

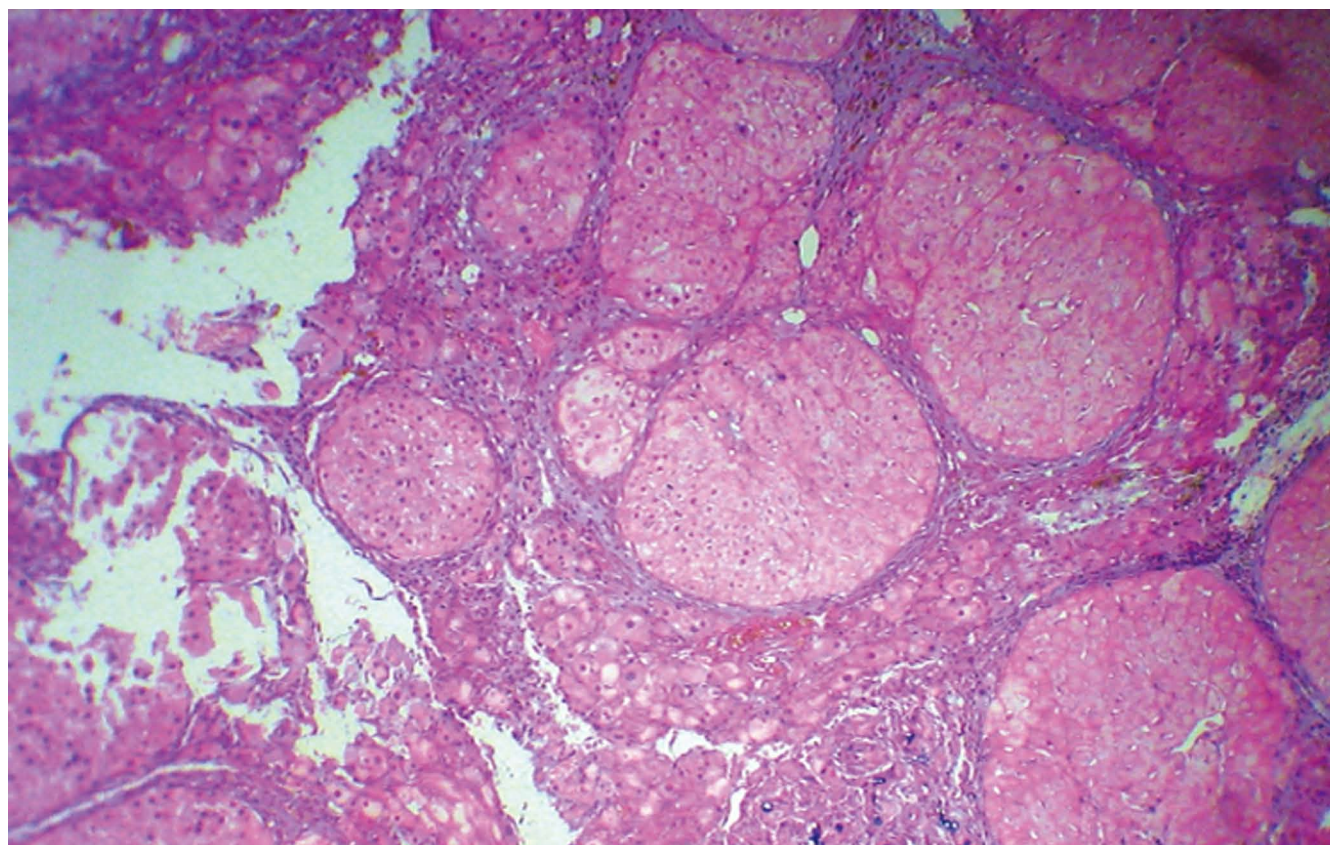
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 5 月 8 日 第 22 卷 第 13 期 (Volume 22 Number 13)



**13 / 2014**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》和《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

### 总顾问

陈可冀教授  
黄志强教授  
纪小龙教授  
王宝恩教授  
王苑本教授  
杨春波教授  
杨思风教授  
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  
王俊平教授  
王小众教授  
姚登福教授  
张宗明教授

### 编委

#### 消化内科学

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

房静远教授  
冯志杰主任医师  
傅春彬主任医师  
甘华田教授  
高凌副教授  
戈之铮教授  
关玉盘教授  
关晓辉主任医师  
郭晓钟教授  
郝建宇教授  
郝丽萍副教授  
何继满教授  
何松教授

洪天配教授  
黄培林教授  
黄晓东主任医师  
黄颖秋教授  
黄缘教授  
季国忠教授  
江米足教授  
姜春萌教授  
姜慧卿教授  
姜相君主任医师  
金瑞教授  
蓝宇教授  
李淑德教授  
李瑜元教授  
李玉民教授  
廖家智副主任医师

林志辉教授  
刘冰熔教授  
刘凤斌教授  
刘改芳主任医师  
刘海峰主任医师  
刘海林主任医师  
刘亮明副教授  
陆伦根教授  
马红主任医师  
马欣主任医师  
毛恩强教授  
毛高平教授  
孟庆华教授  
缪应雷主任医师  
倪润洲教授  
欧希龙副教授  
潘秀珍教授  
潘阳林副教授  
朴云峰教授

秦成勇教授  
任粉玉教授  
任建林教授  
邵先玉教授  
沈琳主任医师  
沈薇教授  
施瑞华教授  
宋军副教授  
唐世刚教授  
田宇彬教授  
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  
康春博副主任医师  
孔静副教授  
黎乐群教授  
李革副教授  
李国威教授  
李华副教授  
李华山主任医师

李升平教授  
李胜研究员  
李涛副主任医师  
李文岗教授  
李小荣教授  
李旭副教授  
李永翔教授  
李正荣副教授  
李志霞教授  
李宗芳教授  
梁力建教授  
刘宝林教授  
刘超教授  
刘宏鸣副教授  
刘建教授  
刘亮副主任医师  
刘颖斌主任医师  
卢军华教授  
陆云飞教授  
禄韶英副教授  
吕凌副教授  
吕云福教授  
麻勇研究员  
齐清会教授  
秦春宏副主任医师  
秦华东教授  
秦环龙教授  
秦建民主任医师  
邱伟华主任医师  
仇毓东教授  
崔清波副教授  
单云峰副主任医师  
沈柏用副教授  
施宝民教授  
施诚仁教授  
施晓雷副主任医师  
石毓君研究员  
宋新明教授  
宋振顺教授  
孙诚谊教授  
孙文兵教授  
孙星副教授  
孙学英教授  
邵升副教授  
谭晓冬教授  
汤朝晖副主任医师  
汤绍涛教授  
唐南洪教授



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

### 消化感染病学

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

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

### 消化中医药学

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

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

### 消化肿瘤学

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

### 消化影像学

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

### 消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授  
余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

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

### 消化基础研究

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

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

### 消化病理学

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

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014 年 5 月 8 日 第 22 卷 第 13 期 (总第453期)

述 评	1773 七味白术散调节肠道微生态的物质基础 王欢, 曾奥, 曹蓉, 郭照辉, 贺又舜, 谭周进
基础研究	1778 胶原酶II对肝硬化大鼠的治疗作用 郭争荣, 孙殿兴, 李兵顺, 刘金霞, 李东, 王君平, 常丽丽, 周晓娜, 李敏然 1785 超早期肠内营养对重度急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障功能的影响 林浩, 陈杰, 刘立奎, 胡兆鹏, 朱方擎, 李兴, 龚敏, 文萍, 文剑波
临床研究	1793 PKC $\alpha$ -Annexin A2-S100A10在胃癌组织中的表达及意义 赵强, 张志伟, 刘重元, 肖娟, 李增波, 伍石华, 吴勇军, 杨代水, 权里平, 雷明生
文献综述	1801 VEGF -634G/C基因多态性与疾病相关性的研究进展 柏立靖, 杨宝山 1806 MicroRNA143与消化系统肿瘤的研究进展 陈小林, 周贤 1812 Th22细胞在炎症免疫性疾病及肿瘤中的研究进展 黄小丽, 郭晓云, 姜海行
研究快报	1820 解毒化痰健脾方及拆方对胃黏膜异型增生大鼠多基因去甲基化诱导表达的比较 李志钢, 张伟, 邱作成, 纪勇, 李玲, 夏宽宏 1826 Th17及Th1细胞在四氯化碳致肝纤维化小鼠模型中的表达及关系 黄小丽, 郭晓云, 姜海行, 覃山羽, 罗薇, 马诗家, 卢东红, 陈梅, 王家旭, 杨显文 1834 二十二碳六烯酸对人肝癌细胞HepG2的作用与调控 $\beta$ -catenin及C-myc表达的关系 李衍彦, 范友杰, 邹浩, 姜海涛, 李洁旭, 孙良金, 曹景玉 1841 直接肾素抑制剂对大鼠急性胰腺炎的保护作用及机制 黄元龙, 尹青, 颜琼, 邓明明 1848 益气养阴化痰通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠平滑肌细胞凋亡的影响 王飞, 郭沛然, 韩菲, 孙玉凤, 何莉莉, 朱雅娜
临床经验	1854 哈萨克族食管癌与ABO血型的相关性 张皓, 封婷, 唐婧, 齐海 1858 经皮经肝穿刺肝内门体分流术联合胃冠状静脉栓塞治疗食管胃底静脉曲张 邓小军, 张宏文, 彭秀达, 孙鑫国, 段诗姣, 谢卫华, 刘琼 1863 降钙素原在胃癌根治术患者术后院内细菌感染中的早期诊断价值 陆辉志, 徐亮 1867 幽门螺杆菌感染与胃癌化疗疗效的关系 王建旭, 张福林 1871 血清前白蛋白结合Child-Pugh分级及MELD评分对肝硬化肝脏功能的评价 韦丽娅, 翟永贞, 冯国和 1876 外周血血浆中甲胎蛋白、丙酮酸激酶M2和白蛋白mRNA检测在乙型肝炎肝硬化患者早期诊断中的价值 夏晓寒, 黄丁 1881 饱和盐水浮聚法诊断钩虫病在不明原因消化系出血中的价值 郝卫刚, 王轶佳, 易文全, 高元平 1885 粪便乳铁蛋白在大肠癌筛查诊断中的临床意义 李刚, 杨丽莉, 李虎 1890 不同中医治则对结直肠癌术后复发转移的影响 侯风刚, 石齐, 王伟炳, 陈昱, 余青青, 任建琳, 李文, 殷佩浩, 李琦, 花宝金 1897 幽门螺杆菌与功能性消化不良的相关性 刘红丹, 仝甲钊, 曲波, 金世柱, 王蓓蓓, 祝芳, 连丽莹, 白冰 1902 糖尿病患者合并非糖尿病肾损害的临床病理分析及评价 刘剑, 景照峰, 胡蓉, 晏家华, 罗敏 1907 脂联素及受体变化在妊娠期糖尿病发病中的意义和相关因素 张美贞, 叶泉忠



病例报告	1911 十二指肠球部溃疡浸润致假性动脉瘤破裂引发致命性上消化道大出血1例 肖源, 杨杰, 李亭颖, 陈治, 杨麒麟
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014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	1792 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 1811 《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) 1862 《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 1884 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1906 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	郭争荣, 孙殿兴, 李兵顺, 刘金霞, 李东, 王君平, 常丽丽, 周晓娜, 李敏然. 胶原酶II对肝硬化大鼠的治疗作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1778-1784 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1778.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1778.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1778">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1778</a>
本期责任人	编务 李香; 送审编辑 鲁亚静, 郭鹏; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核 编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创刊 1993-01-15

改刊 1998-01-25

出版 2014-05-08

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, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

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

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035 手机: 13901166126

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 2012年版)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

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

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

# World Chinese Journal of Digestology

## May 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 13

<b>EDITORIAL</b>	1773 Mechanisms underlying regulatory effects of Qiweibaizhusan on intestinal microecology <i>Wang H, Zeng A, Cao R, Guo ZH, He YS, Tan ZJ</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	1778 Therapeutic effect of collagenase II against rat liver cirrhosis <i>Guo ZR, Sun DX, Li BS, Liu JX, Li D, Wang JP, Chang LL, Zhou XN, Li MR</i> 1785 Early enteral nutrition improves intestinal barrier function in rats with severe acute pancreatitis <i>Lin H, Chen J, Lin LX, Hu ZP, Zhu FQ, Li X, Gong M, Wen P, Wen JB</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	1793 Significance of expression of PKC $\alpha$ , Annexin A2 and S100A10 proteins in gastric cancer <i>Zhao Q, Zhang ZW, Liu CY, Xiao J, Li ZB, Wu SH, Wu YJ, Yang DS, Quan LP, Lei MS</i>
<b>REVIEW</b>	1801 Association between VEGF -634G/C polymorphism and diseases <i>Bai LJ, Yang BS</i> 1806 MicroRNA143 and tumors of the digestive system <i>Chen XL, Zhou X</i> 1812 Role of Th22 cells in inflammatory, autoimmune diseases and tumors <i>Huang XL, Guo XY, Jiang HX</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	1820 Comparative analysis of each prescription of Jiedu Huayu Jianpi Fang for multiple gene demethylation and expression in mucosal dysplasia in rats <i>Li ZG, Zhang W, Qiu ZC, Ji Y, Li L, Xia KH</i> 1826 Expression of Th17 and Th1 cells in a murine model of carbon tetrachloride-induced liver fibrosis <i>Huang XL, Guo XY, Jiang HX, Qin SY, Lou W, Ma SJ, Lu DH, Chen M, Wang JX, Yang XW</i> 1834 Docosahexaenoic acid promotes apoptosis and inhibits proliferation of HepG2 cells by altering $\beta$ -catenin and C-myc expression <i>Li YY, Fan YJ, Zou H, Jiang HT, Li JX, Sun LJ, Cao JY</i> 1841 Protective effects of aliskiren, a direct renin inhibitor, in rats with acute pancreatitis <i>Huang YL, Yin Q, Yan Q, Deng MM</i> 1848 Effect of Yiqi Yangyin Huayu Tongluo Recipe on apoptosis of gastric smooth muscle cells in rats with diabetic gastroparesis <i>Wang F, Guo PR, Han F, Sun YF, He LL, Zhu YN</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	1854 Correlation between esophageal cancer and ABO blood groups in the Kazakh population <i>Zhang H, Feng T, Tang J, Qi H</i> 1858 Percutaneous transhepatic intrahepatic portosystemic shunt plus embolotherapy for treatment of gastroesophageal varices <i>Deng XJ, Zhang HW, Peng XD, Sun XG, Duan SJ, Xie WH, Liu Q</i> 1863 Value of procalcitonin in early diagnosis of bacterial infection in patients after radical resection for gastric cancer <i>Lu HZ, Xu L</i> 1867 <i>Helicobacter pylori</i> infection and chemotherapy sensitivity in gastric cancer <i>Wang JK, Zhang FL</i> 1871 Serum prealbumin combined with Child-Pugh classification and MELD score for evaluation of liver function in patients with liver cirrhosis <i>Wei LY, Zhai YZ, Feng GH</i> 1876 Diagnostic value of alpha-fetoprotein, pyruvate kinase M2 and albumin mRNA expression in peripheral blood in hepatitis B virus-related cirrhosis <i>Xia XH, Huang D</i> 1881 Saturated saline flotation method for diagnosis of hookworm disease: Implications for diagnosis of obscure gastrointestinal bleeding <i>Hao WG, Wang YJ, Yi WQ, Gao YP</i> 1885 Clinical significance of fecal lactoferrin in screening of colorectal carcinoma <i>Li G, Yang LL, Li H</i> 1890 Effects of different Chinese medicine treatments on postoperative relapse and metastasis of colorectal cancer: A non-interventional clinical study <i>Hou FG, Shi Q, Wang WB, Chen M, Yu QQ, Ren JL, Li W, Yin PH, Li Q, Hua BJ</i> 1897 Relationship between functional dyspepsia and <i>Helicobacter pylori</i> infection <i>Liu HD, Tong JZ, Qu B, Jin SZ, Wang BB, Zhu F, Lian LY, Bai B</i> 1902 Clinicopathological features of diabetes mellitus patients complicated with non-diabetic renal diseases <i>Liu J, Jing ZF, Hu R, Yan JH, Luo M</i> 1907 Significance of adiponectin and its receptors in pathogenesis of gestational diabetes mellitus <i>Zhang MZ, Ye QZ</i>

<b>CASE REPORT</b>	1911 One case of upper gastrointestinal tract hemorrhage due to rupture of pseudoaneurysm caused by duodenal bulb ulcer <i>Xiao Y, Yang J, Li TY, Chen Z, Yang QZ</i>
<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Guo ZR, Sun DX, Li BS, Liu JX, Li D, Wang JP, Chang LL, Zhou XN, Li MR.</i> Therapeutic effect of collagenase II against rat liver cirrhosis. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2014; 22(13): 1778-1784 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1778.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1778.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1778">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1778</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Xiang Li</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Peng Guo</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** May 8, 2014

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, 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

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

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

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

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

### EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China  
Telephone: +86-10-59080035 13901166126  
Fax: +86-10-85381893

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

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

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto: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 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

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

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgzx.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgzx.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.



# 七味白术散调节肠道微生态的物质基础

王欢, 曾奥, 曹蓉, 郭照辉, 贺又舜, 谭周进

王欢, 曹蓉, 贺又舜, 谭周进, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410208

曾奥, 郭照辉, 湖南省微生物研究院 湖南省长沙市 410009  
谭周进, 教授, 博士生导师, 主要从事中医药微生物生态学的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173214

作者贡献分布: 本文述评由王欢、曾奥及曹蓉完成; 郭照辉、贺又舜及谭周进审核。

通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市含浦科教园区象嘴路, 湖南中医药大学. tanzhjin@sohu.com

电话: 0731-85381154

收稿日期: 2014-01-08 修回日期: 2014-03-24

接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-08

## Mechanisms underlying regulatory effects of Qiweibaizhusan on intestinal microecology

Huan Wang, Ao Zeng, Rong Cao, Zhao-Hui Guo, You-Shun He, Zhou-Jin Tan

Huan Wang, Rong Cao, You-Shun He, Zhou-Jin Tan, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hu'nan Province, China

Ao Zeng, Zhao-Hui Guo, Hunan Institute of Microbiology, Changsha 410009, Hu'nan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173214

Correspondence to: Zhou-Jin Tan, Professor, Hu'nan University of Chinese Medicine, Xiangzui Road, Hanpu Kejiao Zone, Changsha 410208, Hu'nan Province, China. tanzhjin@sohu.com

Received: 2014-01-08 Revised: 2014-03-24

Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-08

## Abstract

Qiweibaizhusan is composed of Sijunzhitang, Radix Aucklandiae, Agastache rugosus and Radix Puerariae, with the function of regulating intestinal microecology. Now, the mechanisms of action of its Chinese medicine ingredients are still obscure. In this article, we review the progress in research of each chemical ingredient in Qiweibaizhusan and possible chemical ingredients influencing the intestinal microbes. We also discuss the possible mechanisms of regulatory effects of Qiweibaizhusan on intestinal microecology, with an aim to provide a theoretical basis for studying the interaction between intestinal flora and medicine.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All

rights reserved.

**Key Words:** Qiweibaizhusan; Intestinal microorganisms; Mechanism; Chinese medicine microecology

Wang H, Zeng A, Cao R, Guo ZH, He YS, Tan ZJ. Mechanisms underlying regulatory effects of Qiweibaizhusan on intestinal microecology. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1773-1777 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1773.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1773>

## 摘要

七味白术散是治疗小儿腹泻的经典名方,是在补气首方四君子汤的基础上加木香、藿香及葛根组成,具有促进肠道有益菌的增长,调整肠道微生态的作用。目前单味中药有效物质基础研究仍比较滞后,中药有效成分影响肠道微生物的机制仍比较模糊。本文总结了近年来七味白术散调整肠道微生态的主要研究成果,对七味白术散的主要化学组分、可能影响肠道微生物的化学组分进行了综述,分析了七味白术散影响肠道微生态的可能机制,以期对中药与肠道菌群相互作用研究提供理论依据。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 七味白术散; 肠道微生物; 物质基础; 中医药微生态

**核心提示:** 七味白术散中人参皂苷, 白术多糖 (atractylodes macrocephalaon polysaccharide) 和茯苓多糖能提升免疫力, 对益生菌的促进效果优于肠道致病菌或条件致病菌; 而甘草酸, 藿香挥发油和木香提取物等对肠道常见致病菌的生长具有直接的抑制作用。方中对肠道微生物具有促进作用的多为补益类中药, 具有抑制作用的多为清热类中药。

王欢, 曾奥, 曹蓉, 郭照辉, 贺又舜, 谭周进. 七味白术散调节肠道微生态的物质基础. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1773-1777 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1773.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1773>

## 0 引言

肠道微生物已成为生命科学中系统生物学的一

## ■背景资料

微生物学已运用于现代中药的研究, 尽管起步不久, 但其涉及中医学诸多方面, 有望通过微生物学方面来开启中医药的神秘大门, 促进中医药的现代化、标准化和国际化的进程。

## ■同行评议者

沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院

## ■研发前沿

现在研究已证实,七味白术散能够调整肠道微生态来治疗肠道腹泻。目前据文献报道,能够影响肠道微生物的活性成分研究非常少,且大多为预测性的报道。今后应多从微观方面研究其影响肠道微生物的物质基础。

个热门研究领域,人们已开始把肠道微生态系统看成人体内部的第9大系统<sup>[1]</sup>。人体肠道微生物的基因总量至少是人体的100倍<sup>[2]</sup>,肠道微生物能够编码多种人体自身不能合成的蛋白质,且大多数仍没被勘探,被认为是人体基因组和人体肠道基因组共同调控人体的新陈代谢和大部分多基因疾病的病理生理<sup>[3]</sup>。除此之外,肠道微生物能够分泌大量的药物代谢酶(如水解、还原酶类等)<sup>[4]</sup>,这些酶不仅能够将中药的细胞壁破裂,使有效成分得以溶出,提高中药的利用率,还能够通过“生物活化”使无活性的物质转变为有活性的药理成分,同时可使有毒的物质无毒化。反之,某些活性成分能够作用于肠道微生物,起到调整肠道微生态的作用。中药和肠道菌群的相互作用对研究中药药效的发挥以及胃肠道消化系统疾病的治疗具有重要的意义。

七味白术散由四君子汤加木香、藿香和葛根组成,四君子汤为补气首方,木香、藿香芳香和胃,葛根生津止渴止泻。部分研究已证实,补益类中药能够促进有益微生物的生长,调整肠道微生态<sup>[5-8]</sup>;许多清热类中药(如木香、藿香等)对细菌、真菌、螺旋体、病毒等多类微生物有不同程度的抑制作用<sup>[9-11]</sup>;中药配伍或组成复方后的促菌和抗菌作用范围可以互补、扩大乃至协同增效。Li等<sup>[12]</sup>和Jia等<sup>[13]</sup>报道,补益类中药中的多糖、皂苷和黄酮等一些几乎不能被吸收的物质通过与肠道菌群多靶点、多途径的作用,从而调整肠道菌群构成及肠道黏膜结构以达到平衡肠道微生态的目的,故关注多糖、皂苷内物质能够成为寻找补益类中药中影响肠道微生物物质基础的突破口。中医用药之精华在于复方,精华之处也带有“神秘”之处的色彩,目前现代研究中仍比较少见七味白术散单味中药和单体活性成分对肠道微生物影响的报道,难以确定其影响肠道微生物的关键活性成分,本文综述七味白术散中七味药的化学组分以及可能影响肠道微生物的化学组分的研究进展,为今后进一步研究七味白术散影响肠道微生物的物质基础提供相关理论依据。

## 1 七味白术散对肠道微生态的调节作用

七味白术散是对多种胃肠道疾病具有很好疗效的经典方,为了探讨其疗效机制,采用微生物学方法对七味白术散治疗肠道菌群失调腹泻的效果与机制进行了大量研究。通过抗生素联用造模、传统和超微中药治疗、传统微生物计数和

肠道酶活性分析,明确了七味白术散能够促进双歧杆菌、乳酸菌、酵母菌等有益菌的生长,并提高肠道酶活性,改善肠道微生态<sup>[14-18]</sup>。从肠道内分离鉴定了两株与七味白术散疗效相关的酵母菌,证明七味白术散对这些酵母菌的生长具有明显的促进作用<sup>[19]</sup>,对阐明七味白术散调整肠道微生态的机制及新药开发提供了有力的证据。在体内疗效基础上,还进一步在体外探讨了七味白术散及其单味药对常见肠道(条件)致病菌的抑制作用和对酵母菌生长的影响,证实七味白术散对金黄色葡萄球菌、产气杆菌和沙门氏菌具有明显的抑菌作用,其中主要的抑菌药物为人参和甘草;茯苓、白术、葛根及七味白术散复方对肠道酵母菌有促进作用<sup>[20,21]</sup>,这些研究结果为七味白术散调节肠道菌群提供了体外的试验支持。近来,以核酸序列分析为基础的宏基因组学的兴起,为微生态的发展带来了更大的突破<sup>[22]</sup>,通过建立一种基于PCR分析分子多样性的小鼠肠道菌群宏基因组提取方法<sup>[23]</sup>,采用扩增核糖体限制性酶切片断分析(amplified ribosomal DNA restriction analysis, ARDRA)技术分析了七味白术散对菌群失调小鼠肠道细菌和肠道乳杆菌分子多样性的影响,证实七味白术散能够调节小鼠肠道微生物,恢复肠道细菌和乳杆菌多样性<sup>[24]</sup>。进一步采用基于16S rRNA的末端限制性片段长度多样性(terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)分析技术等分子生物学技术来深入进行相关内容研究,有望为深入揭示七味白术散调节肠道微生态提供更详实地实验依据。

## 2 四君子汤调节肠道微生态的物质基础

四君子汤为治疗脾虚型腹泻的名方,菌群失调型腹泻也可视为脾虚型腹泻。很多研究证实,四君子汤复方能够促进肠黏膜损伤修复及正常菌群的增长,是一种理想的微生态调节剂<sup>[25,26]</sup>,由人参、白术、茯苓和甘草组成。

人参的主要有效成分为人参皂苷和人参多糖,还包括一些挥发性成分,有机酸以及其酯、酶类、蛋白质、多肽类、木质素、甾醇及其苷、含氮化合物以及维生素类等<sup>[27,28]</sup>。目前仍未见到有关于人参活性成分与肠道有益菌相互作用的报道。也有报道显示,含量较少的水溶性蛋白和人参炔醇对绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌和红色毛癣菌等一些肠道菌具有直接的抑制作用<sup>[28,29]</sup>,皂苷类可通过提高胃肠道免疫力来

## ■相关报道

肠道微生物能够分泌大量的药物代谢酶(水解、还原酶类等),这些酶不仅能经破壁使有效成分溶出,还能通过“生物活化”使无活性的物质转变为有活性的药理成分,同时可使有毒的物质无毒化。

间接增强抗细菌和病毒的能力<sup>[30]</sup>。

白术的化学成分为挥发油(主要为苍术醇和苍术酮)和多糖、氨基酸、维生素A和白术内酯等<sup>[31]</sup>。对白术活性成分的研究主要集中在苍术醇和白术内酯,而对多糖和氨基酸的研究相对较少。白术内酯的药理作用研究主要集中在提高免疫力和抗肿瘤方面,而对微生物影响的研究未见报道<sup>[32]</sup>。田碧文等<sup>[33]</sup>报道中药白术对双歧杆菌有明显的促生作用;刘丽莎等<sup>[34]</sup>从白术、陈皮、灵芝、枸杞、太子参、五味子、党参、地黄的体外筛选结果表明,白术浸提液对双歧杆菌的增殖最为明显;提取了白术多糖(atractylodes macrocephalaon polysaccharide, AMP),而AMP对益生菌的促生结果表明:AMP对多种双歧杆菌的生长具有良好的促进作用。白术粗多糖对樱桃谷鸭肠道微生物影响的体内实验<sup>[35]</sup>也表明:日粮中添加白术多糖能够明显促进双歧杆菌和乳杆菌的生长并抑制有害微生物的繁殖,达到改善鸭肠道微生物区系环境的目的。

茯苓为多孔科卧孔菌属真菌茯苓的干燥菌核,是常用中药。茯苓应用广泛,其主要成分为茯苓三萜和多糖类化合物,并且不断有新的化合物从茯苓中得到分离与鉴定<sup>[36,37]</sup>,还包括少量蛋白质和一些含量极微的化合物<sup>[38]</sup>。曹俊敏等<sup>[39]</sup>通过观察茯苓、白术及当归等中药对肠道正常菌群的影响,发现茯苓、白术均对肠道正常菌群的生长有促进作用,尤以白术为佳。钟熊等<sup>[40]</sup>对白术、茯苓多糖的体外胃肠道代谢研究发现,肠道菌群对白术、茯苓多糖的代谢强于人工胃液与肠液的代谢作用,且肠道菌群对白术的代谢略强于茯苓。总之,茯苓多糖也能促进肠道有益菌的增殖。另有研究表明,茯苓的100%煎剂对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌及大肠杆菌均有抑制作用,但抑制作用不强<sup>[41]</sup>。

甘草为极其常用的一味补益中药,一般在中药复方中用量较少,起调和诸药的作用。其主要化学成分为:三萜皂苷类、多糖类、香豆素类、生物碱类、黄酮类和氨基酸等<sup>[42]</sup>。董永军等<sup>[43]</sup>在鸡饲料中添加甘草多糖,并与添加抗生素对照研究添加物对鸡肠道微生物的调控,结果表明甘草多糖能够促进肠道优势菌群的生长,而抗生素则抑制了肠道有害菌及优势菌群。另据报道,甘草提取液及甘草酸对金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌、福氏志贺氏菌、乙型副伤寒沙门氏菌等细菌均表现出不同程度的抑菌作用<sup>[44,45]</sup>。

### 3 木香、藿香和葛根调节肠道微生态的物质基础

藿香,辛温而芳香化湿,和胃止呕,可调和中焦枢机,协调气机升降,增强去湿之效。挥发油成分是藿香的主要成分之一,油中主成分为广藿香醇(patchouli alcohol),另有 $\alpha$ -、 $\beta$ -和 $\gamma$ -广藿香萜烯( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -patchoulene)、广藿香萜醇(patchoulanol)、广藿香酮(pogostone)、丁香烯等<sup>[46]</sup>;藿香非挥发油成分(即水溶性成分)不断有新的活性物质被发现,包括黄酮类和糖苷类等一些物质<sup>[47,48]</sup>。藿香提取物具有良好的抗细菌和真菌能力,如大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、志贺氏菌等一些常见的肠道菌群<sup>[49,50]</sup>。刘晓蓉等<sup>[51]</sup>通过比较藿香的乙醚、乙醇和水提取物的抑菌活性可知,乙醚乙醇提取物的抑菌效果均强于水提物,水提物加热至100℃后甚至丧失抑菌活性,说明藿香抑菌活性主要在于挥发油成分。

木香具有行气止痛、温中和胃之功效,其有效成分主要为萜类(种类繁多,如半萜内酯和三萜类),还有生物碱、蒽醌、黄酮等其他类。木香提取物也能够表现出一定的抑菌作用,其挥发油成分<sup>[52]</sup>,三氯甲烷提取物<sup>[53]</sup>,醇提取均对链球菌、金黄色葡萄球菌和霉菌表现出抑菌效果,对大肠杆菌没有效果,总生物碱无抗菌作用,其水提取对细菌也无效。由此可知,木香的抗菌成分很可能为萜类物质。

葛根本是解表药,其味甘辛,性平,入脾胃二经。但葛根还有另外一种功能,即升发阳气,生津止渴。葛根中含有丰富的氨基酸和矿物质<sup>[54]</sup>,特别是一些人体不能合成的氨基酸,其他化学物质还包括葛根苷、皂角苷、三萜类化合物、生物碱以及近年来极其备受关注的异黄酮类(葛根素、大豆苷元和大豆苷)物质<sup>[55]</sup>。虽葛根含有皂苷和多糖类物质,但目前仍未看到葛根促菌的报道。相关研究表明,葛根粗多糖<sup>[56]</sup>和葛根素<sup>[57]</sup>对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌均表现出一定的抑制作用。

### 4 结论

综合近年来国内外关于中医药对肠道微生物影响的研究,以及上述七味白术散物质基础研究和药理药效研究的进展,七味白术散影响肠道微生物的可能机制如下:(1)补益类中药中的皂苷和多糖<sup>[28,34,35,39,40,43]</sup>类物质对肠道微生物的生长均有促进作用,但对益生菌的促进效果优于肠道致病菌或条件致病菌<sup>[58]</sup>,如人参皂

### ■创新盘点

本文按照总-分-总的顺序,先在说明七味白术散能够调节肠道微生态的基础上,继而分别分析各单味药能够影响肠道微生物的物质基础,最后总结归纳七味白术散影响肠道微生物的可能机制。该类评述某个中药复方影响肠道微生态物质基础的文章在国内尚属首例。



## ■应用要点

七味白术散对于菌群失调型腹泻, 通过高者(肠道内异常增长的机会菌)抑之, 下者(受抗生素或其他因素影响而下降的有益菌)举之的方式调整肠道微生态, 从而达到治疗胃肠道疾病的功效, 是一种良好的微生态制剂。

苷, AMP和茯苓多糖等。因此体内长势良好的益生菌竞争性的抑制了其他微生物的生长。值得一提的是, 目前认为中药皂苷大多数是螺甾烷及其生源相似的甾族化合物的低聚糖苷、三萜类化合物的低聚糖苷<sup>[59]</sup>, 而低聚糖则已是运用非常广泛的益生元, 这就为中药皂苷能够促进益生菌的增长提供了理论依据; (2)中药中的某些成分对肠道微生物的生长具有直接的抑制作用, 如甘草酸<sup>[45]</sup>, 藿香挥发油<sup>[51]</sup>和木香提取物在体外具有直接的抑菌和杀菌作用; (3)某些中药既能促进有益菌的增长, 又能抑制肠道致病菌的生长。如人参皂苷可能是促进肠道益生菌的物质基础, 而人参中含量较少的水溶性蛋白具有直接抑制条件致病菌生长的能力<sup>[28,29]</sup>; 甘草多糖能够促进肠道优势菌群的生长, 甘草酸则对胃肠道常见条件致病菌表现出不同程度的抑制作用<sup>[44,45]</sup>; (4)补益类中药能够提升机体免疫力, 增强腹腔巨噬细胞的活性。如茯苓多糖、白术多糖<sup>[60]</sup>等均具有增强机体免疫功能的能力, 从而间接调整肠道微生态。由此可知, 七味白术散影响肠道微生物的作用是多靶点、多途径的, 其影响肠道微生物的物质基础是一个系统性工程, 在各种有效成分功能的基础上还有各成分之间的协同增效, 此项工作仍需大量的基础性研究。

传统中药与肠道菌群的相互作用已经成为中医药微生态这一热门领域中中药研究内容, 但目前单味中药有效物质基础研究仍比较滞后, 中药有效成分影响肠道微生物的机制仍比较模糊, 且研究方法比较单一, 多用微生物直接培养法, 而从分子层面探讨中药与肠道微生物相互作用的相关研究还刚起步。今后的中医药微生态学研究应多从微观方面把握。

## 5 参考文献

- Nicholson JK, Holmes E, Lindon JC, Wilson ID. The challenges of modeling mammalian biocomplexity. *Nat Biotechnol* 2004; 22: 1268-1274 [PMID: 15470467 DOI: 10.1038/nbt1015]
- Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, Gordon JI, Relman DA, Fraser-Liggett CM, Nelson KE. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 2006; 312: 1355-1359 [PMID: 16741115 DOI: 10.1126/science.1124234]
- Jia W, Li H, Zhao L, Nicholson JK. Gut microbiota: a potential new territory for drug targeting. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7: 123-129 [PMID: 18239669 DOI: 10.1038/nrd2505]
- 韩国柱. 药物在肠道的代谢及其对药物作用的影响. *药学通报* 1985; 2: 294-295
- 鞠宝玲, 宋宝辉, 唐小云, 毛丽珍, 海艳杰. 四君子汤对肠道菌群失调小鼠的调整作用及机制研究. *牡丹江医学院学报* 2007; 5: 20-23
- 彭颖, 金晶, 杨静玉, 吴春福, 李晓波. 3种健脾补气方药对脾气虚证大鼠肠道菌群的影响. *中国中药杂志* 2008; 21: 2530-2534
- 李玉英, 王玺坤. 补肺健脾颗粒对脾虚小鼠肠道菌群变化影响的研究. *中医药学刊* 2001; 4: 377-377
- 丁维俊, 周邦靖, 瞿慕东, 白华. 参苓白术散对小鼠脾虚模型肠道菌群的影响. *北京中医药大学学报* 2006; 8: 530-533
- 符纯美, 郭晓华, 王伯平, 朱玉泉. 传统中药的抗病原微生物作用研究. *中草药* 2012; 5: 1-2
- 刘华钢, 申庆荣, 刘丽敏. 中药抗菌研究进展. *时珍国医国药* 2010; 2: 211-213
- 官毓静, 安汝国, 虞慧, 王理达, 郑俊华, 果德安. 164种中药乙醇提取物抗真菌作用研究. *中草药* 2002; 1: 42-47
- Li H, Zhou M, Zhao A, Jia W. Traditional Chinese medicine: balancing the gut ecosystem. *Phytother Res* 2009; 23: 1332-1335 [PMID: 19253310 DOI: 10.1002/ptr.2590]
- Jia W, Gao WY, Yan YQ, Wang J, Xu ZH, Zheng WJ, Xiao PG. The rediscovery of ancient Chinese herbal formulas. *Phytother Res* 2004; 18: 681-686 [PMID: 15476313 DOI: org/10.1002/ptr.1506]
- Cai GX, Zeng A, Xiao NQ, Tan ZJ, Guo KX. Effects of jianwei qiweibaizhusan on the intestinal microorganisms and enzyme activities. *J Pharm Tech & Drug Res* 2013 [DOI: 10.7243/2050-120X-2-6]
- 谭周进, 吴海, 刘富林, 蔡莹, 蔡光先, 张华玲, 曾奥. 超微七味白术散对肠道微生物及酶活性的影响. *生态学杂志* 2012; 21: 6856-6863
- 曾奥, 张华玲, 谭周进, 蔡莹, 蔡光先, 周赛男. 小鼠菌群失调腹泻模型的建立及超微七味白术散的疗效. *微生物学通报* 2012; 9: 1341-1348
- 谭周进, 张华玲, 周赛男, 余望盼, 曾奥, 蔡莹. 菌群失调小鼠腹泻造模及超微中药干预过程中肠道微生物的变化. *应用与环境生物学报* 2013; 3: 449-453
- 蒋婕, 郭抗萧, 周赛男. 一种提取小鼠肠道中活体微生物的方法. *中国微生态学杂志* 2013; 5: 512-516
- Guo KX, Li WG, Peng ZF, Shu XH, Xiao NQ, Li DD, Dai LY, Tan ZJ. Intestinal endomycopsis burtonii associated with Qiweibaizhusan. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention* 2013; 9: 26-33
- 郭抗萧, 周赛男, 谭周进, 蔡莹, 余望盼, 蔡光先. 七味白术散对肠道酵母菌的抑促作用研究. *现代生物医学进展* 2013; 27: 5259-5263
- 蒋婕, 郭抗萧, 龙玲, 李丹丹, 谭周进, 袁振仪. 超微七味白术散体外抑菌作用研究. *中国中医药信息杂志* 2013; 11: 28-30
- Nelson KE, Weinstock GM, Highlander SK, Worley KC, Creasy HH, Wortman JR, Rusch DB, Mitreva M, Sodergren E, Chinwalla AT, Feldgarden M, Gevers D, Haas BJ, Madupu R, Ward DV, Birren BW, Gibbs RA, Methe B, Petrosino JF, Strausberg RL, Sutton GG, White OR, Wilson RK, Durkin S, Giglio MG, Gujja S, Howarth C, Kodira CD, Kyrpides N, Mehta T, Muzny DM, Pearson M, Pepin K, Pati A, Qin X, Yandava C, Zeng Q, Zhang L, Berlin AM, Chen L, Hepburn TA, Johnson J, McCarrison J, Miller J, Minx P, Nusbaum C, Russ C, Sykes SM, Tomlinson CM, Young S, Warren WC, Badger J, Crabtree J, Markowitz VM, Orvis J, Cree A, Ferreira S, Fulton LL, Fulton RS, Gillis M, Hemphill LD, Joshi V, Kovar C, Torralba M, Wetterstrand KA, Abouellail A, Wollam AM, Buhay CJ, Ding Y, Dugan S, FitzGerald MG, Holder M, Hostetler J, Clifton SW,

- Allen-Vercoe E, Earl AM, Farmer CN, Liolios K, Surette MG, Xu Q, Pohl C, Wilczek-Boney K, Zhu D. A catalog of reference genomes from the human microbiome. *Science* 2010; 328: 994-999 [PMID: 20489017 DOI: 10.1126/science.1183605]
- 23 吴海, 周赛男, 郭纯, 谭周进, 蔡光先, 曾奥. 一种基于PCR分析多样性的小鼠肠道微生物宏基因组提取方法. *中国微生态学杂志* 2012; 7: 648-651
- 24 吴海. 超微七味白术散对肠道微生物分子多样性的影响. 湖南中医药大学, 2012
- 25 鞠宝玲, 毕蕾, 杨景云. 四君子汤改善抗生素污染小鼠肠道菌群失调的研究. *牡丹江医学院学报* 2003; 1: 4-6
- 26 任光友, 张贵林, 卢素琳. 四君子汤对动物肠菌失调及正常胃肠功能的药理研究. *中成药* 2000; 7: 504-506
- 27 郭秀丽, 高淑莲. 人参化学成分和药理研究进展. *中医临床杂志* 2012; 4: 26-27
- 28 张翼轸, 张文驹, 穆青. 人参化学成分的药理活性及其含量积累的研究进展. *安徽农业科学* 2011; 20: 12158-12160
- 29 李霞, 孙立伟, 申野. 人参水溶性蛋白活性研究进展. *中国实用医药* 2010; 27: 243-245
- 30 黄海英. 人参皂苷Rg1药理作用研究进展. *实用中医药杂志* 2012; 7: 608-610
- 31 阳柳平. 研究白术的化学成分及药理作用概况. *中国医药指南* 2012; 21: 607-608
- 32 陈晓萍, 张长林. 白术不同化学成分的药理作用研究概述. *中医药信息* 2011; 2: 124-126
- 33 田碧文, 庞雪云, 孙蕾. 中药复方制剂对肠道正常菌群体外生长的影响. *中医药导报* 2005; 9: 60-61
- 34 刘丽莎, 王锐, 旭日花. 白术多糖对益生菌的促生作用及结构分析. *食品科学* 2010; 19: 124-128
- 35 文贵辉, 李丽立, 张彬, 刘振湘. 白术粗多糖对樱桃谷鸭肠道微生物的影响. *饲料研究* 2010; 7: 55-58
- 36 Park WH, Joo ST, Park KK, Chang YC, Kim CH. Effects of the Geiji-Bokryung-Hwan on carrageenan-induced inflammation in mice and cyclooxygenase-2 in hepatoma cells of HepG2 and Hep3B. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2004; 26: 103-112 [PMID: 15106735]
- 37 杨树东, 包海鹰. 茯苓中三萜类和多糖类成分的研究进展. *菌物研究* 2005; 3: 55-61
- 38 沈玉萍, 李军, 贾晓斌. 中药茯苓化学成分研究进展. *南京中医药大学学报* 2012; 3: 297-300
- 39 曹俊敏, 杨雪静, 张伟真. 茯苓等4种中药扶植实验小鼠肠道正常菌群生长及其机理的初步研究. *中华中医药学刊* 2012; 2: 393-395
- 40 钟熊, 王梦月, 彭颖, 李晓波. 白术、茯苓多糖的体外胃肠道代谢研究. *中国实验方剂学杂志* 2012; 12: 132-134
- 41 孙博光, 邱世翠, 李波清, 张群, 杨新. 茯苓的体外抑菌作用研究. *时珍国医国药* 2003; 7: 394
- 42 田武生. 甘草的化学成分和临床研究概述. *中医临床研究* 2012; 16: 31-32
- 43 董永军, 王丽荣, 齐永华. 甘草多糖对肉仔鸡肠道微生物调控的研究. *粮食与饲料工业* 2012; 4: 47-49
- 44 王春华, 周铁忠, 张正莹, 王宏军. 甘草、黄连等5味中药对体外抗菌作用的研究. *中国农学通报* 2012; 17: 63-67
- 45 邓淑华, 王晓斌, 王鸿梅, 刘艳华. 甘草酸盐抗菌作用的实验研究. *承德医学院学报* 2011; 3: 326-326
- 46 Rouach H, Fataccioli V, Gentil M, French SW, Morimoto M, Nordmann R. Effect of chronic ethanol feeding on lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology. *Hepatology* 1997; 25: 351-355 [PMID: 9021946 DOI: 10.1002/hep.510250216]
- 47 王大海, 殷志琦, 张庆文, 叶文才, 张晓琦, 张健. 广藿香非挥发性化学成分的研究. *中国中药杂志* 2010; 20: 2704-2707
- 48 黄烈军, 穆淑珍, 张建新, 邓彬, 宋智琴, 郝小江. 中药广藿香非挥发性化学成分的研究. *中国中药杂志* 2009; 4: 410-413
- 49 刘红淼, 李艳玲, 杨继章. 广藿香油的药理作用研究进展. *中国药房* 2012; 47: 4506-4507
- 50 Pattnaik S, Subramanyam VR, Kole C. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios* 1996; 86: 237-246 [PMID: 8893526]
- 51 刘晓蓉, 范瑞, 张媛媛. 广藿香提取物的抑菌活性研究. *食品科技* 2009; 5: 220-222
- 52 张建新, 蔡雅明, 周德斌. 木香的研究进展. *甘肃科技* 2010; 20: 170-172
- 53 李浩华, 章卫民, 高晓霞. 白木香果皮提取物的抗菌活性. *中国实验方剂学杂志* 2011; 7: 100-102
- 54 郑皓. 葛根的研究与开发现状. *氨基酸和生物资源* 2006; 2: 21-22
- 55 张淑萍. 葛属植物中黄酮化合物药理作用研究进展. *长治医学院学报* 2006; 1: 79-80
- 56 杨长友. 葛根多糖抑菌活性的测定. *宁德师专学报* 2011; 2: 130-132
- 57 张继红, 罗泽宇, 陶能国. 葛根素的提取及其抑菌实验研究. *激光生物学报* 2010; 4: 507-509
- 58 徐永杰, 张波, 张神腾. 牛蒡多糖的提取对小鼠肠道菌群的调节. *食品科学* 2009; 23: 428-431
- 59 肖崇厚. 中药化学. 上海: 上海科学出版社, 2001: 379-406
- 60 Zeković DB, Kwiatkowski S, Vrvic MM, Jakovljević D, Moran CA. Natural and modified (1→3)-beta-D-glucans in health promotion and disease alleviation. *Crit Rev Biotechnol* 2005; 25: 205-230 [PMID: 16419618 DOI: 10.1080/07388550500376166]

## 同行评价

七味白术散是肠道疾病采用方剂, 稿件综述了七味白术散、方中各药对调节肠道微生态的调节作用, 以及七味白术散中药的主要活性成分以及概况, 内容较全面。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



## 胶原酶 II 对肝硬化大鼠的治疗作用

郭争荣, 孙殿兴, 李兵顺, 刘金霞, 李东, 王君平, 常丽丽, 周晓娜, 李敏然

### ■背景资料

我国是一个乙型肝炎大国, 肝硬化发生率很高, 但缺乏临床适用的有效的软化肝脏的药物, 目前一般认为肝硬化是不可逆的, 临床医生几乎不敢想象硬化的肝脏尚能变的松软。胶原酶 II 是中粒细胞分泌的一种胶原酶, 能够特异的降解 I 型胶原, 将外基质因胶原酶 II 通过载体导入肝细胞是抗肝硬化治疗的关键。

郭争荣, 孙殿兴, 刘金霞, 李东, 王君平, 白求恩国际和平医院全军肝病中心 河北省石家庄市 050082

郭争荣, 常丽丽, 周晓娜, 石家庄市第一医院消化内科 河北省石家庄市 050082

李兵顺, 李敏然, 石家庄市第五医院传染科 河北省石家庄市 050082

郭争荣, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30872255

王宝恩肝纤维化基金资助项目, No. 2007001

作者贡献分布: 此课题由孙殿兴、李兵顺及郭争荣设计; 研究过程由孙殿兴、郭争荣及刘金霞操作完成; 数据分析由孙殿兴、郭争荣、李东、王君平、常丽丽、周晓娜及李敏然完成; 本文写作由孙殿兴与郭争荣完成。

通讯作者: 孙殿兴, 主任医师, 050082, 河北省石家庄市桥西区中山西路398号, 石家庄白求恩国际和平医院全军肝病中心。

sundianxing@hotmail.com

电话: 0311-87978439

收稿日期: 2014-01-08 修回日期: 2014-03-18

接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-05-08

### Therapeutic effect of collagenase II against rat liver cirrhosis

Zheng-Rong Guo, Dian-Xing Sun, Bing-Shun Li, Jin-Xia Liu, Dong Li, Jun-Ping Wang, Li-Li Chang, Xiao-Na Zhou, Min-Ran Li

Zheng-Rong Guo, Dian-Xing Sun, Jin-Xia Liu, Dong Li, Jun-Ping Wang, the Liver Disease Diagnosis and Treatment Center of PLA, Bethune International Peace Hospital, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China

Zheng-Rong Guo, Li-Li Chang, Xiao-Na Zhou, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Shijiazhuang City, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China

Bing-Shun Li, Min-Ran Li, Department of Infectious Diseases, the Fifth Hospital of Shijiazhuang City, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30872255; Wang Baoen Liver Fibrosis Foundation, No. 20070001

Correspondence to: Dian-Xing Sun, Chief Physician, Bethune International Peace Hospital, 398 Zhongshan West Road, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China. sundianxing@hotmail.com

Received: 2014-01-08 Revised: 2014-03-18

Accepted: 2014-03-31 Published online: 2014-05-08

### Abstract

**AIM:** To explore the therapeutic effect of an adenovirus-HBV chimeric vector expressing collagenase II against cirrhosis in a rat model.

**METHODS:** Rat liver cirrhosis was induced

with 0.03% thioacetamide in drinking water for 16 wk. Ad-CH-tMMP8 and Ad-C-MMP8 were constructed using an adenovirus shuttle plasmid and a HBV chimeric vector expressing truncated and full-length collagenase II gene. Ad-CH-RFP2 expressing red fluorescent protein was used as a negative control. Liver cirrhosis rats were injected with the three plasmids through the tail vein.

**RESULTS:** Compared with the model group and negative control group, fibrosis was dramatically attenuated four weeks after the infection. HE staining and picric acid-Sirius red staining showed that hepatocyte steatosis, necrosis and inflammation were significantly milder in the treatment group, along with hepatocyte proliferation, recovery of hepatic lobule structure, and diminished content of HYP ( $28.97 \mu\text{g/g} \pm 2.36 \mu\text{g/g}$  vs  $17.04 \mu\text{g/g} \pm 0.61 \mu\text{g/g}$ ,  $17.62 \mu\text{g/g} \pm 1.30 \mu\text{g/g}$ ,  $P < 0.05$ ), whereas the fibrosis in Ad-CH-RFP2-treated rats persisted.

**CONCLUSION:** Adenovirus-HBV chimeric vector expressing collagenase II effectively reduces the degree of liver fibrosis in rats.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Collagenase II; Liver cirrhosis; HBV vector; Adenoviral vector

Guo ZR, Sun DX, Li BS, Liu JX, Li D, Wang JP, Chang LL, Zhou XN, Li MR. Therapeutic effect of collagenase II against rat liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1778-1784 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1778.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1778>

### 摘要

**目的:** 探讨应用腺病毒与乙型肝炎病毒嵌合载体表达胶原酶 II 对肝硬化大鼠模型的治疗作用。

**方法:** 以硫代乙酰胺口服法 16 wk 诱导大鼠形成肝硬化模型, 用腺病毒穿梭质粒与乙型肝炎

### ■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科



炎病毒嵌合载体表达截断的胶原酶 II 基因 tMMP-8 片断或全长 MMP-8 基因, 分别构建了腺病毒 Ad-CH-tMMP8、Ad-C-MMP8, 并以表达红色荧光蛋白 (red fluorescent protein, RFP2) 的 Ad-CH-RFP2 作为对照, 经尾静脉注射治疗已形成肝硬化模型的大鼠。

**结果:** 在 Ad-CH-tMMP8、Ad-C-MMP8 尾静脉注射肝硬化大鼠的体内转染研究中, 转染 4 wk, 相比于模型组, 肝纤维化程度显著的减轻, 肝细胞再生明显, 同时伴有肝组织羟脯氨酸含量的下降 ( $28.97 \mu\text{g/g} \pm 2.36 \mu\text{g/g}$  vs  $17.04 \mu\text{g/g} \pm 0.61 \mu\text{g/g}$ ,  $17.62 \mu\text{g/g} \pm 1.30 \mu\text{g/g}$ ,  $P < 0.05$ ), Ad-CH-RFP2 对照组, 纤维化程度同模型组类似。

**结论:** 用腺病毒与乙型肝炎病毒嵌合载体表达胶原酶 II 能够有效地减轻大鼠肝纤维化程度。

© 2014 年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胶原酶 II; 肝硬化; 乙型肝炎病毒载体; 腺病毒载体

**核心提示:** 用腺病毒载体转导乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 载体表达胶原酶 II 用于抗肝硬化的基因治疗, 充分利用了腺病毒方便制备、感染效率高的优点, 也利用了 HBV 载体用于慢性 HBV 感染者时具有嗜肝导向性、放大效应、无细胞毒性及免疫源性的优点, 将外原基因胶原酶 II 导入硬化的肝脏, 开辟肝硬化软肝治疗新途径。

郭争荣, 孙殿兴, 李兵顺, 刘金霞, 李东, 王君平, 常丽丽, 周晓娜, 李敏然. 胶原酶 II 对肝硬化大鼠的治疗作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1778-1784 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1778.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1778>

## 0 引言

肝硬化是一种慢性, 进展性疾病, 其特征是肝脏再生结节和假小叶结构的形成, 进一步发展可导致肝细胞癌. 肝硬化病因是多种多样的, 在全球 30%, 中国高达 66% 的肝硬化是由乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染引起. 肝纤维化组织的形成是胶原纤维在肝脏过度沉积, 而 I 型胶原可占硬化肝脏胶原总量的 60%-70%<sup>[1-3]</sup>, 因此, 减少 I 型胶原含量将能够大大减轻肝纤维化程度. 胶原酶 II 是中性粒细胞分泌的一种胶原酶, 能够特异的降解 I 型胶原<sup>[4-6]</sup>, 如何将外原基因胶原酶 II 通过载体导入肝细胞是抗肝硬化

治疗的关键. 我国肝硬化患者多数伴有 HBV 感染, 理论上利用 HBV 载体可以在乙型肝炎患者体内被野生型 HBV 提供的结构蛋白所包装, 从而实现放大效应, 但目前缺乏 HBV 感染易感的小动物, 且 HBV 载体难以大量制备; 重组腺病毒制备方便, 但具有免疫原性, 重复应用因中和抗体产生而失去疗效, 而且大剂量应用时有细胞毒性. 本研究意旨应用腺病毒-HBV 嵌合载体携带胶原酶 II 治疗肝硬化大鼠模型, 为 HBV 相关的肝硬化患者探索一个软化肝脏新方法, 为将来进一步临床应用奠定了基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 表达胶原酶 II 的质粒 pGW1GH-MMP8 (Genbank 登记号: NP\_002415.1) 由加拿大 Christopher M 教授赠予; E1 区和 E3 区双缺失的复制缺陷型腺病毒骨架质粒 pBHG $\Delta$ Lox $\Delta$ E1, 3Cre 由 Microbix Biosystems 公司提供. 野生型 HBV 表达载体 pCH-9/3091 (Genbank 登记号: V01460)、HepG2 细胞, *E. coli*/TOP10 菌株为本实验室保存; 腺病毒载体的质粒 pDC312 (AdMax 系统, 加拿大 Microbix 公司); 人胚肾细胞系 293 细胞 (HEK293) 由中国人民解放军军事医学研究院提供. VigoFect 转染试剂 [威格拉斯生物技术 (北京) 有限公司]; TRIzol、cDNA 合成第一条链试剂盒、MMLV、DNTP、DNA polymerase、RNase、DEPC 等 RT-PCR 各种试剂 (天根生物试剂公司). 荧光显微镜 (LEICA 公司德国); 5% CO<sub>2</sub> 培养箱 (HF161 上海力申科学仪器有限公司); 荧光定量 PCR 仪 (上海宏石医疗科技有限公司, 国产); 核酸蛋白分析仪 (Biophotometer 德国) 等。

### 1.2 方法

**1.2.1 pDC-CH-tMMP8, pDC-C-MMP8 腺病毒-HBV 载体质粒的构建:** 野生型 HBV 表达载体 pCH-9/3091 删除 S 基因, 插入绿色荧光蛋白基因 (green fluorescent protein, GFP), 构建质粒 PCH-S-GFP<sup>[7]</sup>, 为了去除内源性 HBV 蛋白的表达, pCH-S-GFP 经过以下突变, G28T (GGA to TGA, 编码从核心蛋白 ATG 起始), T444A (TTG to TAG), C2677T (CAA to TAA) 分别使核心蛋白、P 蛋白和 X 蛋白产生终止密码, 前 S1 和 S2 起始密码 ATG 突变为 ACG, 得到质粒 pCH-M5-GFP. 质粒 pCH-M5-RFP2 是利用 RFP2 替换 pCH-M5-GFP 质粒中的 GFP, pCH-M5-tMMP8 是利用 PCR 方法扩增截短型 tMMP8 片段, 上游引物: 5'-GGC-GCCATGGTAACCCAGGAAACC-3'; 下游引

## ■ 研发前沿

化学药物 (如秋水仙碱) 毒性很大, 难以临床应用, 众多的中成药只有很微弱的抗肝纤维化作用, 临床疗效很不满意. 因此, 广大学者已经把治疗肝纤维化的目光转移到基因治疗方面, 目前常用的方法是通过缺陷病毒 (如腺病毒) 转入特定的细胞因子和酶 (如肝细胞生长因子、转化生长因子  $\beta$ 1 受体、 $\gamma$  干扰素、白介素 10、金属蛋白酶) 的基因, 通过靶细胞表达这些因子作用于受损的肝脏, 抑制或阻断肝纤维化过程中的某个环节, 从而达到治疗或治愈肝纤维化的目的。

### ■相关报道

Siller-Lopez等应用经过基因修饰MMP-8转染了HepG2,发现细胞培养上清液具有降解I型胶原的作用,并且这种作用能够被EDTA, 1,10-邻二氮杂菲及TIMP-1等抑制,说明其能够分泌到细胞外发挥酶催化反应。随后应用腺病毒表达MMP-8一次性感染肝硬化大鼠,发现其使肝纤维化减少45%,并使MMP-2, MMP-3, MMP-9及肝细胞生长因子的表达上调,星型细胞激活剂TGF- $\beta$ 的表达下调,对腹水、肝功能、及曲张的胃静脉均有明显的改善作用。

物: 5'-GCCGACTAGTCATCCATAGATGGCCT-GAATG-3', 所得到的tMMP8片段插入到PCH-M5-GFP, 构建了质粒pCH-M5-tMMP8, 腺病毒穿梭质粒pDC312插入一个人源化GFP(hrGFP)表达盒以构建pDC312-hrGFP, pCH-M5-tMMP8和PCH-M5-RFP2质粒中包括CMV启动子和完整的HBV载体的Nhe I 片段插入到pDC312-hrGFP质粒, 构建了腺病毒-HBV载体穿梭质粒pDC-CH-tMMP8和pDC-CH-RFP2。利用同样的方法, 把包括CMV启动子和全长MMP8基因的pGW1GH-MMP8的Spe I 至BamH I 片段插入到pDC312-hrGFP, 构建了质粒pDC-C-MMP8。

1.2.2 表达MMP8的重组腺病毒质粒的包装与扩增: HEK293细胞接种于6孔板, 加入10%FCS的DMEM培养基, 置37℃, 5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养24 h, pBHGLOx $\Delta$ E1, 3Cre分别和重组质粒pDC-CH-tMMP8、pDC-CH-RFP2、pDC-C-MMP8以5:1的比例共转染HEK293细胞, 转染15-20 d后有较明显的病毒蚀斑形成。将HEK293细胞自培养皿内刮下, 收集培养物于50 mL离心管中, 于-70℃/37℃水浴中反复冻融3次裂解, 经扩大培养后, 用氯化铯梯度离心法进行腺病毒纯化, 测定A<sub>260</sub>, 根据公式病毒颗粒数 = A<sub>260</sub> × 稀释倍数 × 1.1 × 10<sup>12</sup>算出腺病毒的滴度, 保存于-70℃进行体内研究。

1.2.3 肝硬化动物模型的制备: 清洁级、♂ Wistar大鼠40只, 体质量200 g ± 20 g, 硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)用精确度为1/10000的电子天平称取并用饮用水稀释, 8只为正常组, 用饮用水喂养, 其余均用0.03%TAA诱导饲养5 wk, 然后0.04%的TAA诱导饲养5 wk, 大约16 wk后制成稳定的肝硬化模型<sup>[8]</sup>, 每1-2 d更换1次诱导用饮用水, 以保证水的新鲜和药物浓度的稳定, 在诱导期间随时处死实验动物, 经病理证实为肝硬化, 大约10 wk后制成稳定的肝硬化模型。

1.2.4 重组腺病毒感染肝硬化大鼠及组织取样: 造模成功后将肝硬化大鼠随机分为4组, 即治疗组A, 用腺病毒Ad-CH-tMMP8治疗; 治疗组B, 用腺病毒Ad-C-MMP8治疗; 阴性对照组, 用腺病毒Ad-CH-RFP2治疗; 模型对照组, 未做任何治疗, 每组8只。停药1 wk, 治疗组A、B, 阴性对照组分别尾静脉注射1.5 × 10<sup>11</sup>病毒/kg体质量。治疗2 wk, 4 wk后分两批处死动物。0.3%戊巴比妥(40 mg/kg)腹腔注射麻醉, 腹主动脉取血, 分离血清做肝功能、肝纤4项等检查, 分离肝组织部分40 g/L的甲醛固定, 进行组织学检查, 其余-80℃保

存, 供羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)检查备用<sup>[9]</sup>。  
1.2.5 大鼠肝功能: 由我院检验科全自动生化分析仪检测, 透明质酸(hyaluronic acid, HA)和层黏连蛋白(laminin, LN)由我院核医学科放射免疫学检测。

**统计学处理** 使用SPSS19.0统计软件处理实验数据, 有关资料的指标采用mean ± SD表示, 两样本均数的比较采用t检验, P < 0.05为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 动物模型的建立 0.03%TAA诱导饲养5 wk, 然后0.04%的TAA诱导饲养5 wk, 大约16 wk后制成稳定的肝硬化模型。造模期间, 正常大鼠毛发光泽, 活动正常, 而进行造模的大鼠则普遍出现皮毛蓬乱无光泽, 精神萎靡, 活动减少, 进食量和体质量均低于正常组, 并出现死亡现象。此方法建立的肝硬化模型持续时间长, 在停药2 mo后肝硬化程度几乎没有减轻, 我们的实验中模型组一共有8只动物, 每只动物都得到相同的实验结果, 与Lukivskaya等<sup>[10]</sup>、Gu等<sup>[11]</sup>报道一致, 以上研究结果显示TAA诱导的肝硬化模型比较稳定、持久, 可作为一种与临床患者肝硬化相似的模型进行治疗、研究。

2.2 腺病毒感染后的肝组织学变化 大体观察: 正常肝脏颜色鲜红, 有光泽, 质软, 边缘锐; 模型组肝组织颜色灰暗, 无光泽, 表面粗糙, 可见大片状的岛屿状结节形成, 质地硬, 边缘钝, 其中一半以上(6/8)的大鼠伴有腹水形成; 阴性对照组注射Ad-CH-RFP2腺病毒治疗后大鼠肝脏颜色深红色, 无光泽, 大片状的岛屿状结节, 质地硬, 边缘钝, 其中4只大鼠伴有腹水(4/8); Ad-CH-tMMP8和Ad-C-MMP8治疗2 wk后肝脏颜色暗红, 同样可见片状岛屿状结节, 但较模型组和阴性对照组明显减少, 质地变软, 边缘钝, 其中一只大鼠(Ad-CH-tMMP8组1/8)有少量腹水形成。

HE染色: 正常组肝脏肝小叶结构完整, 肝板以中央静脉为中心, 呈条索状向四周放射样排列, 无肝细胞萎缩、变性、坏死、炎症细胞浸润及纤维组织增生; 模型组肝小叶结构破坏, 可见广泛肝细胞变性、坏死、伴有较多的炎症细胞浸润及纤维结缔组织增生, 中央静脉塌陷或扭曲变形, 可见粗大的胶原纤维条索分割肝小叶形成假小叶; 阴性对照Ad-CH-RFP2组与模型组相比无明显变化, 肝纤维化程度未见减轻; Ad-CH-tMMP8和Ad-C-MMP8治疗组与模型组、阴



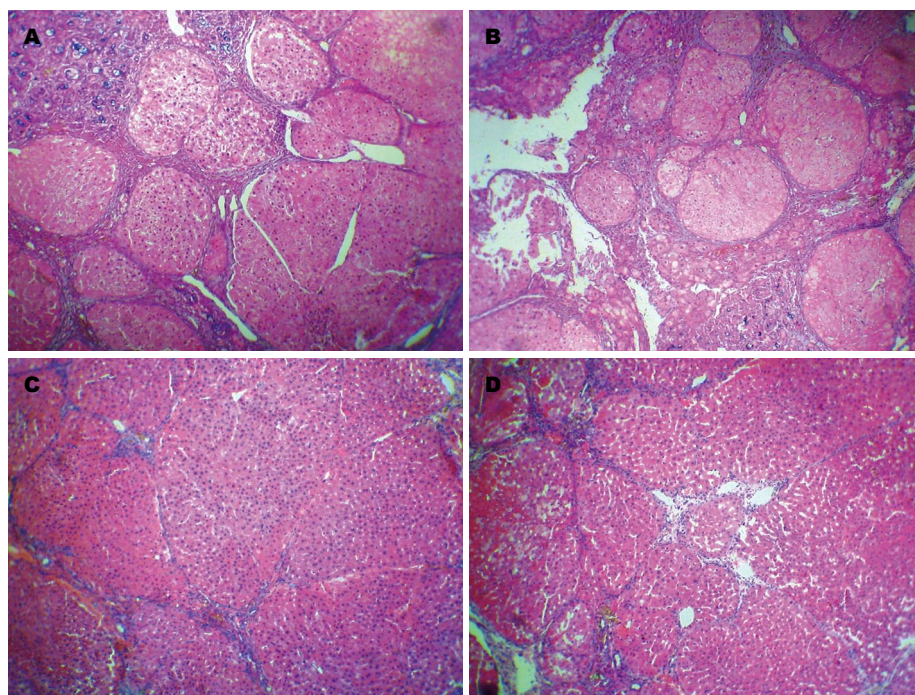


图 1 肝组织HE染色结果( $\times 10$ ). A: 模型组; B: 阴性对照组; C: Ad-CH-tMMP8治疗组; D: Ad-C-MMP8治疗组.

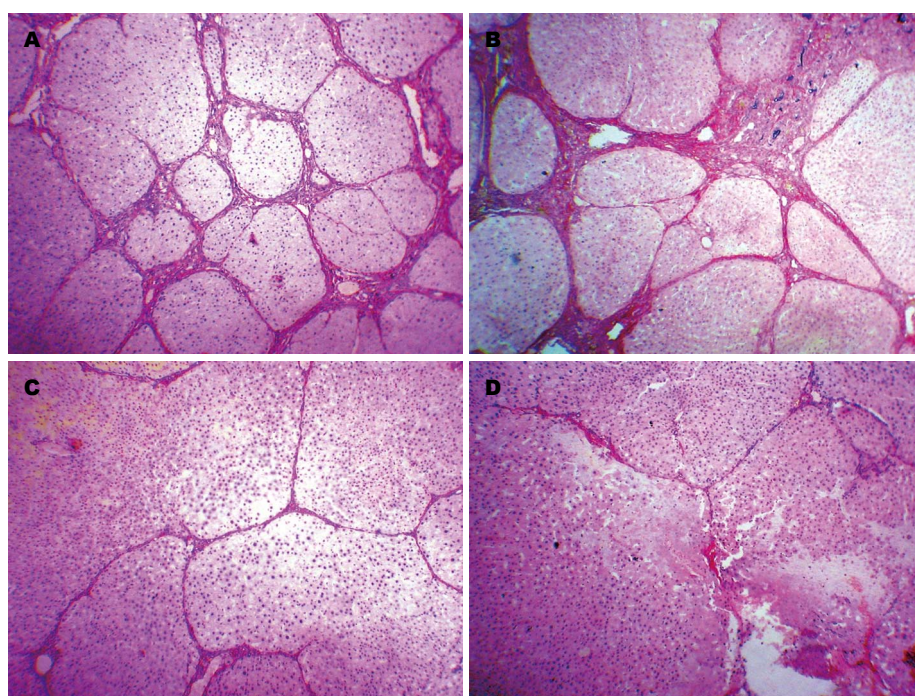


图 2 肝组织天狼猩红染色结果( $\times 10$ ). A: 模型组; B: 阴性对照组; C: Ad-CH-tMMP8治疗组; D: Ad-C-MMP8治疗组.

性对照组相比, 肝小叶结构破坏明显减轻, 胶原纤维条索较细, 肝细胞水肿好转、变形情况明显改善, 炎症细胞浸润减少, 汇管区结缔组织增生好转, 肝纤维化程度明显减轻( $P < 0.05$ ), 但两治疗组之间比较无统计学意义( $P > 0.05$ )(图1).

2.3 腺病毒感染后肝纤维化的定量分析 肝纤维化的半定量通过天狼猩红染色分析: 胶原纤维

染成红, 红色区域的面积代表着肝脏内胶原的沉积, Ad-CH-tMMP8和Ad-C-MMP8治疗组与模型组、阴性对照组相比, 肝小叶结构破坏减轻, 肝脏胶原纤维增生亦明显减轻, 纤维条索变细变窄, 肝小叶结构恢复, 汇管区和中央静脉周围胶原显著减少( $P < 0.05$ ), 但两治疗组之间比较无统计学意义( $P > 0.05$ )(图2).

#### ■ 创新盘点

本研究将HBV改造成载体用于HBV相关的肝病基因治疗, 与其他病毒载体相比, 具有明显的优势, 他可利用乙型肝炎患者这个天然廉价的包装细胞, 携带的目的基因在体内将有嗜肝导向性及放大效应, 有可能从根本上克服其他病毒载体的缺陷. 利用腺病毒载体转导HBV载体, 把二者结合到一起, 克服了各自的缺点, 实现制备方便、具有靶向性、放大效应、低细胞毒性、无免疫源性等. 这一方法学的创新也将对本领域的研究产生一定的影响, 或许有助于突破“重组HBV难以大量制备”这一HBV载体研究的瓶颈.



## ■应用要点

应用重组腺病毒携带HBV载体表达胶原酶II, 克服HBV载体制备困难及感染效率低的缺陷, 发挥HBV载体的优势, 以野生型HBV提供包装, 形成重组HBV颗粒, 将具有放大效应, 一次性小剂量注射重组腺病毒有望实现一次性注射维持持久疗效, 在体内形成的重组HBV具有嗜肝导向性, 无细胞毒性、无免疫源性等, 这一创新, 有可能把胶原酶II基因治疗带入临床应用。

表 1 血清谷丙转氨酶测定 ( $n = 8$ , U/L)

分组	2 wk	4 wk
正常组	74.75 ± 6.70	64.75 ± 12.23
模型组	112.50 ± 11.21	108.42 ± 8.23
治疗组A	184.50 ± 10.34 <sup>a</sup>	114.52 ± 10.02
治疗组B	182.25 ± 13.59 <sup>a</sup>	109.68 ± 9.97
阴性对照组	191.09 ± 14.76 <sup>a</sup>	106.36 ± 8.93

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 模型组。

表 2 血清HA、LN测定 ( $n = 8$ )

分组	HA(ng/mL)	LN(ng/mL)
正常组	111.32 ± 19.14	103.07 ± 17.61
模型组	1115.62 ± 163.28	475.65 ± 90.67
治疗组A	646.83 ± 59.25 <sup>ac</sup>	293.22 ± 64.61 <sup>ac</sup>
治疗组B	790.34 ± 33.79 <sup>ac</sup>	250.61 ± 57.25 <sup>ac</sup>
阴性对照组	1097.33 ± 151.62	508.24 ± 94.73

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 模型组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 阴性对照组。HA: 透明质酸; LN: 层粘连蛋白。

肝脏内羟脯氨酸含量的定量分析: 模型组肝组织Hyp含量较正常组升高, 达正常值得约9倍; Ad-CH-tMMP8和Ad-C-MMP8治疗组Hyp含量与模型组相比有所下降( $17.04 \mu\text{g/g} \pm 0.60 \mu\text{g/g}$ 、 $17.62 \mu\text{g/g} \pm 1.31 \mu\text{g/g}$  vs  $28.97 \mu\text{g/g} \pm 2.36 \mu\text{g/g}$ ,  $P < 0.05$ ), 而Ad-CH-RFP2组较模型组又有所升高( $30.89 \mu\text{g/g} \pm 3.67 \mu\text{g/g}$ )(图3)。Hyp含量测定在判断肝纤维化程度方面没有HE染色、天狼猩红染色明显, 究其原因可能是肝脏内降解和没有降解的胶原都可被分解成为Hyp而被测出, 此结果与Iimuro等<sup>[12]</sup>、Siller-López等<sup>[6]</sup>报道一致。

2.4 腺病毒感染后对大鼠肝功能及HA、LN的影响 对大鼠血清中肝功能特异性的酶谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)的测定结果显示: 与模型组相比, 治疗组和阴性对照组大鼠血清ALT显著的升高( $P < 0.05$ ), 感染4 wk后血清ALT接近正常(表1)。以上数据表明腺病毒在肝脏内短暂大量的表达也可促使轻度的肝细胞破坏。对大鼠HA、LN的影响结果如表2。

### 3 讨论

肝纤维化是各种慢性肝病的共同病理基础, 是肝硬化的必经阶段, 其实质是细胞外基质(extra-cellular matrix ECM)成份的改变和过度沉积<sup>[13]</sup>。肝纤维化是一个慢性、渐进性的过程, 持续发

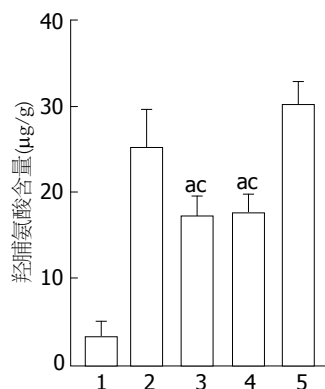


图 3 肝组织羟脯氨酸含量的测定。1: 正常组; 2: 模型组; 3: 治疗组A; 4: 治疗组B; 5: 阴性对照组。\* $P < 0.05$  vs 模型组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 阴性对照组。

展可导致肝小叶结构改建, 假小叶形成, 导致肝硬化发生。肝硬化被认为是一种不可逆转的肝脏疾病, 唯一有效的治疗措施是肝移植, 但因费用昂贵、捐赠器官数量有限等限制其广泛应用。有文献报道<sup>[14-20]</sup>几种途径已经成功预防、阻止动物模型肝纤维化的进展, 然而, 在未发展至肝硬化之前, 肝纤维化临床症状不典型, 往往被忽视。因此, 如何逆转肝硬化已经成为一个关键性问题。

肝纤维化时, ECM的质和量均发生显著变化, 以胶原为主的ECM成份可较正常肝增加3-8倍, ECM的各型胶原之间、糖蛋白之间及蛋白聚糖之间的比值异常, 就胶原而言, III型胶原在纤维化早期即明显增多, 但随纤维化进展, 可渐被I型胶原替代, 至肝硬化时I型胶原可占胶原量的60%-70%(正常肝两者各占40%-45%)<sup>[21]</sup>。几种机制调控着ECM的合成与降解, 然而, 基质金属蛋白酶家族在ECM的降解过程中起主要作用, 目前的研究表明, ECM在降解开始起主要作用的为基质金属蛋白酶家族中的间质胶原酶类。Iredale<sup>[5]</sup>发表的一篇评论性文章“划时代的进展? MMP-8与肝纤维化基因治疗”中, 对MMP-8治疗肝硬化给与了极高的评价, 认为这项研究将很快从实验室走进临床!

在肝硬化动物模型的制作过程中, 0.03%TAA诱导饲喂5 wk, 然后0.04%的TAA诱导饲喂5 wk, 大约16 wk后制成稳定的肝硬化模型。TAA诱导慢性肝损伤的机制是影响蛋白合成及肝细胞中酶的代谢。在造模结束2 mo后, 病理结果显示模型组大鼠肝脏假小叶仍明显, 较2 mo前无明显减轻(图3), 可见此方法诱导的肝硬化模型在停药2 mo后几乎没有自发性逆转, 持

续时间长, 其诱导肝硬化的机制与人类肝硬化形成的机制类似, 可作为一种与临床患者肝硬化相似的模型进行治疗、研究。

用腺病毒作为载体治疗肝硬化的大鼠, 其毒性大小成为我们考虑的问题<sup>[22]</sup>, 包括对机体产生的免疫反应, 肝硬化大鼠能耐受多大剂量腺病毒的毒性? 最近的资料报道<sup>[23-26]</sup>, 在使用腺病毒载体作为基因治疗的实验中, 病毒剂量达到 $10^{12}$  病毒颗粒/公斤大鼠体质量(VP/kg)对肝硬化大鼠毒性较高, 而肝硬化大鼠能够耐受 $10^{11}$  VP/kg 的剂量, 我们在实验中选择了单一剂量( $3 \times 10^{11}$  VP/kg)进行了大鼠肝硬化的治疗, 在治疗1 mo期间内未发现由腺病毒导致的大鼠死亡, 因此, 腺病毒载体作为基因载体运用于大鼠基因治疗将有可能是有效和安全的。动物实验结果显示Ad-C-MMP8和Ad-CH-tMMP8两治疗组在体内都能够有效的降解胶原, 表现为肝细胞变形、水肿好转, 胶原纤维条索较细, 肝纤维化程度明显减轻, 同时伴有肝脏羟脯氨酸含量的下降和肝细胞再生。

腺病毒载体是继逆转录病毒载体后发展起来且发展较快的又一病毒载体。其主要特点是易通过基因操作缺失关键的调节元件, 可携带外源基因的量(约7.5 kb)、不整合进入宿主DNA(无遗传毒性)、可感染处于任何增值周期的细胞、宿主细胞范围广泛, 感染效率高。而且他容易制取、纯化、浓缩获得高滴度病毒液, 但大剂量应用时有细胞毒性, 也具有免疫原性, 重复应用因中和抗体产生而失去疗效, 再加上肝硬化患者大多具有肝功能异常, 如果再大剂量应用具有细胞毒性的腺病毒, 则可能加重肝功能损伤, 有可能向重症肝炎发展, 重复应用时疗效减低, 但肝损伤加重。因此, 大剂量重组腺病毒治疗肝硬化具有一定的危险性。基于以上腺病毒的缺点, 我们在腺病毒载体的基础上导入了HBV载体<sup>[27,28]</sup>, HBV载体是将HBV进行了改造, 即删除了所有HBV蛋白的表达, 强化了表达外源基因的启动子, 能够表达外源基因。由于HBV载体不再表达任何结构蛋白, 根据目前对HBV致病机制的认识, 除非所表达的目的基因具有毒性, 否则他将不具有致病性。把HBV改造成载体用于HBV相关的肝病基因治疗, 与其他病毒载体相比, 具有明显的优势, 他可利用乙型肝炎患者这个天然廉价的包装细胞, 携带的目的基因在体内将有嗜肝导向性及放大效应, 有

可能从根本上克服上述病毒载体的缺陷。

我们实验中发现胶原酶 II 在减轻肝纤维化的同时没有出现明显的炎症反应, 表明胶原酶 II 体内的大量表达不会促使严重的肝脏损害。在评价肝纤维化程度减轻的指标中, 羟脯氨酸的测定结果在反应肝纤维化减轻的程度没有病理学观察到的那样显著, 人们先前研究中同样报道形态测定分析和定量羟脯氨酸含量分析之间存在着差异<sup>[29-31]</sup>, 一个可能的原因是由于实验时间比较短, 一些降解的胶原片段沉积在肝脏内没有被吸收, 其仍然能够被作为羟脯氨酸测出。

另外, 我们同时检测到治疗组血清ALT短暂的升高, 血清ALT的升高在2 wk时比较明显, 到治疗4 wk结束时血清ALT水平恢复正常。因此, 腺病毒的过度表达也导致了肝细胞轻度的破坏, 表现为血清ALT水平短暂的升高, 其具体机制尚未探讨。

## 4 参考文献

- 1 Ellis EL, Mann DA. Clinical evidence for the regression of liver fibrosis. *J Hepatol* 2012; 56: 1171-1180 [PMID: 22245903 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.09.024]
- 2 Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012; 379: 1245-1255 [PMID: 22353262 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0]
- 3 Eng FJ, Friedman SL. Fibrogenesis I. New insights into hepatic stellate cell activation: the simple becomes complex. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G7-G11 [PMID: 10898741]
- 4 Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodeling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 221-233 [PMID: 17318226 DOI: 10.1038/nrm2125]
- 5 Iredale JP. A cut above the rest? MMP-8 and liver fibrosis gene therapy. *Gastroenterology* 2004; 126: 1199-1201 [PMID: 15057760 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.01.060]
- 6 Siller-López F, Sandoval A, Salgado S, Salazar A, Bueno M, García J, Vera J, Gálvez J, Hernández I, Ramos M, Aguilar-Cordova E, Armendariz-Borunda J. Treatment with human metalloproteinase-8 gene delivery ameliorates experimental rat liver cirrhosis. *Gastroenterology* 2004; 126: 1122-1133; discussion 949 [PMID: 15057751 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.12.045]
- 7 Protzer U, Nassal M, Chiang PW, Kirschfink M, Schaller H. Interferon gene transfer by a hepatitis B virus vector efficiently suppresses wild-type virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 10818-10823 [PMID: 10485909 DOI: 10.1073/pnas.96.19.10818]
- 8 刘金霞, 孙殿兴, 曹治宸. HGF/c-Met系统在大鼠肝纤维化转归中作用及其机制. *中国老年学杂志* 2009; 29: 656-659
- 9 Rojkind M, González E. An improved method for determining specific radioactivities of proline-14C and hydroxyproline-14C in collagen and in noncol-

## ■同行评价

本研究应用能够表达胶原酶 II 的腺病毒-乙型肝炎病毒嵌合载体对硫代乙酰胺诱导大鼠肝硬化模型进行了治疗研究。课题新颖, 设计合理, 值得进一步研究和探索。

- lagenous proteins. *Anal Biochem* 1974; 57: 1-7 [PMID: 4817495 DOI: 10.1016/0003-2697(74)90043-8]
- 10 Lukivskaya O, Patsenker E, Lis R, Buko VU. Inhibition of inducible nitric oxide synthase activity prevents liver recovery in rat thioacetamide-induced fibrosis reversal. *Eur J Clin Invest* 2008; 38: 317-325 [PMID: 18380797 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2008.01941.x]
  - 11 Gu K, Zhao JD, Ren ZG, Ma NY, Lai ST, Wang J, Liu J, Jiang GL. A natural process of cirrhosis resolution and deceleration of liver regeneration after thioacetamide withdrawal in a rat model. *Mol Biol Rep* 2011; 38: 1687-1696 [PMID: 20931291 DOI: 10.1007/s11033-010-0281-1]
  - 12 Iimuro Y, Nishio T, Morimoto T, Nitta T, Stefanovic B, Choi SK, Brenner DA, Yamaoka Y. Delivery of matrix metalloproteinase-1 attenuates established liver fibrosis in the rat. *Gastroenterology* 2003; 124: 445-458 [PMID: 12557150 DOI: 10.1053/gast.2003.50063]
  - 13 Moore CS, Crocker SJ. An alternate perspective on the roles of TIMPs and MMPs in pathology. *Am J Pathol* 2012; 180: 12-16 [PMID: 22033229 DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.09.008]
  - 14 Ueno H, Sakamoto T, Nakamura T, Qi Z, Astuchi N, Takeshita A, Shimizu K, Ohashi H. A soluble transforming growth factor beta receptor expressed in muscle prevents liver fibrogenesis and dysfunction in rats. *Hum Gene Ther* 2000; 11: 33-42 [PMID: 10646637]
  - 15 Zhu J, Wu J, Frizell E, Liu SL, Bashey R, Rubin R, Norton P, Zern MA. Rapamycin inhibits hepatic stellate cell proliferation in vitro and limits fibrogenesis in an in vivo model of liver fibrosis. *Gastroenterology* 1999; 117: 1198-1204 [PMID: 10535884]
  - 16 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: 10.1016/S0016-5085(99)70406-3]
  - 17 Masunaga H, Fujise N, Shiota A, Ogawa H, Sato Y, Imai E, Yasuda H, Higashio K. Preventive effects of the deleted form of hepatocyte growth factor against various liver injuries. *Eur J Pharmacol* 1998; 342: 267-279 [PMID: 9548396 DOI: 10.1016/S0014-2999(97)01485-4]
  - 18 Murata T, Arai S, Nakamura T, Mori A, Kaido T, Furuyama H, Furumoto K, Nakao T, Isobe N, Imamura M. Inhibitory effect of Y-27632, a ROCK inhibitor, on progression of rat liver fibrosis in association with inactivation of hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2001; 35: 474-481 [PMID: 11682031 DOI: 10.1016/S0168-8278(01)00169-6]
  - 19 Tada S, Iwamoto H, Nakamura M, Sugimoto R, Enjoji M, Nakashima Y, Nawata H. A selective ROCK inhibitor, Y27632, prevents dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. *J Hepatol* 2001; 34: 529-536 [PMID: 11394652 DOI: 10.1016/S0168-8278(00)00059-3]
  - 20 Yasuda M, Shimizu I, Shiba M, Ito S. Suppressive effects of estradiol on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats. *Hepatology* 1999; 29: 719-727 [PMID: 10051473 DOI: 10.1002/hep.510290307]
  - 21 Neubauer K, Saile B, Ramadori G. Liver fibrosis and altered matrix synthesis. *Can J Gastroenterol* 2001; 15: 187-193 [PMID: 11264572]
  - 22 Descamps D, Benihoud K. Two key challenges for effective adenovirus-mediated liver gene therapy: innate immune responses and hepatocyte-specific transduction. *Curr Gene Ther* 2009; 9: 115-127 [PMID: 19355869 DOI: 10.2174/156652309787909544]
  - 23 Salgado S, Garcia J, Vera J, Siller F, Bueno M, Miranda A, Segura A, Grijalva G, Segura J, Orozco H, Hernandez-Pando R, Fafutis M, Aguilar LK, Aguilar-Cordova E, Armendariz-Borunda J. Liver cirrhosis is reverted by urokinase-type plasminogen activator gene therapy. *Mol Ther* 2000; 2: 545-551 [PMID: 11124055 DOI: 10.1006/mthe.2000.0210]
  - 24 Hecht N, Pappo O, Shouval D, Rose-John S, Galun E, Axelrod JH. Hyper-IL-6 gene therapy reverses fulminant hepatic failure. *Mol Ther* 2001; 3: 683-687 [PMID: 11356073 DOI: 10.1006/mthe.2001.0313]
  - 25 Nakatani T, Kuriyama S, Tominaga K, Tsujimoto T, Mitoro A, Yamazaki M, Tsujinoue H, Yoshiji H, Nagao S, Fukui H. Assessment of efficiency and safety of adenovirus mediated gene transfer into normal and damaged murine livers. *Gut* 2000; 47: 563-570 [PMID: 10986218 DOI: 10.1136/gut.47.4.563]
  - 26 Garcia-Bañuelos J, Siller-Lopez F, Miranda A, Aguilar LK, Aguilar-Cordova E, Armendariz-Borunda J. Cirrhotic rat livers with extensive fibrosis can be safely transduced with clinical-grade adenoviral vectors. Evidence of cirrhosis reversion. *Gene Ther* 2002; 9: 127-134 [PMID: 11857071 DOI: 10.1038/sj.gt.3301647]
  - 27 Untergasser A, Protzer U. Hepatitis B virus-based vectors allow the elimination of viral gene expression and the insertion of foreign promoters. *Hum Gene Ther* 2004; 15: 203-210 [PMID: 14975192 DOI: 10.1089/104303404772680001]
  - 28 Ueki T, Kaneda Y, Tsutsui H, Nakanishi K, Sawa Y, Morishita R, Matsumoto K, Nakamura T, Takahashi H, Okamoto E, Fujimoto J. Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats. *Nat Med* 1999; 5: 226-230 [PMID: 9930873]
  - 29 孙殿兴, 胡大荣, 邬光惠, 胡学玲, 李娟, 范公忍. 重组逆转录病毒载体携带乙型肝炎病毒载体的构建与表达. *中华实验与临床病毒学杂志* 2002; 12: 162-165
  - 30 Bickel M, Baringhaus KH, Gerl M, Günzler V, Kanta J, Schmidts L, Stapf M, Tschank G, Weidmann K, Werner U. Selective inhibition of hepatic collagen accumulation in experimental liver fibrosis in rats by a new prolyl 4-hydroxylase inhibitor. *Hepatology* 1998; 28: 404-411 [PMID: 9696004 DOI: 10.1002/hep.510280217]
  - 31 Sakaida I, Hironaka K, Uchida K, Suzuki C, Kayano K, Okita K. Fibrosis accelerates the development of enzyme-altered lesions in the rat liver. *Hepatology* 1998; 28: 1247-1252 [PMID: 9794908 DOI: 10.1002/hep.510280512]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 超早期肠内营养对重度急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障功能的影响

林浩, 陈杰, 刘立玺, 胡兆鹏, 朱方擎, 李兴, 龚敏, 文萍, 文剑波

林浩, 刘立玺, 朱方擎, 李兴, 龚敏, 文萍, 文剑波, 南方医科大学  
附属萍乡医院消化内科 江西省萍乡市 337000  
陈杰, 南方医科大学附属萍乡医院药剂科 江西省萍乡市  
337000

胡兆鹏, 南方医科大学附属萍乡医院病理科 江西省萍乡市  
337000

林浩, 在读硕士, 主要从事急性胰腺炎营养支持方面的研究。

江西省科技支撑计划基金资助项目, No. 2009BSB08000

作者贡献分布: 此课题设计由文剑波与林浩设计; 研究过程由  
林浩、陈杰、胡兆鹏、李兴、龚敏及文萍完成; 数据分析由林  
浩、陈杰及朱方擎完成; 论文撰写由林浩完成; 文章修改和审阅  
由文剑波、陈杰及刘立玺完成。

通讯作者: 文剑波, 教授, 337000, 江西省萍乡市安源区广场路  
128号, 南方医科大学附属萍乡医院。wenjbpx@126.com

收稿日期: 2014-01-13 修回日期: 2014-03-20

接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## Early enteral nutrition improves intestinal barrier function in rats with severe acute pancreatitis

Hao Lin, Jie Chen, Li-Xi Liu, Zhao-Peng Hu,  
Fang-Qing Zhu, Xing Li, Min Gong, Ping Wen,  
Jian-Bo Wen

Hao Lin, Li-Xi Liu, Fang-Qing Zhu, Xing Li, Min Gong,  
Ping Wen, Jian-Bo Wen, Department of Gastroenterology,  
the Affiliated Pingxiang Hospital of Southern Medical Uni-  
versity, Pingxiang 337000, Jiangxi Province, China

Jie Chen, Department of Pharmacology, the Affiliated  
Pingxiang Hospital of Southern Medical University, Pingxi-  
ang 337000, Jiangxi Province, China

Zhao-Peng Hu, Department of Pathology, the Affiliated  
Pingxiang Hospital of Southern Medical University, Pingxi-  
ang 337000, Jiangxi Province, China

Supported by: Projects of Jiangxi Science and Technology  
Support Plan, No. 2009BSB08000

Correspondence to: Jian-Bo Wen, Professor, Department  
of Gastroenterology, the Affiliated Pingxiang Hospital of  
Southern Medical University, 128 Guangchang Road, Any-  
uan District, Pingxiang 337000, Jiangxi Province,  
China. wenjbpx@126.com

Received: 2014-01-13 Revised: 2014-03-20

Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of early enteral nutrition on the intestinal barrier function in rats with severe acute pancreatitis (SAP).

**METHODS:** Sixty male Sprague-Dawley rats

were randomly allocated into 4 groups: a sham-operation group ( $n = 15$ ), an SAP group (control group,  $n = 15$ ), a parenteral nutrition group (PN group,  $n = 15$ ) and an enteral nutrition group (EN group,  $n = 15$ ). SAP was induced by retrograde injection of 5% sodium taurocholate into the biliopancreatic duct. Rats in the sham-operation group only underwent laparotomy without induction of SAP. Six hours after surgery, rats in the former two groups were given normal saline, while those in the latter two groups were administrated with EN and PN, respectively. All rats were sacrificed 48 h after operation. Serum levels of amylase (AMS), endotoxin and diamine oxidase (DAO) were detected. Pathological changes of the pancreas were observed by light microscopy. The incidence of pancreatic abscess was calculated. The sections of terminal ileum were obtained to measure the height of villi and the thickness of the mucosa.

**RESULTS:** Plasma levels of endotoxin and DAO were significantly lower in the EN group than in the SAP group and PN group (endotoxin:  $0.247 \text{ EU/mL} \pm 0.069 \text{ EU/mL}$  vs  $0.545 \text{ EU/mL} \pm 0.095 \text{ EU/mL}$ ,  $0.333 \text{ EU/mL} \pm 0.046 \text{ EU/mL}$ ;  $P < 0.05$  for the PN group,  $P < 0.01$  for the SAP group; DAO:  $0.91 \text{ U/mL} \pm 0.13 \text{ U/mL}$  vs  $1.52 \text{ U/mL} \pm 0.09 \text{ U/mL}$ ,  $1.17 \text{ U/mL} \pm 0.10 \text{ U/mL}$ ;  $P < 0.01$  for both). There were no significant differences in plasma amylase (AMS) between the SAP group, EN group and PN group ( $10171 \text{ U/L} \pm 665.77 \text{ U/L}$  vs  $9428.2 \text{ U/L} \pm 1076.61 \text{ U/L}$  vs  $10533 \text{ U/L} \pm 1669.13 \text{ U/L}$ ). The histological score of the injured pancreas in the EN group was markedly decreased in comparison with those in the SAP group and PN group ( $8.08 \pm 1.24$  vs  $14.50 \pm 1.05$ ,  $10.44 \pm 1.01$ ;  $P < 0.01$  for both). The rate of pancreatic abscess in the three groups was not statistically different (SAP group: 9/15, EN group: 2/15, PN group: 6/15). Compared with the SAP group, the thickness of the mucosa and height of villi were improved obviously in both the EN group and PN group (thickness of mucosa:  $226.67 \mu\text{m} \pm 20.84 \mu\text{m}$  vs  $294.79 \mu\text{m} \pm 20.49 \mu\text{m}$ ,  $306.11 \mu\text{m} \pm 24.34 \mu\text{m}$ ;  $P < 0.01$

## ■背景资料

重度急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是临床上常见的急危重症,死亡率高达36%-50%。该病发病机制复杂,其中肠黏膜屏障功能损伤后可出现肠道细菌和内毒素移位,引发机体感染,形成“二次打击”,从而加重全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome)和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome)的发生发展。这是导致SAP患者死亡的主要原因之一。

## ■同行评议者

谭学瑞, 教授, 汕头大学医学院第一附属医院内科

## ■ 研究前沿

众多研究表明早期肠内营养可有效保护肠黏膜屏障,减少肠源性细菌和内毒素移位,从而改善SAP患者预后,但是实施早期肠内营养的具体时机,目前国内外学界尚无定论。

for both; height of villi:  $137.33 \mu\text{m} \pm 9.38 \mu\text{m}$  vs  $194.54 \mu\text{m} \pm 11.96 \mu\text{m}$ ,  $201.72 \mu\text{m} \pm 10.60 \mu\text{m}$ ;  $P < 0.01$  for both), although there was no significant difference between the EN group and PN group.

**CONCLUSION:** Early enteral nutrition can significantly improve the gut barrier function and ameliorate intestinal endotoxemia in rats with SAP.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Severe acute pancreatitis; Early enteral nutrition; Intestinal barrier dysfunction; Endotoxin translocation

Lin H, Chen J, Lin LX, Hu ZP, Zhu FQ, Li X, Gong M, Wen P, Wen JB. Early enteral nutrition improves intestinal barrier function in rats with severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1785-1792 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1785.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1785>

## 摘要

**目的:** 探讨超早期肠内营养(enteral nutrition, EN)对重度急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)大鼠肠黏膜屏障功能的影响。

**方法:** 将60只♂SD大鼠分为假手术组(Sham组15只)、SAP空白对照组(SAP组15只)、肠内营养组(EN组15只)、肠外营养组(parenteral nutrition, PN组15只)。SAP大鼠模型制作采用逆行胆胰管注射5%牛磺胆酸钠法,假手术组以生理盐水代替。假手术组与SAP空白对照组在术后6 h给予生理盐水,其他2组在术后6 h分别给予肠内、肠外营养液支持治疗。所有组均在造模后第48小时处死大鼠。处死前抽取外周血检测血浆淀粉酶、内毒素、二胺氧化酶的含量。各组取胰腺组织分别计算胰腺病理评分和胰腺脓肿发生率;各组取末端回肠组织常规光镜观察回肠末端黏膜形态学变化,测量黏膜厚度和绒毛高度。

**结果:** SAP空白对照组大鼠血浆内毒素和二胺氧化酶水平分别为 $0.545 \text{ EU/mL} \pm 0.095 \text{ EU/mL}$ 、 $1.52 \text{ U/mL} \pm 0.09 \text{ U/mL}$ , PN组大鼠二者血浆水平分别下降为 $0.333 \text{ EU/mL} \pm 0.046 \text{ EU/mL}$ 、 $1.17 \text{ U/mL} \pm 0.10 \text{ U/mL}$ , EN组大鼠则继续下降至 $0.247 \text{ EU/mL} \pm 0.069 \text{ EU/mL}$ 、 $0.91 \text{ EU/mL} \pm 0.13 \text{ EU/mL}$ ,与SAP空白对照组比较,EN组内毒素水平( $P < 0.01$ ),与PN组比较,EN组内毒素水平( $P < 0.05$ );与前两组比较,EN组二胺氧化酶水平( $P < 0.01$ )。SAP空

白对照组、EN组、PN组血浆淀粉酶水平分别为 $10171 \text{ U/L} \pm 665.77 \text{ U/L}$ 、 $9428.2 \text{ U/L} \pm 1076.61 \text{ U/L}$ 、 $10533 \text{ U/L} \pm 1669.13 \text{ U/L}$ ,三组间比较无显著差异。胰腺病理评分:SAP空白对照组 $14.50 \pm 1.05$ 、PN组 $10.44 \pm 1.01$ , EN组 $8.08 \pm 1.24$ ,与前两组比较,EN组有显著差异( $P < 0.01$ );胰腺脓肿发生率:SAP空白对照组9/15、PN组6/15、EN组2/15,三组比较无显著差异。末端回肠黏膜病理分析显示:SAP空白对照组大鼠末端回肠黏膜厚度和绒毛高度分别为 $226.67 \mu\text{m} \pm 20.84 \mu\text{m}$ 、 $137.33 \mu\text{m} \pm 9.38 \mu\text{m}$ , EN组大鼠 $294.79 \mu\text{m} \pm 20.49 \mu\text{m}$ 、 $194.54 \mu\text{m} \pm 11.96 \mu\text{m}$ , PN组大鼠 $306.11 \mu\text{m} \pm 24.34 \mu\text{m}$ 、 $201.72 \mu\text{m} \pm 10.60 \mu\text{m}$ ,与SAP空白对照组相比,EN组和PN组大鼠回肠黏膜厚度及绒毛高度明显改善( $P < 0.01$ ),但EN组和PN组比较未见显著差异。

**结论:** 超早期肠内营养能改善SAP大鼠肠道屏障功能,减轻肠源性内毒素血症。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 重度急性胰腺炎; 早期肠内营养; 肠道屏障损害; 内毒素移位

**核心提示:** 本研究利用重度急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)动物模型,选择超早期(发病后6 h)给予肠内营养(enteral nutrition, EN),发现超早期EN能改善SAP大鼠肠道屏障功能,减轻肠源性内毒素血症,为早期EN在SAP中的临床应用提供理论基础和实验依据。

林浩, 陈杰, 刘立玺, 胡兆鹏, 朱方擎, 李兴, 龚敏, 文萍, 文剑波. 超早期肠内营养对重度急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障功能的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(13): 1785-1792 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1785.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1785>

## 0 引言

重度急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是临床常见的危重急症,病死率约36%-50%,如后期合并感染则病死率极高<sup>[1]</sup>。SAP发病机制复杂,其中肠黏膜屏障功能受损时,可出现肠道细菌和内毒素移位,发生肠源性内毒素血症,导致胰腺组织及其他远处器官继发感染,这促进了全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)及多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)的发生,而SIRS和MODS的发展又加重了肠黏

膜屏障功能的破坏, 形成恶性循环, 因此肠道是控制SAP发生发展的“中心器官”之一<sup>[2-4]</sup>。一系列的研究表明: SAP发病后数小时即出现肠道屏障功能损害的迹象, 比如肠上皮细胞的凋亡、肠道通透性增加等<sup>[5-7]</sup>。而近年来国内外研究显示早期肠内营养(enteral nutrition, EN)能改善SAP的肠道屏障功能, 从而提高预后水平<sup>[18-17]</sup>。但其给予的具体时机目前尚无定论。因此, 本研究选择SAP超早期(发病后6 h)给予EN, 探讨其对SAP大鼠肠道屏障功能的影响, 为早期EN在SAP中的临床应用提供理论基础和实验依据。

## 1 材料和方法

1.1 材料 ♂SD大鼠(上海斯莱克实验动物有限公司); 百普素(荷兰纽迪希亚公司); 8.5%乐凡命、20%脂肪乳注射液、安达美、水乐维他、维他利匹特(华瑞制药有限公司); 50%葡萄糖注射液(北京双鹤药业有限公司); 戊巴比妥钠(南方医科大学试剂中心); 内毒素检测试剂盒(厦门市鲎试剂实验厂有限公司); 牛磺胆酸钠、二胺氧化酶标准品、戊二胺、辣根过氧化物酶、邻联二茴香胺(美国Sigma公司); 结合式阻血夹(新华手术器械有限公司); 输液用连通管(德清县新德意医疗器械有限公司); 儿童头皮针(浙江康德莱医疗器械股份有限公司); 微量注射泵(浙江史密斯医学仪器有限公司); AU2700全自动生化分析仪(日本奥林巴斯公司); 台式高速低温离心机(Beckman公司); UV754分光光度计(上海分析仪器厂); 光学显微镜和测微尺(日本NIKON公司); 自制大鼠固定器。

### 1.2 方法

1.2.1 动物分组: ♂SD大鼠60只, 体质量250-300 g, 分为4组: 假手术组(Sham组15只)、SAP空白对照组(SAP组15只)、肠外营养组(parenteral nutrition, PN组15只)、肠内营养组(EN组15只)。SD大鼠适应性喂养1 wk后进行实验。

1.2.2 SAP模型的制备: 大鼠术前禁食12 h, 但不禁水, 以2%戊巴比妥钠(每100 g体质量0.35 mL)腹腔注射麻醉后, 无菌条件下剖腹, 提起十二指肠, 以结合式阻血夹夹住肝门部胆胰管, 在近十二指肠胆胰管处用1 mL注射器穿刺, 逆行注射5%牛磺胆酸钠(每100 g体质量0.1 mL), 注射后拔除穿刺针, 以结合式阻血夹夹住近十二指肠处胆胰管, 见胰腺组织充血、水肿, 被膜下有散在出血点, 标志造模成功。假手术组以同体积生理盐水代替牛磺胆酸钠逆行注射。术后各组

大鼠给予背部皮下注射生理盐水(每100 g体质量2 mL), 并自由饮水。假手术组与SAP空白对照组于造模后6 h给予生理盐水, EN组与PN组于造模后6 h分别给予EN、PN。各组大鼠于造模后48 h处死。

1.2.3 喂养途径的建立: (1)EN途径建立: 经胃幽门区, 置入已用生理盐水充盈的输液用连通管, 远端位于空肠屈氏韧带以下5 cm左右, 在胃部荷包缝合固定, 经皮下隧道将硅胶管自左侧腹部引出, 固定于左侧腹部皮肤, 连接于微量输液泵, 并将大鼠放入自制固定器内生活。假手术组与SAP空白对照组亦采用此方法, 但以生理盐水代替EN制剂; (2)肠外营养途径建立: PN组大鼠在胃幽门区和左侧腹壁制作与EN组相同的创面, 但不置管。术后放入自制固定器后用75%乙醇擦拭暴露尾静脉, 用已连接于输液用连通管的5.5号儿童头皮针行尾静脉穿刺, 见回血后轻推入少许生理盐水, 并连接于微量输液泵, 穿刺处用医用胶布固定。

1.2.4 营养液配置及给予: (1)肠内营养液(EN)配置: 将125 g百普素用温开水溶解成500 mL的溶液; (2)肠外营养液(TPN)配置: 每100 mL营养液用8.5%乐凡命50 mL, 20%脂肪乳注射液18.8 mL, 50%葡萄糖溶液30 mL及安达美、水乐维他、维他利匹特各0.4 mL配置。两种营养液每100 mL所含非蛋白热卡及含氮量基本一致; (3)营养液给予: EN组在造模成功后4 h给予2 mL生理盐水冲洗肠管, 后用微量输液泵肠内间歇推注营养液(每次推注5 mL, 速度30 mL/h, 1 d推注7次, 总热卡为35 kcal, 两次推注的时间间隔为2 h)。肠外营养组给予微量输液泵均匀推注营养液(每次推注12 mL, 速度4 mL/h, 1 d推注3次, 总热卡约36 kcal, 两次推注的时间间隔为6 h, 含推注时间3 h)。各组的总液体摄入量及总热卡量大致相等。假手术组和SAP空白对照组以生理盐水代替EN制剂, 其给液速度、剂量、频率与EN组相同。

1.2.5 检测指标和检测: (1)血浆指标的检测: 各组大鼠均在造模后48 h心脏穿刺采血后处死。使用内毒素检测试剂盒, 采用动态浊度法, 对血浆样品进行内毒素检测; 采用黎君友等<sup>[18]</sup>改良的分光光度法检测血浆中二胺氧化酶(DAO)活性; 使用AU2700全自动生化分析仪(日本奥林巴斯公司)测量血清淀粉酶浓度; (2)病理指标的检测: 各组大鼠切取胰腺及末端回肠, 用生理盐水冲洗后, 经固定、包埋、切片、染色等处理。胰腺病理学评分按照国际改良的Schmidt标准法联合

### ■相关报道

近年来研究发现SAP发病后数小时即可出现肠道黏膜屏障功能的损害引起肠源性细菌和内毒素的移位。



## ■ 创新盘点

目前尚无SAP起病后6 h即给予肠内营养并观察其对肠道黏膜屏障功能影响的研究。

表 1 胰腺病理评分标准表

组织病变	评分项目和积分				
	0	1	2	3	4
水肿	无	区域性小叶间隔增宽	弥漫性小叶间隔增宽	2+腺泡间隔增宽	3+细胞间隔增宽
坏死	无	腺管周围实质破坏	小叶缺失<20%	小叶缺失20%–50%	小叶缺失>50%
出血	无	胰腺实质出血<20%	实质出血20%–50%	实质出血50%–75%	实质出血>75%
炎细胞浸润	无	白细胞2–10个/HP	11–20个/HP	21–30个/HP	>30个/HP或出现微脓肿

表 2 各组大鼠血清淀粉酶、内毒素、二胺氧化酶水平 (mean ± SD)

分组	淀粉酶(U/L)	内毒素(EU/mL)	二胺氧化酶(U/mL)
假手术组	2193.33 ± 202.96 <sup>d</sup>	0.108 ± 0.025 <sup>d</sup>	0.45 ± 0.09 <sup>d</sup>
肠内营养组	9428.2 ± 1076.61 <sup>b</sup>	0.247 ± 0.069 <sup>b</sup>	0.91 ± 0.13 <sup>b</sup>
肠外营养组	10533 ± 1669.13 <sup>b</sup>	0.333 ± 0.046 <sup>bc</sup>	1.17 ± 0.10 <sup>bd</sup>
SAP空白对照组	10171 ± 665.77 <sup>b</sup>	0.545 ± 0.095 <sup>bd</sup>	1.52 ± 0.09 <sup>bd</sup>

<sup>b</sup> $P<0.01$  vs 假手术组; <sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 肠内营养组。

Rongione法<sup>[19,20]</sup>, 制定以下评分标准(表1)。光镜下取3张非连续切片各5个随机视野, 每个视野病理总分为各单项分之之和, 每张切片的病理评分为5视野分值的平均数, 三张切片的平均分为该大鼠的最终胰腺病理得分, 同时肉眼观察胰腺脓肿的发生率; 在常规光镜下, 观察末端回肠组织的形态学变化, 并采用目镜测微尺分别测定3张非连续切片各5个随机视野的黏膜厚度及绒毛高度, 3张切片的平均值为该大鼠的最终分值。

**统计学处理** 采用SPSS16.0统计软件包处理数据。计量数据采用mean ± SD表示, 多样本均数比较采用单因素方差分析, 均数间两两比较, 根据方差齐性分别采用LSD法、Bonferroni法或DunnettT3法、DunnettC法,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。多个样本率的两两比较采用卡方检验,  $P<0.007$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠术后一般情况** 建模后, SAP空白对照组、EN组和PN组大鼠均出现精神倦怠、少动、竖毛、泪腺分泌物增多等症状。假手术组大鼠术后同样出现类似症状, 但程度较轻, 术后6–8 h大鼠活动开始活跃。

**2.2 各组大鼠血浆内毒素水平检测值** 与假手术组相比, SAP空白对照组、EN组、PN组血浆内毒素水平均明显升高( $P<0.01$ ), 与SAP空白对照组相比, 经过营养支持治疗后的PN组与EN组大鼠血浆内毒素水平下降, 差异有统计学意义

( $P<0.01$ ), 其中EN组内毒素水平下降幅度高于PN组( $P<0.05$ )(表2)。

**2.3 各组大鼠血浆二胺氧化酶检测值** 与假手术组相比, 其余各组血浆二胺氧化酶水平均明显上升( $P<0.01$ )。与SAP空白对照组和PN组比较, EN组大鼠血浆二胺氧化酶水平表达降低( $P<0.01$ )(表2)。

**2.4 各组大鼠血清淀粉酶检测值** 假手术组大鼠血清淀粉酶水平在各组中最低( $P<0.01$ )。经过牛磺胆酸钠造模后, SAP空白对照组、EN组、PN组大鼠血清淀粉酶水平显著高于假手术组( $P<0.01$ ), 但SAP空白对照组、EN组、PN组组间未见明显差异(表2)。

**2.5 各组大鼠胰腺病理学分析** 假手术组大鼠胰腺病理切片偶可见局限性小叶间隔增宽, 无坏死、出血及血管周围或小叶内白细胞浸润; 其他各组胰腺病理切片均可见不同程度的上述表现, 并且严重程度在不同组内可有部分交叉。(1) 胰腺病理评分: 与假手术组相比, SAP空白对照组、EN组和PN组的病理评分明显升高, 差异具有统计学意义( $P<0.01$ ); 相比于SAP空白对照组, EN和PN组评分均明显降低( $P<0.01$ ), 同时EN组评分低于PN组, 差异有统计学意义( $P<0.01$ ); (2) 大鼠胰腺脓肿发生率: 假手术组(0/15)、SAP空白对照组(9/15)、EN组(2/15)、PN组(6/15); 与假手术组相比, SAP空白对照组大鼠胰腺脓肿发生率明显上升( $P<0.00313$ ), 但SAP空白对照组、EN组及PN组组间比较, 未见明显统计学差异(表

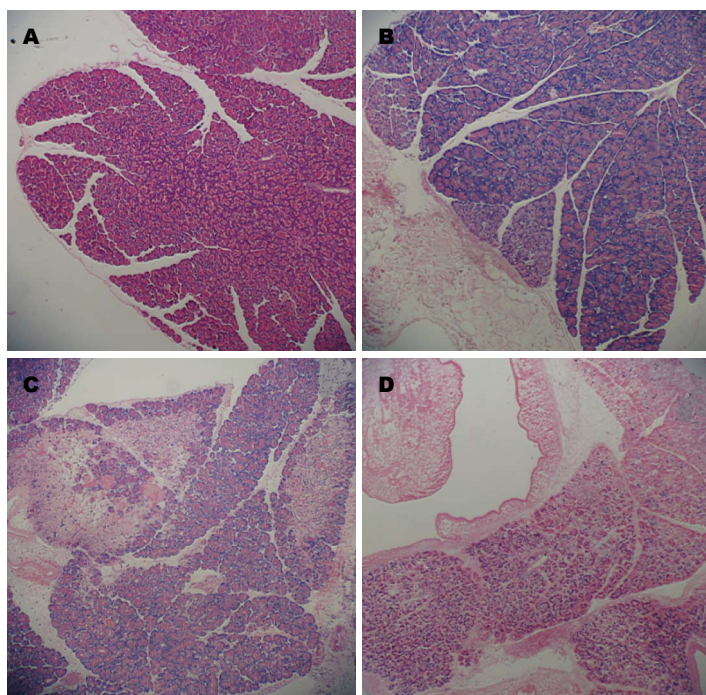


图 1 各组大鼠胰腺病理变化 (HE × 100). A: 假手术组; B: 肠内营养组; C: 肠外营养组; D: SAP空白对照组.

#### ■应用要点

本研究利用动物模型,有效解决了临床研究中患者起病时间的不准确、治疗的安全性、患者的依从性等限制因素,并证实超早期肠内营养能改善SAP大鼠肠道屏障功能,减轻肠源性内毒素血症,为进一步的临床研究提供依据.

表 3 各组大鼠胰腺病理评分和胰腺脓肿发生率

分组	Schmidt+Rongione评分法	胰腺脓肿发生率(%)
假手术组	0.70 ± 0.82 <sup>d</sup>	0.00
肠内营养组	8.08 ± 1.24 <sup>b</sup>	13.33
肠外营养组	10.44 ± 1.01 <sup>bd</sup>	40.00
SAP空白对照组	14.50 ± 1.05 <sup>bd</sup>	60.00 <sup>e</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.05$ , <sup>e</sup> $P < 0.00313$  vs 假手术组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 肠内营养组.

3, 图1).

2.6 各组大鼠末端回肠病理学分析 (1)与假手术组相比,其他各组大鼠的肠黏膜均有不同程度的损害,表现为肠黏膜结构破坏,淋巴细胞浸润增加等,其中黏膜厚度和绒毛高度均有明显下降( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); (2)与SAP空白对照组比较,EN组和PN组黏膜厚度和绒毛高度均优于SAP空白对照组( $P < 0.01$ ),但EN组和PN组比较无明显差异(表4, 图2).

### 3 讨论

SAP是消化系统疾病中常见的需要紧急入治疗的疾病之一.该病发病机制复杂,其中肠道屏障功能障碍作为SAP发生发展的“中心器官”之一,在SIRS及MODS的演变进展中扮演重要角色.一系列动物实验显示,SAP发病后3 h即可出现肠上皮细胞凋亡,6 h肠道通透性开始增高、在起病8-18 h内即有肠道细菌移位、感染<sup>[5-7]</sup>.在

临床研究发现,SAP患者的肠道通透性明显高于轻症患者,特别是合并有MODS或者最终死亡的患者<sup>[21]</sup>.因此,早期干预肠道屏障功能的继续损害,显得尤为重要.

近年来众多基础实验和临床研究均发现,早期EN能有效改善肠黏膜屏障功能,限制肠道细菌移位,有效减轻SIRS和MODS的发生发展,从而显著改善预后<sup>[8-17]</sup>.但是关于实施早期EN的具体时机国内外学界尚无定论,鉴于SAP发病后数小时即可能出现肠道屏障功能损害,故本研究选择SAP超早期(发病后6 h)给予EN,探讨其对SAP大鼠肠道屏障功能的影响,为早期EN在SAP中的临床应用提供理论基础和实验依据.

在本试验中我们首先观察到,与假手术组相比,各组重度急性胰腺炎大鼠血清淀粉酶水平明显升高,结合胰腺病理切片,可以证实SAP大鼠模型制作成功.

其次,正常运作的肠黏膜屏障可以阻止肠腔



### 同行评价

本文立意较新颖, 实验结果可信, 对临床工作有一定参考价值。

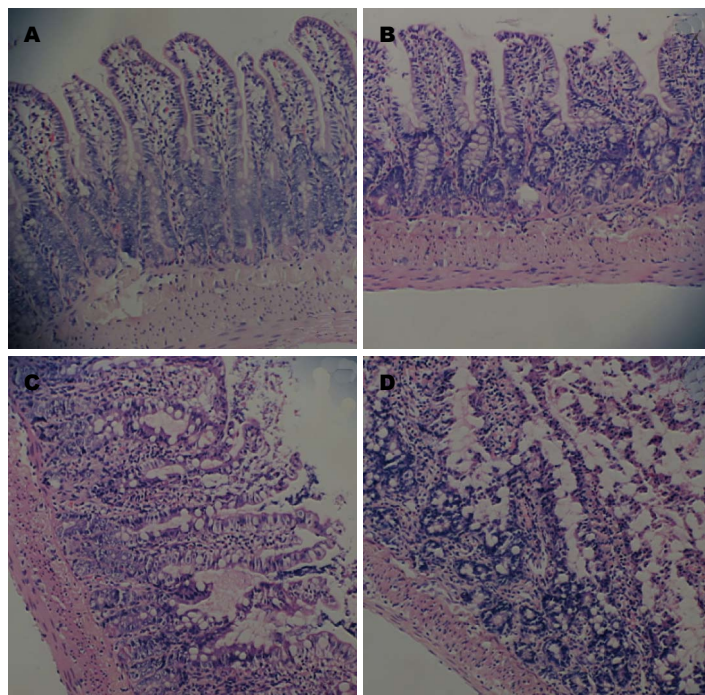


图 2 各组大鼠末端回肠病理变化(HE × 200). A: 假手术组; B: 肠内营养组; C: 肠外营养组; D: SAP空白对照组.

表 4 各组大鼠末端回肠黏膜厚度、绒毛高度(mean ± SD, μm)

分组	黏膜厚度	绒毛高度
假手术组	331.50 ± 19.94 <sup>c</sup>	238.50 ± 22.95 <sup>d</sup>
肠内营养组	294.79 ± 20.49 <sup>a</sup>	194.54 ± 11.96 <sup>b</sup>
肠外营养组	306.11 ± 24.34 <sup>a</sup>	201.72 ± 10.60 <sup>b</sup>
SAP空白对照组	226.67 ± 20.84 <sup>ad</sup>	137.33 ± 9.38 <sup>bd</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05, <sup>b</sup>*P*<0.01 vs 假手术组; <sup>c</sup>*P*<0.05, <sup>d</sup>*P*<0.01 vs 肠内营养组.

内有害的物质包括细菌及其内毒素等进入血循环<sup>[22,23]</sup>. 但是在SAP时, 肠黏膜通透性增加, 大分子的内毒素可以通过门静脉进入全身各组织器官, 参与SIRS、MODS的过程, 而肠源性内毒素血症又进一步增加肠道黏膜通透性, 形成恶性循环<sup>[24-26]</sup>. 有资料表明, 内毒素在发病早期即可移位至各器官, 在大多数SAP患者外周血中均可以测到内毒素, 且疾病严重程度与内毒素水平呈正相关<sup>[27,28]</sup>. 因此内毒素水平可作为评价SAP肠道屏障功能和疾病预后的有价值的指标. 本研究血浆内毒素水平检测显示, 各组大鼠血浆内毒素水平均较假手术组有明显上升, 故初步考虑SAP已经导致肠道黏膜通透性增加, 而组间比较发现, EN组大鼠内毒素水平最低, 从而推测EN组大鼠肠道屏障损害最小, 说明超早期EN可减少内毒素的吸收.

DAO存在于人类和所有哺乳动物小肠绒毛上皮细胞胞浆中, 具有高特异性、高活性、高

含量的特点. 当肠屏障功能障碍时, 绒毛上皮细胞破坏, 该酶释放入血, 导致血浆浓度增高, 因其在在外周血中活性稳定, 故可通过测定其在外周血中的变化, 评估肠道屏障破坏程度<sup>[29]</sup>. 通过检测血浆DAO, 我们发现, 与假手术组相比较, 其他各组大鼠血浆DAO浓度明显增加. 在SAP空白对照组、EN组和PN组的比较中, SAP空白对照组大鼠血DAO水平较EN组和PN组增高, 说明该组大鼠末端回肠绒毛上皮细胞破坏更加严重. EN组与PN组相比, 血DAO水平下降, 提示SAP发病后6 h给予EN能部分改善SAP重创下的肠道屏障. PN组与SAP空白对照组相比, 血中DAO水平亦低于后者, 提示在SAP高代谢的状态下, 及时给予营养支持的重要性, 结合三组实验结果, 可以推测在SAP治疗过程中, 营养支持及其途径的选择均是影响SAP预后的重要因素.

上述提及, 肠道是SAP发生发展的“中心器官”之一. 有研究发现, 多数的胰腺及其周围组织感染是由肠源性菌群移位引起<sup>[30,31]</sup>. 我们在观察SAP空白对照组、EN组、PN组大鼠胰腺组织时发现: SAP空白对照组中, 出现胰腺脓肿的大鼠只数明显多于EN组和PN组, 虽三组组间胰腺脓肿的发生率未见明显差异, 但根据胰腺脓肿发生的趋势, 结合本实验中所观察到的末端回肠组织病理学变化情况, 我们考虑SAP大鼠在发病后48 h内可能有细菌移位至胰腺, 并且肠道屏障功能的保存程度与胰腺感染的严重度呈一定的相关性.



总之, 超早期EN可能通过改善肠黏膜屏障功能, 减少肠源性内毒素移位, 从而减轻SIRS及MODS发生发展, 在动物实验中体现了其有效性和安全性, 为早期EN在SAP中的临床应用提供理论基础和实验依据。

#### 4 参考文献

- 1 中华医学会消化病分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013, 上海). 中华消化杂志 2013; 23: 217-222
- 2 Ammori BJ. Role of the gut in the course of severe acute pancreatitis. *Pancreas* 2003; 26: 122-129 [PMID: 12604908 DOI: 10.1097/00006676-200303000-00006]
- 3 Gloor B, Müller CA, Worni M, Martignoni ME, Uhl W, Büchler MW. Late mortality in patients with severe acute pancreatitis. *Br J Surg* 2001; 88: 975-979 [PMID: 11442530 DOI: 10.1046/j.0007-1323.2001.01813.x]
- 4 Ogawa M. Acute pancreatitis and cytokines: "second attack" by septic complication leads to organ failure. *Pancreas* 1998; 16: 312-315 [PMID: 9548672]
- 5 王兴鹏, 王冰娴, 吴恺, 徐选福. 细胞凋亡在急性坏死型胰腺炎早期肠黏膜上皮细胞死亡中的作用. 中华消化杂志 2001; 21: 267-270
- 6 Yasuda T, Takeyama Y, Ueda T, Shinzeki M, Sawa H, Nakajima T, Kuroda Y. Breakdown of intestinal mucosa via accelerated apoptosis increases intestinal permeability in experimental severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 2006; 135: 18-26 [PMID: 16603187 DOI: 10.1016/j.jss.2006.02.050]
- 7 Schwarz M, Thomsen J, Meyer H, Büchler MW, Beger HG. Frequency and time course of pancreatic and extrapancreatic bacterial infection in experimental acute pancreatitis in rats. *Surgery* 2000; 127: 427-432 [PMID: 10776434 DOI: 10.1067/msy.2000.104116]
- 8 秦环龙, 苏振东, 高琦, 林擎天. 早期肠内营养支持对犬重症急性胰腺炎肠道屏障功能的影响. 肠外与肠内营养 2002; 9: 31-33
- 9 陈洁, 王兴鹏, 刘丕, 吴恺, 于晓峰, 王根生. 持续性早期肠内营养对急性坏死型胰腺炎犬全身炎症反应的影响. 中华急诊医学杂志 2005; 14: 717-721
- 10 冯茂辉, 薛新波, 朱彤, 夏德生. 早期肠内营养对急性胰腺炎的肠源性细菌移位及免疫应答功能的影响. 武汉大学学报医学版 2004; 25: 51-53
- 11 Kotani J, Usami M, Nomura H, Iso A, Kasahara H, Kuroda Y, Oyanagi H, Saitoh Y. Enteral nutrition prevents bacterial translocation but does not improve survival during acute pancreatitis. *Arch Surg* 1999; 134: 287-292 [PMID: 10088570 DOI: 10.1001/archsurg.134.3.287]
- 12 Wang G, Sun B, Gao Y, Meng QH, Jiang HC. The effect of emodin-assisted early enteral nutrition on severe acute pancreatitis and secondary hepatic injury. *Mediators Inflamm* 2007; 2007: 29638 [PMID: 18288270 DOI: 10.1155/2007/29638]
- 13 Omura K, Hirano K, Kanehira E, Kaito K, Tamura M, Nishida S, Kawakami K, Watanabe Y. Small amount of low-residue diet with parenteral nutrition can prevent decreases in intestinal mucosal integrity. *Ann Surg* 2000; 231: 112-118 [PMID: 10636110 DOI: 10.1097/00000658-200001000-00016]
- 14 Windsor AC, Kanwar S, Li AG, Barnes E, Guthrie JA, Spark JL, Welsh F, Guillou PJ, Reynolds JV. Compared with parenteral nutrition, enteral feeding attenuates the acute phase response and improves disease severity in acute pancreatitis. *Gut* 1998; 42: 431-435 [PMID: 9577354 DOI: 10.1136/gut.42.3.431]
- 15 Marik PE, Zaloga GP. Meta-analysis of parenteral nutrition versus enteral nutrition in patients with acute pancreatitis. *BMJ* 2004; 328: 1407 [PMID: 15175229 DOI: 10.1136/bmj.38118.593900.55]
- 16 Petrov MS, Pylypchuk RD, Uchugina AF. A systematic review on the timing of artificial nutrition in acute pancreatitis. *Br J Nutr* 2009; 101: 787-793 [PMID: 19017421 DOI: 10.1017/S0007114508123443]
- 17 Heyland DK, Dhaliwal R, Drover JW, Gramlich L, Dodek P. Canadian clinical practice guidelines for nutrition support in mechanically ventilated, critically ill adult patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2003; 27: 355-373 [PMID: 12971736]
- 18 黎君友, 于燕, 郝军, 晋桦, 许惠君. 分光光度法测定血和小肠组织二胺氧化酶活性. 氨基酸和生物资源 1996; 18: 28-30
- 19 Rongione AJ, Kusske AM, Kwan K, Ashley SW, Reber HA, McFadden DW. Interleukin 10 reduces the severity of acute pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 1997; 112: 960-967 [PMID: 9041259 DOI: 10.1053/gast.1997.v112.pm9041259]
- 20 Schmidt J, Rattner DW, Lewandrowski K, Compton CC, Mandavilli U, Knoefel WT, Warshaw AL. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy. *Ann Surg* 1992; 215: 44-56 [PMID: 1731649]
- 21 Ammori BJ, Leeder PC, King RF, Barclay GR, Martin IG, Larvin M, McMahon MJ. Early increase in intestinal permeability in patients with severe acute pancreatitis: correlation with endotoxemia, organ failure, and mortality. *J Gastrointest Surg* 1999; 3: 252-262 [PMID: 10481118 DOI: 10.1016/S1091-255X(99)80067-5]
- 22 Wischmeyer PE. Glutamine: role in gut protection in critical illness. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006; 9: 607-612 [PMID: 16912558 DOI: 10.1097/01.mco.0000241672.09676.03]
- 23 MacFie J. Enteral versus parenteral nutrition: the significance of bacterial translocation and gut-barrier function. *Nutrition* 2000; 16: 606-611 [PMID: 10906570 DOI: 10.1016/S0899-9007(00)00249-5]
- 24 杨永久, 高乃荣. 内源性一氧化氮对急性坏死性胰腺炎大鼠肠黏膜通透性的影响. 世界华人消化杂志 2005; 13: 389-391
- 25 王代宏, 张训臣. 重症急性胰腺炎时细胞因子与肠源性细菌和内毒素移位的实验研究. 中国医师杂志 2004; 6: 1051-1054
- 26 张喜平, 张宇. 急性胰腺炎肠道屏障损害机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2006; 14: 417-421
- 27 Penalva JC, Martínez J, Laveda R, Esteban A, Muñoz C, Sáez J, Such J, Navarro S, Feu F, Sánchez-Payá J, Pérez-Mateo M. A study of intestinal permeability in relation to the inflammatory response and plasma endocab IgM levels in patients with acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: 512-517 [PMID: 15220687]
- 28 Vasilescu C, Herlea V, Buttenschoen K, Beger HG. Endotoxin translocation in two models of experimental acute pancreatitis. *J Cell Mol Med* 2003; 7: 417-424 [PMID: 14754510 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2003.tb00244.x]
- 29 吴承堂, 黎洁良. 二胺氧化酶在急性坏死性胰腺炎肠道损伤中的作用. 世界华人消化杂志 1999; 7: 64-65
- 30 Nettelbladt CG, Katouli M, Bark T, Svenberg T,

Möllerby R, Ljungqvist O. Evidence of bacterial translocation in fatal hemorrhagic pancreatitis. *J Trauma* 2000; 48: 314-315 [PMID: 10697094 DOI:

1079-6061/00/4802-0314]  
31 张泰昌. 急性胰腺炎继发细菌性感染的临床特点及治疗. 国外医学: 消化系疾病分册 1993; 13: 5-8

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 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。

# PKC $\alpha$ -Annexin A2-S100A10在胃癌组织中的表达及意义

赵强, 张志伟, 刘重元, 肖娟, 李增波, 伍石华, 吴勇军, 杨代水, 权里平, 雷明生

赵强, 南华大学附属第一医院病理科 湖南省衡阳市 421001  
赵强, 张志伟, 湖南省胃癌研究中心 湖南省衡阳市 421001  
张志伟, 刘重元, 伍石华, 南华大学医学院肿瘤研究所 湖南省衡阳市 421001  
张志伟, 刘重元, 肿瘤细胞与分子病理学湖南省高校重点实验室 湖南省衡阳市 421001  
肖娟, 南华大学附属第二医院耳鼻喉科 湖南省衡阳市 421001  
李增波, 南华大学附属第二医院儿科 湖南省衡阳市 421001  
伍石华, 邵阳医学高等专科学校附属医院病理科 湖南省邵阳市 422000  
吴勇军, 湘潭市第一人民医院病理科 湖南省湘潭市 411101  
杨代水, 权里平, 雷明生, 南华大学医学院临床医学卓越医师班 湖南省衡阳市 421001  
赵强, 副主任医师, 主要从事临床肿瘤的病理诊断。  
国家自然科学基金资助项目, No. 81172575  
湖南省自然科学基金联合基金资助项目, No. 12JJ9033  
湖南省自然科学基金资助项目, Nos. 04JJ3059, 12JJ3102, 13JJ3079  
湖南省科技厅基金资助项目, Nos. 2011SK3089, 2013SK3118  
湖南省高校创新平台基金资助项目, Nos. 10K052, 12K094, 13K082, 13K083  
湖南省教育厅课题基金资助项目, Nos. 11C1112, 12C0340  
湖南省研究生科研创新基金资助项目, No. CX2010B380  
衡阳市科技局基金资助项目, Nos. 2013KJ02, 2013KJ12, 2013KJ28  
邵阳市科技局重点基金资助项目, No. 2013SK13  
湖南省重点学科建设基金资助项目, No. 2011-76  
作者贡献分布: 此课题由张志伟设计; 实验操作由雷明生、杨代水、权里平及舒友成完成; 实验标本来源由赵强与吴勇军提供; 数据分析由肖娟与李增波完成; 本论文撰写由赵强、刘重元及伍石华完成。  
通讯作者: 张志伟, 副教授, 421001, 湖南省衡阳市常胜西路28号, 南华大学医学院肿瘤研究所. nhdzww@qq.com  
电话: 0734-8281510  
收稿日期: 2014-02-17 修回日期: 2014-03-24  
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## Significance of expression of PKC $\alpha$ , Annexin A2 and S100A10 proteins in gastric cancer

Qiang Zhao, Zhi-Wei Zhang, Chong-Yuan Liu, Juan Xiao, Zeng-Bo Li, Shi-Hua Wu, Yong-Jun Wu, Dai-Shui Yang, Li-Ping Quan, Min-Sheng Lei

Qiang Zhao, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of University of South China, Center for Gastric Cancer Research of Hunan Province, Hengyang 421001, Hunan Province, China  
Qiang Zhao, Zhi-Wei Zhang, Center for Gastric Cancer Research of Hunan Province, Hengyang 421001, Hunan Province, China  
Zhi-Wei Zhang, Chong-Yuan Liu, Shi-Hua Wu, Cancer Research Institute, University of Southern China, Hengyang 421001, Hunan Province, China  
Zhi-Wei Zhang, Chong-Yuan Liu, University Key Laboratory of Cancer Cellular and Molecular Pathology in Hunan

Province, Hengyang 421001, Hunan Province, China  
Juan Xiao, Department of Otorhinolaryngology, the Second Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, 421001, Hunan Province, China  
Zeng-Bo Li, Department of Pediatrics, the Second Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, Hunan Province, China  
Shi-Hua Wu, Department of Pathology, Shaoyang Medical School, Shaoyang 422000, Hunan Province, China  
Yong-Jun Wu, Department of Pathology, Xiangtan City First People's Hospital, Xiangtan 411101, Hunan Province, China  
Dai-Shui Yang, Li-Ping Quan, Min-Sheng Lei, Clinical Medicine Excellent Undergraduate of Medical College, University of Southern China, Hengyang 421001, Hunan Province, China  
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81172575; the Hunan Provincial Natural Science Committee and Hengyang City Government Unification Foundation of China, No. 12JJ9033; Hunan Provincial Natural Science Foundation of China, Nos. 04JJ3059, 12JJ3102 and 13JJ3079; Hunan Provincial Science and Technology Department Foundation of China, Nos. 2011SK3089 and 2013SK3118; Hunan Provincial Groundbreaking Platform Open Fund of University of China, Nos. 10K052, 12K094, 13K082 and 13K083; Hunan Provincial Education Department Foundation of China, Nos. 11C1112 and 12C0340; Hunan Provincial Postgraduate Groundbreaking Scientific Research Foundation of China, No. CX2010B380; Hunan Provincial Hengyang Science and Technology Department Foundation of China, Nos. 2013KJ02, 2013KJ12 and 2013KJ28; Hunan Provincial Shaoyang Science and Technology Department Key Foundation of China, Nos. 2013SK13; Construction Program of the Key Discipline in Hunan Province, No. 2011-76  
Correspondence to: Zhi-Wei Zhang, Associate Professor, Cancer Research Institute of Medical College, University of Southern China, 28 Changsheng West Road, Hengyang 421001, Hunan Province, China. nhdzww@qq.com  
Received: 2014-02-17 Revised: 2014-03-24  
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the clinical significance of expression of protein kinase C (PKC), Annexin A2 and S100A10 proteins in gastric cancer and provide valuable data for finding diagnosis related proteins in gastric cancer.

**METHODS:** The expression of PKC $\alpha$ , Annexin A2 and S100A10 proteins was detected by Western blot in normal gastric mucosa and gastric cancer tissues. Moreover, their expression was analyzed by immunohistochemistry in a tissue array containing normal gastric mucosa and gastric cancer tissues. The clinicopathologic signifi-

## ■背景资料

胃癌发生与发展过程中存在众多蛋白质的表达异常, 重要信号通路相关蛋白在肿瘤中常存在表达的协调性, 他们异常表达与胃癌组织学类型、分化程度、转移、临床治疗及预后相关。

## ■同行评议者

张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院



## ■研究前沿

了解胃癌组织中同一信号通路相关蛋白PKC $\alpha$ 、Annexin A2与S100A10的表达情况,可为胃癌的早期诊断、组织学分型及预后提供实验依据。

cance of their expression was evaluated.

**RESULTS:** Western blot analysis showed that the expression of PKC $\alpha$ , Annexin A2 and S100A10 proteins was significantly higher in gastric cancer tissue than in normal gastric mucosa tissue ( $P < 0.01$  for all). Immunohistochemistry analysis showed that the positive expression rates of PKC $\alpha$ , Annexin A2 and S100A10 proteins were significantly lower in normal gastric mucosa tissue than in gastric cancer tissue [8.82% (3/34) vs 76.54% (62/81), 5.88% (2/34) vs 79.01% (64/81), 2.94% (1/34) vs 59.26% (48/81);  $P < 0.01$  for all].

**CONCLUSION:** The expression of PKC $\alpha$ , Annexin A2 and S100A10 proteins is up-regulated in gastric cancer tissue compared with normal gastric mucosa tissue and may be related with the occurrence and differentiation degree of gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Gastric cancer; PKC $\alpha$  protein; Annexin A2 protein; S100A10 protein; Clinical significance

Zhao Q, Zhang ZW, Liu CY, Xiao J, Li ZB, Wu SH, Wu YJ, Yang DS, Quan LP, Lei MS. Significance of expression of PKC $\alpha$ , Annexin A2 and S100A10 proteins in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1793-1800 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1793.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1793>

## 摘要

**目的:** 观察蛋白激酶C $\alpha$ (protein kinase C $\alpha$ , PKC $\alpha$ )、Annexin A2和S100A10蛋白在胃癌组织中的表达及意义,为获取胃癌诊断相关的蛋白分子提供实验依据。

**方法:** Western blot分析PKC $\alpha$ 、Annexin A2和S100A10蛋白在正常胃黏膜与胃癌组织中的表达情况;免疫组织化学染色观察组织芯片中三者的表达情况,并分析其临床病理学意义。

**结果:** (1)Western blot检测结果显示,PKC $\alpha$ 、Annexin A2和S100A10蛋白在胃癌组织中表达较正常胃黏膜组织中高( $P < 0.01$ ); (2)免疫组织化学染色结果显示,PKC $\alpha$ 蛋白在正常胃黏膜及胃癌组织中的阳性表达率分别为8.82%(3/34)和76.54%(62/81); Annexin A2蛋白在正常胃黏膜及胃癌组织中的阳性表达率分别为5.88%(2/34)和79.01%(64/81); S100A10

蛋白在正常胃黏膜及胃癌组织中的阳性表达率分别为2.94%(1/34)、59.26%(48/81); (3)PKC $\alpha$ 、Annexin A2和S100A10蛋白在胃癌组织中的阳性表达率较正常胃黏膜组织高( $P < 0.01$ )。

**结论:** PKC $\alpha$ 、Annexin A2和S100A10蛋白在胃癌组织中表达较正常胃黏膜组织中表达高,其表达与胃癌的发生及分化程度有关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃癌; PKC $\alpha$ 蛋白; Annexin A2蛋白; S100A10蛋白; 临床意义

**核心提示:** 早期诊断对提高胃癌患者5年生存率具有十分重要的影响,获得早期诊断的特异性分子标志则是早期确诊的关键因素。蛋白激酶C $\alpha$ (protein kinase C $\alpha$ )、Annexin A2与S100A10相互关联蛋白的检测为早期诊断胃癌提供了新的思路。

赵强, 张志伟, 刘重元, 肖娟, 李增波, 伍石华, 吴勇军, 杨代水, 权里平, 雷明生. PKC $\alpha$ -Annexin A2-S100A10在胃癌组织中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2014; 22(13): 1793-1800 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1793.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1793>

## 0 引言

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一,是当今严重威胁人们健康与生命的重大疾病。胃癌的发生与众多癌基因和抑癌基因等的异常表达有关。胃癌的组织学类型、分化程度及耐药等均与不同蛋白质表达存在密切的关系<sup>[1-4]</sup>。因此,了解相关蛋白质在胃癌中的表达情况,对胃癌的早期诊断、临床治疗、评估和预测患者预后,均具有十分重要的临床意义与应用价值。我们选取课题组前期通过蛋白质组学方法筛选的胃癌相关蛋白质蛋白激酶C $\alpha$ (protein kinase C $\alpha$ , PKC $\alpha$ )、Annexin A2和S100A10<sup>[5]</sup>,检测三者在胃癌组织中的表达情况,以期对胃癌诊断相关蛋白的发现提供有价值的实验资料。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2011-01/2011-12南华大学附属第一医院胃癌手术切除标本5例(癌旁10 cm以上胃黏膜组织作为正常对照),其中男性3例,女性2例;年龄34-56岁,平均年龄42.6岁。组织芯片由湘潭市第一人民医院吴勇军主任医师赠送。组

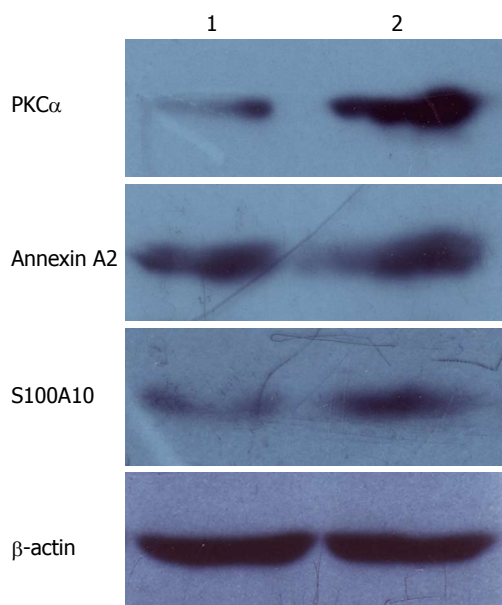


图1 Western blot检测PKC $\alpha$ 、Annexin A2和S100A10蛋白的表达。1: 正常胃黏膜; 2: 胃癌组织。PKC $\alpha$ : 蛋白激酶C $\alpha$ 。

组织芯片中收集包括2003-2009年湘潭市第一人民医院经病理确诊的胃癌手术标本81例, 其中女性25例, 男性56例, 平均年龄55.35岁(27-81岁), 肿块体积32例 $\leq 3.0$  cm, 49例 $> 3.0$  cm。81例胃癌组织中病理诊断为高分化腺癌患者5例, 中分化腺癌患者17例, 低分化腺癌患者59例。按照TNM分期 I - II 期者32例, III-IV期者49例。另外, 选取34例距癌灶10 cm以上正常胃黏膜作为对照组。上述所有收集的病例均经病理HE切片确诊, 所有胃癌患者手术前均未进行放疗或化疗。鼠抗人PKC $\alpha$ 、Annexin A2和S100A10蛋白的抗体为Santa Cruz公司产品, 购自湖南科泰生物有限公司。SP免疫组织化学检测试剂盒购自福建迈新生物技术有限公司。

## 1.2 方法

1.2.1 Western blot检测蛋白质的表达: 将收集组织加入组织裂解液后, 在匀浆器中研磨, 制备总蛋白液, 测定浓度后, 以各泳道50  $\mu$ g的总蛋白进行10%SDS不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜、封闭, 一抗(1:1000)及抗 $\beta$ -actin单体(1:2000)4  $^{\circ}$ C孵育过夜, 洗膜后, HRP标记的羊抗兔二抗(1:1000)孵育、洗膜、发光、曝光、显影、定影以及分析结果。

1.2.2 免疫组织化学染色蛋白质的表达: 操作按照超敏SP试剂盒所附说明书进行, 用已知阳性片作阳性对照(福建迈新生物有限公司提供), 同时用PBS替代第一抗体作阴性对照, 实验步骤如下: (I)将制备好的石蜡切片58  $^{\circ}$ C隔水式恒温培

养箱中过夜; (2)二甲苯脱蜡2次后水化, PBS洗片3次, 每次3 min; (3)将切片浸入盛有枸橼酸盐缓冲液容器中微波炉加热进行抗原修复; (4)加3%过氧化物酶阻断液, 37  $^{\circ}$ C 15 min, PBS洗片3次, 每次3 min; (5)加足量非免疫性动物血清, 37  $^{\circ}$ C 10 min, 阻断非特异性结合位点; (6)分别滴加一抗, 置湿盒中4  $^{\circ}$ C冰箱过夜; (7)滴加生物素标记的二抗, 37  $^{\circ}$ C 15 min; (8)滴加链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶溶液, 37  $^{\circ}$ C 15 min; (9)DAB显色、苏木素复染、返蓝、脱水、透明、封片、显微镜观察、照相(结果阳性部位呈棕黄色)。

1.2.3 免疫组织化学染色结果判定: 组织芯片中黄色、棕色、棕褐色部位为蛋白阳性表达。选取5个不重复视野, 记数组织中细胞总数与阳性表达细胞数, 计算阳性表达率。蛋白表达结果的判定, 按染色强度与阳性细胞数占细胞总数的百分比综合计分。染色强度: 无色者为1分, 黄色者为2分, 棕褐色者为3分; 阳性细胞数:  $\leq$ 总数的10%者为1分; 11%-50%者为2分;  $> 50\%$ 者为3分。将染色强度分值与阳性细胞数分值相乘, 1分者为阴性“-”; 2-4分者为阳性“+”,  $\geq 6$ 分者为强阳性“+++”, 其中阳性细胞数 $> 10\%$ 者为阳性表达。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件对所有数据进行统计处理和分析。PKC $\alpha$ 、Annexin A2和S100A10蛋白的表达与不同胃组织的临床资料分析时, 选用 $\chi^2$ 检验和方差分析, 组间的相关性分析用Spearman等级相关进行比较,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 Western blot检测PKC $\alpha$ 、Annexin A2和S100A10蛋白的表达 将提取的正常胃黏膜与胃癌组织总蛋白分别混合与混匀后, 通过Western blot检测PKC $\alpha$ 、Annexin A2和S100A10蛋白在正常胃黏膜与胃癌组织中的表达。结果显示, 在胃癌组织中PKC $\alpha$ 、Annexin A2和S100A10蛋白表达较正常胃黏膜组织高( $P < 0.01$ )(图1)。

2.2 免疫组织化学染色检测胃癌组织中PKC $\alpha$ 蛋白的表达 PKC $\alpha$ 蛋白表达主要位于细胞浆(图2), PKC $\alpha$ 蛋白在正常胃黏膜及胃癌组织中的表达率分别为8.82%(3/34)和76.54%(62/81); PKC $\alpha$ 蛋白在胃癌组织中阳性表达率较正常胃黏膜组织高( $P < 0.01$ )(表1)。PKC $\alpha$ 蛋白在胃高、中、低分腺癌中的表达率分别为60%(3/5)、70.59%(12/17)和79.66%(47/59)。结果显示, 随着

### ■创新盘点

本文通过选取课题组前期筛选的胃癌组织差异表达蛋白PKC $\alpha$ 、Annexin A2与S100A10, 观察相互作用蛋白间的表达情况, 分析他们表达的意义, 为胃癌的早期诊断、疗效及预后评估等提供新的检测方法。



## ■应用要点

分析PKC $\alpha$ 、Annexin A2与S100A10蛋白在胃癌组织中的表达及意义,为胃癌诊断相关蛋白的发现提供有价值的实验资料。

表 1 胃癌组织中PKC $\alpha$ 蛋白的阳性表达率

分组	n	PKC $\alpha$ 蛋白表达		阳性率(%)	$\chi^2/P$ 值
		-	(+)-(+++)		
正常胃黏膜	34	31	3	8.82	
胃癌组织					
高分化腺癌	5	2	3	60.00	5.28(0.01 < P < 0.05; WDAC vs N)
中分化腺癌	17	5	12	70.59	20.83, 3.28(P < 0.01; MDAC vs N and WDAC)
低分化腺癌	59	12	47	79.66	43.54, 4.53, 16.29(P < 0.01; PDAC vs N, WDAC and MDAC)

N: 正常胃黏膜; WDAC: 高分化腺癌; MDAC: 中分化腺癌; PDAC: 低分化腺癌. PKC $\alpha$ : 蛋白激酶C $\alpha$ .

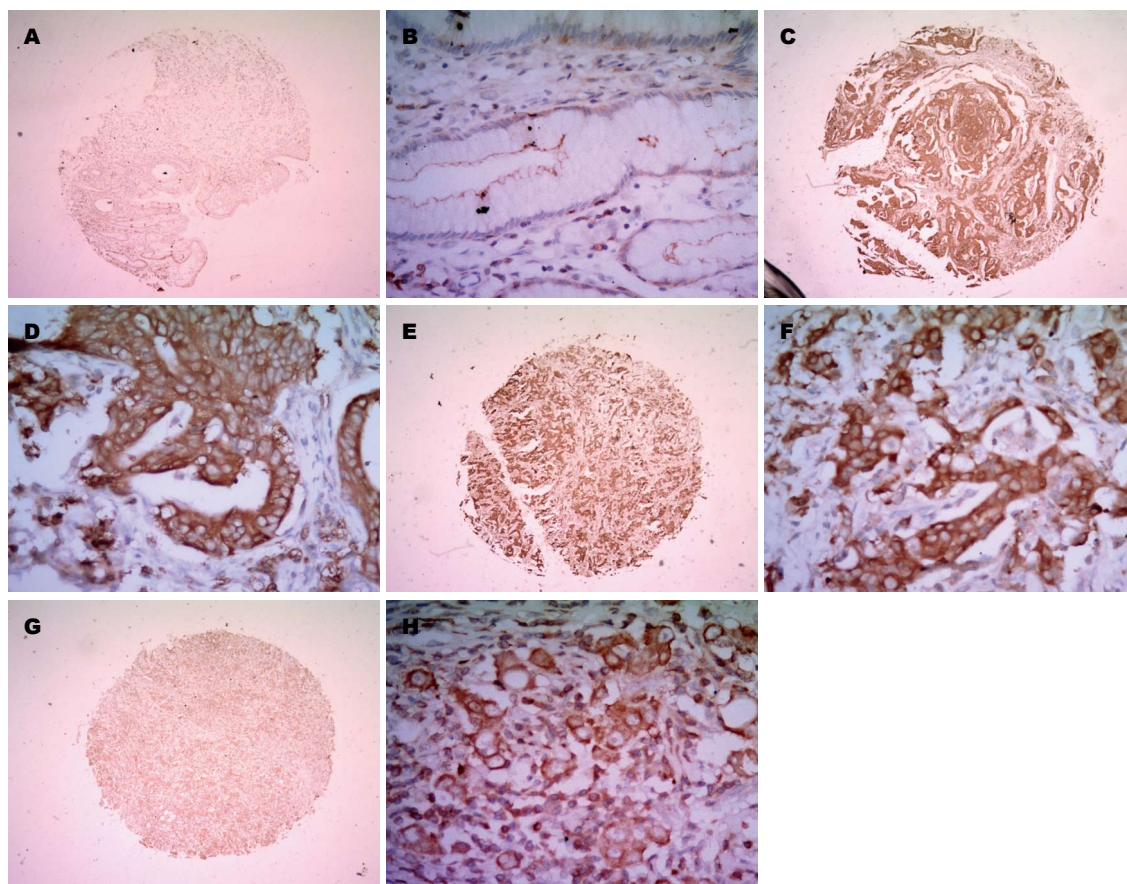


图 2 免疫组织化学染色观察胃癌组织中PKC $\alpha$ 蛋白的表达(SP法). A: 正常胃黏膜( $\times 40$ ); B: 正常胃黏膜( $\times 400$ ); C: 高分化腺癌( $\times 40$ ); D: 高分化腺癌( $\times 400$ ); E: 中分化腺癌( $\times 40$ ); F: 中分化腺癌( $\times 400$ ); G: 低分化腺癌( $\times 40$ ); H: 低分化腺癌( $\times 400$ ).

胃癌分化程度的降低, PKC $\alpha$ 蛋白的表达逐渐升高( $P < 0.01$ )(表1).

**2.3 免疫组织化学染色检测胃癌组织中Annexin A2蛋白的表达** Annexin A2蛋白表达主要位于细胞浆(图3), Annexin A2蛋白在正常胃黏膜及胃癌组织中的表达率分别为5.88%(2/34)和79.01%(64/81); Annexin A2蛋白在胃癌组织中阳性表达率较正常胃黏膜组织高( $P < 0.01$ )(表2). Annexin A2蛋白在胃高、中、低分腺癌中的表达率分别为60%(3/5)、76.47%(13/17)

和81.36%(48/59). 结果显示, 随着胃癌分化程度的降低, Annexin A2蛋白的表达逐渐升高( $P < 0.01$ )(表2).

**2.4 免疫组织化学染色检测胃癌组织中S100A10蛋白的表达** S100A10蛋白表达主要位于细胞浆(图4), S100A10蛋白在正常胃黏膜及胃癌组织中的表达率分别为2.94%(1/34)和59.26%(48/81); S100A10蛋白在胃癌组织中阳性表达率较正常胃黏膜组织高( $P < 0.01$ )(表3). S100A10蛋白在胃高、中、低分腺癌中的表达率分别为



■同行评论  
本文设计较合理, 结果可信, 具有一定指导意义.

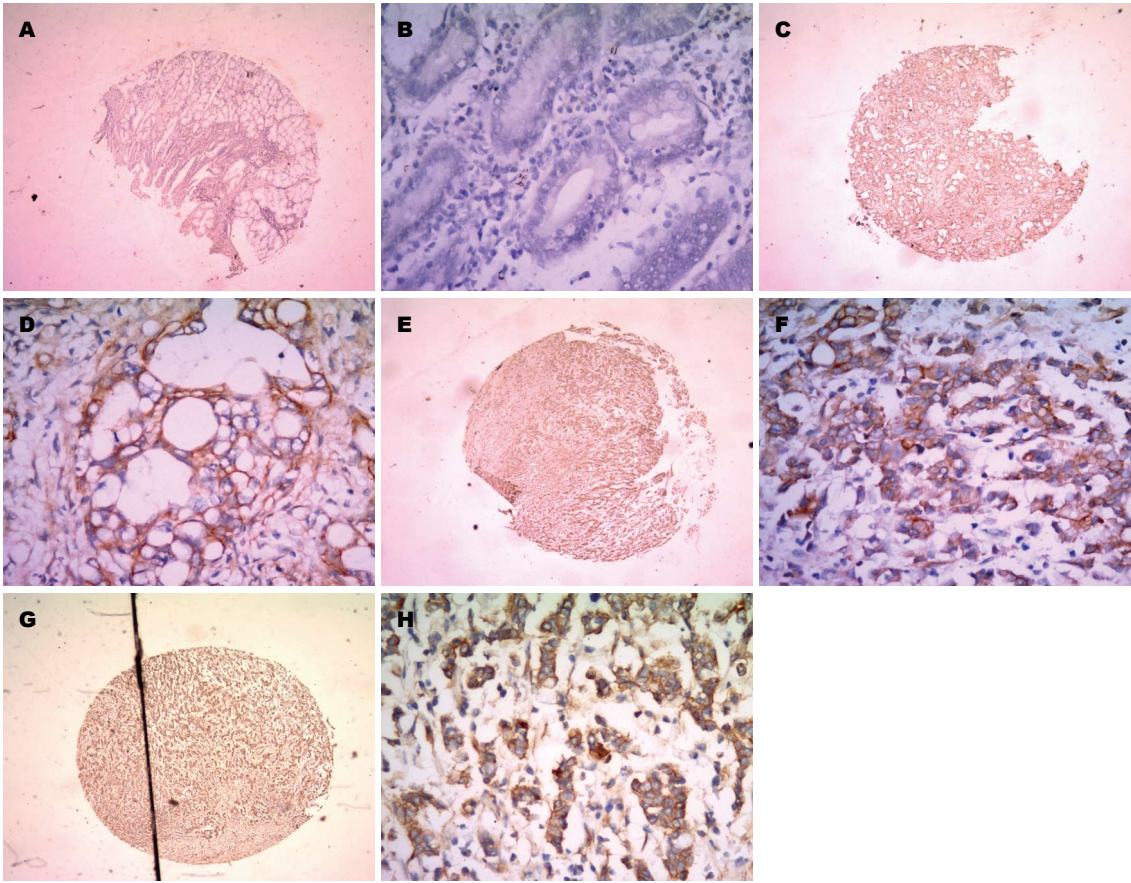


图 3 免疫组织化学染色观察胃癌组织中Annexin A2蛋白的表达(SP法). A: 正常胃黏膜( $\times 40$ ); B: 正常胃黏膜( $\times 400$ ); C: 高分化腺癌( $\times 40$ ); D: 高分化腺癌( $\times 400$ ); E: 中分化腺癌( $\times 40$ ); F: 中分化腺癌( $\times 400$ ); G: 低分化腺癌( $\times 40$ ); H: 低分化腺癌( $\times 400$ ).

表 2 胃癌组织中Annexin A2蛋白的阳性表达率					
分组	n	Annexin A2蛋白表达		阳性率(%)	$\chi^2$ P值
		-	(+)-(+++)		
正常胃黏膜	34	32	2	5.88	
胃癌组织					
高分化腺癌	5	2	3	60.00	13.88( $P < 0.01$ ; WDAC vs N)
中分化腺癌	17	4	13	76.47	27.2, 3.02( $P < 0.01$ ; MDAC vs N and WDAC)
低分化腺癌	59	11	48	81.36	49.43, 4.82, 8.31( $P < 0.01$ ; PDAC vs N, WDAC and MDAC)

N: 正常胃黏膜; WDAC: 高分化腺癌; MDAC: 中分化腺癌; PDAC: 低分化腺癌.

40%(2/5)、52.94%(9/17)和62.71%(37/59). 结果显示, 随着胃癌分化程度的降低, S100A10蛋白的表达逐渐升高( $P < 0.01$ )(表3).

### 3 讨论

近年来, 由于蛋白质组学技术的不断完善, 许多科学家试图寻找胃癌相关的诊断标志物, 获取大量的蛋白信息, 但常存在各种误差, 如仪器与人为误差等, 可影响结果的准确性与真实性<sup>[6,7]</sup>. 因此, 被

筛选的蛋白质的临床应用仍需后续的大量研究证实与完善. PKC、Annexin A2和S100A10分别为同一信号通路上下游蛋白分子, 相互影响表达与蛋白活性.

PKC作为信号分子, 是一类依赖于Ca<sup>2+</sup>、磷脂(phospholipid, PS)和二酰甘油(diacylglycerol, DAG)激活的Ser/Thr蛋白激酶家族, 在跨膜信号转导中起重要作用<sup>[8-11]</sup>. 有研究发现, 整合素(integrin)的联合与PKC的激活对于结肠癌细胞

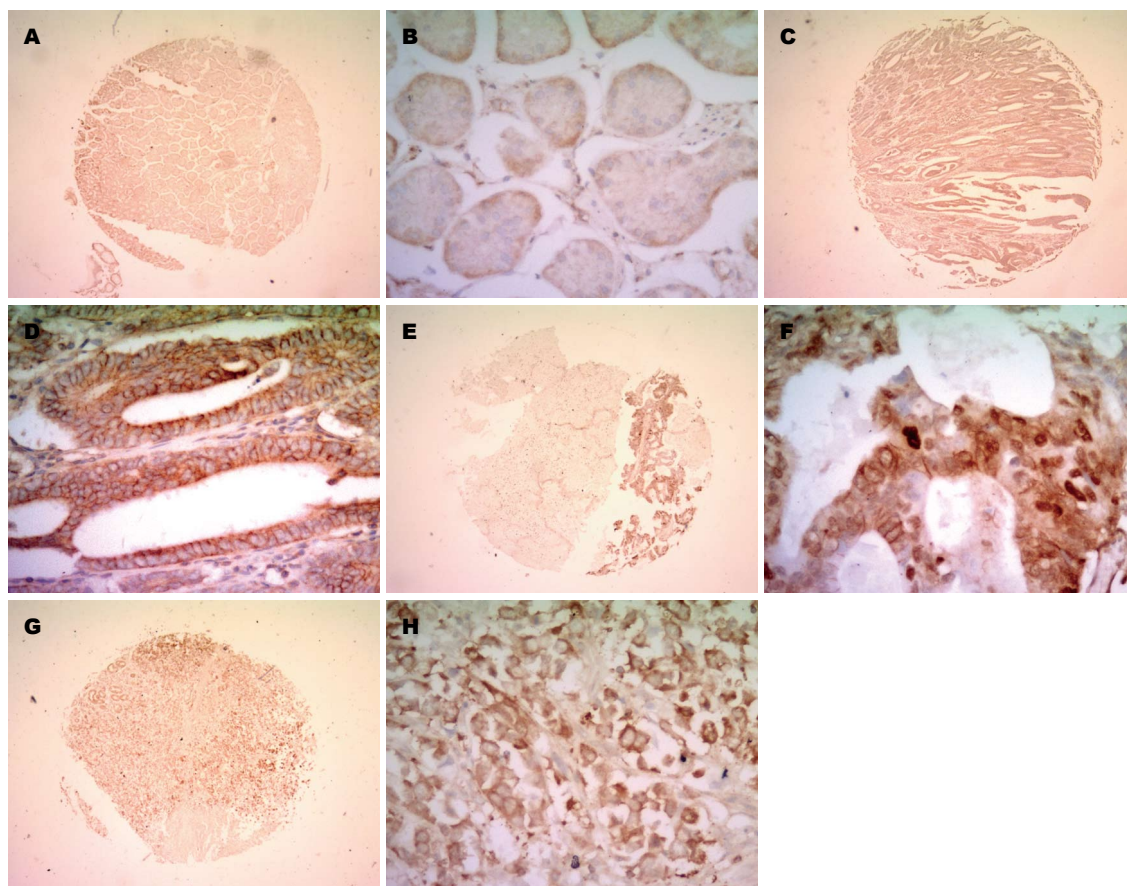


图 4 免疫组织化学染色观察胃癌组织中S100A10蛋白的表达(SP法). A: 正常胃黏膜(×40); B: 正常胃黏膜(×400); C: 高分化腺癌(×40); D: 高分化腺癌(×400); E: 中分化腺癌(×40); F: 中分化腺癌(×400); G: 低分化腺癌(×40); H: 低分化腺癌(×400).

表 3 胃癌组织中S100A10蛋白的阳性表达率

分组	n	S100A10蛋白表达		阳性率(%)	$\chi^2/P$ 值
		-	(+)-(+++)		
正常胃黏膜	34	33	1	2.94	
胃癌组织					
高分化腺癌	5	3	2	40.00	4.02(0.01<P<0.05; WDAC vs N)
中分化腺癌	17	8	9	52.94	14.94, 3.42(P<0.01; MDAC vs N and WDAC)
低分化腺癌	59	22	37	62.71	31.89, 4.13, 5.14(P<0.01; PDAC vs NAHT, WDAC and MDAC)

N: 正常胃黏膜; WDAC: 高分化腺癌; MDAC: 中分化腺癌; PDAC: 低分化腺癌.

的转移是必不可少的, 用PKC的激活剂PMA处理结肠癌细胞株HT29-D4后, 诱导PKC蛋白表达, 细胞的迁移与侵袭能力增加<sup>[12]</sup>. 采用特异性抑制剂Safingol抑制PKC $\alpha$ 活性后, 可抑制立早基因c-fos和c-jun的表达, 而应用特异性激活剂PMA增加PKC活性后, 同时使两者的表达增加, 且与膀胱癌细胞的增殖能力相关<sup>[13]</sup>. 本研究发现PKC $\alpha$ 蛋白在胃癌组织中表达较正常胃黏膜组织高, PKC $\alpha$ 蛋白的表达随着胃癌分化程度的降低, PKC $\alpha$ 蛋白的表达逐渐升高. 我们推测PKC $\alpha$

可能将成为胃癌诊断的相关蛋白, 但其临床应用仍需以后的大样本分析与临床探索.

Annexin A2蛋白为Annexins家族中的重要成员之一, 在细胞生长、增殖及分化过程中可能扮演十分重要的角色<sup>[14-16]</sup>. 在肝癌、口腔鳞状细胞癌、前列腺癌中, 低分化类型的肿瘤中Annexin A2呈现更高的表达<sup>[17-19]</sup>. Annexin A2低表达与鼻咽癌细胞的淋巴结转移成正相关. Annexin A2高表达与胃癌、肝癌、乳腺癌、肾癌、胰腺癌及前列腺癌的浸润与转移能力相关,



可作为临床判断患者预后的独立指标之一<sup>[16,17]</sup>. Annexin A2高表达可促进肺癌、胰腺癌与前列腺癌细胞的增殖, 提示手术或化疗后肿瘤有复发的趋势<sup>[20,21]</sup>. 我们的结果显示, Annexin A2蛋白在胃癌组织中阳性表达率较正常胃黏膜组织高, 与以往在多种肿瘤中报道的基本一致. 另外, 我们发现随着胃癌分化程度的降低, Annexin A2蛋白的表达逐渐升高, 提示该蛋白可能成为评估临床胃癌治疗的指标之一.

S100A10蛋白(也称p11蛋白), 为钙结合蛋白家族的S100蛋白家族的成员之一. S100家族多个成员在多种肿瘤组织呈现异常表达, 且与肿瘤的发生、浸润与转移有关<sup>[22,23]</sup>. Annexin A2与S100家族成员在肿瘤发生发展过程中起相互协同作用<sup>[24]</sup>. S100A10为Annexin A2高亲和力的配体<sup>[25]</sup>. Annexin A2和S100A10表达水平在不同细胞中存在差异<sup>[26]</sup>. Annexin A2与S100A10结合可调节Annexin A2在核-质中的分布<sup>[27]</sup>. 研究表明S100A10与Annexin A2相互作用可加速组织型纤溶酶原激活物介导的纤溶酶生成, 进一步激活蛋白酶前体, 活化基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs), 促进血管生成和肿瘤的浸润与转移<sup>[28]</sup>. 我们的结果显示, S100A10蛋白在胃癌组织中阳性表达率较正常胃黏膜组织高. 随着胃癌分化程度的降低, S100A10蛋白的表达逐渐升高. 实验结果提示S100A10可能参与胃癌的发生与发展.

总之, 本研究采用Western blot和免疫组织化学检测了胃癌相关蛋白PKC $\alpha$ 、Annexin A2和S100A10在正常胃黏膜和胃癌不同分化程度组织中的表达情况, 证实了三者在胃癌组织中的表达相对正常高, 且与胃癌的分化程度密切相关, 并分析了三者表达在临床病理中的意义. 我们选取三个胃癌相关且相互调节的蛋白进行分析, 比单一分析其中一个蛋白的表达更具有临床评价意义与应用价值. 本研究为临床寻找早期诊断、临床治疗及评估患者预后的预警分子提供了非常有价值的实验资料与线索. 但由于胃癌存在遗传学个体差异以及本研究样本量有限, 因此临床应用前仍需扩大样本进行评估.

#### 4 参考文献

- 1 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 雷正龙, 李光琳, 邹小农, 赵平. 中国肿瘤登记地区2007年肿瘤发病和死亡分析. 中国肿瘤 2011; 20: 162-169
- 2 张志伟, 汤国辉, 赵强, 刘重元, 吴勇军, 贺修胜. AKT-p27Kip1-Cyclin E在胃癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2233-2240

- 3 郭玉凤, 张志伟, 贺修胜, 汤国辉, 谢妮, 杨科. 组织芯片检测p16蛋白在不同胃组织中的表达意义. 肿瘤学杂志 2012; 18: 746-749
- 4 李臻, 张志伟, 赵强, 刘重元, 杨科, 邓彦君, 伍石华, 杨林. TG2在胃癌组织中表达的临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3858-3862
- 5 陈苏琼. LCM结合定量蛋白质组学技术筛选胃癌组织差异表达蛋白质. 南华大学, 2011: 1-68
- 6 Cappellani A, Zanghi A, Di Vita M, Zanet E, Veroux P, Cacopardo B, Cavallaro A, Piccolo G, Lo Menzo E, Murabito P, Berretta M. Clinical and biological markers in gastric cancer: update and perspectives. *Front Biosci* (Schol Ed) 2010; 2: 403-412 [PMID: 20036956]
- 7 Bai Z, Ye Y, Liang B, Xu F, Zhang H, Zhang Y, Peng J, Shen D, Cui Z, Zhang Z, Wang S. Proteomics-based identification of a group of apoptosis-related proteins and biomarkers in gastric cancer. *Int J Oncol* 2011; 38: 375-383 [PMID: 21165559 DOI: 10.3892/ijo.2010.873]
- 8 Bosco R, Melloni E, Celeghini C, Rimondi E, Vaccarezza M, Zauli G. Fine tuning of protein kinase C (PKC) isoforms in cancer: shortening the distance from the laboratory to the bedside. *Mini Rev Med Chem* 2011; 11: 185-199 [PMID: 21534929]
- 9 Redden JM, Le AV, Singh A, Federkiewicz K, Smith S, Dodge-Kafka KL. Spatiotemporal regulation of PKC via interactions with AKAP7 isoforms. *Biochem J* 2012; 446: 301-309 [PMID: 22670899 DOI: 10.1042/BJ20120366]
- 10 Farah CA, Sossin WS. The role of C2 domains in PKC signaling. *Adv Exp Med Biol* 2012; 740: 663-683 [PMID: 22453964 DOI: 10.1007/978-94-007-2888-2\_29]
- 11 Chen T, Cao L, Dong W, Luo P, Liu W, Qu Y, Fei Z. Protective effects of mGluR5 positive modulators against traumatic neuronal injury through PKC-dependent activation of MEK/ERK pathway. *Neurochem Res* 2012; 37: 983-990 [PMID: 22228200 DOI: 10.1007/s11064-011-0691-z]
- 12 Lai KC, Huang AC, Hsu SC, Kuo CL, Yang JS, Wu SH, Chung JG. Benzyl isothiocyanate (BITC) inhibits migration and invasion of human colon cancer HT29 cells by inhibiting matrix metalloproteinase-2/-9 and urokinase plasminogen (uPA) through PKC and MAPK signaling pathway. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 2935-2942 [PMID: 20136087 DOI: 10.1021/jf9036694]
- 13 Li L, She H, Yue S, Feng D, Luo Z. Vasoactive intestinal peptide induces surfactant protein A expression in A772 cells through activation of PKC/c-Fos pathway. *Peptides* 2010; 31: 2046-2051 [PMID: 20688121 DOI: 10.1016/j.peptides.2010.07.017]
- 14 Reddy TR, Li C, Guo X, Myrvang HK, Fischer PM, Dekker LV. Design, synthesis, and structure-activity relationship exploration of 1-substituted 4-aryl-3-hydroxy-5-phenyl-1H-pyrrol-2(5H)-one analogues as inhibitors of the annexin A2-S100A10 protein interaction. *J Med Chem* 2011; 54: 2080-2094 [PMID: 21375334 DOI: 10.1021/jm101212e]
- 15 Wang YX, Lv H, Li ZX, Li C, Wu XY. Effect of shRNA mediated down-regulation of Annexin A2 on biological behavior of human lung adenocarcinoma cells A549. *Pathol Oncol Res* 2012; 18: 183-190 [PMID: 21688086 DOI: 10.1007/s12253-011-9427-2]
- 16 Zhang X, Liu S, Guo C, Zong J, Sun MZ. The association of annexin A2 and cancers. *Clin Transl Oncol*



- 2012; 14: 634-640 [PMID: 22855149 DOI: 10.1007/s12094-012-0855-6]
- 17 Pena-Alonso E, Rodrigo JP, Parra IC, Pedrero JM, Meana MV, Nieto CS, Fresno MF, Morgan RO, Fernandez MP. Annexin A2 localizes to the basal epithelial layer and is down-regulated in dysplasia and head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Lett* 2008; 263: 89-98 [PMID: 18262347 DOI: 10.1016/j.canlet.2007.12.029]
- 18 Madureira PA, Hill R, Miller VA, Giacomantonio C, Lee PW, Waisman DM. Annexin A2 is a novel cellular redox regulatory protein involved in tumorigenesis. *Oncotarget* 2011; 2: 1075-1093 [PMID: 22185818]
- 19 Zhang Y, Yu G, Wang Y, Zhang J, Wei S, Lee W, Zhang Y. A novel annexin A2 protein with platelet aggregation-inhibiting activity from amphibian *Bombina maxima* skin. *Toxicon* 2010; 56: 458-465 [PMID: 20466017 DOI: 10.1016/j.toxicon.2010.04.015]
- 20 Lokman NA, Ween MP, Oehler MK, Ricciardelli C. The role of annexin A2 in tumorigenesis and cancer progression. *Cancer Microenviron* 2011; 4: 199-208 [PMID: 21909879 DOI: 10.1007/s12307-011-0064-9]
- 21 Rezvanpour A, Santamaria-Kisiel L, Shaw GS. The S100A10-annexin A2 complex provides a novel asymmetric platform for membrane repair. *J Biol Chem* 2011; 286: 40174-40183 [PMID: 21949189 DOI: 10.1074/jbc.M111.244038]
- 22 Zhang L, Su TP, Choi K, Maree W, Li CT, Chung MY, Chen YS, Bai YM, Chou YH, Barker JL, Barrett JE, Li XX, Li H, Benedek DM, Ursano R. P11 (S100A10) as a potential biomarker of psychiatric patients at risk of suicide. *J Psychiatr Res* 2011; 45: 435-441 [PMID: 20863517 DOI: 10.1016/j.jpsychires.2010.08.012]
- 23 Rescher U, Gerke V. S100A10/p11: family, friends and functions. *Pflugers Arch* 2008; 455: 575-582 [PMID: 17638009]
- 24 Hou Y, Yang L, Mou M, Hou Y, Zhang A, Pan N, Qiang R, Wei L, Zhang N. Annexin A2 regulates the levels of plasmin, S100A10 and Fascin in L5178Y cells. *Cancer Invest* 2008; 26: 809-815 [PMID: 18608216 DOI: 10.1080/07357900801898664]
- 25 Reddy TR, Li C, Fischer PM, Dekker LV. Three-dimensional pharmacophore design and biochemical screening identifies substituted 1,2,4-triazoles as inhibitors of the annexin A2-S100A10 protein interaction. *ChemMedChem* 2012; 7: 1435-1446 [PMID: 22644793 DOI: 10.1002/cmdc.201200107]
- 26 Umbrecht-Jenck E, Demais V, Calco V, Bailly Y, Bader MF, Chasserot-Golaz S. S100A10-mediated translocation of annexin-A2 to SNARE proteins in adrenergic chromaffin cells undergoing exocytosis. *Traffic* 2010; 11: 958-971 [PMID: 20374557 DOI: 10.1111/j.1600-0854.2010.01065.x]
- 27 Kwon M, Yoon CS, Jeong W, Rhee SG, Waisman DM. Annexin A2-S100A10 heterotetramer, a novel substrate of thioredoxin. *J Biol Chem* 2005; 280: 23584-23592 [PMID: 15849182]
- 28 He KL, Deora AB, Xiong H, Ling Q, Weksler BB, Nievesvizky R, Hajjar KA. Endothelial cell annexin A2 regulates polyubiquitination and degradation of its binding partner S100A10/p11. *J Biol Chem* 2008; 283: 19192-19200 [PMID: 18434302 DOI: 10.1074/jbc.M800100200]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# VEGF -634G/C基因多态性与疾病相关性的研究进展

柏立婧, 杨宝山

柏立婧, 杨宝山, 哈尔滨医科大学附属第二医院感染内科 黑龙江省哈尔滨市 150000

柏立婧, 主要从事重型肝炎发病机制及慢性肝炎基因多态性研究。

作者贡献分布: 本文综述由柏立婧完成; 杨宝山审校。

通讯作者: 杨宝山, 教授, 主任医师, 150000, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路148号, 哈尔滨医科大学附属第二医院感染内科。

bai\_lijing@163.com

电话: 0451-86297509

收稿日期: 2014-02-21 修回日期: 2014-03-17

接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-05-08

## Association between VEGF -634G/C polymorphism and diseases

Li-Jing Bai, Bao-Shan Yang

Li-Jing Bai, Bao-Shan Yang, Department of Infectious Diseases, the 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Bao-Shan Yang, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, the 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 148 Baojian Road, Nangang District, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China. bai\_lijing@163.com

Received: 2014-02-21 Revised: 2014-03-17

Accepted: 2014-03-31 Published online: 2014-05-08

## Abstract

Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a special heparin-binding growth factor, and can significantly stimulate vasculogenesis and angiogenesis in both cancer and healthy tissues. There have been many studies confirming that the single nucleotide polymorphisms (SNP) of VEGF have a close relationship with the occurrence, development, and prognosis of diseases. According to statistics, the human VEGF gene has at least 30 SNP loci, among which VEGF -634C/G, -936C/T and -2578C/A mutations have been proved to regulate the VEGF plasma levels. Here we review the recent advances in understanding the association between VEGF -634G/C polymorphism and diseases.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Vascular endothelial growth factor; -634G/C; Single nucleotide polymorphism

Bai LJ, Yang BS. Association between VEGF -634G/C polymorphism and diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1801-1805 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1801.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1801>

## 摘要

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是对血管内皮细胞具有特异性的肝素结合生长因子,可在体内刺激血管新生,在正常组织以及肿瘤组织中都发挥着强大的促进血管生成的作用。现已有较多研究证实VEGF的基因多态性与多种疾病的发生、发展、预后都有着密切的关系。据统计人类的VEGF基因至少包含30多个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)位点,其中VEGF -634C/G、-936C/T和-2578C/A突变位点已被证明可改变VEGF的血浆水平,现本文选取VEGF -634G/C位点对其多态性与疾病的相关性进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 血管内皮生长因子; -634G/C; 单核苷酸多态性

**核心提示:** 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)634G/C基因多态性几乎与全身各个系统的疾病相关,多国学者都在积极努力的研究,但更多的挑战需要我们共同迎接。

柏立婧, 杨宝山. VEGF -634G/C基因多态性与疾病相关性的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(13): 1801-1805 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1801.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1801>

## 0 引言

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是由细胞产生的能刺激新生血管形成的化学因子<sup>[1]</sup>,是目前发现的活性和特异性最强的血管生成因子<sup>[2]</sup>,在多种疾病的发生发展过程中发挥着强大的调节作用,并能维持血管内皮细胞分化状态、提高微血管通透性。VEGF

## ■背景资料

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是人体最重要的促血管生成因子,对新生血管的形成起到了重要作用。近几年的研究发现单核苷酸基因位点的突变影响了血管内皮生长因子的血浆水平,与疾病的发生、发展和预后有着密切的关系。对其与疾病相关性的研究将为今后医疗事业的发展提供新思路。

## ■同行评议者

黄缘, 教授, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

## ■ 研究前沿

VEGF基因至少包含30多个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)位点, 目前研究较多的有-460C/T、-634G/C、+936C/T、-2578C/A、-1154G/A等。VEGF的SNP位点与多种疾病不同预后的相关性研究已经越来越引起人们的重视, 类于此项的研究将为未来疾病的基因诊疗起到重要的推动作用。

蛋白家族共有6个成员, 分别是VEGF(亦称VEGFA)、VEGFB、VEGFC、VEGFD、VEGFE和胎盘生长因子(placenta growth factor, PLGF)<sup>[3]</sup>, 分子量从35 kDa到45 kDa不等。VEGF蛋白质结构具有高度保守性, 是通过两对链间二硫键共价连接的反平行同型二聚体<sup>[4]</sup>。编码VEGF的基因定位于6p21.3, 全长约14 kb, 由8个外显子和7个内含子交替组成<sup>[5]</sup>。VEGF具有两大重要功能: 促进血管内皮细胞分裂增生和增加血管通透性, 主要是通过血管内皮细胞表面特异性受体结合而发挥生物学效用<sup>[6]</sup>。VEGF因能特异性的促进血管内皮分裂、增殖及迁移, 被公认为是血管生成的"中心调节者", 是最为有力的血管生成因子<sup>[7]</sup>。

## 1 VEGF的基因多态性

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP), 即散在的单个碱基的不同, 包括单个碱基的缺失和插入, 但更多的是单个碱基的置换, 使同一基因位点可存在两种以上的基因型, 他是人类可遗传变异中最常见的一种, 占有已知多态性的90%以上。SNPs是人与人之间基因差异的主要表现形式, 也就是这些SNPs位点的不同决定了人在寿命、体质、外形、性格、疾病的转归等方面的差异。人类的VEGF基因至少有30多个SNP位点, 仅在其启动子区就有10种多态性, 目前研究比较多的SNP位点有-460C/T(rs833061)、-634G/C(rs2010963)、+936C/T(rs3025039)、-2578C/A(rs699947)、-1154G/A(rs1570360)等<sup>[8,9]</sup>。基于近几年的研究, VEGF -634C/G、-936C/T和-2578C/A突变位点已被证明可改变VEGF的血浆水平<sup>[10-12]</sup>, 现本文对-634G/C(rs2010963)位点与近年研究较多的与之相关的疾病进行综述。

## 2 VEGF -634G/C基因多态性与相关性疾病

2.1 VEGF -634G/C基因多态性与眼部疾病 经多年研究发现VEGF -634G/C SNPs与2型糖尿病视网膜病变关系密切。Awata等<sup>[13]</sup>对来自日本的378例2型糖尿病患者进行研究, 其中203例无视网膜病变, 93例为非增殖性糖尿病视网膜病变(non-proliferative diabetic retinopathy, NPDR), 82例为增殖性糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR), 其中黄斑水肿在NPDR、PDR中分别为16例和47例。研究结果显示, 在VEGF基因启动区(5p-UTR、3p-UTR), 5p-

UTR的-634G/C基因多态性与糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)关系最为密切, DR患者的-624C等位基因频率明显高于不伴DR患者。由此得出, -634CC基因型是黄斑水肿的遗传危险因素, 并与2型糖尿病的黄斑部视网膜厚度明显相关。另一项于2012年对巴西53例视网膜样本的分析<sup>[14]</sup>显示在-634G/C位点多态性中C等位基因的频率与VEGFA的表达率呈正相关, 而目前的研究表明VEGFA与糖尿病视网膜病变关系密切。Errera等<sup>[15]</sup>对501例欧洲2型糖尿病患者的研究中发现, VEGF -634C等位基因是PDR的独立危险因素之一(OR = 1.9, 95%CI: 1.01-3.79,  $P = 0.04$ )。2012年Liu等<sup>[16]</sup>对VEGF基因多态性与早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)关系的大样本Meta分析显示VEGF -634G/C多态性与进展期ROP无相关性。

2.2 VEGF -634G/C基因多态性与消化系统疾病 Kim等<sup>[17]</sup>对来自韩国的864例人群进行了研究, 其中148例为患有胃十二指肠溃疡病组、716例为对照组, 研究人员对他们的VEGF基因多态性进行了检测, 结果显示-634G/C位点与胃十二指肠溃疡易感性无明显关联。Guan等<sup>[18]</sup>对美国德克萨斯大学MD安德森癌症中心(德克萨斯·休斯顿)病理证实为胃癌的171例患者, 以及从人群中招募的353例对照者进行VEGF SNPs检测, 统计结果显示杂合子-634CG以及-634CG+CC合并的基因型携带者患胃癌的风险与-634GG基因型相比明显增加。然而来自韩国的研究表明-634CC基因型明显降低胃癌的发病风险<sup>[19]</sup>。一项对韩国350例大肠癌患者的研究<sup>[20]</sup>表明虽然在韩国患有大肠癌的人群中血管内皮生长因子基因多态性的调查未被发现是独立的预后标志物, 但携带-634GG单倍型的患者在总的大肠癌患者中存活率较低。

2.3 VEGF -634G/C基因多态性与泌尿生殖系统疾病 2010年Sfar等<sup>[21]</sup>研究发现VEGF -634GG/CC单倍体基因型可显著降低前列腺癌的发病风险(OR = 0.14,  $P = 0.00005$ )。Hefler等<sup>[22]</sup>对来自欧洲的563例卵巢癌患者的研究发现, 同时携带VEGF -634CC, VEGF -1154GG, VEGF -2578CC三个纯合子基因型是降低卵巢癌整体存活率的独立因素, 为VEGF SNPs与卵巢癌的研究提供了第一手数据。Jeon等<sup>[23]</sup>对韩国118例孕周小于20 wk的自发性流产(spontaneously aborted fetuses, SAFs)患者和380例正常对照者的研究发现, VEGF -2578CA+AA/-634CC和-1154GA+AA/-



634CC联合基因型显著增加SAFs的发病率。但2012年一篇关于基因多态性能否作为妇科肿瘤的预测生物学指标的系统评价提示VEGF基因多态性与妇产科肿瘤的总生存率以及治疗毒性均无相关性<sup>[24]</sup>, 然而该评价没有详细的描述妇科肿瘤与VEGF基因多态性的关系且纳入病例仅有140例。

**2.4 VEGF -634G/C基因多态性与心脑血管疾病** VEGF是目前已知最强的促有丝分裂因子和血管生成因子, 能特异性的刺激血管内皮细胞增殖, 参与新生血管的形成, 其与心血管系统疾病的产生及预后关系十分密切。据相关资料显示, 室间隔缺损(ventricular septal defect, VSD)是最常见的先天性心脏缺陷, 2007年Xie等<sup>[25]</sup>对中国222例单纯性室间隔缺损的儿童和352例健康对照者的研究发现-634C等位基因在患病组(OR = 0.39, 95%CI: 0.25-0.62,  $\chi^2 = 8.11$ ,  $P = 0.004$ )的频率明显低于健康对照组(OR = 0.76, 95%CI: 0.59-0.97,  $\chi^2 = 5.06$ ,  $P = 0.024$ ), 提示-634C等位基因对VSD来说是重要的保护因素, 其可通过维持VEGF的稳定表达来防止VSD的发生。然而, 与之相反的是另一项对匈牙利儿童的研究<sup>[26]</sup>表明-634C等位基因在先天性心脏病组出现的频率更高, 因此更多的探讨需要我们去进行。2012年Park等<sup>[27]</sup>对韩国烟雾病患者的对照研究发现, -634CC基因型较少出现在小儿烟雾病组( $P = 0.040$ )且携带-634CC基因型的患者手术后呈现出更好的侧支血管构建, 此研究表明-634G等位基因与小儿烟雾病和侧支血管构建不良有相关性。

**2.5 VEGF -634G/C基因多态性与骨关节运动疾病** 2008年Kim等<sup>[28]</sup>首次报道了在VEGF基因启动区的-634G/C多态性与韩国人口股骨头坏死的易感性增加相关。随后, 2012年Liu等<sup>[29]</sup>的一项研究同样验证了血管内皮生长因子基因rs2010963位点(-634G/C)多态性与中国地区非创伤性股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH)相关。Liu等<sup>[29]</sup>将220例ONFH患者与同样数量的健康人用PCR-RFLP方法对比研究, 分析显示病例组该位点CC基因型(OR = 1.64, 95%CI: 1.03-2.60,  $P = 0.04$ )的频率高于对照组, 基因型与病因(激素、酒精、自发)无明显相关。此外, 欧洲一项研究<sup>[30]</sup>发现VEGF SNPs与女性双磷酸盐相关的颌骨坏死(bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws, BRONJ)相关。其将实验分为3组: A组为30例来自意大利患有BRONJ的女性, B组为30例曾静脉注射双磷酸

盐但不伴有骨坏死的阴性对照组, C组为125例健康对照者。结果显示: A组-634CC基因型的频率高于C组, 表明VEGF的表达可能与意大利女性BRONJ的易感性相关, 但此结果需要大样本实验的进一步证明。Lambrechts等<sup>[31]</sup>研究发现-634GG基因型可通过降低血管内皮生长因子的表达、加速运动神经元损伤和死亡增加肌萎缩性侧索硬化症的患病风险。综上研究显示VEGF -634G/C位点多态性与运动关节疾病的关系值得我们进一步探究。

**2.6 VEGF -634G/C基因多态性与其他恶性肿瘤** 乳腺癌是最常诊断出的癌症和女性癌症死亡的首要原因, 占癌症病例总数的23%和癌症死亡人数的14%<sup>[32]</sup>。2013年Luo等<sup>[33]</sup>对中国汉族乳腺癌患者的研究发现, -634CC基因型与乳腺癌肿瘤的高侵袭性明显相关[肿瘤体积大(OR = 2.63, 95%CI: 1.15-6.02,  $P = 0.02$ ); 组织学分级高(OR = 1.47, 95%CI: 1.06-2.03,  $P = 0.02$ )], 但与区域性或远处转移、诊断分期、雌激素或孕激素受体状态等其他肿瘤特性无关联。此外, VEGF -634G/C基因多态性还可能与其他恶性肿瘤存在相关性。2012年一项关于261例根治性放射治疗非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者的研究<sup>[34]</sup>发现, -460T/-634C/-936T单倍体型发生严重放射性肺炎(radiation pneumonitis, RP)的风险较高, 所以可能是用来预测RP易感性的重要生物学标志物。

### 3 结论

VEGF -634G/C基因多态性几乎与全身各个系统的疾病相关, 因-634CC基因型可通过增加VEGF的表达影响疾病的进展而成为多国研究的热点。虽然VEGF -634G/C基因多态性几乎与全身各个系统的疾病相关, 随着, 靶向治疗药物的发明、疾病诊断基因分型等需求的不断进展, VEGF基因多态性的研究也越来越有助于新位点的确立。希望, 今后多领域、大样本、多种族的研究能通过更多的国际间的合作来进行。

### 4 参考文献

- 1 Niu G, Chen X. Vascular endothelial growth factor as an anti-angiogenic target for cancer therapy. *Curr Drug Targets* 2010; 11: 1000-1017 [PMID: 20426765 DOI: 10.2174/138945010791591395]
- 2 Hsueh C, Lin JD, Wu IC, Chao TC, Yu JS, Liou MJ, Yeh CJ. Vascular endothelial growth factors and angiopoietins in presentations and prognosis of papillary thyroid carcinoma. *J Surg Oncol* 2011; 103: 395-399 [PMID: 21400522 DOI: 10.1002/jso.21844]

### ■相关报道

VEGF是目前已知的作用最强的促血管生成因子。VEGF -634C/G、-936C/T和-2578C/A突变位点已被证明可改变VEGF的血浆水平, -634CC等位基因型可通过增加VEGF的表达影响疾病发展。

## ■创新盘点

本文综述了二十年内多地区关于VEGF -634G/C基因多态性与多种疾病相关性的研究,具有一定的参考价值,并探讨了该项研究所能起到的重要作用,为今后科研的进一步发展提供了新的思路。

- 3 Roskoski R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 62: 179-213 [PMID: 17324579 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2007.01.006]
- 4 Muller YA, Christinger HW, Keyt BA, de Vos AM. The crystal structure of vascular endothelial growth factor (VEGF) refined to 1.93 Å resolution: multiple copy flexibility and receptor binding. *Structure* 1997; 5: 1325-1338 [PMID: 9351807]
- 5 Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, Persico G. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. *Circulation* 1996; 93: 1493-1495 [PMID: 8608615 DOI: 10.1161/01.CIR.93.8.1493]
- 6 Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999; 13: 9-22 [PMID: 9872925]
- 7 Wu MY, Ho HN. The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003; 49: 285-296 [PMID: 12854733 DOI: 10.1034/j.1600-0897.2003.01207.x]
- 8 Jacobs EJ, Feigelson HS, Bain EB, Brady KA, Rodriguez C, Stevens VL, Patel AV, Thun MJ, Calle EE. Polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene and breast cancer in the Cancer Prevention Study II cohort. *Breast Cancer Res* 2006; 8: R22 [PMID: 16613616 DOI: 10.1186/bcr1400]
- 9 Lu H, Shu XO, Cui Y, Kataoka N, Wen W, Cai Q, Ruan ZX, Gao YT, Zheng W. Association of genetic polymorphisms in the VEGF gene with breast cancer survival. *Cancer Res* 2005; 65: 5015-5019 [PMID: 15958542 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-2786]
- 10 Boiardi L, Casali B, Nicoli D, Farnetti E, Chen Q, Macchioni P, Catanoso MG, Pulsatelli L, Meliconi R, Salvarani C. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in giant cell arteritis. *J Rheumatol* 2003; 30: 2160-2164 [PMID: 14528511]
- 11 Renner W, Kotschan S, Hoffmann C, Obermayer-Pietsch B, Pilger E. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma levels. *J Vasc Res* 2000; 37: 443-448 [PMID: 11146397 DOI: 10.1159/000054076]
- 12 Watson CJ, Webb NJ, Bottomley MJ, Brenchley PE. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production. *Cytokine* 2000; 12: 1232-1235 [PMID: 10930302]
- 13 Awata T, Kurihara S, Takata N, Neda T, Iizuka H, Ohkubo T, Osaki M, Watanabe M, Nakashima Y, Inukai K, Inoue I, Kawasaki I, Mori K, Yoneya S, Katayama S. Functional VEGF C-634G polymorphism is associated with development of diabetic macular edema and correlated with macular retinal thickness in type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 333: 679-685 [PMID: 15963467]
- 14 Vailati FB, Crispim D, Sortica DA, Souza BM, Brondani LA, Canani LH. The C allele of -634G/C polymorphism in the VEGFA gene is associated with increased VEGFA gene expression in human retinal tissue. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 6411-6415 [PMID: 22915033 DOI: 10.1167/iovs.12-9727]
- 15 Errera FI, Canani LH, Silva ME, Yeh E, Takahashi W, Santos KG, Souto KE, Tschiedel B, Roisenberg I, Gross JL, Passos-Bueno MR. Functional vascular endothelial growth factor -634G>C SNP is associated with proliferative diabetic retinopathy: a case-control study in a Brazilian population of European ancestry. *Diabetes Care* 2007; 30: 275-279 [PMID: 17259494 DOI: 10.2337/dc06-1399]
- 16 Liu P, Wu D, Zhou W, Li Y, Lian C, Yang Y, Feng Z. Association of VEGF gene polymorphisms with advanced retinopathy of prematurity: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 10731-10737 [PMID: 23065202 DOI: 10.1007/s11033-012-1964-6]
- 17 Kim YS, Park SW, Kim MH, Jang EJ, Park JS, Park SJ, Baik HW, Chung G, Hahm KB. Novel single nucleotide polymorphism of the VEGF gene as a risk predictor for gastroduodenal ulcers. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23 Suppl 2: S131-S139 [PMID: 19120886 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05404.x]
- 18 Guan X, Zhao H, Niu J, Tang D, Ajani JA, Wei Q. The VEGF -634G>C promoter polymorphism is associated with risk of gastric cancer. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 77 [PMID: 19835575 DOI: 10.1186/1471-230X-9-77]
- 19 Chae YS, Kim JG, Sohn SK, Cho YY, Moon JH, Bae HI, Park JY, Lee MH, Lee HC, Chung HY, Yu W. Investigation of vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and its association with clinicopathologic characteristics in gastric cancer. *Oncology* 2006; 71: 266-272 [PMID: 17671399 DOI: 10.1159/000106788]
- 20 Jang MJ, Kim JW, Jeon YJ, Chong SY, Oh D, Kim NK. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in patients with colorectal cancer. *Int J Clin Oncol* 2013; 18: 1032-1041 [PMID: 23132736 DOI: 10.1007/s10147-012-0493-6]
- 21 Sfar S, Saad H, Mosbah F, Chouchane L. Synergistic effect and VEGF/HSP70-hom haplotype analysis: relationship to prostate cancer risk and clinical outcome. *Hum Immunol* 2010; 71: 377-382 [PMID: 20096741 DOI: 10.1016/j.humimm.2010.01.017]
- 22 Hefler LA, Mustea A, Könsgen D, Concini N, Tanner B, Strick R, Heinze G, Grimm C, Schuster E, Tempfer C, Reinthaller A, Zeillinger R. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with prognosis in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 898-901 [PMID: 17289883 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1008]
- 23 Jeon YJ, Kim JH, Rah H, Kim SY, Yoon TK, Choi DH, Cha SH, Shim SH, Kim NK. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in spontaneously aborted fetuses. *Am J Reprod Immunol* 2011; 66: 544-553 [PMID: 21902756 DOI: 10.1111/j.1600-0897.2011.01067.x]
- 24 Diaz-Padilla I, Amir E, Marsh S, Liu G, Mackay H. Genetic polymorphisms as predictive and prognostic biomarkers in gynecological cancers: a systematic review. *Gynecol Oncol* 2012; 124: 354-365 [PMID: 22063461 DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.10.034]
- 25 Xie J, Yi L, Xu ZF, Mo XM, Hu YL, Wang DJ, Ren HZ, Han B, Wang Y, Yang C, Zhao YL, Shi DQ, Jiang YZ, Shen L, Qiao D, Chen SL, Yu BJ. VEGF C-634G polymorphism is associated with protection from isolated ventricular septal defect: case-control and TDT studies. *Eur J Hum Genet* 2007; 15: 1246-1251 [PMID: 17625508 DOI: 10.1038/sj.ejhg.5201890]
- 26 Vannay A, Vászárhelyi B, Környei M, Treszl A, Kozma G, Györfy B, Tulassay T, Sulyok E. Single-nucleotide polymorphisms of VEGF gene are associated with risk of congenital valvuloseptal heart defects. *Am Heart J* 2006; 151: 878-881 [PMID: 16569553 DOI: 10.1016/j.ahj.2005.10.012]
- 27 Park YS, Jeon YJ, Kim HS, Chae KY, Oh SH, Han

- IB, Kim HS, Kim WC, Kim OJ, Kim TG, Choi JU, Kim DS, Kim NK. The role of VEGF and KDR polymorphisms in moyamoya disease and collateral revascularization. *PLoS One* 2012; 7: e47158 [PMID: 23077562 DOI: 10.1371/journal.pone.0047158]
- 28 Kim T, Hong JM, Lee J, Oh B, Park EK, Lee C, Bae S, Kim S. Promoter polymorphisms of the vascular endothelial growth factor gene is associated with an osteonecrosis of the femoral head in the Korean population. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16: 287-291 [PMID: 17698375 DOI: 10.1016/j.joca.2007.06.017]
- 29 Liu B, Cao Y, Wang D, Yao G, Bi Z. Vascular endothelial growth factor -634G/C polymorphism associated with osteonecrosis of the femoral head in a Chinese population. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012; 16: 739-743 [PMID: 22612467 DOI: 10.1089/gtmb.2011.0384]
- 30 Arduino PG, Menegatti E, Scoletta M, Battaglio C, Mozzati M, Chiecchio A, Berardi D, Vandone AM, Donadio M, Gandolfo S, Scully C, Broccoletti R. Vascular endothelial growth factor genetic polymorphisms and haplotypes in female patients with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Pathol Med* 2011; 40: 510-515 [PMID: 21251073 DOI: 10.1111/j.1600-0714.2010.01004.x]
- 31 Lambrechts D, Storkebaum E, Morimoto M, Del-Favero J, Desmet F, Marklund SL, Wyns S, Thijs V, Andersson J, van Marion I, Al-Chalabi A, Bornes S, Musson R, Hansen V, Beckman L, Adolfsson R, Pall HS, Prats H, Vermeire S, Rutgeerts P, Katayama S, Awata T, Leigh N, Lang-Lazdunski L, Dewerchin M, Shaw C, Moons L, Vlietinck R, Morrison KE, Robberecht W, Van Broeckhoven C, Collen D, Andersen PM, Carmeliet P. VEGF is a modifier of amyotrophic lateral sclerosis in mice and humans and protects motoneurons against ischemic death. *Nat Genet* 2003; 34: 383-394 [PMID: 12847526 DOI: 10.1038/ng1211]
- 32 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 33 Luo T, Chen L, He P, Hu QC, Zhong XR, Sun Y, Yang YF, Tian TL, Zheng H. Vascular endothelial growth factor (VEGF) gene polymorphisms and breast cancer risk in a Chinese population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 2433-2437 [PMID: 23725153]
- 34 Yin M, Liao Z, Yuan X, Guan X, O'Reilly MS, Welsh J, Wang LE, Wei Q. Polymorphisms of the vascular endothelial growth factor gene and severe radiation pneumonitis in non-small cell lung cancer patients treated with definitive radiotherapy. *Cancer Sci* 2012; 103: 945-950 [PMID: 22320189 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2012.02229.x]

## ■同行评价

该文选题好, 条理清晰, 语言流畅, 能够比较全面概括近二十年国内外研究情况。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# MicroRNA-143与消化系统肿瘤的研究进展

陈小林, 周 贤

## ■背景资料

微小RNA是一种非编码单链小分子RNA, 参与基因的转录后表达调控, 调节许多重要的细胞活动; 近年研究发现miRNA在多种人类肿瘤细胞中表达异常, 在肿瘤的发生、发展中起癌基因或抑癌基因的作用. 大量研究表明miR-143的下调表达在消化系统肿瘤的发生、发展中起着重要的作用.

陈小林, 周贤, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000

陈小林, 在读硕士, 主要从事消化内科的相关研究.

作者贡献分布: 本文综述由陈小林完成; 周贤审校.

通讯作者: 周贤, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市太平街 25号, 泸州医学院附属医院消化内科. zhouxian68@163.com  
电话: 0830-3165331

收稿日期: 2014-03-05 修回日期: 2014-03-25

接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## MicroRNA143 and tumors of the digestive system

Xiao-Lin Chen, Xian Zhou

Xiao-Lin Chen, Xian Zhou, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Xian Zhou, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Street, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. zhouxian68@163.com  
Received: 2014-03-05 Revised: 2014-03-25

Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

## Abstract

Recent studies have found that microRNAs have functions analogous to oncogenes or tumor suppressor genes and are important molecules in tumor occurrence and development. In particular, downregulation of microRNA-143 expression in tumors of the digestive system can inhibit tumor proliferation, infiltration and metastasis via regulation of its target genes. In this paper, we review the latest research progress in understanding the role of microRNA-143 in the digestive system.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: MicroRNA143; Digestive system tumors

Chen XL, Zhou X. MicroRNA143 and tumors of the digestive system. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1806-1811 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1806.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1806>

## 摘要

近来研究发现microRNA具有癌基因或抑癌基因样作用, 是肿瘤发生、发展过程中的重要分子, 其中miR-143在消化系统肿瘤中表达下调, 通过其对靶基因的调控, 可抑制肿瘤细胞的增殖、浸润及转移. 本文就近年来miR-143在消化系统肿瘤中的作用的研究进展作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: MicroRNA143; 消化系统肿瘤

**核心提示:** 大量研究表明miR-143的下调表达在消化系统肿瘤的发生、发展中起着重要的作用. 本文综述了miR-143与各种消化系统肿瘤的研究进展.

陈小林, 周贤. MicroRNA143与消化系统肿瘤的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(13): 1806-1811 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1806.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1806>

## 0 引言

微小RNA(microRNA, miRNA)是真核生物中一种约18-22个核苷酸大小、参与转录后基因调控的非编码单链小分子RNA, 可特异性识别靶microRNA的3'-非翻译区(3'-untranslated region, 3'UTR)并与之结合, 引起靶microRNA的降解或翻译抑制, 从而对基因进行转录后的表达调控, 调节许多重要的细胞活动<sup>[1-4]</sup>. 近年研究发现miRNA在多种人类肿瘤细胞中表达异常, 在肿瘤的发生、发展中起癌基因或抑癌基因的作用. 现已发现了千余个miRNA, 推测他们在细胞的增殖、分化、迁移、代谢和凋亡中起重要调节作用<sup>[5-7]</sup>, 但对于miRNA在肿瘤发生中的作用机制及其如何影响肿瘤的生物学特性目前知之甚少. 在众多的microRNAs中, microRNA-143(miR-143)定位于人类第5号染色体长臂3区2带(5q32), 其最初在鼠组织被发现, 其表达具有明显的组织特异性, 与细胞的分化密切相关<sup>[8,9]</sup>; 近年研究发现miR-143在食管癌<sup>[10,11]</sup>、胰

## ■同行评议者

陈洪, 主任医师, 副教授, 东南大学附属中大医院消化科

腺癌<sup>[12,13]</sup>、前列腺癌<sup>[14-16]</sup>、膀胱癌<sup>[17-19]</sup>、白血病<sup>[20,21]</sup>、结肠癌<sup>[22,23]</sup>等肿瘤发生发展过程中发挥肿瘤抑制作用, 本文就miR-143在消化系肿瘤中的研究进展作一综述。

## 1 miR-143与食管癌

Wu等<sup>[24]</sup>通过miRNA微阵列分析方法确定miR-143、miR-145在食管癌细胞和正常组织中差异性表达, 并用荧光定量RT-PCR方法检测了86例食管鳞状细胞癌患者中miR-143和miR-145的表达情况, 结果显示在大部分食管鳞癌组织中miR-143和-145的表达水平显著下降, 且miR-143和miR-145的表达水平与肿瘤浸润深度相关; 在细胞划痕实验中, 将miR-143和miR-145表达质粒转染入人的食管癌细胞, 随着转染pcDNA-miR143和pcDNA-miR145后, 这两个microRNAs的表达水平显著增加, 结果显示转染后的食管癌细胞的迁移距离非常短, 不能使“划痕”愈合, 推测miR-143和miR-145对食管癌细胞的迁移能力有明显的抑制作用。Liu等<sup>[25]</sup>也对110例诊断为食管鳞状细胞癌患者进行分析研究, 通过定量RT-PCR技术对食管癌样本与邻近非癌组织进行miRNAs分析, 结果研究发现miR-143和miR-145食管癌组织中显著低表达, 提示miR-143和miR-145能抑制食管癌的发生。同时, 为进一步寻找其作用靶点, 通过生物信息学分析及荧光素酶实验发现miR-143和miR-145在抑制肌动蛋白结合蛋白(fascin homolog 1, FSCN1)上表现出协同效应; miR-143对靶点抑制效率高于miR-145, 提示FSCN1基因的3'UTR可能是miR-143和miR-145调节的靶点, 但同时也有不同研究发现, FSCN1蛋白质在人食管癌细胞株(KYSE-510、EC109)中分别呈高水平表达及低水平表达, miR-143/miR-145集群同FSCN1蛋白质表达水平的无明显关联性, 推测其可能受到多种miRNAs的共同调节。而对食管癌危险因素分析发现大量吸烟患者的miR-145的表达水平比不吸烟者或偶尔吸烟者显著减少; 酗酒患者miR-143的表达水平比非饮酒或偶尔饮酒者的明显下降, 证明环境因素可以影响miRNA的表达情况, 吸烟、饮酒等不良生活习惯可以通过miRNA增加食管癌的发病风险。随后, Ni等<sup>[26]</sup>也通过RT-PCR检测了40例食管癌和正常食管组织中miR-143和miR-145的表达情况, 结果也发现miR-143和miR-145在食管鳞状细胞癌中的表达水平明显降低, 提示食管癌的发生与miR-143

和miR-145下调相关; 将miR-143转染入人食管癌细胞株(TE-1、Ec109)中, 并检测miR-143对细胞增殖、凋亡及细胞迁移能力的影响, 其结果显示上调的miR-143对人食管癌细胞株(TE-1、Ec109)的增殖、凋亡及、迁移能力有明显的抑制作用。故miR-143在食管癌中作为一个抑癌基因, 他可能与食管癌的发生、发展及转移密切相关。但也有研究发现<sup>[27-29]</sup>, 食管癌复发及有淋巴结转移患者miR-143表达水平上调, miR-143表达水平越高, 食管癌患者生存率越低, 这些研究提示miR-143可能是致癌基因, 与前述研究相异。我们推测, 这种差异可能是由于不同的miRNA的活性与不同组织类型及细胞代谢所引起的; 也有可能是miR-143初始失表达使得致癌性转化, 但其再表达促使肿瘤向不同表型的转化, 并有可能参与了肿瘤的淋巴结转移。

## 2 miR-143与胃癌

邹丰等<sup>[30]</sup>研究发现低浓度的雌激素促进胃癌细胞的侵袭, 高浓度的雌激素抑制胃癌细胞的侵袭, 进一步的研究表明胃癌的侵袭能力和雌激素受体ER- $\alpha$ 36的表达呈正相关, 其机制可能与miR-143的调控有关。Takagi等<sup>[31]</sup>也应用实时荧光定量RT-PCR检测了43个胃癌组织中的miR-143和miR-145表达情况, 发现在胃癌组织中miR-143和miR-145表达下调。其后, 林巧爱等<sup>[32]</sup>通过茎环逆转录实时定量PCR技术检测了32例胃癌组织相对于对应癌旁正常组织miR-143的表达情况, 其结果也同样显示在肿瘤组织中miR-143的表达量明显减少; 进一步分析了miR-143表达水平与胃癌多种临床病理特征的关系, 发现miR-143表达水平与性别、年龄、癌症位置、癌症大小、癌症浸润深度及TMN分期无关, 但与分化程度及有无淋巴结转移有关, miR-143的表达与分化程度呈正相关, miR-143低表达于有淋巴结转移胃癌组织, 而高表达于无淋巴结转移胃癌组织, 这些结果提示miR-143的低表达同胃癌的发生发展关系密切; 进一步的ROC分析显示, miR-143评价胃癌细胞分化程度的特异性和敏感性可达75.0%和79.2%; 以上研究结果表明, miR-143表达下调可能与胃癌的发生发展有关, miR-143可作为评价低分化胃癌的辅助指标。

## 3 miR-143与胰腺癌

Pramanik等<sup>[33]</sup>合成了基于脂质的毫微粒, 使其

## ■研究前沿

miRNAs的表达失调与肿瘤发病密切相关, 具有癌基因或抑癌基因的作用, 是肿瘤诊断和治疗的重要靶点, 近年来关于miRNA的研究热点主要集中在miRNA在肿瘤发生和进展中所参与的具体信号通路及miRNA本身的表达变化。

### ■相关报道

近年来研究发现, miR-143不仅与消化系统肿瘤的发生、发展密切相关,还与白血病、乳腺癌、骨肉瘤、脂肪肉瘤、尤文氏肉瘤、膀胱癌、前列腺癌等肿瘤密切相关,并且miR-143与miR-145在某些肿瘤中表现出协同作用。

携带miRNA至癌细胞内,这种毫微粒无明显毒性,直径大约100 nm;将含有miR-143/miR-145的毫微粒注射入小鼠体内,结果发现小鼠皮下的人胰腺癌细胞(MiaPaCa-2)移植物的生长速度减缓,将其注射入胰腺内将产生更为明显的抑制生长的效应;伴随着胰腺癌细胞生长速度的减慢以及增殖的抑制和凋亡的增加,研究发现该效应是通过靶基因KRAS2和RAS反应元件结合蛋白1(ras responsive element binding protein-1, RREB1)实现。Kent等<sup>[34]</sup>通过慢病毒载体上调胰腺癌细胞中miR-143/145簇后发现,人胰腺癌细胞PANC-1和其他人胰腺癌细胞(PANC-2.03、HPNE-KrasG12D和Miapaca-2)表现出明显的体外克隆形成及体内成瘤受抑,但分别转染miR-143及miR-145后人胰腺癌细胞PANC-1就不表现出上述变化,显示上调miR-143对人胰腺癌细胞PANC-1的增殖凋亡并没有显著影响;推断可能在某些细胞中,miR-143需要与miR-145共同表达才能充分发挥其抑癌作用,而且miR-143在不同肿瘤细胞中所起到的抑癌作用的具体表现也可能会有所差异。其后,程文捷等<sup>[35]</sup>通过人工合成miR-143的模拟物,转染入人胰腺癌细胞PANC-1,并检测miR-143的模拟物对细胞增殖、凋亡及细胞迁移能力的影响,其结果显示上调miR-143对人胰腺癌细胞PANC-1的增殖凋亡并没有显著影响,而对胰腺癌细胞迁移能力有明显的抑制作用,并提示TAK1可能是其靶基因之一。该研究与Kent等<sup>[34]</sup>研究结果一致,进一步提示miR-143与胰腺癌的转移相关,也为胰腺癌的发病机制提供了新的认识,提示对miR-143干预可能成为潜在治疗胰腺癌的新方法并作为胰腺癌是否转移的潜在标志物。Ali等<sup>[36]</sup>研究发现,3种人胰腺癌细胞(MiaPaCa-2、COLO-357、BxPC-3)中,人胰腺癌细胞MiaPaCa-2中miR-143呈低表达,但人胰腺癌细胞MiaPaCa-2中*ras*基因的表达及其活性比在其他两种细胞中高,推测miR-143对*ras*基因的表达及其活性呈负性调控作用;进一步将miR-143前体转染入人胰腺癌细胞(COLO-357和MIAPaCa-2)中,通过qRT-PCR技术检测miR-143表达水平,显示miR-143表达上调,上调表达的miR-143负性调控*ras*基因,使Ras蛋白表达及其GTP酶活性减低,从而抑制肿瘤细胞增殖和克隆,故推测miR-143的靶基因是*ras*,肿瘤细胞内的miR-143重新表达会负性调控*ras*基因的活性,使得体外细胞增

殖和集落形成受到抑制。随后的研究发现<sup>[37,38]</sup>,miR-143对GEF1、GEF2和KRAS 3种靶基因进行调控,使得Ras相似物GTP酶(Ras homologue GTPases, RhoGTPases)活性减低,通过对Rho信号通路的控制来抑制胰腺癌细胞的转移及浸润。故miR-143可能作为抑癌基因,参与了胰腺癌的发生发展,并可能成为胰腺癌治疗的新靶点。

### 4 MiR-143与肝癌

MiR-143与肝癌的关系研究较少,马兆龙等<sup>[39]</sup>研究发现,与正常肝脏组织相比,乙型肝炎肝硬化和HBV相关性肝癌组织中miR-143表达下调。Zhang等<sup>[40]</sup>进一步研究发现,miR-143对肝癌的迁移和侵袭能力有显著抑制,但是对肝癌细胞的增殖、凋亡没有明显的影响。

### 5 MiR-143与结肠癌

Michael等<sup>[41]</sup>第一次报道了miR-143在结肠癌细胞株和肿瘤组织中下调表达,并且在结肠癌癌前病变的腺瘤性息肉组织中就已经检测到了miR-143的表达下调,进一步研究显示,miR-143的发夹状前体的含量在肿瘤组织及正常组织中几乎是等量的,提示miR-143表达水平的降低发生在转录后加工水平,可能是由于其加工过程受到了破坏,特定miRNA稳定性下降。此后许多研究<sup>[22,42-44]</sup>也发现,miR-143在结肠癌中呈下调表达或者不表达,miR-143有抑制肿瘤细胞增殖生长作用,起着抑癌基因的作用;进一步研究发现,miR-143在肿瘤中的表达极其复杂,在不同的肿瘤标本细胞与细胞系上其表达水平不同,其表达情况同时还与肿瘤大小及临床分期可能有关。随着研究的不断深入,Ng等<sup>[43]</sup>研究发现,在结肠癌组织中,miR-143与DNA甲基转移酶3A在mRNA和蛋白水平的表达呈负相关,通过荧光素酶检测证实DNA甲基转移酶3A是miR-143的靶点。Chen等<sup>[45]</sup>研究发现,miR-143通过抑制ERK1/2的磷酸化来抑制KRAS基因的表达,以此来抑制结肠癌细胞的生长,推测癌基因KRAS可能是miR-143的靶点。Zhang等<sup>[46]</sup>发现,结肠癌转移相关基因1(metastasis-associated in colon cancer-1, MACC1)也可能是miR-143的靶点,miR-143通过对MACC1的调控来抑制结肠癌细胞的侵袭和转移。多项研究发现<sup>[47-49]</sup>,miR-143可能通过调节靶目标己糖激酶2(hexokinase 2, HK2),影响结肠癌细胞的糖代谢,由此来



抑制癌细胞的增殖和生长. 以上研究结果表明, miR-143可能通过不同的靶点及调控途径, 在肿瘤的发生和发展过程中发挥着重要的作用.

## 6 结论

MiR-143作为一种重要的微小RNA, 在多种消化系恶性肿瘤中均下调表达, 其通过对靶基因的调控参与调控消化系恶性肿瘤细胞的增殖生长、凋亡、侵袭及转移, 在对消化系恶性肿瘤的治疗及对其预后的判断上, miR-143具有重要的意义. 现在, 对于miR-143的生物学功能有很多研究, 但对其在抑制癌症发生发展的作用机制及针对miR-143的基因治疗方面的研究甚少. 可以预见的是, 随着科学技术的发展, 分子生物学的继续深入, miR-143在消化系恶性肿瘤的预防、预测及个体化治疗中发挥重要作用, 具有广阔的应用前景.

## 7 参考文献

- Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science* 2004; 303: 83-86 [PMID: 14657504]
- Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. *Annu Rev Biochem* 2010; 79: 351-379 [PMID: 20533884 DOI: 10.1146/annurev-biochem-060308-103103]
- Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136: 215-233 [PMID: 19167326 DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.002]
- Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet* 2010; 11: 597-610 [PMID: 20661255 DOI: 10.1038/nrg2843]
- Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, Wienholds E, Plasterk RH, Cuppen E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. *Cell* 2005; 120: 21-24 [PMID: 15652478]
- Flynt AS, Lai EC. Biological principles of microRNA-mediated regulation: shared themes amid diversity. *Nat Rev Genet* 2008; 9: 831-842 [PMID: 18852696 DOI: 10.1038/nrg2455]
- Ventura A, Jacks T. MicroRNAs and cancer: short RNAs go a long way. *Cell* 2009; 136: 586-591 [PMID: 19239879 DOI: 10.1016/j.cell.2009.02.005]
- Esau C, Kang X, Peralta E, Hanson E, Marcusson EG, Ravichandran LV, Sun Y, Koo S, Perera RJ, Jain R, Dean NM, Freier SM, Bennett CF, Lollo B, Griffey R. MicroRNA-143 regulates adipocyte differentiation. *J Biol Chem* 2004; 279: 52361-52365 [PMID: 15504739]
- Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol* 2002; 12: 735-739 [PMID: 12007417]
- Fu HL, Wu de P, Wang XF, Wang JG, Jiao F, Song LL, Xie H, Wen XY, Shan HS, Du YX, Zhao YP. Altered miRNA expression is associated with differentiation, invasion, and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) in patients from Huaian, China. *Cell Biochem Biophys* 2013; 67: 657-668 [PMID: 23516093 DOI: 10.1007/s12013-013-9554-3]
- Mayne GC, Hussey DJ, Watson DI. MicroRNAs and esophageal cancer--implications for pathogenesis and therapy. *Curr Pharm Des* 2013; 19: 1211-1226 [PMID: 23092342]
- Link A, Becker V, Goel A, Wex T, Malfertheiner P. Feasibility of fecal microRNAs as novel biomarkers for pancreatic cancer. *PLoS One* 2012; 7: e42933 [PMID: 22905187 DOI: 10.1371/journal.pone.0042933]
- Liu L, Gong L, Zhang Y, Li N. Glycolysis in Panc-1 human pancreatic cancer cells is inhibited by everolimus. *Exp Ther Med* 2013; 5: 338-342 [PMID: 23251295]
- Clapé C, Fritz V, Henriquet C, Apparailly F, Fernandez PL, Iborra F, Avancès C, Villalba M, Culine S, Fajas L. miR-143 interferes with ERK5 signaling, and abrogates prostate cancer progression in mice. *PLoS One* 2009; 4: e7542 [PMID: 19855844 DOI: 10.1371/journal.pone.0007542]
- Szczyrba J, Löprich E, Wach S, Jung V, Unteregger G, Barth S, Grobholz R, Wieland W, Stöhr R, Hartmann A, Wullich B, Grässer F. The microRNA profile of prostate carcinoma obtained by deep sequencing. *Mol Cancer Res* 2010; 8: 529-538 [PMID: 20353999 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-09-0443]
- Wu D, Huang P, Wang L, Zhou Y, Pan H, Qu P. MicroRNA-143 inhibits cell migration and invasion by targeting matrix metalloproteinase 13 in prostate cancer. *Mol Med Rep* 2013; 8: 626-630 [PMID: 23732700 DOI: 10.3892/mmr.2013.1501]
- Song T, Zhang X, Wang C, Wu Y, Dong J, Gao J, Cai W, Hong B. Expression of miR-143 reduces growth and migration of human bladder carcinoma cells by targeting cyclooxygenase-2. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 929-933 [PMID: 21790228]
- Pignot G, Cizeron-Clairac G, Vacher S, Susini A, Tozlu S, Vieillefond A, Zerbib M, Lidereau R, Debret B, Amsellem-Ouazana D, Bieche I. microRNA expression profile in a large series of bladder tumors: identification of a 3-miRNA signature associated with aggressiveness of muscle-invasive bladder cancer. *Int J Cancer* 2013; 132: 2479-2491 [PMID: 23169479 DOI: 10.1002/ijc.27949]
- Puerta-Gil P, García-Baquero R, Jia AY, Ocaña S, Alvarez-Múgica M, Alvarez-Ossorio JL, Cordon-Cardo C, Cava F, Sánchez-Carbayo M. miR-143, miR-222, and miR-452 are useful as tumor stratification and noninvasive diagnostic biomarkers for bladder cancer. *Am J Pathol* 2012; 180: 1808-1815 [PMID: 22426337 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.01.034]
- 张媛媛, 郑永青, 李小雨, 吴淡森, 谢水玲, 沈建箴. MicroRNA-143在急性白血病患者与正常人骨髓细胞中的差异表达及意义. *中国实验血液学杂志* 2011; 19: 308-311
- Dou L, Zheng D, Li J, Li Y, Gao L, Wang L, Yu L. Methylation-mediated repression of microRNA-143 enhances MLL-AF4 oncogene expression. *Oncogene* 2012; 31: 507-517 [PMID: 21706045 DOI: 10.1038/onc.2011.248]
- Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. MicroRNA-143 and -145 in colon cancer. *DNA Cell Biol* 2007; 26: 311-320

## ■创新盘点

miR-143作为一种新的基因表达调控因子, 本文阐述了其在消化系肿瘤中的表达情况, 并详细综述了其参与肿瘤发生、发展的调控通道及靶点.

## ■应用要点

- 本文综述miR-143在消化系肿瘤发病机制中的作用,可能在消化系肿瘤的预防、预测及个体化治疗中发挥重要作用。
- 23 Luo X, Burwinkel B, Tao S, Brenner H. MicroRNA signatures: novel biomarker for colorectal cancer? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20: 1272-1286 [PMID: 21551242 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0035]
  - 24 Wu BL, Xu LY, Du ZP, Liao LD, Zhang HF, Huang Q, Fang GQ, Li EM. MiRNA profile in esophageal squamous cell carcinoma: downregulation of miR-143 and miR-145. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 79-88 [PMID: 21218087 DOI: 10.3748/wjg.v17.i1.79]
  - 25 Liu R, Liao J, Yang M, Sheng J, Yang H, Wang Y, Pan E, Guo W, Pu Y, Kim SJ, Yin L. The cluster of miR-143 and miR-145 affects the risk for esophageal squamous cell carcinoma through co-regulating fascin homolog 1. *PLoS One* 2012; 7: e33987 [PMID: 22457808 DOI: 10.1371/journal.pone.0033987]
  - 26 Ni Y, Meng L, Wang L, Dong W, Shen H, Wang G, Liu Q, Du J. MicroRNA-143 functions as a tumor suppressor in human esophageal squamous cell carcinoma. *Gene* 2013; 517: 197-204 [PMID: 23276710 DOI: 10.1016/j.gene.2012.12.031]
  - 27 Akagi I, Miyashita M, Ishibashi O, Mishima T, Kikuchi K, Makino H, Nomura T, Hagiwara N, Uchida E, Takizawa T. Relationship between altered expression levels of MIR21, MIR143, MIR145, and MIR205 and clinicopathologic features of esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2011; 24: 523-530 [PMID: 21453382 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01177.x]
  - 28 Feber A, Xi L, Pennathur A, Gooding WE, Bandla S, Wu M, Luketich JD, Godfrey TE, Litle VR. MicroRNA prognostic signature for nodal metastases and survival in esophageal adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2011; 91: 1523-1530 [PMID: 21420070 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2011.01.056]
  - 29 Liu SG, Qin XG, Zhao BS, Qi B, Yao WJ, Wang TY, Li HC, Wu XN. Differential expression of miRNAs in esophageal cancer tissue. *Oncol Lett* 2013; 5: 1639-1642 [PMID: 23761828]
  - 30 邹丰, 王绪明, 刘丽江. ER- $\alpha$ 36和miR-143介导胃癌细胞的侵袭. *中国病理生理杂志* 2012; 28: 2167-2171
  - 31 Takagi T, Iio A, Nakagawa Y, Naoe T, Tanigawa N, Akao Y. Decreased expression of microRNA-143 and -145 in human gastric cancers. *Oncology* 2009; 77: 12-21 [PMID: 19439999 DOI: 10.1159/000218166]
  - 32 林巧爱, 李玲玲, 巩文辞, 武文一, 沈贤, 张丽芳, 薛向阳. miR-143在胃癌中的表达及其临床病理意义. *中国病理生理杂志* 2010; 26: 1674-1678
  - 33 Pramanik D, Campbell NR, Karikari C, Chivukula R, Kent OA, Mendell JT, Maitra A. Restitution of tumor suppressor microRNAs using a systemic nanovector inhibits pancreatic cancer growth in mice. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 1470-1480 [PMID: 21622730 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0152]
  - 34 Kent OA, Chivukula RR, Mullendore M, Wentzel EA, Feldmann G, Lee KH, Liu S, Leach SD, Maitra A, Mendell JT. Repression of the miR-143/145 cluster by oncogenic Ras initiates a tumor-promoting feed-forward pathway. *Genes Dev* 2010; 24: 2754-2759 [PMID: 21159816 DOI: 10.1101/gad.1950610]
  - 35 程文捷, 唐健, 黄凤婷, 庄燕妍, 陈文博, 张世能. 微小RNA-143对人胰腺癌PANC-1细胞迁移的抑制作用及其机制的探讨. *肿瘤* 2012; 32: 855-861
  - 36 Ali S, Ahmad A, Aboukameel A, Bao B, Padhye S, Philip PA, Sarkar FH. Increased Ras GTPase activity is regulated by miRNAs that can be attenuated by CDF treatment in pancreatic cancer cells. *Cancer Lett* 2012; 319: 173-181 [PMID: 22261338 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.01.013]
  - 37 Wang X, Zhao J, Huang J, Tang H, Yu S, Chen Y. The regulatory roles of miRNA and methylation on oncogene and tumor suppressor gene expression in pancreatic cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 425: 51-57 [PMID: 22820191 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.07.047]
  - 38 Hu Y, Ou Y, Wu K, Chen Y, Sun W. miR-143 inhibits the metastasis of pancreatic cancer and an associated signaling pathway. *Tumour Biol* 2012; 33: 1863-1870 [PMID: 23070684 DOI: 10.1007/s13277-012-0446-8]
  - 39 马兆龙, 杨炼, 陈立波, 黄金明, 王冬冬, 王国斌. miRNA在HBV从感染经由肝硬化到肝癌进程中表达谱的变化. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2112-2116
  - 40 Zhang X, Liu S, Hu T, Liu S, He Y, Sun S. Up-regulated microRNA-143 transcribed by nuclear factor kappa B enhances hepatocarcinoma metastasis by repressing fibronectin expression. *Hepatology* 2009; 50: 490-499 [PMID: 19472311 DOI: 10.1002/hep.23008]
  - 41 Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 882-891 [PMID: 14573789]
  - 42 Slaby O, Svoboda M, Fabian P, Smerdova T, Knoflickova D, Bednarikova M, Nenutil R, Vyzula R. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology* 2007; 72: 397-402 [PMID: 18196926 DOI: 10.1159/000113489]
  - 43 Ng EK, Tsang WP, Ng SS, Jin HC, Yu J, Li JJ, Röcken C, Ebert MP, Kwok TT, Sung JJ. MicroRNA-143 targets DNA methyltransferases 3A in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2009; 101: 699-706 [PMID: 19638978 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605195]
  - 44 Akao Y, Nakagawa Y, Hirata I, Iio A, Itoh T, Kojima K, Nakashima R, Kitade Y, Naoe T. Role of anti-oncomirs miR-143 and -145 in human colorectal tumors. *Cancer Gene Ther* 2010; 17: 398-408 [PMID: 20094072 DOI: 10.1038/cgt.2009.88]
  - 45 Chen X, Guo X, Zhang H, Xiang Y, Chen J, Yin Y, Cai X, Wang K, Wang G, Ba Y, Zhu L, Wang J, Yang R, Zhang Y, Ren Z, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Role of miR-143 targeting KRAS in colorectal tumorigenesis. *Oncogene* 2009; 28: 1385-1392 [PMID: 19137007 DOI: 10.1038/onc.2008.474]
  - 46 Zhang Y, Wang Z, Chen M, Peng L, Wang X, Ma Q, Ma F, Jiang B. MicroRNA-143 targets MACC1 to inhibit cell invasion and migration in colorectal cancer. *Mol Cancer* 2012; 11: 23 [PMID: 22533346 DOI: 10.1186/1476-4598-11-23]
  - 47 Peschiaroli A, Giacobbe A, Formosa A, Markert EK, Bongiorno-Borbone L, Levine AJ, Candi E, D'Alessandro A, Zolla L, Finazzi Agrò A, Melino G. miR-143 regulates hexokinase 2 expression in cancer cells. *Oncogene* 2013; 32: 797-802 [PMID: 22469988 DOI: 10.1038/onc.2012.100]
  - 48 Fang R, Xiao T, Fang Z, Sun Y, Li F, Gao Y, Feng Y, Li L, Wang Y, Liu X, Chen H, Liu XY, Ji H. MicroRNA-143 (miR-143) regulates cancer glycolysis via targeting hexokinase 2 gene. *J Biol Chem* 2012; 287: 23227-23235 [PMID: 22593586 DOI: 10.1074/jbc.

49 M112.373084]  
Gregersen LH, Jacobsen A, Frankel LB, Wen J,  
Krogh A, Lund AH. MicroRNA-143 down-regulates

Hexokinase 2 in colon cancer cells. *BMC Cancer*  
2012; 12: 232 [PMID: 22691140 DOI: 10.1186/1471-2  
407-12-232]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价  
本文立意新颖, 资  
料翔实, 条理清  
晰, 可读性好, 具  
有一定的学术和  
参考价值。



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集  
团有限公司所有

## • 消息 •

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

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

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

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



# Th22细胞在炎症免疫性疾病及肿瘤中的研究进展

黄小丽, 郭晓云, 姜海行

## ■背景资料

Th22细胞是新近发现的一类独立于Th1、Th2和Th17细胞的CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群,以高水平分泌白介素-22(interleukin-22, IL-22),而不分泌IL-17和干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)为特点。Th22细胞及其效应分子IL-22参与多种疾病的病理生理过程,在机体免疫调节、宿主防御及组织修复中发挥重要作用。

黄小丽, 郭晓云, 姜海行, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

黄小丽, 在读硕士, 主要从事肝纤维化机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81260083

作者贡献分布: 黄小丽负责文献检索与论文撰写; 郭晓云负责课题设计与论文修改; 姜海行审校。

通讯作者: 郭晓云, 副主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院消化内科。

withoutgloom@sohu.com

电话: 0771-5356725

收稿日期: 2014-03-03 修回日期: 2014-03-24

接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## Role of Th22 cells in inflammatory, autoimmune diseases and tumors

Xiao-Li Huang, Xiao-Yun Guo, Hai-Xing Jiang

Xiao-Li Huang, Xiao-Yun Guo, Hai-Xing Jiang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81260083

Correspondence to: Xiao-Yun Guo, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. withoutgloom@sohu.com

Received: 2014-03-03 Revised: 2014-03-24

Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

## Abstract

T-helper (Th) 22 cells are a recently identified subset of T cells, which are characterized by abundant secretion of interleukin-22 (IL-22) but not interleukin-17 (IL-17) or interferon-γ (IFN-γ) and are therefore distinct from Th1, Th2 and Th17 cells. The functions of Th22 cells are predominantly executed by their signature cytokine IL-22, which has been shown to play an important role in the pathogenesis of inflammatory, autoimmune diseases and tumors. Th22 cells and related cytokine IL-22 regulate multiple biological functions and have an important role in a number of diseases. The effect of Th22 cells and IL-22 on different cells seems to be quite similar, including improving the innate immunity, protecting from injury, and enhancing their

regeneration, but whether its role is protective or pathogenic is dependent on the nature of the affected tissue and local cytokine milieu. Nevertheless, there are still many questions about the role of Th22 and related cytokine IL-22 in various diseases. This article reviews the role of Th22 cells and its cytokine IL-22 in inflammatory, autoimmune diseases and tumors.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: T helper 22 cells; Interleukin-22; Inflammatory; Autoimmune diseases; Tumor

Huang XL, Guo XY, Jiang HX. Role of Th22 cells in inflammatory, autoimmune diseases and tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1812-1819 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1812.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1812>

## 摘要

近年来,一群在细胞分化及生物学特性等方面不同于Th1、Th2和Th17细胞的新型辅助性T细胞-Th22细胞被识别,该亚群以分泌白介素-22(interleukin-22, IL-22)为特点,而不分泌IL-17或干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)。其功能主要通过IL-22来实现,介导炎症反应、自身免疫性疾病、肿瘤等的发生发展。Th22细胞及其效应分子IL-22参与多种疾病的病理生理过程,在机体免疫调节、宿主防御及组织修复中发挥重要作用,但是他们发挥保护还是致病的作用是由受影响的组织的性质和局部细胞因子环境决定的。针对Th22和IL-22在疾病中的作用还有待进一步的解答。本文就Th22细胞及其效应因子IL-22在炎症免疫性疾病及肿瘤中的研究进展进行阐述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: Th22细胞; 白介素-22; 炎症; 免疫性疾病; 肿瘤

核心提示: 白介素-22(interleukin-22, IL-22)细胞作为一种新型的辅助性T细胞亚群,在自身免疫性

■同行评议者  
高英堂, 研究员,  
天津市第三中心  
医院

疾病、感染性疾病、肿瘤中发挥重要调节作用, 但是否加剧或改善疾病的进展, 目前尚无定论, 仍有许多问题有待进一步解答。

黄小丽, 郭晓云, 姜海行. Th22细胞在炎症免疫性疾病及肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1812-1819  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1812.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1812>

## 0 引言

辅助性T淋巴细胞是机体重要的免疫调节细胞, 根据其产生细胞因子的不同可分为不同的功能亚群Th1、Th2、Th9、Th17、Th22、滤泡辅助性T细胞(T follicular helper cells, Tfh)和调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)<sup>[1]</sup>. Th22细胞是新发现的一类效应性T细胞, 其功能主要通过白介素-22(interleukin-22, IL-22)来实现. 研究表明, Th22细胞参与了炎症反应、自身免疫性疾病、肿瘤等的发生发展, 在机体免疫调节、宿主防御及组织修复中发挥重要作用. 本文现就Th22细胞研究进展作一简要综述.

## 1 Th22细胞的特征

Th22细胞是新近发现的一类独立于Th1、Th2和Th17细胞的CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群, 以高水平分泌IL-22, IL-17和干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )为特点, 是一个终末分化且独立稳定的谱系<sup>[2,3]</sup>. 在浆细胞样树突细胞(plasmacytoid dendritic cells, PDCs)刺激条件下, 肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和IL-6能够诱导初始CD4<sup>+</sup>T细胞向Th22的表型方向转化<sup>[4]</sup>. Th22细胞表达趋化因子受体6(chemokine receptor 6, CCR6)以及皮肤归巢受体CCR4和CCR10, 表型特征是CCR6<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>CCR10<sup>+</sup>, 芳香烃受体(aryl-hydrocarbon receptor, AHR)是其关键的转录调控因子, 低表达或不表达Th17和Th1的转录因子ROR- $\gamma$ t和T-bet<sup>[4]</sup>.

## 2 IL-22及其信号通路

Th22细胞的主要效应细胞因子是IL-22, 起初被命名为IL-10相关的T细胞来源的诱导因子(IL-10-related T cell derived inducible factor, IL-TIF), 他属于IL-10家族细胞因子<sup>[5]</sup>. 目前已知的在人类适应性免疫系统中, Th22、Th17和Th1细胞是主要分泌IL-22的细胞亚群<sup>[2,4,6]</sup>. 此外CD8<sup>+</sup>T细胞和其他天然免疫淋巴细胞包括自然杀伤细胞

如NK22细胞和CD11c<sup>+</sup>细胞也能分泌IL-22<sup>[7-9]</sup>. 和所有其他的IL-10家族成员一样, IL-22信号系统的传导是通过IL-10R2和IL-22R1构成的异源二聚体受体复合物来完成的<sup>[10]</sup>. 与受体复合物结合后, IL-22首先激活JAK/STAT(Janus kinase-signal transducers and activators of transcription)细胞信号通路. Lejeune等<sup>[11]</sup>研究发现IL-22与大鼠肝癌细胞系H4IIE表面受体结合后, 可激活下游的JAKs及TYK2迅速活化, 导致STAT1、STAT3和STAT5磷酸化. IL-22也可以激活MAPK的3条主要信号通路, 包括MEK-ERK-RSK、JNK-SAPK和p38激酶途径. 此外, IL-22还可以诱导STAT3丝氨酸残基磷酸化<sup>[12]</sup>. 其中IL-22结合特异性依赖于IL-22R1, 而IL-10R2则介导细胞内的信号转导<sup>[13]</sup>. IL-22R1主要表达在胰腺、皮肤、肾脏、肝脏、小肠、呼吸道等, 而在T细胞、B细胞、NK细胞和单核细胞等免疫细胞中不表达; 而IL-10R2全身分布广泛<sup>[13,14]</sup>. 由此看来, IL-22虽然由免疫细胞产生, 但对他们并不起作用, 所以Th22作用特点有别于其他淋巴细胞: 作用对象不是免疫细胞, 而是肝脏、皮肤等表达IL-22R1的组织细胞. 除了细胞表面的IL-22受体复合物, 还存在一种可溶性的、高亲和力的单链IL-22受体, 称之为IL-22结合蛋白(IL-22 bind protein, IL-22BP), 他能直接结合IL-22抑制其细胞学功能可作为IL-22的拮抗剂发挥着多种生物学功能<sup>[15]</sup>.

## 3 Th22和IL-22在自身免疫性疾病中的作用

Th22细胞是以主要分泌IL-22为特征, 因此, 通过了解IL-22在疾病中的作用, 我们可以间接了解有关Th22细胞在许多炎症和自身免疫性疾病中的主要功能. Th22细胞数量和功能的紊乱, 可导致多种自身免疫性疾病的发生.

### 3.1 类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)

RA是以对称性多关节滑膜炎为主的慢性自身免疫性疾病, 能引起软骨破坏, 关节间隙变窄, 晚期可出现关节畸形, 是一种致残率很高的疾病. Zhang等<sup>[16]</sup>报道在RA患者外周血中, Th22细胞比例明显高于骨性关节炎(osseous arthritis, OA)患者和健康对照组. 他们还观察到RA患者中随着Th22细胞比例的升高血浆IL-22水平也随之发生相应的升高, Th22细胞水平与疾病活动之间呈正相关. 这提示了Th22细胞和IL-22在RA发病机制中可能发挥致病作用. RA患者的关节

## ■ 研发前沿

对Th22细胞及IL-22的研究是近年来基础医学研究的一个热点, Th22细胞的发现极大推进了我们对CD4<sup>+</sup>T细胞在疾病中作用的了解. Th22细胞的生物学功能与IL-22并不能等同, 且Th22与其他T细胞亚群的关系及在疾病中如何相互作用还有待进一步深入研究.

## ■相关报道

近年来,人们对Th22细胞介导的免疫应答所起的作用给予了很大的关注,但他的分化调控、下游信号通路、生理功能等尚不完全明确,其具体作用机制亟待进一步的研究。

中滑膜内膜层和内膜下层组织中高表达IL-22,表达IL-22的绝大多数细胞是滑膜成纤维细胞(synovial fibroblasts derived from RA patients, RASF)和巨噬细胞,表达IL-22R1的主要是RASF,体外培养的RASF表达IL-22R1并分泌IL-22,重组IL-22可以促进RASF分泌单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)从而使RA的炎症反应加重<sup>[17]</sup>。在鼠胶原诱导的关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)模型中,血清中IL-22水平显著高于正常对照组;与野生型小鼠相比,IL-22敲基因模型小鼠CIA发生率、关节损伤程度轻、血管翳形成少;体外实验中发现,IL-22可以促进破骨细胞生成,可能与关节病中骨和软骨的破坏有关。据此推测IL-22参与CIA致病过程<sup>[18]</sup>。

**3.2 炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)** IBD包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)。目前认为IBD是遗传、环境和黏膜免疫3方面因素共同作用的结果,其中免疫功能紊乱是IBD发病的关键因素之一<sup>[19]</sup>。Schmechel等<sup>[20]</sup>研究发现,CD患者血液中IL-22水平显著升高,且与疾病活动度相关。IL-22刺激肠上皮细胞和上皮肌成纤维细胞分泌多种抗微生物肽,这些抗微生物肽通过各种机制进一步隔离以及杀灭入侵的病原体,发挥抗炎、再生及增强肠上皮细胞迁移的作用<sup>[21]</sup>。UC患者外周血中IL-22水平、Th17、Th22细胞比例与健康对照组相比明显升高,且与疾病活动度密切相关<sup>[22]</sup>。而在小鼠UC模型中,局部使用IL-22微注射靶向治疗的方式导入外源性IL-22,结果证明IL-22以STAT3依赖方式上调黏液相关分子表达和产黏液杯状细胞重建,有效地抑制炎症反应,促进肠道局部炎症的快速愈合,提示IL-22在UC炎症反应中可能起保护作用<sup>[23]</sup>。另外一些研究也证明了这个观点,在葡聚糖硫酸钠诱导的结肠炎模型中,IL-22基因敲除小鼠或用IL-22抗体中和野生型小鼠体内的IL-22,都会导致小鼠的体重减轻,恢复延迟,加重结肠炎症及上皮细胞损伤<sup>[24]</sup>。Leppkes等<sup>[25]</sup>研究将IL-22缺陷的T细胞转移进入重组激活基因1(recombination activating gene 1, RAG1)缺陷的小鼠体内,发现与转移了野生型T细胞的RAG1缺陷小鼠相比,前者可导致严重的结肠炎,进一步证实了IL-22在炎症性肠病中的保护性作用。

**3.3 炎症性皮肤病** Th22细胞表达皮肤趋化因子

受体CCR4和CCR10,表明Th22细胞可能在皮肤的自稳调节和病理状态中发挥重要作用。Th22细胞在外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMCs)中很少被发现,而他们却可以从银屑病(psoriasis, PS)、过敏性湿疹(atopic eczema, AE)及过敏性接触性皮炎(allergic contact dermatitis, ACD)患者皮肤分离的T细胞群中被检测出来。且在皮损组织中检测到IL-22<sup>+</sup>T细胞的比例明显高于外周血单个核细胞中的比例,提示IL-22<sup>+</sup>T细胞富集于炎症皮损中<sup>[3]</sup>。Kagami等<sup>[26]</sup>在对银屑病患者皮肤及外周血的检测中发现血浆中IL-22的水平显著升高且与疾病的严重程度成正相关。抗银屑病治疗可以明显降低皮损IL-22 mRNA的表达和血浆IL-22的水平<sup>[27]</sup>。

**3.4 系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)** SLE是一组病因不明、免疫调节紊乱所致的慢性系统性自身免疫性疾病。Th17细胞分泌的炎症细胞因子包括IL-22在内被认为是SLE的病因之一<sup>[28]</sup>。IL-22的靶器官包括皮肤、肾脏等,而约80%的SLE患者有不同程度的皮肤、肾脏损害,提示Th22细胞也可能在SLE的发病中起重要作用。基于以上这些理论基础,Zhao等<sup>[29]</sup>研究报道SLE患者血液IL-22<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T细胞、IL-22水平较健康对照组明显升高,且IL-22<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T细胞与Th22比例及疾病活动性评分(SLE disease activity index, SLEDAI)呈明显的正相关。经甲泼尼龙、环磷酰胺和羟氯喹治疗4 wk后,大多数SLE患者Th22细胞比例及IL-22水平下降<sup>[30]</sup>。新近的研究发现,仅出现狼疮性皮肤病变的患者外周血Th22显著高于正常对照组,而狼疮性肾炎的患者外周血Th22比例下降;且Th22细胞比例与IL-22分泌呈正相关,Th22作为预测SLE疾病受累组织的指标较Th17更有价值<sup>[31]</sup>。

**3.5 其他自身免疫性疾病** Truchetet等<sup>[32]</sup>研究发现Th22细胞在系统性硬化病(systemic sclerosis, SSc)患者中较健康对照组明显升高。此外,系统性硬化症肺间质疾病与IL-22阳性细胞密切相关,Th22细胞也可能参与了SSc的病理过程。Hu等<sup>[33]</sup>研究发现,免疫性血小板减少性紫癜(im-mune thrombocytopenic purpura, ITP)患者Th22细胞、Th17细胞、Th1细胞及血浆IL-22水平较正常对照组明显升高,且Th22细胞比例分别与IL-22水平、Th17和Th1细胞比例呈正相关,提示Th22、Th1、Th17细胞分化过程可能相互关



联, 共同参与ITP发病. 此外, 自身抗体阴性ITP患者Th22细胞比例明显高于自身抗体阳性患者. 大剂量糖皮质激素治疗后, 患者血清IL-22水平较治疗前明显下降, 且治疗前后IL-22水平均与Th1和Th22细胞比例呈正相关, 推测IL-22与Th1和Th22细胞在ITP中可能发挥协同致病作用<sup>[34]</sup>. Zhang等<sup>[16]</sup>研究发现, 与骨关节炎患者和健康对照组相比, 强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)患者外周血Th22细胞比例显著升高; 此外, 他们还发现血浆IL-22水平与Th22细胞呈正相关, 这些发现提示Th22细胞及其细胞因子IL-22可能参与了AS的发病机制.

#### 4 Th22和IL-22在感染性疾病中的作用

当机体遭受病原体侵袭, Th22细胞能够激活其他免疫细胞, 协助机体控制炎症, 通过参与维护上皮屏障的完整性, IL-22可阻止致病菌传播. Zheng等<sup>[9]</sup>研究发现在柠檬酸杆菌*C. rodentium*诱导的肠炎中, IL-22诱导小肠上皮细胞产生RegIII $\beta$ 及RegIII $\gamma$ 抗菌蛋白来清除细菌感染; 敲除IL-22基因会导致感染小鼠肠上皮细胞损伤加重, 全身细菌的扩散及死亡率明显升高. 在革兰氏阴性细菌*K. pneumoniae*诱导的肺炎模型小鼠中IL-22同样发挥保护性作用, 细菌感染后IL-22表达增高, 而中和IL-22抗体则会使细菌清除率下降导致感染的扩散. 体外实验进一步表明IL-22可能通过诱导肺上皮细胞产生抗微生物蛋白lipocalin-2介导IL-22对细菌的防御作用<sup>[35]</sup>.

IL-22在宿主抵御病毒感染的过程中也发挥了一定的作用. Kim等<sup>[36]</sup>研究发现Th22细胞比例下降和IL-22生成减少是HIV黏膜免疫发病机制的重要因素. 此外, 在体外肠上皮细胞培养体系中, 重组IL-22可以抵抗HIV病毒感染及TNF- $\alpha$ 诱导的肠上皮细胞损伤. Kong等<sup>[37]</sup>通过建立柯萨奇病毒B3诱导的小鼠急性病毒性心肌炎模型, 发现心肌炎组小鼠Th22细胞、血浆IL-22水平及心肌组织IL-22、IL-22R1 mRNA较正常对照组升高, 中和IL-22后使模型组小鼠心肌炎症状加重, 并且降低Th22细胞比例和血浆IL-22水平, 明显促进心肌病毒的复制, IL-22通过IL-22-IL-22R通路发挥其抗病毒的的保护性作用. 针对Th22细胞和IL-22-IL-22R途径可以为治疗急性病毒性心肌炎提供新的治疗思路. IL-22在慢性乙型病毒性肝炎(chronic hepatitis B, CHB)和急性乙型病毒性肝炎患者的肝内表达是增高的<sup>[38,39]</sup>. 然而

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染后升高的IL-22是发挥抗炎作用还是促炎作用目前尚存争议. 杨智等<sup>[40]</sup>在对慢性HBV感染者PBMCs中IL-22表达的研究中发现肝硬化患者IL-22的表达水平升高, 推测IL-22使患者清除病毒的能力下降, 从而使病情进入慢性迁延期. Zhang等<sup>[39]</sup>在HBV转基因小鼠模型的研究中发现单剂量注射IL-22增加肝脏炎症基因的表达, 但没有直接抑制病毒复制, 相反中和IL-22后却可以改善肝损害的严重程度. Park等<sup>[38]</sup>的研究发现, 在CHB患者肝内IL-22也是升高的, 且IL-22阳性T细胞与肝脏炎症分级、ALT和AST等呈正相关; 同时, IL-22转基因小鼠可以抵抗刀豆蛋白A诱导的急性肝损伤, 并加速部分肝切除后肝细胞再生. 既往有研究报道, IL-22并不能抑制丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)在体外培养体系中的复制<sup>[41]</sup>, 然而我们不能排除IL-22可以通过调节干扰素的抗病毒活性间接影响HCV或HBV复制, 因为IL-22主要的下游信号STAT3可以调节干扰素介导的信号通路<sup>[42]</sup>.

目前对Th22及IL-22在真菌及寄生虫感染中作用了解甚少. Liu等<sup>[43]</sup>研究发现机体感染白色念珠菌后, CCR6<sup>+</sup>IL-22<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>记忆T细胞较健康对照组升高. Eyerich等<sup>[12]</sup>在体外皮肤感染模型中发现, 用Th22细胞上清液或重组的IL-22联合TNF- $\alpha$ 作用于角质细胞可有效的抑制白色念珠菌的生长并维持上皮细胞的存活.

#### 5 Th22和IL-22在肿瘤中的作用

目前关于Th22细胞在肿瘤微环境中的分化、调控及功能的研究尚少, 而关于Th22细胞在各系统肿瘤免疫中的作用是促进肿瘤生长还是抑制肿瘤免疫, 目前结论不一. 深入研究Th22细胞在肿瘤免疫中的作用机制, 将可能为肿瘤的预防、早期诊断和靶向免疫治疗提供更有有效的策略.

5.1 消化系肿瘤 Wang等<sup>[44]</sup>研究证明IL-22在保护肝脏的同时也可能促进肝脏肿瘤的生成, 使肝细胞抗凋亡活性增强、增殖活性增加和肝癌易感性增加. Jiang等<sup>[45]</sup>的研究表明, IL-22在人类原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrated leukocytes, TILs)的表达较外周淋巴细胞增高, 且III、IV期肿瘤组织IL-22的表达远远高于I、II期的肿瘤; 将肝癌患者的IL-22<sup>+</sup>TILs与MHCC-97H(一株高转移性的肝癌细胞)同时注入小鼠体内, 可增

#### ■创新盘点

由于Th17细胞也可分泌IL-22, 这就需要对原本归于Th17细胞的致病机制进行重新探讨. 本文总结了目前Th22细胞在疾病发生发展过程中的重要作用, 指出了尚存争议及未阐明的问题, 为进一步深入研究Th22细胞在不同疾病发病机制中的作用提供了新的依据.

## ■应用要点

全面深入了解Th22细胞的功能及其作用机制,完善T细胞亚群理论,有望在不远的将来生产出针对Th22细胞作用的生物制剂,通过调控其分化及下游信号通路,为疾病的诊断治疗开辟新的途径。

加MHCC-97H的生长和转移速度;在二乙基亚硝胺(diethyl-nitrosamine, DEN)诱导的HCC模型中,IL-22基因敲除小鼠形成HCC的易感性明显降低。Park等<sup>[38]</sup>的研究表明,IL-22转基因小鼠肝脏部分切除后的肝细胞再生速度加快,并且对DEN诱导HCC的易感性增加。IL-22的上调可能会促进损伤肝细胞的存活,从而起到保护肝脏的作用,但IL-22的长期刺激可能促进肝炎向肝癌的发展,那些在炎症损伤过程中存活的肝细胞可能是原发性肝癌的前体细胞。

Zhuang等<sup>[46]</sup>研究发现,与正常对照组相比,胃癌患者体内也存在高水平的Th22细胞,且与胃癌患者的病理TNM分期及总体生存率相关,III-IV期胃癌患者Th22细胞比例高于I-II期胃癌患者。Zhuang等<sup>[46]</sup>研究小组也发现在胃癌患者肿瘤组织中IL-22<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T细胞和Th22细胞的比例高于肿瘤引流淋巴结、癌旁组织和非肿瘤组织,并与肿瘤的进展和患者的生存率相关联。

Xu等<sup>[47]</sup>研究发现IL-22<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T细胞和Th22细胞在胰腺癌组织中的表达高于胰腺癌患者外周血及对照组外周血,且升高的IL-22、IL-22<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T细胞和Th22细胞与肿瘤进展和淋巴结转移正相关。

5.2 呼吸系统肿瘤 Ye等<sup>[48]</sup>研究发现, Th22细胞在恶性胸腔积液(malignant pleural effusion, MPE)中的比例较外周血明显增高,可能是由于局部炎性细胞因子和趋化因子增加引起Th22增多,趋化轴CCL20/CCR6、CCL22/CCR4和/或CCL27/CCR10可能在趋化Th22细胞向胸膜腔转移的过程中发挥了重要作用。Zhang等<sup>[49]</sup>研究发现在非小细胞肺癌患者中,肿瘤组织、恶性胸腔积液和血清高表达IL-22,肿瘤通过自分泌的方式高表达IL-22增强其抗凋亡作用。

5.3 血液系统肿瘤 骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)是血液系统免疫介导的造血干/祖细胞的恶性克隆性疾病,具有向急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)转化的高风险。国内学者研究发现MDS较高危组和较低危组Th22细胞及其效应因子、相关转录因子的表达水平明显低于正常对照组,且与MDS较低危组相比,较高危组Th22细胞比例降低,随着疾病危险度的升高表现更加明显,说明Th22细胞可能与MDS的发生发展紧密相关<sup>[50]</sup>。MDS可分为两个相对独立的阶段:早期MDS(E-MDS)和晚期MDS(L-MDS)。Shao等<sup>[51]</sup>研究指

出,较之E-MDS, L-MDS患者Th22细胞比例、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA的表达明显升高。Th22细胞水平的变化提示Th22细胞参与MDS的发生与发展,其动态变化可作为反映疾病活动的新型生物学指标。刘立民等<sup>[52]</sup>研究发现急性髓系白血病AML初诊组和AML缓解组的Th22细胞及其效应因子IL-22、IL-6、TNF- $\alpha$ 的水平以及IL-22 mRNA的表达水平明显低于正常对照组,而且AML缓解组Th22细胞比例及其效应因子、相关转录因子的表达水平较AML初诊组高,提示AML患者疾病的控制达到完全缓解后Th22细胞得以一定程度回升,说明Th22细胞可能与AML的发生发展呈负相关。在急性淋巴细胞性白血病(acute lymphocytic leukemia, ALL)患者外周血中Th22细胞比例降低,可能与ALL的发生发展呈负相关,ALL患者体内IL-6、TNF- $\alpha$ 的低表达及TGF- $\beta$ 的过度表达可能抑制ALL中Th22细胞的分化发育<sup>[53]</sup>。

## 6 结论

对Th22细胞的研究是近年来基础医学研究的一个热点, Th22的发现极大推进了我们对CD4<sup>+</sup>T细胞在疾病中作用的了解。Th22细胞作为一种新型的辅助性T细胞亚群,在自身免疫性疾病、感染性疾病、肿瘤中发挥重要作用。但是否加剧或改善疾病的进展,目前尚无定论,仍有许多问题有待进一步解答。Th22细胞的生物学功能与IL-22并不能等同,且Th22与其他T细胞亚群的关系尚不明确, Th22在疾病发病过程中的作用是非常复杂的,其分化调控、下游信号通路、生理功能等尚不完全明确, Th22分泌的效应因子之间在疾病中如何相互作用还有待进一步深入研究,全面深入了解Th22细胞的功能及其作用机制,完善T细胞亚群理论,有望在不远的将来生产出针对Th22细胞作用的生物制剂,通过调控其分化及下游信号通路,为疾病的诊断治疗开辟新的途径。

## 7 参考文献

- 1 Akdis M, Palomares O, van de Veen W, van Splunter M, Akdis CA. TH17 and TH22 cells: a confusion of antimicrobial response with tissue inflammation versus protection. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 1438-1449; 1438-1449; [PMID: 22657405 DOI: 10.1016/j.jaci.2012.05.003]
- 2 Trifari S, Kaplan CD, Tran EH, Crellin NK, Spits H. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and

- is distinct from T(H)-17, T(H)1 and T(H)2 cells. *Nat Immunol* 2009; 10: 864-871 [PMID: 19578368 DOI: 10.1038/ni.1770]
- 3 Eyerich S, Eyerich K, Pennino D, Carbone T, Nasorri F, Pallotta S, Cianfarani F, Odorisio T, Traidl-Hoffmann C, Behrendt H, Durham SR, Schmidt-Weber CB, Cavani A. Th22 cells represent a distinct human T cell subset involved in epidermal immunity and remodeling. *J Clin Invest* 2009; 119: 3573-3585 [PMID: 19920355 DOI: 10.1172/JCI40202]
  - 4 Duhon T, Geiger R, Jarrossay D, Lanzavecchia A, Sallusto F. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells. *Nat Immunol* 2009; 10: 857-863 [PMID: 19578369]
  - 5 Dumoutier L, Louahed J, Renauld JC. Cloning and characterization of IL-10-related T cell-derived inducible factor (IL-TIF), a novel cytokine structurally related to IL-10 and inducible by IL-9. *J Immunol* 2000; 164: 1814-1819 [PMID: 10657629]
  - 6 Zhang N, Pan HF, Ye DQ. Th22 in inflammatory and autoimmune disease: prospects for therapeutic intervention. *Mol Cell Biochem* 2011; 353: 41-46 [PMID: 21384158 DOI: 10.1007/s11010-011-0772-y]
  - 7 Nograles KE, Zaba LC, Shemer A, Fuentes-Duculan J, Cardinale I, Kikuchi T, Ramon M, Bergman R, Krueger JG, Guttman-Yassky E. IL-22-producing "T22" T cells account for upregulated IL-22 in atopic dermatitis despite reduced IL-17-producing TH17 T cells. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 1244-1252.e2 [PMID: 19439349 DOI: 10.1016/j.jaci.2009.03.041]
  - 8 Cella M, Fuchs A, Vermi W, Facchetti F, Otero K, Lennerz JK, Doherty JM, Mills JC, Colonna M. A human natural killer cell subset provides an innate source of IL-22 for mucosal immunity. *Nature* 2009; 457: 722-725 [PMID: 18978771 DOI: 10.1038/nature07537]
  - 9 Zheng Y, Valdez PA, Danilenko DM, Hu Y, Sa SM, Gong Q, Abbas AR, Modrusan Z, Ghilardi N, de Sauvage FJ, Ouyang W. Interleukin-22 mediates early host defense against attaching and effacing bacterial pathogens. *Nat Med* 2008; 14: 282-289 [PMID: 18264109 DOI: 10.1038/nm1720]
  - 10 Xie MH, Aggarwal S, Ho WH, Foster J, Zhang Z, Stinson J, Wood WI, Goddard AD, Gurney AL. Interleukin (IL)-22, a novel human cytokine that signals through the interferon receptor-related proteins CRF2-4 and IL-22R. *J Biol Chem* 2000; 275: 31335-31339 [PMID: 10875937 DOI: 10.1074/jbc.M005304200]
  - 11 Lejeune D, Dumoutier L, Constantinescu S, Kruijer W, Schuringa JJ, Renauld JC. Interleukin-22 (IL-22) activates the JAK/STAT, ERK, JNK, and p38 MAP kinase pathways in a rat hepatoma cell line. Pathways that are shared with and distinct from IL-10. *J Biol Chem* 2002; 277: 33676-33682 [PMID: 12087100 DOI: 10.1074/jbc.M204204200]
  - 12 Eyerich S, Wagener J, Wenzel V, Scarponi C, Pennino D, Albanesi C, Schaller M, Behrendt H, Ring J, Schmidt-Weber CB, Cavani A, Mempel M, Traidl-Hoffmann C, Eyerich K. IL-22 and TNF- $\alpha$  represent a key cytokine combination for epidermal integrity during infection with *Candida albicans*. *Eur J Immunol* 2011; 41: 1894-1901 [PMID: 21469124 DOI: 10.1002/eji.201041197]
  - 13 Wolk K, Witte E, Witte K, Warszawska K, Sabat R. Biology of interleukin-22. *Semin Immunopathol* 2010; 32: 17-31 [PMID: 20127093 DOI: 10.1007/s00281-009-0188-x]
  - 14 Zenewicz LA, Yancopoulos GD, Valenzuela DM, Murphy AJ, Karow M, Flavell RA. Interleukin-22 but not interleukin-17 provides protection to hepatocytes during acute liver inflammation. *Immunity* 2007; 27: 647-659 [PMID: 17919941 DOI: 10.1016/j.immuni.2007.07.023]
  - 15 Wolk K, Witte E, Hoffmann U, Doecke WD, Endesfelder S, Asadullah K, Sterry W, Volk HD, Wittig BM, Sabat R. IL-22 induces lipopolysaccharide-binding protein in hepatocytes: a potential systemic role of IL-22 in Crohn's disease. *J Immunol* 2007; 178: 5973-5981 [PMID: 17442982]
  - 16 Zhang L, Li YG, Li YH, Qi L, Liu XG, Yuan CZ, Hu NW, Ma DX, Li ZF, Yang Q, Li W, Li JM. Increased frequencies of Th22 cells as well as Th17 cells in the peripheral blood of patients with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *PLoS One* 2012; 7: e31000 [PMID: 22485125 DOI: 10.1371/journal.pone.0031000]
  - 17 Ikeuchi H, Kuroiwa T, Hiramatsu N, Kaneko Y, Hiromura K, Ueki K, Nojima Y. Expression of interleukin-22 in rheumatoid arthritis: potential role as a proinflammatory cytokine. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1037-1046 [PMID: 15818686 DOI: 10.1002/art.20965]
  - 18 Geboes L, Dumoutier L, Kelchtermans H, Schurgers E, Mitera T, Renauld JC, Matthys P. Proinflammatory role of the Th17 cytokine interleukin-22 in collagen-induced arthritis in C57BL/6 mice. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 390-395 [PMID: 19180498 DOI: 10.1002/art.24220]
  - 19 万姗姗, 曹倩. Th17细胞在炎症性肠病发生过程中的效应应答. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 574-578
  - 20 Schmechel S, Konrad A, Diegelmann J, Glas J, Wetzke M, Paschos E, Lohse P, Göke B, Brand S. Linking genetic susceptibility to Crohn's disease with Th17 cell function: IL-22 serum levels are increased in Crohn's disease and correlate with disease activity and IL23R genotype status. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 204-212 [PMID: 18022867 DOI: 10.1002/ibd.20315]
  - 21 Brand S, Beigel F, Olszak T, Zitzmann K, Eichhorst ST, Otte JM, Diepolder H, Marquardt A, Jagla W, Popp A, Leclair S, Herrmann K, Seiderer J, Ochsenkühn T, Göke B, Auernhammer CJ, Dambacher J. IL-22 is increased in active Crohn's disease and promotes proinflammatory gene expression and intestinal epithelial cell migration. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G827-G838 [PMID: 16537974 DOI: 10.1152/ajpgi.00513.2005]
  - 22 李莉, 曹江, 刘玲, 朱祖安, 吴克俭, 费素娟. 溃疡性结肠炎患者外周血IL-22及相关CD4<sup>+</sup> T细胞亚群的表达. *中华微生物学和免疫学杂志* 2012; 32: 323-325
  - 23 Sugimoto K, Ogawa A, Mizoguchi E, Shimomura Y, Andoh A, Bhan AK, Blumberg RS, Xavier RJ, Mizoguchi A. IL-22 ameliorates intestinal inflammation in a mouse model of ulcerative colitis. *J Clin Invest* 2008; 118: 534-544 [PMID: 18172556 DOI: 10.1172/jci33194]
  - 24 Neufert C, Pickert G, Zheng Y, Wittkopf N, Wartner M, Nikolaev A, Ouyang W, Neurath MF, Becker C. Activation of epithelial STAT3 regulates intestinal homeostasis. *Cell Cycle* 2010; 9: 652-655 [PMID: 20160497]
  - 25 Leppkes M, Becker C, Ivanov II, Hirth S, Wirtz S, Neufert C, Pouly S, Murphy AJ, Valenzuela DM,

## 同行评价

本文详尽地介绍了近年Th22细胞及其效应因子IL-22在自身免疫性疾病、感染性疾病和恶性肿瘤中的研究进展, 内容充实丰富、结构合理。



- Yancopoulos GD, Becher B, Littman DR, Neurath MF. RORgamma-expressing Th17 cells induce murine chronic intestinal inflammation via redundant effects of IL-17A and IL-17F. *Gastroenterology* 2009; 136: 257-267 [PMID: 18992745 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.10.018]
- 26 Kagami S, Rizzo HL, Lee JJ, Koguchi Y, Blauvelt A. Circulating Th17, Th22, and Th1 cells are increased in psoriasis. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 1373-1383 [PMID: 20032993 DOI: 10.1038/jid.2009.399]
- 27 Jabbari A, Johnson-Huang LM, Krueger JG. Role of the immune system and immunological circuits in psoriasis. *G Ital Dermatol Venereol* 2011; 146: 17-30 [PMID: 21317854]
- 28 Pan HF, Ye DQ, Li XP. Type 17 T-helper cells might be a promising therapeutic target for systemic lupus erythematosus. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008; 4: 352-353 [PMID: 18477998 DOI: 10.1038/ncprheum0815]
- 29 Zhao L, Jiang Z, Jiang Y, Ma N, Wang K, Zhang Y, Feng L. IL-22+CD4+ T-cells in patients with active systemic lupus erythematosus. *Exp Biol Med* (Maywood) 2013; 238: 193-199 [PMID: 23576801 DOI: 10.1177/1535370213477597]
- 30 Zhao L, Ma H, Jiang Z, Jiang Y, Ma N. Immunoregulation therapy changes the frequency of IL-22+CD4+ T cells in systemic lupus erythematosus patients. *Clin Exp Immunol* 2014 Mar 18. [Epub ahead of print] [PMID: 24635166 DOI: 10.1111/cei.12330]
- 31 Yang XY, Wang HY, Zhao XY, Wang LJ, Lv QH, Wang QQ. Th22, but not Th17 might be a good index to predict the tissue involvement of systemic lupus erythematosus. *J Clin Immunol* 2013; 33: 767-774 [PMID: 23435610 DOI: 10.1007/s10875-013-9878-1]
- 32 Truchetet ME, Brembilla NC, Montanari E, Allanore Y, Chizzolini C. Increased frequency of circulating Th22 in addition to Th17 and Th2 lymphocytes in systemic sclerosis: association with interstitial lung disease. *Arthritis Res Ther* 2011; 13: R166 [PMID: 21996293 DOI: 10.1186/ar3486]
- 33 Hu Y, Li H, Zhang L, Shan B, Xu X, Li H, Liu X, Xu S, Yu S, Ma D, Peng J, Hou M. Elevated profiles of Th22 cells and correlations with Th17 cells in patients with immune thrombocytopenia. *Hum Immunol* 2012; 73: 629-635 [PMID: 22537755 DOI: 10.1016/j.humimm.2012.04.015]
- 34 Cao J, Chen C, Li L, Ling-yu Z, Zhen-yu L, Zhi-ling Y, Wei C, Hai C, Sang W, Kai-lin X. Effects of high-dose dexamethasone on regulating interleukin-22 production and correcting Th1 and Th22 polarization in immune thrombocytopenia. *J Clin Immunol* 2012; 32: 523-529 [PMID: 22289995 DOI: 10.1007/s10875-012-9649-4]
- 35 Aujla SJ, Chan YR, Zheng M, Fei M, Askew DJ, Pociask DA, Reinhart TA, McAllister F, Edeal J, Gaus K, Husain S, Kreindler JL, Dubin PJ, Pilewski JM, Myerburg MM, Mason CA, Iwakura Y, Kolls JK. IL-22 mediates mucosal host defense against Gram-negative bacterial pneumonia. *Nat Med* 2008; 14: 275-281 [PMID: 18264110 DOI: 10.1038/nm1710]
- 36 Kim CJ, Nazli A, Rojas OL, Chege D, Alidina Z, Huibner S, Mujib S, Benko E, Kovacs C, Shin LYY, Grin A, Kandel G, Loutfy M, Ostrowski M, Gommerman JL, Kaushic C, Kaul R. A role for mucosal IL-22 production and Th22 cells in HIV-associated mucosal immunopathogenesis. *Mucosal Immunology* 2012; 5: 670-680 [DOI: 10.1038/Mi.2012.72]
- 37 Kong Q, Wu WF, Yang F, Liu YL, Xue YM, Gao MS, Lai WY, Pan XF, Yan YL, Pang Y, Deng YH. Increased expressions of IL-22 and Th22 cells in the coxsackievirus B3-induced mice acute viral myocarditis. *Viral J* 2012; 9: 232 [PMID: 23050732 DOI: 10.1186/1743-422x-9-232]
- 38 Park O, Wang H, Weng H, Feigenbaum L, Li H, Yin S, Ki SH, Yoo SH, Dooley S, Wang FS, Young HA, Gao B. In vivo consequences of liver-specific interleukin-22 expression in mice: Implications for human liver disease progression. *Hepatology* 2011; 54: 252-261 [PMID: 21465510 DOI: 10.1002/hep.24339]
- 39 Zhang Y, Cobleigh MA, Lian JQ, Huang CX, Booth CJ, Bai XF, Robek MD. A proinflammatory role for interleukin-22 in the immune response to hepatitis B virus. *Gastroenterology* 2011; 141: 1897-1906 [PMID: 21708106 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.06.051]
- 40 杨智, 陈洪涛, 张毅, 吴诗品, 杨智, 张毅. IL-22和IL-17 mRNA在慢性HBV感染者PBMCs中的表达及其意义. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3380-3384
- 41 Dambacher J, Beigel F, Zitzmann K, Heeg MH, Göke B, Diepolder HM, Auernhammer CJ, Brand S. The role of interleukin-22 in hepatitis C virus infection. *Cytokine* 2008; 41: 209-216 [PMID: 18191408 DOI: 10.1016/j.cyto.2007.11.016]
- 42 Ho HH, Ivashkiv LB. Role of STAT3 in type I interferon responses. Negative regulation of STAT1-dependent inflammatory gene activation. *J Biol Chem* 2006; 281: 14111-14118 [PMID: 16571725 DOI: 10.1074/jbc.M511797200]
- 43 Liu Y, Yang B, Zhou M, Li L, Zhou H, Zhang J, Chen H, Wu C. Memory IL-22-producing CD4+ T cells specific for *Candida albicans* are present in humans. *Eur J Immunol* 2009; 39: 1472-1479 [PMID: 19449309 DOI: 10.1002/eji.200838811]
- 44 Wang Z, Yang L, Jiang Y, Ling ZQ, Li Z, Cheng Y, Huang H, Wang L, Pan Y, Wang Z, Yan X, Chen Y. High fat diet induces formation of spontaneous liposarcoma in mouse adipose tissue with overexpression of interleukin 22. *PLoS One* 2011; 6: e23737 [PMID: 21897855 DOI: 10.1371/journal.pone.0023737]
- 45 Jiang R, Tan Z, Deng L, Chen Y, Xia Y, Gao Y, Wang X, Sun B. Interleukin-22 promotes human hepatocellular carcinoma by activation of STAT3. *Hepatology* 2011; 54: 900-909 [PMID: 21674558 DOI: 10.1002/hep.24486]
- 46 Zhuang Y, Peng LS, Zhao YL, Shi Y, Mao XH, Guo G, Chen W, Liu XF, Zhang JY, Liu T, Luo P, Yu PW, Zou QM. Increased intratumoral IL-22-producing CD4(+) T cells and Th22 cells correlate with gastric cancer progression and predict poor patient survival. *Cancer Immunol Immunother* 2012; 61: 1965-1975 [PMID: 22527243 DOI: 10.1007/s00262-012-1241-5]
- 47 Xu X, Tang Y, Guo S, Zhang Y, Tian Y, Ni B, Wang H. Increased intratumoral interleukin 22 levels and frequencies of interleukin 22-producing CD4+ T cells correlate with pancreatic cancer progression. *Pancreas* 2014; 43: 470-477 [PMID: 24622082 DOI: 10.1097/mpa.0000000000000055]
- 48 Ye ZJ, Zhou Q, Yin W, Yuan ML, Yang WB, Xiang F, Zhang JC, Xin JB, Xiong XZ, Shi HZ. Interleukin 22-producing CD4+ T cells in malignant pleural effusion. *Cancer Lett* 2012; 326: 23-32 [PMID: 22809567 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.07.013]
- 49 Zhang W, Chen Y, Wei H, Zheng C, Sun R, Zhang J, Tian Z. Antiapoptotic activity of autocrine inter-

- leukin-22 and therapeutic effects of interleukin-22-small interfering RNA on human lung cancer xenografts. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 6432-6439 [PMID: 18927282 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-07-4401]
- 50 韩雪花, 刘立民, 张彦明, 张兴霞, 赵广圣, 司叶俊, 林国强, 何广胜, 吴德沛. 骨髓增生异常综合征患者外周血Th22细胞水平的变化及意义. *中国免疫学杂志* 2013; 29: 62-65
- 51 Shao LL, Zhang L, Hou Y, Yu S, Liu XG, Huang XY, Sun YX, Tian T, He N, Ma DX, Peng J, Hou M. Th22 cells as well as Th17 cells expand differentially in patients with early-stage and late-stage myelodysplastic syndrome. *PLoS One* 2012; 7: e51339 [PMID: 23236476 DOI: 10.1371/journal.pone.0051339]
- 52 刘立民, 张兴霞, 张彦明, 赵广圣, 孙雨梅, 吴德沛. 急性髓系白血病患者外周血Th22细胞水平的变化. *中华血液学杂志* 2012; 33: 133-134
- 53 刘立民, 张兴霞, 赵广圣, 司叶俊, 林国强, 张彦明, 何广胜, 吴德沛. 急性淋巴细胞白血病患者外周血Th22细胞水平的变化及意义. *中华血液学杂志* 2012; 33: 985-988

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 解毒化痰健脾方及拆方对胃黏膜异型增生大鼠多基因去甲基化诱导表达的比较

李志钢, 张伟, 邱作成, 纪勇, 李玲, 夏宽宏

## ■背景资料

肠化生与胃黏膜异型增生属胃癌前病变阶段, 选择合适的药物可有效阻断胃癌前病变向胃癌的转变。

李志钢, 邱作成, 新疆维吾尔自治区中医医院专家门诊 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

张伟, 新疆维吾尔自治区中医医院耳鼻喉科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

纪勇, 李玲, 新疆医科大学动物实验中心 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

夏宽宏, 新疆维吾尔自治区中医医院病理科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

李志钢, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的临床与实验的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81060288

作者贡献分布: 本课题由李志钢与张伟共同设计; 研究过程由李志钢、张伟及邱作成共同完成; 病理分析由夏宽宏完成; 数据分析由纪勇与李玲共同完成; 写作由李志钢完成、纪勇及李玲进行修改。

通讯作者: 张伟, 主管护师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市黄河路116号, 新疆维吾尔自治区中医医院耳鼻喉科。

doctorzhangwei@163.com

电话: 0991-5857265

收稿日期: 2014-02-20 修回日期: 2014-03-18

接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-05-08

## Comparative analysis of each prescription of Jiedu Huayu Jianpi Fang for multiple gene demethylation and expression in mucosal dysplasia in rats

Zhi-Gang Li, Wei Zhang, Zuo-Cheng Qiu, Yong Ji, Ling Li, Kuan-Hong Xia

Zhi-Gang Li, Zuo-Cheng Qiu, Department of Expert Outpatient Service, Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Wei Zhang, Department of ENT, Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Yong Ji, Ling Li, Animal Experimental Center of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Kuan-Hong Xia, Department of Pathology, Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060288

Correspondence to: Wei Zhang, Chief Nurse, Department of ENT, the Xinjiang Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, 116 Huanghe Road, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. doctorzhangwei@163.com

Received: 2014-02-20 Revised: 2014-03-18

Accepted: 2014-03-31 Published online: 2014-05-08

## ■同行评议者

李康, 副教授, 广东药学院药科学院药物分析教研室

## Abstract

**AIM:** To evaluate the contribution of each prescription of Jiedu Huayu Jianpi Fang to the therapeutic effects on gastric mucosal dysplasia from the perspective of induced gene expression.

**METHODS:** We divided gastric mucosal dysplasia rats into a model control (MG) group, a Western medicine (retinoic acid) treatment (PCG) group, a combined prescription (Jiedu Huayu Jianpi) treatment (A) group, and Jiedu (B), Huayu (C), Yiqi (D), Yangying (E) and Liqi (F) single prescription treatment groups. Normal rats were used as controls (CG). Methylation specific PCR technique was used to detect the methylation status of *p16*, *PETN*, *Thbs1*, *E-Cadherin*, and *Runx3* genes in gastric mucosal cells of rats. Real-time PCR and immunohistochemistry were used to detect the mRNA and protein expression of each genes.

**RESULTS:** All of the Jiedu Huayu Jianpi treatment groups showed a certain degree of demethylation of *p16*, *PETN*, *Thbs1*, *E-Cadherin*, and *Runx3* gene. Compared with group CG, the mRNA expression of *p16* ( $P < 0.01$ ), *PETN*, *E-Cadherin* and *Thbs1* in group A, *Thbs1* in group B, *p16*, *PETN* and *Thbs1* in group C, *Thbs1* in group E, *p16* and *Thbs1* in group F increased significantly ( $P < 0.05$  for all); and the protein expression of *p16*, *PTEN*, *E-cad*, *RUNX3*, and *THBS1* in group A, *p16* in group B, *p16* and *THBS1* in group C, *p16*, *PTEN*, *E-cad* and *THBS1* in group D, *p16*, *E-cad*, *RUNX3* and *THBS1* in group E, *p16*, *PTEN*, *E-cad*, *RUNX3* and *THBS1* in group F increased significantly ( $P < 0.05$  for all). The effect of Jiedu Huayu Jianpi Fang on gastric mucosal dysplasia was the most prominent, followed by Liqi, Yangyin, Huayu, Yiqi and Jiedu single prescriptions.

**CONCLUSION:** The effect of Jiedu Huayu Jianpi Fang on gastric mucosal dysplasia is much better than those of each single prescription. Gastric



mucosal dysplasia should be treated mainly by means of Liqi and Yangyin.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Jiedu Huayu Jianpi; Gastric mucosal dysplasia; Methylmion specific PCR; Real-time PCR; Immunohistochemistry

Li ZG, Zhang W, Qiu ZC, Ji Y, Li L, Xia KH. Comparative analysis of each prescription of Jiedu Huayu Jianpi Fang for multiple gene demethylation and expression in mucosal dysplasia in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1820-1825 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1820.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1820>

## 摘要

**目的:** 从诱导基因表达角度评估解毒化痰健脾方及拆方对胃黏膜异型增生模型大鼠治疗的贡献作用。

**方法:** 甲基化特异性PCR(methylmion specific PCR, MSP)法检测正常对照组、胃黏膜异型增生组、西药维甲酸治疗组、解毒化痰健脾全组方治疗组、中药单组方解毒组、化痰组、益气组、养阴组、理气组抑癌基因及肿瘤相关基因*p16*、*PETN*、凝血栓蛋白酶基因1(thrombospondin 1, *Thbs1*)、*E-Cadherin*、*Runx3*的甲基化程度; Real-time PCR及免疫组织化学法检测解毒化痰健脾中药各组处理因促使各基因去甲基化导致的mRNA及蛋白表达水平表达变化。

**结果:** 解毒化痰健脾方及各拆方组均可一定程度实现*p16*、*PETN*、*Thbs1*、*E-Cadherin*、*Runx3*的去甲基化; 转录水平各组相比CG组基因表达变化分别为: A组*p16*极显著升高( $P<0.01$ ), *PETN*、*E-Cadherin*、*Thbs1*、B组*Thbs1*、C组*p16*、*PETN*、*Thbs1*、E组*Thbs1*、F组*p16*、*Thbs1*显著升高( $P<0.05$ ); 蛋白水平各组相比CG组蛋白表达的变化为: A组*p16*、*PTEN*、*E-Cadherin*、*RUNX3*、*THBS1*、B组*p16*、C组*p16*、*THBS1*、D组除*RUNX3*外的蛋白、E组除*PTEN*的蛋白、F组除*THBS1*外的蛋白均显著上调( $P<0.05$ ); 统计各组在转录和蛋白翻译水平的变化积分, 结果表明解毒化痰健脾中药方贡献分值最为突出, 其次为单组方理气组、养阴组、化痰、益气组及解毒组。

**结论:** 解毒化痰健脾方对胃黏膜异型增生的治疗作用优于各拆方治疗组, 对胃黏膜异型增生的治疗应以理气养阴为主。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 解毒化痰健脾; 胃黏膜异型增生; MSP; Real-time PCR; 免疫组织化学

**核心提示:** 解毒化痰健脾中药全组方相比各组拆方对于胃黏膜异型增生的治疗作用更佳, 对于胃黏膜异型增生的治疗应以理气养阴为主。

李志钢, 张伟, 邱作成, 纪勇, 李玲, 夏宽宏. 解毒化痰健脾方及拆方对胃黏膜异型增生大鼠多基因去甲基化诱导表达的比较. *世界华人消化杂志* 2014; 22(13): 1820-1825 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1820.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1820>

## 0 引言

胃癌是常见的消化系癌症之一, 病死率居我国恶性肿瘤首位<sup>[1]</sup>, 居世界癌症第2位<sup>[2]</sup>, 每年死于此病者超过16万例, 约占全部肿瘤死亡的1/5<sup>[3]</sup>. 研究证实, 胃癌的发生发展是涉及多种抑癌基因及肿瘤相关基因参与的多步骤过程. 胃癌发生之前, 常经历被称为胃癌前病变的肠化生及胃黏膜异型增生阶段, 如何有效抑制胃癌前病变的发展, 逆转胃癌的发生成为胃癌防治的关键. 胃癌的发生涉及遗传学及表观遗传学两大作用机制, 其中表观遗传学机制的DNA甲基化在胃癌发生进展中具有重要的作用<sup>[4-6]</sup>, 成为除基因突变和缺失之外的促使抑癌基因失活的第3种机制<sup>[7]</sup>, 抑癌基因CpG岛甲基化也成为目前肿瘤分子生物学的研究热点. 甲基化常导致抑癌基因*p16*<sup>[8]</sup>、*PETN*、凝血栓蛋白酶基因1(thrombospondin 1, *Thbs1*)<sup>[9]</sup>以及肿瘤远端转移相关基因上皮细胞钙黏蛋白基因(*E-Cadherin*)<sup>[10]</sup>、转录因子*Runx3*<sup>[11]</sup>等肿瘤相关基因的失活, 与胃癌的发生密切相关. DNA甲基化可因外界环境的干预而逆转, 因此选用合适的药物干预改变抑癌基因及肿瘤相关基因的甲基化程度, 可以一定程度抑制胃癌前病变的进程, 预防胃癌的发生。

本研究前期的研究发现解毒化痰健脾方对于胃黏膜异型增生模型大鼠具有一定的治疗作用, 该中药方由解毒、化痰、益气、养阴、理气5个单组方组成, 本研究拟通过检测该中药全组方及各单组方处理下胃黏膜异型增生大鼠*p16*、*PETN*、*Thbs1*、*E-Cadherin*、*Runx3*基因的甲基化逆转情况, 及检测各基因在mRNA和蛋白水平的表达变化, 从因去甲基化诱导基因表达的角度评估该中药全组方及各单组方对胃黏

## ■研究前沿

抑癌基因及肿瘤相关基因的甲基化与胃癌的发生发展密切相关. 选择有效的药物干预, 逆转抑癌基因及肿瘤相关基因的甲基化状态可改变这些基因在转录和蛋白水平的表达, 可有效抑制胃癌前病变向胃癌的发展, 甚至逆转。

## ■相关报道

范尧夫等研究认为P16蛋白异常表达对胃癌的发生发展、恶变程度密切相关。刘芬、Kang等认为PTEN的甲基化与胃癌的发生及分化程度存在一定到各相关性,但Sato的报道得出截然相反的结论。Yuecheng等研究发现胃癌中E-Cadherin因启动子区CpG岛的高甲基化而导致该基因的低表达。Kim等发现在胃癌中基因因甲基化低表达。Sakakura和刘芬等认为超过半数的胃癌组织和更高比例的胃癌细胞株中,转录因子Runx3基因表达明显降低甚至缺失。

表1 各检测基因甲基化特异性聚合酶链反应(MSP)扩增引物

引物	序列	扩增片段长度(bp)
<i>p16</i>	F: 5'-TGTTTGTGAGGATAAGGATTATTC-3' R: 5'-AAAAAAAACACAAAAAATCACGAC-3'	147
<i>PTEN</i>	F: 5'-TTTTGAGTAGTTTTGGAAAGAGATG-3' R: 5'-AACCTTAACAATAAACAACAAC-3'	126
<i>E-cad</i>	F: 5'-AGGTTATTAAGAAAATCGTCGG-3' R: 5'-AAAAATTTTAAATAACATTTTAACGTA-3'	128
<i>RUNX3</i>	F: 5'-TTTTTATTTACGGGGAGAAAGC-3' R: 5'-AAAACACAACAAACCTACAACGA-3'	119
<i>Thbs1</i>	F: 5'-ATTATATTTTGTGTTGGGAGTTGA-3' R: 5'-ATAACCACTCATATTTCTTAACATA-3'	132

膜异型增生治疗的贡献大小,为解毒化瘀健脾中药的临床应用提供参考依据。

## 1 材料和方法

1.1 材料 SPF级健康♂SD大鼠[SCXK(新)2011-0004]10只,胃黏膜异型增生模型大鼠123只,置于新疆医科大学实验动物中心SPF动物实验室条件下饲养。解毒化瘀健脾方药材:购自新疆医科大学附属中医医院门诊中药房,经自治区中医医院中药药理鉴定室李玲主任中药师鉴定。维甲酸:上海第六制药厂生产,批号:H31020263。盐酸雷尼替丁胶囊:赛诺菲安万特(杭州)制药有限公司产品,产品批号:2011;雷尼替丁饲料。由新疆新疆医科大学实验动物中心制成0.04%雷尼替丁的颗粒状SPF级大鼠饲料。乙醇:汕头市光华化学厂产品,批号:20110706。精确称取解毒化瘀健脾方全组方及各拆方相应剂量的生药,加入清洁自来水浸泡30 min,常规煎煮2次,30 min/次,4层纱布过滤滤液,2次药液混合后,加热浓缩为提取药液。为保证各拆方组及配伍组合组中组成药物的生药浓度与全方中相应生药浓度相同,各拆方组及配伍组合组加热浓缩后的体积与全方煎液的浓缩体积相同。制备好的药液,装入玻璃器具中,4℃放置备用。

## 1.2 方法

1.2.1 分组:造模成功的胃黏膜异型增生大鼠随机分为:模型组(MG组,  $n = 18$ )、维甲酸阳性对照组(positive control group, PCG组,  $n = 15$ )、解毒化瘀健脾方中药全方组(A组,  $n = 15$ )、解毒组(B组,  $n = 15$ )、化瘀组(C组,  $n = 15$ )、益气组(D组,  $n = 15$ )、养阴组(E组,  $n = 15$ )、理气组(F组,  $n = 15$ )。另外,以SPF级♂SD大鼠10只为空白对照组(CG)。

1.2.2 给药:各组中药方剂量按实验动物与成人用药量的换算方法<sup>[12]</sup>计算,同时采用中剂量动物实验标准方法给药。解毒化瘀健脾方全方水煎剂30.5 g/(kg·d)+三七粉0.83 g/(kg·d)、及解毒组中药水煎剂6.5 g/(kg·d)、化瘀组化瘀中药水煎剂4 g/(kg·d)+三七粉0.83 g/(kg·d)、益气组中药水煎剂8.33 g/(kg·d)、养阴组中药水煎剂3.33 g/(kg·d)、理气组中药水煎剂8.33 g/(kg·d)分别灌胃相应各组大鼠;维甲酸对照组灌服维甲酸悬浊液0.04 g/(kg·d)。其中空白对照组、模型组分别灌服生理盐水10 mL/(kg·d);治疗6 wk后断颈处死。

1.2.3 取材及实验设计:摘离全胃,迅速沿大弯侧剪开,冷生理盐水漂洗内容物,再沿小弯侧剪开,一半用滤纸吸干水分,钝刀片从胃窦侧刮取胃黏膜约50-100 mg,然后分别行甲基化特异性PCR(methylmion specific PCR, MSP)检测(引物如表1)、Real-time PCR检测(引物如表2)、免疫组织化学检测*p16*、*PETN*、*Thbs1*、*E-Cadherin*、*Runx3*的甲基化程度及各基因在转录与蛋白翻译水平的表达变化。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行数据分析,GraphPad Prism5.0软件绘图,计数资料的比较采用秩和检验;Real-time PCR与免疫组织化学数据以3次独立试验mean±SD表示,计量资料用单因素方差分析,两两比较用 $q$ 检验(LSD法), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 MSP检测结果 各检测基因甲基化检测结果表明,各药物处理组各检测基因的甲基化程度相比模型组均有下降,或降至与正常对照组甲基化程度,或降低为零,即各组药物治疗均不同程度抑制了被检测基因的甲基化程度(图1)。

表 2 各检测基因Real-time PCR引物

基因名	序列	扩增片段长度(bp)
<i>p16</i>	F: 5'-TCGTGCGGTATTTGCGGTAT-3' R: 5'-TAGTCTCGCGTTGCCAGAAG-3'	184
<i>PTEN</i>	F: 5'-TACCAGGACCAGAGGAAACCT-3' R: 5'-GGGTGAGCACAAGATACTCT-3'	120
<i>E-cad</i>	F: 5'-GCGGCGAAGAAGACTAGAGA-3' R: 5'-ACTGGTAGGTAGAGTGGGACC-3'	156
<i>RUNX3</i>	F: 5'-ACCGAGCCATCAAGGTTACTG-3' R: 5'-GTCTCCGAAGCGGTCGGG-3'	101
<i>Thbs1</i>	F: 5'-ACTTGGACGCTCTGCCTATG-3' R: 5'-TTGCGGGGGTTGTAGA-3'	248

# ■创新盘点

本研究采用MSP法检测解毒化痰健脾中药各个组方干预后抑癌基因及肿瘤相关基因*p16*、*PTEN*、*Thbs1*、*E-Cadherin*、*Runx3*甲基化受抑制程度及被检测基因在转录和蛋白水平的表达量变化,且对比分析该中药方各组成成分对胃黏膜异型增生治疗的贡献贡献。

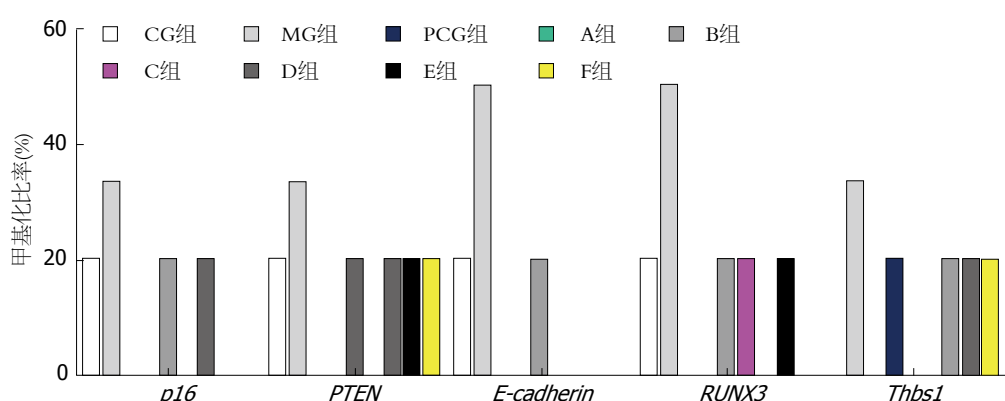


图 1 各组被检测基因甲基化比率. 每个基因在每组中的甲基化比率以每组中被检测出该基因甲基化的大鼠只数占每组被检测大鼠总数的百分比表示. MG组: 模型组; PCG组: 维甲酸阳性对照组; A组: 解毒化痰健脾方中药全方组; B组: 解毒组; C组: 化痰组; D组: 益气组; E组: 养阴组; F组: 理气组.

2.2 Real-time PCR检测结果 表3汇总了各治疗组对目标基因去甲基化影响的Real-time PCR结果, 可以清楚地看到, 在中药治疗组中, A组对*p16*、*PTEN*、*E-cadherin*、*Thbs1* 4个基因在mRNA水平的上调表达具有积极干预作用; 其次, C组、F组对*p16*、*Thbs1* 2个基因在mRNA水平的上调表达也具有积极干预作用; 除D组外, 各中药组方处理均使*Thbs1*在mRNA水平的表达显著增加.

表4从蛋白表达水平汇总了各治疗组对目标基因去甲基化影响的免疫组织化学结果, 结果显示: 在中药治疗组中, A组、E组、F组分别对4个被检测基因在蛋白水平的上调表达具有积极干预作用; 其次, D组对3个被检测基因在蛋白水平的上调表达具有积极干预作用; 而C组则使*p16*、*Thbs1* 2个蛋白及B组(解毒组)使*Thbs1*蛋白的表达量显著增加.

由于抑癌基因及肿瘤相关基因的甲基化而导致的此类基因失活与胃癌发生发展密切相关, 使用药物干预实现该类基因的去甲基化, 诱

导该类基因表达对于控制胃癌前病变进程, 实现胃癌转归有重要的贡献作用. 因此, 本研究制定以下评分规则评估各组药物处理对于因药物治疗使各被检测基因去甲基化而诱导基因在mRNA水平和蛋白表达水平上调的贡献, 间接反映各组药物对于治疗胃黏膜异型增生的贡献. 以各处理组各被检测基因在mRNA水平和蛋白表达水平与模型对照组具有显著差异记1分, 具有极显著差异记2分, 汇总每组各检测基因总得分为该组处理总得分. 结果显示, 中药全方组贡献分值最高(9分), 且高于阳性对照西药维甲酸治疗组(7分); 各拆方治疗组的贡献分值由高到低依次为理气组(6分)、养阴组(5分)、化痰组(4分)、益气组(4分)及解毒组(2分).

## 3 讨论

DNA甲基化是对DNA的一种化学修饰, 在维持染色体结构、胚胎发育、细胞分化及肿瘤发生等方面发挥重要的作用<sup>[13]</sup>. 近期人们对比分析几



## ■应用要点

探讨解毒化癥健脾中药全组方及各组拆方对胃黏膜异型增生抑癌基因、肿瘤相关基因*p16*、*PETN*、*Thbs1*、*E-Cadherin*、*Runx3*的甲基化及表达异常的干预作用,分析各组药物处理治疗胃黏膜异型增生的贡献,为确认采用中药治疗胃黏膜异型增生可能的侧重方向提供数据资料。

表 3 各治疗组对目标基因去甲基化影响的Real-time PCR结果汇总

基因	PCG组(维甲酸组)	A组(全方组)	B组(解毒组)	C组(化痰组)	D组(益气组)	E组(养阴组)	F组(理气组)
<i>p16</i>	2.62 ± 0.61	1618.86 ± 262.44 <sup>b</sup>	1.60 ± 0.62	1914.90 ± 238.17 <sup>a</sup>	3.58 ± 1.27	1.53 ± 0.50	1744.58 ± 377.63 <sup>a</sup>
<i>PTEN</i>	1.02 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.06 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.67 ± 0.10	0.06 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.96 ± 0.11	0.69 ± 0.12	0.003 ± 0.002
<i>E-cadherin</i>	0.87 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.97 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.83 ± 0.05	0.77 ± 0.06	0.67 ± 0.04	0.76 ± 0.07	0.73 ± 0.11
<i>RUNX3</i>	0.88 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.03	0.65 ± 0.06	0.71 ± 0.07	0.74 ± 0.05	0.67 ± 0.03	0.50 ± 0.04
<i>Thbs1</i>	1.65 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.49 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.51 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.58 ± 0.19 <sup>a</sup>	0.98 ± 0.08	1.59 ± 0.11 <sup>a</sup>	1.35 ± 0.13 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>*P* < 0.05; <sup>b</sup>*P* < 0.01 vs 同一被检测基因对应空白对照组(CG组, 相对表达量为1, 表中未列出)。

表 4 各治疗组对目标基因去甲基化影响的免疫组织化学结果汇总

基因	PCG组(维甲酸组)	A组(全方组)	B组(解毒组)	C组(化痰组)	D组(益气组)	E组(养阴组)	F组(理气组)
<i>p16</i>	0.78 ± 0.11 <sup>a</sup>	1.61 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.51 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.11 <sup>a</sup>	1.22 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.12 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.05 <sup>a</sup>
<i>PTEN</i>	0.74 ± 0.21	1.07 ± 0.11 <sup>a</sup>	0.50 ± 0.07	0.67 ± 0.06	0.97 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.70 ± 0.08	1.06 ± 0.19 <sup>a</sup>
<i>E-cadherin</i>	0.34 ± 0.09	1.07 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.06	0.26 ± 0.04	1.04 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.07 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.09 <sup>a</sup>
<i>RUNX3</i>	0.85 ± 0.12 <sup>a</sup>	0.58 ± 0.07	0.44 ± 0.10	0.38 ± 0.04	0.70 ± 0.12	1.46 ± 0.11 <sup>a</sup>	1.06 ± 0.07 <sup>a</sup>
<i>Thbs1</i>	0.51 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.52 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.06	0.63 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.06	0.44 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.27 ± 0.03

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 同一被检测基因对应空白对照组(CG组, 相对表达量为1, 表中未列出)。

种癌、癌旁组织和正常组织的DNA,发现某些癌基因的低甲基化和抑癌基因的高甲基化改变是细胞癌变的重要特征<sup>[14,15]</sup>。由于甲基化调节基因表达的过程是可逆且受环境因素的影响,因此可以选择合适的药物干预达到去甲基化,诱导相关基因蛋白上调表达,从而控制癌症发展进程。本研究的结果也表明,解毒化癥健脾中药无论是全组方还是单组方,均能够一定程度的实现被检测基因的去甲基化,预示解毒化癥健脾中药对于控制胃癌前病变进程具有调节作用。

抑癌基因及肿瘤相关基因的异常表达与肿瘤的发生发展密切相关。抑癌基因*p16*可通过与CDK4/6结合抑制后者的作用,进而低磷酸化RB蛋白,调控G<sub>1</sub>/S转变而抑制细胞增殖<sup>[8]</sup>,胃癌中该基因异常甲基化是使其失活的主要机制<sup>[16]</sup>,该基因蛋白异常表达与胃癌的发生发展、恶变程度、淋巴结转移预后密切相关<sup>[17]</sup>。肿瘤远端转移相关基因*E-cadherin*因启动子区CpG岛的高甲基化而导致该基因的低表达的现象在胃癌、结直肠癌、乳腺癌及前列腺癌等肿瘤中均得到证实<sup>[10]</sup>。*Thbs1*具抑制肿瘤发生发展的作用<sup>[9]</sup>,据文献报道胃癌<sup>[18,19]</sup>中因该基因甲基化而导致该

蛋白表达量的下调。此外,超过半数的胃癌组织和更高比例的胃癌细胞株中,转录因子*Runx3*基因表达明显降低甚至缺失<sup>[20,21]</sup>。本研究Real-time PCR及免疫组织化学结果均表明,该基因无论在mRNA水平或蛋白水平,解毒化癥健脾方及拆方干预均可一定程度诱导以上被检测基因表达量上调。抑癌基因*PTEN*与胃癌的关系文献报道较少,且结论并不一致,部分学者认为该基因的甲基化与胃癌的发生及分化程度存在相关性<sup>[22,23]</sup>,也有研究得出截然相反的结论<sup>[24]</sup>。我们的研究结果显示,解毒化癥健脾方及拆方的干预均使异型增生胃黏膜中该基因甲基化程度降低,也诱导该基因在mRNA和蛋白水平表达量增加。

汇总各药物处理组诱导的基因表达变化与模型对照组间的差异显著性积分,结果表明:解毒化癥健脾中药全组方对于诱导基因表达的贡献分值最高;单组方中理气与养阴组总积分较高。该结果从侧面提示我们应选择解毒化癥健脾中药全组方用于胃黏膜异型增生治疗,且应以理气养阴为主。此外,该中药方在胃黏膜异型增生的治疗中*p16*、*E-Cadherin*、*PTEN*、*Thbs1*相比*Runx3*更为易感,其中抑癌基因*Thbs1*对该

药物干预的易感性最为突出。

该研究为解毒化痰健脾中药的临床应用提供了分子生物学方面的参考依据。胃癌的发生还涉及其他多种抑癌基因的参与, 解毒化痰健脾方及拆方对胃癌前病变的干预贡献还应结合临床病理生理的变化得出进一步结论。

#### 4 参考文献

- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300 [PMID: 20610543 DOI: 10.3322/caac.20073]
- 胡品津, 刘新光. 消化内科学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 34
- 梁国英. 谢晶日教授治疗慢性萎缩性胃炎伴肠化及异型增生经验举隅. *中医药信息* 2013; 30: 72-73
- 刘玺, 陈卫刚, 李睿, 刘芳, 刘晓燕, 康雪, 马聪, 窦玉琴, 郑勇. 新疆哈萨克族胃癌中Smad4基因启动子的甲基化状态. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1907-1913
- Saito K, Kawakami K, Matsumoto I, Oda M, Watanabe G, Minamoto T. Long interspersed nuclear element 1 hypomethylation is a marker of poor prognosis in stage IA non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 2418-2426 [PMID: 20371677 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2819]
- 朱新江, 戴冬秋. 表遗传学与胃肠道肿瘤. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 3251-3256
- Lund AH, van Lohuizen M. Epigenetics and cancer. *Genes Dev* 2004; 18: 2315-2335 [PMID: 15466484 DOI: 10.1101/gad.1232504]
- 王燕, 周力, 陈晓琴, 张维, 王岚. 巢式MSP法检测胃癌患者血浆p16, MGMT基因甲基化. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 384-387
- Filleur S, Volpert OV, Degeorges A, Volland C, Reiher F, Clézardin P, Bouck N, Cabon F. In vivo mechanisms by which tumors producing thrombospondin 1 bypass its inhibitory effects. *Genes Dev* 2001; 15: 1373-1382 [PMID: 11390357 DOI: 10.1101/gad.193501]
- Yuecheng Y, Hongmei L, Xiaoyan X. Clinical evaluation of E-cadherin expression and its regulation mechanism in epithelial ovarian cancer. *Clin Exp Metastasis* 2006; 23: 65-74 [PMID: 16826427 DOI: 10.1007/s10585-006-9020-3]
- Bangsow C, Rubins N, Glusman G, Bernstein Y, Negreanu V, Goldenberg D, Lotem J, Ben-Asher E, Lancet D, Levanon D, Groner Y. The RUNX3 gene-sequence, structure and regulated expression. *Gene* 2001; 279: 221-232 [PMID: 11733147 DOI: 10.1016/S0378-1119(01)00760-0]
- 苗明三. 实验动物学和动物实验技术. 北京: 中国中医药出版社, 1997: 144
- Li Y, Tollefsbol TO. Impact on DNA methylation in cancer prevention and therapy by bioactive dietary components. *Curr Med Chem* 2010; 17: 2141-2151 [PMID: 20423306 DOI: 10.2174/092986710791299966]
- Wong ML, Tao Q, Fu L, Wong KY, Qiu GH, Law FB, Tin PC, Cheung WL, Lee PY, Tang JC, Tsao GS, Lam KY, Law S, Wong J, Srivastava G. Aberrant promoter hypermethylation and silencing of the critical 3p21 tumour suppressor gene, RASSF1A, in Chinese oesophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2006; 28: 767-773 [PMID: 16465383]
- Fang JY, Lu R, Mikovits JA, Cheng ZH, Zhu HY, Chen YX. Regulation of hMSH2 and hMLH1 expression in the human colon cancer cell line SW1116 by DNA methyltransferase 1. *Cancer Lett* 2006; 233: 124-130 [PMID: 16473673 DOI: 10.1016/j.canlet.2005.03.005]
- Li Q, Wang X, Lu Z, Zhang B, Guan Z, Liu Z, Zhong Q, Gu L, Zhou J, Zhu B, Ji J, Deng D. Polycomb CBX7 directly controls trimethylation of histone H3 at lysine 9 at the p16 locus. *PLoS One* 2010; 5: e13732 [PMID: 21060834 DOI: 10.1371/journal.pone.0013732]
- 范尧夫, 魏睦新. 胃癌癌前病变的研究进展及防治对策. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1807-1812
- Guo W, Dong Z, He M, Guo Y, Guo J, Chen Z, Yang Z, Kuang G. Aberrant methylation of thrombospondin-1 and its association with reduced expression in gastric cardia adenocarcinoma. *J Biomed Biotechnol* 2010; 2010: 721485 [PMID: 20300551]
- Kim JH, Jung EJ, Lee HS, Kim MA, Kim WH. Comparative analysis of DNA methylation between primary and metastatic gastric carcinoma. *Oncol Rep* 2009; 21: 1251-1259 [PMID: 19360301 DOI: 10.3892/or.00000348]
- Oshimo Y, Oue N, Mitani Y, Nakayama H, Kitadai Y, Yoshida K, Ito Y, Chayama K, Yasui W. Frequent loss of RUNX3 expression by promoter hypermethylation in gastric carcinoma. *Pathobiology* 2004; 71: 137-143 [PMID: 15051926 DOI: 10.1159/000076468]
- Sakakura C, Hagiwara A, Miyagawa K, Nakashima S, Yoshikawa T, Kin S, Nakase Y, Ito K, Yamagishi H, Yazumi S, Chiba T, Ito Y. Frequent downregulation of the runt domain transcription factors RUNX1, RUNX3 and their cofactor CBFβ in gastric cancer. *Int J Cancer* 2005; 113: 221-228 [PMID: 15386419 DOI: 10.1002/ijc.20551]
- 刘芬, 于皆平, 于红刚. 胃癌中抑癌基因PTEN甲基化状态的检测. *中华消化杂志* 2006; 28: 551-552
- Kang YH, Lee HS, Kim WH. Promoter methylation and silencing of PTEN in gastric carcinoma. *Lab Invest* 2002; 82: 285-291 [PMID: 11896207 DOI: 10.1038/labinvest.3780422]
- Sato K, Tamura G, Tsuchiya T, Endoh Y, Sakata K, Motoyama T, Usuba O, Kimura W, Terashima M, Nishizuka S, Zou T, Meltzer SJ. Analysis of genetic and epigenetic alterations of the PTEN gene in gastric cancer. *Virchows Arch* 2002; 440: 160-165 [PMID: 11964046 DOI: 10.1007/s004280100499]

#### 同行评价

研究具有一定科学价值。解毒化痰健脾方及拆方对胃黏膜异型增生大鼠多基因去甲基化诱导表达, 说明全方治疗作用优于各拆方治疗组, 对胃黏膜异型增生的治疗应以理气养阴为主。从去甲基化诱导基因表达的角度评估, 为解毒化痰健脾中药的临床应用提供参考依据。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# Th17及Th1细胞在四氯化碳致肝纤维化小鼠模型中的表达及关系

黄小丽, 郭晓云, 姜海行, 覃山羽, 罗薇, 马诗家, 卢东红, 陈梅, 王家旭, 杨显文

## ■背景资料

肝纤维化是各种原因引起的慢性肝损伤所共有的病理改变,也是进一步向肝硬化发展的中间环节。固有免疫系统和适应性免疫系统在肝纤维化过程中发挥重要作用。辅助性T淋巴细胞是机体重要的免疫调节细胞,其在肝病中的作用引起人们的广泛关注,明确辅助性T细胞(T helper cells 17, Th)17和Th1细胞在肝纤维化进展中的相互作用,可为治疗提供新的研究方向。

黄小丽, 郭晓云, 姜海行, 覃山羽, 罗薇, 马诗家, 卢东红, 陈梅, 王家旭, 杨显文, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

黄小丽, 在读硕士, 主要从事肝纤维化机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81260083, 31360221

作者贡献分布: 此课题由郭晓云、姜海行、覃山羽、罗薇及黄小丽设计; 研究过程由黄小丽、马诗家、卢东红、陈梅、王家旭及杨显文操作完成; 研究所用试剂及分析工具由姜海行提供; 数据分析由黄小丽完成; 本论文写作由黄小丽完成。

通讯作者: 郭晓云, 副主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院消化内科。

withoutgloom@sohu.com

电话: 0771-5356725

收稿日期: 2014-02-20 修回日期: 2014-03-21

接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## Expression of Th17 and Th1 cells in a murine model of carbon tetrachloride-induced liver fibrosis

Xiao-Li Huang, Xiao-Yun Guo, Hai-Xing Jiang, Shan-Yu Qin, Wei Luo, Shi-Jia Ma, Dong-Hong Lu, Mei Chen, Jia-Xu Wang, Xian-Wen Yang

Xiao-Li Huang, Xiao-Yun Guo, Hai-Xing Jiang, Shan-Yu Qin, Wei Luo, Shi-Jia Ma, Dong-Hong Lu, Mei Chen, Jia-Xu Wang, Xian-Wen Yang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81260083 and 31360221

Correspondence to: Xiao-Yun Guo, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. withoutgloom@sohu.com

Received: 2014-02-20 Revised: 2014-03-21

Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of T helper cells 17 (Th17) and type I helper T cells (Th1) as well as their cytokines interleukin-17 (IL-17) and interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) in a murine model of carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced liver fibrosis.

**METHODS:** Fifty male Balb/c mice were randomly divided into five groups, including a

normal control group (N), two liver fibrosis groups (F4 and F8; induced for 4 and 8 weeks, respectively) and two control groups (C4 and C8), with 10 mice in each group. Liver fibrosis was induced by intraperitoneal injection of CCl<sub>4</sub>. HE staining and Masson's staining were used to detect hepatic pathological changes. The expression of  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) in the liver of mice was determined by immunohistochemical staining. The proportions of CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> T (Th17) cells and CD4<sup>+</sup>IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> T (Th1) cells in the murine spleen were detected by flow cytometric analysis. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure the levels of IL-17 and IFN- $\gamma$  in murine peripheral blood. The correlation analyses between all the above parameters were conducted.

**RESULTS:** HE staining and Masson's staining showed that hepatic fibrosis was successfully induced by CCl<sub>4</sub> injection. After CCl<sub>4</sub> administration, increased expression of  $\alpha$ -SMA was detected in the hepatic fibrosis groups. The  $\alpha$ -SMA spread to the portal, portal area and fibrous septa. Continuous CCl<sub>4</sub> injection led to enlarged fibrosis area in the hepatic fibrosis groups. The percentages of Th17 and Th1 cells in the spleen in the F4 and F8 groups were significantly increased as compared with those in the N, C4 and C8 groups, particularly in F8 ( $P < 0.05$  for all). The levels of IL-17 and IFN- $\gamma$  in the F4 and F8 groups were significantly increased as compared with those in the N, C4 and C8 groups ( $P < 0.05$  for all). Th17 cells and Th1 cells in the spleen in the hepatic fibrosis groups had a positive correlation with  $\alpha$ -SMA expression ( $P < 0.01$  for all). Th17 cells had a positive correlation with Th1 cells and the levels of IL-17 ( $P < 0.01$  for both).

**CONCLUSION:** Th17 and Th1 cells in the spleen as well as the levels of IL-17 and IFN- $\gamma$  in peripheral blood are significantly increased in the murine model of CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis. Th17 cells may be involved in the pathogenesis of liver fibrosis through producing IL-17.

## ■同行评议者

李涛, 副主任医师, 北京大学人民医院肝胆外科



© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** T helper 17 cells; Type I helper T cells; Liver fibrosis; Interleukin-17; Interferon- $\gamma$

Huang XL, Guo XY, Jiang HX, Qin SY, Lou W, Ma SJ, Lu DH, Chen M, Wang JX, Yang XW. Expression of Th17 and Th1 cells in a murine model of carbon tetrachloride-induced liver fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1826-1833 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1826.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1826>

## 摘要

**目的:** 研究辅助性T细胞17(T helper cells 17, Th17)和 I 型辅助性T细胞(type I helper T cells, Th1)及其相关因子白介素-17(interleukin-17, IL-17)、干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 在四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>)诱导肝纤维化小鼠模型中的表达及相互关系。

**方法:** 将50只♂ Balb/c小鼠按随机数字表法分为5组: 正常对照组(N)、4 wk对照组(C4)、8 wk对照组(C8)、4 wk肝纤维化组(F4)、8 wk肝纤维化组(F8), 每组10只。采用腹腔内注射CCl<sub>4</sub>以复制肝纤维化小鼠模型。HE和Masson染色观察小鼠肝脏病理改变; 免疫组织化学染色检测肝脏组织中 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)的表达; 流式细胞检测小鼠脾脏中CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>T(Th17)细胞、CD4<sup>+</sup>IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>T(Th1)细胞的比例; 酶联免疫吸附试验(ELISA)测定外周血IL-17、IFN- $\gamma$ 的含量, 并分析这些指标的相关性。

**结果:** (1) 肝组织病理切片HE染色和Masson染色显示, CCl<sub>4</sub>腹腔注射成功诱导小鼠肝纤维化模型; (2) $\alpha$ -SMA免疫组织化学显示: 模型组 $\alpha$ -SMA表达增加, 在门静脉、汇管区及纤维间隔区域内可见 $\alpha$ -SMA大量表达, 且随肝纤维化程度加重而增加; (3)F4组和F8组小鼠脾脏Th17细胞、Th1细胞比例明显高于N组、C4组和C8组, 且以F8组增高更为明显, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$ ); (4)F4组和F8组外周血IL-17、IFN- $\gamma$ 的含量较N组、C4组和C8组明显增高, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$ ); (5)模型组脾脏Th17细胞、Th1细胞与肝脏 $\alpha$ -SMA含量密切正相关(均 $P<0.01$ ), 脾脏Th17细胞分别与Th1细胞、外周血IL-17水平密切正相关(均 $P<0.01$ )。

**结论:** CCl<sub>4</sub>致肝纤维化小鼠模型中脾脏Th17和Th1细胞及外周血IL-17、IFN- $\gamma$ 水平明显

升高, Th17细胞通过分泌IL-17参与肝纤维化过程。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** Th17细胞; Th1细胞; 肝纤维化; 白介素-17; 干扰素- $\gamma$

**核心提示:** 辅助性T细胞17(T helper cells 17)与 I 型辅助性T细胞(type I helper T cells)细胞的免疫调节作用可能在肝纤维化的发病机制中发挥关键的作用; 同时与其相关的细胞因子也参与了疾病的免疫过程。

黄小丽, 郭晓云, 姜海行, 覃山羽, 罗薇, 马诗家, 卢东红, 陈梅, 王家旭, 杨显文. Th17及Th1细胞在四氯化碳致肝纤维化小鼠模型中的表达及关系. *世界华人消化杂志* 2014; 22(13): 1826-1833 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1826.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1826>

## 0 引言

肝纤维化是由于各种致病因素引起的肝损伤, 在组织修复过程中导致肝脏细胞外基质(extra-cellular matrix, ECM)代谢失衡, 发生异常增多和过度沉积的病理过程, 是肝组织修复过程中的代偿反应<sup>[1]</sup>. ECM主要来源于活化的肝星状细胞(hepatocyte stellate cell, HSC), 而表达 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)是HSC活化的标志. 辅助性T淋巴细胞是机体重要的免疫调节细胞, 根据其产生细胞因子的不同, 辅助性CD4<sup>+</sup>T细胞可分为调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)、辅助性T细胞17(T helper cells 17, Th17)、Th1及Th2等细胞亚群, 他们之间相互调节, 在分化发育上相互制约, 在功能上存在着拮抗或协同的复杂关系, 影响免疫应答的格局. 其中, Th1细胞分泌白介素-2(interleukin-2, IL-2)、干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等, 主要效应是增强吞噬细胞功能, 介导机体细胞免疫反应; Th1细胞功能低下是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关肝硬化、原发性肝癌发生的重要危险因素. IFN- $\gamma$ 是典型的Th1型细胞因子, 可通过抑制肝星状细胞的增殖、胶原的合成, 同时增强自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)清除激活的HSC的活性, 发挥抗纤维化作用<sup>[2]</sup>. 然而, Th1细胞的作用并不能完全解释肝纤维化的发病机制, 多种因素和机制参与肝纤维化的发生和发展. 随着对肝纤维化免疫发病机制研究

## ■ 研发前沿

由于CD4<sup>+</sup>T细胞具有分化为不同的效应T细胞亚群的潜能, 所以被认为是临床预防和治疗肝纤维化的潜在靶细胞, 尤其是其对基质金属蛋白酶系统的调控、与肝纤维化相关细胞因子之间的关系以及在肝星状细胞增殖、迁移中等方面的作用是肝纤维化研究的热点。

## ■相关报道

既往研究显示Th17细胞及Th1细胞在许多炎症性疾病和自身免疫性疾病中往往同时存在,并通过产生特异性的细胞因子调节免疫反应的不同阶段, Th17细胞和Th1细胞均参与肝纤维化发病,二者在肝纤维化发病过程中的相互作用却少见报道。

的深入,一种新型的CD4<sup>+</sup>T细胞-Th17细胞被发现。Th17细胞通过特征性分泌IL-17,同时分泌IL-21、IL-22等炎症性细胞因子,参与了病毒性肝炎、自身免疫性肝病及脂肪性肝病等多种肝病的发病过程<sup>[3]</sup>。Th17细胞和Th1细胞均参与肝纤维化发病<sup>[4]</sup>,但二者在肝纤维化发病过程中的相互作用却少见报道。本研究通过腹腔内注射CCl<sub>4</sub>复制肝纤维化小鼠模型,并观察Th17、Th1细胞表达及其相互作用,为认识肝纤维化发病机制及寻找新的有效治疗靶点提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ♂ Balb/c小鼠50只, SPF级, 6-8周龄, 体重约25 g, 由广西医科大学实验动物中心提供, 自由饮水和进食。CCl<sub>4</sub>及橄榄油购自上海国药集团化学试剂有限公司。RPMI 1640培养基及胎牛血清购自美国Hyclone公司; 乙酸肉豆蔻佛波酯(phorbol myristate acetate, PMA)、离子霉素、 $\alpha$ -SMA一抗购自Sigma-Aldrich公司; 免疫组织化学试剂盒购自北京中杉生物技术有限公司; 红细胞裂解液、蛋白质转运抑制剂莫能霉素、破膜剂购自美国BD公司; 流式细胞检测抗体: 大鼠抗小鼠单克隆流式抗体AF488-IFN- $\gamma$  mAb、PE-Cy5-CD4 mAb、PE-IL-17 mAb及相应抗体的同型对照IgG购自美国BD公司; 小鼠IL-17、IFN- $\gamma$ 酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测试剂盒购自美国eBioscience公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物分组及模型的建立:** 将50只 ♂ Balb/c小鼠按随机数字表法分为5组: 正常对照组(N)、4 wk对照组(C4)、8 wk对照组(C8)、4 wk肝纤维化组(F4)、8 wk肝纤维化组(F8), 每组10只, CCl<sub>4</sub>腹腔注射法建立小鼠肝纤维化模型。C4组和C8组腹腔内注射橄榄油, 2 mg/kg体重, 2次/wk; 模型组腹腔内注射CCl<sub>4</sub>溶液(橄榄油配制), 浓度20%, 2 mg/kg体重, 2次/wk。各组小鼠分别于对应时间点处死, 处死时距最后一次注射时间为72 h。

**1.2.2 外周血采集:** 小鼠通过眶后动脉放血处死, 收集血液1 mL, 以3000 r/min离心20 min, 吸取上层血清, 于-80 °C冰箱中保存备检。分别使用IL-17、IFN- $\gamma$  ELISA试剂盒检测血清中IL-17、IFN- $\gamma$ 的水平。操作过程严格按照试剂盒说明进行, 采用EXCEL软件绘制标准曲线, 计算血清中IL-17、IFN- $\gamma$ 的含量。

**1.2.3 肝脏组织病理学检查:** 打开腹腔, 取肝脏左

叶, 投入40 g/L中性甲醛溶液中固定、脱水、石蜡包埋, 制取4  $\mu$ m切片, 行HE染色及Masson染色, 显微镜下观察肝组织炎性反应及纤维化程度。由两位病理科医生进行盲法阅片。

**1.2.4 免疫组织化学染色检测肝脏组织中 $\alpha$ -SMA的表达:** 用SP法作 $\alpha$ -SMA免疫组织化学染色。肝脏组织石蜡切片常规脱蜡、水化、PBS洗、抗原修复、PBS洗、加正常山羊血清封闭液、依次滴加一抗和二抗、DAB显色, 苏木精复染, 自来水冲洗、脱水、透明、封片、镜检。用已知阳性表达的肝组织切片作为阳性对照, 以PBS代替一抗作阴性对照。肝脏组织 $\alpha$ -SMA免疫组织化学阳性染色是胞浆呈棕黄色, 每张切片随机选取10个高倍镜视野( $\times 400$ ), 使用Image pro-plus6.0图像分析系统半定量测定 $\alpha$ -SMA的表达, 计算平均光密度值, 同一标本三张切片测量值取均值。

**1.2.5 流式细胞术检测小鼠脾脏Th17、Th1细胞:** 在各时间点取小鼠脾脏, PBS中剪碎, 玻璃皿研磨组织, 100、200、400目不锈钢细网依次过滤, 制成脾单细胞悬液。用红细胞裂解液裂解红细胞, 用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基调整淋巴细胞浓度为 $1 \times 10^6$ /mL接种于24孔板, 同时每孔加入PMA(25 ng/mL)、离子霉素(1  $\mu$ g/mL)和莫能霉素(1.7  $\mu$ g/mL), 37 °C、5%CO<sub>2</sub>培养5 h, 收集细胞, 进行细胞表面CD4分子染色, 破膜剂破膜后进行胞内IL-17因子及相应同型对照抗体染色, 利用BD公司FACS Calibur流式细胞仪进行检测。结果用Flowjo7.6.1软件分析。以前向散射角(forward-scattering angle, FSC)和侧向散射角(side scatter, SSC)圈定淋巴细胞, 以CD4<sup>+</sup>设门, CD4荧光以及IL-17荧光双阳性细胞表示Th17细胞亚群, CD4荧光以及IFN- $\gamma$ 荧光双阳性细胞表示Th1细胞亚群。CD4荧光以及IgG荧光双阳性为非特异性结合细胞。Th17细胞占CD4<sup>+</sup>细胞比例 = (CD4及IL-17双阳性细胞数-CD4及IgG双阳性细胞数)/CD4阳性细胞总数 $\times 100\%$ ; Th1细胞占CD4<sup>+</sup>细胞比例 = (CD4及IFN- $\gamma$ 双阳性细胞数-CD4及IgG双阳性细胞数)/CD4阳性细胞总数 $\times 100\%$ 。

**统计学处理** 采用SPSS16.0软件进行统计分析。正态分布的计量资料用mean $\pm$ SD表示, 多组间均数的比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 组间比较采用SNK检验。采用Pearson相关分析法进行相关性检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 各组小鼠 $\alpha$ -SMA的表达 ( $n = 10$ , mean  $\pm$  SD)

分组	$\alpha$ -SMA
N组	0.07 $\pm$ 0.03
C4组	0.07 $\pm$ 0.02
F4组	0.25 $\pm$ 0.05 <sup>ac</sup>
C8组	0.08 $\pm$ 0.03
F8组	0.38 $\pm$ 0.09 <sup>abg</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs N组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs C4组; <sup>b</sup> $P < 0.05$  vs C8组; <sup>g</sup> $P < 0.05$  vs F4组. N组: 正常对照组; C4组: 4 wk对照组; F4组: 4 wk模型组; C8组: 8 wk对照组; F8组: 8 wk模型组.

## 2 结果

**2.1 动物模型的建立情况, 鼠肝的肉眼形态学观察** 在整个实验期间, 对照组及模型组小鼠全部存活, CCl<sub>4</sub>造模后小鼠饮食及活动逐渐减少, 体质量减轻, 反应稍迟钝, 被毛杂乱无光泽. 对照组小鼠肝脏色泽鲜红, 有光泽, 质软, 表面光滑细腻, 边缘锐利. 4 wk肝纤维化组小鼠的肝脏呈暗红色, 表面呈细颗粒状. 8 wk肝纤维化组的肝脏呈灰白色; 边缘钝圆, 表面可见大小不一的细小结节, 质地稍硬.

**2.2 肝组织病理学改变** HE染色显示: 对照组小鼠肝脏标本肝小叶结构完整, 界限清晰. 模型组肝细胞索排列紊乱, 肝小叶结构破坏或消失, 汇管区小胆管增生, 增生小胆管周围有纤维组织生成, 随着造模时间的延长, 中央静脉周围及汇管区纤维沉积逐渐增多, 纤维隔内有大量炎性细胞及成纤维细胞浸润. Masson染色镜下观察, 所见与HE染色中纤维化基本一致, 纤维沉积显色为淡绿色. 对照组肝组织仅见少许纤细纤维分布于血管壁. 模型组肝组织汇管区、中央静脉可见大量胶原纤维, 肝小叶被宽窄不一的纤维间隔分割(图1), 提示肝纤维化模型成功建立.

**2.3 各组小鼠肝脏组织中 $\alpha$ -SMA的表达** 对照组小鼠 $\alpha$ -SMA表达较少, 主要分布于血管壁. 在肝纤维化时 $\alpha$ -SMA表达增加, 在门静脉、汇管区及纤维间隔区域内可见有 $\alpha$ -SMA大量表达, 且随肝纤维化程度加重而增加(图1). 与对照组比较, 模型组各时间段的肝组织 $\alpha$ -SMA的表达均增强(均 $P < 0.05$ )(表1).

**2.4 各组小鼠脾脏中Th17、Th1细胞数量变化及其相关细胞因子水平的变化** CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> T细胞被定义为Th17细胞, CD4<sup>+</sup> IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> T细胞被定义为Th1细胞. 本实验结果显示: 与N组、C4组和C8组比较, 模型组F4组和F8组小鼠Th17、Th1

细胞比例明显增高, 且8 wk模型组增高更为显著(均 $P < 0.05$ )(表2, 图2). 模型组F4、F8组血清IL-17、IFN- $\gamma$ 的水平较对照组N组、C4组、C8组明显增高(均 $P < 0.05$ )(表2).

**2.5 各组小鼠Th1、Th17细胞与相关细胞因子、肝脏组织 $\alpha$ -SMA的关系** 本实验结果显示, 4 wk模型组和8 wk模型组小鼠脾脏Th17细胞、Th1细胞比例与肝脏 $\alpha$ -SMA均呈显著正相关关系( $r = 0.716, 0.778$ , 均 $P < 0.01$ ). 脾脏Th17细胞与Th1细胞呈正相关( $r = 0.874$ ,  $P < 0.01$ ). 脾脏Th17细胞与外周血IL-17水平呈显著正相关( $r = 0.892$ ,  $P < 0.01$ ). 然而Th1细胞与IFN- $\gamma$ 、IL-17均无显著相关性( $P > 0.05$ ).

## 3 讨论

肝纤维化是肝脏对慢性损伤的修复反应, 以ECM异常增生和过度沉积为特征, 是多种慢性肝病的共同病理过程, 慢性乙型病毒性肝炎引起的肝纤维化最常见, 是疾病进展为肝硬化、肝癌的关键环节, 而机体的免疫系统在其中扮演着重要角色. 在肝纤维化过程中发挥中心作用的是HSC, HSC的活化、增殖是肝纤维化形成的中心环节<sup>[5]</sup>. 因此, 要阐明Th17、Th1细胞与肝纤维化的关系, 就必须了解纤维化过程中Th17、Th1细胞与HSC之间的联系及其对活化增殖的影响. 本研究采用经典的CCl<sub>4</sub>复制肝纤维化模型, 其在病理生理方面与人体肝纤维化的过程比较相似, 同时具有制模方便、时间短和成模率高的特点, 造模过程中未出现小鼠死亡, 表明肝纤维化模型制备有效, 成功模拟了肝纤维化发生发展过程.

过度的和非特异性Th17和Th1效应细胞的反应可能参与了乙型肝炎病毒相关的肝脏炎症及肝细胞损害的发病机制. 特别是Th17细胞效应, 可能加剧炎症过程并导致肝衰竭<sup>[6]</sup>. CD4<sup>+</sup>T细胞按其所产生的细胞因子谱, 最初被分为Th1和Th2细胞亚群. Th1细胞主要分泌IFN- $\gamma$ , T-bet是其特异性转录因子, 胞内细菌感染时, Th1细胞优先分化并引发吞噬细胞介导的宿主防御应答. IFN- $\gamma$ 信号通过信号转导转录激活子1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)转导, 激活下游转录因子T-bet, 进而上调Th1细胞特定基因的表达. 随后一类新的以大量分泌IL-17为特征的Th17细胞亚群被发现, 在转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )与IL-6共同作用下, CD4<sup>+</sup>T细胞大量分化形成Th17

## ■创新盘点

由于肝纤维化患者从发病到就诊的时间不一, 难以反映Th17、Th1细胞实际分化的时间规律, 本实验通过CCl<sub>4</sub>腹腔注射建立肝纤维化动物模型, 研究肝纤维化不同时期Th17、Th1细胞表达情况, 初步探讨Th17、Th1细胞及其主要效应因子IL-17、IFN- $\gamma$ 在肝纤维化过程的变化规律, 对于研究肝纤维化的发病机制有重要意义.



## ■应用要点

本研究结果表明在肝纤维化的发病过程中Th1和Th17可能同时发挥协同作用,完善T细胞亚群在肝纤维化发病机制的理论,有望在不远的将来生产出针对Th17/IL-17的靶向治疗的生物制剂为疾病的诊断治疗开辟新途径.

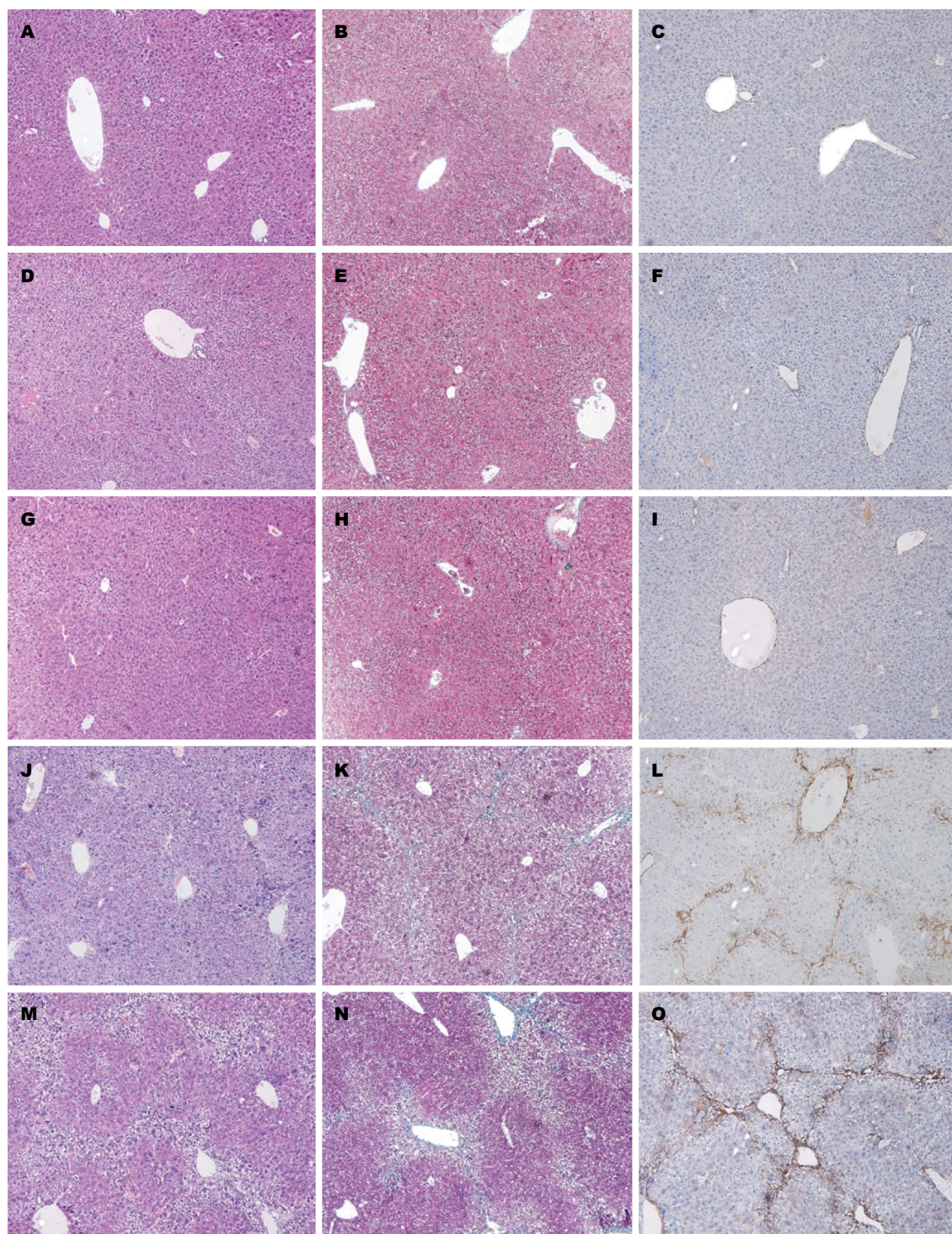


图1 各组小鼠肝脏组织HE、Masson染色及 $\alpha$ -SMA免疫组织化学染色( $\times 100$ ). A, D, G, J, M: HE染色( $\times 100$ ); B, E, H, K, N: Masson染色( $\times 100$ ); C, F, I, L, O:  $\alpha$ -SMA免疫组织化学染色( $\times 100$ ); A-C: 正常对照组; D-F: 4 wk对照组; G-I: 8 wk对照组; J-L: 4周模型组; M-O: 8 wk模型组.

细胞<sup>[7]</sup>. 维甲酸孤独核相关受体ROR $\gamma$ t(在人类中称为RORC)是调节初始CD4<sup>+</sup>细胞分化为Th17细胞的主要转录因子<sup>[8]</sup>. 目前的证据显示, Th17细胞参与了各种肝脏疾病的炎症进程, 包括酒精性肝损伤、非酒精性肝炎、病毒性肝炎、原发性胆汁性肝硬化和自身免疫性肝炎等<sup>[9-11]</sup>.

Yang等<sup>[12]</sup>研究发现, Th17和Th1细胞在分化时具有相互拮抗的作用. 但在一些自身免疫性疾病的炎症病变中, Th17和Th1细胞之间并不总是处于相互拮抗的关系, 两者可以共存<sup>[13]</sup>. 甚至在有些时候Th17和Th1细胞之间存在着协同效应, 在某些病理反应中相互依赖, 通过合作来完

表 2 各组小鼠脾脏Th1、Th17细胞的比例 (mean  $\pm$  SD)

分组	Th1细胞(%)	Th17细胞(%)	IL-17(pg/mL)	IFN- $\gamma$ (pg/mL)
N组	1.26 $\pm$ 0.10	0.52 $\pm$ 0.09	11.05 $\pm$ 2.52	32.05 $\pm$ 4.33
C4组	1.25 $\pm$ 0.45	0.51 $\pm$ 0.20	10.08 $\pm$ 2.32	31.08 $\pm$ 2.44
F4组	2.01 $\pm$ 0.59 <sup>ac</sup>	1.88 $\pm$ 0.52 <sup>ac</sup>	62.00 $\pm$ 18.37 <sup>ac</sup>	112.54 $\pm$ 16.80 <sup>ac</sup>
C8组	1.35 $\pm$ 0.32	0.63 $\pm$ 0.45	11.63 $\pm$ 3.86	33.83 $\pm$ 3.57
F8组	2.35 $\pm$ 1.34 <sup>aeg</sup>	2.21 $\pm$ 1.06 <sup>aeg</sup>	75.00 $\pm$ 11.43 <sup>aeg</sup>	115.58 $\pm$ 19.55 <sup>ae</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs N组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs C4组; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs C8组; <sup>g</sup> $P < 0.05$  vs F4组. N组: 正常对照组; C4组: 4 wk对照组; F4组: 4 wk模型组; C8组: 8 wk对照组; F8组: 8 wk模型组. IL: 白介素; IFN: 干扰素.

## ■同行评价

本文探讨Th17、Th1及相关因子IL-17、IFN- $\gamma$ 在肝纤维化小鼠模型中的表达及相互关系, 有一定的创新性, 研究设计较合理, 有一定的学术价值.

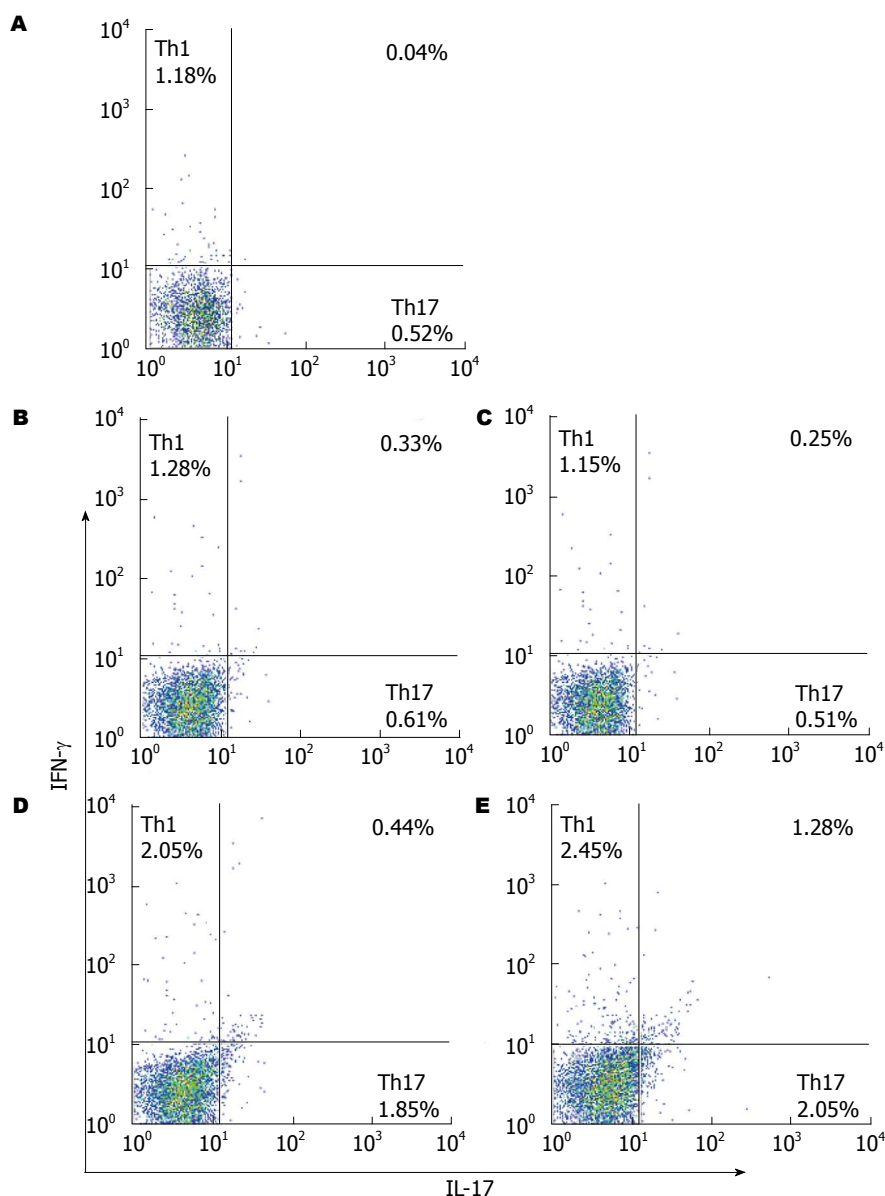


图 2 各组小鼠脾脏中Th17细胞和Th1细胞的表达状况流式细胞示意图. 左上象限为CD4<sup>+</sup> IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> T(Th1)细胞比例, 右上象限为CD4<sup>+</sup> IL-17<sup>+</sup> (Th17)细胞比例. A: 正常对照组; B: 4 wk对照组; C: 8 wk对照组; D: 4 wk模型组; E: 8 wk模型组.

成一定的生物学功能. 本组资料显示模型组小鼠Th17、Th1细胞比例增高, 且以8 wk模型组增

高尤为显著. 并且模型组小鼠脾脏Th17、Th1细胞比例均与肝脏 $\alpha$ -SMA含量密切正相关, 提示



肝纤维化环境有利于这两个细胞亚群的分化扩增。大量研究已证实TGF- $\beta$ 在肝纤维化中发挥重要作用,在肝纤维化动物模型及患者肝组织中TGF- $\beta$ 表达明显增高,TGF- $\beta$ /Smad信号通路在肝纤维化中起着重要作用,通过激活HSC,促进HSC分泌胶原及纤维连接蛋白等,促进肝纤维化的发生<sup>[14]</sup>。同样,增高的TGF- $\beta$ 在IL-6存在的情况下,可促进Th17细胞大量分化增殖,分泌IL-17<sup>[15]</sup>。本研究显示与对照组比较,模型组外周血IL-17水平增高,IL-17的水平与小鼠肝脏 $\alpha$ -SMA含量及脾脏Th17细胞比例密切正相关,提示Th17细胞通过分泌IL-17参与肝纤维化的进展,促进肝星状细胞的活化及肝脏胶原纤维的沉积。生理状态下,静止的HSC不表达 $\alpha$ -SMA;肝纤维化时,HSC在细胞因子、炎症介质、乙醛、氧自由基等作用下由静止状态活化为表达 $\alpha$ -SMA的肌成纤维样细胞,并在肝损伤部位移行、增殖,表达各种信号转导蛋白,产生大量以胶原为主的细胞外间质成分和细胞因子<sup>[16]</sup>。本实验结果显示对照组小鼠仅有少量 $\alpha$ -SMA表达于血管平滑肌细胞,随着肝纤维化程度的加重,模型组小鼠肝组织中 $\alpha$ -SMA阳性细胞逐渐增多,即活化HSC逐渐增多。Tan等<sup>[17]</sup>研究发现从C57BL/6小鼠中分离的肝星状细胞在IL-17的作用下引起IL-6、 $\alpha$ -SMA、胶原蛋白和TGF- $\beta$  mRNA表达的增高,提示IL-17促进肝纤维化的发展。此外,Meng等<sup>[18]</sup>研究发现IL-17通过两种途径发挥强大的促纤维化作用:一是激活枯否细胞表达促炎因子IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 及主要的纤维化因子TGF- $\beta$ ;二是IL-17直接通过激活信号转导子和转录活化因子纤维细胞表达I型胶原蛋白,造成细胞外胶原沉积。由此可见,应用抑制剂对Th17/IL-17的靶向治疗可能是一种有效的治疗肝纤维化的方法。

Th17细胞及Th1细胞在许多炎症性疾病和自身免疫性疾病中往往同时存在,并通过产生特异性的细胞因子调节免疫反应的不同阶段<sup>[19-21]</sup>。我们在肝纤维化模型组中均检测到Th17和Th1细胞的比例增高,提示在肝纤维化的发病过程中Th17和Th1可能发挥协同作用。此外,肝纤维化小鼠外周血中IFN- $\gamma$ 浓度较正常对照组明显增高,且Th1细胞比例与Th17细胞比例均呈显著正相关关系,提示在肝纤维化环境中,活化的Th1细胞通过分泌IFN- $\gamma$ 促进小鼠体内Th17细胞上调,当然直接的证据有待于我们的体外细胞功能实验进一步证实。

总之,Th17与Th1细胞的免疫调节作用可能在肝纤维化的发病机制中发挥关键的作用;同时与其相关的细胞因子也参与了疾病的免疫过程。但Th17细胞在肝纤维化中的具体作用、Th1细胞可能的协同作用机制及这两种细胞之间存在着怎样的具体联系还需要大量的研究,进一步阐明他们的相互作用、免疫调节功能,从而为治疗肝纤维化开辟新的道路。

#### 4 参考文献

- 1 Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu Rev Pathol* 2011; 6: 425-456 [PMID: 21073339 DOI: 10.1146/annurev-pathol-011110-130246]
- 2 Melhem A, Muhanna N, Bishara A, Alvarez CE, Ilan Y, Bishara T, Horani A, Nassar M, Friedman SL, Safadi R. Anti-fibrotic activity of NK cells in experimental liver injury through killing of activated HSC. *J Hepatol* 2006; 45: 60-71 [PMID: 16515819 DOI: 10.1016/j.jhep.2005.12.025]
- 3 薛芝敏,姚冬梅. Th17细胞与肝脏疾病关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1185-1190
- 4 Li J, Qiu SJ, She WM, Wang FP, Gao H, Li L, Tu CT, Wang JY, Shen XZ, Jiang W. Significance of the balance between regulatory T (Treg) and T helper 17 (Th17) cells during hepatitis B virus related liver fibrosis. *PLoS One* 2012; 7: e39307 [PMID: 22745730 DOI: 10.1371/journal.pone.0039307]
- 5 Sarem M, Znaidak R, Macias M, Rey R. [Hepatic stellate cells: it's role in normal and pathological conditions]. *Gastroenterol Hepatol* 2006; 29: 93-101 [PMID: 16448612 DOI: 10.1157/13083906]
- 6 Ye Y, Xie X, Yu J, Zhou L, Xie H, Jiang G, Yu X, Zhang W, Wu J, Zheng S. Involvement of Th17 and Th1 effector responses in patients with Hepatitis B. *J Clin Immunol* 2010; 30: 546-555 [PMID: 20393789 DOI: 10.1007/s10875-010-9416-3]
- 7 Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006; 441: 231-234 [PMID: 16648837 DOI: 10.1038/nature04754]
- 8 Yang XO, Pappu BP, Nurieva R, Akimzhanov A, Kang HS, Chung Y, Ma L, Shah B, Panopoulos AD, Schluns KS, Watowich SS, Tian Q, Jetten AM, Dong C. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR alpha and ROR gamma. *Immunity* 2008; 28: 29-39 [PMID: 18164222 DOI: 10.1016/j.immuni.2007.11.016]
- 9 Zhang JY, Zhang Z, Lin F, Zou ZS, Xu RN, Jin L, Fu JL, Shi F, Shi M, Wang HF, Wang FS. Interleukin-17-producing CD4(+) T cells increase with severity of liver damage in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51: 81-91 [PMID: 19842207 DOI: 10.1002/hep.23273]
- 10 O'Quinn DB, Palmer MT, Lee YK, Weaver CT. Emergence of the Th17 pathway and its role in host defense. *Adv Immunol* 2008; 99: 115-163 [PMID: 19117534 DOI: 10.1016/S0065-2776(08)00605-6]
- 11 Tang Y, Bian Z, Zhao L, Liu Y, Liang S, Wang Q, Han X, Peng Y, Chen X, Shen L, Qiu D, Li Z, Ma X. Interleukin-17 exacerbates hepatic steatosis and in-



- flammation in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Exp Immunol* 2011; 166: 281-290 [PMID: 21985374 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04471.x]
- 12 Yang Y, Xu J, Niu Y, Bromberg JS, Ding Y. T-bet and eomesodermin play critical roles in directing T cell differentiation to Th1 versus Th17. *J Immunol* 2008; 181: 8700-8710 [PMID: 19050290]
- 13 Pène J, Chevalier S, Preisser L, Vénéreau E, Guilleux MH, Ghannam S, Molès JP, Danger Y, Ravon E, Lesaux S, Yssel H, Gascan H. Chronically inflamed human tissues are infiltrated by highly differentiated Th17 lymphocytes. *J Immunol* 2008; 180: 7423-7430 [PMID: 18490742]
- 14 Wells RG. Fibrogenesis. V. TGF-beta signaling pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G845-G850 [PMID: 11052979]
- 15 Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 2006; 24: 179-189 [PMID: 16473830 DOI: 10.1016/j.immuni.2006.01.001]
- 16 Urtasun R, Nieto N. [Hepatic stellate cells and oxidative stress]. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99: 223-230 [PMID: 17590105]
- 17 Tan Z, Qian X, Jiang R, Liu Q, Wang Y, Chen C, Wang X, Ryffel B, Sun B. IL-17A plays a critical role in the pathogenesis of liver fibrosis through hepatic stellate cell activation. *J Immunol* 2013; 191: 1835-1844 [PMID: 23842754 DOI: 10.4049/jimmunol.1203013]
- 18 Meng F, Wang K, Aoyama T, Grivennikov SI, Paik Y, Scholten D, Cong M, Iwaisako K, Liu X, Zhang M, Osterreicher CH, Stickel F, Ley K, Brenner DA, Kisseleva T. Interleukin-17 signaling in inflammatory, Kupffer cells, and hepatic stellate cells exacerbates liver fibrosis in mice. *Gastroenterology* 2012; 143: 765-776. e1-e3 [PMID: 22687286 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.05.049]
- 19 Luger D, Silver PB, Tang J, Cua D, Chen Z, Iwakura Y, Bowman EP, Sgambellone NM, Chan CC, Caspi RR. Either a Th17 or a Th1 effector response can drive autoimmunity: conditions of disease induction affect dominant effector category. *J Exp Med* 2008; 205: 799-810 [PMID: 18391061 DOI: 10.1084/jem.20071258]
- 20 Stromnes IM, Cerretti LM, Liggitt D, Harris RA, Goverman JM. Differential regulation of central nervous system autoimmunity by T(H)1 and T(H)17 cells. *Nat Med* 2008; 14: 337-342 [PMID: 18278054 DOI: 10.1038/nm1715]
- 21 O'Connor RA, Prendergast CT, Sabatos CA, Lau CW, Leech MD, Wraith DC, Anderton SM. Cutting edge: Th1 cells facilitate the entry of Th17 cells to the central nervous system during experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2008; 181: 3750-3754 [PMID: 18768826]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 二十二碳六烯酸对人肝癌细胞HepG2的作用与调控β-catenin及C-myc表达的关系

李衍彦, 范友杰, 邹浩, 姜海涛, 李洁旭, 孙良金, 曹景玉

## ■背景资料

二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)是人体所必需的一种ω-3多不饱和脂肪酸,是含有6个双键且碳链长度为22个碳原子的直链脂肪酸,主要从食物尤其是深海鱼类中获得。自发现以来,其在防治心脑血管疾病方面的积极作用已得到世界公认。近年来,流行病学及基础研究均证明其具有降低肿瘤发病率及杀伤肿瘤细胞的作用,然而其机制十分复杂,详尽机制仍有待深入探讨。

李衍彦, 邹浩, 姜海涛, 李洁旭, 孙良金, 曹景玉, 青岛大学附属医院(黄岛院区) 山东省青岛市 266003

范友杰, 新乡市中心医院普外科 河南省新乡市 453000

李衍彦, 青岛大学医学院肝胆外科硕士研究生, 主要从事肝胆肿瘤外科治疗方面的研究。

作者贡献分布: 李衍彦与曹景玉对此文献贡献均等。此课题由李衍彦设计; 曹景玉指导; 研究过程由李衍彦、范友杰及邹浩完成; 研究所用试剂由李衍彦与曹景玉提供; 数据分析由李衍彦、姜海涛、李洁旭及孙良金完成; 本论文写作由李衍彦完成。

通讯作者: 曹景玉, 主任医师, 266003, 青岛市黄岛区五台山路1677号, 青岛大学附属医院(黄岛院区)。cjl7027@163.com

收稿日期: 2014-02-14 修回日期: 2014-03-19

接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## Docosahexaenoic acid promotes apoptosis and inhibits proliferation of HepG2 cells by altering β-catenin and C-myc expression

Yan-Yan Li, You-Jie Fan, Hao Zou, Hai-Tao Jiang, Jie-Xu Li, Liang-Jin Sun, Jing-Yu Cao

Yan-Yan Li, Hao Zou, Hai-Tao Jiang, Jie-Xu Li, Liang-Jin Sun, Jing-Yu Cao, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital (Huangdao District) of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China  
You-Jie Fan, Department of General Surgery, Central Hospital of Xinxiang City, Xinxiang 453000, Henan Province, China

Correspondence to: Jing-Yu Cao, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital (Huangdao District) of Qingdao University, 1677 Wutaihan Road, Huangdao District, Qingdao 266003, Shandong Province, China. cjl7027@163.com

Received: 2014-02-14 Revised: 2014-03-19

Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the effects of docosahexaenoic acid (DHA) of different concentrations on the proliferation and apoptosis of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells, and to explore the possible molecular mechanisms involved.

**METHODS:** HepG2 cells were cultured in vitro and treated with different concentrations of DHA (15, 30, 45, 60, 75 μg/mL) for different durations, with untreated cells as controls. The relative rate of reduced growth of HepG2 cells

was detected by the CCK-8 method. Flow cytometry assay was applied to determine the rate of HepG2 cell apoptosis. After DHA treatment, the levels of β-catenin and C-myc mRNAs and proteins were measured by real-time PCR and Western blot, respectively.

**RESULTS:** In the concentration range from 0 to 45 μg/mL and with a treatment time of 24 h, DHA significantly inhibit the growth of HepG2 cells *in vitro*, and significant differences in the absorbance (A value) were observed between the experimental group and control group ( $P < 0.01$ ), and between each two concentrations in the experimental group. If drug concentration or action time was increased, the results showed no statistically significant differences. Flow cytometric analysis indicated that DHA promotes the apoptosis of HepG2 cells. There were significant differences in the apoptosis rate between the experimental group and control group ( $P < 0.01$ ), and between each two concentrations in the experimental group. Real-time PCR detected low levels of C-myc expression in HepG2 cells treated with DHA, and significant differences in C-myc expression were observed between the experimental group and control group ( $P < 0.01$ ) and between each two concentrations in the experimental group. There was no significant difference in β-catenin relative expression between the experimental group and control group, or between different concentrations in the experimental group. Western blot analysis demonstrated that DHA could decrease the protein expression of β-catenin and C-myc in HepG2 cells.

**CONCLUSION:** DHA promotes apoptosis and inhibits proliferation of HepG2 cells possibly via mechanism associated with down-regulating the protein expression of β-catenin and the mRNA expression of C-myc.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Docosahexaenoic acid; Hepatocellular carcinoma; Wnt/β-catenin

## ■同行评议者

戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

Li YY, Fan YJ, Zou H, Jiang HT, Li JX, Sun LJ, Cao JY. Docosahexaenoic acid promotes apoptosis and inhibits proliferation of HepG2 cells by altering  $\beta$ -catenin and C-myc expression. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1834-1840 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1834.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1834>

## 摘要

**目的:** 探讨不同浓度的二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)对人肝癌细胞HepG2生长增殖抑制及促进凋亡的作用及其机制, 为其应用于肝癌的药物预防和治疗提供实验及理论依据。

**方法:** 以DHA浓度0  $\mu\text{g/mL}$ 为阴性对照, 设置浓度为15、30、45、60、75  $\mu\text{g/mL}$ 的实验组. 采用CCK-8和流式细胞术检测不同浓度DHA对HepG2细胞生长的相对抑制率及凋亡情况, 并运用荧光定量PCR及Western blot分别从基因和蛋白质水平分析不同浓度DHA作用前后 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)及C-myc表达量的变化。

**结果:** CCK-8实验表明DHA在体外能抑制HepG2细胞生长, 在DHA作用浓度为0-45  $\mu\text{g/mL}$ , 作用时间24 h时, 实验组与对照组细胞吸光度(A)值差异有显著的统计学意义( $P<0.01$ ), 实验组内两两比较差异有统计学意义( $P<0.01$ ), 细胞生长抑制率最高达90.7%。继续增加药物浓度或作用时间, 差异无统计学意义。流式细胞术发现DHA可促进HepG2细胞凋亡, 实验组与对照组细胞凋亡率差异有显著的统计学意义( $P<0.01$ ), 实验组内两两比较差异有统计学意义( $P<0.01$ )。荧光定量PCR显示DHA可下调HepG2细胞中C-myc基因表达水平, 实验组与对照组C-myc基因相对表达量的差异有显著的统计学意义( $P<0.01$ ), 实验组内两两比较差异有统计学意义( $P<0.01$ ); 实验组与对照组及各实验者组之间 $\beta$ -catenin基因的相对表达量差异无统计学意义。Western blot显示DHA可降低HepG2细胞 $\beta$ -catenin、C-myc蛋白质的表达量。

**结论:** DHA对人肝癌HepG2细胞有明显的生长增殖抑制及促进凋亡的作用, 与其降低 $\beta$ -catenin蛋白质水平进而下调C-myc基因表达水平有关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 二十二碳六烯酸; 肝癌; Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路

**核心提示:** 二十二碳六烯酸对体外培养的人肝癌HepG2细胞有明显的生长增殖抑制及促进凋亡的作用, 与其降低 $\beta$ -catenin蛋白质水平进而下调C-myc基因表达水平有关。

李衍彦, 范友杰, 邹浩, 姜海涛, 李洁旭, 孙良金, 曹景玉. 二十二碳六烯酸对人肝癌细胞HepG2的作用与调控 $\beta$ -catenin及C-myc表达的关系. *世界华人消化杂志* 2014; 22(13): 1834-1840 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1834.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1834>

## 0 引言

二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)属于 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸, 是分子结构中含有6个碳碳双键的脂肪酸. 自被发现以来, 已证实其具有调节人体内血脂和脂蛋白正常代谢, 降低血液粘稠度和胆固醇水平, 预防心脑血管疾病等诸多生理效应. 近年来, DHA对肿瘤防治方面的研究愈来愈受到重视, 流行病学调查表明: 饮食中高 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸摄入的人群中乳腺癌、前列腺癌、结肠癌等肿瘤的发病率明显降低<sup>[1,2]</sup>. 大量的实验研究证实: 以DHA为代表的 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸能够抑制肿瘤的生长、侵袭及转移; 诱导肿瘤细胞分化、凋亡; 延长荷瘤宿主的生存时间<sup>[3-5]</sup>. 但目前关于DHA对人肝癌细胞的影响及其作用机制研究较少. 本实验中运用不同浓度的DHA处理人肝癌细胞HepG2, 观察药物作用前后对细胞增殖及凋亡的影响并探讨其作用机制, 以期为其应用于肝癌的药物预防和治疗提供实验及理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** DHA购自美国Sigma公司; 胎牛血清、胰酶、1640、双抗购自Hyclone公司; CCK-8购自南京建成生物工程研究所有限公司; Annexin-V-FITC/PI凋亡检测试剂盒购自江苏南京凯基生物科技发展有限公司; DRR037逆转录试剂盒(PrimeScript® RT reagent Kit Perfect Real Time), RR820荧光定量PCR试剂盒(SYBR® Premix Ex Taq™ II)购自TaKaRa公司; 小鼠抗人 $\beta$ -catenin蛋白抗体; 兔抗人c-myc抗体购自美国CST公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞株及其培养:** 人肝癌HepG2细胞由青岛大学医学院附属医院中心实验室惠赠. 细胞培养于含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 U/mL链霉素的1640培养液中, 置于37℃、

## ■ 研究前沿

从基因及分子水平上探讨DHA对肝癌细胞的作用是当前研究的热点. Wnt/ $\beta$ -catenin通路异常活化与肿瘤的发生发展有着密切关系. 通过研究DHA对该通路的影响或能更进一步揭示及丰富其抗肿瘤的机制。



### ■相关报道

相关研究表明Wnt通路被激活后可以使 $\beta$ -catenin在细胞内积聚,进而影响靶基因表达,与肿瘤的发生发展有密切联系。C-myc已证实多种肿瘤组织中高表达,是决定细胞从G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期进入S期的开关,细胞提前进入S期,启动和加速肿瘤的发生,使肿瘤向恶性转化。阻断wnt/ $\beta$ -catenin通路可以抑制肿瘤细胞生长并促进凋亡。

5%CO<sub>2</sub>及饱和湿度的培养箱中培养生长。

1.2.2 DHA稀释: DHA用2.5 mL过滤除菌的无水酒精溶解后,再用含2%胎牛血清的1640培养液稀释成15、30、45、60、75  $\mu$ g/mL。另配制1 mg/mL的DHA储存液,置于-80  $^{\circ}$ C冰箱备用。

1.2.3 CCK-8法检测DHA对HepG2细胞生长增殖的影响: 培养细胞至对数生长期,胰酶消化细胞制成细胞数为 $1 \times 10^5$ /mL的细胞悬液,以每孔200  $\mu$ L接种于96孔板,置于细胞培养箱中培养24 h细胞贴壁后,分别加入15、30、45、60、75  $\mu$ g/mL的DHA,用等量的含2%胎牛血清的1640培养液设置阴性对照,另外用不含细胞和DHA的含2%胎牛血清的1640培养液设置空白对照。每种浓度均设5个复孔,边缘孔加入少量PBS溶液,置于细胞培养箱中分别培养24、48、72 h后取出每孔加入10  $\mu$ L的CCK-8,于摇床摇匀后置于细胞培养箱中培养3 h后终止培养,测定每孔在波长为450 nm的细胞吸光度(A),计算各组细胞的相对生在抑制率。重复试验3次。细胞存活率(%) =  $[(A_s - A_b)/(A_c - A_b)] \times 100\%$ , A<sub>s</sub>: 实验孔(含有细胞的培养基、CCK-8、DHA), A<sub>c</sub>: 对照孔(含有细胞的培养基、CCK-8、没有DHA), A<sub>b</sub>: 空白孔(不含细胞和DHA的培养基、CCK-8)。

1.2.4 流式细胞术测定DHA对HepG2细胞的凋亡影响: 取对数生长期细胞,胰酶消化后制成 $1 \times 10^5$ /mL的细胞悬液,以每孔1 mL加入24孔板,待细胞培养箱中培养24 h后加入15、30、45  $\mu$ g/mL的DHA,用等量的2% 1640培养液设置阴性对照,于细胞培养箱中培养24 h后用不含EDTA的胰酶消化细胞,消化时加入2%的胎牛血清防止细胞消化过度。离心收集细胞,用预冷 $1 \times$  PBS(4  $^{\circ}$ C)重悬细胞,离心收集洗涤细胞,加入300  $\mu$ L的 $1 \times$  Binding Buffer重新悬浮细胞,加入5  $\mu$ L的Annexin V-FITC混匀后,避光,室温孵育15 min,上机前5 min再加入5  $\mu$ L的PI染色,上机前,补加200  $\mu$ L的 $1 \times$  Binding Buffer。阴性对照组分别设置双阴(不加Annexin V-FITC和PI)、双阳(加Annexin V-FITC和PI)、单阳(只加Annexin V-FITC或PI)。

1.2.5 实时荧光定量RT-PCR测定HepG2细胞中 $\beta$ -catenin及C-myc基因的表达: (1)引物设计与合成 引物由上海生物工程股份有限公司设计合成。C-myc(Forward): CCTCCACTCG-GAAGGACTATC; C-myc(Reverse): GTGTTC-GCCTCTTGACATTCTC.  $\beta$ -catenin(Forward):

ATGTCCAGCGTTTGGCTGAA;  $\beta$ -catenin (Reverse): TGGTCCTCGTCATTAGCAGTT. GAPDH(Forward): CGGGGCTCTCCAGAA-CATC; GAPDH(Reverse): ATGACCTTGCCCA-CAGCCT; (2)RNA提取及cDNA合成将浓度为 $1 \times 10^5$ /mL的细胞悬液2 mL铺至六孔板,于细胞培养箱中培养24 h后弃去培养液, PBS冲洗两遍,加入浓度分别为15、30、45  $\mu$ g/mL的DHA后再培养24 h。每孔加入0.5 mL的TRIzol按说明书步骤提取RNA,所有标本通过光密度分析结果 $A_{260/280} = 1.8-2.0$ ,取RNA 3  $\mu$ L逆转录成cDNA 10  $\mu$ L,反应体系包括:  $5 \times$  PrimeScript<sup>®</sup> Buffer(for Real Time)2  $\mu$ L, PrimeScript<sup>®</sup> RT Enzyme Mix I 0.5  $\mu$ L, Oligo dT Primer(50  $\mu$ mol/L)0.5  $\mu$ L, Random 6 mers(100  $\mu$ mol/L)0.5  $\mu$ L, Total RNA 3  $\mu$ L, RNase Free dH<sub>2</sub>O 3.5  $\mu$ L。反应条件37  $^{\circ}$ C 15 min, 85  $^{\circ}$ C 5 s; (3)实时荧光定量RT-PCR 20  $\mu$ L反应体系包括SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> ( $2 \times$ ) 10  $\mu$ L, PCR Forward Primer(10  $\mu$ mol/L)0.8  $\mu$ L, PCR Reverse Primer(10  $\mu$ mol/L)0.8  $\mu$ L, DNA模板2  $\mu$ L, dH<sub>2</sub>O 6.4  $\mu$ L。C-myc基因扩增反应条件: 95  $^{\circ}$ C 30 s变性, 95  $^{\circ}$ C 5 s, 58  $^{\circ}$ C 20 s, 60个循环。 $\beta$ -catenin基因扩增反应条件: 95  $^{\circ}$ C 30 s变性, 95  $^{\circ}$ C 5 s, 60  $^{\circ}$ C 20 s, 60个循环。扩增完毕后,进行溶解曲线及扩增曲线分析; (4)目的基因mRNA表达水平相对定量分析 以GAPDH为内参,进行RT-PCR扩增,测量各cDNA模板的Ct值,通过Ct值进行相对定量分析,实验组和对照组的基因表达的相对定量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示,即 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值表示实验组和对照组目的基因表达的倍数关系,其中 $\Delta\Delta Ct = (\text{实验组目的基因平均Ct值} - \text{实验组内参基因平均Ct值}) - (\text{对照组目的基因平均Ct值} - \text{对照组内参基因平均Ct值})$ 。

1.2.6 Western blot检测HepG2细胞中 $\beta$ -catenin和C-myc蛋白的表达: 将HepG2细胞经浓度为15、30、45  $\mu$ g/mL的DHA处理后,以等量的2%的不含DHA的1640培养液为对照组,制备细胞蛋白裂解液,BCA蛋白试剂盒测定蛋白浓度,取50  $\mu$ g蛋白质样品上样,与上样缓冲液按照4:1混合,95  $^{\circ}$ C 5 min,经聚丙烯酰胺凝胶电泳(75 V恒压80 min, 120 V恒压出现溴酚蓝刚出胶底部止)分离后转移至硝酸纤维素膜,5%脱脂奶粉PBST溶液封闭1 h后加入相应的一抗(小鼠抗人 $\beta$ -catenin蛋白抗体,稀释倍数1:1000、兔抗人C-myc蛋白抗体,稀释倍数1:1000)4  $^{\circ}$ C过夜,和

表 1 CCK-8检测人肝癌细胞HepG2各组细胞的A值 (mean  $\pm$  SD)

DHA浓度( $\mu$ g/mL)	DHA作用时间		
	24 h	48 h	72 h
0	1.273 $\pm$ 0.028 <sup>bdfhjin</sup>	1.158 $\pm$ 0.030 <sup>bdfh</sup>	1.236 $\pm$ 0.075 <sup>bdfh</sup>
15	0.996 $\pm$ 0.075 <sup>bdfhin</sup>	0.493 $\pm$ 0.025 <sup>bdfh</sup>	0.512 $\pm$ 0.020 <sup>bdfh</sup>
30	0.727 $\pm$ 0.025 <sup>bdfin</sup>	0.443 $\pm$ 0.038 <sup>bdf</sup>	0.468 $\pm$ 0.001 <sup>bdf</sup>
45	0.376 $\pm$ 0.012	0.328 $\pm$ 0.010	0.323 $\pm$ 0.003
60	0.330 $\pm$ 0.012	0.327 $\pm$ 0.002	0.332 $\pm$ 0.006
75	0.346 $\pm$ 0.028	0.309 $\pm$ 0.020	0.319 $\pm$ 0.009

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 75  $\mu$ g/mL; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 60  $\mu$ g/mL; <sup>i</sup> $P < 0.01$  vs 45  $\mu$ g/mL; <sup>h</sup> $P < 0.01$  vs 30  $\mu$ g/mL;  
<sup>j</sup> $P < 0.01$  vs 15  $\mu$ g/mL; <sup>n</sup> $P < 0.01$  vs 72 h; <sup>h</sup> $P < 0.01$  vs 48 h. DHA: 二十二碳六烯酸.

表 2 HepG2细胞中C-myc和 $\beta$ -catenin基因的相对表达量

DHA浓度( $\mu$ g/mL)	HepG2-C-myc	HepG2- $\beta$ -catenin
0	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
15	0.71 $\pm$ 0.072 <sup>bdf</sup>	2.06 $\pm$ 1.025
30	0.40 $\pm$ 0.062 <sup>bd</sup>	6.48 $\pm$ 4.281
45	0.30 $\pm$ 0.052 <sup>b</sup>	7.13 $\pm$ 4.720

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 45  $\mu$ g/mL; <sup>i</sup> $P < 0.01$  vs 30  $\mu$ g/mL.  
 DHA: 二十二碳六烯酸.

相应二抗37  $^{\circ}$ C孵育1 h, PBST液洗涤5 min $\times$ 3次, 按ECL试剂盒说明进行显色. 以 $\beta$ -actin为内参, 应用图像分析软件进行图像扫描分析蛋白表达情况.

**统计学处理** 应用SPSS18.0软件进行统计分析, 数据用mean $\pm$ SD表示, CCK-8检测细胞生长增殖数据运用多因素方差分析, 其余数据采用单因素方差分析进行比较.  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

### 2.1 DHA对HepG2细胞生长增殖的影响

**2.1.1 DHA作用浓度的影响:** 不同浓度的DHA(15、30、45、60、75  $\mu$ g/mL)对HepG2细胞作用前后细胞A值与对照组的差异均有显著的统计学意义( $P < 0.01$ ). 在DHA浓度为15、30、45  $\mu$ g/mL作用时, HepG2细胞任意两组相比细胞吸光度A的差异有显著统计学意义( $P < 0.01$ ), 继续增加药物浓度, 差异无统计学意义.

**2.1.2 DHA作用时间的影响:** HepG2细胞在DHA作用24与48、72 h相比, 细胞吸光度A的差异有显著统计学意义( $P < 0.01$ ), DHA作用48与72 h相比细胞吸光度A差异无统计学意义( $P =$

0.493 $>$ 0.1). 不同DHA浓度和作用时间下各组HepG2细胞的吸光度如表1, 对细胞生长抑制率的影响如图1. 因此, 将DHA作用浓度为15、30、45  $\mu$ g/mL, 作用时间24 h作为探讨其对肝癌HepG2细胞作用机制的最佳条件.

**2.2 DHA对HepG2细胞凋亡的影响** HepG2细胞浓度为0、15、30、45  $\mu$ g/mL的DHA处理后, 其细胞凋亡率分别为3.717% $\pm$ 1.013%、7.353% $\pm$ 2.206%、11.153% $\pm$ 1.240%、16.377% $\pm$ 2.000%(图2). 任意两组之间细胞凋亡率差异有显著统计学意义( $P < 0.01$ ).

**2.3 Real-time荧光定量RT-PCR检测DHA对HepG2细胞 $\beta$ -catenin和C-myc基因表达的影响** 在不同DHA浓度作用下, 两种目的基因的相对表达量 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值如表2. 不同浓度DHA对HepG2细胞作用前后实验组与对照组及各实验组之间C-myc基因相对表达量的差异有显著的统计学意义( $P < 0.01$ ); 细胞实验组与对照组及各实验者组之间 $\beta$ -catenin基因的相对表达量差异无统计学意义.

**2.4 Western blot检测DHA对HepG2细胞 $\beta$ -catenin和C-myc蛋白表达的影响** 在不同浓度的DHA作用下, HepG2细胞的 $\beta$ -catenin、C-myc蛋白表达的结果如图3. 从图中可以看到: HepG2细胞 $\beta$ -catenin蛋白及C-myc蛋白水平随着DHA作用浓度升高表达量降低.

## 3 讨论

肝癌在所有恶性肿瘤的患病率中位居第5位, 然而其死亡率却高达第2位. 世界上每年死于肝癌的患者高达70万例, 且新增肝癌患者约75万例, 其中约一半的患者发生在中国<sup>[6]</sup>. 肝癌患者约有80%丧失手术机会, 即使获得根治性手术切除, 5

### ■创新盘点

本研究主要基于CCK-8和流式细胞术检测不同浓度DHA对肝癌HepG2细胞抑制增殖及诱导凋亡的影响, 并且分别从基因和分子水平分析不同浓度DHA作用前后 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)及C-myc表达量的变化.

## ■应用要点

针对DHA对人肝癌HepG2细胞的影响及其作用机制的探讨,有一定的理论价值并对将来开发相关药物有参考意义。

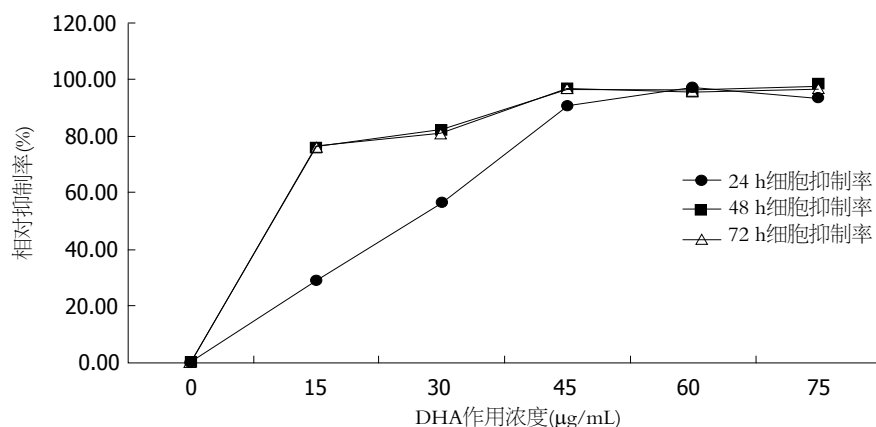


图1 CCK8对人肝癌细胞HepG2生长抑制率的影响. DHA: 二十二碳六烯酸.

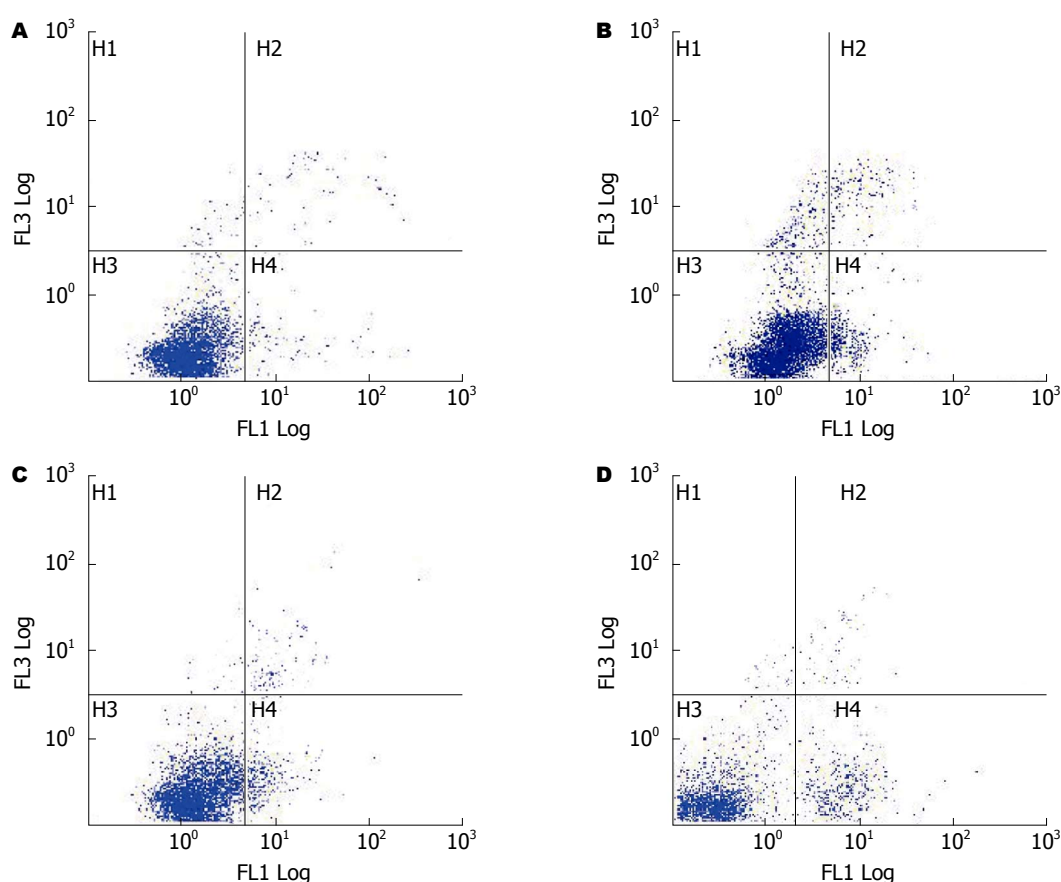


图2 经不同浓度DHA作用后人肝癌细胞HepG2的细胞凋亡率. A: 0 µg/mL; B: 15 µg/mL; C: 30 µg/mL; D: 45 µg/mL. DHA: 二十二碳六烯酸.

年内仍有60%-70%的患者出现转移复发. 因此, 积极寻求一种针对肝癌患者安全有效的药物治疗方案已是十分必要.

本次研究中发现DHA在体外对人肝癌细胞HepG2起到抑制细胞生长增殖作用. 当DHA作用浓度从15-45 µg/mL, 作用时间24-48 h内对HepG2的生长增殖抑制作用呈现剂量-时间依赖关系, 在该范围内DHA作用浓度越大, 作用时间

越长, 对肝癌细胞的生长增殖抑制作用就越大. 当进一步增加DHA的作用浓度可以发现其对肝癌细胞生长增殖的抑制作用并无明显增加. 同时, 通过流式细胞术发现DHA对肝癌细胞有促进凋亡的作用.

以DHA为代表的 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸可以杀伤人体多种肿瘤细胞, 但其具体机制却不甚明确, 可能与其改变生物膜的结构和功能, 增加



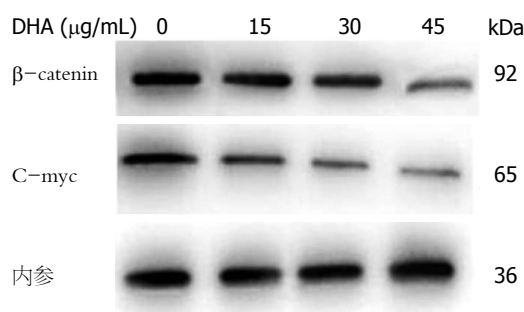


图3 不同浓度DHA对HepG2细胞的 $\beta$ -catenin和C-myc蛋白表达的影响。DHA: 二十二碳六烯酸。

细胞脂质过氧化作用、抑制相关癌基因编码蛋白及肿瘤新生血管形成、抑制细胞信号转导通路等有关<sup>[7,8]</sup>。Wnt信号通路是最近发现在肿瘤发生发展中起重要作用的信号传导通路, Wei等<sup>[9]</sup>发现Wnt蛋白在肝癌组织及其细胞系中表达增高, 与肝癌的发生有密切关系。Wnt信号进入胞内后, 使 $\beta$ -catenin不能被GSK-3 $\beta$ 磷酸化。磷酸化的 $\beta$ -catenin才可通过遍在蛋白化而被胞浆内的蛋白酶体所降解, 由于非磷酸化的 $\beta$ -catenin不能被蛋白酶体降解, 从而导致 $\beta$ -catenin在胞浆内积聚, 并移向核内, 上调靶基因C-myc等的表达。通过推动细胞周期发展或产生异常蛋白, 使细胞发生癌变<sup>[10]</sup>。Wnt信号传导通路在肝癌细胞发生发展的许多阶段均有重要作用<sup>[11,12]</sup>。本次研究中运用荧光定量PCR及Western blot从多个层面检测了不同浓度DHA作用前后 $\beta$ -catenin和C-myc基因及蛋白质水平的变化情况。结果表明: 随着DHA的作用浓度增加, HepG2细胞中的 $\beta$ -catenin及C-myc蛋白的表达量降低, C-myc基因表达量降低, 但是 $\beta$ -catenin基因表达量未见明显变化。说明DHA通过某种机制降低 $\beta$ -catenin蛋白质水平, 使得Wnt通路中的靶基因C-myc表达量降低。进一步支持Lim<sup>[13]</sup>等研究, 其发现DHA可以促进Axin和GSK-3 $\beta$ 结合形成降解 $\beta$ -catenin的复合物, 从而降低胞质中 $\beta$ -catenin的蛋白浓度。同时El-Bassiouni等<sup>[14]</sup>研究发现C-myc的过度表达与肝癌的发生发展有密切关系。并有研究表明肝癌细胞中 $\beta$ -catenin在胞质中分布较多, 胞核可见明显积聚现象<sup>[15]</sup>。 $\beta$ -catenin在肝癌细胞中高表达并与其分化程度有关<sup>[16]</sup>。这就进一步说明DHA对人肝癌的作用机制与降低 $\beta$ -catenin的蛋白质水平进而下调C-myc基因表达有关。

本次研究证实DHA可以抑制肝癌细胞生长增殖, 促进细胞凋亡。其可能的机制是从蛋白质水平上降低了 $\beta$ -catenin的表达量, 进而下调了靶

基因C-myc的表达量, 但随着DHA作用浓度及作用时间的进一步增加, 细胞的生在增殖的抑制作用趋于平缓, 推测在DHA抑制肝癌细胞生在增殖的过程中可能存在某个关键物质达到饱和状态, 限制了下游机制的进一步发生发展, 亦或当DHA作用浓度和作用时间达到一定程度时又引发了细胞的其他机制拮抗了药物的进一步作用, 其对肝癌细胞的作用机制还有待进一步研究。

#### 4 参考文献

- 1 Fernández E, Gallus S, La Vecchia C. Nutrition and cancer risk: an overview. *J Br Menopause Soc* 2006; 12: 139-142 [PMID: 17178013 DOI: 10.1258/136218006779160481]
- 2 Gutt CN, Brinkmann L, Mehrabi A, Fonouni H, Müller-Stich BP, Vetter G, Stein JM, Schemmer P, Büchler MW. Dietary omega-3-polyunsaturated fatty acids prevent the development of metastases of colon carcinoma in rat liver. *Eur J Nutr* 2007; 46: 279-285 [PMID: 17593466 DOI: 10.1007/s00394-007-0662-y]
- 3 Larsson SC, Kumlin M, Ingelman-Sundberg M, Wolk A. Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 935-945 [PMID: 15159222]
- 4 Kojima M, Wakai K, Tokudome S, Suzuki K, Tamakoshi K, Watanabe Y, Kawado M, Hashimoto S, Hayakawa N, Ozasa K, Toyoshima H, Suzuki S, Ito Y, Tamakoshi A. Serum levels of polyunsaturated fatty acids and risk of colorectal cancer: a prospective study. *Am J Epidemiol* 2005; 161: 462-471 [PMID: 15718482 DOI: 10.1093/aje/kwi066]
- 5 Kim J, Lim SY, Shin A, Sung MK, Ro J, Kang HS, Lee KS, Kim SW, Lee ES. Fatty fish and fish omega-3 fatty acid intakes decrease the breast cancer risk: a case-control study. *BMC Cancer* 2009; 9: 216 [PMID: 19566923 DOI: 10.1186/1471-2407-9-216]
- 6 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 7 Yu JH, Kang SG, Jung UY, Jun CH, Kim H. Effects of omega-3 fatty acids on apoptosis of human gastric epithelial cells exposed to silica-immobilized glucose oxidase. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1171: 359-364 [PMID: 19723076 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04703.x]
- 8 Spencer L, Mann C, Metcalfe M, Webb M, Pollard C, Spencer D, Berry D, Steward W, Dennison A. The effect of omega-3 FAs on tumour angiogenesis and their therapeutic potential. *Eur J Cancer* 2009; 45: 2077-2086 [PMID: 19493674 DOI: 10.1016/j.ejca.2009.04.026]
- 9 Wei W, Chua MS, Grepper S, So SK. Blockade of Wnt-1 signaling leads to anti-tumor effects in hepatocellular carcinoma cells. *Mol Cancer* 2009; 8: 76 [PMID: 19778454 DOI: 10.1186/1476-4598-8-76]
- 10 Hoppler S, Kavanagh CL. Wnt signalling: variety at the core. *J Cell Sci* 2007; 120: 385-393 [PMID: 17251379]
- 11 Branda M, Wands JR. Signal transduction cascades

#### ■同行评价

本文探讨DHA对人肝癌HepG2细胞有的生长增殖抑制与促进凋亡作用及其机制, 实验结果达到论文设计的要求, 对结果的解释恰当、合理, 具有一定的指导意义。

- and hepatitis B and C related hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2006; 43: 891-902 [PMID: 16628664 DOI: 10.1002/hep.21196]
- 12 Monga SP. Hepatic adenomas: presumed innocent until proven to be beta-catenin mutated. *Hepatology* 2006; 43: 401-404 [PMID: 16496344 DOI: 10.1002/hep.21110]
- 13 Lim K, Han C, Dai Y, Shen M, Wu T. Omega-3 polyunsaturated fatty acids inhibit hepatocellular carcinoma cell growth through blocking beta-catenin and cyclooxygenase-2. *Mol Cancer Ther* 2009; 8: 3046-3055 [PMID: 19887546 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-09-055]
- 14 El-Bassiouni A, Nosseir M, Zoheiry M, El-Ahwany E, Ghali A, El-Bassiouni N. Immunohistochemical expression of CD95 (Fas), c-myc and epidermal growth factor receptor in hepatitis C virus infection, cirrhotic liver disease and hepatocellular carcinoma. *APMIS* 2006; 114: 420-427 [PMID: 16856963 DOI: 10.1111/j.1600-0463.2006.apm\_323.x]
- 15 王宝松, 魏德全, 于树娜, 姜栋栋, 赵金岭, 史才兴, 蒋吉英. Wnt信号通路在HepG2细胞株及其克隆形成细胞中表达的异质性. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 284-288
- 16 金世龙, 刘宏鸣, 刘宝华, 肖静, 杨俊涛, 顾红光, 申海军. 肝癌组织和肝癌HepG2、SMCC-7721细胞株β-catenin的表达. *解放军医学杂志* 2007; 32: 826-829

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 直接肾素抑制剂对大鼠急性胰腺炎的保护作用及机制

黄元龙, 尹青, 颜琼, 邓明明

黄元龙, 尹青, 颜琼, 邓明明, 泸州医学院附属医院消化内科  
四川省泸州市 646000

黄元龙, 主要从事胰腺病学方面的研究。

泸州市科技计划基金资助项目, No. 2013-S-48(3/30)

作者贡献分布: 此课题由邓明明与黄元龙共同设计完成; 研究过程由黄元龙、尹青及颜琼共同完成; 本论文写作由邓明明与黄元龙共同完成。

通讯作者: 邓明明, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市江阳区太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科。

793070544@qq.com

收稿日期: 2014-01-11 修回日期: 2014-03-26

接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-08

## Protective effects of aliskiren, a direct renin inhibitor, in rats with acute pancreatitis

Yuan-Long Huang, Qing Yin, Qiong Yan, Ming-Ming Deng

Yuan-Long Huang, Qing Yin, Qiong Yan, Ming-Ming Deng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Supported by: Luzhou Science and Technology Project, No. 2013-S-48(3/30)

Correspondence to: Ming-Ming Deng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Road, Jiayang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 793070544@qq.com

Received: 2014-01-11 Revised: 2014-03-26

Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the inhibitory effects of aliskiren on the renin angiotensin system (RAS) in rats with acute pancreatitis (AP) and to explore the mechanisms involved.

**METHODS:** Seventy-two SD rats were randomly divided into a sham operation group, an acute AP model group, and an aliskiren therapy group. AP was induced by retrograde injection of 3.5% sodium taurocholate (0.1 mL/100 g) into the biliopancreatic duct. Aliskiren solution was administered in rats of the aliskiren therapy group by gavage at a dose of 20 mg/kg, and equivalent volume of normal saline (NS) was given in the other two groups. Rats in each group were further divided into three subgroups

for taking inferior vena cava blood samples at 6, 12 and 24 h, respectively. The rats were then killed to observe pancreatic pathological changes and measure serum amylase (AMY), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), angiotensin II (Ang II), and plasma renin activity (PRA). The expression of nuclear factor kappa-B (NF- $\kappa$ B) and angiotensin II type 1 receptor (AT1R) in the pancreas was determined by immunohistochemistry.

**RESULTS:** Compared with the AP group, pancreatic histopathological score ( $7.25 \pm 0.80$ ,  $9.57 \pm 1.54$ ,  $12.75 \pm 1.22$ ), AMY ( $2230.87 \text{ U/L} \pm 224.71 \text{ U/L}$ ,  $2137.41 \text{ U/L} \pm 193.31 \text{ U/L}$ ,  $2457.01 \text{ U/L} \pm 188.81 \text{ U/L}$ ), TNF- $\alpha$  ( $26.28 \text{ ng/L} \pm 2.45 \text{ ng/L}$ ,  $27.51 \text{ ng/L} \pm 1.91 \text{ ng/L}$ ,  $27.17 \text{ ng/L} \pm 2.02 \text{ ng/L}$ ), PRA [ $7.31 \text{ ng/(mL}\cdot\text{h)} \pm 1.94 \text{ ng/(mL}\cdot\text{h)}$ ,  $8.69 \text{ ng/(mL}\cdot\text{h)} \pm 1.78 \text{ ng/(mL}\cdot\text{h)}$ ,  $9.04 \text{ ng/(mL}\cdot\text{h)} \pm 1.78 \text{ ng/(mL}\cdot\text{h)}$ ], Ang II ( $755.47 \text{ ng/L} \pm 121.33 \text{ ng/L}$ ,  $871.17 \text{ ng/L} \pm 129.43 \text{ ng/L}$ ,  $878.39 \text{ ng/L} \pm 81.29 \text{ ng/L}$ ), positive rates of AT1R ( $48.60 \pm 6.28$ ,  $49.62 \pm 7.19$ ,  $51.20 \pm 7.04$ ) and NF- $\kappa$ B ( $65.66 \pm 4.93$ ,  $68.66 \pm 5.23$ ,  $68.13 \pm 7.14$ ) at each time point (6, 12, 24 h) were decreased significantly ( $P < 0.05$  for all) in the aliskiren therapy group.

**CONCLUSION:** Aliskiren can protect from pancreatic inflammation and injury in AP rats.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Acute pancreatitis; Direct renin inhibitor; Aliskiren; Renin-angiotensin system

Huang YL, Yin Q, Yan Q, Deng MM. Protective effects of aliskiren, a direct renin inhibitor, in rats with acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1841-1847 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1841.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1841>

## 摘要

**目的:** 探讨直接肾素抑制剂(阿利吉仑)抑制肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)首位环节对大鼠急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的保护作用及机制。

## ■背景资料

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的病因和发病机制众多。近年来, 随着对RAS的研究, 其在炎症性病变中起着重要作用。本文用阿利吉仑从肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)起始部位抑制其活性, 观察阿利吉仑对大鼠AP的作用, 为AP的治疗提供一种新的理论基础和实验依据。

## ■同行评议者

谷俊朝, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院普外科; 陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院医院办



## ■研究前沿

阿利吉仑在心血管系统疾病已有很多研究报道,且也证实其可抑制肾素活性减少Ang血管紧张素II(angiotensin, Ang II)生成,同时具有抗炎、减轻氧化应激、抑制炎症信号通路等作用。随着对阿利吉仑的深入研究,其在胰腺炎等炎症性病变中亦可能起到一定保护作用。

**方法:** 72只SD大鼠随机分为假手术组(SO组)、急性胰腺炎组(AP组)、阿利吉仑治疗组(R组)。采用3.5%牛磺胆酸钠(0.1 mL/100 g)逆行胰胆管注射制备AP组和R组大鼠急性胰腺炎模型;而SO组仅开腹并轻轻触动十二指肠和胰腺后关腹。R组于造模成功后给予阿利吉仑溶液灌胃(20 mg/kg);SO组及AP组给予同等剂量的生理盐水灌胃。各组大鼠于术后6、12、24 h,分批次等数量[8只/(组·批)]下腔静脉抽血后处死。取胰腺组织观察胰腺病理变化及进行病理学评分,并检测大鼠血清淀粉酶(serum amylase, AMY)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)、血浆肾素活性(plasma renin activity, PRA)的变化。免疫组织化学方法观察胰腺组织血管紧张素II 1型受体(angiotensin II type 1 receptor, AT1R)血管紧张素II 1型受体(AT1R)和核因子- $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)的表达情况。

**结果:** 与AP组比较, R组各时间点(6、12、24 h)的病理学评分( $7.25 \pm 0.80$ 、 $9.57 \pm 1.54$ 、 $12.75 \pm 1.22$ )、AMY( $2230.87 \text{ U/L} \pm 224.71 \text{ U/L}$ 、 $2137.41 \text{ U/L} \pm 193.31 \text{ U/L}$ 、 $2457.01 \text{ U/L} \pm 188.81 \text{ U/L}$ )、TNF- $\alpha$ ( $26.28 \text{ ng/L} \pm 2.45 \text{ ng/L}$ 、 $27.51 \text{ ng/L} \pm 1.91 \text{ ng/L}$ 、 $27.17 \text{ ng/L} \pm 2.02 \text{ ng/L}$ )、PRA[ $7.31 \text{ ng/(mL} \cdot \text{h)} \pm 1.94 \text{ ng/(mL} \cdot \text{h)}$ 、 $8.69 \text{ ng/(mL} \cdot \text{h)} \pm 1.78 \text{ ng/(mL} \cdot \text{h)}$ 、 $9.04 \text{ ng/(mL} \cdot \text{h)} \pm 1.78 \text{ ng/(mL} \cdot \text{h)}$ ]和Ang II( $755.47 \text{ ng/L} \pm 121.33 \text{ ng/L}$ 、 $871.17 \text{ ng/L} \pm 129.43 \text{ ng/L}$ 、 $878.39 \text{ ng/L} \pm 81.29 \text{ ng/L}$ )明显降低( $P < 0.05$ ), AT1受体阳性表达率( $48.60\% \pm 6.28\%$ 、 $49.62\% \pm 7.19\%$ 、 $51.20\% \pm 7.04\%$ )下降( $P < 0.05$ ),以及NF- $\kappa$ B的阳性表达率( $65.66\% \pm 4.93\%$ 、 $68.66\% \pm 5.23\%$ 、 $68.13\% \pm 7.14\%$ )亦下降( $P < 0.05$ )。

**结论:** 肾素抑制剂(阿利吉仑)对大鼠急性胰腺炎的炎症病变及损伤具有一定保护作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 急性胰腺炎; 直接肾素抑制剂; 阿利吉仑; 肾素-血管紧张素系统

**核心提示:** 阿利吉仑可以通过抑制肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)减少血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)的生成, 弱化Ang II在急性胰腺炎的病理生理作用, 同时可抑制炎症信号通路核因子- $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B)所致的炎症反应不断放大失控, 减少下游肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ )等炎症因子的产

生, 对大鼠急性胰腺炎的炎症病变及损伤具有保护作用。

黄元龙, 尹青, 颜琼, 邓明明. 直接肾素抑制剂对大鼠急性胰腺炎的保护作用及机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1841-1847  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1841.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1841>

## 0 引言

肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)为一神经内分泌系统, 且有着复杂的酶促反应链。随着对其的深入研究, 新成员的不断发现, RAS形成了一多元系统, 其不同分支点在RAS的不同位点发挥着不同作用。急性胰腺炎时RAS的激活与胰腺的病理损伤及全身炎症反应综合征和多器官功能障碍有密切关系<sup>[1]</sup>。通过对RAS不同位点的调控可以减轻炎症反应以及炎症持续放大所致的远隔器官的损伤。RAS不同位点的抑制剂如血管紧张素转换酶抑制(angiotensin converting enzyme inhibition, ACEI)和血管紧张素II受体拮抗剂(angiotensin II receptor blocker, ARB)在动物急性胰腺炎模型中具有一定的保护作用<sup>[2,3]</sup>。本实验中阿利吉仑为一小分子量非肽类肾素抑制, 其作为RAS的首限速酶抑制剂, 对肾素具有很高的亲和力, 能与肾素活性位点结合阻断其催化活性<sup>[4]</sup>, 从而降低血管紧张素I(angiotensin, Ang I)和血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)的水平。另在相关实验中发现阿利吉仑有减少炎症细胞浸润、减轻氧化应激、抑制促炎信号丝裂原活化蛋白激酶的激活以及抗纤维化等作用<sup>[5-7]</sup>, 从而发挥对组织器官的保护作用。然而关于阿利吉仑在急性胰腺炎时是否发挥保护作用目前尚缺乏相关研究报道。本文通过建立急性胰腺炎模型, 观察肾素抑制剂(阿利吉仑)在急性胰腺炎时所发挥的作用, 为急性胰腺炎的治疗提供新的理论基础和实验依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 阿利吉仑(瑞士诺华医药公司); 牛磺胆酸钠(Sigma, 美国); 血管紧张素I、II放射免疫试剂盒(北京北方生物技术研究所); TNF- $\alpha$  ELISA试剂盒(武汉博士德生物工程公司); AT1受体兔抗大鼠多克隆抗体(Biworld, 美国)、大鼠NF- $\kappa$ B p65抗体(Biworld, 美国); SD大鼠, 雌雄不限, 72只(泸州医学院实验动物中心提供)。

## 1.2 方法

**1.2.1 实验动物分组及模型制作:** 将72只SD大鼠随机分为假手术组(SO组)、急性胰腺炎模型组(AP组)、阿利吉仑治疗组(R组), 每组24只。造模前大鼠禁食12 h, 不禁水。参照Aho等<sup>[8]</sup>的方法复制大鼠急性胰腺炎模型。1%戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔麻醉, 采用上腹正中切口开腹, 寻及十二指肠及胆总管, 用一小动脉夹夹闭胆管近肝门端, 以1 mL磨钝针头经肠壁从十二指肠乳头刺入胰管约0.8 cm, 以0.1 mL/100 g剂量向胰管内逆行推注3.5%牛黄胆酸钠, 压迫5 min后去除小动脉夹关腹。假手术组仅开腹并轻轻触动十二指肠和胰腺后关腹。R组于造模成功后给予2.0 g/L阿利吉仑溶液灌胃(20 mg/kg); SO及AP组给予同等剂量的生理盐水灌胃。术后各组动物分笼饲养, 自由进水。各组大鼠在造模后6、12、24 h分3批(每批8只/组)下腔静脉取血后处死, 快速切取胰腺组织以多聚甲醛固定, 测定各项指标。

**1.2.2 检测指标及方法:** (1)胰腺HE染色及病理学评分: 胰腺组织标本以4%中性甲醛固定, 常规石蜡包埋、HE染色, 于光镜下观察, 采用Schmidt<sup>[9]</sup>评分标准对胰腺组织进行病理学评分; (2)血清淀粉酶(serum amylase, AMY)的测定: 经大鼠下腔静脉抽取2 mL, 2000 r/min离心10 min后留取血清, 保存于-70 °C冰箱备测。采用全自动生化分析仪检测血清淀粉酶, 单位为U/L; (3)血清TNF- $\alpha$ 的测定: 严格按照ELISA试剂盒说明, 取上述血清后, 采用双抗体夹心法测定血清TNF- $\alpha$ 含量; (4)Ang II、PRA: 下腔静脉取血2 mL注入酶抑制剂抗凝管, 轻轻混匀, 置于冰水浴中2 h, 取出后4 °C低温离心机2500 r/min离心7 min, 分离血浆低温冰箱内保存备测, 按照放射免疫试剂盒说明, 测定各样本放射性, 联机电脑得出待测样品结果; (5)NF- $\kappa$ B及AT1受体在胰腺组织的表达情况: 采用二步免疫组织化学方法(PV法)染色, 参照AT1受体兔抗大鼠多克隆抗体、大鼠NF- $\kappa$ B p65抗体试剂盒进行, 显色采用DAB试剂盒进行, 光镜观察胞质和(或)胞核中有棕黄色颗粒者为阳性细胞, 且计算阳性表达率, 计算方法: 数5个高倍视野, 分别计算阳性细胞和总细胞数, 阳性率 = 阳性细胞数/总细胞数  $\times$  100%。

**统计学处理** 应用SPSS13.0统计软件, 计量资料用均数 $\pm$ SD表示。多组样本均数之间比较采用单因素方差分析。各组间的两两比较采用多个均数间的多重比较(Dunnett-*t*检验)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 胰腺组织大体及病理学改变和病理评分

**2.1.1 大体观察:** SO组大鼠胰腺肉眼观呈均匀的粉红色, 质软, 薄片状, 光泽度好, 且随着时间延长未见明显水肿、出血坏死, 腹腔内无腹水及皂化斑, 3个时间点大鼠胰腺未见明显变化。AP组在造模后随即可见沿胆总管周围腺体组织出现充血, 水肿, 范围逐渐加大, 颜色逐渐加深。随着时间延长, 6 h大鼠胰腺肿胀明显, 色泽变淡, 呈暗红色, 无光泽, 少量腹水及胰腺表面皂化斑的形成。12 h可见大鼠胰腺出血坏死, 呈暗褐色, 胰腺及网膜皂化斑的增多, 且胰腺与相邻脏器粘连明显, 胃肠胀气亦明显, 同时可见较多血性腹水形成; 24 h大鼠胰腺呈暗褐色, 广泛的坏死出血及钙化灶形成, 与周围脏器大量黏连, 胃肠淤张胀气更为明显, 可见大量血性腹水。R组各时间点与AP组同一时间点相比, 胰腺水肿、出血、坏死、皂化斑的形成及腹水量均减轻。

**2.1.2 光镜观察:** SO组胰腺组织镜下胰腺小叶结构完整, 间质轻度水肿, 少量炎性细胞浸润, 且三个时间点胰腺组织镜下所见无明显差异。AP组病程6 h, 胰腺间质水肿, 小叶间隔稍增宽, 有炎症细胞浸润; 12 h可见胰腺间质明显水肿, 小叶间隙明显增宽, 部分小叶结构破坏, 片状坏死、出血, 大量炎症细胞浸润; 24 h可见胰腺病理损伤程度加重, 小叶结构消失, 大量炎细胞浸润, 呈现大片状出血、坏死, 部分见脂肪液化坏死及腺泡细胞固缩, 崩解, 部分小叶甚至成为一片红染的无结构区; R组与AP组同一时间点相比, 胰腺小叶水肿、间隔增宽、炎细胞浸润、出血、坏死等病变程度均减轻(图1)。

**2.1.3 胰腺组织病理学评分:** 采用Schmidt评分标准对胰腺组织进行病理学评分, 可见AP组3个时间点胰腺组织病理学评分较SO组明显升高( $P < 0.05$ ); R组3个时间点胰腺组织病理学评分较AP组明显减低( $P < 0.05$ ), 但仍高于SO组( $P < 0.05$ )(表1)。

**2.2 大鼠AMY、TNF- $\alpha$ 、Ang II、PRA水平变化及比较** 急性胰腺炎造模成功后, AP组3个时间点的AMY、TNF- $\alpha$ 、Ang II、PRA较SO组明显升高( $P < 0.05$ ); 和AP组比较, R组3个时间点的AMY、TNF- $\alpha$ 、Ang II、PRA较SO组明显下降( $P < 0.05$ ), 但仍高于SO组( $P < 0.05$ )(表2)。

**2.3 免疫组织化学方法观察胰腺组织AT1受体、NF- $\kappa$ B的表达**

**2.3.1 AT1受体在胰腺组织中的表达:** AT1受体

### ■相关报道

Dong等报道阿利吉仑可以减轻氧化应激对2型糖尿病大鼠的胰腺损伤及心血管系统并发症有保护作用。



## ■创新盘点

本研究以RAS起始部位作为切入点,通过阿利吉仑对肾素活性的抑制,可以减少RAS主要活性物质Ang II的生成,减弱其生物学活性,同时阿利吉仑抑制核因子- $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)炎症信号通路,减少肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ )的生成,减轻炎症反应。但目前阿利吉仑在急性胰腺炎方面的研究尚不多见,通过对其的实验研究,可为AP的治疗寻找一种新的途径和治疗方法。

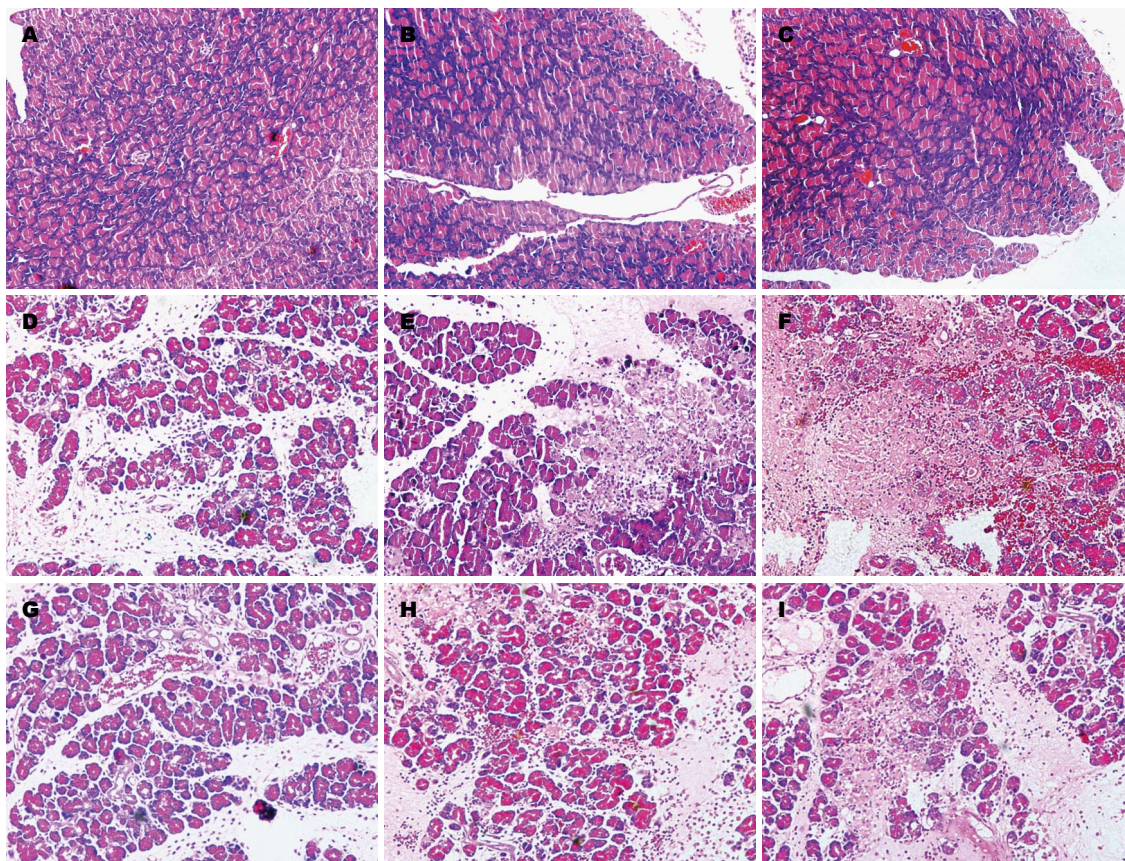


图1 光学显微镜下各组大鼠胰腺组织病理学变化(H&E  $\times 200$ )。A: SO组6 h; B: SO组12 h; C: SO组24 h; D: AP组6 h; E: AP组12 h; F: AP组24 h; G: R组6 h; H: R组12 h; I: R组24 h。SO组: 假手术组; AP组: 急性胰腺炎组; R组: 阿利吉仑治疗组。

表1 胰腺组织病理学评分 (mean  $\pm$  SD,  $n = 8$ )

分组	6 h	12 h	24 h
SO组	0.31 $\pm$ 0.12	0.48 $\pm$ 0.12	0.51 $\pm$ 0.08
AP组	13.00 $\pm$ 1.01 <sup>a</sup>	15.25 $\pm$ 0.96 <sup>a</sup>	17.81 $\pm$ 0.84 <sup>a</sup>
R组	7.25 $\pm$ 0.80 <sup>ac</sup>	9.57 $\pm$ 1.54 <sup>ac</sup>	12.75 $\pm$ 1.22 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs SO组同一时间点; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs AP组同一时间点。SO组: 假手术组; AP组: 急性胰腺炎组; R组: 阿利吉仑治疗组。

主要表达于胰腺组织的血管壁,在胰管壁也有表达,腺泡基本不表达,阳性细胞呈棕黄色染色。其中AT1受体在SO组各时间点表达很少;在AP组各时间点AT1受体表达较SO组明显增多( $P < 0.05$ );阿利吉仑干预的R组在各时间点AT1受体表达均弱于同时间点AP组( $P < 0.05$ ),但仍较同时时间点的SO组高( $P < 0.05$ )。在5个高倍视野下观察阳性细胞数N1,总细胞数N,计算各组阳性率 =  $N1/N \times 100\%$ (表3)。

2.3.2 NF- $\kappa$ B在胰腺组织中的表达: NF- $\kappa$ B主要在胰腺腺泡细胞核和胞浆中表达,阳性细胞为胞核和/或胞浆呈棕黄色染色。其中在SO组各时间点

胰腺细胞NF- $\kappa$ B少量表达;在AP组各时间点胰腺细胞NF- $\kappa$ B活化明显,阳性表达率较SO组明显增多( $P < 0.05$ );在阿利吉仑干预的R组胰腺细胞的阳性表达率均弱于同时间点AP组( $P < 0.05$ ),但仍较同时时间点的SO组高( $P < 0.05$ )。在5个高倍视野下观察阳性细胞数N1,总细胞数N,计算各组阳性率 =  $N1/N \times 100\%$ (表4)。

### 3 讨论

AP是以胰腺组织水肿、腺泡细胞变性、坏死以及受损腺体的出血和炎细胞浸润为特点的一种炎症性疾病,其总体死亡率为5%-10%<sup>[10]</sup>。若病情进行性发展为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP),其死亡率可高达30%以上<sup>[11]</sup>。AP的病因及发病机制众多,有多种学说和观点,包括胰腺自身消化学说、炎症介质学说、氧化应激学说、肠道细菌移位学说、胰腺腺泡细胞凋亡及钙超载学说等<sup>[12]</sup>。传统意义上,RAS被视为一种调节血压、维持水电解质平衡的神经内分泌系统,且有着复杂的酶促反应链。近年来研究发现,RAS除了存在于传统意义的循环系统



表 2 各组不同时间血清淀粉酶、TNF- $\alpha$ 、Ang II、PRA的比较 (mean  $\pm$  SD,  $n = 8$ )

分组	时间(h)	血清淀粉酶(U/L)	TNF- $\alpha$ (ng/L)	Ang II(ng/L)	PRA[ng/(mL·h)]
SO组	6	1148.91 $\pm$ 145.32	12.65 $\pm$ 3.14	466.62 $\pm$ 93.51	2.38 $\pm$ 1.08
	12	1222.13 $\pm$ 180.33	13.37 $\pm$ 2.86	502.96 $\pm$ 104.92	2.59 $\pm$ 1.10
	24	1241.66 $\pm$ 127.90	13.01 $\pm$ 2.88	522.83 $\pm$ 116.78	2.98 $\pm$ 1.22
AP组	6	3166.14 $\pm$ 155.82 <sup>a</sup>	32.30 $\pm$ 3.64 <sup>a</sup>	908.94 $\pm$ 110.73 <sup>a</sup>	10.45 $\pm$ 2.39 <sup>a</sup>
	12	3336.87 $\pm$ 149.76 <sup>a</sup>	34.28 $\pm$ 3.99 <sup>a</sup>	1128.12 $\pm$ 196.76 <sup>a</sup>	12.30 $\pm$ 1.92 <sup>a</sup>
	24	3402.97 $\pm$ 118.48 <sup>a</sup>	34.08 $\pm$ 4.41 <sup>a</sup>	1205.11 $\pm$ 214.18 <sup>a</sup>	13.00 $\pm$ 2.15 <sup>a</sup>
R组	6	2230.87 $\pm$ 224.71 <sup>ac</sup>	26.28 $\pm$ 2.45 <sup>ac</sup>	755.47 $\pm$ 121.33 <sup>ac</sup>	7.31 $\pm$ 1.94 <sup>ac</sup>
	12	2137.41 $\pm$ 193.31 <sup>ac</sup>	27.51 $\pm$ 1.91 <sup>ac</sup>	871.17 $\pm$ 129.43 <sup>ac</sup>	8.69 $\pm$ 1.78 <sup>ac</sup>
	24	2457.01 $\pm$ 188.81 <sup>ac</sup>	27.17 $\pm$ 2.02 <sup>ac</sup>	878.39 $\pm$ 81.29 <sup>ac</sup>	9.04 $\pm$ 1.78 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs SO组同一时间点; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs AP组同一时间点. SO组: 假手术组; AP组: 急性胰腺炎组; R组: 阿利吉仑治疗组. TNF: 肿瘤坏死因子; Ang: 促血管生成素; PRA: 群体反应性抗体.

# 应用要点

国外目前已有多种规格的阿利吉仑上市(如锐思力), 其整体临床应用价值得到肯定. 本研究以RAS在急性胰腺炎的发病机制着手, 以阿利吉仑干预RAS的其中一位点, 从而在急性胰腺炎中发挥一定的保护作用.

表 3 各组胰腺组织中AT1受体的表达 (mean  $\pm$  SD,  $n = 8$ )

分组	6 h	12 h	24 h
SO组	1.90 $\pm$ 1.05	2.10 $\pm$ 0.73	2.00 $\pm$ 0.74
AP组	69.12 $\pm$ 5.03 <sup>a</sup>	72.63 $\pm$ 5.65 <sup>a</sup>	71.38 $\pm$ 6.60 <sup>a</sup>
R组	48.60 $\pm$ 6.28 <sup>ac</sup>	49.62 $\pm$ 7.19 <sup>ac</sup>	51.20 $\pm$ 7.04 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs SO组同一时间点; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs AP组. SO组: 假手术组; AP组: 急性胰腺炎组; R组: 阿利吉仑治疗组.

表 4 各组胰腺组织中核因子- $\kappa$ B的表达 (mean  $\pm$  SD,  $n = 8$ )

分组	6 h	12 h	24 h
SO组	1.63 $\pm$ 0.58	1.55 $\pm$ 0.39	1.80 $\pm$ 0.54
AP组	85.06 $\pm$ 7.67 <sup>a</sup>	89.26 $\pm$ 7.43 <sup>a</sup>	88.66 $\pm$ 6.25 <sup>a</sup>
R组	65.66 $\pm$ 4.93 <sup>ac</sup>	68.66 $\pm$ 5.23 <sup>ac</sup>	68.13 $\pm$ 7.14 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs SO组同一时间点; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs AP组. SO组: 假手术组; AP组: 急性胰腺炎组; R组: 阿利吉仑治疗组.

中, 在胰腺等局部组织器官也存在RAS<sup>[13]</sup>, 且随着对RAS的深入研究和RAS组分的新发现, RAS与AP关系亦得到重视.

急性胰腺炎时的炎症病变及损伤结局与RAS活化密切相关, RAS可能在以下几个方面参与AP的发病机制: (1)微循环障碍. Ang II为RAS的主要活性分子, 急性胰腺炎时RAS激活, Ang II水平明显上调, 与其受体结合后对胰腺小叶内血管产生强烈的缩血管作用, 引起胰腺组织缺血和局部微循环淤滞, 持续的微血管痉挛将促进胰腺炎变由水肿性向出血坏死性发展; (2)抗炎-促炎介质失衡. 急性胰腺炎时, 胰腺的损伤会启动抗炎与促炎两大系统. RAS参与了细胞因子、黏附分子、转化因子等炎症因子的产生<sup>[14]</sup>. 其中Ang II可作为一种较强的致炎因子, 他可以诱导单核细胞活化, 促进巨噬细胞分泌表达TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1等细胞因子, 还可以诱导血管内皮细胞和平滑肌细胞表达多种黏附分子, 促进单核细胞和中性粒细胞与血管内皮细胞的黏附, 这些炎症因子的产生对炎症反应的放大及损伤加重有重要作用<sup>[15-17]</sup>. 此过程可能与Ang II激活NF- $\kappa$ B信号转导通路<sup>[18,19]</sup>, 继而激

活其他炎症因子和细胞因子的合成和释放有关. 相关研究发现在使用NF- $\kappa$ B特异性抑制剂PDTC后, 抑制NF- $\kappa$ B的激活可减弱了Ang II介导的炎症反应<sup>[20]</sup>. 炎症细胞在产生促炎介质时, 也产生抗炎介质, 启动抗炎系统, 有助于控制炎症, 恢复内环境稳定. 当抗炎-促炎介质的失衡, 炎症失控, 炎症介质泛滥, 可发展为全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS), 导致胰腺炎变和受损进行性加重; (3)氧自由基损伤. Schieffer等<sup>[21]</sup>发现Ang II可增加氧自由基, 活化炎症信号转到通路JAKs和STAT. Leung等<sup>[1]</sup>通过研究证实, Ang II可通过增加还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶或黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)的活性刺激血管内皮细胞和平滑肌细胞大量合成活性氧(reactive oxygen species, ROS). 大量氧自可引起细胞膜脂质过氧化而导致细胞稳定性降低、卵磷脂分解、细胞蜕变, 形成细胞毒效应<sup>[22]</sup>.

在RAS介导的炎症性病变中, 可以通过对RAS不同位点的调控减轻炎症反应和病理损伤. 因此可以从2个位点对RAS的病理生理作用进行调控: (1)ACEI减少Ang I向Ang II转化.

## ■同行评价

本文具有一定的探索和创新性,有一定科学意义和临床应用价值。

国内外已有学者在大鼠急性胰腺炎模型中运用ACEI(卡托普利)可以起到一定保护作用<sup>[2,23]</sup>;(2)ARB阻断Ang II的生物学活性. Abramowich等<sup>[24]</sup>在大鼠急性胰腺炎模型中应用AT1受体亚型拮抗剂Losartan,可改善胰腺微循环障碍,减轻胰腺损伤,亦可以减少活性氧的产生;(3)肾素抑制剂(阿利吉仑)则从源头上阻断RAS,有效减少Ang I、Ang II的生成. 阿利吉仑是近年来合成的第一个口服、非肽类、直接肾素抑制剂. 其从源头阻断RAS活性,在与肾素结合,进入肾素分子的裂隙占据肾素的酶活性部位后,肾素再也无法接纳和水解血管紧张素原. 这种情况下,即使肾素分泌增多,但血浆肾素活性仍然降低,低水平活性肾素在单位时间内作用于血管紧张素原生成Ang I的速率减低,进而生成的Ang II亦减少;阿利吉仑除了通过减少Ang II生成抑制其生物学效应外,其自身亦有抗炎、抗氧化、抑制炎症信号通路等作用. Lee等<sup>[25]</sup>用阿利吉仑干预CCl<sub>4</sub>诱导的慢性肝损伤小鼠,发现阿利吉仑能够减轻肝脏炎症和肝纤维化;Dong等<sup>[26]</sup>研究发现阿利吉仑通过减轻氧化应激对2型糖尿病小鼠的胰腺损伤及心血管并发症起到保护作用;Goldenberg等<sup>[27]</sup>在2型糖尿病KK-Ay/Ta小鼠实验中,发现阿利吉仑可抑制2型糖尿病KK-Ay/Ta小鼠NF- $\kappa$ B的活性及有丝分裂原激活蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)ERK1的磷酸化.

本实验以RAS首位起始环节肾素作为研究点,造模成功后给以肾素抑制剂阿利吉仑予以灌胃治疗,模型组和假手术组给予同等剂量的生理盐水. 术后观察到模型组各时间点胰腺病理组织评分,AMY、TNF- $\alpha$ 、PRA、Ang II及胰腺组织NF- $\kappa$ B和AT1R的阳性表达率较假手术组明显升高( $P<0.05$ );而同时时间点的阿利吉仑治疗组大鼠各检测指标较模型组有明显减轻( $P<0.05$ ),免疫组织化学显示NF- $\kappa$ B和AT1R的阳性表达率较模型组亦明显减少( $P<0.05$ ). 本研究结果表明阿利吉仑在急性胰腺炎时对胰腺的炎症病变和损伤有一定的保护作用,其原因可能为两方面:(1)Ang II作为RAS重要的炎症活化因子,其生成减少,作用亦减弱. 阿利吉仑作为RAS系统的首步限速酶抑制剂,对RAS的阻断作用更为完全,可显著、持续地降低PRA水平,阻止Ang I和Ang II的生成,抑制了Ang II的病理生理作用,如加重胰腺微循环障碍,激活NF- $\kappa$ B等

炎症信号通路及大量氧自由基的产生,且不会像ACEI和ARB反馈性引起PRA水平上调及Ang II的反跳逃逸;(2)阿利吉仑的抗炎、抗氧化、抑制炎症信号通路的作用. NF- $\kappa$ B作为炎症反应持续放大的重要信号通路,在急性胰腺炎模型组可看到NF- $\kappa$ B的活性增加,胰腺细胞阳性表达率明显升高,同时炎症因子TNF- $\alpha$ 的水平也明显升高,而阿利吉仑干预组NF- $\kappa$ B阳性表达率却较模型组明显减少( $P<0.05$ ),且TNF- $\alpha$ 的水平亦降低,从而减轻AP的病理损害. 但阿利吉仑具体通过怎样的方式和途径抑制NF- $\kappa$ B的活性尚不明确,值得进一步深入研究.

## 4 参考文献

- 1 Leung PS. Local renin-angiotensin system in the pancreas: the significance of changes by chronic hypoxia and acute pancreatitis. *JOP* 2001; 2: 3-8 [PMID: 11862015]
- 2 Ip SP, Kwan PC, Williams CH, Pang S, Hooper NM, Leung PS. Changes of angiotensin-converting enzyme activity in the pancreas of chronic hypoxia and acute pancreatitis. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 944-954 [PMID: 12676178]
- 3 Chan YC, Leung PS. AT1 receptor antagonism ameliorates acute pancreatitis-associated pulmonary injury. *Regul Pept* 2006; 134: 46-53 [PMID: 16443293]
- 4 Rahuel J, Rasetti V, Maibaum J, Rüeger H, Göschke R, Cohen NC, Stutz S, Cumin F, Fuhrer W, Wood JM, Grütter MG. Structure-based drug design: the discovery of novel nonpeptide orally active inhibitors of human renin. *Chem Biol* 2000; 7: 493-504 [PMID: 10903938]
- 5 Kukkar A, Singh N, Jaggi AS. Neuropathic pain-attenuating potential of aliskiren in chronic constriction injury model in rats. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2013; 14: 116-123 [PMID: 23087256 DOI: 10.1177/1470320312460899]
- 6 Swanson MW. Association of antibody titer and chorioretinal scarring in toxoplasmosis retinochoroiditis. *J Am Optom Assoc* 1989; 60: 735-740 [PMID: 2584588 DOI: 10.1210/en.2008-0070]
- 7 Kavvadas P, Weis L, Abed AB, Feldman DL, Dussaule JC, Chatziantoniou C. Renin inhibition reverses renal disease in transgenic mice by shifting the balance between profibrotic and antifibrotic agents. *Hypertension* 2013; 61: 901-907 [PMID: 23438929 DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00639]
- 8 Aho HJ, Koskensalo SM, Nevalainen TJ. Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate-induced acute haemorrhagic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1980; 15: 411-416 [PMID: 7433903]
- 9 Saackel LR, Heuck F. [A practicable method for measuring volume employing the x-ray image and a microcalculator (author's transl)]. *Biomed Tech (Berl)* 1975; 20: 95-98 [PMID: 1242369]
- 10 Banks PA. Practice guidelines in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 377-386 [PMID: 9068455]
- 11 Abu-Zidan FM, Bonham MJ, Windsor JA. Severity of acute pancreatitis: a multivariate analysis of

- oxidative stress markers and modified Glasgow criteria. *Br J Surg* 2000; 87: 1019-1023 [PMID: 10931044 DOI: 10.1046/j.1365-2168.2000.01464.x]
- 12 林旭红, 李永渝. 急性胰腺炎发病机制及相关治疗的研究进展. *中国病理生理杂志* 2010; 26: 1029-1032, 1040
- 13 Leung PS, Chappell MC. A local pancreatic renin-angiotensin system: endocrine and exocrine roles. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 838-846 [PMID: 12676170]
- 14 Suzuki Y, Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Ruperez M, Esteban V, Egido J. Inflammation and angiotensin II. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 881-900 [PMID: 12676174]
- 15 Dörffel Y, Lätsch C, Stuhlmüller B, Schreiber S, Scholze S, Burmester GR, Scholze J. Preactivated peripheral blood monocytes in patients with essential hypertension. *Hypertension* 1999; 34: 113-117 [PMID: 10406833]
- 16 Nakamura A, Johns EJ, Imaizumi A, Yanagawa Y, Kohsaka T. Effect of beta(2)-adrenoceptor activation and angiotensin II on tumour necrosis factor and interleukin 6 gene transcription in the rat renal resident macrophage cells. *Cytokine* 1999; 11: 759-765 [PMID: 10525314 DOI: 10.1006/cyto.1999.0488]
- 17 Mervaala EM, Müller DN, Park JK, Schmidt F, Löhn M, Breu V, Dragun D, Ganten D, Haller H, Luft FC. Monocyte infiltration and adhesion molecules in a rat model of high human renin hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 389-395 [PMID: 9931135]
- 18 Moon JY, Tanimoto M, Gohda T, Hagiwara S, Yamazaki T, Ohara I, Murakoshi M, Aoki T, Ishikawa Y, Lee SH, Jeong KH, Lee TW, Ihm CG, Lim SJ, Tomino Y. Attenuating effect of angiotensin-(1-7) on angiotensin II-mediated NAD(P)H oxidase activation in type 2 diabetic nephropathy of KK-A(y)/Ta mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 300: F1271-F1282 [PMID: 21367916 DOI: 10.1152/ajprenal.00065.2010]
- 19 Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Ruperez M, Suzuki Y, Egido J. Angiotensin II activates nuclear transcription factor-kappaB in aorta of normal rats and in vascular smooth muscle cells of AT1 knockout mice. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 Suppl 1: 27-33 [PMID: 11369817]
- 20 Müller DN, Dechend R, Mervaala EM, Park JK, Schmidt F, Fiebeler A, Theuer J, Breu V, Ganten D, Haller H, Luft FC. NF-kappaB inhibition ameliorates angiotensin II-induced inflammatory damage in rats. *Hypertension* 2000; 35: 193-201 [PMID: 10642297]
- 21 Schieffer B, Luchtefeld M, Braun S, Hilfiker A, Hilfiker-Kleiner D, Drexler H. Role of NAD(P)H oxidase in angiotensin II-induced JAK/STAT signaling and cytokine induction. *Circ Res* 2000; 87: 1195-1201 [PMID: 11110778]
- 22 Yasar M, Yildiz S, Mas R, Dundar K, Yildirim A, Korkmaz A, Akay C, Kaymakcioglu N, Ozisik T, Sen D. The effect of hyperbaric oxygen treatment on oxidative stress in experimental acute necrotizing pancreatitis. *Physiol Res* 2003; 52: 111-116 [PMID: 12625815]
- 23 胡铭荣, 徐德征, 王雄陆, 江素君. 卡托普利对急性胰腺炎大鼠肾素血管紧张素II水平的影响. *消化外科* 2002; 1: 315-317
- 24 Abramowich D, Scapa E, Eshchar J. [Serologic diagnosis of hepatitis viruses--update]. *Harefuah* 1992; 123: 403-406 [PMID: 1464389]
- 25 Lee KC, Chan CC, Yang YY, Hsieh YC, Huang YH, Lin HC. Aliskiren attenuates chronic carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Eur J Clin Invest* 2012; 42: 1261-1271 [PMID: 22998019 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2012.02725.x]
- 26 Dong YF, Liu L, Kataoka K, Nakamura T, Fukuda M, Tokutomi Y, Nako H, Ogawa H, Kim-Mitsuyama S. Aliskiren prevents cardiovascular complications and pancreatic injury in a mouse model of obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia* 2010; 53: 180-191 [PMID: 19894030 DOI: 10.1007/s00125-009-1575-5]
- 27 Goldenberg RL, Foster JM, Cutter GR, Nelson KG. Fetal deaths in Alabama, 1974-1983: a birth weight-specific analysis. *Obstet Gynecol* 1987; 70: 831-835 [PMID: 3684115 DOI: 10.1155/2013/519130]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 益气养阴化瘀通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠平滑肌细胞凋亡的影响

王 飞, 郭沛然, 韩 菲, 孙玉凤, 何莉莉, 朱雅娜

## ■背景资料

糖尿病的发病率在发达国家和发展中国家都已达到流行病的程度, 影响全球3.66亿多人。糖尿病几乎影响全身的各个器官系统, 疾病的持续时间以及严重程度可能直接影响器官受累程度。糖尿病胃轻瘫是糖尿病最常见慢性并发症之一, 是排除机械性梗阻情况下出现胃排空延迟, 其相关症状包括早饱、恶心、呕吐、腹胀等。

王飞, 郭沛然, 韩菲, 孙玉凤, 何莉莉, 朱雅娜, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省消化病重点实验室 河北省石家庄市 050000

王飞, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

河北省卫生厅科研基金资助项目, No. 20110074

作者贡献分布: 课题由孙玉凤与王飞设计; 研究过程由王飞、韩菲及郭沛然操作完成; 课题资料查找及数据统计由王飞、何莉莉及朱雅娜共同完成; 论文写作由王飞完成; 孙玉凤审核。

通讯作者: 孙玉凤, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科。

sunyfey@163.com

电话: 0311-66002951

收稿日期: 2014-02-10 修回日期: 2014-03-17

接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## Effect of Yiqi Yangyin Huayu Tongluo Recipe on apoptosis of gastric smooth muscle cells in rats with diabetic gastroparesis

Fei Wang, Pei-Ran Guo, Fei Han, Yu-Feng Sun, Li-Li He, Ya-Na Zhu

Fei Wang, Pei-Ran Guo, Fei Han, Yu-Feng Sun, Li-Li He, Ya-Na Zhu, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Supported by: Foundation of Department of Health of Hebei Province, No. 20110074

Correspondence to: Yu-Feng Sun, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. sunyfey@163.com

Received: 2014-02-10 Revised: 2014-03-17

Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To explore the effect of Yiqi Yangyin Huayu Tongluo Recipe on oxidative stress and apoptosis of gastric smooth muscle cells in rats with diabetic gastroparesis.

**METHODS:** Thirty Sprague-Dawley male rats were randomly divided into three groups: a normal control (NC) group, a diabetic model (DM) group and a Chinese medicine (ZY) group. Diabetes was induced by injecting streptozotocin

(STZ). The Chinese medicine group was treated with traditional Chinese medicine, while the other two groups received the same volume of saline. Six weeks later, rate of gastric emptying was measured with phenol red; levels of malondialdehyde (MDA) and activity of superoxide dismutase (SOD) in gastric tissues were detected; apoptosis of gastric smooth muscle cells was detected by TUNEL assay; and expression of Bcl-2 and Bax mRNAs was examined by real-time PCR.

**RESULTS:** Compared with the NC group, the rates of gastric emptying in the DM and ZY groups decreased significantly ( $62.64\% \pm 4.51\%$  vs  $18.65\% \pm 4.30\%$ ,  $26.84\% \pm 2.35\%$ ,  $P < 0.05$  for both), while the gastric emptying rate was significantly higher in the ZY group than in the DM group ( $P < 0.05$ ). Compared with the NC group, gastric MDA contents were significantly elevated in the DM and ZY groups ( $2.12 \text{ nmol/mgprot} \pm 0.08 \text{ nmol/mgprot}$  vs  $7.55 \text{ nmol/mgprot} \pm 0.27 \text{ nmol/mgprot}$ ,  $2.82 \text{ nmol/mgprot} \pm 0.16 \text{ nmol/mgprot}$ ,  $P < 0.05$  for both), while gastric MDA content was significantly lower in the ZY group than in the DM group ( $P < 0.05$ ). SOD activity was reduced significantly in the DM and ZY groups in comparison with the NC group ( $48.18 \text{ U/mgprot} \pm 1.46 \text{ U/mgprot}$ ,  $73.66 \text{ U/mgprot} \pm 0.55 \text{ U/mgprot}$  vs  $120.20 \text{ U/mgprot} \pm 1.21 \text{ U/mgprot}$ ,  $P < 0.05$  for both), while SOD activity was significantly higher in the ZY group than in the DM group ( $P < 0.05$ ). The apoptotic index (AI) of gastric smooth muscle cells was significantly increased in the DM and ZY groups compared with the NC group ( $10.84\% \pm 1.18\%$ ,  $1.73\% \pm 0.09\%$  vs  $0.28\% \pm 0.25\%$ ,  $P < 0.05$  for both), while the AI was significantly lower in the ZY group than in the DM group ( $P < 0.05$ ). The levels of Bcl-2 mRNA in the DM and ZY groups were significantly lower compared with the NC group ( $1.65 \pm 0.28$  vs  $0.59 \pm 0.09$ ,  $1.10 \pm 0.27$ ,  $P < 0.05$  for both), while the level of Bcl-2 mRNA was significantly higher in the ZY group than in the DM group ( $P < 0.05$ ). The expression of Bax mRNA

## ■同行评议者

于珮, 主任医师, 天津医科大学代  
谢病医院

in the DM group was significantly higher than that in the NC group ( $1.96 \pm 0.28$  vs  $0.87 \pm 0.83$ ,  $P < 0.05$ ), while there was no significant difference between the NC group and ZY group ( $0.87 \pm 0.83$  vs  $1.13 \pm 0.11$ ,  $P > 0.05$ ). Compared with the DM group, the expression of Bax mRNA in the ZY group was significantly decreased ( $1.96 \pm 0.28$  vs  $1.13 \pm 0.11$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Yiqi Yangyin Huayu Tongluo Recipe can improve gastric motility by increasing antioxidative action, decreasing oxidative stress and inhibiting apoptosis in rats with diabetic gastroparesis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Diabetic gastroparesis; Oxidative stress; Apoptosis; Traditional Chinese medicine therapy

Wang F, Guo PR, Han F, Sun YF, He LL, Zhu YN. Effect of Yiqi Yangyin Huayu Tongluo Recipe on apoptosis of gastric smooth muscle cells in rats with diabetic gastroparesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1848-1853 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1848.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1848>

## 摘要

**目的:** 研究益气养阴化瘀通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠中氧化应激和细胞凋亡的影响。

**方法:** 30只♂SD大鼠随机分为正常对照组(normal control group, NC组)、糖尿病模型组(diabetic model group, DM组)、中药干预组(Chinese medicine group, ZY组)。予腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)制备糖尿病大鼠模型, 中药干预组予以中药灌胃, 其余两组分别予等体积生理盐水灌胃。6 wk后检测胃排空率; 测定胃组织超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平及丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量; 原位末端标记(TUNEL)法检测胃平滑肌细胞凋亡; Real-time PCR法检测胃组织Bcl-2及Bax mRNA表达。

**结果:** 与NC组相比, DM组及ZY组大鼠胃排空率明显下降( $62.64\% \pm 4.51\%$  vs  $18.65\% \pm 4.30\%$ ,  $26.84\% \pm 2.35\%$ ,  $P < 0.05$ ), 与DM组相比, ZY组胃排空率明显升高( $18.65\% \pm 4.30\%$  vs  $26.84\% \pm 2.35\%$ ,  $P < 0.05$ ); 与NC组相比, DM组及ZY组大鼠胃组织MDA含量均明显升高( $2.12 \text{ nmol/mgprot} \pm 0.08 \text{ nmol/mgprot}$  vs  $7.55 \text{ nmol/mgprot} \pm 0.27 \text{ nmol/mgprot}$ ,  $2.82 \text{ nmol/}$

$\text{mgprot} \pm 0.16 \text{ nmol/mgprot}$ ,  $P < 0.05$ ), ZY组MDA含量较DM组明显降低( $2.82 \text{ nmol/mgprot} \pm 0.16 \text{ nmol/mgprot}$  vs  $7.55 \text{ nmol/mgprot} \pm 0.27 \text{ nmol/mgprot}$ ,  $P < 0.05$ ); DM组及ZY组大鼠胃组织SOD活性较NC组均明显降低( $48.18 \text{ U/mgprot} \pm 1.46 \text{ U/mgprot}$ ,  $73.66 \text{ U/mgprot} \pm 0.55 \text{ U/mgprot}$  vs  $120.20 \text{ U/mgprot} \pm 1.21 \text{ U/mgprot}$ ,  $P < 0.05$ ), 与DM组相比, ZY组大鼠胃组织SOD活性较DM组明显升高( $48.18 \text{ U/mgprot} \pm 1.46 \text{ U/mgprot}$  vs  $73.66 \text{ U/mgprot} \pm 0.55 \text{ U/mgprot}$ ,  $P < 0.05$ ); DM组及ZY组胃平滑肌凋亡细胞数目较NC组明显增多( $10.84\% \pm 1.18\%$ ,  $1.73\% \pm 0.09\%$  vs  $0.28\% \pm 0.25\%$ ,  $P < 0.05$ ), ZY组大鼠胃平滑肌细胞凋亡数量明显较DM组明显减少( $1.73\% \pm 0.09\%$  vs  $10.84\% \pm 1.18\%$ ,  $P < 0.05$ ); DM组和ZY组Bcl-2 mRNA表达水平较NC组明显降低( $1.65 \pm 0.28$  vs  $0.59 \pm 0.09$ ,  $1.10 \pm 0.27$ ,  $P < 0.05$ ), ZY组Bcl-2 mRNA表达水平较DM组明显升高, 差异具有统计学意义( $1.10 \pm 0.27$  vs  $0.59 \pm 0.09$ ,  $P < 0.05$ ); 与NC组相比, DM组Bax mRNA表达水平显著升高( $0.87 \pm 0.83$  vs  $1.96 \pm 0.28$ ,  $P < 0.05$ ), ZY组Bax mRNA表达水平没有明显变化( $0.87 \pm 0.83$  vs  $1.13 \pm 0.11$ ,  $P > 0.05$ ); ZY组Bax mRNA表达水平明显低于DM组( $1.13 \pm 0.11$  vs  $1.96 \pm 0.28$ ,  $P < 0.05$ ).

**结论:** 益气养阴化瘀通络中药可通过提高抗氧化能力, 抑制氧化应激及细胞凋亡而促进胃动力。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 糖尿病胃轻瘫; 氧化应激; 细胞凋亡; 中药疗法

**核心提示:** 糖尿病是代谢失调性疾病, 可导致不同部位的细胞凋亡, 我们采用腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin)的方法建立糖尿病胃轻瘫大鼠模型, 探讨氧化应激及其诱导的细胞凋亡在糖尿病胃轻瘫发病中的作用以及益气养阴化瘀通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠的治疗作用和可能机制。

王飞, 郭沛然, 韩菲, 孙玉凤, 何莉莉, 朱雅娜. 益气养阴化瘀通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠平滑肌细胞凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(13): 1848-1853 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1848.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1848>

## 0 引言

糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)是继

## ■ 研发前沿

目前, 有关糖尿病胃轻瘫的治疗多采用在控制血糖的基础上, 提倡患者少食多餐, 选择易消化、低脂、少渣食物, 服用促胃肠动力药, 如西沙比利、吗丁啉等, 还有学者采用胃电起搏以及手术治疗等, 但效果均不理想。国内临床报道中医药运用中医整体观和辨证论治的原则治疗糖尿病胃轻瘫不仅能改善胃轻瘫症状, 又能兼顾降血糖, 起到双重治疗作用。

## ■相关报道

钟毅等提出观察到糖尿病胃轻瘫大鼠存在胃窦平滑肌细胞凋亡,认为高血糖激发的一氧化氮、活性氧等通过诱导Fas死亡受体,而引起胃平滑肌细胞的凋亡。

发于糖尿病(diabetes mellitus, DM)的慢性并发症之一,以胃动力障碍和排空延迟为主要特征。氧化应激是糖尿病胃轻瘫的主要发病机制之一。研究<sup>[1,2]</sup>证明细胞凋亡与糖尿病并发症有着密切关系。但是关于糖尿病胃轻瘫中氧化应激和细胞凋亡之间关系国内外少有报道。临床应用中医药治疗糖尿病胃轻瘫已取得良好疗效,实验<sup>[3-5]</sup>证实益气养阴化瘀通络中药能够明显改善DGP大鼠胃动力。本实验通过探讨益气养阴化瘀通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠氧化应激水平和细胞凋亡的影响,来进一步探讨此方对DGP的治疗作用及其可能的作用机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康♂SD大鼠30只(购自河北医科大学实验动物中心),体质量201-205 g。益气养阴化瘀通络中药(黄芪、熟地、鳖甲、积雪草、丹参、大黄、地龙、水蛭、茯苓、砂仁等)由河北省中医院提供,经粉碎、水煎浓缩至含生药1 g/mL; HiFi-MMLV cDNA第一链合成试剂盒、UltraSYBR Mixture(With ROX)试剂盒均购自北京康为世生物科技有限公司; STZ为Sigma公司产品; 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒为南京建成生物研究所产品; TUNEL试剂盒为ROCHE公司产品; 实时荧光PCR仪step one plus为美国ABI产品。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物分组及模型制备:** 将大鼠随机分为正常对照组(NC组)、糖尿病模型组(DM组)和中药干预组(ZY组),每组10只,均予以普通饲料适应性喂养2 wk后,糖尿病模型组和中药干预组大鼠空腹一次性腹腔注射1%STZ溶液50 mg/kg,正常组大鼠则注射相同体积的柠檬酸缓冲液(pH 4.4, 0.1 mmol/L)。72 h后采用断尾取血法测定血糖,血糖 $\geq 16.7$  mmol/L确立糖尿病模型建立。造模成功后,中药干预组予以益气养阴消癥通络中药10.58 g/(kg·d)灌胃,正常对照组和糖尿病模型组给予等体积生理盐水灌胃。每日10:00给药一次,共6 wk<sup>[6]</sup>。

**1.2.2 检测指标:** (1)一般情况:观察大鼠精神状态、活动情况、饮食、毛色、饮水量、尿量等; (2)体质量与血糖:大鼠成膜后每周称量一次体质量,观察体质量变化;检测血糖,用Beckman cx7全自动生化分析仪测定; (3)胃排空率(gastric emptying rate, GER)的检测:采用酚红

灌胃法,于第6周末,禁食24 h、禁水2 h后,予大鼠500 mg/L酚红溶液2 mL灌胃,15 min后处死大鼠,剖腹,结扎贲门和幽门,取出整个胃部,沿胃大弯切开,蒸馏水冲洗胃内容物,定容为20 mL。加入20 mL 0.5 mol/L氢氧化钠搅拌均匀,静置1 h。取5 mL上清液,加入0.5 mL 20%三氯乙酸去蛋白,3500 r/min离心10 min,取上清液,分光光度计于波长560 nm处测定吸光度(A)值(实测值),另取2 mL酚红溶液加入18 mL蒸馏水、20 mL 0.5 mol/L氢氧化钠、4 mL 20%三氯乙酸,搅拌均匀,测定A值(标准酚红A值)。大鼠GER = (1-实测酚红A值/标准酚红A值)×100%; (4)氧化应激指标的检测:胃组织匀浆后采用硫代巴比妥酸法检测MDA含量,黄嘌呤氧化酶法检测SOD活性,具体步骤分别按照试剂盒说明书操作; (5)平滑肌细胞凋亡的检测:采用TUNEL法,按TUNEL试剂盒说明书操作。凋亡细胞胞核有棕黄色颗粒,普通光镜下观察显色反应,每张玻片随机取6个高倍视野,凋亡指数(apoptotic index, AI)<sup>[7]</sup> = 凋亡平滑肌细胞数/平滑肌细胞总数×100%; (6)*Bcl-2*、*Bax*基因表达的检测:采用Real-time PCR法,按HiFi-MMLV cDNA第一链合成试剂盒、UltraSYBR Mixture(With ROX)试剂盒说明书操作。以GAPDH为内参,引物序列及PCR产物片段大小为:*Bcl-2*上游引物序列为5'-GGGCTACGAGTGGGATACTGGAG-3',下游引物序列为5'-CGGGCGTTCGGTTGCTCT-3',扩增产物为101 bp; *Bax*上游引物序列为5'-GGTGGTTGCCCTTTTCTACTTTGC-3',下游引物序列为5'-GCTCCCGGAGGAAGTCCAGTG-3',扩增产物为113 bp; *GAPDH*上游引物序列为5'-TG-GAGTCTACTGGCGTCTT-3',下游引物序列为5'-TGTCATATTTCTCGTGGTTCA-3',扩增产物为138 bp。数据采用2<sup>-ΔΔCt</sup>法进行分析。

**统计学处理** 应用SPSS13.0软件。计量资料符合正态分布,方差齐,用mean±SD表示,组间比较采用单因素方差分析,差别有统计学意义的,可进一步做两两比较,应用SNK法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠一般情况的比较** 正常对照组大鼠精神状况良好,动作自如,毛皮光泽,肌肉丰满,摄食量、饮水量及尿量正常。其他两组被注射STZ后,血糖显著升高,均 $\geq 16.7$  mmol/L,且逐渐出现多饮、多食、多尿,活动明显减少,反应迟



表 1 各组大鼠体质量及血糖比较 (mean ± SD)

分组	n	体质量(g)	血糖(mmol/L)
NC组	10	289.85 ± 6.43	6.02 ± 1.09
DM组	8	133.29 ± 6.14 <sup>a</sup>	22.09 ± 2.30 <sup>a</sup>
ZY组	10	140.08 ± 4.12 <sup>a</sup>	16.46 ± 1.95 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs NC组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs DM组. NC: 对照组; DM: 模型组; ZY: 中药组.

表 2 各组大鼠胃组织丙二醛含量、超氧化物歧化酶活性的比较 (mean ± SD)

分组	n	MDA含量(nmol/mgprot)	SOD活性(U/mgprot)
NC组	10	2.12 ± 0.08	120.20 ± 1.21
DM组	8	7.55 ± 0.27 <sup>a</sup>	48.18 ± 1.46 <sup>a</sup>
ZY组	10	2.82 ± 0.16 <sup>ac</sup>	73.66 ± 0.55 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs NC组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs DM组. NC: 对照组; DM: 模型组; ZY: 中药组. MDA: 丙二醛; SOD: 超氧化物歧化酶.

钝, 毛色晦暗无光泽. 实验期间, DM组大鼠死亡2只.

2.2 各组大鼠体质量和血糖的比较 与NC组相比, DM组与ZY组大鼠体质量明显下降(*P*<0.05); ZY组大鼠体质量与DM组相比没有变化(*P*>0.05). 与NC组相比, DM组与ZY组大鼠血糖水平明显升高(*P*<0.05); 与DM组相比, ZY组大鼠血糖下降(*P*<0.05)(表1).

2.3 各组大鼠胃排空率的比较 与NC组相比, DM组与ZY组的胃排空率明显下降(62.64%±4.51% vs 18.65%±4.30%, 26.84%±2.35%, *P*<0.05); 与DM组比较, ZY组胃排空率明显提高(18.65%±4.30% vs 26.84%±2.35%, *P*<0.05).

2.4 各组大鼠胃组织MDA含量、SOD活性的比较 与NC组对比, DM组和ZY组大鼠胃组织MDA含量明显升高, SOD活性明显降低(*P*<0.05); 与DM组相比, 益气养阴化瘀通络中药干预后的大鼠胃组织MDA含量显著降低, SOD活性显著升高(*P*<0.05)(表2).

2.5 各组大鼠胃平滑肌细胞凋亡的比较 NC组大鼠胃平滑肌层甚少见凋亡细胞; 与NC组相比, DM组及ZY组胃平滑肌凋亡细胞数目明显增多(0.28%±0.25% vs 10.84%±1.18%, 1.73%±0.09%, *P*<0.05), ZY组大鼠胃平滑肌细胞凋亡数量明显较DM组明显减少(1.73%±0.09% vs 10.84%±1.18%, *P*<0.05)(图1).

表 3 各组之间Bcl-2、Bax mRNA表达水平的比较 (mean ± SD)

分组	n	Bcl-2	Bax
NC组	10	1.65 ± 0.28	0.87 ± 0.83
DM组	8	0.59 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.96 ± 0.28 <sup>a</sup>
ZY组	10	1.10 ± 0.27 <sup>ac</sup>	1.13 ± 0.11 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs NC组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs DM组. NC: 对照组; DM: 模型组; ZY: 中药组.

2.6 各组大鼠胃组织Bcl-2、Bax基因表达影响与NC组对比, DM组大鼠胃组织Bcl-2基因表达明显降低, Bax基因表达明显升高(*P*<0.05); 与DM组相比, ZY组大鼠胃组织Bcl-2基因表达明显升高, Bax基因表达降低(*P*<0.05)(表3).

### 3 讨论

DGP的概念由Kassander于1958年首先提出, DGP是继发于糖尿病的慢性并发症之一, 以胃动力障碍和排空延迟为主要特征. 据最近报道, 27%-65%的1型糖尿病患者及约30%的2型糖尿病患者中出现胃排空延迟<sup>[8]</sup>, 多见于女性患者<sup>[9]</sup>. 其主要临床表现为早饱、餐后饱胀、反复呃逆、恶心、呕吐、厌食等症状.

目前医学研究认为DGP的发病主要与高血糖状态、自主神经功能失调、胃肠道激素紊乱、肠神经系统神经元减少、Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)、平滑肌病变及微循环障碍等因素相关. Brownlee<sup>[10]</sup>提出高糖诱导线粒体产生过多超氧化阴离子而发生氧化应激是糖尿病各种并发症的统一发生机制. 高血糖可使体内高活性分子如活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)和活性氮自由基(reactive nitrogen species, RNS)产生过多, 引发氧化应激, 氧化程度超过氧化物的清除, 导致DM时细胞生理功能失调, 进而引起组织损伤等<sup>[11]</sup>. 近年来研究发现氧化应激介导细胞凋亡在糖尿病肾病、糖尿病视网膜病变、糖尿病神经病变等多种糖尿病并发症的发生、发展中都发挥了重要作用. 但关于氧化应激和细胞凋亡在DGP发病中关系的研究甚少, 因此我们采用腹腔注射STZ的方法建立DGP大鼠模型, 探讨氧化应激及其诱导的细胞凋亡在DGP发病中的作用.

生物膜上的多不饱和脂肪酸受到堆积的ROS攻击, 发生脂质过氧化反应, 形成脂质过氧

### ■创新盘点

本文从益气养阴化瘀通络中药拮抗氧化应激, 抑制胃平滑肌细胞凋亡作用, 联系糖尿病胃轻瘫发病机制来探讨该组方治疗胃轻瘫的可能作用机制.

## ■应用要点

本文从益气养阴化痰通络中药降低氧化应激水平,抑制细胞凋亡方面,为临床应用中药物治疗糖尿病胃轻瘫提供新的理论依据。

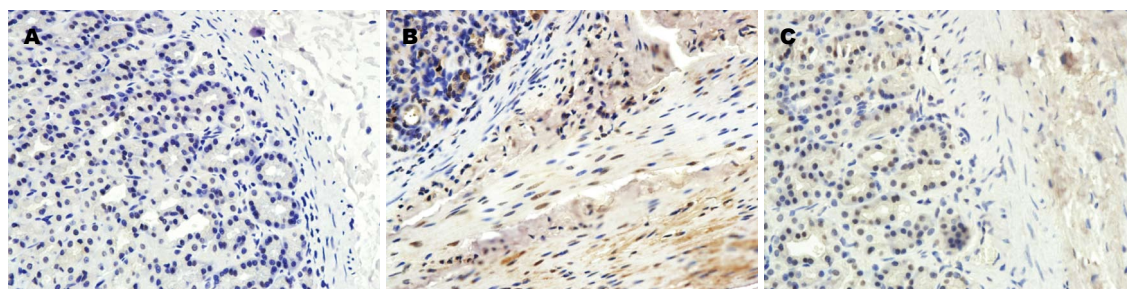


图1 胃平滑肌细胞凋亡(TUNEL × 400). A: 对照组; B: 模型组; C: 中药组.

化物如MDA, 他可使蛋白发生交联、变性, 同时MDA含量的变化也间接地反映了ROS含量的变化. 因此MDA常用来反应组织细胞脂质过氧化程度, 间接反应氧化损伤的程度<sup>[12]</sup>, 是反映氧化应激水平常用指标<sup>[13]</sup>. SOD是清除ROS的第一道防线. 超氧阴离子是激发自由基连锁反应的起始基, SOD可通过催化超氧阴离子歧化为H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 由GSH-PX或CAT将H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>转变为水, 从而清除超氧阴离子, 防止生物膜脂质过氧化反应, 减少MDA生成, 具有抗氧化应激作用. 因此, SOD是机体内抗氧化系统的重要组成部分<sup>[14]</sup>. SOD活性可反映机体抗氧化能力.

本研究显示, 与正常对照组大鼠相比, 模型组大鼠血糖水平明显高于正常对照组, 胃组织SOD活性明显降低, 而反应氧化应激水平的MDA含量明显增加, 说明在高糖诱导下DM大鼠机体内ROS的生成与被清除的动态平衡被打破, 氧化应激水平升高, 抗氧化能力下降. 同时随着氧化损伤的增加, 代表胃动力功能状态的胃排空率也随之发生改变, 模型组大鼠胃排空率较正常对照组大鼠显著降低. 这说明高糖诱导的高氧化应激水平严重影响了DM大鼠的胃动力功能状态.

糖尿病时在体内高血糖刺激下ROS大量堆积, 氧化应激水平升高, 则会通过生物膜脂质过氧化损伤、酶活性失活、蛋白质功能丧失, 影响细胞信号传导系统等不同途径, 诱导肾小管细胞<sup>[15]</sup>、心肌细胞<sup>[16]</sup>、血管内皮细胞<sup>[17]</sup>、视网膜细胞<sup>[18]</sup>等多种细胞凋亡. 本实验应用TUNEL检测模型组大鼠胃平滑肌细胞凋亡指数比正常对照组明显升高, 提示DGP大鼠胃平滑肌细胞凋亡明显增多, 这与文献研究结果一致<sup>[19]</sup>. 随着高糖诱导的氧化应激水平升高, 胃平滑肌细胞的凋亡数目增加, 正常功能的平滑肌细胞数目减少, 造成平滑肌损伤而影响胃肠动力功能正常运行, 引发胃排空延迟, 是DGP发病的重要原

因之一.

Bcl-2家族是调节细胞凋亡的中心环节, 他对维持组织正常发展和细胞内稳定有着重要意义<sup>[20]</sup>. Bcl-2为抑制凋亡基因, 调节线粒体膜通透性, 阻断氧化应激, 阻止细胞色素C从线粒体释放, 拮抗Bax、Bid等促凋亡基因. Bax蛋白具有促进细胞凋亡作用, 他与Bcl-2有21%的同源性, 不但拮抗Bcl-2基因抑制凋亡的作用, 而且可直接插入到线粒体膜中, 形成线粒体跨膜通道, 改变线粒体膜通透性, 降低跨膜电位, 释放细胞色素C入胞质而触发细胞凋亡. 本研究发现模型组大鼠胃组织中Bcl-2基因表达量较正常对照组明显降低, Bax基因表达量较正常对照组明显升高, 这表明DGP平滑肌细胞凋亡为Bcl-2与Bax所调控, 细胞内抗/促凋亡基因的平衡被打破, 从而诱导细胞凋亡. 由此可知, 糖尿病胃轻瘫大鼠胃组织氧化应激水平升高, 氧化应激诱导的胃平滑肌细胞凋亡增加可能是DGP发生、发展的中心环节.

中医学将糖尿病归属于中医“消渴病”范畴, 根据糖尿病胃轻瘫的主要临床表现, 将其归属于中医的“痞满”、“呕吐”、“胃痹”等范畴. 糖尿病胃轻瘫基本病机为消渴病日久, 耗气伤阴, 脾胃失于濡养, 健运失司, 脾胃虚弱不能受纳腐熟运化水谷, 饮食停滞, 久之湿邪痰浊内生, 中焦气滞, 脾气当升不升, 胃气当降不降, 则可见呃逆、呕吐、腹胀、腹泻等症. 现代中医认为消渴病程日久气阴两虚, 脾胃虚弱, 运化无力, 食积、痰湿、瘀血之邪阻滞, 日久癥积内生, 阻于胃络, 胃腑通降无力, 进而引起胃轻瘫, 为虚实夹杂之证.

根据糖尿病胃轻瘫病机以气阴两虚为本, 食积、痰湿、气滞、血瘀为标, 故创立益气养阴化痰通络法, 依法遣药组方, 临床取得良好疗效. 方中黄芪、熟地、鳖甲益气养阴, 茯苓、砂仁健脾祛湿化痰, 积雪草、丹参、大黄、地龙、水

蛭活血化瘀通络。诸药相合, 标本兼治, 共奏益气养阴化瘀通络之效。前期实验<sup>[3]</sup>证实该方可能通过降低胃泌素及胰高血糖素改善DGP大鼠胃动力。

本实验发现, 经益气养阴化瘀通络中药治疗6 wk, 中药组大鼠血糖水平明显低于模型组大鼠, 胃组织中SOD活性明显升高, MDA含量明显下降。随着血糖和氧化应激水平的下降, 代表胃动力功能的胃排空率也较模型组明显加快。本实验还发现, 益气养阴化瘀通络中药治疗后DGP大鼠胃平滑肌细胞的凋亡指数明显下降, 抗凋亡基因*Bcl-2*表达明显升高, 促凋亡基因*Bax*表达明显下降。这说明益气养阴化瘀通络中药可调节机体氧化应激水平, 抑制胃平滑肌细胞凋亡, 此可能为其治疗DGP的作用机制之一。

#### 4 参考文献

- 1 Watanabe K, Thandavarayan RA, Harima M, Sari FR, Gurusamy N, Veeraveedu PT, Mito S, Arozal W, Sukumaran V, Lakshmanan AP, Soetikno V, Kodama M, Aizawa Y. Role of differential signaling pathways and oxidative stress in diabetic cardiomyopathy. *Curr Cardiol Rev* 2010; 6: 280-290 [PMID: 22043204 DOI: 10.2174/157340310793566145]
- 2 张喆, 朱宁, 刘莉, 孙贺英, 张永强, 刘兰瑞, 冯建军. 牛磺酸对实验性DM大鼠心脏保护作用的研究. *山东医药* 2012; 52: 8-10
- 3 孙玉凤, 陈志强, 张江华, 赵雯红, 王会青, 裴国超, 尹志伟, 王月华, 刘晓冉, 李玉梅. 益气养阴消癥通络中药对糖尿病肾病大鼠胃动力障碍的干预作用. *中草药* 2010; 41: 269-271
- 4 李慧, 魏兰福, 沈明勤, 王志刚, 张伟, 夏军权. 养阴和胃法和益气健脾法对糖尿病胃轻瘫大鼠胃动力及Cajal间质细胞影响的比较研究. *中国中西医结合消化杂志* 2013; 21: 116-119
- 5 张玉, 孙玉凤, 郭沛然, 何莉莉, 任荣, 朱雅娜. 活血化瘀通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠胃排空率及胃促生长素的影响. *河北中医* 2013; 35: 590-592
- 6 陈俊, 赵映前, 肖万泽. 糖胃康对糖尿病胃轻瘫大鼠胃窦SCF-Kit信号途径影响的实验. *湖南中医学院学报* 2010; 12: 13-15
- 7 Belicza M. [Evaluation of morphologically determined apoptotic index]. *Acta Med Croatica* 2009; 63 Suppl 2: 3-12 [PMID: 19999540]
- 8 Parkman HP, Yates K, Hasler WL, Nguyen L, Pasricha PJ, Snape WJ, Farrugia G, Koch KL, Calles J, Abell TL, McCallum RW, Lee L, Unalp-Arida A, Tonascia J, Hamilton F. Similarities and differences between diabetic and idiopathic gastroparesis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 1056-1064; quiz 1056-1064 [PMID: 21871247 DOI: 10.1016/j.jcgh.2011.08.013]
- 9 Rayner CK, Samsom M, Jones KL, Horowitz M. Relationships of upper gastrointestinal motor and sensory function with glycemic control. *Diabetes Care* 2001; 24: 371-381 [PMID: 11213895 DOI: 10.2337/diacare.24.2.371]
- 10 Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 2005; 54: 1615-1625 [PMID: 15919781 DOI: 10.2337/diabetes.54.6.1615]
- 11 Bonakdaran S, Hami M, Shakeri MT. Hyperuricemia and albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus. *Iran J Kidney Dis* 2011; 5: 21-24 [PMID: 21189429]
- 12 Stentz FB, Umpierrez GE, Cuervo R, Kitabchi AE. Proinflammatory cytokines, markers of cardiovascular risks, oxidative stress, and lipid peroxidation in patients with hyperglycemic crises. *Diabetes* 2004; 53: 2079-2086 [PMID: 15277389 DOI: 10.2337/diabetes.53.8.2079]
- 13 Nucci C, Di Pierro D, Varesi C, Ciuffoletti E, Russo R, Gentile R, Cedrone C, Pinazo Duran MD, Coletta M, Mancino R. Increased malondialdehyde concentration and reduced total antioxidant capacity in aqueous humor and blood samples from patients with glaucoma. *Mol Vis* 2013; 19: 1841-1846 [PMID: 23946639]
- 14 Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15: 1583-1606 [PMID: 21473702 DOI: 10.1089/ars.2011.3999]
- 15 Sun L, Xiao L, Nie J, Liu FY, Ling GH, Zhu XJ, Tang WB, Chen WC, Xia YC, Zhan M, Ma MM, Peng YM, Liu H, Liu YH, Kanwar YS. p66Shc mediates high-glucose and angiotensin II-induced oxidative stress renal tubular injury via mitochondrial-dependent apoptotic pathway. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 299: F1014-F1025 [PMID: 20739391 DOI: 10.1152/ajprenal.00414.2010]
- 16 Rajesh M, Mukhopadhyay P, Bátkai S, Patel V, Saito K, Matsumoto S, Kashiwaya Y, Horváth B, Mukhopadhyay B, Becker L, Haskó G, Liaudet L, Wink DA, Veves A, Mechoulam R, Pacher P. Cannabidiol attenuates cardiac dysfunction, oxidative stress, fibrosis, and inflammatory and cell death signaling pathways in diabetic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2010; 56: 2115-2125 [PMID: 21144973 DOI: 10.1016/j.jacc.2010.07.033]
- 17 Szabo C. Role of nitrosative stress in the pathogenesis of diabetic vascular dysfunction. *Br J Pharmacol* 2009; 156: 713-727 [PMID: 19210748 DOI: 10.1111/j.1476-5381.2008.00086.x]
- 18 Al-Shabrawey M, Smith S. Prediction of diabetic retinopathy: role of oxidative stress and relevance of apoptotic biomarkers. *EPMA J* 2010; 1: 56-72 [PMID: 23199041 DOI: 10.1007/s13167-010-0002-9]
- 19 赵宏贤, 陈霞. 糖尿病大鼠胃平滑肌细胞凋亡与线粒体膜电位改变. *基础医学与临床* 2009; 29: 1083-1086
- 20 Bajwa N, Liao C, Nikolovska-Coleska Z. Inhibitors of the anti-apoptotic Bcl-2 proteins: a patent review. *Expert Opin Ther Pat* 2012; 22: 37-55 [PMID: 22195752 DOI: 10.1517/13543776.2012.644274]

#### ■同行评价

本研究有一定的临床意义, 设计合理, 统计学方法应用得当, 结论可信, 讨论全面。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 哈萨克族食管癌与ABO血型的相关性

张皓, 封婷, 唐婧, 齐海

## ■背景资料

食管癌是常见的消化系统恶性肿瘤, 在我国新疆地区, 哈萨克族是该病的高发人群。对于该病的研究, 多数文献报道了本病与哈萨克民族的饮食习惯、生活环境有关, 在遗传学方面报道较少。

张皓, 齐海, 新疆医科大学第二附属医院胸心外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830063

封婷, 新疆医科大学第一附属医院影像中心 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

唐婧, 新疆医科大学第一附属医院检验科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

张皓, 在读硕士, 主要从事胸心疾病的基础与临床研究。

作者贡献分布: 此课题由张皓设计; 研究过程中资料收集、整理由张皓、封婷及唐婧共同完成; 数据分析由张皓与封婷共同完成, 论文写作由张皓完成; 齐海审核。

通讯作者: 齐海, 教授, 主任医师, 博士生导师, 830063, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市南湖东路北二巷38号, 新疆医科大学第二附属医院胸心外科。cxju\_qh@126.com

电话: 0991-4695472

收稿日期: 2014-02-24 修回日期: 2014-03-21

接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-08

## Correlation between esophageal cancer and ABO blood groups in the Kazakh population

Hao Zhang, Ting Feng, Jing Tang, Hai Qi

Hao Zhang, Hai Qi, Department of Cardiothoracic Surgery, Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830063, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Ting Feng, Imaging Center, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Jing Tang, Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Hai Qi, Professor, Chief Physician, Department of Cardiothoracic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 38 Beierxian, Nanhu East Road, Urumqi 830063, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. cxju\_qh@126.com

Received: 2014-02-24 Revised: 2014-03-21

Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To investigate whether there is a correlation between esophageal cancer and ABO blood groups in the Kazakh population, and to discuss the risk factors for this malignancy.

**METHODS:** Five hundred and one Kazakh patients treated at the First Affiliated Hospital and the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, and 1088 healthy controls were included in this study. The blood group distribution of the two groups was compared using the chi square test, and correlations between esophageal cancer and blood group antigens/antibodies were investigated by relative risk analysis.

**RESULTS:** In the case group, the blood group distribution was: A > O > B > AB; in the control group, the distribution was: O > A > B > AB. There was no statistical difference in blood group distribution between the two groups ( $P > 0.05$ ). Susceptibility to esophageal cancer was correlated with blood type A (RR = 1.336, 95%CI: 1.031-1.732,  $P < 0.05$ ), but not with the other three types ( $P > 0.05$  for all). The presence of anti-A antibody (groups B and O) had a significant correlation with susceptibility to esophageal cancer ( $P < 0.05$ ), but after excluding the confounding factors, the difference was not statistically significant ( $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Esophageal cancer risk is associated with blood type A, and the risk of esophageal cancer in persons with blood type A is 1.336 times that in those with other blood types. The presence of anti-A antibody may reduce the risk of esophageal cancer, but this finding needs to be further confirmed.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Esophageal; ABO blood group; Kazakh; Correlation

Zhang H, Feng T, Tang J, Qi H. Correlation between esophageal cancer and ABO blood groups in the Kazakh population. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1854-1857 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1854.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1854>

## 摘要

**目的:** 研究哈萨克族食管癌与ABO血型是否具有相关性, 进而在遗传学方面对该病的危险因素进行初步的探讨。

**方法:** 收集新疆医科大学第一附属医院、第

## ■同行评议者

郭炜, 教授, 河北医科大学第四医院河北省肿瘤研究所病理研究室

二附属医院501例哈萨克族食管癌的血型资料, 与对照组1088例进行比较, 用卡方检验分析两组血型分布的差异性, 用相对危险度分析两组血型抗原、抗体的相关性。

**结果:** 病例组501例患者血型构成比为: A>O>B>AB; 对照组1088例血型构成比为: O>A>B>AB, 经过卡方检验, 病例组与对照组的血型分布无统计学差异( $P>0.05$ )。哈萨克族食管癌患者的易感性与A型血具有相关性(RR = 1.336, 95%CI: 1.031-1.732,  $P<0.05$ ), 其余三型均无相关性( $P>0.05$ )。血浆内含有抗A抗体的血型(B型和O型)有统计学意义( $P<0.05$ ), 但排除混杂因素后, 均无统计学差异( $P>0.05$ )。

**结论:** 哈萨克族食管癌的发病风险与A型血具有相关性, A型血患食管癌的风险是其他血型的1.336倍。体内含有抗A抗体可能降低患食管癌的风险, 但血型抗体与肿瘤的关系有待于进一步研究分析。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 食管癌; ABO血型; 哈萨克族; 相关性

**核心提示:** 在我国新疆地区, 哈萨克族是食管癌的高发人群。本研究发现, 哈萨克族食管癌与A型血具有相关性, 体内含有Anti-A抗体可能降低患食管癌的风险, 但需进一步证实。研究哈萨克族血型与食管癌的关系可以为今后预判食管癌的发生提供一定的帮助。

张皓, 封婷, 唐婧, 齐海. 哈萨克族食管癌与ABO血型的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1854-1857 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1854.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1854>

## 0 引言

血型是一种遗传标志物, 具有稳定的遗传特征。临床上最常用且有意义的是ABO血型系统。目前认为, 肿瘤的发生发展是一些编码细胞增殖、分化、凋亡调控信号以及DNA损伤修复蛋白的基因发生改变, 导致细胞增殖调控失衡的结果<sup>[1]</sup>。这些基因的改变有的来自于遗传, 有的是基因与环境相互作用所致<sup>[1]</sup>。多数研究报道, ABO血型与恶性肿瘤的发生有一定的相关性, 但无确切结论。在我国新疆地区, 哈萨克族是食管癌的高发人群, 目前关于该病与哈萨克族血型分布及相关性的研究报道甚少。为了了解其特征, 本文收集了501例哈萨克族食管癌血型资

料, 进行统计学分析, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 病例组选择2008-01/2013-12新疆医科大学第一附属医院、第二附属医院经影像学检查及手术后病理诊断为食管癌的哈萨克族住院患者501例, 其中男性313例, 女性188例, 年龄为42-74岁, 病变位于食管中段298例, 下段203例, 病理类型鳞癌478例, 腺癌23例。对照组选用文献杜文阁等<sup>[2]</sup>报道的新疆地区哈萨克族ABO血型分布资料, 研究对象为无偿献血、年龄在20-50岁及体检合格的人员共1088名, 具有很好的代表性。

**1.2 方法** 回顾性分析经影像学诊断符合食管癌且经胃镜或手术后病理证实的哈萨克族患者的血型资料。排除标准: 有手术禁忌症的患者、行手术治疗但术后病理资料缺失的患者以及临床上考虑食管癌但无病理资料的患者。统一采用全自动血型配血分析系统进行血型检测, 如血型无法确定, 则采用玻片法测定。

**统计学处理** 运用SPSS17.0软件对该资料进行统计学处理。病例组与对照组的血型分布情况用 $\chi^2$ 检验分析其构成比的差异性。ABO血型抗原、血型抗体与食管癌的相关性用相对危险度(relative risk, RR)表示。检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 哈萨克族食管癌与正常人群血型分布** 病例组中, A型血183例, 占36.53%; B型血126例, 占25.15%; AB型血34例, 占6.79%; O型血158例, 占31.54%; 血型构成比为: A>O>B>AB; 对照组中, A型血325例, 占29.87%; B型血300例, 占27.57%; AB型血88例, 占8.09%; O型血375例, 占34.47%; 血型构成比为: O>A>B>AB。经过卡方检验, 食管癌血型分布(501例)与正常人群血型分布(1088例)无统计学差异( $P>0.05$ )(表1), 表明病例组与对照组来自于同一总体。

**2.2 ABO血型抗原与食管癌的相关性** 血型中含有A抗原的为A和AB型; 含有B抗原的为: B和AB型; O型血既不含A抗原, 也不含B抗原。经过统计分析, 我们发现A抗原与食管癌的相关性具有统计学意义( $P<0.05$ )(表2); 说明血型中含有A抗原的人群患食管癌的风险是血型中不含A抗原的1.249倍。由于AB型血既含有A抗原, 又含有B抗原, 而B抗原与食管癌的相关性无统计学意义( $P>0.05$ )(表

**■研发前沿**  
哈萨克族食管癌与ABO血型的相关性需要进一步增加更大的样本量, 进行多方面的研究、探索。

**■相关报道**  
目前暂无哈萨克族食管癌与血型的相关报道。

## ■创新盘点

目前多数研究报告哈萨克族食管癌发病的危险因素主要集中在生活习惯及环境影响方面,通过本次研究,我们对哈萨克族食管癌发病的危险因素在遗传方面进行了初步的探讨。

表 1 病例组与对照组的血型分布

血型	病例组		对照组		$\chi^2$	P值
	n	构成比(%)	n	构成比(%)		
A	183	36.53	325	29.87	3.538	0.060
B	126	25.15	300	27.57	0.597	0.440
AB	34	6.79	88	8.09	0.706	0.401
O	158	31.54	375	34.47	0.663	0.416
合计	501	100.00	1088	100.00	7.140	0.068

表 2 血型抗原与食管癌的相关性 (A)

血型	抗原	RR	95%CI	$\chi^2$	P值
A	A	1.249	1.007–1.548	4.109	0.043
B	B	0.847	0.676–1.060	2.107	0.147
AB	A和B	0.876	0.699–1.098	1.321	0.250
O	无	0.827	0.549–1.248	0.820	0.365

表 3 血型抗原与食管癌的相关性 (B)

血型	RR	95%CI	$\chi^2$	P值
A/O	1.336	1.031–1.732	4.807	0.028
B/O	0.997	0.754–1.318	0.000	0.982
AB/O	0.917	0.592–1.420	0.151	0.698

2), 我们排除AB型血的混杂因素后发现: A型血与食管癌的相关性有统计学意义( $P<0.05$ )(表3), 表明A型血的人群患食管癌的风险是其他血型的1.336倍。综合分析我们认为, 哈萨克族食管癌患者的易感性与A型血具有相关性。

**2.3 ABO血型抗体与食管癌的相关性** 血浆中含有Anti-A抗体的是: B型血和O型血, 含有Anti-B抗体的是: A型血和O型血, 既不含Anti-A抗体, 也不含Anti-B抗体的是AB型血。经过卡方检验, 我们发现血浆中含有Anti-A抗体与食管癌的相关性具有统计学意义( $P<0.05$ )(表4), 表明血浆中含有抗A抗体的人群患食管癌的风险较低。由于O型血的血浆中既含有Anti-A抗体, 也含有Anti-B抗体, 而血浆中含有Anti-B抗体与食管癌的相关性无统计学意义( $P>0.05$ )(表4), 我们排除O型血的混杂因素后发现, 无论血浆中含有Anti-A抗体还是Anti-B抗体, 均无统计学意义( $P>0.05$ )(表5)。表明B型血和O型血血浆中含有的抗体可能具有协同作用, 必须结合起来才能降低患食管癌的风险, 这可能提示我们, 这两种血型的血浆中可能含有其他针对ABO血型的抗体。综合分析, 我们

表 4 血型抗体与食管癌的相关性 (A)

血型	抗体	RR	95%CI	$\chi^2$	P值
A	Anti-B	1.181	0.943–1.480	2.107	0.147
B	Anti-A	0.801	0.646–0.993	4.109	0.043
AB	无	0.827	0.549–1.248	0.820	0.365
O	Anti-AB	0.876	0.699–1.098	1.321	0.250

表 5 血型抗体与食管癌的相关性 (B)

血型	RR	95%CI	$\chi^2$	P值
A/AB	1.457	0.943–2.252	2.897	0.089
B/AB	1.087	0.695–1.700	0.134	0.714
O/AB	1.091	0.704–1.689	0.151	0.698

认为: 血浆中含有抗A抗体可能具有降低患食管癌的风险, 但有待于进一步研究。

## 3 讨论

食管癌是我国常见的恶性肿瘤, 其发生与性别、年龄、种族有关。大多数食管癌患者年龄在55-59岁, 较少在35岁以下的青年人中发生, 70岁以后发病率逐渐降低, 男性患者多于女性患者<sup>[3]</sup>。降低食管癌发病率、死亡率的有效途径就是加强预防, 提高风险预报<sup>[4]</sup>。ABO血型是临床以及生物学、遗传学和人类学等多个学科领域应用最为广泛的血型系统, 在人类的遗传学领域中起着重要的作用<sup>[5,6]</sup>。1953年第1次有报道血型抗原A与胃癌发病相关, 1960年已有ABO血型与几种恶性肿瘤相关性的文献报道。20世纪90年代以来, ABO血型与疾病关系的探讨日益成为研究的热点<sup>[7]</sup>。Joh等<sup>[8]</sup>发现在妇女中, 非O型血比O型血患肾癌的风险高。李大鹏等<sup>[9]</sup>研究认为: 直肠癌的患病风险与B型血有显著相关性。

探讨ABO血型分布与食管癌发生的关系, 可为进一步研究遗传因素在食管癌的发生发展中所起的作用提供依据<sup>[5]</sup>。对于ABO血型与某些特殊疾病关系的机制还不清楚。许多文献报道肿瘤组织中血型抗原的表达与肿瘤的转移<sup>[10,11]</sup>和预后有关。刘忠等<sup>[12]</sup>研究认为: 河南食管癌高发区患者以B型血多见。哈萨克族食管癌是多因素的复杂性疾病, 是生活习惯、生活水平、地理因素、经济卫生及遗传因素等多方面的影响造成的<sup>[13]</sup>。目前暂未有国内外对哈萨克族食管癌与血型相关性的文献报道。本文参考了关于ABO血型与其他恶性肿瘤的相关文献, 对该民

## ■应用要点

研究哈萨克族血型与食管癌的关系可以为今后预判食管癌的发生提供一定的帮助。



族食管癌与血型的关系进行了初步的探讨, 发现: 哈萨克族食管癌与A型血具有相关性( $P = 0.028$ ), 血浆中含有抗A抗体可能具有降低患食管癌的风险( $P = 0.043$ ), 但结论的准确性有待进一步证实, 应该进一步增加更大的样本量, 进行多方面的研究、探索。由于对研究哈萨克族食管癌在遗传方面的文献甚少, 所以也导致了文章参考文献的局限性。本文对此进行了初步的探索, 为以后进一步研究打下一定的基础。目前相关学者认为血型与肿瘤存在一定关系, 原因可能为: 血型抗原的存在或丢失可能提高细胞的运动性, 或者使肿瘤细胞之间易于发生相互作用而种植到远处的器官<sup>[14]</sup>。ABO血型基因定位于9号染色体长臂, 该基因在许多肿瘤中都有改变<sup>[15-17]</sup>。因此ABO血型抗原的表达可能受肿瘤基因的改变所影响<sup>[12]</sup>。

现在遗传因素与食管癌的关系已被众多学者所关注。目前多数研究报道哈萨克族食管癌发病的危险因素主要集中在生活习惯及环境影响方面<sup>[18]</sup>。通过本次研究, 我们对哈萨克族食管癌发病的危险因素在遗传方面进行了初步的探讨。我们认为: 哈萨克族食管癌的发病风险与A型血具有相关性, A型血患食管癌的风险是非A型血的1.336倍。体内含有抗A抗体可能可以降低患食管癌的风险, 但有待于进一步研究探讨。

#### 4 参考文献

- 1 药立波, 冯作化, 周春燕. 医学分子生物学. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 140-140
- 2 杜文阁, 韩文权. 新疆伊犁地区不同民族无偿献血者ABO血型分布回顾性分析. 临床血液学杂志 2010; 23: 232-233
- 3 陈志峰, 丁镇伟, 张俊会, 李绍森, 乔翠云, 王继信. 食管癌高危人群年龄界定探讨. 河南肿瘤学杂志 2003; 16: 88-89
- 4 Yuen HF, Chan YP, Law S, Srivastava G, El-Tanani M, Mak TW, Chan KW. DJ-1 could predict worse prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 3593-3602 [PMID: 19064576 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0214]
- 5 宋昕, 王立东, 常志伟, 王苒, 刘忠, 李学民, 樊宇靖. 太行山食管癌高发区10561例食管/贲门癌患者ABO血型分布特征及体重指数. 河南医学研究 2008; 17: 97-101
- 6 李丽. 人类ABO血型探秘. 临床和实验医学杂志 2008; 7: 171-172
- 7 徐华, 张建耕, 邢荷, 檀英, 章扬培. ABO血型与疾病的研究进展. 中国输血杂志 2008; 21: 220-222
- 8 Joh HK, Cho E, Choueiri TK. ABO blood group and risk of renal cell cancer. *Cancer Epidemiol* 2012; 36: 528-532 [PMID: 22841339 DOI: 10.1016/j.canep.2012.07.001]
- 9 李大鹏, 赵立军, 吕春雷, 任红, 康俊升, 邱静梅, 李静. 直肠恶性肿瘤发生与ABO血型的相关性调查. 实用医药杂志 2013; 30: 629-630
- 10 Lissowska J, Groves FD, Sobin LH, Fraumeni JF, Nasierowska-Guttmejer A, Radziszewski J, Regula J, Hsing AW, Zatonski W, Blot WJ, Chow WH. Family history and risk of stomach cancer in Warsaw, Poland. *Eur J Cancer Prev* 1999; 8: 223-227 [PMID: 10443951]
- 11 Spell DW, Jones DV, Harper WF, David Bessman J. The value of a complete blood count in predicting cancer of the colon. *Cancer Detect Prev* 2004; 28: 37-42 [PMID: 15041076]
- 12 刘忠, 何欣, 张彦霞, 李苹娟, 李琮宇, 郭涛, 王立东. 河南食管癌高发区ABO血型及血细胞分类计数与食管和贲门癌关系研究. 河南医学研究 2005; 14: 1-4
- 13 郭辉, 丁剑冰, 孙伟, 张彤. 新疆哈萨克族食管癌相关基因研究新进展. 基础医学与临床 2010; 30: 428-430
- 14 Nakagoe T, Nanashima A, Sawai T, Tuji T, Ohbatake M, Jibiki M, Yamaguchi H, Yasutake T, Ayabe H, Matuo T, Tagawa Y. Expression of blood group antigens A, B and H in carcinoma tissue correlates with a poor prognosis for colorectal cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000; 126: 375-382 [PMID: 10929759]
- 15 Le Pendu J, Marionneau S, Cailleau-Thomas A, Rocher J, Le Moullac-Vaidye B, Clément M. ABH and Lewis histo-blood group antigens in cancer. *APMIS* 2001; 109: 9-31 [PMID: 11297197]
- 16 Hu N, Roth MJ, Polymeropolous M, Tang ZZ, Emmert-Buck MR, Wang QH, Goldstein AM, Feng SS, Dawsey SM, Ding T, Zhuang ZP, Han XY, Ried T, Giffen C, Taylor PR. Identification of novel regions of allelic loss from a genomewide scan of esophageal squamous-cell carcinoma in a high-risk Chinese population. *Genes Chromosomes Cancer* 2000; 27: 217-228 [PMID: 10679910]
- 17 Pack SD, Karkera JD, Zhuang Z, Pak ED, Balan KV, Hwu P, Park WS, Pham T, Ault DO, Glaser M, Liotta L, Detera-Wadleigh SD, Wadleigh RG. Molecular cytogenetic fingerprinting of esophageal squamous cell carcinoma by comparative genomic hybridization reveals a consistent pattern of chromosomal alterations. *Genes Chromosomes Cancer* 1999; 25: 160-168 [PMID: 10338000]
- 18 张慧霞, 陈艳, 尹东, 邓彦超, 马彦清, 居来提. 新疆哈萨克族食管癌危险因素探讨. 现代预防医学 2009; 36: 1804-1806

#### ■同行评价

该论文主要研究了哈萨克族食管癌与ABO血型之间的相关性, 初步结论为哈萨克族食管癌的发病风险与A型血具有相关性, 该论文有一定的科学意义及学术价值, 结论尚有待进一步的确定。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 经皮经肝穿刺肝内门体分流术联合胃冠状静脉栓塞治疗食管胃底静脉曲张

邓小军, 张宏文, 彭秀达, 孙鑫国, 段诗姣, 谢卫华, 刘琼

## ■背景资料

经颈静脉肝内门体分流术(transhepatic intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)联合胃冠状静脉栓塞作为治疗门静脉高压及其并发症的重要方法已在临床广泛应用。然而, 在一些特殊情况下, 经颈静脉入路的常规TIPS常难以完成或导致手术失败。而经皮经肝穿刺至肝内门静脉后, 再经门静脉逆向穿刺肝静脉或下腔静脉是否切实可行需要进一步探讨。

邓小军, 张宏文, 彭秀达, 孙鑫国, 段诗姣, 谢卫华, 刘琼, 南华大学附属南华医院介入科 湖南省衡阳市 421002

彭秀达, 南华大学附属南华医院普外科 湖南省衡阳市 421002

邓小军, 主治医师, 主要从事肝硬化门脉高压介入微创治疗研究。  
作者贡献分布: 邓小军与张宏文对此文所作贡献均等; 此课题由邓小军、张宏文及彭秀达设计; 研究过程由邓小军、张宏文及孙鑫国操作完成; 研究一般资料由段诗姣、谢卫华及刘琼收集整理; 数据分析由邓小军与孙鑫国完成; 本论文写作由邓小军、张宏文及彭秀达完成。

通讯作者: 邓小军, 主治医师, 421002, 湖南省衡阳市珠晖区东风南路336号, 南华大学附属南华医院介入科。

dxj0310@163.com

电话: 0734-8399041

收稿日期: 2014-01-29 修回日期: 2014-03-18

接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-05-08

## Percutaneous transhepatic intrahepatic portosystemic shunt plus embolotherapy for treatment of gastroesophageal varices

Xiao-Jun Deng, Hong-Wen Zhang, Xiu-Da Peng, Xin-Guo Sun, Shi-Jiao Duan, Wei-Hua Xie, Qiong Liu

Xiao-Jun Deng, Hong-Wen Zhang, Xiu-Da Peng, Xin-Guo Sun, Shi-Jiao Duan, Wei-Hua Xie, Qiong Liu, Department of Vascular Intervention, Affiliated Nanhua Hospital of Nanhua University, Hengyang 421002, Hunan Province, China

Xiu-Da Peng, Department of General Surgery, Affiliated Nanhua Hospital of Nanhua University, Hengyang 421002, Hunan Province, China

Correspondence to: Xiao-Jun Deng, Attending Physician, Department of Vascular Intervention, Affiliated Nanhua Hospital of Nanhua University, 336 Dongfeng South Road, Zhuhui District, Hengyang 421002, Hunan Province, China. dxj0310@163.com

Received: 2014-01-29 Revised: 2014-03-18

Accepted: 2014-03-31 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy of percutaneous transjugular intrahepatic portosystemic shunt (PTIPS) plus embolotherapy in the treatment of gastroesophageal varices.

**METHODS:** A total of 15 patients with gastroesophageal varices underwent PTIPS plus embo-

lotherapy from May 2009 to May 2012 at the Affiliated Nanhua Hospital of Nanhua University.

**RESULTS:** The technical success rate of PTIPS plus embolotherapy was 100%. The portal vein pressures declined from  $40.25 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 4.86 \text{ cmH}_2\text{O}$  ( $1 \text{ cmH}_2\text{O} = 0.098 \text{ kPa}$ ) preoperatively to  $24.79 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 5.21 \text{ cmH}_2\text{O}$ ,  $t = 20.324$ ,  $P < 0.01$  postoperatively. Angiography showed that gastroesophageal varices disappeared in all patients. Both liver function and gastroesophageal varices were markedly improved. During the follow-up period of 6-12 mo, 3 cases developed hepatic encephalopathy, 1 case developed stent restenosis and 1 case developed intercostal artery bleeding. Most cases recorded after treatment. No rebleeding occurred during the follow-up period.

**CONCLUSION:** PTIPS plus embolotherapy can effectively lower portal vein pressure and cure gastroesophageal variceal bleeding. PTIPS plus embolotherapy is safe and effective in the treatment of portal hypertension with exceptionally challenging anatomy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Portosystemic shunt; Embolism; Gastroesophageal varices; Interventional

Deng XJ, Zhang HW, Peng XD, Sun XG, Duan SJ, Xie WH, Liu Q. Percutaneous transhepatic intrahepatic portosystemic shunt plus embolotherapy for treatment of gastroesophageal varices. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1858-1862 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1858.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1858>

## 摘要

**目的:** 评估经皮经肝穿刺肝内门体分流术(percutaneous transhepatic intrahepatic portosystemic shunt, PTIPS) 联合胃冠状静脉栓塞术治疗食管胃底静脉曲张的疗效。

## ■同行评议者

何松, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

**方法:** 对我院2009-05/2012-5 15例肝硬化食管胃底静脉曲张患者行PTIPS联合胃冠状静脉 $\alpha$ -氰基丙烯酸(TH胶)栓塞术治疗。

**结果:** PTIPS联合胃冠状静脉栓塞术的技术成功率为100%, 术前门静脉压力 $40.25 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 4.86 \text{ cmH}_2\text{O}$  ( $1 \text{ cmH}_2\text{O} = 0.098 \text{ kPa}$ ) 降至 $24.79 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 5.21 \text{ cmH}_2\text{O}$ , ( $t = 20.324$ ,  $P < 0.01$ )。造影见食管胃底曲张静脉消失, 术后患者肝功能明显改善, 食管胃底静脉曲张程度明显减轻。随访6-12 mo, 其中3例患者术后出现肝性脑病, 经对症治疗后缓解, 1例患者术后出现分流道狭窄, 再次置入支架后狭窄再通, 1例出现肋间动脉损伤出血, 经栓塞后好转。随访期内无再次食管胃底静脉曲张破裂出血发生。

**结论:** PTIPS联合胃冠状静脉栓塞术能有效降低门静脉压, 控制并预防食管胃底静脉曲张破裂出血, 是常规经颈静脉肝内门体分流术的有效补充, 为门脉高压症患者的肝内门体分流提供了一种安全、有效的治疗方法, 具有重要的临床应用价值。

© 2014年版权归归世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 门体分流术; 栓塞; 食管和胃静脉曲张; 介入性

**核心提示:** 经皮经肝穿刺肝内门体分流术(percutaneous transhepatic intrahepatic portosystemic shunt)联合胃冠状静脉栓塞术能有效降低门静脉压, 控制并预防食管胃底静脉曲张破裂出血, 是常规经颈静脉肝内门体分流术的有效补充, 为门脉高压症患者的肝内门体分流提供了一种安全、有效的治疗方法, 具有重要的临床应用价值, 近期疗效比较满意。

邓小军, 张宏文, 彭秀达, 孙鑫国, 段诗姣, 谢卫华, 刘琼. 经皮经肝穿刺肝内门体分流术联合胃冠状静脉栓塞治疗食管胃底静脉曲张. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1858-1862 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1858.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1858>

## 0 引言

经颈静脉肝内门体分流术(transhepatic intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)联合胃冠状静脉栓塞作为治疗门静脉高压及其并发症的重要方法已在临床广泛应用, 并且疗效确切<sup>[1-4]</sup>。然而, 在一些特殊情况下, 如严重肝硬化导致肝脏明显变形、各种原因导致门静脉海绵样变等, 经

颈静脉入路的常规TIPS常难以完成或导致手术失败。而经皮经肝穿刺至肝内门静脉后, 经门静脉逆向穿刺肝静脉或下腔静脉切实可行<sup>[5-9]</sup>。我院2009-05/2012-05对15例肝硬化食管胃底静脉曲张患者行经皮经肝穿刺肝内门体分流术(percutaneous transhepatic intrahepatic portosystemic shunt, PTIPS)联合胃冠状静脉 $\alpha$ -氰基丙烯酸(TH胶)栓塞术治疗, 取得成功及良好的效果, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2009-05/2012-05, 南华大学附属南华医院15例门脉高压症患者采用PTIPS治疗, 男10例、女5例, 年龄36-71岁, 中位年龄53岁。14例经临床诊断为乙型肝炎肝硬化门静脉高压症, 其中10例临床表现为反复曲张静脉出血, 4例为难治性腹水; 1例临床诊断为酒精性肝硬化门静脉高压症, 反复曲张静脉出血。15例门脉高压症患者中10例合并门静脉血栓, 5例合并门静脉海绵状变性, 所有患者术前常规行上腹部CT增强扫描。

### 1.2 方法

**1.2.1 手术:** 术前根据患者上腹部CT资料确定门静脉穿刺路线及分流道穿刺路线。15例患者均选择右侧腋中线第8-10肋间隙进针, 穿刺门静脉右支。手术步骤: (1)穿刺门静脉。采用22 G Chiba穿刺针经皮经肝穿刺门静脉右支(图1A), 成功后置入5 F鞘管, 导丝引导下使导管经门静脉主干进入肠系膜上静脉或脾静脉行直接门静脉造影(图1B), 了解胃冠状静脉情况, 并测量术前门静脉压力, 门静脉海绵状变性的病例先开通门静脉; (2)胃冠状静脉栓塞。使用5 F导管行胃冠状静脉超选择插管, 注入TH胶行铸型栓塞(图1C), 栓塞后5 min测量门静脉压力; (3)送入安全导丝。经导管引入0.018 inch导丝于肠系膜上静脉或脾静脉内(图1E), 保留导丝防止鞘管脱出门静脉内; (4)穿刺肝静脉或下腔静脉。经5 F鞘管注入造影剂, 选定门静脉穿刺点, 然后选用塑型(前端弯曲30-40度)的20G、长20 cm的Chiba穿刺针, 在导丝辅助下沿鞘管送入门脉右支, 根据术前影像资料, 调整穿刺针方向, 从肝内门静脉向肝段下腔静脉(或肝静脉)穿刺(图1D), 成功后经穿刺针引入0.018 inch导丝至上腔静脉; (5)建立工作导丝。穿刺右侧颈内静脉, 成功后置入9 F长鞘管, 并将0.018 inch导丝经右颈静脉鞘管用抓捕器引出体外作为分流通道工作导丝(图1E); (6)球囊

## ■ 研发前沿

TIPS能缓解肝硬化所致的门脉高压症, 胃冠状静脉栓塞能栓塞异常的分流通路, 是目前肝硬化门脉高压研究的热点, 两者的结合势必有利于晚期门脉高压性消化系统出血的治疗。



## ■相关报道

据国内外文献报道,经皮肝穿刺门体分流术对改善门脉高压效果良好,特别适合一些合并门静脉血栓或海绵状变性的患者,在提高手术成功率及安全性等方面表现突出。

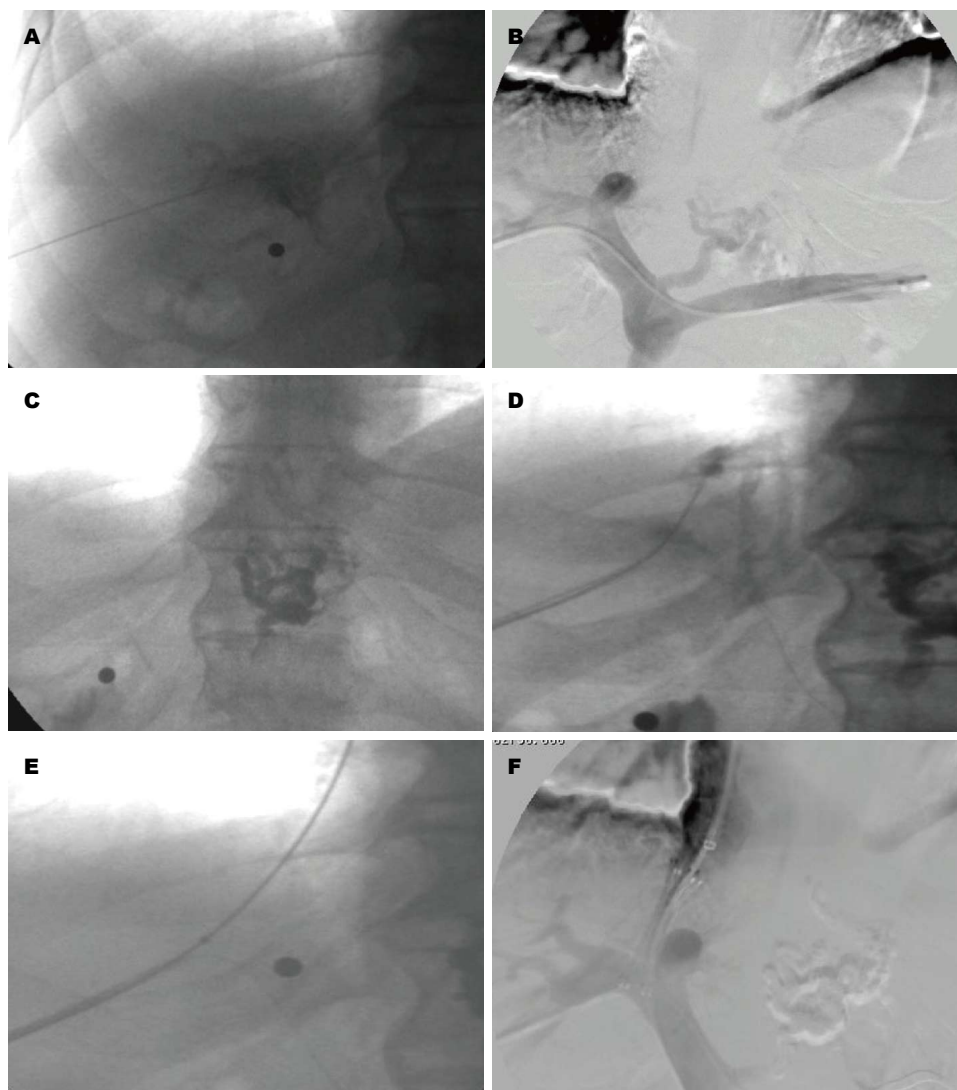


图1 经颈静脉肝内门体分流术联合胃冠状静脉栓塞手术过程。A: 穿刺门静脉右支; B: 行直接门静脉造影, 显示曲张的胃冠状静脉; C: TH胶铸型栓塞胃冠状静脉; D: 经门静脉直接穿刺肝静脉; E: 建立安全导丝及工作导丝; F: 支架植入后造影显示分流道通畅。

扩张, 沿第分流通导丝以直径3、6、8 mm球囊扩张肝实质分流道, 并测量分流道长度; (7) 支架置入。沿分流通导丝通过导管导丝交换技术交换成0.035 inch长硬导丝, 并经导丝置入直径为6-8 mm自膨胀式覆膜支架(BARD, 德国)(图1F), 再次行门静脉造影并测量术后门静脉压力; (8) 穿刺通道处理, 为预防穿刺道出血, 以明胶海绵栓塞穿刺道。

1.2.2 术后处理及随访: 为了防止支架内血栓形成, 术后常规抗凝治疗。术后前3 d给予低分子量肝素钙5000 U/Q 12 h皮下注射, 后改为长期服用华法林钠片至少6 mo, 华法林钠片剂量根据凝血功能结果调整, 控制国际标准比2.0左右。多参数监护仪监测生命体征24 h, 口服乳果糖通便, 预防肝性脑病。术后每隔1-3 mo进行彩超或CT检

查了解分流道通畅情况。

**统计学处理** 使用SPSS17.0软件包, 数据采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 对术前、术后门脉压力的改变采用配对 $t$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

15例患者PTIPS均获得成功。肝内分流道建立于门静脉右支与肝段下腔静脉之间5例, 门静脉右支与肝静脉之间10例, 术中共置入自膨式支架17枚(覆膜支架15枚, 裸支架2枚), 术后门静脉压力由术前 $40.25 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 4.86 \text{ cmH}_2\text{O}$ 降至 $24.79 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 5.21 \text{ cmH}_2\text{O}$ , 差异有统计学意义( $t = 20.324$ ,  $P < 0.01$ )。胃冠状静脉栓塞后即刻门静脉造影可见食管胃底曲张静脉消失。1 mo复查胃镜示静脉曲张缓解13例, 缓解率为86.7%, 静脉曲张

张消失者2例, 消失率为13.3%。1例肋间动脉损伤患者, 经肋间动脉栓塞后好转。3例出院后第3-35天出现肝性脑病(I-II期), 经精氨酸等对症治疗后恢复。4例难治性腹水患者, 3腹水症状消失, 1例术后腹水减少, 1 mo后患者腹胀症状加重, 复查上腹部CT提示支架肝静脉端闭塞, 再次置入直径8 mm, 长40 mm裸支架(BARD, 德国)1枚后患者腹水消失。所有患者随访期内无再次食管胃底静脉曲张破裂出血发生。

### 3 讨论

肝硬化门脉高压患者, 部分因严重肝硬化导致肝脏明显变形、各种原因导致门静脉海绵样变等特殊情况, 常规TIPS难度大。近年来, 国内外学者发明了不同方式的改良TIPS<sup>[10-15]</sup>, 本研究的PTIPS既可适用于普通门脉高压症患者, 也同样适用于严重肝硬化、门静脉血栓形成闭塞等复杂门脉高压患者。PTIPS技术两个关键点为经皮穿刺门静脉以及经门静脉穿刺肝静脉或下腔静脉。在具体操作中我们的体会是: (1)术前完整的影像学资料。了解门静脉、肝静脉及下腔静脉是否通畅、位置以及相互间的关系; (2)穿刺针的塑形。穿刺针头端弯曲角度由门静脉与下腔静脉(肝静脉)的空间关系确定, 可根据术前CT三维重建测量角度塑形, 一般的角度35-40度比较合适; (3)穿刺靶血管的选择。如果下腔静脉肝后段位于门静脉右支主干前方, 则优先选择穿刺下腔静脉肝后段, 如果下腔静脉肝后段位于门静脉右支主干后方, 则优先选择穿刺肝静脉; (4)放入定位标志。穿刺下腔静脉或肝静脉之前在肝静脉或下腔静脉肝后段放置导管定位, 有助于调高穿刺成功率, 降低穿刺次数; (5)对于门静脉海绵样变、主干血栓形成的患者, 可使用裸支架; (6)穿刺通道的处理。术后肝内穿刺通道使用明胶海绵条充填栓塞, 颈静脉穿刺伤口可局部缝合, 均有利于降低术后腹腔及颈部的出血。本方法的优点在于适用常规TIPS无法完成的复杂患者且穿刺针细, 且穿刺过程均在肝实质内完成, 手术所致腹腔出血等风险明显减低, 且治疗的疗效及治疗的费用与传统的TIPS无明显的差别。

本组结果显示PTIPS联合胃冠状静脉栓塞术能有效降低门静脉压, 控制并预防食管胃底静脉曲张破裂出血, 是常规经颈静脉肝内门体

分流术的有效补充, 为门脉高压症患者的肝内门体分流提供了一种安全、有效的治疗方法, 具有重要的临床应用价值, 近期疗效比较满意, 由于本研究病例较少, 且随访时间较短, 有待于进一步扩大病例数进行深入研究, 远期疗效有待进一步随访观察。

### 4 参考文献

- 1 徐克, 腾皋军. Abrams介入放射学. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 512-523
- 2 褚建国, 孙晓丽, 朴龙松, 黄鹤, 吕春燕, 徐家兴, 孙晓丽. 门静脉左支分流降低术后肝性脑病的临床研究. 中华肝脏病杂志 2002; 10: 437-440
- 3 张宏文, 阳学凤, 刘旭云, 邓小军, 邓梨平, 谢卫华, 段诗姣. 经皮经肝食管胃底曲张静脉栓塞术联合部分脾栓塞术治疗食管胃底静脉曲张出血. 中华肝脏病杂志 2010; 8: 626-627
- 4 黄茂涛, 曹亚玲, 冯早明, 季代金, 张文华, 史小英, 王平, 汤敏, 谭曦, 谢永祥, 赵睿婷. TIPS联合自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3275-3280
- 5 Corbett C, Murphy N, Olliff S, Mangat KS, Tripathi D. A case-control study of transjugular intrahepatic portosystemic stent shunts for patients admitted to intensive care following variceal bleeding. Eur J Gastroenterol Hepatol 2013; 25: 344-351 [PMID: 23354162 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32835aa414]
- 6 褚建国, 孙晓丽, 徐晓明, 陈学忠, 黄鹤, 朴龙松, 吕春燕, 杨淑惠. 经皮经肝门腔静脉分流术. 介入放射学杂志 2005; 14: 367-371
- 7 李常青, 许东海, 徐道振, 李洪璐, 褚建国, 李新民, 马铁, 井庆红. 门静脉穿刺造影改良经颈内静脉肝内门体分流术治疗门静脉高压上消化道出血. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 403-406
- 8 方主亭, 颜志平, 罗剑钧, 张雯, 吴林霖, 刘清欣, 瞿旭东, 王建华, 王小林, 刘凌晓. 门静脉海绵样变(CTPV)的介入治疗. 复旦学报(医学版) 2012; 39: 489-495
- 9 徐新保, 褚建国, 黄鹤, 张宏文, 刘承利, 肖梅, 张辉, 冯志强, 赵刚. 经颈内静脉肝内门体分流术与断流术治疗门脉高压食管胃底静脉曲张破裂出血的效果比较. 中华医学杂志 2012; 92: 2542-2545
- 10 Jourabchi N, McWilliams JP, Lee EW, Sauk S, Kee ST. TIPS Placement via Combined Transjugular and Transhepatic Approach for Cavernous Portal Vein Occlusion: Targeted Approach. Case Rep Radiol 2013; 2013: 635391 [PMID: 23401834]
- 11 李名安, 姜在波, 周斌, 钱结胜, 黄明声, 张有用, 邵硕, 单鸿. 经皮经肝穿刺肝内门体分流术的临床研究. 中华医学杂志 2012; 92: 2913-2917
- 12 韩国宏, 孟祥杰, 殷占新, 王建宏, 何创业, 梁洁, 郭学刚, 刘杰, 丁杰, 吴开春, 樊代明. 经颈内静脉肝内门腔分流术及联合经皮肝/脾穿刺途径治疗门静脉血栓和(或)海绵样变性. 中华医学杂志 2009; 89: 1549-1552
- 13 吴性江, 曹建民, 韩建明, 黎介寿. 经颈内静脉肝内门体分流术治疗肝静脉广泛闭塞型布加综合征. 中华外科杂志 2006; 44: 1029-1032
- 14 Hoppe H, Wang SL, Petersen BD. Intravascular US-guided direct intrahepatic portocaval shunt with an expanded polytetrafluoroethylene-covered stent-graft. Radiology 2008; 246: 306-314 [PMID: 18096542 DOI: 10.1148/radiol.2461062191]
- 15 张洪义, 冯志强, 李利, 吴迪, 朴龙松, 李志杰, 何晓

### ■创新盘点

PTIPS联合胃冠状静脉栓塞术治疗肝硬化食管胃底静脉曲张, 能有效降低门静脉压, 控制并预防食管胃底静脉曲张破裂出血, 特别适合一些合并门静脉血栓或海绵状变性的患者, 在提高手术成功率及安全性等方面具有很好的创意。

## ■同行评价

肝硬化门脉高压性消化系出血属临床难治性、急重症疾病,作者应用PTIPS联合胃冠状静脉栓塞的方法治疗,很有创新性,而且有效,值得报道。

军,张辉,徐新保,肖梅,张宏义. 经皮肝穿刺门静脉造影改良经颈内静脉肝内门体分流术治疗门静脉高压

急性上消化道出血23例. 中华临床医师杂志 2012; 6: 35-38

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 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%。



# 降钙素原在胃癌根治术患者术后院内细菌感染中的早期诊断价值

陆辉志, 徐 亮

陆辉志, 徐亮, 武汉市三医院重症医学科 湖北省武汉市 430060

陆辉志, 住院医师, 主要从事重症患者感染和营养支持的研究。  
作者贡献分布: 陆辉志负责论文撰写, 数据分析和文献审核; 徐亮负责论文的审阅和修改。

通讯作者: 徐亮, 副教授, 副主任医师, 430060, 湖北省武汉市武昌区彭刘杨路241号, 武汉市三医院重症医学科。

jimmy.xu@163.com

收稿日期: 2014-02-20 修回日期: 2014-03-21

接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## Value of procalcitonin in early diagnosis of bacterial infection in patients after radical resection for gastric cancer

Hui-Zhi Lu, Liang Xu

Hui-Zhi Lu, Liang Xu, Department of Critical Care Medicine, the Third Hospital of Wuhan, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Correspondence to: Liang Xu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Critical Care Medicine, the Third Hospital of Wuhan, 241 Pengliuyang Road, Wuchang District, Wuhan 430060, Hubei Province, China. jimmy.xu@163.com

Received: 2014-02-20 Revised: 2014-03-21

Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To determine the value of procalcitonin (PCT) in early diagnosis of bacterial infection in patients after radical resection for gastric cancer.

**METHODS:** A total of 86 consecutive patients with resectable gastric cancer were included from June 2007 to June 2012 in our intensive care unit. They were divided into either a non-infection group or an infection group according to microculture results. Plasma levels of PCT and C-reactive protein (CRP) were measured and compared between the two groups.

**RESULTS:** Postoperative values of PCT, CRP, white blood cell (WBC) count and neutrophilic granulocyte percentage were significantly higher in the infection group than in the non-infection group. When PCT > 0.5 ng/L was used as the

diagnostic basis for postoperative infection in gastric cancer, the sensitivity and specificity of PCT were superior to those of CRP and WBC count.

**CONCLUSION:** PCT is a good marker for identifying early bacterial infection in patients after radical resection for gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Procalcitonin; C-reactive protein; Gastric carcinoma; Surgical infection

Lu HZ, Xu L. Value of procalcitonin in early diagnosis of bacterial infection in patients after radical resection for gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1863-1866  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1863.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1863>

## 摘要

**目的:** 探讨降钙素原在胃癌根治术患者术后院内细菌感染早期诊断中的应用。

**方法:** 分析2007-06/2012-06重症监护病房收住的胃癌根治术患者86例, 根据微生物培养结果分为感染者和非感染者, 检测术后血清降钙素原(procalcitonin, PCT)和C反应蛋白(C reactive protein, CRP)。

**结果:** 在伴有感染时, 胃癌根治术患者血清PCT、CRP、白细胞计数、中性粒细胞百分比测定值具有明显升高。PCT>0.5 ng/L作为院内感染的诊断依据时, 其敏感度和特异度均优于CRP和白细胞计数。

**结论:** PCT是一个较好的外科感染的诊断指标, 能有效地发现早期细菌感染, 有助于早期发现院内感染高危患者。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 降钙素原; C反应蛋白; 胃癌; 外科感染

## ■背景资料

降钙素原(procalcitonin, PCT)作为降钙素(calcitonin, CT)的前体物, 在健康人群血清中几乎检测不到, 但当患者发生细菌感染时, PCT水平即明显升高, 目前作为临床一个细菌感染性疾病的诊断和鉴别诊断指标, 与细菌感染的传统诊断指标如白细胞计数、血沉、C反应蛋白、细菌培养等相比较, PCT检测具备较高的灵敏度和特异性。PCT尤其在细菌感染特别是脓毒症方面的诊断的特异性明显优于传统诊断指标。

## ■同行评议者

李君文, 研究员, 军事医学科学院卫生学环境医学研究所

## ■研究前沿

作为诊断感染的指标, WBC及分类计数是临床诊断和鉴别细菌感染的最常用指标, 其总数的升高和降低均可提示细菌感染, 但WBC总数易受精神、疾病等多种因素的影响, 对细菌感染的诊断, 其敏感度和特异性远不及PCT, 对于早发的院内感染特异性不高. 本文监测PCT浓度变化以评价其在胃癌根治术患者术后院内细菌感染中的早期诊断价值.

**核心提示:** 本文研究表明, 胃癌根治术患者在伴有感染时, 患者血清降钙素原(procalcitonin, PCT)、C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、白细胞计数、中性粒细胞百分比测定值具有明显升高. 但出现院内感染的患者术后第1天即出现PCT $>0.5$  ng/L, 并且PCT值的升高均较出现呼吸机相关性肺炎和切口感染出现的时间早, 而与发热出现的时间基本接近, PCT $>0.5$  ng/L作为院内感染的诊断依据时, 其敏感度和特异度均优于CRP和白细胞计数.

陆辉志, 徐亮. 降钙素原在胃癌根治术患者术后院内细菌感染中的早期诊断价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1863-1866  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1863.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1863>

## 0 引言

院内感染是外科手术患者术后的棘手问题, 感染早期临床症状不典型, 但一旦加重, 则进展迅速, 常常带来负面效应, 因此早期发现显得尤为重要. 降钙素原(procalcitonin, PCT)作为降钙素(calcitonin, CT)的前体物, 在健康人群血清中几乎检测不到, 但当患者发生细菌感染时, PCT水平即明显升高, 目前作为临床一个细菌感染性疾病的诊断和鉴别诊断指标. 为探讨PCT在胃癌手术患者术后院内感染早期诊断中的作用, 我们分析2007-2012年收治的胃癌手术患者86例, 进行PCT数据分析.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2007-06/2012-06在重症监护病房收住的胃癌根治术患者86例, 男51例、女35例, 年龄 $57.13 \pm 12.21$ 岁, 术后对每个患者测定并记录其体温、伤口情况, 进行胸部X光检查, 并抽血做PCT、C反应蛋白(C reactive protein, CRP)和白细胞(white blood cell, WBC)测定. 院内感染<sup>[1]</sup>定义为术后48 h出现发热, 出现呼吸机相关性肺炎, 手术I类伤口感染, 且所有阳性患者均有微生物学培养阳性. 排除甲状腺亢进、肾功能不全者.

**1.2 方法** 患者术后第1天、出现发热、呼吸机相关性肺炎以及切口感染时采集静脉血3-5 mL, 常温3200 r/min离心5 min, 留取血清置-20℃保存待测. PCT检测采用免疫化学发光法<sup>[2]</sup>, 利用Lumino发光仪. CRP检测采用免疫散射比浊法, 利用BN ProSpec全自动蛋白分析仪. 以术后3 d

炎症指标最高值统计数字. PCT $>0.5$  ng/L为血清PCT阳性; 以CRP $>10$  mg/L为阳性; WBC $>10 \times 10^9$ /L为阳性.

**统计学处理** 采用SPSS15.0统计软件进行统计分析, 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 组间比较采用 $t$ 检验; 计数资料率的比较采用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

86例胃癌根治术患者中, 感染组与非感染组的血清PCT、CRP、白细胞计数、中性粒细胞百分比测定值具有明显差异, 并有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1).

47例胃癌根治术术后判断感染患者中PCT $>0.5$  ng/L者38例, 阳性率为80.85%, 诊断符合率为89.53%; CRP $>10$  mg/L者32例, 阳性率为68.08%, 诊断符合率为48.36%(表2).

PCT、CRP、白细胞计数在预测胃癌术后患者院内感染的敏感度分别为80.85%、68.08%和42.55%; PCT、CRP、白细胞计数的特异度分别为100%、74.3%、84.61%. 和PCT比较, CRP、白细胞计数的敏感度和特异度明显降低( $P < 0.05$ )(表3).

PCT和CRP的曲线分析(图1)ROC曲线越靠近左上角, 则是错误最少的最佳阈值, 表明其诊断价值越大. PCT的曲线下面积是0.972, CRP的曲线下面积是0.67.

感染组中出现发热、呼吸机相关性肺炎及切口感染时的PCT值均大于术后第1天, 且PCT $>0.5$ 出现时间均比发生院内感染的时间较早(表4).

## 3 讨论

降钙素原来自于定位在第11号染色体上(11p, 4)的单拷贝基因, 转录后在甲状腺滤泡细胞粗面内质网翻译成前体降钙素原(preprocalcitonin)<sup>[3]</sup>. 降钙素原是一种无激素活性的糖蛋白, 是降钙素前肽物质. 在正常人的血清中含量甚微, 但在细菌感染急性期其含量可成百倍的增加, 所以临床上将测定PCT值的高低作为判断细菌感染程度及疗效的主要指标之一<sup>[4]</sup>. PCT在全身细菌感染患者血浆中浓度升高出现要比CRP及其他炎症因子较早, PCT在受到内毒素的刺激后4 h内就开始产生<sup>[5]</sup>, 而CRP则需要4-6 h<sup>[6]</sup>, 因此PCT能较早反应细菌感染, 且PCT在血浆中的半衰期短, 但不易被降解, 体内外稳定性好, 利

表 1 感染组与非感染组血清PCT、CRP、白细胞、中性粒细胞百分比测定值 (mean ± SD)

分组	n	PCT(ng/L)	CRP(mg/L)	白细胞( $\times 10^9/L$ )	中性粒细胞百分比(%)
感染组					
术后第1天	47	0.61 ± 0.34	43.67 ± 7.38	10.40 ± 4.81	83.2 ± 14.11
VAP	17	2.68 ± 0.49 <sup>a</sup>	84.02 ± 9.25	11.45 ± 5.24	92.45 ± 15.24
发热	20	1.65 ± 0.48 <sup>a</sup>	56.23 ± 5.89	14.57 ± 6.24	93.57 ± 14.28
切口感染	12	0.78 ± 0.29 <sup>a</sup>	42.51 ± 4.28	10.59 ± 4.25	81.59 ± 12.56
非感染组					
术后第1天	39	0.15 ± 0.17 <sup>a</sup>	8.93 ± 2.27 <sup>a</sup>	5.23 ± 1.52 <sup>a</sup>	55.47 ± 10.63 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 感染组. VAP: 呼吸机相关性肺炎; PCT: 血清降钙素原; CRP: C反应蛋白.

表 2 血清PCT、CRP在感染患者中检测阳性率比较

CRP	PCT		总计
	+	-	
+	29	3	32
-	9	6	15
总计	38	9	47

PCT: 血清降钙素原; CRP: C反应蛋白.

表 3 血清PCT、CRP、白细胞计数在胃癌院内感染患者检测敏感度和特异性比较(%)

阳性界值	PCT	CRP	白细胞
	>0.5 ng/L	>10 mg/L	>10 $\times 10^9/L$
敏感度	80.85	68.08 <sup>a</sup>	42.55 <sup>a</sup>
特异度	100	74.30 <sup>a</sup>	84.61 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs PCT. PCT: 血清降钙素原; CRP: C反应蛋白.

于检测.

CRP主要由肝脏合成, 是人血清中常见的非抗体性蛋白质, 具有激活补体系统和促进粒细胞及巨噬细胞的吞噬作用, 参与T淋巴细胞介导的免疫反应. 正常人血清中CRP含量非常低, 一般<10 mg/L, 当机体遭受细菌感染时, CRP的合成迅速增加, 因此, CRP是细菌感染的诊断参考指标<sup>[4]</sup>.

作为诊断感染的指标, WBC及分类计数是临床诊断和鉴别细菌感染的最常用指标, 总数的升高和降低均可提示细菌感染, 但在感染后其总数也可能处于正常范围内, 也有可能仅中性白细胞百分比的升高. 因此, 对收集的WBC数据进行统计学分析, 误差大, 准确性低, 所得的数据可靠性差, 提示细菌感染的作用弱. 又因

表 4 感染组病人PCT&gt;0.5 ng/L和出现院内感染时间比较

	PCT >0.5 ng/L	发热	呼吸机相关性肺炎	切口感染
出现时间(d)	1.26 ± 0.46	1.67 ± 0.78	3.45 ± 2.56 <sup>a</sup>	5.63 ± 3.32 <sup>a</sup>

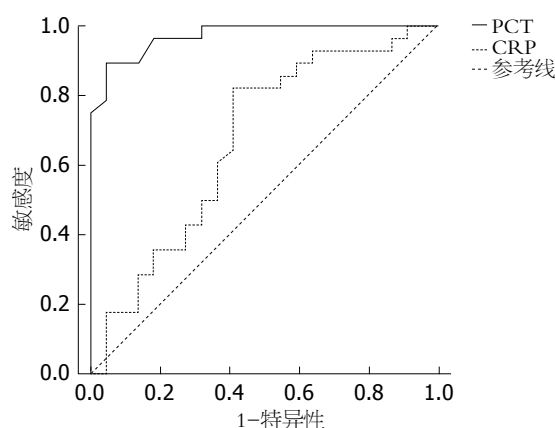
<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs PCT>0.5 ng/L.

图 1 PCT和CRP的ROC曲线. PCT: 血清降钙素原; CRP: C反应蛋白.

WBC总数易受精神、疾病等多种因素的影响, 对细菌感染的诊断, 其敏感度和特异性远不及PCT<sup>[7]</sup>.

PCT作为外科患者术后细菌感染的诊断指标已经有所研究, 但作为腹部手术后院内感染的诊断指标, 研究尚少, 本研究的结果表明, 胃癌根治术后感染组患者PCT、CRP、WBC及分类计数值明显高于非感染组, 和文献报道一致<sup>[8]</sup>, 而在早期诊断细菌感染方面, PCT的敏感性和特异性分别为80.85%、100%, 分别优于CRP, WBC的68.08%、74.3%和42.55%、84.61%, 通

## ■ 相关报道

有文献报道, PCT在细菌感染特别是脓毒血症和革兰阴性杆菌所引起的全身炎症反应时常有明显增高, 且其增高的幅度与感染的严重程度呈正相关. 外科手术后, 细菌、病毒感染所引起的局部感染, 能导致PCT、CRP、细胞因子等增高, 但当继发全身感染时, PCT呈明显增高, 而CRP、细胞因子等反而下降, 故CRP、细胞因子水平的变化与感染严重程度并不一致. 因此, 对于全身性的感染, PCT是一个更具特异性的指标, 结合CRP和PCT测定可使细菌感染的敏感性提高.



■同行评价  
本文具有一定临  
床指导意义。

过ROC曲线来比较PCT与CRP在胃癌术后感染上的诊断效果,结果显示PCT的曲线下面积为0.972,明显大于CRP的曲线下面积0.67,根据ROC曲线下面积在0.5以下,实验没有诊断价值;面积0.5-0.7,有较低的准确性;面积0.7-0.9,有一定准确性;面积>0.9则有较高的准确性,则提示PCT对胃癌术后感染的辅助诊断具有较高的灵敏度和特异性。以上结果验证了相关文献报道<sup>[9-11]</sup>,文献报道血清PCT可以指导抗生素的使用疗程,监测PCT水平有助于减少抗生素使用的时间而合理使用抗生素<sup>[12,13]</sup>,本研究还发现在出现院内感染的患者术后第1天就出现PCT>0.5 ng/L,说明细菌感染后刺激甲状腺滤泡细胞、肝脏细胞<sup>[5]</sup>及单核细胞<sup>[14,15]</sup>分泌降钙素原进入血液循环,并且PCT值的升高均较出现呼吸机相关性肺炎和切口感染出现的时间早,而与发热出现的时间基本接近,因此作者认为PCT可以作为胃癌手术患者术后院内感染的早期诊断指标,且当PCT>0.5 ng/L的,需要加强PCT监测,如PCT持续升高,则根据病情酌情选用抗生素,并积极观察手术切口,关注腹腔引流液的颜色和气味,既可避免PCT水平暂时升高而滥用抗生素,也可避免因延迟应用抗生素导致病情的加重。

总之,PCT可以用于胃癌手术患者术后院内细菌感染的早期诊断,因此,建议对PCT>0.5 ng/L的胃癌根治手术患者进行PCT动态监测,有助于早期发现院内感染高危患者,以提高患者的治愈率。

#### 4 参考文献

- 1 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行). 中华医学杂志 2001; 81: 314-320
- 2 张逸, 陈景连, 叶宇钊. 降钙素原在感染性疾病中的临床研究进展. 临床和实验医学杂志 2012; 1: 635-636
- 3 Whicher J, Bienvenu J, Monneret G. Procalcitonin as an acute phase marker. *Ann Clin Biochem* 2001; 38: 483-493 [DOI: 10.1177/000456320103800505]
- 4 侯喜琴, 戴淑惠, 黄朝阳, 黄宇. 降钙素原及CRP在外科感染早期诊断中的应用. *中国实用医药* 2010; 5: 35-36
- 5 Nijsten MW, Olinga P, The TH, de Vries EG, Koops HS, Groothuis GM, Limburg PC, ten Duis HJ, Moshage H, Hoekstra HJ, Bijzet J, Zwaveling JH. Procalcitonin behaves as a fast responding acute phase protein in vivo and in vitro. *Crit Care Med* 2000; 28: 458-461 [PMID: 10708183]
- 6 Enguix A, Rey C, Concha A, Medina A, Coto D, Diéguez MA. Comparison of procalcitonin with C-reactive protein and serum amyloid for the early diagnosis of bacterial sepsis in critically ill neonates and children. *Intensive Care Med* 2001; 27: 211-215 [PMID: 11280637]
- 7 何艳. 降钙素原与细菌感染相关性分析. *世界感染杂志* 2010; 10: 293-295
- 8 沈华, 马明洲, 秦海东, 张铮. 血清降钙素原对ICU危重患者感染早期诊断的临床价值. *医学研究生学报* 2008; 21: 1118-1121
- 9 邢豫宾, 戴路明. 血清降钙素原在早期诊断和监控脓毒症中的临床应用评价. *国际呼吸杂志* 2008; 28: 914-917
- 10 刘雪燕, 徐勇, 周知远, 陈怀生. 血清降钙素原预测危重患者院内感染的临床价值. *现代中西医结合杂志* 2010; 19: 1443-1445
- 11 王玉梅, 孙丽娟, 王善菊. 血清PCT和CRP对社区获得性肺炎的诊断价值. *放射免疫学杂志* 2011; 24: 447-449
- 12 Kristoffersen KB, Sogaard OS, Wejse C, Black FT, Greve T, Tarp B, Storgaard M, Sodemann M. Antibiotic treatment interruption of suspected lower respiratory tract infections based on a single procalcitonin measurement at hospital admission—a randomized trial. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15: 481-487 [PMID: 19416298]
- 13 Kopterides P, Siempos II, Tsangaris I, Tsantes A, Armaganidis A. Procalcitonin-guided algorithms of antibiotic therapy in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit Care Med* 2010; 38: 2229-2241 [PMID: 20729729]
- 14 Oberhoffer M, Stonans I, Russwurm S, Stonane E, Vogelsang H, Junker U, Jäger L, Reinhart K. Procalcitonin expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines in vitro. *J Lab Clin Med* 1999; 134: 49-55 [PMID: 10402059]
- 15 Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107: 363-369 [PMID: 12551853]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 幽门螺杆菌感染与胃癌化疗疗效的关系

王建旭, 张福林

王建旭, 张福林, 延安市人民医院 陕西省延安市 716000  
王建旭, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的诊治.  
作者贡献分布: 王建旭负责研究的具体实施和数据的整理、分析; 张福林负责研究的总体安排和结果的审核.  
通讯作者: 王建旭, 主治医师, 716000, 陕西省延安市七里铺, 延安市人民医院消化内科. wangjiankui001@126.com  
收稿日期: 2014-01-06 修回日期: 2014-02-06  
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## *Helicobacter pylori* infection and chemotherapy sensitivity in gastric cancer

Jian-Kui Wang, Fu-Lin Zhang

Jian-Kui Wang, Fu-Lin Zhang, Yan'an People's Hospital  
Yanan City, Yanan 716000, Shaanxi Province, China  
Correspondence to: Jian-Kui Wang, Attending Physician,  
Yan'an People's Hospital Yanan City, Qilipu, Yanan 716000,  
Shaanxi Province, China. wangjiankui001@126.com  
Received: 2014-01-06 Revised: 2014-02-06  
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

### Abstract

**AIM:** To investigate the relationship between *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and chemotherapy sensitivity in gastric cancer to provide a theoretical basis for *H. pylori* eradication therapy in gastric cancer patients undergoing chemotherapy.

**METHODS:** Two hundred and forty *H. pylori* positive patients with gastric cancer who did not undergo surgery for various reasons but received chemotherapy in recent five years at our hospital were included in this study. Based on whether to receive *H. pylori* eradication therapy, they were divided into an observation group and a control group. After two cycles of chemotherapy, they were evaluated to analyze the relationship between *H. pylori* infection and chemotherapy sensitivity.

**RESULTS:** The curative effect was significantly better in the observation group than in the control group. In the observation group, the curative effect was significantly better in the eradicated group than in the non-eradicated group. The

curative effect was better in the non-eradicated group than in the control group, but the difference was not statistically significant.

**CONCLUSION:** The eradication of *H. pylori* can improve chemotherapy sensitivity in patients with gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Gastric cancer; *Helicobacter pylori*; Chemotherapy; Curative effect

Wang JK, Zhang FL. *Helicobacter pylori* infection and chemotherapy sensitivity in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1867-1870 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1867.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1867>

### 摘要

**目的:** 探讨幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与胃癌化疗敏感性的关系, 为胃癌化疗患者是否要进行根除*H. pylori*治疗提供理论依据.

**方法:** 选取近5年我科被确诊为胃癌且由于各种原因未行手术治疗而选择化疗的*H. pylori*阳性患者240例, 根据是否给予根除*H. pylori*治疗将其分为观察组和对照组, 两个疗程之后对化疗疗效进行评定, 分析*H. pylori*与胃癌化疗敏感性的关系, 寻找其内在规律.

**结果:** 观察组疗效优于对照组, 差别有统计学意义; 观察组中虽经根除*H. pylori*治疗, 根除组与未被根除组比较, 疗效前者优于后者, 差别有统计学意义; 未被根除组与未给予根除组比较, 疗效后者优于前者, 但差别无统计学意义.

**结论:** 根除*H. pylori*可提高胃癌化疗的敏感性.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 胃癌; 幽门螺杆菌; 化疗; 疗效

### ■背景资料

胃癌对化疗的敏感性直接关系到患者的预后. 诸多研究表明幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与胃癌的发生密切相关且与其不良预后有关, 但*H. pylori*与胃癌化疗敏感性的关系国内外的文献报道很少, 故研究根除*H. pylori*与胃癌化疗敏感性的关系有一定的理论和实践意义.

### ■同行评议者

张小晋, 主任医师,  
北京积水潭医院

## ■研究前沿

对*H. pylori*阳性的患者进行根除*H. pylori*治疗可以提高其化疗疗效,与前述理论指导相吻合,故认为根除*H. pylori*可提高胃癌化疗的敏感性。

**核心提示:** 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)可以通过复杂的机制影响胃癌化疗的疗效,为本研究提供了理论依据。本研究表明对*H. pylori*阳性的患者进行根除*H. pylori*治疗可以提高其化疗疗效,与前述理论指导相吻合,故认为根除*H. pylori*可提高胃癌化疗的敏感性。但由于本研究样本量小,加之影响胃癌化疗敏感性的因素多、机制复杂,还需要更多、更深入的研究使本研究更具有说服力,进一步指导临床工作。

王建旭, 张福林. 幽门螺杆菌感染与胃癌化疗疗效的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1867-1870 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1867.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1867>

## 0 引言

胃癌约占胃恶性肿瘤的95%以上,其发生、发展是一个多步骤、多因素进行性发展的过程。在正常情况下胃黏膜的增殖和凋亡之间保持着动态平衡。这种平衡的维持有赖于癌基因、抑癌基因及一些生长因子的共同调控。这种平衡一旦破坏,使胃上皮细胞过度增殖又不能启动凋亡信号,则可能逐渐发展为胃癌<sup>[1]</sup>。化疗是胃癌综合治疗中不可缺少的重要组成部分,对于无法手术的晚期患者或者手术后的患者,辅助化疗均可在不同程度上延缓或者预防复发转移,延长患者的生存时间,已被广大的临床工作者和患者所接受<sup>[2,3]</sup>,故胃癌对化疗的敏感性直接关系到患者的预后。自1982年Barry J. Marshall和J. Robin Warren发现幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)以来<sup>[4]</sup>,诸多研究表明*H. pylori*与胃癌的发生密切相关且与其不良预后有关,但*H. pylori*与胃癌化疗敏感性的关系国内外的文献报道很少,故研究根除*H. pylori*与胃癌化疗敏感性的关系有一定的理论和实践意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取本院近5年被确诊为胃癌且由于各种原因未行手术治疗而选择化疗的*H. pylori*阳性患者240例,随机分为两组,每组120例,均给予化疗,在此基础上观察组给予根除*H. pylori*治疗,两个疗程后对疗效和*H. pylori*是否被根除进行复查,年龄40-87岁(平均63岁),以上病例均行胃镜检查并取活检,经两名有经验的病理医生确诊,同时行全腹部增强CT检查以明确病变分期。所有入选病例在就诊前无胃手术史,并除外其他上消化道器质性病变及其他器官严

表 1 两组临床病理特征之间的比较

临床病理特征	观察组	对照组	$\chi^2$	P值
性别			0.154	0.794
男	68	71		
女	52	49		
年龄(岁)			0.500	0.572
≥65	82	87		
<65	38	33		
组织学类型			0.729	0.570
腺癌	112	115		
其他	8	5		
分期			0.203	1.000
早期	3	2		
进展期	117	118		
分化程度			0.472	0.583
高、中分化	78	83		
低分化	42	37		

重病变者。各组在性别、年龄、肿瘤组织学类型、分化程度及分期构成上差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表1)。

## 1.2 方法

**1.2.1 化疗方案选:** 多西他赛75 mg/m<sup>2</sup>, ivd, 第1天, 氟脲嘧啶750 mg/m<sup>2</sup>, ivd, 第1-5天, 顺铂20 mg/m<sup>2</sup>, ivd, 第1-3天, 并于静点氟脲嘧啶前给予亚叶酸钙200 mg静点以提高前者的疗效, 以上方案情况3-4 wk重复1次。

**1.2.2 *H. pylori*感染的判定:** 用<sup>13</sup>C呼气试验和快速尿素酶试验两种方法进行, 均阳性才视为阳性, 复查时仅用<sup>13</sup>C呼气试验进行。

**1.2.3 根除*H. pylori*:** 雷贝拉唑肠溶胶囊+胶体果胶铋颗粒+阿莫西林胶囊+克拉霉素分散片, 对青霉素过敏者将阿莫西林胶囊改为左氧氟沙星胶囊, 以上药物剂量均按专家共识推荐剂量使用<sup>[5]</sup>, 疗程10 d。

**1.2.4 疗效判定:** 疗效评价根据体格检查、CT检查、肿瘤标志物(包括: 癌胚抗原、铁蛋白、CA19-9)等相关检查结果判断, 有效包括部分缓解(partial remission, PR)和完全缓解(complete remission, CR)。无效包括病变进展(disease progression, DP)和稳定(stable disease, SD)。完全缓解、部分缓解、进展、稳定的定义和判断标准均依据WHO实体瘤疗效评定标准<sup>[6]</sup>。PR: 所有可见病变完全消失并至少维持4 wk以上; PR: 肿瘤病灶的最大横径及其最大垂直径的乘积减少50%以上, 维持4 wk以上; MR: 肿瘤病灶的两径乘积缩小25%以上, 但<50%, 无新病灶出现; SD:



表 2 进行过根除且成功根除组与未进行根除组化疗疗效比较

<i>H. pylori</i> 根除情况	化疗疗效		合计	$\chi^2$	<i>P</i> 值
	有效	无效			
进行过根除且成功根除组	75	25	100	8.756	0.003
未进行根除组	67	53	120		
合计	142	78	220		

*H. pylori*: 幽门螺杆菌.

表 3 进行过根除且成功根除组与进行过根除但未成功根除组化疗疗效比较

<i>H. pylori</i> 根除情况	化疗疗效		合计	$\chi^2$	<i>P</i> 值
	有效	无效			
进行过根除且成功根除组	75	25	100	3.905	0.048
进行过根除但未成功根除组	10	10	20		
合计	85	35	120		

*H. pylori*: 幽门螺杆菌.

表 4 未进行根除组与进行过根除但未成功根除组化疗疗效比较

<i>H. pylori</i> 根除情况	化疗疗效		合计	$\chi^2$	<i>P</i> 值
	有效	无效			
未进行根除组	67	53	120	0.808	0.0159
进行过根除但未成功根除组	10	10	20		
合计	77	63	140		

*H. pylori*: 幽门螺杆菌.

肿瘤病灶两径乘积缩小<25%, 或增大<25%, 无新病灶出现; PD: 肿瘤病灶两径乘积增大>25%, 或出现新病灶. 有效例数 = CR例数+PR例数; 无效例数 = SD例数+PD例数.

**统计学处理** 应用SPSS19.0统计学软件进行卡方检验(对于样本量小于40或至少有一个格子的理论频数<5的情形进行卡方检验的连续性校正, 对于样本量<40而且有一个格子的理论频数小于5或者样本量<20的情形进行Fisher确切概率检验),  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

进行过根除且成功根除组化疗有效率为75.00%, 未进行根除组化疗有效率为55.83%, 组间比较有效率前者高于后者,  $P<0.05$ , 差别有统计学意义(表2).

进行过根除且成功根除组化疗有效率为

75.00%, 进行过根除但未成功根除组化疗有效率为50.00%, 组间比较有效率前者高于后者, 差别有统计学意义( $P<0.05$ )(表3).

未进行根除组化疗有效率为55.83%, 进行过根除但未成功根除组化疗有效率为50.00%, 组间比较有效率前者高于后者. 差别无统计学意义(表4).

## 3 讨论

胃癌是常见的恶性肿瘤之一, 其死亡率在我国居恶性肿瘤之首, 治疗方法有: 手术治疗、内镜下治疗、化学治疗、其他治疗, 化疗既可以用于辅助手术治疗, 在术前、术中、术后应用以抑制癌细胞扩散和杀灭残存的癌细胞, 又可以用于不适合手术的胃癌患者. 近年来由于化疗方案的改进使不少患者获益, 从而得到广泛的应用, 但胃癌化疗的疗效直接关系到患者的

### ■相关报道

Christina等发现, Shp2可以在胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)的作用下调控mTOR/S6K信号转导通路进而调控细胞生长. 又有研究表明IGF- I 受体表达的胃癌患者对FOLFOX4化疗不敏感. 5-FU能诱导细胞凋亡蛋白酶3的活化, 而IGF- I 作为IGF- I 受体的主要配体, 能与IGF- I 受体结合阻断5-FU诱导的细胞凋亡蛋白酶3的活化, 从而抑制肿瘤细胞的凋亡, 其血浆水平能有效反映以5-FU为基础的化疗效果.

## ■同行评价

本文研究了*H. pylori*感染与胃癌化疗疗效的关系,立题有意义,资料与方法基本合理,结论有一定临床参考意义。

生存期和生活质量。胃癌的确切病因尚未完全阐明,1994年WHO属下的国际癌肿研究机构将*H. pylori*列为引起胃癌的第I类致癌原<sup>[7]</sup>。之后国内外的许多学者研究认为*H. pylori*在胃癌的发生、发展过程中都起着重要作用,且与其不良预后有关。细胞毒素相关基因A(cytotoxin-associated gene A)蛋白被认为是*H. pylori*的主要致病因子<sup>[8-10]</sup>, Higashi等<sup>[11]</sup>发现,作为一种非穿膜型蛋白酪氨酸磷酸酶Shp2可以特异性地结合酪氨酸磷酸化的CagA,进而活化RAS等信号通路和启动细胞外信号转导通路,故Shp2介导的磷酸化效应被认为是CagA阳性的*H. pylori*促进胃癌发生的机制之一。Zito等<sup>[12]</sup>发现,Shp2可以在胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)的作用下调控mTOR/S6K信号转导通路进而调控细胞生长。又有研究表明IGF- I受体表达的胃癌患者对FOLFOX4化疗不敏感<sup>[13]</sup>。5-氟尿嘧啶(flourouracil, 5-FU)能诱导细胞凋亡蛋白酶3的活化,而IGF- I作为IGF- I受体的主要配体,能与IGF- I受体结合阻断5-FU诱导的细胞凋亡蛋白酶3的活化,从而抑制肿瘤细胞的凋亡<sup>[14]</sup>,其血浆水平能有效反映以5-FU为基础的化疗效果。Schwarze等<sup>[15]</sup>研究表明可以利用胃癌患者IGF-1R和MRP-1共同表达的水平来预测化疗的疗效和预后情况。

总之,*H. pylori*可以通过复杂的机制影响胃癌化疗的疗效,为本研究提供了理论依据。本研究表明对*H. pylori*阳性的患者进行根除*H. pylori*治疗可以提高其化疗疗效,与前述理论指导相吻合,故认为根除*H. pylori*可提高胃癌化疗的敏感性。但由于本研究样本量小,加之影响胃癌化疗敏感性的因素多、机制复杂,还需要更多、更深入的研究使本研究更具有说服力,进一步指导临床工作。

## 4 参考文献

- 1 陆再英,钟南山. 内科学. 第7版. 北京:人民卫生出版社,2008:396-401

- 2 李小平,郑磊贞. 含替吉奥联合化疗方案用于进展期胃癌的研究进展. 临床肿瘤学杂志 2009; 14: 1048-1051
- 3 Kobayashi Y, Sugitani S, Oseki K, Iiri T. [A case of meningeal carcinomatosis due to gastric cancer treated with intrathecal chemotherapy]. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi* 2011; 108: 1696-1704 [PMID: 21971143]
- 4 Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1994; 61: 1-241 [PMID: 7715068]
- 5 成虹,胡伏莲. “第三次全国幽门螺杆菌感染若干问题共识意见会议”纪要. 临床药物治疗杂志 2007; 5: 58-59
- 6 国家药典委员会. 临床用药须知(化学药和生物制品卷). 北京:人民卫生出版社,2005:674-674
- 7 王吉耀. 内科学. 第1版. 北京:人民卫生出版社,2005:431-435
- 8 汪强武,王启之,于东红,熊善军,周蕾,吴炎,田怡,承泽农. 幽门螺杆菌及其细胞毒素相关蛋白A与胃癌形成的关系及可能机制. 中国组织化学与细胞化学杂志 2013; 22: 260-265
- 9 黄志刚,段广才,唐焕文,胡利人,杜进林,潘海燕. 幽门螺杆菌cagA基因影响胃粘膜上皮细胞肿瘤相关蛋白表达. 中国公共卫生 2010; 26: 881-883
- 10 邢军明,黄志刚. 癌蛋白CagA、ERK信号通路胃癌关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3363-3368
- 11 Higashi H, Nakaya A, Tsutsumi R, Yokoyama K, Fujii Y, Ishikawa S, Higuchi M, Takahashi A, Kurashima Y, Teishikata Y, Tanaka S, Azuma T, Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* CagA induces Ras-independent morphogenetic response through SHP-2 recruitment and activation. *J Biol Chem* 2004; 279: 17205-17216 [PMID: 14963045]
- 12 Zito CI, Qin H, Blenis J, Bennett AM. SHP-2 regulates cell growth by controlling the mTOR/S6 kinase 1 pathway. *J Biol Chem* 2007; 282: 6946-6953 [PMID: 17229738]
- 13 Ge J, Chen Z, Wu S, Chen J, Li X, Li J, Yin J, Chen Z. Expression levels of insulin-like growth factor-1 and multidrug resistance-associated protein-1 indicate poor prognosis in patients with gastric cancer. *Digestion* 2009; 80: 148-158 [PMID: 19713703]
- 14 Trakul N, Rosner MR. Modulation of the MAP kinase signaling cascade by Raf kinase inhibitory protein. *Cell Res* 2005; 15: 19-23 [PMID: 15686621]
- 15 Schwarze CP, Neu S, Beck J, Mavridou K, Ranke MB, Binder G. Influence of IGF-I and cell density on MDR1 expression in the T-lymphoblastoid cell line CCRF-CEM. *Horm Res* 1999; 52: 192-199 [PMID: 10725785]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 血清前白蛋白结合Child-Pugh分级及MELD评分对肝硬化肝脏功能的评价

韦丽娅, 翟永贞, 冯国和

韦丽娅, 翟永贞, 冯国和, 中国医科大学附属盛京医院感染科 辽宁省沈阳市 110004

韦丽娅, 主要从事慢性肝病纤维化和肝硬化的基础和临床的研究。

作者贡献分布: 韦丽娅与冯国和对此文所作贡献均等; 此课题由冯国和设计; 研究过程由韦丽娅与翟永贞操作完成; 数据分析由韦丽娅与翟永贞完成; 本论文写作由韦丽娅与翟永贞完成; 冯国和负责修改审核。

通讯作者: 冯国和, 教授, 主任医师, 博士生导师, 110021, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院感染科, fenggh@sj-hospital.org

收稿日期: 2014-02-19 修回日期: 2014-03-23

接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## Serum prealbumin combined with Child-Pugh classification and MELD score for evaluation of liver function in patients with liver cirrhosis

Li-Ya Wei, Yong-Zhen Zhai, Guo-He Feng

Li-Ya Wei, Yong-Zhen Zhai, Guo-He Feng, Department of Infectious Diseases, Sheng Jing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China  
Correspondence to: Guo-He Feng, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Shengjing Hospital of China Medical University, 39 Huaxiang Road, Tiexi District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. fenggh@sj-hospital.org

Received: 2014-02-19 Revised: 2014-03-23

Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

### Abstract

**AIM:** To evaluate the clinical value of serum prealbumin (PA) in patients with liver cirrhosis.

**METHODS:** Three hundred and fifty-one patients diagnosed with cirrhosis at our hospital were retrospectively analyzed and followed for 1 year. Each patient's Child-Pugh classification and model for end-stage liver disease (MELD) score were calculated. Child-Pugh classification and MELD score were compared with serum PA combined with Child-Pugh classification and MELD score in evaluating liver function. Logistic regression analysis was used to evaluate survival at 1 year in patients with liver cirrhosis.

**RESULTS:** The patients were divided into three groups according to Child-Pugh classification: 111 patients in Child A group, 62 in Child B, and 178 in Child C. In the control group, Child A, Child B and Child C groups, serum PA levels were  $261.5 \pm 68.7$ ,  $152.6 \pm 62.7$ ,  $70.7 \pm 36.9$  and  $36.2 \pm 13.1$  mg/L, respectively, which had statistical differences among the four groups ( $P < 0.05$  for all). Of 31 postoperative patients in the Child A group, the mean preoperative serum PA in 24 patients without peritoneal dropsy was  $194.0$  mg/L  $\pm 56.1$  mg/L, and the value in 7 patients with peritoneal dropsy was  $123.1$  mg/L  $\pm 35.4$  mg/L ( $P < 0.05$ ). MELD scores were calculated in 240 patients in the Child B and Child C groups. Compared with MELD score alone, serum PA combined with MELD score was better in predicting survival at 1 year ( $\chi^2 - \chi_1^2 = 8.229 > 3.84$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Serum PA combined with Child-Pugh classification can predict peritoneal dropsy more efficiently. Serum PA combined with MELD score can predict survival results at 1 year more efficiently in patients with Child B and Child C diseases.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Serum prealbumin; Child-Pugh classification; MELD score; Survival

Wei LY, Zhai YZ, Feng GH. Serum prealbumin combined with Child-Pugh classification and MELD score for evaluation of liver function in patients with liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1871-1875  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1871.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1871>

### 摘要

**目的:** 明确血清前白蛋白(prealbumin, PA)评价肝硬化肝脏功能临床意义。

**方法:** 回顾性分析我科肝硬化患者351例并随

### ■背景资料

肝脏功能评价在临床实际工作中尤为重要, 为因肝脏疾病是否进行手术等相关干预措施的进行提供了有力保障。血清前白蛋白(prealbumin, PA)主要由肝脏合成, 可反映肝脏合成及储备能力及营养状况。由于缺乏以一种系统、关联、前瞻的临床思维方法去分析血清PA, 广大临床医生在肝病的诊治过程中还不足以重视血清PA变化特点。

### ■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科



## ■ 研发前沿

Child-Pugh分级及MELD评分等诸多指标已广泛应用于临床。本文将血清PA与Child-Pugh分级、MELD评分结合,探讨对肝脏功能评价作用,旨在进一步明确血清PA评价肝硬化肝脏功能的临床意义。

访1年。计算Child-Pugh分级与MELD评分。将血清PA与Child-Pugh分级、MELD评分结合,并分别与单纯Child-Pugh分级、MELD评分对肝脏功能评价作用相比较。采用Logistic回归统计分析进行肝硬化患者1年生存率评价。

**结果:** 351肝硬化病例中Child-Pugh A组111例, B组62例, C组178例。健康对照组与Child-Pugh A、B、C各组血清PA值分别为 $261.5 \text{ mg/L} \pm 68.7 \text{ mg/L}$ ,  $152.6 \text{ mg/L} \pm 62.7 \text{ mg/L}$ ,  $70.7 \text{ mg/L} \pm 36.9 \text{ mg/L}$ ,  $36.2 \text{ mg/L} \pm 13.1 \text{ mg/L}$ , 健康对照组与Child-Pugh各组血清PA值比较具有显著性差异( $P < 0.05$ ), 血清PA值在Child-Pugh A、B、C各组间比较也有显著性差异( $P < 0.05$ )。血清PA结合Child-Pugh分级与单纯Child-Pugh分级相比较, Child-Pugh A组中31例手术病例, 24例术前血清PA在 $194.0 \text{ mg/L} \pm 56.1 \text{ mg/L}$ 水平者术后未出现腹水, 7例术前血清PA为 $123.1 \text{ mg/L} \pm 35.4 \text{ mg/L}$ 水平者术后出现腹水( $P < 0.05$ )。将Child-Pugh B、C组240例肝硬化患者计算MELD评分, 血清PA结合MELD评分与单纯MELD评分相比较, 在判断Child B级、Child C级肝硬化患者一年生存率方面有显著性差异( $\chi^2 - \chi^2_1 = 8.229 > 3.84$ ,  $P < 0.05$ )。

**结论:** 血清PA结合Child-Pugh分级的使用有利于预测肝病患者术后腹水发生的可能性, 但不能提高对肝硬化患者1年生存率的判断; 血清PA结合MELD评分能提高对Child B级、Child C级肝硬化患者1年生存率的判断。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 血清PA; Child-Pugh分级; MELD评分; 1年生存率

**核心提示:** 血清前白蛋白(prealbumin, PA)能更敏感地反映早期肝脏损害。将血清PA值和Child-Pugh分级、MELD评分结合用于评价肝硬化患者的肝功能及终末期肝病患者的预后具有参考意义。

韦丽娅, 翟永贞, 冯国和. 血清前白蛋白结合Child-Pugh分级及MELD评分对肝硬化肝脏功能的评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1871-1875 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1871.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1871>

## 0 引言

各种原因所致肝硬化、肝功失代偿以及肝功能衰竭时肝脏功能评价在临床实际工作中尤为重要, 包括血清白蛋白(serum albumin, ALB)、胆固

醇(cholesterol, CHO)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)、总胆汁酸(total bile acid, TBA)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、Child-Pugh分级及MELD评分等诸多指标已广泛应用于临床, 为因肝脏疾病是否进行手术等相关干预措施的进行提供了有力保障。血清前白蛋白(prealbumin, PA)主要由肝脏合成, 可反映肝脏合成及储备能力及营养状况<sup>[1]</sup>。由于缺乏以一种系统、关联、前瞻的临床思维方法去分析血清PA, 广大临床医生在肝病的诊治过程中还不足以重视血清PA的变化特点, 本文拟对我科住院的肝硬化患者351例进行回顾性分析并随访1年。计算Child-Pugh分级与MELD评分。将血清PA与Child-Pugh分级、MELD评分结合, 并分别与单纯Child-Pugh分级、MELD评分相比较, 探讨对肝脏功能评价作用, 旨在进一步明确血清PA评价肝硬化肝脏功能的临床意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2011-01/2012-12在中国医科大学附属盛京医院感染科临床确诊的肝硬化患者351例, 男243例, 女108例, 平均年龄 $50.94 \text{ 岁} \pm 12.37 \text{ 岁}$ , 其中乙型肝炎后肝硬化241例, 丙型肝炎后肝硬化110例。另选健康体检者100例作为对照组, 男73例, 女27例, 平均年龄 $48.31 \text{ 岁} \pm 5.14 \text{ 岁}$ 。诊断标准乙型肝炎后肝硬化及丙型肝炎后肝硬化诊断标准符合2000年9月西安《病毒性肝炎防治方案》; 排除标准: 急性肝功能衰竭、原发性肾脏疾病、伴明显心肺功能不全, 长期营养不良、1 mo内补充过血制品及其他恶性肿瘤患者。

## 1.2 方法

**1.2.1 临床资料收集与分组:** 采集研究对象入院诊断时的病案信息, 按标准格式录入。研究资料包括一般临床资料、病史、体格检查结果、实验室检查结果、肝脏影像学结果以及食道胃底胃镜结果。根据Child-Pugh分级, 将351例肝硬化患者分为Child A组111例; B组62例, C组178例。其中Child A组中有31例乙型肝炎后肝硬化患者同时合并原发性肝癌并于我院肝胆脾外科择期手术治疗, 术后均存活。余肝硬化患者均接受内科治疗。将Child-Pugh B、C组患者共240例(男170例, 女70例), 平均年龄 $50.22 \text{ 岁} \pm 12.72 \text{ 岁}$ 。计算MELD评分, 以患者入院确诊时间作为观察起始点, 分析数据的最后1次随访作为观察终点。终点事件为从确诊到1年内死亡。经随访发现

351例肝硬化患者1年内有251例患者存活, 100例患者死亡, 死亡患者均为Child C组患者。

1.2.2 生化学指标检测: TBil、PA、ALB、肌酐(creatinine, Cr)采用日本Olympus AU 5400全自动生化分析仪检测; PT、凝血酶原标准化比值(international normalized ratio, INR)采用日本Sysmex CA-7000全自动血凝仪检测。

1.2.3 相关计算公式: Child-Pugh分级根据Child、Turcotte、Pugh等设计的计算方法, 将血清ALB、血清TBil、血清PT、腹水情况、肝性脑病情况5项指标按照病情的严重程度分别计为1、2、3分, 每1例患者的5项分值相加后分级。Child A级(5-6分)代表肝脏功能代偿, Child B级(7-9分)代表肝脏功能失代偿, Child C级(10-15分)代表了肝脏功能严重失代偿<sup>[2]</sup>。MELD评分根据Kamath等提出的计算方法, 公式为MELD评分 =  $9.6 \times \ln[\text{肌酐}(\text{mg/dl})] + 3.8 \times \ln[\text{胆红素}(\text{mg/dl})] + 11.2 \times \ln(\text{凝血酶原标准化比值}) + 6.4 \times \text{病因}$ (病因: 胆汁性或酒精性0, 其他1)<sup>[3]</sup>。

**统计学处理** 采用SPSS21统计软件进行数据分析, 计量资料采用 $t$ 检验分析和单因素方差分析; 应用Logistic回归分析预测术后腹水的发生, 并判断影响肝硬化患者1年生存率的危险因素, 将血清PA分别与Child-Pugh分级、MELD评分结合建立预后模型, 并比较不同模型预测肝硬化患者1年生存率的能力。  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 健康对照组与Child-Pugh各组的血清PA值的比较 健康对照组血清PA值为  $261.5 \text{ mg/L} \pm 68.7 \text{ mg/L}$ , 与Child-Pugh各组血清PA值比较具有显著性差异( $P < 0.05$ ); Child-Pugh A、B、C各组血清PA值分别为  $152.6 \text{ mg/L} \pm 62.7 \text{ mg/L}$ 、 $70.7 \text{ mg/L} \pm 36.9 \text{ mg/L}$ 、 $36.2 \text{ mg/L} \pm 13.1 \text{ mg/L}$ , 随着Child-Pugh分级的升高, 血清PA值明显下降, Child-Pugh A、B、C各组间比较也有显著性差异( $P < 0.05$ )。

2.2 血清PA结合Child-Pugh分级预测进行外科手术的肝病患者术后腹水发生 进行外科手术的31例Child A级肝硬化患者, 术后有7例患者出现大量腹水, 经治疗后均康复出院。24例术前血清PA值  $194.0 \text{ mg/L} \pm 56.1 \text{ mg/L}$ 的患者术后未出现大量腹水, 7例术前血清PA值  $123.1 \text{ mg/L} \pm 35.4 \text{ mg/L}$ 的患者术后出现大量腹水, 较前者明显降低( $P < 0.05$ )。

对进行外科手术的31例Child A级肝硬化患者进行Logistic回归分析, 我们得出, 血清PA的OR值为0.965(95%CI: 0.939-0.992), 血清PA为影响术后腹水发生的危险因素( $P < 0.05$ )。

2.3 血清PA结合Child-Pugh分级与单独应用Child-Pugh分级判断肝硬化患者1年生存率的比较 对未进行外科手术治疗320例肝硬化患者进行Logistic回归分析, Child-Pugh分级模型系数的综合检测  $\chi_1^2 = 153.461$  ( $P < 0.05$ ); 血清PA结合Child-Pugh分级合模型系数的综合检测  $\chi_2^2 = 153.674$  ( $P < 0.05$ );  $\chi_2^2 - \chi_1^2 = 0.213 < 3.84$  ( $P > 0.05$ )。血清PA结合Child-Pugh分级与单独应用Child-Pugh分级相比, 对肝硬化患者1年生存率判断无显著性差异( $P > 0.05$ )。

2.4 血清PA结合MELD评分与单纯MELD评分判断Child B级、Child C级肝硬化患者1年生存率的比较 对Child B级、Child C级肝硬化患者进行Logistic回归分析, 我们得出MELD评分的OR值为1.234(95%CI: 1.159-1.313), 血清PA的OR值为0.970(95%CI: 0.948-0.992), MELD评分、血清PA为影响其1年生存率的危险因素( $P < 0.05$ )。

MELD评分模型系数的综合检测  $\chi_1^2 = 94.726$  ( $P < 0.05$ ); 血清PA结合MELD评分模型系数的综合检测  $\chi_2^2 = 102.955$  ( $P < 0.05$ );  $\chi_2^2 - \chi_1^2 = 8.229 > 3.84$  ( $P < 0.05$ ), 血清PA结合MELD评分模型与单独MELD评分模型相比, 判断Child B级、Child C级肝硬化患者1年生存率有显著性差异, 具有更强的预测能力。

## 3 讨论

血清PA是一种急性时相反应蛋白, 主要由肝脏合成, 并存在于血液和脑脊液中<sup>[4]</sup>。与血清ALB相比, 血清PA半衰期短, 仅1.9 d, 受蛋白质营养支持治疗等肝外因素影响小, 故其血清含量变化更能敏感地反映早期肝脏损害<sup>[5,6]</sup>。本研究中发现健康对照组与Child-Pugh各组血清PA值比较具有显著性差异, 即证明血清PA可早期反应肝损害这一特点。血清PA值在Child-Pugh A、B、C各组间比较也有显著性差异; 随着Child-Pugh分级的升高, 血清PA值明显下降; 提示各类慢性肝病的血清PA水平明显降低, 在肝硬化伴肝脏储备功能明显下降时血清PA降低最显著。Child-Pugh分级法是判断肝脏储备功能的一种半定量方法, 最常用于判断肝硬化患者是否适合肝脏手术等<sup>[7]</sup>。近期研究发现Child-Pugh分级法并不能对所有的指标给予正确权重, 诸如

### ■ 相关报道

Liu等将Meld评分与血清PA相结合, 对失代偿期肝硬化患者分别进行了随访研究, 研究发现MELD评分 $>18$ 结合PA $<70 \text{ mg}$ 可优于单独应用MELD评分评估失代偿期肝硬化患者1年预后。

## ■创新盘点

本文首次应用血清PA结合Child-Pugh分级、MELD评分共同建立预测模型,评价肝硬化患者肝脏功能以及终末期肝病患者预后。

难以对腹水与脑病做出正确的分级,无法减少ALB、PT在实验室内部与实验室之间由于检测方法或所选试剂的不同所带来的误差,不能避免外源性因素以及肝脏自身的营养状态所带来的影响等<sup>[8]</sup>,导致不同肝病患者即使Child分值相同但预后评估误差很大,说明该分级法在预后评估精准性上仍存在一定局限性<sup>[9,10]</sup>。本研究发现,进行外科手术的31例Child A级肝硬化患者中,血清PA为影响术后腹水发生的危险因素,术后有7例患者出现大量腹水,此7例患者术前血清PA值较24例术后未出现腹水患者血清PA值明显降低;提示血清PA结合Child-Pugh分级的使用有利于预测肝病患者术后腹水发生的可能性,也就是说当择期行肝脏手术Child-Pugh A级患者被发现血清PA明显降低时,应考虑到先期内科综合治疗,并慎重决定能否进行肝脏手术。尽管如此,通过对未进行外科手术的320例肝硬化患者进行Logistic回归分析发现,血清PA结合Child-Pugh分级与单独应用Child-Pugh分级相比,对肝硬化患者1年生存率判断无显著性差异。提示两者结合不能提高对肝硬化患者1年生存率的判断。

相比Child-Pugh分级系统, MELD评分系统优势在于建立在大量统计学数据基础之上,通过对血清肌酐指标检测兼顾到了肾脏因素的影响,尤其对于失代偿期肝硬化患者病情的严重程度可作出更细致的划分<sup>[11,12]</sup>。为此我们集中对Child-Pugh B、C级240例患者进行MELD评分研究,并对肝硬化患者1年生存率进行风险评估。MELD评分也存在缺陷:诸如组织凝血活酶来源不同,致使血清凝血酶原时间变化很大,影响了结果的可比性;肝硬化患者在接受利尿治疗时,血肌酐可能会大幅度改变,也会影响结果的准确性;此外,肝硬化门脉高压并发症因素没被纳入MELD评分中<sup>[13,14]</sup>。MELD评分结果对肝硬化患者死亡率的预测与真实情况仍有15%-20%的误差。Liu等<sup>[15]</sup>将Meld评分与血清PA相结合,对252例失代偿期肝硬化患者分别进行了随访研究,研究发现MELD评分>18结合PA<70 mg可优于单独应用MELD评分评估失代偿期肝硬化患者1年的预后。本文通过Logistic回归分析,我们得出MELD评分,血清PA值为影响1年生存率的危险因素,血清PA结合MELD评分与单纯MELD评分相比较,在判断Child B级、Child C级肝硬化患者1年生存率方面有显著性差异,提示血清PA结合MELD评分能提高对Child B级、Child C

级肝硬化患者1年生存率的判断。本研究将血清PA值和MELD评分共同建立预测模型,血清PA的测定简便易操作,结合MELD评分势必为肝硬化以及终末期肝病患者的预后评估提供更切实可行的方法。

## 4 参考文献

- 1 韦丽娅, 翟永贞, 冯国和. 血清前白蛋白对肝功能评估的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1387-1393
- 2 Miyaki D, Aikata H, Honda Y, Naeshiro N, Nakahara T, Tanaka M, Nagaoki Y, Kawaoka T, Takaki S, Waki K, Hiramatsu A, Takahashi S, Ishikawa M, Kakizawa H, Awai K, Chayama K. Hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma according to Child-Pugh classification. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1850-1857 [PMID: 23020312 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07276.x]
- 3 Lee HS, Choi GH, Joo DJ, Kim MS, Kim SI, Han KH, Ahn SH, Kim DY, Park JY, Choi JS. Prognostic value of model for end-stage liver disease scores in patients with fulminant hepatic failure. *Transplant Proc* 2013; 45: 2992-2994 [PMID: 24157020 DOI: 10.1016/j.transproceed.2013.08.036]
- 4 王岩, 翟永贞, 冯国和. 肝衰竭的营养代谢异常与营养支持治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2167-2172
- 5 Gupta D, Lis CG. Pretreatment serum albumin as a predictor of cancer survival: a systematic review of the epidemiological literature. *Nutr J* 2010; 9: 69 [PMID: 21176210 DOI: 10.1186/1475-2891-9-69]
- 6 Huang L, Li J, Yan JJ, Liu CF, Wu MC, Yan YQ. Pre-albumin is predictive for postoperative liver insufficiency in patients undergoing liver resection. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7021-7025 [PMID: 23323003 DOI: 10.3748/wjg.v18.i47.7021]
- 7 Pressiani T, Boni C, Rimassa L, Labianca R, Fagioli S, Salvagni S, Ferrari D, Cortesi E, Porta C, Mucciari C, Latini L, Carnaghi C, Banzi M, Fanello S, De Giorgio M, Lutman FR, Torzilli G, Tommasini MA, Ceriani R, Covini G, Tronconi MC, Giordano L, Lococo N, Naimo S, Santoro A. Sorafenib in patients with Child-Pugh class A and B advanced hepatocellular carcinoma: a prospective feasibility analysis. *Ann Oncol* 2013; 24: 406-411 [PMID: 23041587 DOI: 10.1093/annonc/mds343]
- 8 Kuroda S, Tashiro H, Kobayashi T, Oshita A, Amano H, Ohdan H. Selection criteria for hepatectomy in patients with hepatocellular carcinoma classified as Child-Pugh class B. *World J Surg* 2011; 35: 834-841 [PMID: 21190110 DOI: 10.1007/s00268-010-0929-y]
- 9 Farinati F, Giacomini A, Vanin V. Sorafenib for hepatocellular carcinoma according to Child-Pugh class of liver function. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 1639-1640; author reply 1639-1640 [PMID: 22071597 DOI: 10.1007/s00280-011-1776-8]
- 10 Hollebecque A, Cattani S, Romano O, Sergeant G, Mourad A, Louvet A, Dharancy S, Boleslawski E, Truant S, Pruvot FR, Hebbard M, Ernst O, Mathurin P. Safety and efficacy of sorafenib in hepatocellular carcinoma: the impact of the Child-Pugh score. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1193-1201 [PMID: 21958438 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04860.x]
- 11 Zhao WC, Zhang HB, Yang N, Fu Y, Qian W, Chen BD, Fan LF, Yang GS. Preoperative predictors of short-term survival after hepatectomy for multi-



- nodular hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3272-3281 [PMID: 22783052 DOI: 10.3748/wjg.v18.i25.3272]
- 12 Al Sibae MR, Cappell MS. Accuracy of MELD scores in predicting mortality in decompensated cirrhosis from variceal bleeding, hepatorenal syndrome, alcoholic hepatitis, or acute liver failure as well as mortality after non-transplant surgery or TIPS. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 977-987 [PMID: 20844956 DOI: 10.1007/s10620-010-1390-3]
- 13 Jiang M, Liu F, Xiong WJ, Zhong L, Xu W, Xu F, Liu YB. Combined MELD and blood lipid level in evaluating the prognosis of decompensated cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1397-1401 [PMID: 20238407 DOI: 10.3748/wjg.v16.i11.1397]
- 14 Guo Z, He X, Wu L, Ju W, Hu A, Tai Q, Wang D, Ma Y, Wang G, Zhu X, Huang J. Model for end-stage liver disease versus the Child-Pugh score in predicting the post-transplant 3-month and 1-year mortality in a cohort of Chinese recipients. *Surg Today* 2010; 40: 38-45 [PMID: 20037838 DOI: 10.1007/s00595-009-4114-6]
- 15 Liu F, Cai LY, Zhong L, Chen C, Xu F, Zhao ZX, Chen XM. Model for end-stage liver disease combined with serum prealbumin to predict the prognosis of patients with decompensated liver cirrhosis. *J Dig Dis* 2010; 11: 352-357 [PMID: 21091897 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2010.00465.x]

## ■同行评价

本文选题明确, 创新性可, 统计分析恰当, 论文书写较流畅, 具有一定应用价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 外周血血浆中甲胎蛋白、丙酮酸激酶M2和白蛋白mRNA检测在乙型肝炎肝硬化患者早期诊断中的价值

夏晓寒, 黄 丁

## ■背景资料

临床研究表明, 甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、丙酮酸激酶M2(pyruvate kinase M2, PKM2)和白蛋白(albumin, ALB)对肝癌的诊断具有重要临床应用价值。本研究主要针对这AFP、PKM2与ALB mRNA在乙型肝炎肝硬化患者血浆中的表达。本研究采用实时定量PCR法对健康人群和乙型肝炎肝硬化患者血浆中的AFP mRNA、PKM2 mRNA和ALB mRNA表达进行了检测, 而与检测细胞、组织中mRNA的表达相比, 其检测无创, 灵敏度高, 快速, 简便, 并可同时检测多个样本, 具有一定的应用价值。

■同行评议者  
顾国利, 副主任医师, 空军总医院普通外科

夏晓寒, 浙江省血液中心献血服务部 浙江省杭州市 310005  
黄丁, 瑞安市人民医院急诊科 浙江省瑞安市 325200  
夏晓寒, 主要从事利用血液检测肝硬化的工作。  
作者贡献分布: 本文由夏晓寒撰写; 黄丁修改。  
通讯作者: 夏晓寒, 主管护师, 310006, 浙江省杭州市武林路345号, 浙江省血液中心献血服务部, 81783465@qq.com  
收稿日期: 2014-03-24 修回日期: 2014-04-15  
接受日期: 2014-04-26 在线出版日期: 2014-05-08

## Diagnostic value of alpha-fetoprotein, pyruvate kinase M2 and albumin mRNA expression in peripheral blood in hepatitis B virus-related cirrhosis

Xiao-Han Xia, Ding Huang

Xiao-Han Xia, Department of Blood Services, Blood Center of Zhejiang Province, Hangzhou 310005, Zhejiang Province, China  
Ding Huang, Department of Emergency Medicine, Rui'an City People's Hospital, Rui'an 325200, Zhejiang Province, China  
Correspondence to: Xiao-Han Xia, Charge Nurse, Department of Blood Services, Blood Center of Zhejiang Province, 345 Wulin Road, Hangzhou 310005, Zhejiang Province, China. 81783465@qq.com  
Received: 2014-03-24 Revised: 2014-04-15  
Accepted: 2014-04-26 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To assess the diagnostic value of alpha-fetoprotein (AFP), pyruvate kinase M2 (PKM2) and albumin (ALB) mRNA expression in the peripheral blood in hepatitis B virus (HBV)-related cirrhosis.

**METHODS:** One hundred patients with HBV-related cirrhosis who were treated at our hospital from January 2011 to December 2013 (observation group) and 102 healthy volunteers (control group) were included in this study. Real-time quantitative PCR was used to detect the mRNA expression of AFP, PKM2 and ALB in the peripheral blood of the above subjects.

**RESULTS:** The expression of ALB mRNA in the

peripheral blood was significantly correlated with  $\gamma$ -glutamyltransferase and serum albumin. Joint detection of the mRNA expression of AFP, PKM2 and ALB in the peripheral blood had a significantly higher rate of detection of cirrhosis ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The mRNA expression of AFP, PKM2 and ALB in the peripheral blood has important diagnostic value in patients with cirrhosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Word:** Peripheral blood; Alpha-fetoprotein; Pyruvate kinase M2; Albumin; mRNA; Cirrhosis

Xia XH, Huang D. Diagnostic value of alpha-fetoprotein, pyruvate kinase M2 and albumin mRNA expression in peripheral blood in hepatitis B virus-related cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1876-1880  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1876.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1876>

## 摘要

**目的:** 探究外周血血浆中甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、丙酮酸激酶M2(pyruvate kinase M2, PKM2)和白蛋白(albumin, ALB) mRNA检测在乙型肝炎肝硬化患者诊断及预后中的价值分析。

**方法:** 选择2011-01/2013-12瑞安市人民医院收治的乙型肝炎肝硬化患者共102例作为观察组, 并选取102例体检的健康人群作为对照组, 所有受试者采用实时定量PCR方法, 对AFP、PKM2和ALB基因的检出率、表达差异和mRNA与临床相关性进行分析。

**结果:** 计算AFP mRNA、PKM2 mRNA和ALB mRNA的 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ , 同时对AFP、PKM2及ALB的表达与临床生化指标的相关性, 得到ALB mRNA和 $\gamma$ -谷氨酰基转移酶和血清白蛋白存在相关性。对所有患者经过联合检测后, 乙型

肝炎肝硬化组联合检测阳性率的最高, 较为敏感, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

**结论:** 外周血AFP mRNA、PKM2 mRNA和ALB mRNA对乙型肝炎肝硬化患者的早期诊断具有一定的诊断价值, 值得临床参考.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 外周血甲胎蛋白; 丙酮酸激酶M2; 白蛋白; mRNA; 肝硬化

**核心提示:** 本次研究对乙型肝炎肝硬化患者中血浆的甲胎蛋白(alpha-fetoprotein)、丙酮酸激酶M2(pyruvate kinase M2) 和白蛋白(albumin) mRNA的表达, 为指导临床治疗提供参考.

夏晓寒, 黄丁. 外周血血浆中甲胎蛋白、丙酮酸激酶和白蛋白mRNA检测在乙型肝炎肝硬化患者早期诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1876-1880 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1876.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1876>

## 0 引言

因乙型肝炎肝硬化而致肝癌是我国肝癌高发的一个重要原因<sup>[1,2]</sup>, 其较高致死率的主要原因是患者早期诊断特异性差, 一旦确诊, 常已为中晚期, 治疗难度增加. 肝癌患者中, 早期患者常带有肝硬化基础病变, 若在肝硬化阶段获得重要的诊断标志, 从而对患者病情进行判断, 采取正确而有效的治疗手段, 将可能抑制或延缓肝癌的发生. 本次研究对乙型肝炎肝硬化患者外周血浆中甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、丙酮酸激酶M2(pyruvate kinase M2, PKM2)和白蛋白(albumin, ALB)mRNA的表达进行检测, 为指导临床治疗提供参考.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2011-01/2013-12我院收治的乙型肝炎肝硬化患者102例, 男性62例, 女性40例. 年龄35-74岁(46.4岁±9.2岁), 其中不伴腹水患者61例, 伴腹水患者共41例. 另选取102例体检的健康人群作为对照组, 其中男性60例, 女性42例, 年龄34-72岁(47.2岁±9.9岁). 患者年龄、性别等一般资料无显著差异, 有可比性. 临床实验均经过院伦理委员会批准, 患者或家属自愿签署知情同意书. 采用Sigma公司生产的TRI试剂与焦炭酸二乙酯(DEPC); Ambion公司生产的糖

表 1 定时定量PCR引物和逆转录引物序列

引物名称	引物序列
ALB mRNA正向引物	5'-tggcacaatgaagtgaggtaa-3'
ALB mRNA反向引物	5'-ctgagcaaaggcaatcaaca-3'
AFP mRNA正向引物	5'-tggatagcttccatattggattc-3'
AFP mRNA反向引物	5'-aagtggcttctgaacaaactgg-3'
PKM2 mRNA正向引物	5'-agtaccatgcggagaccatc-3'
PKM2 mRNA反向引物	5'-gcgttatccagcgtgatttt-3'
GAPDH正向引物	5'-tcagtgtggacctgacctg-3'
GAPDH反向引物	5'-tgctgtagccaaattcggtg-3'
逆转录引物	5'-tttttttttttttttt-3'

AFP: 甲胎蛋白; PKM2: 丙酮酸激酶M2; ALB: 白蛋白.

原, NEB公司生产的Poly(A)加尾酶; Promega生产的ImProm-II™逆转录酶; TaKaRa公司生产的SYBR ExTaq Mix定量PCR试剂. 本次采用Invitrogen公司合成的引物.

### 1.2 方法

**1.2.1 标本准备:** 外周血单个核细胞的分离: 取健康人新鲜抗凝血, 以Ficoll分离液分离PBMC, 加150 μL TRIzol Reagent(美国Gibco BRL公司). 每100 μL TRIzol加20 μL氯仿, 充分混匀, 破碎细胞, 使之释放出RNA; 以预冷无水乙醇沉淀, 最终溶于DEPC水中. 为排除可能混有的DNA污染, 加3 U DNA seRNA se-free, 于37 °C水浴1 h消化DNA. 抽提的RNA保存于-20 °C冰箱中.

**1.2.2 RNA提取:** 所有患者都空腹抽取静脉血约5 mL, EDTA采血管进行收集, 收集全血静置10 min, 以1500 r/min进行离心10 min, 之后放入无RNase的Ep管, 在-80 °C进行保存. 对血浆总RNA按照TRI试剂说明书进行提取.

**1.2.3 逆转录:** 将800 μL血浆分为4份, 分别加入于无RNase的离心管中, 同时每个离心管中加入TRI试剂提取液1 mL, 而在加入等量的异丙醇同时加入2 μL(5 mg/mL)的糖原使其助沉; 利用DEPC对水溶解的沉淀样品进行处理, 加入2 μL(1 μg/μL) mRNA 逆转录引物oligo dT, 使用ImProm-II™逆转录酶使其逆转录成cDNA.

**1.2.4 PCR扩增:** PCR 反应体系组成如下: 三蒸水36.5 μL, 10×PCR 缓冲液5 μL, 10 mmol/L dNTP μL, 正义引物和反义引物各适量, 逆转录形成的cDNA 5 μL, TaqDNA聚合酶0.5 μL, 混匀. 加热至94 °C 5 min后, 完成30个如下循环: 94 °C 45 s, 65 °C 1 min; 再进行 15个下列循环: 94 °C 45 s, 50 °C 1 min, 72 °C 1 min, 再置72 °C 10 min, 然后

### ■研究前沿

因乙型肝炎肝硬化而致肝癌是我国肝癌高发的一个重要原因, 其较高致死率的主要原因是患者早期诊断特异性差, 一旦经诊断患有肝癌时, 常已为中晚期, 治疗难度增加.



## ■ 相关报道

循环RNA作为一个崭新的研究领域,虽处于探索时期,但作为一种无创性早期检测方式,具有重要应用价值。

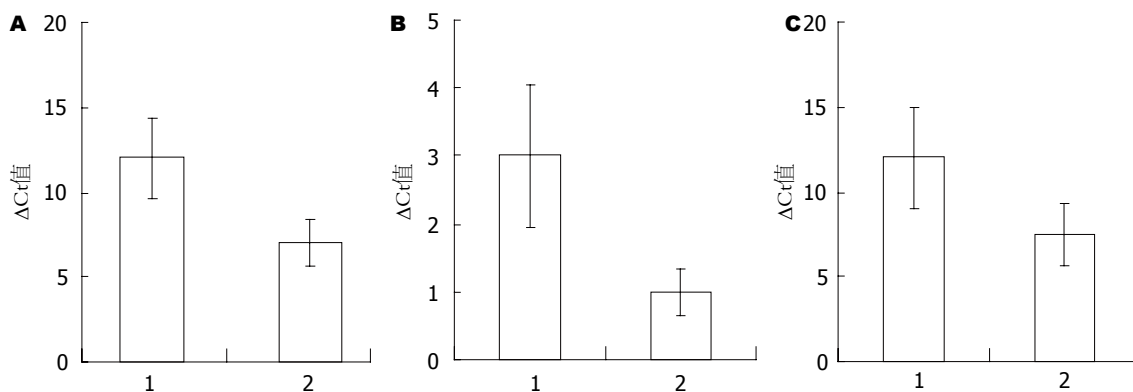


图1 对照组受试者和乙型肝炎肝硬化组患者ALB、AFP、PKM2 mRNA的表达。A: ALB; B: AFP; C: PKM2。1: 乙型肝炎肝硬化组; 2: 健康对照组。AFP: 甲胎蛋白; PKM2: 丙酮酸激酶M2; ALB: 白蛋白。

表2 健康对照组受试者和乙型肝炎肝硬化组患者ALB、AFP、PKM2基因检出率 [ $n=102, n(\%)$ ]

分组	ALB基因	AFP基因	PKM2基因
健康对照组	2(1.9)	3(2.9)	0(0)
乙型肝炎肝硬化组	31(30.3)	28(27.5)	71(69.6)
$\chi^2$	30.40	23.77	108.90
P值	0.01	0.01	0.01

AFP: 甲胎蛋白; PKM2: 丙酮酸激酶M2; ALB: 白蛋白。

冷却, 常规琼脂糖凝胶电泳。定时定量PCR引物和逆转录引物序列见表1。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计学软件分析,  $\chi^2$ 检验分析计数资料, 对mRNA与临床相关性进行分析, 并计算检测mRNA的 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值。  $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 ALB、AFP、PKM2基因检出率比较** 健康对照组受试者ALB、AFP、PKM2基因的检出率较低, 乙型肝炎肝硬化组明显高于健康对照组, 差异有统计学差异( $P<0.05$ ), (表2)。

**2.2 ALB、AFP、PKM2 mRNA表达** 经过检测后, 得到乙型肝炎肝硬化组患者的ALB、AFP、PKM2 mRNA表达高于健康对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), (图1)。

**2.3 AFP、PKM2和ALB mRNA在患者血浆存在量与临床生化指标间的相关性** 计算AFP mRNA、PKM2 mRNA和ALB mRNA的 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , 其中,  $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(\text{肝病样本}) - \Delta Ct(\text{健康样本均值})$ 。同时对AFP、PKM2及ALB的表达与临床生化指标的相关性进行统计, 分析结果显示ALB mRNA和 $\gamma$ -谷氨酰基转移酶和血清白蛋白存在

相关性(表3)。

**2.4 患者ALB、AFP和PKM2 mRNA阳性率比较** 对所有患者经过联合检测后, 肝硬化组联合检测阳性率的最高, 与健康对照组相比均差异显著( $P<0.05$ ), (表4)。

## 3 讨论

AFP的血清学检测是肝癌患者进行诊断的重要指标, 但若仅进行AFP检测, 会造成误诊或漏诊<sup>[3,4]</sup>。因此, 临床上对其他分子标志物进行了多方面研究。其中, 研究最多的是AFP mRNA, 现其他相关mRNA也逐渐得到了广泛关注。肝癌患者几乎都需经过肝硬化阶段, 故在肝硬化阶段得到相应的分子标志物可对肝癌有早期警示作用。

AFP是一种在胚胎时期肝细胞内进行合成特殊蛋白, 现已是原发性肝癌患者的常规检测指标<sup>[5,6]</sup>。近年研究表明, AFP mRNA与肝癌的转移具有紧密联系<sup>[7]</sup>。在本研究中, 对血浆AFP mRNA的表达进行检测, 得出其在对照组与观察组人群血浆中的表达具有统计学差异( $P<0.05$ ), 说明AFP mRNA与肝癌的转化过程显著相关。

PKM2是一种在肿瘤细胞中特异表达的蛋白, 在人体生理代谢过程中具有重要意义, 能对肿瘤的形成过程进行控制<sup>[8-11]</sup>。本研究中, PKM2 mRNA在2组患者之间具有统计学意义, 其表达具有差异性, 观察组患者血浆中的表达显著高于对照组, 说明PKM2在肝硬化临床诊断中具有重要作用。

ALB是一种肝脏特异性蛋白, 是反应患者肝细胞的敏感指标, 对肝脏储备功能进行评价, 并对患者病情的变化及预后的判断具有重要意义<sup>[12,13]</sup>。本研究中, 对ALB mRNA在血浆中的表达进行了检测, 观察组中ALB mRNA的表达显著高于

■同行评价  
本文具有一定指导意义。

表 3 ALB mRNA与临床生化指标的相关性分析

临床参数	正常范围(U/L)	ALB mRNA的表达n(%)		P值
		低表达( $2^{-\Delta\Delta Ct} < 2$ )	高表达( $2^{-\Delta\Delta Ct} > 2$ )	
$\gamma$ -谷氨酰基转移酶	0-50	13(17.3)	62(82.7)	<0.05
血清ALB	30-50	15(20.0)	60(80.0)	<0.05

ALB: 白蛋白。

表 4 患者ALB, AFP和PKM2 mRNA阳性率的比较 [n = 102, n(%)]

分组	ALB	AFP	PKM2	联合检测
健康对照组	3(2.9)	3(2.9)	0(0)	6(5.8)
肝硬化组	88(86.3) <sup>a</sup>	77(75.5) <sup>a</sup>	83(81.4) <sup>a</sup>	93(91.2) <sup>a</sup>

<sup>a</sup>P<0.05 vs 健康对照组。AFP: 甲胎蛋白; PKM2: 丙酮酸激酶M2; ALB: 白蛋白。

对照组, 说明ALB mRNA对肝硬化患者的临床诊断及预后具有重要意义。

临床研究表明, AFP、PKM2与ALB对肝癌的诊断具有重要临床应用价值。本研究主要针对AFP、PKM2与ALB mRNA在乙型肝炎肝硬化患者血浆中的表达。采用实时定量PCR法对健康人群和乙型肝炎肝硬化患者血浆中的AFP mRNA、PKM2 mRNA和ALB mRNA表达进行了检测, 而与检测细胞、组织中mRNA的表达相比, 其检测无创, 灵敏度高, 快速, 简便, 并可同时检测多个样本, 具有一定的应用价值<sup>[14-16]</sup>。对患者进行联合检测后, 肝硬化组联合检测阳性率的最高, 与健康对照组相比差异显著(P<0.05)。对3种mRNA指标的相关性进行分析, 得到AFP、PKM2与临床检测指标无显著相关性, 但ALB mRNA与 $\gamma$ -谷氨酰基转移酶和血清白蛋白具有相关性。 $\gamma$ -谷氨酰基转移酶是人体血清中的转移酶, 担任着重要角色, 其临床应用广泛。肝硬化患者的 $\gamma$ -谷氨酰基转移酶通常会升高, 且能帮助患者判断恶性肿瘤是否转移, 有助于临床诊断。本研究得到, 乙型肝炎肝硬化患者血浆中的ALB mRNA与 $\gamma$ -谷氨酰基转移酶具有相关性, 故ALB mRNA在肝病的临床治疗中具有重要意义。

循环RNA作为一个崭新的研究领域, 虽处于探索时期, 但作为一种无创性早期检测方式, 具有重要应用价值。因此, 深入研究RNA在血浆中的表达水平, 为发现疾病特异性标志物开创前景, 对肝癌患者提供具有重要依据。

#### 4 参考文献

- 任嫦娥, 郭惠萍. 姜黄素对肝癌HepG2和Bel-7404细胞增殖的抑制作用. 中国生化药物杂志 2012; 33: 251-253
- 武艳, 袁晓环, 张羽飞, 刘海峰, 包海花, 吴丹, 初彦辉. 原发性肝癌患者外周血中TGF- $\beta$ 1 mRNA表达水平的检测及其临床意义. 中国生化药物杂志 2010; 31: 327-329
- Personeni N, Bozzarelli S, Pressiani T, Rimassa L, Tronconi MC, Sclafani F, Carnaghi C, Pedicini V, Giordano L, Santoro A. Usefulness of alpha-feto-protein response in patients treated with sorafenib for advanced hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 57: 101-107 [PMID: 22414760 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.016]
- Memon K, Kulik L, Lewandowski RJ, Wang E, Ryu RK, Riaz A, Nikolaidis P, Miller FH, Yaghami V, Baker T, Abecassis M, Benson AB, Mulcahy MF, Omary RA, Salem R. Alpha-fetoprotein response correlates with EASL response and survival in solitary hepatocellular carcinoma treated with transarterial therapies: a subgroup analysis. *J Hepatol* 2012; 56: 1112-1120 [PMID: 22245905 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.11.020]
- Cui Z, Yu X, Guo L, Wei Y, Zheng S, Li W, Chen P, Zhu J, Peng J. Combined analysis of serum alpha-fetoprotein and MAGE-A3-specific cytotoxic T lymphocytes in peripheral blood for diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Dis Markers* 2013; 35: 915-923 [PMID: 24427779 DOI: 10.1155/2013/907394]
- Huang YK, Fan XG, Qiu F, Wang ZM. Combined detection of mRNA expression of Alpha-fetoprotein in peripheral blood and telomerase activity of monocytes in hepatocellular carcinoma patients. *Hepato-gastroenterology* 2013; 60: 1-5 [PMID: 22773301]
- 周琦, 张琼, 魏来. 血清甲胎蛋白、肿瘤相关物质和癌胚抗原对原发性肝癌的鉴别诊断. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1936-1939
- Gupta V, Bamezai RN. Human pyruvate kinase M2: a multifunctional protein. *Protein Sci* 2010; 19: 2031-2044 [PMID: 20857498 DOI: 10.1002/pro.505]

- 9 Varghese B, Swaminathan G, Plotnikov A, Tzimas C, Yang N, Rui H, Fuchs SY. Prolactin inhibits activity of pyruvate kinase M2 to stimulate cell proliferation. *Mol Endocrinol* 2010; 24: 2356-2365 [PMID: 20962042 DOI: 10.1210/me.2010-0219]
- 10 詹成, 时雨, 王群. 丙酮酸激酶M2型应用于肿瘤诊断与治疗的研究进展. *中华肿瘤防治杂志* 2013; 20: 1043-1046
- 11 梁钢, 肖虹, 郑绘霞, 李宁, 武丽娜, 高红变, 赵杨璐, 梁建芳. 粪便肿瘤M2型丙酮酸激酶检测对结直肠癌诊断价值的Meta分析. *中华肿瘤防治杂志* 2013; 20: 1607-1611.
- 12 Kakazu E, Kondo Y, Kogure T, Ninomiya M, Kimura O, Iwata T, Morosawa T, Iwasaki T, Shimosegawa T. Supplementation of branched-chain amino acids maintains the serum albumin level in the course of hepatocellular carcinoma recurrence. *Tohoku J Exp Med* 2013; 230: 191-196 [PMID: 23892757]
- 13 Saha S, Sengupta J, Banerjee D, Khetan A, Mandal SM. *Schizophyllum commune*: a new organism in eye infection. *Mycopathologia* 2013; 175: 357-360 [PMID: 23385954 DOI: 10.1007/s11046-013-9625-4]
- 14 丁华, 何维娜, 陈望, 何玥, 许瑞娜, 杨鸿雅, 李娴. 3种检测方法在丙型肝炎诊断中的临床评价. *国际检验医学杂志* 2013; 34: 3387-3388
- 15 唐九歌, 丁剑冰, 郭劲, 乔艳辉, 袁晓华, 何智, 郭伟鹏. 三联放大技术与荧光定量PCR检测乙型肝炎病毒的应用比较. *中国病原生物学杂志* 2010; 5: 16-18
- 16 郭晓东, 杨美, 皋月娟, 熊璐, 周艳贤, 张红萍. 实时定量PCR检测miRNA-29a在肝癌中的变化. *现代生物医学进展* 2013; 13: 1484-1485

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 饱和盐水浮聚法诊断钩虫病在不明原因消化系出血中的价值

郝卫刚, 王轶佳, 易文全, 高元平

郝卫刚, 王轶佳, 易文全, 高元平, 眉山市人民医院消化内科  
四川省眉山市 620010

郝卫刚, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的临床研究.

作者贡献分布: 郝卫刚与高元平对此文所作贡献均等; 此课题由郝卫刚与高元平设计; 研究数据分析由郝卫刚、王轶佳、易文全及高元平完成; 本论文写作由郝卫刚与高元平完成.

通讯作者: 高元平, 副主任医师, 620010, 四川省眉山市东坡区文庙街1号, 眉山市人民医院消化内科.

msgaoyuanping2010@163.com

收稿日期: 2014-01-17 修回日期: 2014-03-16

接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-05-08

## Saturated saline flotation method for diagnosis of hookworm disease: Implications for diagnosis of obscure gastrointestinal bleeding

Wei-Gang Hao, Yi-Jia Wang, Wen-Quan Yi, Yuan-Ping Gao

Wei-Gang Hao, Yi-Jia Wang, Wen-Quan Yi, Yuan-Ping Gao, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Meishan City, Meishan 620010, Sichuan Province, China

Correspondence to: Yuan-Ping Gao, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Meishan City, 1 Wenmiao Street, Dongpo District, Meishan 620010, Sichuan Province, China. msgaoyuanping2010@163.com

Received: 2014-01-17 Revised: 2014-03-16

Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the value of saturated saline flotation method for diagnosis of hook-worm disease in the diagnosis of obscure gastrointestinal bleeding.

**METHODS:** Twenty-three patients who were diagnosed with obscure gastrointestinal bleeding and with hookworm disease by repeated endoscopy from January 2010 to December 2013 at the Meishan City People's Hospital were included in the study. Saturated saline flotation method was performed to detect the stool three consecutive times with an interval of more than one day, and the patient's clinical data were collected.

**RESULTS:** In the first time, 13 (56.5%) patients were found positive for hookworm eggs; 19 (82.6%) patients were positive in the first two times; and a total of 21 (91.3%) patients were positive in the three times.

**CONCLUSION:** Using saturated saline flotation method to detect parasite eggs especially hookworm eggs has an appreciated value in the diagnosis of obscure gastrointestinal bleeding.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Saturated saline flotation method; Hookworm disease; Obscure gastrointestinal bleeding

Hao WG, Wang YJ, Yi WQ, Gao YP. Saturated saline flotation method for diagnosis of hookworm disease: Implications for diagnosis of obscure gastrointestinal bleeding. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1881-1884 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1881.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1881>

## 摘要

**目的:** 探讨饱和盐水浮聚法诊断钩虫病在不明原因消化系出血中的诊断价值.

**方法:** 选取2010-01/2013-12眉山市人民医院收治的初诊断为不明原因消化系出血, 其后通过反复胃镜检查诊断为钩虫病的患者23例. 连续3次, 间隔1 d以上行饱和盐水浮聚法检测大便, 并收集患者的病例资料.

**结果:** 初次钩虫卵阳性13例(56.5%); 再次累积阳性19例(82.6%); 3次累积阳性21例(91.3%).

**结论:** 在钩虫感染流行区采用饱和盐水浮聚法检测寄生虫卵特别是钩虫卵对诊断不明原因消化系出血有一定价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 饱和盐水浮聚法; 钩虫病; 不明原因消化系出血

## ■背景资料

钩虫病是分布极为广泛的寄生虫病之一, 失血性贫血是其最重要的临床特征, 由于钩虫多寄生在空肠上部, 临床表现复杂多样, 且缺乏特征性的表现, 大便常规检查钩虫卵阳性率较低, 故其导致的贫血难以诊断, 是不明原因消化系出血的原因之一.

## ■同行评议者

段义农, 教授, 南通大学医学院病原生物学系

## ■研究前沿

在常规检查的基础上,小肠镜、胶囊内镜、血管造影等是诊断不明原因消化系出血常用的检查方法,但目前这些检查仪器尚未完全普及,且检查费用相对较高,并有一定的适应症和禁忌症,致使部分此类患者不能得到及时的诊治,从而延误疾病的治疗。饱和盐水浮聚法是检查钩虫感染的常用方法,检出率高于直接涂片法。

## ■相关报道

钩虫病的感染率有不断下降的趋势,但在经济欠发达地区仍有较高的感染率,部分地区可达30%以上,是不明原因消化系出血的原因之一,目前文献对不明原因消化道出血报道病例中钩虫病所占的比例约为0-15.22%。

**核心提示:** 钩虫病是分布极为广泛的寄生虫病之一,其导致的贫血难以诊断,是不明原因消化系出血的原因之一。饱和盐水浮聚法反复检测钩虫卵具有较高的阳性率,可以提高钩虫病的诊断水平,在有钩虫感染的地区对诊断其所致的不明原因消化系出血有一定价值。

郝卫刚, 王铁佳, 易文全, 高元平. 饱和盐水浮聚法诊断钩虫病在不明原因消化系出血中的价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1881-1884 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1881.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1881>

## 0 引言

不明原因消化系出血是指常规消化内镜检查(包括检查食管至十二指肠降段的上消化道内镜与肛门直肠至回盲瓣的结肠镜)和X线小肠钡剂检查(口服钡剂或钡剂灌肠造影)或小肠CT不能明确病因的持续或反复发作的出血,占消化系出血的3%-5%,血管畸形、炎症、肿瘤、寄生虫感染等是可能的原因之一<sup>[1]</sup>。回顾分析眉山市人民医院2010-01/2013-12收治的初诊断为不明原因消化系出血,其后通过反复胃镜检查诊断为钩虫病的23例临床病例。连续3次,间隔1 d以上行饱和盐水浮聚法检测大便的结果表明,在钩虫感染存在的地区采用饱和盐水浮聚法检测寄生虫卵特别是钩虫卵对诊断不明原因消化系出血有一定价值,具体病例分析如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2010-01/2013-12眉山市人民医院收治的初诊断为不明原因消化系出血,其后通过反复胃镜检查诊断为钩虫病的患者23例。年龄49-78岁,平均年龄63.7岁;其中女性19例(82.6%),男性4例(17.4%);病程8 mo-3年,平均1.2年;农村居民21例(91.3%),城镇居民2例(8.7%),其中20例(87.0%)有田间劳作史,同时收集相关临床资料。

### 1.2 方法

**1.2.1 检查:** 连续3次,间隔1 d以上行饱和盐水浮聚法检测大便,在低倍镜下,钩虫卵呈椭圆形,壳薄,无色透明,大小约为40  $\mu\text{m}$ ×60  $\mu\text{m}$ ,卵内细胞多为2-4个,卵壳与细胞间有明显的间隙;以检测到钩虫卵为阳性。

**1.2.2 治疗及疗效判定:** 复查血常规后予阿苯达唑200 mg口服,1次/d,连服3 d;治疗结束1 wk后

以同样方法复查钩虫卵情况并行大便隐血检查;1 mo后复查血常规了解血红蛋白水平。

## 2 结果

**2.1 临床表现** 主要的临床表现,本组患者中21例(91.3%)以此为主要症状就诊;其次表现为上腹部不适、隐痛、恶心、呕吐等消化道症状有13例(56.5%);纳差9例(39.1%);大便外观无明显异常20例(87.0%),肉眼黑便3例(13.0%);体格检查发现贫血貌23例(100.0%);上腹部压痛7例(30.4%);下肢水肿3例(13.0%),全身水肿1例(4.3%)。

**2.2 辅助检查** 血常规示血红蛋白: 35-78 g/L, 平均57.3 g/L,均为小细胞低色素性贫血,嗜酸性粒细胞增加3例;大便隐血阳性21例(91.3%);血浆白蛋白17例(73.9%)低于正常,最低至18.7 g/L,平均27.9 g/L;有13例(56.5%)患者因初步诊断贫血原因不明而行骨髓检查,均提示增生性贫血改变;腹部B超检查,平均3.1次,X线小肠钡剂检查18人/次,小肠CT 7人/次,均未见明显异常;平均行胃镜检查3.2次,肠镜1.9次,由末次胃镜检查于十二指肠发现钩虫吸附于肠壁黏膜,呈蛇样盘曲或鳝鱼样蠕动,长约1.0 cm左右,活体呈半透明,红色或乳白色,肠道黏膜表面可见虫蚀状点片状糜烂面,故而诊断钩虫病;

**2.3 饱和盐水浮聚法检测** 初次钩虫卵阳性13例(56.5%);再次累积阳性19例(82.6%);3次累积阳性21例(91.3%)。

**2.4 治疗** 治疗结束1 wk后用饱和盐水浮聚法检测钩虫卵均转阴,大便隐血转阴;1 mo后复查血常规,血红蛋白较治疗前平均升高18.7 g/L,嗜酸性粒细胞升高的病例均恢复正常。

## 3 讨论

不明原因消化系出血是消化内科较常见的一组疾病,多由各种小肠疾病所致,在胃肠镜结合腹部影像学检查的基础上,小肠镜、胶囊内镜、血管造影等是常用的检查方法<sup>[2]</sup>,但目前这些检查仪器尚未完全普及,且检查费用相对较高,并有一定的适应症和禁忌症,致使部分此类患者不能得到及时的诊治,从而延误疾病的治疗。一般认为血管畸形、炎症、肿瘤是较常见的原因,寄生虫特别是钩虫感染在部分人群亦可能是重要的原因,钩虫病是分布极为广泛的寄生虫病之一,在我国流行地区甚广,尤以华南、华中、四川及海南省等地较多,其他各省也很普

遍。据统计, 2005年钩虫总感染率为6.12%<sup>[3]</sup>, 尽管随着社会生活水平的不断提高, 钩虫病的感染率有不断下降的趋势, 但在经济欠发达地区仍有较高的感染率, 部分地区可达30%以上<sup>[4]</sup>, 而失血性贫血是钩虫病最重要的临床特征, 且由于钩虫多寄生在空肠上部, 故其导致的贫血常规检查难以诊断<sup>[5-7]</sup>, 目前文献对不明原因消化系出血报道病例中钩虫病所占的比例约为0-15.22%<sup>[8-10]</sup>。钩虫病的诊断主要依靠临床症状和粪便检查, 但由于钩虫病的临床表现复杂多样, 且缺乏特征性的表现; 故一直以来从粪便中检查钩虫卵是诊断钩虫病最常用的检验方法, 一般用生理盐水涂片法, 根据虫卵大小、色泽、形态、卵壳的厚薄、内部结构特点, 认真观察予以鉴别, 通常在低倍镜下钩虫卵呈椭圆形, 壳薄, 无色透明, 大小约为40 μm×60 μm, 卵内细胞多为2-4个, 卵壳与细胞间有明显的间隙, 据此特点可对钩虫病做出诊断。这种方法虽简便易行, 但由于每次涂片的标本量少, 仅约数10 mg, 容易漏检; 加之近距离检查粪便, 粪臭常令检验操作者不愿主动承担此项工作, 即使显微镜检查, 也是随机抽看几个视野, 不能将整张涂片全部仔细观察一遍。因此, 造成大便常规检查钩虫卵阳性率较低, 漏诊的情况并不少见。

近年来, 随着消化内镜特别是胃肠镜的广泛应用及其操作方法的改进, 钩虫病胃肠镜的检出率逐年增加<sup>[11,12]</sup>。此外, 随着胶囊内镜和小肠镜的推广, 小肠钩虫病的检出率亦有逐步上升的趋势<sup>[13,14]</sup>。但由于成虫多寄生在空肠上部, 少部分在十二指肠和回肠的上中部也可见到, 故通过常规胃肠镜诊断钩虫感染具有一定的偶然性, 阳性率亦较低, 为了排除钩虫感染, 粪便检查虫卵仍然是最可靠的方法。在临床检验工作中, 常常只进行最简单的直接涂片检查。为了提高检出率, 需要采用虫卵浓集的方法。如饱和盐水浮聚法、水洗沉淀集卵法<sup>[15]</sup>。这些检查方法具有所需设备技术简单, 价格便宜, 容易被患者接受等特点。对来自钩虫病流行区的不明原因消化道出血患者, 首先选用饱和盐水浮聚法等粪便检查方法。在排除钩虫感染的可能后, 再考虑进行小肠镜、胶囊内镜、血管造影等检查。特别在尚未开展内镜检查的地区, 常规进行粪便检查钩虫卵。

在本组病例中, 患者年龄较大, 与近年来钩虫病感染的年龄分布规律一致<sup>[4]</sup>, 考虑与目前农

村外出务工人员逐年增多, 农村老龄人替代青壮年成为从事农田劳作的主要人群, 经常下地、重复感染有关; 病程较长, 以女性患者、隐性出血为主, 无明显消瘦及肠道梗阻征象, 均有多次常规胃肠镜检查的阴性结果, 最初临床诊断为不明原因消化系出血, 其后通过胃镜检查诊断为钩虫病, 随即连续3次, 间隔1 d以上行饱和盐水浮聚法检测大便, 总阳性率为91.3%, 说明在有钩虫感染的地区采用饱和盐水浮聚法检测寄生虫卵特别是钩虫卵对诊断不明原因消化道出血有一定价值。

#### 4 参考文献

- 1 中华消化杂志编辑委员会. 不明原因消化道出血诊治推荐流程. 中华消化杂志 2012; 32: 361-362
- 2 Bresci G. Occult and obscure gastrointestinal bleeding: Causes and diagnostic approach in 2009. *World J Gastrointest Endosc* 2009; 1: 3-6 [PMID: 21160643 DOI: 10.4253/wjge.v1.i1.3]
- 3 全国人体重要寄生虫病现状调查办公室. 全国人体重要寄生虫病现状调查报告. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 2005; 23: 332-340
- 4 臧伟, 张雪强, 陈颖丹. 2006-2010年全国土源性线虫病监测分析. 国际医学寄生虫病杂志 2013; 40: 144-148
- 5 Iborra MA, Carrilero B, Segovia M. [Ancylostomiasis: a potential cause of iron deficiency anemia in patients from endemic areas]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009; 27: 427 [PMID: 19625111 DOI: 10.1016/j.eimc.2008.06.012]
- 6 Chen JM, Zhang XM, Wang LJ, Chen Y, Du Q, Cai JT. Overt gastrointestinal bleeding because of hookworm infection. *Asian Pac J Trop Med* 2012; 5: 331-332 [PMID: 22449530 DOI: 10.1016/S1995-7645(12)60051-0]
- 7 Barakat M, Ibrahim N, Nasr A. In vivo endoscopic imaging of ancylostomiasis-induced gastrointestinal bleeding: clinical and biological profiles. *Am J Trop Med Hyg* 2012; 87: 701-705 [PMID: 22869629 DOI: 10.4269/ajtmh.2012.12-0018]
- 8 钟晓琳, 万居易, 邓明明, 杨春. 胶囊内镜在不明原因消化道出血中的诊断价值. 中华消化内镜杂志 2013; 30: 109-111
- 9 Ghoshal UC, Lakshmi CP, Kumar S, Das K, Misra A, Rai P, Mohindra S, Saraswat VA, Kumar A, Choudhuri G. Capsule endoscopy for obscure gastrointestinal bleeding in the tropics: report from India. *Dig Endosc* 2011; 23: 17-23 [PMID: 21198912 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2010.01035]
- 10 杨文伟, 陈春晓. 胶囊内镜诊断钩虫病45例分析. 中华临床感染病杂志 2012; 5: 93-94
- 11 邓大才. 电子胃镜诊断十二指肠钩虫病30例分析. 临床消化病杂志 2009; 6: 372-373
- 12 张鸣青, 王爱民, 张荔群, 杨青平. 结肠镜检查确诊盲肠钩虫病10例. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 2005; 3: 158-158
- 13 Kalli T, Karamanolis G, Triantafyllou K. Hookworm infection detected by capsule endoscopy in a young man with iron deficiency. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: e33 [PMID: 21070870 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.10.026]

#### ■创新盘点

本组病例选取初诊为不明原因消化系出血, 其后通过反复胃镜检查诊断为钩虫病的患者, 连续3次, 间隔1 d以上行饱和盐水浮聚法检测大便, 钩虫卵总阳性率为91.3%。在一定程度上说明饱和盐水浮聚法对诊断钩虫病所致的不明原因消化道出血有一定价值。



## ■同行评价

本文对临床上不明原因消化系出血的诊断具有一定指导意义。

- 14 王璞, 李荣智, 黄志寅, 唐承薇. 胶囊内镜诊断小肠钩虫感染55例报告. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 2013; 31: 140-142

- 15 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 钩虫病的诊断(W.S. 439-2013). 国际流行病学传染病学杂志 2013; 40: 362-365

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 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)

# 粪便乳铁蛋白在大肠癌筛查诊断中的临床意义

李刚, 杨丽莉, 李虎

李刚, 杨丽莉, 李虎, 河北省邯郸市第四医院内六科 河北省邯郸市 056200

李刚, 主治医师, 主要从事胃肠病的基础和临床研究.

作者贡献分布: 此课题由李刚、杨丽莉及李虎共同设计; 研究过程由李刚、杨丽莉及李虎操作完成; 研究所用试剂及实验工具由李虎提供; 数据分析由李刚与杨丽莉完成; 本论文写作由李刚与杨丽莉完成.

通讯作者: 李刚, 主治医师, 056200, 河北省邯郸市峰峰矿区通安路5号, 河北省邯郸市第四医院内六科. gghbmyys@163.com 电话: 0310-5187795

收稿日期: 2014-02-28 修回日期: 2014-03-15

接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## Clinical significance of fecal lactoferrin in screening of colorectal carcinoma

Gang Li, Li-Li Yang, Hu Li

Gang Li, Li-Li Yang, Hu Li, the Fourth Hospital of Handan, Handan 056200, Hebei Province, China

Correspondence to: Gang Li, Attending Physician, the Fourth Hospital of Handan, 5 Tongan Road, Handan 056200, Hebei Province, China. gghbmyys@163.com

Received: 2014-02-28 Revised: 2014-03-15

Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the clinical significance of fecal lactoferrin in the screening of colorectal carcinoma (CRC).

**METHODS:** Thirty-five healthy people as controls, 63 patients with CRC, 59 patients with intestinal polyps, and 50 patients with functional gastroenteropathy were recruited. All of the patients were asked to collect 5-10 g fecal sample during three days after colonoscopy. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to determine fecal lactoferrin level.

**RESULTS:** The median fecal lactoferrin levels in CRC patients, healthy people, patients with intestinal polyps and those with functional gastroenteropathy were 59.30, 2.94, 17.63 and 3.22  $\mu\text{g/g}$ , respectively; there was no significant difference in fecal lactoferrin levels between patients with functional gastroenteropathy and healthy people ( $P > 0.05$ ), but statistical significances were

observed between patients with functional gastroenteropathy and those with CRC or intestinal polyps ( $P < 0.01$ ), between healthy people and patients with CRC or intestinal polyps ( $P < 0.01$ ), and between patients with CRC and those with intestinal polyps ( $P < 0.01$ ). The sensitivity, specificity, accuracy, Youden index, positive likelihood ratio and negative likelihood ratio of fecal lactoferrin for screening of CRC were 88.9%, 85.7%, 87.8%, 0.75, 6.22 and 0.13, respectively.

**CONCLUSION:** Fecal lactoferrin detection is a simple, non-invasive method for screening CRC, with a high sensitivity and specificity.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Lactoferrin; Enzyme-linked immunosorbent assay; Colorectal carcinoma

Li G, Yang LL, Li H. Clinical significance of fecal lactoferrin in screening of colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1885-1889 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1885.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1885>

## 摘要

**目的:** 探讨粪便乳铁蛋白(lactoferrin, LF)在大肠癌(colorectal carcinoma, CRC)筛查诊断中的临床意义.

**方法:** 选择大肠癌患者63例, 健康对照组35例, 结直肠息肉59例, 功能性胃肠病50例; 留取肠镜检查3 d内的粪便样本5-10 g, 应用酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)方法进行粪便乳铁蛋白检测.

**结果:** 大肠癌组粪便乳铁蛋白水平中位数为59.30  $\mu\text{g/g}$ , 健康对照组为2.94  $\mu\text{g/g}$ , 结直肠息肉组为17.63  $\mu\text{g/g}$ , 功能性胃肠病组为3.22  $\mu\text{g/g}$ ; 功能性胃肠病组和对照组之间比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 功能性胃肠病组和对照组分别与大肠癌组、结直肠息肉组比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ); 大肠癌组与结直肠息肉组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ).

## ■背景资料

大肠癌早期由于缺乏特异性症状, 多在中、晚期才被发觉, 故其严重危害人体健康. 目前常用的肿瘤筛查指标敏感度及特异度较低, 而肠镜检查的依从性又不高. 因此临床迫切需要一种较理想的大肠癌筛查诊断指标.

## ■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

虽然大多数关于粪便生物标志物乳铁蛋白的研究重点是针对炎症性肠病,但国外有研究显示他也可用于胃、肠道肿瘤的早期临床筛查,被认为有很好的临床应用前景。

粪便乳铁蛋白筛查诊断大肠癌的敏感度为88.9%、特异度为85.7%、准确度为87.8%、约登指数为0.75、阳性似然比为6.22及阴性似然比为0.13,明显优于临床其他检测指标。

**结论:** 粪便乳铁蛋白可做为一种大肠癌的筛查诊断指标,其检测方法简单、无创伤性、敏感度及特异度较高,有临床应用价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 乳铁蛋白; 酶联免疫吸附测定; 结直肠肿瘤

**核心提示:** 粪便生物标志物乳铁蛋白(lactoferrin)在大肠癌患者粪便中是明显升高的,显著高于健康对照组;其检测方法简单、无创伤性、依从性好、敏感度及特异度较高,做为大肠癌的临床筛查诊断指标较为理想,有一定的临床应用价值。

李刚, 杨丽莉, 李虎. 粪便乳铁蛋白在大肠癌筛查诊断中的临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1885-1889 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1885.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1885>

## 0 引言

大肠癌(包括结肠癌和直肠癌)是临床常见的消化系恶性肿瘤。有统计资料表明,我国大肠癌的发病率和死亡率位居恶性肿瘤的第3、4位。目前大肠癌的临床确诊方法主要是依靠肠镜检查及肠黏膜活检,但由于大肠癌的早期往往缺乏特异性症状,又多在中、晚期才能够被发现,故其治疗效果较差,严重危害人体健康,因此对于大肠癌的早期筛查诊断就显得尤为重要。如今临床用于大肠癌的筛查诊断方法主要是便潜血试验(fecal occult blood test, FOBT)、血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、血清癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、肠癌相关抗原(colorectal carcinoma antigen, CCA)及肠镜检查等<sup>[1]</sup>。上述临床检验指标易受机体及外界多种因素的干扰,检验结果不稳定,有时需多次复查,且出现假阳性及假阴性的概率很大,故其敏感度、特异度较低,临床应用价值有限。而肠镜检查属于有创操作,要求技术高,禁忌症较多,有一定的风险,故患者一般不愿首先接受,尤其是对于那些没有临床症状而仅仅是接受大肠癌早期筛查的人群来说其依从性就更差。近年来国外有研究显示,人体肠道分泌的蛋白做为粪便生物标志物已经开始应用于肠道炎症的检测<sup>[2,3]</sup>,虽然大多数关于粪便生物标记物的研究重点是

针对炎症性肠病,但他们也可用于胃、肠道肿瘤的早期临床筛查<sup>[4]</sup>。本研究通过检测入选者的粪便乳铁蛋白水平,并与临床检验指标FOBT、ESR、CEA及CCA比较,目的在于评价其在大肠癌筛查诊断中的临床意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2012-01/2013-10于我院住院及门诊就诊的患者207例。其中大肠癌患者63例,男33例,女30例,平均年龄49岁(41-70岁);健康对照组35例,男18例,女17例,平均年龄38岁(23-64岁);结直肠息肉59例,男36例,女23例,平均年龄44岁(19-69岁);功能性胃肠病50例,男23例,女27例,平均年龄40岁(32-58岁)。要求所有入选者近期末服用过特殊药物。留取入选者肠镜检查3d内的粪便,约1 h送达医院化验室,待密封后冷冻保存。于肠镜检查当日入选者行ESR、CEA、CCA化验及FOBT。人乳铁蛋白ELISA试剂盒由Netherlands HBT公司提供,酶标仪为USA Bio-Tek ELX800型。粪便萃取液严格按照试剂盒说明书来进行配置。

**1.2 方法** 将人粪便标本解冻后,用取样环取约100 mg,放入试管中一并称其质量,计算出粪便的净含量,按照质量/容积(kg/L) = 1 : 100的比例加入萃取液,旋转并充分过滤样本以除去其中较粗糙的颗粒(>0.6 mm),充分摇晃滤液20 min,最后混匀后取1 mL离心(10000 g, 20 min),取上清液0.5-1.0 mL留存备用,也可冷冻保存。严格按照ELISA试剂盒说明书来进行程序操作。将提取液在室温解冻后,首先以1 : 10的比例稀释,标准品包括8个质量浓度(100、50、25、12.5、6.25、3.13、1.56、0 μg/L),最高浓度标准液的光密度值为2.37,以1 : 10比例稀释的标本若超出标准曲线范围而没有被测出,则需进一步扩大稀释比例直至测出为止,将酶标仪设置在450 nm。

**统计学处理** 应用SPSS13.0统计软件进行分析。所有数据用mean±SD、中位数及全距来表示,组间比较采用非参数检验Mann-Whitney U检验或方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组粪便乳铁蛋白水平的比较** 功能性胃肠病组和健康对照组之间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );功能性胃肠病组和健康对照组分别与大肠癌组、结直肠息肉组比较,差异均有统



表 1 各组粪便乳铁蛋白水平的比较( $\mu\text{g/g}$ )

分组	n	中位数	范围
健康对照	35	2.94	(0.09, 7.42)
功能性胃肠病	50	3.22	(0.32, 8.05)
结直肠息肉	59	17.63 <sup>bd</sup>	(5.72, 39.33)
大肠癌	63	59.30 <sup>bdf</sup>	(6.90, 106.45)

<sup>b</sup> $P<0.01$  vs 健康对照; <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 功能性胃肠病; <sup>f</sup> $P<0.01$  vs 结直肠息肉。

计学意义( $P<0.01$ ); 大肠癌组与结直肠息肉组比较, 差异有统计学意义( $P<0.01$ )(表1)。

2.2 粪便乳铁蛋白、FOBT、ESR、CEA及CCA筛查诊断大肠癌的性能指标比较 粪便乳铁蛋白的临床参考界定值, 按照试剂盒说明书给予的推荐值, 认定为 $7.30 \mu\text{g/g}$ ; ESR的正常参考值为男 $0-15 \text{ mm/h}$ 、女 $0-20 \text{ mm/h}$ ; CEA的正常参考值为 $<5 \mu\text{g/L}$ ; FOBT和CCA结果阳性设定为阳性临界值。分别计算上述各项的敏感度、特异度、约登指数、准确度、阳性似然比及阴性似然比。结果显示: 粪便乳铁蛋白的敏感度为88.9%、特异度为85.7%、约登指数为0.75、准确度为87.8%、阳性似然比为6.22及阴性似然比为0.13, 明显优于其他检验指标。而FOBT的各项性能指标低于粪便乳铁蛋白, ESR的各项性能指标为最低(表2)。

### 3 讨论

乳铁蛋白被认为是一种存在于中性粒细胞颗粒中具有杀菌活性的单体糖蛋白, 其生物学活性和功能较为广泛。他最初由Sorensen于1939年在动物乳中发现, 并由Groves首先从牛乳中分离获得, 因与铁结合形成的复合物呈红色, 故又称之为“红蛋白”。有研究学者<sup>[5]</sup>将从人乳中分离获得的此种蛋白正式命名为乳铁蛋白。当机体的肠道黏膜发生炎性病变时, 中性粒细胞浸润增加, 从而使粪便乳铁蛋白水平升高, 由于其在外界具有较高的稳定性, 故可作为一种炎性标志物。大肠癌病变组织周围一般都有较多的炎性细胞浸润, 故可引起较高浓度的乳铁蛋白表达, 而该蛋白又能从肠道炎症部位跟随炎性细胞持续不断地漏至肠腔内, 因此他在大肠癌患者的粪便中可被轻易地检测到<sup>[6]</sup>。目前国外有研究表明, 大肠癌患者粪便中的乳铁蛋白水平是明显升高的, 其还能作为一种较理想的粪便肿瘤标

志物<sup>[7]</sup>。

当前粪便生物标志物越来越受到国内外诸多学者的关注, 被认为具有较高的临床应用价值, 而国内有关粪便乳铁蛋白的研究尚不多。本研究结果显示, 粪便乳铁蛋白水平在功能性胃肠病组和对照组之间比较, 差异无统计学意义; 功能性胃肠病组和对照组分别与大肠癌组、结直肠息肉组比较, 差异均有统计学意义; 因此我们认为大肠癌组粪便中的乳铁蛋白水平是明显高于其他组的, 这与国外研究结果基本相同<sup>[8]</sup>。此外, 粪便乳铁蛋白筛查诊断大肠癌的敏感度88.9%、特异度85.7%、约登指数0.75、准确度87.8%、阳性似然比6.22是最高的, 而阴性似然比0.13为最低, 明显优于其他肿瘤筛查指标。虽然粪便乳铁蛋白检测并不复杂, 但有几点值得注意: 仔细阅读试剂盒说明书, 严格遵守ELISA操作流程; 采集粪便标本时必须考虑到实验对本收集及保存的特殊要求; 粪便预处理最关键, 其萃取液配置和加入比例要准确, 因其直接影响蛋白提取液质量; 避免内源性 & 外源性因素干扰如室温、仪器精准度及操作手法等。目前常用的肿瘤筛查指标之所以敏感度、特异度及准确度不能令人满意, 分析其原因主要认为, 易受到机体病变组织及外界环境等诸多因素的影响, 假阳性率及假阴性率较高。肠道肿瘤病变组织的出血情况有很大的不确定性, 一般很少表现为持续出血, 尤其是癌肿早期, 很可能由于没有肠道出血而引起FOBT阴性, 而只有当病情进展恶化、肿瘤组织出血量增多时, FOBT的阳性率才会增高, 这就使得FOBT在大肠癌早期筛查诊断中的价值有所降低, 很容易造成漏诊<sup>[9,10]</sup>。CEA和CCA是目前临床较为常用的而被普遍认可的肿瘤标志物, 但他们并非结、直肠癌所特有, 临床上有很多疾病均可引起其不同程度的升高, 故其筛查诊断大肠癌的作用有限, 不过有研究认为多次检查后观察其动态变化, 对大肠癌的预后估计及监测术后复发有一定的临床意义<sup>[11,12]</sup>。ESR是一种非特异性的指标, 在许多生理、病理情况下均可出现增快, 其中就包括恶性肿瘤病变, 他是多种因素互相作用的结果<sup>[13]</sup>, 本研究表明其对大肠癌的筛查诊断价值最小。我们还发现粪便乳铁蛋白在大肠癌组中的敏感度、特异度与机体肿瘤组织的生长部位、大小及其病理分型、分期均没有

### ■ 相关报道

国外有研究表明, 大肠癌患者粪便中的乳铁蛋白水平是明显升高的, 并且肿瘤的生长部位、大小及病理分型、分期对其表达影响很小, 认为是一种较理想的粪便肿瘤标志物。

## ■创新盘点

本研究通过检测入选者的粪便乳铁蛋白水平,并与临床检验指标便潜血试验、血沉、血清癌胚抗原及肠癌相关抗原进行比较,充分评价了其在结肠癌筛查诊断中的临床意义。

表 2 粪便乳铁蛋白、FOBT、ESR、CEA及CCA筛查诊断大肠癌的性能指标比较

筛查指标	敏感度(%)	特异度(%)	约登指数	准确度(%)	阳性似然比	阴性似然比
粪便乳铁蛋白	88.9	85.7	0.75	87.8	6.22	0.13
FOBT	80.9	77.1	0.58	79.5	3.53	0.25
ESR	49.2	68.5	0.18	56.1	1.56	0.74
CEA	54.0	82.9	0.37	64.3	3.16	0.55
CCA	55.6	74.3	0.30	62.2	2.17	0.60

FOBT: 便潜血试验; ESR: 血沉; CEA: 血清癌胚抗原; CCA: 肠癌相关抗原。

明显关联,不受上述情况的影响,这正是当前常用的肿瘤筛查指标所无法比拟的,由此我们推断,粪便乳铁蛋白作为肿瘤标志物在结肠癌筛查诊断中的价值很大。当怀疑肠道有病变时,粪便检查无疑是首选,而在结肠癌的高危人群筛查当中,一旦发现粪便乳铁蛋白水平异常升高,则提示患者需进一步行肠镜检查,以求早期确诊。当然,粪便乳铁蛋白是一种炎性标志物,在肠道发生急、慢性炎性病变时也是明显升高的,这在很多研究中可以得到证实<sup>[14,15]</sup>,这也是其在筛查结肠癌时容易出现误差而引起假阳性的最主要原因。患者由于粪便乳铁蛋白水平升高而进行了肠镜检查,可能有部分患者仅被诊断为炎性或良性病变而非恶性病变,但这对患者来说也具有临床诊治意义。为了降低临床误诊及漏诊率,我们建议必要时可采取个体化的筛查手段,也就是应用包括粪便乳铁蛋白在内的多个肿瘤标志物联合进行结肠癌的筛查诊断,虽然各个标志物之间没有明显关联性,但他们却存在很大的互补性,故可最大程度地提高敏感度及特异度<sup>[16]</sup>。

随着近年来国内生活水平的不断提高及人们饮食习惯的改变,结肠癌的发病率逐年升高,且与年龄、性别、家族史及不同地域等因素有关。临床上如何做到早期筛查诊断并使患者得到及时治疗就显得尤为重要。目前常用的结肠癌筛查指标普遍敏感度、特异度较低,很容易出现漏诊及误诊,已经不能满足临床的需求。而诊断价值较高的内镜检查,由于其具有创伤性,风险大,费用较高等诸多不利因素,患者一般不愿将其作为首选检查,故临床目前迫切需要一种较为理想的结肠癌筛查诊断指标。通过本研究可看出,粪便乳铁蛋白应该是一个较好的选择,由于其检测方法简单,成本较低,没有创伤性,重复检测的依从性很好,敏感度及特异度较高,故完全可应用在结肠癌的筛查诊断当中,同

时也可利用其来对结肠癌的高危人群进行临床跟踪和随访。

## 4 参考文献

- 1 张会涛, 刘晓琨, 沈滨, 杜雅菊. 大肠癌外周血肿瘤标志物的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 991-995
- 2 Sipponen T. Diagnostics and prognostics of inflammatory bowel disease with fecal neutrophil-derived biomarkers calprotectin and lactoferrin. *Dig Dis* 2013; 31: 336-344 [PMID: 24246984 DOI: 10.1159/000354689]
- 3 Langhorst J, Boone J. Fecal lactoferrin as a non-invasive biomarker in inflammatory bowel diseases. *Drugs Today (Barc)* 2012; 48: 149-161 [PMID: 22384454 DOI: 10.1358/dot.2012.48.2.1732555]
- 4 Hirata I, Hoshimoto M, Saito O, Kayazawa M, Nishikawa T, Murano M, Toshina K, Wang FY, Matsuse R. Usefulness of fecal lactoferrin and hemoglobin in diagnosis of colorectal diseases. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1569-1574 [PMID: 17461450]
- 5 Rousseau E, Michel PP, Hirsch EC. The iron-binding protein lactoferrin protects vulnerable dopamine neurons from degeneration by preserving mitochondrial calcium homeostasis. *Mol Pharmacol* 2013; 84: 888-898 [PMID: 24077968 DOI: 10.1124/mol.113.087965]
- 6 Ayling RM. New faecal tests in gastroenterology. *Ann Clin Biochem* 2012; 49: 44-54 [PMID: 22113956 DOI: 10.1258/acb.2011.011150]
- 7 Hirata I. [Topics of colorectal-cancer screening and surveillance]. *Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 2007; 104: 987-993 [PMID: 17611374]
- 8 Sherwood RA. Faecal markers of gastrointestinal inflammation. *J Clin Pathol* 2012; 65: 981-985 [PMID: 22813730 DOI: 10.1136/jclinpath-2012-200901]
- 9 Steele RJ, McClements P, Watling C, Libby G, Weller D, Brewster DH, Black R, Carey FA, Fraser CG. Interval cancers in a FOBT-based colorectal cancer population screening programme: implications for stage, gender and tumour site. *Gut* 2012; 61: 576-581 [PMID: 21930729 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300535]
- 10 Chauvin P, Josselin JM, Heresbach D. Incremental net benefit and acceptability of alternative health policies: a case study of mass screening for colorectal cancer. *Eur J Health Econ* 2012; 13: 237-250 [PMID: 21305335 DOI: 10.1007/s10198-011-0300-8]
- 11 Laubert T, Bente V, Freitag-Wolf S, Voulgaris H, Oberländer M, Schillo K, Kleemann M, Bürk C, Bruch HP, Roblick UJ, Habermann JK. Aneuploidy

- and elevated CEA indicate an increased risk for metachronous metastasis in colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 767-775 [PMID: 23296402 DOI: 10.1007/s00384-012-1625-1]
- 12 Selcukbiricik F, Bilici A, Tural D, Erdamar S, Soy-luk O, Buyukunal E, Demirelli F, Serdengeci S. Are high initial CEA and CA 19-9 levels associated with the presence of K-ras mutation in patients with metastatic colorectal cancer? *Tumour Biol* 2013; 34: 2233-2239 [PMID: 23625655 DOI: 10.1007/s13277-013-0763-6]
- 13 Keramidaris D, Koronakis N, Lagoudianakis EE, Pappas A, Koukoutsis I, Chrysikos I, Karavitis G, Toutouzas K, Manouras A. Procalcitonin in patients with colorectal cancer. *J BUON* 2013; 18: 623-628 [PMID: 24065474]
- 14 Abraham BP, Kane S. Fecal markers: calprotectin and lactoferrin. *Gastroenterol Clin North Am* 2012; 41: 483-495 [PMID: 22500530 DOI: 10.1016/j.gtc.2012.01.007]
- 15 Sidhu R, Wilson P, Wright A, Yau CW, D'Cruz FA, Foye L, Morley S, Lobo AJ, McAlindon ME, Sanders DS. Faecal lactoferrin--a novel test to differentiate between the irritable and inflamed bowel? *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 1365-1370 [PMID: 20331581 DOI: 10.1111/j.1365-2036]
- 16 珠珠, 黄鉴, 李文亮, 洪敏, 殷亮, 杨军, 陈明清, 董坚. 血清CEA、CA199、CA125、CA242联合检测在大肠癌诊断中的意义. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 2601-2605

## ■同行评价

该文设计合理, 结论可靠, 能够紧密联系临床, 具有较好的学术价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 不同中医治则对结直肠癌术后复发转移的影响

侯风刚, 石 齐, 王伟炳, 陈 旻, 余青青, 任建琳, 李 文, 殷佩浩, 李 琦, 花宝金

## ■背景资料

结直肠癌是全球最常见的恶性肿瘤之一, 术后的高复发转移率是当前治疗一个瓶颈。传统中医药在预防结直肠癌术后复发转移上有较好疗效, 其作用越来越受到关注。

侯风刚, 石齐, 陈旻, 余青青, 任建琳, 李文, 上海中医药大学附属中医医院肿瘤科 上海市 200071

王伟炳, 复旦大学医学院公共卫生学院流行病学教研室 上海市 310000

殷佩浩, 上海中医药大学附属普陀医院肿瘤科 上海市 200062

李琦, 上海中医药大学附属曙光医院肿瘤科 上海市 200021

花宝金, 中国中医科学院广安门医院肿瘤科 北京市 100053

侯风刚, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事胃肠道肿瘤的中医药防治研究。

上海市卫生局科研基金资助项目, No. 20134117  
上海市卫生局重点项目基金资助项目, No. 20124024

作者贡献分布: 方案设计由花宝金、侯风刚及王伟炳完成; 资料收集、随访由侯风刚、石齐、陈旻、余青青、任建琳、李文、殷佩浩及李琦共同完成; 统计分析由王伟炳与侯风刚完成; 文章撰写由侯风刚完成; 数据审核由石齐与李文完成; 文章修改由花宝金完成。

通讯作者: 花宝金, 教授, 主任医师, 医学博士, 博士后, 博士研究生导师, 100053, 北京市西城区北线阁5号, 中国中医科学院广安门医院肿瘤科。fghou555@hotmail.com

电话: 010-85976699

收稿日期: 2013-12-26 修回日期: 2014-03-23

接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-08

Line Court, Xicheng District, Beijing 100053, China. fghou555@hotmail.com

Received: 2013-12-26 Revised: 2014-03-23

Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To analyze the effects of three different Chinese medicine treatments, Fuzheng, Quxie and Fuzhengquxie, on postoperative relapse and metastasis of colorectal cancer (CRC).

**METHODS:** The data were collected on the basis of non-interventional clinical research. Life-table, Wilcoxon (Gehan) test and Cox proportional hazard model (multivariate analysis) were used to reveal the effect of Chinese medicine treatments on relapse and metastasis of postoperative CRC.

**RESULTS:** The results of life-table analysis and Wilcoxon (Gehan) test showed that there were significant correlations between DFS and TNM stage ( $P = 0.000$ ), age ( $P = 0.045$ ), histopathologic differentiation ( $P = 0.000$ ), radiotherapy ( $P = 0.000$ ) and Chinese medicine treatment ( $P = 0.001$ ). The differences between Fuzheng *vs* control, Quxie *vs* control and Fuzhengquxie *vs* control were all statistically significant ( $P = 0.000, 0.005, 0.019$ , respectively). Cox multivariate analysis showed that TNM stage, age, histopathologic differentiation, radiotherapy and Chinese medicine treatment were all independent influencing factors, among which Chinese medicine treatment was a protective one. Pairwise comparisons of Fuzheng, Quxie and Fuzhengquxie revealed that there were no statistical differences ( $P > 0.05$  for all) in the 3- and 5-year accumulative survival rates (YDFSR), however, the 10-YDFSR and median DFS were longer in the Quxie group than in the other two groups (47.00% *vs* 33.00%, 32.00%; 91.28 mo *vs* 44.84 mo, 52.45 mo;  $P < 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** The Chinese medicine treatments directed by therapeutic guidance of Fuzheng, Quxie and Fuzhengquxie can all inhibit postoperative relapse and metastasis of CRC. In the prevention of postoperative relapse and me-

## Effects of different Chinese medicine treatments on postoperative relapse and metastasis of colorectal cancer: A non-interventional clinical study

Feng-Gang Hou, Qi Shi, Wei-Bing Wang, Min Chen, Qing-Qing Yu, Jian-Lin Ren, Wen Li, Pei-Hao Yin, Qi Li, Bao-Jin Hua

Feng-Gang Hou, Qi Shi, Min Chen, Qing-Qing Yu, Jian-Lin Ren, Wen Li, Oncology Department of Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China

Wei-Bing Wang, Department of Epidemiology, Public Health School of Fudan University, Shanghai 310000, China

Pei-Hao Yin, Oncology Department of Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China

Qi Li, Oncology Department of Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China

Bao-Jin Hua, Oncology Department of Guanganmen Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100053, China

Supported by: Foundation of Shanghai Municipal Health Bureau, No. 20134117; and Key Foundation of Shanghai Municipal Health Bureau, No. 20124024

Correspondence to: Bao-Jin Hua, Professor, Chief Physician, Oncology Department of Guanganmen Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, 5 North

## ■同行评议者

徐列明, 教授, 上海中医药大学附属曙光医院(东)肝二科; 魏睦新, 教授, 南京医科大学第一附属医院

tastasis of CRC with Chinese medicine therapy, we do not have to limit to any of the three Chinese medicine treatments, but should focus on treatment based on syndrome differentiation. After patients achieve 5-year DFS, the appropriate application of Fuzheng therapy on the basis of syndrome differentiation and treatment may contribute to better long-term DFS.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Colorectal cancer; Postoperative relapse and metastasis; Fuzheng treatment; Quxie treatment; Fuzhengquxie treatment

Hou FG, Shi Q, Wang WB, Chen M, Yu QQ, Ren JL, Li W, Yin PH, Li Q, Hua BJ. Effects of different Chinese medicine treatments on postoperative relapse and metastasis of colorectal cancer: A non-interventional clinical study. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1890-1896 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1890.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1890>

## 摘要

**目的:** 评价并比较扶正、祛邪、扶正祛邪治则(通过这3种治则指导的中医治疗来反映, 即扶正治疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗)对结直肠癌术后复发转移的影响。

**方法:** 基于采用非干预性临床研究的方法收集数据; 采用寿命表法、Wilcoxon(Gehan)检验、Cox比例风险模型等统计学方法分析并比较扶正、祛邪、扶正祛邪三种不同中医治疗对结直肠癌术后复发转移的影响。

**结果:** 寿命表法和Wilcoxon(Gehan)检验的结果显示, TNM分期( $P = 0.000$ )、年龄( $P = 0.045$ )、组织分化程度( $P = 0.000$ )、放疗( $P = 0.000$ )、中药治疗( $P = 0.001$ )在累积无病生存率上的差异有统计学意义。不同中药治疗按扶正、祛邪、扶正祛邪区别并分别与对照组比较, 差异均有统计学意义( $P = 0.000$ ,  $P = 0.005$ ,  $P = 0.019$ )。Cox比例风险模型的多因素分析显示, TNM分期、年龄、组织分化程度、放疗、中药治疗是结直肠癌术后复发转移的独立影响因素, 其中中药治疗是保护性因素。Wilcoxon(Gehan)检验对扶正、祛邪、扶正祛邪治疗进行两两比较, 三者在术后无病生存上的差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。扶正治疗在3年、5年的年累计无病生存率(year accumulative disease free survival rate, YDFSR)上与祛邪、扶正祛邪治疗无明显差别, 但在10年YDFSR上明显高于后两者(47.00%、

33.00%、32.00%), 在中位无病生存期方面, 也明显长于后两者(91.28 mo、44.84 mo、52.45 mo)。

**结论:** 扶正、祛邪、扶正祛邪治则指导的中医治疗均能有效抑制结直肠癌术后复发转移; 在预防结直肠癌术后复发转移的中医药治疗上, 不必过于囿于扶正、祛邪、扶正祛邪治疗的任何一种, 具体治则和治法仍应突出辨证论治的重要性; 患者在获得5年无病生存后, 其治疗在辨证论治的基础上, 适当考虑扶正中药的应用, 可能能获得更好的远期无病生存率。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 结直肠癌; 术后复发转移; 扶正; 祛邪; 扶正祛邪

**核心提示:** 在预防结直肠癌术后复发转移的中医药治疗上, 扶正、祛邪、扶正祛邪治则指导下的中医药治疗均有显著疗效; 具体治疗仍需重视辨证论治; 在获得5年无病生存后, 适当应用扶正中药, 可能能获得更好的远期无病生存率。

侯风刚, 石齐, 王伟炳, 陈旻, 余青青, 任建琳, 李文, 殷佩浩, 李琦, 花宝金. 不同中医治则对结直肠癌术后复发转移的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(13): 1890-1896 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1890.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1890>

## 0 引言

术后复发转移是结直肠癌相关死亡的重要原因, 降低术后复发转移是结直肠癌术后治疗最需要关注的问题。有研究表明, 中医药能有效地减少结直肠癌术后的复发和转移<sup>[1]</sup>。扶正治疗(扶正中药为主)、祛邪治疗(祛邪中药为主)、扶正祛邪治疗(扶正中药与祛邪中药并重)是扶正祛邪治则的临床具体运用原则。结直肠癌中医治疗非常复杂, 在扶正祛邪原则的临床具体应用上存在较大争议, 尽管一些研究提示扶正治疗<sup>[2,3]</sup>或扶正祛邪治疗<sup>[4,5]</sup>可能会存在一定优势, 但尚无直接的循证依据。本研究尝试评价并比较上述3种治则对结直肠癌术后复发转移的影响。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 病例来自上海市中医医院、普陀医院、曙光医院3家医院于2005-01/2012-08收治的结直肠癌患者, 并符合以下各种要求者。诊断标准: 参照《新编常见恶性肿瘤诊治规范(大肠

## ■ 研发前沿

扶正、祛邪、扶正祛邪治疗是中医扶正祛邪治则的临床具体运用原则。在预防结直肠癌术后复发转移上, 有关三种治疗之间的优劣一直存在较大争议, 给临床具体治疗带来困惑。

## ■相关报道

一些研究提示扶正治疗或扶正祛邪治疗可能会存在一定优势,但尚无直接循证依据。

表 1 变量赋值表

因素	赋值
性别	男: 1; 女: 2
年龄	<60岁: 1; ≥60岁: 2
肿瘤部位	结肠: 1; 直肠: 2
分化程度	低分化: 1; 中分化: 2; 高分化: 3
分期	I期: 1; II期: 2; III期: 3
放疗	无: 0; 有: 1
化疗	无: 0; 有: 1
合并症	无: 0; 有: 1
中药类别	扶正组: 1; 祛邪组: 2; 扶正祛邪组: 3; 对照组(未服用): 4
复发转移时间	月
研究结局	删失: 0; 复发转移: 1

癌分册)》的大肠癌诊断标准,依据手术病理组织学诊断明确;依据国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)结直肠癌TNM分期系统(第六版)进行临床病理分期。纳入标准: (1)有明确手术病理组织学诊断者; (2)TNM分期为I-III期的患者; (3)年龄≥18岁; (4)知情同意并接受随访者; (5)临床相关病历资料(包括中药方)完整。排除标准: (1)不符合上述诊断标准; (2)孕妇、有精神疾病患者; (3)二重癌或多重癌患者; (4)因意外死亡的患者。有上述任何一项者均不能入选。删失标准: (1)观察期满仍未复发; (2)生存但中途失访; (3)死于其他疾病。

## 1.2 方法

1.2.1 病例收集: 采用非干预性临床研究的方法收集数据。具体方法: 通过3家医院的电子病历管理系统进行检索,按患者信息查找病例原始资料,对符合要求的患者进行信息登记,并通过随访获取并完善患者的各项资料信息,然后对其相关资料进行整理。

1.2.2 随访: 从患者首次入选开始随访,时间截止到2013-08-30,病例信息、门诊记录、电话问询为随访的主要方式,至患者出现复发或转移、死亡、失访或最后一次随访时间为终点,研究结局为患者复发或转移,每6 mo随访一次。

1.2.3 中药治疗的相关规定: 中成药规定: 连续服用中成药6 mo及以上时间者为系统服用中药,否则为“无”。根据服用的中成药将患者接受的中药治疗按扶正、祛邪、扶正祛邪分为三类: (1)扶正治疗(贞芪扶正胶囊、十一味参芪胶囊、金水宝、百令胶囊等扶正中成药,服用其中的一种或多种); (2)祛邪治疗(康赛迪胶囊、

平消胶囊、肿节风片、金龙胶囊等祛邪中成药,服用其中一种或多种); (3)扶正祛邪治疗(扶正药和祛邪药同用)。中药煎剂规定: 连续服用中药煎剂6 mo及以上时间者为系统服用中药,否则为“无”。中药分为3类: (1)扶正方药,处方中扶正中药味数、剂量≥全方3/5的为“扶正”方药; (2)祛邪方药,处方以清热解毒、活血化瘀、化痰散结、理气消滞等祛邪药物为主,规定为处方中祛邪中药味数、剂量≥全方3/5的为“祛邪”方药; (3)扶正祛邪方药,处方中扶正中药和祛邪中药在味数、剂量上大体相当。中药类别判定: 由3名中医肿瘤专业的副主任医师及以上职称的医师以“背靠背”方式对每1个患者服用的中药(含中成药)进行综合分析,判别其所属类别; 对于有明显疑议的处方,由另外3名中医肿瘤专家共同讨论后决定。根据中药治疗将患者分为扶正组、祛邪组、扶正祛邪组、对照组(未系统服用中成药或中药煎剂的归为对照组)。

1.2.4 观察指标: 性别、年龄、肿瘤部位、分化程度、TNM分期、合并症(糖尿病、心脑血管疾病、慢性阻塞性肺疾病)、放疗、化疗、中药应用。无病生存(disease-free survival, DFS)期: 从手术后开始至疾病复发转移或各种原因导致患者死亡的时间。累积无病生存率(cumulative proportion of DFS): 患者经过 $t$ 个单位时间后仍无病存活的概率。

1.2.5 数据收集及转换: 根据病例报告表(case report form, CRF)的项目采用Microsoft Excel管理软件建立病例资料数据库,符合标准病例的相关信息录入数据库,并对其编码赋值(表1)。

**统计学处理** 应用SPSS16.0统计软件。单因素分析采用寿命表法和Wilcoxon(Gehan)检验,寿命表法计算累积无病生存率并绘制无病生存曲线, Wilcoxon(Gehan)对组间无病生存分布差异进行显著性检验。多因素分析采用Cox比例风险模型。所有统计分析的显著性标准为 $\alpha = 0.05$ ,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 一般性资料 共有569例I-III期的结直肠癌术后患者入组并进行了随访,其中复发转移282例,未复发转移287例,删失数据比50.44%。所有病例中,失访18例,与结直肠癌无关死亡43例。

2.2 结直肠癌术后复发转移可能影响因素的单因素分析 我们对年龄、性别、肿瘤部位、中



表 2 影响结直肠癌术后复发转移的单因素分析

影响因素	<i>n</i>	<i>P</i> 值
性别		0.105
男	294	
女	275	
年龄(岁)		0.045
<60	348	
≥60	221	
肿瘤部位		0.110
结肠癌	351	
直肠癌	218	
组织分化程度		0.000
低分化	83	
中分化	404	
高分化	82	
放疗		0.000
无	521	
有	48	
化疗		0.479
无	108	
有	461	
合并症		0.145
无	306	
有	263	
TNM分期		0.000
I 期	93	
II 期	226	
III 期	250	
中医治疗		0.001
扶正	158	0.000
祛邪	65	0.005
扶正祛邪	95	0.019
对照	251	

*P*值根据Wilcoxon(Gehan)检验得出。

药治疗等9个可能影响患者术后复发转移的临床、病理特征用单因素分析方法进行了分析,表2概括了分析的结果。性别( $P = 0.105$ )、肿瘤部位( $P = 0.110$ )、化疗( $P = 0.479$ )、合并症( $P = 0.145$ )在无病生存上均无统计学差异。差异有统计学意义的是TNM分期( $P = 0.000$ )、年龄( $P = 0.045$ )、组织分化程度( $P = 0.000$ )、放疗( $P = 0.000$ )、中药治疗( $P = 0.001$ )。进一步将不同中药治疗分别按扶正、祛邪、扶正祛邪与对照组比较,均有统计学意义( $P = 0.000$ ,  $P = 0.005$ ,  $P = 0.019$ )。图1, 2分别显示了中药治疗与对照组、不同中药治疗与对照组在无病生存上的差异。

2.3 结直肠癌术后复发转移影响因素的多因素分析 将中药治疗、组织分化程度、TNM分

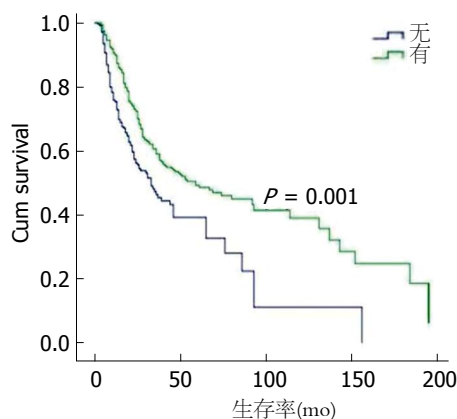


图 1 中药治疗与对照组在无病生存上的差异。

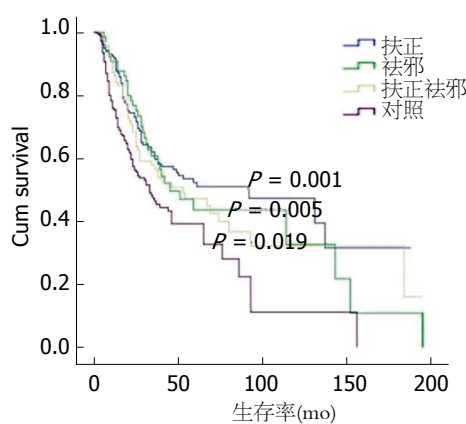


图 2 不同中药治疗与对照组在无病生存上的差异。

期、放疗、年龄因素纳入Cox比例风险模型进行多因素分析,表3显示了变量筛选过程中每一步似然函数值的变化。表3给出了逐步回归法(Forward LR)经过5步筛选,第5步似然函数值的差值为13.683,  $P = 0.000$ ,说明第5步的模型最佳。分析的最终结果显示:放疗( $P = 0.000$ )、中药治疗( $P = 0.000$ )、年龄( $P = 0.000$ )、分化程度( $P = 0.000$ )、TNM分期( $P = 0.000$ )在无病生存上的差异均有统计学意义,说明这五个因素是结直肠癌术后复发转移的独立影响因素。表4概括了Cox比例风险模型分析的结果。

多因素分析(表4)显示,与对照组相比较,中药治疗的差异有统计学意义( $P = 0.000$ ),其中,扶正治疗( $P = 0.000$ )、祛邪治疗( $P = 0.008$ )、扶正祛邪治疗( $P = 0.001$ )也均有统计学意义。扶正治疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗的相对危险度RR分别为0.509(95%CI: 0.378-0.687)、0.596(95%CI: 0.406-0.875)、0.544(95%CI: 0.386-0.768),说明在接受扶正治疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗的结直肠癌术后复发转移的风险分别是对照组(不接受中药治疗)的0.509

#### ■创新盘点

运用循证医学的理念和研究方法评价并比较三种治疗的效果,以期为此3种治疗在临床的合理运用提供循证依据。

## ■应用要点

该研究的结果通过评价并比较3种治疗的优劣,有助于解决当前中医临床治疗的困惑。

表 3 模型系数的综合检验

步骤	(-2)倍的对数似然函数的值	Overall (score)			Change from previous step			Change from previous block		
		$\chi^2$	df	Sig.	$\chi^2$	df	Sig.	$\chi^2$	df	Sig.
1	3137.034	75.688	2	0.000	79.537	2	0.000	79.537	2	0.000
2	3117.917	104.040	3	0.000	19.117	1	0.000	98.654	3	0.000
3	3092.396	129.517	6	0.000	25.521	3	0.000	124.176	6	0.000
4	3073.556	148.485	8	0.000	18.839	2	0.000	143.015	8	0.000
5	3059.873	160.894	9	0.000	13.683	1	0.000	156.698	9	0.000

表 4 中药治疗等结直肠癌术后复发转移影响因素的多因素分析 (Cox比例风险模型)

影响因素	P值	RR	95.0%CI
放疗	0.000	2.691	1.921-3.769
中药治疗	0.000		
扶正 vs 对照	0.000	0.509	0.378-0.687
祛邪 vs 对照	0.008	0.596	0.406-0.875
扶正祛邪 vs 对照	0.001	0.544	0.386-0.768
年龄	0.000	1.612	1.256-2.068
分化程度	0.000		
低 vs 高	0.000	2.777	1.729-4.459
中 vs 高	0.010	1.749	1.143-2.677
TNM分期	0.000		
I vs III	0.000	0.187	0.116-0.301
II vs III	0.000	0.480	0.370-0.622

倍、0.596倍、0.544倍,也即说明接受三者治疗均比不接受中药治疗要好。

**2.4 不同中药治疗对结直肠癌术后复发转移影响的比较分析** 对中药治疗的单因素和多因素分析的结果是一致的,与对照组相比较,其差异均有统计学意义。因此,我们进一步比较分析了不同中药治疗对结直肠癌术后复发转移的影响。应用寿命表法计算不同中药治法的3年、5年累积生存率和中位无病生存期,并应用Wilcoxon(Gehan)检验对不同中药治疗进行两两比较(表5)。结果显示,与对照组相比较,扶正治疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗在结直肠癌术后无病生存上的差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),这与单因素和多因素分析的结果是一致的。3种不同治法之间的两两比较显示,其差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。在累计无病生存率(year accumulative disease free survival rate, YDFSFR)方面,三种治法的3年YDFSFR分别为60.00%、61.00%、57.00%, 5年YDFSFR分别为51.00%、46.00%、47.00%, 10年YDFSFR分别为47.00%、33.00%、32.00%, 均显著高于对照组;扶正治

疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗的3年YDFSFR、5年YDFSFR差别不大,但扶正治疗的10年YDFSFR明显比后两者高。在中位无病生存期方面,三种治法分别为91.28、44.84、52.45 mo,均比对照组的32.63 mo延长,其中扶正治疗延长最为显著。

## 3 讨论

结直肠癌是全球最常见的恶性肿瘤之一,其发病率在男性和女性中均居第3位<sup>[6]</sup>,也是肿瘤相关性死亡的第2大常见原因<sup>[7,8]</sup>。近年来,随着手术、放化疗方案的改进及肿瘤血管抑制剂的应用,结直肠癌的5年生存率提高到60%-75%<sup>[9]</sup>,但术后的复发转移仍居高不下,成为结直肠癌死亡的主要原因。结直肠癌术后的有效防治成为降低结直肠癌术后复发转移风险的关键。

放化疗是当前最重要的结直肠癌辅助治疗手段,抗肿瘤血管治疗也是近年来开发的辅助治疗药物。除放疗肯定能在一定程度上降低结直肠癌术后复发转移率外,化疗的作用和抗肿瘤血管治疗对结直肠癌术后的作用仍存在争议<sup>[10-12]</sup>,迄今为止,仍有超过1/4的病例会在术后出现复发转移<sup>[13,14]</sup>。近些年来,包括中医药在内的补充替代医学对于结直肠癌术后复发转移的预防作用逐步引起人们的重视。在亚洲,主要是在中国,中医药治疗已成为包括手术在内的结直肠癌综合治疗中的重要组成部分<sup>[1,15-17]</sup>,越来越多的研究表明,中药能有效地降低结直肠癌术后复发转移的风险<sup>[18-20]</sup>。

本研究中,单因素和多因素分析的结果显示,除年龄<sup>[21]</sup>、放疗<sup>[22,23]</sup>、分化程度<sup>[24-26]</sup>、TNM分期<sup>[27,28]</sup>外,中药治疗也是结直肠癌术后复发转移的独立影响因素,而且中药治疗中的扶正治疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗与对照组比较也均有统计学意义( $P<0.05$ )。多因素分析的结果还显示,接受这3种中药治疗的结直肠癌术后复发转移的风险分别是对照组(不接受中药治疗)的

表 5 不同中医治疗对结直肠癌术后复发转移的影响

中医治疗	n	3YDFS(%)	5YDFS(%)	10YDFS(%)	Medians(mo)	P值			
						扶正	祛邪	扶正祛邪	对照
扶正	158	60.00	51.00	47.00	91.28	—	0.936	0.359	0.000
祛邪	65	61.00	46.00	33.00	44.84	0.936	—	0.427	0.005
扶正祛邪	95	57.00	47.00	32.00	52.45	0.359	0.427	—	0.019
对照	251	45.00	39.00	11.00	32.63	0.000	0.005	0.019	—

寿命表法计算累积无病生存率(YDFS). Wilcoxon(Gehan)检验比较不同中药治疗的影响(两两比较). Medians: 中位无病生存期.

0.509倍、0.596倍、0.544倍,说明这三种治疗是保护性的影响因素,均能有效降低结直肠癌的术后复发转移.

扶正治疗、扶正祛邪治疗在结直肠癌的中医药治疗中颇受重视,近年来多项研究也显示了益气补肾<sup>[29]</sup>、气血双补<sup>[3,30]</sup>等扶正治疗在预防结直肠癌术后复发转移中所起的重要作用,而扶正祛邪治疗也有多项类似报道<sup>[4,31]</sup>.祛邪治疗能在一定程度上能延长结直肠癌患者生存期,提高其生存质量,减少致死率<sup>[32,33]</sup>,但是否能有效降低术后复发转移率,目前尚存在争议<sup>[34]</sup>.本项研究的结果表明,祛邪治疗也能有效抑制结直肠癌术后复发转移.在此基础上,我们对扶正治疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗进行了两两比较,所有比较均无统计学意义( $P>0.05$ ),说明在预防结直肠癌术后复发转移方面,这三种治疗总体上并无较大差异.

本研究采用非干预性的临床研究方法,分析数据来源于临床医师辨证论治的病例资料.结合以上研究结果,我们认为,采用扶正、扶正祛邪还是祛邪治疗,总体上应当根据患者的具体临床表现,而不必过于拘于扶正、祛邪或是扶正祛邪观点的限制,中医药治疗在预防结直肠癌术后复发转移上仍应突出辨证论治的思维.

尽管扶正、祛邪、扶正祛邪治疗三者之间在总体无病生存上的差异并无统计学意义,三者在3年、5年YDFS上的差异并不明显,但在10年YDFS上,扶正治疗明显高于祛邪治疗和扶正祛邪治疗(47.00%、33.00%、32.00%);而且扶正治疗的中位生存期也显著长于后两者(91.28、44.84、52.45 mo),提示其在结直肠癌术后复发转移的远期预防上可能存在一定优势.因此,在获得5年无病生存后,在辨证论治基础上,适当考虑扶正中药的应用,有可能能获得更好地远期无病生存率.

## 4 参考文献

- Zhong LL, Chen HY, Cho WC, Meng XM, Tong Y. The efficacy of Chinese herbal medicine as an adjunctive therapy for colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Complement Ther Med* 2012; 20: 240-252 [PMID: 22579437 DOI: 10.1016/j.ctim.2012.02.004]
- Lin J, Dong HF, Oppenheim JJ, Howard OM. Effects of astragali radix on the growth of different cancer cell lines. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 670-673 [PMID: 12679907]
- 黎治平, 曾纪权, 胡爱民. 气血双补法联合化疗对结直肠癌术后复发、转移预防的临床研究. *实用癌症杂志* 2010; 25: 618-620
- 雒琳, 杨宇飞, 李培红, 吴煜, 张建伟, 吴显文, 高书棣, 刘端祺. 中药扶正胶囊和祛邪胶囊减少II、III期大肠癌术后复发转移的队列研究. *中国中西医结合杂志* 2006; 26: 677-680
- 刘静, 王维平, 周奕阳, 方震宇, 侯风刚. 健脾活血中药联合化疗治疗大肠癌术后患者的疗效观察. *中国中西医结合杂志* 2005; 25: 207-209.
- Siegel R, DeSantis C, Virgo K, Stein K, Mariotto A, Smith T, Cooper D, Gansler T, Lerro C, Fedewa S, Lin C, Leach C, Cannady RS, Cho H, Scoppa S, Hachey M, Kirch R, Jemal A, Ward E. Cancer treatment and survivorship statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 220-241 [PMID: 22700443 DOI: 10.3322/caac.21149]
- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63: 11-30 [PMID: 23335087 DOI: 10.3322/caac.21166]
- Strimpakos AS, Cunningham D, Mikropoulos C, Petkar I, Barbachano Y, Chau I. The impact of carcinoembryonic antigen flare in patients with advanced colorectal cancer receiving first-line chemotherapy. *Ann Oncol* 2010; 21: 1013-1019 [PMID: 19861580 DOI: 10.1093/annonc/mdp449]
- André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, Topham C, Zaninelli M, Clingan P, Bridgewater J, Tabah-Fisch I, de Gramont A. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2343-2351 [PMID: 15175436]
- Marshall JL, Haller DG, de Gramont A, Hochster HS, Lenz HJ, Ajani JA, Goldberg RM. Adjuvant Therapy for Stage II and III Colon Cancer: Consensus Report of the International Society of Gastrointestinal Oncology. *Gastrointest Cancer Res* 2007; 1: 146-154 [PMID: 19262703]
- Young A, Rea D. ABC of colorectal cancer: treatment of advanced disease. *BMJ* 2000; 321: 1278-1281

## ■同行评价

该文尝试评价和比较不同中医治则对结直肠癌术后复发转移的影响,有重要的临床意义和一定的学术价值.由于研究内容非常复杂,目前没有成熟的研究方法,难度很大,正因为此,作者在考虑复杂因素影响的基础上,运用循证医学的理念和研究方法进行大胆尝试在一定程度上值得肯定.



- [PMID: 11082094]
- 12 Xu Y, Li Q, Li XY, Yang QY, Xu WW, Liu GL. Short-term anti-vascular endothelial growth factor treatment elicits vasculogenic mimicry formation of tumors to accelerate metastasis. *J Exp Clin Cancer Res* 2012; 31: 16 [PMID: 22357313 DOI: 10.1186/1756-9966-31-16]
  - 13 万德森. 结直肠癌流行病学与预防. 中国中西医结合外科杂志 2011; 17: 3-7
  - 14 Meyerhardt JA, Mayer RJ. Systemic therapy for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2005; 352: 476-487 [PMID: 15689586]
  - 15 Li X, Yang G, Li X, Zhang Y, Yang J, Chang J, Sun X, Zhou X, Guo Y, Xu Y, Liu J, Bensoussan A. Traditional Chinese medicine in cancer care: a review of controlled clinical studies published in chinese. *PLoS One* 2013; 8: e60338 [PMID: 23560092 DOI: 10.1371/journal.pone.0060338]
  - 16 Tan KY, Liu CB, Chen AH, Ding YJ, Jin HY, Seow-Choen F. The role of traditional Chinese medicine in colorectal cancer treatment. *Tech Coloproctol* 2008; 12: 1-6; discussion 6 [PMID: 18512006 DOI: 10.1007/s10151-008-0392-z]
  - 17 Guo Z, Jia X, Liu JP, Liao J, Yang Y. Herbal medicines for advanced colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 5: CD004653 [PMID: 22592697 DOI: 10.1002/14651858]
  - 18 Yang YF, Ge JZ, Wu Y, Xu Y, Liang BY, Luo L, Wu XW, Liu DQ, Zhang X, Song FX, Geng ZY. Cohort study on the effect of a combined treatment of traditional Chinese medicine and Western medicine on the relapse and metastasis of 222 patients with stage II and III colorectal cancer after radical operation. *Chin J Integr Med* 2008; 14: 251-256 [PMID: 19082795 DOI: 10.1007/s11655-008-0251-9]
  - 19 Tao L, Zhu YJ, Lu XM, Gu Y, Zhao AG, Zheng J, Fu CG, Yang JK. [Clinical study on survival benefit for elderly patients with resected stage II or III colorectal cancer based on traditional Chinese medicine syndrome differentiation and treatment]. *Zhongxiyi Jiehe Xuebao* 2010; 8: 1159-1164 [PMID: 21144459]
  - 20 张亮, 刘德稳. 中医药干预结直肠癌术后复发转移的临床研究进展. 中医临床研究 2012; 4: 121-122
  - 21 Yuan Y, Li MD, Hu HG, Dong CX, Chen JQ, Li XF, Li JJ, Shen H. Prognostic and survival analysis of 837 Chinese colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2650-2659 [PMID: 23674872 DOI: 10.3748/wjg.v19.i17.2650]
  - 22 Sajid MS, Farag S, Leung P, Sains P, Miles WF, Baig MK. Systematic review and meta-analysis of published trials comparing the effectiveness of transanal endoscopic microsurgery and radical resection in the management of early rectal cancer. *Colorectal Dis* 2014; 16: 2-14 [PMID: 24330432 DOI: 10.1111/codi.12474]
  - 23 Maas HA, Lemmens VE, Nijhuis PH, de Hingh IH, Koning CC, Janssen-Heijnen ML. Benefits and drawbacks of short-course preoperative radiotherapy in rectal cancer patients aged 75 years and older. *Eur J Surg Oncol* 2013; 39: 1087-1093 [PMID: 23958151 DOI: 10.1016/j.ejso.2013.07.094]
  - 24 Nan KJ, Qin HX, Yang G. Prognostic factors in 165 elderly colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2207-2210 [PMID: 14562379]
  - 25 Tsutsumi S, Watanabe R, Tabe Y, Fujii T, Morita H, Kigure W, Kato T, Yamauchi H, Sakai M, Asao T, Kuwano H. Extranodal metastasis predicts poor survival in advanced colorectal cancer. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 372-374 [PMID: 22353501 DOI: 10.5754/hge10139]
  - 26 Elzagheid A, Emaetig F, Buhmeida A, Laato M, El-Faitori O, Syrjänen K, Collan Y, Pyrhönen S. Loss of MUC2 expression predicts disease recurrence and poor outcome in colorectal carcinoma. *Tumour Biol* 2013; 34: 621-628 [PMID: 23179399 DOI: 10.1007/s13277-012-0588-8]
  - 27 Jen J, Kim H, Piantadosi S, Liu ZF, Levitt RC, Sistonon P, Kinzler KW, Vogelstein B, Hamilton SR. Allelic loss of chromosome 18q and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1994; 331: 213-221 [PMID: 8015568]
  - 28 Yang Z, Kang L, Wang L, Xiang J, Cai G, Cui J, Peng J, Lan P, Wang J. Characteristics and long-term survival of colorectal cancer patients aged 44 years and younger. *Clin Transl Oncol* 2012; 14: 896-904 [PMID: 22855164 DOI: 10.1007/s12094-012-0876-1]
  - 29 刘云霞, 蒋沈君, 匡唐洪, 姚勇伟, 杨洁文. 益气补肾口服液抗大肠癌术后转移复发的临床观察. 中华中医药学刊 2007; 25: 1072-1073
  - 30 Saiki I, Yamaura T, Ohnishi Y, Hayakawa Y, Komatsu Y, Nunome S. HPLC analysis of juzen-taiho-to and its variant formulations and their antimetastatic efficacies. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1999; 47: 1170-1174 [PMID: 10478473]
  - 31 蒋益兰, 潘敏求, 蔡美. 健脾消癌饮配合化疗拮抗大肠癌术后复发转移62例总结. 湖南中医杂志 2007; 23: 1-3
  - 32 杨宇飞, 陈崭新, 许云, 吴煜, 吴显文, 朱尧武, 李培红, 高书棣. 祛邪胶囊对晚期结直肠癌患者生存期和生活质量的随机对照研究. 中国中西医结合杂志 2008; 28: 111-114
  - 33 Kummar S, Copur MS, Rose M, Wadler S, Stephenson J, O'Rourke M, Brenckman W, Tilton R, Liu SH, Jiang Z, Su T, Cheng YC, Chu E. A phase I study of the chinese herbal medicine PHY906 as a modulator of irinotecan-based chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2011; 10: 85-96 [PMID: 21859559 DOI: 10.1016/j.clcc.2011.03.003]
  - 34 杨宇飞, 许云, 吴煜, 王兰萍, 李贞, 张灵智, 朱尧武, 郭中宁, 郭全, 阎小平. 祛邪胶囊减少大肠癌术后复发转移的临床随机双盲对照研究. 中国中西医结合杂志 2007; 27: 879-882

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 幽门螺杆菌与功能性消化不良的相关性

刘红丹, 全甲钊, 曲波, 金世柱, 王蓓蓓, 祝芳, 连丽莹, 白冰

刘红丹, 齐齐哈尔医学院附属第三医院消化一科 黑龙江省齐齐哈尔市 161000

全甲钊, 曲波, 金世柱, 王蓓蓓, 祝芳, 连丽莹, 白冰, 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  
刘红丹, 哈尔滨医科大学附属第二医院在读硕士研究生, 主要从事幽门螺杆菌与功能性消化不良相关性的研究。

作者贡献分布: 此课题由曲波与全甲钊设计; 研究过程由曲波、金世柱、全甲钊、刘红丹、王蓓蓓、祝芳、连丽莹及白冰完成; 本论文写作由刘红丹与全甲钊完成。

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: 2014-03-03 修回日期: 2014-03-20

接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## Relationship between functional dyspepsia and *Helicobacter pylori* infection

Hong-Dan Liu, Jia-Zhao Tong, Bo Qu, Shi-Zhu Jin, Bei-Bei Wang, Fang Zhu, Li-Ying Lian, Bing Bai

Hong-Dan Liu, Department of Gastroenterology, the Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College, Qiqihar 161000, Heilongjiang Province, China

Jia-Zhao Tong, Bo Qu, Shi-Zhu Jin, Bei-Bei Wang, Fang Zhu, Li-Ying Lian, Bing Bai, Department of Gastroenterology and Hepatology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Bo Qu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Baojian Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. qubo\_1970@hotmail.com

Received: 2014-03-03 Revised: 2014-03-20

Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the correlation between functional dyspepsia (FD) and *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection.

**METHODS:** A total of 1570 FD patients with *H. pylori* infection were recruited. Four hundred FD patients with *H. pylori* infection who did not have abnormal social psychological factors were divided randomly into either a treatment group or a control group. The treatment group was further divided into an eradication success group or an eradication failure group by *H. py-*

*lori* eradication status one month after the eradication therapy. Twelve months after treatment, improvement of symptoms and the average cost of rescue medication were analyzed and compared between groups.

**RESULTS:** In the *H. pylori* eradication success group, the symptoms improved more significantly compared with the *H. pylori* eradication failure group and control group one month after treatment, and the proportion of patients with symptomatic improvement  $\geq 50\%$  in the *H. pylori* eradication success group was significantly higher than those in the other two groups 12 mo after treatment. The average cost of rescue medication in the *H. pylori* eradication success group was significantly less than that in the control group and the *H. pylori* eradication failure group one month before the end of follow-up.

**CONCLUSION:** *H. pylori* has a certain relevance to FD. *H. pylori* eradication in *H. pylori* positive FD patients who are not associated with abnormal social psychological factors can achieve good treatment effects.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** *Helicobacter pylori*; Functional dyspepsia; Social psychology

Liu HD, Tong JZ, Qu B, Jin SZ, Wang BB, Zhu F, Lian LY, Bai B. Relationship between functional dyspepsia and *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1897-1901 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1897.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1897>

## 摘要

**目的:** 功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)目前是消化科临床中最为常见的一种疾病,且发病机制复杂多样,其中包括异常社会心理学因素、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染等。而既往研究显示极大比例的FD患者具有异常社会心理学因素,因此我们通过排除具有异常社会心理学因素的FD患

## ■背景资料

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是临床上最常见的一种功能性胃肠病,目前认为FD疾病的影响因素复杂多样,主要包括社会心理学因素、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)、遗传、环境、饮食和生活方式。其中,*H. pylori*与FD之间的关系多年来已经得到了广泛的研究,但对于*H. pylori*阳性FD患者是否应当进行根除*H. pylori*仍然没有明确的结论,并且目前临床上的治疗也存在明显的分歧,大多医院消化科医生对*H. pylori*阳性FD患者并不行根除*H. pylori*治疗。在FD的众多影响因素中,精神异常在FD患者中高达80%,而先前几乎所有的FD与*H. pylori*相关性的研究仅通过两个基本的、非常广泛的标准(罗马标准和*H. pylori*阳性)来招募患者,都没有对引起FD症状的其他影响因素进行必要的控制,这必然使结果可信度低,甚至得出不一致的结论。

## ■同行评议者

李勇, 副教授, 上海中医药大学附属中医医院消化科

## ■研究前沿

由于FD影响因素中精神异常因素占据较重要的地位,因此我们的研究旨在排除*H. pylori*阳性FD患者中伴随异常社会心理学因素的患者,从而形成相对均一的单纯*H. pylori*阳性FD患者,进而探讨*H. pylori*与FD的相关性,具有非常强的独创性。

者,进一步研究FD与*H. pylori*的相关性。

**方法:** 1570例*H. pylori*阳性FD患者参加本次研究,从中选出无伴随异常社会心理学因素的400例*H. pylori*阳性FD患者,后随机分为治疗组和对照组,其中治疗组在治疗后1 mo时根据*H. pylori*根除情况分为*H. pylori*根除成功组、*H. pylori*根除失败组,在治疗后12 mo时对各组患者症状改善情况及随访结束前1 mo内各组患者服用急救药品的平均费用作一统计分析。

**结果:** 治疗后1 mo时,*H. pylori*成功根除组症状与未能根除者及对照组相比具有明显好转,且在治疗后第12 wk随访时,成功根除*H. pylori*组症状缓解分数达50%以上患者比例明显高于其他2组;随访结束前1 mo内,成功根除*H. pylori*组所服用急救药品平均费用明显少于对照组及*H. pylori*根除失败组。

**结论:** *H. pylori*与FD发病具有一定相关性,对无伴随异常社会心理学因素的*H. pylori*阳性FD患者进行根除*H. pylori*能够达到较好的治疗效果。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 幽门螺杆菌; 功能性消化不良; 社会心理学

**核心提示:** 过去的研究主要集中在根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *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,而对功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)的其他潜在影响因素并没有进行必要的控制,我们的实验研究对伴有*H. pylori*感染的FD患者进行社会心理学评估,排除具有异常社会心理学因素的患者,以形成相对均一的单纯*H. pylori*阳性FD患者进行研究,从而排除研究过程中异常社会心理学因素造成的干扰,进一步更加准确地研究*H. pylori*与FD的相关性。

刘红丹, 仝甲钊, 曲波, 金世柱, 王蓓蓓, 祝芳, 连丽莹, 白冰. 幽门螺杆菌与功能性消化不良的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1897-1901 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1897.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1897>

## 0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是临床上最常见的一种功能性胃肠病,目前认为FD疾病的影响因素复杂多样,主要包括社会心理学因素、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.*

*pylori*)、遗传、环境、饮食和生活方式<sup>[1]</sup>。其中,*H. pylori*与FD之间的关系多年来已经得到了广泛的研究,但对于*H. pylori*阳性FD患者是否应当进行根除*H. pylori*仍然没有明确的结论,并且临床上的治疗也存在分歧,大多数医院消化科医生并不对*H. pylori*阳性FD患者行根除*H. pylori*治疗。在FD的众多影响因素中,精神异常在FD患者中高达80%<sup>[2]</sup>,且长期的社会心理学异常可能导致FD的发生,而先前几乎所有的FD与*H. pylori*相关性的研究仅通过两个基本的、非常广泛的标准(罗马标准和*H. pylori*阳性)来招募患者,都没有对引起FD症状的其他影响因素进行必要的控制,这必然使结果可信度低,甚至得出不一致的结论<sup>[3]</sup>。因此我们的研究旨在排除*H. pylori*阳性FD患者中伴随异常社会心理学因素的患者,从而形成相对均一的单纯*H. pylori*阳性FD患者,进而探讨*H. pylori*与FD的相关性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 我们的实验研究由哈尔滨医科大学附属第二医院审核批准。选取2012-06/2012-08自哈尔滨医科大学附属第二医院、齐齐哈尔医学院附属第三医院消化内科门诊以消化不良症状就诊并诊断为*H. pylori*阳性FD的1570例大于18周岁的患者,调查其中无伴随异常社会心理学因素的400例*H. pylori*阳性FD患者,其中随机选取200例为根除*H. pylori*组,另200例做为对照组并被给予一般性治疗,随访至2013-08。FD的诊断基于罗马III标准:有上腹痛、上腹烧灼感、餐后饱胀和早饱症状之一或多种,呈持续或反复发作的慢性过程,病程超过半年,近3 mo来症状持续;上述症状排便后不能缓解;经腹部彩超排除肝胆胰脾疾病,胃镜检查排除消化性溃疡、肿瘤等器质性疾病。剔除标准为:以胃灼热和肠易激综合征为主;具有报警症状(45岁以上,近期出现消化不良症状;有消瘦、贫血、呕血、黑粪、吞咽困难、腹部肿块、黄疸等;消化不良症状进行性加重);消化性溃疡病史;上消化道外伤史;胆绞痛;根除*H. pylori*治疗史;对研究药物过敏;严重的并存疾病(严重的心、肺、肾疾病等);酒精或药物滥用史;登记前4 wk内应用过抗生素或铋剂,2 wk内使用过质子泵抑制剂,1 wk内使用过H<sub>2</sub>受体阻滞剂也需排除在外;具有分娩可能性的妇女;不能回答研究问卷的患者;不乐意或不能够提供情况的患者<sup>[4]</sup>。



表 1 各组患者短期(1 mo)和长期(12 mo)随访时症状改善情况

分组	随访时间(mo)	n	症状改善 $\geq 50\%$ 例数(n)	症状改善 $\geq 50\%$ 比例(%)
<i>H. pylori</i> 根除成功组	1	142	117	82.4
<i>H. pylori</i> 根除失败组	1	39	5 <sup>b</sup>	12.8 <sup>b</sup>
对照组	1	179	32 <sup>b</sup>	17.9 <sup>b</sup>
对照组	12	160	26 <sup>d</sup>	16.3 <sup>d</sup>
<i>H. pylori</i> 根除失败组	12	33	4 <sup>d</sup>	12.1 <sup>d</sup>
<i>H. pylori</i> 根除成功组	12	120	96	80.0

<sup>b</sup> $P<0.01$  vs 1 mo *H. pylori*根除成功组; <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 12 mo *H. pylori*根除成功组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

## 1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有入选患者胃镜诊断均由2名具有丰富经验的消化内镜医师进行, 内镜发现根据悉尼系统进行评估<sup>[5]</sup>, 以排除消化性溃疡、肿瘤等器质性疾病. *H. pylori*检测通过<sup>14</sup>C-尿素呼气试验(<sup>14</sup>C-UBT)检查(敏感性98.7%, 特异性92.1%)和*H. pylori* IgG血清学检查(敏感性97.4%, 特异性71.1%), 两者均阳性判断为*H. pylori*感染. 对以上诊断为*H. pylori*阳性的FD患者通过医院焦虑与抑郁量表(Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS)<sup>[6]</sup>进行社会心理学评估(总分 $\geq 8$ 分者为异常), 排除具有异常社会心理学因素的*H. pylori*阳性FD患者.

我们与400例纳入研究的患者于实验前签订实验协议, 告知患者实验治疗情况及目的, 取得其同意, 后对所有患者随机分配并进行编号, 除分组编号人员外, 患者及调查人员在实验过程中对患者分组情况均不知情, 后按SAS6.12随机表随机分为2组: 治疗组200例, 对照组200例. 治疗组患者接受*H. pylori*三联根除治疗(奥美拉唑20 mg, 克拉霉素250 mg, 甲硝唑400 mg, 2次/d); 对照组接受奥美拉唑20 mg及安慰剂, 2次/d治疗, 疗程均为7 d. 治疗结束后1和12 mo通过<sup>14</sup>C-UBT检测*H. pylori*根除结果, 对1 mo时根除*H. pylori*失败的治疗组患者分为根除*H. pylori*治疗失败组.

1.2.2 患者症状缓解情况的统计及评价目标: 实验过程中, 在实验前分别对400例纳入研究的相对单纯*H. pylori*阳性FD患者填写阿雷格里港消化不良症状调查表<sup>[7]</sup>, 包括调查前30 d内上腹部疼痛、恶心、呕吐、上腹胀、早饱5项症状, 总分值从0分(无症状)到44分(严重症状). 治疗1及12 mo后, 分别再次对在访人员进行消化不良症状调查评分并统计.

由于FD疾病发病因素复杂及症状较多, 因

此我们参照以往研究<sup>[4,8,9]</sup>, 选择治疗1、12 mo后与起始消化不良症状情况相比缓解分数大于50%的患者比例做为主要目标进行统计分析; 同时, 研究期间根据需要可按餐后不适和上腹部疼痛症状分别服用急救药品: 莫沙必利片(5 mg/片)、复方胃蛋白酶颗粒(10 g/袋)和奥美拉唑镁片(40 mg/片)(药品价格按市场普通价格换算), 并记录随访结束前1 mo的药物服用量, 于实验结束时进行费用统计分析.

统计学处理 采用SPSS17.00统计软件, 相关资料采用卡方检验、方差分析,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 患者*H. pylori*根除情况 治疗后1 mo, 治疗组200例中181例完成研究, *H. pylori*根除率为78.5%(142/181); 对照组200例中179例完成研究, 无1例*H. pylori*得到根除. 治疗后12 mo, 根除*H. pylori*的142例中120例完成研究, 且仍为*H. pylori*阴性; 39例*H. pylori*根除失败者中33例完成研究, 均仍为*H. pylori*阳性. 对照组中, 160例完成研究, 仍为*H. pylori*阳性.

2.2 根除*H. pylori*治疗后FD患者症状及生活质量改善情况

2.2.1 根除*H. pylori*治疗后FD患者症状改善情况: 治疗后1 mo随访, 治疗组*H. pylori*成功根除者与未能根除者及对照组症状改善率差异较大, *H. pylori*根除组症状与未能根除者及对照组相比具有明显好转( $P<0.05$ ), 且在12 mo随访时, 成功根除*H. pylori*组症状缓解分数达50%以上者比例明显高于其他2组( $P<0.01$ )(表1).

2.2.2 根除*H. pylori*组与对照组FD患者服用急救药品费用的比较: 随访结束前1 mo内, 根除*H. pylori*组与对照组服用急救药品数量差异较大, 根除*H. pylori*组所服用急救药品平均费用明显

## ■ 相关报道

上海交通大学医学院附属仁济医院刘文忠教授认为过去的研究主要集中在根除*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制, 这样得出的结果或许可信度较低.

## ■应用要点

我们认为社会心理学因素在FD的发病因素亦起着重要的作用,因此对*H. pylori*阳性的FD患者直接进行根除*H. pylori*治疗或许并不能起到良好的治疗效果,而对无异常社会心理学因素的*H. pylori*阳性FD患者进行根除*H. pylori*治疗则能够起到良好的治疗作用。同时,我们还间接证明了社会心理学因素与FD的相关性,为临床上治疗FD疾病提供借鉴。

表 2 随访结束前1 mo内各组患者服用急救药品情况

分组	n	服用药物时间(mo)	服用药物总价格(元)	服用药物费用平均价格(元)
<i>H. pylori</i> 根除成功组	120	1	4740	39.5
<i>H. pylori</i> 根除失败组	33	1	7110 <sup>b</sup>	215.5 <sup>b</sup>
对照组	160	1	37920 <sup>b</sup>	237.0 <sup>b</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs *H. pylori*根除成功组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌。

少于对照组及*H. pylori*根除失败组( $P < 0.05$ )(表2)。

## 3 讨论

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<sup>[10]</sup>,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*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<sup>[3]</sup>,且目前临床治疗也具有较大的分歧。过去的研究<sup>[11]</sup>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必要的控制,这样得出的结果或许可信度较低。

在FD的众多影响因素中,精神异常在FD患者中高达80%<sup>[2]</sup>,其被认为能够通过脑-肠轴、自主神经系统影响FD的发病<sup>[12]</sup>。在我们的研究中,无伴随异常社会心理学因素的*H. pylori*阳性FD患者仅占所有研究人群的25.5%,这也说明在*H. pylori*感染FD患者的发病中,异常精神心理因素仍然起着较重要的作用。因此,在我们进行*H. pylori*与FD相关性的研究时,如果对精神心理因素不加必要限制的话,将会对实验结果产生不小的影响。

我们的实验研究从最初研究样本的选取中做出区分,对伴有*H. pylori*感染的FD患者进行社会心理学评估,排除具有异常社会心理学因素的患者,以形成相对均一的单纯*H. pylori*阳性FD患者进行研究,从而排除研究过程中异常社会心理学因素造成的干扰,进一步更加准确地研究*H. pylori*与FD的相关性<sup>[13]</sup>。

目前认为*H. pylori*感染参与FD发病的主要机制可能是增加了胃泌素释放和胃酸分泌,进而影响胃排空功能,并使胃局部神经功能和形态学发生改变<sup>[14]</sup>,从而引起上腹疼痛、不适等表现。因此,成功根除*H. pylori*后,随着这些病理生

理机制的改善,FD患者的不适症状可能随之消失。据此,我们的研究从患者消化不良症状的改善及根除*H. pylori*的费效比层面上进行对比研究。本研究中,相对单纯*H. pylori*感染FD患者进行根除*H. pylori*治疗效果非常明显,在成功根除*H. pylori*治疗后1及12 mo随访时具有50%症状改善程度的患者数量比例分别为82.4%和80.0%,远远大于对照组(17.9%和16.3%)及根除*H. pylori*失败组(12.8%和12.1%),并且与Mazzoleni<sup>[4]</sup>的*H. pylori*与FD相关性研究得出的结果(49%)也具有较大的差异,我们的研究得出对单纯*H. pylori*阳性FD进行根除*H. pylori*治疗的效果率明显优于以往研究的实验组,这可能与我们的研究样本有关,而这更为FD与*H. pylori*具有一定的相关性提供了依据,同时我们认为因为FD疾病影响因素复杂多样,并不是在所有*H. pylori*感染FD患者中都是*H. pylori*在起主要作用,因此并不能简单地仅仅对*H. pylori*感染FD患者进行根除*H. pylori*治疗。并且,我们还间接证明了异常社会心理学因素与FD的相关性。

我们的研究也对随访结束前1 mo内各组患者服用FD急救药品的数量进行统计分析,得出根除对相对*H. pylori*阳性FD患者进行根除*H. pylori*治疗能明显减少患者的日常服药量,并极大地减少了医疗费用支出,具有良好的费效比。

据此,我们认为FD的发病因素复杂多样,其中社会心理学因素亦起着重要的作用,因此对*H. pylori*阳性的FD患者直接进行根除*H. pylori*治疗或许并不能起到良好的治疗效果,而对无异常社会心理学因素的*H. pylori*阳性FD患者进行根除*H. pylori*治疗则能够起到良好的治疗作用,这可能是由于这些FD患者的消化不良症状主要是由于*H. pylori*感染造成的,因此在根除*H. pylori*治疗后胃黏膜组织病理学能够得到较好的控制,从而能够较好地消除消化不良症状。此外,目前也有学者<sup>[15]</sup>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

是由于 *H. pylori* 感染引起的器质性病变所引起, 且这种病变能够通过内镜, 尤其是放大内镜所观察到, 而这与我们的研究具有相似的结果, 或许正是由于 *H. pylori* 感染造成胃黏膜组织学早期的病理性改变才导致了消化不良症状的发生。但为什么并不是所有 *H. pylori* 感染的 FD 患者对根除 *H. pylori* 治疗显效, 且为什么多数 *H. pylori* 感染的人群并没有消化不良症状, 这或许才是值得我们研究的重点, 才是我们彻底解决 FD 疾病的突破口。

#### 4 参考文献

- 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]
- Barry S, Dinan TG. Functional dyspepsia: are psychosocial factors of relevance? *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2701-2707 [PMID: 16718756 DOI: 10.3748/wjg.v12.i17.2701]
- 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: 679-684
- 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, Hocevar 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]
- Tytgat GN. The Sydney System: endoscopic division. Endoscopic appearances in gastritis/duodenitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6: 223-234 [PMID: 1912432 DOI: 10.1111/j.1440-1746.1991.tb01469.x]
- van Kerkhoven LA, Laheij RJ, Aparicio N, De Boer WA, Van den Hazel S, Tan AC, Witteman BJ, Jansen JB. Effect of the antidepressant venlafaxine in functional dyspepsia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 746-752; quiz 718 [PMID: 18424191]
- Sander GB, Mazzoleni LE, Francesconi CF, Wortmann AC, Ott EA, Theil A, Da Cruz PV, Da Silva AC, Oliveira L, Beheregaray S, Matioti S, Sommi G, Goldim JR. Development and validation of a cross-cultural questionnaire to evaluate nonulcer dyspepsia: the Porto Alegre Dyspeptic Symptoms Questionnaire (PADYQ). *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1822-1829 [PMID: 15628711 DOI: 10.1007/s10620-004-9578-z]
- Ruiz García A, Gordillo López FJ, Hermosa Hernán JC, Arranz Martínez E, Villares Rodríguez JE. [Effect of the Helicobacter pylori eradication in patients with functional dyspepsia: randomised placebo-controlled trial]. *Med Clin (Barc)* 2005; 124: 401-405 [PMID: 15799844]
- Gisbert JP, Cruzado AI, Garcia-Gravalos R, Pajares JM. Lack of benefit of treating Helicobacter pylori infection in patients with functional dyspepsia. Randomized one-year follow-up study. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 303-308 [PMID: 15011890]
- Ford AC. Eradicating Helicobacter pylori in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2012; 142: 1613-1614 [PMID: 22537648]
- 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
- Wu JC. Community-based study on psychological comorbidity in functional gastrointestinal disorder. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 23-26 [PMID: 21443703 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06642.x]
- 全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 白梅. 功能性消化不良的发病机制. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 785-790
- Delgado-Aros S, Cremonini F, Talley NJ. Treatment of Functional Dyspepsia. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2004; 7: 121-131 [PMID: 15010026 DOI: 10.1007/s11938-004-0033-1]
- 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]

#### ■同行评价

本文样本量较大, 具有一定临床指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 糖尿病患者合并非糖尿病肾损害的临床病理分析及评价

刘 剑, 景照峰, 胡 蓉, 晏家华, 罗 敏

## ■背景资料

糖尿病肾病是糖尿病患者由于病情进展而累及肾脏微血管引发肾脏损害, 由于糖尿病临床发病率较高, 导致糖尿病肾病发生率也较高。典型糖尿病肾病患者临床诊断较为容易, 但近几年国内大量研究对非糖尿病肾损害(non-diabetic renal diseases, NDRD)进行了报道, 指出糖尿病患者临床表现为肾脏损害也可能是NDRD。目前对于糖尿病合并NDRD的临床诊断及病理类型研究已经逐渐受到专家重视。

刘剑, 景照峰, 胡蓉, 晏家华, 罗敏, 贵州省六盘水市人民医院肾内科 贵州省六盘水市 553001

刘剑, 副主任医师, 主要从事糖尿病患者合并非糖尿病肾损害的研究。

作者贡献分布: 此课题由于刘剑设计; 研究过程由刘剑与景照峰完成; 数据分析由胡蓉、晏家华及罗敏完成; 写作由于刘剑、景照峰、胡蓉、晏家华及罗敏共同完成。

通讯作者: 刘剑, 副主任医师, 553001, 贵州省六盘水市钟山西路56号, 六盘水市人民医院肾内科。4962482@qq.com

收稿日期: 2014-02-08 修回日期: 2014-03-15

接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-05-08

## Clinicopathological features of diabetes mellitus patients complicated with non-diabetic renal diseases

Jian Liu, Zhao-Feng Jing, Rong Hu, Jia-Hua Yan, Min Luo

Jian Liu, Zhao-Feng Jing, Rong Hu, Jia-Hua Yan, Min Luo, Department of Urology, Liupanshui People's Hospital, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China

Correspondence to: Jian Liu, Associate Chief Physician, Department of Urology, Liupanshui People's Hospital, 56 Zhongshan West Road, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China. 4962482@qq.com

Received: 2014-02-08 Revised: 2014-03-15

Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To explore the clinicopathological features of diabetes mellitus (DM) patients complicated with non-diabetic renal diseases (NDRD).

**METHODS:** One hundred and sixty-five DM patients complicated with NDRD were randomly divided into three age groups: < 35 years (27 cases), 35-39 years (110 cases) and ≥ 60 years. The general conditions, clinical manifestations and clinicopathological types were analyzed retrospectively.

**RESULTS:** The average age and mean duration of disease differed significantly between the three groups ( $28.82 \pm 4.53$  vs  $48.57 \pm 6.76$  vs  $66.77 \pm 5.05$ ,  $1.06 \pm 1.79$  vs  $3.02 \pm 3.57$  vs  $4.64 \pm 4.89$ ,  $P < 0.05$  or  $< 0.01$ ). There were no significant differences in FBG and DR ( $8.02$  mmol/L vs  $4.70$  mmol/L vs  $7.10$  mmol/L  $\pm 2.43$  mmol/L vs

$6.82$  mmol/L  $\pm 2.16$  mmol/L,  $18.52\%$  vs  $13.64\%$  vs  $7.14\%$ ,  $P > 0.05$  for all) or the rate of different clinical manifestations for the three groups ( $40.74\%$  vs  $35.45\%$  vs  $17.86\%$ ,  $22.22\%$  vs  $27.27\%$  vs  $32.14\%$ ,  $18.52\%$  vs  $14.55\%$  vs  $10.71\%$ ,  $11.11\%$  vs  $5.45\%$  vs  $14.29\%$ ,  $7.41\%$  vs  $17.27\%$  vs  $25.00\%$ ,  $P > 0.05$  for all). The rate of IgA in the ≥ 60 age group was lower than those in the other two age groups ( $3.57\%$  vs  $37.04\%$ ,  $3.57\%$  vs  $42.73\%$ ,  $P < 0.01$  for both). The rate of HRL in the ≥ 60 age group was higher than that in the 35-59 age group ( $10.71\%$  vs  $1.82\%$ ,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** In young DM patients complicated with NDRD, CNS is the main clinical manifestation; in middle-aged patients, clinical manifestations vary greatly; in elderly patients, NS and CRF are main clinical manifestations. The clinicopathological type is mainly IgAN in young patients and MN in elderly patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Diabetes mellitus; Non-diabetic renal diseases; Clinicopathological features

Liu J, Jing ZF, Hu R, Yan JH, Luo M. Clinicopathological features of diabetes mellitus patients complicated with non-diabetic renal diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1902-1906 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1902.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1902>

## 摘要

**目的:** 分析糖尿病患者合并非糖尿病肾损害(non-diabetic renal diseases, NDRD)的临床病理特点。

**方法:** 按照年龄将我院收治的165例糖尿病合并NDRD患者分为<35岁组27例、35-59岁组110例和≥60岁组28例, 回顾性分析3组患者一般情况、临床表现和肾脏病理类型的分布特点。

**结果:** 3组患者之间平均年龄和平均病程相互比较( $28.82$ 岁 $\pm 4.53$ 岁 vs  $48.57$ 岁 $\pm 6.76$ 岁 vs  $66.77$ 岁 $\pm 5.05$ 岁)、( $1.06$ 年 $\pm 1.79$ 年 vs  $3.02$ 年

## ■同行评议者

洪天配, 教授, 北京大学第三医院内分泌科

±3.57年 vs 4.64年±4.89年), 差异具有统计学意义( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ); 3组患者之间空腹血糖(fasting blood-glucose, FBG)水平和糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)发生率比较(8.02 mmol/L±4.70 mmol/L vs 7.10 mmol/L±2.43 mmol/L vs 6.82 mmol/L±2.16 mmol/L)、(18.52% vs 13.64% vs 7.14%), 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 3组患者间各临床表现所占比例比较(40.74% vs 35.45% vs 17.86%)、(22.22% vs 27.27% vs 32.14%)、(18.52% vs 14.55% vs 10.71%)、(11.11% vs 5.45% vs 14.29%)、(7.41% vs 17.27% vs 25.00%), 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); ≥60岁组患者IgA肾病(IgA nephropathy, IgAN)发生率明显低于<35岁组和35-59组, (3.57% vs 37.04%)、(3.57% vs 42.73%), 差异具有统计学意义( $P<0.01$ ); ≥60岁组患者高血压性肾损害(hypertensive renal impairment, HRL)发生率明显高于35-59组(10.71% vs 1.82%), 差异具有统计学意义( $P<0.01$ ).

**结论:** 糖尿病合并NDRD患者中青年患者多为CNS, 中年患者临床表现多样, 老年患者多为NS和CRF, 青中年患者病理类型多为IgAN, 老年患者多为膜性肾病.

© 2014年版权归归世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 糖尿病; 非糖尿病肾损害; 病理特点

**核心提示:** 本研究按照年龄将我院收治的165例糖尿病合并非糖尿病肾损害(non-diabetic renal diseases, NDRD)患者分为<35岁组27例、35-59组110例和≥60岁组28例, 回顾性分析3组患者一般情况、临床表现和肾脏病理类型的分布特点. 3组患者之间空腹血糖水平和糖尿病视网膜病变发生率比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 3组患者间各临床表现所占比例比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); ≥60岁组患者IgA肾病发生率明显低于<35岁组和35-59组, 差异具有统计学意义( $P<0.01$ ); ≥60岁组患者高血压性肾损害发生率明显高于35-59组, 差异具有统计学意义( $P<0.01$ ). 糖尿病合并NDRD患者中青年患者多为慢性肾炎综合征, 中年患者临床表现多样, 老年患者多为肾病综合征和慢性肾衰竭, 青中年患者病理类型多为IgAN, 老年患者多为膜性肾病.

刘剑, 景照峰, 胡蓉, 晏家华, 罗敏. 糖尿病患者合并非糖尿病肾损害的临床病理分析及评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1902-1906 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1902.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1902>

## 0 引言

糖尿病肾病是糖尿病患者由于病情进展而累及肾脏微血管引发肾脏损害, 由于糖尿病临床发病率较高, 导致糖尿病肾病发生率也较高<sup>[1]</sup>. 典型糖尿病肾病患者临床诊断较为容易, 但近几年国内大量研究对非糖尿病肾损害(non-diabetic renal diseases, NDRD)进行了报道, 指出糖尿病患者临床表现为肾脏损害也可能是NDRD<sup>[2]</sup>. 目前对于糖尿病合并NDRD的临床诊断及病理类型研究已经逐渐受到专家重视, 现回顾性分析我院收治的165例糖尿病合并NDRD患者的临床病理特点, 为临床诊治提供参考, 报道如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2010-10/2013-10我院收治的糖尿病合并NDRD患者165例作为研究对象. 所有患者均符合糖尿病相关诊断标准<sup>[3]</sup>和肾活检病理诊断标准<sup>[4]</sup>. 按照患者年龄将165例患者分为<35岁组27例、35-59组110例和≥60岁组28例, 患者一般资料如表1.

**1.2 方法** 回顾性分析3组患者一般情况, 包括性别、年龄、病程、空腹血糖(fasting blood-glucose, FBG)、合并高血压、糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)、临床表现、肾脏病理类型分布特点.

患者临床表现为肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)、慢性肾炎综合征(chronic nephritic syndrome, CNS)、隐匿性肾炎、急性肾衰竭(acute renal failure, ARF)、慢性肾衰竭(chronic renal failure, CRF)等<sup>[5]</sup>.

患者肾脏病理类型为微小病变肾病(minimal change disease, MCD)、局灶增生型肾小球肾炎、局灶节段性肾小球硬化症(focal segmental glomerulosclerosis, FSGS)、膜性肾病(membranous nephropathy, MN)、膜增生性肾小球肾炎(membrano-proliferative glomerulonephritis, MPGN)、系膜增生性肾小球肾炎(mesangial proliferative glomerulonephritis, MsPGN)、毛细血管内增生性肾小球肾炎(endocapillary glomerulonephritis, EnPGN)、新月体性肾小球肾炎(crescentic glomerulonephritis, CREGN)、IgAN、薄基底膜肾病(thin basement membrane nephropathy, TBMN)、淀粉样变性肾损害、肥胖相关性肾小球损害、肾小管间质损伤(tubulointerstitial lesion, TIL)、HRL、合并HRL、合并糖尿病肾

## ■研究前沿

本研究入选病例仍然较少, 需要进一步增加研究基数, 以提高研究准确性.

## ■相关报道

内肾活检肾脏病理类型临床研究表明, IgAN约占所有病理类型的40%, 患者主要集中于青年和中年人, 这与本研究结果具有一致性。

表 1 3组患者一般情况比较

项目	<35岁组	35-59组	≥60岁组
<i>n</i>	27	110	28
性别 <i>n</i> (%)			
男性	17(62.96)	61(55.45)	18(64.29)
女性	10(37.04)	49(44.55)	10(35.71)
平均年龄(岁)	28.82 ± 4.53	48.57 ± 6.76 <sup>b</sup>	66.77 ± 5.05 <sup>ab</sup>
平均病程(年)	1.06 ± 1.79	3.02 ± 3.57 <sup>b</sup>	4.64 ± 4.89 <sup>ab</sup>
FBG(mmol/L)	8.02 ± 4.70	7.10 ± 2.43	6.82 ± 2.16
合并高血压 <i>n</i> (%)			
I级	4(14.81)	15(13.64)	3(10.71)
II级	5(18.52)	28(25.45)	10(35.71)
III级	5(18.52)	27(24.55)	6(21.43)
DR <i>n</i> (%)	5(18.52)	15(13.64)	2(7.14)

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs <35岁组; <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 35-59组. DR: 糖尿病视网膜病变。

表 2 3组患者临床表现比较 *n*(%)

临床表现	<35岁组	35-59组	≥60岁组
<i>n</i>	27	110	28
慢性肾炎综合征	11(40.74)	39(35.45)	5(17.86)
肾病综合征	6(22.22)	30(27.27)	9(32.14)
隐匿性肾炎	5(18.52)	16(14.55)	3(10.71)
急性肾衰竭	3(11.11)	6(5.45)	4(14.29)
慢性肾衰竭	2(7.41)	19(17.27)	7(25.00)

病等<sup>[6]</sup>。

**统计学处理** 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 计量资料采用mean ± SD表示, 差异性比较使用 $t$ 检验, 计数资料比较使用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 3组患者一般情况比较** 3组患者之间平均年龄和平均病程相互比较, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ); <35岁组患者空腹血糖水平和糖尿病视网膜病变发生率最高, 35-59岁组次之, ≥60岁组最低, 但3组之间比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 3组患者之间男女比例和合并高血压情况比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表1)。

**2.2 3组患者临床表现比较** 3组患者临床表现分布情况存在差异, <35岁组患者临床表现主要为CNS、其次为NS和隐匿性肾炎; 35-59组患者临床表现主要为CNS、其次为NS和CRF; ≥60岁组患者临床表现主要为NS, 其次为CRF和CNS。但3组患者间各临床表现所占比例比较, 差异无

统计学意义( $P > 0.05$ )(表2)。

**2.3 3组患者肾脏病理类型比较** 3组患者病理类型分布情况存在差异, <35岁组患者主要病理类型为IgAN, 其次为合并HRL、肥胖相关性肾小球损害和合并DN; 35-59组患者主要病理类型为IgAN, 其次为MN、合并HRL; ≥60岁组患者主要病理类型为MN, 其次为合并HRL、TIL; ≥60岁组患者IgAN发生率明显低于<35岁组和35-59组, 差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ); ≥60岁组患者HRL发生率明显高于35-59组, 差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )(表3)。

## 3 讨论

临床研究表明, 糖尿病肾病和NDRD均为糖尿病患者病情进展引发的肾脏损害<sup>[7]</sup>。其中糖尿病肾病病情进展缓慢, 临床诊断较为简单, 一般实验室检查白蛋白水平超过200 μg/min, 同时合并DR且排除其他肾脏疾病或尿路疾病即可确诊<sup>[8]</sup>。但NDRD确诊通常需要采取肾活检, NDRD患者一般糖尿病病程<5年, 合并DR发生率低且可见尿液中红细胞异常增多或肉眼血尿等<sup>[9]</sup>。

本研究通过将糖尿病合并NDRD患者分为3个不同年龄段, 对3组患者临床表现及肾病病理特征进行比较分析。患者平均糖尿病病程均低于5年, DR发生率较低, 与Haddiya等<sup>[10]</sup>的报道相符。研究结果显示, 3组患者之间平均病程相互比较, 差异具有统计学意义。但需要注意的是该时间为患者临床确诊为糖尿病至今的时间, 与患者实际患病时间存在一定误差<sup>[11]</sup>。因此, 本研究3组患者病程之间的比较可能受到影响。患



表 3 3组患者肾脏病理类型比较  $n(\%)$ 

病理类型	<35岁组	35-59组	≥60岁组
<i>n</i>	27	110	28
微小病变肾病	0(0.00)	2(1.82)	1(3.57)
局灶增生性肾小球肾炎	0(0.00)	6(5.45)	2(7.14)
局灶节段性肾小球硬化症	2(7.41)	2(1.82)	1(3.57)
膜性肾病	1(3.70)	19(17.27)	11(32.14)
膜增生性肾小球肾炎	0(0.00)	2(1.82)	0(0.00)
系膜增生性肾小球肾炎	2(7.41)	7(6.36)	5(14.29)
毛细血管内增生性肾小球肾炎	2(7.41)	1(0.91)	0(0.00)
新月体性肾小球肾炎	2(7.41)	2(1.82)	4(10.71)
IgA肾病	10(37.04)	47(42.73)	1(3.57) <sup>bd</sup>
薄基底膜肾病	0(0.00)	1(0.91)	0(0.00)
淀粉样变性肾损害	0(0.00)	2(1.82)	2(7.14)
肥胖相关性肾小球损害	3(11.11)	7(6.36)	1(3.57)
肾小管间质损伤	1(3.70)	10(9.09)	7(21.43)
高血压性肾损害	2(7.41)	2(1.82)	4(10.71) <sup>b</sup>
合并高血压性肾损害	6(22.22)	15(13.64)	8(25.00)
合并DN	3(11.11)	14(12.73)	2(7.14)

<sup>b</sup> $P<0.01$  vs 35-59组; <sup>d</sup> $P<0.01$  vs <35岁组. DR: 糖尿病视网膜病变.

者糖尿病病程的长短直接影响到DR发生率以及患者肾脏病理损害的严重程度<sup>[12]</sup>. 3组患者合并高血压比例均较高, 3组之间比较, 差异无统计学意义. 表明年龄大小并不会影响患者合并高血压, 而糖尿病患者出现高血压时可怀疑合并NDRD.

3组患者临床表现分布情况存在差异, <35岁组患者临床表现主要为CNS, 35-59组患者临床表现主要为CNS、NS和CRF; ≥60岁组患者临床表现主要为NS, 与Watanabe等<sup>[13]</sup>的研究报道相似. 而3组患者间各临床表现所占比例比较, 差异无统计学意义, 表明不同年龄段患者临床表现分布无明显差异. 在病理类型分布上<35岁组和35-59组患者主要病理类型为IgAN, ≥60岁组患者主要病理类型为MN. 表明不同年龄段患者病理类型具有一定特异性, 与国外相关文献报道相似<sup>[14]</sup>. 3组患者病理类型均多而复杂, 这与肾脏疾病的病理类型多样化是一致的. 另外, 国内肾活检肾脏病理类型临床研究表明, IgAN约占所有病理类型的40%<sup>[15]</sup>, 患者主要集中于青年和中年人, 这与本研究结果具有一致性.

总之, 糖尿病合并NDRD临床表现和病理类型具有一定年龄特征, 中青年患者多为CNS, 中年患者临床表现多样, 老年患者多为NS和CRF, 青中年患者病理类型多为IgAN, 老年患者多为MN. 临床诊断仍旧需要依靠肾活检检查, 可结

合部分典型临床表现和病理类型辅助诊断. 另外, 本研究入选病例仍然较少, 需要进一步增加研究基数, 以进一步提高研究准确性.

#### 4 参考文献

- 冉秀荣. 糖尿病患者并发非糖尿病性肾脏病变的特点分析及临床表现. 中国医药指南 2013; 11: 446-447
- 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2010年版). 中国医学前沿杂志(电子版) 2011; 03: 54-107
- 齐丽艳. 关于糖尿病的新诊断标准与分型. 求医问药(下半月) 2013; 11: 195
- 邹万忠. 肾活检病理诊断标准指导意见. 中华肾脏病杂志 2001; 17: 270-275
- McGill JB. Improving microvascular outcomes in patients with diabetes through management of hypertension. *Postgrad Med* 2009; 121: 89-101 [PMID: 19332966 DOI: 10.3810/pgm.2009.03.1980]
- 金光善. 糖尿病患者并发非糖尿病性肾脏病变的病理特点及临床表现. 中国医药指南 2013; 11: 491-492
- 金文香. 2型糖尿病并发非糖尿病肾损害病理探讨. 中外医疗 2011; (30): 84
- 林杏娟. 2型糖尿病合并早期糖尿病肾病的相关危险因素分析. 当代医学 2013; 19: 05-06
- 曹李娜, 尚邦娟, 王娟, 陈剑辉, 张亚莉. 2型糖尿病并发非糖尿病肾损害26例临床与病理分析. 陕西医学杂志 2010; 39: 615-617
- Haddiya I, Hamzaoui H, Al Hamany Z, Radoui A, Rhou H, Benamar L, Bayahia R, Ouzeddoun N. Isolated non diabetic renal disease in diabetic patients: a Moroccan report. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2010; 21: 555-558 [PMID: 20427893]
- 解立怡, 薛武军, 谭峰, 吕晶, 尹爱萍, 冯学亮. 2型糖尿病合并肾脏损害136例肾活检分析. 陕西医学杂志 2008; 37: 1346-1348
- 杜勇, 杨念生, 李幼姬, 姜宗培, 姜饶, 余学清. 2型糖尿病患者合并非糖尿病肾损害的临床病理分析. 中华糖

#### ■创新盘点

NDRD确诊通常需采取肾活检, NDRD患者一般糖尿病病程<5年, 合并糖尿病视网膜病变发生率低且可见尿液中红细胞异常增多或肉眼血尿等.

## ■同行评价

本研究分析临床病理, 有一定的学术价值.

- 13 Watanabe Y, Fujii H, Aoki K, Kanazawa Y, Miyakawa T. A cross-sectional survey of chronic kidney disease and diabetic kidney disease in Japanese type 2 diabetic patients at four urban diabetes clinics. *Intern Med* 2009; 48: 411-414 [PMID: 19293538]
- 14 Lin YL, Peng SJ, Ferng SH, Tzen CY, Yang CS.

尿病杂志 2004; 12: 409-412

Clinical indicators which necessitate renal biopsy in type 2 diabetes mellitus patients with renal disease. *Int J Clin Pract* 2009; 63: 1167-1176 [PMID: 18422591 DOI: 10.1111/j.1742-1241.2008.01753.x]

- 15 刘岩, 肖笑, 钟小仕, 余学清, 吉村吾志夫, 出浦照国. 糖尿病患者合并肾脏损害的肾活检病理与临床研究. *中华肾脏病杂志* 2006; 22: 19-23

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 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)

# 脂联素及受体变化在妊娠期糖尿病发病中的意义和相关因素

张美贞, 叶泉忠

张美贞, 衢州市人民医院体检中心 浙江省衢州市 324000  
叶泉忠, 衢州市人民医院消化内科 浙江省衢州市 324000  
张美贞, 主治医师, 主要从事妊娠期相关疾病的研究.  
作者贡献分布: 本研究由张美贞与叶泉忠共同完成.  
通讯作者: 张美贞, 主治医师, 324000, 浙江省衢州市钟楼底2号, 衢州市人民医院体检中心. zhangmeizhen1122@163.com  
电话: 0570-3023071  
收稿日期: 2014-02-24 修回日期: 2014-03-13  
接受日期: 2014-04-14 在线出版日期: 2014-05-08

## Significance of adiponectin and its receptors in pathogenesis of gestational diabetes mellitus

Mei-Zhen Zhang, Quan-Zhong Ye

Mei-Zhen Zhang, Department of medical examination center, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324004, Zhejiang Province, China  
Quan-Zhong Ye, Department of Gastroenterology, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324004, Zhejiang Province, China  
Correspondence to: Mei-Zhen Zhang, Physician, Quzhou People's Hospital Medical Center, 2 Zhongludi, Quzhou 324004, Zhejiang Province, China. zhangmeizhen1122@163.com  
Received: 2014-02-24 Revised: 2014-03-13  
Accepted: 2014-04-14 Published online: 2014-05-08

## Abstract

**AIM:** To analyze the significance of adiponectin (APN) and its receptors in the pathogenesis of gestational diabetes mellitus (GDM) and the relevant factors involved.

**METHODS:** Fifty pregnant women with GDM treated between June 2011 and June 2013 at our hospital and 50 normal pregnant women were included into an observation group and a control group, respectively. Fasting blood glucose, insulin and other laboratory indicators were retrospectively analyzed, and their relationship with serum APN was explored.

**RESULTS:** In the observation group, body mass index (BMI), fasting plasma glucose (FPG), total cholesterol (TC), triacylglycerol (TG), fasting

insulin (FINS), homestasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) and APN were  $24.97 \text{ kg/m}^2 \pm 4.32 \text{ kg/m}^2$ ,  $7.02 \text{ mmol/L} \pm 0.63 \text{ mmol/L}$ ,  $5.39 \text{ mmol/L} \pm 1.29 \text{ mmol/L}$ ,  $2.27 \text{ mmol/L} \pm 1.18 \text{ mmol/L}$ ,  $19.37 \text{ mU/L} \pm 6.37 \text{ mU/L}$ ,  $9.27 \text{ mmol/L} \pm 1.56 \text{ mmol/L}$ ,  $2.17 \text{ mg/L} \pm 0.69 \text{ mg/L}$  and  $1.31 \text{ mg/L} \pm 0.22 \text{ mg/L}$ , respectively; the corresponding values in the control group were  $23.77 \text{ kg/m}^2 \pm 2.39 \text{ kg/m}^2$ ,  $3.91 \text{ mmol/L} \pm 0.59 \text{ mmol/L}$ ,  $4.21 \text{ mmol/L} \pm 0.68 \text{ mmol/L}$ ,  $1.12 \text{ mmol/L} \pm 0.28 \text{ mmol/L}$ ,  $13.24 \text{ mU/L} \pm 5.61 \text{ mU/L}$ ,  $3.26 \text{ mmol/L} \pm 0.51 \text{ mmol/L}$ ,  $3.62 \text{ mg/L} \pm 1.02 \text{ mg/L}$  and  $0.11 \text{ mg/L} \pm 0.03 \text{ mg/L}$ . The above indexes differed significantly between the two groups ( $P < 0.05$  for all). Serum APN levels showed a negative correlation with pre-pregnancy BMI, TG, HOMA-IR and FINS ( $r = -0.371, -0.459, -0.281, -0.321, P < 0.01$  for all).

**CONCLUSION:** In GDM patients, APN and its receptors are closely related to insulin resistance, and clinical determination of APN may be helpful for the diagnosis and treatment of GDM.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Adiponectin; Adiponectin receptor; Gestational diabetes mellitus

Zhang MZ, Ye QZ. Significance of adiponectin and its receptors in pathogenesis of gestational diabetes mellitus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1907-1910  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1907.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1907>

## 摘要

**目的:** 分析脂联素(adiponectin, APN)及受体变化在妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)发病中的意义和相关因素.

**方法:** 随机选取2011-06/2013-06我院接收治疗的50例妊娠期糖尿病孕妇和50例正常妊娠妇女, 分成观察组和对照组, 对两组孕妇空腹血

## ■背景资料

妊娠期糖尿病是临床中常见的基本之一, 其具体的发病机制尚未完全明确. 研究显示, 该病与胰岛素抵抗以及胰岛功能减退具有一定的关联. 而近年临床对脂肪细胞因子和炎症因子的研究逐渐深入, 而脂联素是脂肪细胞分泌的一种细胞因子, 具有较强的抗炎和抗糖尿病以及抗动脉粥样硬化的作用. 因此, 研究重点分析脂联素及受体变化在妊娠期糖尿病的变化及作用.

## ■同行评议者

何继满, 教授, 南方医科大学南方医院消化研究所



## ■ 研发前沿

本次研究重点从脂肪细胞因子的角度出发,分析脂联素及其受体的变化,也是临床中研究的重点。多数的研究显示,脂联素及其受体在乳腺癌中具有一定的表达,并且在其发病中具有一定的作用。本研究中分析妊娠期糖尿病患者血清中脂联素及其受体表达,从分子学的角度诠释其作用机制。

糖、胰岛素等实验室指标进行对比测定,对临床数据进行回顾性分析,评价血脂联素与各项指标之间的关系。

**结果:** 观察组体质量指数(body mass index, BMI)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triacylglycerol, TG)、以及空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)、胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment for insulin resistance, HOMA-IR)、APN为  $24.97 \text{ kg/m}^2 \pm 4.32 \text{ kg/m}^2$ ,  $7.02 \text{ mmol/L} \pm 0.63 \text{ mmol/L}$ ,  $5.39 \text{ mmol/L} \pm 1.29 \text{ mmol/L}$ ,  $2.27 \text{ mmol/L} \pm 1.18 \text{ mmol/L}$ ,  $19.37 \text{ mU/L} \pm 6.37 \text{ mU/L}$ ,  $9.27 \text{ mmol/L} \pm 1.56 \text{ mmol/L}$ ,  $2.17 \text{ mg/L} \pm 0.69 \text{ mg/L}$ ,  $1.31 \text{ mg/L} \pm 0.22 \text{ mg/L}$  vs 对照组BMI、FPG、TC、TG、FINS、HOMA-IR、APN的  $23.77 \text{ kg/m}^2 \pm 2.39 \text{ kg/m}^2$ ,  $3.91 \text{ mmol/L} \pm 0.59 \text{ mmol/L}$ ,  $4.21 \text{ mmol/L} \pm 0.68 \text{ mmol/L}$ ,  $1.12 \text{ mmol/L} \pm 0.28 \text{ mmol/L}$ ,  $13.24 \text{ mU/L} \pm 5.61 \text{ mU/L}$ ,  $3.26 \text{ mmol/L} \pm 0.51 \text{ mmol/L}$ ,  $3.62 \text{ mg/L} \pm 1.02 \text{ mg/L}$ ,  $0.11 \text{ mg/L} \pm 0.03 \text{ mg/L}$ , 统计学有意义( $P < 0.05$ ); 血清APN水平与孕前BMI、TG、HOMA-IR、FINS呈现明显负相关( $r = -0.371$ ,  $-0.459$ ,  $-0.281$ ,  $-0.321$ ,  $P < 0.01$ )。

**结论:** 妊娠期糖尿病患者脂联素及受体变化与患者机体胰岛素抵抗密切相关,临床测定妊娠期糖尿病患者脂联素积极作用于妊娠期糖尿病诊断治疗。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 脂联素; 脂联素受体; 妊娠期糖尿病

## ■ 相关报道

临床中对于妊娠期糖尿病的发病机制研究主要是停留在客观的因素,包括吸烟史和基础性疾病以及环境等。随着分子学和细胞学的发展,人们对妊娠期糖尿病发病机制研究的方向也发生了改变。研究结果显示,脂联素及其受体与代谢综合征之间具有一定的联系,而妊娠期糖尿病的发生与患者的代谢功能也具有一定的联系。本次研究从脂联素及其受体角度进行分析,了解其在妊娠期糖尿病中的作用机制。

**核心提示:** 妊娠期糖尿病患者血清中脂联素呈现低表达,而受体呈现高表达。脂联素的表达与患者机体胰岛素抵抗密切相关,并且该指标的表达与孕前体质量指数(body mass index)、三酰甘油(triacylglycerol)、胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment for insulin resistance)、空腹胰岛素(fasting insulin)呈现明显负相关。临床中通过检测其表达对指导妊娠期糖尿病诊治具有重要意义。

张美贞, 叶泉忠. 脂联素及受体变化在妊娠期糖尿病发病中的意义和相关因素. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1907-1910 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1907.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i13.1907>

## 0 引言

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM), 是孕妇在妊娠期比较常见的一种内科合

并症之一, 该类病症对胚胎的发育会造成很大的影响, 极易出现早产、流产、死胎、产后出血等情况, 对母子两人的生命安全都具有很大的威胁。临床中GDM的发病机制与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)以及胰岛功能减退具有一定的关联。临床研究显示, 严重胰岛素抵抗的发生提示GDM与2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)之间具有共同的发病机制。随着近年来参与其中的脂肪细胞因子和炎症因子逐渐地成为关注的热点。而脂联素(adiponectin, APN)是脂肪细胞分泌的一种细胞因子, 具有较强的抗炎和抗糖尿病以及抗动脉粥样硬化的作用<sup>[1,2]</sup>。为了进一步的了解该病的发病状况, 本次研究随机选取2011-06/2013-06我院接收治疗的50例妊娠期糖尿病孕妇和50例正常妊娠妇女, 通过对其临床资料进行综合分析, 初步了解APN及受体变化在妊娠期糖尿病发病中的意义和相关因素, 旨在提高对妊娠期糖尿病的诊断能力, 现内容如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 研究对象为随机选取2011-06/2013-06我院接收治疗的50例妊娠期糖尿病孕妇和50例正常妊娠妇女, 分别分成观察组和对照组, 观察组孕妇年龄范围24-37岁, 平均年龄  $27.1 \text{ 岁} \pm 1.9 \text{ 岁}$ , 平均孕周  $27.5 \text{ wk} \pm 1.1 \text{ wk}$ ; 对照组孕妇年龄范围23-36岁, 平均年龄  $28.2 \text{ 岁} \pm 1.6 \text{ 岁}$ , 平均孕周  $26.9 \text{ wk} \pm 1.3 \text{ wk}$ ; 所有入选病例诊断标准参考《实用内科学》中诊断标准, 排除有严重心、肝等重要器官和血液病变者, 临床治疗期间不遵医行为者<sup>[3]</sup>。所有患者年龄、孕周等资料对比差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 具有可比性。

**1.2 方法** 初次产检时, 对观察组和对照组孕妇进行详细询问并记录孕前腰围、孕前体质量、测量身高、计算体质量指数(body mass index, BMI)。

**1.2.1 标本采集:** 分娩时对本标本进行采集, 胎盘娩出后, 及时在胎盘母体面中央, 防止钙化、筋膜、机化灶等情况, 切取  $1.0 \text{ cm} \times 1.0 \text{ cm}$  胎盘全层组织, 并用生理盐水进行冲洗, 吸取血清测空腹血糖、胰岛素、C肽, 其余血清分装存  $-70 \text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱, 待标本采集完毕后同批测定APN。

**1.2.2 实验室指标测定:** 采用全自动生化分析仪对实验室指标进行检测, 包括: 体质量指数(body mass index, BMI)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、三

表 1 两组100例妊娠妇女实验室指标对比 ( $n = 50$ , mean  $\pm$  SD)

分组	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	FPG (mmol/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	FINS (mU/L)	HOMA-IR (mmol/L)	APN (mg/L)	AdipoR1 (mg/L)
观察组	24.97 $\pm$ 4.32	7.02 $\pm$ 0.63	5.39 $\pm$ 1.29	2.27 $\pm$ 1.18	19.37 $\pm$ 6.37	9.27 $\pm$ 1.56	2.17 $\pm$ 0.69	1.31 $\pm$ 0.22
对照组	23.77 $\pm$ 2.39	3.91 $\pm$ 0.59	4.21 $\pm$ 0.68	1.12 $\pm$ 0.28	13.24 $\pm$ 5.61	3.26 $\pm$ 0.51	3.62 $\pm$ 1.02	0.11 $\pm$ 0.03
F值	59.245	26.738	9.527	16.581	13.637	5.112	6.396	4.731
P值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

BMI: 体质量指数; FPG: 空腹血糖; TC: 总胆固醇; TG: 三酰甘油; FINS: 空腹胰岛素; HOMA-IR: 胰岛素抵抗指数; APN: 血清脂联素; AdipoR1: 脂联素受体1.

表 2 血清APN与实验室指标相关因素分析

实验室指标	r值	P值
BMI	-0.371	0.0004
TG	-0.459	0.0015
HOMA-IR	-0.281	0.0005
FINS	-0.321	0.0003

BMI: 体质量; TG: 三酰甘油; HOMA-IR: 胰岛素抵抗指数; FINS: 空腹胰岛素.

酰甘油(triacylglycerol, TG)、以及空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)、胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment for insulin resistance, HOMA-IR). 应用氧化酶法测定TC, 应用葡萄糖氧化酶法测定FPG, 应用甘油磷酸氧化酶-一过氧化物酶法测定TG. 应用ELISA法进行测定APN含量. 采用免疫印迹法(Western blot)检测APN受体1(AdipoR1).

**统计学处理** 研究中所得到的相关数据采用SPSS12.0统计学数据处理软件进行处理分析, 各项参数以mean  $\pm$  SD表示, 采用t和 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 观察组和对照组实验室指标对比** 观察组BMI、FPG、TC、TG、FINS、HOMA-IR、APN、AdipoR1分别与对照组相比, 数据差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )(表1).

**2.2 血清APN与实验室指标相关因素** 就观察组妇女血清APN与其他实验室指标相关因素展开分析, 将血清APN作为应变量, 以孕前BMI、TG、HOMA-IR、FINS为自变量进行多元回归分析, 结果表明, 血清APN水平与孕前BMI、TG、HOMA-IR、FINS呈现明显负相关, 血清APN与实验室指标相关因素分析(表2).

## 3 讨论

由于GDM患者对胰岛素的敏感性显著降低, 为了维持体内必要的血糖水平就必然的增加体内的血糖, 从而使胎儿出现高胰岛素症状. 患者持续高血糖、高胰岛素、高血氨基酸的症状, 会导致巨大儿的出现, 同时会造成患者微血管发生相应的变化, 影响到胎盘的循环, 从而出现胎儿窘迫以及新生儿窒息现象<sup>[4]</sup>. 现阶段医学研究结果表明, 妊娠期糖尿病受胰岛素抵抗、胰岛 $\beta$ 细胞分泌重要影响. 伴随着孕妇妊娠期不断地推进, 孕妇机体对胰岛素的敏感程度会出现逐渐降低的现象, 出现机体胰岛素分泌量需求扩增, 从而引发胰岛素抵抗产生胰岛 $\beta$ 细胞功能障碍<sup>[5-8]</sup>. 人类机体APN基因由apM1 mRNA编码, 处于染色体3q27上, 组成成分为2个内含子、3个外显子. APN作用于胰岛素具有抗感染、抗动脉粥样硬化、抗糖尿病以及增敏胰岛素的功效, 在胰岛素抵抗、T2DM患者机体中, APN循环浓度均呈下降态势<sup>[9]</sup>.

本次研究结果表明, 观察组BMI、FPG、TC、TG、FINS、HOMA-IR、APN分别与对照组相比, 数据差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ). APN通过对组织增敏胰岛素, 积极改善机体胰岛 $\beta$ 细胞分泌胰岛素, 缩减糖尿病血管性不良症状发生率, 在胰岛素抵抗和妊娠期糖尿病中起到至关重要的作用<sup>[10]</sup>. 血清APN水平与孕前BMI、TG、HOMA-IR以及FINS现明显负相关. 研究结果提示低脂联素与胰岛素抵抗相关联, 脂联素能够抗胰岛素抵抗, 其机制可能因为机体脂联素作用于患者骨骼肌、肝脏5-AMP活化以及蛋白激酶磷酸化活化, 促进乙酰辅酶A羧化酶磷酸化, 实现患者机体扩增对脂肪酸氧化、葡萄糖摄取<sup>[11-13]</sup>. 脂联素作用于骨骼肌脂肪酸氧化, 防止肝脏糖异化发生, 对胰岛素抵抗进行改善, 还通过降低TG量对胰岛素抵抗进行改善. 脂联素

### ■创新盘点

本次的临床研究显示, 脂联素作用于骨骼肌脂肪酸氧化, 防止肝脏糖异化发生, 对胰岛素抵抗进行改善, 还通过降低TG量对胰岛素抵抗进行改善. 这一结论也证实, 脂联素在妊娠期糖尿病发病中的作用. 同时, 研究还分析了影响脂联素及其受体表达的相关因素, 从而更准确的了解其作用.

### ■应用要点

临床中妊娠期糖尿病患者的脂联素及受体明显异于正常对象, 并且其变化与患者机体胰岛素抵抗密切相关. 同时, 临床中通过测定妊娠期糖尿病患者脂联素的变化, 对指导其诊断与治疗具有重要意义.

### ■同行评价

本研究重点分析了脂联素及受体变化在妊娠期糖尿病发病中的作用,可读性比较强。但是,由于研究的例数相对较少,依然需要大型临床研究分析,从而得出更精准的结论。

水平降低与胰岛素抵抗呈平行关系,临床可采取的相应措施为扩大脂肪氧化,直接作用于胰岛素受体以及受体后水平信号的传输,防止肝脏糖异化及脂肪组织肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )信号传输<sup>[14,15]</sup>。

总之,妊娠期糖尿病患者脂联素及受体变化与患者机体胰岛素抵抗密切相关,临床测定妊娠期糖尿病患者脂联素积极作用于妊娠期糖尿病诊断治疗。

### 4 参考文献

- 1 张妍,张苏河,李慧聪.妊娠期糖尿病孕妇血清脂联素水平变化与胰岛素抵抗关系的研究.实用诊断与治疗杂志 2008; 22: 355-356
- 2 邓拥军,柯宗明.血清脂联素水平胰岛素抵抗与代谢综合征的相关性.实验与检验医学杂志 2011; 29: 49-50
- 3 贾忠兰,卢新,王雅杰,郭艳玲,方芳,康熙雄.瘦素脂联素抵抗素内脂素与妊娠糖尿病胰岛素抵抗的相关性研究.中国免疫学杂志 2008; 24: 1133-1134
- 4 付艳芹,张东铭,辛雅萍,张苏河.妊娠期糖尿病患者脂肪组织脂联素mRNA表达与胰岛素抵抗的关系.山东医药 2010; 50: 36-37
- 5 朱亚莉,邓冰.内脂素、抵抗素在妊娠期糖尿病发病中的作用.中国优生与遗传杂志 2011; 19: 62-65
- 6 许晓霞,李铁菊,冯春宇.妊娠期体质量血清瘦素脂联素水平与胰岛素抵抗的关系.临床和实验医学杂志 2011; 10: 1077-1078
- 7 方园,吴照芳,黄会金,高群英,王小兰,胡美霞.妊娠期糖尿病孕妇血清visfatin与胰岛素抵抗的关系.南昌大学学报(医学版) 2010; 50: 60

- 8 刘登岩,于健,周素娟,周燕,李全谋,石修映,林枫,石青峰.妊娠期糖尿病患者抵抗素水平的改变及临床意义.大连医科大学学报 2008; 30: 334-335
- 9 Yokoyama H, Saito S, Daitoku K, Fukuda I, Higuma T, Hanada H, Osanai T, Okumura K. Effects of pravastatin and rosuvastatin on the generation of adiponectin in the visceral adipose tissue in patients with coronary artery disease. *Fundam Clin Pharmacol* 2011; 25: 378-387 [PMID: 20608995 DOI: 10.1111/j.1472-8206.2010.00847.x]
- 10 Pereira MJ, Palming J, Rizell M, Aureliano M, Carvalho E, Svensson MK, Eriksson JW. The immunosuppressive agents rapamycin, cyclosporin A and tacrolimus increase lipolysis, inhibit lipid storage and alter expression of genes involved in lipid metabolism in human adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 365: 260-269 [PMID: 23160140 DOI: 10.1016/j.mce.2012.10.030]
- 11 Zimmermann GS, Bastos MF, Dias Gonçalves TE, Chambrone L, Duarte PM. Local and circulating levels of adipocytokines in obese and normal weight individuals with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2013; 84: 624-633 [PMID: 22839694 DOI: 10.1902/jop.2012.120254]
- 12 田明,吴连方.妊娠期糖尿病孕妇并发妊娠期高血压疾病的临床特点及血清CRP、IL-6、TNF- $\alpha$ 的水平分析.中国妇幼保健 2012; 27: 1318-1321
- 13 宫玉典,刘文娟,初永丽.妊娠期糖尿病患者血浆抵抗素水平与胰岛素抵抗的关系.山东医药 2008; 48: 61-62
- 14 郑璐,张涵,杜鹃.脂联素和抵抗素与妊娠期糖尿病的相关性研究.中国医科大学学报 2011; 40: 645-648
- 15 焦鑫,谭志军,孙浩,张建良.脂联素受体表达与Ⅱ、Ⅲ期结肠癌患者术后辅助化疗预后的关系.肿瘤防治研究 2013; 40: 580-583

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 十二指肠球部溃疡浸润致假性动脉瘤破裂引发致命性上消化道大出血1例

肖源, 杨杰, 李亭颖, 陈治, 杨麒麟

肖源, 杨杰, 李亭颖, 陈治, 杨麒麟, 贵阳医学院附属医院消化科 贵州省贵阳市 550004

肖源, 在读硕士, 主治医师, 主要从事消化内镜诊疗技术的研究。贵州省科学技术基金资助项目, No. 黔科合L字[2008]2284号作者贡献分布: 本文由肖源收集撰写; 杨杰指导修改; 陈治、李亭颖及杨麒麟协助整理完成。

通讯作者: 杨杰, 教授, 550004, 贵州省贵阳市贵医街28号, 贵阳医学院附属医院消化科. yangjielaila@163.com

收稿日期: 2014-02-18 修回日期: 2014-03-19

接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

## One case of upper gastrointestinal tract hemorrhage due to rupture of pseudoaneurysm caused by duodenal bulb ulcer

Yuan Xiao, Jie Yang, Ting-Ying Li, Zhi Chen, Qi-Zhen Yang

Yuan Xiao, Jie Yang, Ting-Ying Li, Zhi Chen, Qi-Zhen Yang, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Supported by: Guizhou Province Science and Technology Foundation, No. [2008]2284

Correspondence to: Jie Yang, Professor, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical University, 28 Guiyi Road, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. yangjielaila@163.com

Received: 2014-02-18 Revised: 2014-03-19

Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

## Abstract

Nonvariceal upper tract hemorrhage is a common emergency clinically, and the peptic ulcer prevails over other pathogeneses. According to the endoscopic manifestations of ulcer bleeding, the endoscopic Forrest grading is used to guide the clinical therapeutic strategy. Here we report one patient suffering from massive hemorrhage of the upper gastrointestinal tract, whose bleeding was due to pseudoaneurysm rupture caused by duodenal bulb ulcer. The patient was successfully rescued by comprehensive treatment including interventional embolization and medications such as multiple gastric mucosa protective agents. This case will promote the awareness of the Forrest

grading and provide more data for improving the treatment of massive gastrointestinal bleeding.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Massive hemorrhage of the upper gastrointestinal tract; Duodenal bulb ulcer; Pseudoaneurysm

Xiao Y, Yang J, Li TY, Chen Z, Yang QZ. One case of upper gastrointestinal tract hemorrhage due to rupture of pseudoaneurysm caused by duodenal bulb ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(13): 1911-1914 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1911.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1911>

## 摘要

非静脉曲张上消化道出血是临床常见急诊。病因以消化性溃疡占首位。按照溃疡的胃镜下出血表现, 即Forrest分级制定诊治策略已成为国内外共识。本文报道1例十二指肠球部溃疡浸润致假性动脉瘤破裂, 导致上消化道大出血的患者, 在行介入栓塞、及多种药物、包括多种胃黏膜保护剂的综合治疗下救治成功经验, 为临床推广Forrest分级及提高上消化道大出血救治水平积累资料。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 消化系出血; 十二指肠球部溃疡; 假性动脉瘤

**核心提示:** 假性动脉瘤位于十二指肠溃疡面上罕见, 手术或介入治疗等何为首选尚有争议。本例行介入治疗后, 并经积极保守治疗后获得成功。提示在手术治疗风险大, 积极内科治疗联合介入治疗, 有可能降低此类患者胃大部切除的风险, 对临床具有借鉴意义。另外, 该患者第2次复查胃镜所见溃疡其上的血痂, 按Forrest分级为IIb, 应行内镜下止血治疗。内镜下处理能否降低此类患者的再出血率, 尚待积累更多经验。

肖源, 杨杰, 李亭颖, 陈治, 杨麒麟. 十二指肠球部溃疡浸润

## ■背景资料

假性动脉瘤(pseudoaneurysm, PSA)指动脉管壁被撕裂或穿破, 血液自此破口流出而被动脉邻近的组织包裹而形成血肿。发病原因可能与胰头区炎症、动脉粥样硬化、感染、创伤等有关。他与真性动脉瘤的区别在于, 他不像真性动脉瘤那样具有动脉血管的外膜、中层弹力纤维和内膜三层结构。其位于溃疡面上的假性动脉瘤临床罕见。

## ■同行评议者

戈之铮, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

# ■研发前沿

假性动脉瘤自愈者很少, 传统的治疗方法是手术. 本例病例联合介入栓塞及多种胃黏膜保护剂促进溃疡面愈合等综合内科治疗获得成功, 对临床具有一定借鉴意义.

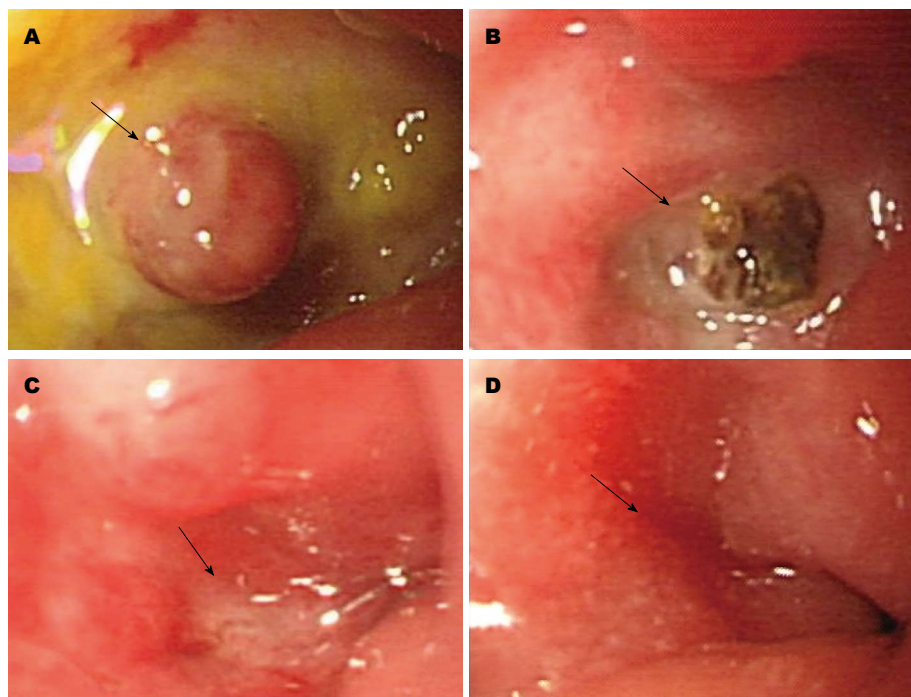


图1 内镜. A: 十二指肠球部溃疡白苔中央存在柱状隆起病变; B: 十二指肠球部溃疡白苔中央暗紫色血痂; C: 十二指肠球部溃疡白苔中央血痂消失, 溃疡较前缩小; D: 十二指肠球部溃疡并球腔变形.

致假性动脉瘤破裂引致致命性上消化道大出血1例. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1911-1914 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1911.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1911>

## 0 引言

假性动脉瘤位于溃疡面之上罕见, 临床病情凶险, 现将我院1例十二指肠球部溃疡浸润致假性动脉瘤破裂引致致命性上消化道大出血1例报道如下.

## 1 病例报告

患者, 男性, 40岁, 因“上腹痛2 mo, 呕血、黑便2 d”入院, 2 d前出现呕血, 量约100 mL, 为暗红色血液伴有胃内容物. 黑便3次, 量约500 mL, 为柏油样大便, 伴头昏、乏力, 晕倒1次, 就诊于我院急诊科, 予输注悬浮红细胞2 U后转入我科继续治疗. 入院时查体: 血压98 mmHg/70 mmHg, 贫血貌, 心肺阴性, 腹平软, 上腹部深压痛, 肝脾肋下未扪及, 余无特殊. 血常规示: RBC: 2.19 T/L、HGB: 71 g/L. 大便隐血阳性, 肝功能正常. 胃镜: (1)十二指肠球部溃疡(A2期), 白苔中央柱状隆起性质? Forrest II C级; (2)慢性非萎缩性胃炎伴胆汁反流(重度); (3)十二指肠炎(图1A). 予埃索美拉唑40 mg静滴tid、生长抑素3 mg泵入250  $\mu$ g/h等止血和补液治疗, 患者腹痛减轻、无

呕血、未排大便. 血常规复查见红细胞及血红蛋白上升: RBC: 2.66 T/L、HGB: 85 g/L. 临床考虑出血停止, 继续原有治疗.

入院第3天突然再次呕血, 出血量约2000 mL, 血压低至41/21 mmHg, 伴意识淡漠、烦躁不安. 急查血常规见HGB下降至52 g/L. 诊断为消化系溃疡再发出血伴失血性休克. 在积极输血及抗休克同时, 急请介入科及胃肠外科等会诊. 介入科在DSA下行“腹腔干、胃十二指肠动脉造影+胃十二指肠动脉栓塞术”. 发现再出血原因为胃十二指肠动脉假性动脉瘤破裂出血(图2A), 经介入福爱乐医用胶栓塞治疗后未见造影剂溢出, 无出血征象(图2B), 安返病房, 当日无呕血、排便, 血红蛋白未见继续下降, 血压正常, 考虑休克纠正, 消化系出血停止.

次日患者再次呕血、黑便, 出血量约500 mL. 再次请介入科及胃肠外科急会诊. 介入科不建议再次介入治疗. 胃肠外科考虑出血量相对减少, 手术风险大, 建议暂时予内科保守治疗, 做好开腹手术准备. 继续予埃索美拉唑、生长抑素和补液等治疗同时, 加用多种胃黏膜保护剂胃管内注入, 以瑞巴派特、蒙脱石散、果胶铋混悬液等促进溃疡修复, 经上述处理后患者未见活动性出血.

入院后总输血量悬浮红细胞16 U约3200

# ■相关报道

尽管手术治疗是治疗内脏假性动脉瘤的金标准, 但因病例数少, 手术或介入治疗等何为首选尚有争议. 有研究者认为对于胃十二指肠假性动脉瘤而言, 以血管内介入治疗更为适宜.

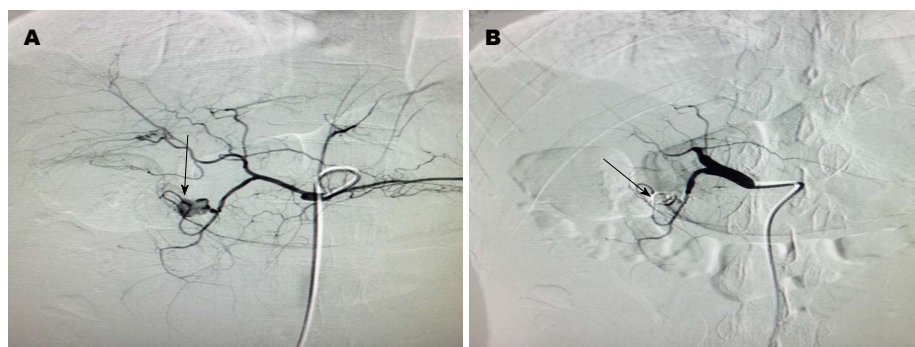


图2 造影。A: 胃十二指肠动脉造影后对比剂溢出并椭圆形阴影; B: 经栓塞后胃十二指肠动脉未见造影剂溢出。

### ■创新盘点

假性动脉瘤位于十二指肠球部溃疡面上较罕见,联合介入栓塞及多种胃黏膜保护剂促进溃疡面愈合等综合内科治疗成功,对临床有一定的借鉴价值,减少患者痛苦,在使用多种胃黏膜保护剂对溃疡愈合速度的影响积累经验。

mL, 血浆16 U约3200 mL、冷沉淀3个治疗量约1500 mL。在大便转黄、无呕血7 d后,复查胃镜见:十二指肠球部溃疡(H1)、白苔中央暗紫色血痂, Forrest II b。慢性非萎缩性胃炎(图1B)。继续禁食,以及同等力度药物治疗,未进行内镜下治疗。6 d后在患者要求下,再次胃镜示:十二指肠球部溃疡(H1期)(图1C)。考虑假性动脉瘤消失,溃疡逐渐愈合缩小,且HGB上升至98 g/L,同意患者出院观察。出院后第19天复查胃镜示:十二指肠球部溃疡(S2期)并球腔变形、狭窄(图1D),患者一般情况好,无消化不良症状及消化系出血临床表现,已上班工作。

## 2 讨论

上消化道出血为临床常见急诊之一,发病急骤,及时救治能够挽回患者生命。本例患者首次胃镜检查Forrest分级为II c级,再出血风险及死亡率低,可不进行内镜下止血治疗<sup>[1,2]</sup>。但患者在出血短暂停止后,又再次出现活动性大出血以至于休克,病情危殆。考虑内科治疗困难,行介入手术栓塞治疗,拟介入治疗失败行外科手术,无意中发现十二指肠球部假性动脉瘤。

胃十二指肠动脉瘤无论真性或假性均罕见。B超及钡餐的诊断价值有限,确诊有赖于血管造影或CT<sup>[3]</sup>。CT无创简便但漏诊率高,如同本例患者CT也未发现异常,而是通过肠系膜上动脉造影而发现。假性动脉瘤在动脉血管造影上表现为对比剂外溢,管腔显现一囊腔,显影持续至静脉晚期<sup>[4]</sup>。尽管手术治疗是治疗内脏假性动脉瘤的金标准<sup>[5]</sup>,但因病例数少,手术或介入治疗等何为首选尚有争议。有研究者认为对于胃十二指肠假性动脉瘤而言,以血管内介入治疗更为适宜<sup>[6,7]</sup>。本例行介入治疗后,一度出血停止1天之后再发出血,但再次出血量较前减少,积极保守治疗后出血停止。提示在手术治疗风险大,积

极内科治疗联合介入治疗,有可能降低此类患者胃大部切除的风险。

一般而言,胃十二指肠动脉瘤多由手术、胰腺炎所致<sup>[8]</sup>,本例假性动脉瘤位于溃疡面之上,极为罕见。Pubmedline或cnki、维普等以“动脉瘤”为关键词检索到的文献中均未见。且动脉瘤管壁厚,非如静脉瘤可呈现蓝色调,普通胃镜下常难以判断动脉瘤形成的隆起性病变性质。本例因消化道出血而行急诊胃镜,患者一般情况差,未继续行超声内镜判断该隆起性病变性质。如能明确为血管瘤,立即行介入血管栓塞治疗,或许能够避免该患者的再次出血<sup>[9]</sup>。

另外,对于该患者第2次复查胃镜所见溃疡其上的血痂,按Forrest分级为II b,应行内镜下止血治疗。但对于溃疡面上的血痂,是否需要摘除之后行APC治疗尚有争议。鉴于该血痂为假性动脉瘤形成,内镜下处理风险大,未行内镜下处理。尽管如此,内镜下处理能否降低此类患者的再出血率,尚待积累更多经验。

在本例中,在行血管栓塞术后的第2天仍有活动性出血表现,在埃索美拉唑、生长抑素持续泵入等原有方案基础上,联合多种胃黏膜保护剂而成功止血。是否多种胃黏膜保护剂能够促进病损愈合,降低上消化道大出血患者的死亡风险。

## 3 参考文献

- 1 Sung JJ, Chan FK, Chen M, Ching JY, Ho KY, Kachintorn U, Kim N, Lau JY, Menon J, Rani AA, Reddy N, Sollano J, Sugano K, Tsoi KK, Wu CY, Yeomans N, Vakil N, Goh KL. Asia-Pacific Working Group consensus on non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *Gut* 2011; 60: 1170-1177 [PMID: 21471571 DOI: org/10.1136/gut.2010.230292]
- 2 苏燕波, 唐建光, 刘晓敏, 廖日斌. 急诊内镜对消化性溃疡出血进行Forrest分级的临床应用. *中国内镜杂志* 2011; (3): 247-250 254
- 3 Habib N, Hassan S, Abdou R, Torbey E, Alkaied H, Maniatis T, Azab B, Chalhoub M, Harris K. Gas-



## ■同行评价

本病例临床罕见, 经积极内科治疗联合介入治疗获得成功, 对临床具有一定借鉴意义。

- 4 段旭华, 梁惠民, 冯敢生, 郑传胜, 熊斌. 胃十二指肠动脉假性动脉瘤血管造影诊断及栓塞治疗. 临床放射学杂志 2010; (2): 242-245
- 5 Marone EM, Mascia D, Kahlberg A, Brioschi C, Tshomba Y, Chiesa R. Is open repair still the gold standard in visceral artery aneurysm management? *Ann Vasc Surg* 2011; 25: 936-946 [PMID: 21620671 DOI: org/10.1016/j.avsg.2011.03.006]
- 6 肖乐, 崔建峰, 陈涛. 胃十二指肠假性动脉瘤一例. 中国全科医学 2010; (11): 1245
- 7 卢武胜, 赵纪春, 马玉奎, 黄小亚. 经导管凝血酶栓塞 trooduodenal artery aneurysm, diagnosis, clinical presentation and management: a concise review. *Ann Surg Innov Res* 2013; 7: 4 [PMID: 23587203 DOI: org/10.1186/1750-1164-7-4]
- 8 治疗十二指肠巨大假性动脉瘤一例. 介入放射学杂志 2006; 15: 640
- 9 Klauß M, Heye T, Stampfl U, Grenacher L, Radeleff B. Successful arterial embolization of a giant pseudoaneurysm of the gastroduodenal artery secondary to chronic pancreatitis with literature review. *J Radiol Case Rep* 2012; 6: 9-16 [PMID: 22690281 DOI: org/10.3941/jrcr.v6i2.919]
- Sadek M, Rockman CB, Berland TL, Maldonado TS, Jacobowitz GR, Adelman MA, Mussa FF. Coil embolization of a gastroduodenal artery pseudoaneurysm secondary to cholangitis: technical aspects and review of the literature. *Vasc Endovascular Surg* 2012; 46: 550-554 [PMID: 22903332 DOI: 10.1177/1538574412457082]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 《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*), 创刊于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 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》,

《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M<sub>r</sub>* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ<sup>2</sup>; (4)样本的



相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, E-mail: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

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

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。



## 2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15

2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://apasl2014.com/>

2014-04-05/09

2014年美国癌症研究协会大会(AACR)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx>

2014-04-09/13

2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 英国

联系方式: [http://www.easl.eu/\\_the-international-liver-congress/general-information](http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information)

2014-04-18/05-20

2014中国超声医学学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://www.cuda.org.cn/new/meeting>

2014-04-26/27

中华医学会临床药学会2014年全国学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.cncscp.org/>

2014-05-04/06

2014年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/attendees/faqs>

2014-05-16/18

2014第七届世界癌症大会

会议地点: 南京市

联系方式: <http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp>

2014-05-23/24

第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [adrhuiyi@126.com](mailto:adrhuiyi@126.com)

2014-05-30/06-03

2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.asco.org/meetings/calendar-events>

2014-06-04/07

2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)

会议地点: 英国

联系方式: <http://www.ilts.org/meetings/>

2014-06-09/12

2014年第47届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 以色列

联系方式: <http://www.espghan2014.org/>

2014-06-18/21

2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14>

2014-06-25/28

2014年世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com/WCGI>

2014-06-25/28

2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)

会议地点: 法国

联系方式: [hdimcs@163.com](mailto:hdimcs@163.com)

2014-06-27/28

2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 上海市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-07-26/31

2014年世界移植大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.wtc2014.org/>

2014-07-28/30

第3届国际肠胃病学与泌尿学大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php>

2014-09-05/07

2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.ilca2014.org/>

2014-09-26/30

2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2014-10-18/22

2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/>

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈国忠 主任医师  
广西中医学院第一附属医院消化内科

陈卫昌 教授  
苏州大学附属第一医院消化内科

戴朝六 教授  
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

杜奕奇 副教授  
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊晓明 教授  
复旦大学附属金山医院消化科

傅华群 教授  
南昌大学第二附属医院

何敏 教授  
广西医科大学医学科学实验中心

黄文林 教授  
中山大学附属肿瘤医院

黄颖秋 教授  
本溪钢铁(集团)总医院消化内科

李刚 教授  
北京大学医学部生物化学与分子生物学系

李康 教授  
广东药学院药科学院药物分析教研室

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(普六病区)

李宗芳 教授  
西安交通大学医学院第二附属医院

刘宝瑞 教授  
南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心

刘正稳 教授  
西安交通大学医学院第一附属医院

龙学颖 副主任医师  
中南大学湘雅医院

禄韶英 副教授  
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

吕凌 副教授  
江苏省人民医院肝脏外科

潘秀珍 教授  
福建省立医院消化科

汤华 研究员  
重庆医科大学感染性疾病分子生物学重点实验室

王道荣 主任医师  
江苏省苏北人民医院胃肠外科

王德盛 副主任医师  
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王小众 教授  
福建医科大学附属协和医院消化内科

魏睦新 教授  
南京医科大学第一附属医院

吴道澄 教授  
西安交通大学生命学院

杨柏霖 副主任医师  
南京中医药大学附属医院

杨江华 副教授  
皖南医学院弋矶山医院感染科

于珮 主任医师  
天津医科大学代谢病医院

张宗明 教授  
清华大学第一附属医院消化医学中心

赵铁建 教授  
广西中医药大学基础医学院生理学教研室

周翔宇 副主任医师  
泸州医学院附属医院血管甲状腺外科

## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章：







Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**  
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,  
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China  
Fax: +852-3177-9906  
Telephone: +852-6555-7188  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

