo FY, Chen WJ, Lu SN, Wang JH, Eng HL. Fine needle aspiration cytodiagnosis of liver tumors. *Acta Cytol* 2004; 48: 142-148 [PMID: 15085744 DOI: 10.1159/000326307]
- 16 Dumonceau JM, Polkowski M, Larghi A, Vilman 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]
- 17 Nguyen P, Feng JC, Chang KJ. Endoscopic ultrasound (EUS) and EUS-guided fine-needle aspiration (FNA) of liver lesions. *Gastrointest Endosc* 1999; 50: 357-361 [PMID: 10462656 DOI: 10.1053/ge.1999.v50.97208]
- 18 Fritscher-Ravens A, Broering DC, Sriram PV, Topalidis T, Jaeckle S, Thonke F, Soehendra N. EUS-guided fine-needle aspiration cytodiagnosis of hilar cholangiocarcinoma: a case series. *Gastrointest Endosc* 2000; 52: 534-540 [PMID: 11023576 DOI: 10.1067/mge.2000.109589]
- 19 Awad SS, Fagan S, Abudayyeh S, Karim N, Berger DH, Ayub K. Preoperative evaluation of hepatic lesions for the staging of hepatocellular and metastatic liver carcinoma using endoscopic ultrasonography. *Am J Surg* 2002; 184: 601-604; discussion 604-605 [PMID: 12488184 DOI: 10.1016/S0002-9610(02)01092-9]
- 20 DeWitt J, LeBlanc J, McHenry L, Ciaccia D, Imperiale T, Chappo J, Cramer H, McGreevy K, Chriswell M, Sherman S. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration cytology of solid liver lesions: a large single-center experience. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1976-1981 [PMID: 14499774]
- 21 Hollerbach S, Willert J, Topalidis T, Reiser M, Schmigel W. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy of liver lesions: histological and cytological assessment. *Endoscopy* 2003; 35: 743-749 [PMID: 12929021 DOI: 10.1055/s-2003-41593]
- 22 McGrath K, Brody D, Luketich J, Khalid A. Detection of unsuspected left hepatic lobe metastases during EUS staging of cancer of the esophagus and cardia. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1742-1746 [PMID: 16790035 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00665.x]
- 23 Singh P, Erickson RA, Mukhopadhyay P, Gopal S, Kiss A, Khan A, Ulf Westblom T. EUS for detection of the hepatocellular carcinoma: results of a prospective study. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 265-273 [PMID: 17543307 DOI: 10.1016/j.gie.2006.10.053]
- 24 Prachayakul V, Aswakul P, Kachintorn U. EUS guided fine needle aspiration cytology of liver nodules suspicious for malignancy: yields, complications and impact on management. *J Med Assoc Thai* 2012; 95 Suppl 2: S56-S60 [PMID: 22574530]
- 25 Singh P, Mukhopadhyay P, Bhatt B, Patel T, Kiss A, Gupta R, Bhat S, Erickson RA. Endoscopic ultrasound versus CT scan for detection of the metastases to the liver: results of a prospective comparative study. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 367-373 [PMID: 18981929 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318167b8cc]
- 26 Kimura H, Matsubayashi H, Fukutomi A, Asakura K, Sasaki K, Yamaguchi Y, Ono H. Lymph node metastasis diagnosed by EUS-FNA in four cases with hepatocellular carcinoma. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2011; 35: 237-240 [PMID: 21349785 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.01.002]

编辑 田滢 电编 闫晋利



自身免疫性胰腺炎患者胰腺外器官受累时的超声表现

张云飞, 欧国成, 王学梅

张云飞, 欧国成, 王学梅, 中国医科大学附属第一医院超声科 辽宁省沈阳市 110001

张云飞, 博士, 副主任医师, 主要从事腹部超声诊断的研究工作。
作者贡献分布: 本文由张云飞与王学梅设计; 病例收集及图像分析由张云飞、欧国成及王学梅共同完成; 病例整理及论文写作由张云飞完成; 王学梅进行修改。

通讯作者: 王学梅, 教授, 110001, 辽宁省沈阳市南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院超声科。wxm1mt@yahoo.com.cn
电话: 024-83282098

收稿日期: 2012-12-11 修回日期: 2013-01-19

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-03-18

Ultrasonographic findings of extrapancreatic lesions associated with autoimmune pancreatitis

Yun-Fei Zhang, Guo-Cheng Ou, Xue-Mei Wang

Yun-Fei Zhang, Guo-Cheng Ou, Xue-Mei Wang, Department of Ultrasound, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Correspondence to: Xue-Mei Wang, Professor, Department of Ultrasound, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning province, China. wxm1mt@yahoo.com.cn

Received: 2012-12-11 Revised: 2013-01-19

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To summarize ultrasonographic findings of extrapancreatic lesions associated with autoimmune pancreatitis (AIP).

METHODS: Sixteen patients with AIP underwent ultrasound examination of the pancreatic duct, bile duct, gall bladder, peripancreatic lymph nodes, kidneys, parotid glands, submandibular glands, and lacrimal glands to observe whether the pancreatic duct and bile duct were dilated, the gall bladder wall was thickened, peripancreatic lymph nodes were enlarged, echoes of the kidneys were evenly distributed, and the parotid glands, submandibular glands and lacrimal glands mimicked symptoms associated with Sjogren's syndrome.

RESULTS: Of 16 patients, 6 had dilated pancreatic ducts, 8 had dilated bile ducts, 6 had thickening of the gall bladder wall, and 3 had enlarged

peripancreatic lymph nodes. Of 10 patients who underwent examination of the parotid glands, submandibular glands, and lacrimal glands, one had abnormalities in the parotid glands, 3 in the submandibular glands, and 7 in the lacrimal glands.

CONCLUSION: Lacrimal gland abnormalities occur more usually in AIP patients, which may be useful for the differentiation of AIP from pancreatic cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatitis; Autoimmune diseases; Ultrasonography

Zhang YF, Ou GC, Wang XM. Ultrasonographic findings of extrapancreatic lesions associated with autoimmune pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 705-708 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/705.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.705>

摘要

目的: 探讨自身免疫性胰腺炎(autoimmune pancreatitis, AIP)患者胰腺外器官受累时的超声表现。

方法: 回顾性分析16例AIP患者的胰外组织器官超声表现, 包括胰管、胆管、胆囊、胰腺周围淋巴结、肾脏、腮腺、颌下腺及泪腺, 对声像图特点进行分析。观察胰管及胆管有无扩张, 胰腺周围是否存在肿大淋巴结, 肾脏回声是否均匀, 腮腺、颌下腺及泪腺是否存在类似干燥综合征样超声改变。

结果: 16例AIP患者均进行了胰管、胆管、胆囊、胰腺周围淋巴结、肾脏的检查, 分别有6、8、6、3、0例出现了超声异常, 10例进行了腮腺、颌下腺、泪腺检查, 分别有1、3、7例出现了超声异常。

结论: AIP患者泪腺改变的发生率高, 有可能在AIP与胰腺癌的鉴别诊断中具有重要的意义。

© 2013年版权归Baishideng所有。

■背景资料

自身免疫性胰腺炎(AIP)是一种特殊类型的胰腺炎, 是一种少见的疾病, 其概念由Yoshida于1995年首次提出, 国外报道占慢性胰腺炎患者的5%-6%。在我国, AIP没有具体的流行病学调查报告, 仅有个案报道, 这意味着绝大多数AIP被误诊和误治。许多临床医生对该病的认识不足, 常误诊为胰腺癌而采取不必要的手术治疗。

■同行评议者

郭晓钟, 教授, 中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

■研发前沿

自身免疫性胰腺炎的诊断需要多方面的资料支持,甚至单纯的穿刺活检都不能单独进行确诊,其与胰腺癌的鉴别诊断一直是研究的重点与热点。

关键词: 胰腺炎; 自身免疫疾病; 超声检查

张云飞, 欧国成, 王学梅. 自身免疫性胰腺炎患者胰腺外器官受累时的超声表现. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 705-708
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/705.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.705>

0 引言

自身免疫性胰腺炎(autoimmune pancreatitis, AIP)是一种自身免疫性疾病,其超声表现笔者已进行了总结^[1],单纯从胰腺的超声表现上很难与胰腺肿瘤进行鉴别.但作为一种系统疾病,其受累部位除胰腺外,还可累及胆管、胆囊、肾脏、腹后壁以及涎腺等.本文旨在通过对多器官组织的超声观察,探讨AIP与肿瘤可能的鉴别诊断方法.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2003-07/2011-01于我院就诊的AIP患者16例的胰外超声表现临床资料,其中女5例,年龄18-68岁,平均50.20岁±19.84岁,男11例,年龄33-85岁,平均59.27岁±18.12岁.

1.2 方法 AIP的诊断采用亚洲标准^[2],即: I 影像学(两条必备): (1)胰腺实质影像学: 腺体弥漫性/节段性/局灶性肿大,有时伴有包块和/或低密度带; (2)胰胆管影像学: 弥漫性/节段性/局灶性胰管狭窄,常伴有胆管狭窄. II 血清学(可仅具备1条): (1)血清高水平的IgG或IgG4; (2)自身抗体阳性. III 胰腺病变组织活检病理学: 淋巴浆细胞浸润伴纤维化,有大量IgG4阳性细胞浸润. 其中影像学两条为必备条件,血清学和组织学可仅具备其一; 当手术切除的胰腺标本组织学表现为淋巴浆细胞浸润伴纤维化时,也可作出AIP的诊断. IV 可选择标准: 对激素治疗的反应. 当患者仅满足条件 I, 且胰胆肿瘤检查指标均为阴性时,可在胰腺专家的指导下谨慎进行激素试验性治疗. 本次研究中13例经 I + II 确诊, 2例经 I + III 确诊, 1例经 I + IV 确诊.

16例患者的超声图片由超声工作站中导出,主要观察胰管及胆管是否有扩张,胆囊壁是否增厚,肾脏的形态结构及血流情况,腹后壁是否有肿大淋巴结,腮腺、颌下腺及泪腺是否肿大,回声是否均匀,是否存在网状回声. 所用彩色超声仪器包括Aloka α10, Philips IU22, Philips HDI5000, Toshiba aplio80, 均为中高档彩色超声诊断仪,图像质量各仪器间无明显差别. 腹部检查应用凸阵探头,频率3.5-5.0 MHz,浅表部位检

表 1 自身免疫性胰腺炎胰外器官组织受累 (n)

受累部位	受检患者	阳性患者
单纯胰管	16	3
单纯胆管	16	5
胰胆管	16	3
胆囊	16	6
胰周淋巴结	16	3
腮腺	10	1
颌下腺	10	3
泪腺	10	7

查应用线阵探头,频率7.5-13.0 MHz. 图像分析由2-3名副主任医师以上级别人员共同确认.

2 结果

由于为回顾性分析,早期对此疾病认识不足,部分病例并未进行所有器官组织检查,有6例未进行腮腺、颌下腺及泪腺的检查(表1).

当疾病累及胰管及胆管时表现为胰管、胆管的扩张,其既可表现为单纯的胰管或胆管扩张,也可表现为胰管与胆管同时扩张,胆管的胰头段及胰管的胰头段无扩张,间接反映了胰管和/或胆管狭窄的部位. 疾病累及胆囊时表现为胆囊壁增厚,增厚较均匀,同时伴有胆囊壁的回声减低.

16例患者的肾脏均无明显增大,被膜光滑,皮质髓质界限清晰,无明显回声增强或减低区,彩色血流显示良好,二维及彩色多普勒超声均未发现异常改变.

当疾病累及胰腺周围时表现为胰周淋巴结肿大,肿大之淋巴结呈椭圆形,形态规则,由于为低频超声扫描,淋巴结内部结构显示不清晰. 当疾病累及腮腺、颌下腺和/或泪腺时表现为腺体肿大,回声减低不均匀,呈网格样改变,酷似干燥综合征超声表现(表1, 图1, 2),腺体均为双侧受累.

3 讨论

目前认为AIP不是局限于胰腺的病变,而是全身自身免疫性病变在胰腺的表现,20%-50%的AIP伴有其他自身免疫性疾病,如干燥综合征、类风湿关节炎、炎症性肠病等,还可累及胰周腹膜后、肝外胆道、胆囊、肝脏、胃黏膜、淋巴结、肾脏、肺等组织脏器^[3].

AIP患者自身免疫性疾病累及胆管者约占68%-88%^[4-10],肝内外胆管均可受累,胆总管下

■相关报道

自身免疫性胰腺炎的诊断标准有很多,其中主要有美国标准、日本标准、韩国标准、意大利标准以及亚洲标准,其中亚洲标准是在2008年最新完善制定的,也是本文所采用的标准.

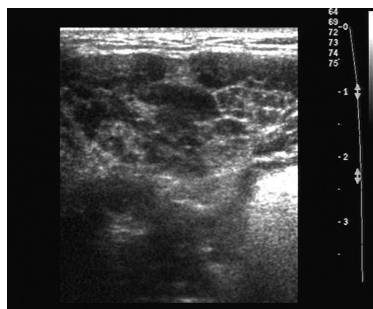


图 1 自身免疫性胰腺炎颌下腺超声表现. 腺体回声不均匀, 呈网格样改变.

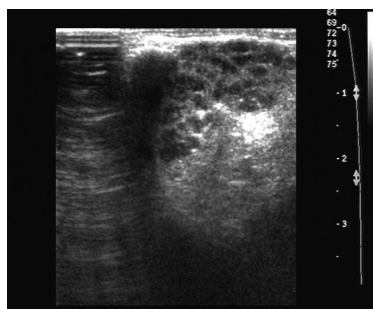


图 2 自身免疫性胰腺炎泪腺超声表现. 腺体回声不均匀, 呈网格样改变.

段为好发部位, CT表现为肝内胆管多发性狭窄, 胆总管上段狭窄或胆管壁增厚、增强, 类似于原发性硬化性胆管炎表现, 胆囊壁可增厚. 本组16例患者中11例出现胰管和/或胆管扩张, 占68.75%, 6例出现胆囊壁增厚, 占37.50%, 超声并不能对狭窄做出直接的诊断, 而只能通过胆管的扩张间接判断狭窄的存在.

AIP患者自身免疫性疾病累及肾脏约占35%^[11], 实质占30%, 肾窦或肾盂壁占10%. 双侧多发, 主要累及肾皮质. CT表现分为4种类型: 圆形病灶、局限楔形病灶、小的外周皮质结节和弥漫斑片状受累. 本组16例患者均未发现肾脏结构有所改变, 这可能与二维及彩色超声的局限性有关, CT多在增强后发现这些病灶, 因而常规超声的诊断意义不大, 超声造影则有望在AIP患者自身免疫性疾病累及肾脏时有所帮助.

AIP被误诊为胰腺肿瘤的患者手术时约一半会出现腹腔淋巴结肿大^[9], 但本组只有3例发现胰周淋巴结肿大. 这与淋巴结的大小, 超声的分辨率、穿透力以及腹腔气体的干扰有关, 大部分存在淋巴结肿大的患者可能都出现了漏诊.

AIP患者自身免疫性疾病累及涎腺约占12%-16%^[12], 会出现类似于干燥综合征的表现. 本组受检的10例患者中仅1例腮腺出现此表现, 占10%, 3例颌下腺出现了此种表现, 占30%. 受检的10例患者中7例泪腺内出现了干燥综合征样超声表现, 占70%, 发生率较高, 这在既往的文献中少有提及, 可能对AIP与胰腺癌的鉴别诊断具有重要意义.

自身免疫性胰腺炎与胰腺肿瘤的鉴别有一定的难度^[13-16], 通过对多个器官系统的观察, 笔者认为AIP患者泪腺的改变的发生率高, 有可能在AIP与胰腺癌的鉴别诊断中具有重要的意义. 胆管的改变虽发生率高, 但胰腺肿瘤时也可出现, 对于AIP的鉴别诊断帮助不大. 此外, AIP作为一种全身系统疾病的胰腺局部表现, 还可累及到肺、胃肠道、关节等多个器官系统, 由于为回顾性研究, 又受到超声局限性的影响, 此次研究中未能对上述部位进行系统观察, 以后的工作还需与多个科室合作完成.

4 参考文献

- 张云飞, 欧国成, 王学梅, 吴刚. 自身免疫性胰腺炎的临床超声表现. 中国超声医学杂志 2011; 27: 1102-1104
- Otsuki M, Chung JB, Okazaki K, Kim MH, Kamisawa T, Kawa S, Park SW, Shimosegawa T, Lee K, Ito T, Nishimori I, Notohara K, Naruse S, Ko SB, Kihara Y. Asian diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis: consensus of the Japan-Korea Symposium on Autoimmune Pancreatitis. *J Gastroenterol* 2008; 43: 403-408 [PMID: 18600383 DOI: 10.1007/s00535-008-2205-6]
- Bodily KD, Takahashi N, Fletcher JG, Fidler JL, Hough DM, Kawashima A, Chari ST. Autoimmune pancreatitis: pancreatic and extrapancreatic imaging findings. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 192: 431-437 [PMID: 19155406 DOI: 10.2214/AJR.07.2956]
- Sahani DV, Kalva SP, Farrell J, Maher MM, Saini S, Mueller PR, Lauwers GY, Fernandez CD, Warshaw AL, Simeone JF. Autoimmune pancreatitis: imaging features. *Radiology* 2004; 233: 345-352 [PMID: 15459324 DOI: 10.1148/radiol.2332031436]
- Kamisawa T, Funata N, Hayashi Y, Eishi Y, Koike M, Tsuruta K, Okamoto A, Egawa N, Nakajima H. A new clinicopathological entity of IgG4-related autoimmune disease. *J Gastroenterol* 2003; 38: 982-984 [PMID: 14614606 DOI: 10.1007/s00535-003-1175-y]
- Eerens I, Vanbeckvoort D, Vansteenbergen W, Van Hoe L. Autoimmune pancreatitis associated with primary sclerosing cholangitis: MR imaging findings. *Eur Radiol* 2001; 11: 1401-1404 [PMID: 11519549 DOI: 10.1007/s003300000742]
- Ichimura T, Kondo S, Ambo Y, Hirano S, Ohmi M, Okushiba S, Morikawa T, Shimizu M, Katoh H. Primary sclerosing cholangitis associated with autoimmune pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 1221-1224 [PMID: 12239909]
- Kamisawa T, Egawa N, Nakajima H, Tsuruta K, Okamoto A. Morphological changes after steroid therapy in autoimmune pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39: 1154-1158 [PMID: 15545176 DOI: 10.1080/00365520410008033]
- Kamisawa T, Egawa N, Nakajima H, Tsuruta K, Okamoto A. Extrapaneatic lesions in autoimmune pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 904-907 [PMID: 16208116 DOI: 10.1097/01.mcg.0000180629.77066.6c]
- Nishino T, Toki F, Oyama H, Oi I, Kobayashi M, Takasaki K, Shiratori K. Biliary tract involvement in autoimmune pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30: 76-82 [PMID: 15632703]

■名词解释

干燥综合征: 英文名为 Sjögren's Syndrome(SS), 以此纪念首先报道此病的 Henrik Sjögren's 瑞典医生. 此病是一种以侵犯涎腺(包括腮腺、颌下腺、舌下腺)、泪腺等外分泌腺为主的慢性自身免疫性疾病, 其主要表现为口干、眼干.

■同行评价

本文对于自身免疫性胰腺炎的胰腺外器官组织受累情况的超声表现进行了回顾性分析,得出了一些初步结论,出发点值得肯定。

- 11 Takahashi N, Kawashima A, Fletcher JG, Chari ST. Renal involvement in patients with autoimmune pancreatitis: CT and MR imaging findings. *Radiology* 2007; 242: 791-801 [PMID: 17229877 DOI: 10.1148/radiol.2423060003]
- 12 Kamisawa T, Tu Y, Egawa N, Sakaki N, Inokuma S, Kamata N. Salivary gland involvement in chronic pancreatitis of various etiologies. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 323-326 [PMID: 12591049 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07230.x]
- 13 王靖, 阴敏宏, 张淑文, 王宝恩. 自身免疫性胰腺炎的研究进展. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1051-1054
- 14 宋建功, 黄如川, 李红燕, 李雪玲. 慢性自身免疫性胰腺炎误诊1例. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2980-2982
- 15 刘昊, 梁廷波. 自身免疫性胰腺炎诊治进展. *中国实用外科杂志* 2011; 31: 832-835
- 16 吴刚, 李雪丹, 石蕊, 刘屹, 李柏峰, 刘永锋. 自身免疫性胰腺炎14例临床分析. *中华外科杂志* 2010; 48: 484-487

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、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)

上消化道息肉临床特征分析2 376例

刘婉薇, 马娟, 余莲英, 沙卫红, 王启仪

刘婉薇, 马娟, 余莲英, 沙卫红, 王启仪, 广东省人民医院(广东省医学科学院)消化科 广东省广州市 510080
国家自然科学基金资助项目, No. 81001112
广州市科技局珠江科技新星基金资助项目, No. 2012J2200019
作者贡献分布: 马娟与刘婉薇为共同第一作者; 本文由刘婉薇、马娟、余莲英、沙卫红及王启仪共同完成。
通讯作者: 马娟, 副主任医师, 510080, 广东省广州市中山二路106号, 广东省人民医院(广东省医学科学院)消化科。
mjqlh@163.com
收稿日期: 2012-12-31 修回日期: 2013-01-24
接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

Clinical characteristics of upper gastrointestinal tract polyps: An analysis of 2 376 cases

Wan-Wei Liu, Juan Ma, Lian-Ying Yu, Wei-Hong Sha, Qi-Yi Wang

Wan-Wei Liu, Juan Ma, Lian-Ying Yu, Wei-Hong Sha, Qi-Yi Wang, Department of Gastroenterology and Hepatology, Guangdong General Hospital (Guangdong Academy of Medical Sciences), Guangzhou 510080, Guangdong Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81001112; and the Zhujiang Technology New Star Foundation of Guangzhou Science and Technology Bureau, No. 2012J2200019
Correspondence to: Juan Ma, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology and Hepatology, Guangdong General Hospital (Guangdong Academy of Medical Sciences), 106 Zhongshan Er Road, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China. mjqlh@163.com
Received: 2012-12-31 Revised: 2013-01-24
Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To analyze the clinical characteristics of esophagus-gastro-duodenal polyps.

METHODS: Clinical data for patients with esophagus-gastro-duodenal polyps who were treated at our hospital over the past decade were retrospectively analyzed. The sites and histological types of polyps were identified to investigate the association of the polyps with factors including *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection, gender, age, and epigastric symptoms.

RESULTS: A total of 2 376 patients with polyps were enrolled, including 691 (29.08%) males and 1 685 (70.92%) females. 68.01% (1 616/2 376)

of patients were more than 40 years old. Main symptoms included epigastric upset (41.96%, 997/2 376) and epigastric pain (39.26%, 932/2 376). The polyps were mainly located in the corpus and body (64.39%), duodenum (12%), antrum (11.57%), cardiac (8.88%) and other sites (14.09%). Patients with antral polyps or cardiac polyps had a higher frequency of *H. pylori* infection (41.44% and 33.07%).

CONCLUSION: Upper gastrointestinal tract polyps are usually benign and tend to occur in patients more than 40 years old and females. Main symptom is epigastric upset and main pathological type is fundic gland polyps. *H. pylori* infection might be associated with the development of antral polyps and cardiac polyps.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key words: Upper gastrointestinal tract; Polyps; Pathological type; *Helicobacter pylori*

Liu WW, Ma J, Yu LY, Sha WH, Wang QY. Clinical characteristics of upper gastrointestinal tract polyps: An analysis of 2 376 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 709-713 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/709.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.709>

摘要

目的: 回顾性分析我院胃十二指肠息肉的临床学特征, 以期指导临床诊疗。

方法: 收集近十年来我院胃镜确诊上消化道息肉的患者, 记录一般临床资料, 分析上消化道息肉部位、病理类型、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染、性别、年龄、伴随症状等临床特征。

结果: 共收集2 376例上消化道息肉患者, 男691例(29.08%)和女1 685例(70.92%); 68.01% (1 616/2 376)的年龄>40岁者发生上消化道息肉; 41.96%(997/2 376)的患者主要症状为上腹部不适, 39.26%(932/2 376)的患者反复上腹痛; 所有上消化道息肉发生部位为食管35例(1.47%)、贲门211例(8.88%)、胃底体1 530例(64.39%)、胃窦275例(11.57%)、十二指肠290

■背景资料

上消化道息肉是临床常见的疾病, 其早期诊断和治疗是临床医生必须面对的难题。由于胃镜的广泛应用以及人们健康意识的增强, 早期胃息肉的诊断水平有较大提高, 胃镜不仅能清楚显示息肉形态, 且能进行组织活检, 对患者创伤较小, 对于上消化道息肉的早期诊断和治疗具有重要意义。

■同行评议者

甘华田, 教授, 四川大学华西医院老年消化内科

■相关报道

杜文礼等认为 *H. pylori* 感染与小肠上皮增生型息肉的发生有关, 由于该型息肉常伴有明显的活动性炎症以及黏膜萎缩和肠上皮化生的变化, 因此可能与胃癌的发生有潜在的相关性。

例(12.21%)、残胃35例(1.47%)。发生于胃窦和贲门的息肉伴随较高的 *H. pylori* 阳性率, 分别为41.44%和33.07% ($P < 0.05$)。

结论: 上消化道息肉多为良性病变, 好发于40岁以上患者, 女性多见, 伴随症状多为上腹不适, 息肉病理类型与息肉发生部位有一定关系。胃底体息肉以胃底腺息肉为主, 食管、胃窦、十二指肠和残胃的息肉以黏膜萎缩的息肉样改变为主要病理表现。 *H. pylori* 感染者上消化道息肉容易发生在贲门和胃窦。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 上消化道; 息肉; 病理类型; 幽门螺杆菌

刘婉薇, 马娟, 余莲英, 沙卫红, 王启仪. 上消化道息肉临床特征分析2 376例. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 709-713 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/709.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.709>

0 引言

上消化道息肉是指食管、胃、十二指肠腔的黏膜上皮增生导致的局限性隆起病变, 可看做癌前病变甚至恶变, 须进行及时有效治疗。上消化道息肉是临床常见的疾病, 其早期诊断和治疗是临床医生必须面对的难题。由于胃镜的广泛应用以及人们健康意识的增强, 早期胃息肉的诊断水平有较大提高, 胃镜不仅能清楚显示息肉形态, 且能进行组织活检, 对患者创伤较小, 对于上消化道息肉早期诊断和治疗具有重要意义^[1]。故本研究回顾性分析了本院近10年来胃十二指肠息肉的内镜学及病理学特征。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2001-01/2010-12广东省人民医院伟伦内镜室接受胃镜检查者59 400例, 发现胃十二指肠息肉的患者2 376例, 1 943例进行幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)检测, 1 501例进行病理组织学检查, 对其进行回顾性分析, 总结胃息肉的特点, 以探讨近10年来胃息肉的临床特征、内镜下特点、病理类型、与 *H. pylori* 感染关系。

1.2 方法

1.2.1 息肉诊断与治疗: 所有患者经GIF-240型胃镜(Olympus公司)检查发现胃十二指肠息肉, 即镜下观察息肉的数目、部位、大小以及形态。如果患者能耐受并同意治疗, 内镜医生根据患者息肉具体情况实行包括活检钳除、高频电凝

表 1 2 376例患者一般资料 $n(\%)$

变量	
性别	男:女=1:2.44
男	691(29.08)
女	1 685(70.92)
年龄(岁)	53.6 ± 14.6
≥40	1 616(68.01)
<40	760(31.99)
临床表现	
上腹部不适	997(41.96)
上腹痛	932(39.26)
黑便	270(11.36)
明显贫血	33(1.39)
体检	144(6.06)

电切、氩气烧灼、黏膜切除术(EMR)等息肉摘除术, 尽可能除去胃息肉。

1.2.2 *H. pylori* 检测: 前2 wk内均未使用抗生素及其他对检测有影响的药物。在胃镜下于胃窦距幽门2-5 cm取1、2块黏膜做快速尿素酶试验或病理HP检测, 同时患者行¹³C-呼气试验, 二者之一阳性即为 *H. pylori* 感染。

1.2.3 组织病理学检查: 将通过钳夹或息肉切除所取得的组织标本固定于40 g/L的甲醛, 常规石蜡包埋, 3 μm切片。由广东省人民医院病理科医生阅片并参考《诊断病理学》对胃息肉进行组织学评价与分类。

统计学处理 计数资料以mean ± SD表示, 组间比较使用 *t* 检验或方差分析; 计量资料以率表示, 组间比较用 χ^2 检验。数据采用SPSS软件分析。 $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 共59 400例患者接受胃镜检查, 2 376(4.00%)例的患者存在上消化道息肉, 其中男691(29.08%)例, 女1 685(70.92%)例, 男:女=1:2.44。平均年龄53.6岁 ± 14.6岁。41.96%(997/2 376)患者伴有上腹部不适、39.26%(932/2 376)患者伴有上腹痛、11.36%(270/2 376)患者伴有黑便、1.39%(33/2 376)患者存在明显贫血、6.06%(144/2 376)患者则是例行体检中发现有上消化道息肉(表1)。

2.2 2001-2010年内镜检查及病理结果

2.2.1 内镜检查一般情况: 2 376例息肉发生部位如下食管35例(1.47%)、贲门211例(8.88%)、胃底体1 530例(64.39%)、胃窦275

表 2 上消化道息肉部位与病理组织学类型 $n(\%)$

部位	萎缩	肠化	不典型增生	炎性息肉	增生性息肉	胃底腺息肉	腺瘤	肿瘤
食管	8(32)	4(16)	4(16)	3(12)	0(0)	1(4)	1(4)	4(16)
贲门	27(20.61)	31(23.66)	12(9.16)	32(24.43)	16(12.21)	5(3.82)	1(0.76)	7(5.34)
胃底体	189(19.25)	202(20.57)	67(6.82)	107(10.90)	84(8.55)	310(31.57)	12(1.22)	11(1.12)
胃窦	46(25)	33(17.93)	17(9.24)	37(20.11)	34(18.48)	9(4.89)	4(2.17)	4(2.17)
十二指肠	35(23.65)	30(20.27)	20(13.51)	30(20.27)	15(10.13)	4(2.70)	6(4.05)	8(5.41)
残胃	9(29.03)	3(9.68)	5(16.13)	6(19.35)	3(9.68)	2(6.45)	0(0)	3(9.68)
总计	314(20.92)	303(20.19)	125(8.33)	215(14.32)	152(10.13)	331(22.05)	24(1.60)	37(2.47)

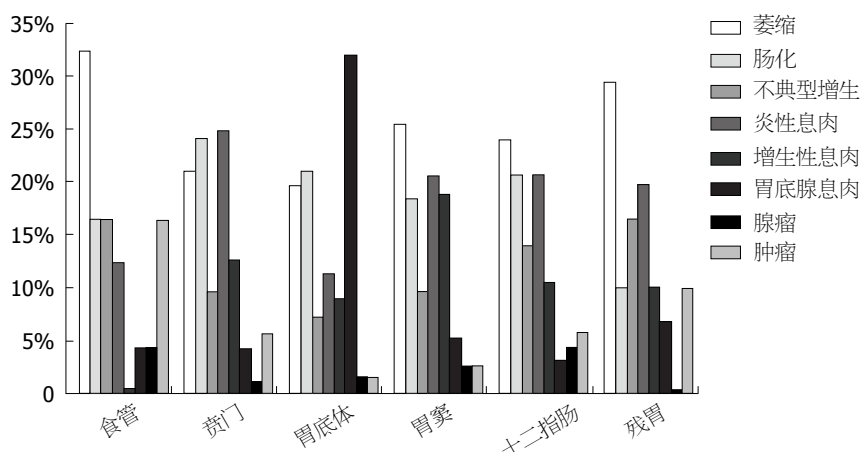


图 1 上消化道息肉部位与病理组织学类型。

例(11.57%)、十二指肠290例(12.21%)、残胃35例(1.47%)。内镜下共发现息肉3 598个,其中单发2 224(93.60%)例,多发152(6.40%)例;37.91%(1376/3 598)的息肉直径<0.5 cm,43.14%(1552/3 598)的息肉直径为0.5-1.0 cm,17.34%(624/3 598)的息肉直径为1.0-2.0 cm,1.61%(58/3 598)的息肉直径>2.0 cm。直径<0.5 cm的息肉多给予活检钳钳除、氩气烧灼,直径0.5-1.0 cm给予高频电凝电切,直径>1.0 cm给予黏膜切除术,所有患者治疗后均未见创面出血、穿孔等并发症。

2.2.2 上消化息肉病理组织学类型: 1 501例接受病理组织学检查,结果如表2所示,病理组织学检查结果:根据10年病理组织检查分析病理改变特点为:萎缩、肠化、不典型增生、炎性息肉、增生性息肉、胃底腺息肉、腺瘤性息肉、肿瘤的比例分别为20.92%(314/1 501)、20.19%(303/1 501)、8.33%(125/1 501)、14.32%(215/1 501)、10.13%(152/1 501)、22.05%(331/1 501)、1.60%(24/1 501)、2.47%(37/1 501),表明胃底腺息肉是主要的病理改变,其次是黏膜萎缩、肠化等炎症改变。进一步分析,如图1所示,发生在胃底体的息肉以胃

底腺息肉为主;发生在食管、胃窦、十二指肠和残胃的息肉以黏膜萎缩为主要病理表现;贲门息肉以炎性息肉为多见。

2.2.3 上消化道息肉与 *H. pylori* 感染的关系: 2 376例患者,共1 943例进行 *H. pylori* 检测,18.27%(355/1 943)上消化道息肉患者伴有 *H. pylori* 感染。息肉发生部位与 *H. pylori* 感染有一定关系。如表3所示,食管、贲门、胃底体、胃窦、十二指肠、残胃的 *H. pylori* 感染率分别为25.93%、33.07%、13.09%、41.44%、16.39%、17.39%,组间比较有显著性差异($\chi^2 = 106.927$, $df = 5$, $P < 0.001$);进一步分析得出,与其他各组比较,贲门息肉组($\chi^2 = 17.177$, $df = 1$, $P < 0.001$)、胃窦息肉组($\chi^2 = 74.787$, $df = 1$, $P < 0.001$) *H. pylori* 感染均显著升高。食管息肉组 *H. pylori* 感染亦较高,但与其他组比较,差异无统计学意义($P = 0.322$)。

3 讨论

为了解胃息肉发生率及其内镜学和病理学特征,本研究收集了我院近十年来的上消化道息肉患者,进行了相关分析。研究结果显示上消化息肉发生率为4.0%,女性多见,男:女为1:

同行评价

本文纳入病例量大,时间跨度长,对临床有一定指导意义。

表 3 上消化道息肉部位与 *H. pylori* 感染的相关性 $n(\%)$

部位	<i>H. pylori</i> 阴性	<i>H. pylori</i> 阳性
食管	20(74.07)	7(25.93)
贲门 ²	85(66.93)	42(33.07)
胃底体	1135(86.91)	171(13.09)
胃窦 ¹	130(58.56)	92(41.44)
十二指肠	199(83.61)	39(16.39)
残胃	19(82.61)	4(17.39)
合计	1588(81.73)	355(18.27)
Likelihood Ratio	$\chi^2 = 106.927$, df = 5	$P < 0.001$

¹胃窦息肉组 vs 非胃窦息肉组, $\chi^2 = 74.787$, df = 1, $P < 0.001$; ²贲门息肉组 vs 非贲门息肉组, $\chi^2 = 17.177$, df = 1, $P < 0.001$.

2.44, 年龄>40岁者息肉发生率为<40岁者的2.13倍。81.22%的患者伴有上腹部不适或上腹痛。内镜所见单发息肉多见, 好发于胃底部体部, 常见病理类型为胃底腺息肉, 其次好发部位为胃窦、贲门、十二指肠、残胃, 常见病理类型主要伴有活动性炎症相关病理变化, 包括萎缩、肠上皮化生、炎性息肉等。*H. pylori*感染与胃窦、十二指肠、贲门、食管息肉有关, 尤其黏膜萎缩、肠化、炎性息肉。以往研究显示胃息肉检出率稍有差异。朱鸣等^[1]研究主要针对老年人群, 胃息肉检出率为4.77%, 高于本研究。炎性增生性息肉、胃底腺息肉、腺瘤性息肉分别占63.33%、25.00%、7.50%。老年人有较高的胃息肉检出率, 病理上炎性增生性息肉及胃底腺息肉较常见。胃息肉单发多见, 多位于胃窦、胃底、胃体部。与朱鸣研究^[1]结果相似, 与炎症相关的息肉比例占约73.89%, 腺瘤性息肉低于该研究, 这与研究人群有关, 我们的研究针对所有人群, 该研究则主要针对老年人。王化冰等^[2]报道胃息肉检出率3.3%, 好发于胃底部, 其次胃窦, 胃底腺息肉是常见病理类型, 其中>60岁的老年患者胃息肉检出率为3.9%, 低于60岁的中青年患者胃息肉检出率为2.9%。我们研究结果显示息肉好发于胃底部体部, 胃底腺息肉是常见病理类型。韩国学者Garcia-Alonso等^[3]的研究报道4.2%的胃息肉发生率, 50.9%为增生性息肉, 7.4%为胃底腺息肉, 3.0%腺瘤, 1.9%腺癌。

本研究显示81.22%的上消化道息肉患者伴有消化不良症状, 其中41.96%患者存在上腹部不适, 39.26%患者存在上腹痛, 1 501例(63.17%)患者进行了息肉病理组织学检查, 其中腺瘤24例(1.60%), 肿瘤37例(2.47%)。尽管无直接证据

表明上消化道息肉与消化不良症状的相关性, 大多数消化不良症状的患者胃镜检查未发现明显异常, 但仍有1.5%-2.5%的患者存在恶性疾病的风险, 故尤其伴有报警症状的消化不良患者, 需要进行至少一次的上消化道内镜的筛查。

胃息肉常常被视为癌前病变。尤其家族性腺瘤息肉病的患者, 胃底腺息肉、胃癌、十二指肠腺瘤、十二指肠癌较易发生, 更应该定期胃镜检查^[4]。本研究结果显示20.92%、20.19%、8.33%的息肉伴有萎缩、肠上皮化生和不典型增生, 这些病变都是活动性炎症到癌变的不同阶段, 需得引起临床上的重视。此外腺瘤性息肉和肿瘤的发现率分别为1.60%和2.47%, 尽管恶性疾病发生率不高, 但仍需定期随访。

我们的研究结果显示20.92%(314/1 501)的息肉伴有萎缩、20.19%(303/1 501)的息肉伴有肠上皮化生、8.33%(125/1 501)的息肉伴有不典型增生。胃底体息肉以胃底腺息肉为主, *H. pylori*感染率较低, 约13.09%; 胃窦、食管息肉病理变化以黏膜萎缩为主, *H. pylori*感染率较高, 分别为41.44%、25.93%; 贲门息肉以炎性息肉为主, *H. pylori*感染也高达33.07%。这提示胃息肉经常伴有活动性炎症, 而*H. pylori*感染可能是诱因, *H. pylori*感染与胃息肉发生部位和病理类型有关, *H. pylori*感染患者胃窦、食管、贲门较易发生黏膜炎症和萎缩, 而胃底体的胃底腺息肉发生风险相对较低, 这与以往研究有一定的不一致性^[5]; Hongo等^[5]研究认为但最近又有学者研究发现接受长期PPI维持治疗的反流性食管炎患者, *H. pylori*感染和高胃泌素血症促进增生性息肉的发生, 无*H. pylori*感染者可能增加胃底腺息肉的发生风险。杜文礼等^[6]认为*H. pylori*感染与小凹上皮增生型息肉的发生有关, 由于该型息肉常伴有明显的活动性炎症以及黏膜萎缩和肠上皮化生的变化。因此可能与胃癌的发生有潜在的相关性。针对与*H. pylori*感染相关的胃增生性息肉, 根除*H. pylori*治疗可以有效控制黏膜炎症, 甚至部分胃息肉可以消失。季峰等^[7]研究者认为大多数增生性胃息肉在根除*H. pylori*后可以消失, 对于伴有*H. pylori*感染的增生性胃息肉患者, 可先尝试进行*H. pylori*根除治疗后再行内镜下息肉摘除术。

*H. pylori*感染后, 可以引起一系列胃十二指肠黏膜炎症, 甚至溃疡、恶性肿瘤。本研究发现18.27%的息肉患者伴有*H. pylori*感染, 发生在胃窦、贲门和食管的息肉*H. pylori*感染高达

41.44%、33.07%、25.93%, 这些部位息肉的病理改变以萎缩、肠化和炎性息肉为主, 均与炎症相关, 提示 *H. pylori* 可能经过引起上消化道一系列的炎症反应促进息肉的发生。值得注意的是, *H. pylori* 主要在胃窦定植, 但仍然与贲门食管息肉有关, 分析可能与 *H. pylori* 感染导致胃腔内胃酸分泌过多引起胃食管反流有关。朱元民等^[8]研究发现胃息肉患者胃镜下往往伴有贲门口松弛、胃窦条状黏膜充血及幽门口黏膜脱垂, 提示与胃肠反流有关, 我们的研究进一步支持了这个观点。近来尚有研究表明长期PPI维持治疗的反流性食管炎患者, *H. pylori* 感染和高胃酸血症促进了增生性息肉的发生, 而缺乏 *H. pylori* 感染则导致胃底腺息肉的发生。这也提示胃食管反流病、*H. pylori* 感染、PPI治疗、胃息肉有着一定的关联^[5]。这给我们提示了今后研究方向。

4 参考文献

- 1 朱鸣, 唐杰, 杨春敏, 曹传平. 老年常见胃息肉病理分析、内镜观察及治疗. 世界华人消化杂志 2010; 18: 179-183
- 2 王化冰, 许乐. 老年人胃息肉的临床特点分析. 中华老年医学杂志 2010; 29: 390-393
- 3 García-Alonso FJ, Martín-Mateos RM, González Martín JA, Foruny JR, Vázquez-Sequeiros E, Boixeda de Miquel D. Gastric polyps: analysis of endoscopic and histological features in our center. *Rev Esp Enferm Dig* 2011; 103: 416-420 [PMID: 21867351 DOI: 10.4321/S1130-01082011000800005]
- 4 Park SY, Ryu JK, Park JH, Yoon H, Kim JY, Yoon YB, Park JG, Lee SH, Kang SB, Park JW, Oh JH. Prevalence of gastric and duodenal polyps and risk factors for duodenal neoplasm in Korean patients with familial adenomatous polyposis. *Gut Liver* 2011; 5: 46-51 [PMID: 21461071 DOI: 10.5009/gnl.2011.5.1.46]
- 5 Hongo M, Fujimoto K. Incidence and risk factor of fundic gland polyp and hyperplastic polyp in long-term proton pump inhibitor therapy: a prospective study in Japan. *J Gastroenterol* 2010; 45: 618-624 [PMID: 20177714 DOI: 10.1007/s00535-010-0207-7]
- 6 杜文礼、张亚历、赖卓胜. 胃息肉与HP感染、黏膜炎症及黏膜萎缩相关性的研究. 现代消化及介入诊疗 2000; 5: 8-11
- 7 季峰, 宁建文, 陈岳亮, 陈建永, 厉有名. 根除幽门螺杆菌对胃增生性息肉的作用. 中华消化杂志 2005; 25: 3-5
- 8 朱元民, 李菁, 刘玉兰. 胃息肉发病机制相关因素研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2007; 16: 522-524

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。

老年大肠息肉的临床、内镜与病理分析248例

罗显克, 唐雪媛, 谭建荣

■背景资料

随着我国步入老龄化社会, 肠癌发病率逐渐增多, 本研究对我院5年来肠镜检查发现肠道息肉的老年人与同期肠镜发现有息肉的青年人进行比较、分析, 从大肠息肉的分布与癌变、大肠息肉的大小与癌变、大肠息肉的形态与癌变及病理类型与癌变等多个方面进行分析, 较全面的分析了老年人大肠息肉癌变的影响因素, 在国内相关报道不多, 对老年人大肠息肉的随诊及治疗有较好的指导作用。

罗显克, 唐雪媛, 谭建荣, 广西壮族自治区民族医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530001

罗显克, 主治医师, 主要从事消化内科的研究工作。

作者贡献分布: 此课题由罗显克与唐雪媛设计; 研究过程由罗显克、唐雪媛及谭建荣操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由罗显克提供; 数据分析由唐雪媛完成; 本文写作由罗显克、唐雪媛及谭建荣完成。

通讯作者: 罗显克, 主治医师, 530001, 广西壮族自治区南宁市明秀东路232号, 广西壮族自治区民族医院消化内科。luxike0142@163.com

电话: 0771-3110091

收稿日期: 2012-12-22 修回日期: 2013-01-18

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

Clinical, endoscopic and pathological characteristics of colorectal polyps in elderly patients: An analysis of 248 cases

Xian-Ke Luo, Xue-Yuan Tang, Jian-Rong Tan

Xian-Ke Luo, Xue-Yuan Tang, Jian-Rong Tan, Department of Gastroenterology, Minzu Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530001, Guangxi Autonomous Region, China

Correspondence to: Xian-Ke Luo, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Minzu Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530001, Guangxi Autonomous Region, China. luxike0142@163.com

Received: 2012-12-22 Revised: 2013-01-18

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To summarize the characteristics of colonic polyps in elderly patients and to analyze the relationship between colorectal polyps and dysplasia.

METHODS: Clinical data for elderly patients with colorectal polyps confirmed by colonoscopy who were treated at our hospital from January 2007 to January 2012 were retrospectively analyzed and compared with those for patients < 60 years in terms of type, size, position, shape and histological type of colorectal polyps.

RESULTS: The rate of malignant transformation of colonic polyps in elderly patients was 14.1%, significantly higher than that in young and middle-aged patients (3.8%, $P < 0.01$). Clinical symp-

toms of colorectal polyps in elderly patients were not typical, and the most frequent symptom was hematochezia (45.2%). Colonic polyps in the elderly usually occur in the rectum (33.6% vs 32.4%) and sigmoid colon (40.6% vs 26.4%). There was no significant difference in the anatomic distribution of colorectal polyps between the two groups ($P > 0.05$), but malignant polyps were more commonly distributed in the ascending colon (39.1%) than in the left hemi colon ($P < 0.05$). Polyps in the rectum, descending colon, transverse colon and ascending colon more easily developed malignant transformation in elderly patients than in young and middle-aged patients ($P < 0.05$). The ratios of colorectal polyps with latibased, sublobes, multiple numbers or a diameter > 1.0 cm were increased in the aged group (all $P < 0.05$). Larger size, broader fundus, more numbers and sublobes were associated with a higher frequency of malignancy (all $P < 0.05$). Colonic polyps in the aged group were predominantly adenomatous polyps (61.5%), especially tubular adenoma (38.8%). All the 35 cases with malignant transformation were adenomatous. The frequency of malignant villous adenoma was significantly higher than those of other adenomas.

CONCLUSION: Compared with patients < 60 years, colorectal polyps in elderly patients show some unique characteristics. Risk factors leading to the malignant transformation of colorectal polyps in elderly patients include age > 60 years, polyps size larger than 2.0 cm, multiple polyps, occurrence in the ascending colon, presence of sublobes, cauliflower like polyps, and adenoma, especially villous type adenoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Polyps of the large intestine; Elderly; Risk factors

Luo XK, Tang XY, Tan JR. Clinical, endoscopic and pathological characteristics of colorectal polyps in elderly patients: An analysis of 248 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 714-718 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/714.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.714>

■同行评议者

何松, 教授 重庆医科大学第二医院消化内科

摘要

目的: 探讨老年人(≥ 60 岁)大肠息肉的临床、内镜与病理特点及其与癌变的关系。

方法: 分析2007-01/2012-01我科老年大肠息肉患者248例的就诊原因、息肉内镜特点及病理特征, 并与同期237例中、青年(16-59岁)大肠息肉患者相比较。

结果: 老年人大肠息肉癌变率(14.1%)显著高于中青年患者(3.8%, $P < 0.01$), 其临床症状并不典型, 以便血(45.2%)多见; 息肉好发于直肠(33.6% vs 32.4%)、乙状结肠(40.6% vs 26.4%), 两组大肠息肉分布比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 但老年组升结肠的癌变率(39.1%)明显高于左半结肠($P < 0.05$), 且直肠、降结肠、横结肠及升结肠的癌变率也高于中青年的同一部位($P < 0.05$); 老年组直径 > 1 cm、多发、广基、分叶状息肉的构成比显著高于中青年组($P < 0.05$); 息肉体积大(> 2 cm)、基底宽、数量多、表面呈分叶状, 癌变率高($P < 0.05$); 病理类型以腺瘤性息肉(62.5%)为主, 尤其是管状腺瘤(38.8%); 35例癌变息肉均为腺瘤性息肉, 其中绒毛状腺瘤的癌变率(55.3%)最高。

结论: 老年人大肠息肉的发生与中青年人有差异; 年龄 ≥ 60 岁、分布于升结肠、直径 > 2.0 cm、多发、无蒂、分叶状、腺瘤性息肉尤其是绒毛状腺瘤是老年人大肠息肉癌变的高危因素。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 大肠息肉; 老年人; 危险因素

罗显克, 唐雪媛, 谭建荣. 老年大肠息肉的临床、内镜与病理分析248例. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 714-718 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/714.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.714>

0 引言

大肠息肉是一种起源于大肠黏膜上皮的局限性隆起的赘生物, 目前认为是大肠癌重要的癌前疾病. 2007-01/2012-01, 我科发现老年人大肠息肉305例, 其中临床、内镜及病理资料保存完整的248例, 并与同期中、青年大肠息肉237例比较, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2007-01/2012-01在我科经电子

结肠镜检查发现大肠息肉的老年患者248例作为老年组, 共325枚息肉, 癌变35例(14.1%), 其中男142例(57.3%), 癌变18例(12.7%), 女106例(42.7%), 癌变17例(16.0%), 男女比例1.3:1, 年龄60-88岁, 中位年龄67.5岁; 同期发现大肠息肉的中、青年患者237例作为中青年组, 共269枚息肉, 癌变9例(3.8%), 其中男129例(54.4%), 癌变5例(3.9%), 女108例(45.6%), 癌变4例(3.7%), 男女比例1.2:1, 年龄18-59岁, 中位年龄47岁. 行结肠镜检查的主要原因有便血、便秘、腹泻、腹痛等. 上述症状老年组分别为112例(45.2%)、92例(37.1%)、79例(31.9%)、88例(35.5%); 中青年组分别为70例(29.5%)、45例(19.0%)、126例(53.2%)、78例(32.9%), 部分患者合并多个原因。

1.2 方法 检查前行清洁肠道等常规准备, 采用Olympus-Q260、Fujinon-490型电子结肠镜, 德国ERBR ICC200高频电发生器, 所有病例均插镜至回盲部, 行全结肠镜检查, 对发现的息肉明确解剖位置和数目, 估计大小(镜下以活检钳完全张开估计为0.5cm), 观察息肉形态和基底特点, 对可疑癌变的息肉取活检送病理诊断, 其余息肉均行“全瘤”活检^[1]. 按Morson等^[2]的组织学分类法分类。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件, 计数资料以例数(%)或枚数(%)表现, 两组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 肠镜检查结果 按大肠息肉的分布, 老年组325枚息肉中, 分布于直肠109枚(33.6%), 癌变12枚(11.0%), 乙状结肠132枚(40.6%), 癌变4枚(7.4%), 降结肠40枚(12.3%), 癌变6枚(15.0%), 横结肠19枚(5.8%), 癌变4枚(21.1%), 升结肠23枚(7.1%), 癌变9枚(39.1%), 回盲部2枚(0.6%), 无癌变; 中青年组269枚息肉中, 分布于直肠87枚(32.4%), 癌变3枚(3.4%), 乙状结肠71枚(26.4%), 癌变3枚(4.2%), 降结肠46枚(17.1%), 癌变1枚(2.2%), 横结肠35枚(13.0%), 癌变1枚(2.9%), 升结肠27枚(10.0%), 癌变1枚(3.7%), 回盲部3枚(1.1%), 无癌变. 两组比较, 息肉在大肠各段的分布均以直肠、乙状结肠为主, 无显著差异性($P > 0.05$); 老年组升结肠的息肉癌变率显著高于左半结肠($P < 0.05$), 直肠、降结肠、横结肠和升结肠的癌变率也高于中青年组的同一部位($P < 0.05$, 表1)。

■ 相关报道

有文献认为大肠息肉高发于直肠和乙状结肠的原因可能是结肠内容物高度集中在直肠与远端结肠, 而近端、远端结肠肠上皮的胚胎起源和遗传机制不同, 使得其对外源性物质的易感性也不同。

■应用要点

老年与中青年大肠息肉是有差异的,但影响息肉发生癌变或不典型增生的因素均是相同的,这提示老年与中青年的大肠息肉的发生与生长机制上可能存在差异,但在其发生癌变或不典型增生的机制上可能是相同的。

表 1 两组息肉在大肠各段的分布及癌变情况 $n(\%)$

分组	分布	息肉数	癌变数
老年组($n = 325$)	直肠	109(33.6)	12(11.0) ^a
	乙状结肠	132(40.6)	4(7.4)
	降结肠	40(12.3)	6(15.0) ^a
	横结肠	19(5.8)	4(21.1) ^a
	升结肠	23(7.1)	9(39.1) ^{bc}
	回盲部	2(0.6)	0(0.0)
中青年组($n = 269$)	直肠	87(32.4)	3(3.4)
	乙状结肠	71(26.4)	3(4.2)
	降结肠	46(17.1)	1(2.2)
	横结肠	35(13.0)	1(2.9)
	升结肠	27(10.0)	1(3.7)
	回盲部	3(1.1)	0(0.0)

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 中青年组; ^c $P < 0.05$ vs 直肠、乙状结肠、降结肠。

表 2 两组息肉大小比较及癌变情况 $n(\%)$

分组	直径(cm)	息肉数	癌变数
老年组($n = 325$)	<1.0	130(40.0) ^b	2(1.5)
	1.0–2.0	105(32.3)	5(4.8)
	>2.0	90(27.7)	28(31.1) ^{ac}
中青年组($n = 269$)	<1.0	167(62.1)	0(0.0)
	1.0–2.0	60(22.3)	3(5.0)
	>2.0	42(15.6)	6(14.3)

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 中青年组; ^c $P < 0.01$ vs 直径<2.0 cm。

按大肠息肉的数目和大小,老年组248例息肉患者中,单发173例(69.8%),癌变11例(6.4%),多发75例(30.2%),癌变24例(32.0%),325枚息肉中,直径<1.0 cm的130枚(40.0%),癌变2枚(1.5%),1.0–2.0 cm的105枚(32.3%),癌变5枚(4.8%),>2.0 cm的90枚(27.7%),癌变28枚(31.1%);中青年组237例息肉患者中,单发216例(91.1%),癌变7例(3.2%),多发21例(8.9%),癌变2例(9.5%),269枚息肉中,直径<1.0 cm的167枚(62.1%),无癌变,1.0–2.0 cm的60枚(22.3%),癌变3枚(5.0%),>2.0 cm的42枚(15.6%),癌变6枚(14.3%)。两组比较,老年组多发、直径>2.0 cm的息肉构成比及癌变率显著高于中青年组($P < 0.05$);多发、直径>2.0 cm的息肉癌变率显著高于单发、直径<2.0 cm者($P < 0.01$,表2)。

按大肠息肉的形态,老年组325枚息肉中,有蒂64枚(19.7%),无癌变,广基261枚(80.3%),癌变35枚(13.4%),表面光滑223枚(68.6%),癌变3枚(1.9%),分叶状102枚(31.4%),癌变32

枚(31.4%);中青年组269枚息肉中,有蒂99枚(36.8%),无癌变,广基170枚(63.2%),癌变9枚(5.3%),表面光滑219枚(81.4%),癌变1枚(0.4%),分叶状50枚(18.6%),癌变8枚(16.0%)。两组相比,老年组广基、分叶状息肉构成比及癌变率显著高于中青年组($P < 0.01$);广基、分叶状息肉癌变率显著高于有蒂、表面光滑者($P < 0.01$,表3)。

2.2 大肠息肉的病理类型 老年组325枚息肉中,炎症性息肉82枚(25.2%),无癌变,增生性息肉43枚(13.2%),无癌变,腺瘤性息肉200枚(61.5%),癌变35枚(17.5%),其中管状腺瘤126枚(38.8%),癌变6枚(4.8%),绒毛状腺瘤47枚(14.5%),癌变26枚(55.3%),混合性腺瘤27枚(8.3%),癌变3枚(11.1%);中青年组269枚息肉中,炎症性息肉163枚(60.6%),无癌变,增生性息肉28枚(10.4%),无癌变,腺瘤性息肉78枚(29.0%),癌变9枚(11.5%),其中管状腺瘤40枚(14.9%),癌变1枚(2.5%),绒毛状腺瘤24枚(8.9%),癌变7枚(46.5%),混合性腺瘤14枚(5.2%),癌变1枚(7.1%)。两组比较,中青

表 3 两组息肉形态比较及癌变情况 $n(\%)$

分组	息肉形态	息肉数	癌变数
老年组($n = 325$)	有蒂	64(19.7)	0(0.0)
	广基	261(80.3) ^b	35(13.4) ^{bd}
	表面光滑	223(68.6)	3(1.9)
	分叶状	102(31.4) ^b	32(31.4) ^{af}
中青年组($n = 269$)	有蒂	99(36.8)	0(0.0)
	广基	170(63.2)	9(5.3)
	表面光滑	219(81.4)	1(0.4)
	分叶状	50(18.6)	8(16.0)

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 中青年组; ^d $P < 0.01$ vs 有蒂息肉; ^f $P < 0.01$ vs 表面光滑息肉。

表 4 两组息肉的病理类型比较及癌变情况 $n(\%)$

分组	病理类型	息肉数	癌变数
老年组($n = 325$)	炎症性息肉	82(25.2) ^b	0(0.0)
	增生性息肉	43(13.2)	0(0.0)
	管状腺瘤	126(38.8)	6(4.8)
	绒毛状腺瘤	47(14.5) ^c	26(55.3) ^d
	混合性腺瘤	27(8.3)	3(11.1)
中青年组($n = 269$)	炎症性息肉	163(60.6)	0(0.0)
	增生性息肉	28(10.4)	0(0.0)
	管状腺瘤	40(14.9)	1(2.5)
	绒毛状腺瘤	24(8.9)	7(46.5)
	混合性腺瘤	14(5.2)	1(7.1)

^b $P < 0.01$ vs 中青年组; ^d $P < 0.01$ vs 管状腺瘤。

年组大肠息肉以炎症性为主($P < 0.01$), 老年组以腺瘤性为主, 尤以管状腺瘤多见($P < 0.01$), 绒毛状腺瘤癌变率显著高于管状腺瘤($P < 0.01$, 表4)。

3 讨论

本资料老年组大肠息肉癌变率(14.1%)显著高于中青年组(3.8%, $P < 0.01$), 这可能与老年人机体免疫机能随年龄增加而逐渐减退有关, 提示 ≥ 60 岁是大肠息肉发生癌变的高危因素之一, 故应放宽老年人结肠镜检查的指征, 使老年大肠息肉患者得到早期诊断和治疗, 并定期随访以防癌变。两组大肠息肉的性别构成比无统计学差异($P > 0.05$), 同一组中不同性别其息肉癌变率亦无统计学差异($P > 0.05$), 提示大肠息肉与性别无关^[3]。

大肠息肉的临床表现并不典型^[4], 本资料中绝大多数患者均出现了轻重不同的消化系症状。中青年组运动量大, 结肠蠕动快, 其临床症状以腹泻(53.2%)为主, 便秘较少。老年人临床症状

主要以便血(45.2%)为主, 其次为便秘(37.1%)、腹泻(31.9%)、腹痛(35.5%)等, 本资料中便秘与腹泻交替是老年息肉患者的一个特点。35例癌变患者中有27例出现了便血, 提示癌变息肉的临床症状以便血为主, 在排除肛周病变后, 便血可作为电子结肠镜检查发现息肉的首选指征之一^[5], 对于反复发生黏液血便、腹痛、腹泻、消瘦、贫血等的患者应尽早行电子结肠镜检查。

老年组分布于直肠、乙状结肠及降结肠的息肉分别为33.6%、40.6%及12.3%, 中青年组分布于直肠、乙状结肠及降结肠的息肉分别为32.4%、26.4%及17.1%, 两个不同年龄组大肠息肉的分布均以直肠、乙状结肠为主^[6], 文献^[7]认为其原因可能是结肠内容物高度集中在直肠与远端结肠, 而近端、远端结肠肠上皮的胚胎起源和遗传机制不同, 使得其对外源性物质的易感性也不同。老年组升结肠的癌变率(39.1%)显著高于左半结肠($P < 0.05$), 直肠(11.0%)、降结肠(15.0%)、横结肠(21.1%)、升结肠的癌变率

同行评价

本文探讨老年人大肠息肉的临床、内镜与病理特点及其与癌变的关系, 资料翔实, 对临床工作有一定指导意义, 有较高的学术价值。

也高于中青年组的同一个部位($P<0.05$), 这可能与老年人运动量少, 肠蠕动功能减弱, 容易便秘, 结肠内容物长期在升结肠及远端结肠滞留, 其中的致癌物长时间刺激结肠黏膜上皮有关. 两组中各肠段均检出息肉, 且除回盲部外的其余肠段均有息肉发生癌变, 提示息肉及其癌变呈全结、直肠分布, 老年近端结肠癌变率高. 因此, 在行结肠镜检查时, 应尽可能插镜至回盲部, 检查全结肠, 避免漏诊, 发现息肉时应做常规活检. 当不能继续进镜时, 应该考虑行钡灌肠等了解其余肠段的情况, 同时做肿瘤标志物检查^[8]. 老年人体质较弱、合并症多增加了电子结肠镜检查与治疗的风险, 目前临床上逐渐开展的无痛电子结肠镜提高了老年人肠镜操作的耐受性与依从性, 在严密监测下行无痛肠镜检查的安全性及可行性亦得到了证实^[9], 镇静与麻醉情况下的内镜检查有助于减轻机体应激反应, 不仅使原来视为内镜检查禁忌的一些心血管疾病患者也可接受检查, 而且可减少或避免心脑血管意外事件的发生.

老年组息肉直径 <1.0 cm, 癌变发生率为1.5%; $1.0-2.0$ cm, 癌变发生率为4.8%; >2.0 cm, 癌变发生率为31.1%, 与郑恩典等^[3]报道相符. 两组比较, 老年组 >1 cm(60.0%)、多发(30.2%)、广基(80.3%)、分叶状(31.4%)息肉的构成比显著高于中青年组($P<0.01$), 且息肉的体积越大(>2.0 cm)、数量越多、形态呈广基、分叶状者癌变率越高, 说明息肉的体积、数目、基底与表面形态是癌变的重要相关因素, 支持 >2.0 cm、多发性、广基、分叶状息肉容易发生癌变的观点^[3,10]. 35枚癌变息肉均为广基, 多呈分叶状, 提示当息肉表面呈分叶状或绒毛状, 伴糜烂出现, 外观污浊、扁平, 尤其伴有溃疡时, 应考虑恶变的可能. 值得注意的是, 随着扁平腺瘤、锯齿状腺瘤等病变的出现, 提示我们对于小的息肉也不能忽视, 而这些病变早期在普通内镜下容易漏诊, 因此, 应用更先进的肠镜检查技术如染色放大内镜可以提高息肉的检出率^[11].

大肠息肉癌变与其病理类型密切相关. 一般认为炎症性、增生性息肉不会发生癌变^[12], 两组中均未见癌变者. 中青年组息肉以炎症性(60.6%)为主, 老年组以腺瘤性息肉(61.5%)为

主, 其中管状腺瘤(38.8%)最多见. 35枚癌变息肉均发生在腺瘤性息肉中, 提示腺瘤性息肉容易发生癌变^[13], 其中绒毛状腺瘤的癌变率最高(55.3%), 混合性腺瘤次之(11.1%), 管状腺瘤最低(4.8%). 绒毛状腺瘤癌变率显著高于管状腺瘤($P<0.01$), 可见随绒毛成分增加, 腺瘤癌变的几率也增加, 可能是绒毛状结构大大增加了息肉的表面积, 腺瘤越大, 癌变率越高. 近年有文献报道非腺瘤性息肉也有发生癌变的可能^[14], 因此, 息肉无论性质, 均应干预治疗.

通过两个不同年龄组对比分析发现, 老年与中青年大肠息肉是有差异的, 但影响息肉发生癌变或不典型增生的因素均是相同的, 这提示我们老年与中青年的大肠息肉的发生与生长机制上可能存在差异, 但在其发生癌变或不典型增生的机制上可能是相同的.

4 参考文献

- Repici A, Triccerri R. Endoscopic polypectomy: techniques, complications and follow-up. *Tech Coloproctol* 2004; 8 Suppl 2: s283-s290 [PMID: 15666108 DOI: 10.1007/s10151-004-0178-x]
- Morson BC. Genesis of colorectal cancer. *Clin Gastroenterol* 1976; 5: 505-525 [PMID: 1022372 DOI: 10.1007/s10350-004-6553-x]
- 郑恩典, 郑亮, 倪双双, 翁雪健, 柯建莉. 老年人大肠息肉的临床特点. *中国老年学杂志* 2008; 28: 1123-1124
- 陈仕武, 朱娟. 1233例大肠息肉的临床与内镜分析. *临床荟萃* 2007; 22: 728-729
- 路亮, 许建明, 韦俊超. 大肠息肉癌变因素的初步研究. *安徽医学* 2008; 29: 29-36
- 常艳, 于晓红, 路聪哲. 大肠息肉90例临床及病理分析. *实用医学杂志* 2009; 25: 2045-2046
- 鲁劲, 何剪太, 廖春秀. 结肠镜下诊治老年性大肠息肉的临床价值. *中国内镜杂志* 2004; 10: 51-62
- 王志津, 黄平. 老年人大肠息肉的临床表现及镜下治疗. *临床荟萃* 2007; 22: 780-782
- 厉挺, 周金萍. 老年人无痛肠镜下治疗结肠息肉的临床观察. *中国医师杂志* 2009; 11: 517-518
- Bertario L, Russo A, Sala P, Pizzetti P, Ballardini G, Andreola S, Spinelli P. Predictors of metachronous colorectal neoplasms in sporadic adenoma patients. *Int J Cancer* 2003; 105: 82-87 [PMID: 12672034]
- 沈奕, 钟捷, 范嵘, 俞丽芬, 许斌. 色素放大内镜与普通电子内镜诊断结肠黏膜病变的价值比较. *中国临床医学* 2009; 16: 387-389
- 李晓燕, 季雪梅, 蒋海燕, 张磊. 1196例结肠息肉的临床诊治经验. *云南医药* 2009; 30: 523-526
- Jass JR. Colorectal cancer: a multipathway disease. *Crit Rev Oncog* 2006; 12: 273-287 [PMID: 17425506]
- Hyman NH, Anderson P, Blasyk H. Hyperplastic polyposis and the risk of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 2101-2104 [PMID: 15657661]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



USP22和Nanog在结肠癌组织中的表达及临床意义

贾莹莹, 王进, 杨丽敏

贾莹莹, 王进, 杨丽敏, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

贾莹莹, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的相关研究.

作者贡献分布: 此课题由贾莹莹与王进设计; 研究过程由所有作者共同完成; 论文写作由贾莹莹与杨丽敏完成.

通讯作者: 王进, 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消化内科.

wangjin3@medmail.com.cn

电话: 0371-66862072

收稿日期: 2012-12-26 修回日期: 2013-01-11

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

Clinical significance of expression of USP22 and Nanog in colon cancer

Ying-Ying Jia, Jin Wang, Li-Min Yang

Ying-Ying Jia, Jin Wang, Li-Min Yang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Correspondence to: Jin Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. wangjin3@medmail.com.cn

Received: 2012-12-26 Revised: 2013-01-11

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of USP22 and Nanog in colon cancer and to explore their relationship with clinicopathological factors of this malignancy.

METHODS: The expression of USP22 and Nanog was detected by immunohistochemistry in 80 cases of colonic adenocarcinoma, 35 cases of colonic adenoma and 40 cases of normal colonic tissue.

RESULTS: The positive rate of USP22 expression in colonic adenocarcinoma was significantly higher than those in colonic adenoma and normal tissues (both $P < 0.05$), but there was no significant difference between colonic adenoma and adenocarcinoma ($P > 0.05$). The positive rate of Nanog expression differed significantly in normal colonic tissue, colonic adenoma and colonic adenocarcinoma (all $P < 0.05$). The expression of USP22 and Nanog was correlated with Duke's stage, histopathological grade, lymph

node metastasis and depth of invasion (all $P < 0.05$). There was a positive correlation between the expressions of USP22 and that of Nanog in colonic adenocarcinoma ($r = 0.509$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: The expression of USP22 and Nanog is closely related to the occurrence and development of colonic adenocarcinoma, and they have synergistic effect on infiltration, invasion and metastasis of colonic adenocarcinoma. USP22 and Nanog may be used as early diagnostic markers and therapeutic targets for colorectal adenocarcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: USP22; Nanog; Cancer stem cells; Colon cancer; Immunohistochemistry

Jia YY, Wang J, Yang LM. Clinical significance of expression of USP22 and Nanog in colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 719-723 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/719.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.719>

摘要

目的: 研究USP22和Nanog在结肠癌组织中的表达及其与临床病理因素的关系.

方法: 采用免疫组织化学法检测USP22和Nanog在80例结肠癌组织, 35例结肠腺瘤组织及40例癌旁正常结肠组织中的表达.

结果: USP22在结肠癌中的阳性表达率明显高于结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织($P < 0.05$), 但结肠腺瘤和癌旁正常组织的阳性表达率差异无统计学意义($P > 0.05$), Nanog在癌旁正常组织, 结肠腺瘤和结肠腺癌中的阳性表达率差异均有统计学意义($P < 0.05$). USP22和Nanog的表达与Dukes分期, 组织学分级, 淋巴结转移以及浸润深度均有关($P < 0.05$); USP22和Nanog在结肠癌组织中的表达呈正相关($r = 0.509$, $P < 0.01$).

结论: USP22和Nanog的表达与结肠癌的发生发展有关, 二者在结肠癌的细胞增殖、浸润和

■背景资料

肿瘤干细胞是肿瘤中一小部分具有干细胞性质的细胞群, 具有自我更新能力, 是肿瘤发生发展的源泉. 由于肿瘤干细胞理论打破了以往的肿瘤研究模式, 近年来越来越受到重视. 而通过对肿瘤干细胞标志物的研究, 可以为肿瘤的早期诊断提供依据, 并且为靶向治疗寻求新的靶点.

■同行评议者

刘丽江, 教授, 江汉大学医学院病理学

■研发前沿

肿瘤干细胞标志物的研究不仅有助于阐明肿瘤的发生机制,而且还可以针对肿瘤干细胞的特异性抗原制备相应的抗体,研制出特定的靶向药物,为抗肿瘤药物的研究开辟一个全新的领域。

转移中有协同作用,他们有望成为结肠癌的早期诊断指标和治疗靶点。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: USP22; Nanog; 肿瘤干细胞; 结肠癌; 免疫组织化学

贾莹莹, 王进, 杨丽敏. USP22和Nanog在结肠癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 719-723 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/719.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.719>

0 引言

结肠癌为临床常见恶性肿瘤之一,他的发生遵循“正常黏膜-腺瘤-腺癌”的组织发生顺序,被称为大肠腺瘤-癌序列.在我国常见的恶性肿瘤中,结肠癌的发病率位于第5位^[1],并有逐年增高的趋势.近年来提出的肿瘤干细胞理论认为肿瘤干细胞具有自我更新、无限增殖以及多向分化的潜能,是肿瘤的启动细胞,可能是恶性肿瘤的种子和源泉,只有针对肿瘤干细胞的靶向治疗才能最终治愈肿瘤^[2].这个理论为肿瘤的预防和治疗提供了新的方向.去泛素酶基因(USP22)是肿瘤干细胞标志家族中一个新鉴定的成员,目前已经发现USP22在DNA转录、细胞恶变以及细胞周期进程中发挥了重要作用,已成为干细胞领域研究的一个热点. Nanog是近些年在胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)中发现的最重要的转录因子,对于维持胚胎干细胞自我更新和多向分化潜能起着关键作用,并且发现在多种肿瘤中高表达.目前,国内对USP22、Nanog在结肠癌方面的联合报道甚少.本研究通过联合检测二者在结肠腺瘤和腺癌组织中的表达,探讨二者在结肠癌发生发展过程中的作用,为临床的诊断治疗及判断预后提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选取郑州大学第一附属医院2010-11/2011-12外科手术或内镜下切除后的存档石蜡标本155例,所有标本均经病理明确诊断.其中结肠腺癌80例,男46例,女34例,年龄32-84岁,中位年龄55.4岁.按Duke分期分为A期19例、B期29例、C期26例、D期6例.按分化程度分为高分化26例、中分化32例、低分化22例.有淋巴转移者31例,无淋巴转移49例.浸润深度侵及浆膜者57例,未侵及浆膜者23例.结肠腺瘤伴不典型增生35例.癌旁正常组织40例(取自上述40

例结肠癌患者癌旁>5 cm组织).所有患者术前均未接受过放射、化学和免疫治疗.兔抗人USP22多克隆抗体购自美国Abgent公司(Cat.AP2148b);兔抗人多克隆抗体Nanog购自河北博海生物技术有限公司(Cat.yp-0829R);即用型S-P试剂盒及DAB显色剂均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法 所有标本均经10%甲醛固定,常规石蜡包埋,4 μm厚连续切片,常规脱蜡,高温高压修复,具体操作步骤严格按照试剂盒说明书进行. USP22一抗工作浓度为1:50, Nanog一抗工作浓度为1:100.用PBS代替一抗作空白对照,用已知阳性切片作阳性对照。

USP22为胞浆与胞核着色,以胞核着色判断为阳性,随即选择5个高倍镜视野,每个视野取200个细胞观察其中阳性细胞的个数,将结果分为强阳性(+++),阳性细胞≥76%;阳性(++)51%-75%;弱阳性(+)11%-50%;阴性(-)<10%. Nanog蛋白阳性反应为位于细胞核或胞浆内的棕黄色均匀细颗粒. Nanog蛋白阳性为高倍光学显微镜下观察, #每张切片随机选取5个视野,每个视野计数100个细胞,阳性细胞数<5%为(-)、5%-25%为(+)、26%-75%为(++), ≥76%为(+++).免疫组织化学染色由两位高年资病理科医师在双盲条件下进行评定。

统计学处理 采用SPSS17.0软件包进行分析处理.计数资料采用 χ^2 检验,两等级变量的相关分析采用Spearman等级相关分析.以 $\alpha = 0.05$ 作为检验水准。

2 结果

USP22和Nanog蛋白在癌旁正常、结肠腺瘤及腺癌组织中的表达见图1, 2和表1. USP22和Nanog蛋白表达与结肠癌临床病理因素的关系见表2.结肠癌组织中, USP22和Nanog表达均为阳性的有44例,均为阴性的有14例.两者表达呈显著正相关($r = 0.509, P < 0.01$).

3 讨论

近年来,肿瘤干细胞的研究已经成为热点.几年前,可以预测具有耐药性和侵袭性肿瘤的11号基因簇被发现,他有利于肿瘤患者的诊断和病情级别的划分.11号基因组肿瘤干细胞标志家族是编码正常干细胞和肿瘤干细胞的关键调节因子的,而USP22则是家族中一个新鉴定的成员,他在DNA转录、Myc介导的细胞恶变以及细胞周

■相关报道

Glinsky等利用mRNA微集阵列技术,发现USP22在多数恶性肿瘤细胞中表达普遍升高,并且其表达程度与实体肿瘤转移潜能、耐药性及患者预后密切相关,因此, USP22与BMI-1、cyclin B1等一同被归纳为肿瘤干细胞的标志基因。

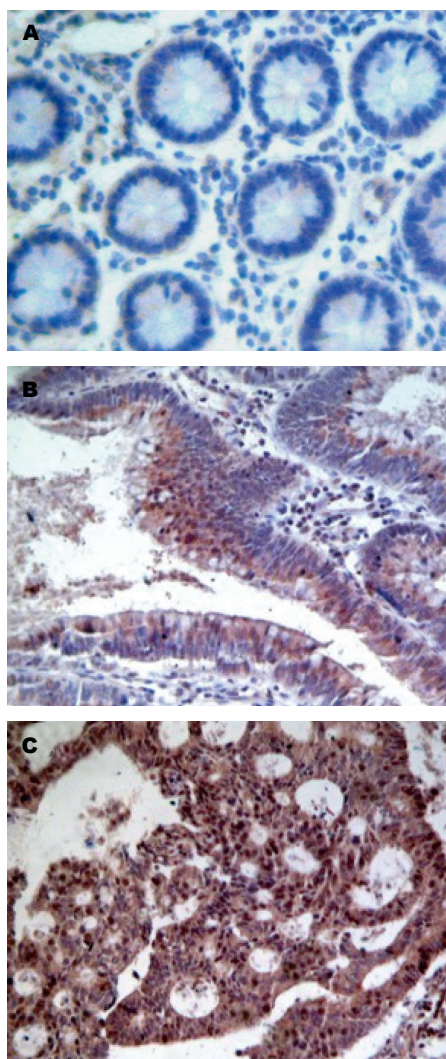


图 1 USP22在各组织的表达(SP×200). A: 正常组织中的阴性表达; B: 结肠腺瘤中的阳性表达; C: 结肠癌中的阳性表达.

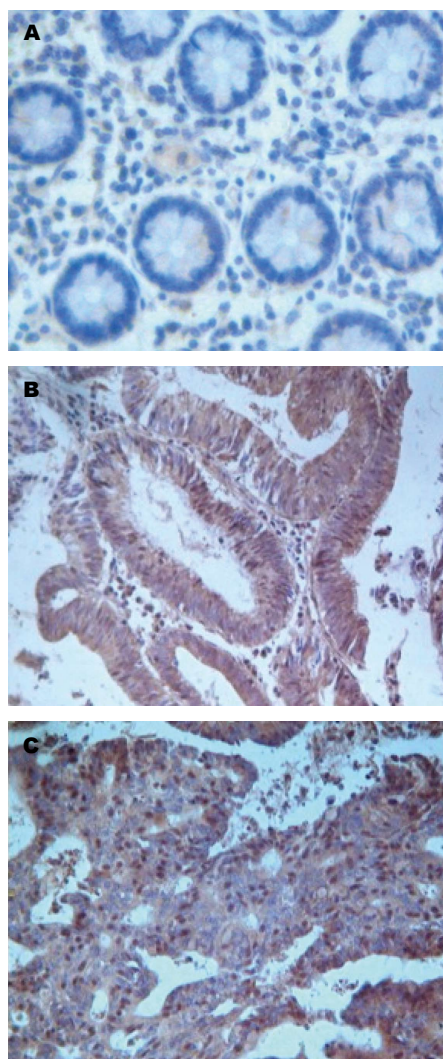


图 2 Nanog在各组织的表达(SP×200). A: 正常组织中的阴性表达; B: 结肠腺瘤中的阳性表达; C: 结肠癌中的阳性表达.

■应用要点
USP22和Nanog有望成为结肠癌的早期诊断指标和抗肿瘤药物的新靶点.

期进程中发挥着重要作用. 现已证实, USP22是激活子驱动的转录所必需的. 他与人转录辅助因子复合体(hSAGA)相互作用可以调节多种关键基因的转录^[3], 比如USP22调控Myc靶基因的转录激活是Myc介导的细胞恶变所必需的. 因此认为USP22是通过调控多种基因的转录而影响基因的功能, 从而发挥生物学功能的. 目前已经发现USP22在胃癌^[4]、乳腺癌^[5]等多种肿瘤细胞中呈现高表达, 并且其表达程度与肿瘤转移潜能、耐药性及患者预后密切相关, 所以, USP22被认为是肿瘤干细胞的标志基因, 其异常表达是细胞恶性转化、浸润的重要环节^[6,7]. 目前多数学者认为约80%的结直肠癌来自于腺瘤^[8]. 已有研究表明, USP22对直肠癌的发生、发展起重要作用^[9]. 本研究通过检测发现USP22蛋白在正常组织和结肠腺瘤以及腺瘤和腺癌中的阳性表达率差异具有统计学意义, USP22在结肠癌中

的表达随着Dukes分期的进展, 分化程度的降低, 淋巴结的转移以及浸润深度的加深逐渐增高. 由此可以看出USP22可能在结肠腺瘤癌变过程, 腺癌的浸润转移中起着重要作用, 很可能成为诊断早期结肠癌的新指标. 但是目前USP22许多作用机制尚不完全清楚, 比如是否存在转录因子相关的其他作用底物等, 因此仍需要更进一步的研究.

Nanog是维持ESCs自我更新和多向分化潜能的核心转录因子之一, 可诱导多能干细胞, 是全能性或多能性干细胞标志物^[10,11]. 多个研究报道已证明, Nanog在胃癌^[12]、结肠癌^[13]、乳腺癌和前列腺癌^[14]等多种肿瘤细胞中表达, 并且他的表达与结肠癌的复发转移相关^[15]. Nanog作为干细胞标志物在肿瘤中的表达不仅为肿瘤干细胞理论提供了依据, 而且很多人认为Nanog可作为肿瘤的一个特异性、敏感性的标志物和治疗靶

■名词解释

人转录辅助因子复合体(hSAGA):是由多个亚单位组成的复合物,通过乙酰化染色体上的组蛋白,调节多种关键基因的转录。

表 1 USP22、Nanog蛋白在正常组织、腺瘤、结肠癌中的表达

组织类型	<i>n</i>	USP22阳性 <i>n</i> (%)	χ^2 值	<i>P</i> 值	Nanog阳性 <i>n</i> (%)	χ^2 值	<i>P</i> 值
正常黏膜	40	9(22.5)	11.422	0.001 ^a	7(17.5)	47.287	0.000 ^a
腺瘤	35	11(31.4)	0.761	0.383	19(54.3)	11.153	0.001
腺癌	80	44(55.0)	5.421	0.020 ^c	66(82.5)	10.052	0.002 ^c

^a*P*<0.05 vs 腺癌; ^c*P*<0.05 vs 腺瘤。

表 2 结肠癌组织中USP22和Nanog蛋白阳性表达与临床病理参数的关系

临床病理因素	<i>n</i>	USP阳性 <i>n</i> (%)	χ^2 值	<i>P</i> 值	Nanog阳性 <i>n</i> (%)	χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)			0.425	0.514		0.011	0.918
≤55	39	20(51.3)			32(82.1)		
>55	41	24(58.5)			34(82.9)		
性别			0.101	0.750		1.489	0.222
男	46	26(56.5)			40(87.0)		
女	34	18(52.9)			26(76.5)		
Dukes分期			6.136	0.013		4.675	0.031
A + B	48	21(43.8)			36(75.0)		
C + D	32	23(71.9)			30(93.8)		
分化程度			4.257	0.039		9.670	0.002
高	26	10(38.5)			16(61.5)		
中低	54	34(63.0)			50(92.6)		
淋巴结转移			5.214	0.022		4.279	0.039
无	49	22(44.9)			37(75.5)		
有	31	22(71.0)			29(93.5)		
浸润深度			7.871	0.005		23.617	0.000
未及浆膜	23	7(30.4)			11(47.8)		
侵及浆膜	57	37(64.9)			55(96.5)		

点. 在本研究中发现, Nanog在正常黏膜, 腺瘤到腺癌中阳性表达率依次增高, 且各组比较差异均有统计学意义, 并且Nanog在结肠癌中的表达随着临床分期的进展, 分化程度的降低, 浸润深度的加深以及淋巴结的转移逐渐增高. 这些结果提示, Nanog可能在结肠癌的增殖、转移、浸润中扮演着重要角色。

作为hSAGA亚单位和ESCs转录因子, USP22和Nanog在转录过程中都发挥着重要作用, 因此, 我们推断他们在结肠癌的发生、发展、浸润和转移过程中可能具有协同作用. 而我们的研究实验得出USP22和Nanog在结肠癌组织中的表达呈正相关, 恰好也证明了上述推论. 作为肿瘤干细胞标志物, USP22和Nanog在结肠癌中的高表达也进一步验证了肿瘤干细胞理论。

今后希望通过对USP22和Nanog更进一步的研究, 使他们有望成为诊断结肠癌的早期指标。

并且USP22编码的是一种酶, 极易受到药物影响, 因此USP22有可能成为抗肿瘤药物的一个新靶点. 找到针对肿瘤干细胞的药物新靶点, 肿瘤才有治愈的可能. 目前, 对于USP22和Nanog的生物学功能及其作用机制还尚未完全了解, 因此, 我们还需要更为深入的研究, 以便于更多地了解干细胞和肿瘤细胞的生物学特性以及肿瘤发生、发展、浸润和转移的分子机制, 进而为肿瘤的早期诊断和基因治疗提供新的切入点。

4 参考文献

- 1 Zhao P, Dai M, Chen W, Li N. Cancer trends in China. *Jpn J Clin Oncol* 2010; 40: 281-285 [PMID: 20085904 DOI: 10.1093/jjco/hyp187]
- 2 陆士新. 肿瘤干细胞及其对肿瘤治疗理念的影响. *中华肿瘤杂志* 2010; 32: 81-83
- 3 Zhang XY, Varthi M, Sykes SM, Phillips C, Warzecha C, Zhu W, Wyce A, Thorne AW, Berger SL, McMahon SB. The putative cancer stem cell marker USP22 is a subunit of the human SAGA complex required for activated transcription and cell-cycle

- progression. *Mol Cell* 2008; 29: 102-111 [PMID: 18206973 DOI: 10.1016/j.molcel.2007.12.015]
- 4 Yang DD, Cui BB, Sun LY, Zheng HQ, Huang Q, Tong JX, Zhang QF. The co-expression of USP22 and BMI-1 may promote cancer progression and predict therapy failure in gastric carcinoma. *Cell Biochem Biophys* 2011; 61: 703-710 [PMID: 21735131 DOI: 10.1007/s12013-011-9229-x]
- 5 Zhang Y, Yao L, Zhang X, Ji H, Wang L, Sun S, Pang D. Elevated expression of USP22 in correlation with poor prognosis in patients with invasive breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1245-1253 [PMID: 21691749 DOI: 10.1007/s00432-011-0998-9]
- 6 Glinsky GV. Death-from-cancer signatures and stem cell contribution to metastatic cancer. *Cell Cycle* 2005; 4: 1171-1175 [PMID: 16082216 DOI: 10.4161/cc.4.9.2001]
- 7 Glinsky GV. Genomic models of metastatic cancer: functional analysis of death-from-cancer signature genes reveals aneuploid, anoikis-resistant, metastasis-enabling phenotype with altered cell cycle control and activated Polycomb Group (PcG) protein chromatin silencing pathway. *Cell Cycle* 2006; 5: 1208-1216 [PMID: 16760651 DOI: 10.4161/cc.5.11.2796]
- 8 房静远. 关注结直肠腺瘤的诊治研究. 中华消化杂志 2010; 30: 433-435
- 9 周飞宇, 宁晓婷. 直肠癌组织中usp22的表达及其临床意义. 实用医学杂志 2011; 27: 3282-3283
- 10 刘培良, 王怀林, 侯晓军. 干细胞治疗基础与临床-国内外最新动态. 中国实用内科杂志 2011; 31: 747-749
- 11 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]
- 12 陈忠, 许文荣, 钱晖, 朱伟, 王胜, 步雪峰, 毛飞, 曹慧玲, 徐学静. 干细胞标志物Nanog的检测在胃癌诊断中的意义. 临床检验杂志 2009; 27: 6-9
- 13 王海玲, 杨丽敏, 王进. Piwil2、Nanog在结肠癌中异常表达的临床意义. 中华消化杂志 2011; 31: 627-630
- 14 Gu G, Yuan J, Wills M, Kasper S. Prostate cancer cells with stem cell characteristics reconstitute the original human tumor in vivo. *Cancer Res* 2007; 67: 4807-4815 [PMID: 17510410 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4608]
- 15 李宁, 邓文英, 马懿辉, 陈小兵, 韩黎丽, 吕慧芳, 陈贝贝, 罗素霞. 干细胞标志物Nanog_Oct_4_SOX_2表达与结肠癌术后复发转移关系. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2644-2648

■同行评价

本文选题有较高的科学性以及新颖性, 实验结果可靠, 其结果对于进一步理解结肠癌及结肠癌干细胞的生物学特性和判断预后有一定的价值。

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%。

MDA-MSP技术检测粪便miR34b/c甲基化及其在结直肠癌早期诊断中的意义

张丰云, 管静芝, 赵慧霞, 李秋文, 董伟伟, 段昕好, 朱建华, 王如良, 郝怡鑫, 叶明, 肖文华

张丰云, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肿瘤科 陕西省西安市 710032

管静芝, 中国人民解放军第309医院肿瘤科 北京市 100091
赵慧霞, 李秋文, 董伟伟, 段昕好, 朱建华, 王如良, 郝怡鑫, 叶明, 肖文华, 解放军总医院第一附属医院肿瘤科 北京市 100048

张丰云, 主要从事肿瘤学的相关研究。

解放军总医院苗圃基金资助项目, No. 09KMM30

作者贡献分布: 本实验由肖文华、管静芝及张丰云设计; 研究过程和标本收集由张丰云、管静芝、赵慧霞、李秋文、董伟伟、段昕好、朱建华、王如良、郝怡鑫及叶明完成; 研究所用试剂和分析工具由肖文华提供; 数据分析由张丰云、管静芝及肖文华完成; 本文写作由张丰云、管静芝及肖文华完成。

通讯作者: 管静芝, 副主任医师, 硕士生导师, 100091, 北京市海淀区黑山扈甲17号, 中国人民解放军第309医院肿瘤科。jzjz1970@hotmail.com

收稿日期: 2012-12-04 修回日期: 2013-02-21

接受日期: 2013-03-01 在线出版日期: 2013-03-18

Clinical significance of detection of stool miR34b/c methylation by MDA-MSP in patients with colorectal cancer

Feng-Yun Zhang, Jing-Zhi Guan, Hui-Xia Zhao, Qui-Wen Li, Wei-Wei Dong, Xin-Yu Duan, Jian-Hua Zhu, Ru-Liang Wang, Yi-Xing Hao, Ming Ye, Wen-Hua Xiao

Feng-Yun Zhang, Department of Oncology, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Jing-Zhi Guan, Department of Oncology, the 309th Hospital, Beijing 100091, China

Hui-Xia Zhao, Qui-Wen Li, Wei-Wei Dong, Xin-Yu Duan, Jian-Hua Zhu, Ru-Liang Wang, Yi-Xing Hao, Ming Ye, Wen-Hua Xiao, Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of PLA General Hospital, Beijing 100048, China

Supported by: the People's Liberation Army General Hospital Nursery Foundation, No. 09KMM30

Correspondence to: Jing-Zhi Guan, Associate Chief Physician, Department of Oncology, the 309th Hospital, 17 Heishanhuajia, Haidian District, Beijing 100091, China. jzjz1970@hotmail.com

Received: 2012-12-04 Revised: 2013-02-21

Accepted: 2013-03-01 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To investigate the value of detection of stool miR34b/c methylation in the diagnosis of colorectal cancer.

METHODS: Multiple displacement amplifica-

tion (MDA) was used to amplify bisulfite modified genomic DNA, and methylation-specific PCR (MSP) was used to analyze methylation of miR34b/c in colorectal cancer tissue and stool DNA from 126 patients with colorectal cancer and stool DNA in 64 patients with benign diseases.

RESULTS: In 126 cancer specimens and matched tumor-adjacent tissue specimens, 95.2% (120/126) and 11.9% (15/126) showed methylation of miR34b/c, and there is a significant difference in the rate of methylation between them ($P < 0.01$). There was no significant correlation between methylation of miR34b/c and clinicopathologic parameters (all $P > 0.05$). The rate of methylation of miR34b/c in stool DNA was significantly higher in cancer patients than in patients with benign disease (90.2% vs 7.8%, $P < 0.01$). The sensitivity and specificity of detection of miR34b/c methylation in diagnosis of colorectal cancer were 90.2% and 92.2%, respectively.

CONCLUSION: The hypermethylation of miR34b/c is frequent in colorectal cancer and may be used as a novel diagnostic biomarker for colorectal cancer. MDA and MSP techniques provide ideal tools for analysis of methylation in trace DNA samples.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: MiR34b/c gene; Multiple displacement amplification; Methylation-specific PCR; Stools

Zhang FY, Guan JZ, Zhao HX, Li QW, Dong WW, Duan XY, Zhu JH, Wang RL, Hao YX, Ye M, Xiao WH. Clinical significance of detection of stool miR34b/c methylation by MDA-MSP in patients with colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 724-728 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/724.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.724>

摘要

目的: 探讨粪便miR34b/c甲基化状态的检测在结直肠癌早期诊断中的意义。

■背景资料

结直肠癌的发病率呈现出逐年上升的趋势, 其发病率已上升至第3位; 早期结直肠癌治愈率较高, 但晚期预后差。因此, 寻找结肠癌的早期诊断方法对提高结直肠癌的治愈率极为关键。研究发现miR34b/c在结直肠癌中存在高频甲基化异常, 因此检测结直肠癌组织和粪便中的miR34b/c有助于早期诊断或筛查结直肠癌。

■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

■研究前沿

利用粪便中miRNA作为筛查或诊断结直肠癌的标志物,已成为目前研究热点,如何提高粪便中靶DNA高检出率是关键。

方法: 从126例结直肠癌患者癌组织、癌旁组织、粪便和64例正常对照者的粪便中分别提取DNA,采用多重置换扩增(multiple displacement amplification, MDA)技术对经过亚硫酸氢盐修饰样本进行全基因组扩增,结合甲基化特异性PCR(methylation-specific PCR, MSP)检测组织和粪便中miR34b/c基因甲基化状态。

结果: 结直肠癌癌组织miR34b/c基因的甲基化阳性率为95.2%(120/126),对应的癌旁正常组织为11.9%(15/126),两者比较有显著差异($P<0.01$); miR34b/c甲基化状态与各临床病理参数无显著相关($P>0.05$)。结直肠癌粪便miR34b/c甲基化阳性率为90.2%(111/123),显著高于正常对照7.8%(5/64),差异有统计学意义($P<0.01$)。粪便DNA miR34b/c用于结直肠癌早期诊断的敏感性为91.2%,特异性为92.2%。

结论: miR34b/c甲基化是结直肠癌的重要分子特征,检测粪便miR34b/c甲基化有望成为结直肠癌早期诊断的一个全新的肿瘤标志物。MDA结合MSP为miRNA的甲基化分析提供了一种较理想的研究手段。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: miR34b/c; 甲基化特异性PCR; 多重置换扩增; 粪便

张丰云, 管静芝, 赵慧霞, 李秋文, 董伟伟, 段昕好, 朱建华, 王如良, 郝怡鑫, 叶明, 肖文华. MDA-MSP技术检测粪便miR34b/c甲基化及其在结直肠癌早期诊断中的意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 724-728 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/724.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.724>

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是我国最常见的恶性肿瘤之一,其发病率呈上升趋势,且晚期患者预后很差,5年总体生存率较低。因此,早期诊断是提高临床治愈率的关键。然而,到目前为止尚无理想的早期筛查或诊断结直肠癌的非侵入性手段^[1]。近年来研究认为miRNAs通过对多种基因的调节广泛参与恶性肿瘤的发生和发展,还发现大约50%的miRNAs基因组富含CpG序列,是表观遗传沉默的重要靶点^[2-4]。前期研究表明:在结直肠癌中,miR34b/c存在高频率的甲基化异常,是结直肠癌的一重要分子特征^[5,6]。结直肠癌脱落的癌细胞或分泌的游离DNA通过粪便排出体外,粪便DNA中也存在较高比例的肿瘤

DNA。因此,检测粪便miR34b/c基因甲基化有可能成为新的结直肠癌早期诊断或筛查的生物标志物。本文采用多重置换扩增(multiple displacement amplification, MDA)技术联合巢式甲基化特异性PCR(methylation-specific PCR, MSP)技术分析了126例结直肠癌患者粪便miR34b/c基因甲基化状态,以探讨其在结直肠癌早期诊断中的应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 标本收集: 肿瘤组织标本均来自我院普外科和肝胆外科2011-06/2012-08住院结直肠患者,男67例,女59例,年龄为38-82岁,中位年龄52岁。所有组织标本均经病理学检查证实。术前取肿瘤患者粪便,半小时之内送实验室提取DNA, -20 °C保存;并同期选择年龄相匹配的64例正常对照者(37例腹股沟疝患者,27例下肢静脉曲张患者)作为粪便检测的对照。大肠癌患者术后立即取癌组织、癌旁组织标本,分装并-80 °C保存。所有患者在术前均未接受过化疗或放疗,所有研究对象均知情同意并签署知情同意书。组织DNA提取试剂盒: 天根组织基因组DNA提取试剂盒; 全血DNA提取试剂盒: 天根全血基因组DNA提取试剂盒; 亚硫酸盐处理试剂: Wizard DNA Clean-up system(Promega公司)、EZ DNA Methylation™-Direct Kit; X-SssI内切酶(英国NEB公司); 对亚硫酸氢盐转化的DNA进行全基因组扩增试剂盒: EpiTect Whole Bisulfiteome Kit(德国Qiagen); PCR扩增试剂: HotstarTaq DNA polymerase(德国Qiagen)。

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA的提取: (1)组织DNA的提取: 组织应先打碎处理为细胞悬液,蛋白酶K消化,然后参照说明书提取DNA; (2)粪便DNA的提取: 取100-200 mg粪便,用stool DNA Extraction Kit提取DNA,操作按说明进行,最后用紫外分光光度仪检测纯度及含量; (3)全血DNA的提取: 用天根生化的全血基因组DNA提取试剂盒提取正常人外周血样本中基因组DNA,操作步骤按说明书进行。提取DNA后用Sss I处理的正常人淋巴细胞基因组作为阳性对照,未经处理的淋巴细胞基因组作为阴性对照。

1.2.2 基因组DNA的亚硫酸氢盐修饰: 组织基因组DNA参照“Wizard DNA Clean-up system”试剂盒进行修饰; 全血和粪便基因组DNA的亚

表 1 miR34b/c基因的甲基化特异性PCR引物序列

基因	引物序列	退火温度(°C)	片段大小(bp)
miR34b/c-UF	5'-TGGTTTGTGGGGTTTAAAGG-3'	59	147
miR34b/c-UR	5'-TCCCAACCCCAAACCTA-3'		
miR34b/c-MF	5'-ATTCGTTTCGTTTCGCGTTCGTTTC-3'	59	128
miR34b/c-MR	5'-CTAAACTAATCTCTCGACCCCG-3'		

硫酸氢钠修饰: 参照“EZ DNA Methylation™ Direct Kit”试剂盒说明书进行。

1.2.3 MDA对亚硫酸氢盐转化的DNA进行全基因组扩增: 使用EpiTect Whole Bisulfite Kit扩增试剂盒进行全基因组扩增, 即取5 μL亚硫酸氢钠修饰的DNA, 加入5 μL 灭菌水, 再加入在冰上配制的1 μL REPLI-g Midi DNA polymerase和29 μL EpiTect WBA Reaction Buffer反应混合液, 振荡混匀, 在28 °C等温全基因组扩增反应8 h, 然后95 °C 5 min终止反应, 4 °C保存。

1.2.4 甲基化特异性PCR和电泳分析: miR34b/c甲基化及非甲基化引物参照参考文献[7], 引物序列、退火温度和扩增产物长度(表1); PCR引物由上海生工生物工程有限公司合成。取2 μL经过MDA扩增的基因组DNA为模板, PCR反应体系为25 μL: 10×Buffer 2.5 μL, Mg²⁺ 0.5 μL, TaqDNA聚合酶0.2 μL, dNTP 2 μL, 甲基化和未甲基化上、下游引物各1 μL, 经过MDA扩增的基因组DNA 2 μL为模板, 灭菌用水15.8 μL。同时设立阳性对照、阴性对照和空白对照。PCR循环参数: 95 °C 10 min, 95 °C 30 s, 59 °C 30 s, 72 °C 30 s, 以上步骤共40个循环, 72 °C延伸7 min。经上述PCR扩增后, 将5 μL PCR产物在2%琼脂糖凝胶上进行电泳, 用凝胶成像系统观察结果并拍照。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行数据分析; 各标本miR34b/c甲基化检出率之间的比较, 采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 认为统计学具有显著性差异; $P>0.05$ 则认为统计学上无显著性差异。诊断的敏感性和特异性的计算采用相应公式计算。

2 结果

2.1 结直肠癌组织miR34b/c基因甲基化的检出率在126例结直肠癌组织中, 95.2%(120/126)检测出miR34b/c基因甲基化, 在对应的癌旁正常组织只有11.9%(15/126)检出甲基化, 二者比较有极显著性差异($P<0.01$, 图1)。

2.2 粪便miR34b/c基因甲基化检出率 在126例

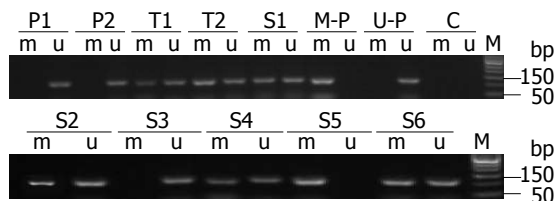


图 1 MDA-MSP技术检测结直肠癌组织和粪便miR34b/c基因的甲基化。P: 癌旁正常组织; T: 肿瘤组织; S: 粪便DNA; u: 未甲基化; m: 甲基化; M-P: 甲基化阳性对照; U-P: 未甲基化阳性对照; C: 空白对照; M: 标准分子量。

结直肠癌患者粪便标本中, 有3例未能有效扩增; 在剩余123例标本中, 90.2%(111/123)检测出miR34b/c基因甲基化, 而对照粪便miR34b/c甲基化检出率为7.8%(5/64)。与肿瘤组织标本miR34b/c甲基化检出情况相比, 在所有120例miR34b/c甲基化阳性的癌组织标本中, 只有111例粪便标本为阳性; 癌组织为阴性的标本, 对应的粪便标本也均为阴性, 提示粪便标本miR34b/c甲基化检出率的敏感性稍有下降, 但特异性无改变。粪便miR34b/c基因甲基化诊断结直肠癌的敏感性为91.2%, 特异性为90.2%。

2.3 miR34b/c甲基化与结直肠癌临床病理参数的关系 本实验对所有120例结直肠癌组织和111例结直肠癌患者粪便miR34b/c基因甲基化与患者性别、年龄、肿瘤位置、临床分期和病理分级的相关性进行了检验分析, 未发现他们之间的相关性($P>0.05$, 表2)。

3 讨论

miRNA是一类19-25 bp的保守非编码、单链RNA, 具有高效率的调节基因表达的作用。一个miRNA可与多个, 甚至上百个靶基因mRNA 3'端特异性结合, 导致mRNA的降解或蛋白质翻译的抑制, 在转录后水平调节基因的表达, 参与调控细胞增殖和凋亡等重要的细胞生命活动, 提示miRNA在肿瘤形成过程中可能扮演着重要的角色^[8,9]。许多研究发现部分miRNA在结直肠癌组织中是低表达或不表达, 进一步研究发现这些miRNA是由于高甲基化而失去表达的^[10,11]。

■ 相关报道

Kalimutho等在82例结直肠癌中, 97.5%的病例显示miR34b/c甲基化, 并发现75%的血浆DNA miR34b/c甲基化。75%的阳性率对于结直肠癌早期具有重要的诊断价值。

■创新盘点

目前尚无报道粪便中miR34b/c甲基化用于结直肠癌早期诊断。本文利用检测粪便miR34b/c甲基化,同时采用MDA-MSP技术,大大提高了miR34b/c甲基化的检出率。

表 2 miR34b/c基因甲基化与临床病理参数的关系 (n)

观察项目	组织标本				粪便标本			
	n	甲基化	未甲基化	P值	n	甲基化	未甲基化	P值
性别								
男	67	63	4	0.795	66	60	6	0.789
女	59	57	2		57	51	6	
年龄(岁)								
>65	47	46	1	0.523	46	44	2	0.212
≤65	79	74	5		77	66	10	
肿瘤位置								
近端	39	38	1	0.747	39	38	1	0.132
远端	87	82	5		84	73	11	
临床分期								
I	12	11	1	0.555	11	9	2	0.766
II	52	50	2		52	47	5	
III	48	46	2		47	43	4	
IV	14	13	1		13	12	1	
病理分级								
I	38	37	1	0.342	36	34	2	0.645
II	52	49	3		51	45	6	
III	36	34	2		36	32	4	

2008年Toyota等^[5]发现miR34b/c在结直肠癌中存在高频率的高甲基化,100%(9/9)的结肠癌细胞系被甲基化,90%(101/111)的结肠癌组织被甲基化,采用DNA甲基转移酶抑制剂5-脱氧杂氮胞苷可通过去甲基化作用诱导结肠癌细胞株miR34b/c的表达,证实了miR34b/c甲基化和其低表达的因果关系。2011年Kalimutho等^[7]进一步证实了Toyota的发现,在82例结直肠癌中,97.5%的病例显示miR34b/c甲基化,并发现75%的粪便DNA miR34b/c甲基化。该研究表明:尽管粪便DNA miR34b/c的甲基化的检出率明显低于组织的甲基化检出率,但75%的阳性率仍可作为结直肠癌早期筛查分子标志物。粪便DNA甲基化检出率较低的原因主要是模板DNA含量较低,尤其是经亚硫酸氢盐处理后,模板DNA含量更低和粪便中存在的PCR反应抑制因子。因此,如何进一步提高粪便靶DNA含量和减少粪便中的抑制因子是提高肿瘤基因的检出率的关键。近几年发展起来的MDA技术是专门用于低含量DNA的扩增,他是基于环状滚动扩增(strand displacement amplification, SDA)方法创建的链置换扩增技术。该技术利用phi29DNA聚合酶和6聚体随机引物在30℃恒温下对基因组进行大量扩增,是一种扩增效率高,保真性能好的新兴的全基因组扩增技术,在单基因遗传病研究领域发挥了重要作用^[12-14]。近几年也用于亚硫酸氢盐处理的DNA

全基因组扩增,取得了非常理想的效果^[7]。此外,粪便要新鲜,放置不能过长,采用粪便DNA提取专用试剂盒也有利于高质量粪便DNA的提取。本文采用敏感的MDA技术联合MSP技术发现95.2%的结肠癌组织存在miR34b/c基因甲基化,与Kalimutho等^[7]报道结果一致。但粪便的阳性率(90.2%)却明显高于Kalimutho报道的75%的阳性率。分析其原因可能是本实验除了采用增加模板DNA的MDA技术外,更重要的是在本实验新鲜粪便标本的取材到DNA的提取时间短,DNA破坏少,可获得更多的粪便DNA。此外,在本研究中,远端结肠癌,尤其是直肠癌病例较多,是否会影响miR34b/c检出结果,尚需进一步研究。尽管我们采用了高敏感的MDA技术,但特异性并没有受到影响。尽管有文献报道:老年人正常细胞的甲基化水平较高,尤其是右半结肠低分化黏液癌的发生与微卫星不稳定和甲基化异常有关。但是,在本实验中,我们未发现miR34b/c甲基化与年龄、性别、临床分期、病理分级和癌位置有相关性。总之,优化甲基化检测的各个环节,将显著提高miR34b/c甲基化的检出率。粪便miR34b/c甲基化将成为新的结直肠癌早期诊断的生物标志物。

4 参考文献

- 1 He J, Efron JE. Screening for colorectal cancer. *Adv*

- Surg* 2011; 45: 31-44 [PMID: 21954677 DOI: 10.1016/j.yasu.2011.03.006]
- 2 Yan H, Choi AJ, Lee BH, Ting AH. Identification and functional analysis of epigenetically silenced microRNAs in colorectal cancer cells. *PLoS One* 2011; 6: e20628 [PMID: 21698188 DOI: 10.1371/journal.pone.0020628]
 - 3 Suzuki H, Takatsuka S, Akashi H, Yamamoto E, Nojima M, Maruyama R, Kai M, Yamano HO, Sasaki Y, Tokino T, Shinomura Y, Imai K, Toyota M. Genome-wide profiling of chromatin signatures reveals epigenetic regulation of MicroRNA genes in colorectal cancer. *Cancer Res* 2011; 71: 5646-5658 [PMID: 21734013 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1076]
 - 4 Baylin SB. DNA methylation and gene silencing in cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2005; 2 Suppl 1: S4-11 [PMID: 16341240 DOI: 10.1038/ncponc0354]
 - 5 Toyota M, Suzuki H, Sasaki Y, Maruyama R, Imai K, Shinomura Y, Tokino T. Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell translocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 4123-4132 [PMID: 18519671 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0325]
 - 6 Bandres E, Agirre X, Bitarte N, Ramirez N, Zarate R, Roman-Gomez J, Prosper F, Garcia-Foncillas J. Epigenetic regulation of microRNA expression in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2009; 125: 2737-2743 [PMID: 19521961 DOI: 10.1002/ijc.24638]
 - 7 Kalimutho M, Di Cecilia S, Del Vecchio Blanco G, Roviello F, Sileri P, Cretella M, Formosa A, Corso G, Marrelli D, Pallone F, Federici G, Bernardini S. Epigenetically silenced miR-34b/c as a novel faecal-based screening marker for colorectal cancer. *Br J Cancer* 2011; 104: 1770-1778 [PMID: 21610744]
 - 8 Lovat F, Valeri N, Croce CM. MicroRNAs in the pathogenesis of cancer. *Semin Oncol* 2011; 38: 724-733 [PMID: 22082758 DOI: 10.1053/j.seminoncol.2011.08.006]
 - 9 Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 857-866 [PMID: 17060945]
 - 10 Schetter AJ, Harris CC. Alterations of microRNAs contribute to colon carcinogenesis. *Semin Oncol* 2011; 38: 734-742 [PMID: 22082759 DOI: 10.1053/j.seminoncol.2011.08.009]
 - 11 Motoyama K, Inoue H, Takatsuno Y, Tanaka F, Mimori K, Uetake H, Sugihara K, Mori M. Over- and under-expressed microRNAs in human colorectal cancer. *Int J Oncol* 2009; 34: 1069-1075 [PMID: 19287964]
 - 12 Hughes S, Jones JL. The use of multiple displacement amplified DNA as a control for methylation specific PCR, pyrosequencing, bisulfite sequencing and methylation-sensitive restriction enzyme PCR. *BMC Mol Biol* 2007; 8: 91 [PMID: 17939862 DOI: 10.1186/1471-2199-8-91]
 - 13 Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, Nelkin BD, Baylin SB. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 9821-9826 [PMID: 8790415 DOI: 10.1073/pnas.93.18.9821]
 - 14 Ronaghi M, Pettersson B, Uhlén M, Nyrén P. PCR-introduced loop structure as primer in DNA sequencing. *Biotechniques* 1998; 25: 876-878, 880-882, 884 [PMID: 9821590]

■同行评价

本文选题较好, 创意新颖, 内容丰富, 具有一定的可读性。

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》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。

II / III 期直肠癌术后奥沙利铂联合5-FU同步放化疗的疗效

李永恒, 李小凡, 李金鑫, 朱向高, 徐博, 蔡勇

李永恒, 李小凡, 徐博, 蔡勇, 北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所放疗科 恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室 北京市 100142

李金鑫, 福建省肿瘤医院放疗科 福建省福州市 350014

朱向高, 北京大学人民医院放疗科 北京市 100044

李永恒, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤精确放疗的研究。

作者贡献分布: 此课题由蔡勇设计; 试验过程由李永恒、李小凡、李金鑫、朱向高及蔡勇完成; 试验结果判定由李永恒与蔡勇完成; 数据统计分析由李永恒完成; 本论文写作由李永恒与李小凡完成; 文章修改及审阅由徐博与蔡勇完成。

通讯作者: 蔡勇, 教授, 100142, 北京市海淀区阜成路62号, 北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所放疗科, 恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室。cai Yong109@sohu.com

收稿日期: 2013-01-31 修回日期: 2013-03-01

接受日期: 2013-03-02 在线出版日期: 2013-03-18

Therapeutic effect of postoperative radiotherapy in combination with oxaliplatin and 5-Fu in patients with stage II / III rectal cancer

Yong-Heng Li, Xiao-Fan Li, Jin-Luan Li, Xiang-Gao Zhu, Bo Xu, Yong Cai

Yong-Heng Li, Xiao-Fan Li, Bo Xu, Yong Cai, Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education), Department of Radiation Oncology, Peking University Cancer Hospital and Institute, Beijing 100142, China

Jin-Luan Li, Department of Radiation Oncology, Fujian Cancer Hospital, Fuzhou 350014, Fujian Province, China

Xiang-Gao Zhu, Department of Radiation Oncology, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China

Correspondence to: Yong Cai, Professor, Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education), Department of Radiation Oncology, Peking University Cancer Hospital and Institute, 52 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. caiyong109@sohu.com

Received: 2013-01-31 Revised: 2013-03-01

Accepted: 2013-03-02 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To evaluate the dose limited toxicity (DLT), maximal tolerated dose (MTD) and recommended dose (RD) of oxaliplatin weekly administered with 5FU/leucovorin in combination with concurrent postoperative radiotherapy in patients with stage II / III rectal cancer.

METHODS: Patients with stage II / III rectal cancer after radical excision were enrolled. A modified 3+3 dose-escalation design was used

for evaluating 3 dose levels (40 mg/m², 50 mg/m² and 60 mg/m²) of oxaliplatin and fixed-dose 5-FU/leucovorin given once weekly, with 50 Gy XRT delivered in 25 fractions of 2 Gy, five times per week over 5 weeks. Patients received oxaliplatin at the assigned dose level, and 5-FU and leucovorin doses were fixed at 600 mg/m² and 200 mg/m² for all cohorts, respectively. Dose-limiting toxicity (DLT) was defined as any grade 4 hematologic toxicity (including grade 3 thrombocytopenia) or grade 3 non-hematologic toxicity (except for alopecia).

RESULTS: Nine evaluable patients were enrolled, including 3 treated at 40 mg/m², 3 at 50 mg/m² and 3 at 60 mg/m². At dose level 3, 2 of 3 patients experienced dose-limiting diarrhea and hypodynamia. Another 14 patients received the dose of 50 mg/m² in a phase 2 study. Main toxicities were hematologic, primarily affecting neutrophils and platelets. The most common non-hematologic toxicities were gastrointestinal. None experienced grade 3 or 4 acute toxicities. The 3- and 5-year overall survival (OS) rates were 86.1% and 63.3%, respectively. The rates of 5-year progression-free survival, local failure and metastasis were 56.9%, 8.5% and 22.3%, respectively.

CONCLUSION: The MTD and RD of oxaliplatin are 60 mg/m² and 50 mg/m², respectively. The DLT includes diarrhea and hypodynamia. The combination of oxaliplatin and 5-Fu weekly with postoperative radiotherapy was well tolerated and demonstrated encouraging efficacy in patients with stage II / III rectal cancer after radical excision.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Rectal cancer; Oxaliplatin; Chemoradiotherapy

Li YH, Li XF, Li JL, Zhu XG, Xu B, Cai Y. Therapeutic effect of postoperative radiotherapy in combination with oxaliplatin and 5-Fu in patients with stage II / III rectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 729-733 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/729.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.729>

■背景资料

II / III 期直肠癌根治术后同步放化疗效果优于术后单纯放疗和单纯化疗, 奥沙利铂联合5-FU化疗疗效确切, 术后奥沙利铂联合5-FU化疗同步放疗有较好的临床应用前景, 探索奥沙利铂的耐受剂量和同期放化疗的不良反应有迫切的现实意义。

■同行评议者

顾国利, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普通外科; 官泳松, 教授, 四川大学华西医院放射科

■研发前沿

II/III期直肠癌根治术后同步放化疗研究热点为探索奥沙利铂及希罗达的耐受剂量、同步放化疗的不良反应和临床疗效,目前亟待研究的问题是同步放化疗方案中化疗方案的选择及耐受性。

摘要

目的:探讨II/III期直肠癌患者根治术后同步放化疗,奥沙利铂联合5-FU每周方案中奥沙利铂剂量的限制性不良反应(dose-limiting toxicity, DLT)、最大耐受剂量(maximal tolerance dose, MTD)。

方法:2005-02/2010-01选年龄为18-70岁、KPS评分 ≥ 70 分、根治性手术后病理证实为II/III期的直肠癌患者入组。进行盆腔三维适形或调强放疗5 wk, 50 Gy, 共25次。每周放射治疗的第1天开始给予奥沙利铂联合5-FU(氟尿嘧啶)方案化疗, 5-FU和LV(亚叶酸钙)的剂量固定分别为600 mg/m²和200 mg/m², 静脉滴注, 奥沙利铂从40 mg/m²开始递增, 1次/wk, 共化疗5 wk。奥沙利铂DLT(剂量限制性不良反应)的定义为4级血液学毒性(除血小板减少为3级)或 ≥ 3 级非血液学毒性(除外脱发)。

结果:9例患者分别入奥沙利铂每周40 mg/m²组(3例)、50 mg/m²组(3例)、60 mg/m²组(3例); 40 mg/m²组、50 mg/m²组未出现II度以上不良反应, 60 mg/m²组相继出现2例DLT(3度乏力和3度腹泻各1例), I期研究终止, 继续14例患者入奥沙利铂50 mg/m²组, 所有患者均如期完成放化疗; 50 mg/m²组患者II度骨髓抑制16.7%(3/18), I度骨髓抑制22.2%(4/18); II度腹泻16.7%(3/18), I度腹泻50%(9/18), I度恶心33.3%(6/18), I度乏力16.7%(3/18); 未出现II度以上的不良反应; 3年和5年生存率(OS)分别为86.1%和63.3%。5年无进展生存率(progression free survival, PFS)、局部复发率和远处转移率分别为56.9%、8.5%和22.3%。

结论:II/III期直肠癌根治术后奥沙利铂联合5-FU每周方案同步放化疗是安全、可行的; 奥沙利铂的最大耐受剂量为60 mg/m²/wk, 推荐剂量为50 mg/m²/wk。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词:直肠癌; 奥沙利铂; 同步放化疗

李永恒, 李小凡, 李金磊, 朱向高, 徐博, 蔡勇. II/III期直肠癌术后奥沙利铂联合5-FU同步放化疗的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 729-733 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/729.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.729>

0 引言

局部复发是直肠癌最常见的治疗失败原因, 而且随疾病分期的增加局部失败明显增加。目前

术前放化疗已成为II/III期(T3-4/N1-2M0)可手术切除直肠癌的标准治疗模式, 但II/III期直肠癌根治术后患者如果未行术前放疗, 需要进行术后放化疗以提高局控率。II/III期直肠癌术后同步放化疗效果优于术后单纯放疗和单纯化疗, 显著提高了肿瘤的局部控制率和5年的总生存率^[1]。奥沙利铂联合5-FU化疗疗效较好, 为明确术后同步放化疗中奥沙利铂的剂量限制性毒性(dose limited toxicity, DLT)、最大耐受剂量(maximal tolerated dose, MTD)和推荐剂量(recommended dose, RD), 我们设计了该临床研究, 报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 2005-02/2010-01, 共入组患者23例, 本组患者中位年龄57岁(26-72岁), 男性患者18例, 女性患者5例, 入组前2 wk对患者进行详细的病史询问、体格检查和相关辅助检查, 包括血常规、肝肾功能、消化系肿瘤标志物(CEA、CA199、CA723和CA242)、颈部B超、胸部正侧位片、腹部CT或B超、术后盆腔MRI或CT。23例患者均签署知情同意书。每周进行体格检查并复查血常规和肝肾功能, 评估各种不良反应; 如有特殊情况, 随时复查及时处理。

1.2 方法

1.2.1 入组标准:年龄为18-70岁; KPS评分 ≥ 70 分; 行根治性手术, 术后病理证实为II/III期的直肠腺癌(T3-4/N1-2M0), 根据AJCC第6版分期标准进行分期^[2]; 未接受过盆腔放疗和含有5-FU的化疗; 无氟尿嘧啶类药物过敏史; 白细胞(white blood cell, WBC) $\geq 4.0 \times 10^9/L$, 血红蛋白(hemoglobin, HGB) $\geq 100 g/L$, 血小板 $\geq 100 \times 10^9/L$; 肌酐 $\leq 1.0 \times$ 正常值上限, 总胆红素 $\leq 1.0 \times$ 正常值上限, 谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)和丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT) $\leq 2.5 \times$ 正常值上限。排除标准: 不符合入组标准; 妊娠或哺乳女性。

1.2.2 放疗:采用加速器10MV-X线三维适形(3-dimensional conformal radiation therapy, 3D-CRT)或调强放疗(intensity-modulated radiation therapy, IMRT)技术, CTV剂量50 Gy/25次, 2 Gy/次, 5次/wk。根据ICRU 62号(3DRT)报告^[3]和83号报告(IMRT)^[4]: CTV定义为原发灶高危区和区域淋巴引流区, 包括瘤床、吻合口、骶前软组织、髂内血管周围淋巴引流区和会阴手术瘢痕。CTV上界为腰5椎体下缘水平或腰5椎体1/2

■相关报道

Aschele等对T3-4的直肠癌进行了奥沙利铂联合5-FU每周方案新辅助放化疗的I/II期临床研究, 初步探索了奥沙利铂和5-FU的最大耐受剂量和推荐剂量, 这是国外较早开展的剂量爬坡研究, 为后续的相关研究提供参考经验和依据。

处, 下界为闭孔上缘, 包括整个盆底(上段直肠癌). 危及器官包括小肠、膀胱、双侧股骨头. 所有靶区和危及器官的勾画均由同一位医生完成.

1.2.3 化疗: 1次/wk的化疗方案为: (1)固定5-FU和LV的剂量; (2)奥沙利铂剂量递增的治疗方案. 每周放射治疗的第1天开始给予奥沙利铂联合5-FU方案化疗. 5-FU固定在恒定的剂量 600 mg/m^2 , LV固定剂量是 200 mg/m^2 , 静脉滴注, 奥沙利铂初始化疗剂量选定为每周 40 mg/m^2 , 静脉滴注. 从初始剂量开始, 每剂量组最少入组3例, 如果3例均未发生DLT, 按 10 mg/m^2 进行剂量递增, 在同一受试者不重复试验. 如果3例患者中有2例出现DLT则达到MTD, 试验终止, 如果3例患者中1例出现DLT则再以同样剂量治疗3例, 追加的3例中未再出现DLT, 则继续剂量递增, 如追加的3例中再有1例患者DLT则达到MTD, 试验终止.

1.2.4 评价标准: 急性不良反应采用NCI-CTC毒性分级评定标准3.0版进行评价. 放疗晚期毒性评价参照RTOG/EORTC晚期放射损伤分级方案^[5].

1.2.5 DLT和MTD定义: DLT定义为: 粒细胞缺乏性发热超过4 wk; 4级血液学毒性(血小板减少3级即为DLT); ≥ 3 级非血液学毒性(除外脱发); 放疗相关不良反应: 单次放疗中断 $\geq 10\text{ d}$, 2次及以上放疗中断总和 $\geq 14\text{ d}$, 以及治疗相关死亡. 出现上述两种DLT剂量水平时达到MTD, 其低一级剂量定为奥沙利铂的推荐剂量(recommended dose, RD), 亦为II期临床研究的推荐剂量.

1.2.6 随访: 所有患者术后放化疗后定期随访, 2年以内每3 mo复查一次, 2年到5年期间每半年复查1次, 以后每年复查1次, 随访内容包括: 病史询问、体格检查、血常规、肝肾功能、消化系统肿瘤标志物(CEA、CA199、CA723和CA242)、颈部B超、胸部正侧位片、腹部CT或B超、盆腔MRI或CT.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件包进行统计学处理. 计数资料采用 χ^2 检验, 生存率的计算采用Kaplan-Meier法.

2 结果

23例患者均接受了根治性手术, 我院手术患者5例, 外院手术患者18例, 其中LAR 18例, APR5例, 术后病理证实23例均II、III期的直肠腺癌(T3-4/N+), II期6例, III期17例. 本组患者中, 16例采用三维适形放疗, 7例采用调强放疗, 所有患者放疗5 wk, 25次, 总治疗剂量为50 Gy, 临床资料见表1.

表 1 23例直肠癌患者的临床资料

项目	n	%
n	23	100
性别		
男	18	78.3
女	5	21.7
T分期		
T2	2	8.7
T3	16	69.6
T4	5	21.7
N分期		
N0	6	26.1
N1	11	47.8
N2	6	26.1
临床分期		
II	6	26.1
III	17	73.9
手术医院		
本院	5	21.7
外院	18	78.3
手术方式		
LAR	18	78.3
APR	5	21.7

2.1 奥沙利铂剂量递增试验结果 9例患者完成了3个剂量的爬坡试验, 剂量分别为 40 mg/m^2 组(3例)、 50 mg/m^2 组(3例)、 60 mg/m^2 组(3例). 其中 40 mg/m^2 组、 50 mg/m^2 组未出现DLT, 60 mg/m^2 组3例患者有2例DLT(III度乏力和III度腹泻各1例), I期研究终止, 60 mg/m^2 为MTD, 50 mg/m^2 为推荐剂量. 继续14例患者进行奥沙利铂II期临床研究, 入组推荐剂量 50 mg/m^2 组, 所有患者均如期完成放化疗, 未出现II度以上的不良反应.

2.2 不良反应结果 3例奥沙利铂 60 mg/m^2 组的患者中, 1例因III度腹泻中断放疗3 d, 化疗推迟7 d. 1例III度乏力的患者未中断放疗, 只推迟化疗3 d. 入组的17例 50 mg/m^2 组患者(I期研究3例+II期研究15例)中, 22.2%(4/18)患者出现I度骨髓抑制, 16.7%(3/18)患者出现II度骨髓抑制, 腹泻的发生率为: I度50%(9/18), II度腹泻16.7%(3/18). 33.3%(6/18)患者出现I度恶心, 16.7%(3/18)患者出现I度乏力; 未出现II度以上的不良反应. 随访中患者未出现放疗晚期不良反应. 本组患者不良反应见表2.

2.3 远期疗效 23例患者中位随访时间56 mo(11-89 mo). 3年和5年生存率(overall survival, OS)分别为86.1%和63.3%. 5年无进展生存率(progression free survival, PFS)、局部复发率和远

■创新盘点

本研究放疗采用的是三维适形或调强放疗等放疗新技术, 而不是三野普通放疗, 放疗不良反应较普通放疗减轻, 患者的治疗耐受性明显提高.

■应用要点

本研究初步探索了奥沙利铂的最大耐受剂量和推荐剂量, 初步证实了II/III期直肠癌根治术后奥沙利铂联合5-FU每周方案同步放化疗的安全性及可行性, 进一步研究有待更多样本的观察.

■名词解释

适形调强放疗: 当前国际放疗领域内最先进的放疗技术之一, 是指放射野的形状和照射剂量在三维立体空间方向上与靶区(肿瘤)的实际形状相一致. 适形调强放疗最大限度地提高了肿瘤的照射剂量, 最大限度地减少了周围正常组织、器官的照射体积和剂量.

表 2 23例患者的不良反应情况

不良反应	0度		I度		II度		III度		IV度	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
白细胞下降	12	52.2	8	34.8	2	8.7	0	0	0	0
贫血	17	73.9	6	26.1	0	0	0	0	0	0
血小板下降	20	87.0	3	13.0	0	0	0	0	0	0
转氨酶升高	20	87.0	3	13.0	3	13.4	0	0	0	0
胆红素升高	21	91.3	2	8.7	0	0	0	0	0	0
恶心	17	73.9	6	26.1	0	0	0	0	0	0
呕吐	22	95.7	1	4.35	0	0	0	0	0	0
腹泻	2	8.7	16	69.6	4	17.4	1	4.35	0	0
乏力	17	73.9	5	21.7	0	0	1	4.35	0	0
皮肤反应	16	69.6	4	17.4	3	13.4	0	0	0	0

处转移率分别为56.9%、8.5%和22.3%. 14例患者未出现复发转移, 2例患者出现盆腔复发, 7例患者出现远处转移, 其中腹腔淋巴结转移4例, 肝转移2例, 脑转移1例. 4例患者死亡, 均死于肿瘤进展.

3 讨论

局部复发是直肠癌治疗失败的主要原因. 直肠癌根治术后T和N分期越高, 局部复发率越高, T3-4N0的复发率为16%-53%, N+的复发率为34%-65%, T3-4N1-2复发率可达45%-65%. 目前局部进展期直肠癌(II/III期: T3-4/N1-2M0)标准治疗是术前放化疗+TME手术^[6-9], 但仍有部分患者未行术前放化疗, 或临床分期为早期直肠癌, 术后发现为pT3-4/N1-2M0, 为降低复发提高局控率, 推荐此类患者行术后放化疗. 另外, 由于我院对II/III期直肠癌患者均行标准的术前放化疗, 入组本研究的基本是在外院行根治术后的患者, 或者术后发现分期为II/III期的患者, 故入组较慢, 耗时较长.

奥沙利铂是继顺铂之后的第3代铂类抗癌药, 与5-FU合用有明显的协同作用, 有效率约50%^[10,11], 且III-IV度消化系反应少见, 骨髓抑制相对较轻. 多个临床试验已经证明了奥沙利铂联合5-FU、奥沙利铂联合卡培他滨等同步放化疗的耐受性和疗效^[12-14]. 奥沙利铂在同步放化疗中的用法, 多数是1次/wk的方案^[11,12]. Aschele等^[13]对T3-4期直肠癌进行了奥沙利铂联合5-FU每周方案新辅助放化疗的I/II期临床研究, 化疗期间盆腔放疗50.4 Gy/28次, 1.8 Gy/次, 结果表明, 奥沙利铂和5-FU的推荐剂量分别为60 mg/m²和225 mg/m², DLT是III度腹泻, II期研

究中, 腹泻发生率是16%, 腹泻在3-5 d内结束, 没有影响放疗进行. 中性粒细胞降低发生率为12%, 未超过II度, 无IV度不良反应发生. 孙国瑞等^[15]报道, II、III期直肠癌术后放疗同步联合奥沙利铂、5-FU和LV每周方案化疗, 5-FU和LV剂量固定, 奥沙利铂起始剂量为45 mg/m², 剂量爬坡到85 mg/m²时出现DLT, 表现为III-IV度腹泻, 1例患者因IV度腹泻停止同步化疗.

本研究采用放疗同步奥沙利铂+5FU+LV每周方案化疗对根治术后II、III期直肠癌患者进行术后辅助治疗, 探讨奥沙利铂+5FU与放疗同步治疗的安全性和可行性. 与孙国瑞等^[15]研究不同的是, 本研究放疗采用的是三维适形或调强放疗, 而不是三野普放, 奥沙利铂的起始剂量为40 mg/m², 剂量递增至60 mg/m²时出现DLT, 为III度腹泻和乏力, 没有出现IV度不良反应, 且所有患者均完成了治疗计划. 本研究中5-FU采用静脉滴注给药, 而没有持续泵入给药, 主要原因是患者多在门诊治疗, 泵入给药不方便. 本研究结果表明全组奥沙利铂同步放化疗最常见不良反应为腹泻(66.7%)和骨髓抑制(37.5%), 骨髓抑制主要为I-II度中性粒细胞降低, 其中全组III级不良反应发生率为8.3%, 主要为腹泻和乏力, 未见IV级反应. 此外, 不良反应还有恶心、呕吐和放射性皮炎. 另外, 随访过程中23例患者均未出现放疗晚期不良反应, 说明盆腔三维适形或调强放疗放疗同步奥沙利铂+5FU+LV每周方案化疗是可以耐受且安全的. 23例患者中, 治疗失败的有12例, 只有2例出现盆腔的局部复发, 7例患者出现远处转移, 其中1例既有局部复发又有远处转移, 5年复发率8.4%, 提示II/III期直肠癌术后放化疗降低了

复发率, 方案可行, 疗效可, 进一步的疗效评价需要入组更多患者。

总之, II/III 期直肠癌根治术后奥沙利铂联合5-FU每周方案同步放化疗是安全、可行的, 奥沙利铂的推荐剂量为50 mg/m²/wk, 进一步研究有待更多样本的观察。

4 参考文献

- 1 Wolmark N, Wieand HS, Hyams DM, Colangelo L, Dimitrov NV, Romond EH, Wexler M, Prager D, Cruz AB, Gordon PH, Petrelli NJ, Deutsch M, Mamounas E, Wickerham DL, Fisher ER, Rockette H, Fisher B. Randomized trial of postoperative adjuvant chemotherapy with or without radiotherapy for carcinoma of the rectum: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol R-02. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 388-396 [PMID: 10699069 DOI: 10.1093/jnci/92.5.388]
- 2 Greene FL, Page DL, Fleming ID, Fritz A, Balch CM, Haller DG, Morrow M. AJCC cancer staging manual. 6th edition. Berlin: Springer-Verlag, 2002: 345-346
- 3 Chavaudra J, Bridier A. [Definition of volumes in external radiotherapy: ICRU reports 50 and 62]. *Cancer Radiother* 2001; 5: 472-478 [PMID: 11715299 DOI: 10.1016/S1278-3218(01)00117-2]
- 4 Hodapp N. [The ICRU Report 83: prescribing, recording and reporting photon-beam intensity-modulated radiation therapy (IMRT)]. *Strahlenther Onkol* 2012; 188: 97-99 [PMID: 22234506 DOI: 10.1007/s00066-011-0015-x]
- 5 殷蔚伯, 余子豪, 徐国镇, 胡逸民. 肿瘤放射治疗学. 第4版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008: 1350-1372
- 6 Cammà C, Giunta M, Fiorica F, Pagliaro L, Craxi A, Cottone M. Preoperative radiotherapy for resectable rectal cancer: A meta-analysis. *JAMA* 2000; 284: 1008-1015 [PMID: 10944647 DOI: 10.1001/jama.284.8.1008]
- 7 Kapiteijn E, Marijnen CA, Nagtegaal ID, Putter H, Steup WH, Wiggers T, Rutten HJ, Pahlman L, Glimelius B, van Krieken JH, Leer JW, van de Velde CJ. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 638-646 [PMID: 11547717 DOI: 10.1056/NEJMoa010580]

- 8 Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rödel C, Wittekind C, Fietkau R, Martus P, Tschmelitsch J, Hager E, Hess CF, Karstens JH, Liersch T, Schmidberger H, Raab R. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 1731-1740 [PMID: 15496622 DOI: 10.1056/NEJMoa040694]
- 9 Koukourakis GV, Georgios V Koukourakis. Role of radiation therapy in neoadjuvant era in patients with locally advanced rectal cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2012; 4: 230-237 [PMID: 23443049 DOI: 10.4251/wjgo.v4.i12.230]
- 10 Raymond E, Chaney SG, Taamma A, Cvitkovic E. Oxaliplatin: a review of preclinical and clinical studies. *Ann Oncol* 1998; 9: 1053-1071 [PMID: 9834817 DOI: 10.1023/A:1008213732429]
- 11 孙殿水, 黎莉, 衣翠华, 李明, 孙丽美. 奥沙利铂联合亚叶酸钙和5-氟尿嘧啶一线治疗晚期胃肠道肿瘤的研究. *中国现代普通外科进展* 2005; 8: 115-117
- 12 Valentini V, Coco C, Minsky BD, Gambacorta MA, Cosimelli M, Bellavita R, Morganti AG, La Torre G, Trodella L, Genovesi D, Portaluri M, Maurizi-Enrici R, Barbera F, Maranzano E, Lupattelli M. Randomized, multicenter, phase IIb study of preoperative chemoradiotherapy in T3 mid-distal rectal cancer: raltitrexed + oxaliplatin + radiotherapy versus cisplatin + 5-fluorouracil + radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 70: 403-412 [PMID: 17919844 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2007.06.025]
- 13 Aschele C, Friso ML, Pucciarelli S, Lonardi S, Sartor L, Fabris G, Urso ED, Del Bianco P, Sotti G, Lise M, Monfardini S. A phase I-II study of weekly oxaliplatin, 5-fluorouracil continuous infusion and preoperative radiotherapy in locally advanced rectal cancer. *Ann Oncol* 2005; 16: 1140-1146 [PMID: 15894548 DOI: 10.1093/annonc/mdi212]
- 14 Loi S, Ngan SY, Hicks RJ, Mukesh B, Mitchell P, Michael M, Zalberg J, Leong T, Lim-Joon D, Mackay J, Rischin D. Oxaliplatin combined with infusional 5-fluorouracil and concomitant radiotherapy in inoperable and metastatic rectal cancer: a phase I trial. *Br J Cancer* 2005; 92: 655-661 [PMID: 15700033 DOI: 10.1038/sj.bjc.6602413]
- 15 孙国瑞, 张建东, 邵震宇, 戴勇. 直肠癌术后应用奥沙利铂联合5-氟尿嘧啶、亚叶酸钙进行同步放疗的剂量研究. *中华普通外科杂志* 2008; 23: 683-685

■同行评价

本文研究内容紧贴临床, 学术意义较好, 具有一定临床实用性和指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



C-Met蛋白在结直肠癌中的表达及其与肿瘤血管生成的关系

侯雷, 赵明明, 孙宝明, 田艳涛

■背景资料

*c-met*基因是国外学者Cooper于1984年发现的由原癌基因*c-met*编码的具有酪氨酸激酶活性的跨膜分子, 具有调节细胞生长、分化的功能。*c-met*广泛存在于肿瘤细胞和血管内皮细胞, 但不存在于间质细胞。

侯雷, 承德医学院附属医院肿瘤外科一病区 河北省承德市 067000

赵明明, 承德医学院附属医院手术部 河北省承德市 067000

孙宝明, 承德隆化县唐三营医院普外科 河北省承德市 068150

田艳涛, 中国医学科学院肿瘤医院腹部肿瘤外科三病区 北京市 100021

侯雷, 主要从事消化肿瘤外科的研究工作。

作者贡献分布: 本文写作由侯雷完成; 田艳涛、赵明明及孙宝明参与试验。

通讯作者: 田艳涛, 100021, 北京市朝阳区潘家园南里17号, 中国医学科学院肿瘤医院腹部肿瘤外科三病区. tyt67@163.com

收稿日期: 2012-12-18 修回日期: 2013-01-02

接受日期: 2013-03-01 在线出版日期: 2013-03-18

Correlation between c-Met expression and tumor angiogenesis in colorectal cancer

Lei Hou, Ming-Ming Zhao, Bao-Ming Sun, Yan-Tao Tian

Lei Hou, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Ming-Ming Zhao, Department of Operation, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Bao-Ming Sun, Department of General Surgery, Tangsanying Hospital of Longhua County, Chengde 068150, Hebei Province, China

Yan-Tao Tian, Cance Institute and Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China

Correspondence to: Yan-Tao Tian, Cance Institute and Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China. tyt67@163.com

Received: 2012-12-18 Revised: 2013-01-02

Accepted: 2013-03-01 Published online: 2013-03-18

Abstract

AIM: To investigate the correlation between expression of c-Met protein and microvessel density (MVD) in colorectal carcinoma and to assess their clinical significance.

METHODS: Immunohistochemical SP method was used to detect the expression of c-Met protein and CD34 (for assessment of MVD) in 40 cases of colorectal carcinoma, 40 cases of tumor-adjacent neoplastic tissue and 40 cases of normal colorectal tissue.

RESULTS: The positive rate of c-Met expression in colorectal carcinoma was significantly higher than that in adenoma and normal tissue ($\chi^2 = 29.39$, $P < 0.01$). The MVD in colorectal carcinoma was also significantly higher than that in adenoma and normal tissue ($H = 90.468$, $P < 0.01$). C-Met expression and MVD had no correlation with tumor site and histological stage, but were closely related to Dukes stage, depth of invasion, lymph node metastasis and distant metastasis (all $P < 0.05$). The MVD in c-Met-positive rectal cancer was higher than that in c-Met-negative rectal cancer ($t = 3.126$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: C-Met possibly plays an important role in the invasion and metastasis of colorectal carcinoma. Combined detection of c-Met expression and MVD may be helpful for judging prognosis in colorectal carcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Colonal cancer; C-Met; Microvessel density; Immunohistochemistry; Western blot

Hou L, Zhao MM, Sun BM, Tian YT. Correlation between c-Met expression and tumor angiogenesis in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 734-738
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/734.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.734>

摘要

目的: 检测结直肠癌组织中c-Met蛋白表达情况并计数其微血管密度(microvessel density, MVD)值, 探讨两者之间的相互关系, 评价其与结直肠癌临床病理特征的关系。

方法: 对我院病理科2009-2010年经手术切除经病理证实的结直肠癌、癌旁组织及正常组织标本各40例, 采用Western blot和SP法分别检测3种组织中c-Met蛋白表达和CD34标记的MVD。

结果: c-Met蛋白在结直肠癌组织中阳性表达率明显高于结直肠癌旁组织与正常黏膜

■同行评议者

肖秀英, 副主任医师, 上海市徐汇区中心医院肿瘤科

组织($\chi^2 = 29.39, P \leq 0.01$). 结直肠癌组织中MVD明显高于结直肠癌旁组织和正常黏膜组织($H = 90.468, P \leq 0.01$). 结直肠癌组织c-Met蛋白表达和MVD与浸润深度($P < 0.05$)、Dukes分期($P < 0.05$)、淋巴结转移及远处转移($P < 0.05$)密切相关, c-Met阳性表达的结直肠癌组织中MVD显著高于c-Met阴性者($t = 3.126, P < 0.01$).

结论: 结直肠癌患者的c-Met及MVD值高于癌旁组织及正常黏膜组织, 且随着结直肠癌的不断进展, 两者在结直肠癌的侵袭和转移中发挥着重要作用, 联合检测c-Met的表达及MVD可能有助于结直肠癌临床评价和预后判断.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 结直肠癌; c-Met; 微血管密度; 免疫组织化学; Western blot

侯雷, 赵明明, 孙宝明, 田艳涛. C-met蛋白在结直肠癌中的表达及其与肿瘤血管生成的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 734-738 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/734.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.734>

0 引言

近年来, 我国结直肠癌发病率呈快速上升趋势, 严重威胁着人们的身体健康. 目前虽然治疗手段多样, 但效果及预后欠佳. 因此确定合理的治疗靶点, 制定更为完善的治疗策略成为目前研究的热点问题. 近年来, 对肿瘤组织微血管密度(microvessel density, MVD)的定量研究表明, MVD与肿瘤的生长、转移和复发有着显著相关性^[1]. 原癌基因(*c-met*)编码的蛋白产物c-Met是肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)的一个酪氨酸激酶受体, HGF/met信号系统有多种功能, 能促进肿瘤组织的微血管形成和肿瘤细胞的增殖与分裂, c-Met蛋白的异常表达与肿瘤的发生、发展有着密切关系^[2]. 结直肠癌组织中MVD与c-Met蛋白表达的相关性及其与临床病理特征关系的研究文献较少, 本实验探讨了结直肠癌组织中MVD值与c-Met蛋白表达的相关性及与结直肠癌临床病理特征的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 随机选取2009-09/2010-10在承德医学院附属医院手术切除的结直肠癌标本40例, 其中男22例, 女18例, 年龄38-82岁, 中位年龄62岁. 病理分期按Dukes分期A期11例, B期7例, C期12

例, D期10例. 按分化程度分为3组, 高分化腺癌10例, 中分化腺癌14例, 低分化腺癌12例; 根据浸润深度分为两组, 无周围软组织浸润17例, 有周围软组织浸润23例; 根据有无淋巴结转移分为两组, 无淋巴结转移19例, 有淋巴结转移21例. 所有病例均经病理证实, 均无其他严重内科疾病或伴发其他恶性肿瘤, 术前均未接受放疗或化疗. 标本离体30 min内, 经40 g/L甲醛固定后, 常规脱水, 石蜡包埋, 4 μ m厚连续切片备用. 鼠抗人CD34单克隆抗体, 浓缩型、SP免疫组织化学试剂盒及多聚赖氨酸防脱片剂均购自北京中山生物技术有限公司. c-Met一抗购自美国Santa Cruz公司, 使用时按1:100稀释.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学检测: 按SP试剂盒说明书进行免疫组织化学染色, 4 μ m连续切片, 常规脱蜡至水化, 3% H_2O_2 室温孵育20 min, PBS浸泡5 min, 枸橼酸盐缓冲液(0.01 mol/L, pH6.4)孵化(100 $^{\circ}C$)20 min暴露抗原决定簇, 血清封闭, 滴加一抗, 4 $^{\circ}C$ 过夜, 加二抗、三抗, DAB染色, 苏木素复染, 脱水, 封片. 检测c-Met和CD34在各标本中的表达情况, 以上实验同时设阴性和阳性对照, 阴性对照采用PBS代替一抗.

1.2.2 免疫组织化学结果判断: c-Met呈棕黄色, 主要定位于细胞胞浆. 高倍镜下(400倍)至少选择5个视野, 计数阳性细胞, 并计算阳性细胞百分率. 阳性细胞数<25%为0分, 26%-50%为1分, 51%-75%为2分, >75%为3分. 染色程度根据多数细胞的呈色反应为准, 不着色为0分, 浅棕黄色为1分, 棕黄色为2分, 黄褐色为3分. 根据c-Met染色程度与阳性细胞数评分之和综合判断: 0分为阴性(-), 1-2分为弱阳性(+), 3-4分为阳性(6), 5-6分为强阳性(7).

CD34: CD34的阳性表达位于血管内皮细胞, 呈棕褐色, 深染, 形状不规则. 参照Weidner标准^[3]计数MVD. 以同一张切片3个选定区域(200倍光镜视野)视野内微血管数的平均值表示所要测量的微血管密度.

1.2.3 Western-blot检测: 提取组织中的总蛋白, BCA法检测蛋白含量. SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜, 5%脱脂奶粉封闭, TBST洗膜后一抗孵育, 4 $^{\circ}C$ 过夜, TBST洗膜后二抗室温孵育2 h, DAB显色试剂盒进行显色, 拍照记录实验结果. 用Gel Pro-Analyzer 3.1软件进行分析, 计算目的蛋白与 β -actin的光密度比值.

统计学处理 所有数据采用SPSS11.5统计学

■研究前沿
研究表明, 在许多恶性肿瘤中c-Met的表达量上升, 包括非小细胞肺癌、胃癌、卵巢癌、前列腺癌、甲状腺癌、乳腺癌、头颈部癌、结肠癌和肾癌等.

■创新盘点

结直肠癌组织中MVD与c-Met蛋白表达的相关性及其与临床病理特征关系的研究较少, 本实验探讨了结直肠癌组织中MVD值与c-Met蛋白表达的相关性及与结直肠癌临床病理特征的关系。

表 1 c-Met在不同组织中表达 (mean \pm SD, $n = 40$)

	c-Met	<i>P</i> 值
正常黏膜	0.82 \pm 0.21	<0.01
癌旁组织	2.53 \pm 0.47	
癌组织	4.12 \pm 0.87	

表 2 MVD在不同组织中表达 (mean \pm SD, $n = 40$)

	微血管密度	<i>P</i> 值
正常黏膜	12.80 \pm 4.09	<0.01
癌旁组织	30.00 \pm 7.81	
癌组织	33.85 \pm 8.68	

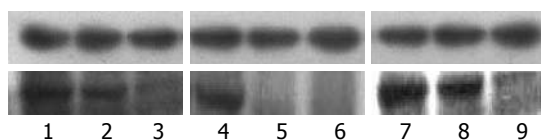


图 1 用Western-blot检测不同组织中c-met的表达情况. 1, 4, 7: 为肿瘤组织; 2, 5, 8: 癌旁组织; 3, 6, 9: 正常组织.

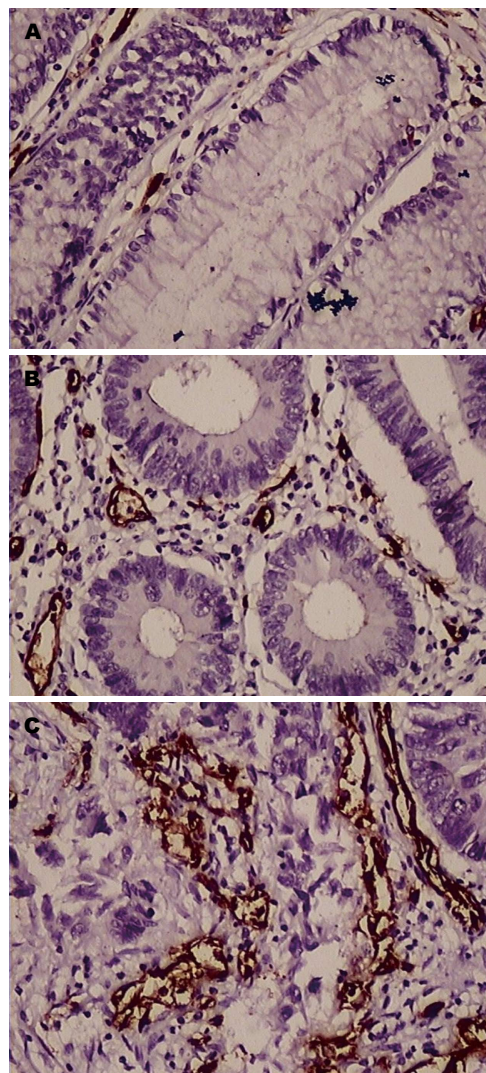
软件进行统计分析, 实验结果以mean \pm SD表示, 两个独立样本组间均数比较用*t*检验, 多组的组间比较用方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有显著性, $P > 0.05$ 为差异无显著性.

2 结果

2.1 c-Met蛋白表达 c-Met主要表达在结直肠癌细胞的细胞浆中, 呈棕黄色. 在结直肠癌、结直肠癌旁组织和正常黏膜组织中, c-Met的阳性表达水平分别为0.82 \pm 0.21、2.53 \pm 0.47和4.12 \pm 0.87. c-Met蛋白在结直肠癌组织中表达最高, 在结直肠癌旁组织及正常黏膜组织中表达量依次降低, 三者之间c-Met蛋白的表达情况差异有显著性($P < 0.01$, 表1, 图1).

2.2 MVD检测 CD34标记的微血管呈棕褐色. 结直肠癌、结直肠癌旁组织以及正常黏膜组织MVD分别为33.85 \pm 8.68、30.00 \pm 7.81、12.80 \pm 4.09, 差异有统计学意义($H = 90.468$, $P \leq 0.01$, 表2, 图2).

2.3 结直肠癌组织c-Met蛋白表达与MVD的相关性 我们对结直肠癌组织中c-Met蛋白的表达情况与微血管密度值进行相关性研究, 经统计学处理, 发现结直肠癌中c-Met蛋白的表达水平与癌组织中微血管密度值有正相关性($R = 0.618$, $P < 0.01$). 提示在结直肠癌组织中, 随着c-Met蛋白表达水平的升高, 微血管密度值也相应升高

图 2 CD34标记的MVD在不同组织中表达($\times 200$ 倍). A: 正常黏膜组织; B: 结直肠癌旁组织; C: 结直肠癌.

(图3).

2.4 c-Met和MVD与结直肠癌患者临床病理参数的关系 结直肠癌组织中c-Met蛋白表达及MVD的水平与肿瘤位置、分化程度、大小及患者的性别、年龄无关, 但与肿瘤浸润深度、Dukes分期、淋巴结转移及远处转移有关(表3).

3 讨论

c-met基因是国外学者Cooper于1984年发现的由原癌基因c-met编码的具有酪氨酸激酶活性的跨膜分子^[4], 具有调节细胞生长、分化功能. c-met广泛存在于肿瘤细胞和血管内皮细胞, 但不存在于间质细胞^[5]. 在国内外关于肿瘤中c-met基因表达的研究发现, 许多恶性肿瘤c-met表达增多, 包括非小细胞肺癌、胃癌、卵巢癌、前列腺癌、甲状腺癌、乳腺癌、头颈部癌、结肠癌和肾癌等^[6]. 本次研究结果显示: 随着结直肠癌分

表 3 c-Met和MVD与结直肠癌患者临床病理参数的关系 (mean ± SD)

临床病理特征	n	c-Met	P值	微血管密度	P值
年龄(岁)					
≥60	17	4.08 ± 0.69	> 0.05	34.88 ± 8.45	> 0.05
< 60	23	4.17 ± 1.10		33.8 ± 8.95	
性别					
男	22	4.13 ± 0.81	> 0.05	33.09 ± 7.45	> 0.05
女	18	4.12 ± 0.97		34.44 ± 10.46	
肿瘤部位					
直肠	18	4.35 ± 0.81	> 0.05	30.83 ± 8.25	> 0.05
结肠	22	3.82 ± 0.90		35.86 ± 8.52	
病理分级					
高分化	10	3.03 ± 0.87	< 0.05	35.10 ± 9.68	> 0.05
中分化	14	3.73 ± 0.78		26.45 ± 9.14	
低分化	12	4.48 ± 0.99		35.31 ± 13.17	
浸及深度					
未及浆膜	17	3.28 ± 0.87	< 0.05	28.41 ± 7.00	< 0.05
浆膜以外	23	4.37 ± 0.81		37.86 ± 7.62	
Dukes分级					
A+B	18	3.44 ± 0.54	< 0.01	26.44 ± 3.58	< 0.01
C+D	22	4.69 ± 0.68		40.36 ± 5.44	
淋巴结转移					
无	19	3.41 ± 0.55	< 0.01	25.88 ± 3.77	< 0.01
有	21	4.68 ± 0.66		40.36 ± 5.44	

■同行评价

本文数据可靠, 结果可信, 具有一定指导意义。

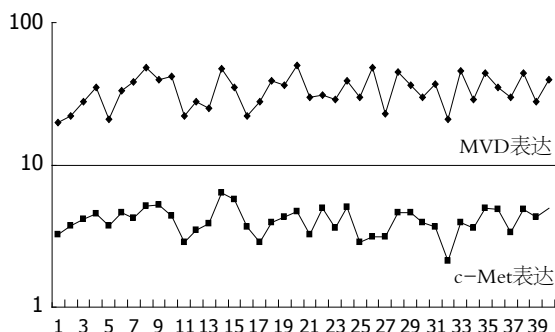


图 3 结直肠癌组织c-Met蛋白表达与MVD之间的相关性。

化程度的降低、浸润层次的深入、淋巴转移的发生和临床分期的进展, c-Met蛋白表达水平不断升高, 提示了c-Met蛋白的高表达与结直肠癌的发展、浸润、转移有关, 这可能是c-Met蛋白高表达促使肿瘤细胞增殖、分化, 运动能力增强, 增加了肿瘤组织的侵袭性。国外学者Fazekas等^[7]研究也证实, 约50%的结肠癌c-Met蛋白表达增加了5-10倍, 仅10%的结肠癌原发灶有c-met基因扩增, 而转移灶则88%发生了基因扩增。国内学者吴子刚等^[8]研究表明, c-met高表达组淋巴转移多, 说明浸润转移机会大, 与本研究结果与国内外学者研究结果一致。所以, 监测c-Met蛋白的表达水平有可能为评价结直肠癌生物学行为提

供较有价值的评价指标。

近些年来关于有关研究发现肿瘤血管生成是一个多步骤、多因素共同作用的复杂过程, 涉及一系列生理病理及生物化学的改变。促血管生成因子与血管生成抑制因子之间的共同作用, 决定着肿瘤血管生成表型。肿瘤组织中的微血管有两种来源: (1)肿瘤细胞产生的血管内皮细胞生长因子, 如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等, 诱导瘤体生成微血管; (2)残存于瘤体内的宿主血管逐渐变为肿瘤血管, 即宿主血管的肿瘤化^[9]。肿瘤微血管生成反映恶性肿瘤生物学行为的重要参数, 与多种肿瘤的预后相关^[10], 常用特异性高的CD31、CD34^[11]荧光标记血管内皮细胞, 来反映MVD的数值。CD34抗体对肿瘤内毛细血管、小血管内皮细胞稳定性及敏感性都较强, 是一种相对分子质量为115×10³的糖基化跨膜糖蛋白。CD34抗体是目前检验微血管构筑的较好方法, 可重复性强。本研究显示, MVD在结直肠癌组织中较腺瘤组织和正常黏膜显著增加, 与肿瘤的Dukes分期、浸润深度、淋巴结转移及远处转移密切相关, Takebayashi等^[12]研究结果同样也显示, 结直肠癌的MVD与Dukes分期、浸润深度以

及淋巴结转移均有明显相关性. 与本组研究相似. 但Bossi与White等^[13]研究却认为结直肠癌的MVD与肿瘤临床分期、淋巴结转移之间无显著性相关. 考虑是否与所选取的实验对象的分期与病理类型差异有关. 因此, 结直肠癌的MVD与其浸润、转移的关系尚需进一步研究.

因此我们认为肿瘤的微血管数量是肿瘤患者的危险因素, 数量越多预后越差, 越容易发生转移. 本实验通过联合检测c-Met、MVD, 结果c-Met蛋白在癌组织中明显高于癌旁组织和正常组织, 表明HGF/c-Met信号传导系统很可能参与了结直肠癌的发生发展过程, 并与结直肠癌微血管的生成有一定关系, 且对结直肠癌的浸润、转移可能存在影响. 由于在HGF/c-Met信号传导系统中参与的因子众多, 因此相互之间的关系复杂, 仍然存在着很多问题, 有待于今后的研究. 进一步的研究应对术后的患者进行长期的随访以及复查, 评价c-Met蛋白的表达水平及MVD值与预后生存率、生存时间等远期指标的相关性, 以便更深入的认识结直肠癌的发生发展机制, 为判断患者的预后引进新的指标, 也为肿瘤的药物治疗提供新靶点和新思路.

4 参考文献

- 1 Sundov Z, Tomic S, Alfirevic S, Sundov A, Capkun V, Nincevic Z, Nincevic J, Kunac N, Kontic M, Poljak N, Druzijanic N. Prognostic Value of MVD, LVD and Vascular Invasion in Lymph Node-Negative Colon Cancer. *Hepatogastroenterology* 2013 Jan 16. [Epub ahead of print] [PMID: 23321007 DOI: 10.5754/hge12826]
- 2 Goyal L, Muzumdar MD, Zhu AX. Targeting the HGF/c-MET Pathway in Hepatocellular Carcinoma. *Clin Cancer Res* 2013 Feb 6. [Epub ahead of print] [PMID: 23388504]
- 3 Weidner N, Folkman J, Pozza F, Bevilacqua P, Allred EN, Moore DH, Meli S, Gasparini G. Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1875-1887 [PMID: 1281237]
- 4 Mahtouk K, Tjin EP, Spaargaren M, Pals ST. The HGF/MET pathway as target for the treatment of multiple myeloma and B-cell lymphomas. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1806: 208-219 [PMID: 20655987 DOI: 10.1016/j.bbcan.2010.07.006]
- 5 Liu CM, Lin MH, Ying MZ, Lin MH, Wang J, Mao M. The significance of proto-oncogene HGF/SF receptor c-met mRNA expression in nasopharyngeal carcinoma. *Chiese-German J Clin Oncol* 2007; 6: 278-280
- 6 Sierra JR, Tsao MS. c-MET as a potential therapeutic target and biomarker in cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2011; 3: S21-S35 [PMID: 22128285 DOI: 10.1177/1758834011422557]
- 7 Fazekas K, Csuka O, Köves I, Rásó E, Tímár J. Experimental and clinicopathologic studies on the function of the HGF receptor in human colon cancer metastasis. *Clin Exp Metastasis* 2000; 18: 639-649 [PMID: 11827067]
- 8 吴子刚, 贾文婷, 陈东燕, 杨丽莉, 何敏, 邹兵, 王俊懿, 高锦. C-met基因表达与大肠腺瘤演化与癌变过程相关性的研究. *中华肿瘤防治杂志* 2008; 15: 1780-1782
- 9 丁洪基. 肿瘤微血管密度检测及其临床病理意义. *诊断病理学杂志* 2008; 15: 241-243
- 10 Matsuda Y, Hagio M, Ishiwata T. Nestin: a novel angiogenesis marker and possible target for tumor angiogenesis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 42-48 [PMID: 23326161 DOI: 10.3748/wjg.v19.i1.42]
- 11 Bădescu A, Georgescu CV, Vere CC, Crăițoiu S, Grigore D. Correlations between Her2 oncoprotein, VEGF expression, MVD and clinicopathological parameters in gastric cancer. *Rom J Morphol Embryol* 2012; 53: 997-1005 [PMID: 23303024]
- 12 Takebayashi Y, Aklyama S, Yamada K, Akiba S, Aikou T. Angiogenesis as an unfavorable prognostic factor in human colorectal carcinoma. *Cancer* 1996; 78: 226-231 [PMID: 8673996]
- 13 White JD, Hewett PW, Kosuge D, McCulloch T, Enholm BC, Carmichael J, Murray JC. Vascular endothelial growth factor-D expression is an independent prognostic marker for survival in colorectal carcinoma. *Cancer Res* 2002; 62: 1669-1675 [PMID: 11912138]

编辑 田滢 电编 闫晋利



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。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 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 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χ²; (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

中国消化科学学术论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈敬贤 教授
安徽医科大学微生物教研室

程树群 副教授
上海东方肝胆外科医院肝胆外科

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

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

郝立强 副教授
上海长海医院普外二科

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

何松 教授
重庆医科大学附属第二医院

江学良 教授
济南军区总医院消化内科

姜波健 教授
上海交通大学医学院附属第三人民医院普通外科

李革 副教授
延边大学附属医院

李永翔 教授
安徽医科大学第一附属医院普外科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

李正荣 副教授
南昌大学附属第一医院胃肠外科

刘宝林 教授
中国医科大学附属盛京医院

刘炳亚 研究员
上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

刘丽江 教授
江汉大学医学院

刘颖斌 主任医师
上海交通大学医学院附属新华医院

刘占举 教授
同济大学附属上海市第十人民医院

禄韶英 副教授
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

彭宗根 副研究员
中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

肖恩华 教授
中南大学湘雅二医院放射教研室

许剑民 教授
复旦大学附属中山医院普外科

杨江华 副教授
皖南医学院弋矶山医院感染科

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张国 主任医师
广西壮族自治区人民医院消化内科

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院肝病中心

赵青川 主任医师
西京医院消化外科

《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>

