

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014年1月28日 第22卷 第3期 (Volume 22 Number 3)



3/2014

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)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凜教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医学

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

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

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

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

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014年1月28日 第22卷 第3期 (总第443期)

述 评	301 自身免疫性肝病重叠综合征的现状 黄颖秋
基础研究	310 SB203580对肝纤维化大鼠肝脏 I、III型胶原蛋白表达的影响 杨新疆, 齐翠花, 郑勇, 曹玉文, 李睿, 宋丽秀, 赵强, 陈卫刚 319 基于耐药特性联合单细胞培养识别肝癌干细胞克隆亚群 陈娟, 区泳芳, 蔡捷, 陶璐, 陈相宜, 邝晓聪
临床研究	327 肥大细胞及蛋白酶激活受体-2在肠易激综合征中的作用 王军浩, 姜宗丹, 张振玉, 汪志兵, 王劲松, 黄文斌
文献综述	333 IL-10和IL-17在慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化以及肝硬化合并腹腔感染中的研究进展 何文敏, 苏毅 340 肠道微生物在非酒精性脂肪性肝病发病中的作用 卢伟娜, 冯丽英 345 DNA甲基转移酶与胰腺癌关系的研究进展 廖国良, 肖卫东 350 转移性结直肠癌靶向治疗中的关键分子 李慧明, 余英豪 359 括约肌间瘘管结扎术治疗复杂性肛瘘 邓超, 金黑鹰
研究快报	364 健脾解毒方对人结肠癌HCT116/L-OHP裸鼠皮下移植瘤的作用及Caspase3表达的影响 张瑞娟, 余倩云, 许建华, 孙珏, 赵成根, 范忠泽
临床经验	371 NBI诊断Barrett食管伴特殊肠化生的临床价值 齐艳荣, 高建新, 钱晶瑶, 王文静, 贾卫江, 王邦茂 375 胸腹腔镜联合下食管癌切除术与开放手术疗效对比的Meta分析 王晓骏, 张铸, 孙清超 383 替吉奥或氟尿嘧啶联合顺铂治疗晚期食管癌疗效和安全性的比较 庞丽娜, 王峰, 何炜, 周然, 曹蕾, 樊青霞 389 江苏不同地区胃疾病相关幽门螺杆菌差异蛋白质的比较 叶振宇, 李军成, 邢春根 394 胃癌患者应用诊断性腹腔灌洗术进行细胞学检测的意义 朱勇, 陈乾, 汪生尧 399 复方聚乙二醇电解质散和西甲硅油不同服用方法在胶囊内镜肠道准备中的效果对比 刘敏芝, 李运泽, 韦天灵, 梁昌宇, 李莉 404 重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血的预防及临床治疗效果评价 方学文, 常顺, 赵建华, 钱希颖 409 导致药物性肝损害的相关因素分析及针对性干预措施 吕剑敏, 程锐, 吴伟东 415 抗结核药物肝损伤与无肝损伤患者化疗前血循环miRNA分子的差异性表达 叶长根, 孙水林, 白茹, 朱伟星, 陈彩萍, 谢平, 赵晖, 涂文娟, 高得勇, 刘亮明 423 鱼油脂肪乳减轻全胃肠外营养引起的肝损害 马麟, 姜晶, 刘入铭, 王权, 所剑, 曹雪源 429 多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床疗效 王宏伟, 曹丽丽, 樊民强 434 肝再生增强因子在HBV相关肝硬化患者中的表达及意义 陈文, 杨春, 毕义亮, 唐黎, 吴刚, 邓存良 439 替吉奥或卡培他滨同步三维适形放疗治疗中老年复发直肠癌疗效 胡方宽, 王亚楠, 邓业巍, 王华胜, 张胜威, 李晓洁 444 人大肠癌癌旁不同部位组织架构及相关分子差异 苏孟, 文彬, 胡丰良, 刘金元

病例报告	450 以反复腹水为表现的嗜酸细胞性胃肠炎2例 袁珂
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	318 《世界华人消化杂志》参考文献要求 332 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 358 《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) 382 《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 388 《世界华人消化杂志》外文字符标准 398 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0.873 408 《世界华人消化杂志》栏目设置 422 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 443 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 黄颖秋, 教授, 117000, 辽宁省本溪市平山区人民路29号, 中国医科大学第五临床学院, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2014-01-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

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

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期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

January 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 3

EDITORIAL	301 Current progress in research of overlap syndrome of autoimmune liver diseases <i>Huang YQ</i>
BASIC RESEARCH	310 SB203580 decreases collagen I and collagen III expression in the liver of rats with experimental hepatic fibrosis <i>Yang XJ, Qi CH, Zheng Y, Cao YW, Li R, Song LX, Zhao Q, Chen WG</i> 319 Identification of liver cancer stem cells-containing cell subgroups based on resistance characteristics and unicellular culture <i>Chen J, Ou YF, Cai J, Tao L, Chen XY, Kuang XC</i>
CLINICAL RESEARCH	327 Role of mast cells and protease activated receptor-2 in irritable bowel syndrome <i>Wang JJ, Jiang ZD, Zhang ZY, Wang ZB, Wang JS, Huang WB</i>
REVIEW	333 Progress in research of IL-10 and IL-17 in chronic hepatitis B, hepatitis B virus-related liver cirrhosis and cirrhosis with abdominal infection <i>He WM, Su Y</i> 340 Role of gut microbiota in pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease <i>Lu WN, Feng LY</i> 345 DNA methyltransferases and pancreatic cancer <i>Liao GL, Xiao WD</i> 350 Key molecules in targeted therapies for metastatic colorectal cancer <i>Li HM, Yu YH</i> 359 Ligation of intersphincteric fistula tract for treatment of complex anal fistula <i>Deng C, Jin HY</i>
RAPID COMMUNICATION	364 Effects of Jianpi Jiedu decoction on tumor growth and Caspase 3 expression in HCT116/L-OHP colon cancer xenografts in nude mice <i>Zhang RJ, Yu QY, Xu JH, Sun J, Zhao CG, Fan ZZ</i>
CLINICAL PRACTICE	371 Narrow-band imaging endoscopy for diagnosis of specialized intestinal metaplasia in Barrett's esophagus <i>Qi YR, Gao JX, Qian JY, Wang WJ, Jia WJ, Wang BM</i> 375 Combined thoracoscopic-laparoscopic esophagectomy versus open esophagectomy for esophageal cancer: A systematic review and meta-analysis <i>Wang XJ, Zhang Z, Sun QC</i> 383 Efficacy and safety of S-1 or fluorouracil combined with cisplatin in treatment of advanced esophagus cancer <i>Pang LN, Wang F, He W, Zhou R, Cao L, Fan QX</i> 389 Proteomic analysis of <i>Helicobacter pylori</i> from patients with different gastric diseases in different regions of Jiangsu <i>Ye ZY, Li JC, Xing CG</i> 394 A prospective clinical trial of diagnostic peritoneal lavage for peritoneal cytology in patients with gastric cancer <i>Zhu Y, Chen Q, Wang SY</i> 399 Clinical effects of compound polyethylene glycol electrolyte solution with simethicone given by different methods in bowel preparation before capsule endoscopy <i>Liu MZ, Li YZ, Wei TL, Liang CY, Li L</i> 404 Prevention and treatment of stress-induced gastrointestinal bleeding after severe brain injury <i>Fang XW, Chang S, Zhao JH, Qian XY</i> 409 Drug-induced liver disease: Risk factors and intervention measures <i>Lv JM, Cheng R, Wu WD</i> 415 Differentially expressed microRNAs in plasma of pretreated patients with/without anti-tuberculosis drugs-induced hepatotoxicity <i>Ye CG, Sun SL, Bai R, Zhu WX, Chen CP, Xie P, Zhao H, Tu WJ, Gao DY, Liu LM</i> 423 Preventive effects of omega-3 fish oil emulsions on parenteral nutrition-associated liver disease <i>Ma L, Jiang J, Liu RM, Wang Q, Suo J, Cao XY</i> 429 Effect of polyene phosphatidylcholine combined with fenofibrate capsules in treatment of nonalcoholic steatohepatitis <i>Wang HW, Cao LL, Fan MQ</i> 434 Clinical significance of serum levels of augmenter of liver regeneration in patients with HBV-related cirrhosis <i>Chen W, Yang C, Bi YL, Tang L, Wu G, Deng CL</i> 439 Efficacy of three-dimensional conformal therapy combined with S-1 or capecitabine for recurrent rectal carcinoma in elderly patients <i>Hu FK, Wang YN, Deng YW, Wang HS, Zhang SW, Li XJ</i> 444 Variance of crypt architecture and E-cadherin and PAR-3 expression in tissues at different distances from colorectal cancer lesions <i>Su M, Wen B, Hu FL, Liu JY</i>

CASE REPORT	450 Eosinophilic gastroenteritis manifesting as recurrent ascites: Report of two cases <i>Yuan K</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Ying-Qiu Huang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group); the Fifth Clinical College of China Medical University, 29 Renmin Road, Pingshan District, Benxi 117000, Liaoning Province, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date January 28, 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, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcyj@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com
<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 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/tgxz.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

自身免疫性肝病重叠综合征的现状

黄颖秋

黄颖秋, 中国医科大学第五临床学院 本溪钢铁(集团)总医院
消化内科 辽宁省本溪市 117000
黄颖秋, 主任医师, 教授, 研究生导师, 主要从事胃肠动力疾病、
消化系统肿瘤及肝硬化的基础与临床研究。
作者贡献分布: 本述评由黄颖秋独立完成。
通讯作者: 黄颖秋, 教授, 117000, 辽宁省本溪市平山区人民路
29号, 中国医科大学第五临床学院, 本溪钢铁(集团)总医院消化
内科. huangyingqiu_bx@126.com
电话: 0414-2215137
收稿日期: 2013-07-17 修回日期: 2013-10-14
接受日期: 2013-10-17 在线出版日期: 2014-01-28

Current progress in research of overlap syndrome of autoimmune liver diseases

Ying-Qiu Huang

Ying-Qiu Huang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group); the Fifth Clinical College of China Medical University, Benxi 117000, Liaoning Province, China
Correspondence to: Ying-Qiu Huang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group); the Fifth Clinical College of China Medical University, 29 Renmin Road, Pingshan District, Benxi 117000, Liaoning Province, China. huangyingqiu_bx@126.com
Received: 2013-07-17 Revised: 2013-10-14
Accepted: 2013-10-17 Published online: 2014-01-28

Abstract

Autoimmune liver diseases (AILDs) include autoimmune hepatitis (AIH), primary biliary cirrhosis (PBC) and primary sclerosing cholangitis (PSC). Overlap syndrome (OS) of AILDs is a relatively infrequent disease that has the combined clinical, biochemical, serological, histological and radiological features of AIH and PBC or PSC, mainly comprising AIH-PBC and AIH-PSC overlap syndromes. The AIH-PBC overlap syndrome is common in adults, while the AIH-PSC overlap syndrome is predominantly found in children. Overlap syndromes have a progressive course and may finally lead to liver cirrhosis and liver failure without treatment. High-dose ursodeoxycholic acid (UDCA) combined with immunosuppressive therapy with corticosteroids and/or azathioprine (AZA) is usually used in both AIH-PBC and AIH-PSC overlap syndromes. At present, liver transplantation is the

only option with known therapeutic benefit for end-stage patients.

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

Key Words: Autoimmune liver diseases; Overlap syndrome; Autoimmune hepatitis; Primary biliary cirrhosis; Primary sclerosing cholangitis

Huang YQ. Current progress in research of overlap syndrome of autoimmune liver diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 301-309 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/301.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.301>

摘要

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)包括自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)和原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)。AILD重叠综合征(overlap syndrome, OS)是指患者同时兼具AIH和PBC或PSC两种疾病的临床表现、生物化学、血清学、组织学以及影像学特征的一种罕见疾病状态。AILD OS主要分为AIH-PBC OS和AIH-PSC OS。前者多见于成人,后者多见于儿童。OS若无治疗,最终可致肝硬化或肝衰竭。高剂量熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid)与免疫抑制剂类固醇和/或硫唑嘌呤(azathioprine)联合使用通常被用于治疗AIH-PBC OS和AIH-PSC OS。目前,肝移植仍是治疗终末期OS患者的唯一有效方法。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 自身免疫性肝病; 重叠综合征; 自身免疫性肝炎; 原发性胆汁性肝硬化; 原发性硬化性胆管炎

核心提示: 自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)包括自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)及原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)。AILD重叠综

■背景资料

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)是一种由免疫介导的肝脏损伤,包括以肝细胞损伤为主型的自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)以及以胆系损害、胆汁淤积为主型的原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)和原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)3种疾病,部分AILD患者在具有AIH的临床和病理表现的同时,还具有PBC或PSC的临床及组织病理学特征,称之为重叠综合征(overlap syndrome, OS),但此定义尚存争议,并未被国际自身免疫性肝炎小组认同。

■同行评议者

台桂香, 教授, 吉林大学; 宣世英, 教授, 青岛市立医院肝病内科

■ 研发前沿

AILD重叠综合征的发病机制尚不清楚,从人类白细胞抗原的遗传易感性以及外周血单核细胞micro-RNAs过度表达的角度探讨其发病机制似乎有其重要意义。

合征(overlap syndrome, OS)临床罕见,表现复杂,主要包括AIH-PBC OS和AIH-PSC OS。本文详尽阐述了上述AILD OS的最新研究进展,有助于人们加深对AILD OS的认识。

黄颖秋. 自身免疫性肝病重叠综合征的现状. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 301-309 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/301.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.301>

0 引言

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)是免疫介导的以肝组织损伤、肝功能异常为特征的一组自身免疫性疾病,包括自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)和原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)3种疾病^[1]。其临床表现各异,发病机制尚不十分清楚,体液免疫和细胞免疫异常是其共有的病理生理学机制^[1]。AIH是一种免疫介导的炎症性肝病,多发于女性,以血清转氨酶、自身抗体及免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)升高为特征,组织病理学示界面性肝炎(interface hepatitis)^[2,3]。PBC是一种免疫介导的慢性胆汁淤积性肝病,常见于中年女性,以血清抗线粒体抗体(antimitochondrial antibody, AMA)升高为主要特征,组织病理学示慢性肉芽肿性淋巴细胞性小胆管炎^[4]。PSC也是一种免疫介导的慢性胆汁淤积性肝病,以肝内外胆管弥漫性炎性浸润、纤维化、胆管节段性狭窄和变形为主要特征,组织病理学示同心性“洋葱皮”样纤维化^[5]。上述3种疾病均可致肝硬化或肝衰竭。近年来研究发现,部分AILD既具有AIH的特征,同时又符合PBC或PSC的临床和病理特征,故称其为重叠综合征(overlap syndrome, OS)^[1,6,7]。OS的变异型还包括小胆管型PSC、AMA阴性PBC、自身免疫性硬化性胆管炎(autoimmune sclerosing cholangitis, ASC)及IgG4相关硬化性胆管炎(immunoglobulin G4-related sclerosing cholangitis, IgG4-SC)^[6],后者是一种新近认识的与IgG4密切相关、对类固醇激素敏感的慢性胆管炎症性疾病,其主要特征为IgG4阳性浆细胞组织浸润、纤维化及闭塞性静脉炎^[8]。此外, AIH合并系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)^[9,10]或系统性硬化症-多发性肌炎(systemic sclerosis-polymyositis, SSc PM)^[11]也被称为OS,但上述观点尚未达成共识。OS因兼具两种AILD特征或AIH与其他

自身免疫性疾病共存,临床罕见且非常复杂,使诊断和治疗不仅面临挑战,也存在诸多争议,本文就OS的研究现状概述如下。

1 AIH-PBC重叠综合征(AIH-PBC OS)

1.1 概念 AIH-PBC OS是指患者在同一时间段或病程中同时具备AIH和PBC两种疾病的临床、血清学、生物化学以及组织学特征的一种疾病状态,但因其诊断标准或术语尚未标准化,此定义仍显含糊或笼统^[12], AIH-PBC OS究竟是一种独立疾病抑或是AIH或PBC的变异或者是AIH和PBC同时发生的临床表现目前尚存争议^[7,13]。为此,国际自身免疫性肝炎小组(International Autoimmune Hepatitis Group, IAIHG)就上述争议问题发表如下立场声明^[14]。AILD(即AIH、PBC、PSC)部分患者具有两种疾病的重叠特征,通常被分类为“OS”,但目前尚缺乏标准的“OS”概念,重叠状况的诊断标准只能随意定义,用于诊断AIH的IAIHG评分系统曾被广泛用于诊断“OS”,但因尚未证明其为有效诊断工具,并未以此用于“OS”的诊断目的,部分胆汁淤积的“OS”患者或从熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)联合免疫抑制剂治疗中受益,但此策略并非基于证据,就此不必定义新的诊断组别^[14]。IAIHG建议, AILD应按其优势特征分类为AIH、PBC、PSC或小胆管PSC,具有重叠特征的AILD不应视为独立疾病, IAIHG评分系统不应确立亚组患者,具有AIH特征的PBC和PSC患者应予免疫抑制剂治疗^[14]。由于此类“OS”发病率低,在可预见的未来,不可能期望有前瞻性的干预性治疗试验^[14]。

1.2 流行病学 流行病学资料显示, AIH-PBC OS的患病率约占AILD患者的7%-13%^[6], Zhao等^[15]的一项回顾性研究也显示, 1413例AILD患者中, 146例为AIH-PBC OS, 其患病率约为10.33%, 此结论与多数调查结果相近。但因AIH-PBC OS的诊断方法尚不确切, 其患病率也存争议。Bonder等^[16]研究发现, 如按巴黎标准, AIH-PBC OS的患病率仅为1%, 若虽不符合巴黎标准, 但经强的松治疗后肝功酶学及肝活检结果明显改善即可诊断为AIH-PBC OS, 则其患病率为2.8%。

1.3 遗传易感性 表观遗传变异在AILD的发病机制中至关重要^[17]。AIH、PBC及AIH-PBC OS的遗传易感性均与人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)密切相关^[17]。Geylanı Güleç等^[18]对32例AIH患儿研究发现, AIH组不仅I类

HLA抗原A24.9、A26、A32、B38、B51显著增加, 其II类HLA抗原DRB1*04、DRB1*07、DRB1*11、DRB1*15、DRB1*14、DR11.5的频率也显著高于健康对照组。此外, 1型AIH主要与HLA-A24.9、A26、A32和DRB1*15密切相关, 而2型AIH则与HLA-A26、B51、B38及DRB1*11显著相关^[18]。Invernizzi等^[19]对676例意大利的PBC患者研究显示, *HLA-DRB1*基因(*08、*11和*14)及*DPB1*基因与PBC密切相关, 此结论与Chow等^[20]的研究结果基本一致。仅从遗传易感性的角度而言, 尽管AIH、PBC及AIH-PBC OS似乎均与HLA等位基因密切相关, 但三者之间仍有显著的差异, 这或许有助于彼此的鉴别诊断^[21]。Zepeda-Gomez等^[21]采用多态性遗传标记检测了20例AIH、16例PBC及10例AIH-PBC OS患者的HLA-DR等位基因, 结果显示, PBC患者的HLA-DR4、-DR1频率显著高于AIH-PBC OS患者(分别为 $P = 0.01$, $P = 0.004$), 但3组的HLA-DR5频率均显著低于健康对照组。Coss Adame等^[22]对26例AIH和15例AIH-PBC OS患者的HLA研究发现, 与健康对照组相比, AIH患者的HLA-DR1/DR3频率显著增加, 而HLA-DR8频率则显著降低, 但AIH-PBC OS患者的上述基因频率却与对照组无显著差异。然而, AIH-PBC OS患者的HLA-DR7频率却显著高于AIH患者($P = 0.02$)^[22]。因此, HLA-DR7有助于AIH-PBC OS与AIH的鉴别^[22]。

1.4 自身抗体 AIH-PBC OS的确切发病机制仍不清楚, 除HLA的遗传易感因素外, 免疫异常也十分重要, 已证实AIH-PBC OS与多种自身抗体有关^[23], 如抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)、抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)、抗平滑肌抗体(smooth muscle antibody, SMA)、抗肝肾微粒体抗体(anti-liver-kidney microsomal antibody, LKM)。但Zhao等^[15]研究发现, 146例AIH-PBC OS患者中, 仅14例SMA阳性, 提示SMA对AIH-PBC OS的诊断意义甚微。Himoto等^[24]对40例AIH、41例PBC、5例PSC及8例AIH-PBC OS患者的p53抗体检测发现, 50%的AIH-PBC OS患者及15%的AIH患者p53抗体阳性, 而仅2.4%的PBC患者p53抗体阳性, 但全部5例PSC患者均显示p53抗体阴性。由此不难看出, p53抗体与AIH-PBC OS关系密切, 以此也可与几种AILD鉴别。

1.5 感染因素 AIH-PBC OS的发病可能与甲型肝炎病毒(hepatitis A virus, HAV)^[25]、乙型肝炎病

毒(hepatitis B virus, HBV)^[25]、EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)^[23]、巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)^[23]的感染有关。Toyoda-Akui等^[23]报道1例63岁的女性AIH-PBC OS患者, 其血清CMV检测结果阳性, 提示CMV感染可能与AIH-PBC OS有关。此外, Kaech等^[26]还报道1例伯纳特氏立克次氏体(*Coxiella burnetii*)感染引发AIH-PBC OS的病例。

1.6 与非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)的关系 NASH是以肝细胞丧失、脂肪变性、气球样变、炎症坏死及纤维化形成为特征的病理状态, 常见于2型糖尿病、高脂血症及肥胖患者^[27]。有报道显示, NASH存在自身免疫特征, 但意义尚不清楚^[28]。最近, Tsuneyama等^[28]对54例NASH患者研究发现, 48%(26/54)的NASH患者ANA或AMA阳性, 且肝脏组织学显示有AIH和PBC重叠征象, 换言之, 48%的NASH患者有AIH-PBC OS, 与无自身免疫的NASH患者比较后发现, AIH-PBC OS患者年龄较大(60岁 \pm 10岁 vs 50岁 \pm 16岁)、女性多见(81% vs 43%), 且门管区炎症浸润更为严重, 提示NASH的慢性炎症可能参与AIH-PBC OS的某些致病机制, 且可能与年龄增长有关。

1.7 临床特征 AIH-PBC OS兼具AIH和PBC的临床特征, 常表现为厌食、恶心、呕吐、黄疸、乏力等症状, 血清ANA、AMA阳性, 血清碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、 γ -谷氨酰转肽酶(gamma glutamyl transpeptidase, γ -GT)、总胆红素(total bilirubin, TBil)及IgG显著升高^[15]。Katsushima等^[29]对PBC及AIH-PBC OS患者外周血单核细胞micro-RNAs(miRNAs)表达情况分析发现, miR-299-5p表达与血清ALP、 γ -GT、TBil及IgM水平显著相关, 提示miRNAs的过度表达可能与其发病机制有关。此外, Katsushima等^[30]在另一项研究中发现, AIH-PBC OS患者的IgG和IgM均显著升高, 尤以后者明显。Zhao等^[15]对146例AIH-PBC OS研究证实, 41.57%的患者血清IgM显著升高, 而IgG升高者仅为19.10%, 提示IgM可作为AIH-PBC OS的重要血清学指标。除上述特征外, AIH-PBC OS常合并其他自身免疫性疾病, 使临床表现更为复杂, 诊断也更加困难^[31]。Efe等^[31]对71例AIH-PBC OS研究发现, 31例(43.6%)合并肝外自身免疫性疾病, 包括自身免疫性甲状腺疾病(13例, 18.3%)、干燥综合征(6例, 8.4%)、乳糜泻(3例, 4.2%)、银屑病(3例, 4.2%)、类风湿性关节炎(3例, 4.2%)、白癜风(2

■ 相关报道

Zhao等对146例AIH-PBC OS患者的临床、生化、自身抗体及组织病理学特征进行了回顾性研究发现, AILD OS患者存在血清抗平滑肌抗体(smooth muscle antibody, SMA)阳性率低及IgM阳性率高的特征, 此结果与以往OS患者血清SMA阳性率高及IgG阳性率高的报道不同。

■创新盘点

本文详尽阐述了近5年来有关AILD重叠综合征的发病机制、临床特征、诊断及治疗方面的最新研究进展, 内容及观点新颖。

例, 2.8%)和系统性红斑狼疮(2例, 2.8%), 而合并自身免疫性溶血性贫血、抗磷脂抗体综合征、多发性硬化症、膜性肾小球肾炎、结节病、系统性硬化症、颞动脉炎各1例(分别占1.4%)。提示多种自身免疫性疾病与AIH-PBC OS有关。因此, 适当拓宽AIH-PBC OS患者自身免疫性疾病谱的筛查范围十分必要^[31]。晚近, Korkmaz等^[32]报道1例合并Evans综合征的罕见AIH-PBC OS病例, 其主要表现为疲乏、肌肉痛、关节痛、气短和紫癜, 血清学检查示肝功异常、贫血、血小板减少、ANA及AMA-M2阳性。根据上述特征以及骨髓涂片结果, 该患被诊断为AIH-PBC OS、自身免疫性溶血性贫血及自身免疫性血小板减少性紫癜(后二者并存时称为Evans综合征), 经强的松龙和UDCA联合治疗, 症状迅速缓解。此外, Aksoy等^[33]还报道1例合并白癜风和桥本甲状腺炎的AIH-PBC OS病例。

1.8 诊断标准的评估 IAIHG于1999年修订的AIH诊断评分系统(巴黎诊断标准), 因过于复杂而难以在临床实践中全面推广。因此, IAIHG最近提出了一个仅包含4个评分项目的AIH简化诊断评分系统。但这两种评分系统的诊断价值尚存争议。Kuiper等^[34]基于巴黎标准对包括AIH、PBC及AIH-PBC OS在内的134例AILD患者的一项回顾性研究发现, 巴黎标准诊断AIH-PBC OS的敏感性和特异性分别为92%和97%, 而IAIHG新的AIH评分系统的敏感性和特异性却相当低。由此他们认为, 用巴黎诊断标准确认AIH-PBC OS具有高度的敏感性和特异性, 而简化版的AIH评分系统的临床价值尚不确切。而Neuhauser等^[35]以新版AIH简化诊断评分系统作为AIH-PBC OS诊断工具对368例AILD患者回顾性研究发现, 以1999年AIH修订版诊断的43例(12%) AIH-PBC OS患者, 按简化版标准仅为23例(6%), 且后者肝病相关死亡率的频率更高, 提示简化版AIH评分系统不仅有助于AIH-PBC OS的诊断和临床评估, 而且可以替代修订版的AIH-PBC OS诊断标准。

1.9 治疗 AIH的药物 仍以类固醇激素和/或AZA为主, PBC则常采用UDCA治疗, 而对于AIH-PBC OS患者, 除UDCA外, 是否还需要免疫抑制剂治疗仍存争议^[36]。随机对照试验是选择药物治疗的最佳方法。但由于AIH-PBC OS患病率低, 有关其药物治疗, 迄今尚缺乏大规模随机双盲对照临床试验和前瞻性研究, 因此很难判断哪种药物治疗AIH-PBC OS的效果最佳^[36]。Ozaslan

等^[37]的一项非随机双盲小样本回顾性研究发现, 对于AIH评分较高及AMA阴性的AIH-PBC OS患者, 应采取类固醇和UDCA的联合治疗方案, 而对于AIH评分较低及AMA阳性者, 应首先使用UDCA, 如无应答, 加用类固醇激素时应予密切监控。Tanaka等^[38]研究证实, 简化的AIH评分系统对于预测需类固醇激素治疗的AIH-PBC OS患者具有高度特异性。UDCA的推荐使用剂量为每天13-15 mg/kg^[36]。尽管UDCA能减缓PBC的进展, 但大多数患者对UDCA没有完全应答, 即便完全应答者, UDCA也不能治愈疾病^[39]。肝移植无疑是终末期AILD患者的唯一有效治疗手段, 其术后的5年生存率接近80%, 但术后复发问题仍很明显^[5]。Bhanji等^[40]研究发现, OS患者肝移植的术后复发率较单纯的AILD患者显著增加(5年: 53% vs 17%; 10年: 69% vs 29%, $P = 0.001$), 而复发的中位时间也较后者显著缩短(67 mo ± 20 mo vs 172 mo ± 9 mo, $P = 0.001$), 但生存期并无显著差异。

2 AIH-PSC重叠综合征(AIH-PSC OS)

2.1 概念 AIH-PSC OS是指患者在同一时间段或病程中同时具备AIH和PSC两种疾病的临床、血清学、生物化学、免疫学、组织学或影像学特征的一种疾病状态^[41,42], 临床罕见, 诊断十分困难, 迄今仅见少数病例报告发表, 其中的部分患者伴有溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)或克罗恩病(Crohn's disease, CD), 多见于儿童或青少年^[41], 目前尚无AIH-PSC OS的统一定义标准, IAIHG认为AIH-PSC OS不是独立的疾病, 不推荐IAIHG评分系统诊断OS, 建议按AIH、PSC的特征优势分类替代AIH-PSC OS诊断^[14]。

2.2 流行病学 AIH-PBC OS的报道相对较多, 而AIH-PSC OS则较少, 尤其是儿童以及常伴发炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)者^[7], AIH-PSC OS的患病率约占AILD的8%-17%^[6], Abdalian等^[43]通过磁共振胆管成像(magnetic resonance cholangiography, MRC)检测了79例AIH患者的胆管硬化情况, 并经肝活检组织病理学证实, 其中的8例为AIH-PSC OS, 患病率约为10%。因此, Hunter等^[42]建议, 对生化指标显示胆汁淤积的AIH患者, 行常规MRC检查有助于AIH-PSC OS的早期诊断及提高检出率, 可将MRC作为AIH-PSC OS的筛查手段。但也有学者认为AIH-PSC OS的患病率明显低于AIH-PBC OS, Zhao等^[15]对1413例AILD患者的一项回顾性

研究发现, 尽管AIH-PBC OS患者高达146例, 但AIH-PSC OS的患者数却为零。

2.3 临床特征 AIH-PSC OS兼具AIH及PSC的临床特征, 但缺乏特异性, 常伴有IBD, 主要表现为嗜睡、疲劳、厌食、皮肤瘙痒和其他淤胆症状, 血清ALP、 γ -GT升高, 血清ANA、SMA、LKM及核周型抗中性粒细胞胞浆抗体(perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies, p-ANCA)阳性, 肝活检示中、重度界面性肝炎、胆管纤维化及周围炎性改变, 影像学示胆管串珠样或树枝样改变^[44,45]。ASC是兼具AIH和PSC特征的OS, 即所谓发生于儿童的AIH-PSC OS^[46]。PSC通常累及大胆管, 而小胆管受累者极为罕见^[46], 但Olsson等^[47]研究显示, 26例AIH-PSC OS患者中, 经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)、MRC及肝组织活检, 确诊为小胆管型AIH-PSC OS患者7例(27%), 可见小胆管受累并非罕见。AIH-PSC OS发生于儿童的频率远高于成人, 且常伴发IBD, 尤其是UC^[46], 但伴发CD者罕见^[48]。最近, Larsen等^[46]报道1例同时患有CD及严重小胆管ASC的10岁病例, 其主要表现为体质量减轻、腹痛、呕吐和腹泻, 血清ALT、 γ -GT及IgG水平升高, 血清SMA、p-ANCA阳性, 但ALP正常, 肝活检示AIH和PSC的组织学特征, 后者为小胆管的急性、增生性及破坏性炎症及粒细胞浸润, MRC正常, 结肠镜病理活检示盲肠、升结肠及横结肠符合CD的慢性炎症性改变。此外, Malik等^[48]确诊的1例22岁女性AIH-PSC OS患者, 于3年后又出现腹泻、腹部绞痛等症状, 结肠镜检查发现全结肠及末段回肠呈广泛黏膜炎症改变, 黏膜活检示大量的隐窝结构扭曲变形、局灶性隐窝炎、慢性炎症细胞浸润及纤维炎症性渗出, 腹部CT扫描显示末段回肠、盲肠、升结肠及横结肠管壁弥漫性增厚、肠腔狭窄及肠管周围间隙模糊等活动性IBD表现, 据此诊断为CD。

2.4 诊断方法的评估 AIH-PSC OS的早期诊断常面临困难, 对于显示胆汁淤积的AIH患者尽早采用MRC筛查似乎有助于早期诊断^[42], 但对小胆管型AIH-PSC OS者无效^[46]。Hunter等^[42]对118例AIH患者的胆汁淤积指标进行筛查, 从中选择24例胆汁淤积的AIH患者, 通过对其临床病理及MRC研究发现, 近期淤胆的12例AIH患者(50%)显示有PSC特征, 最终被诊断为OS。与对照组比较, 胆汁淤积组的AST降低($P = 0.012$)、IgM升高($P = 0.002$), 且多数患者有UC。Hunter等^[42]认

为, MRC作为AIH患者可能罹患AIH-PSC OS的筛查手段, 有其应用价值, 甚至优于ERCP, 但对可疑者, 若MRC正常, 应尽早行肝组织活检以除外小胆管型AIH-PSC OS。

2.5 治疗 因缺乏有效诊断标准和大量治疗试验, AIH-PSC OS的治疗多源于AILD的治疗体会或经验^[1]。美国肝病研究学会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)主张对AIH、PSC采用个性化治疗方案^[1]。作为一线药物, 类固醇激素可联合或不联合AZA使用, AIH-PSC OS的药物治疗一般采用免疫抑制剂、类固醇激素、UDCA或联合应用, 但疗效仍有争议^[1]。UDCA是治疗早期或中期PSC的常用药物, 可降低转氨酶, 缓解乏力和皮肤瘙痒^[5,39], 因此也成为AIH-PSC OS的首选药物。UDCA的常规剂量尚未定论, 通常采用每天10-30 mg/kg, 但近年来也推荐高剂量UDCA^[5]。但Culver等^[49]认为, 小或中等剂量的UDCA其疗效令人失望, 而高剂量UDCA又面临潜在的风险。Malik等^[48]对1例伴发CD的22岁女性AIH-PSC OS患者采用个体化治疗方案观察发现, 停用强的松龙, 改用布地奈德(Budesonide)每天9 mg以治疗活动性CD, 但腹泻症状无缓解, 肝功能进一步减退, 停用布地奈德和AZA, 应用肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)阻滞剂阿达木单抗(adalimumab), 腹泻明显缓解, 肝功能指标趋于正常, 但维持6 mo后, 腹泻、腹痛及血便症状又逐渐复发, 加用氨甲蝶呤(methotrexate, MTX), 腹泻、腹痛仅暂时缓解, 但转氨酶再次升高, 故停用阿达木单抗和MTX, 直接应用6-巯基嘌呤(6-mercaptopurine, 6-MP)每天100 mg治疗, 患者腹泻症状明显缓解。此外, 应用霉酚酸酯(mycophenolate mofetil)成功控制其AIH, 用UDCA治疗PSC引发的胆汁淤积症状, 应用ERCP球囊扩张或置放支架治疗PSC导致的胆管狭窄^[48]。目前, 肝移植仍是终末期AIH-PSC OS患者的唯一有效治疗手段^[5,49]。Bhanji等^[40]对5例AIH-PSC OS患者研究发现, 虽然其肝移植的术后复发率较AILD显著增加, 但二者的生存率并无显著差异。

3 AIH-SLE重叠综合征(AIH-SLE OS)

AIH-SLE OS是指患者在同一时间段或病程中同时具备AIH和SLE两种疾病的临床、生物化学、免疫学以及组织学特征的一种疾病状态^[10,50], 但此定义并未被IAIHG认同^[14], Efe等^[31]认为SLE仅为AIH患者的一种肝外自身免疫性疾病表现, 不

■应用要点

本文就AILD重叠综合征的发病机制、临床特征、诊断及治疗的最新进展进行了详尽阐述, 有助于加深人们对AILD疾病行为的进一步认识。

■同行评价

本文详尽阐述了AILD OS的最新研究进展,有助于人们加深对AILD OS的认识,有重要的学术价值和临床指导意义。

能称其为OS. 该病较罕见,成人^[10]或儿童^[50]均可发病. 尽管AIH和SLE均为自身免疫性疾病,但前者主要为细胞免疫异常,而后者则为体液免疫异常^[51]. 而AIH-SLE OS的发病机制可能与Th1细胞/调节性T细胞(T-regs)间复杂的免疫调节失衡有关^[9]. 由于SLE可致肝损害,且可为首发表现,肝损害有时甚至相当严重,而ANA、SMA也可阳性,因此易与AIH混淆^[51]. SLE常累及皮肤、肾脏、神经等多系统,肝损害常与其他系统并行,且与SLE活动性有关,而AIH则以肝实质损害为主要表现,肝外损害相对较轻^[51],但当AIH和SLE共存于同一患者时,鉴别肝损害的病因仍面临挑战. Efe等^[51]对147例SLE患者的回顾性研究发现,36例患者肝酶异常,而全部SLE患者中的4.7%被诊断为AILD,占肝酶异常者的19.4%,72.3%肝酶异常者符合IAIHG修订的AIH标准,而采用简化标准时AIH则为66.7%,然而,这些患者中仅13.8%有符合AIH的肝活检结果. 此研究表明,AIH可能出于SLE的病程中,但由于二者的生化指标相似,应用IAIHG评分系统和简化标准很可能将SLE的肝损害误认为AIH,为确定AIH诊断,对于肝酶异常的全部SLE患者应实施肝活检. 因此,对于既符合SLE诊断标准又同时具有AIH临床病理表现的病例,应视为AIH-SLE OS.

4 AIH-SSc PM重叠综合征(AIH-SSc PM OS)

AIH-SSc PM OS是指患者在同一时间段或病程中同时具备AIH和SSc PM两种疾病的临床、生物化学、免疫学以及组织学特征的一种疾病状态^[11,52],但IAIHG并不认同此定义^[14],Efe等^[31]也视SSc PM仅为AIH患者的一种肝外自身免疫性疾病,而非OS. SSc是一种以皮肤和内脏器官纤维化、微血管系统显著改变以及免疫学异常为主要特征的自身免疫性疾病^[11,52],PM是一种以对称性肌无力、肌萎缩和肌痛为主要表现的自身免疫性疾病^[11],SSc与PM重叠,使临床表现更为复杂^[11]. Pamfil等^[11]首次报道了1例AIH、SSc、PM及脑血管炎共存于同一患者的病例,并称其为AIH-SSc PM OS. 依据ANA阳性,血清球蛋白及转氨酶升高,肝活检示门管区及小叶内浆细胞浸润、碎屑样坏死及纤维化,并除外病毒性肝炎、酒精或药物性肝损害,该患被诊断为AIH,经强的松龙(prednisolone)和AZA治疗后不久,患者即出现严重的吞咽困难,被诊断为胃-食管念珠菌病,病情进一步恶化,出现疲劳、

近端肌无力、体质量下降及胃肠道症状导致的脱水,进而出现认知功能障碍、困惑、焦虑以及毛细血管扩张显著增加. 实验室检查示白细胞、血小板减少,ALT、AST、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、肌酸磷酸激酶(creatine phosphokinase, CPK)、球蛋白增加,ANA、抗磷脂抗体(antiphospholipik antibodies, APA)阳性,超声心动图示少量心包积液,肺CT示渗出性肺炎及早期纤维化. 肌活检示活动性肌炎. 磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)T2-加权示大脑血管炎性病变. 据此,补充诊断为SSc、PM及脑血管炎,予甲基强的松龙和环磷酰胺联合冲击治疗,同时继续抗真菌治疗. 3 mo后,患者的肌力、认知障碍、焦虑状态、肝酶及白细胞等均明显恢复.

5 PBC-PSC重叠综合征(PBC-PSC OS)

PBC-PSC OS是指患者同时具备PBC和PSC两种疾病的临床、组织学及影像学特征的一种疾病状态,目前仅有个别病例报告^[53]. Jeevagan^[54]报道1例罹患PBC 17年的女性PBC-PSC OS病例,该患具有胆汁淤积的典型临床和生化特征,ERCP及磁共振胆胰管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)均显示典型的PSC特征,肝脏组织学示汇管区大量淋巴细胞浸润,且于中小胆管周围出现淋巴滤泡,但血清AMA、SMA、LKM均阴性,血清IgG、IgA、IgM也均在正常范围,经胆管内置放支架及UDCA治疗,患者症状、生化指标及影像学特征明显改善.

6 PBC-IgG4-SC重叠综合征(PBC-IgG4-SC OS)

PBC-IgG4-SC OS是指患者同时具备PBC和IgG4-SC两种疾病的临床、血清学、组织学及影像学特征的一种疾病状态,目前仅见1例病例报告^[55]. Naitoh等^[55]报道1例PBC与IgG4-SC重叠,经强的松龙和UDCA联合治疗成功的病例. 患者除血清转氨酶、AMA显著升高外,血清IgG4滴度为968 mg/dL(正常范围: 4.8-105 mg/dL),内镜逆行胰管造影(endoscopic retrograde pancreatography, ERP)显示,胰头部主胰管呈局灶性不规则狭窄,体尾部胰管呈节段性狭窄. 内镜逆行胆管造影(endoscopic retrograde cholangiography, ERC)示肝内胆管弥漫性狭窄. 胆管腔内超声(intraductal ultrasonography, IDUS)显示胆管壁连续性增厚. 肝活检病理显示,门管区及胆管壁

可见中等量的淋巴浆细胞浸润, 并可见大量的IgG4阳性浆细胞浸润。据此, 该病例诊断为PBC和IgG4-SC, 并经类固醇激素和UDCA联合治疗取得了较好的疗效。

7 结论

AILD OS通常包括AIH-PBC OS和AIH-PSC OS两种疾病, 而AIH-SLE OS、AIH-SSc PM OS、PBC-PSC OS及PBC-IgG4-SC OS迄今罕有报道, 其定义也仅为少数学者主张, 并未被多数学者认同。重叠综合征的存在使AILD的临床表现更为复杂, 诊断和治疗也面临诸多挑战, 在评估可能存在的AILD OS时, 必须兼顾肝炎性和胆管炎性成分的组织病理学证据, 只有存在典型的界面性肝炎, 同时又兼有破坏性肉芽肿性胆管炎或纤维性阻塞性胆管炎时, 才可考虑AILD OS的存在。因AILD OS相对少见, 目前尚缺乏大规模随机双盲的前瞻性研究, 而AILD OS这一定义迄今也尚存争议, 且仍未被IAIHG认同。因此对AILD OS的深入了解仍需时日。

8 参考文献

- Trivedi PJ, Hirschfield GM. Review article: overlap syndromes and autoimmune liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 517-533 [PMID: 22817525 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05223.x]
- Gossard AA, Lindor KD. Autoimmune hepatitis: a review. *J Gastroenterol* 2012; 47: 498-503 [PMID: 22526272 DOI: 10.1007/s00535-012-0586-z]
- Lata J. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis. *Dig Dis* 2012; 30: 212-215 [PMID: 22722441 DOI: 10.1159/000336704]
- 黄颖秋. 原发性胆汁性肝硬化发病机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2761-2770
- 黄颖秋. 原发性硬化性胆管炎的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2978-2985
- Czaja AJ. The overlap syndromes of autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 326-343 [PMID: 22918690 DOI: 10.1007/s10620-012-2367-1]
- Durazzo M, Premoli A, Paschetta E, Belci P, Spandre M, Bo S. Overlap syndromes of autoimmune hepatitis: an open question. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 344-348 [PMID: 23086110 DOI: 10.1007/s10620-012-2378-y]
- 黄颖秋. IgG4相关硬化性胆管炎的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2554-2561
- Longhi MS, Ma Y, Grant CR, Samyn M, Gordon P, Mieli-Vergani G, Vergani D. T-regs in autoimmune hepatitis-systemic lupus erythematosus/mixed connective tissue disease overlap syndrome are functionally defective and display a Th1 cytokine profile. *J Autoimmun* 2013; 41: 146-151 [PMID: 23287048 DOI: 10.1016/j.jaut.2012.12.003]
- Koshy JM, John M. Autoimmune hepatitis--SLE overlap syndrome. *J Assoc Physicians India* 2012; 60: 59-60 [PMID: 23547416]
- Pamfil C, Zdrenghea MT, Mircea PA, Manzat Sap-lacan RM, Rednic N, Rednic S. Systemic sclerosis-polymyositis overlap syndrome associated with autoimmune hepatitis and cerebral vasculitis. *J Gastrointest Liver Dis* 2012; 21: 317-320 [PMID: 23012675]
- Lee H, Stapp RT, Ormsby AH, Shah VV. The usefulness of IgG and IgM immunostaining of periportal inflammatory cells (plasma cells and lymphocytes) for the distinction of autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis and their staining pattern in autoimmune hepatitis-primary biliary cirrhosis overlap syndrome. *Am J Clin Pathol* 2010; 133: 430-437 [PMID: 20154281 DOI: 10.1309/AJCP93G-ZSHUNTAI]
- Talukdar A, Khanra D, Mukherjee K, Saha M. Autoimmune hepatitis in a teenage boy: 'overlap' or 'outlier' syndrome--dilemma for internists. *BMJ Case Rep* 2013; 2013 [PMID: 23396934 DOI: 10.1136/bcr-2012-008335]
- Boberg KM, Chapman RW, Hirschfield GM, Lohse AW, Manns MP, Schrupf E. Overlap syndromes: the International Autoimmune Hepatitis Group (IAIHG) position statement on a controversial issue. *J Hepatol* 2011; 54: 374-385 [PMID: 21067838 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.09.002]
- Zhao P, Han Y. Low incidence of positive smooth muscle antibody and high incidence of isolated IgM elevation in Chinese patients with autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis overlap syndrome: a retrospective study. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 1 [PMID: 22214224 DOI: 10.1186/1471-230X-12-1]
- Bonder A, Retana A, Winston DM, Leung J, Kaplan MM. Prevalence of primary biliary cirrhosis-autoimmune hepatitis overlap syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 609-612 [PMID: 21440668 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.03.019]
- Wang Q, Selmi C, Zhou X, Qiu D, Li Z, Miao Q, Chen X, Wang J, Krawitt EL, Gershwin ME, Han Y, Ma X. Epigenetic considerations and the clinical reevaluation of the overlap syndrome between primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis. *J Autoimmun* 2013; 41: 140-145 [PMID: 23187010 DOI: 10.1016/j.jaut.2012.10.004]
- Geylan Güleç S, Urganci N, Polat TB, Demirel E, Yilmaz E. Relations between human leukocyte antigens and autoimmune hepatitis in Turkish children. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22: 42-46 [PMID: 21480110]
- Invernizzi P, Ransom M, Raychaudhuri S, Kosoy R, Lleo A, Shigeta R, Franke A, Bossa F, Amos CI, Gregersen PK, Siminovitch KA, Cusi D, de Bakker PI, Podda M, Gershwin ME, Seldin MF. Classical HLA-DRB1 and DPB1 alleles account for HLA associations with primary biliary cirrhosis. *Genes Immun* 2012; 13: 461-468 [PMID: 22573116 DOI: 10.1038/gene.2012.17]
- Chow IT, James EA, Gates TJ, Tan V, Moustakas AK, Papadopoulos GK, Kwok WW. Differential binding of pyruvate dehydrogenase complex-E2 epitopes by DRB1*08: 01 and DRB1*11: 01 is predicted by their structural motifs and correlates with disease risk. *J Immunol* 2013; 190: 4516-4524 [PMID: 23543758 DOI: 10.4049/jimmunol.1202445]
- Zepeda-Gomez S, Montaña-Loza A, Zapata-Colindres JC, Paz F, Olivera-Martinez M, López-Reyes A, Granados J, Vargas-Alarcón G. HLA-DR allele frequencies in Mexican mestizos with autoimmune

- liver diseases including overlap syndromes. *Immunol Invest* 2009; 38: 276-283 [PMID: 19811438]
- 22 Coss Adame E, Granados J, Uribe M, Torre A. Does HLA-DR7 differentiate the overlap syndrome of auto-immune hepatitis-primary biliary cirrhosis (AIH-PBC) from those with auto-immune hepatitis type 1? *Ann Hepatol* 2011; 10: 28-32 [PMID: 21301006]
- 23 Toyoda-Akui M, Yokomori H, Kaneko F, Shimizu Y, Takeuchi H, Tahara K, Yoshida H, Kondo H, Motoori T, Ohbu M, Oda M, Hibi T. Association of an overlap syndrome of autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis with cytomegalovirus infection. *Int J Gen Med* 2011; 4: 397-402 [PMID: 21731890 DOI: 10.2147/IJGM.S19245]
- 24 Himoto T, Yoneyama H, Kurokohchi K, Inukai M, Masugata H, Goda F, Haba R, Watanabe S, Senda S, Masaki T. Clinical significance of autoantibodies to p53 protein in patients with autoimmune liver diseases. *Can J Gastroenterol* 2012; 26: 125-129 [PMID: 22408762]
- 25 Núñez Martínez Ó, Marquina Ibáñez I, Ruiz Bravo-Burguillos E, Encinas Sotillos A, Erdozaín Sosa JC. [Primary biliary cirrhosis-autoimmune hepatitis overlap syndrome in a patient with chronic hepatitis B infection]. *Gastroenterol Hepatol* 2013; 36: 382-387 [PMID: 23084258 DOI: 10.1016/j.gastrohep.2012.07.007]
- 26 Kaech C, Pache I, Raoult D, Greub G. Coxiella burnetii as a possible cause of autoimmune liver disease: a case report. *J Med Case Rep* 2009; 3: 8870 [PMID: 19830243 DOI: 10.4076/1752-1947-3-8870]
- 27 黄颖秋. 非酒精性脂肪性肝炎发病机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3181-3188
- 28 Tsuneyama K, Baba H, Kikuchi K, Nishida T, Nomoto K, Hayashi S, Miwa S, Nakajima T, Nakanishi Y, Masuda S, Terada M, Imura J, Selmi C. Autoimmune features in metabolic liver disease: a single-center experience and review of the literature. *Clin Rev Allergy Immunol* 2013; 45: 143-148 [PMID: 23842720 DOI: 10.1007/s12016-013-8383-x]
- 29 Katsushima F, Takahashi A, Sakamoto N, Kanno Y, Abe K, Ohira H. Expression of micro-RNAs in peripheral blood mononuclear cells from primary biliary cirrhosis patients. *Hepatol Res* 2013 Jul 9. [Epub ahead of print] [PMID: 23834361 DOI: 10.1111/hepr.12198]
- 30 Katsushima F, Takahashi A, Suzuki T, Ejiri Y, Abe K, Ohira H. A case of overlap syndrome of primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis with marked elevation of IgM. *Fukushima J Med Sci* 2013; 59: 63-67 [PMID: 23842517 DOI: 10.5387/fms.59.63]
- 31 Efe C, Wahlin S, Ozaslan E, Berlot AH, Purnak T, Muratori L, Quarneti C, Yüksel O, Thiéfin G, Muratori P. Autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome and associated extra-hepatic autoimmune diseases. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 531-534 [PMID: 22465972 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328350f95b]
- 32 Korkmaz H, Bugdaci MS, Temel T, Dagli M, Karabagli P. Autoimmune hepatitis-primary biliary cirrhosis overlap syndrome concomitant with immune hemolytic anemia and immune thrombocytopenic purpura (Evans syndrome). *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: e45-e50 [PMID: 23273499 DOI: 10.1016/j.clinre.2012.11.001]
- 33 Aksoy EK, Yilmaz B, Köklü S. Autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome developed in a patient with vitiligo and Hashimoto thyroiditis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013; 25: 121-122 [PMID: 23196727 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328359493e]
- 34 Kuiper EM, Zondervan PE, van Buuren HR. Paris criteria are effective in diagnosis of primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis overlap syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 530-534 [PMID: 20304098 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.03.004]
- 35 Neuhauser M, Bjornsson E, Treeprasertsuk S, Enders F, Silveira M, Talwalkar J, Lindor K. Auto-immune hepatitis-PBC overlap syndrome: a simplified scoring system may assist in the diagnosis. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 345-353 [PMID: 19888204 DOI: 10.1038/ajg.2009.616]
- 36 Rust C, Beuers U. Overlap syndromes among autoimmune liver diseases. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3368-3373 [PMID: 18528934 DOI: 10.3748/wjg.14.3368]
- 37 Ozaslan E, Efe C, Akbulut S, Purnak T, Savas B, Erden E, Altiparmak E. Therapy response and outcome of overlap syndromes: autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis compared to autoimmune hepatitis and autoimmune cholangitis. *Hepatogastroenterology* 2010; 57: 441-446 [PMID: 20698205]
- 38 Tanaka A, Harada K, Ebinuma H, Komori A, Yokokawa J, Yoshizawa K, Abe M, Miyake Y, Kikuchi K, Ohira H, Zeniya M, Yamamoto K, Ishibashi H, Onji M, Nakanuma Y, Tsubouchi H, Takikawa H. Primary biliary cirrhosis - Autoimmune hepatitis overlap syndrome: A rationale for corticosteroids use based on a nation-wide retrospective study in Japan. *Hepatol Res* 2011; 41: 877-886 [PMID: 21883738 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00844.x]
- 39 Carey EJ, Lindor KD. Current pharmacotherapy for cholestatic liver disease. *Expert Opin Pharmacother* 2012; 13: 2473-2484 [PMID: 23094715 DOI: 10.1517/14656566.2012.736491]
- 40 Bhanji RA, Mason AL, Girgis S, Montano-Loza AJ. Liver transplantation for overlap syndromes of autoimmune liver diseases. *Liver Int* 2013; 33: 210-219 [PMID: 23146117 DOI: 10.1111/liv.12027]
- 41 Lamia S, Sana K, Rachid J, Hajer A, Leila M, Nabil T, Mongia H. Autoimmune hepatitis-primary sclerosing cholangitis overlap syndrome complicated by inflammatory bowel disease. *Tunis Med* 2012; 90: 899-900 [PMID: 23247795]
- 42 Hunter M, Loughrey MB, Gray M, Ellis P, McDougall N, Callender M. Evaluating distinctive features for early diagnosis of primary sclerosing cholangitis overlap syndrome in adults with autoimmune hepatitis. *Ulster Med J* 2011; 80: 15-18 [PMID: 22347734]
- 43 Abdalian R, Dhar P, Jhaveri K, Haider M, Guindi M, Heathcote EJ. Prevalence of sclerosing cholangitis in adults with autoimmune hepatitis: evaluating the role of routine magnetic resonance imaging. *Hepatology* 2008; 47: 949-957 [PMID: 18200555 DOI: 10.1002/hep.22073]
- 44 Lüth S, Kanzler S, Frenzel C, Kasper HU, Dienes HP, Schramm C, Galle PR, Herkel J, Lohse AW. Characteristics and long-term prognosis of the autoimmune hepatitis/primary sclerosing cholangitis overlap syndrome. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 75-80 [PMID: 18769363 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318157c614]
- 45 Trivedi PJ, Chapman RW. PSC, AIH and overlap

- syndrome in inflammatory bowel disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: 420-436 [PMID: 22306055 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.10.007]
- 46 Larsen EP, Bayat A, Vyberg M. Small duct autoimmune sclerosing cholangitis and Crohn colitis in a 10-year-old child. A case report and review of the literature. *Diagn Pathol* 2012; 7: 100 [PMID: 22891962 DOI: 10.1186/1746-1596-7-100]
- 47 Olsson R, Glaumann H, Almer S, Broomé U, Lebrun B, Bergquist A, Björnsson E, Prytz H, Danielsson A, Lindgren S. High prevalence of small duct primary sclerosing cholangitis among patients with overlapping autoimmune hepatitis and primary sclerosing cholangitis. *Eur J Intern Med* 2009; 20: 190-196 [PMID: 19327611 DOI: 10.1016/j.ejim.2008.06.004]
- 48 Malik TA, Gutierrez AM, McGuire B, Zarzour JG, Mukhtar F, Bloomer J. Autoimmune hepatitis-primary sclerosing cholangitis overlap syndrome complicated by Crohn's disease. *Digestion* 2010; 82: 24-26 [PMID: 20160443 DOI: 10.1159/000273735]
- 49 Culver EL, Chapman RW. Systematic review: management options for primary sclerosing cholangitis and its variant forms - IgG4-associated cholangitis and overlap with autoimmune hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 1273-1291 [PMID: 21501198 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04658.x]
- 50 Usta Y, Gurakan F, Akcoren Z, Ozen S. An overlap syndrome involving autoimmune hepatitis and systemic lupus erythematosus in childhood. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2764-2767 [PMID: 17569152]
- 51 Efe C, Purnak T, Ozaşlan E, Ozbalkan Z, Karaaşlan Y, Altıparmak E, Muratori P, Wahlin S. Autoimmune liver disease in patients with systemic lupus erythematosus: a retrospective analysis of 147 cases. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 732-737 [PMID: 21348808 DOI: 10.3109/00365521.2011.558114]
- 52 Klein R, Hintz E, Staehler G. Exacerbation of AIH in a patient with an AIH/systemic sclerosis overlap syndrome and pulmonary arterial hypertension treated with the endothelin-1 receptor antagonist sitaxentan. *BMJ Case Rep* 2012; 2012 [PMID: 22802555 DOI: 10.1136/bcr-01-2012-5494]
- 53 卞兆连, 尤征瑞, 马雄. 自身免疫性肝病重叠综合征的诊断与治疗. *临床肝胆病杂志* 2011; 27: 601-604
- 54 Jeevagan A. Overlap of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis - a rare coincidence or a new syndrome. *Int J Gen Med* 2010; 3: 143-146 [PMID: 20531971]
- 55 Naitoh I, Nakazawa T, Hayashi K, Miyabe K, Shimizu S, Kondo H, Yoshida M, Yamashita H, Nojiri S, Takahashi S, Joh T. A case of IgG4-related sclerosing cholangitis overlapped with primary biliary cirrhosis. *Intern Med* 2012; 51: 1695-1699 [PMID: 22790128 DOI: 10.2169/internalmedicine.51.7327]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



SB203580对肝纤维化大鼠肝脏 I、III型胶原蛋白表达的影响

杨新疆, 齐翠花, 郑勇, 曹玉文, 李睿, 宋丽秀, 赵强, 陈卫刚

■背景资料

目前尚无特效药物能将肝硬化治愈, 但肝纤维化作为各种慢性肝病进展为肝硬化的一个必经阶段, 已被证实是可逆的。P38MAPK信号通路在细胞的炎症反应、细胞凋亡等各种反应和免疫调节等过程中起重要作用。研究发现, P38MAPK的活化与肝纤维化有密切关系, 因此他在肝纤维化形成过程中的作用受到众多研究者的关注。

杨新疆, 赵强, 石河子大学医学院 新疆维吾尔自治区石河子市 832002

齐翠花, 郑勇, 李睿, 宋丽秀, 陈卫刚, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市 832008
曹玉文, 石河子大学医学院第一附属医院病理科 新疆维吾尔自治区石河子市 832008

杨新疆, 在读硕士, 主要从事肝纤维化与门脉高压症的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81170402

作者贡献分布: 本课题由杨新疆、陈卫刚、郑勇、李睿及宋丽秀设计; 研究过程由杨新疆、齐翠花、曹玉文及赵强完成; 研究所用试剂由陈卫刚与郑勇提供; 数据分析由杨新疆完成; 本论文写作由杨新疆与陈卫刚完成。

通讯作者: 陈卫刚, 副教授, 主任医师, 832008, 新疆维吾尔自治区石河子市北二路, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科。cwjg_sh@126.com

收稿日期: 2013-10-13 修回日期: 2013-11-10

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-28

SB203580 decreases collagen I and collagen III expression in the liver of rats with experimental hepatic fibrosis

Xin-Jiang Yang, Cui-Hua Qi, Yong Zheng, Yu-Wen Cao, Rui Li, Li-Xiu Song, Qiang Zhao, Wei-Gang Chen

Xin-Jiang Yang, Qiang Zhao, College of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Cui-Hua Qi, Yong Zheng, Rui Li, Li-Xiu Song, Wei-Gang Chen, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of College of Medicine of Shihezi University, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Yu-Wen Cao, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of College of Medicine of Shihezi University, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81170402

Correspondence to: Wei-Gang Chen, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Medicine of College of Shihezi University, Beier Road, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. cwjg_sh@126.com

Received: 2013-10-13 Revised: 2013-11-10

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of P38MAPK inhibitor SB203580 on collagen I and collagen III expression in the liver of rats with experimental hepatic fibrosis.

METHODS: Thirty-two female SD rats were randomly divided into four groups: a normal con-

trol group, a hepatic fibrosis group, a dimethyl sulfoxide (DMSO) group and a SB203580 group. Except the normal control group, rats in other groups were subcutaneously injected with carbon tetrachloride to induce hepatic fibrosis. The DMSO group was intraperitoneally injected with 2% DMSO [3 mL/(kg·d)]. Rats in the SB203580 group were intraperitoneally injected with SB203580 [10 mg/(kg·d), dissolved in DMSO]. Fibrosis was staged using histopathological methods. The expression of collagen I and collagen III was detected by immunohistochemistry and RT-PCR.

RESULTS: In the normal control group, hepatic fibrosis group, DMSO group and SB203580 group, mean rank of liver fibrosis stage was 4.50, 22.50, 24.00 and 15.00, respectively; SSS scores were 2.750 ± 0.707, 15.875 ± 0.835, 16.000 ± 0.926 and 11.625 ± 0.916, respectively; color rendering indexes of collagen I were 1.575 ± 0.249, 7.650 ± 0.621, 7.725 ± 0.501 and 4.625 ± 0.495, respectively; color rendering indexes of collagen III were 2.375 ± 0.518, 4.025 ± 0.446, 4.075 ± 0.544 and 3.375 ± 0.167, respectively; the relative expression levels of collagen I were 0.020 ± 0.003, 0.012 ± 0.002, 0.009 ± 0.002 and 0.016 ± 0.005, respectively; the relative expression levels of collagen III were 0.412 ± 0.772, 0.773 ± 0.137, 0.799 ± 0.116 and 0.572 ± 0.862, respectively. Compared to the normal control group, the stage of fibrosis was elevated ($P < 0.001$) and the expression of collagen I and collagen III was increased (both $P < 0.001$) in the hepatic fibrosis group. Compared to the hepatic fibrosis group, the stage of fibrosis declined ($P = 0.015$) and the expression of collagen I ($P < 0.001$) and collagen III ($P = 0.041$) was decreased in the SB203580 group.

CONCLUSION: P38MAPK inhibitor SB203580 decreases the expression of collagen I and collagen III and inhibits the progression of hepatic fibrosis in rats.

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

Key Words: SB203580; Hepatic fibrosis; Collagen I; Collagen III

■同行评议者

李淑德, 教授, 第二军医大学长海医院消化内科

Yang XJ, Qi CH, Zheng Y, Cao YW, Li R, Song LX, Zhao Q, Chen WG. SB203580 decreases collagen I and collagen III expression in the liver of rats with experimental hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 310-318 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/310.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.310>

摘要

目的: 探讨SB203580对肝纤维化大鼠肝脏I、III型胶原蛋白表达的影响。

方法: 将32只♀SD大鼠分为4组: 正常组(N组)8只、肝纤维化组(HF组)8只、DMSO溶剂干预组(D组)8只、P38MAPK抑制剂SB203580干预组(SB组)8只。采用四氯化碳复合因素法复制肝纤维化模型, 肝纤维化模型制作结束后, D组给予2% DMSO溶液3 mL/(kg·d), SB组给予SB203580溶液10 mg/(kg·d), N组、HF组给予同等剂量0.9%生理盐水3 mL/(kg·d)腹腔注射, 连续注射4 d。干预结束后, 宰杀大鼠留取肝脏, 行肝组织病理切片HE染色评价肝纤维化分期, 行Masson染色观察胶原纤维沉积情况, 采用SP免疫组织化学法检测肝脏I、III型胶原蛋白表达, 应用逆转录PCR法检测肝脏中I、III型胶原mRNA表达。

结果: 正常对照组(N组)、肝纤维化组(HF组)、SB203580溶剂组(DMSO组)和P38MAPK通路特异性抑制剂组(SB203580组)的肝纤维化分期平均秩分别为4.50、22.50、24.00和15.00; SSS评分分别为 2.750 ± 0.707 、 15.875 ± 0.835 、 16.000 ± 0.926 和 11.625 ± 0.916 ; I型胶原显色指数分别为 1.575 ± 0.249 、 7.650 ± 0.621 、 7.725 ± 0.501 和 4.625 ± 0.495 ; III型胶原显色指数分别为 2.375 ± 0.518 、 4.025 ± 0.446 、 4.075 ± 0.544 和 3.375 ± 0.167 ; I型胶原mRNA表达分别为 0.020 ± 0.003 、 0.012 ± 0.002 、 0.009 ± 0.002 和 0.016 ± 0.005 ; III型胶原mRNA表达分别为 0.412 ± 0.772 、 0.773 ± 0.137 、 0.799 ± 0.116 和 0.572 ± 0.862 。HF组与N组相比, I、III型胶原及其mRNA表达升高(均 $P < 0.001$), 与肝纤维化分期结果一致($P < 0.001$); D组与HF组无明显差异(均 $P > 0.05$); SB组与HF组相比, I、III型胶原表达降低(I型胶原显色指数 $P < 0.001$, III型胶原显色指数 $P = 0.041$); I型胶原mRNA表达降低($P = 0.005$), 同时III型胶原mRNA表达亦降低($P = 0.005$), 肝纤维化分期下降($P = 0.015$)。

结论: P38MAPK抑制剂SB203580阻断

P38MAPK通路具有降低肝脏I、III型胶原表达的作用, 能够延缓肝纤维化的发生发展。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: SB203580; 肝纤维化; I型胶原; III型胶原

核心提示: P38MAPK在细胞的炎症反应、细胞凋亡等各种反应和免疫调节等过程中起重要作用, 其活化与肝纤维化有密切关系。本研究表明, P38MAPK抑制剂SB203580阻断P38MAPK通路具有降低肝脏I、III型胶原表达的作用, 能够延缓肝纤维化的发生发展。为阐述肝纤维化的分子机制提供理论基础。

杨新疆, 齐翠花, 郑勇, 曹玉文, 李睿, 宋丽秀, 赵强, 陈卫刚. SB203580对肝纤维化大鼠肝脏I、III型胶原蛋白表达的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(3): 310-318 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/310.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.310>

0 引言

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是肝脏对各种慢性刺激进行损伤修复反应时, 以胶原为主的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)在肝内大量沉积的病理过程。因其发生机制尚未完全明确, 故已成为目前国内外学者研究的热点。近年来, HF形成过程中信号传导通路作为研究热点受到越来越多的关注。其中丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)级联是细胞内重要的信号传导系统之一, 其将细胞外刺激信号传递到细胞核引起一系列细胞生物学反应。而P38MAPK作为MAPK家族的重要信号通路, 在细胞炎症、增殖、应激、凋亡、细胞周期和生长等多种生理和病理过程中起着重要作用^[1]。因此, 本实验复制肝纤维化模型, 通过P38MAPK特异性抑制剂SB203580的干预, 观察肝脏组织病理学变化, 检测与肝纤维化进程中关系最为密切的I、III型胶原沉积情况, 探讨其对肝纤维化的影响, 为进一步研究P38MAPK通路与肝纤维化的关系提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料 32只实验大鼠购自新疆医科大学实验动物中心, 均为同期出生、纯种系、SPF级4-5周龄的健康♀SD大鼠, 体质量约180-220 g。DMSO为韩国BIOSHARP公司产品, 兔抗大鼠I型胶原蛋白多克隆抗体、兔抗大鼠III型胶原蛋白多

■ 研究前沿

近年来, 肝纤维化形成过程中的信号传导通路作为研究热点受到越来越多的关注。其中丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)级联是细胞内重要的信号传导系统之一, 其主要之一P38MAPK通路在MAPK信号通路中占重要地位, 是近年信号传导领域研究的热点之一。

■ 相关报道

MAPK级联是细胞内重要的信号传导系统之一, 其将细胞外刺激信号传递到细胞核引起一系列细胞生物学反应。本实验复制肝纤维化模型, 通过P38MAPK特异性抑制剂SB203580的干预, 发现肝纤维化大鼠在给予SB203580后肝内I、III型胶原的表达降低, 同时从组织病理学观察肝纤维化分期下降, 表明SB203580能够减少胶原沉积, 改善肝脏损害。

克隆抗体为美国Abcam公司产品; 免疫组织化学染色SP试剂盒为北京中杉公司产品; DAB显色剂为DAKO公司产品; RNA提取试剂TRIzol为美国Invitrogen公司产品; 逆转录酶试剂盒为美国Fermentas公司产品; 四氯化碳、无水乙醇、胆固醇粉均为国产分析纯。PCR引物由上海生物工程公司合成, COL-I mRNA引物序列^[2]: Forward: 5'-GGTCCCAAAGGTGCTGATGG-3', Reverse: 5'-GACCAGCCTCACCACGGTCT-3', 扩增长度为182 bp; COL-III mRNA引物序列^[2]: Forward: 5'-CGAGGTGACAGAGGTGAAAGA-3', Reverse: 5'-AACCCAGTATTCTCCGCTCTT-3', 扩增长度为336 bp; GAPDH引物序列: Forward: 5'-CAAGGTCATCCATGACAACCTTTG-3', Reverse: 5'-CAAGGTCATCATGACAACCTTTG-3', 扩增长度为496 bp。

1.2 方法

1.2.1 制备模型及实施干预: 根据本课题组前期实验经验, 采用四氯化碳复合因素法复制肝纤维化大鼠模型。将44只大鼠随机分为4组: N组(正常对照组)8只, HF组(肝纤维化组)12只, DMSO组(SB203580溶剂组)12只和SB203580组(P38MAPK通路特异性抑制剂组)12只。给予HF组、DMSO组和SB203580组大鼠背部皮下注射40%四氯化碳棉籽油溶液, 首剂5 mL/kg体质量, 后每隔4 d注射一次, 剂量为3 mL/kg体质量, 共注射12次; 以100 mL/L乙醇溶液为唯一饮用液体; 前2 wk喂以20%猪油高脂肪饲料, 以后喂以0.5%高胆固醇饲料; N组同期给予相同剂量的生理盐水背部皮下注射, 喂正常复合饲料, 饮清洁饮用水。肝纤维化模型制作结束后, D组给予2% DMSO溶液3 mL/(kg·d), SB组给予SB203580溶液10 mg/(kg·d), N组、HF组给予同等剂量0.9%生理盐水3 mL/(kg·d)腹腔注射, 连续注射4 d。干预治疗后实验各组大鼠的数量均为8只。

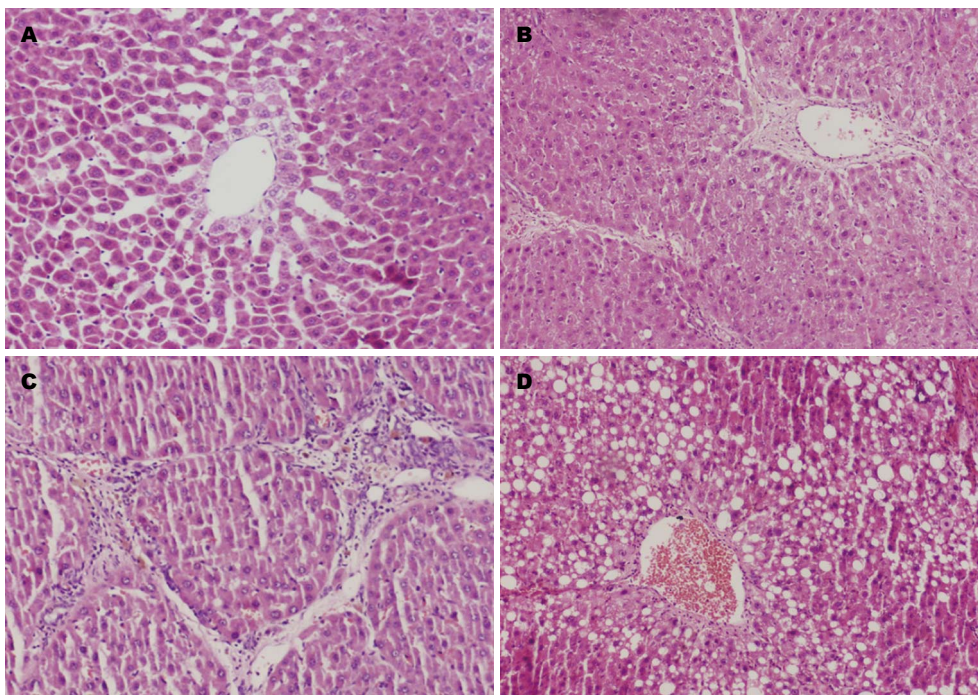
1.2.2 标本留取: 模型复制及干预剂实施结束后, 乙醚麻醉后处死大鼠, 取大鼠肝左叶以40 g/L中性甲醛溶液固定, 其余肝脏投入液氮速冻后置于-80 °C备用。

1.2.3 肝组织形态学观察: 石蜡包埋组织制作切片(4 μm), 行HE染色观察肝纤维化分期, 分期标准符合《病毒性肝炎防治方案》^[3]; 行Masson染色观察肝组织胶原沉积情况, 评价标准依照《肝纤维化诊断及疗效评估共识》^[4]中纤维化半定量评分系统(SSS)。

1.2.4 SP免疫组织化学法检测肝组织COL-I、COL-III表达: 石蜡切片常规脱蜡至水; 3% H_2O_2 甲醇溶液室温孵育10 min以阻断内源性过氧化物酶; PBS浸洗3遍, 0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0)高温修复8 min; 自然冷却至室温后PBS浸洗5 min×3次, 滴加适量山羊血清工作液, 37 °C封闭20 min; 甩去多余血清, 滴加COL-I一抗(1:200)或COL-III一抗(1:200), 4 °C过夜。次日PBS浸洗5 min×3次, 滴加生物素化山羊抗兔二抗工作液, 37 °C孵育20 min; PBS浸洗5 min×3次, 滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液, 37 °C孵育20 min后PBS浸洗5 min×3次。DAB显色, 镜下观察以控制显色时间。显色满意后, 自来水冲去DAB, 苏木素复染, 0.1%盐酸乙醇分化, 自来水中返蓝, 脱水、透明、中性树脂封片。选取人正常皮肤组织作为阳性对照; 阴性对照为N组大鼠肝脏, 以滴加PBS代替一抗。COL-I、COL-III结果以细胞外基质着棕黄色为阳性染色。请石河子大学医学院病理教研室曹玉文副教授阅片, 每张切片随机观察10个高倍视野(×200), 以显色指数代表目的蛋白的表达水平, 显色指数越大则目的蛋白越多, 反之则越少。

1.2.5 RT-PCR法检测肝组织中COL-I mRNA和COL-III mRNA的表达: 使用TRIzol法提取肝脏总RNA, 用紫外分光光度仪行RNA浓度及纯度测定, $A_{260/280}$ 为1.9-2.0。说明RNA纯度较高, 并将总RNA调至相同浓度。使用RevertAidTMH Minus First Strand cDNA Synthesis kit试剂盒将总RNA逆转录为cDNA, 然后进行PCR扩增。COL-I mRNA扩增条件: 95 °C 5 min, 95 °C 30 s, 58 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共36个循环; 72 °C延伸10 min。COL-III mRNA扩增条件: 95 °C 5 min, 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共36个循环; 72 °C延伸10 min。GAPDH扩增条件: 95 °C 5 min, 95 °C 30 s, 58 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共36个循环; 72 °C延伸10 min。反应结束后, PCR产物用2%琼脂糖凝胶进行电泳分析, 采用Quantity one凝胶成像分析系统测定各相应条带的灰度值, 选取GAPDH作为内参照, 以COL-I/GAPDH和COL-III/GAPDH的比值作为目的基因的相对表达水平。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行分析。计量资料数据以mean±SD表示, 选择单因素方差分析进行均数差异性比较, 多样本两两比较选择Bonferroni法; 肝纤维化分期半定量资料的比较采用多样本比较的秩和检验(Kruskal-



■创新亮点
 本实验通过P38MAPK特异性抑制剂SB203580的干预, 观察肝脏组织病理学变化, 检测与肝纤维化进程中关系最为密切的I、III型胶原沉积情况, 探讨其对肝纤维化的影响, 为进一步研究P38MAPK通路与肝纤维化的关系提供理论基础。

图 1 HE染色观察各组大鼠肝纤维化分期($\times 200$)。A: 对照组; B: 肝纤维化组; C: DMSO溶剂干预组; D: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

表 1 各组大鼠肝脏纤维化分期结果 ($n = 8$)

分组	肝纤维化分期					平均秩
	0	1	2	3	4	
N组	3	5	0	0	0	4.50
HF组	0	0	0	2	6	22.50 ^b
D组	0	0	0	1	7	24.00
SB组	0	0	0	7	1	15.00 ^{ad}

^a $P < 0.05$ vs HF组; ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.01$ vs N组。N组: 正常组; HF组: 肝纤维化组; D组: DMSO溶剂干预组; SB组: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

Wallis法), 多样本间两两比较时选择Mann-Whitney U法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝组织形态学观察结果 肝组织HE染色可知(图1): N组肝小叶结构清晰, 小叶内肝细胞无脂肪变性、坏死, 无炎症细胞浸润及纤维组织增生。HF组肝小叶结构紊乱, 纤维组织增生、假小叶形成, 肝细胞变性、坏死明显, 部分细胞可见气球样变, 有大量炎症细胞浸润。D组与HF组所无明显差异。SB组肝组织仍可见假小叶结构, 但部分区假小叶纤维间隔变窄或局灶模糊不清, 肝细胞脂肪变性、坏死较HF组为轻。HF组、D

组肝纤维化分期较N组明显升高($P < 0.001$), 给予SB203580干预的SB组其肝纤维化分期较HF组降低($P = 0.015$), 差异均具有统计学意义(表1)。

肝组织Masson染色可知(图2): N组肝小叶结构完整, 仅中央静脉和汇管区有少量胶原纤维; F组肝小叶结构破坏, 胶原纤维增多增粗, 呈弥漫分布; D组与HF组所见无明显差异; SB组仍可见部分假小叶结构, 但胶原纤维沉积减少, 纤维间隔纤细菲薄。HF组SSS评分较N组明显升高($P < 0.001$), SB组其SSS评分较HF组降低($P < 0.001$), 差异均具有统计学意义(表2)。

2.2 免疫组织化学染色法检测COL-I、COL-III表达 免疫组织化学染色示: N组肝组织中央静脉、汇管区中可见少量I型(图3)、III型(图4)胶原表达。HF组肝组织I型、III型胶原成条索状或小片状广泛分布, 主要表达于中央静脉、汇管区以及肝窦Disse间隙中, 显色指数均较N组显著升高(均 $P < 0.001$)。SB203580干预的SB组I型、III型胶原表达部位基本同HF组, 但显色面积减少、显色强度降低, 且显色指数较HF组降低(COL-I显色指数 $P < 0.001$, COL-III显色指数 $P = 0.041$)。差异均具有统计学意义(表2)。

2.3 肝组织COL-I mRNA和COL-III mRNA的表达 与N组相比, HF组肝脏COL-I mRNA及COL-III mRNA表达均明显升高(均 $P < 0.001$), 而SB组

■应用要点

P38MAPK在细胞的炎症反应、细胞凋亡等各种反应和免疫调节等过程中起重要作用。目前肝硬化的治疗尚为世界性难题,只有在深入明确其具体机制后,才能为临床应用提供指导依据。本研究为肝纤维化的基础研究,仅为肝纤维化研究提供进一步的理论基础。

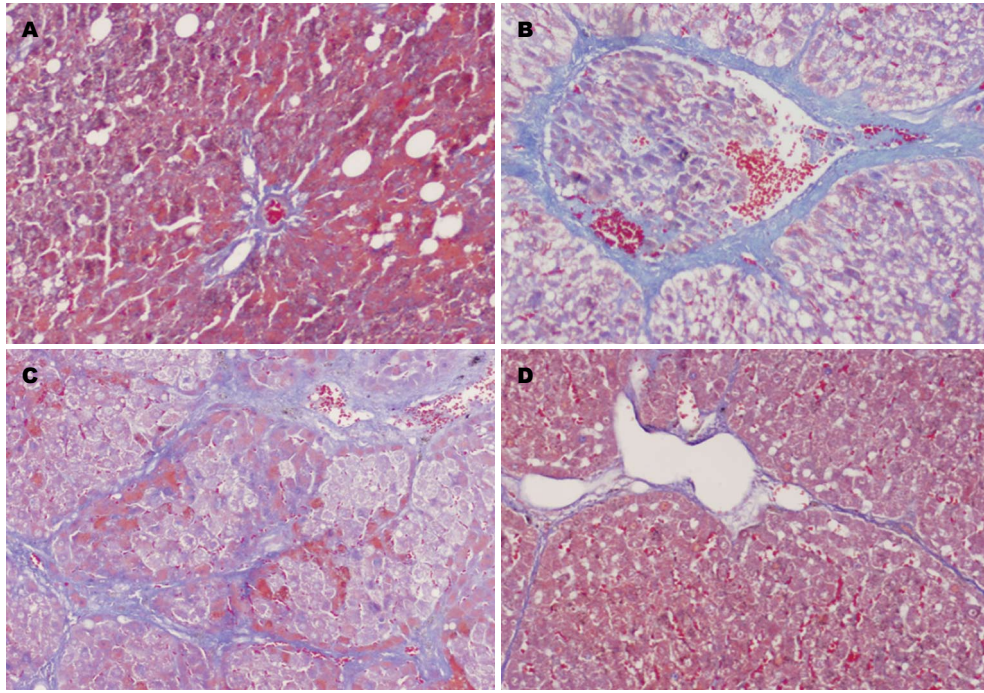


图 2 Masson染色观察各组大鼠肝纤维化分期($\times 200$)。A: 对照组; B: 肝纤维化组; C: DMSO溶剂干预组; D: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

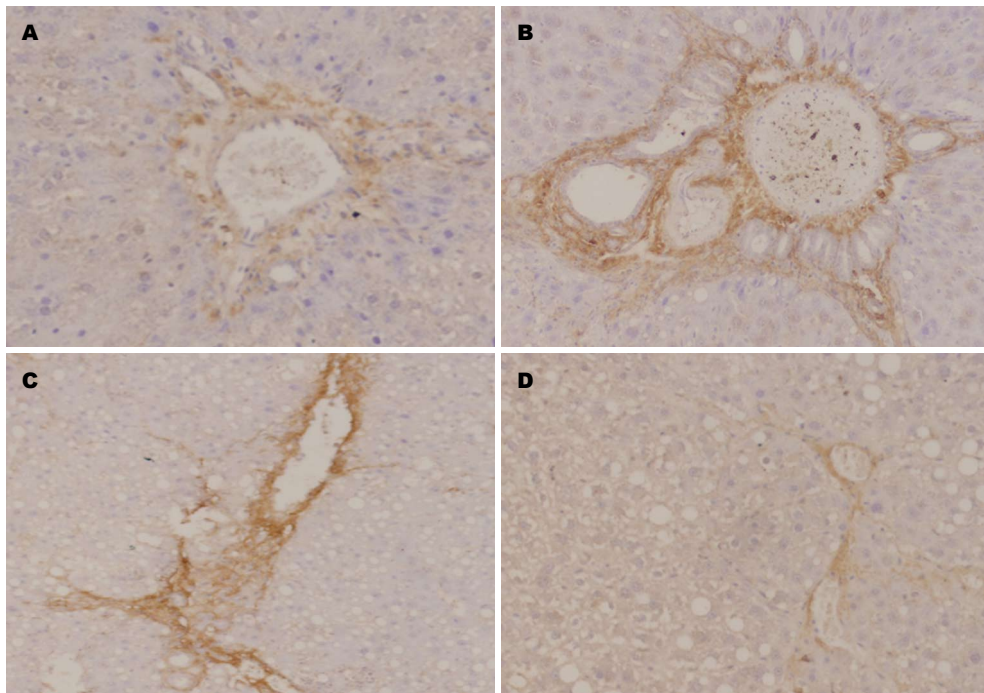
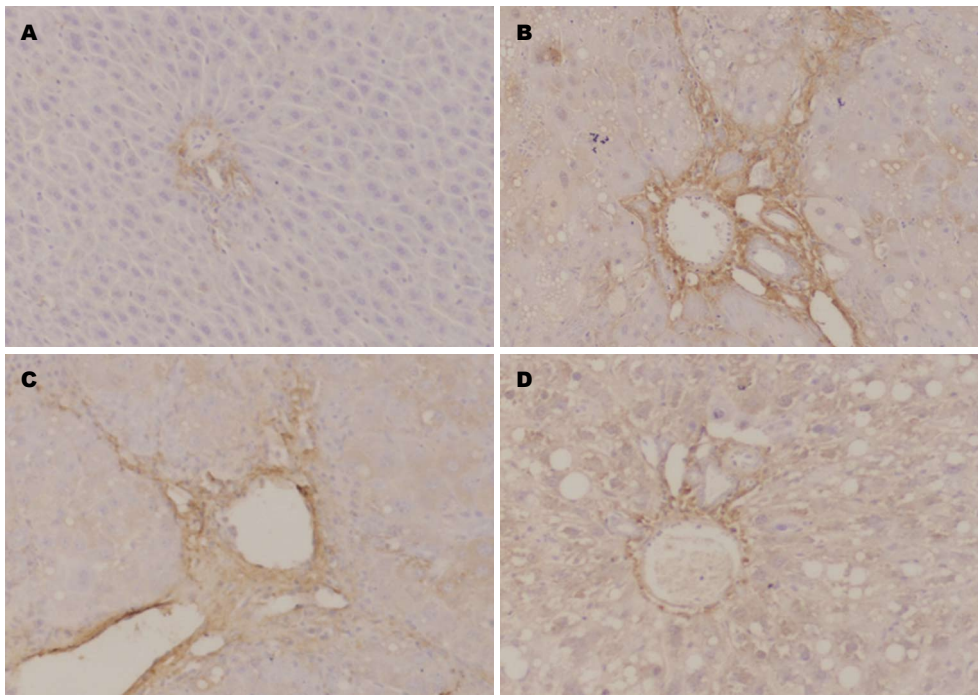


图 3 免疫组织化学法观察大鼠肝脏COL-1表达(DAB $\times 200$)。A: 对照组; B: 肝纤维化组; C: DMSO溶剂干预组; D: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

肝脏COL-1 mRNA及COL-III mRNA表达均较HF组降低(分别 $P = 0.005$ 、 0.005)。差异均具有统计学意义(表3, 图5)。

3 讨论

肝纤维化是肝组织损害后的一种损伤修复反应,以细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的过



同行评价
 本文通过P38MAPK通路抑制剂SB203580干预大鼠肝脏I、III型胶原蛋白表达,并探讨肝纤维化发生的分子机制,具有重要临床指导意义。

图 4 免疫组织化学观察大鼠肝脏COL-III表达(DAB × 200)。A: 对照组; B: 肝纤维化组; C: DMSO溶剂干预组; D: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

表 2 各组大鼠SSS评分、COL-I及COL-III表达量 (n = 8, mean ± SD)

分组	SSS评分	COL-I 显色指数	COL-III 显色指数
N组	2.750 ± 0.707	1.575 ± 0.249	2.375 ± 0.518
HF组	15.875 ± 0.835 ^b	7.650 ± 0.621 ^b	4.025 ± 0.446 ^b
D组	16.000 ± 0.926	7.725 ± 0.501	4.075 ± 0.544
SB组	11.625 ± 0.916 ^{bd}	4.625 ± 0.495 ^{bd}	3.375 ± 0.167 ^{bd}

^bP<0.01 vs N组; ^dP<0.01 vs HF组。N组: 正常组; HF组: 肝纤维化组; D组: DMSO溶剂干预组; SB组: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

表 3 各组大鼠肝脏COL-I mRNA及COL-III mRNA的表达量 (n = 8, mean ± SD)

分组	COL-I/GAPDH	COL-III/GAPDH
N组	0.020 ± 0.003	0.412 ± 0.772
HF组	0.012 ± 0.002 ^b	0.773 ± 0.137 ^b
D组	0.009 ± 0.002	0.799 ± 0.116
SB组	0.016 ± 0.005 ^{bd}	0.572 ± 0.862 ^{bd}

^bP<0.01 vs N组; ^dP<0.01 vs HF组。N组: 正常组; HF组: 肝纤维化组; D组: DMSO溶剂干预组; SB组: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

度沉积为特点。如果慢性炎症和ECM沉积持续存在,会导致肝实质结构逐渐被破坏,由瘢痕组织代替,从而形成肝硬化,预后较差^[5]。目前尚无特效药物能将肝硬化治愈,但肝纤维化作为各

种慢性肝病进展为肝硬化的一个必经阶段,已被证实是可逆的^[6]。肝纤维化的发生发展是一个复杂的全身病理生理过程,涉及多种细胞因子及细胞内信号分子网络。肝纤维化的形成机制中,肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化是公认的中心环节。其活化后向肌成纤维细胞转变,可分泌大量细胞外基质成分,包括I、III型胶原、透明质酸和层黏连蛋白,同时使胶原酶活性下降,胶原降解减少,造成细胞外基质产生与降解不平衡,纤维化形成^[7]。目前^[8]认为活化的HSC有2个去向:(1)由激活态转变回静止态;(2)发生凋亡而死亡。且大多数研究表明,活化的HSC主要通过凋亡途径消除,是肝纤维化消退的主要机制。

近年来,肝纤维化形成过程中信号传导通路作为研究热点受到越来越多的关注。其中丝裂

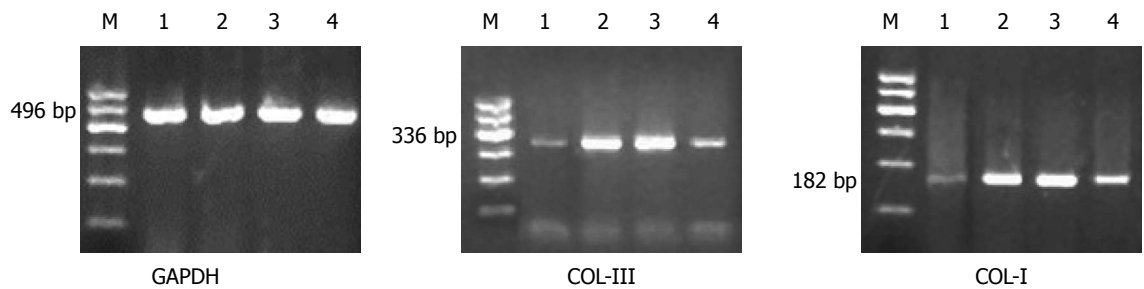


图5 RT-PCR法检测各组大鼠肝脏COL-1 mRNA、COL-III mRNA的表达。M: DNA marker; 1: 对照组; 2: 肝纤维化组; 3: DMSO溶剂干预组; 4: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)级联是细胞内重要的信号传导系统之一, 其将细胞外刺激信号传递到细胞核引起一系列细胞生物学反应^[9]。主要成员包括细胞外信号调节激酶、C-jun氨基末端激酶和P38MAPK。P38MAPK通路在MAPK信号通路中占重要地位^[10], 是近年信号传导领域研究的热点之一。P38MAPK在细胞的炎症反应、细胞凋亡等各种反应和免疫调节等过程中起重要作用^[11]。叶平等^[12]发现, P38MAPK的活化与肝纤维化有密切关系, 因此他在肝纤维化形成过程中的作用受到众多研究者的关注。SB203580是一种P38MAPK的特异性抑制剂, 他可以通透细胞抑制P38MAPK, 抑制后续MAPKAPK-2和MAPKAPK-3的激活。通过抑制P38MAPK, SB203580可以有效抑制一些炎症因子(如IL-1 β 、TNF- α)诱导的部分信号转导。研究显示^[13], SB203580可阻断P38MAPK通路的活化, 进而激活Caspase3引起HSC-T6的凋亡。有报道称^[14], SB203580阻断P38MAPK信号通路后肝星状细胞增殖明显受到抑制, 且增殖抑制程度与药物浓度有剂量依赖关系。崔巍等^[15]研究发现, 血管紧张素II通过P38MAPK通路促进HSC分泌TGF- β 1, 进而增加HSC活化以及细胞外基质合成。肝星状细胞的活化增殖与肝纤维化的形成密切相关, 吴文娟等^[16]证明, P38MAPK表达水平与肝纤维化程度呈显著正相关。说明在肝纤维化形成中, P38MAPK被激活, 活化的P38MAPK转移入核内, 磷酸化下游转录因子, 调节目的基因的表达, 从而可能由此参与了大鼠肝纤维化形成。

因此, 本实验复制肝纤维化模型, 通过P38MAPK特异性抑制剂SB203580的干预, 观察肝脏组织病理学变化, 检测与肝纤维化进程中关系最为密切的I、III型胶原沉积情况, 探讨其对肝纤维化的影响, 为进一步研究P38MAPK

通路与肝纤维化的关系提供理论基础。

本实验表明: 正常大鼠肝脏内I、III型胶原表达很少, 肝纤维化组大鼠肝脏纤维化分期及I、III型胶原的表达较正常组明显升高, 说明肝纤维化模型复制成功; 肝纤维化大鼠在给予P38MAPK通路特异性抑制剂SB203580后肝内I、III型胶原的表达降低, 同时从组织病理学观察肝纤维化分期下降, 表明SB203580能够减少胶原沉积, 改善肝脏损害。

肝脏内HSC是分泌ECM的主要细胞^[17]。多篇文献证实^[18-20], 肝脏受到损伤刺激时, 位于窦周Disse间隙内静止态的HSC活化, 转变成具有增殖、收缩、迁移、促进炎症和纤维生成活性的表型-肌成纤维细胞(myofibroblasts, MFBS), MFBS能调节组织损伤修复, 通过合成胶原促进ECM累积, 表达 α -平滑肌肌动蛋白(alpha smooth muscle actin, α -SMA), 表现收缩功能^[21]。而肝纤维化的持续存在主要是由肝脏MFBS维持^[22]。P38MAPK信号通路参与了细胞的生长发育及细胞间功能同步等多种生理过程, 与炎症及细胞周期调控密切相关, MAPK信号通路能够通过调控HSC的活化、增殖、凋亡等参与肝纤维化的形成^[23]。陈辉等^[24]发现, 激活肝星状细胞p38MAPK信号通路可调节肝纤维化相关因子MMP-13和TIMP-1的表达。徐霞等^[25]研究发现, H2S激活P38MAPK信号通路, 同时加用SB203580阻断P38MAPK信号通路后, 可促进H2S刺激的HSC的凋亡。亦有研究发现^[26], 用阻断剂SB203580阻断P38MAPK可以降低静息HSC的 α -SMA蛋白表达, 并可调节其细胞周期, 改变HF的进程。姚希贤等^[27]发现: 阻断P38MAPK通路可以明显抑制IL-1 β 促大鼠HSC I型胶原合成的作用。Tsukada^[28]研究发现, 阻断P38MPAK通路可降低培养活化的和TGF β 诱导活化的HSC α 1(I)胶原基因的表达。Adachi等^[29]

研究者发现,在PDGF诱导HSC增殖过程中,HSC细胞NAD(P)H氧化酶的表达可以被PDGF-BB可诱导,并生成活性氧,进而通过P38MAPK信号通路产生促进HSC增殖作用,而用SB203580阻断P38MAPK信号通路能明显抑制增殖,促进凋亡.李政通等^[30]进一步研究发现,P38MAPK的表达增多能够促进HF形成,反之在其表达减少时则可促进HF的逆转.

总之,抑制P38MAPK通路能减少肝细胞的损伤和凋亡而间接抑制HSC的激活,或者直接抑制HSC增殖,使I、III型胶原的合成来源减少;亦通过增加I、III型胶原的降解,使ECM的沉积减少.我们的研究表明,抑制P38MAPK通路能够减少肝内I、III型胶原表达,延缓肝纤维化的进程,这为进一步研究P38MAPK通路与肝纤维化的关系提供理论基础.

4 参考文献

- 1 Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2006; 364: 33-60 [PMID: 16139830]
- 2 Fang HL, Lai JJ, Lin WL, Lin WC. A fermented substance from *Aspergillus phoenicis* reduces liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2007; 71: 1154-1161 [PMID: 17485851 DOI: 10.1271/bbb.60604]
- 3 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. *中华肝病杂志* 2000; 8: 324-329
- 4 中华肝脏病学肝纤维化学组. 肝纤维化诊断及疗效评估共识. *中华肝病杂志* 2002; 10: 327-328
- 5 Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu Rev Pathol* 2011; 6: 425-456 [PMID: 21073339 DOI: 10.1146/annurevpathol-011110-130246]
- 6 Ramachandran P, Iredale JP. Reversibility of liver fibrosis. *Ann Hepatol* 2009; 8: 283-291 [PMID: 20009126]
- 7 Iwaisako K, Brenner DA, Kisseleva T. What's new in liver fibrosis? The origin of myofibroblasts in liver fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 2: 65-68 [PMID: 22320919 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07002.x]
- 8 李春霞, 戴立里. 肝星状细胞与肝纤维化研究进展. *国际消化病杂志* 2007; 27: 1008-1101
- 9 Wen J, Watanabe K, Ma M, Yamaguchi K, Tachikawa H, Kodama M, Aizawa Y. Edaravone inhibits JNK-c-Jun pathway and restores anti-oxidative defense after ischemia-reperfusion injury in aged rats. *Biol Pharm Bull* 2006; 29: 713-718 [PMID: 16595905]
- 10 Deng ZY, Li J, Jin Y, Chen XL, Lü XW. Effect of oxymatrine on the p38 mitogen-activated protein kinases signalling pathway in rats with CCl₄ induced hepatic fibrosis. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122: 1449-1454 [PMID: 19567170]
- 11 Jameel NM, Thirunavukkarasu C, Wu T, Watkins SC, Friedman SL, Gandhi CR. p38-MAPK- and caspase-3-mediated superoxide-induced apoptosis of rat hepatic stellate cells: reversal by retinoic acid. *J Cell Physiol* 2009; 218: 157-166 [PMID: 18792915 DOI: 10.1002/jcp.21581]
- 12 叶平, 杨波, 吴晓玲, 蒋明德. P38 MAPK信号通路主要功能及对肝纤维化的作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3353-3358
- 13 卓强, 蒋明德, 梅浙川. P38MAPK信号通路对大鼠肝星状细胞凋亡的影响. *吉林大学学报(医学版)* 2011; 4: 6
- 14 郑人源, 蒋明德, 梅浙川, 卓强, 叶平, 唐文. 肝星状细胞增殖与p38丝裂原活化蛋白激酶信号传导通路的关系. *中国组织工程研究与临床康复* 2011; 15: 3711-37
- 15 崔巍, 邵臻, 傅宝玉. p38 MAPK介导的血管紧张素II的促肝星状细胞增殖作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1309-1314
- 16 吴文娟, 杨妙芳, 许小兵, 张晓华, 季洪赞, 袁柏思, 朱人敏. p38 MAPK在大鼠实验性肝纤维化发生中的表达及其意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3822-3827
- 17 Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 76-99 [PMID: 16563223]
- 18 Choi SS, Syn WK, Karaca GF, Omenetti A, Moylan CA, Witek RP, Agboola KM, Jung Y, Michelotti GA, Diehl AM. Leptin promotes the myofibroblastic phenotype in hepatic stellate cells by activating the hedgehog pathway. *J Biol Chem* 2010; 285: 36551-36560 [PMID: 20843817]
- 19 尤俊勇, 王效民. 肝星状细胞的激活与凋亡相关信号通路研究进展. *中外医学研究* 2011; 9: 155-158
- 20 Ikeda N, Murata S, Maruyama T, Tamura T, Nozaki R, Kawasaki T, Fukunaga K, Oda T, Sasaki R, Homma M, Ohkohchi N. Platelet-derived adenosine 5'-triphosphate suppresses activation of human hepatic stellate cell: In vitro study. *Hepatol Res* 2012; 42: 91-102 [PMID: 21988364 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00893.x]
- 21 Hinz B, Phan SH, Thannickal VJ, Prunotto M, Desmoulière A, Varga J, De Wever O, Mareel M, Gabbiani G. Recent developments in myofibroblast biology: paradigms for connective tissue remodeling. *Am J Pathol* 2012; 180: 1340-1355 [PMID: 22387320 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.02.004]
- 22 Parola M, Marra F, Pinzani M. Myofibroblast - like cells and liver fibrogenesis: Emerging concepts in a rapidly moving scenario. *Mol Aspects Med* 2008; 29: 58-66 [PMID: 18022682]
- 23 Schwer CI, Guerrero AM, Humar M, Roesslein M, Goebel U, Stoll P, Geiger KK, Pannen BH, Hoetzel A, Schmidt R. Heme oxygenase-1 inhibits the proliferation of pancreatic stellate cells by repression of the extracellular signal-regulated kinase1/2 pathway. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 327: 863-871 [PMID: 18784349 DOI: 10.1124/jpet.108.136549]
- 24 陈辉, 马超, 张育先, 马红. 全部作脂联素通过激活p38MAPK信号通路调节大鼠肝星状细胞MMP-13及TIMP-1表达. *首都医科大学学报* 2010; 31: 304-309
- 25 徐霞, 李睿, 任婧, 刘芳, 宋丽秀, 郑勇, 陈卫刚. 硫化氢在SB203580影响肝星状细胞增殖、凋亡中的作用. *天津医药* 2013; 41: 1095-1098
- 26 Schnabl B, Bradham CA, Bennett BL, Manning AM, Stefanovic B, Brenner DA. TAK1/JNK and p38 have opposite effects on rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 2001; 34: 953-963 [PMID: 11679966]
- 27 姚希贤, 张亚平, 赵霞. 益肝康抑制肝星状细胞I型胶原合成的作用机制. *中西医结合肝病杂志* 2007; 17: 159-161
- 28 Tsukada S, Westwick JK, Ikejima K, Sato N, Rippe RA. SMAD and p38 MAPK signaling pathways

- independently regulate alpha1(I) collagen gene expression in unstimulated and transforming growth factor-beta-stimulated hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 10055-10064 [PMID: 15647278]
- 29 Adachi T, Togashi H, Suzuki A, Kasai S, Ito J, Sugahara K, Kawata S. NAD(P)H oxidase plays a crucial role in PDGF-induced proliferation of hepatic stellate cells. *Hepatology* 2005; 41: 1272-1281 [PMID: 15915457]
- 30 李政通, 李俊, 黄成, 李浩, 章圣鹏, 黄艳, 陶辉. CCl₄诱导的大鼠肝纤维化模型肝纤维化逆转与MAPK信号通路的研究. *中国药理学通报* 2011; 27: 809-814

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》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号.如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7].文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊: 序号,作者(列出全体作者).文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍: 序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页.

基于耐药特性联合单细胞培养识别肝癌干细胞克隆亚群

陈娟, 区泳芳, 蔡捷, 陶璐, 陈相宜, 邝晓聪

陈娟, 区泳芳, 蔡捷, 陶璐, 邝晓聪, 广西医科大学病理与病理生理教研室 广西壮族自治区南宁市 530021

陈相宜, 广西医科大学生理教研室 广西壮族自治区南宁市 530021

陈娟, 硕士, 主要从事癌干细胞的研究.

广西自然科学基金资助项目, Nos. 桂科自0991139, 2013GXNSFAAO19244

广西科学研究与技术开发计划基金资助项目, No. 桂科攻0993003C-1

作者贡献分布: 本文由陈娟撰写; 邝晓聪负责实验设计; 区泳芳、蔡捷、陶璐及陈相宜负责实验数据的收集和整理.

通讯作者: 邝晓聪, 副教授, 硕士生导师, 530021, 广西南宁市双拥路22号, 广西医科大学病理与病理生理教研室.

1609800049@qq.com

电话: 0771-5358502

收稿日期: 2013-09-30 修回日期: 2013-11-21

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

Identification of liver cancer stem cells-containing cell subgroups based on resistance characteristics and unicellular culture

Juan Chen, Yong-Fang Ou, Jie Cai, Lu Tao, Xiang-Yi Chen, Xiao-Cong Kuang

Juan Chen, Yong-Fang Ou, Jie Cai, Lu Tao, Xiao-Cong Kuang, Department of Pathology and Pathophysiology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Xiang-Yi Chen, Department of Physiology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nos. Guikezi0991139 and 2013GXNSFAAO19244; and the Scientific Research and Technological Development Program of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. Guikegong0993003C-1

Correspondence to: Xiao-Cong Kuang, Associate Professor, Department of Pathology and Pathophysiology, Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 1609800049@qq.com

Received: 2013-09-30 Revised: 2013-11-21

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To identify liver cancer stem cells-containing cell subgroups based on resistance characteristics and unicellular culture.

METHODS: The BEL-7404 cell line was inoculat-

ed subcutaneously in nude mice to induce tumor formation, and adriamycin (8 mg/kg) intervention was given. When the tumor diameter was 1.5 cm, tumor tissues were collected for primary culture. The cells were inoculated subcutaneously in nude mice again. After four consecutive generations in nude mice, the tumor cells were named "BEL-7404-ADM-P4". Based on the tumor forming time, the enrichment of liver cancer stem cells was tested. Using unicellular culture, clones from BEL-7404 and BEL-7404-ADM-P4 cells were divided into holoclones, meroclones and pareclones to test the cancer stem cell characteristics (renewal ability, clone formation and sphere formation). Holoclones, meroclones and pareclones were stained with hoechst33342 and observed under a confocal microscope. Based on the renewal ability, clone formation rate and sphere formation rate and hoechst33342 staining properties, cancer stem cells subpopulations were identified.

RESULTS: The tumor formation rate was 100%, and tumor formation time was shortened from the first generation to the fourth generation, which suggested the preliminary enrichment of liver cancer stem cells. Holoclones showed the fastest growth and the largest cell volume, followed by meroclones and pareclones. On the 10th day, pareclones started to shrivel and die. The clone formation rate of BEL-7404-ADM-P4-H cells was significantly higher than those of BEL-7404 and BEL-7404-ADM-P4-M cells ($P < 0.05$). Only BEL-7404-H and BEL-7404-ADM-P4-H cells could form spheres, and there was no significant difference in sphere formation rate between BEL-7404-H and BEL-7404-ADM-P4-H cells. In BEL-7404 and BEL-7404-ADM-P4 monoclones and holoclones, there were a small number of lowly hoechst33342 stained or non-stained cells, but cells in meroclones and pareclone cells were all stained. The hoechst33342 fluorescence intensity of BEL-7404 holoclones, meroclones and pareclones was stronger than that of BEL-7404-ADM-P4 clones.

CONCLUSION: Based on resistance charac-

■背景资料

肝癌是世界上最常见恶性肿瘤之一, 研究者们认为全克隆细胞群富含癌干细胞, 从肝癌细胞中分离出肝癌干细胞是根治肝癌重要前提.

■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

癌干细胞是当前研究热点,也是干细胞的研究重点,癌干细胞理论更新了当前的临床治疗策略,但癌干细胞由于缺乏特异性标志物而使癌干细胞的筛选成为干细胞研究领域的难点。

teristics and unicellular culture, we found that holoclones contain a higher proportion of liver cancer stem cells.

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

Key Words: Adriamycin intervention; Liver cancer stem cells; Unicellular culture; Holoclone; Meroclone; Pareclone

Chen J, Ou YF, Cai J, Tao L, Chen XY, Kuang XC. Identification of liver cancer stem cells-containing cell subgroups based on resistance characteristics and unicellular culture. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 319-326 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/319.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.319>

摘要

目的: 基于癌干细胞的耐药特性联合单细胞培养方法识别肝癌干细胞所在的克隆亚群。

方法: 以BEL-7404细胞系为研究对象,裸鼠体内移植瘤形成实验,并予阿霉素(adriamycin, ADM)8 mg/kg干预,待肿瘤直径为1.5 cm时取移植瘤细胞做原代培养,并在裸鼠体内连续传代4代,并将第4代移植瘤细胞命名为“BEL-7404-ADM-P4”,根据成瘤时间检测肝癌干细胞富集情况。联合单细胞培养,取BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4所形成的克隆根据克隆形态分为全克隆、部分克隆、旁克隆,检测BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4单克隆中全克隆、部分克隆、旁克隆的癌干特性,即增殖能力、克隆形成率及悬浮球形成率;取其全克隆、部分克隆、旁克隆做hoechst33342染色,并在共聚焦显微镜下观察其染色情况;根据BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4单克隆中全克隆、部分克隆、旁克隆的增殖能力、克隆形成率及悬浮球形成率以及hoechst33342染色情况识别癌干细胞所在的克隆亚群。

结果: 裸鼠体内低剂量阿霉素干预,在体内连续成瘤传代过程中,裸鼠皮下移植瘤成瘤率均为100%,且成瘤时间从第一代到第四代均有所缩短,以此达到了肝癌干细胞的初步富集;增殖能力:全克隆增殖速度最快,细胞量最大,部分克隆次之,旁克隆增殖速度最慢,并于第10天开始出现细胞皱缩死亡;克隆形成率:BEL-7404-ADM-P4-H高于BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4-M,差异有统计学意义($P<0.05$);悬浮球形成率:仅BEL-7404-H及BEL-7404-ADM-P4-H可形成悬浮球,其余细胞系不形成悬浮球,而BEL-7404-H及BEL-7404-ADM-P4-H悬浮球形成率比较,无

统计学意义($P>0.05$); BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4单克隆中全克隆、部分克隆、旁克隆hoechst33342染色情况: BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4单克隆中全克隆都有极少数不染和低染的细胞存在,但部分克隆、旁克隆全染,且BEL-7404单克隆中全克隆、部分克隆、旁克隆hoechst33342荧光强度均强于BEL-7404-ADM-P4单克隆中全克隆、部分克隆、旁克隆。

结论: 基于癌干细胞的耐药特性联合单细胞培养方法所形成的克隆亚群中,全克隆含有更高比例的肝癌干细胞。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 阿霉素干预; 肝癌干细胞; 单细胞培养; 全克隆; 部分克隆; 旁克隆

核心提示: 近几年,研究者们通过单细胞克隆培养法分离癌干细胞,研究者们认为全克隆细胞群富含癌干细胞,本文首次将癌干细胞的耐药特性和单细胞克隆方法相结合,以识别富含肝癌干细胞的克隆亚群,以期临床针对肝癌干细胞的治疗提供坚实的实验基础。

陈娟, 区泳芳, 蔡捷, 陶璐, 陈相宜, 卢晓璐. 基于耐药特性联合单细胞培养识别肝癌干细胞克隆亚群. *世界华人消化杂志* 2014; 22(3): 319-326 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/319.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.319>

0 引言

肝癌是最常见恶性肿瘤之一,我国肝癌死亡人数占世界肝癌总死亡人数的45%左右,但目前肝癌发生的机制仍不十分明确^[1].肝癌目前主要治疗手段是外科手术切除、辅以肝移植和化疗,但所有治疗方式后有高复发率,为了解释这种高复发率,研究者们提出了癌干学说.该学说认为,肿瘤的发生、发展、转移以及复发依赖于肿瘤起始细胞,这些细胞具有自我更新、无限增殖能力、高耐药性和肿瘤启蒙作用,把这样的细胞称为癌干细胞(cancer stem cells, CSCs)^[2,3]. CSCs理论在十年前被提出,大量实验已对癌干细胞的存在提供了依据,如乳腺癌^[4]、前列腺癌^[5]、胰腺癌^[6]、卵巢癌^[7]、肝细胞性肝癌^[8]等.大量实验已证实, CSCs在体外无血清干细胞培养条件下可形成悬浮球,有限稀释条件下可形成单细胞克隆,在非肥胖型糖尿病及重症联合免疫缺陷病(non-obese diabetic-severe

combined immunodeficiency disease, NOD-SCID) 体内低数量级便可形成皮下肿瘤及具有外排荧光染料hoechst33342的特性^[9,10]。近几年, 研究者们通过单细胞克隆培养法分离癌干细胞, 根据单细胞克隆形态可将克隆分为3种类型, 即全克隆(holoclone, H)、部分克隆(meroclone, M)和旁克隆(pareclone, P), 研究者们认为全克隆细胞群富含癌干细胞, 前列腺癌^[11]、胶质瘤^[12]、黑色素瘤^[13]、胰腺癌^[14]等的相关实验已证实全克隆富含癌干细胞。因此, 从肝癌细胞中分离出肝癌干细胞(liver cancer stem cells, HCSCs), 是根治肝癌的前提。本文以BEL-7404细胞系为研究对象, 以单细胞培养为手段, 以识别富含HCSCs的克隆亚群为目的进行了以下实验, 以期为临床针对肝癌干细胞的治疗提供坚实的实验基础。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞系BEL-7404购自中山大学细胞库, 用含10%胎牛血清(加拿大WISENT公司)的RPMI 1640培养液(加拿大WISENT公司), 置于37℃、50 mL/L CO₂培养箱中培养。

1.2 方法

1.2.1 BEL-7404-ADM-P4细胞系的建立: 取对数生长期BEL-7404细胞调整细胞密度为 5×10^7 /mL, 800 r/min离心5 min, 弃掉上清, 用RPMI 1640培养基1 mL重悬, 用1 mL注射器吸取细胞悬液, 注射至10只裸鼠两侧腋窝皮下(0.2 mL/侧, 即每侧注射细胞数为 1×10^6), 并予阿霉素(深圳万乐药业有限公司)8 mg/kg干预, 待肿瘤直径为1.5 cm时取移植瘤细胞做原代培养, 并在裸鼠体内连续传代4代, 并将第四代移植瘤细胞命名为“BEL-7404-ADM-P4”, 并用含10%FBS的RPMI 1640培养液, 置于37℃、50 mL/L CO₂培养箱中培养。

1.2.2 单细胞培养: 取对数生长期BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4细胞, 胰酶消化, 胎牛血清终止消化后制作成单细胞悬液, 调整细胞浓度为1250个/mL; 取80 μL细胞悬液, 用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基稀释至10 mL, 按每孔100 μL接种入96孔板, 平均每孔1个细胞, 置于37℃、50 mL/L CO₂培养箱中, 2 h观察并记录每孔含有1个细胞的孔, 并记录接种的细胞总数; 每天用倒置显微镜观察细胞生长情况, 记录细胞数量; 2 wk后观察单个细胞克隆形成情况, 根据单细胞克隆形态分类, 将克隆分为3类: H、M和P, 做好标记及记录; 计算克隆形成率: 克隆形

成率 = 克隆总数/接种细胞数 × 100%。

1.2.3 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P的连续传代培养: 根据形态分类, 取BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P, 胰酶消化成单个细胞, 胎牛血清终止消化, 移液器移入1.5 mL的eppendorf管中, 离心2次, 加含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基重悬, 调整细胞浓度为1250个/mL; 取80 μL细胞悬液, 用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基稀释至10 mL, 按每孔100 μL接种入96孔板, 平均每孔1个细胞, 置于37℃、50 mL/L CO₂培养箱中, 2 h计数接种细胞数; 2 wk观察单个细胞克隆形成情况, 计算克隆形成率: 克隆形成率 = 克隆总数/接种细胞数 × 100%。

1.2.4 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4及其H、M、P的无血清悬浮球培养: 取对数生长期的BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4及其H、M、P, 胰酶消化成单个细胞后, 用配制好mTeSRTM1人胚胎干细胞完全培养基重悬细胞, 2000 r/min离心2次, 调整细胞密度为2000个/mL, 接种于低黏附的96孔板, 200个细胞每孔, 每一种细胞设10个副孔, 2 h后记录每孔的接种细胞数。每天观察细胞生长情况, 10 d后计算≥100个细胞的“球囊”数, 计算悬浮球形成率: 悬浮球形成率 = 球囊数/接种细胞数 × 100%。

1.2.5 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P的hoechst33342^[15]染色及共聚焦检测: 根据形态分类, 取种于96孔板的BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P, 弃原培养液, 用PBS液冲洗2遍, 重新添加含终浓度为5 μg/mL hoechst33342的RPMI 1640培养液100 μL, 置于37℃孵箱中避光孵育30 min; 吸去含hoechst33342的RPMI 1640培养液, 用PBS液清洗2遍, 重新加入含10%FBS的RPMI 1640培养液; 共聚焦荧光显微镜下观察BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P荧光特性。

统计学处理 克隆形成实验和悬浮球形成实验重复3次, 采用SPSS16统计分析软件, 率的比较, χ^2 检验。数据资料采用mean ± SD表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BEL-7404-ADM-P4细胞系的建立 在体内连续成瘤传代过程中, 裸鼠皮下移植瘤成瘤率均为100%, 且成瘤时间从第一代到第4代均有所缩

■ 相关报道

当前很多研究者从事癌干细胞的研究, 已有研究者证实乳腺癌、前列腺癌、黑色素瘤中存在癌干细胞, 并有相关文献报道癌细胞中全克隆含有较高比例的癌干细胞, 本文结合癌干细胞的特性和单细胞培养方法以期待证实肝癌细胞中全克隆表现出更强的癌干细胞特性。

■创新盘点

本文首次将癌干细胞的耐药特性和单细胞克隆方法相结合,检测肝癌干细胞的特性.

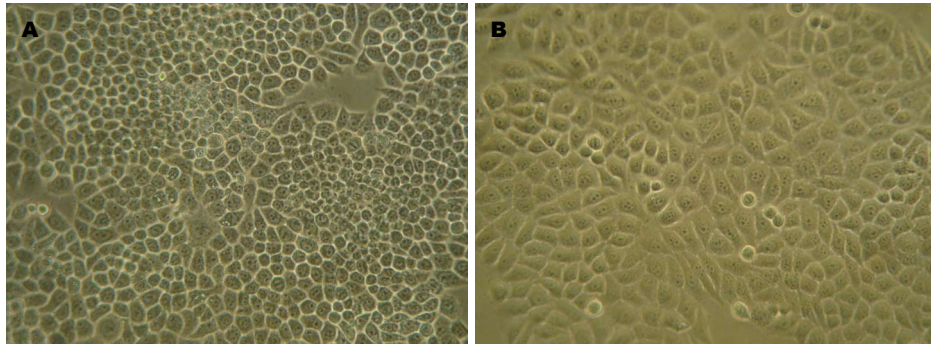


图 1 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4在RPMI 1640培养基的生长状态($\times 200$). A: BEL-7404细胞; B: BEL-7404-ADM-P4细胞.

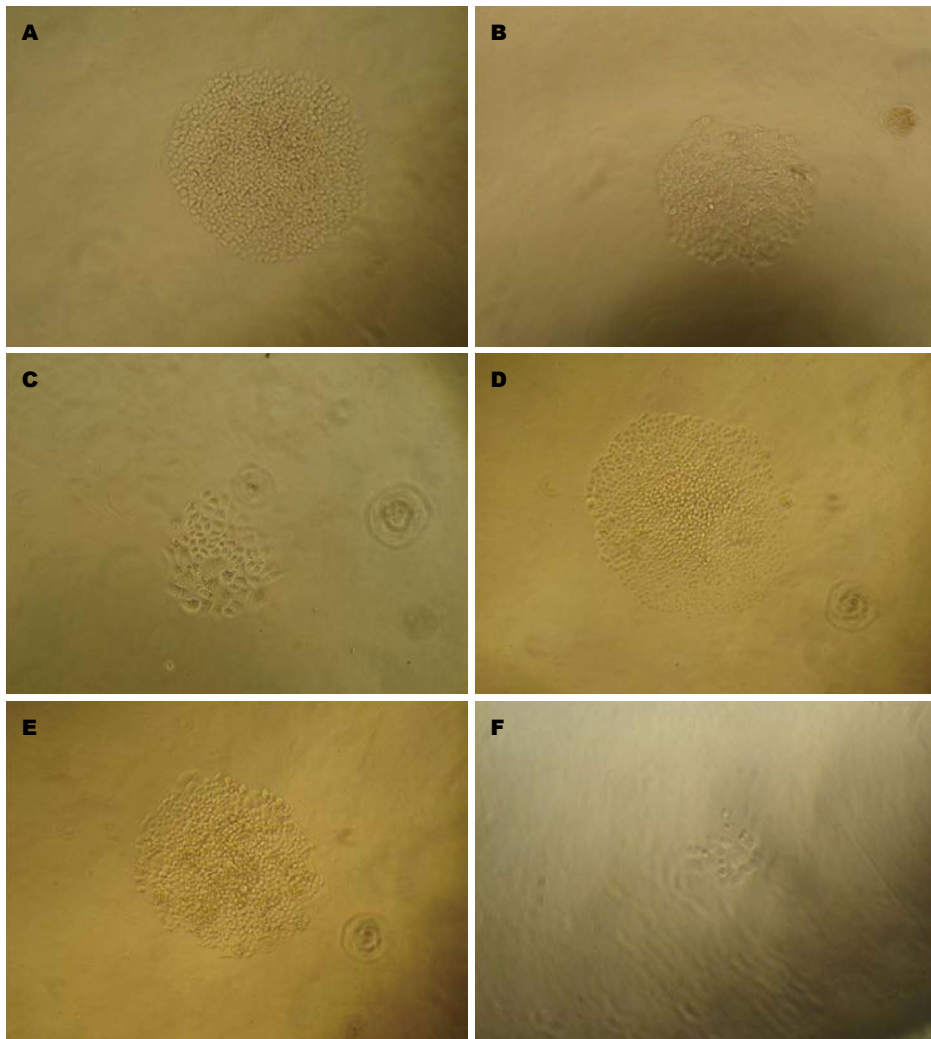
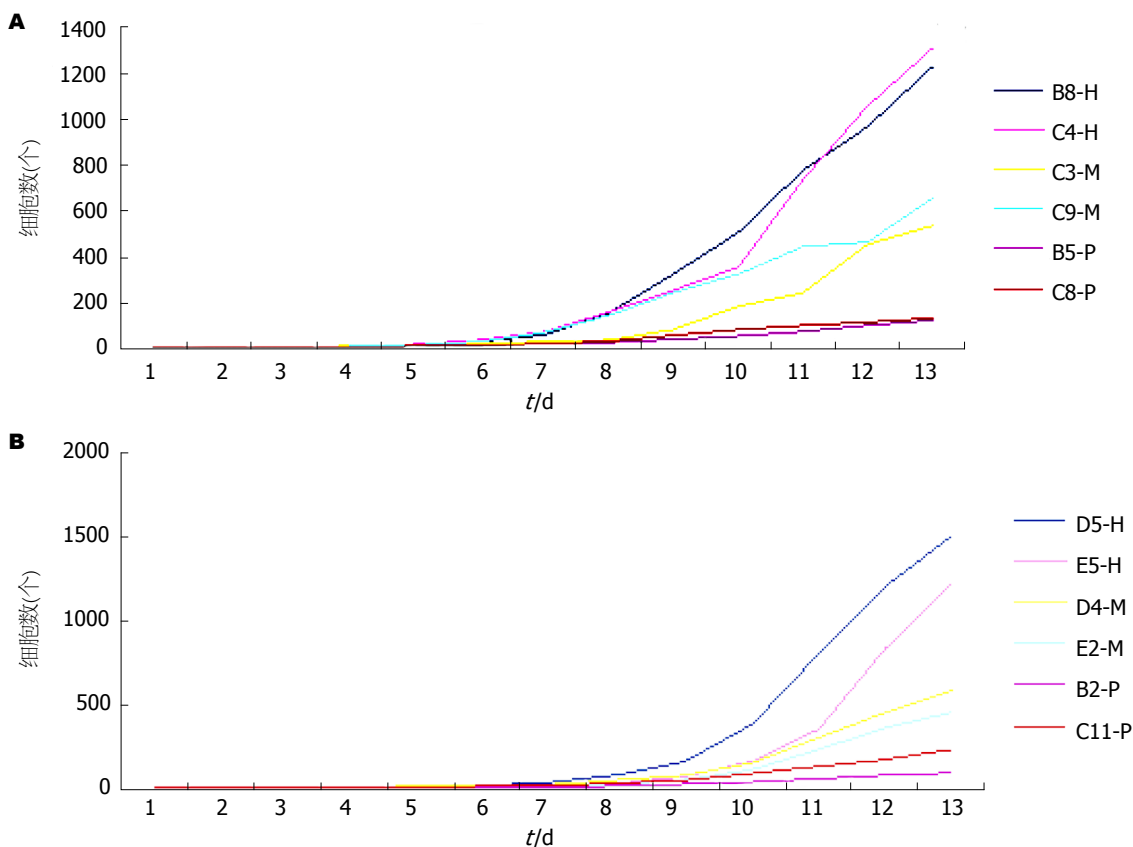


图 2 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单细胞培养所形成的3种克隆形态($\times 200$). A: BEL-7404-H; B: BEL-7404-M; C: BEL-7404-P; D: BEL-7404-ADM-P4-H; E: BEL-7404-ADM-P4-M; F: BEL-7404-ADM-P4-P.

短, BEL-7404-ADM-P4细胞系成功建立.

2.2 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4细胞系的生长情况及其单克隆细胞中H、M、P的生长曲线
BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4细胞系在倒置显微镜下观察,细胞形态无明显差异,均呈上皮样单层排列铺路石状贴壁生长,细胞大小均等,

呈椭圆形或不规则形,边界清晰,增殖迅速(图1). BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4细胞系单细胞培养均可形成3种细胞形态,即H、M、P(图2). 为了了解3种克隆形态细胞的增殖情况,我们做了3种克隆细胞的生长曲线(图3). 从生长曲线可以看出, BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4细胞系



应用要点
 癌干细胞具有耐药特性, 不易被化疗药物杀死而可以长期存在, 这就要求我们临床医师更新治疗策略, 研究出能特异性杀灭癌干细胞的药物是当前医疗研究领域的重大责任。

图3 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4中H、M、P的生长曲线。A: BEL-7404中H、M、P的生长曲线, 其中B8、C4、C3、C9、B5、C8为96孔板孔号; B: BEL-7404-ADM-P4中H、M、P的生长曲线, 其中D5、E5、D4、E2、B2、C11为96孔板孔号。

中, 从第6天开始, H增殖速度最快, 细胞量最大; M次之; P增殖速度最慢, 并于第10天开始出现细胞皱缩死亡; 且BEL-7404-ADM-P4-H细胞数大于BEL-7404-H。

2.3 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4及其单克隆细胞中H、M连续传代后的克隆形成情况 由表1可知, BEL-7404-ADM-P4-H的克隆形成率高于BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4-M($P < 0.05$), 有统计学意义(表1, 图4)。

2.4 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4及其单克隆细胞中H、M、P悬浮球形成情况 悬浮球形成实验, 只有BEL-7404-ADM-P4-H及BEL-7404-H有悬浮球形成, 其余细胞系不形成悬浮球, 均于第3天开始逐渐皱缩死亡。而BEL-7404-ADM-P4-H及BEL-7404-H悬浮球形成率无统计学意义($\chi^2 = 1.228, P = 0.268 > 0.05$, 图5)。

2.5 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P的hoechst33342染色及共聚焦检测结果 BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4单克隆中H都有极少数不染和低染的细胞存在, 但M、P全染, 且BEL-7404单克隆中H、M、P的hoechst33342荧光强度均强于BEL-7404-

ADM-P4单克隆中H、M、P(图6)。

3 讨论

CSCs已经成为目前肿瘤研究的热点, 为肿瘤的治疗提供了新的思路。CSCs理论提出, 肿瘤的发生、发展、临床耐药以及高复发率、高转移性依赖于肿瘤细胞中的极少部分的癌干细胞; 癌干细胞具有无限增殖能力、肿瘤耐药性及高致瘤性^[16]。目前, CSCs的富集主要通过CSCs的克隆形成实验^[17]、悬浮球形成实验^[18]以及CSCs的耐药性^[19], 近几年有相关文献报道, 采用单细胞培养法^[11-14], 根据细胞克隆形态可将单细胞克隆分为H、M、P, 其中H被证实富含CSCs; CSCs的分离纯化主要依靠其表面标志物进行免疫磁珠分选^[20](magnetic activated cell sorting, MACS)和荧光免疫分选^[21](fluorescence activated cell sorting, FACS)以及SP细胞^[22](side population, SP)结合流式分选法。而SP细胞结合流式分选法^[23]是利用高表达ABCG2^[24,25]的癌干细胞能将荧光染料hoechst33342排出胞外的特性, 用流式细胞仪^[26]将hoechst33342低染或不染的SP细胞分离出来, 研究者们认为SP具有癌干细胞特性。但是

■同行评价

本文作者采用阿霉素干预裸鼠体内肝癌移植瘤, 收集其第4代肝癌细胞, 继而体外单细胞克隆培养, 经筛选初步确认全克隆细胞亚群(BEL-7404-ADM-P4-H)具有增殖力和耐药性强的癌干细胞特点。

表 1 各细胞系克隆形成率的比较

对比组	χ^2 值	P值
BEL-7404与BEL-7404-H	2.253	0.133
BEL-7404与BEL-7404-M	0.025	0.874
BEL-7404与BEL-7404-ADM-P4	0.416	0.519
BEL-7404与BEL-7404-ADM-P4-H	5.007	0.025
BEL-7404与BEL-7404-ADM-P4-M	0.097	0.755
BEL-7404-H与BEL-7404-M	1.807	0.179
BEL-7404-H与BEL-7404-ADM-P4	0.741	0.389
BEL-7404-H与BEL-7404-ADM-P4-H	0.567	0.451
BEL-7404-H与BEL-7404-ADM-P4-M	3.271	0.071
BEL-7404-M与BEL-7404-ADM-P4	0.237	0.626
BEL-7404-M与BEL-7404-ADM-P4-H	0.702	0.402
BEL-7404-M与BEL-7404-ADM-P4-M	0.221	0.638
BEL-7404-ADM-P4与BEL-7404-ADM-P4-H	2.580	0.108
BEL-7404-ADM-P4与BEL-7404-ADM-P4-M	0.913	0.339
BEL-7404-ADM-P4-H与BEL-7404-ADM-P4-M	6.452	0.011

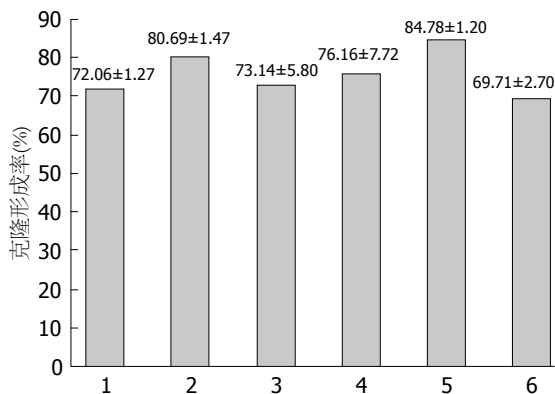


图 4 各细胞系克隆形成率. 1: BEL-7404; 2: BEL-7404-H; 3: BEL-7404-M; 4: BEL-7404-ADM-P4; 5: BEL-7404-ADM-P4-H; 6: BEL-7404-ADM-P4-M.

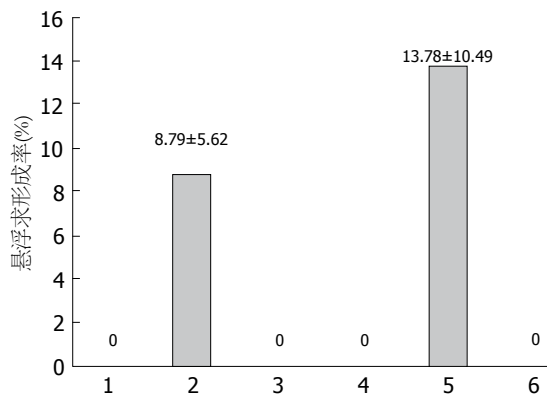


图 5 各细胞系悬浮球形成率. 1: BEL-7404; 2: BEL-7404-H; 3: BEL-7404-M; 4: BEL-7404-ADM-P4; 5: BEL-7404-ADM-P4-H; 6: BEL-7404-ADM-P4-M.

肝癌干细胞缺乏特异性表面标志物, 因此, 在目前的肝癌干细胞研究中, 没有必要过度苛求发现其特异性的表面标志物, 关注和识别癌干细胞所在的细胞亚群更为重要。

本实验组基于肿瘤的耐药性, 裸鼠体内低剂量阿霉素干预, 在体内连续成瘤传代过程中, 裸鼠皮下移植瘤成瘤率均为100%, 且成瘤时间从第一代到第四代均有所缩短, 以此达到了CSCs的初步富集. 从BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4及其单克隆细胞中H、M、P的生长情况来看, BEL-7404-H和BEL-7404-ADM-P4-H生长速度最快, 同等时间内细胞量最大, 提示全克隆增殖能力最强, 这可能与含有较高比例的CSCs有关. 从BEL-7404、BEL-7404-H、BEL-7404-M、BEL-7404-ADM-P4、BEL-7404-ADM-

P4-H、BEL-7404-ADM-P4-M的克隆形成率来看, BEL-7404-ADM-P4-H克隆形成率高于亲本细胞BEL-7404, 同样说明与亲本细胞BEL-7404相比, BEL-7404-ADM-P4-H具有更强的自我更新和增殖能力, 具有更高的癌干细胞特性, 这提示BEL-7404-ADM-P4-H中可能含有更高比例的癌干细胞。

无血清悬浮球培养^[18], 不仅是一种癌干细胞的富集手段, 也是鉴定癌干细胞特性的指标之一^[27]. 在无血清培养条件下癌干细胞能够悬浮生长, 而非癌干细胞则不能^[28]. 在悬浮球形成实验中, 只有BEL-7404-ADM-P4-H及BEL-7404-H有悬浮球形成, 而其余细胞不形成悬浮球, 这也充分说明了全克隆具有更强的癌干细胞特性, 但是BEL-7404-ADM-P4-H与BEL-7404-H悬浮球

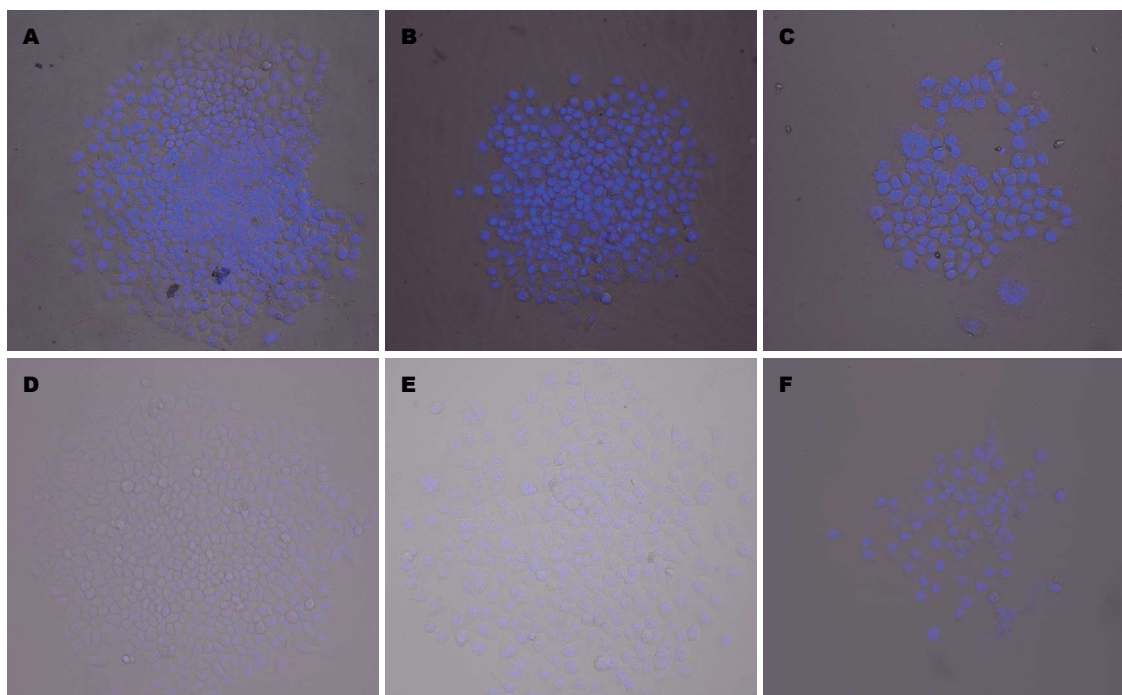


图 6 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P的hoechst33342染色及共聚焦检测结果($\times 200$)。A: BEL-7404-H; B: BEL-7404-M; C: BEL-7404-P; D: BEL-7404-ADM-P4-H; E: BEL-7404-ADM-P4-M; F: BEL-7404-ADM-P4-P。

形成率差异无统计学意义, 通过无血清悬浮球培养, 并不能说明BEL-7404-ADM-P4-H癌细胞特性强于BEL-7404-H。

Zhou等^[29]和Fiegel等^[30]实验证明CSCs具有较强的耐药特性, 其胞膜表面高表达耐药蛋白ABC2, 可以将荧光染料hoechst33342排出胞外, 使细胞不着色或低染。根据这一特性, 本实验组以BEL-7404亲本细胞形成的3种类型克隆为对照, 通过在共聚焦荧光显微镜下直接观察BEL-7404-ADM-P4细胞形成的3种类型克隆的hoechst33342的染色情况, 结果发现BEL-7404-H和BEL-7404-ADM-P4-H都有极少数不染和低染的细胞存在, 但M、P均着色, 且BEL-7404单克隆中H、M、P的hoechst33342荧光强度均强于BEL-7404-ADM-P4单克隆中H、M、P, 这也提示BEL-7404-ADM-P4-H可能富含肝癌干细胞, 具有较强的耐药特性, 能够将荧光染料hoechst33342泵出胞外。

总之, 经裸鼠体内阿霉素干预富集的第四代肝癌细胞, 通过体外单细胞克隆培养法, 形成的全克隆细胞亚群表现出较强的癌干特性: 具有较强的自我更新增殖能力、克隆形成能力及耐药特性。因此我们认为体内阿霉素干预联合体外单细胞培养所形成的全克隆细胞亚群含有更高比例的肝癌干细胞样细胞。但是, 由于癌干细

胞缺乏特异性的标志物, 目前在研究领域癌干细胞的筛选遇到了瓶颈, 所以癌干细胞的筛选和寻找有待研究者们继续努力, 寻找到癌干细胞, 并进行靶向治疗, 为临床根治肿瘤打下坚实的基础。

4 参考文献

- 1 Chen X, Cheung ST, So S, Fan ST, Barry C, Higgins J, Lai KM, Ji J, Dudoit S, Ng IO, Van De Rijn M, Botstein D, Brown PO. Gene expression patterns in human liver cancers. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 1929-1939 [PMID: 12058060 DOI: 10.1091/mbc.02-02-0023]
- 2 Ko CH, Cheng CF, Lai CP, Tzu TH, Chiu CW, Lin MW, Wu SY, Sun CY, Tseng HW, Wang CC, Kuo ZK, Wang LM, Chen SF. Differential proteomic analysis of cancer stem cell properties in hepatocellular carcinomas by isobaric tag labeling and mass spectrometry. *J Proteome Res* 2013; 12: 3573-3585 [PMID: 23782096 DOI: 10.1021/pr4004294]
- 3 Winquist RJ, Boucher DM, Wood M, Furey BF. Targeting cancer stem cells for more effective therapies: Taking out cancer's locomotive engine. *Biochem Pharmacol* 2009; 78: 326-334 [PMID: 19539800 DOI: 10.1016/j.bcp.2009.03.020]
- 4 Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 3983-3988 [PMID: 12629218 DOI: 10.1073/pnas.0530291100]
- 5 Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, Maitland NJ. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res* 2005; 65: 10946-10951 [PMID: 16322242 DOI: 10.1158/0008-5472.CCR-05-10946]

- 10.1158/0008-5472.CAN-05-2018]
- 6 Li C, Heidt DG, Dalerba P, Burant CF, Zhang L, Adsay V, Wicha M, Clarke MF, Simeone DM. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res* 2007; 67: 1030-1037 [PMID: 17283135 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2030]
 - 7 Zhang S, Balch C, Chan MW, Lai HC, Matei D, Schilder JM, Yan PS, Huang TH, Nephew KP. Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. *Cancer Res* 2008; 68: 4311-4320 [PMID: 18519691 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0364]
 - 8 Yamashita T, Ji J, Budhu A, Forgues M, Yang W, Wang HY, Jia H, Ye Q, Qin LX, Wauthier E, Reid LM, Minato H, Honda M, Kaneko S, Tang ZY, Wang XW. EpCAM-positive hepatocellular carcinoma cells are tumor-initiating cells with stem/progenitor cell features. *Gastroenterology* 2009; 136: 1012-1024 [PMID: 19150350 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.004]
 - 9 周志华, 王卫兵, 张健东. 全克隆与肿瘤干细胞. 国际病理科学与临床杂志 2011; 31: 420-423
 - 10 Zucchi I, Sanzone S, Astigiano S, Pelucchi P, Scotti M, Valsecchi V, Barbieri O, Bertoli G, Albertini A, Reinbold RA, Dulbecco R. The properties of a mammary gland cancer stem cell. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 10476-10481 [PMID: 17566110 DOI: 10.1073/pnas.0703071104]
 - 11 Li H, Chen X, Calhoun-Davis T, Claypool K, Tang DG. PC3 human prostate carcinoma cell holoclones contain self-renewing tumor-initiating cells. *Cancer Res* 2008; 68: 1820-1825 [PMID: 18339862 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5878]
 - 12 Zhou ZH, Ping YF, Yu SC, Yi L, Yao XH, Chen JH, Cui YH, Bian XW. A novel approach to the identification and enrichment of cancer stem cells from a cultured human glioma cell line. *Cancer Lett* 2009; 281: 92-99 [PMID: 19324493 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.02.033]
 - 13 Kalirai H, Damato BE, Coupland SE. Uveal melanoma cell lines contain stem-like cells that self-renew, produce differentiated progeny, and survive chemotherapy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 8458-8466 [PMID: 21896849 DOI: 10.1167/iops.11-7379]
 - 14 Tan L, Sui X, Deng H, Ding M. Holoclone forming cells from pancreatic cancer cells enrich tumor initiating cells and represent a novel model for study of cancer stem cells. *PLoS One* 2011; 6: e23383 [PMID: 21826251 DOI: 10.1371/journal.pone.0023383]
 - 15 Singh S, Dwarakanath BS, Lazar Mathew T. Role of topoisomerases in cytotoxicity induced by DNA ligand Hoechst-33342 and UV-C in a glioma cell line. *Indian J Exp Biol* 2005; 43: 313-323 [PMID: 15875714]
 - 16 高杨, 李立, 冉江华. 肝癌干细胞的研究进展. 医学综述 2011; 17: 374-377
 - 17 Dou J, Pan M, Wen P, Li Y, Tang Q, Chu L, Zhao F, Jiang C, Hu W, Hu K, Gu N. Isolation and identification of cancer stem-like cells from murine melanoma cell lines. *Cell Mol Immunol* 2007; 4: 467-472 [PMID: 18163959]
 - 18 Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* 1992; 255: 1707-1710 [PMID: 1553558 DOI: 10.1126/science.1553558]
 - 19 Zhang Q, Shi S, Yen Y, Brown J, Ta JQ, Le AD. A subpopulation of CD133(+) cancer stem-like cells characterized in human oral squamous cell carcinoma confer resistance to chemotherapy. *Cancer Lett* 2010; 289: 151-160 [PMID: 19748175 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.08.010]
 - 20 谭岫, 陈积圣, 宋尔卫. 低剂量环磷酰胺富集肝癌干细胞的实验研究. 中山大学, 2009
 - 21 颜政, 方驰华, 高鹏. 人原发肝细胞癌干细胞表面标志的初步研究. 南方医科大学学报 2006; 26: 1304-1306
 - 22 董强刚, 姚明, 耿沁, 周瑾, 闫明霞. 人肺腺癌干细胞的分离及鉴定. 肿瘤 2008; 28: 1-7
 - 23 Seigel GM, Campbell LM, Narayan M, Gonzalez-Fernandez F. Cancer stem cell characteristics in retinoblastoma. *Mol Vis* 2005; 11: 729-737 [PMID: 16179903]
 - 24 Doyle L, Ross DD. Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2). *Oncogene* 2003; 22: 7340-7358 [PMID: 14576842 DOI: 10.1038/sj.onc.1206938]
 - 25 Huss WJ, Gray DR, Greenberg NM, Mohler JL, Smith GJ. Breast cancer resistance protein-mediated efflux of androgen in putative benign and malignant prostate stem cells. *Cancer Res* 2005; 65: 6640-6650 [PMID: 16061644 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-2548]
 - 26 Maeda S, Shinchi H, Kurahara H, Mataka Y, Maemura K, Sato M, Natsugoe S, Aikou T, Takao S. CD133 expression is correlated with lymph node metastasis and vascular endothelial growth factor-C expression in pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2008; 98: 1389-1397 [PMID: 18349830 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604307]
 - 27 关小芳, 文忠, 申聪香, 牟少凤, 张宏征, 谢民强, 郭梦和. 人鼻咽癌细胞株中类肿瘤干细胞的分离、培养及鉴定. 解放军医学杂志 2008; 33: 1461-1464
 - 28 胡以平. 关于肿瘤干细胞问题的一些思考. 中国肿瘤生物治疗杂志 2008; 15: 201-204
 - 29 Zhou S, Schuetz JD, Bunting KD, Colapietro AM, Sampath J, Morris JJ, Lagutina I, Grosveld GC, Osawa M, Nakauchi H, Sorrentino BP. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype. *Nat Med* 2001; 7: 1028-1034 [PMID: 11533706 DOI: 10.1038/nm0901-1028]
 - 30 Fiegel HC, Glüer S, Roth B, Rischewski J, von Schweinitz D, Ure B, Lambrecht W, Kluth D. Stem-like cells in human hepatoblastoma. *J Histochem Cytochem* 2004; 52: 1495-1501 [PMID: 15505344 DOI: 10.1369/jhc.4A6297.2004]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



肥大细胞及蛋白酶激活受体-2在肠易激综合征中的作用

王军洁, 姜宗丹, 张振玉, 汪志兵, 王劲松, 黄文斌

王军洁, 姜宗丹, 张振玉, 汪志兵, 南京医科大学附属南京医院消化科 江苏省南京市 210006

王劲松, 黄文斌, 南京医科大学附属南京医院病理科 江苏省南京市 210006

王军洁, 硕士, 主要从事肠易激综合征的研究。

作者贡献分布: 此课题由王军洁与张振玉设计; 研究操作过程及论文撰写由王军洁与姜宗丹完成; 资金提供与课题申请由张振玉完成; 数据分析由姜宗丹与汪志兵完成; 病理及免疫组织化学染色操作由王劲松与黄文斌完成。

通讯作者: 张振玉, 主任医师, 210006, 江苏省南京市秦淮区长乐路68号, 南京医科大学附属南京医院消化科。

ahzhangzhenyu@sina.com

电话: 025-87726249

收稿日期: 2013-08-16 修回日期: 2013-10-29

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

Role of mast cells and protease activated receptor-2 in irritable bowel syndrome

Jun-Jie Wang, Zong-Dan Jiang, Zhen-Yu Zhang, Zhi-Bing Wang, Jin-Song Wang, Wen-Bin Huang

Jun-Jie Wang, Zong-Dan Jiang, Zhen-Yu Zhang, Zhi-Bing Wang, Department of Gastroenterology, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China

Jin-Song Wang, Wen-Bin Huang, Department of Pathology, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Zhen-Yu Zhang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, 68 Changle Road, Qinhuai District, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China. ahzhangzhenyu@sina.com

Received: 2013-08-16 Revised: 2013-10-29

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To investigate the role of mast cells and protease activated receptor-2 (PAR-2) in irritable bowel syndrome (IBS).

METHODS: A total of 90 subjects were divided into a diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) group ($n = 60$) and a normal control group ($n = 30$), all of them were selected from digestive outpatient department of Nanjing Hospital Affiliated to Nanjing Medical University from January 2012 to December 2012. The expression of mast cells and PAR-2 was detected

by immunohistochemistry, and the expression of Occludin was detected by Western blot.

RESULTS: Immunohistochemistry analysis showed that compared with the normal control group, the expression of both mast cells and PAR-2 was significantly higher in the IBS-D group (5.20 ± 2.78 vs 1.40 ± 0.55 , $P < 0.05$; 3.20 ± 1.64 vs 1.20 ± 0.45 , $P < 0.05$). Western blot analysis indicated that the expression of Occludin decreased significantly in the IBS-D group compared with the normal control group (2108.33 ± 59.58 vs 3113.00 ± 77.74 , $P < 0.01$).

CONCLUSION: Our study suggests that in IBS-D subjects, overexpressed and activated mast cells may stimulate PAR-2 and lead to the damage of intercellular tight junctions.

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

Key Words: Irritable bowel syndrome; Mast cell; Protease activated receptor-2; Occludin

Wang JJ, Jiang ZD, Zhang ZY, Wang ZB, Wang JS, Huang WB. Role of mast cells and protease activated receptor-2 in irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 327-332 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/327.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.327>

摘要

目的: 探讨肥大细胞及蛋白酶激活受体-2 (protease activated receptor-2, PAR-2) 在肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)中的作用。

方法: 2012-01/2012-12自南京医科大学附属南京医院消化内科门诊随机选取腹泻型IBS患者60例及正常者30例, 采用免疫组织化学检测各组肥大细胞、PAR-2蛋白的表达强度; 采用Western blot检测各组Occludin的表达量。

结果: 免疫组织化学法结果显示IBS-D组与对照组相比, 肥大细胞表达明显增多(5.20 ± 2.78

■背景资料

肠易激综合征是一种没有器质性疾病或生化异常可以解释的腹部不适或疼痛同时伴有排便紊乱, 其发病机制被认为与内脏感觉过敏和胃肠动力异常有关。

■同行评议者

潘兴华, 副主任医师, 中国人民解放军成都军区昆明总医院干细胞与组织器官工程研究中心

■ 研发前沿

肠易激综合征的发病机制尚未明确, 本研究重点关注腹泻型肠易激综合征的发病机制。

vs 1.40 ± 0.55 , $P < 0.05$); PAR-2蛋白的表达明显增多(3.20 ± 1.64 vs 1.20 ± 0.45 , $P < 0.05$); Western blot结果示IBS-D组Occludin蛋白的表达明显低于正常组(2108.33 ± 59.58 vs 3113.00 ± 77.74 , $P < 0.01$).

结论: 本研究提示IBS-D患者肥大细胞过表达、激活后可刺激PAR-2活化, 从而进一步损伤细胞间紧密连接。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肠易激综合征; 肥大细胞; 蛋白酶激活受体-2; Occludin

核心提示: 本研究提示腹泻型肠易激综合征(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D)患者肥大细胞过表达、激活后可刺激蛋白酶激活受体-2(protease activated receptor-2, PAR-2)活化, 通过PAR-2进一步损伤细胞间紧密连接。

王军洁, 姜宗丹, 张振玉, 汪志兵, 王劲松, 黄文斌. 肥大细胞及蛋白酶激活受体-2在肠易激综合征中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 327-332 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/327.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.327>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种没有器质性疾病或生化异常可以解释的腹部不适或疼痛同时伴有排便紊乱^[1], 其发病机制被认为与内脏感觉过敏和胃肠动力异常有关, 肥大细胞(mast cell, MC)可能在其中起一定的作用. 肠道内肥大细胞数量、活化增多, 分泌类胰蛋白酶等活性介质, 进而活化蛋白酶激活受体-2(protease activated receptor-2, PAR-2), PAR-2的激活可能引起细胞上皮细胞的紧密连接的骨架组织的重排, 可以导致肠道屏障的改变, 肠道黏膜的渗透性增加, 增加了液体甚至是微生物跨越肠黏膜的通道^[2,3].

紧密连接蛋白(tight junction, TJ)是细胞间连接的一个重要形式, 是构成黏膜机械屏障最重要的结构, 由Claudin蛋白、Occludin蛋白、JAM、ZOs等结构蛋白及各类连接蛋白分子共同组成^[4-6], Occludin是最先分离出来的TJ跨膜蛋白^[7], 免疫电镜显示Occludin定位在TJ上^[8-10], Occludin蛋白是TJ中最重要的结构蛋白, 他不仅能通过外环以拉链式结合进而产生严密的细胞旁

封闭, 还能与不同的分子结合, 参与TJ形成的信号调节^[11,12], Occludin形成紧密连接蛋白的基本结构, Occludin的功能广泛, 涉及细胞间黏附、移动、调节细胞通透性及细胞表型的改变^[13]. 在低氧、炎症因子刺激等病理情况下可引起Occludin等分布异常、表达减少甚至融解, 导致TJ结构和功能的异常, 细胞间隙增宽, 进而使内皮层通透性升高^[14].

本研究分析腹泻型肠易激综合征(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D)患者的升结肠黏膜中MC、PAR2蛋白及Occludin蛋白表达的变化, 探讨MC、PAR2、Occludin与IBS-D关系, 为研究IBS-D的发病机制和临床治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 2012-01/2012-12自南京医科大学附属南京医院消化科门诊经排除炎症性肠病、结直肠肿瘤、先天性巨结肠、糖尿病以及甲亢等疾病. 诊断参照新近颁布的罗马III诊断标准^[15]. 选取腹泻型IBS患者60例, 男26例, 女34例, 年龄21-71岁(平均年龄49.7岁±3.1岁). 正常对照组30例, 为体检者, 男19例, 女11例, 年龄32-58岁(平均年龄47.5岁±2.8岁). 无消化系和神经系统症状和体征, 无免疫疾病史、感染病史, 无近期服药史. 两组性别、年龄构成比差异无显著性($P > 0.05$). PENTAX电子肠镜、JEM-1011型透射电子显微镜为日本JEOL公司产品, 由南京医科大学电镜室提供. 肥大细胞抗体、Occludin抗体、PAR2抗体均购自cell signal公司.

1.2 方法

1.2.1 肠镜检查及标本制备: 所有研究对象均签署知情同意书并通过院内伦理委员会批准后, 肠镜检查研究对象并活检钳取肠道黏膜标本, 分别于回盲部和距肛门20-25 cm乙状结肠部位各取两块标本固定后制成石蜡切片. 4 μm连续切片, 进行免疫组织化学SP法染色(操作严格按照试剂盒说明书进行).

1.2.2 结果判定: 肥大细胞计数: 类胰蛋白酶是活化的MC释放的介质之一, 具有胰蛋白酶样活性, 在MC介导的多种反应中起重要作用, 常被作为MC活化的标志物^[16]. 类胰蛋白酶阳性MC呈棕褐色. 于光学显微镜下(×200)选取阳性细胞密度最高的5个视野进行计数, 取均值. PAR-2蛋白、主要定位于细胞膜及细胞质, 分别选取5个视野对各实验组及对照组染色阳性细胞进

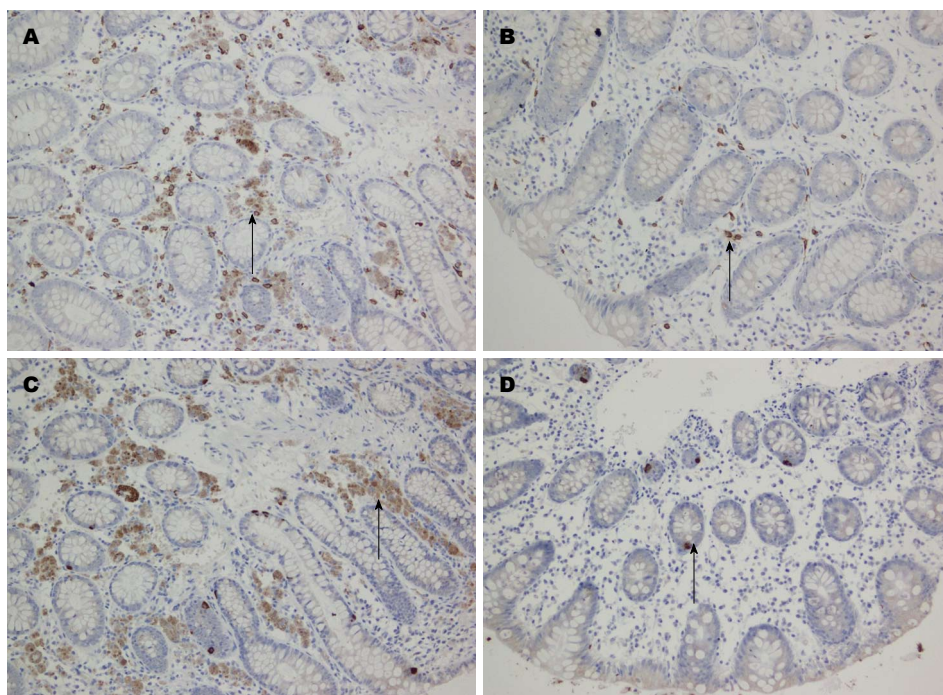


图 1 免疫组织化学结果($\times 200$)。A: IBS-D组中肥大细胞的表达; B: 正常组中肥大细胞的表达; C: IBS-D组中PAR-2蛋白的表达; D: 正常组中PAR-2蛋白的表达。

■ 相关报道

既往有研究发现蛋白酶激活受体-2(protease activated receptor-2, PAR-2)激动剂可高效激活人结肠肥大细胞(mast cell, MC), 诱导其释放类胰蛋白酶和组胺, MC可通过其分泌的类胰蛋白酶激活自身或邻近MC的PAR-2, 对脱颗粒信号进行自我放大, 从而放大炎症反应。但他们都没有与肠易激综合征联系。

表 1 各组肥大细胞及PAR-2表达强度 ($n = 5$, mean \pm SD)

表达强度	正常组	IBS-D组	F值	P值
肥大细胞	1.40 \pm 0.55	5.20 \pm 2.78 ^a	3.004	0.017
PAR-2	1.20 \pm 0.45	3.20 \pm 1.64 ^c	2.626	0.030

^a $P < 0.05$, ^c $P < 0.05$ vs 正常组。IBS-D: 腹泻型肠易激综合征; PAR-2: 蛋白酶激活受体-2。

行计数及统计学分析, 染色强度标准1: 按照胞膜及胞质染色着色深浅计分, 无色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分, 深褐色为4分。标准2: 按照阳性细胞率计分, 阴性为0分, 0%-10%为1分, 11%-50%为2分, >50%为3分。表达强度 = 标准1 \times 标准2。

1.2.3 透射电镜观察细胞超微结构: 取肠黏膜组织标本置于2.5%戊二醛、pH7.4的固定液中(二甲砷酸钠缓冲液配制), 室温固定1 h后, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。经0.1 mmol/L的二甲砷酸钠缓冲液冲洗后, 用1%锇酸(osmium tetroxide, OSO4)固定2 h, 常规方法脱水, 定向包埋。60-80 μm 超薄切片经铅双染色后, 在JEM-1011透射电镜下观察。

1.2.4 Western blot检测: 将标本组织研磨后加入蛋白裂解液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 裂解, 12000 r/min离心5 min, 取上清为全蛋白提取物, BCA法进行蛋白浓度测定。与蛋白上样缓冲液混合后, 煮沸5 min, 分装

保存于-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱。进行SDS-PAGE凝胶电泳、转膜、用5%脱脂牛奶封闭1 h后, 分别加入一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。TBST洗4次后加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 室温作用2 h, 再次用TBST洗膜, 后使用ECL法显色, GIS凝胶图像分析系统照相并分析处理。上述反应以 β -actin作为内参照, 结果用AlphamagerTM 2200图像分析系统对胶片扫描并进行平均密度值(average density values, ADV)测定, 以Occludin/ADV β -actin的比值作为各组产物相对吸光度值。

统计学处理 采用SPSS11.5软件进行分析。计量资料采用 t 检验。数据以mean \pm SD表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组织化学 肠黏膜上皮类胰蛋白酶免疫反应产物主要定位于MC胞质中, 少数MC胞质、胞核均着色。分别选取5个视野对实验组及对照组中肥大细胞表达强度及统计学分析。PAR-2蛋白阳性染色表达定位于细胞膜及胞质, 分别选取5个视野对实验组及对照组中PAR-2表达强度及统计学分析, 结果如表1及图1。

2.2 透射电镜观察两组肠黏膜细胞完整性及紧密连接的变化 对照组可见细胞完好, 胞质丰富, 绒毛较多, 胞膜完整, 未见到细胞连接, 胞质内线粒体、溶酶体结构清晰, 胞核呈圆形, 染色质

■创新盘点

本文将肠易激综合征与MC的PAR-2及紧密连接蛋白相结合, 阐述肠易激综合征的发病机制。

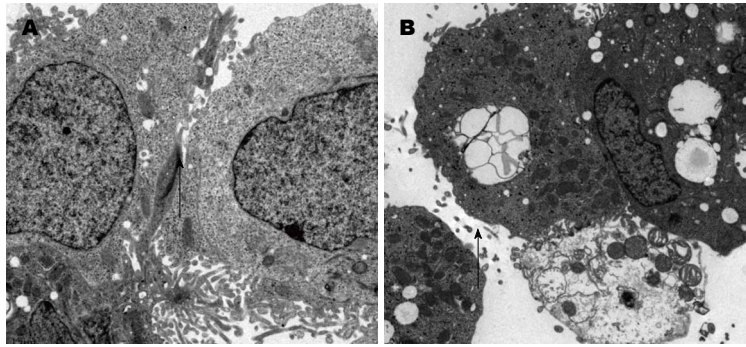


图2 透射电镜观察两组肠黏膜细胞. A: 对照组(标尺 = 1 μm); B: IBS-D组(标尺 = 2 μm).

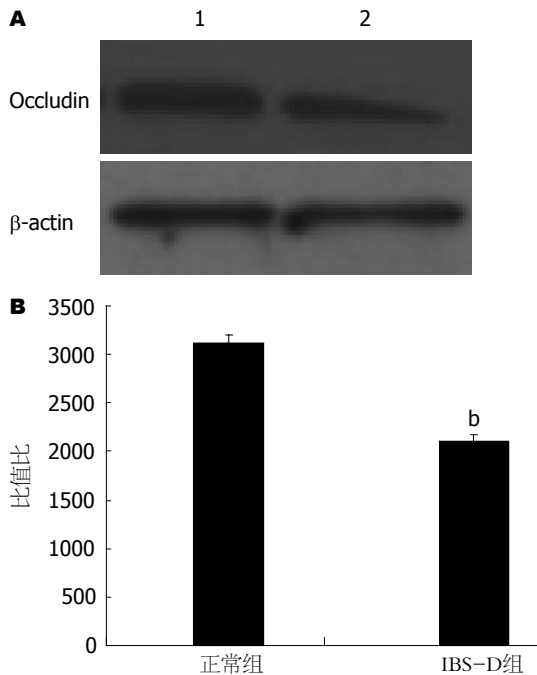


图3 Occludin 蛋白表达情况. A: Western blot结果. 1: 正常组Occludin蛋白的表达情况; 2: IBS-D组Occludin蛋白的表达情况; B: Occludin蛋白/β-actin蛋白表达的柱形图. ^b $P < 0.01$ vs 正常组($F = 35.076$).

以异染色质为主, 核圆形或不规整, 核仁明显, 核膜结构完好(图2A). IBS-D组可见细胞明显受损, 胞质内细胞器空泡化明显, 部份胞质水肿, 绒毛脱落或有缺失, 内质网扩张, 细胞器有变性, 可见髓鞘样小体, 细胞间隙有增宽现象(图2B).

2.3 Western blot IBS-D组与正常对照组比较, Occludin蛋白减少明显, 差异有统计学意义($P < 0.01$)(图3).

3 讨论

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的病因和发病机制迄今还不清楚. 目前有文献认为IBS-D患者结肠黏膜存在低度炎症^[17], 各种原因如遗传因素^[18]、感染^[19]、食物过敏^[20]、肠道菌群紊乱^[21]等均导致肠易激综合征, 黏膜

组织内存在免疫细胞活化, 包括淋巴细胞、MC等, 特别是感染后IBS患者中MC增多表现更明显^[22,23]. 肠道中的MC是既具有免疫活性, 又能分泌多种介质的重要的免疫细胞. MC位于黏膜血管、淋巴和神经附近, 是肠道主要的抗原感受器, 参与肠黏膜的免疫调节. 当某种抗原刺激机体免疫系统, 可引起感觉神经末梢兴奋以及信号传递, 并诱导机体产生IgE抗体, 抗原和抗体结合可引起MC活化、脱颗粒, 并释放多种生物活性介质如类胰蛋白酶、组胺、5-羟色胺等.

蛋白酶激活受体(protease activated receptors, PARs)属于与G蛋白相偶联, 有7个跨膜单位的受体家族, 目前发现的PARs家族成员共4个, 其中PAR-2为胰酶受体. PAR-2可被胰蛋白酶样蛋白水解酶剪切激活, 类胰蛋白酶是MC自分泌颗粒中的一种重要成分, 在MC被激活时释放出来, 肥大细胞分泌的类胰蛋白酶(trypsin)可激活PAR-2^[24]. PAR-2激活后产生广泛促炎效应, 一方面, PAR-2的激活可以引起伤害感受神经元的过度兴奋, 释放兴奋性神经递质, 导致内脏敏感性的增加. 另一方面, PAR-2激活后可破坏结肠黏膜屏障的完整性, 肠黏膜对肠腔内细菌及各种蛋白酶通透性增加, 导致结肠炎症持续加重, 这种肠黏膜紧密连接的破坏依赖于肌球蛋白轻链激酶的活化^[25]. 紧密连接蛋白主要位于细胞连接最顶端, 由多种紧密连接蛋白分子组成, 其中最重要的是跨膜蛋白Occludin. Occludin是最先分离出来的TJ跨膜蛋白, 免疫电镜显示Occludin定位在TJ上, 是TJ的主要功能蛋白, 对于屏障功能的维持和紧密连接的完整性具有重要作用.

何韶衡等^[26,27]发现PAR-2激动剂可高效激活人结肠MC, 诱导其释放类胰蛋白酶和组胺, MC可通过其分泌的类胰蛋白酶激活自身或邻近MC的PAR-2, 对脱颗粒信号进行自我放大, 从而放大炎症反应. Jacob等^[28]的研究证实, 在应激和炎症状态下, MC释放的类胰蛋白酶可激活结肠

细胞上的PAR-2, 从而增加细胞间隙通透性。

本研究结果显示: 免疫组织化学检测IBS-D组肥大细胞的表达明显高于正常组肥大细胞的表达, 且差异有统计学意义($P<0.05$); 与Cenac等和Buhner等^[29,30]的研究报道相似, 免疫组织化学检查显示IBS-D组PAR-2蛋白的表达明显高于正常组, 且差异有统计学意义($P<0.05$)。透射电镜显示IBS-D组细胞间隙较正常组增宽。Western blot的结果显示IBS-D组Occludin蛋白的表达明显低于正常组, 且差异有统计学意义($P<0.05$)。研究结果与研究思路一致。

故本研究提示IBS-D患者肥大细胞过表达、激活后可刺激PAR-2活化, 通过PAR-2进一步损伤细胞间紧密连接。

4 参考文献

- Gulewitsch MD, Enck P, Schwille-Kiuntke J, Weimer K, Schlarb AA. Rome III criteria in parents' hands: pain-related functional gastrointestinal disorders in community children and associations with somatic complaints and mental health. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013; 25: 1223-1229 [PMID: 24002016]
- Cenac N, Coelho AM, Nguyen C, Compton S, Andrade-Gordon P, MacNaughton WK, Wallace JL, Hollenberg MD, Bunnett NW, Garcia-Villar R, Bueno L, Vergnolle N. Induction of intestinal inflammation in mouse by activation of proteinase-activated receptor-2. *Am J Pathol* 2002; 161: 1903-1915 [PMID: 12414536 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64466-5]
- Gecse K, Róka R, Ferrier L, Leveque M, Eutamene H, Cartier C, Ait-Belgnaoui A, Rosztóczy A, Izbéki F, Fioramonti J, Wittmann T, Bueno L. Increased faecal serine protease activity in diarrhoeic IBS patients: a colonic luminal factor impairing colonic permeability and sensitivity. *Gut* 2008; 57: 591-599 [PMID: 18194983 DOI: 10.1136/gut.2007.140210]
- 宋红丽, 吕飒, 马力, 李颖, 刘沛. TNF- α 影响肠黏膜上皮细胞间紧密连接蛋白的表达. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1303-1306
- Furuse M, Fujita K, Hiiragi T, Fujimoto K, Tsukita S. Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *J Cell Biol* 1998; 141: 1539-1550 [PMID: 9647647 DOI: 10.1083/jcb.141.7.1539]
- Martin-Padura I, Lostaglio S, Schneemann M, Williams L, Romano M, Fruscella P, Panzeri C, Stoppacciaro A, Ruco L, Villa A, Simmons D, Dejana E. Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *J Cell Biol* 1998; 142: 117-127 [PMID: 9660867 DOI: 10.1083/jcb.142.1.117]
- Furuse M, Hirase T, Itoh M, Nagafuchi A, Yonemura S, Tsukita S, Tsukita S. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J Cell Biol* 1993; 123: 1777-1788 [PMID: 8276896 DOI: 10.1083/jcb.123.6.1777]
- Hirase T, Staddon JM, Saitou M, Ando-Akatsuka Y, Itoh M, Furuse M, Fujimoto K, Tsukita S, Rubin LL.

- Occludin as a possible determinant of tight junction permeability in endothelial cells. *J Cell Sci* 1997; 110 (Pt 14): 1603-1613 [PMID: 9247194]
- Saitou M, Ando-Akatsuka Y, Itoh M, Furuse M, Inazawa J, Fujimoto K, Tsukita S. Mammalian occludin in epithelial cells: its expression and subcellular distribution. *Eur J Cell Biol* 1997; 73: 222-231 [PMID: 9243183]
- Fujimoto K. Freeze-fracture replica electron microscopy combined with SDS digestion for cytochemical labeling of integral membrane proteins. Application to the immunogold labeling of intercellular junctional complexes. *J Cell Sci* 1995; 108 (Pt 11): 3443-3449 [PMID: 8586656]
- Chen YH, Lu Q, Goodenough DA, Jeansonne B. Nonreceptor tyrosine kinase c-Yes interacts with occludin during tight junction formation in canine kidney epithelial cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 1227-1237 [PMID: 11950934 DOI: 10.1091/mbc.01-08-0423]
- Nusrat A, Chen JA, Foley CS, Liang TW, Tom J, Cromwell M, Quan C, Mrsny RJ. The coiled-coil domain of occludin can act to organize structural and functional elements of the epithelial tight junction. *J Biol Chem* 2000; 275: 29816-29822 [PMID: 10887180 DOI: 10.1074/jbc.M002450200]
- 刘理. 紧密连接的分子基础及其调控. *国外医学·生理病理科学与临床分册* 1999; 19: 75-78
- Berkes J, Viswanathan VK, Savkovic SD, Hecht G. Intestinal epithelial responses to enteric pathogens: effects on the tight junction barrier, ion transport, and inflammation. *Gut* 2003; 52: 439-451 [PMID: 12584232 DOI: 10.1136/gut.52.3.439]
- Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional bowel disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1480-1491 [PMID: 16678561 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.061]
- Abraham WM. Trypsin: potential role in airway inflammation and remodeling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282: L193-L196 [PMID: 11792623]
- Chadwick VS, Chen W, Shu D, Paulus B, Bethwaite P, Tie A, Wilson I. Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002; 122: 1778-1783 [PMID: 12055584 DOI: 10.1053/gast.2002.33579]
- Gonsalkorale WM, Perrey C, Pravica V, Whorwell PJ, Hutchinson IV. Interleukin 10 genotypes in irritable bowel syndrome: evidence for an inflammatory component? *Gut* 2003; 52: 91-93 [PMID: 12477767 DOI: 10.1136/gut.52.1.91]
- 鞠辉, 张小芳, 刘希双, 魏良洲. 感染后与非感染后肠易激综合征患者结肠黏膜SP与IL-2、IFN- γ 表达的相关性. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 3116-3120
- Smout A, Azpiroz F, Coremans G, Dapoigny M, Collins S, Müller-Lissner S, Pace F, Stockbrügger R, Vatn M, Whorwell P. Potential pitfalls in the differential diagnosis of irritable bowel syndrome. *Digestion* 2000; 61: 247-256 [PMID: 10878451 DOI: 10.1159/000007765]
- Barbara G, Corinaldesi R. Probiotics: could they turn out to be ineffective in irritable bowel syndrome? *Dig Liver Dis* 2000; 32: 302-304 [PMID: 11515627 DOI: 10.1016/S1590-8658(00)80022-5]
- Bercik P, Verdu EF, Collins SM. Is irritable bowel syndrome a low-grade inflammatory bowel disease? *Gastroenterol Clin North Am* 2005; 34: 235-245, vi-vii [PMID: 15862932 DOI: 10.1016/j.gtc.2005.02.007]

■应用要点

本研究分析腹泻型肠易激综合征患者的升结肠黏膜中MC表达、PAR2蛋白及Occludin蛋白表达的变化, 探讨MC、PAR2、Occludin与IBS-D关系, 为研究IBS-D的发病机制和临床治疗提供理论依据。

■同行评价

本文将肠易激综合征与MC的PAR-2及紧密连接蛋白相结合,简要阐述肠易激综合征的发病机制,研究颇有新意。

- 23 Spiller RC. Inflammation as a basis for functional GI disorders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 641-661 [PMID: 15324705 DOI: 10.1016/j.bpg.2004.04.002]
- 24 谢华, 何韵衡, 郑坚. 蛋白酶抑制剂对肥大细胞类胰蛋白酶分泌的影响. *免疫学杂志* 2002; 18: 284-287
- 25 Cenac N, Garcia-Villar R, Ferrier L, Larauche M, Vergnolle N, Bunnett NW, Coelho AM, Fioramonti J, Bueno L. Proteinase-activated receptor-2-induced colonic inflammation in mice: possible involvement of afferent neurons, nitric oxide, and paracellular permeability. *J Immunol* 2003; 170: 4296-4300 [PMID: 12682265]
- 26 何韶衡, 谢华, 何永松. 蛋白酶激活受体2(PAR-2)激动剂对肥大细胞释放类胰蛋白酶的影响. *生理学报* 2002; 54: 531-534
- 27 何韶衡, 谢华. 蛋白酶激活受体2激动剂对肥大细胞释放组胺的影响. *免疫学杂志* 2004; 20: 263-266
- 28 Jacob C, Yang PC, Darmoul D, Amadesi S, Saito T, Cottrell GS, Coelho AM, Singh P, Grady EF, Perdue M, Bunnett NW. Mast cell tryptase controls paracellular permeability of the intestine. Role of protease-activated receptor 2 and beta-arrestins. *J Biol Chem* 2005; 280: 31936-31948 [PMID: 16027150 DOI: 10.1074/jbc.M506338200]
- 29 Cenac N, Andrews CN, Holzhausen M, Chapman K, Cottrell G, Andrade-Gordon P, Steinhoff M, Barbara G, Beck P, Bunnett NW, Sharkey KA, Ferraz JG, Shaffer E, Vergnolle N. Role for protease activity in visceral pain in irritable bowel syndrome. *J Clin Invest* 2007; 117: 636-647 [PMID: 17304351 DOI: 10.1172/JCI29255]
- 30 Buhner S, Li Q, Vignali S, Barbara G, De Giorgio R, Stanghellini V, Cremon C, Zeller F, Langer R, Daniel H, Michel K, Schemann M. Activation of human enteric neurons by supernatants of colonic biopsy specimens from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2009; 137: 1425-1434 [PMID: 19596012 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.07.005]

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》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)

IL-10和IL-17在慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化以及肝硬化合并腹腔感染中的研究进展

何文敏, 苏毅

何文敏, 苏毅, 遵义医学院附属医院感染科 贵州省遵义市 563000

何文敏, 遵义医学院附属医院感染科研究生, 主要从事慢性乙型肝炎及肝硬化的诊治。

贵州省遵义市科技计划基金资助项目, No. 遵市科合社字(2011)32

作者贡献分布: 本文综述由何文敏完成; 苏毅审校。

通讯作者: 苏毅, 教授, 主任医师, 563000, 贵州省遵义市大连路149号, 遵义医学院附属医院感染科. suyizmc@yahoo.com.cn
电话: 0852-8608070

收稿日期: 2013-11-01 修回日期: 2013-12-03

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

Progress in research of IL-10 and IL-17 in chronic hepatitis B, hepatitis B virus-related liver cirrhosis and cirrhosis with abdominal infection

Wen-Min He, Yi Su

Wen-Min He, Yi Su, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Supported by: the Science and Technology Plan Funded Projects of Zunyi, Guizhou Province, No. 2011-32

Correspondence to: Yi Su, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Zunyi563000, Guizhou Province, China. suyizmc@yahoo.com.cn

Received: 2013-11-01 Revised: 2013-12-03

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

Abstract

Hepatitis B is a global contagious disease, posing a serious threat to human health. However, its pathogenic mechanisms and how it ultimately leads to the formation of cirrhosis are not fully understood. Elucidating the progression of hepatitis B and the mechanism responsible for liver cirrhosis formation can help develop novel antiviral treatment and anti-fibrosis therapy. In recent years, great progress has been made in understanding the pathogenesis of chronic hepatitis and liver cirrhosis and their treatment. Cytokines have become a research hotspot in this field. Emerging evidence suggests that a variety of cytokines in the liver

have a quite significant role in the progressive process of HBV. Cytokines mainly mediate cell-cell interactions in paracrine, feedback or other manners to participate in the pathogenesis of chronic hepatitis B, cirrhosis and cirrhosis with infection. In recent years, many studies suggest that serum interleukin-10 (IL-10) and IL-17 levels are correlated with the development and prognosis of chronic hepatitis B, liver cirrhosis and cirrhosis with infection. In this paper, we review the progress in research of IL-10 and IL-17 in chronic hepatitis B, liver cirrhosis and cirrhosis with infection.

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

Key Words: Hepatitis B; Live cirrhosis; Infection; Cytokines; Interleukin 10; Interleukin 17

He WM, Su Y. Progress in research of IL-10 and IL-17 in chronic hepatitis B, hepatitis B virus-related liver cirrhosis and cirrhosis with abdominal infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 333-339 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/333.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.333>

摘要

乙型肝炎是全球性的传染性疾病, 严重威胁着人类健康。但其致病机制及最终形成肝硬化的机制尚不完全清楚。阐明乙型肝炎病情进展及肝硬化形成的机制成为抗病毒及抗纤维化治疗的重要依据之一。近年来慢性乙型肝炎及肝硬化的发生机制及治疗取得了很大进展, 细胞因子成为研究的热点。新出现的证据表明肝内多种细胞因子在乙型肝炎的进行性发展过程中有很重要的作用, 细胞因子多通过旁分泌形式介导细胞-细胞相互作用或通过反馈作用自身等形式参与慢性乙型肝炎、肝硬化以及肝硬化合并感染的过程。近年来诸多研究认为血清白介素-10(interleukin 10, IL-10)和IL-17水平的高低与慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化及肝硬化合并感染的发生发展及预后有关, 本文就IL-10和IL-17对于慢性乙型肝炎、乙型

■背景资料

慢性乙型肝炎是全球性的传染性疾病, 严重威胁着人类健康。但其致病机制及最终形成肝硬化的机制尚不完全清楚。肝内多种细胞因子如白介素-10(interleukin 10, IL-10)和IL-17分别代表抗炎因子与促炎因子在乙型肝炎的进行性发展过程中被认为有很重要作用。

■同行评议者

白浪, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心

■ 研发前沿

目前主要认为慢性乙型肝炎的发病机制主要与机体对乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)免疫耐受有关,随着病情发展,肝脏的抗炎和促炎反应失衡,最终导致肝硬化甚至肝硬化合并腹腔感染。

肝炎肝硬化及肝硬化合并感染目前的研究情况进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 慢性乙型肝炎; 肝硬化; 感染; 细胞因子; 白介素-10; 白介素-17

核心提示: 在慢性乙型肝炎的发生及发展中,白介素-10(interleukin-10, IL-10)抑制树突状细胞(dendritic cell, DC)的分化成熟导致乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染慢性化。IL-10抑制炎症因子的分泌减轻肝损伤,但是不利于机体对病毒的清除。而IL-17介导感染HBV后的抗病毒反应,但是会造成严重的肝功能异常,病情加重。

何文敏, 苏毅. IL-10和IL-17在慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化以及肝硬化合并腹腔感染中的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 333-339 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/333.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.333>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是全球性的公共卫生问题,也是我国最常见的传染性疾 病之一,严重危害人民健康。根据2006年全国乙型肝炎流行病学调查结果,我国1-59岁一般人群中HBsAg携带率为7.18%^[1],处于乙型肝炎的中发区。感染HBV时的年龄是导致临床转归各异的最主要因素。我国HBV感染多发生在胎儿期或婴幼儿时期,大多数为母婴传播,由于其免疫系统不成熟,80%发展成为慢性无症状携带者(chronic asymptomatic carriers, AsC);儿童感染HBV后多表现为亚临床和轻度慢性乙型肝炎;青少年及成人感染HBV则大部分能够自动痊愈并产生抗体,呈一过性急性肝炎经过。

乙型肝炎肝硬化是慢性乙型肝炎发展过程中的重要阶段,一般认为,乙型肝炎肝硬化的形成主要与肝脏Kupffer细胞和肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)有关。Kupffer细胞是定居于肝血窦的单核巨噬细胞,参与机体的固有免疫反应。激活的Kupffer细胞在清除HBV病毒和产生细胞因子导致肝损伤的同时,分泌促纤维生成因子参与肝硬化的始动环节。当肝脏受到炎症损伤时,位于肝细胞和肝血窦内皮细胞间隙的肝星状细胞被激活^[2],从而合成大量细胞外基质^[3],促进肝硬化的发生发展。无论是Kupffer细胞还是肝星状细胞,他们通过不同的激活途径最后合成同一种物质,即转化生长因子 β 1(transforming

growth factor β 1, TGF- β 1)。TGF- β 1在肝硬化的发生机制中至关重要^[4,5]。TGF- β 1既能进一步激活HSC及单核细胞、血小板的旁分泌使TGF- β 1持续增高,形成TGF- β 1和HSC的正反馈,又能抑制肝细胞炎症反应,刺激大量细胞外基质合成并抑制其降解,成为介导肝硬化的启动因子。肝脏发生炎症应答的同时,体内多种细胞因子如白介素家族也分泌活跃,大量产生的抗炎促炎因子,在与TGF- β 1的共同作用下,促进了肝硬化的进行性发展。肝硬化合并感染以自发性细菌性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)最多见,是肝硬化失代偿期患者最常见的并发症之一。其原因可能与肝硬化时门静脉压力增高、肠道细菌移位及入侵、机体免疫功能减弱等有关,以致引起菌血症及腹腔感染。但其具体发生机制尚不完全清楚。最近,两种新的细胞因子白介素-10(interleukin-10, IL-10)和IL-17被广泛关注,IL-10作为一种抗炎因子,在减轻炎症应答的同时可能引起感染慢性化,与之相反,IL-17是Th17细胞产生的炎症因子,与体内各种炎症的发生发展密切相关。现就这两种细胞因子与慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化及肝硬化合并腹腔感染的研究现状作一综述。

1 IL-10的来源及生物学作用

IL-10属于调节性T细胞亚群分泌的细胞因子^[5],主要由Th2细胞分泌。肥大细胞、巨噬细胞、树突状细胞、NK细胞等固有免疫细胞以及CD8⁺T细胞、B细胞等适应性免疫细胞均可分泌IL-10^[6]。肝内IL-10主要来自巨噬细胞、T细胞和Kupffer细胞。

IL-10最初被定义为细胞因子合成抑制因子(cytokine synthesis inhibiting factor, CSIF)^[7],他通过与细胞膜上的特异性受体结合从而发挥生物学活性。IL-10能够促进B细胞增殖分化和IgE类抗体生成,介导体液免疫反应。IL-10能够激活肥大细胞和嗜酸性粒细胞,并促进他们增殖分化,参与速发型超敏反应。IL-10除了能够介导机体免疫反应外,其主要的生物学活性是免疫抑制作用。作为一种重要的抗炎因子,IL-10对T细胞、单核细胞、巨噬细胞以及中性粒细胞都有着免疫抑制作用。具体表现在以下几个方面:(1)抑制抗原特异性T细胞的激活从而抑制白细胞募集反应;(2)抑制Th1细胞分泌细胞因子及相关功能;(3)抑制单核细胞NO、细胞毒性T细胞(cytotoxic T cells, CTL)分化因子及其他共刺激

分子的产生; (4)抑制多种炎症细胞因子, 主要有干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、IL-2和粒细胞-单核细胞集落刺激因子(granulocyte-monocyte colony stimulating factor, GM-CSF)的产生. 通过以上途径, IL-10抑制机体细胞免疫反应. 此外, IL-10还可以抑制NK细胞的活性^[8], 调节固有免疫反应, 从而对急慢性炎症都有一定程度的控制作用. 近年来, 很多研究发现, IL-10在自身免疫性疾病、败血症^[9]、器官移植、心血管疾病、肿瘤等疾病中表达增高, 表明IL-10在这些疾病中也起着重要的作用.

2 IL-10的免疫耐受机制

IL-10属于Th2细胞因子, 在炎症过程中起着负性免疫调控作用^[10,11]. 而促使乙型肝炎感染慢性化的主要原因, 则是IL-10拥有使机体耐受某些病原体的能力. IL-10诱导机体免疫耐受, 主要是通过抑制树突状细胞(dendritic cell, DC)的功能来实现的^[12,13]. DC细胞膜表面存在大量的主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) II类分子、共刺激分子和黏附分子, 摄取抗原并将抗原肽-MHC II类分子复合物呈递给初始T细胞, 激活初始T细胞并促进其增殖. DC是目前发现的抗原提呈功能最强的一类抗原提呈细胞(antigen presenting cells, APC). 同时, DC还是特异性免疫应答的主要诱导细胞和始动者, 是决定免疫细胞是活化还是耐受状态的关键因素^[14]. DC通过参与胸腺细胞的阴性选择介导T细胞的中枢耐受. 未成熟DC主要诱导机体的外周耐受. 有研究证明, IL-10可以抑制DC的成熟^[15], IL-10能作用于DC成熟过程的早期阶段, 抑制多种刺激分子或炎性信号(如TNF、IL-1)的表达, 影响DC的成熟分化, 这种抑制作用的大小与IL-10的剂量成正比^[16]. 经IL-10处理后的DC进入外周淋巴组织后, 不能产生足够的信号刺激T细胞活化, 这些DC虽然携带自身抗原, 由于不表达共刺激分子, 反而促使T细胞无反应, 引起自身耐受. 另外, 未成熟DC诱导的无能状态的T细胞表面的细胞毒T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)分子表达增加, 在体外通过细胞接触的方式抑制其他抗原特异性T细胞的增殖^[16]. 不仅如此, 未成熟DC和抑制性DC亚群还可以通过诱导调节性T细胞来清除参与免疫应答的T细胞, 或者直接分泌IL-10、TGF- β 等因子下调参与免疫应答的T

细胞, 达到形成和维持外周耐受的目的.

有研究表明, 刺激DC高度表达免疫抑制性受体, 降低免疫活化受体, 从而使DC表面正负性刺激信号的平衡改变也可能是IL-10诱导免疫耐受的分子机制之一^[14]. 此外, IL-10可以通过抑制活化的T细胞后分泌IL-12、TNF- α 、IFN- γ , 从而抑制迟发型变态反应^[17], 诱导外周免疫耐受. 还有研究表明, IL-10可以协同NKT细胞诱导免疫耐受^[18-21], 其具体机制尚不清楚.

3 IL-17的分泌及免疫学作用

IL-17是一种重要的促炎症细胞因子^[22,23], 由效应性T细胞亚群即激活的CD4⁺记忆T细胞产生, 主要由Th17细胞分泌, 也可以由CD8⁺ T细胞、 $\gamma\delta$ T的细胞、自然杀伤T细胞、中性粒细胞和嗜酸粒细胞等产生^[24]. IL-17的免疫学作用主要是通过与其受体结合来实现的, IL-17受体广泛分布于机体各种细胞表面. 当机体受到外界抗原刺激时, TGF- β 和IL-6诱导未致敏的Th0细胞向Th17细胞分化^[25,26], 在此基础上, IL-23促进Th17细胞分泌IL-17, IL-17与受体结合后, 可刺激成纤维细胞表达人成纤维母细胞黏附分子ICAM-1, 促进细胞间黏附, 进行信号传递; IL-17能够强烈激活基质细胞产生IL-6、IL-8等炎症细胞因子, 诱导表皮细胞和内皮细胞等细胞分泌中性粒细胞趋化因子^[27], 促进中性粒细胞的趋化和激活; 同时, IL-17可诱导B细胞活化, 并促进T细胞增殖, 从而介导机体的特异性免疫反应; IL-17可以刺激成纤维细胞分泌GM-CSF, 促使骨髓的髓系前体产生巨噬细胞、粒细胞和DC, 进一步促进机体免疫应答的发生发展.

在上述过程中, IL-17最大的特点是能够被炎性因子诱导产生, 而后促进更多炎性因子的分泌增强, 这些因子作为激动剂再一次作用于IL-17, 更加扩大其活性, 构成了IL-17活化的正反馈调节. IL-23作为同样重要的促炎因子, 是诱导IL-17分泌的关键细胞因素^[28], 在缺乏IL-23的小鼠体内, Th17细胞几乎不能被发现. 这是因为Th17细胞的产生虽然不是由IL-23决定, 但是没有IL-23, Th17细胞几乎不能存活及进一步被刺激增加^[29]. 另外, IL-17能够刺激髓系树突状细胞的分化成熟, 还可诱导TNF- α 、膜辅蛋白(membrane cofactor protein, MCP)-1, 诱导型NO合酶(inducible NO synthase, iNOS), 白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)和前列腺素E2等的释放, 这些因子在炎性反应、免疫应答和

■ 相关报道

近年来大量研究报道关于IL-10和IL-17在HBV感染后分别在不同病程与健康对照组的血清水平变化, 均无一例外的表明分别作为抗炎因子和促炎因子的它们与慢性乙型肝炎的发病机制密切相关.

■创新盘点

本文通过对IL-10、IL-17这两种细胞因子与慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化和肝硬化合并腹腔感染这3个重要病程相关的发病机制做一个全面系统并具有连续性的综述,便于对比参照。

造血分化中具有重要的作用^[30]。研究发现, IL-17与炎性反应性肠病、银屑病、慢性阻塞性肺病^[31]、炎症性皮肤病、自身免疫病、哮喘等多种疾病关系密切。

4 IL-17的肝损伤机制

HBV感染后的肝损伤是指由机体抗病毒反应所导致的, 以大量炎性细胞浸润、肝实质细胞变性坏死为特征的肝细胞免疫性损伤。作为一种强致炎因子, IL-17与HBV感染后的肝脏炎性损伤有着密切关系, 大部分的乙型肝炎患者肝内IL-17水平与血清谷丙转氨酶和病毒载量呈正相关^[32]。正常情况下, 肝脏的抗炎和促炎反应处于平衡状态。HBV感染人体后, 引发机体产生强烈的免疫应答。IL-17主要通过以下途径导致肝损伤: IL-17激活多种促炎因子的表达, 促进中性粒细胞募集反应, 肝脏局部炎症细胞浸润导致肝炎性损伤; IL-17诱导基质金属蛋白酶的产生, 促使组织细胞通透性增加, 导致肝细胞炎性损伤甚至裂解死亡; IL-17激活NKT细胞通过细胞毒作用直接杀伤被HBV感染的肝实质细胞, 造成肝损伤^[33]; IL-17在肝脏抗病毒反应早期升高, 在炎症过程中诱导细胞因子链下游B淋巴细胞刺激因子等细胞因子的大量产生, 是肝损伤的直接原因^[34]。

5 IL-10和IL-17在慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化及肝硬化合并感染中的作用

IL-10是一种强有力的免疫和炎症抑制因子, 同时也是导致慢性乙型肝炎的重要因素。王少扬等、Arnaud等及Wasmuth等^[35-37]认为IL-10的产生可能影响HBV感染者的临床转归, 高水平IL-10不利于HBV的清除, 可能与HBV感染慢性化有关。张磊等^[38]通过对慢性乙型肝炎及乙型肝炎肝硬化患者外周血CD4⁺ CD25⁺ Treg细胞的检测, 发现其水平均高于健康对照组, 而慢性乙型肝炎组与肝硬化组无明显统计学差异, 而CD4⁺ CD25⁺ Treg细胞能产生IL-10, 从而可以推测IL-10与HBV慢性感染有着密切关系。这与许文龙等^[39]的研究结果一致。Li等^[40]研究发现在慢性乙型肝炎患者中, HBcAg在介导Th17细胞参与免疫应答的同时刺激IL-10的分泌, 他们还发现IL-10通过下调维甲酸相关核孤儿受体 γ t(retinoid-related orphan nuclear receptor γ t, ROR γ t)抑制HBsAg特异性Th17细胞的发展, 并且, IL-10作用于未成熟的DC从而诱导T细胞无

能, 减弱了细胞免疫对病毒的清除作用, 这可能是HBV感染慢性化的主要途径。然而, 从另一方面来说, Erhardt等^[41]认为IL-10作为诱导慢性肝炎免疫耐受的核心因子, 对免疫炎症性肝损伤拥有潜在的治疗价值。

相反的, IL-17作为一种促炎因子, 与慢性乙型肝炎的炎症反应都关系密切。季伟等^[42]研究发现IL-17在慢性乙型肝炎及肝硬化患者的表达是增高的, 并且其血清水平与乙型肝炎的严重程度密切相关, 提示IL-17参与了慢性乙型肝炎患者肝脏炎症的发生。同样的, 任劲松等^[43]通过检测慢性乙型肝炎患者外周血IL-17水平, 认为IL-17与慢性乙型肝炎的发病有关, 并且, IL-17的血清浓度与肝损伤程度呈正相关。赵雨等^[44]也认为Th17细胞与慢性乙型肝炎的发病机制密切相关。宋春辉等^[45]认为Th17细胞反应下降导致IL-17分泌减少, 在一定程度上可能下调肝脏炎症反应, 但机体的抗病毒反应也可能同时减弱; 当体液免疫应答低下, IL-10等抗炎因子生成减少, 不能产生足够的抗体中和病毒, 从而可能无法抑制肝脏受到炎性损伤。如何找到一个平衡点, 使得肝组织有足够浓度的促炎因子介导抗病毒反应的同时, 对肝脏不造成炎性损伤, 仍需要大量的临床研究进行探讨。

当慢性肝病发展到肝硬化阶段, IL-10与其他炎性因子在促进肝纤维化和肝细胞的炎性损伤也起到重要作用。李晨等^[46]发现在肝硬化患者尤其是失代偿期肝硬化患者外周血IL-10水平明显高于健康对照组, 并且肝硬化病情越严重, 这种增高越明显。提示IL-10参与了肝纤维化的发生发展。孙彤等^[47]研究表明内源性IL-10可以减少炎性细胞与肝窦内皮细胞的黏附及限制局部炎症因子的活性, 从而降低HBV感染对肝脏引起的损害, 对肝脏有一定的保护作用。田小平等^[48]认为IL-6、IL-18、IL-10可以作为辅助诊断肝硬化的指标, 抑制IL-6和IL-18的活性并加强IL-10的作用, 可能能够有效防止慢性乙型肝炎肝硬化。卢林等^[49]实验验证IL-10水平的进行性升高可能诱导单核细胞免疫缺陷, 从而促使患者预后不良。

杜文军等^[50]发现IL-17血清水平在肝硬化组较慢性乙型肝炎组显著升高, 差异有统计学意义, 认为IL-17在肝纤维化的发生发展中具有重要作用。Sparna等和Qin等^[51,52]发现在肝硬化患者外周血IL-17水平与透明质酸、层黏连蛋白、III型胶原等肝纤维化指标呈正相关, 提示IL-17

可能参与了肝纤维化的发病机制. 陈晓黎等和Chen等^[53,54]认为IL-17参与了肝硬化的发生, 且其水平越高, 肝硬化及肝损伤越严重. 陈捷等^[55]通过检测慢性乙型肝炎患者外周血IL-17、IL-10的水平, 分析其与相应肝功能指标及HBV DNA的关系, 认为IL-17可用来预测肝硬化的进展程度. Du等^[56]也认为IL-17水平随着肝硬化的严重程度呈上升趋势, 推测IL-17可能促进肝星状细胞和成纤维细胞增殖, 从而决定肝脏的纤维化程度, 但其具体机制还需进一步调查.

SBP是肝硬化失代偿期最常见的感染, Rodríguez-Ramos等^[57]发现肝硬化合并SBP时腹水IL-10和IL-18水平高于血清, 这可能与SBP发生时腹水中含有大量中性粒细胞促使的炎症反应及抗炎反应有关, 同时提示IL-10参与了SBP的发生机制. 杜兰霞等^[58]通过对肝硬化腹水合并SBP组与不合并SBP组比较后发现, SBP组腹水IL-10水平低于不合并SBP组, 而炎症因子IL-18则高于不合并SBP组, 表明了SBP中抗炎因子处于弱势, 这可能是导致SBP发生的重要原因. 从上可以得出, SBP并发症的发生是一种机体免疫反应与抑制炎症反应不平衡的表现, IL-10在这一炎症与抗炎过程中起着核心作用. 相对而言, IL-17与SBP之间的关系国内外文献鲜有报道, 大部分研究^[59-61]指出IL-6是SBP发病机制中占主导地位的炎症因子. 由于IL-6可在IL-17的作用下被激活, 并可刺激IL-17的产生, 我们可以设想IL-17在SBP中也可能起到一定的作用, 但其具体意义还需通过研究进一步证实.

6 结论

IL-10和IL-17在慢性乙型肝炎的进行性发展中起着重要作用. IL-10通过抑制DC的分化成熟, 促使免疫反应信号传导通路中断, 从而介导机体的免疫耐受, 导致HBV感染慢性化. 同时, IL-10通过直接抑制多种免疫细胞的活性, 减少炎症因子的分泌, 从而降低肝脏的炎症反应, 减轻肝损伤, 这种抗炎作用贯穿于乙型肝炎后肝硬化及肝硬化合并腹腔感染的整个过程中, 但是这不利于机体对病毒的清除. 而IL-17介导机体感染HBV后的抗病毒反应, 无论是慢性乙型肝炎、乙型肝炎后肝硬化, 还是肝硬化合并腹腔感染过程中, 都通过对一系列炎症因子的激活, 对HBV有强大的杀灭作用, 但是会造成严重的肝细胞坏死, 肝功能下降, 病情加重. 目前, 慢性乙型肝炎的致病机制仍未完全阐明, 临床早

期诊断慢性乙型肝炎并及时抗病毒对阻止肝纤维化的发生及发展具有重要意义. 急慢性肝炎的发病与机体炎性反应和抗炎反应的失衡有关. 越来越多证据表明, 对于IL-10和IL-17的作用机制的研究可能有助于慢性乙型肝炎相关病程的治疗新方案的提出. 然而在IL-10和IL-17被作为新的干预靶点治疗慢性乙型肝炎及肝硬化之前, 还有很多IL-10和IL-17在肝脏中牵涉的其他作用有待进一步的研究, 从而为慢性乙型肝炎的防治和优化治疗提供更加全面的理论依据.

7 参考文献

- 1 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中国临床医生 2012; 40: 66-78
- 2 Mannaerts I, Nuytten NR, Rogiers V, Vanderkerken K, van Grunsven LA, Geerts A. Chronic administration of valproic acid inhibits activation of mouse hepatic stellate cells in vitro and in vivo. *Hepatology* 2010; 51: 603-614 [PMID: 19957378 DOI: 10.1002/hep.23334]
- 3 Wells RG. Cellular sources of extracellular matrix in hepatic fibrosis. *Clin Liver Dis* 2008; 12: 759-68, viii [PMID: 18984465 DOI: 10.1016/j.cld.2008.07.008]
- 4 Li H, Zheng HW, Chen H, Xing ZZ, You H, Cong M, Jia JD. Hepatitis B virus particles preferably induce Kupffer cells to produce TGF- β 1 over pro-inflammatory cytokines. *Dig Liver Dis* 2012; 44: 328-333 [PMID: 22177317 DOI: 10.1016/j.dld.2011.11.005]
- 5 Alatrakchi N, Koziel M. Regulatory T cells and viral liver disease. *J Viral Hepat* 2009; 16: 223-229 [PMID: 19222744 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2009.01081.x]
- 6 郭锦锦, 孙万邦. IL-10受体及其信号转导研究进展. 临床医学工程 2010; 19: 135-137
- 7 Sabat R, Grütz G, Warszawska K, Kirsch S, Witte E, Wolk K, Geginat J. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21: 331-344 [PMID: 21115385 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2010.09.002]
- 8 Naundorf S, Schröder M, Höflich C, Suman N, Volk HD, Grütz G. IL-10 interferes directly with TCR-induced IFN-gamma but not IL-17 production in memory T cells. *Eur J Immunol* 2009; 39: 1066-1077 [PMID: 19266486 DOI: 10.1002/eji.200838773]
- 9 Kasten KR, Muenzer JT, Caldwell CC. Neutrophils are significant producers of IL-10 during sepsis. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 393: 28-31 [PMID: 20097159 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.01.066]
- 10 黄英, 文剑, 王清波, 顾小军. 肝细胞肝癌患者血清IL-18、IL-10变化的分析. 江苏医药 2012; 38: 1516-1518
- 11 Zeng L, O'Connor C, Zhang J, Kaplan AM, Cohen DA. IL-10 promotes resistance to apoptosis and metastatic potential in lung tumor cell lines. *Cytokine* 2010; 49: 294-302 [PMID: 20034810 DOI: 10.1016/j.cyto.2009.11.015]
- 12 Racanelli V, Rehermann B. The liver as an immunological organ. *Hepatology* 2006; 43: S54-S62 [PMID: 16447271 DOI: 10.1002/hep.21060]
- 13 Jarnicki AG, Lysaght J, Todryk S, Mills KH. Suppression of antitumor immunity by IL-10 and TGF- β -producing T cells infiltrating the growing tumor: influence of tumor environment on the

■应用要点

通过本文可较全面的了解IL-10和IL-17在慢性乙型肝炎的发生及发展中的作用机制, 有助于慢性乙型肝炎相关病程的治疗新方案提出.

■同行评价

本文引用了近年来本领域的较新的一些文献,书写规范,体现了本领域内近年来的最新进展,对本领域的科研工作,尤其是结合临床的科研工作有很好的提示意义,值得临床医生学习。

- induction of CD4+ and CD8+ regulatory T cells. *J Immunol* 2006; 177: 896-904 [PMID: 16818744]
- 14 刘峥嵘,张敏,黎纬明,周浩,邹萍. IL-10诱导小鼠树突状细胞耐受的分子机制. *中国病理生理杂志* 2008; 24: 374-378
 - 15 Sato K, Yamashita N, Baba M, Matsuyama T. Modified myeloid dendritic cells act as regulatory dendritic cells to induce anergic and regulatory T cells. *Blood* 2003; 101: 3581-3589 [PMID: 12511411 DOI: 10.1182/blood-2002-09-2712]
 - 16 高苏俊,季晓辉. 树突状细胞研究新突破-诱导免疫耐受. *医学综述* 2006; 12: 905-907
 - 17 方航荣,邱明链,刘景辛,陈丽红,黄爱民. IL-10基因修饰的树突状细胞诱导大鼠肝移植免疫耐受的实验研究. *实用医学杂志* 2012; 28: 2705-2708
 - 18 王涛涛,王伟刚,王钢,周洪澜,高宝山,安伟. NKT细胞通过IL-10参与诱导小鼠心脏移植免疫耐受. *中国实验诊断学* 2011; 16: 1373-1375
 - 19 Oh K, Kim S, Park SH, Gu H, Roopenian D, Chung DH, Kim YS, Lee DS. Direct regulatory role of NKT cells in allogeneic graft survival is dependent on the quantitative strength of antigenicity. *J Immunol* 2005; 174: 2030-2036 [PMID: 15699132]
 - 20 Jiang X, Kojo S, Harada M, Ohkohchi N, Taniguchi M, Seino KI. Mechanism of NKT cell-mediated transplant tolerance. *Am J Transplant* 2007; 7: 1482-1490 [PMID: 17511678 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2007.01827.x]
 - 21 Haeryfar SM, Lan Z, Leon-Ponte M, Duffy KR, Ge W, Liu W, Mele T, Garcia B, Wang H. Prolongation of cardiac allograft survival by rapamycin and the invariant natural killer T cell glycolipid agonist OCH. *Transplantation* 2008; 86: 460-468 [PMID: 18698251 DOI: 10.1097/TP.0b013e3181806b72]
 - 22 Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, Nambu A, Ishigame H, Kakuta S, Sudo K, Iwakura Y. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2006; 177: 566-573 [PMID: 16785554]
 - 23 Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med* 2009; 361: 888-898 [PMID: 19710487 DOI: 10.1056/NEJMra0707449]
 - 24 林芳,王慧芬. Th17细胞相关细胞因子的研究进展. *医学综述* 2009; 15: 1000-1003
 - 25 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]
 - 26 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]
 - 27 汪美华,章幼奕,吴月平,邹美银,陈琳,朱勇根,沈娟,李雪梅,黄松平. 乙型肝炎肝硬化患者血清中Th17相关细胞因子表达的临床意义. *中华病毒学杂志* 2012; 2: 211-215
 - 28 Xia L, Tian D, Huang W, Zhu H, Wang J, Zhang Y, Hu H, Nie Y, Fan D, Wu K. Upregulation of IL-23 expression in patients with chronic hepatitis B is mediated by the HBx/ERK/NF-kB pathway. *J Immunol* 2012; 188: 753-764 [PMID: 22174449 DOI: 10.4049/jimmunol.1101652]
 - 29 Harrington LE, Mangan PR, Weaver CT. Expanding the effector CD4 T-cell repertoire: the Th17 lineage. *Curr Opin Immunol* 2006; 18: 349-356 [PMID: 16616472 DOI: 10.1016/j.coi.2006.03.017]
 - 30 孙创斌,胡晋红,朱全刚,刘继勇,刘艳霞. 药物作用新靶点: 白细胞介素17及其受体. *国际药学研究杂志* 2008; 35: 169-172
 - 31 陈颖,陈曲波. Th17细胞在炎症疾病中的作用. *国际检验医学杂志* 2009; 30: 1176-1180
 - 32 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]
 - 33 屠毅,张立煌. NKT细胞在病毒性肝炎中的作用. *国外医学·流行病学传染病学分册* 2005; 32: 211-214
 - 34 彭辉,陈维贤,陈敏. IL-17与B淋巴细胞刺激因子在原发性胆汁性肝硬化患者中的表达及临床意义. *临床检验杂志* 2011; 29: 254-256
 - 35 王少扬,孙顺来,郑青,马卫闯,刘海周. IL-10启动子多态性对慢性HBV感染者病情发展的关联性. *现代免疫学* 2010; 30: 342-345
 - 36 Arnaud V, Li J, Wang Y, Fu X, Mengzhi S, Luo X, Hou X, Dessein H, Jie Z, Xin-Ling Y, He H, McManus DP, Li Y, Dessein A. Regulatory role of interleukin-10 and interferon-gamma in severe hepatic central and peripheral fibrosis in humans infected with *Schistosoma japonicum*. *J Infect Dis* 2008; 198: 418-426 [PMID: 18582197 DOI: 10.1086/588826]
 - 37 Wasmuth HE, Kunz D, Yagmur E, Timmer-Stranghoner A, Vidacek D, Siewert E, Bach J, Geier A, Purucker EA, Gressner AM, Matern S, Lammert F. Patients with acute on chronic liver failure display "sepsis-like" immune paralysis. *J Hepatol* 2005; 42: 195-201 [PMID: 15664244 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.10.019]
 - 38 张磊,谷甸娜,陈永平,郑明华. 慢性乙型肝炎患者、乙型肝炎肝硬化患者外周血CD4 CD25调节性T细胞的水平及意义. *医学研究杂志* 2011; 40: 50-55
 - 39 许文龙,张国祥,王红旗. 慢性乙型肝炎患者外周血IL-1β、mIL-2R、IL-10的检测及意义. *中华医院感染学杂志* 2009; 19: 742-744
 - 40 Li J, Wu W, Peng G, Chen F, Bai M, Zheng M, Chen Z. HBcAg induces interleukin-10 production, inhibiting HBcAg-specific Th17 responses in chronic hepatitis B patients. *Immunol Cell Biol* 2010; 88: 834-841 [PMID: 20498672 DOI: 10.1038/icc.2010.63]
 - 41 Erhardt A, Biburger M, Papadopoulos T, Tiegs G. IL-10, regulatory T cells, and Kupffer cells mediate tolerance in concanavalin A-induced liver injury in mice. *Hepatology* 2007; 45: 475-485 [PMID: 17256743 DOI: 10.1002/hep.21498]
 - 42 季伟,王惠芬,冯传前,鞠连才,赵敏,貌盼勇. 慢性乙型肝炎患者血清及外周血单个核细胞培养上清白细胞介素-10的检测及临床意义. *中华传染病杂志* 1999; 7: 211-213
 - 43 任劲松,潘修成,李丽,冯霞,薄娟娟,辛杰晶,陈朋. 慢性乙型肝炎患者外周血Th17细胞和IL-17检测及其临床意义. *中华临床医师杂志(电子版)* 2011; 5: 4264-4267
 - 44 赵丽,王绮夏,邱德凯,沈镭,彭延申,陈晓宇,马雄. Th17细胞相关因子在慢性乙型肝炎肝组织中的表达. *胃肠病学* 2010; 15: 326-329
 - 45 宋春辉,张纪元,石峰,王玉,陈黎明,王福生. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎患者免疫功能变化的研究. *国际流行病学传染病学杂志* 2011; 38: 82-86

- 46 李晨, 邢少军, 段学章, 胡瑾华, 柳芳芳, 王慧芬, 万谟彬. 乙型肝炎肝硬化患者外周血调节性T细胞频率及血清IL-1 β 、IL-6和IL-10水平的变化. 实用肝脏病杂志 2012; 15: 244-246
- 47 孙彤, 陈凯红, 裴豪, 胡敏涛. 康艾注射液对代偿期肝硬化患者多种细胞因子的影响. 中西医结合肝病杂志 2012; 22: 210-214
- 48 田小平, 朱崇尧. 慢性乙型肝炎患者血清IL-6、IL-10、IL-18水平与HA、PC1浓度相关性的研究. 淮海医药 2004; 22: 87-89
- 49 卢林, 曾令伟, 秦波, 兰淑青. 重型肝炎患者外周血3项水平变化及临床意义. 检验医学与临床 2012; 9: 2667-2670
- 50 杜文军, 陈士俊, 邢直直, 秦来英. IL-17在慢性乙型肝炎患者血清中的表达及其与肝炎肝硬化的相关性研究. 中国肝脏病杂志 2008; 1: 28-30
- 51 Sparna T, Rétey J, Schmich K, Albrecht U, Naumann K, Gretz N, Fischer HP, Bode JG, Merfort I. Genome-wide comparison between IL-17 and combined TNF-alpha/IL-17 induced genes in primary murine hepatocytes. *BMC Genomics* 2010; 11: 226 [PMID: 20374638 DOI: 10.1186/1471-2164-11-226]
- 52 Qin LY, DU WJ, Liu KH, Wang C, Chen SJ. [Research on the relationship of intrahepatic expression of IL-17 and liver cirrhosis in chronic hepatitis B patients]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2009; 17: 221-222 [PMID: 19335988]
- 53 陈晓黎, 吴玮, 侯青顺, 刘富会. T细胞亚群及IL-17与慢性HBV感染结局的关系. 中国医疗前沿 2012; 7: 1-2
- 54 Chen H, Zhang D, Wang S, Wang X, Yang C. Significance of correlation between interferon- γ and soluble intercellular adhesion molecule-1 and interleukin-17 in hepatitis B virus-related cirrhosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: 608-613 [PMID: 23796976 DOI: 10.1016/j.clinre.2013.05.010]
- 55 陈捷, 王兰兰, 付阳, 罗俐梅, 廖云, 李思闯, 蔡蓓, 李壹. IL-17、IL-23、TGF- β 和IL-10在乙型肝炎病毒感染中的表达分析. 免疫学杂志 2012; 28: 231-236
- 56 Du WJ, Zhen JH, Zeng ZQ, Zheng ZM, Xu Y, Qin LY, Chen SJ. Expression of interleukin-17 associated with disease progression and liver fibrosis with hepatitis B virus infection: IL-17 in HBV infection. *Diagn Pathol* 2013; 8: 40 [PMID: 23448394 DOI: 10.1186/1746-1596-8-40]
- 57 Rodríguez-Ramos C, Galan F, Díaz F, Elvira J, Martín-Herrera L, Girón-González JA. Expression of proinflammatory cytokines and their inhibitors during the course of spontaneous bacterial peritonitis. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 1668-1676 [PMID: 11508666 DOI: 10.1023/A:1010645302750]
- 58 杜兰霞, 褚燕君, 贾百灵, 陈香宇. IL-10、IL-18和内毒素在肝硬化患者自发性细菌性腹膜炎中的作用. 世界华人消化杂志 2011; 19: 850-854
- 59 张崑, 张世兰, 王海滨. 肝硬化腹水患者血浆降钙素原与TNF- α 和IL-6临床价值比较. 中华传染病杂志 2003; 21: 47-49
- 60 张莉, 浦俭斌, 王晓春, 唐晶, 杨根妹. 肝炎肝硬化合并自发性细菌性腹膜炎患者TNF- α 和IL-6检测的临床意义. 山东医药 2011; 51: 93-95
- 61 观晓辉. 内毒素、一氧化氮、白细胞介素-6在肝硬化并原发性腹膜炎中的临床意义. 国际医药卫生导报 2005; 11: 14-15

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



肠道微生物在非酒精性脂肪性肝病发病中的作用

卢伟娜, 冯丽英

■背景资料

伴随着全球范围内肥胖以及与胰岛素抵抗相关疾病的不断增加, 非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)成为越来越严重的慢性肝病, 其发病机制目前尚未完全明确, 并且尚无有效治疗。

卢伟娜, 冯丽英, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000

卢伟娜, 主要从事非酒精性脂肪性肝病的研究。

作者贡献分布: 卢伟娜与冯丽英对此文贡献均等; 本综述写作由卢伟娜完成; 冯丽英负责审核与修改。

通讯作者: 冯丽英, 教授, 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. hysfly888@163.com
电话: 0311-66002951

收稿日期: 2013-05-27 修回日期: 2013-08-22

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-28

Role of gut microbiota in pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease

Wei-Na Lu, Li-Ying Feng

Wei-Na Lu, Li-Ying Feng, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Li-Ying Feng, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. hysfly888@163.com

Received: 2013-05-27 Revised: 2013-08-22

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-28

Abstract

A close anatomical and functional interplay exists between the gut and liver, named "gut-liver axis", which has been associated with the pathogenesis of some diseases. Intestinal bacteria play a key role in the maintenance of gut-liver axis health. Altered intestinal bacterial flora, increased intestinal permeability and gut-associated endotoxemia will damage the normal relationship between the liver and intestine, which in turn leads to a variety of liver disease. Thus, modulation of the gut microbiota may represent a new way to treat or prevent chronic liver disease. Studies have showed that gut microflora plays a significant role in the development of nonalcoholic fatty liver disease. This review summarizes the recent studies highlighting the role of the intestinal microflora in the development of NAFLD.

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

Key Words: Gut microbiota; Gut-liver axis; Nonalcoholic fatty liver disease; Probiotics

Lu WN, Feng LY. Role of gut microbiota in pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 340-344 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/340.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.340>

摘要

肝脏和肠道不仅解剖学上而且在生物学功能上存在密切联系, 即所谓“肠-肝轴”学说, 其对某些疾病的影响越来越受到关注, 其中肠道菌群在维持肠-肝轴的平衡方面起着重要作用。肠道菌群紊乱、肠道黏膜通透性改变、肠源性内毒素血症, 这将破坏肝脏与肠道之间的正常关系进而导致多种肝脏疾病的发生, 进而调整肠道微生物成为一种治疗或预防慢性肝病的新手段。有研究表明其在非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发生发展中起到了重要作用, 这里就肠道微生物对NAFLD的作用做一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肠道微生物; 肠-肝轴; 非酒精性脂肪性肝病; 益生菌

核心提示: 肠道菌群紊乱、小肠细菌过度生长、肠黏膜屏障受损、细菌移位所形成肠源性内毒素血症, 通过介导肝脏炎症反应, 促进非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease)的发生和发展。

卢伟娜, 冯丽英. 肠道微生物在非酒精性脂肪性肝病发病中的作用. *世界华人消化杂志* 2014; 22(3): 340-344 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/340.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.340>

0 引言

近年来, 随着生活方式及饮食结构改变, 非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)在世界范围内的诊断率不断上升, 同时也是我国越来越严重的慢性肝病问题, 且发病

■同行评议者

高泽立, 副教授, 周浦医院消化科, 上海交大医学院九院周浦分院; 金山, 主任医师, 内蒙古医学院附属医院普通外科; 方今女, 教授, 延边大学医学院预防医学教研部

率不断升高并有低龄化趋势. 尽管提出了较为经典“二次打击”学说^[1-3], 关于NAFLD的发病机理仍尚未完全阐明, 随着研究进展, 肠道微生物在NAFLD的发病中的作用越来越受到关注.

1 肠道微生物

胃肠道尤其是大肠, 有着人体最大数量的细菌. 最近数据估计肠道微生物至少由500-1000种不同的种类组成, 含有 10^{13} - 10^{14} 个细菌^[4]. 肠微生物是种类迥异的细菌在质和量上不断变化的一种动态混合^[5]. 饮食习惯、生活方式、年龄、宿主基因类型和抗生素的使用都可能影响肠微生物的组成^[6]. 正常情况下, 宿主和肠道微生物在进化过程中形成了一种相适应的共生关系.

肠道微生物的主要功能包含保护宿主抵御外来微生物、维持肠黏膜免疫系统平衡、保护肠道屏障完整性、参与新陈代谢活动及营养促进^[7-9]. 但是, 肠道菌群在很多疾病的发展中起到很大影响, 包括肝脏疾病. 大量的动物实验已证实, 肠道微生物、肠黏膜及免疫系统三者之间的失衡在NAFLD的发生发展中起着重要作用.

肠道菌群改变包括微生物的失衡、小肠细菌过度生长(small intestinal bacterial overgrowth, SIBO)及释放到循环当中的肠道来源的产物, 也被称为病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 例如细菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、肽聚糖、脂蛋白类等; 肝脏通过特定的Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)识别PAMPs^[10]. 健康肝脏包含低水平的TLRs mRNA以及相应的受体分子(例如: CD14、MD-2及MyD88), 表明肝脏低表达TLR信号分子将有助于对肠道来源的TLR配体的高耐受性^[11]. 因此, TLRs是将肠道菌群失调、肠源性内毒素血症及肝脏损伤联系起来的重要纽带^[12].

2 肠-肝轴

肝脏与肠道在解剖上与功能上有着紧密联系, 在胚胎发育过程中, 肝脏通过胚胎前肠与肠道建立了直接输入和输出关系即门静脉系统和胆道系统^[13], 二者间共同的胚胎起源, 可以解释在若干炎症和感染性肠病中观察到的肝胆的改变, 例如炎症性肠病患者常合并原发性硬化性胆管炎或者自身免疫性肝炎的发生^[14,15].

肝脏通过门静脉系统接收从肠道来源的大部分血液, 同时肠道静脉血液中富含的物质(包

含细菌及细菌产物)会激活肝脏的功能, 反过来, 肝脏通过分泌胆汁和胆汁肝肠循环影响肠道的功能. 肠道微生物产生的乙醇、氨和乙醛等, 这些物质一般通过肝脏进行代谢, 可以调节枯否细胞活性和细胞因子的产生^[16]. 肠道微生物在质和量上的变化导致肠道黏膜通透性的增加和细菌移位, 肠源性内毒素血症的发生, 而脂多糖是革兰氏阴性菌外膜的主要成分, 在多种慢性肝病的门静脉和/或体循环中均有所增加^[17].

肝脏包含大量的免疫细胞发挥天然及适应性免疫应答, 通过引起耐受与炎症反应来应对细菌移位的影响. 细菌和细菌产物激活了肝脏内巨噬细胞-枯否细胞, 通过核因子 κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)调节机制, 激发细胞因子如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)的释放, 从而触发特定的细胞内信号转导通路^[18]. 同时, 肝脏也随之发生形态和功能上变化, 诱发急性炎症反应, 释放活性氧代谢物、蛋白酶和其他酶类, 进一步加重肝脏损害^[19].

3 肠道微生物与NAFLD

3.1 NAFLD概述 NAFLD是目前全世界最常见的慢性肝病, 包括单纯脂肪肝和非酒精性脂肪肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)以及随之发展的并发症. NASH可以分为两类: 原发NASH(与肥胖、2型糖尿病和高血脂相关的代谢综合征有关)和继发NASH(发生于空-回肠的旁路手术后, 迅速的体质量减轻, 完全的肠外营养、药物、严重的营养不良等)^[20-22]. 最新理论表明, 因为单纯性脂肪肝在大多数患者身上是一种良性过程, 所以NASH可能是与之有着不同发病机制的一种独立的疾病. 众多因素中, 尤其是肠道来源和脂肪组织产生的物质, 共同作用最终导致肝脏的炎症^[23].

3.2 肠道菌群与肥胖 NAFLD的发病与肥胖及胰岛素抵抗密切相关, 被认为是代谢综合征在肝脏上的表现. 肠道微生物已经被证明可以影响脂肪储存和能量代谢, 因而在胰岛素抵抗和相关代谢疾病的发展上起着直接作用^[24-26], 肥胖人群比瘦人有更少的拟杆菌和更多的厚壁菌, 最近的证据显示肠微生物群直接影响从肠道吸收的卡路里的比例^[27].

3.3 肠道菌群与肝病相关的证据 早在80多年前, 患有慢性肝病的患者身上首次发现肠微生物群的改变. 肠道菌群紊乱, 尤其是小肠细菌过度生长发生在很大比例的慢性肝病患者身上^[2].

■ 研发前沿
“肠-肝轴”学说在NAFLD发病过程中的作用越来越受到重视, 肠道菌群在维持其平衡方面起着重要作用.

■ 相关报道

Miele等发现在NAFLD患者中同时存在肠黏膜通透性增加和小肠细菌过度生长(small intestinal bacterial overgrowth, SIBO),并且SIBO水平与脂肪变性的严重程度有关;Li报道在给高脂喂养的ob/ob小鼠补充益生菌后,肝脏的脂肪变及炎症减轻。

支持肠-肝轴在NASH发病机制中作用的证据在过去十年中慢慢积累^[28]。首先,NASH被认为是病态肥胖患者为了减轻体重质量在行空肠-回肠旁路手术后一种常见并发症^[29];其次,NASH还被报道发生在有着空肠憩室病和肠道细菌过度增长的人身上^[30];另外,各种表现为肠道细菌过度增长的老鼠实验都存在与NASH的相似的肝脏损坏。无论在老鼠实验还是在全胃肠外营养,进行肠道旁路手术后患者上,口服抗生素后肝脏的脂肪变性程度均得到了改善,这一发现也支持了肠道细菌在NASH发病机制中的作用^[31]。

肝脏和肠道不仅解剖学上而且在生物学功能上存在密切联系,即所谓“肠-肝轴”学说,肠-肝轴在NAFLD的发病中起着重要作用,通过肠道微生物和宿主免疫系统的对话调节炎症、胰岛素抵抗和肠道通透性。微生物菌群有助于维持肠上皮细胞正常的生物形学和功能。肠道细菌通过以下机制参与了NASH的发生^[32]:(1)增加肠腔内源性乙醇的产生;(2)调节食物胆碱的新陈代谢(用于极低密度脂蛋白合成和肝脏脂质输出);(3)调节胆汁酸的代谢;(4)通过影响食物能量促进肥胖发生;(5)调节肠道通透性、减轻炎症和免疫反应,LPS的产生。

3.4 SIBO、肠道通透性与NASH 肠道黏膜是免疫系统与外环境之间的主要界面,宿主与肠道黏膜表面菌群的对话在免疫系统的良好发展上起重要作用。肠上皮间的紧密连接在维持肠道屏障完整性起着重要作用。SIBO发现于患有NAFLD的患者身上,并已发现与脂肪变性的严重程度有关^[16,33]。但是,SIBO和NASH之间发展的机制尚未被完全阐述,肠道通透性在这个过程中似乎起了主要作用。Thuy等^[34]近来发现,NAFLD的患者血液中内毒素和血浆纤溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1)的水平,以及TLR4和PAI-1 mRNA在肝脏表达与对照组相比高很多。另外,Miele等^[35]最新研究发现,人类NAFLD的发生是与肠道通透性的增高和SIBO的发生有关。这些均说明了菌群和宿主在肠上皮上的失衡不仅导致了肠道屏障的改变而且促进了细菌移位,进入门静脉加重了肝损伤。为了支持这一理论,口服抗生素如多黏菌素B和甲硝唑,在动物试验及人体已经被证实可以降低脂肪变性的程度^[36,37]。

3.5 肠源性内毒素血症与NASH 由于特定的饮食条件,肠微生物群的变化导致了肠道通透性的增加,肠源性内毒素血症发生,进而引发炎症

和代谢紊乱。在动物实验中,高脂饲料影响细菌种类,有利于革兰氏阴性菌和/或革兰氏阳性菌增长,促发了内毒素血症。内生的LPS通过依赖脂蛋白的机制从肠腔内运输到靶细胞,当他结合到特定的TLRs时,导致促炎症细胞因子的分泌。已经表明TLR2、TLR4和TLR9在NASH的发展中起作用^[38,39]。TLR4突变的老鼠给予蛋氨酸-胆碱缺乏的饮食会导致损害减少以及脂质堆积,这是一个关于NASH众所周知的实验^[40]。相反的,蛋氨酸-胆碱缺乏的饮食在TLR2缺乏的老鼠中诱发了NASH^[41]。Miura等^[42]最近证实(在给予胆碱氨基酸缺乏饮食形成的NASH的鼠类实验上,TLR9能识别细菌未甲基化的CpG DNA,也在NAFLD的发病中起着重要作用。

4 调节肠微生物群——一种新的治疗方法

NAFLD缺乏有效的治疗手段。肠道微生物在该疾病发病机制上的作用为预防和治疗NASH提供了新的方法。

益生菌是有活性的微生物,口服适量的益生菌对宿主健康有益^[43]。市售的主要益生菌是乳酸杆菌、链球菌和双歧杆菌^[44]。益生菌可以通过抑制细菌黏附、侵袭肠上皮,保护肠道通透性,防止细菌移位;产生抗菌肽类,减轻炎症和刺激宿主免疫,从而保护肝脏的健康^[45,46]。益生菌的生物活性依赖于抗炎症调节NF- κ B通路,抑制促炎因子,包括干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)和TNF- α 的产生^[47]。因此,益生菌为治疗肝脏损伤提供了一个新的途径,促进宿主健康。若干动物实验已经证实补充益生菌可以减轻NASH的发生发展^[48,49]。在给予高脂饮食喂养的ob/ob小鼠,服用VSL#3(经冷冻干燥、多种活菌制成的益生菌)后,改善了肝脏病理学的表现及胰岛素抵抗,减轻了脂肪肝变和炎症的程度,降低了血清转氨酶水平。我们最近发现饮食中添加乳酸菌F19,可以通过恢复肠微生物群和肠屏障功能减少LPS水平、减轻氧化应激和代谢引起的肝脏损伤^[50]。最近针对经肝组织活检确诊为NAFLD的患者进行的临床研究表明补充保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌能降低肝脏转氨酶水平^[51],这些研究均支持了益生菌在治疗NAFLD上的潜在价值。

5 结论

微生物菌群有助于维持肠上皮细胞正常的生物形学和功能。当免疫调节受损或肠屏障功能损

坏, 肠道细菌可能会通过激活先天的和适应性的免疫应答导致各种急性或慢性肝病的发生。因此调整肠道微生物群成为了一种治疗或预防各类肝病的新手段。但是, 若干问题仍然有待解决, (1)导致肝脏损坏的具体肠道细菌的有哪些? (2)这些细菌是否与肝脏疾病的进程有关? (3)不同的微生物菌群如何影响肠道正常的完整性? (4)由肠道微生物群紊乱导致相关的肝脏疾病的具体免疫反应是什么? 这些问题的解决, 将为更好的了解肠道微生物菌群和肝脏疾病之间的联系提供有力的证据, 并将可能为预防和治疗肝脏疾病提供新方案。

6 参考文献

- 1 Marshall JC. The gut as a potential trigger of exercise-induced inflammatory responses. *Can J Physiol Pharmacol* 1998; 76: 479-484 [PMID: 9839072]
- 2 Compare D, Coccoli P, Rocco A, Nardone OM, De Maria S, Carteni M, Nardone G. Gut-liver axis: the impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012; 22: 471-476 [PMID: 22546554 DOI: 10.1016/j.numecd.2012.02.007]
- 3 Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845 [PMID: 9547102]
- 4 Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003; 361: 512-519 [PMID: 12583961]
- 5 Abt MC, Artis D. The intestinal microbiota in health and disease: the influence of microbial products on immune cell homeostasis. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 496-502 [PMID: 19770652 DOI: 10.1097/MOG.0b013e328331b6b4]
- 6 O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 2006; 7: 688-693 [PMID: 16819463]
- 7 Wells JM, Rossi O, Meijerink M, van Baarlen P. Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108 Suppl 1: 4607-4614 [PMID: 20826446 DOI: 10.1073/pnas.1000092107]
- 8 Cani PD, Delzenne NM. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. *Curr Pharm Des* 2009; 15: 1546-1558 [PMID: 19442172]
- 9 Othman M, Agüero R, Lin HC. Alterations in intestinal microbial flora and human disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2008; 24: 11-16 [PMID: 18043226]
- 10 Seki E, Brenner DA. Toll-like receptors and adaptor molecules in liver disease: update. *Hepatology* 2008; 48: 322-335 [PMID: 18506843 DOI: 10.1002/hep.22306]
- 11 Mencin A, Kluwe J, Schwabe RF. Toll-like receptors as targets in chronic liver diseases. *Gut* 2009; 58: 704-720 [PMID: 19359436 DOI: 10.1136/gut.2008.156307]
- 12 Kirpich IA, McClain CJ. Probiotics in the treatment of the liver diseases. *J Am Coll Nutr* 2012; 31: 14-23 [PMID: 22661622]
- 13 Zaret KS. Regulatory phases of early liver development: paradigms of organogenesis. *Nat Rev Genet* 2002; 3: 499-512 [PMID: 12094228]
- 14 Su L, Wang JH, Cong X, Wang LH, Liu F, Xie XW, Zhang HH, Wang JH, Fei R, Liu YL. Intestinal immune barrier integrity in rats with nonalcoholic hepatic steatosis and steatohepatitis. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125: 306-311 [PMID: 22340564]
- 15 Broomé U, Olsson R, Löf L, Bodemar G, Hultcrantz R, Danielsson A, Prytz H, Sandberg-Gertzén H, Wallerstedt S, Lindberg G. Natural history and prognostic factors in 305 Swedish patients with primary sclerosing cholangitis. *Gut* 1996; 38: 610-615 [PMID: 8707097]
- 16 Nagata K, Suzuki H, Sakaguchi S. Common pathogenic mechanism in development progression of liver injury caused by non-alcoholic or alcoholic steatohepatitis. *J Toxicol Sci* 2007; 32: 453-468 [PMID: 18198478]
- 17 Han DW. Intestinal endotoxemia as a pathogenetic mechanism in liver failure. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 961-965 [PMID: 12439906]
- 18 Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver Int* 2006; 26: 1175-1186 [PMID: 17105582]
- 19 Jirillo E, Caccavo D, Magrone T, Piccigallo E, Amati L, Lembo A, Kalis C, Gumenscheimer M. The role of the liver in the response to LPS: experimental and clinical findings. *J Endotoxin Res* 2002; 8: 319-327 [PMID: 12537690]
- 20 Bedogni G, Gastaldelli A, Manco M, De Col A, Agosti F, Tiribelli C, Sartorio A. Relationship between fatty liver and glucose metabolism: a cross-sectional study in 571 obese children. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012; 22: 120-126 [PMID: 20880682 DOI: 10.1016/j.numecd.2010.05.003]
- 21 Succurro E, Arturi F, Grembale A, Iorio F, Fiorentino TV, Andreozzi F, Sciacqua A, Hribal ML, Perticone F, Sesti G. One-hour post-load plasma glucose levels are associated with elevated liver enzymes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011; 21: 713-718 [PMID: 21764272 DOI: 10.1016/j.numecd.2011.02.002]
- 22 Abete I, Goyenechea E, Zulet MA, Martínez JA. Obesity and metabolic syndrome: potential benefit from specific nutritional components. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011; 21 Suppl 2: B1-15 [PMID: 21764273 DOI: 10.1016/j.numecd.2011.05.001]
- 23 Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology* 2010; 52: 1836-1846 [PMID: 21038418]
- 24 Abu-Shanab A, Quigley EM. The role of the gut microbiota in nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 691-701 [PMID: 21045794 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.172]
- 25 Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444: 1027-1031 [PMID: 17183312]
- 26 Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 15718-15723 [PMID: 15505215]
- 27 Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444: 1022-1023 [PMID: 17183309]
- 28 Vanni E, Bugianesi E. The gut-liver axis in nonalcoholic fatty liver disease: Another pathway to insulin

■创新盘点

本文应用肠-肝轴学说, 从肠道微生物、肠道黏膜及宿主的免疫系统3个方面阐述NAFLD可能的发病机制。

■同行评价

本文密切联系临床,紧扣当前脂肪肝研究热点,选题得当,具有一定指导意义。

- resistance? *Hepatology* 2009; 49: 1790-1792 [PMID: 19475679 DOI: 10.1002/hep.23036]
- 29 Machado MV, Cortez-Pinto H. Gut microbiota and nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* 2012; 11: 440-449 [PMID: 22700625]
- 30 Nazim M, Stamp G, Hodgson HJ. Non-alcoholic steatohepatitis associated with small intestinal diverticulosis and bacterial overgrowth. *Hepatogastroenterology* 1989; 36: 349-351 [PMID: 2516007]
- 31 Solga SF, Diehl AM. Non-alcoholic fatty liver disease: lumen-liver interactions and possible role for probiotics. *J Hepatol* 2003; 38: 681-687 [PMID: 12713883]
- 32 Aron-Wisnewsky J, Gaborit B, Dutour A, Clement K. Gut microbiota and non-alcoholic fatty liver disease: new insights. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19: 338-348 [PMID: 23452163 DOI: 10.1111/1469-0691.12140]
- 33 Diamant M, Blaak EE, de Vos WM. Do nutrient-gut-microbiota interactions play a role in human obesity, insulin resistance and type 2 diabetes? *Obes Rev* 2011; 12: 272-281 [PMID: 20804522 DOI: 10.1111/j.1467-789X.2010.00797.x]
- 34 Thuy S, Ladurner R, Volynets V, Wagner S, Strahl S, Königsrainer A, Maier KP, Bischoff SC, Bergheim I. Nonalcoholic fatty liver disease in humans is associated with increased plasma endotoxin and plasminogen activator inhibitor 1 concentrations and with fructose intake. *J Nutr* 2008; 138: 1452-1455 [PMID: 18641190]
- 35 Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, Mascianà R, Forgione A, Gabrieli ML, Perotti G, Vecchio FM, Rapaccini G, Gasbarrini G, Day CP, Grieco A. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2009; 49: 1877-1887 [PMID: 19291785 DOI: 10.1002/hep.22848]
- 36 Pappo I, Becovier H, Berry EM, Freund HR. Polymyxin B reduces cecal flora, TNF production and hepatic steatosis during total parenteral nutrition in the rat. *J Surg Res* 1991; 51: 106-112 [PMID: 1907698]
- 37 Drenick EJ, Fisler J, Johnson D. Hepatic steatosis after intestinal bypass--prevention and reversal by metronidazole, irrespective of protein-calorie malnutrition. *Gastroenterology* 1982; 82: 535-548 [PMID: 6797866]
- 38 Szabo G, Velayudham A, Romics L, Mandrekar P. Modulation of non-alcoholic steatohepatitis by pattern recognition receptors in mice: the role of toll-like receptors 2 and 4. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29: 140S-145S [PMID: 16344599]
- 39 Miura K, Seki E, Ohnishi H, Brenner DA. Role of toll-like receptors and their downstream molecules in the development of nonalcoholic Fatty liver disease. *Gastroenterol Res Pract* 2010; 2010: 362847 [PMID: 21274430 DOI: 10.1155/2010/362847]
- 40 Rivera CA, Adegboyega P, van Rooijen N, Tagalicud A, Allman M, Wallace M. Toll-like receptor-4 signaling and Kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2007; 47: 571-579 [PMID: 17644211]
- 41 Rivera CA, Gaskin L, Allman M, Pang J, Brady K, Adegboyega P, Pruitt K. Toll-like receptor-2 deficiency enhances non-alcoholic steatohepatitis. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 52 [PMID: 20509914 DOI: 10.1186/1471-230X-10-52]
- 42 Miura K, Kodama Y, Inokuchi S, Schnabl B, Aoyama T, Ohnishi H, Olefsky JM, Brenner DA, Seki E. Toll-like receptor 9 promotes steatohepatitis by induction of interleukin-1beta in mice. *Gastroenterology* 2010; 139: 323-34.e7 [PMID: 20347818 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.03.052]
- 43 Nardone G, Rocco A. Probiotics: a potential target for the prevention and treatment of steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: S121-S122 [PMID: 15220676]
- 44 Iacono A, Raso GM, Canani RB, Calignano A, Meli R. Probiotics as an emerging therapeutic strategy to treat NAFLD: focus on molecular and biochemical mechanisms. *J Nutr Biochem* 2011; 22: 699-711 [PMID: 21292470 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2010.10.002]
- 45 Cesaro C, Tiso A, Del Prete A, Cariello R, Tuccillo C, Cotticelli G, Del Vecchio Blanco C, Loguercio C. Gut microbiota and probiotics in chronic liver diseases. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 431-438 [PMID: 21163715 DOI: 10.1016/j.dld.2010.10.015]
- 46 Frazier TH, DiBaise JK, McClain CJ. Gut microbiota, intestinal permeability, obesity-induced inflammation, and liver injury. *J Parenter Enteral Nutr* 2011; 35: 14S-20S [PMID: 21807932 DOI: 10.1177/0148607111413772]
- 47 Li Z, Yang S, Lin H, Huang J, Watkins PA, Moser AB, Desimone C, Song XY, Diehl AM. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2003; 37: 343-350 [PMID: 12540784]
- 48 Ewaschuk J, Endersby R, Thiel D, Diaz H, Backer J, Ma M, Churchill T, Madsen K. Probiotic bacteria prevent hepatic damage and maintain colonic barrier function in a mouse model of sepsis. *Hepatology* 2007; 46: 841-850 [PMID: 17659579]
- 49 Ma X, Hua J, Li Z. Probiotics improve high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells. *J Hepatol* 2008; 49: 821-830 [PMID: 18674841 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.05.025]
- 50 Nardone G, Compare D, Liguori E, Di Mauro V, Rocco A, Barone M, Napoli A, Lapi D, Iovene MR, Colantuoni A. Protective effects of Lactobacillus paracasei F19 in a rat model of oxidative and metabolic hepatic injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G669-G676 [PMID: 20576921 DOI: 10.1152/ajpgi.00188.2010]
- 51 Aller R, De Luis DA, Izaola O, Conde R, Gonzalez Sagrado M, Primo D, De La Fuente B, Gonzalez J. Effect of a probiotic on liver aminotransferases in nonalcoholic fatty liver disease patients: a double blind randomized clinical trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011; 15: 1090-1095 [PMID: 22013734]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



DNA甲基转移酶与胰腺癌关系的研究进展

廖国良, 肖卫东

廖国良, 肖卫东, 南昌大学第一附属医院普通外科二病区 江西省南昌市 330006
廖国良, 硕士, 主要从事肝胆胰疾病的基础与临床研究.
江西省自然科学基金资助项目, No. 2010GZY0316
作者贡献分布: 本文综述由廖国良完成; 肖卫东审校.
通讯作者: 肖卫东, 副主任医师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院普通外科二病区.
frankxwd@126.com
收稿日期: 2013-10-17 修回日期: 2013-11-24
接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-28

DNA methyltransferases and pancreatic cancer

Guo-Liang Liao, Wei-Dong Xiao

Guo-Liang Liao, Wei-Dong Xiao, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangxi Province, No. 2010GZY0316
Correspondence to: Wei-Dong Xiao, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwai Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. frankxwd@126.com
Received: 2013-10-17 Revised: 2013-11-24
Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-28

Abstract

Abnormal methylation of the promoter of suppressor genes plays an important role in the occurrence and development of pancreatic cancer. The degree of methylation is closely related to the activity of DNA methyltransferases. MicroRNAs (miRNAs) are a group of endogenous, small non-coding RNA that can regulate DNA methylation (DNA methylation can also regulate miRNAs) and affect the occurrence of pancreatic cancer. In recent years, demethylation drugs or RNA interference have been widely used to study the pathogenesis and targeted therapy of pancreatic cancer, and are expected to become effective means of treatment for pancreatic cancer. This article will give a review of the functions of DNA methyltransferases and the relationship between DNA methyltransferases and pancreatic cancer.

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

Key Words: DNA methyltransferases; DNA methylation; Pancreatic cancer; RNA interference

Liao GL, Xiao WD. DNA methyltransferases and pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 345-349
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/345.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.345>

摘要

抑癌基因启动子异常甲基化在胰腺癌的发生、发展过程中起着重要作用。而甲基化程度与DNA甲基转移酶的活性密切相关。microRNAs(miRNAs)是内源性非编码的单链小分子RNA,与DNA甲基化之间存在着复杂的互相调控的机制,从而影响胰腺癌的发生。近年来,去甲基化药物或RNA干扰技术已广泛应用于胰腺癌发病机制及其基因靶向治疗的研究,并取得了较大进展,有望成为胰腺癌的治疗有效手段。本文就DNA甲基转移酶的功能及其与胰腺癌关系的相关研究进展进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: DNA甲基转移酶; DNA甲基化; 胰腺癌; RNA干扰

核心提示: 胰腺癌是一种常见的消化系恶性肿瘤,抑癌基因启动子异常甲基化在其发生、发展过程中起着重要作用。而DNA甲基转移酶和MicroRNAs在胰腺癌中异常表达,且两者之间存在着复杂的互相调控的机制,从而影响胰腺癌的发生。近年来,去甲基化药物或RNA干扰技术已广泛应用于胰腺癌发病机制及其基因靶向治疗的研究,并取得了较大进展,有望成为胰腺癌治疗的有效手段。

廖国良, 肖卫东. DNA甲基转移酶与胰腺癌关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 345-349 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/345.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.345>

0 引言

胰腺癌是一种常见的侵袭性很强的消化系恶性

■背景资料

胰腺癌是一种常见的具有侵袭性的恶性肿瘤,因其发病隐匿,早期诊断困难,预后差,严重影响人类健康。目前临床治疗中根治性切除治疗胰腺癌是最有效的手段,但其疗效仍不理想。因此,当前胰腺癌的诊治形势依然十分严峻,深入研究胰腺癌的发病机制及积极寻求有效的治疗方法提高患者生存率和改善预后十分必要。

■同行评议者

陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科

■ 研发前沿

近年来研究发现, 抑癌基因启动子异常甲基化在胰腺癌的发生、发展过程中起着重要作用. 而甲基化程度与DNA甲基转移酶的活性密切相关. 通过调控这些基因的表达可有效地改变甲基化状态, 影响胰腺癌的发生、发展及预后. 而去甲基化药物及RNA干扰技术的问世无疑为胰腺癌发病机制及靶向治疗带来了崭新的契机.

肿瘤, 因其发病隐匿, 早期诊断困难, 预后差, 严重影响人类健康^[1,2]. 目前认为胰腺癌的发生是一个多基因、多因素、多阶段共同作用的过程, 其中DNA甲基化等表观遗传学改变起着重要作用^[3-5]. DNA甲基化是由DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)催化完成, 甲基化程度受DNMT的活性及其表达的影响. 有研究表明, 胰腺癌中普遍存在着DNMT的异常表达, 而这种表达的差异与胰腺癌的发生、发展及预后密切相关. MicroRNAs(miRNAs)是内源性非编码的单链小分子RNA, 在多种肿瘤细胞中异常表达, 并且与DNA甲基化两者之间也存在着复杂的互相调控的机制. 应用去甲基化药物或RNA干扰技术沉默DNA甲基转移酶是目前研究甲基化在胰腺癌发病机制中的热点, 可能为胰腺癌提供一个新的治疗方法. 本文就DNA甲基转移酶的功能及其与胰腺癌关系的相关研究进展进行综述.

1 DNA甲基转移酶的成员及功能

DNA甲基化是在DNA甲基转移酶的催化下, 由S-腺苷甲硫氨酸提供甲基将之转移到胞嘧啶鸟嘌呤(CpG)中的5'-胞嘧啶, 使之甲基化为5'-甲基胞嘧啶的过程^[6]. 目前研究发现的DNMTs家族主要包括以下5个成员: DNMT1、DNMT2、DNMT3a、DNMT3b和DNMT3L, 其中DNMT1起着维持甲基化的作用^[7-9], DNMT2被认为在体外缺乏甲基化转移酶的活性, DNMT3a和DNMT3b则催化从头甲基化, DNMT3L虽然没有催化活性, 但是从从头甲基化必不可少的, 他可以通过直接刺激作用而提高DNMT3a和DNMT3b的甲基转移酶活性^[10,11].

2 DNA甲基转移酶在胰腺癌中的表达

胰腺癌的发生是一个复杂过程, 包括原癌基因激活和抑癌基因失活. 越来越多的研究表明, 抑癌基因启动子高甲基化所致的基因失活与胰腺癌的发生、发展密切相关^[12-16]. DNA甲基转移酶是催化甲基化过程唯一的酶系, 其活性与甲基化状态相关, 他们在胰腺癌肿瘤组织或细胞的异常表达, 是癌细胞的一个特征性的早期分子改变, 与肿瘤的发生、发展及预后关系密切^[17]. 目前有关胰腺癌的DNMT研究主要集中于DNMT1、DNMT3a和DNMT3b, 如He等^[18]研究显示在胰腺癌组织中DNMT1和DNMT3a都呈高表达, 且其表达受转录因子GLI1调控, 这可能为胰腺癌的早期诊断和分子水平治疗提供新

的靶点. Peng等^[19,20]研究报道, 在胰腺内无明显组织学改变及炎症的组织、有炎症的组织、上皮内瘤变和浸润性导管癌组织中DNMT1蛋白的表达水平呈依次增加, 且DNMT1高表达预示着患者预后不良. Wang等^[21]研究发现, DNMT1的高表达与胰腺癌神经浸润、肿瘤分化和肿瘤的TNM分期密切相关, 可能会成为胰腺癌新的预后标志物和潜在的治疗靶点. 张允历等^[22]一些国内学者的相关研究也得到了类似的结论. Zhang等^[23]研究显示在胰腺癌发展进程中DNMTs(主要是DNMT1、DNMT3a、DNMT3b三者)mRNA的表达水平呈逐步上升, 并且与肿瘤的大小、TNM分期、慢性胰腺炎史、生存率和预后有关. 王丽华等^[24]研究报道, 在胰腺癌组织中DNMT3b mRNA及蛋白表达量显著高于癌旁组织和正常胰腺组织, DNMT3b mRNA表达与临床分期、肿瘤分化程度和淋巴结转移密切相关, 而DNMT3b蛋白表达与肿瘤的部位、淋巴结转移有关, DNMT3b mRNA和蛋白表达均与年龄、性别、神经浸润、肿瘤大小、血CEA和CA199浓度无关.

3 DNA甲基转移酶与胰腺癌microRNA

MicroRNAs(miRNAs)是一类由Dicer酶从折叠的70-100个核苷酸的发夹状转录前体RNAs(pre-microRNAs)上切割得到的长度为19-25个核苷酸的单链RNA. 他通过与靶基因mRNA上的靶序列互补配对结合, 在转录后水平上对基因的表达进行负调控, 导致mRNA的降解或翻译抑制, 从而抑制基因表达^[25,26]. 近年的研究发现, miRNAs在多种人类肿瘤中异常表达, 且与DNA甲基转移酶有重要关系. 如在结直肠癌的研究中, Toyota等^[27]通过DNA甲基转移酶抑制剂(5-Aza-dC)或单敲除结直肠癌HCT116细胞株中DNMT1和DNMT3b基因后发现主要调控p53基因的miR-34b和miR-34c表达沉默. 在非小细胞肺癌的研究中, Fabbri等^[28]发现DNMT3a/b是miR-29的靶基因, 且DNMT3a/b与miR-29a、b和c的表达水平呈负相关. 而原本在非小细胞肺癌中低表达的miR-29高表达后可以直接下调靶基因DNMT3a/3b的表达, 从而降低抑癌基因甲基化水平, 抑制肿瘤的发生. 大量研究报道, 胰腺癌组织中有多种miRNA异常表达, 如miR-196a、miR-190、miR-186、miR-221、miR-222、miR-200b、miR-15b和miR-95等表达上调^[29-31], 而let-7^[32], miR-96、miR-132、

miR-217^[33], miR-375、miR-148a/b^[34]等表达下调, 其异常表达与肿瘤的形成、发展及预后密切相关. Hanoun等^[35]研究发现, 在胰腺癌中miR-148a呈低表达, 经5-Aza-dC处理后其编码区甲基化水平下降, miR-148a表达显著上调并可作为胰腺癌和慢性胰腺炎鉴别诊断的辅助指标. 有研究显示, 将表达miR-148a的质粒pcDNA3.1/pri-miR-148a转染胰腺癌AsPC-1细胞后能下调DNMT1基因mRNA和蛋白表达水平, 并抑制该细胞的增殖, 促进细胞凋亡. 因此, 可以推测DNMT可以通过调节抑癌基因甲基化状态来调控miRNAs的表达, 而miRNA也可以通过调控DNMT的表达使抑癌基因甲基化发生改变, 影响肿瘤的发生、发展, 两者之间存在着复杂的互相调控的机制.

4 DNA甲基转移酶与胰腺癌靶向治疗

RNA干扰是一种全新的基因阻断技术, 其作用机制是通过ds-RNA(double-stranded RNA, 双链RNA)特异性降解靶基因mRNA, 从而达到转录后基因沉默(posttranscriptional gene silencing, PTGS)作用^[36-38]. 运用RNA干扰技术特异性的沉默DNMT表达, 改变甲基化状态, 目前在研究基因和蛋白的功能、肿瘤的靶向治疗等方面得到广泛的应用^[39,40]. 徐岷等^[41,42]通过RNA干扰靶向性沉默胰腺癌PaTu8988细胞DNMT1基因, 结果显示干扰后DNMT1 mRNA及其蛋白表达水平、DNMT1活性明显低于对照组, 且DNMT活性与DNMT1 mRNA表达呈正相关. 而hMLH-1基因CpG位点的8个甲基化减少到1个甲基化. 同时肿瘤细胞停止在细胞周期的S期, 细胞的增殖被抑制并凋亡. 肖卫东等^[43,44]研究结果显示RNA干扰DNMT1和/或DNMT3b基因后, 其mRNA及蛋白表达量均显著降低, 且胰腺癌BxPC-3细胞生长受抑制, 并能诱导细胞凋亡. 同时研究还表明DNMT1单干扰的抑癌作用优于DNMT3b单干扰, 而DNMT1和DNMT3b双重干扰无明显的协同效应, 提示DNMT1和/或DNMT3b是胰腺癌去甲基化治疗的有效靶点.

DNA甲基转移酶抑制剂能够特异性抑制DNMT活性, 通过降低抑癌基因CpG岛甲基化水平, 从而激活抑癌基因, 抑制肿瘤细胞的增殖, 促进其凋亡, 达到治疗肿瘤的目的. Oghamian等^[45]对761例ApcMin⁺、Trp53^{-/-}和减效基因DNMT1三重杂交的小鼠胰腺腺癌模型研究显示, 经DNA甲基转移酶抑制剂(5-Aza-CdR)处理

后肿瘤负荷(而不是肿瘤的大小)及其恶性程度随DNMT1表达水平下降而显著降低, 第1次在体内研究中显示了减少DNMT水平对胰腺肿瘤发展的影响, 为胰腺癌的靶向治疗提供了方向. 但有研究发现运用DNA甲基转移酶抑制剂治疗可导致癌基因表达上调, 增强肿瘤细胞的侵袭力, 具有毒性作用和致突变性^[46]. Zebularine是一种化学稳定性好、可口服的胞苷类似物, 对DNMT的抑制具有高选择性, 且细胞毒性低. 他可全部消除DNMT1的效应, 部分消除DNMT3a和DNMT3b的作用, 抑制DNA甲基化, 有效持久地抑制胰腺导管细胞癌Cf-Pac-1中p16的表达, 从而抑制肿瘤细胞增殖, 促进其凋亡^[47,48].

大量研究已表明运用去甲基化药物或RNA干扰技术沉默胰腺癌DNMT基因表达能降低DNMT活性, 从而降低胰腺癌抑癌基因启动子甲基化水平, 抑制癌细胞增殖、促进细胞凋亡, 发挥其抑癌作用. 但Ting等^[49]研究发现, 沉默DNMT1基因后, 结肠癌SW48细胞、膀胱癌T24细胞内仍维持了DNA高甲基化状态. Hagemann等^[50]研究发现RNA干扰DNMT3b后, 其表达下调能够抑制结肠癌HCT116细胞增殖和迁移, 并促进细胞凋亡, 但这种抗肿瘤效益与启动子CpG岛去甲基化无明显关系. 这说明DNMTs家族成员在不同类型肿瘤DNA甲基化中的作用和抑癌机制各不相同, 且各种酶之间的相互关系也不尽相同.

5 结论

目前研究表明DNMT的异常表达在抑癌基因启动子甲基化和miRNA表达过程中扮演者重要角色, 与胰腺癌的发生、发展和预后有着密切联系. DNMT参与的DNA甲基化可以调控miRNA在胰腺癌中的表达, 而miRNA可以通过调控DNMT的表达使抑癌基因启动子甲基化发生改变, 从而影响胰腺癌的发生. 虽然DNA甲基化和miRNA的研究不断深入, 但对两者相互调控的机制及其参与胰腺癌发病的机制尚不明确, 有待进一步研究. 目前去甲基化药物在肿瘤的治疗中显示了一定成效, 但因不良反应尤其细胞毒性大, 限制了他的应用, 而RNA干扰以其高效、高特异性、高稳定性和可传播、可遗传性等优点为研究DNMT的功能及其与miRNA相互调控关系以及胰腺癌DNA甲基化机制等方面提供了新的方法和途径, 其在肿瘤的基因治疗方面的应用也取得了良好效果, 有望成为胰腺癌

■ 相关报道

近年来国内外大量研究发现, DNMT在胰腺癌中呈高表达, 通过去甲基化药物或RNA干扰特异性抑制DNMT活性, 能够降低抑癌基因CpG岛甲基化水平, 从而激活抑癌基因, 抑制肿瘤细胞的增殖, 促进其凋亡, 达到治疗肿瘤的目的.

■创新盘点

本文搜集了大量关于DNMT在胰腺癌研究中的最新进展,并从4方面分别进行阐述,从而为未来胰腺癌发病机制及靶向治疗相关研究奠定可靠的理论基础。

基因治疗的有效手段,其未来的研究前景更为广阔。

6 参考文献

- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- Hackert T, Büchler MW, Werner J. Current state of surgical management of pancreatic cancer. *Cancers (Basel)* 2011; 3: 1253-1273 [PMID: 24212660 DOI: 10.3390/cancers3011253]
- Omura N, Goggins M. Epigenetics and epigenetic alterations in pancreatic cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2009; 2: 310-326 [PMID: 19158989]
- Dauksa A, Gulbinas A, Barauskas G, Pundzius J, Oldenburg J, El-Maarri O. Whole blood DNA aberrant methylation in pancreatic adenocarcinoma shows association with the course of the disease: a pilot study. *PLoS One* 2012; 7: e37509 [PMID: 22629410 DOI: 10.1371/journal.pone.0037509]
- 王霞, 王晖, 张啸. 胰腺癌中表观遗传修饰研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1141-1146
- Hackett JA, Surani MA. DNA methylation dynamics during the mammalian life cycle. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2013; 368: 20110328 [PMID: 23166392 DOI: 10.1098/rstb.2011.0328]
- Jurkowska RZ, Jurkowski TP, Jeltsch A. Structure and function of mammalian DNA methyltransferases. *Chembiochem* 2011; 12: 206-222 [PMID: 21243710 DOI: 10.1002/cbic.201000195]
- Egger G, Jeong S, Escobar SG, Cortez CC, Li TW, Saito Y, Yoo CB, Jones PA, Liang G. Identification of DNMT1 (DNA methyltransferase 1) hypomorphs in somatic knockouts suggests an essential role for DNMT1 in cell survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 14080-14085 [PMID: 16963560 DOI: 10.1073/pnas.0604602103]
- Song J, Teplova M, Ishibe-Murakami S, Patel DJ. Structure-based mechanistic insights into DNMT1-mediated maintenance DNA methylation. *Science* 2012; 335: 709-712 [PMID: 22323818 DOI: 10.1126/science.1214453]
- Denis H, Ndlovu MN, Fuks F. Regulation of mammalian DNA methyltransferases: a route to new mechanisms. *EMBO Rep* 2011; 12: 647-656 [PMID: 21660058 DOI: 10.1038/embor.2011.110]
- Suetake I, Shinozaki F, Miyagawa J, Takeshima H, Tajima S. DNMT3L stimulates the DNA methylation activity of Dnmt3a and Dnmt3b through a direct interaction. *J Biol Chem* 2004; 279: 27816-27823 [PMID: 15105426 DOI: 10.1074/jbc.M400181200]
- Vincent A, Omura N, Hong SM, Jaffe A, Eshleman J, Goggins M. Genome-wide analysis of promoter methylation associated with gene expression profile in pancreatic adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 4341-4354 [PMID: 21610144 DOI: 10.1158/1078-0432]
- Zhao G, Qin Q, Zhang J, Liu Y, Deng S, Liu L, Wang B, Tian K, Wang C. Hypermethylation of HIC1 Promoter and Aberrant Expression of HIC1/SIRT1 Might Contribute to the Carcinogenesis of Pancreatic Cancer. *Ann Surg Oncol* 2013; 20 Suppl 3: 301-311 [PMID: 22552606 DOI: 10.1245/s10434-012-2364-9]
- Gao J, Song J, Huang H, Li Z, Du Y, Cao J, Li M, Lv S, Lin H, Gong Y. Methylation of the SPARC gene promoter and its clinical implication in pancreatic cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 28 [PMID: 20338068 DOI: 10.1186/1756-9966-29-28]
- Zhang L, Gao J, Li Z, Gong Y. Neuronal pentraxin II (NP1X2) is frequently down-regulated by promoter hypermethylation in pancreatic cancers. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2608-2614 [PMID: 22806544 DOI: 10.1007/s10620-012-2202-8]
- Sato N, Fukushima N, Hruban RH, Goggins M. CpG island methylation profile of pancreatic intraepithelial neoplasia. *Mod Pathol* 2008; 21: 238-244 [PMID: 18157091 DOI: 10.1038/modpathol.3800991]
- Arai E, Kanai Y, Ushijima S, Fujimoto H, Mukai K, Hirohashi S. Regional DNA hypermethylation and DNA methyltransferase (DNMT) 1 protein overexpression in both renal tumors and corresponding nontumorous renal tissues. *Int J Cancer* 2006; 119: 288-296 [PMID: 16453286 DOI: 10.1002/ijc.21807]
- He S, Wang F, Yang L, Guo C, Wan R, Ke A, Xu L, Hu G, Xu X, Shen J, Wang X. Expression of DNMT1 and DNMT3a are regulated by GLI1 in human pancreatic cancer. *PLoS One* 2011; 6: e27684 [PMID: 22110720 DOI: 10.1371/journal.pone.0027684]
- Peng DF, Kanai Y, Sawada M, Ushijima S, Hiraoka N, Kosuge T, Hirohashi S. Increased DNA methyltransferase 1 (DNMT1) protein expression in precancerous conditions and ductal carcinomas of the pancreas. *Cancer Sci* 2005; 96: 403-408 [PMID: 16053511 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2005.00071.x]
- Peng DF, Kanai Y, Sawada M, Ushijima S, Hiraoka N, Kitazawa S, Hirohashi S. DNA methylation of multiple tumor-related genes in association with overexpression of DNA methyltransferase 1 (DNMT1) during multistage carcinogenesis of the pancreas. *Carcinogenesis* 2006; 27: 1160-1168 [PMID: 16537562 DOI: 10.1093/carcin/bgi361]
- Wang W, Gao J, Man XH, Li ZS, Gong YF. Significance of DNA methyltransferase-1 and histone deacetylase-1 in pancreatic cancer. *Oncol Rep* 2009; 21: 1439-1447 [PMID: 19424621 DOI: 10.3892/or_00000372]
- 张尤历, 徐岷, 高道键, 张玉琦, 高军, 杜奕奇, 龚燕芳, 满晓华, 李兆申. DNA甲基转移酶1在胰腺癌组织中的表达及其临床意义. *中华胰腺病杂志* 2010; 10: 415-417
- Zhang JJ, Zhu Y, Zhu Y, Wu JL, Liang WB, Zhu R, Xu ZK, Du Q, Miao Y. Association of increased DNA methyltransferase expression with carcinogenesis and poor prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Transl Oncol* 2012; 14: 116-124 [PMID: 22301400 DOI: 10.1007/s12094-012-0770-x]
- 王丽华, 李兆申, 李淑德, 杜奕奇, 高军, 龚燕芳, 满晓华, 胡先贵. 甲基转移酶3B基因在胰腺癌中的表达. *中华胰腺病杂志* 2009; 9: 374-376
- 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]
- Toyota M, Suzuki H, Sasaki Y, Maruyama R, Imai K, Shinomura Y, Tokino T. Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell translocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 4123-4132 [PMID: 18519671 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0325]

- 28 Fabbri M, Garzon R, Cimmino A, Liu Z, Zanesi N, Callegari E, Liu S, Alder H, Costinean S, Fernandez-Cymering C, Volinia S, Guler G, Morrison CD, Chan KK, Marcucci G, Calin GA, Huebner K, Croce CM. MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 15805-15810 [PMID: 17890317 DOI: 10.1073/pnas.0707628104]
- 29 Zhang Y, Li M, Wang H, Fisher WE, Lin PH, Yao Q, Chen C. Profiling of 95 microRNAs in pancreatic cancer cell lines and surgical specimens by real-time PCR analysis. *World J Surg* 2009; 33: 698-709 [PMID: 19030927 DOI: 10.1007/s00268-008-9833-0]
- 30 Lee EJ, Gusev Y, Jiang J, Nuovo GJ, Lerner MR, Frankel WL, Morgan DL, Postier RG, Brackett DJ, Schmittgen TD. Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1046-1054 [PMID: 17149698 DOI: 10.1002/ijc.22394]
- 31 Szafranska AE, Davison TS, John J, Cannon T, Sipos B, Maghnoouj A, Labourier E, Hahn SA. MicroRNA expression alterations are linked to tumorigenesis and non-neoplastic processes in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncogene* 2007; 26: 4442-4452 [PMID: 17237814 DOI: 10.1038/sj.onc.1210228]
- 32 Torrisani J, Bournet B, du Rieu MC, Bouisson M, Souque A, Escourrou J, Buscail L, Cordelier P. let-7 MicroRNA transfer in pancreatic cancer-derived cells inhibits in vitro cell proliferation but fails to alter tumor progression. *Hum Gene Ther* 2009; 20: 831-844 [PMID: 19323605 DOI: 10.1089/hum.2008.134]
- 33 Szafranska-Schwarzbach AE, Adai AT, Lee LS, Conwell DL, Andruss BF. Development of a miRNA-based diagnostic assay for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Expert Rev Mol Diagn* 2011; 11: 249-257 [PMID: 21463235 DOI: 10.1586/erm.11.10]
- 34 Zhang L, Jamaluddin MS, Weakley SM, Yao Q, Chen C. Roles and mechanisms of microRNAs in pancreatic cancer. *World J Surg* 2011; 35: 1725-1731 [PMID: 21222121 DOI: 10.1007/s00268-010-0952-z]
- 35 Hanoun N, Delpu Y, Suriawinata AA, Bournet B, Bureau C, Selves J, Tsongalis GJ, Dufresne M, Buscail L, Cordelier P, Torrisani J. The silencing of microRNA 148a production by DNA hypermethylation is an early event in pancreatic carcinogenesis. *Clin Chem* 2010; 56: 1107-1118 [PMID: 20431052 DOI: 10.1373/clinchem.2010.144709]
- 36 Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1998; 391: 806-811 [PMID: 9486653 DOI: 10.1038/35888]
- 37 Bantounas I, Phylactou LA, Uney JB. RNA interference and the use of small interfering RNA to study gene function in mammalian systems. *J Mol Endocrinol* 2004; 33: 545-557 [PMID: 15591019 DOI: 10.1677/jme.1.01582]
- 38 Paroo Z, Liu Q, Wang X. Biochemical mechanisms of the RNA-induced silencing complex. *Cell Res* 2007; 17: 187-194 [PMID: 17310219 DOI: 10.1038/sj.cr.7310148]
- 39 Davidson BL, McCray PB. Current prospects for RNA interference-based therapies. *Nat Rev Genet* 2011; 12: 329-340 [PMID: 21499294 DOI: 10.1038/nrg2968]
- 40 Pecot CV, Calin GA, Coleman RL, Lopez-Berestein G, Sood AK. RNA interference in the clinic: challenges and future directions. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 59-67 [PMID: 21160526 DOI: 10.1038/nrc2966]
- 41 Xu M, Gao J, Du YQ, Gao DJ, Zhang YQ, Li ZS, Zhang YL, Gong YF, Xu P. Reduction of pancreatic cancer cell viability and induction of apoptosis mediated by siRNA targeting DNMT1 through suppression of total DNA methyltransferase activity. *Mol Med Rep* 2010; 3: 699-704 [PMID: 21472302 DOI: 10.3892/mmr.00000320]
- 42 徐岷, 张允历, 高道键, 张玉琦, 李兆申, 高军, 杜奕奇, 龚燕芳, 吴洪玉, 高飞. 靶向性沉默DNMT1基因对胰腺癌细胞DNA甲基化的影响. *中华胰腺病杂志* 2012; 12: 234-237
- 43 肖卫东, 李勇, 邹叶青, 李学明, 蔡军, 曾林山. DNMT1和DNMT3b基因干扰对胰腺癌BxPC-3细胞增殖和凋亡的影响. *中华实验外科杂志* 2012; 29: 19-22
- 44 肖卫东, 李勇, 李学明, 蔡军, 曾林山, 胡伟. RNA干扰DNMT1基因对胰腺癌细胞BxPC-3增殖的影响及相关机制. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3397-3401
- 45 Oghamian S, Sodir NM, Bashir MU, Shen H, Cullins AE, Carroll CA, Kundu P, Shibata D, Laird PW. Reduction of pancreatic acinar cell tumor multiplicity in Dnmt1 hypomorphic mice. *Carcinogenesis* 2011; 32: 829-835 [PMID: 21362628 DOI: 10.1093/carcin/bgr039]
- 46 Sato N, Fukushima N, Matsubayashi H, Iacobuzio-Donahue CA, Yeo CJ, Goggins M. Aberrant methylation of Reprimo correlates with genetic instability and predicts poor prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer* 2006; 107: 251-257 [PMID: 16752411 DOI: 10.1002/cncr.21977]
- 47 Neureiter D, Zopf S, Leu T, Dietze O, Hauser-Kronberger C, Hahn EG, Herold C, Ocker M. Apoptosis, proliferation and differentiation patterns are influenced by Zebularine and SAHA in pancreatic cancer models. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 103-116 [PMID: 17190770 DOI: 10.1080/00365520600874198]
- 48 Yoo CB, Valente R, Congiatu C, Gavazza F, Angel A, Siddiqui MA, Jones PA, McGuigan C, Marquez VE. Activation of p16 gene silenced by DNA methylation in cancer cells by phosphoramidate derivatives of 2'-deoxyzebularine. *J Med Chem* 2008; 51: 7593-7601 [PMID: 19006382 DOI: 10.1021/jm8005965]
- 49 Ting AH, Jair KW, Schuebel KE, Baylin SB. Differential requirement for DNA methyltransferase 1 in maintaining human cancer cell gene promoter hypermethylation. *Cancer Res* 2006; 66: 729-735 [PMID: 16424002 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1537]
- 50 Hagemann S, Kuck D, Stresemann C, Prinz F, Brueckner B, Mund C, Mumberg D, Sommer A. Antiproliferative effects of DNA methyltransferase 3B depletion are not associated with DNA demethylation. *PLoS One* 2012; 7: e36125 [PMID: 22563479 DOI: 10.1371/journal.pone.0036125]

■同行评价

本文综述DNA甲基转移酶在胰腺癌的发生和发展中的作用, DNA甲基转移酶是目前研究甲基化在胰腺癌发病机制中的热点, 可能为胰腺癌的治疗提供一个新的方法, 有一定的科学意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



转移性结直肠癌靶向治疗中的关键分子

李慧明, 余英豪

■背景资料

结直肠癌是世界上常见的恶性肿瘤之一, 而转移性结直肠癌患者的生存率明显下降。近年来, 随着西妥昔单抗等分子靶向治疗药物的应用, 患者的生存期得到了显著改善。但目前对于这些分子靶点的确切作用, 以及肿瘤生长对这些分子的依赖性认识并不充分, 如何有效地选择适合靶向治疗患者至关重要。

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

李慧明, 主要从事肿瘤病理学方面的研究。

作者贡献分布: 本文综述由李慧明完成; 余英豪审核。

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

电话: 0591-83717703

收稿日期: 2013-08-14 修回日期: 2013-11-20

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

Key molecules in targeted therapies for metastatic colorectal cancer

Hui-Ming Li, Ying-Hao Yu

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

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

Received: 2013-08-14 Revised: 2013-11-20

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common malignant tumors, and the survival rate of metastatic CRC (mCRC) decreased obviously compared with non-metastatic CRC. In recent years, the application of molecular targeted drugs, such as cetuximab and bevacizumab, has significantly improved the survival of mCRC patients. However, the precise role of the molecular targets in colorectal cancer, as well as the dependence of tumor growth on these molecules are not fully understood. Therefore, patient selection and prediction of treatment effects remain problematic. In this paper, we will review the biological characteristics of key molecules in targeted therapies for mCRC, such as vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR), KRAS, BRAF and phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K), the correlation between their mutational status and treatment, and the potential predictive/prognostic biomarkers.

■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

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

Key Words: mCRC; Targeted therapy; Biomarker; Vascular endothelial growth factor receptor; KRAS; TOPK

Li HM, Yu YH. Key molecules in targeted therapies for metastatic colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 350-358 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/350.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.350>

摘要

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是世界上常见的恶性肿瘤之一, 而转移性结直肠癌(metastatic colorectal cancer, mCRC)患者的生存率明显下降。近年来, 随着西妥昔单抗、贝伐单抗等分子靶向治疗药物的应用, mCRC患者的生存期得到了显著改善。但我们对于这些分子靶点在结直肠癌中的确切作用, 以及肿瘤生长对这些分子的依赖性认识并不充分。因此, 对于如何选择患者以及预测疗效仍有疑问。本文对mCRC靶向治疗中血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)、KRAS、BRAF、磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)等关键分子的生物学特性及其突变状态与治疗的相关性, 及可能的预测/预后标志物进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: mCRC; 靶向治疗; 分子标志物; 血管内皮生长因子受体; KRAS; TOPK

核心提示: 除了表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor receptor)等已应用于临床治疗的靶点外, 一些新的靶向治疗预测/预后标志物同样备受关注, 如T细胞来源蛋白激酶(T-cell-originated protein kinase)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase)、CD133、单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism)等, 可能成为今后靶向治疗研究热点。

李慧明, 余英豪. 转移性结直肠癌靶向治疗中的关键分子. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 350-358 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/350.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.350>

0 引言

全世界每年大约有100万新诊断的结直肠癌(colorectal cancer, CRC)病例, 而年死亡率将近50万^[1]. 我国的CRC发病率也呈逐年上升趋势, 且部分病例在诊断时已发生转移. 在过去的20年间, 分子靶向治疗药物的发展使得不能切除的转移性结直肠癌(metastatic colorectal cancer, mCRC)患者中位生存期从大约3-6 mo增加到24-28 mo^[2]. 贝伐单抗是第一个成功用于治疗mCRC的靶向药物, 其以血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)为靶点, 通过阻止配体与同源VEGF受体(VEGFRs)的结合, 从而抑制VEGF信号. 另一类靶向药物, 如西妥昔单抗和帕尼单抗, 则是以表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)为靶点, 通过与细胞外表面EGFR区域结合, 阻断EGFR信号转导, 来抑制细胞生长、增殖、侵犯/转移和血管生成的下游过程. 虽然肿瘤的靶向药物治疗迅速发展, 但我们对于这些潜在靶点分子水平的认识并不充分, 影响着对患者的选择. 例如当临床有效的靶向药物作为单一治疗药物时, 仅<20%的mCRC患者显效^[3]. 很明显, 个体化的治疗是有必要的. CRC作为一种异质性疾病, 在同一细胞内通路的下游分子中可以有不同的突变状态, 而不同的突变也可发生在同一肿瘤中. 因此, 肿瘤治疗中靶向药物的疗效与特定的分子改变, 如VEGF、EGFR、CD133等有密切联系.

1 血管内皮生长因子受体

已经证实血管生成过程是mCRC结局的一个关键因素. 研究显示原发性CRC中高血管密度与疾病复发和转移有密切联系^[4]. 许多细胞信号网能够介导肿瘤相关的血管生成, 其中VEGF通路是研究新型分子抑制剂的主要焦点. 很多实体瘤, 包括CRC中VEGF都有过表达, 而VEGF的表达水平与转移性肿瘤的发展以及存活期有直接关系^[5]. VEGFRs(VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3)各自的活化导致了下游各种不同基因的激活, 包括AKT通路和ERK通路^[6]. VEGF通路不仅调节血管生成和血管通透性, 同时在细胞生长、迁移、侵犯以及细胞凋亡抑制中起重要

作用^[7].

贝伐单抗作为抗VEGFR单克隆抗体, 早在2004年就被FDA批准与5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)等肿瘤化疗药物联合用于mCRC的一线 and 二线治疗. 一项随机三期临床试验已经证实化疗药物联合贝伐单抗使用与其单独应用相比, 能更好地改善mCRC患者的总生存期及其转归^[8]. 许多研究显示, VEGF高表达提示预后不良, 但其不能预测抗血管生成药物包括贝伐单抗的疗效. 尽管对许多候选血管生成标志物进行了研究, 并没有发现能够监测血管生成或预测抗血管生成药物疗效的临床标志物.

最近, Shin等^[9]评估了贝伐单抗对体内外肿瘤生长以及VEGF信号的抑制作用, 并且应用流式细胞术对内皮细胞中可能作为药效标志物的VEGFR2磷酸化作用及其下游信号进行研究. 同时对接受以贝伐单抗为基础的化疗治疗的mCRC患者体内的标志物进行了验证. 结果发现在体外试验中, 贝伐单抗抑制人脐静脉内皮细胞与VEGF信号减弱有关, 尤其是贝伐单抗抑制VEGF诱导的VEGFR2, AKT和细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)的磷酸化作用. 在体内试验中, 贝伐单抗抑制了异种移植肿瘤的生长, 并减弱了VEGF诱导的AKT和ERK的磷酸化作用. 通过流式细胞术测定的mCRC患者循环VEGFR2⁺ pAKT⁺和VEGFR2⁺ pERK⁺细胞中位百分数比健康对照组高出大约3倍. 24例接受贝伐单抗治疗患者中, 18例患者循环VEGFR2⁺ pAKT⁺细胞减少, 反映VEGFR2信号受损. 同时, 这些数据提示循环VEGFR2⁺ pAKT⁺细胞比例的改变可能是抗血管生成药物疗效的标志物, 在决定药物剂量和服药日程上有价值.

2 表皮生长因子受体

EGFR是一种受体酪氨酸激酶, 属于erbB家族, 又被称为HER-1或ErbB-1. 其通过与配体结合, 激活细胞内信号转导途径, 导致细胞增殖、分化和抑制细胞凋亡. 许多肿瘤如肾细胞癌、胰腺癌、非小细胞肺癌及CRC细胞表面EGFR呈过表达^[10].

抗EGFR抗体西妥昔单抗和帕尼单抗通过阻止配体诱导的EGFR酪氨酸激酶活化, 来抑制PI3K/AKT以及RAS/MAP2K(即MEK)/MAPK1/3(即ERK2/1)信号转导通路下游分子的激活, 从而抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡. CRC

■ 研发前沿

目前, 以VEGF和EGFR为靶点的靶向治疗已经应用于转移性结直肠癌, 其中KRAS、BRAF等基因突变对于筛选患者和预测靶向治疗疗效具有重要意义, 但仅一部分患者能从这些靶向治疗中获益, 因此, 寻找新的合适的预测/预后标志物对靶向治疗至关重要.

■相关报道

Zlobec等研究TOPK在有KRAS、BRAF基因改变的散发性、遗传性和转移性CRC患者中的预后和预测价值,结果提示在对抗EGFR药物有阳性反应的mCRC患者中, TOPK可能是一个有价值的预后不良指标,而Pohl等研究结果提示CD133是接受以贝伐单抗为基础标准一线治疗的mCRC患者一个预测标志物,这些新的标志物可能对更好地筛选接受靶向治疗的患者具有重要意义。

中一系列被认为与EGFR依赖性增强有关的遗传学和生物学特性与EGFR单抗疗效的提高有关。EGFR基因拷贝数的增加与肿瘤对西妥昔单抗和帕尼单抗的反应相关^[11-13],而对西妥昔单抗的敏感程度则与EGFR的两个配体外调蛋白(epiregulin, EREG)和双调蛋白(amphiregulin, AREG)的mRNA表达水平成比例^[14,15]。此外,据Deng^[16]和Goldstein等^[17]报道, III、IV期患者转移淋巴结中有EGFR表达者,趋向生存期更短,提示EGFR在转移淋巴结中的表达比在原发或远处转移部位肿瘤中的表达更能准确预测生存率。另有数据显示磷酸化MAP2K1和磷酸化RPS6K的表达可能与接受西妥昔单抗治疗的mCRC患者无进展生存期的缩短有关^[18]。更多综合数据表明EGFR信号转导通路中编码关键下游效应分子的基因发生突变是对EGFR单抗产生原发性耐药的原因^[19]。尽管抗EGFR药物的靶点是EGFR,但EGFR自身并不是临床疗效很好的预测因子,而EGFR依赖的2条信号通路RAS-RAF-MAPK和PI3K-PTEN-AKT的分子变异对靶向药物疗效的预测可能更有指导意义^[20]。

2.1 KRAS KRAS属于RAS基因家族(KRAS、NRAS和HRAS),编码一种鸟嘌呤核苷酸结合蛋白,是配体结合的EGFR的重要效应分子,也是通过BRAF-MAPK通路的主要信号。KRAS可以通过与其催化亚基直接作用而激活PI3K。大约32%-40%的CRC患者存在KRAS基因突变,而85%-90%的突变发生在12或13位密码子,其余的发生在第61位(5%)及146位(5%)密码子上^[21,22]。这些突变使得GTP酶失活,导致肿瘤相关的KRAS蛋白积聚于活化的GTP结合构象中。

CRYSTAL随机研究的回顾性分析显示, KRAS基因突变状态与客观疗效、无进展生存期、总生存期之间有密切联系^[23]。而Allegra等^[21]的回顾性研究证实KRAS基因突变是预测EGFR单抗耐药的指标。这一发现使得mCRC的个体化治疗进入实施。现要求对所有接受西妥昔单抗或帕尼单抗治疗的mCRC患者治疗前都进行KRAS基因第12、13位密码子上的7个基因突变位点状态检测^[19]。De Roock等^[22]研究显示第12、61位密码子突变对西妥昔单抗疗效具有不利影响,而146位密码子突变则不影响疗效,且该密码子突变与其他KRAS突变同时发生,表明其可能不是重要的致癌密码子。在一项对大量化疗抵抗患者的回顾性兼探索性分析中发现, KRAS G13D突变与西妥昔单抗治疗在获得更好的总

生存期和无进展生存期上呈正相关,但G13D突变的化疗抵抗mCRC患者是否具有西妥昔单抗治疗的潜在有益因素,仍有待进一步的前瞻性随机试验证实^[24]。然而仍有50%-65%的野生型KRAS肿瘤患者对EGFR单抗产生抵抗,因此,对于预测性生物标志物的探索仍将继续。

在KRAS突变的群体中,肿瘤细胞MAPK1/3信号的最终水平取决于肿瘤的其他特性。就这一点而言,细胞中存在的双特异性磷酸酶(dual specificity phosphatase, DUSP)和sprouty(SPRY)同源物负反馈通路可以减弱KRAS突变肿瘤中MAPK1/3信号的输出^[23]。Pratilis等^[25]指出DUSP和SPRY的表达与肿瘤的MAP2K依赖性有关,同样,De Roock等^[23]研究显示在KRAS突变的群体中, DUSP4的表达与对西妥昔单抗的敏感性之间具有相关性。DUSP4 mRNA高表达的KRAS突变CRC患者在接受西妥昔单抗治疗后,其无进展生存期和总生存期比DUSP4低表达的患者明显增加。

2.2 BRAF BRAF是RAF基因家族(BRAF、ARAF1、RAF1)中的一员,编码一种丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶,该激酶可以帮助信号从RAS转导至MEK1/2,是RAS-RAF-MEK-ERK-MAPK信号通路重要的转导因子,参与调控细胞生长、分化和凋亡等多种生物学事件。大约15%的CRC中存在BRAF基因突变^[26],而其中>95%为BRAF蛋白激酶激活域中的V600E突变,但信号的改变是否由V600E突变引起还不清楚。研究发现KRAS和BRAF突变在CRC中是相互排斥的^[22],提示他们发生于不同类型的肿瘤,并可能有不同的结果。BRAF突变肿瘤和KRAS突变肿瘤在组织学和临床特征上的不同^[27],同样提示肿瘤亚型突变的特异性。此外, BRAF基因突变与CpG岛甲基化表型(CpG island methylator phenotype, CIMP)和微卫星不稳定性有关,而KRAS基因突变则更常见于低CpG岛甲基化表型和微卫星稳定的肿瘤^[27]。

大部分研究表明,在化疗抵抗的情况下, BRAF基因突变的mCRC患者对西妥昔单抗或帕尼单抗没有反应^[12], BRAF基因突变是西妥昔单抗疗效的独立预测因素^[28]。此外, Di Nicolantonio等^[26]对113例西妥昔单抗和帕尼单抗耐药的mCRC患者进行检测,发现30%-40%有KRAS突变,而野生型KRAS患者中有14%存在BRAF V600E突变。有BRAF突变的患者对这两种药存在耐药,且生存率较其他患者明显降低^[29]。

CRYSTAL研究报道^[23], *BRAF*基因突变与接受西妥昔单抗联合化疗治疗或单一化疗治疗的野生型*KRAS*患者的不良预后有关, 提示*BRAF*基因突变可能是一个重要的预后因素, 而在一线治疗中应用生物制剂也许能够改善行化疗治疗的*BRAF*突变患者的不良预后。

2.3 PI3K PI3Ks是一个脂酶家族, 根据不同的结构和对底物的选择分为3类。当生长因子与其同源RTK相结合, PI3K家族中的IA类即开始活化, RTK包括ERBB家族、血小板衍生生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)和胰岛素样生长因子1受体(insulin-like growth-factor-1 receptor, IGF1R)。IA类分子为异二聚体, 由调节亚基(p85)和催化亚基(p110)组成。结直肠癌中大约15%-18%有p110 α 同种型(由*PIK3CA*编码)突变^[30], 而>80%的*PIK3CA*突变发生在9号外显子(60%-65%)或20号外显子(20%-25%)^[22]。*PIK3CA*基因突变可与*KRAS*或*BRAF*基因突变同时存在^[22,31]。

最近一个欧洲联盟提出仅*PIK3CA*的20号外显子突变与野生型*KRAS*肿瘤的西妥昔单抗低反应性有关^[22]。与野生型*PIK3CA*基因相比, 9号外显子突变不影响疗效, 而20号外显子突变预示预后不良^[22]。由于*PIK3CA*第20号外显子突变发生率低, 因此还需进一步研究来证实。Sartore-Bianchi等^[32]报道*PIK3CA*突变与EGFR单抗治疗的低反应性有关, 但他们的研究群组比Prenen等的包含更多的20号外显子突变和更少的9号外显子突变, 而Prenen等^[33]认为*PIK3CA*突变状态与对西妥昔单抗的反应性没有相关性。

总的来说, *PIK3CA*突变与野生型*KRAS* I-III期CRC的癌症特异性存活率更低有关^[34], 但9号外显子和20号外显子还没有被完全独立开来进行研究, 因此还需进行更多的研究来确定*PIK3CA*第9号外显子和20号外显子突变的预后作用。

2.4 PTEN 始于PI3K的信号可以被同源性磷酸酶张力蛋白(PTEN)抑制。PTEN可以通过多种机制失活, 包括*PTEN*基因突变(平均突变率为5%, 在高频率微卫星不稳定的肿瘤中突变率更高)、10q23号染色体上等位基因的缺失(23%)以及*PTEN*起始区甲基化(19.9%存在于高频率微卫星不稳定的结直肠癌中, 2.2%存在于低频率微卫星不稳定中)^[35]。

CRC中PTEN缺失的作用还不完全明确。Loupakis等^[36]认为转移灶中PTEN缺失可能是预

测对西妥昔单抗联合伊立替康治疗产生抵抗的指标。研究发现*PTEN*缺失与*KRAS*、*BRAF*、*PIK3CA*突变及EGFR多体性同时存在。有报道*PTEN*⁺/*KRAS*⁻的mCRC患者较其他患者无进展生存期更长, 提示联合检测*PTEN*缺失和*KRAS*突变状态有助于筛选EGFR单抗有反应的mCRC患者^[36]。然而, 另一些研究显示, 当*KRAS*为野生型时, 仅*BRAF*突变是西妥昔单抗疗效的独立预测指标, 而*PTEN*缺失并不能作为预测西妥昔单抗疗效的标志物^[28]。此外, *PTEN*缺失在原组织和转移组织中表达并不一致。由于目前对于检测*PTEN*表达并没有标准化方法, 因此还需进一步的研究来确定其意义。

2.5 AKT和MAPK AKT和MAPK是EGFR信号通路下游分子。有研究者提出EGFR异常激活或许与AKT和MAPK的活化有关^[37]。事实上, 已经在非小细胞肺癌患者中发现EGFR下游蛋白如磷酸化AKT能够预测TKIs的反应性^[38]。然而, 在CRC中还没有足够的研究确定其在决定EGFR靶向药物抵抗或敏感性中的作用。

近期, Scartozzi等^[39]对72例接受伊立替康和西妥昔单抗治疗的mCRC患者进行检测, 分析原发肿瘤组织和转移组织中磷酸化AKT和MAPK表达, 及其与接受伊立替康-西妥昔单抗治疗的*KRAS*野生型患者总体结局的关系。结果显示: (1)在原发肿瘤组织中, AKT表达阳性(31例, 43%)与阴性(41例, 57%)无进展生存期(progression free survival, PFS)分别为2.4 mo和6.5 mo($P = 0.0006$), 总生存期(overall survival, OS)分别为7.8 mo和26.7 mo($P < 0.0001$), 反应率(response rate, RR)没有显著差异。而MAPK阳性表达(32例, 44%)与阴性表达(40例, 56%)的RR、PFS和OS没有显著差异; (2)在可用于分析的37例转移肿瘤组织中, AKT阳性23例(62%), 阴性14例(38%)。AKT表达与RR的关系(9% vs 58%, $P = 0.004$), PFS(2.3 mo vs 9.2 mo, $P < 0.0001$), OS(6.1 mo vs 26.7 mo, $P < 0.0001$)。MAPK阳性20例(54%), 阴性17例(46%)。MAPK与RR关系(10% vs 47%, $P = 0.002$), PFS(2.3 mo vs 8.6 mo, $P < 0.0001$), OS(7.8 mo vs 26 mo, $P = 0.0004$)。提示转移组织中AKT和MAPK的表达状态可预测接受伊立替康-西妥昔单抗治疗的*KRAS*野生型患者的临床结局。

另外, 研究者还发现在原发肿瘤组织与转移组织中, 有10例AKT和11例MAPK表达状态前后不一致。已经有研究提出CRC中一些关键分

■创新盘点

本文较全面的综述了目前转移性结直肠癌靶向治疗的关键分子, 包括熟知的*KRAS*、*BRAF*等分子, 以及最近研究发现的一些新的可能成为预测/预后标志物的分子, 如TOPK、LDH、CD133、SNP等。

■应用要点

本文较全面的综述了目前转移性结直肠癌靶向治疗的关键分子,尤其是对新的可能成为今后靶向治疗研究热点的预测/预后标志物的综述。

子如*KRAS*、*BRAF*的突变状态从原发部位到转移部位几乎不改变^[40],相反,其他生物标志物如EGFR、PTEN等可以有显著差异^[36,41],提示这种表达差异可能具有调节EGFR靶向抗体活性的生物效应,因此在pAKT和pMAPK表达的mCRC中,针对这些分子的靶向治疗也许比抗EGFR治疗更合适。

3 一些新的靶向治疗的预测/预后标志物

尽管目前*KRAS*基因突变状态可以用来筛选不适合抗EGFR治疗的患者,但如何从野生型*KRAS*患者中选择对抗EGFR治疗有效的患者仍是一个难题。而临床观察显示即使没有*KRAS*基因突变,大约40%-70%的患者也不能从抗EGFR抗体应用中获益。因此寻找合适的预测/预后标志物对靶向治疗至关重要。最近研究发现一些新的可能成为预测/预后标志物的分子。

3.1 TOPK 在2000年,Abe等^[42]研究发现ERK/MAPK通路一个新的成员-T细胞来源蛋白激酶(T-cell-originated protein kinase, TOPK),也称为PDZ结合激酶。TOPK具有MAPKK样蛋白特性,涉及P38MAPK和JNK信号,可能具有细胞特异性^[43]。其在高度增生的正常组织,胎儿组织和体外多种肿瘤中过度表达,而抑制TOPK能够引起乳腺和黑素瘤细胞系的凋亡^[44]。

最近,Zlobec等^[45]研究TOPK在有*KRAS*、*BRAF*基因改变的散发性,遗传性和转移性CRC患者中的预后和预测价值,发现在45例接受抗EGFR药物治疗的*KRAS*和*BRAF*野生型mCRC患者中, TOPK染色弥漫表达的患者具有显著不良的预后。此外, TOPK的表达似乎不随PTEN状态而改变,并且其在*KRAS*或*BRAF*野生型患者中的不利影响与这些分子的表达无关。这些结果提示在对抗EGFR药物有阳性反应的mCRC患者中, TOPK可能是一个有价值的预后不良指标。

3.2 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)在结直肠癌中,已经证实LDH-5过度表达与转移风险的增加有显著关联,而高LDH血清水平则提示有更差的预后^[46,47]。但LDH在接受抗血管生成治疗的患者中的作用还存在争议。

最近Scartozzi等^[48]研究治疗前LDH水平作为接受以贝伐单抗为基础一线治疗的mCRC患者疗效的预测因子,结果发现220例mCRC患者(对照组接受单一化疗138例,实验组接受贝伐单抗联合化疗治疗82例),对照组高LDH水平和低LDH水平中位PFS分别为4.2 mo和8 mo($P =$

0.0003),中位OS分别为19.6 mo和34.9 mo($P = 0.0014$)。贝伐单抗组高LDH和低LDH水平部分反应分别为14例(58%)和8例(14%)($P = 0.0243$),中位PFS分别为7.3 mo和8.5 mo($P = 0.2$),中位OS分别为22 mo和26.6 mo($P = 0.7$)。显示高LDH水平与更差的预后有关,而贝伐单抗也许能够改善高LDH水平组患者的临床结局。同时,反应率的提高提示LDH可能具有预测因子的作用。但确切的结论还需进一步的研究证实。

3.3 CD133 肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)假说提出仅有部分肿瘤细胞与肿瘤发生,发展和化疗抵抗有关。CSC与正常干细胞有许多共同的特征,包括自我更新能力和稳态控制能力,因此,CSC具有维持肿瘤生长和产生更多异常分化祖细胞的潜能^[49,50]。CD133,一种跨膜蛋白,已被一些研究小组用于分离结直肠癌中CSC,并在体内、体外实验中证实其与肿瘤生长和进展有关^[51-53]。

最近Pohl等^[54]研究假设*CD133*基因表达水平和种系变更能够预测接受5-Fu,奥沙利铂和贝伐单抗一线治疗的mCRC患者临床结局,对*CD133*基因表达水平和VEGF及VEGFR之间是否存在联系进行了研究,通过定量实时PCR检测54例mCRC患者肿瘤内*CD133*基因表达水平,并应用PCR-限制性片段长度多态性检测91例患者基因组DNA的3种*CD133*种系变更。结果显示与*CD133*低基因表达水平相比(7.76, $RR = 38\%$, $P = 0.003$),高基因表达水平(>7.76)具有显著提高的反应率($RR = 86\%$),并独立于VEGF或VEGFR表达水平。*CD133*基因表达水平与VEGF和VEGFR mRNA水平密切相关[VEGFR-1($P < 0.01$)、-2和-3($P < 0.05$)]。这些结果提示*CD133*是接受以贝伐单抗为基础标准一线治疗的mCRC一个预测标志物。但这只是初步的研究数据,进一步的确认还需进行大规模的前瞻性研究。

3.4 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP) 研究发现,分析胚系DNA遗传变异可能是预测mCRC患者接受化疗联合贝伐单抗治疗疗效的新方法。而SNPs则是遗传变异的代表,并且对于VEGF系统而言,SNPs同样也是相关生物标志物^[55]。众所周知,VEGF系统对于血管生成十分重要,尤其是VEGF-A可能影响血管的结构和功能,包括化疗药物向肿瘤细胞的传递^[56]。

新近,Hansen等^[55]研究SNPs在VEGF系统中可能的预测价值。对218例接受贝伐单抗联合

化疗治疗的mCRC患者治疗前血液样本进行分析, 并对治疗效果进行评估。通过PCR分析出5种SNP位于VEGF-A基因, 1种在VEGFR-1基因, 3种位于VEGFR-2基因。结果显示: 在36%CC基因型、40%CA基因型和56%AA基因型患者中观察到客观疗效, $P = 0.048$ 。而具有C等位基因(包括CC和CA基因型)的患者和具有纯合子A等位基因(AA)的患者反应率也有明显差异, 分别为39%和56%, $P = 0.015$ 。剩余的SNPs与反应率没有关系。提示VEGFR-1 319 C/A SNP可能是接受贝伐单抗联合化疗治疗的mCRC患者一个潜在的预测指标。而具有A等位基因的患者似乎具有更高的反应率。但结果还需进一步得到确认。

4 结论

分子靶向治疗是未来肿瘤治疗的趋势, 如何更合理的选择治疗方案和靶向治疗药物, 实现个体化治疗成为研究的焦点。KRAS突变状态作为对EGFR单抗产生抵抗的预测因子, 已经应用于mCRC的临床治疗中, 但这仅仅是一个开始, 寻找有效的预测/预后标志物对于肿瘤的靶向治疗至关重要。不久的将来将致力于通过确定肿瘤关键信号基因的突变状态来实现mCRC患者的个体化抗肿瘤治疗。

5 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]
- Gallagher DJ, Kemeny N. Metastatic colorectal cancer: from improved survival to potential cure. *Oncology* 2010; 78: 237-248 [PMID: 20523084 DOI: 10.1159/000315730]
- Ciardello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. *N Engl J Med* 2008; 358: 1160-1174 [PMID: 18337605 DOI: 10.1056/NEJMr0707704]
- Takahashi Y, Tucker SL, Kitadai Y, Koura AN, Bucana CD, Cleary KR, Ellis LM. Vessel counts and expression of vascular endothelial growth factor as prognostic factors in node-negative colon cancer. *Arch Surg* 1997; 132: 541-546 [PMID: 9161399 DOI: 10.1001/archsurg.1997.01430290087018]
- Ellis LM, Takahashi Y, Liu W, Shaheen RM. Vascular endothelial growth factor in human colon cancer: biology and therapeutic implications. *Oncologist* 2000; 5 Suppl 1: 11-15 [PMID: 10804085 DOI: 10.1634/theoncologist.5-suppl_1-11]
- Fan F, Wey JS, McCarty MF, Belcheva A, Liu W, Bauer TW, Somcio RJ, Wu Y, Hooper A, Hicklin DJ, Ellis LM. Expression and function of vascular endothelial growth factor receptor-1 on human colorectal cancer cells. *Oncogene* 2005; 24: 2647-2653 [PMID: 15735759 DOI: 10.1038/sj.onc.1208246]
- Epstein RJ. VEGF signaling inhibitors: more proapoptotic than anti-angiogenic. *Cancer Metastasis Rev* 2007; 26: 443-452 [PMID: 17786538]
- Saltz LB, Clarke S, Díaz-Rubio E, Scheithauer W, Figer A, Wong R, Koski S, Lichinitser M, Yang TS, Rivera F, Couture F, Sirzén F, Cassidy J. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2013-2019 [PMID: 18421054 DOI: 10.1200/JCO.2007.14.9930]
- Shin SJ, Hwang JW, Ahn JB, Rha SY, Roh JK, Chung HC. Circulating vascular endothelial growth factor receptor 2/pAkt-positive cells as a functional pharmacodynamic marker in metastatic colorectal cancers treated with antiangiogenic agent. *Invest New Drugs* 2013; 31: 1-13 [PMID: 22539090 DOI: 10.1007/s10637-012-9817-7]
- Zlobec I, Vuong T, Hayashi S, Haegert D, Tornillo L, Terracciano L, Lugli A, Jass J. A simple and reproducible scoring system for EGFR in colorectal cancer: application to prognosis and prediction of response to preoperative brachytherapy. *Br J Cancer* 2007; 96: 793-800 [PMID: 17311026]
- Personeni N, Fieuws S, Piessevaux H, De Hertogh G, De Schutter J, Biesmans B, De Roock W, Capoen A, Debiec-Rychter M, Van Laethem JL, Peeters M, Humblet Y, Van Cutsem E, Tejpar S. Clinical usefulness of EGFR gene copy number as a predictive marker in colorectal cancer patients treated with cetuximab: a fluorescent in situ hybridization study. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 5869-5876 [PMID: 18794099 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0449]
- Laurent-Puig P, Cayre A, Manceau G, Buc E, Bachet JB, Lecomte T, Rougier P, Lievre A, Landi B, Boige V, Ducreux M, Ychou M, Bibeau F, Bouché O, Reid J, Stone S, Penault-Llorca F. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5924-5930 [PMID: 19884556 DOI: 10.1200/JCO.2008.21.6796]
- Sartore-Bianchi A, Moroni M, Veronese S, Carnaghi C, Bajetta E, Luppi G, Sobrero A, Barone C, Cascinu S, Colucci G, Cortesi E, Nichelatti M, Gambacorta M, Siena S. Epidermal growth factor receptor gene copy number and clinical outcome of metastatic colorectal cancer treated with panitumumab. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3238-3245 [PMID: 17664472]
- Jacobs B, De Roock W, Piessevaux H, Van Oirbeek R, Biesmans B, De Schutter J, Fieuws S, Vandesompele J, Peeters M, Van Laethem JL, Humblet Y, Pénault-Llorca F, De Hertogh G, Laurent-Puig P, Van Cutsem E, Tejpar S. Amphiregulin and epiregulin mRNA expression in primary tumors predicts outcome in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5068-5074 [PMID: 19738126 DOI: 10.1200/JCO.2008.21.3744]
- Tabernero J, Cervantes A, Rivera F, Martinelli E, Rojo F, von Heydebreck A, Macarulla T, Rodriguez-Braun E, Eugenia Vega-Villegas M, Senger S, Ramos FJ, Roselló S, Celik I, Stroh C, Baselga J, Ciardiello F. Pharmacogenomic and pharmacoproteomic studies of cetuximab in metastatic colorectal cancer: biomarker analysis of a phase I dose-escalation study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1181-1189 [PMID: 20100964 DOI: 10.1200/JCO.2009.22.6043]
- Deng Y, Kurland BF, Wang J, Bi J, Li W, Rao S, Lan P, Lin T, Lin E. High epidermal growth factor receptor expression in metastatic colorectal can-

同行评价

本文对转移性结直肠癌靶向治疗中的关键分子进行综述, 选题结合临床, 题目新颖, 综述全面, 论述客观, 体现当今本领域研究前沿及热点, 难点, 分析得当。

- cer lymph nodes may be more prognostic of poor survival than in primary tumor. *Am J Clin Oncol* 2009; 32: 245-252 [PMID: 19451802 DOI: 10.1097/COC.0b013e3181891326]
- 17 Goldstein NS, Armin M. Epidermal growth factor receptor immunohistochemical reactivity in patients with American Joint Committee on Cancer Stage IV colon adenocarcinoma: implications for a standardized scoring system. *Cancer* 2001; 92: 1331-1346 [PMID: 11571750]
 - 18 Perkins G, Lièvre A, Ramacci C, Méatchi T, de Reynies A, Emile JF, Boige V, Tomasic G, Bachet JB, Bibeau F, Bouché O, Penault-Llorca F, Merlin JL, Laurent-Puig P. Additional value of EGFR downstream signaling phosphoprotein expression to KRAS status for response to anti-EGFR antibodies in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2010; 127: 1321-1331 [PMID: 20049837 DOI: 10.1002/ijc.25152]
 - 19 Bardelli A, Siena S. Molecular mechanisms of resistance to cetuximab and panitumumab in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1254-1261 [PMID: 20100961 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.6116]
 - 20 Baldus SE, Schaefer KL, Engers R, Hartleb D, Stoecklein NH, Gabbert HE. Prevalence and heterogeneity of KRAS, BRAF, and PIK3CA mutations in primary colorectal adenocarcinomas and their corresponding metastases. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 790-799 [PMID: 20103678 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2446]
 - 21 Allegra CJ, Jessup JM, Somerfield MR, Hamilton SR, Hammond EH, Hayes DF, McAllister PK, Morton RF, Schilsky RL. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: testing for KRAS gene mutations in patients with metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2091-2096 [PMID: 19188670 DOI: 10.1200/JCO.2009.21.9170]
 - 22 De Roock W, Claes B, Bernasconi D, De Schutter J, Biesmans B, Fountzilias G, Kalogeras KT, Kotoula V, Papamichael D, Laurent-Puig P, Penault-Llorca F, Rougier P, Vincenzi B, Santini D, Tonini G, Cappuzzo F, Frattini M, Molinari F, Saletti P, De Dosso S, Martini M, Bardelli A, Siena S, Sartore-Bianchi A, Tabernero J, Macarulla T, Di Fiore F, Gangloff AO, Ciardiello F, Pfeiffer P, Qvortrup C, Hansen TP, Van Cutsem E, Piessevaux H, Lambrechts D, Delorenzi M, Tejpar S. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol* 2010; 11: 753-762 [PMID: 20619739 DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70130-3]
 - 23 De Roock W, De Vriendt V, Normanno N, Ciardiello F, Tejpar S. KRAS, BRAF, PIK3CA, and PTEN mutations: implications for targeted therapies in metastatic colorectal cancer. *Lancet Oncol* 2011; 12: 594-603 [PMID: 21163703 DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70209-6]
 - 24 De Roock W, Jonker DJ, Di Nicolantonio F, Sartore-Bianchi A, Tu D, Siena S, Lamba S, Arena S, Frattini M, Piessevaux H, Van Cutsem E, O'Callaghan CJ, Khambata-Ford S, Zalcberg JR, Simes J, Karapetis CS, Bardelli A, Tejpar S. Association of KRAS p.G13D mutation with outcome in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *JAMA* 2010; 304: 1812-1820 [PMID: 20978259 DOI: 10.1001/jama.2010.1535]
 - 25 Pratilas CA, Taylor BS, Ye Q, Viale A, Sander C, Solit DB, Rosen N. (V600E)BRAF is associated with disabled feedback inhibition of RAF-MEK signaling and elevated transcriptional output of the pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 4519-4524 [PMID: 19251651 DOI: 10.1073/pnas.0900780106]
 - 26 Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, Sartore-Bianchi A, Arena S, Saletti P, De Dosso S, Mazzucchelli L, Frattini M, Siena S, Bardelli A. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5705-5712 [PMID: 19001320 DOI: 10.1200/JCO.2008.18.0786]
 - 27 Roth AD, Tejpar S, Delorenzi M, Yan P, Fiocca R, Klingbiel D, Dietrich D, Biesmans B, Bodoky G, Barone C, Aranda E, Nordlinger B, Cisar L, Labianca R, Cunningham D, Van Cutsem E, Bosman F. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: 466-474 [PMID: 20008640 DOI: 10.1200/JCO.2009.23.3452]
 - 28 Tol J, Dijkstra JR, Klomp M, Teerenstra S, Dommerholt M, Vink-Börger ME, van Cleef PH, van Krieken JH, Punt CJ, Nagtegaal ID. Markers for EGFR pathway activation as predictor of outcome in metastatic colorectal cancer patients treated with or without cetuximab. *Eur J Cancer* 2010; 46: 1997-2009 [PMID: 20413299 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.03.036]
 - 29 Barault L, Charon-Barra C, Jooste V, de la Vega MF, Martin L, Roignot P, Rat P, Bouvier AM, Laurent-Puig P, Faivre J, Chapusot C, Piard F. Hypermethylator phenotype in sporadic colon cancer: study on a population-based series of 582 cases. *Cancer Res* 2008; 68: 8541-8546 [PMID: 18922929 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1171]
 - 30 Nosho K, Kawasaki T, Ohnishi M, Suemoto Y, Kirkner GJ, Zepf D, Yan L, Longtine JA, Fuchs CS, Ogino S. PIK3CA mutation in colorectal cancer: relationship with genetic and epigenetic alterations. *Neoplasia* 2008; 10: 534-541 [PMID: 18516290]
 - 31 Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, Nichelatti M, Molinari F, De Dosso S, Saletti P, Martini M, Cipani T, Marrapese G, Mazzucchelli L, Lamba S, Veronese S, Frattini M, Bardelli A, Siena S. Multi-determinants analysis of molecular alterations for predicting clinical benefit to EGFR-targeted monoclonal antibodies in colorectal cancer. *PLoS One* 2009; 4: e7287 [PMID: 19806185 DOI: 10.1371/journal.pone.0007287]
 - 32 Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F, Veronese S, Nichelatti M, Artale S, Di Nicolantonio F, Saletti P, De Dosso S, Mazzucchelli L, Frattini M, Siena S, Bardelli A. PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. *Cancer Res* 2009; 69: 1851-1857 [PMID: 19223544 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2466]
 - 33 Prenen H, De Schutter J, Jacobs B, De Roock W, Biesmans B, Claes B, Lambrechts D, Van Cutsem E, Tejpar S. PIK3CA mutations are not a major determinant of resistance to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab in metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 3184-3188 [PMID: 19366826 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2961]

- 34 Ogino S, Noshio K, Kirkner GJ, Shima K, Irahara N, Kure S, Chan AT, Engelman JA, Kraft P, Cantley LC, Giovannucci EL, Fuchs CS. PIK3CA mutation is associated with poor prognosis among patients with curatively resected colon cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1477-1484 [PMID: 19237633 DOI: 10.1200/JCO.2008.18.6544]
- 35 Goel A, Arnold CN, Niedzwiecki D, Carethers JM, Dowell JM, Wasserman L, Compton C, Mayer RJ, Bertagnolli MM, Boland CR. Frequent inactivation of PTEN by promoter hypermethylation in microsatellite instability-high sporadic colorectal cancers. *Cancer Res* 2004; 64: 3014-3021 [PMID: 15126336]
- 36 Loupakis F, Pollina L, Stasi I, Ruzzo A, Scartozzi M, Santini D, Masi G, Graziano F, Cremolini C, Rulli E, Canestrari E, Funel N, Schiavon G, Petrini I, Magnani M, Tonini G, Campani D, Floriani I, Cascinu S, Falcone A. PTEN expression and KRAS mutations on primary tumors and metastases in the prediction of benefit from cetuximab plus irinotecan for patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2622-2629 [PMID: 19398573 DOI: 10.1200/JCO.2008.20.2796]
- 37 Fischel JL, Formento P, Milano G. Epidermal growth factor receptor double targeting by a tyrosine kinase inhibitor (Iressa) and a monoclonal antibody (Cetuximab). Impact on cell growth and molecular factors. *Br J Cancer* 2005; 92: 1063-1068 [PMID: 15756277]
- 38 Han SW, Hwang PG, Chung DH, Kim DW, Im SA, Kim YT, Kim TY, Heo DS, Bang YJ, Kim NK. Epidermal growth factor receptor (EGFR) downstream molecules as response predictive markers for gefitinib (Iressa, ZD1839) in chemotherapy-resistant non-small cell lung cancer. *Int J Cancer* 2005; 113: 109-115 [PMID: 15386420]
- 39 Scartozzi M, Giampieri R, Maccaroni E, Mandolesi A, Biagetti S, Alfonsi S, Giustini L, Loretelli C, Faloppi L, Bittoni A, Bianconi M, Del Prete M, Bearzi I, Cascinu S. Phosphorylated AKT and MAPK expression in primary tumours and in corresponding metastases and clinical outcome in colorectal cancer patients receiving irinotecan-cetuximab. *J Transl Med* 2012; 10: 71 [PMID: 22490361 DOI: 10.1186/1479-5876-10-71]
- 40 Italiano A, Hostein I, Soubeyran I, Fabas T, Benchimol D, Evrard S, Gugenheim J, Becouarn Y, Brunet R, Fonck M, François E, Saint-Paul MC, Pedeutour F. KRAS and BRAF mutational status in primary colorectal tumors and related metastatic sites: biological and clinical implications. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1429-1434 [PMID: 20049644 DOI: 10.1245/s10434-009-0864-z]
- 41 Scartozzi M, Bearzi I, Berardi R, Mandolesi A, Fabris G, Cascinu S. Epidermal growth factor receptor (EGFR) status in primary colorectal tumors does not correlate with EGFR expression in related metastatic sites: implications for treatment with EGFR-targeted monoclonal antibodies. *J Clin Oncol* 2004; 22: 4772-4778 [PMID: 15570078]
- 42 Abe Y, Matsumoto S, Kito K, Ueda N. Cloning and expression of a novel MAPKK-like protein kinase, lymphokine-activated killer T-cell-originated protein kinase, specifically expressed in the testis and activated lymphoid cells. *J Biol Chem* 2000; 275: 21525-21531 [PMID: 10781613]
- 43 Matsumoto S, Abe Y, Fujibuchi T, Takeuchi T, Kito K, Ueda N, Shigemoto K, Gyo K. Characterization of a MAPKK-like protein kinase TOPK. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 325: 997-1004 [PMID: 15541388]
- 44 Simons-Evelyn M, Bailey-Dell K, Toretsky JA, Ross DD, Fenton R, Kalvakolanu D, Rapoport AP. PBK/TOPK is a novel mitotic kinase which is upregulated in Burkitt's lymphoma and other highly proliferative malignant cells. *Blood Cells Mol Dis* 2001; 27: 825-829 [PMID: 11783945]
- 45 Zlobec I, Molinari F, Kovac M, Bihl MP, Altermatt HJ, Diebold J, Frick H, Germer M, Horcic M, Montani M, Singer G, Yurtsever H, Zettl A, Terracciano L, Mazzucchelli L, Saletti P, Frattini M, Heinimann K, Lugli A. Prognostic and predictive value of TOPK stratified by KRAS and BRAF gene alterations in sporadic, hereditary and metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2010; 102: 151-161 [PMID: 19935791 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605452]
- 46 Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Simopoulos C, Polychronidis A, Sivridis E. Lactate dehydrogenase 5 (LDH5) relates to up-regulated hypoxia inducible factor pathway and metastasis in colorectal cancer. *Clin Exp Metastasis* 2005; 22: 25-30 [PMID: 16132575]
- 47 Wu XZ, Ma F, Wang XL. Serological diagnostic factors for liver metastasis in patients with colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4084-4088 [PMID: 20731024]
- 48 Scartozzi M, Giampieri R, Maccaroni E, Del Prete M, Faloppi L, Bianconi M, Galizia E, Loretelli C, Belvedere L, Bittoni A, Cascinu S. Pre-treatment lactate dehydrogenase levels as predictor of efficacy of first-line bevacizumab-based therapy in metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2012; 106: 799-804 [PMID: 22315053 DOI: 10.1038/bjc.2012.17]
- 49 Ferrandina G, Petrillo M, Bonanno G, Scambia G. Targeting CD133 antigen in cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2009; 13: 823-837 [PMID: 19530986 DOI: 10.1517/14728220903005616]
- 50 Pohl A, Lurje G, Kahn M, Lenz HJ. Stem cells in colon cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2008; 7: 92-98 [PMID: 18501067 DOI: 10.3816/CCC.2008.n.012]
- 51 O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature* 2007; 445: 106-110 [PMID: 17122772]
- 52 Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, Biffoni M, Todaro M, Peschle C, De Maria R. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* 2007; 445: 111-115 [PMID: 17122771]
- 53 Puglisi MA, Sgambato A, Saulnier N, Rafanelli F, Barba M, Boninsegna A, Piscaglia AC, Lauritano C, Novi ML, Barbaro F, Rinninella E, Campanale C, Giuliante F, Nuzzo G, Alfieri S, Doglietto GB, Cittadini A, Gasbarrini A. Isolation and characterization of CD133+ cell population within human primary and metastatic colon cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2009; 13 Suppl 1: 55-62 [PMID: 19530513]
- 54 Pohl A, El-Khoueiry A, Yang D, Zhang W, Lurje G, Ning Y, Winder T, Hu-Lieskoven S, Iqbal S, Danenberg KD, Kahn M, Teo JL, Shriki J, Stebbing J, Lenz HJ. Pharmacogenetic profiling of CD133 is associated with response rate (RR) and progression-free survival (PFS) in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC), treated with bevacizumab-based chemotherapy. *Pharmacogenomics J* 2013; 13: 173-180 [PMID: 22231565 DOI: 10.1038/tpj.2011.61]

- 55 Hansen TF, Christensen Rd, Andersen RF, Garm Spindler KL, Johnsson A, Jakobsen A. The predictive value of single nucleotide polymorphisms in the VEGF system to the efficacy of first-line treatment with bevacizumab plus chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer: results from the Nordic ACT trial. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 715-720 [PMID: 22139032 DOI: 10.1007/s00384-011-1382-6]
- 56 Jain RK. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science* 2005; 307: 58-62 [PMID: 15637262]

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》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

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

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

括约肌间瘘管结扎术治疗复杂性肛瘘

邓超, 金黑鹰

邓超, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029
金黑鹰, 南京中医药大学第三附属医院肛肠科 江苏省南京市 210001
邓超, 南京中医药大学中医肛肠外科专业在读研究生, 主要从事大肠癌、痔疮、肛瘘、肛裂、慢性便秘、溃疡及克罗恩病等的外科治疗。
作者贡献分布: 本文由邓超与金黑鹰共同完成; 金黑鹰审校。
通讯作者: 金黑鹰, 副主任医师, 210001, 江苏省南京市秦淮区金陵路1号, 江苏省南京市中医药大学第三附属医院肛肠科。jinheiying@yahoo.com.cn
收稿日期: 2013-04-17 修回日期: 2013-07-06
接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-28

Ligation of intersphincteric fistula tract for treatment of complex anal fistula

Chao Deng, Hei-Ying Jin

Chao Deng, the First Clinical Medical School, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Hei-Ying Jin, Department of Colorectal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Hei-Ying Jin, Associate Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, 1 Jinling Road, Qinhuai District, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. jinheiying@yahoo.com.cn
Received: 2013-04-17 Revised: 2013-07-06
Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-28

Abstract

Ligation of intersphincteric fistula tract (LIFT) is a novel surgical procedure for complex fistula, especially transsphincteric fistula which was first proposed by Thailand doctor Rojanasakul. This sphincter-saving procedure has a high success rate, and more importantly, a very low continence rate. Recent clinical research of LIFT has showed that its efficacy varies greatly. In this article, we will review the recent advances in research on ligation of intersphincteric fistula tract for complex anal fistula.

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

Key Words: Complex fistula; Ligation of intersh-

pincteric fistula tract; Continence rate; Success rate

Deng C, Jin HY. Ligation of intersphincteric fistula tract for treatment of complex anal fistula. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 359-363 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/359.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.359>

摘要

括约肌间瘘管结扎术(ligation of intersphincteric fistula tract, LIFT)是治疗复杂性肛瘘,特别是经括约肌肛瘘的新术式。2007年由泰国医生Rojanasakul首次提出,其优势在于早期治愈率高,且肛门失禁率为零,而且完全保留括约肌。近几年来,LIFT手术的临床研究表明其疗效差异较大。本文试对LIFT手术的临床研究现状作一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 复杂性肛瘘; 括约肌间瘘管结扎术; 失禁率; 治愈率

核心提示: 括约肌间瘘管结扎术(ligation of intersphincteric fistula tract, LIFT)能较好解决上述问题,但其长期临床疗效还有待研究。本文综述自LIFT术出现以来的相关文献报道,对LIFT术的优势有了初步认识,但目前报道的多为单个中心的小量病例报道,因此需要多中心随机对照研究对LIFT手术的有效性和安全性作出准确的评价。

邓超, 金黑鹰. 括约肌间瘘管结扎术治疗复杂性肛瘘. *世界华人消化杂志* 2014; 22(3): 359-363 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/359.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.359>

0 引言

肛瘘是肛肠科中一种常见而又十分棘手的疾病,对于大部分简单性肛瘘^[1,2],肛瘘切开术即可获效,而对于复杂性肛瘘^[1,2]而言,则需要更好的处理好治愈、复发与肛门失禁等并发症之间的矛盾^[3]。传统的瘘管切开术在肛瘘治疗的肛门失禁率在0%-44%^[4,5]。切割挂线术在治疗肛瘘的肛

■背景资料

在治疗复杂性肛瘘手术中,引流挂线肛门失禁率低,但是复发率高,且缺少循证医学的支持,直肠黏膜瓣、纤维蛋白胶和AFP技术治疗肛瘘导致肛门失禁的风险低,但复发率相对较高,且对术者技术要求较高。

■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

■ 研发前沿

括约肌间瘘管结扎术(ligation of intersphincteric fistula tract, LIFT)作为全括约肌保留手术,其最大的优势在于很大程度上减少术后肛门失禁率,但LIFT术对经括约肌肛瘘的治愈率差异较大,并且LIFT术易于形成括约肌间瘘,且并不能提高直肠黏膜瓣推移术的疗效。此外,除低位经括约肌瘘外,LIFT术对于其他类型肛瘘(如括约肌上瘘、直肠阴道瘘等)的治疗效果如何也缺乏有效数据,无法判断其对各型肛瘘具体疗效。

失禁率较高^[6-9],特别是高位复杂性肛瘘^[10,11]。而在保留括约肌的术式中,生物蛋白胶与传统的切割挂线术相比,其失禁率低^[12,13]。但是临床报道的治愈率差异很大^[14-16]。在高位肛瘘中治愈率低^[15-18]。在长期的随访中其复发率上升^[19,20]。而肛瘘栓的治愈率在24%-92%^[21,22]。Soltani等^[23]进行的一项系统分析认为直肠黏膜推移瓣对肛腺源性肛瘘的治愈率和肛门失禁率为80.8%、13.2%。对于直肠阴道瘘来说,直肠黏膜推移瓣及肛瘘栓的效果也不理想^[22,24-26]。括约肌间瘘管结扎术(ligation of intersphincteric fistula tract, LIFT)是由泰国医生Rojanasakul等^[27]2007年首次提出,其原理是肛腺感染是肛瘘发生的始动因素,将括约肌间瘘管结扎后切断了肛腺感染和复发的源头;在手术时切开括约肌间沟、定位括约肌间瘘管、结扎括约肌间瘘管,切除远端瘘管,搔刮外侧瘘管坏死组织,从而切断肛腺感染源头,清除坏死组织以达到治愈肛瘘的效果^[27,28]。

1 LIFT手术的适应证

LIFT手术适应证文献报道最多的是经括约肌肛瘘,在泰国医生Rojanasakul^[27]首次使用LIFT手术治疗经括约肌肛瘘的研究中,最长随访半年,其治愈率在94.4%。其后的临床研究中,LIFT治疗经括约肌肛瘘、括约肌间肛瘘、括约肌上肛瘘的临床报道中,治愈率存在较大差异^[29,30]。对于复发性肛瘘、曾接受过肛瘘手术的肛瘘患者,其经LIFT手术后,与初次接受LIFT手术患者相比而言治愈率降低,但是其术后无明显肛门失禁^[29-31]。对于行LIFT手术失败的患者,对其后的再次手术治疗不会产生负面影响,对于此类患者而言,LIFT手术是相对安全有效的^[29,32]。

2 LIFT手术禁忌证

LIFT术要求肛瘘管道条索清晰明确,急性脓肿和炎症期为禁忌证。非肛腺源性的复杂性肛瘘如克罗恩病引起的肛瘘^[33,34],特别是直肠阴道瘘不宜行LIFT术^[35-38]。一般认为,LIFT手术治疗的复发率在8%-40%,但是没有特别严重的并发症^[30,31,39],而且在临床文献报道中,其失禁率几乎为0,2012年,Han等^[31]报道中,5%出现轻度肛门失禁症状。

3 LIFT手术的治疗效果

2007年泰国医生Rojanasakul等^[27]运用LIFT手术,治疗18例肛瘘患者,随访半年时间,94.4%(17/18)

患者愈合,5.6%(1/18)患者未愈合,平均愈合时间为4 wk,未出现肛门失禁症状,他的报道表明括约肌间肛瘘结扎术治疗经括约肌肛瘘是安全有效的,同时保留了肛门括约肌和肛门功能,而且无肛门失禁症状出现。2010年,Bleier等^[29]回顾性报道了39例经括约肌肛瘘或括约肌上肛瘘患者经LIFT手术,随访一年半,90%(35/39)随访完全,74%(29/39)患者有手术史,术后20 wk,57%(20/35)患者瘘管完全关闭,术后无肛门失禁症状出现。2010年,Ellis等^[36]提出了BioLIFT术式,采用生物补片对外瘘管进行填塞,利用生物材料在两瘘管断端间形成一个物理屏障,且该材料具有一定的抗感染能力,无排斥性,能与宿主结构很好融合,从而提高手术的成功率,减少愈合时间,研究涉及31例肛瘘患者,随访至少1年,94%(29/31)患者临床痊愈,其潜在的缺点仍然是操作繁琐,并在括约肌间需进行广泛的游离,且价格昂贵。2011年,Tan等^[30]回顾性分析了93例肛瘘患者,平均随访23 wk(1-85 wk),其中7例治疗失败,6例复发,平均愈合时间为4 wk,13例未愈合的患者经再次LIFT手术1年后愈合率为78%;7例治疗失败的患者中,4例患者内口未愈,3例为括约肌间的创伤,6例复发的患者中,平均复发时间为LIFT术后22 wk,超声内镜显示内外口间的括约肌间瘘管创伤显著,治疗未愈的患者经过再次的LIFT、肛瘘切开术或者推移瓣手术后均愈合,说明早期未愈的LIFT手术患者可接受再次的手术治疗后得到很好的结果,而且不出现肛门失禁现象。2012年,Mushaya等^[32]报道了前期经引流挂线患者行LIFT手术的复杂性肛瘘患者(克罗恩病患者除外),并与直肠推移瓣手术进行对比,在引流挂线结束后,25例LIFT手术患者及14例推移瓣手术患者术后6 mo内均未出现复发及脓肿出现,19 mo内,8%(2/25)LIFT手术患者出现复发,7%(1/14)推移瓣手术患者出现复发,7%(1/14)推移瓣手术患者出现轻度肛门失禁。引流挂线后行LIFT手术与推移瓣手术相比在复发率方面无明显差异,但LIFT手术后无肛门失禁。2012年,Abcarian等^[43]报道了40例不宜行低位肛瘘切开术的经括约肌肛瘘患者,经LIFT手术后平均随访18周,74%患者痊愈,初次接受LIFT手术患者初次治愈率为90%,说明LIFT手术的愈合率与患者的曾经的肛瘘手术史有关。2012年,Han等^[31]研究了21例经BioLIFT联合肛瘘栓的经括约肌肛瘘患者,术后未见严重并发症,平均随访

表 1 LIFT手术治疗肛瘘的疗效回顾

作者	年份	研究类型	n	分类	术前手术史(%)	愈合率(%)	复发率(%)	失禁率(%)	随访时间
Rojanasakul ^[27]	2007	前瞻性	18	经括约肌肛瘘	n.a	94.4		0	6 mo
Bleier ^[29]	2010	前瞻性	39	经括约肌、括约肌上	74	57		0	20 wk
Ellis ^[36]	2010	回顾性	31	复杂性肛瘘	n.a	94		0	1 yr
Aboulian ^[43]	2011	回顾性	25	高位经括约肌肛瘘	n.a	68		0	24(8-52) wk
Ooi ^[44]	2012	回顾性	25	复杂性肛瘘	40	68	28	0	22(3-43) wk
Sileri ^[33]	2011	前瞻性	18	复杂性肛瘘	n.a	83	17	0	4 mo
Mushaya等 ^[32]	2012	回顾性	25	复杂性肛瘘	n.a	92	8	0	19 mo
Abcarian等 ^[41]	2012	回顾性	40	经括约肌肛瘘	n.a	74		0	18 wk
van Onkelen等 ^[40]	2012	回顾性	22	低位经括约肌肛瘘	n.a	82		0	19.5 mo
Wallin等 ^[45]	2012	回顾性	93	经括约肌肛瘘	32	40		5	19 mo
Han等 ^[31]	2012	回顾性	21	经括约肌肛瘘	n.a	95		0	14(12-15) mo
Lehmann等 ^[46]	2013	回顾性	17	经括约肌肛瘘	100	65	40	0	16(5-27) mo
Liu等 ^[42]	2013	回顾性	38	经括约肌肛瘘	n.a	61		0	26(3-44) mo

n.a: No available.

14 mo, 愈合率为95%(20/21), 5%(1/21)出现轻度肛门失禁, Wexner评分为: 2013年Liu等^[42]回顾性分析了38例经LIFT手术的肛瘘患者, 平均随访26 mo, 68%(26/38)的患者随访时间长于12 mo, 总体初次愈合率为61%(23/38), 随访12 mo以上患者初次愈合率为62%(16/26); 治疗失败的15例患者中, 80%(12/15)为症状持续或者6 mo内失败, 20%(3/15)为治疗6 mo后失败; 术后无肛门失禁出现, 并且瘘管程度与愈合率成负相关(OR = 0.55, 95%CI: 0.34-0.88, $P = 0.11$). 对于LIFT手术治疗肛瘘的疗效回顾总结如表1.

4 结论

LIFT手术在治疗复杂性肛瘘的结果是较为理想的, 特别是对于瘘管较为清楚的经括约肌肛瘘结果更为理想, 术后发生肛门失禁的可能性较低, 手术简单, 简便易行, 便于推广, 具有较好的应用前景^[23,27]; 但是目前报道的多为单个中心的小量病例报道, 缺乏较好设计的临床研究, 因此需要多中心的随机对照研究对LIFT手术的有效性和安全性作出准确的评价.

5 参考文献

- 1 Parks AG, Gordon PH, Hardcastle JD. A classification of fistula-in-ano. *Br J Surg* 1976; 63: 1-12 [PMID: 1267867]
- 2 Vasilevsky CA. Anorectal abscess and fistula. In: David E, editor. *The ASCRS Textbook of Colon and Rectal Surgery*. 2nd ed. New York: Springer, 2011: 219-244
- 3 Whiteford MH, Kilkenney J, Hyman N, Buie WD,

- 4 Cohen J, Orsay C, Dunn G, Perry WB, Ellis CN, Rakinic J, Gregorcyk S, Shellito P, Nelson R, Tjandra JJ, Newstead G. Practice parameters for the treatment of perianal abscess and fistula-in-ano (revised). *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 1337-1342 [PMID: 15933794]
- 5 van Koperen PJ, Wind J, Bemelman WA, Bakx R, Reitsma JB, Slors JF. Long-term functional outcome and risk factors for recurrence after surgical treatment for low and high perianal fistulas of cryptoglandular origin. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1475-1481 [PMID: 18626715]
- 6 Cavanaugh M, Hyman N, Osler T. Fecal incontinence severity index after fistulotomy: a predictor of quality of life. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 349-353 [PMID: 12068193]
- 7 Vasilevsky CA, Gordon PH. Results of treatment of fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 1985; 28: 225-231 [PMID: 3979223]
- 8 Ritchie RD, Sackier JM, Hodde JP. Incontinence rates after cutting seton treatment for anal fistula. *Colorectal Dis* 2009; 11: 564-571 [PMID: 19175623 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2008.01713.x]
- 9 Isbister WH, Al Sanea N. The cutting seton: an experience at King Faisal Specialist Hospital. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 722-727 [PMID: 11357036]
- 10 Hämäläinen KP, Sainio AP. Cutting seton for anal fistulas: high risk of minor control defects. *Dis Colon Rectum* 1997; 40: 1443-1446; discussion 1447 [PMID: 9407983]
- 11 Parks AG, Stitz RW. The treatment of high fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 1976; 19: 487-499 [PMID: 964106]
- 12 Van Tets WF, Kuijpers JH. Seton treatment of perianal fistula with high anal or rectal opening. *Br J Surg* 1995; 82: 895-897 [PMID: 7648099]
- 13 Sentovich SM. Fibrin glue for all anal fistulas. *J Gastrointest Surg* 2001; 5: 158-161 [PMID: 11331478]
- 14 Lindsey I, Smilgin-Humphreys MM, Cunningham C, Mortensen NJ, George BD. A randomized, controlled trial of fibrin glue vs. conventional treatment for anal fistula. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 1608-1615

■ 相关报道

2007年泰国学者Rojanasakul等设计了经括约肌间瘘管结扎术(LIFT)治疗肛瘘, 这种手术方法为全括约肌保留术式, 经初步临床观察, 治愈率为94.4%, 且无肛门功能受损症状. LIFT术受到众多学者的广泛关注, 近年来国外许多学者采用这种方法进行肛瘘治疗, 但疗效差异较大, 复发原因不明, 对LIFT适应证也存在一定的争议.

■ 创新盘点

LIFT术的设计思路是将括约肌间处的瘻管结扎切除, 这样不仅关闭了粪便残渣进入肛瘻的通道, 而且也消除了括约肌间的感染源。从括约肌间沟入手进行操作, 对肛门内外括约肌都没有损失, 从而保护肛门功能。

- [PMID: 12473883]
- 14 Adams T, Yang J, Kondylis LA, Kondylis PD. Long-term outlook after successful fibrin glue ablation of cryptoglandular transsphincteric fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1488-1490 [PMID: 18612689 DOI: 10.1007/s10350-008-9405-2]
 - 15 Patrlj L, Kocman B, Martinac M, Jadrijevic S, Sosa T, Sebecic B, Brkljacic B. Fibrin glue-antibiotic mixture in the treatment of anal fistulae: experience with 69 cases. *Dig Surg* 2000; 17: 77-80 [PMID: 10720836]
 - 16 Dietz DW. Role of fibrin glue in the management of simple and complex fistula in ano. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 631-632 [PMID: 16773756]
 - 17 Zmora O, Neufeld D, Ziv Y, Tulchinsky H, Scott D, Khaikin M, Stepansky A, Rabau M, Koller M. Prospective, multicenter evaluation of highly concentrated fibrin glue in the treatment of complex cryptogenic perianal fistulas. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 2167-2172 [PMID: 16258708]
 - 18 Witte ME, Klaase JM, Gerritsen JJ, Kummer EW. Fibrin glue treatment for simple and complex anal fistulas. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1071-1073 [PMID: 17629041]
 - 19 Sentovich SM. Fibrin glue for anal fistulas: long-term results. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 498-502 [PMID: 12682544]
 - 20 Cintron JR, Park JJ, Orsay CP, Pearl RK, Nelson RL, Sone JH, Song R, Abcarian H. Repair of fistulas-in-ano using fibrin adhesive: long-term follow-up. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 944-949; discussion 944-949 [PMID: 10910240]
 - 21 Garg P, Song J, Bhatia A, Kalia H, Menon GR. The efficacy of anal fistula plug in fistula-in-ano: a systematic review. *Colorectal Dis* 2010; 12: 965-970 [PMID: 19438881 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2009.01933.x]
 - 22 O'Connor L, Champagne BJ, Ferguson MA, Oran-gio GR, Schertzer ME, Armstrong DN. Efficacy of anal fistula plug in closure of Crohn's anorectal fistulas. *Dis Colon Rectum* 2006; 49: 1569-1573 [PMID: 16998638]
 - 23 Soltani A, Kaiser AM. Endorectal advancement flap for cryptoglandular or Crohn's fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 486-495 [PMID: 20305451 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181ce8b01]
 - 24 Ruffolo C, Scarpa M, Bassi N, Angriman I. A systematic review on advancement flaps for rectovaginal fistula in Crohn's disease: transrectal vs transvaginal approach. *Colorectal Dis* 2010; 12: 1183-1191 [PMID: 19674019 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2009.02029.x]
 - 25 Zhu YF, Tao GQ, Zhou N, Xiang C. Current treatment of rectovaginal fistula in Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 963-967 [PMID: 21448347 DOI: 10.3748/wjg.v17.i8.963]
 - 26 Hannaway CD, Hull TL. Current considerations in the management of rectovaginal fistula from Crohn's disease. *Colorectal Dis* 2008; 10: 747-755; discussion 755-756 [PMID: 18462243 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2008.01552.x]
 - 27 Rojanasakul A, Pattanaarun J, Sahakitrungruang C, Tantiphlachiva K. Total anal sphincter saving technique for fistula-in-ano; the ligation of intersphincteric fistula tract. *J Med Assoc Thai* 2007; 90: 581-586 [PMID: 17427539]
 - 28 Rojanasakul A. LIFT procedure: a simplified technique for fistula-in-ano. *Tech Coloproctol* 2009; 13: 237-240 [PMID: 19636496 DOI: 10.1007/s10151-009-0522-2]
 - 29 Bleier JL, Moloo H, Goldberg SM. Ligation of the intersphincteric fistula tract: an effective new technique for complex fistulas. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 43-46 [PMID: 20010349 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181bb869f]
 - 30 Tan KK, Tan IJ, Lim FS, Koh DC, Tsang CB. The anatomy of failures following the ligation of intersphincteric tract technique for anal fistula: a review of 93 patients over 4 years. *Dis Colon Rectum* 2011; 54: 1368-1372 [PMID: 21979180 DOI: 10.1097/DCR.0b013e31822bb55e]
 - 31 Han JG, Yi BQ, Wang ZJ, Zheng Y, Cui JJ, Yu XQ, Zhao BC, Yang XQ. Ligation of the intersphincteric fistula tract plus a bioprosthetic anal fistula plug (LIFT-Plug): a new technique for fistula-in-ano. *Colorectal Dis* 2013; 15: 582-586 [PMID: 23067044 DOI: 10.1111/codi.12062]
 - 32 Mushaya C, Bartlett L, Schulze B, Ho YH. Ligation of intersphincteric fistula tract compared with advancement flap for complex anorectal fistulas requiring initial seton drainage. *Am J Surg* 2012; 204: 283-289 [PMID: 22609079 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2011.10.025]
 - 33 Sileri P, Franceschilli L, Angelucci GP, D'Ugo S, Milito G, Cadeddu F, Selvaggio I, Lazzaro S, Gaspari AL. Ligation of the intersphincteric fistula tract (LIFT) to treat anal fistula: early results from a prospective observational study. *Tech Coloproctol* 2011; 15: 413-416 [PMID: 22076690 DOI: 10.1007/s10151-011-0779-0]
 - 34 Penninckx F, Moneghini D, D'Hoore A, Wyndaele J, Coremans G, Rutgeerts P. Success and failure after repair of rectovaginal fistula in Crohn's disease: analysis of prognostic factors. *Colorectal Dis* 2001; 3: 406-411 [PMID: 12790939 DOI: 10.1046/j.1463-1318.2001.00274.x]
 - 35 Andreani SM, Dang HH, Grondona P, Khan AZ, Edwards DP. Rectovaginal fistula in Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 2007; 50: 2215-2222 [PMID: 17846837 DOI: 10.1007/s10350-007-9057-7]
 - 36 Ellis CN. Outcomes with the use of bioprosthetic grafts to reinforce the ligation of the intersphincteric fistula tract (BioLIFT procedure) for the management of complex anal fistulas. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 1361-1364 [PMID: 20847616 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181ec4470]
 - 37 Pajares JA, Hernández L, Menchén P, Menchén L. Duodenopancreatic fistula complicating upper gastrointestinal Crohn's disease: successful treatment with infliximab. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1863-1864 [PMID: 19436276 DOI: 10.1038/ajg.2009.180]
 - 38 Musaev KhN. [Surgical treatment of rectovaginal fistulae]. *Khirurgiia (Mosk)* 2009; (9): 55-58 [PMID: 19770825]
 - 39 Löffler T, Welsch T, Mühl S, Hinz U, Schmidt J, Kienle P. Long-term success rate after surgical treatment of anorectal and rectovaginal fistulas in Crohn's disease. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 521-526 [PMID: 19172284 DOI: 10.1007/s00384-009-0638-x]
 - 40 van Onkelen RS, Gosselink MP, Schouten WR. Ligation of the intersphincteric fistula tract in low transsphincteric fistulae: a new technique to avoid fistulotomy. *Colorectal Dis* 2013; 15: 587-591 [PMID: 22974372 DOI: 10.1111/codi.12030]
 - 41 Abcarian AM, Estrada JJ, Park J, Corning C,

- Chaudhry V, Cintron J, Prasad L, Abcarian H. Ligation of intersphincteric fistula tract: early results of a pilot study. *Dis Colon Rectum* 2012; 55: 778-782 [PMID: 22706130 DOI: 10.1097/DCR.0b013e318255ae8a]
- 42 Liu WY, Aboulian A, Kaji AH, Kumar RR. Long-term results of ligation of intersphincteric fistula tract (LIFT) for fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 2013; 56: 343-347 [PMID: 23392149 DOI: 10.1097/DCR.0b013e318278164c]
- 43 Aboulian A, Kaji AH, Kumar RR. Early result of ligation of the intersphincteric fistula tract for fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 2011; 54: 289-292 [PMID: 21304298 DOI: 10.1007/DCR.0b013e318203495d]
- 44 Ooi K, Skinner I, Croxford M, Faragher I, McLaughlin S. Managing fistula-in-ano with ligation of the intersphincteric fistula tract procedure: the Western Hospital experience. *Colorectal Dis* 2012; 14: 599-603 [PMID: 21831102 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2011.02723.x]
- 45 Wallin UG, Mellgren AF, Madoff RD, Goldberg SM. Does ligation of the intersphincteric fistula tract raise the bar in fistula surgery? *Dis Colon Rectum* 2012; 55: 1173-1178 [PMID: 23044679 DOI: 10.1097/DCR.0b013e318266edf3]
- 46 Lehmann JP, Graf W. Efficacy of LIFT for recurrent anal fistula. *Colorectal Dis* 2013; 15: 592-595 [PMID: 23320466 DOI: 10.1111/codi.12104]

■同行评价
本文举例充分, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



健脾解毒方对人结肠癌HCT116/L-OHP裸鼠皮下移植瘤的作用及Caspase3表达的影响

张瑞娟, 余倩云, 许建华, 孙珏, 赵成根, 范忠泽

■背景资料

在西方国家, 结肠癌无论发病率或死亡率均排列第3位, 2009年我国肿瘤登记地区恶性肿瘤中, 结肠癌的发病率位居第3位, 死亡率位居第5位, 中药治疗具有增加放、化疗疗效及减轻其不良反应的优势, 受到越来越多的重视。

张瑞娟, 余倩云, 许建华, 孙珏, 赵成根, 范忠泽, 上海中医药大学附属普陀医院中医肿瘤科 上海市 200062
张瑞娟, 主治医师, 主要从事中医药治疗肿瘤的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81073105
上海市科学技术委员会基金资助项目, No. 10ZR1427300
作者贡献分布: 此课题由范忠泽与许建华设计; 研究过程由张瑞娟操作完成; 研究所用试剂及分析工具由孙珏与赵成根提供; 数据分析由张瑞娟与余倩云完成; 本论文写作由张瑞娟与余倩云完成。
通讯作者: 范忠泽, 教授, 主任医师, 200062, 上海市普陀区兰溪路164号, 上海中医药大学附属普陀医院中医肿瘤科。
ptyutcm@163.com
电话: 021-22233902
收稿日期: 2013-11-05 修回日期: 2013-11-23
接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

Effects of Jianpi Jiedu decoction on tumor growth and Caspase3 expression in HCT116/L-OHP colon cancer xenografts in nude mice

Rui-Juan Zhang, Qian-Yun Yu, Jian-Hua Xu, Jue Sun, Cheng-Gen Zhao, Zhong-Ze Fan

Rui-Juan Zhang, Qian-Yun Yu, Jian-Hua Xu, Jue Sun, Cheng-Gen Zhao, Zhong-Ze Fan, Department of Oncology, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No.81073105; and the Shanghai Science and Technology Committee Funded Projects, No.10ZR1427300
Correspondence to: Zhong-Ze Fan, Professor, Chief Physician, Department of Oncology, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 164 Lanxi Road, Shanghai 200062, China. ptyutcm@163.com
Received: 2013-11-05 Revised: 2013-11-23
Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To observe whether Jianpi Jiedu decoction and oxaliplatin (L-OHP) have a synergistic effect on human colon cancer HCT116/L-OHP xenografts in nude mice and to explore the underlying mechanism.

METHODS: A xenograft tumor model was established using L-OHP-resistant human colon cancer HCT116 cells in nude mice. Mice were randomly divided into a control group, a L-OHP

group, a Jianpi Jiedu decoction group, a low dose Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP group, and a high dose Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP group. During the treatment process, the long and short diameters of tumors were measured to calculate tumor volume according to the formula and depict tumor growth curve. After treatment, the tumor weight was measured to calculate tumor inhibition rate and tumor weight inhibition rate. The expression level of Caspase 3 in tumor xenografts was detected using immunohistochemistry and Western blot.

RESULTS: Tumor volume and tumor weight were significantly lower in the high dose Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP group ($995.54 \text{ mm}^3 \pm 87.26 \text{ mm}^3$; $0.85 \text{ g} \pm 0.06 \text{ g}$) and low dose Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP group ($1318.32 \text{ mm}^3 \pm 100.68 \text{ mm}^3$; $1.06 \text{ g} \pm 0.07 \text{ g}$) than in the Jianpi Jiedu decoction group ($1967.83 \text{ mm}^3 \pm 178.83 \text{ mm}^3$; $1.71 \text{ g} \pm 0.11 \text{ g}$) and L-OHP group ($1698.46 \text{ mm}^3 \pm 147.61 \text{ mm}^3$; $1.56 \text{ g} \pm 0.12 \text{ g}$) ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Tumor inhibition rate and tumor weight inhibition rate were significantly higher in the high dose Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP group (55.63%; 56.85%) and low dose Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP group (41.25%; 46.19%) than in the Jianpi Jiedu decoction group (12.30%; 13.20%) and L-OHP group (24.31%; 20.81%) ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP significantly increased the expression of Caspase3 protein in tumor xenografts in nude mice compared to other groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$).

CONCLUSION: Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP can inhibit tumor growth of xenografts in nude mice and increase the efficacy of L-OHP possibly by up-regulating the expression of Caspase 3 to promote apoptosis.

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

Key Words: Jianpi Jiedu decoction; Colon carcinoma; Apoptosis; Caspase3

■同行评议者
李康, 教授, 广东药学院药科学院药物分析教研室

Zhang RJ, Yu QY, Xu JH, Sun J, Zhao CG, Fan ZZ. Effects of Jianpi Jiedu decoction on tumor growth and Caspase3 expression in HCT116/L-OHP colon cancer xenografts in nude mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 364-370 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/364.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.364>

摘要

目的: 观察中药健脾解毒方对人结肠癌HCT116/奥沙利铂(oxaliplatin, L-OHP)裸鼠皮下移植瘤化疗的增效作用, 初步探讨其增效的作用机制。

方法: 建立人结肠癌耐奥沙利铂细胞株HCT116/L-OHP裸鼠皮下移植瘤模型, 随机分为空白组、奥沙利铂组、健脾解毒方组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。治疗中测量肿瘤的长径和短径, 根据公式计算瘤体体积, 描绘瘤体生长曲线, 治疗结束后称取瘤质量, 公式计算瘤体抑制率和瘤质量抑制率; 免疫组织化学, Western blot技术检测皮下移植瘤Caspase3的表达。

结果: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组的瘤体体积和瘤质量($995.54 \text{ mm}^3 \pm 87.26 \text{ mm}^3$; $0.85 \text{ g} \pm 0.06 \text{ g}$)及健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组的瘤体体积和瘤质量($1318.32 \text{ mm}^3 \pm 100.68 \text{ mm}^3$; $1.06 \text{ g} \pm 0.07 \text{ g}$)明显低于单用健脾解毒方组($1967.83 \text{ mm}^3 \pm 178.83 \text{ mm}^3$; $1.71 \text{ g} \pm 0.11 \text{ g}$)或奥沙利铂组($1698.46 \text{ mm}^3 \pm 147.61 \text{ mm}^3$; $1.56 \text{ g} \pm 0.12 \text{ g}$), 有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 同时健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组的瘤体抑制率和瘤质量抑制率(55.63%; 56.85%)及健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组的瘤体抑制率和瘤质量抑制率(41.25%; 46.19%)明显高于单用健脾解毒方组(12.30%; 13.20%)或奥沙利铂组(24.31%; 20.81%), 有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 健脾解毒方联合奥沙利铂组均可上调裸鼠皮下移植瘤组织Caspase3蛋白的表达, 有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

结论: 健脾解毒方联合奥沙利铂能抑制裸鼠结肠癌皮下移植瘤的生长, 增加奥沙利铂的疗效, 其增效的机制是通过上调Caspase3的表达而促进细胞凋亡有关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 健脾解毒方; 结肠癌; 凋亡; 半胱天冬酶3

核心提示: 健脾解毒方具有益气健脾、理气解毒之功效, 长期用于胃癌、大肠癌的治疗, 具有改

善患者临床症状、提高生活质量的作用, 本实验显示健脾解毒方联合奥沙利铂能抑制裸鼠结肠癌皮下移植瘤的生长, 增加奥沙利铂的疗效, 其增效的机制是通过上调Caspase3的表达而促进细胞凋亡有关。

张瑞娟, 余倩云, 许建华, 孙珏, 赵成根, 范忠泽. 健脾解毒方对人结肠癌HCT116/L-OHP裸鼠皮下移植瘤的作用及Caspase3表达的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(3): 364-370 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/364.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.364>

0 引言

在西方国家, 结直肠癌无论发病率或死亡率均排列第3位, 男性发病率和死亡率仅次于前列腺癌和肺癌, 女性发病率和死亡率仅次于乳腺癌和肺癌^[1]。2009年我国肿瘤登记地区恶性肿瘤中, 结直肠癌的发病率位居第3位, 死亡率位居第5位^[2]。目前治疗方式有手术、化疗、放疗、靶向治疗、基因治疗、中药治疗等, 中药治疗具有增加放、化疗疗效及减轻其不良反应的优势^[3]。健脾解毒方具有益气健脾、理气解毒之功效, 长期用于胃癌、大肠癌的治疗, 具有改善患者临床症状、提高生活质量的作用^[4,5]。本实验建立人结肠癌耐奥沙利铂(oxaliplatin, L-OHP)细胞株HCT116/L-OHP的皮下移植瘤模型, 观察健脾解毒方联合奥沙利铂对瘤体的影响, 为进一步明确其疗效和作用机制提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 人结肠癌耐奥沙利铂细胞株HCT116/L-OHP为实验室本课题组前期自行诱导, 培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液(含青霉素、链霉素各100 U/mL)中, 37%、50 mL/L CO₂饱和湿度培养箱中常规培养, 培养体系中加入终浓度为5 μg/mL的L-OHP以维持耐药性, 实验在停用L-OHP培养2 wk后取处于对数生长期的细胞经MTT法检测, 对L-OHP的耐药倍数达8.15倍。♂, Balb/c裸小鼠60只, 4-6周龄, 购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 动物许可证号为: SCXK(沪): 2008-0016。常规饲养于上海中医药大学附属普陀医院SPF级动物实验室[动物实验室许可证号: SYXK(沪)2008-0055]。二氧化碳恒温培养箱(CELL240型), 德国贺利氏公司; 倒置显微镜, 日本Olympus公司; 眼科剪、眼科弯镊, 上海器材厂; 950 mL/L乙醇(分析纯), 上海振兴化工厂; 奥沙利铂, 江苏恒瑞医药股份有限公司;

■ 研发前沿

Caspase3是Caspase家族成员中的关键效应酶, 是细胞凋亡的执行蛋白。近年来, Caspase3与结直肠癌的发病关系引起许多学者的高度重视, 同时健脾解毒方治疗结直肠癌的作用机制是否与调控Caspase3有关, 这些都是目前亟待解决的课题。

■相关报道

曾浩然等发现,在正常结肠黏膜、结肠腺瘤及结肠癌组织中,Caspase3的表达阳性率依次降低,说明Caspase3表达缺失在正常结肠黏膜异常增生及癌变的过程中发挥着作用。Larmoinier等对结肠癌组织Caspase3研究显示,其表达缺失同结肠癌的分化程度相关。

甲醇(分析纯),上海振兴化工厂;EDTA, Sigma公司;Caspase3多克隆抗体, Proteintech Group;辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L),上海博谷生物科技有限公司。健脾解毒方由生黄芪30 g、党参15 g、生白术15 g、八月札24 g、薏苡仁30 g、野葡萄藤30 g、红藤30 g、猪苓24 g,由上海中医药大学中药学院水提制备浸膏粉,1 g浸膏粉含生药6.06 g,本实验体内给药根据人与小鼠等效剂量换算公式^[6],健脾解毒方低剂量组为6.71 g/kg,健脾解毒方高剂量组为13.42 g/kg。

1.2 方法

1.2.1 皮下移植瘤的建立:取对数生长期HCT116/L-OHP细胞,将细胞用0.25%胰蛋白酶(trypsin)消化后收集到离心管中,然后用磷酸缓冲液(PBS)分别制成浓度为 2×10^6 /mL的细胞悬液。取4-6周龄 δ , Balb/c, 裸鼠6只,体质量 20 ± 2 g。常规消毒裸鼠右前肢的腋部皮下,用1 mL微量注射器及23号针头吸取HCT116/L-OHP单细胞悬液,确定针头位于裸小鼠右前肢的腋部皮下后,注入0.2 mL制备好的单细胞悬液,术毕酒精棉球压迫穿刺点半分钟,隔离鼠笼内SPF条件下,恒温恒湿饲养。经过12-20 d,待皮下肿瘤生长至直径约100-200 mm左右,选择肿瘤生长旺盛且无破溃的荷瘤鼠,作为供瘤鼠,脱颈椎处死,皮肤予1%碘伏、750 mL/L乙醇消毒,小心用眼科剪剪开皮肤,沿移植瘤包膜小心剥离皮下肿瘤组织,将剥离的移植瘤块于无菌条件下,生理盐水冲洗净表面的血污,去除坏死组织和纤维组织,将瘤体剪碎至 1 mm^3 大小的组织块,在超净工作台下用20号套管针接种于裸小鼠右侧前肢腋部皮下。

1.2.2 分组及给药方式:当肿瘤生长至 $150-300 \text{ mm}^3$ 左右时,选择瘤体生长良好、无自发出血坏死、瘤周无感染病灶的荷瘤鼠50只为实验模型,分别将上述造模裸鼠随机分为5组,每组10只,分别是:A:空白组:腹腔注射蒸馏水,每周一、三、五各1次;生理盐水灌胃,每周一、二、三、四、五各1次;B:奥沙利铂组:腹腔注射奥沙利铂5 mg/kg,每周一、三、五各1次;生理盐水灌胃,每周一、二、三、四、五各1次;C:健脾解毒方组:健脾解毒方高剂量13.42 g/kg灌胃,每周一、二、三、四、五各1次;腹腔注射蒸馏水,每周一、三、五各1次;D:健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组:健脾解毒方低剂量6.71 g/kg灌胃,每周一、二、三、四、五各1次;腹腔注射奥沙利铂5 mg/kg,每周一、三、五各1次;E:健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组:健脾解

毒方高剂量13.42 g/kg灌胃,每周一、二、三、四、五各1次;腹腔注射奥沙利铂5 mg/kg,每周一、三、五各1次。各组给药时间均为4 wk。

1.2.3 肿瘤瘤体抑制率计算:从接种瘤体第1周开始用游标卡尺测量肿瘤体积,描绘各组肿瘤生长曲线及计算瘤体抑制率。肿瘤体积 $V = 1/2ab^2$ (a、b分别表示肿瘤的长径和短径);肿瘤瘤体抑制率 = [(对照组平均瘤体体积-给药组平均瘤体体积)/对照组平均瘤体体积] $\times 100\%$ 。

1.2.4 肿瘤瘤质量抑制率计算:治疗结束后处死裸小鼠,迅速剥离瘤体,称取瘤质量,计算肿瘤瘤质量抑制率。肿瘤瘤质量抑制率 = [(对照组平均瘤质量-给药组平均瘤质量)/对照组平均瘤质量] $\times 100\%$ 。

1.2.5 免疫组织化学SP法检测皮下移植瘤Caspase3的表达:移植瘤组织经甲醛固定,石蜡包埋,4 μm 厚连续切片。每例标本切片3张用于免疫组织化学染色,免疫组织化学采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶(SP)法。Caspase3免疫组织化学染色阳性判断标准:背景清亮,细胞质或/和细胞核着棕黄色颗粒者为阳性细胞。免疫组织化学阳性细胞阳性度强弱用Image Proplus 6.0数码医学图像分析系统定量分析测定,每张切片在200倍光镜下随机观察3个具有代表性的视野,避开非特异性染色区,以积分光密度值(IA/AREA)来表示。

1.2.6 Western blot方法检测Caspase3的表达:皮下移植瘤组织称重后,细胞裂解液(1 mL裂解液中加入PMSF 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$,蛋白酶抑制剂5 $\mu\text{L}/\text{mL}$, DTT 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$)抽提细胞总蛋白,采用试剂盒进行蛋白的定量。制备10%SDS聚丙烯酰胺凝胶,待胶凝固后,上样加至分离胶孔中,边缘孔加入Marker,电泳,半干转膜,转好的膜放入封闭液中封闭,加入一抗,孵育过夜,洗膜,二抗孵育2 h,洗膜,显色,用凝胶成像系统记录结果。Western blot蛋白定量分析用Image J图像处理软件分析测定,以目标A值与内参A值的比值来表示。

统计学处理 采用SPSS16.0统计学软件进行统计学分析,各组数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,方差齐性检验后,采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK-*q*检验,检验标准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 健脾解毒方对裸鼠皮下移植瘤体积和瘤体抑制率的影响 各组随着时间的延长,肿瘤体积

■创新亮点

本实验采用结肠癌Oxaliplatin(L-OHP)耐药细胞HCT116/L-OHP建立裸鼠皮下移植瘤模型, 观察中药健脾解毒方对人结肠癌裸鼠皮下移植瘤化疗的增效作用及对Caspase3蛋白的影响, 初步探讨其增效的作用机制。

表 1 各组裸鼠给药前后瘤体体积及瘤体抑制率比较 (n = 10, mean ± SD)

分组	给药前(mm ³)	给药后(mm ³)	瘤体抑制率(%)
空白组	210.78 ± 20.12	2243.88 ± 200.52 ^{df}	—
奥沙利铂组	208.16 ± 19.23	1698.46 ± 147.61 ^{bf}	24.31
健脾解毒方组	198.52 ± 16.40	1967.83 ± 178.83 ^{cf}	12.30
健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组	209.71 ± 12.98	1318.32 ± 100.68 ^{bce}	41.25
健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组	212.56 ± 19.34	995.54 ± 87.26 ^{bd}	55.63

^bP<0.01 vs 空白组; ^cP<0.05, ^dP<0.01 vs 奥沙利铂组; ^eP<0.05, ^fP<0.01 vs 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。

表 2 各组裸鼠给药后瘤体质量及瘤体质量抑制率比较 (n = 10, mean ± SD)

分组	瘤质量(g)	瘤质量抑制率(%)
空白组	1.97 ± 0.09 ^{df}	—
奥沙利铂组	1.56 ± 0.12 ^{bf}	20.81
健脾解毒方组	1.71 ± 0.11 ^{bf}	13.20
健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组	1.06 ± 0.07 ^{bde}	46.19
健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组	0.85 ± 0.06 ^{bd}	56.85

^bP<0.01 vs 空白组; ^dP<0.01 vs 奥沙利铂组; ^eP<0.05, ^fP<0.01 vs 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。

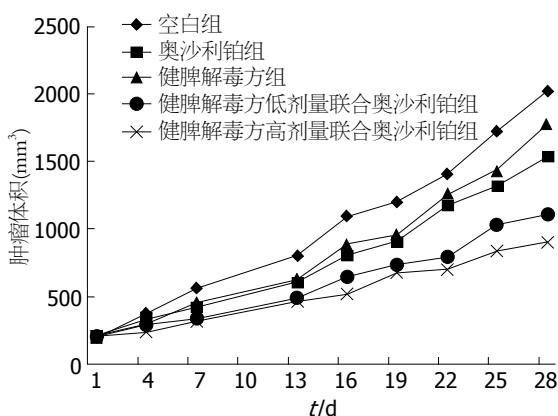


图 1 各组裸鼠瘤体体积的生长曲线。

均增加, 但治疗结束后, 肿瘤体积由大到小为: 空白组、健脾解毒方组、奥沙利铂组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组; 瘤体抑制率由高到低为: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、奥沙利铂组、健脾解毒方组, 提示健脾解毒方能抑制裸鼠结肠癌皮下移植瘤的生长, 并且联合用药可以增加L-OHP的疗效(表1, 图1)。

2.2 健脾解毒方对裸鼠皮下移植瘤质量及瘤质量抑制率的影响 各组裸鼠皮下移植瘤瘤质量由

大到小为: 空白组、健脾解毒方组、奥沙利铂组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组; 瘤质量抑制率由高到低为: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、奥沙利铂组、健脾解毒方组, 提示健脾解毒方能抑制裸鼠结肠癌皮下移植瘤的瘤质量, 并且联合用药可以增加L-OHP的疗效(表2)。

2.3 健脾解毒方对裸鼠皮下移植瘤Caspase3的影响

2.3.1 免疫组织化学结果显示: 免疫组织化学结果显示健脾解毒方组、奥沙利铂组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组皮下移植瘤组织Caspase3蛋白的表达均高于空白组; 而健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组和健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组Caspase3蛋白的表达均高于L-OHP组, 提示健脾解毒方可以上调裸鼠皮下移植瘤组织Caspase3蛋白的表达, 通过协同L-OHP促进细胞凋亡而增加疗效(表3, 图2)。

2.3.2 Western blot结果: 结果显示健脾解毒方组、奥沙利铂组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组皮下移植瘤组织Caspase3蛋白的表达均高于空白组; 而健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组和健脾解毒

■应用要点

本研究证实健脾解毒方可协同L-OHP增加疗效,其增效的机制是通过上调Caspase3的表达而促进细胞凋亡,本实验为中药治疗肿瘤的作用机制提供实验理论依据。

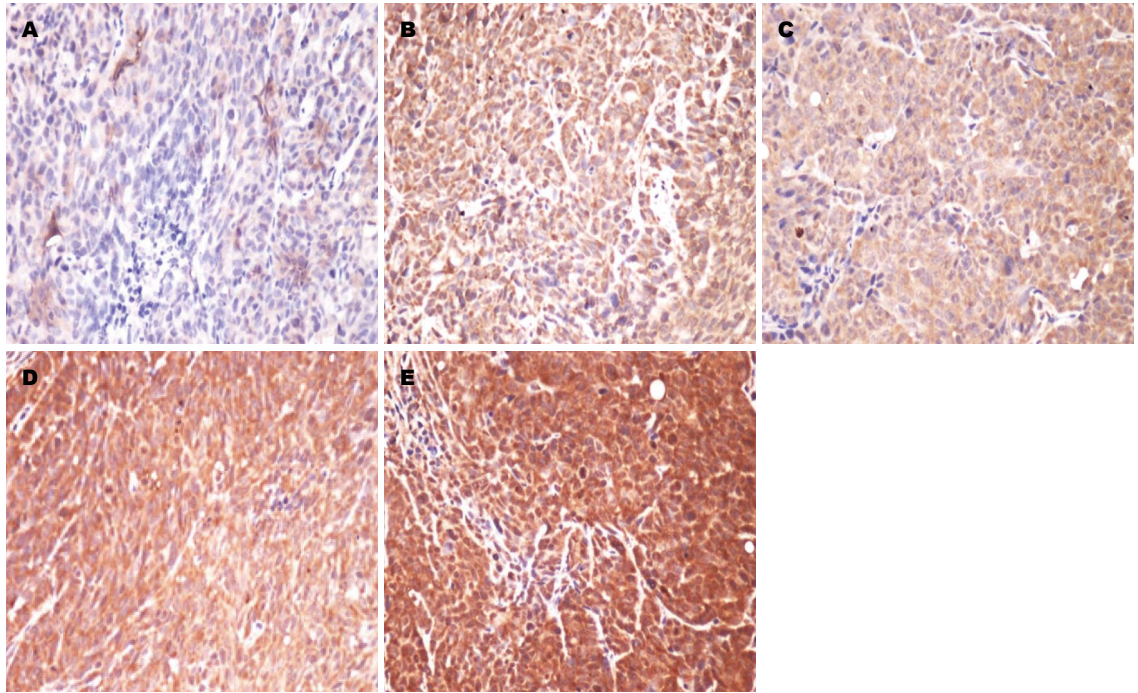


图2 各组裸鼠皮下移植瘤Caspase3蛋白表达(SP法×200)。A: 空白组; B: 奥沙利铂组; C: 健脾解毒方组; D: 健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组; E: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。

表3 各组裸鼠皮下移植瘤Caspase3蛋白表达 (SP法×200)

分组	积分光密度值(I4/AREA)
空白组	0.00003300 ± 0.000002008 ^{df}
奥沙利铂组	0.06104333 ± 0.006085834 ^{bf}
健脾解毒方组	0.03190767 ± 0.000733508 ^{acf}
健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组	0.09773533 ± 0.004860125 ^{bce}
健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组	0.12683300 ± 0.036383126 ^{bd}

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 空白组; ^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01 vs 奥沙利铂组; ^e*P*<0.05, ^f*P*<0.01 vs 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。

表4 各组裸鼠皮下移植瘤Caspase3蛋白表达 (Western blot)

分组	蛋白相对表达量
空白组	0.498849 ± 0.03 ^{df}
奥沙利铂组	0.6741536 ± 0.04 ^{bf}
健脾解毒方组	0.6352034 ± 0.03 ^{af}
健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组	1.219087 ± 0.08 ^{bde}
健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组	1.378966 ± 0.1 ^{bd}

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 空白组; ^c*P*<0.01 vs 奥沙利铂组; ^d*P*<0.05, ^e*P*<0.01 vs 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。

方高剂量联合奥沙利铂组Caspase3蛋白的表达均高于L-OHP组,提示健脾解毒方可以上调裸鼠皮下移植瘤组织Caspase3蛋白的表达,通过协同L-OHP促进细胞凋亡而增加疗效(表4,图3,4)。

3 讨论

近年来,我国结直肠癌的发病率逐年升高,结直肠癌的5年生存率一直徘徊在50%左右,手术后仍有40%-50%患者出现复发转移,化疗就

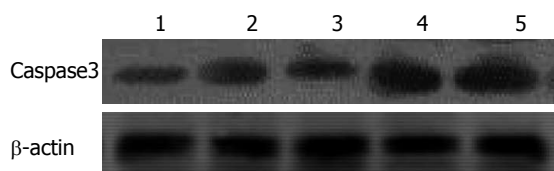


图3 各组裸鼠皮下移植瘤Caspase3蛋白表达(Western blot). 1: 空白组; 2: 奥沙利铂组; 3: 健脾解毒方组; 4: 健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组; 5: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组.

成为治疗结直肠癌的主要手段^[7]. 奥沙利铂是继卡铂、顺铂后的第3代铂类抗肿瘤药, 2012年美国国家综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)肿瘤学临床实践指南仍指出奥沙利铂是目前治疗结肠癌化疗的标准药物^[8]. 健脾解毒方由生黄芪、党参、生白术、八月札、薏苡仁、野葡萄藤、红藤、猪苓组成, 全方具有健脾理气、燥湿解毒之功, 临床应用健脾解毒方对晚期结直肠癌以L-OHP联合5-氟尿嘧啶(5-Fu)、甲酰四氢叶酸钙(CF)的FOLF-FOX4方案化疗有增加近期疗效, 提高生活质量, 减少不良反应的作用, 对化疗取得部分缓解的患者有延长中位生存期的作用, 研究组的中位生存期为13.6 mo, 而对照组为10.2 mo($P<0.05$); 研究组的1年生存率也优于对照组, 分别为80.9%和50.0%($P<0.05$)^[4].

Caspase3是属于半胱氨酸蛋白酶家族成员, 在1994年由Fernandez-Ahemri等在Jurkat T细胞系克隆到的一种编码分子量为32 kDa的半胱氨酸蛋白酶而称之为CPP32(cysteine protease protein 32)基因, 在1996年被命名为Caspase3^[9]. Caspase家族蛋白酶的激活在细胞凋亡过程中起着重要作用, 而Caspase3是Caspase家族成员中的关键效应酶, 他是细胞凋亡的执行蛋白, 因此与细胞凋亡关系十分密切, 参与多种因素诱导的细胞凋亡. 细胞凋亡现象的发生可以通过细胞外途径接受细胞外环境中肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、Fas等细胞凋亡信号的激活, 使线粒体释放细胞色素C, 或直接作用Caspase3引起细胞凋亡级联反应诱导凋亡, 或者细胞内的死亡信号, 如DNA损伤、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)耗竭等均可导致线粒体释放细胞色素C, 与半胱天冬酶9(Caspase9)酶原结合形成凋亡复合体, Caspase9被激活, 激活下游的Caspase3使细胞凋亡^[10,11]. Caspase3广泛表达于正常人体组织及肺癌、胃癌、大肠癌、壶腹癌、乳腺癌等多种肿瘤组织中^[12-16]. 有研究发现, 在

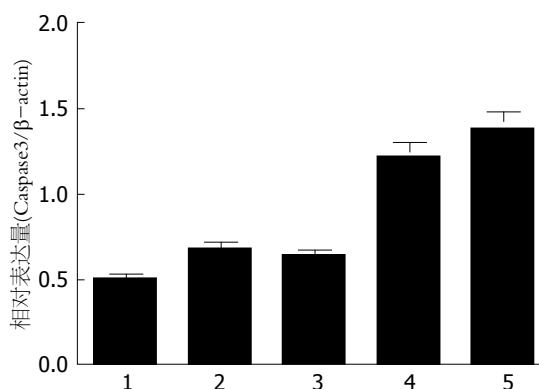


图4 各组裸鼠皮下移植瘤Caspase3蛋白表达(Western blot). 1: 空白组; 2: 奥沙利铂组; 3: 健脾解毒方组; 4: 健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组; 5: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组.

同行评价

本研究采用健脾解毒方治疗结直肠癌并取得一定进展, 具有一定的理论和临床应用价值.

正常结肠黏膜、结肠腺瘤及结肠癌组织中, Caspase3的表达阳性率依次降低, 说明Caspase3表达缺失在正常结肠黏膜异常增生及癌变的过程中发挥着重要作用^[17,18]. 并且通过对结肠癌组织Caspase3蛋白表达研究显示, Caspase3蛋白的表达缺失同结肠癌的分化程度相关^[19].

本实验应用健脾解毒方联合L-OHP对裸鼠人结肠癌耐L-OHP细胞HCT116/L-OHP的皮下移植瘤模型给予干预处理, 结果表明: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组的瘤体体积和瘤质量($995.54 \text{ mm}^3 \pm 87.26 \text{ mm}^3$; $0.85 \text{ g} \pm 0.06 \text{ g}$)及健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组的瘤体体积和瘤质量($1318.32 \text{ mm}^3 \pm 100.68 \text{ mm}^3$; $1.06 \text{ g} \pm 0.07 \text{ g}$)明显低于单用健脾解毒方组($1967.83 \text{ mm}^3 \pm 178.83 \text{ mm}^3$; $1.71 \text{ g} \pm 0.11 \text{ g}$)或奥沙利铂组($1698.46 \text{ mm}^3 \pm 147.61 \text{ mm}^3$; $1.56 \text{ g} \pm 0.12 \text{ g}$), 有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 同时健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组的瘤体抑制率和瘤质量抑制率(55.63%; 56.85%)及健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组的瘤体抑制率和瘤质量抑制率(41.25%; 46.19%)明显高于单用健脾解毒方组(12.30%; 13.20%)或奥沙利铂组(24.31%; 20.81%), 有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 健脾解毒方联合奥沙利铂组均可上调裸鼠皮下移植瘤组织Caspase3蛋白的表达, 有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$). 结果提示健脾解毒方可协同L-OHP增加疗效, 其增效的机制是通过上调Caspase3的表达而促进细胞凋亡, 本实验为中药治疗肿瘤的作用机制提供了实验理论依据.

参考文献

- 1 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T,

- Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 71-96 [PMID: 18287387 DOI: 10.3322/CA.2007.0010]
- 2 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 曾红梅, 邹小农, 赵平, 吴良有, 李光琳, 赫捷. 中国2009年恶性肿瘤发病和死亡分析. *中国肿瘤* 2013; 22: 2-12
 - 3 张贝克, 白松. 大肠癌治疗进展. *中国老年保健医学* 2013; 11: 42-45
 - 4 张勇, 许建华, 孙珏, 朱晏伟, 李朝衡, 鲍文磊, 梁芳, 孙晓文, 郭刚. 健脾解毒方联合FOLFOX4方案治疗晚期结肠直肠癌临床研究. *环球中医药* 2010; 3: 117-120
 - 5 张晓晓, 孙珏, 许建华, 张勇, 梁芳, 盛艺明, 李炜. 健脾解毒汤联合化疗对胃癌术后患者的影响. *上海中医药杂志* 2012; 46: 78-79, 94
 - 6 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 郑青山, 孙瑞元. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算. *中国临床药理学与治疗学* 2004; 9: 1069-1072
 - 7 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]
 - 8 潘海霞, 任刚, 胡洪林, 邓春美, 邓颖, 朱学强, 杨兰, 敖睿, 刘浩. FOLFOX4方案治疗晚期大肠癌近期疗效分析. *实用医院临床杂志* 2008; 5: 65-67
 - 9 Suzuki A, Iwasaki M, Wagai N. Involvement of cytoplasmic serine proteinase and CPP32 subfamily in the molecular machinery of caspase 3 activation during Fas-mediated apoptosis. *Exp Cell Res* 1997; 233: 48-55 [PMID: 9184075 DOI: 10.1006/excr.1997.3546]
 - 10 Stennicke HR, Jürgensmeier JM, Shin H, Devaux Q, Wolf BB, Yang X, Zhou Q, Ellerby HM, Ellerby LM, Bredesen D, Green DR, Reed JC, Froelich CJ, Salvesen GS. Pro-caspase-3 is a major physiologic target of caspase-8. *J Biol Chem* 1998; 273: 27084-27090 [PMID: 9765224 DOI: 10.1074/jbc.273.42.27084]
 - 11 Anichini A, Mortarini R, Sensi M, Zanon M. APAF-1 signaling in human melanoma. *Cancer Lett* 2006; 238: 168-179 [PMID: 16095810 DOI: 10.1016/j.canlet.2005.06.034]
 - 12 Zhao Y, Li XJ, Sui X, Tang XJ, Qin H, Ren H. [Expression and significance of PCNA and Caspase-3 in the tissue of lung cancer]. *Xibao Yu fenzi Mianyixue Zazhi* 2010; 26: 154-156 [PMID: 20230677]
 - 13 Xiao LJ, Zhao S, Zhao EH, Zheng X, Gou WF, Takano Y, Zheng HC. Clinicopathological and prognostic significance of Ki-67, caspase-3 and p53 expression in gastric carcinomas. *Oncol Lett* 2013; 6: 1277-1284 [PMID: 24179508 DOI: 10.3892/ol.2013.1532]
 - 14 刘轩, 李荣, 郭守俊, 曾红学. Bag-1和Caspase-3在大肠癌中的表达及临床意义. *实用癌症杂志* 2012; 27: 562-564
 - 15 Xue D, Zuo K, Li X, Zhang T, Chen H, Cheng Y, Chen Y. Expression and prognostic significance of livin, caspase-3, and ki-67 in the progression of human ampullary carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2013; 21: 525-531 [PMID: 23343959 DOI: 10.1097/PAL.0b013e31827da412]
 - 16 dos Passos FS, Cuenca RM, Malafaia O, Ribas-Filho JM, Czezczo NG, Nassif PA, Ribas CA. [Cytophotometric expressions of CASPASE-3 and CD-34 in breast cancer]. *Rev Col Bras Cir* 2009; 36: 406-412 [PMID: 20069152 DOI: 10.1590/S0100-69912009000500008]
 - 17 曾浩然, 刘学勇, 陈德志, 张红欣, 程敏, 张山, 万祖安. Caspase-3基因在大肠癌、大肠腺瘤中的表达及其与细胞凋亡的关系. *中国厂矿医学* 2008; 21: 515
 - 18 董晓彤, 黄莹, 李巍, 单伟颖, 郑继宁, 陈健. Caspase3、Bcl-2的表达在结肠癌诊断中的临床意义. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 3281-3285
 - 19 Larmonier CB, Arnould L, Larmonier N, Baumann S, Moutet M, Saint-Giorgio V, Pance A, Jeannin JF. Kinetics of tumor cell apoptosis and immune cell activation during the regression of tumors induced by lipid A in a rat model of colon cancer. *Int J Mol Med* 2004; 13: 355-361 [PMID: 14767564]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



NBI诊断Barrett食管伴特殊肠化生的临床价值

齐艳荣, 高建新, 钱晶瑶, 王文静, 贾卫江, 王邦茂

齐艳荣, 天津医科大学 天津大港油田总医院消化科 天津市 300280
高建新, 钱晶瑶, 王文静, 贾卫江, 天津大港油田总医院消化科 天津市 300280
王邦茂, 天津总医院消化科 天津市 300052
齐艳荣, 主治医师, 主要从事消化内科和消化内镜的研究。
作者贡献分布: 此课题由王邦茂与齐艳荣设计; 研究过程由齐艳荣、高建新及钱晶瑶完成; 数据处理由王文静与贾卫江完成; 论文写作由齐艳荣完成。
通讯作者: 王邦茂, 教授, 300052, 天津市和平区鞍山道52号, 天津总医院消化科, gi.tmuh@sohu.com
收稿日期: 2013-10-07 修回日期: 2013-11-11
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-28

Narrow-band imaging endoscopy for diagnosis of specialized intestinal metaplasia in Barrett's esophagus

Yan-Rong Qi, Jian-Xin Gao, Jing-Yao Qian, Wen-Jing Wang, Wei-Jiang Jia, Bang-Mao Wang

Yan-Rong Qi, Tianjin Medical University, Department of Gastroenterology, Dagang Oil Field General Hospital, Tianjin 300280, China
Jian-Xin Gao, Jing-Yao Qian, Wen-Jing Wang, Wei-Jiang Jia, Department of Gastroenterology, Dagang Oil Field General Hospital, Tianjin 300280, China
Bang-Mao Wang, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China
Correspondence to: Bang-Mao Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, 52 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. gi.tmuh@sohu.com
Received: 2013-10-07 Revised: 2013-11-11
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To evaluate the role of narrow-band imaging (NBI) endoscopy in diagnosis of specialized intestinal metaplasia (SIM) in Barrett's esophagus (BE).

METHODS: From January to December 2012, a total of 47 patients endoscopically diagnosed with BE were enrolled. They underwent both ordinary endoscopy and NBI endoscopy. The image quality of the two kinds of endoscopies was compared. The pit patterns and capillary forms of BE were observed by narrow-band imaging

system with magnifying endoscopy (NBI-ME). The BE mucosal pit pattern was classified based on Goda type and biopsies from the abnormal regions were taken. The detection rate of SIM was calculated.

RESULTS: Visualization of squamo-columnar epithelium and observation of pit patterns and epithelium capillary by NBI were much clearer than by ordinary endoscopy. The accuracy, sensitivity and specificity of NBI based on Goda type for diagnosis of SIM were 92%, 85% and 94%, respectively.

CONCLUSION: NBI can not only capture the optimal images of BE, but also show the pit pattern and capillary form. NBI can improve the detection rate of SIM.

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

Key Words: Narrow-band imaging; Barrett's esophagus; Specialized intestinal metaplasia

Qi YR, Gao JX, Qian JY, Wang WJ, Jia WJ, Wang BM. Narrow-band imaging endoscopy for diagnosis of specialized intestinal metaplasia in Barrett's esophagus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 371-374 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/371.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.371>

摘要

目的: 探讨内镜窄带成像技术(narrow-band imaging, NBI)对诊断Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)伴特殊肠上皮化生(specialized intestinal metaplasia, SIM)的临床应用价值。

方法: 选择2012-01/2012-12经胃镜检查诊断为内镜BE的患者47例,按普通内镜、NBI顺序进行观察,对图像的清晰度进行比较;放大观察BE黏膜的腺管开口形态及浅表毛细血管结构形态,并对腺管开口形态进行Goda分型,于改变最显著部位取活检进行病理检查,将诊断结果与最终病理诊断结果进行对比分析,统计SIM检出率。

结果: 两者对鳞-柱状上皮交界处病变轮廓、BE

■背景资料

近年来,食管腺癌发病率逐年上升,预后差,Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)伴特殊肠上皮化生(specialized intestinal metaplasia, SIM)作为其公认的癌前病变,越来越受到关注,如何早期发现及干预成为研究热点。内镜窄带成像技术(narrow band imaging, NBI)作为一种新兴技术,在临床中显示出了优越性,有望成为替代传统四象限法的方法之一。

■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

本文研究提示NBI对BE病变轮廓、黏膜腺管开口及浅表毛细血管结构形态显示更加清晰,能进一步提高BE伴SIM的检出率。但目前国内NBI,尤其是NBI-ME的临床应用时间相对较短,缺乏大规模的临床随机对照试验,且NBI-ME下BE的血管形态分类尚无统一标准,其临床价值尚需进一步大样本研究。

黏膜的腺管开口形态及毛细血管结构的显示有统计学差异,NBI明显优于普通内镜。NBI下根据Goda分型,其IV型及V型检出SIM的准确性、敏感性、特异性分别达92%、85%及94%。

结论: NBI对病变轮廓、BE黏膜腺管开口及浅表毛细血管结构形态显示更加清晰,能提高SIM的检出率,具有良好的临床实用价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 内镜窄带成像技术; Barrett食管; 肠上皮化生

核心提示: 本研究对Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)病灶在普通白光模式及内镜窄带成像技术(narrow band imaging, NBI)模式下观察,发现NBI对病变轮廓、BE黏膜腺管开口及浅表毛细血管结构形态显示更加清晰,能提高特殊肠上皮化生(specialized intestinal metaplasia)的检出率,且操作简便,患者痛苦减少,具有良好的临床实用价值。

齐艳荣, 高建新, 钱晶瑶, 王文静, 贾卫江, 王邦茂. NBI诊断Barrett食管伴特殊肠化生的临床价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 371-374 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/371.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.371>

0 引言

Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)是由英国胸外科医生Norman Barrett于1950年首先报告提出,并以他的名字命名。BE是指食管下段的复层鳞状上皮被单层柱状上皮替代的一种病理现象,伴或不伴肠上皮化生,而特殊肠上皮化生(specialized intestinal metaplasia, SIM)属于食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC)的癌前病变。随着EAC发病率的逐年升高,做为其明确危险因素BE伴SIM的发病率也呈上升趋势^[1]。因此早期发现早期干预对降低EAC的发病率具有重要意义^[2]。

内镜窄带成像技术(narrow band imaging, NBI)是一种近年来使用的新兴内镜下成像诊断技术,本研究对内镜诊断为BE的患者先后行普通内镜模式及NBI模式进行观察,并与病理结果对比,旨在探讨NBI在BE伴SIM诊断中的临床应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-01/2012-12经胃镜检查诊断为BE患者47例,其中男30例,女17例,年龄23-70岁,中位年龄51岁。根据BE形态分型:岛型(39处),舌型(16处),全周型(1处)。所有患者均采

用日本奥林巴斯公司生产的OLYMPUS GIF-H260Z放大内镜及CV-260SL电子处理器和CLV-260SL NBI氙气冷光源系统进行检查。

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 检查前禁食6-8 h,向患者详细了解病史及检查原因,解释操作过程,尽量消除患者的紧张心理,所有患者均签署特殊检查知情同意书。排除标准:食管狭窄、食管下段癌、贲门癌累及食管下段及贲门癌术后等。进镜前常规服用盐酸利多卡因胶浆10 mL做咽喉部局部麻醉。

1.2.2 操作步骤: 患者由一名高年资内镜医师进行操作,首先完成普通胃镜全程检查,记录结果并保存图像。完毕后将内镜置于食管下端鳞-柱状上皮交界处,按照普通内镜模式、NBI模式进行观察:(1)BE与正常食管交界处,对图像清晰度进行评分;(2)放大观察BE腺管开口形态与毛细血管结构,顺序为:普通内镜放大、窄带成像联合放大内镜(narrow band imaging system with magnifying endoscopy, NBI-ME);(3)对BE上皮的腺管开口进行分型,于改变最异常的部位进行定向取检,与病理结果进行对比。

1.2.3 对图像的评价: 由操作医师和另一名内镜医师共同对图片进行分析,对鳞-柱状上皮交界处轮廓、BE病灶腺管开口形态、毛细血管结构清晰度进行评分:看不清:1分;模糊可见:2分;较清晰:3分;非常清晰:4分。腺管开口类型采用Goda分型^[3]。BE黏膜的腺管开口形态及毛细血管结构形态分为5型:1型圆点或椭圆形,2型为长分支形,3型为指状或叶片状绒毛样形,4型为脑回形,5型为不规则形。血管形态分为I-V型:I型为蜂窝状,II型为藤状,III型为卷曲状,IV型为常青藤型,V型为不规则形。

1.2.4 常规内镜BE诊断标准: 食管胃交界处齿状线明显上移或消失,即食管黏膜被橘红色柱状上皮黏膜代替。其形态可为全周型、舌型和岛型。经病理学证实,活检组织中存在柱状上皮即可确诊BE^[4]。

统计学处理 统计分析采用SPSS13.0统计软件进行分析,统计学方法采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NBI与普通内镜图像清晰度比较 NBI与普通内镜图像相比,两者对鳞-柱状上皮交界处病变轮廓、BE黏膜的腺管开口形态及毛细血管结构的显示差异有统计学意义($P<0.01$),NBI明显优

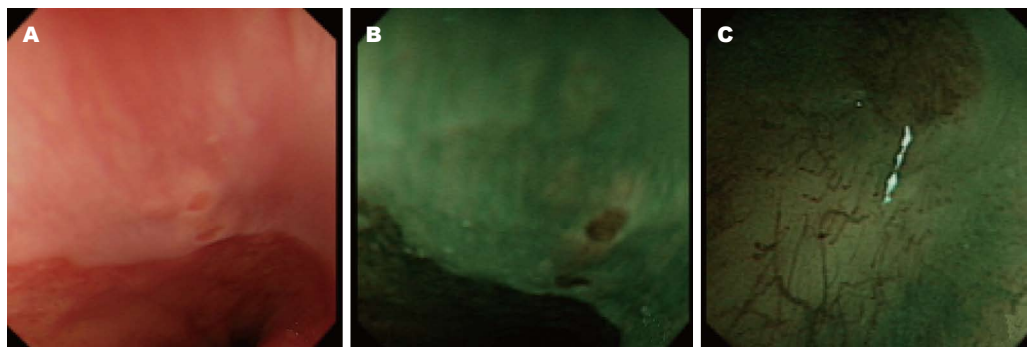


图 1 岛型Barrett食管不同模式内镜下的表现. A: 普通白光模式. 食管右侧壁齿状线近端可见2处岛状橘红色黏膜. B: 内镜窄带成像技术模式. 褐色区域是可疑病变, 而正常黏膜, 则表现为绿色. 病灶清晰显示; C: 窄带成像联合放大内镜模式. 可清晰显示腺管开口形态及浅表毛细血管结构形态.

■ 相关报道
NBI内镜自2004年被Hamamoto等首次用于BE诊断以来, 其在诊断BE方面的优势日渐明显. 许多文献报道了NBI对BE诊断的优越性. 另外, 也有一些文献报道了FICE、复方碘染色、乙酸染色等检查对BE的诊断价值.

表 1 内镜窄带成像技术与普通内镜图像清晰度比较 (n)

观察项目及检查方法	1分	2分	3分	4分	总分
鳞柱状上皮交界处					
普通内镜	3	24	20	0	111
内镜窄带成像技术	0	0	3	44	185
腺管开口形态					
普通内镜放大	6	41	0	0	88
窄带成像联合放大内镜	0	0	23	24	165
毛细血管结构					
普通内镜放大	3	43	1	0	92
窄带成像联合放大内镜	0	0	23	24	165

于普通内镜(表1).

2.2 NBI与普通内镜发现BE病灶数目比较 根据BE黏膜形态可分为岛型、舌型和全周型, 47例由普通内镜模式诊断为BE患者, 发现56处病灶, 其中岛型39处, 舌型16处, 全周型1处; 而转换为NBI模式后, 发现了78处病灶, 其中岛型58处, 舌型19处, 全周型1处. 在不同类型的病灶中, 岛型病灶在NBI模式下的检出率明显高于普通内镜 ($P < 0.05$), 且清晰度明显高于普通内镜模式(图1).

2.3 NBI-ME模式下腺管开口形态与病理检出SIM关系 根据Goda分型将BE上皮腺管开口分为5型, 47例BE患者中 I型6例, II型11例, 这两型中均未发现SIM, III型17例, 其中2例病理检出SIM, IV型8例, 病理检出SIM6例, V型5例, 病理证实均存在SIM, 结果显示IV型及V型腺管开口检出SIM的准确性为92%, 特异性及敏感性分别为94%及85%, 阳性预测值、阴性预测值分别为85%、94%, 阳性似然比、阴性似然比分别为14.4和0.

3 讨论

BE病理分为3型: 胃底型、贲门型和肠上皮化生

型. 而特殊肠化生型(SIM)又称为III型肠化生或不完全小肠化生型, 表面有微绒毛和隐窝, 杯状细胞是其特征性细胞. 多项研究显示, BE伴SIM与EAC关系密切, 是与EAC高度相关的癌前病变^[5,6]. 我国是食管癌的高发区, 其中鳞状细胞癌约占90%, 少数为EAC, 后者多起源于BE或食管异位胃黏膜的柱状上皮^[7]. BE作为一种公认的癌前病变, 其EAC发生率较正常人高30-50倍^[8]. 近年来, 在一些西方国家, 胃贲门部及食管下段腺癌的发病率明显增加, 病死率高, 且预后极差, 其5年生存仅为13%左右^[9,10]. 研究发现, BE癌变通常经历SIM-低度异型增生-高度异型增生-原位癌-浸润性腺癌^[11,12]. 故早期诊治BE伴SIM至关重要.

长期以来把常规内镜加病理活检, 做为诊断BE的主要方法, 传统的四象限活检法是诊断和监测BE的主要标准^[13]. 但此法存在取材部位盲目、活检数目过多、重复活检后出血影响视野观察等缺点, 从而影响其活检的精确度, 且随机取样, 存在取样误差, 故诊断价值有限^[14]. 为提高BE检出率, 以往还经常采用色素内镜检查, 如复方碘溶液染色, 但因碘溶液含乙醇, 会刺激黏膜, 可能导致胸骨后疼痛、不适、化学性食管炎、喉炎、支气管肺炎^[15], 而且对于食管入口、颈段食管及下咽部均无法应用碘染色观察, 因而它的应用受到限制. 而NBI则无上述弊端.

NBI利用滤光器对红、绿、蓝3种不同波长的光进行窄化, 仅留下415、540和600 nm波长的窄带光波, 使光线主要集中在黏膜表层, 降低了光的散射, 使图像更加清晰. 由于血红蛋白吸收的波长在415 nm左右, 所以蓝光可以很好地被血红蛋白吸收, 从而能更清晰地显示消化道黏膜表面的微细腺管形态及微血管形态^[16]. NBI内镜自2004年被Kuznetsov等^[17]首次用于BE诊断以来, 其

■同行评价

本文详细阐述了BE的分型及镜下表现,尤其是BE伴SIM, NBI模式显示了其优越性,提高了临床对该病的认识,对提高检出率,降低食管腺癌(esophagcal adenocarcinoma)发病率起到积极作用。

在诊断BE方面的优势日渐明显。NBI操作简便,通过一个按钮即可与普通内镜进行模式转换。在本研究中,我们对47例BE患者进行普通内镜及NBI模式观察,通过对比发现, NBI模式对鳞柱状上皮交界处轮廓的清晰度明显优于普通内镜, NBI-ME能更清晰观察到BE黏膜腺管开口形态及浅表毛细血管结构形态,具有绝对优势, 指导镜下靶向活检,明显提高BE伴SIM的检出率, IV型及V型腺管开口检出SIM的准确性为92%, 特异性及敏感性分别为94%及85%。这与Singh等^[18]通过前瞻对照研究得出的结论相似。另据Singh等^[19]文献报道, NBI-ME对重度异型增生及早期癌变病灶的识别也具优势, 其敏感性可达94%-100%, 而特异性为76%-99%, 此类病灶会出现腺管开口形态和毛细血管结构形态的不规则改变。

总之, NBI不需染料即可实现对病变部位的“电子染色”, 无色素内镜的合并症, 能更清晰地显示黏膜表面形态和微血管结构, 结合放大功能对病变的微细结构进行更细致的观察, 进一步提高了BE伴SIM的检出率, 在临床实践中势必会得到越来越广泛的应用。本研究的病例数较少, 且为开放性研究, 尚需进一步的样本量更大、设计更加良好的研究予以证实。目前国内NBI, 尤其是NBI-ME的临床应用时间相对较短, 缺乏大规模的临床随机对照试验, 且NBI-ME下BE的血管形态分类尚无统一标准, 其临床价值尚需进一步大样本研究。

4 参考文献

- Zhang Y. Epidemiology of esophageal cancer. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 5598-5606 [PMID: 24039351 DOI: 10.3748/wjg.v19.i34.5598]
- 史学森, 王立金, 郝慧菁, 王丽娟, 张永玉, 马春玉. 反流性食管炎、Barrett食管和食管腺癌的研究. *胃肠病学* 2010; 15: 233-236
- Goda K, Tajiri H, Ikegami M, Urashima M, Nakayoshi T, Kaise M. Usefulness of magnifying endoscopy with narrow band imaging for the detection of specialized intestinal metaplasia in columnar-lined esophagus and Barrett's adenocarcinoma. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 36-46 [PMID: 17185078 DOI: 10.1016/j.gie.2006.03.938]
- 中华医学会消化病学分会. Barrett食管诊治共识. *中华消化内镜杂志* 2011; 28: 421
- Wu X, Ajani JA, Gu J, Chang DW, Tan W, Hildebrandt MA, Huang M, Wang KK, Hawk E. MicroRNA expression signatures during malignant progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Cancer Prev Res (Phila)* 2013; 6: 196-205 [PMID: 23466817 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-12-0276]
- De Palma GD. Management strategies of Barrett's esophagus. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6216-6225 [PMID: 23180941 DOI: 10.3748/wjg.v18.i43.6216]
- 陆再英, 钟南山. 内科学. 第7版. 北京: 北京人民卫生出版社, 2010: 376-377
- 甄云飞, 曲海霞, 王清. Ghrelin在食管腺癌、Barrett's食管黏膜中的表达. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 781-783
- Wang KK, Sampliner RE. Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 788-797 [PMID: 18341497 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01835.x]
- Switzer-Taylor V, Schlup M, Lübcke R, Livingstone V, Schultz M. Barrett's esophagus: a retrospective analysis of 13 years surveillance. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1362-1367 [PMID: 18205769 DOI: 0.1111/j.1440-1746.2008.05311.x]
- Zhang HY, Spechler SJ, Souza RF. Esophageal adenocarcinoma arising in Barrett esophagus. *Cancer Lett* 2009; 275: 170-177 [PMID: 18703277 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.07.006]
- Pohl H, Wrobel K, Bojarski C, Voderholzer W, Sonnenberg A, Rösch T, Baumgart DC. Risk factors in the development of esophageal adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 200-207 [PMID: 23247577 DOI: 10.1038/ajg.2012.387]
- Ajumobi A, Bahjri K, Jackson C, Griffin R. Surveillance in Barrett's esophagus: an audit of practice. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1615-1621 [PMID: 19669878 DOI: 10.1007/s10620-009-0917-y]
- Yantiss RK. Diagnostic challenges in the pathologic evaluation of Barrett esophagus. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134: 1589-1600 [PMID: 21043812 DOI: 10.1043/2009-0547-RAR1.1]
- Ide E, Carneiro FO, Frazão MS, Chaves DM, Salum RA, de Moura EG, Sakai P, Ceconello J, Maluf-Filho F. Endoscopic Detection of Early Esophageal Squamous Cell Carcinoma in Patients with Achalasia: Narrow-Band Imaging versus Lugol's Staining. *J Oncol* 2013; 2013: 736756 [PMID: 23935622 DOI: 10.1155/2013/736756]
- Savarino E, Corbo M, Dulbecco P, Gemignani L, Giambruno E, Mastracci L, Grillo F, Savarino V. Narrow-band imaging with magnifying endoscopy is accurate for detecting gastric intestinal metaplasia. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2668-2675 [PMID: 23674874 DOI: 10.3748/wjg.v19.i17.2668]
- Kuznetsov K, Lambert R, Rey JF. Narrow-band imaging: potential and limitations. *Endoscopy* 2006; 38: 76-81 [PMID: 16429359 DOI: 10.1055/s-003-1239-z]
- Singh R, Karageorgiou H, Owen V, Garsed K, Fortun PJ, Fogden E, Subramaniam V, Shonde A, Kaye P, Hawkey CJ, Ragnath K. Comparison of high-resolution magnification narrow-band imaging and white-light endoscopy in the prediction of histology in Barrett's oesophagus. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 85-92 [PMID: 18821132 DOI: 10.1080/00365520802400818]
- Singh R, Mei SC, Sethi S. Advanced endoscopic imaging in Barrett's oesophagus: a review on current practice. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4271-4276 [PMID: 22090782 DOI: 10.3748/wjg.v17.i38.4271]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



胸腹腔镜联合下食管癌切除术与开放手术疗效对比的Meta分析

王晓骏, 张铸, 孙清超

王晓骏, 张铸, 孙清超, 新疆医科大学第一附属医院胸外科
新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
王晓骏, 住院医师, 主要从事食管癌的治疗。
作者贡献分布: 本文设计、研究过程由王晓骏、张铸及孙清超
操作完成; 数据分析及写作由王晓骏完成; 张铸审校。
通讯作者: 张铸, 教授, 主任医师, 830054, 新疆维吾尔自治区乌
鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院胸外科。
zhangzhuxj@163.com
电话: 0991-4361528
收稿日期: 2013-10-23 修回日期: 2013-12-05
接受日期: 2013-12-12 在线出版日期: 2014-01-28

Combined thoracoscopic-laparoscopic esophagectomy versus open esophagectomy for esophageal cancer: A systematic review and meta-analysis

Xiao-Jun Wang, Zhu Zhang, Qing-Chao Sun

Xiao-Jun Wang, Zhu Zhang, Qing-Chao Sun, Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to: Zhu Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zhangzhuxj@163.com
Received: 2013-10-23 Revised: 2013-12-05
Accepted: 2013-12-12 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To evaluate the effects of combined thoracoscopic-laparoscopic esophagectomy (TLE) versus open esophagectomy (OE) in the management of esophageal cancer.

METHODS: Eligible studies were identified from electronic databases including Medline, Embase, OVID, Cochrane Library, Springerlink, CNKI, WanFang Data and VIP. We screened the retrieved literature according to the inclusion and exclusion criteria and performed a Meta-analysis with the software RevMan 5.2 after identification of the relevant data.

RESULTS: A total of 1448 patients from 14 studies were included for the analysis, including 735 patients who underwent TLE and 713 patients who underwent OE. TLE was associated with less blood loss, fewer respiratory complications and shorter length of hospital stay. However, TLE had longer operative time. There was no significant difference in the incidence of anastomotic leak or the number of lymph nodes harvested ($P > 0.05$ for both) between the two groups.

CONCLUSION: TLE for esophageal cancer offers results as good as or better than those with open esophagectomy. TLE is associated with reduced perioperative complications and shortened length of hospital stay.

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

Key Words: Esophageal cancer; Esophagectomy; Thoracoscopy; Laparoscopy; Meta-analysis

Wang XJ, Zhang Z, Sun QC. Combined thoracoscopic-laparoscopic esophagectomy versus open esophagectomy for esophageal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 375-382
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/375.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.375>

摘要

目的: 采用Meta分析的方法对胸腹腔镜联合下食管癌切除术和开放手术的疗效和安全性进行对比, 为更广泛的临床应用提供证据。

方法: 检索Medline、EMbase、OVID、Cochrane Library、Springerlink、中国知识资源总库、万方数据库、维普数据库, 检索时间为建库至2013-03。收集胸腹腔镜联合下食管癌切除术和开放手术疗效对比的相关文献, 按纳入与排除标准筛选文献并对纳入文献进行质量评价, 采用RevMan5.2软件进行分析。

结果: 共纳入14篇文献, 病例数合计为1448例,

背景资料

目前食管癌治疗的最佳方式是以外科手术为主的综合性治疗, 然而传统的开放手术创伤大、围手术期并发症的发生率以及死亡率较高。近几年随着国内外微创外科技术的不断进展, 食管癌微创切除术在很多医院开展, 特别是胸腹腔镜联合下的食管癌切除术, 但由于食管癌手术的复杂性, 尤其是在胸腹腔镜联合下的微创食管癌手术能否达到肿瘤治疗的原则, 以及围手术期并发症等方面仍存在争议。因此, 本研究通过对国内外的胸腹腔镜联合下食管癌切除术和传统开放手术治疗食管癌的研究进行系统评价, 以探讨胸腹腔镜联合下食管癌切除术的疗效和安全性。

同行评议者
张志坚, 教授, 福州总医院消化内科

■ 研发前沿

对于食管癌微创手术,一直是国内外诸多研究中心研究的热点,特使是我国是食管癌的高发国家,国内对于食管癌微创手术仍存在争议。但随着微创技术的不断进展,如达芬奇机器人手术系统、3D腹腔镜等新事物的出现,微创外科的前景一片光明。但是新事物的出现到广泛的临床应用需要一定的时间去证明其实用性、疗效及安全性。

其中胸腹腔镜联合食管癌切除术组735例,开放手术组713例。分析结果显示在主要观察指标中腹腔镜组术中出血量比开放组少(WMD = -144.72, 95%CI: -199.78--89.67, $P < 0.05$),淋巴结清扫数目(WMD = -0.14, 95%CI: -2.61-2.33, $P = 0.91$)及吻合口瘘发生率(OR = 0.93, 95%CI: 0.63-1.37, $P = 0.70$)的差异无统计学意义($P > 0.05$)。在次要观察指标的分析结果中,腹腔镜组在术后住院天数及呼吸系统总体并发症均优于开放组($P < 0.05$),但手术时间仍长于开放组($P < 0.05$),其余指标两组间均无统计学意义($P > 0.05$)。

结论: 胸腹腔镜联合下食管癌切除术与开放手术相比可以达到相同的疗效,同时在减少术后住院天数及围手术期并发症上更有优势,未来将有趋势替代开放手术,成为食管癌手术的常规方式。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食管癌; 食管癌切除术; 胸腔镜; 腹腔镜; Meta分析

核心提示: 本研究通过对比胸腹腔镜联合手术与开放手术相比,认为胸腹腔镜联合食管癌切除术可以达到传统开放手术相同的疗效,并在术中出血量、围手术期并发症、术后住院天数等方面占有优势。虽然其具有操作复杂性高、学习曲线长的难点,但仍然是未来食管癌手术发展的方向,将有趋势替代传统的开放手术,成为食管癌手术的常规方式。

王晓骏, 张铸, 孙清超. 胸腹腔镜联合下食管癌切除术与开放手术疗效对比的Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 375-382 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/375.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.375>

0 引言

食管癌治疗的最佳方式是以外科手术为主的综合性治疗,然而传统的开放手术创伤大、围手术期并发症的发生率以及死亡率较高。近几年随着国内外微创外科技术的不断进展,食管癌微创切除术(minimally invasive esophagectomy, MIE)在很多医院开展,特别是胸腹腔镜联合下的食管癌切除术,但由于食管癌手术的复杂性,尤其是在胸腹腔镜联合下的微创食管癌手术能否达到肿瘤治疗的原则以及围手术期并发症等方面仍存在争议^[1]。因此,本研究通过对国内外的胸腹腔镜联合下食管癌切除术和传统开放手

术治疗食管癌的研究进行系统评价,以探讨胸腹腔镜联合下食管癌切除术的疗效和安全性。

1 材料和方法

1.1 材料 计算机检索Medline、EMbase、OVID、Cochrane Library、Springerlink、中国知识资源总库、万方数据库、维普数据库。检索时间为建库至2013-03。英文检索词为“esophagectomy、oesophagectomy、thoracoscopy、laparoscopy、thoracoscopy、minimally invasive、esophagus、oesophagus、esophageal、oesophageal、cancer、carcinoma”,中文检索词为“食管癌、食管肿瘤、食管癌切除术、胸腔镜、腹腔镜、胸腹腔镜”。按确定的纳入、排除标准进行筛选。

1.2 方法

1.2.1 纳入与排除标准: 纳入标准: (1)研究类型: 公开发表的随机对照试验和非随机对照试验(如: 病例对照试验、队列研究等), 限中英文文献, 无论是否采用盲法; (2)研究对象: 经术前病理组织学诊断的食管癌以及高级别上皮内瘤变; (3)干预措施: 研究组MIE组进行胸腹腔镜联合下食管癌切除术, 对照组Open组进行传统开放食管癌手术; 若文献中不能获得原始数据, 但根据其他相关指标可获得结果者也纳入研究。排除标准: (1)综述、讲座、文摘、述评类文献; (2)无法获得全文的文献、重复发表的文献、非临床研究的文献、无对照研究的文献; (3)研究对象含多源性肿瘤无法手术治疗, 手术未行食管癌切除术, 微创手术中转开放手术、单纯腹腔镜或者胸腔镜者辅以开放手术。

1.2.2 数据提取: 提取研究作者、研究类型、发表时间、患者人数、年龄、性别、术中出血量、淋巴结清扫数目、手术时间、平均住院天数、ICU停留时间、平均术后住院天数、围手术期死亡率(术后30 d内)、术后并发症等信息。

1.2.3 文献质量评价: 由两位研究者独立阅读所获文献题目和摘要, 在排除明显不符合纳入标准的试验后, 对可能符合纳入标准的试验阅读全文, 以确定是否符合纳入标准。而后交叉核对, 如有分歧则通过讨论解决或由第3位研究者决定其是否纳入。依据Cochrane系统评价员手册文献质量评价方法评价纳入研究质量, 判断是否存在偏倚: (1)随机方法是否正确; (2)是否做到分配隐藏, 分配隐藏是否充分; (3)是否实施盲法, 盲法实施对象为试验对象, 医务人员还是结

■ 相关报道
Sgourakis等在2010年发表的相关文献,也同样针对食管癌微创手术做了系统评价,是一个基于多中心的大样本的研究.其在对术后生存率的分析比较全面,对手术后的中长期疗效做了系统的评价.更有利于客观评价食管癌微创手术的疗效.

表 1 纳入文献的质量评价

纳入文献	研究设计	随机方法	分配隐藏	盲法	失访/退出	ITT分析	基线可比性	诊断标准
Parameswaran等 ^[2] , 2009	队列研究	不清楚	无	无	无	无	是	金标准
Pham等 ^[3] , 2010	队列研究	不清楚	无	无	未报道	无	是	金标准
陈保富等 ^[4] , 2010	病例对照	非随机	无	无	无	无	是	金标准
Hamouda等 ^[5] , 2010	队列研究	非随机	无	无	无	无	是	金标准
Schoppmann等 ^[6] , 2010	队列研究	不清楚	无	无	无	无	是	金标准
Safranek等 ^[7] , 2010	队列研究	不清楚	无	无	无	无	是	金标准
Mehran等 ^[8] , 2011	队列研究	不清楚	无	无	无	无	是	金标准
Gao等 ^[9] , 2011	队列研究	不清楚	无	单盲	未报道	无	是	金标准
Lee等 ^[10] , 2011	病例对照	非随机	无	无	未报道	无	是	金标准
Biere等 ^[11] , 2012	队列研究	电脑随机化法	无	无	无	有	是	金标准
Sihag等 ^[12] , 2012	队列研究	不清楚	无	无	未报道	无	是	金标准
郭明等 ^[13] , 2012	队列研究	不清楚	无	无	无	无	是	金标准
吴奇勇等 ^[14] , 2012	队列研究	不清楚	无	无	未报道	无	是	金标准
Parameswaran等 ^[15] , 2013	队列研究	非随机	无	无	无	无	是	金标准

诊断标准中金标准为术前病理组织学诊断.

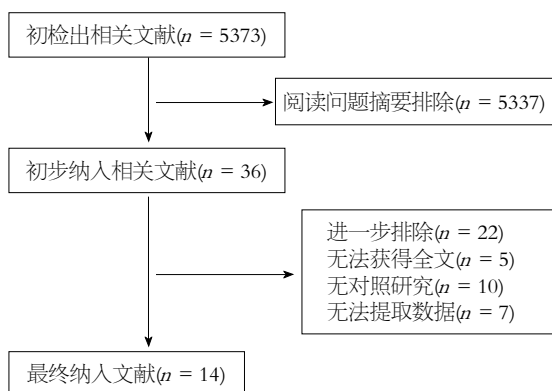


图 1 文献检索流程及结果图.

果测量者; (4)是否描述退出试验及失访的情况,如有失访或退出是否采用意向治疗(intention-to-treat, ITT)分析; (5)基线可比性是否一致. (6)诊断标准是否是金标准.

统计学处理 统计软件采用RevMan5.2软件. 异质性分析采用 χ^2 检验, 若纳入研究具有临床同质性且 $P>0.1$ 、 $I^2\leq 50\%$ 时, 表明统计学异质性较小, 可采用固定效应模型(fixed-effects model)合并分析; 当 $P\leq 0.1$ 、 $I^2>50\%$ 时, 统计学异质性较大, 需分析异质性来源, 进行亚组分析. 若无确切异质性原因时, 可考虑使用随机效应模型(random-effects model)分析. 如果研究存在明显临床异质性时, 仅做描述性研究. 二分类变量采用优势比(odds ratio, OR), 对度量衡单位相同的连续性变量采用加权均数差值(weighted mean difference, WMD), 对度量衡单位不相同的连续

性变量采用标准化均数差值(standard mean difference, SMD), 均以95%CI表示. 发表偏倚采用STATA12.0软件进行Egger法和Begg法分析, 并以Begg's漏斗图表示, 当 $P\leq 0.1$ 时, 表示存在显著性统计学偏倚.

2 结果

2.1 文献检索 初检获得相关文献5373篇, 经阅读文题摘要后排除5337篇. 初步纳入相关文献36篇, 5篇因各种原因无法获得全文, 10篇无对照研究, 7篇无法提取相关数据. 最终纳入14篇文献, 中文文献3篇, 英文文献11篇(图1).

2.2 纳入文献的质量评价 对纳入的14篇文献进行质量评价, 具体评价结果如表1.

2.3 纳入文献的基本数据 纳入的14篇文献的基本信息和病例的一般情况如表2、3.

2.4 统计分析

2.4.1 主要观察指标: (1)淋巴结清扫数目: 纳入的所有研究中有9个研究报道了淋巴结清扫数目, 根据分析, 9个研究的数据均予采纳, 其中TLE组共497例, OE组共546例, 各研究间异质性显著($P<0.00001$, $I^2 = 94\%$). 采用随机效应模型进行Meta分析, 结果显示: WMD = -0.14, 95%CI: -2.61-2.33, $P = 0.91$, 两组间差异无统计学意义(图2); (2)术中出血量: 纳入的所有研究中有10个研究报道了术中出血量, 根据分析, 10个研究的数据均予采纳, 其中TLE组共587例, OE组共582例, 各研究间异质性显著($P<0.00001$, $I^2 =$

■创新盘点

本研究采纳的文献多为近2-3年发表的文献,时效性比较新,同时本文纳入文献数量、样本数量比较多。本文采用的观察指标较多,客观、系统地对两种手术方式的疗效及安全性做了综合、全面的评价。

表 2 纳入研究的基本信息 (1)

纳入文献	发表时间	n		年龄(岁)		性别(男/女, n)	
		TLE	OE	TLE	OE	TLE	OE
Parameswaran等 ^[2]	2009	50	30	67(47-81)	68(47-81)	45/5	21/9
Pham等 ^[3]	2010	44	46	63±8.6	61±10.7	41/3	33/13
陈保富等 ^[4]	2010	67	38	61±7.0	38±6.0	45/22	25/13
Hamouda等 ^[5]	2010	26	24	62	60 ¹	25/1	23/1
Schoppmann等 ^[6]	2010	31	31	61.5(35.7-74.8)	58.6(33.7-76.8)	25/6	21/10
Safranek等 ^[7]	2010	41	46	64(41-74)	60(44-77)	25/16	38/8
Mehran等 ^[8]	2011	44	44	61(42-79)	62.5(38-83)	43/1	40/4
Gao等 ^[9]	2011	96	78	58.46±7.28	59.04±6.36	89/7	70/8
Lee等 ^[10]	2011	30	64	59.73±10.32	56.58±11.60	30/0	61/3
Biere等 ^[11]	2012	59	56	62(34-75)	62(42-75)	43/16	46/10
Sihag等 ^[12]	2012	38	76	61.4±8.1	63.3±9.3	29/9	61/15
郭明等 ^[13]	2012	111	110	57.3±11.8	60.8±12.4	68/43	72/38
吴奇勇等 ^[14]	2012	62	51	52.8±5.6	51.1±4.8	50/12	39/12
Parameswaran等 ^[15]	2013	36	19	64(45-84)	64(51-77)	24/12	15/4

¹本组数据为中位数年龄。TLE: 胸腹腔镜联合手术组, 为本研究试验组。OE: 开放手术组, 为本研究对照组。

表 3 纳入研究的基本信息 (2)

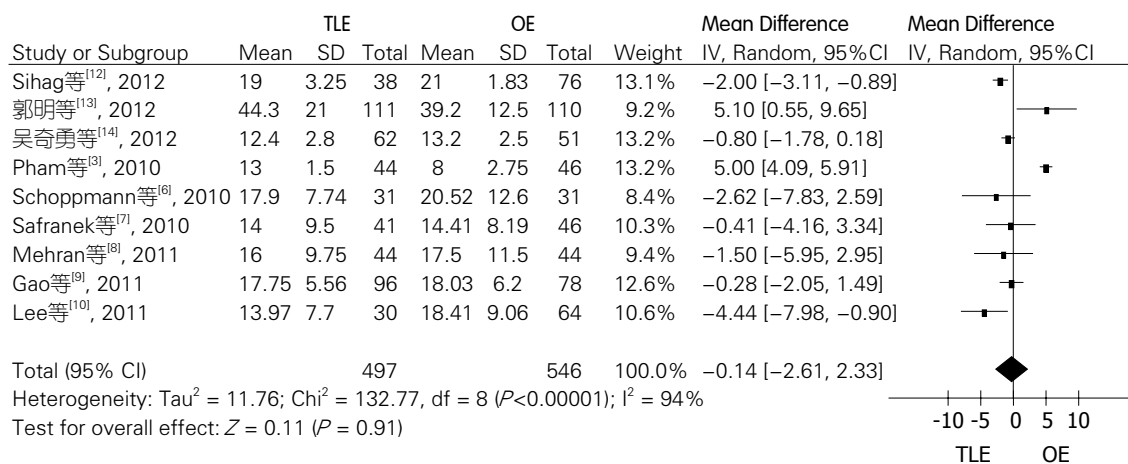
纳入文献	术前临床分期(0/ I / II / III / IV / x ¹)		肿瘤部位(上段/中段/下段 ²)	
	TLE	OE	TLE	OE
Parameswaran等 ^[2]	6/5/16/23/4/0	1/7/9/13/2/0	未报道	未报道
Pham等 ^[3]	0/6/14/18/2/0	0/7/13/18/1/0	未报道	未报道
陈保富等 ^[4]	未报道	未报道	11/36/20	9/17/12
Hamouda等 ^[5]	未报道	未报道	未报道	未报道
Schoppmann等 ^[6]	0/9/9/11/0/2	0/3/16/11/0/1	未报道	未报道
Safranek等 ^[7]	未报道	未报道	1/7/33	0/1/45
Mehran等 ^[8]	0/11/12/16/0/5	0/9/12/20/0/3	未报道	未报道
Gao等 ^[9]	0/8/46/42/0/0	0/6/34/38/0/0	9/72/15	6/55/17
Lee等 ^[10]	2/3/11/12/2/0	7/17/25/14/1/0	6/24	9/55 ³
Biere等 ^[11]	未报道	未报道	1/26/32	3/22/31
Sihag等 ^[12]	4/15/10/9/0/0	8/19/26/23/0/0	未报道	未报道
郭明等 ^[13]	0/24/7/80/0/0	0/31/5/74/0/0 ⁴	13/78/20	7/76/27
吴奇勇等 ^[14]	0/13/42/7/0/0	0/10/37/4/0/0	4/47/11	3/41/7
Parameswaran等 ^[15]	6/6/13/10/0/0	0/0/8/11/0/0	未报道	未报道

¹为术前无法评估分期; ²下段组包含下段食管癌及胃食管交界处癌; ³本组数据为上段食管癌与中、下段食管癌的病例数分组; ⁴本组数据中II期为II A期, III期包含了II B期和III期。

97%)。采用随机效应模型进行Meta分析, 结果显示: WMD = -144.72, 95%CI: -199.78--89.67, $P < 0.00001$, 两组间差异有统计学意义(图3); (3) 术后吻合口瘘发生率: 纳入的所有14个研究中均报道了术后吻合口漏发生率, 根据分析, 14个研究的数据均予采纳, 其中TLE组共735例, OE组共713例, 各研究间无异质性($P = 0.13$, $I^2 = 31\%$)。采用固定效应模型进行Meta分析, 结果显

示: OR = 0.93, 95%CI: 0.63-1.37, $P = 0.70$, 两组间差异无统计学意义(图4)。

2.4.2 次要观察指标: 对手术时间、平均住院天数、ICU停留时间、术后住院天数、围手术期死亡率、吻合口狭窄、胃排空障碍、术后二次手术、乳糜胸、喉返神经损伤、心律失常、呼吸系统并发症、肺部感染、胸腔积液、肺栓塞、呼吸衰竭16项次要观察指标进行Meta分析,



应用要点
本研究采用的今年国内外的临床研究文献,旨在探讨胸腹腔镜联合下食管癌切除术的疗效和安全性,为广大临床医师提供循证医学的依据。虽然其具有操作复杂性高、学习曲线长的难点,但仍然是未来食管癌手术发展的方向,将有趋势替代传统的开放手术,成为食管癌手术的常规方式。

图 2 两组淋巴结清扫数目比较的Meta分析.

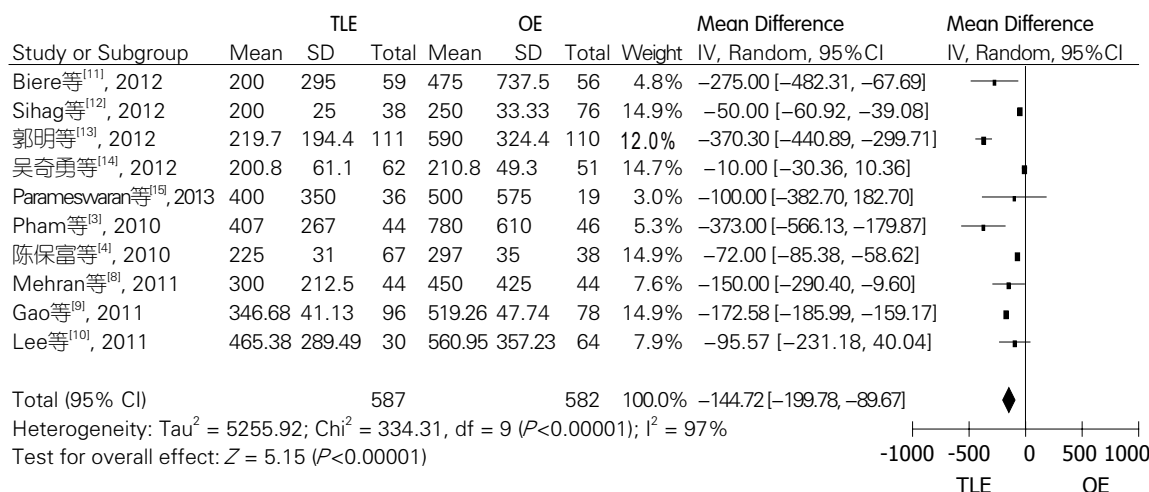


图 3 两组术中出血量比较的Meta分析.

结果显示, 腹腔镜组在术后住院天数及呼吸系统总体并发症均优于开放组(P<0.05), 但手术时间仍长于开放组(P<0.05), 其余13项指标两组间均无统计学意义(P>0.05, 表4).

2.4.3 发表偏倚: 发表偏倚导致Meta分析纳入文献不完全, 不能真实反应待评价问题的真实情况。目前最常用的偏倚检测方法有倒漏斗图法和失安全系数法, 但两者不能对发表偏倚进行量化检测。而Begg法和Egger法则可对偏倚进行量化检测。本文在以淋巴结清扫数目为主要观察指标的研究中, Egger's检验P = 0.803, Begg's检验P = 1.000。同时在Begg's漏斗图中未发现明显不对称, 表明未存在明显的发表偏倚(图5)。

3 讨论

食管癌手术方式包括传统的开放手术, 如颈胸腹三切口食管癌切除术、Ivor-Lewis术、Mckeown

术、左侧开胸手术等以及近年来单一胸腔镜或者腹腔镜辅助食管癌切除术。但开放手术创伤大, 围手术期并发症发生率较高始终是无法解决的问题。随着微创外科的不断发展, 广大外科医师已经意识到除了手术的临床结果, 还需要越来越重视手术本身给患者带来的创伤, 尽可能减小手术对机体的创伤是现代外科手术的一种理念和趋势, 也更符合患者生理和心理的需求。目前, 胸腹腔镜联合下食管癌切除术在很多医学中心积极开展, 并逐渐成为关注的热点。

本研究发现胸腹腔镜组与开放组相比, 在术中出血量、术后住院天数及呼吸系统总体并发症上占有明显优势。腹腔镜的放大作用可以充分显示解剖结构, 减少甚至避免术中对临近脏器的损伤。同时, 小切口减少了创面的出血, 减少了术后并发症的发生, 利于患者术后康复, 大大减少了术后住院天数。食管癌手术的疗效很大

■同行评价

这是一篇关于食管癌手术治疗方式Meta分析的文章,纳入及剔除的标准是比较完善的,方法科学,结果可靠,结论客观,讨论部分展开得不错。但观察指标可以在延伸一些,如对麻醉的要求和术中各项指标的影响,是一篇不错的Meta分析,对于临床准备开展此项的医生有较大的帮助。

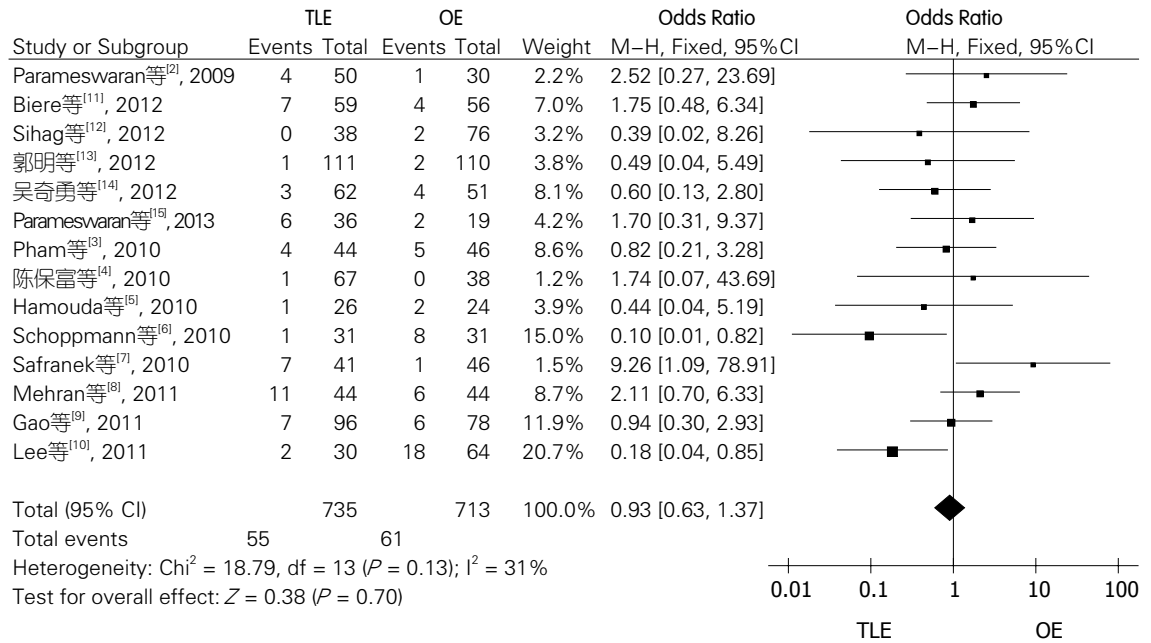


图 4 两组术后吻合口瘘发生率比较的Meta分析。

表 4 两组16项次要观察指标的比较

评价指标	纳入文献数	n	异质性检验	WMD/OR(95%CI)	合并效应量
手术时间	14	1398	P<0.00001, I ² = 97%	53.70(28.29, 79.11)	Z = 4.14, P<0.0001
平均住院天数	7	696	P<0.00001, I ² = 83%	-2.43(-5.69, 0.83)	Z = 1.46, P = 0.14
ICU 停留时间	7	843	P<0.0001, I ² = 82%	0.15(-0.23, 0.53)	Z = 0.76, P = 0.45
术后住院天数	4	533	P<0.0001, I ² = 87%	-1.33(-2.59, -0.07)	Z = 2.07, P = 0.04
围手术期死亡率	8	757	P = 0.85, I ² = 0%	0.75(0.34, 1.66)	Z = 0.70, P = 0.48
呼吸系统并发症	9	882	P = 0.008, I ² = 61%	0.43(0.21, 0.86)	Z = 2.37, P = 0.02
喉返神经损伤	9	997	P = 0.007, I ² = 62%	0.90(0.28, 2.86)	Z = 0.19, P = 0.85
乳糜胸	9	840	P = 0.80, I ² = 0%	0.86(0.41, 1.80)	Z = 0.40, P = 0.69
二次手术	6	507	P = 0.41, I ² = 1%	0.88(0.49, 1.58)	Z = 0.43, P = 0.67
心律失常	7	698	P = 0.18, I ² = 33%	0.88(0.55, 1.40)	Z = 0.55, P = 0.58
吻合口狭窄	4	439	P = 0.08, I ² = 56%	2.02(0.71, 5.74)	Z = 1.33, P = 0.18
胃排空障碍	5	628	P = 0.14, I ² = 43%	0.59(0.26, 1.33)	Z = 1.27, P = 0.20
肺部感染	5	822	P = 0.05, I ² = 49%	0.59(0.28, 1.25)	Z = 1.38, P = 0.17
胸腔积液	5	426	P = 0.09, I ² = 50%	0.42(0.08, 2.21)	Z = 1.03, P = 0.30
肺栓塞	4	399	P = 0.61, I ² = 0%	0.46(0.11, 1.82)	Z = 1.11, P = 0.27
呼吸衰竭	3	256	P = 0.41, I ² = 0%	0.54(0.15, 2.03)	Z = 0.91, P = 0.36

程度与淋巴结清扫数目有关^[16],随着手术技术的进步,全腹腔镜手术完全可以达到开放手术相同的疗效,本研究发现两组在淋巴结清扫数目上并无差异。在术后呼吸系统总体并发症的发生率上,腹腔镜组比开放组占有优势,微创操作能减少对心肺的干扰及避免了膈肌切开,并保持了胸廓和腹部的完整性,减轻了疼痛,使各种炎症因子分泌减少,痰量随之减少,同时由于创伤小,患者可以配合咳嗽咳痰,对术后呼吸功能影响较小^[17]。但腹腔镜组手术时间仍长于开放组,可能

由于各研究中术者的水平存在差异以及学习曲线问题,初期时间较长。但随着微创技术的不断发展,临床医师的手术操作水平的不断提高,这种差异将不断缩小,手术时间将会大大缩短。

本研究纳入的14篇文献中有11篇英文文献,质量高低不等,提示纳入文献存在语种偏倚、选择性偏倚、实施偏倚和测量偏倚。纳入文献对外科治疗的远期疗效报道不完全,影响了本研究测量指标评价的全面性。一些研究纳入病例数较少,降低了检验效能。虽然通过多种途径

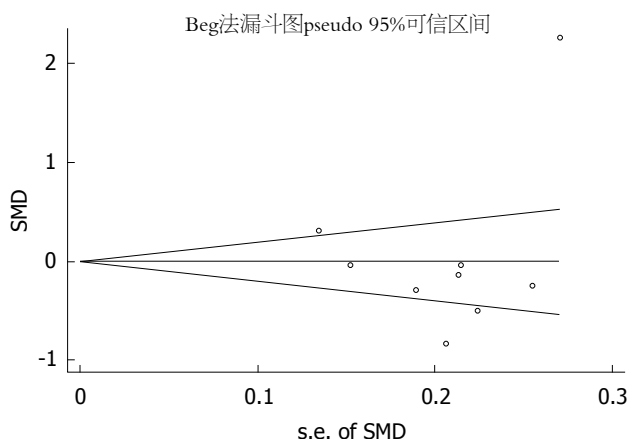


图 5 两组淋巴结清扫数目比较的漏斗图. SMD: 标准化均数差值; s.e.of SMD: 标准化均数差的标准误.

从多个数据库进行检索并进行2次检索, 但是一些文献由于种种原因未能发表或者未能获得全文, 所以未纳入研究. 纳入大部分文献的研究对象在50-221例之间, 未达到循证医学大样本的研究要求. 因此基于这些小样本量的研究得出的结论需谨慎对待, 未来新研究发表时可能会改变此结果.

总之, 胸腹腔镜联合食管癌切除术可以达到传统开放手术相同的疗效, 并在术中出血量、围手术期并发症、术后住院天数等方面占有优势. 虽然其具有操作复杂性高、学习曲线长的难点, 但仍然是未来食管癌手术发展的方向, 将有趋势替代传统的开放手术, 成为食管癌手术的常规方式. 最后也希望能有更多的基于大样本、多中心的、长期的研究来进一步证明其优势、疗效和安全性等问题.

4 参考文献

- 1 Wu PC, Posner MC. The role of surgery in the management of oesophageal cancer. *Lancet Oncol* 2003; 4: 481-488 [PMID: 12901962 DOI: 10.1016/S1470-2045(03)01167-7]
- 2 Parameswaran R, Veeramootoo D, Krishnadas R, Cooper M, Berrisford R, Wajed S. Comparative experience of open and minimally invasive esophago-gastric resection. *World J Surg* 2009; 33: 1868-1875 [PMID: 19609827 DOI: 10.1007/s00268-009-0116-1]
- 3 Pham TH, Perry KA, Dolan JP, Schipper P, Sukumar M, Sheppard BC, Hunter JG. Comparison of perioperative outcomes after combined thoracoscopic-laparoscopic esophagectomy and open Ivor-Lewis esophagectomy. *Am J Surg* 2010; 199: 594-598 [PMID: 20466101 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2010.01.005]
- 4 陈保富, 朱成楚, 王春国, 马德华, 林江, 张波, 孔敏. 胸腹腔镜联合手术与开放手术治疗食管癌的同期临床对照研究. *中华外科杂志* 2010; 48: 1206-1209
- 5 Hamouda AH, Forshaw MJ, Tsigritis K, Jones GE, Noorani AS, Rohatgi A, Botha AJ. Perioperative outcomes after transition from conventional to minimally invasive Ivor-Lewis esophagectomy in a specialized center. *Surg Endosc* 2010; 24: 865-869 [PMID: 19730947 DOI: 10.1007/s00464-009-0679-9]

- 6 Schoppmann SF, Prager G, Langer FB, Riegler FM, Kabon B, Fleischmann E, Zacherl J. Open versus minimally invasive esophagectomy: a single-center case controlled study. *Surg Endosc* 2010; 24: 3044-3053 [PMID: 20464423 DOI: 10.1007/s00464-010-1083-1]
- 7 Safranek PM, Cubitt J, Booth MI, Dehn TC. Review of open and minimal access approaches to oesophagectomy for cancer. *Br J Surg* 2010; 97: 1845-1853 [PMID: 20922782 DOI: 10.1002/bjs.7231]
- 8 Mehran R, Rice D, El-Zein R, Huang JL, Vaporciyan A, Goodyear A, Mehta A, Correa A, Walsh G, Roth J, Swisher S, Hofstetter W. Minimally invasive esophagectomy versus open esophagectomy, a symptom assessment study. *Dis Esophagus* 2011; 24: 147-152 [PMID: 21040152 DOI: 10.1111/j.1442-2050]
- 9 Gao Y, Wang Y, Chen L, Zhao Y. Comparison of open three-field and minimally-invasive esophagectomy for esophageal cancer. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2011; 12: 366-369 [PMID: 21186282 DOI: 10.1510/icvts.2010.258632]
- 10 Lee JM, Cheng JW, Lin MT, Huang PM, Chen JS, Lee YC. Is there any benefit to incorporating a laparoscopic procedure into minimally invasive esophagectomy? The impact on perioperative results in patients with esophageal cancer. *World J Surg* 2011; 35: 790-797 [PMID: 21327605 DOI: 10.1007/s00268-011-0955-4]
- 11 Biere SS, van Berge Henegouwen MI, Maas KW, Bonavina L, Rosman C, Garcia JR, Gisbertz SS, Klinkenbijn JH, Hollmann MW, de Lange ES, Bonjer HJ, van der Peet DL, Cuesta MA. Minimally invasive versus open oesophagectomy for patients with oesophageal cancer: a multicentre, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2012; 379: 1887-1892 [PMID: 22552194 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60516-9]
- 12 Sihag S, Wright CD, Wain JC, Gaissert HA, Lanuti M, Allan JS, Mathisen DJ, Morse CR. Comparison of perioperative outcomes following open versus minimally invasive Ivor Lewis oesophagectomy at a single, high-volume centre. *Eur J Cardiothorac Surg* 2012; 42: 430-437 [PMID: 22345284 DOI: 10.1093/ejcts/ezs031]
- 13 郭明, 胡蒙, 孙晓雁, 雷云宏, 杨清杰, 叶东青. 全胸腔镜联合非气腹腔镜辅助食管癌根治术与常规手术的对比研究. *中国微创外科杂志* 2012; 12: 53-56
- 14 吴奇勇, 童继春, 王勇, 翟光地, 袁卫东, 毛小亮, 张明, 张科, 陈栋, 朱征, 袁凯, 袁俊强. 胸、腹腔镜联合手术治疗食管癌的临床对比. *中国微创外科杂志* 2012; 12: 1107-1109

- 15 Parameswaran R, Titcomb DR, Blencowe NS, Berisford RG, Wajed SA, Streets CG, Hollowood AD, Krysztopik R, Barham CP, Blazeby JM. Assessment and comparison of recovery after open and minimally invasive esophagectomy for cancer: an exploratory study in two centers. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 1970-1977 [PMID: 23306956 DOI: 10.1245/s10434-012-2848-7]
- 16 Zhang HL, Chen LQ, Liu RL, Shi YT, He M, Meng XL, Bai SX, Ping YM. The number of lymph node metastases influences survival and International Union Against Cancer tumor-node-metastasis classification for esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2010; 23: 53-58 [PMID: 19392846 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2009.00971.x]
- 17 Craig SR, Leaver HA, Yap PL, Pugh GC, Walker WS. Acute phase responses following minimal access and conventional thoracic surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001; 20: 455-463 [PMID: 11509263 DOI: 10.1016/S1010-7940(01)00841-7]

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%。

替吉奥或氟尿嘧啶联合顺铂治疗晚期食管癌疗效和安全性的比较

庞丽娜, 王峰, 何炜, 周然, 曹蕾, 樊青霞

庞丽娜, 王峰, 何炜, 周然, 曹蕾, 樊青霞, 郑州大学第一附属医院肿瘤科 河南省郑州市 450052
庞丽娜, 在读硕士, 主要从事食管癌的基础与临床研究。
作者贡献分布: 此课题由樊青霞与王峰设计; 研究过程由庞丽娜、王峰、何炜、周然及曹蕾操作完成; 数据整理与分析由庞丽娜完成; 本论文写作由樊青霞与庞丽娜完成。
通讯作者: 樊青霞, 教授, 主任医师, 博士生导师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号院, 郑州大学第一附属医院肿瘤科1病区。fqx2243@126.com
电话: 0371-66295533
收稿日期: 2013-11-05 修回日期: 2013-11-20
接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

Efficacy and safety of S-1 or flurouracil combined with cisplatin in treatment of advanced esophagus cancer

Li-Na Pang, Feng Wang, Wei He, Ran Zhou, Lei Cao, Qing-Xia Fan

Li-Na Pang, Feng Wang, Wei He, Ran Zhou, Lei Cao, Qing-Xia Fan, Department of Medical Oncology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Correspondence to: Qing-Xia Fan, Professor, Chief Physician, Doctoral Supervisors, Department of Medical Oncology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. fqx2243@126.com
Received: 2013-11-05 Revised: 2013-11-20
Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of S-1 plus cisplatin in the treatment of patients with advanced esophagus cancer.

METHODS: Fifty-seven patients with advanced esophagus cancer were randomly divided into either an observation group ($n = 28$) or a control group ($n = 29$). The observation group was treated with S-1 capsule 100 mg/d [if the body surface area (BSA) is $< 1.5 \text{ m}^2$] or 120 mg/d (if the BSA was not less than 1.5 m^2), twice daily for 14 d and cisplatin 75 mg/ m^2 intravenously from days 1-3. The control group was treated

with leucovorin (LV) 200 mg/ m^2 and fluorouracil (5-FU) 600 mg/ m^2 intravenously from days 1-5, and cisplatin just the same as the observation group. Chemotherapy was repeated every 21 d. Curative effect was evaluated every 2 cycles. Clinical effect, adverse reactions, time to progression (TTP) and overall survival (OS) were observed and compared between the two groups.

RESULTS: The response rate and disease control rate were significantly higher in the observation group than in the control group (55.6% vs 27.6%, $P < 0.05$; 81.5% vs 55.2%, $P < 0.05$). The incidences of thrombocytopenia and liver function damage in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$ for both). There were no statistically significant difference in the incidences of nausea and vomiting, oral mucositis or hand-foot syndrome between the two groups. The median TTP and OS were significantly longer in the observation group than in the control group (7 mo vs 6 mo, 12 mo vs 9 mo, $P < 0.05$ for both).

CONCLUSION: Compared to flurouracil combined with cisplatin, S-1 plus cisplatin can increase short-term effect and prolong survival period in patients with advanced esophagus cancer, and most of the toxicities can be tolerated. S-1 plus cisplatin may become the first choice instead of FP for advanced esophagus cancer.

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

Key Words: Advanced esophagus cancer; Combined chemotherapy; Tegafur gimeracil oteracil potassium capsules; Cisplatin; Fluorouracil

Pang LN, Wang F, He W, Zhou R, Cao L, Fan QX. Efficacy and safety of S-1 or flurouracil combined with cisplatin in treatment of advanced esophagus cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 383-388 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/383.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.383>

■背景资料

我国食管癌患者约半数确诊时已是晚期, 治疗以全身化疗为主的综合治疗。传统的化疗药物因不良反应大、缓解周期短等原因使临床使用受限制。替吉奥使结直肠癌、胃癌患者从中获益, 但在食管癌中研究应用较少。

■同行评议者

姜春萌, 教授, 主任, 大连医科大学附属第二医院消化科

■ 研发前沿

目前替吉奥成为食管癌内科治疗的研究热点, 本文对比标准治疗方案联合氟尿嘧啶, 新药替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌取得更显著的近期疗效, 同时也增加了生存时间, 且不良反应可耐受。

摘要

目的: 观察替吉奥(S-1)联合顺铂(cisplatin, DDP)方案(S-1+DDP, SP方案)治疗晚期食管癌的疗效及安全性。

方法: 57例入组患者被随机分为2组, 观察组28例采用替吉奥加顺铂治疗, 替吉奥100 mg/d[体表面积(body surface area, BSA)<1.5 m²者]或120 mg/d(BSA>1.5 m²者), 2次/d于早晚餐后顿服, 连服14 d后停药7 d; DDP 75 mg/m², 静脉滴注d1-3. 对照组29例采用氟尿嘧啶(flurouracil, 5-FU)联合顺铂(FP方案)治疗, 亚叶酸钙(leucovorin, LV)200 mg/m², 静脉滴注d1-5, 5-FU 600 mg/m², 连续静滴d1-5; DDP 75 mg/m², 静脉滴注d1-3. 以上化疗方案21 d为1个周期, 每2个周期评价疗效. 观察并比较临床疗效、不良反应、疾病进展时间(time to progression, TTP)及生存期(overall survival, OS)等指标。

结果: 观察组和对照组总有效率 = 完全缓解(complete remission, CR)+部分缓解(partial remission, PR), 分别为55.6%和27.6%, 两组比较差异有显著性($P<0.05$). 临床获益率[CR+PR+疾病稳定(stable disease, SD)]分别为81.5%和55.2%, 两组比较差异有显著性($P<0.05$). 不良反应方面观察组血小板减少及肝功能损害的发生率高于对照组, 两组比较差异有显著性($P<0.05$), 恶心呕吐、口腔黏膜炎及手足综合征等不良反应差异均无统计学意义. 中位无疾病进展生存时间观察组和对照组分别为7 mo和6 mo; 中位生存时间两组分别为12 mo和9 mo, 差异均有显著性($P<0.05$).

结论: 替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌可显著提高近期疗效和延长生存期, 不良反应可耐受, 可替代标准FP方案成为治疗晚期食管癌的首选。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 晚期食管癌; 联合化疗; 替吉奥; 顺铂; 氟尿嘧啶

核心提示: 替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌可显著提高近期疗效, 增加生存时间. 同时也增加了血液系统毒性及肝损害的可能, 但绝大部分不良反应以轻中度为主, 且均为可逆性, 患者耐受性好, 依从性高, 临床实用价值高. 为广大临床医师提供了新的选择。

庞丽娜, 王峰, 何炜, 周然, 曹蕾, 樊青霞. 替吉奥或氟尿嘧啶

联合顺铂治疗晚期食管癌疗效和安全性的比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 383-388 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/383.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.383>

0 引言

中国是食管癌的高发国家, 据国际癌症研究署统计, 2008年我国食管癌的新发病比例占世界的53.82%, 同期死亡比例占51.92%^[1]. 我国食管癌患者约半数确诊时已是晚期, 治疗为以全身化疗为主的综合治疗^[2]. 传统的化疗药物, 如氟尿嘧啶、阿霉素等因不良反应大、缓解周期短等原因使临床使用受限制. 近年来, 新药替吉奥胶囊的问世, 使得结直肠癌、胃癌患者从中获益, 但在食管癌中应用较少, 国内宋子琰等^[3]采用吉西他滨联合替吉奥治疗晚期食管癌疗效肯定, 但骨髓抑制发生率较高. 本文为探索晚期食管癌患者在替吉奥联合顺铂方案治疗中是否获益, 对我院2011-01/2011-12收治的晚期食管癌患者57例随机分为观察组和对照组, 观察组28例采用国产替吉奥胶囊联合顺铂顺铂(cisplatin, DDP)方案(S-1+DDP, SP方案)治疗, 对照组29例采用标准方案顺铂联合氟尿嘧啶(DDP+5-FU, FP方案)治疗, 观察并比较两组在临床疗效、不良反应、疾病进展时间(time to progression, TTP)及生存期(overall survival, OS)等指标方面的差异. 现将观察搜集的结果分析报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 晚期食管癌患者57例, 其中男43例, 女14例, 男女比例为3.07:1. 年龄分布范围为36-78岁, 平均年龄为59岁. 病理类型均为鳞癌(表1).

1.2 方法

1.2.1 入组标准: (1)经病理学或细胞学诊断确诊的晚期食管癌患者, 具有可测量的肿瘤病灶; (2)KPS评分 ≥ 70 分; (3)预计生存期 > 3 mo; (4)血常规、肝肾功能、电解质、心电图、心脏彩超均在正常范围. 无活动性出血、穿孔, 无合并第二肿瘤, 无合并其他化疗禁忌的疾病; (5)复治病例出现复发或转移等进展倾向, 且本次治疗距此前最后一次治疗间隔时间 > 4 wk.

1.2.2 治疗: 本研究经过我院科研伦理委员会批准, 对所有符合入组条件的患者均事先签署知情同意书, 采用计算机产生随机数的方法随机分为观察组和对照组. 观察组28例采用替吉

表 1 两组患者的一般情况 (n)

临床资料	观察组	对照组	P值
性别			0.490
男	20	23	
女	8	6	
年龄(岁)			0.689
≤60	15	14	
>60	13	15	
分化程度			0.797
高分化	9	7	
中分化	12	14	
低分化	7	8	
KPS评分(分)			0.670
≤80	3	2	
>80	25	27	
既往治疗情况			0.672
初治	17	16	
复治	11	13	

奥联合顺铂方案, 具体方法为: 体表面积(body surface area, BSA) $<1.5\text{ m}^2$ 者, 替吉奥60、40 mg 分别于早晚餐后顿服; BSA $>1.5\text{ m}^2$ 者, 替吉奥60 mg/次, 2次/d, 早晚餐后顿服, 连服14 d后停药7 d. DDP 75 mg/m², 静脉滴注d1-3. 对照组: DDP 75 mg/m², 静脉滴注d1-3; 亚叶酸钙(leucovorin, LV) 200 mg/m², 静脉滴注d1-5, 氟尿嘧啶(flurouracil, 5-FU)600 mg/m², 连续静滴d1-5. 顺铂应用期间给予水化、碱化及利尿药物应用. 化疗药物应用期间给予地塞米松、苯海拉明、托烷司琼、甲氧氯普胺等药物应用, 以减少可能出现的消化系反应. 治疗期间每周复查血常规、肝肾功能, 若出现II度以上的骨髓抑制, 给予粒细胞集落刺激因子或白介素11等生物制剂对症治疗, 白细胞 $<1.0\times 10^9/L$ 、血小板 $<30\times 10^9/L$ 时应停止应用以上化疗药物, 立即给予升血、预防感染及出血等对症处理. 每周期用药之前均应复查血常规、肝肾功能、电解质、心脏彩超及心电图. 以上化疗方案21 d为1个周期, 每2个周期评价疗效, 具体方法为胸腹部CT、浅表淋巴结彩超、上消化道造影和肿瘤标志物, 评价有效或稳定者化疗4-6个周期. 所有病例均进行安全性评定. 定期随访1年以上, 对失访病例或死亡病例均说明原因.

1.2.3 评价标准: 近期疗效按WHO推荐的实体瘤客观疗效标准分为完全缓解(complete remission, CR)、部分缓解(partial remission, PR)、稳定(sta-

ble disease, SD)和疾病进展(progressive disease, PD). 有效率(response rate, RR)为CR+PR, 临床获益率为CR+PR+SD. 不良反应按抗癌药物急性与亚急性毒性表现及分级标准分为0-IV度.

统计学处理 采用SPSS18.0统计学软件进行数据处理, 计数资料率的比较采用 χ^2 检验, 对于不符合 χ^2 检验标准的则采用Fisher确切概率法. 应用Kaplan-Meier法比较两组的生存期并绘制生存曲线. $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般情况 观察组及对照组在年龄、性别、病理类型、分化程度及KPS评分等方面差异均无统计学意义, 即基线具有可比性(表1). 另外, 为探讨使用白介素11或粒细胞集落刺激因子等生物制剂对化疗疗效是否产生影响, 将两组患者按使用生物制剂与否分为2组, 并对其进行统计学分析, 结果显示差异没有显著性($P = 0.706>0.05$). 57例患者共完成238个周期化疗(平均周期数为4.2). 观察组中1例复诊患者化疗第一周期即出现不可耐受的消化系反应, 主要为持续腹泻, 经积极治疗后症状消失. 但因患者拒绝继续任何治疗于5 mo后死于疾病进展. 观察组中1例患者化疗4周期后出现IV度骨髓抑制(血小板数目 = $13\times 10^9/L$), 经纠正后给予S-1减量应用并完成6周期化疗. 余患者均未再出现严重的不良反应.

2.2 近期疗效 因观察组中1例患者中断治疗, 故目前可评价近期疗效的病例数为56例(SP组27例, FP组29例). 总有效率(CR+PR)观察组为55.6%, 对照组为27.6%, 两组比较差异有显著性($\chi^2 = 4.519, P = 0.034<0.05$). 临床获益率(CR+PR+SD)观察组为81.5%, 对照组为55.2%, 两组比较差异有显著性($P = 0.035<0.05$, 表2).

2.3 不良反应 主要不良反应为消化系反应及骨髓抑制. 观察组血小板减少及肝功能损害的发生率高于对照组, 两组比较差异有显著性($P<0.05$). 恶心呕吐、口腔黏膜炎、白细胞减少及手足综合征等不良反应两组比较差异均无统计学意义. 不良反应经对症处理或停药后可消失, 均为可逆性反应. 本研究没有化疗相关性死亡事件发生(表3).

2.4 生存结果 随访1年以上, 观察组和对照组mTTP分别为7 mo和6 mo($\chi^2 = 10.201, P = 0.001<0.05$), 两组的中位生存时间分别为12 mo和9 mo($\chi^2 = 4.006, P = 0.045<0.05$), 两组比较均

■相关报道
Shirasaka详实报道了口服化疗药物替吉奥胶囊的临床应用价值及前景. 国内宋子瑛等采用吉西他滨联合替吉奥治疗晚期食管癌疗效肯定, 但骨髓抑制发生率较高, 且未设计平行对照组.

■创新盘点

本文在前人的基础上结合临床实践,采用随机对照实验的方法进行研究,观察组和对照组除治疗方案不同之外,一般情况均具有可比性,使得结果更加详实可信.同时更为新药替吉奥在食管癌中的应用提供了科学依据.

表 2 两组近期临床疗效比较 (n)

分组	n	CR	PR	SD	PD	有效率(%)	临床获益率(%)
观察组	27	1	14	7	5	55.6	81.5
对照组	29	0	8	8	13	27.6	55.3

CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; SD: 稳定; PD: 疾病进展.

表 3 两组不良反应比较 (n)

不良反应	观察组(SP方案组)			对照组(FP方案组)			P值
	0度	I-II	III-IV	0度	I-II	III-IV	
恶心呕吐	6	19	3	4	21	4	0.775
口腔黏膜炎	17	9	2	13	11	5	0.398
腹泻	20	7	1	16	10	3	0.396
白细胞减少	11	13	4	9	17	3	0.696
血小板减少	12	14	2	22	6	1	0.025
肝功能损害	15	13	0	23	6	0	0.039
手足综合征	16	11	1	16	13	0	0.790
色素沉着	9	14	5	7	16	6	0.850

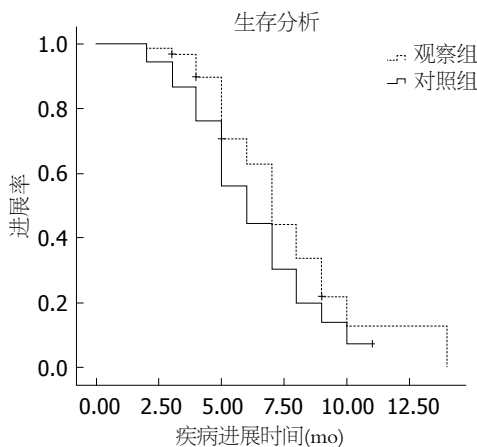


图 1 两组患者疾病进展时间比较.

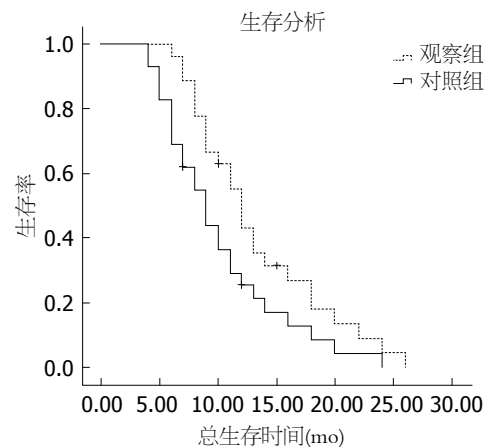


图 2 两组患者生存曲线.

具有统计学差异(图1, 2).

3 讨论

全身化疗自六七十年代开始应用于食管癌治疗以来,现已成为该疾病重要的治疗手段^[4].目前认为治疗晚期食管癌的一线方案为顺铂联合5-FU^[5];FP方案具有有效率低、中位生存期短及不良反应大等劣势^[6];主要原因为5-FU静脉滴注半衰期较短,从而大大影响了抗肿瘤效果;为增加其作用时间临床上常采用持续滴注的方式,但也因此出现了不良反应大、实际采用受限制等的难题.故目前寻找安全有效的替代方案是迫切需要解决的问题.替吉奥作为一种口服氟尿嘧啶

衍生物类抗肿瘤复方制剂,其主要成分为替加氟(Tegafur, FT)、吉美嘧啶(Gimeracil, CDHP)和奥替拉西(Potassium oxonate, Oxo).FT口服吸收后经细胞色素P-450酶转化成活性产物氟尿嘧啶,CDHP通过抑制其分解代谢中的二氢嘧啶脱氢酶而延长药物体内作用时间,而Oxo通过阻断氟尿嘧啶的磷酸化而使其集中分布于胃肠道.同时有研究表明,Oxo还具有降低氟尿嘧啶引起的胃肠道不良反应的作用^[7-10].另外口服给药方式简便易行,患者易于接受.实验研究表明FT的化疗指数是FU的2倍,毒性则是FU的1/7-1/4^[11].由此可见,替吉奥已经从理论上成功克服了静脉滴注氟尿嘧啶的上述不足.

本临床试验结果显示, FP方案组有效率为27.6%, 临床获益率为55.3%, 中位无疾病进展生存期为6 mo, 中位生存时间为9 mo, 结果与既往文献报道的相近^[12,13]. SP方案组有效率为55.6%, 临床获益率为81.5%, 中位无疾病进展生存期为7 mo, 中位生存时间为12 mo, 以上数据均较对照组有显著的增加, 且差异均具有统计学意义, 表明替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌可显著提高近期疗效和生存期. 不良反应方面, 两组主要不良反应均为消化系反应与骨髓抑制, 且大多为轻到中度. 两组在消化系反应、手足综合征及色素沉着等不良反应方面比较差异均无显著性, 提示SP方案组不增加以上不良反应. 消化系反应的出现主要与使用顺铂有关, 另外, 部分患者术后消化系重建, 复治患者多次内科治疗史也可能加重消化系反应. 但SP方案组血小板下降程度较对照组加重, 且差异具有显著性, 这可能与口服给药时间长、作用持久有关. 肝功能损害较对照组亦有所增加, 且差异具有统计学意义. 原因或为吉美啶抑制其分解代谢酶活性, 导致氟尿嘧啶灭活减少, 蓄积于肝脏产生肝损害^[14]. 另外或与部分患者同时患有脂肪肝、肝炎或肝转移相关. 故广大临床工作者使用SP方案时应注意监测血象和肝功能, 以防化疗相关性事件的发生.

本研究采用随机对照的实验方法, 入组患者在年龄、性别、病理类型、分化程度及KPS评分等方面均具有可比性. 观察组和对照组患者在使用白介素11或粒细胞集落刺激因子等生物制剂与否方面差异无统计学意义($P = 0.706 > 0.05$), 提示差异没有显著性, 不会对本研究结果造成干扰, Saitoh等^[15]观察了单用白介素11及其联用3种抗癌药物时对肺癌细胞增殖的影响, 结果显示白介素11可成功防治血小板减少而不改变化疗药物的抗癌活性. 上述各方面均尽可能减少了实验误差或偏移, 增加了结果的可信度.

总之, 替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌可显著提高近期疗效, 增加生存时间. 同时也增加了血液系统毒性及肝损害, 但绝大部分不良反应以轻中度为主, 且均为可逆性, 患者耐受性好, 依从性高, 临床实用价值高. 可替代FP方案成为治疗晚期食管癌的首选方案.

4 参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, For-

man D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

2 van Meerten E, Eskens FA, van Gameren EC, Doorn L, van der Gaast A. First-line treatment with oxaliplatin and capecitabine in patients with advanced or metastatic oesophageal cancer: a phase II study. *Br J Cancer* 2007; 96: 1348-1352 [PMID: 17437008]

3 宋子琰, 郑义同, 卞宝祥. 吉西他滨联合替吉奥治疗晚期食管癌的临床观察. *肿瘤基础与临床* 2011; 24: 293-295

4 孙燕, 石远凯. 临床肿瘤内科手册. 第五版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 470-471

5 Yamazaki K, Hironaka S, Boku N, Yasui H, Fukutomi A, Yoshino T, Onozawa Y, Hasuike N, Inui T, Yamaguchi Y, Ono H. A retrospective study of second-line chemotherapy for unresectable or recurrent squamous cell carcinoma of the esophagus refractory to chemotherapy with 5-fluorouracil plus platinum. *Int J Clin Oncol* 2008; 13: 150-155 [PMID: 18463960 DOI: 10.1007/s10147-007-0738-y]

6 任鹏, 于振涛. 晚期食管癌的姑息治疗. *中国肿瘤临床* 2013; 10: 604-607

7 Shirasaka T. Development history and concept of an oral anticancer agent S-1 (TS-1): its clinical usefulness and future vistas. *Jpn J Clin Oncol* 2009; 39: 2-15 [PMID: 19052037 DOI: 10.1093/jjco/hyn127]

8 Koizumi W, Boku N, Yamaguchi K, Miyata Y, Sawaki A, Kato T, Toh Y, Hyodo I, Nishina T, Furu-hata T, Miyashita K, Okada Y. Phase II study of S-1 plus leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2010; 21: 766-771 [PMID: 19828562 DOI: 10.1093/annonc/mdp371]

9 Yoshisue K, Hironaga K, Yamaguchi S, Yamamoto A, Nagayama S, Kawaguchi Y. Reduction of 5-fluorouracil (5-FU) gastrointestinal (GI) toxicity resulting from the protection of thymidylate synthase (TS) in GI tissue by repeated simultaneous administration of potassium oxonate (Oxo) in rats. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000; 46: 51-56 [PMID: 10912578 DOI: 10.1007/s002800000123]

10 Yoshisue K, Masuda H, Matsushima E, Ikeda K, Nagayama S, Kawaguchi Y. Tissue distribution and biotransformation of potassium oxonate after oral administration of a novel antitumor agent (drug combination of tegafur, 5-chloro-2,4-dihydroxypyridine, and potassium oxonate) to rats. *Drug Metab Dispos* 2000; 28: 1162-1167 [PMID: 10997934]

11 Diaz-Canton E, Pazdur R. Preoperative combined oral UFT plus leucovorin and radiation therapy for rectal cancer. *Oncology (Williston Park)* 1997; 11: 58-60 [PMID: 9348571]

12 Enzinger PC, Ilson DH, Kelsen DP. Chemotherapy in esophageal cancer. *Semin Oncol* 1999; 26: 12-20 [PMID: 10566606]

13 Bleiberg H, Conroy T, Paillot B, Lacave AJ, Blijham G, Jacob JH, Bedenne L, Namer M, De Besi P, Gay F, Collette L, Sahnoud T. Randomised phase II study of cisplatin and 5-fluorouracil (5-FU) versus cisplatin alone in advanced squamous cell oesophageal cancer. *Eur J Cancer* 1997; 33: 1216-1220 [PMID: 9301445 DOI: 10.1016/S0959-8049(97)00088-9]

14 葛博建, 高湘湘, 顾寄树, 谭清河. 替吉奥胶囊联合多西他赛治疗晚期食管癌临床疗效观察. *实用临床医药杂志* 2011; 17: 102-104

■应用要点
本研究表明替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌可显著提高近期疗效和延长生存期, 不良反应可耐受, 可替代标准氟尿嘧啶联合顺铂方案成为治疗晚期食管癌的首选.

■同行评价

本文通过对替吉奥或氟尿嘧啶联合顺铂治疗晚期食管癌的比较,显示出替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌的显著疗效及良好的安全性.对于晚期食管癌的内科治疗具有重要的实际意义,为扩大新药替吉奥的应用范围有重要的探索价值.

- 15 Saitoh M, Taguchi K, Momose K, Suga K, Yamazaki N, Ono C, Suzuki T, Takeuchi O, Yasuda S, Miyata K. Recombinant human interleukin-11 improved carboplatin-induced thrombocytopenia without af-

fecting antitumor activities in mice bearing Lewis lung carcinoma cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002; 49: 161-166 [PMID: 11862431 DOI: 10.1007/s00280-001-0387-1]

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》外文字符标准

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

江苏不同地区胃疾病相关幽门螺杆菌差异蛋白质的比较

叶振宇, 李军成, 邢春根

叶振宇, 李军成, 邢春根, 苏州大学附属第二医院普通外科
江苏省苏州市 215004

叶振宇, 主治医师, 主要从事胃肠道肿瘤与胰腺疾病的研究。

作者贡献分布: 本文由叶振宇撰写; 实验由叶振宇、李军成及邢春根共同完成。

通讯作者: 李军成, 主任医师, 215004, 江苏省苏州市姑苏区三香路1055号, 苏州大学附属第二医院普通外科。

jchenglee@sina.com

电话: 0512-67784796

收稿日期: 2013-11-18 修回日期: 2013-12-02

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-28

Proteomic analysis of *Helicobacter pylori* from patients with different gastric diseases in different regions of Jiangsu

Zhen-Yu Ye, Jun-Cheng Li, Chun-Gen Xing

Zhen-Yu Ye, Jun-Cheng Li, Chun-Gen Xing, Department of Surgery, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Jun-Cheng Li, Chief Physician, Department of Surgery, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, 1055 Sanxiang Road, Gusu District, Suzhou 215004, Jiangsu Province, China. Jchenglee@sina.com

Received: 2013-11-18 Revised: 2013-12-02

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To perform a proteomic analysis of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) from patients with different gastric diseases in different regions of Jiangsu.

METHODS: *H. pylori* strains were isolated from the endoscopic biopsy specimens of gastric mucosa of patients with gastritis or gastric cancer from areas of high (Taizhou) and low (Suzhou) incidence of gastric cancer, and whole-cell proteins of *H. pylori* were extracted and characterized by 2-dimensional electrophoresis (DE). Different protein spots were analyzed using PDQuest analysis software, identified by electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry (ESI-Q-TOF-MS), and searched using the Mascot database.

RESULTS: Nine differentially expressed pro-

teins were identified, including four up-regulated in gastric cancer (superoxide dismutase, urease subunit alpha, chaperone protein dnaK and DNA-directed RNA polymerase subunit alpha), two up-regulated in chronic gastritis (urease subunit alpha and nucleoside diphosphate kinase), and three only expressed in strains from one region (S-ribosyl homocysteine lyase, inorganic pyrophosphatase and 60×10^3 chaperonin).

CONCLUSION: There are proteomic differences between *H. pylori* isolates from patients with gastritis and gastric cancer in areas of high and low incidents of gastric cancer. The protein spots overexpressed in gastric cancer in the area with high incidence of gastric cancer are more than those in the area with low incidence of gastric cancer.

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

Key Words: Gastric cancer; Chronic gastritis; *Helicobacter pylori*; Protein

Ye ZY, Li JC, Xing CG. Proteomic analysis of *Helicobacter pylori* from patients with different gastric diseases in different regions of Jiangsu. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 389-393 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/389.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.389>

摘要

目的: 鉴定、比较江苏地区胃癌高、低发区胃癌与慢性胃炎相关幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)差异表达蛋白质。

方法: 选取江苏省泰州市(胃癌高发区)和苏州市(胃癌低发区)胃癌和慢性胃炎患者胃镜下胃黏膜活检组织分离培养出的*H. pylori*, 提取蛋白质后通过双向凝胶电泳进行分离, 使用PDQuest软件对蛋白质点进行分析和比较, 通过四极杆飞行时间电喷雾串联质谱对差异蛋白质点进行鉴定, 并通过Mascot数据库检索。

结果: 所选*H. pylori*菌株总蛋白进行双向凝胶

■背景资料

幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与胃癌和慢性胃炎等的发病与病情进展过程有紧密联系, 不同地区人群差异和*H. pylori*菌株差异均为导致*H. pylori*感染致病结局不同的主要因素。已有文献报道分析, 胃癌和慢性胃炎发病的相关*H. pylori*菌株蛋白也有一定的差异。

■同行评议者

李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

■ 研发前沿

现阶段,多个资料研究结果显示,*H. pylori*与胃癌、慢性胃炎、消化性溃疡等胃肠道疾病的发病及病情进展有密切相关性。然而,关于该方面的明确的致病机制还没有准确报道。

电泳后获得优质2-DE图谱,经Q-TOP鉴定为1号(巯基过氧化物酶)、3号(超氧化物歧化酶)、4号(尿素酶 α)、5号(核苷二磷酸激酶)、8号(分子伴侣dnaK)、9号(S-核糖基同型半胱氨酸裂解酶)、13号(无机焦磷酸酶)、14号(DNA引导的RNA聚合酶 α)和16号(分子伴侣 60×10^3)9个差异蛋白质点,其中3号、4号、8号和14号蛋白质点在胃癌菌株中均为高表达,1号和5号蛋白质点在慢性胃炎菌株中均为高表达,9号、13号和16号蛋白质点仅在一个地区存在差异表达。

结论:胃癌高、低发区胃癌及相应地区慢性胃炎*H. pylori*蛋白质比较存在一定差异,但其中2/3的差异蛋白质是一致的,胃癌高发区*H. pylori*差异蛋白质高表达多于低发区,表明*H. pylori*在不同胃癌发病区致病机制相似,但在胃癌高发区作用强于低发区。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌;慢性胃炎;幽门螺杆菌;蛋白质

核心提示: 本研究以我国江苏省泰州市(胃癌高发区)和苏州市(胃癌低发区)胃癌和慢性胃炎患者胃镜下胃黏膜活检组织分离培养出的幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)菌株作为研究对象,通过蛋白质组学分析比较两地区差异蛋白质表达。

叶振宇,李军成,邢春根. 江苏不同地区胃疾病相关幽门螺杆菌差异蛋白质的比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 389-393
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/389.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.389>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)由Marshall等^[1]首次从胃黏膜中分离出,并开展了关于*H. pylori*基因组成等方面的研究。现阶段,多个资料研究结果显示,*H. pylori*与胃癌、慢性胃炎、消化性溃疡等胃肠道疾病的发病及病情进展有密切相关性。然而,关于该方面的明确的致病机制还没有准确报道^[2]。蛋白质组学技术在该方面,有着自己的独特优势^[3]。我院采用该技术对江苏地区胃炎患者的*H. pylori*临床菌株差异蛋白进行比较研究,为*H. pylori*致胃癌的致病机制及胃癌防治提供理论依据,报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究所采用的*H. pylori*菌株来自2012-08/2013-08江苏省泰州市(胃癌高发区)和

苏州市(胃癌低发区)胃癌和慢性胃炎患者胃镜下胃黏膜活检组织分离培养。

1.2 方法

1.2.1 样本*H. pylori*分离培养: 将胃黏膜活检组织进行充分的研磨,制备得到匀浆,然后将其进行接种,所选培养基为哥伦比亚琼脂培养基,培养条件选取为5%O₂、10%CO₂、85%N₂(微需氧环境),经培养72 h后,进行形态学、快速尿素酶以及革兰染色油镜观察鉴定,确定为符合本研究所需*H. pylori*菌株后,于-80 °C低温保存待检^[4]。

1.2.2 蛋白提取: 在室温下将待检*H. pylori*菌株进行解冻,混匀保存液。取500 μ L *H. pylori*菌株,由接种环进行均匀接种,所选培养基为固体选择性培养基。所选培养条件为37 °C微需氧环境,培养时间为72 h。将菌苔刮下使用PBS洗涤,将洗涤悬浮液离心后弃去上清液。将沉淀置于EP管中,并加入细菌裂解液(尿素8 mol/L、DTT 65 mmol/L、PMSF 1 mmol、CHAPS 4%、两性电解质0.2%)混匀,混合液在冰浴环境下超声破碎,在室温下放置0.5 h后离心1 h,取上清液分装入EP管^[5]。取其中1管采用BCA方法使用蛋白质定量试剂盒进行蛋白质定量。

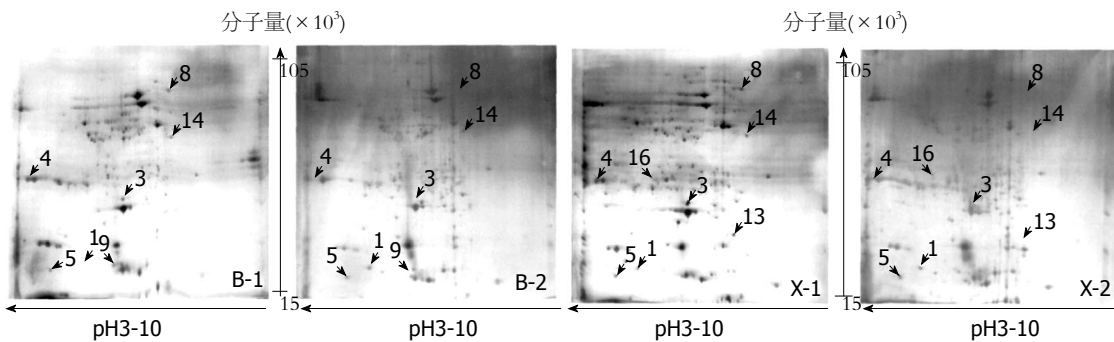
1.2.3 双向凝胶电泳: 等电聚焦:使用17 cm线性胶条,上样量:每胶120 μ g,聚焦仪程序设置为:50 V, 12 h; 250 V, 30 min; 1000 V, 1 h; 10000 V, 5 h; 10000 V, 70000伏小时; 500 V, 1 h。取出胶条,将其放于平衡缓冲液 I (含DTT 0.02 g/mL)和平衡缓冲液 II (含碘乙酰胺0.025 g/mL)中,分别进行震荡平衡,时间为15 min,转至浓度为12%的聚丙烯酰胺凝胶^[6]。电泳:每胶10 mA, 30 min; 每胶30 mA, 5 h。银染后使用DUOSCANT 1200扫描仪进行扫描,使用ImageMaster 5.0版图像分析软件与手工操作结合进行分析,得到差异表达蛋白质点,经胰酶将切取的蛋白质点进行胶内酶解^[7]。

1.2.4 质谱鉴定: 经四极杆飞行时间电喷雾串联质谱对差异蛋白质点进行鉴定,经毛细管液相色谱梯度洗脱进行脱盐,然后进行上样分析,上样量为1.4 μ L^[8]。二级质谱获得的图谱采用Max-Ent3软件处理,对该肽段氨基酸序列进行鉴定。从Mascot细菌数据库中得到检索结果^[9]。

统计学处理 从Mascot细菌数据库中得出检索结果。

2 结果

2.1 *H. pylori*菌株蛋白质双向凝胶电泳(two-



■ 相关报道

1号蛋白质点巯基过氧化物酶相关报道较少,其本身参与氧化还原反应,而关于其具体的致病机制还没有明确。

图1 有代表性的总蛋白2-DE图谱. 箭头表示差异表达的蛋白质点.

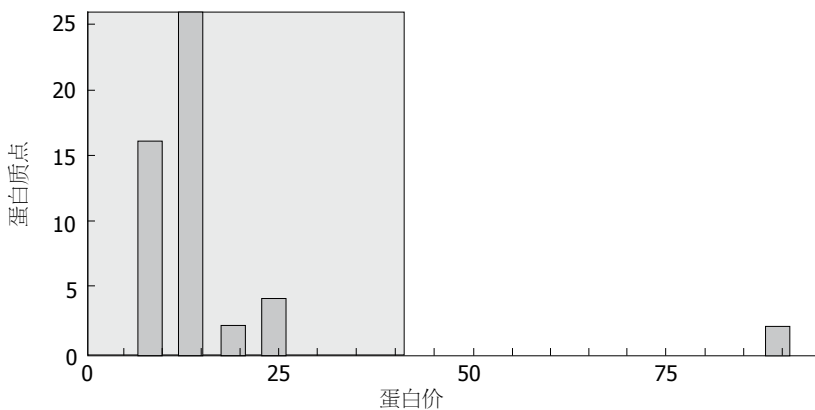


图2 13号蛋白质点的Mascot搜索结果.

dimensional gel electrophoresis, 2-DE)图谱的建立. 在同一条件下对本组胃癌和慢性胃炎患者*H. pylori*菌株总蛋白进行双向凝胶电泳分离,在银染显色后可以得到背景清晰、分辨率高及重复性良好的2-DE图谱. 经PDQuest软件分析显示,获得的每张2-DE图谱有蛋白质点300个左右,多数蛋白质点位置和丰度具有一致性,主要分布于pH4-8范围内. 经PDQuest软件结合手工进行成组分析比较可选出差异表达的蛋白质点(图1),将这些蛋白质点进行质谱分析.

图1中显示图谱中共有9个差异蛋白质点,包括1、3、4、5、8、9、13、14和16号. 9个差异蛋白质点中1、3、4、5、8和14号蛋白质点在泰州和苏州均存在一致性差异表达,其中3、4、8和14号蛋白质点在胃癌菌株中均为高表达,但在相应地区慢性胃炎菌株中4、8和14号蛋白质点均不表达,3号蛋白质点低表达;1和5号蛋白质点再慢性胃炎菌株中均为高表达,但在相应地区胃癌菌株中1号蛋白质点不表达或低表达,5号蛋白质点低表达. 9个差异蛋白质点中9、13和16号蛋白质点仅在一个地区存在差异表达. 其中9号蛋白质点胃癌菌株高表达仅呈现

在苏州地区,13和16号蛋白质点胃癌菌株高表达仅呈现在泰州地区;在相应地区慢性胃炎菌株中9和13号蛋白质点不表达,16号蛋白质点低表达.

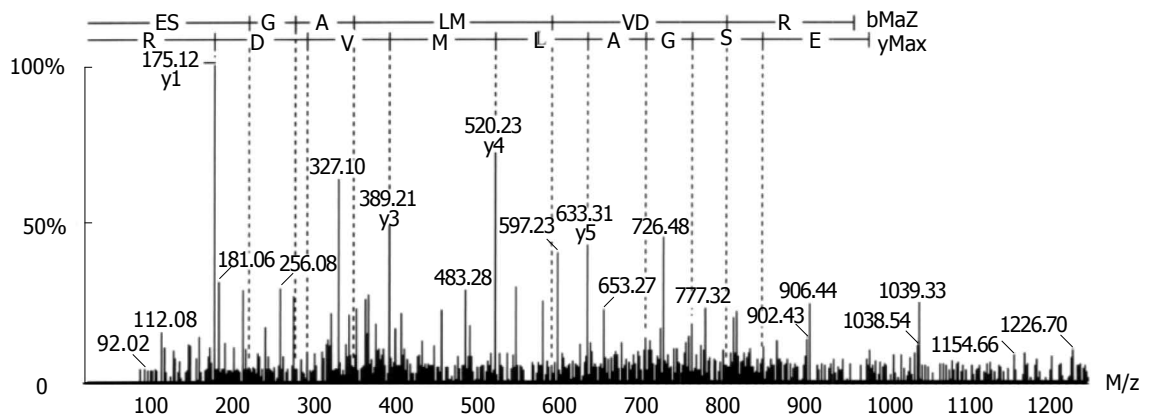
2.2 蛋白质鉴定 经Q-TOP对差异蛋白质进行鉴定,检索SWISS-PROT和NCBI蛋白质数据库(表1). 1号蛋白质点为巯基过氧化物酶,3号蛋白质点为超氧化物歧化酶,4号蛋白质点为尿素酶 α ,5号蛋白质点为核苷二磷酸激酶,8号蛋白质点为分子伴侣dnaK,9号蛋白质点为S-核糖基同型半胱氨酸裂解酶,13号蛋白质点为无机焦磷酸酶,14号蛋白质点为DNA引导的RNA聚合酶 α ,16号蛋白质点为分子伴侣 60×10^3 . 以13号蛋白质点为例,其Mascot搜索结果截面图如图2,其Q-TOP质谱图如图3.

3 讨论

*H. pylori*感染与胃癌和慢性胃炎等的发病与病情进展过程有紧密联系,不同地区人群差异和*H. pylori*菌株差异均为导致*H. pylori*感染致病结局不同的主要因素^[10]. 已有文献报道分析,胃癌和慢性胃炎发病的相关*H. pylori*菌株蛋白也

■应用要点

胃癌高、低发区胃癌及相应地区慢性胃炎*H. pylori*蛋白质比较存在一定差异,但其中2/3的差异蛋白质是一致的,胃癌高发区*H. pylori*差异蛋白质高表达多于低发区,表明*H. pylori*在不同胃癌发病区致病机制相似,但在胃癌高发区作用强于低发区。



Mass charge ratio is 489.21; Amino acid sequence is RDVMLAGSE.

图 3 13号点的Q-TOP质谱图. 配比: 489.21; 氨基酸序列: RDVMLAGESE.

表 1 Q-TOP鉴定的9个差异蛋白质点

序号	名称	蛋白序号	表达水平		蛋白质分子量/等电点	北京	沈阳
			胃癌	胃炎			
1	巯基过氧化物酶	gi 297380240	↓	↑	18365/7.86	+	+
3	超氧化物歧化酶	gi 188527846	↑	↓	24616/6.04	+	+
4	尿素酶α	gi 14583017	↑	↓	26608/8.47	+	+
5	核苷二磷酸激酶	gi 108562617	↓	↑	15368/7.98	+	+
8	分子伴侣dnaK	gi 188526913	↑	↓	67136/4.99	+	+
9	S-核糖基同型半胱氨酸裂解酶	gi 7387850	↑	↓	17799/6.37	+	-
13	无机焦磷酸酶	gi 4467573	↑	↓	19303/4.90	-	+
14	DNA引导的RNA聚合酶α	gi 15612278	↑	↓	38570/4.97	+	+
16	分子伴侣60 × 10 ³	gi 54299868	↑	↓	58245/5.55	-	+

+ : 蛋白在该区域差异表达; - : 蛋白在该区域无差异表达.

有一定的差异^[11]. 在我国,胃癌高、低发区胃癌患者*H. pylori*感染率存在较大的差异,其中,高发区感染率约为50.97%,低发区感染率约为41.30%^[12],目前还没有关于胃癌高、低发区胃癌与慢性胃炎相关幽门螺旋杆菌差异表达蛋白质的相关报道。

本研究以我国江苏省泰州市(胃癌高发区)和苏州市(胃癌低发区)胃癌和慢性胃炎患者胃镜下胃黏膜活检组织分离培养出的*H. pylori*菌株作为研究对象,通过蛋白质组学分析比较两地区差异蛋白质表达. 研究结果显示,共发现9差异蛋白质点,分别为1号(巯基过氧化物酶)、3号(超氧化物歧化酶)、4号(尿素酶α)、5号(核苷二磷酸激酶)、8号(分子伴侣dnaK)、9号(S-核糖基同型半胱氨酸裂解酶)、13号(无机焦磷酸酶)、14号(DNA引导的RNA聚合酶α)和16号(分子伴侣60 × 10³). 其中3、4、8和14号蛋白质点在胃癌菌株中均为高表达,1和5号蛋白质点在慢性

胃炎菌株中均为高表达,9、13和16号蛋白质点仅在一个地区存在差异表达,9号蛋白质点胃癌菌株高表达仅呈现在苏州地区,13和16号蛋白质点胃癌菌株高表达仅呈现在泰州地区;在相应地区慢性胃炎菌株中9号和13号蛋白质点不表达,16号蛋白质点低表达。

1号蛋白质点巯基过氧化物酶相关报道较少,其本身参与氧化还原反应,而关于其具体的致病机制还没有明确;3号蛋白质点超氧化物歧化酶对机体中性粒细胞和巨噬细胞氧自由基杀伤细菌的效果有抑制作用,减轻了免疫系统对*H. pylori*的损伤,增强了*H. pylori*的定植力和侵袭力;4号蛋白质点尿素酶α在胃癌高、低发区胃癌菌株中均为高表达,其亚单位能够刺激尿素反应生成NH₄⁺,导致细菌外环境pH升高,促进细菌定植和增值,同时也大大削弱了胃黏膜的屏障功能,促进空泡毒素发挥毒性作用^[13],参与胃黏膜发病及病情进展过程;5号蛋白质点核

昔二磷酸激酶具有调节细胞增殖、分化以及抑制细胞生长和运动等多方面的作用^[1], 同时也是抑制肿瘤转移的管家酶; 8号蛋白质点分子伴侣dnaK参与肿瘤免疫过程, 有助于提高细胞应激耐受性和增值速度, 对肿瘤细胞凋亡有抑制作用^[14]; 9号蛋白质点S-核糖基同型半胱氨酸裂解酶能够催化S-核糖基同型半胱氨酸转变为同型半胱氨酸, 引起细胞内叶酸水平降低、同型半胱氨酸水平升高, 最终导致胃上皮细胞周围正常微环境发生改变^[15]; 13号蛋白质点无机焦磷酸酶能够催化焦磷酸, 焦磷酸在*H. pylori*新陈代谢过程中参与细胞质合成反应, 有平衡能量的作用, 是*H. pylori*新陈代谢旺盛的重要因素; 14号蛋白质点DNA引导的RNA聚合酶 α 与Hp的DNA转录功能相关, 参与*H. pylori*的新陈代谢过程; 16号蛋白质点分子伴侣60 $\times 10^3$ 属于Hsp60家族, 与*H. pylori*产生Hsp60抗体, 与机体胃黏膜产生的Hsp60发生交叉反应, 抑制了Hsp60对胃黏膜的保护作用, 同时也增强了尿素酶的毒力, 其在*H. pylori*菌体尿素酶的细胞外装配以及保持尿素酶的稳定性上具有重要作用^[16]。

总之, 胃癌高、低发区胃癌及相应地区慢性胃炎*H. pylori*蛋白质比较存在一定差异, 但其中2/3的差异蛋白质是一致的, 胃癌高发区*H. pylori*差异蛋白质高表达多于低发区, 表明*H. pylori*在不同胃癌发病区致病机制相似, 但在胃癌高发区作用强于低发区。

4 参考文献

- 1 Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-1315 [PMID: 6145023]
- 2 时昭红, 刘浩. 幽门螺杆菌感染与胃癌. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3327-3331
- 3 闫伟, 曹建彪. 胃幽门螺杆菌检测技术进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1527-1533
- 4 刘琳娜, 丁士刚, 钟丽君, 张静, 曲恒怡, 李曙光. 胃癌和慢性胃炎患者幽门螺杆菌蛋白质组学分析. *胃肠病学* 2011; 16: 409-413
- 5 游运辉. 胃炎与胃癌相关幽门螺杆菌差异蛋白质组学的研究. 中南大学, 2007
- 6 刘琳娜, 张静, 丁士刚, 钟丽君, 李广川, 石岩岩, 王晔. 胃癌高、低发区胃癌与慢性胃炎患者幽门螺杆菌差异蛋白质的比较. *北京大学学报(医学版)* 2011; 43: 827-832
- 7 Lee JS, Choe YH, Lee JH, Lee HJ, Lee JH, Choi YO. Helicobacter pylori urease activity is influenced by ferric uptake regulator. *Yonsei Med J* 2010; 51: 39-44 [PMID: 20046512 DOI: 10.3349/ymj.2010.51.1.39]
- 8 游运辉, 范学工, 刘萍, 刘洪波, 田雪飞, 颜雪梅. 胃癌及慢性胃炎幽门螺杆菌的蛋白质组学研究. *中南大学学报(医学版)* 2008; 33: 384-390
- 9 Hong SJ, Oh JH, Jeon EJ, Min KO, Kang MI, Choi SW, Rhyu MG. The overmethylated genes in Helicobacter pylori-infected gastric mucosa are demethylated in gastric cancers. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 137 [PMID: 21092120 DOI: 10.1186/1471-230X-10-137]
- 10 钟晓刚, 殷舞, 黄顺荣. 幽门螺旋杆菌与残胃癌发生的研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3200-3203
- 11 刘延兰, 刘小荣, 李晓琴. 幽门螺旋杆菌感染与慢性胃炎相关性研究. *甘肃医药* 2010; 29: 662-663
- 12 官月华. 胃癌高、低发区幽门螺杆菌基因型的差异分布及其与胃疾病的相关性. 中国医科大学, 2003
- 13 Niwa T, Tsukamoto T, Toyoda T, Mori A, Tanaka H, Maekita T, Ichinose M, Tatematsu M, Ushijima T. Inflammatory processes triggered by Helicobacter pylori infection cause aberrant DNA methylation in gastric epithelial cells. *Cancer Res* 2010; 70: 1430-1440 [PMID: 20124475 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2755]
- 14 王建旭, 冯义朝. 幽门螺杆菌感染与胃癌局部浸润的相关性. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 268-271
- 15 赵丹云. 幽门螺杆菌感染与慢性胃炎的相关性研究. *求医问药(下半月)* 2012; 10: 8-9
- 16 刘延兰, 刘小荣, 李晓琴. 幽门螺旋杆菌感染与慢性胃炎相关性研究. *甘肃医药* 2010; 29: 662-663

同行评价

本文内容实用, 讨论全面, 具有一定的学术价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



胃癌患者应用诊断性腹腔灌洗术进行细胞学检测的意义

朱勇, 陈乾, 汪生尧

■背景资料

腹水细胞学检查可以评估胃癌是否有远处转移。诊断性腹腔灌洗术 (diagnostic peritoneal lavage, DPL) 是可用于闭合性腹内损伤的诊断, 应用DPL这一损伤较小即可证实是否有远处淋巴结转移的方法, 有助于胃癌患者临床诊断与分期, 指导治疗。

朱勇, 陈乾, 汪生尧, 湖北省中医院普外科 湖北省武汉市 430074

朱勇, 主治医师, 主要从事腹部常见疾病的外科治疗。

作者贡献分布: 朱勇与陈乾对此文所作贡献均等; 此课题由朱勇、陈乾及汪生尧设计; 研究过程由朱勇、陈乾及汪生尧操作完成; 研究所用分析工具由朱勇提供; 数据分析由陈乾与汪生尧完成; 本论文写作由朱勇完成。

通讯作者: 朱勇, 主治医师, 430074, 湖北省武汉市珞瑜路856号, 湖北省中医院普外科。wxid_sj123@163.com

电话: 027-88929147

收稿日期: 2013-11-22 修回日期: 2013-12-09

接受日期: 2013-12-11 在线出版日期: 2014-01-28

A prospective clinical trial of diagnostic peritoneal lavage for peritoneal cytology in patients with gastric cancer

Yong Zhu, Qian Chen, Sheng-Yao Wang

Yong Zhu, Qian Chen, Sheng-Yao Wang, Department of Surgery, Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430074, Hubei Province, China

Correspondence to: Yong Zhu, Attending Physician, Department of Surgery, Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, 856 Luoyu Road, Wuhan 430074, Hubei Province, China. wxid_sj123@163.com

Received: 2013-11-22 Revised: 2013-12-09

Accepted: 2013-12-11 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To assess the safety and feasibility of diagnostic peritoneal lavage (DPL) in gastric cancer patients and determine whether DPL can be used to assess peritoneal cytology in patients with gastric cancer.

METHODS: Patients with gastric adenocarcinoma were prospectively enrolled to undergo DPL prior to diagnostic laparoscopy (DL). Saline was instilled through a percutaneous catheter and fluid was collected for cytology (DPL-cyt). Washings obtained during DL were used as controls (DL-cyt).

RESULTS: DPL was successful in 22 of 27 patients (81.5%). Among the 22 cases of successful DPL, 12 had positive cytology (54.5%). Positive DPL-cyt specimens were consistent with DL-cyt specimens in 12/12 cases (specificity = 100%).

CONCLUSION: DPL is a safe method for detecting positive cytology in patients with gastric cancer.

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

Key Words: Peritoneal cytology; Diagnostic peritoneal lavage; Gastric cancer; Metastasis

Zhu Y, Chen Q, Wang SY. A prospective clinical trial of diagnostic peritoneal lavage for peritoneal cytology in patients with gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 394-398 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/394.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.394>

摘要

目的: 观察在胃癌患者中应用经皮诊断性腹腔灌洗术 (diagnostic peritoneal lavage, DPL) 的安全性及有效性, 明确胃癌患者是否可用诊断性腹腔灌洗术进行细胞学检测。

方法: 入组的27例胃癌患者, 在进行诊断性腹腔镜检查 (diagnostic laparoscopy, DL) 术前, 先进行DPL。行腹腔穿刺后将生理盐水通过医用经皮导管灌入患者腹腔内, 收集腹腔灌洗液用于进行细胞学检测 (DPL-Cyt)。经腹腔镜下向腹腔内冲入生理盐水, 收集镜下冲洗液进行细胞学检测 (DPL-Cyt)。

结果: 在27例患者中, 施行DPL的成功率为81.5% (22/27)。在成功施行DPL的22例患者中, 有12例患者细胞学阳性, 其阳性率为54.5%。与DL细胞学的阳性率是一致的。

结论: 胃癌患者应用DPL进行细胞学检测是一种安全有效的方法, 在胃癌的诊断分期中有重要指导意义。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 腹水细胞学; 诊断性腹腔灌洗术; 胃癌; 转移

核心提示: 晚期胃癌尤其是有远处转移的患者, 行经皮诊断性腹腔灌洗术 (diagnostic peritoneal

■同行评议者

王学美, 研究员, 北京大学第一医院中西医结合研究室; 樊晓明, 教授, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科

lavage)以灌洗液细胞学为依据,进行肿瘤的诊断及分型并指导治疗,与腹腔镜下冲洗液细胞学检测相比,具有敏感性高、特异性强、费用低、不良反应少的特点,值得临床推广。

朱勇, 陈乾, 汪生尧. 胃癌患者应用诊断性腹腔灌洗术进行细胞学检测的意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 394-398
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/394.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.394>

0 引言

腹水细胞学检测是一项评价胃癌切除术后患者长期生存率的重要预后因子^[1]。由于他的重要预测价值,近期,这项检查被纳入到美国癌症联合委员会对于胃癌的诊断分期系统中^[2]。腹水细胞学的诊断阳性率尚不明确,众多报道^[3-5]从6.5%-31%不等,而其阳性率与肿瘤原发灶及淋巴结受累情况相关。大多数前瞻性研究忽略了腹水细胞学检测,推测其原因,与增加额外的费用及诊断性腹腔镜检查(diagnostic laparoscopy, DL)给患者带来的不适有关。据报道^[6],在国外的多个医疗中心,对于晚期胃癌的患者的治疗上,在DL过程中进行的腹腔灌洗是先于围手术期的化疗的。在胃癌早期,由于腹水细胞学检测的阳性率较低,因此,许多患者并不选择这项检查^[7]。

经皮诊断性腹腔灌洗术(percutaneous diagnostic peritoneal lavage, DPL)是Root等^[8]在1964年首先用于疑有闭合性腹内损伤的诊断,效果满意,几十年来,灌洗术已被广泛地应用于临床。诊断腹部闭合性损伤特别是实质脏器损伤的重要检查方法。大量研究证实^[9],DPL是快速、安全和有效的。由于DPL的特性,这一技术可用来获取腹腔灌洗液,作为晚期胃癌患者诊断及分型的依据。腹水细胞学阳性的患者可以免受姑息性手术,而选择系统性治疗。近年来,并没有研究评价DPL在胃癌患者诊断及治疗中的作用。本研究的旨在观察DPL在胃癌患者的安全性及有效性,计算DPL发现腹水细胞学检测的敏感性和特异性。为临床更广泛的应用DPL提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-10/2012-03在我科住院胃癌患者27例。记录患者临床和病理学资料,包括患者的年龄、性别、肿瘤的部位、临床和病理分期。所有患者的病理分期按照美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer,

AJCC)TNM分期(第七版,2010年)^[2]。在行DPL及DL之前,所有患者先行胸部、腹部及盆腔CT。高危胃癌患者(T3N1M1或T2N0及高危病理学特征)在签署知情同意书后方可行DL。

1.2 方法 施行DPL术前1 d应用2代头孢菌素预防感染。患者取仰卧位,膀胱排空,常规消毒皮肤后,局麻状态下进行于经皮腹腔穿刺,穿刺点位于脐至耻骨联合中上1/3处,穿刺成功后将有侧孔的塑料引流管置入腹腔,引流管尾端连接装有1000 mL生理盐水的输液袋,倒挂输液袋,使生理盐水缓慢流入腹腔,当液体流完或患者感到腹胀时,将输液袋放置于低于患者位置,利用虹吸原理使灌洗液流回输液袋中,术毕,拔出穿刺针,局部消毒,无菌纱布包扎。取腹腔灌洗液送检,行常规、生化、酶学、细菌、病理细胞学检查。一次成功的诊断性腹腔灌洗至少应灌入腹腔500 mL液体,至少回收200 mL液体。

在完成诊断性腹腔灌洗术后,所有患者行DL。常规消毒、局麻下,选取腹正中线脐上0.5-1.0 cm处为穿刺点,建立人工气腹。选用脐上2 cm偏左侧,或脐下,做长约1 cm的小切口,从切口处插入装有针芯的腹腔镜套管,穿刺方向要避开脊柱、腹主动脉及腹部包块;取出针芯,从套管处插入腹腔镜,接上光源,对腹腔内脏器进行观察。仔细观察腹膜腔及肝脏表面是否存在施行DPL所造成的损伤及出血,尤其要注意是否存在肿瘤的腹腔及肝脏转移。将DPL剩余的灌洗液收集起来,于腹腔镜下行腹腔冲洗。将500 mL生理盐水,分3次循腹腔镜分别冲入左上腹、右上腹和盆腔。收集3个部位的冲洗液,混合在一起进行细胞学检测。

将DPL所得的细胞学检测结果和DL所得的细胞学检测结果进行比较。计算DPL的敏感性[敏感性 = DL-Cyt阳性患者例数/(DL-Cyt阳性患者例数+DL-Cyt可疑阴性患者例数) × 100%]、特异性[特异性 = DL-Cyt阴性患者例数/(DL-Cyt阴性患者例数+DL-Cyt可疑阳性患者例数) × 100%]和细胞学检测的阳性率(阳性率 = DL-Cyt阳性患者例数/DL-Cyt真阳性患者例数 × 100%)。记录即刻及30 d后并发症。

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行处理。阳性率的比较采用 χ^2 检验,检测水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床病理学资料 自2010-10/2012-03,有27例

■ 研究前沿

诊断性腹腔灌洗术可快速、安全和有效地获取腹水进行细胞学检测,作为晚期胃癌患者诊断及分型的依据。腹水细胞学阳性的患者可以免受姑息性手术,而选择系统性治疗。具有临床指导价值,值得进一步探讨。

■ 相关报道

腹水细胞学检测是一项评价胃癌切除术后患者长期生存率的重要预后因子。由于他的重要预测价值, 近期, 这项检查被纳入到美国癌症联合委员会对于胃癌的诊断分期系统中。腹水细胞学的诊断阳性率尚不明确, 众多报道从6.5%-31.0%不等。

表 1 27例胃癌患者外科术前的临床病理学资料

临床病理特征	例数(n)	百分比(%)
性别		
男	14	52
女	13	48
年龄(岁)		
≤50	7	26
>50	20	74
部位		
胃食管连接处	9	31
贲门	8	30
胃窦	10	39
检查方法		
CT	27	100
超声内镜	22	81
病理		
腹水	2	7
皮革胃	14	52
淋巴结肿大	20	74
分期		
≤T2, N0	4	15
≥T3, N1	23	85
M1	2	7

患者参与本研究。患者全部应用CT进行分期, 有22/27(81%)的患者应用超声内镜作为分期的检查方法。肿瘤临床分期由超声内镜和CT的阳性发现决定。有2例患者在术前CT检查发现有腹水, 但没有实质脏器的转移(表1)。

2.2 DPL和DL检测结果 如表2所示, 在施行DPL过程中有5例(18.5%)因技术故障而失败。其中有4例患者由于组织黏连使得流入和流出的液体不足, 1例患者灌洗液标本收集不足。有22例患者成功施行DPL(表2)。12例患者(54.5%)细胞学检测阳性, 10例患者(45.5%)细胞学检测阴性。所有患者都施行DL, 在27例患者中, 完成了26例的细胞学检测。有1例患者由于肿瘤腹膜扩散不能施行腹腔镜检查。在5例技术故障的患者中, 3例患者DL细胞学阴性, 1例患者DL细胞学阳性, 1例患者未能行DL。

DPL细胞学检测的敏感性是92%, 其特异性是100%。12例DPL细胞学检测的患者在DL中亦发现细胞学阳性, 因此可以说DPL细胞学检测阳性结果是准确的。有一个患者行DPL细胞学检测时没有足够的细胞, 但其行DL检测细胞学阳性(表3)。

2.3 并发症 22例成功施行DPL患者未出现腹腔出血等即刻并发症, 亦未出现伤口愈合不良、皮肤感染等30 d后远期并发症。27例行DL患者,

表 2 胃癌患者施行DPL及细胞学检测情况

结果	DPL成功	DPL失败
n	22	5
远处转移(M1)	12	2
DL-Cyt(+)	14	1
DL-Cyt(-)	12	2
DPL-Cyt(+)	12	0
DPL-Cyt(-)	10	0

DPL: 经皮诊断性腹腔灌洗术; DL: 诊断性腹腔镜检查。

表 3 27例胃癌患者的DPL、DL的相关变量结果

DPL、DL的相关变量结果	例数(n)	百分比(%)
DPL技术成功率	22	81.5
即刻及30 d后并发症	0	0
DPL-Cyt		
阳性	12	54.5
阴性	10	45.5
DL-Cyt		
阳性	14	53.8
阴性	12	44.4
未能行腹腔镜下冲洗	1	3.8
DPL-Cyt与DL-Cyt阳性吻合率	12	100
DPL-Cyt与DL-Cyt阴性吻合率	9	90
与DL相比DPL对于细胞学检测评估		
敏感性	12	92.3
特异性	10	100
阳性率	12	100
阴性率	10	91
准确性	21	95.5
腹腔镜下情况		
细胞学阳性	14	51.9
远处转移(M1)	12	44.4
肝转移	1	3.7
腹膜种植性转移	11	40.7
与DL相比DPL对于M1的评估		
敏感性	12	54.5
特异性	10	100
阳性率	12	100
阴性率	6	60
准确性	18	81.8

DPL: 经皮诊断性腹腔灌洗术; DL: 诊断性腹腔镜检查。

未出现皮下气肿、空气栓塞、空腔脏器穿孔、腹膜炎等即刻并发症, 亦未出现空腔脏器迟发性穿孔、腹部大血管损伤等30 d后远期并发症。

3 讨论

腹水细胞学检测是一项胃癌患者远期生存率的

独立的预测因子, 已逐渐被AJCC所认同^[1,2,4]. 作为胃癌的重要检查手段, DL被推荐用于评估腹水细胞学及隐匿性远处转移. 当发现有远处淋巴结转移时, 这一方法也被用于不能进行开腹手术的患者^[10]. 当胃癌患者有远处转移时, 不论是单独的淋巴结还是腹腔或脏器局部的转移, 这些患者都不能行胃癌根治术. 因此, 在筛选患者过程中, 应用DL这一损伤较小即可证实是否有远处淋巴结转移的检测方法是很恰当的. 细胞学检测也可以用来评估进行辅助疗法或围手术期化疗的患者.

目前, 对于实体肿瘤的分期有多种形式. 利用循证医学支持的方法评估患者, 可以增加肿瘤患者的收益^[11]. 我们应用超声内镜作为对照指标回顾性的评估胃癌患者在接受治疗之前应用诊断性腹腔镜技术. 应用超声内镜将胃癌患者分为低危组(T1-2, N0)和高危组(T3-4和或N⁺). 相对于在低危组患者的收益率4%(1/26), 高危患者的收益率可达25%(17/68). 这也就解释了在手术前评估肿瘤患者并进行分期, 有助于提高收益率及阴性预测值.

在我们的研究中, 通过腹腔镜我们发现12例患者有远处转移, 包括1例肝脏转移, 11例腹腔转移. 在这些患者中, 有6例细胞学阳性. 其余6例患者, 其中细胞学阴性3例, DPL失败3例. 可见DPL一个显著的局限性就是对于有远处转移的患者敏感性较差. 我们考虑和以下因素有关. 首先, 我们此次研究选择的患者中有远处转移的病例占总的病例的比例较大(12/27, 44.4%). 大规模回顾性研究已证实^[9], DL在进展期胃癌患者诊断分期中的收益为13%-40%. 有资料表明^[12]大约1/3的胃癌患者, 肿瘤位于胃食管连接处, 对于有远处转移的胃癌患者DL的收益更高. 此外, 并不是所有的腹膜转移的患者腹水细胞学检测都呈现阳性, 这是由于抽样误差所导致^[13].

从本研究中可知, 施行DPL最好选择之前未行任何腹部外科手术, 无远处转移征象的进展期胃癌患者. 在行胃癌切除术前, DL用以评估肿瘤总的情况, 包括位置、大小及周围组织情况. 应用特异性更高的分类标准去进行高危患者的分类, 对于DPL-Cyt的阳性率也可提高^[14]. 此外, 应用RT-PCR技术标记腹水的癌胚抗原也可提高患者的收益^[15].

总之, 我们已经证实了在进行胃癌患者诊断分期过程中, 应用DPL获取标本进行细胞学检测是一种安全、有效的方法. 虽然存在对于有远

处转移的患者敏感性较差的局限性, 但是DPL的高度敏感性和特异性, 无疑是进展期胃癌患者诊断分期的最优方法.

4 参考文献

- Bentrem D, Wilton A, Mazumdar M, Brennan M, Coit D. The value of peritoneal cytology as a preoperative predictor in patients with gastric carcinoma undergoing a curative resection. *Ann Surg Oncol* 2005; 12: 347-353 [PMID: 15915368 DOI: 10.1245/ASO.2005.03.065]
- Stephen B, Edge , David R, Byrd , Frederick L, Green, Andy Trotti. American Joint Committee on Cancer Staging Manual. 7th edition. New York: Springer, 2010: 242-251
- Lorenzen S, Panzram B, Rosenberg R, Nekarda H, Becker K, Schenk U, Höfler H, Siewert JR, Jäger D, Ott K. Prognostic significance of free peritoneal tumor cells in the peritoneal cavity before and after neoadjuvant chemotherapy in patients with gastric carcinoma undergoing potentially curative resection. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 2733-2739 [PMID: 20490698 DOI: 10.1245/s10434-010-1090-4]
- Mezhir JJ, Shah MA, Jacks LM, Brennan MF, Coit DG, Strong VE. Positive peritoneal cytology in patients with gastric cancer: natural history and outcome of 291 patients. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 3173-3180 [PMID: 20585870 DOI: 10.1245/s10434-010-1183-0]
- Lee SD, Ryu KW, Eom BW, Lee JH, Kook MC, Kim YW. Prognostic significance of peritoneal washing cytology in patients with gastric cancer. *Br J Surg* 2012; 99: 397-403 [PMID: 22101572 DOI: 10.1002/bjs.7812]
- Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, Scarffe JH, Lofts FJ, Falk SJ, Iveson TJ, Smith DB, Langley RE, Verma M, Weeden S, Chua YJ. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 11-20 [PMID: 16822992 DOI: 10.1056/NEJMoa055531]
- Power DG, Schattner MA, Gerdes H, Brenner B, Markowitz AJ, Capanu M, Coit DG, Brennan M, Kelsen DP, Shah MA. Endoscopic ultrasound can improve the selection for laparoscopy in patients with localized gastric cancer. *J Am Coll Surg* 2009; 208: 173-178 [PMID: 19228527 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2008.10.022]
- Root HD, Hauser CW, Mckinley CR, Lafave JW, Mendiola RP. Diagnostic peritoneal lavage. *Surgery* 1965; 57: 633-637 [PMID: 14295771]
- Nagy KK, Roberts RR, Joseph KT, Smith RF, An GC, Bokhari F, Barrett J. Experience with over 2500 diagnostic peritoneal lavages. *Injury* 2000; 31: 479-482 [PMID: 10908739 DOI: 10.1016/S0020-1383(00)00010-3]
- Karanicolas PJ, Elkin EB, Jacks LM, Atria CL, Strong VE, Brennan MF, Coit DG. Staging laparoscopy in the management of gastric cancer: a population-based analysis. *J Am Coll Surg* 2011; 213: 644-651, 651.e1 [PMID: 21872497]
- Homma Y, Ushida S, Yamada M, Kobayashi H, Suzuki K. Positive peritoneal washing cytology in multiple cavities can predict poor prognosis of advanced gastric cancer patients. *Ann Surg Oncol*

■创新盘点

腹水细胞学检测被纳入到美国癌症联合委员会对于胃癌的诊断分期系统中. 而如何采取有效方式以安全、有效地获取腹水, 且能最大限度的提高腹水细胞阳性检出率成为国内外争论的依据. 本文评价了诊断性腹腔灌洗术在胃癌患者诊断及指导治疗中的作用.

■同行评价

本文具有一定临床指导价值,值得进一步研究探讨.

- 2010; 17: 455-460 [PMID: 19847567 DOI: 10.1245/s10434-009-0764-2]
- 12 Okabe H, Ueda S, Obama K, Hosogi H, Sakai Y. Induction chemotherapy with S-1 plus cisplatin followed by surgery for treatment of gastric cancer with peritoneal dissemination. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 3227-3236 [PMID: 19777180 DOI: 10.1245/s10434-009-0706-z]
- 13 Rozycki GS, Root HD. The diagnosis of intraabdominal visceral injury. *J Trauma* 2010; 68: 1019-1023 [PMID: 20453755 DOI: 10.1097/TA.0b013e3181da78de]
- 14 Sarela AI, Lefkowitz R, Brennan MF, Karpeh MS. Selection of patients with gastric adenocarcinoma for laparoscopic staging. *Am J Surg* 2006; 191: 134-138 [PMID: 16399124 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2005.10.015]
- 15 Wong J, Kelly KJ, Mittra A, Gonen M, Allen P, Fong Y, Coit D. Rt-PCR increases detection of submicroscopic peritoneal metastases in gastric cancer and has prognostic significance. *J Gastrointest Surg* 2012; 16: 889-896; discussion 896 [PMID: 22362071 DOI: 10.1007/s11605-012-1845-2]

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 •

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。

复方聚乙二醇电解质散和西甲硅油不同服用方法在胶囊内镜肠道准备中的效果对比

刘敏芝, 李运泽, 韦天灵, 梁昌宇, 李莉

刘敏芝, 李运泽, 韦天灵, 梁昌宇, 李莉, 广西科技大学附属柳州市人民医院消化内科 广西壮族自治区柳州市 545006

刘敏芝, 主治医师, 主要从事胶囊内镜的临床研究。

广西壮族自治区卫生厅科研基金资助项目, No. z2011285

作者贡献分布: 刘敏芝与李运泽对此文做出主要贡献; 此课题由李运泽设计; 研究过程由刘敏芝、李运泽、韦天灵、梁昌宇及李莉操作完成; 数据分析由刘敏芝与李运泽完成; 本论文写作由刘敏芝与李运泽完成。

通讯作者: 李运泽, 教授, 545006, 广西壮族自治区柳州市文昌路8号, 广西科技大学附属柳州市人民医院消化内科。

lyze@163.com

电话: 0772-2662775

收稿日期: 2013-11-06 修回日期: 2013-12-08

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-01-28

Clinical effects of compound polyethylene glycol electrolyte solution with simethicone given by different methods in bowel preparation before capsule endoscopy

Min-Zhi Liu, Yun-Ze Li, Tian-Ling Wei, Chang-Yu Liang, Li Li

Min-Zhi Liu, Yun-Ze Li, Tian-Ling Wei, Chang-Yu Liang, Li Li, Department of Gastroenterology, the Affiliated Liuzhou Hospital of Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Scientific Research Project of Health Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. z2011285

Correspondence to: Yun-Ze Li, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Liuzhou Hospital of Guangxi University of Science and Technology, 8 Wenchang Road, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. lyze@163.com

Received: 2013-11-06 Revised: 2013-12-08

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To observe the clinical effects of compound polyethylene glycol electrolyte solution with simethicone given by different methods in the bowel preparation before capsule endoscopy.

METHODS: This was a prospective, investigator-blinded randomized study. Sixty patients

treated at our hospital were randomly divided into two groups; group A ($n = 30$) received 3 L of compound polyethylene glycol electrolyte solution 4 h before and 30 mL of simethicone 30 min before the examination, and group B ($n = 30$) received 2 L of compound polyethylene glycol electrolyte solution 4 h before, 15 mL of simethicone 2 d before (3 times a day, each 5 mL) and 15 mL of simethicone 30 min before the examination. The image quality of endoscopy was graded according to air bubble size, digestive tract juice quantity and its clear degree. Gastric emptying time and small bowel transit time were recorded for each examination, and adverse reactions were also recorded.

RESULTS: The air bubble size was significantly in group B less than in group A (0.20 ± 0.12 vs 0.30 ± 0.21 , $P < 0.05$). The clear degree of digestive tract juice was better in group B than in group A (0.36 ± 0.32 vs 0.64 ± 0.47 , $P < 0.05$). There was no significant difference in digestive tract juice quantity (0.70 ± 0.30 vs 0.86 ± 0.46 , $P > 0.05$), gastric emptying time, small bowel transit time or adverse reactions between the two groups ($P > 0.05$ for all).

CONCLUSION: Two liters of compound polyethylene glycol electrolyte could achieve the desired results in the bowel preparation before capsule endoscopy. Simethicone in divided doses had better effects in removing the bubbles.

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

Key Words: Capsule endoscopy; Compound polyethylene glycol electrolyte solution; Simethicone; Bowel preparation

Liu MZ, Li YZ, Wei TL, Liang CY, Li L. Clinical effects of compound polyethylene glycol electrolyte solution with simethicone given by different methods in bowel preparation before capsule endoscopy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 399-403 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/399.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.399>

背景资料

胶囊内镜成为目前诊断小肠疾病的一线工具。由于胶囊内镜没有充气、冲水及吸引装置,且内镜拍摄角度、肠蠕动、肠内气泡大小及透明度、肠液量多少及清洁度等因素均可影响图像的质量,因而良好的检查前肠道准备工作是胶囊内镜检查成功的关键。

同行评议者

刘海峰, 主任医师, 北京市武警总医院消化科

■ 研究前沿

中华消化内镜学会胶囊内镜临床应用规范认为胶囊内镜检查前应禁食10-12 h, 常用的肠道清洁剂为口服聚乙二醇电解质溶液或磷酸钠溶液, 术前半小时可服用适量祛泡剂, 国内外关于聚乙二醇电解质散和祛泡剂的服用方法和剂量仍无明确规定, 胶囊内镜检查前肠道准备方法已成为近年的研究热点之一。

摘要

目的: 观察对比两种复方聚乙二醇电解质散和西甲硅油的服用方法在胶囊内镜检查前肠道准备中的临床效果。

方法: 以60例行胶囊内镜检查的患者为研究对象, 采用前瞻性、单盲、随机对照研究方法, 分为对照组A组($n = 30$)、研究组B组($n = 30$)。其中A组患者检查前4 h服用复方聚乙二醇电解质散3 L, 检查前30 min一次性服用西甲硅油乳剂30 mL; B组患者检查前4 h服用复方聚乙二醇电解质散2 L, 检查前2 d口服西甲硅油乳剂, 3次/d, 5 mL/次, 检查前30 min一次性服用西甲硅油乳剂15 mL。对两组患者胶囊内镜检查图像的气泡量、消化液量、清洁度进行定量分析, 并统计胶囊内镜的通过情况, 同时观察患者有无不良反应。

结果: 研究组胶囊内镜图像的气泡量(0.20 ± 0.12)明显少于对照组(0.30 ± 0.21), 肠道清洁度(0.36 ± 0.32)优于对照组(0.64 ± 0.47), 两组差异有统计学意义($P < 0.05$); 小肠消化液量研究组(0.70 ± 0.30)和对照组(0.86 ± 0.46)对比差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组胶囊内镜在胃和小肠通过时间对比差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组患者不良反应差异无统计学意义($P > 0.05$)。

结论: 胶囊内镜检查前服用2 L聚乙二醇电解质散即可以达到理想的清肠效果, 检查前2 d分次服用西甲硅油较单次服用具有更好的祛泡效果。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胶囊内镜; 复方聚乙二醇电解质散; 西甲硅油; 肠道准备

核心提示: 本文通过随机对照两种不同的聚乙二醇电解质散和西甲硅油服用方法对胶囊内镜图像质量的影响, 提示胶囊内镜检查前服用2 L聚乙二醇电解质散即可以达到理想的清肠效果, 检查前2 d分次服用西甲硅油较单次服用具有更好的祛泡效果。

刘敏芝, 李运泽, 韦天灵, 梁昌宇, 李莉. 复方聚乙二醇电解质散和西甲硅油不同服用方法在胶囊内镜肠道准备中的效果对比. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 399-403 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/399.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.399>

0 引言

胶囊内镜的问世突破了传统内镜机械插入法的

思维, 他能观察以往内镜不易达到的小肠部位, 操作简单, 无需镇静, 对胃肠动力影响小, 胶囊内镜已成为诊断小肠疾病的首选方法。但是胶囊内镜无法像常规胃肠镜一样进行充气注水等操作, 视野上受到小肠气泡、消化液的影响, 检查前做好充分的肠道准备以提高胶囊内镜图像质量对于提高胶囊内镜的检出率是极其重要的。国内外已有大量研究提示胶囊内镜检查前服用聚乙二醇电解质散和西甲硅油可使肠腔内气泡明显减少, 使胶囊内镜的图像清晰度明显提高, 且患者耐受性良好, 无不良反应发生, 值得在常规胶囊内镜检查前推广使用^[1-4]。目前关于聚乙二醇电解质散和祛泡剂的使用剂量和方法尚未达成共识, 本研究通过对比分析两种不同的聚乙二醇电解质散和西甲硅油服用方法的胶囊内镜图像质量效果, 探讨肠道准备的最佳使用方法。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2009-02/2013-01于我院接受胶囊内镜检查的患者60例, 其中男32例, 女28例, 年龄16-79岁, 平均46.83岁。经病史询问及体格检查, 排除有胃肠道手术、胃肠道畸形、糖尿病胃轻瘫者, 在检查前1 wk停用影响胃肠道动力的药物。采用前瞻性、单盲、对照研究方法, 将受检者分为对照组A组($n = 30$)、研究组B组($n = 30$), 两组年龄、性别差异无统计学意义($P > 0.05$)。检查前均签署知情同意书。重庆金山科技有限公司生产的OMOM胶囊内镜系统, 西甲硅油乳剂(每1 mL含40 mg西甲硅油, 商品名: 柏西, 生产企业: 德国柏林化学股份有限公司), 复方聚乙二醇电解质散(商品名: 恒康正清, 生产企业: 江西恒康药业有限公司), 50%硫酸镁溶液(柳州市人民医院制剂室生产)。

1.2 方法 所有患者接受胶囊内镜检查前2 d起进半流饮食, 检查前12 h禁食, A组: 检查前1天晚上21:00服50%硫酸镁30 mL; 检查前4 h服用复方聚乙二醇电解质散(恒康正清, 每盒69.56 g)3盒与温水配成的溶液3000 mL, 2 h内服完; 检查前30 min一次性服用西甲硅油乳剂30 mL。B组: 检查前1天晚上21:00服50%硫酸镁30 mL; 检查前4 h服用复方聚乙二醇电解质散(恒康正清, 每盒69.56 g)2盒与温水配成的溶液2000 mL, 2 h内服完; 检查前2 d口服西甲硅油乳剂, 3次/d, 5 mL/次, 检查前30 min一次性服用西甲硅油乳剂15 mL。吞服胶囊内镜2 h后可进水, 4 h后可进食。由两名专职内镜医师对胶囊内镜图像进行阅片

表 1 两组肠道准备方法小肠气泡量值对比 (mean ± SD)

	上段	中段	下段	全段
A组	0.31 ± 0.32	0.28 ± 0.32	0.31 ± 0.27	0.30 ± 0.21
B组	0.22 ± 0.22	0.21 ± 0.16	0.16 ± 0.17	0.20 ± 0.12
P值	0.206	0.303	0.012	0.024

A组: 对照组; B组: 研究组.

表 2 两组肠道准备方法小肠消化液量对比 (mean ± SD)

	上段	中段	下段	全段
A组	0.66 ± 0.45	0.83 ± 0.63	0.97 ± 0.77	0.86 ± 0.46
B组	0.53 ± 0.38	0.73 ± 0.45	0.84 ± 0.42	0.70 ± 0.30
P值	0.224	0.464	0.410	0.117

A组: 对照组; B组: 研究组.

评分, 阅片医师对分组情况并不知晓. 阅片医师参照陈孝等^[5]报道的评分标准, 对小肠内容物按气泡量、消化液量、清洁度进行定量分析. 定量分析标准: 气泡量: 整个视野无气泡计为0; 占据整个视野<1/3计为1; 1/3-2/3计为2; >2/3计为3. 消化液量: 整个视野无消化液计为0; 少量消化液计为1; 中等量消化液计为2; 大量消化液计为3. 清洁度: 消化液清亮计为0; 消化液稍浑浊但不影响观察计为1; 消化液稍浑浊, 观察受到一定程度影响计为2; 消化液浑浊, 难以观察, 计为3. 研究图像的选择: 按胶囊内镜进入小肠的第1帧图像为计算起点, 每10 min截取一张图像, 至胶囊通过回盲瓣为止, 将胶囊内镜在小肠内停留时间均分为3等份, 并以此将小肠分为上段、中段、下段3部分, 将每一部分所有选取的图像分别计算气泡、消化液量及清洁度的等级分, 以此计算出该例受检者的相应图像质量值.

统计学处理 采用IBM SPSS Statistics 19.0统计软件, 计量资料以mean ± SD表示, 采用t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

B组和A组全段气泡量值对比, 气泡量明显少于A组($P < 0.05$); 其中小肠上段和中段气泡量分值两组对比差异无统计学意义($P > 0.05$), 而对比小肠下段气泡量分值, B组的气泡量明显少于A组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表1).

B组和A组全段消化液量及小肠上段、中段、下段消化液量分值对比差异无统计学意义

表 3 两组肠道准备方法小肠清洁度对比 (mean ± SD)

	上段	中段	下段	全段
A组	0.47 ± 0.49	0.59 ± 0.63	0.78 ± 0.76	0.64 ± 0.47
B组	0.20 ± 0.32	0.41 ± 0.44	0.48 ± 0.46	0.36 ± 0.32
P值	0.017	0.202	0.076	0.009

A组: 对照组; B组: 研究组.

($P > 0.05$)(表2).

B组和A组全段清洁度分值对比, 清洁度明显优于A组($P < 0.05$); 其中小肠上段清洁度分值两组对比差异有统计学意义($P < 0.05$), 而对比小肠中段和下段清洁度分值, 差异无统计学意义($P > 0.05$)(表3).

两组胶囊内镜通过胃及小肠时间: 两组胶囊内镜通过胃及小肠时间: A、B两组胶囊内镜通过胃的时间分别为47.77 min ± 38.76 min和50.20 min ± 21.66 min, 差异无统计学意义($P = 0.765$); A、B两组胶囊内镜通过小肠的时间分别为275.27 min ± 91.26 min和251.63 min ± 93.90 min, 差异无统计学意义($P = 0.327$).

观察期间, A组、B组各出现2例恶心, A组出现2例腹胀, 均未见腹痛、呕吐、皮疹等其他不良反应, 组间不良反应对比差异无统计学意义($P > 0.05$).

3 讨论

胶囊内镜对于消化系统疾病特别是小肠疾病的诊断具有独特的优越性, 是小肠疾病的首选方法. 但是肠道内的食糜、气泡、胆汁将直接影响到胶囊内镜拍摄到的图像质量, 出现误诊、漏诊及诊断阳性率下降等情况. 胶囊内镜检查前的肠道准备非常重要, 国内外已有大量的研究报道提示口服复方聚乙二醇电解质散为较理想的肠道准备方法^[6,7].

复方聚乙二醇电解质散主要成分是聚乙二醇, 他是一个高分子长链聚合物, 不会被吸收、不会被分解. 他可以通过氢键结合水分子, 使水分保留在肠腔内, 从而软化大便, 使粪便在容积和重力作用下排出. 其主要特点是: 不脱水、不破坏电解质平衡和肠道正常菌群、不损伤肠道黏膜、不产生可燃性气体; 清洁肠道快速、彻底; 无需禁食、无需灌肠.

国内外关于使用聚乙二醇电解质散的剂量和服用方法仍无明确规定, 国外研究报道了有

■ 相关报道

国内外已有大量研究提示胶囊内镜检查前服用聚乙二醇电解质散和西甲硅油可使肠腔内气泡明显减少, 使胶囊内镜的图像清晰度明显提高, 且患者耐受性良好, 无不良反应发生.

■创新盘点

有关聚乙二醇电解质散和祛泡剂的使用剂量和方法尚未达成共识,本研究通过对比分析两种不同的聚乙二醇电解质散和西甲硅油服用方法对胶囊内镜图像质量的影响,研究肠道准备的最佳使用方法。

关复方聚乙二醇电解质散分次服用和全剂量服用在肠道准备中的效果对比的研究,结论不一。Vorughese等、Matro等及Longcroft-Wheaton等^[8-10]研究证实当天进行肠道准备较2 d准备更有效,是安全可行的,有较少的不良反应,而且患者较易接受。而Park等和Kilgore等^[11,12]则提出肠镜检查前分次剂量服用复方聚乙二醇电解质散较全量服用复方聚乙二醇电解质散明显提高肠道准备满意度,可提高患者的依从性,减少恶心症状。国外研究表明2 L的聚乙二醇电解质散剂量是足够的^[13-15], Meta分析提示低剂量复方聚乙二醇电解质和高剂量复方聚乙二醇电解质效果类似^[16]。本研究中通过对比胶囊内镜检查前4 h服用2和3 L聚乙二醇电解质散的胶囊内镜肠道质量,结果发现小肠各段消化液量差别无显著性差异,2 L聚乙二醇组小肠上段清洁度高于3 L聚乙二醇组,结果提示服用2 L聚乙二醇电解质散已达到较佳清肠效果,可以节约经济成本,也可以减轻受检者因服用大量清肠溶液产生腹胀及恶心、呕吐等不适,提高肠道准备的依从性。

胶囊内镜检查图像读取过程中,肠道内的气泡可能会遮盖病变,祛泡剂的应用减少气泡对肠道黏膜病变的遮盖,提高诊断率。目前较流行使用于肠道准备的祛泡剂有二甲硅油、西甲硅油乳剂。西甲硅油是由二甲硅油和二氧化硅组成的混合物,他作用于消化系中存在有食糜和黏液内的气泡表面,降低气泡表面张力,促使气泡破裂,使气体释放出来,释放出的气体就可以被肠壁吸收,并通过肠蠕动而排出。西甲硅油的作用是纯粹的物理性作用。没有涉及化学反应,而且其为药理学和生理学惰性物质。

国内外的研究结果也肯定了使用西甲硅油以及催泻剂进行肠道准备,提高胶囊内镜的诊断率、小肠图像质量的作用,且对胶囊内镜通过情况和检查完成率无明显影响^[17-19]。在以往的研究中,西甲硅油用于肠道准备的剂量各不相同,由80至300 mg不等^[19-21]。本研究中原A组检查者在检查前30 min一次性服用西甲硅油乳剂30 mL,结果发现小肠下段的气泡仍较多,对胶囊内镜图像质量存在较大影响,后来遂采取于检查前2 d口服西甲硅油乳剂,3次/d,5 mL/次,检查前30 min一次性服用西甲硅油乳剂15 mL,结果发现提前2 d分次服用西甲硅油进行祛泡肠道准备可获得明显较好的祛泡效果,小肠气泡量明显减少,胶囊内镜检查图像质量明显提高。我们认为检查前30 min一次性服用祛泡剂由于作

用时间短,对小肠上段和中段祛泡效果尚可,但对小肠下段的气泡未能起到良好的祛泡效果,而检查前2 d开始分次小剂量服用祛泡剂可增加祛泡剂在小肠的作用时间,从而对小肠下段的气泡也能起到较好的祛除效果。

在胶囊内镜检查前,服用2 L复方聚乙二醇电解质散已经足够,可获得较佳的清肠效果,提前2 d开始分次服用西甲硅油可获得更佳的肠道祛泡效果,该方法值得在临床中推广应用。

4 参考文献

- 1 郭变. 西甲硅油联合聚乙二醇在胶囊内镜检查前肠道准备中的应用. *临床医学* 2011; 31: 71-72
- 2 Rosa BJ, Barbosa M, Magalhães J, Rebelo A, Moreira MJ, Cotter J. Oral purgative and simethicone before small bowel capsule endoscopy. *World J Gastrointest Endosc* 2013; 5: 67-73 [PMID: 23424190]
- 3 戈之铮, 陈海英, 高云杰, 胡运彪, 萧树东. 祛泡剂在胶囊内镜术前肠道准备中的作用研究. *中华消化内镜杂志* 2005; 22: 405-407
- 4 张冰凌, 方优红, 陈春晓, 厉有名. 西甲硅油在胶囊内镜检查中对小肠图像质量的影响. *中华消化杂志* 2008; 28: 336-337
- 5 陈孝, 张子其, 张钰, 张建萍. 肠道准备对胶囊内镜图像质量及消化道通过情况的影响. *中华消化内镜杂志* 2007; 24: 35-37
- 6 陈旭, 李鹏, 王拥军, 宗晔, 吴咏冬, 于中麟, 张澍田. 硫酸镁溶液联合复方聚乙二醇电解质散在胶囊内镜检查前肠道准备中的价值. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 137-140
- 7 Allegretti A, Bargallò Carulla D, Bertelè A, Franzèc A, Kouroumalis EA, Mancini MA, Paspatis G, Reina-Serrano S. Efficacy and safety of bowel cleansing solutions for colonoscopy: a prospective observational study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2010; 14: 979-985 [PMID: 21284347]
- 8 Varughese S, Kumar AR, George A, Castro FJ. Morning-only one-gallon polyethylene glycol improves bowel cleansing for afternoon colonoscopies: a randomized endoscopist-blinded prospective study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2368-2374 [PMID: 20606677 DOI: 10.1038/ajg.2010.271]
- 9 Matro R, Shnitser A, Spodik M, Daskalakis C, Katz L, Murtha A, Kastenber D. Efficacy of morning-only compared with split-dose polyethylene glycol electrolyte solution for afternoon colonoscopy: a randomized controlled single-blind study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1954-1961 [PMID: 20407434 DOI: 10.1038/ajg.2010.160]
- 10 Longcroft-Wheaton G, Bhandari P. Same-day bowel cleansing regimen is superior to a split-dose regimen over 2 days for afternoon colonoscopy: results from a large prospective series. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 57-61 [PMID: 22064553 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318233a986]
- 11 Park SS, Sinn DH, Kim YH, Lim YJ, Sun Y, Lee JH, Kim JY, Chang DK, Son HJ, Rhee PL, Rhee JC, Kim JJ. Efficacy and tolerability of split-dose magnesium citrate: low-volume (2 liters) polyethylene glycol vs. single- or split-dose polyethylene glycol bowel preparation for morning colonoscopy. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1319-1326 [PMID: 20485282 DOI:

- 10.1038/ajg.2010.79]
- 12 Kilgore TW, Abdinoor AA, Szary NM, Schowengerdt SW, Yust JB, Choudhary A, Matteson ML, Puli SR, Marshall JB, Bechtold ML. Bowel preparation with split-dose polyethylene glycol before colonoscopy: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 1240-1245 [PMID: 21628016 DOI: 10.1016/j.gie.2011.02.007]
- 13 Park SC, Keum B, Seo YS, Kim YS, Jeon YT, Chun HJ, Um SH, Kim CD, Ryu HS. Effect of bowel preparation with polyethylene glycol on quality of capsule endoscopy. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1769-1775 [PMID: 21161380 DOI: 10.1007/s10620-010-1500-2]
- 14 Koornstra JJ. Bowel preparation before small bowel capsule endoscopy: what is the optimal approach? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 1107-1109 [PMID: 19465857 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32832b8d2f]
- 15 Kantianis A, Karagiannis S, Liatsos C, Galanis P, Psilopoulos D, Tenta R, Kalantzis N, Mavrogiannis C. Comparison of two schemes of small bowel preparation for capsule endoscopy with polyethylene glycol: a prospective, randomized single blind study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 1140-1144 [PMID: 19757514 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32832b8d2f]
- 16 Belsey J, Crosta C, Epstein O, Fischbach W, Layer P, Parente F, Halphen M. Meta-analysis: efficacy of small bowel preparation for small bowel video capsule endoscopy. *Curr Med Res Opin* 2012; 28: 1883-1890 [PMID: 23136911 DOI: 10.1185/03007995.2012.747953]
- 17 余建东, 金凤哲, 曾达开. 西甲硅油对胶囊内镜图像质量及消化道通过情况的影响. *中国现代医生* 2011; 49: 127-128
- 18 Rokkas T, Papaxoinis K, Triantafyllou K, Pistiolas D, Ladas SD. Does purgative preparation influence the diagnostic yield of small bowel video capsule endoscopy: A meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 219-227 [PMID: 19098872 DOI: 10.1038/ajg.2008.63]
- 19 Wei W, Ge ZZ, Lu H, Gao YJ, Hu YB, Xiao SD. Purgative bowel cleansing combined with simethicone improves capsule endoscopy imaging. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 77-82 [PMID: 18005366]
- 20 Albert J, Göbel CM, Lesske J, Lotterer E, Nietsch H, Fleig WE. Simethicone for small bowel preparation for capsule endoscopy: a systematic, single-blinded, controlled study. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 487-491 [PMID: 15044883]
- 21 张优萍, 楼杰. 不同剂量西甲硅油在胶囊内镜检查前肠道准备的效果比较. *现代实用医学* 2011; 23: 1279-1280

■同行评价

本文立题有一定的新意, 科学性较好, 研究结果有一定的创新性, 对临床工作有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血的预防及临床治疗效果评价

方学文, 常顺, 赵建华, 钱希颖

■背景资料

应激性胃肠道出血是重型颅脑损伤后常见并发症, 发病原因主要为患者颅脑创伤严重引发应激性溃疡, 患者临床多表现为呕血、黑便、胃管可抽出血液或咖啡样物。应激性胃肠道出血可引发缺血性休克等严重后果, 大大增加了重型颅脑损伤患者的死亡风险。

方学文, 云南省第一人民医院护理部 云南省昆明市 650032
常顺, 赵建华, 钱希颖, 云南省第一人民医院神经外科 云南省昆明市 650032

方学文, 副主任护师, 主要从事重症护理的研究。

作者贡献分布: 此课题由方学文设计; 研究过程由方学文与常顺完成; 数据分析由赵建华与钱希颖完成; 写作由方学文、常顺、赵建华及钱希颖共同完成。

通讯作者: 常顺, 650032, 云南省昆明市金碧路157号, 云南省第一人民医院神经外科. stone1983712@163.com

收稿日期: 2013-11-30 修回日期: 2013-12-15

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-01-28

Prevention and treatment of stress-induced gastrointestinal bleeding after severe brain injury

Xue-Wen Fang, Shun Chang, Jian-Hua Zhao, Xi-Yin Qian

Xue-Wen Fang, Department of Nursing, First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Shun Chang, Jian-Hua Zhao, Xi-Yin Qian, Department of Neurosurgery, First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Shun Chang, Department of Neurosurgery, First People's Hospital of Yunnan Province, 157 Jinbi Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. stone1983712@163.com

Received: 2013-11-30 Revised: 2013-12-15

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To analyze the prevention and treatment of stress-induced gastrointestinal bleeding after severe brain injury.

METHODS: One hundred and twenty patients with severe brain injury were randomly divided into three groups: A, B and C. Group A was treated by early enteral nutrition plus drug treatment, group B by late enteral nutrition plus drug treatment, and group C by early enteral nutrition. The incidence of stress-induced gastrointestinal bleeding, gastric juice pH and the healing time of oral ulcer were compared between the three groups. The relationship of gastric juice

pH and blood glucose level with the incidence of stress-induced gastrointestinal bleeding was analyzed. The clinical effects were observed.

RESULTS: The incidence rate of stress-induced gastrointestinal bleeding (10.00%, 20.00% vs 37.50%, $P < 0.05$) and gastric juice pH (4.97 ± 0.73 , 4.49 ± 0.35 vs 3.05 ± 1.21 , $P < 0.05$ for both) were significantly higher in the group C than in groups A and B, but the average time of ulcer healing was significantly lower in group C (22.16 ± 3.07 , 29.02 ± 2.24 vs 33.26 ± 3.61 , $P < 0.05$ for both). The above parameters also differed significantly between groups A and B ($P < 0.05$ for all). The incidence rate of stress-induced gastrointestinal bleeding was significantly higher in patients with gastric juice pH ≤ 2.45 than in those with gastric juice pH > 2.45 (18.62% vs 15.69%, $P < 0.05$), but was significantly lower in patients with blood glucose level > 10 mmol/L than in those with blood glucose level > 15 mmol/L (16.38% vs 17.72%, $P < 0.05$). In total, 25 cases (92.59%) had been treated successfully, and there were 2 cases (7.41%) of failure, of whom 1 had been treated successfully by surgical treatment, and 1 (3.70%) died.

CONCLUSION: Hyperacidity, gastric mucosa damage and hyperglycemia are risk factor leading to stress-induced gastrointestinal bleeding after severe brain injury. Early enteral nutrition and drug treatment can prevent stress-induced gastrointestinal bleeding.

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

Key Words: Severe brain injury; Stress-induced gastrointestinal bleeding; Prevention; Therapeutic effects

Fang XW, Chang S, Zhao JH, Qian XY. Prevention and treatment of stress-induced gastrointestinal bleeding after severe brain injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 404-408 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/404.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.404>

■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

摘要

目的: 探讨重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血的有效预防和治疗措施及临床疗效。

方法: 将我院收治的120例重型颅脑损伤患者按照数字随机分组法均分为A组、B组和C组, A组患者给予早期肠内营养支持治疗+药物治疗, B组患者给予晚期肠内营养支持治疗+药物治疗, C组患者仅给予早期肠内营养支持治疗。比较3组患者应激性胃肠道出血发生率、胃液pH值及溃疡愈合时间, 并观察C组患者胃液pH值及血糖值与应激性胃肠道出血发生率的相关性。对发生应激性胃肠道出血的患者采取综合对症治疗措施, 观察临床疗效。

结果: 3组患者应激性胃肠道出血发生率依次升高(10.00%, 20.00% vs 37.50%), 差异均具有显著性($P<0.05$); 3组患者胃液pH平均值依次升高(4.97 ± 0.73 、 4.49 ± 0.35 vs 3.05 ± 1.21), 溃疡平均愈合时间依次降低(22.16 ± 3.07 d、 29.02 ± 2.24 d vs 33.26 ± 3.61 d), 差异均具有显著性($P<0.05$); 胃液pH ≤ 2.45 组患者应激性胃肠道出血发生率明显高于胃液pH >2.45 组(18.62% vs 15.69%), 差异具有显著性($P<0.05$); 血糖值 >10 mmol/L组患者应激性胃肠道出血发生率明显低于血糖值 >15 mmol/L组(16.38% vs 17.72%), 差异具有显著性($P<0.05$); 25例(92.59%)患者止血成功, 2例(7.41%)止血失败者1例转为手术治疗后止血成功, 临床疗效显著, 1例(3.70%)死亡。

结论: 胃酸过多、胃黏膜损害和高血糖等均诱发重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血的危险因素, 采取早期肠内营养支持治疗和抑酸、胃黏膜保护等药物治疗能够有效预防应激性胃肠道出血发生, 应激性胃肠道出血发生后采取洗胃、补血、抑酸、保护胃黏膜等综合治疗止血成功率高, 临床疗效显著。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 重型颅脑损伤; 应激性胃肠道出血; 预防; 治疗效果

核心提示: 本研究中, 早期肠内营养支持治疗+药物治疗组患者应激性胃肠道出血发生率明显低于晚期肠内营养支持治疗+药物治疗组, 胃液pH平均值明显高于晚期肠内营养支持治疗+药物治疗组, 溃疡平均愈合时间明显低于晚期肠内营养支持治疗+药物治疗组, 差异均具有显著性。表明早期肠道营养支持治疗能够有效提高患者胃液

pH值, 改善患者胃肠道功能, 促进溃疡愈合, 预防应激性胃肠道出血发生。

方学文, 常顺, 赵建华, 钱希颖. 重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血的预防及临床治疗效果评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 404-408 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/404.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.404>

■ 研发前沿

重型颅脑损伤后引发应激性胃肠道出血的发病机制尚未有明确研究报告。

0 引言

应激性胃肠道出血是重型颅脑损伤后常见并发症, 发病原因主要为患者颅脑创伤严重引发应激性溃疡, 患者临床多表现为呕血、黑便、胃管可抽出血液或咖啡样物^[1]。应激性胃肠道出血可引发缺血性休克等严重不良后果, 大大增加了重型颅脑损伤患者的死亡风险^[2]。预防和治疗应激性胃肠道出血是降低重型颅脑损伤患者死亡率的重要措施。我院预防和治疗重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血取得了良好的临床效果, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-05/2013-05我院收治的120例重型颅脑损伤患者作为研究对象。所有患者CT检查确诊为开放性颅脑损伤、脑挫裂伤、颅骨骨折、蛛网膜下腔出血、弥漫性轴索损伤等, 患者格拉斯哥评分为3-8分。排除入院前有胃肠道溃疡、出血功能障碍以及其他严重全身疾病患者。按照数字随机分组法将120例患者均分为A组、B组和C组, 3组患者在性别、年龄、体质量及致伤原因等上差异无统计学意义($P>0.05$)(表1), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有患者入院后均在24 h内给予静脉营养支持, A组患者入院后12-24 h内即给予肠内营养支持治疗, 并给予PPI(奥美拉唑40 mg/次, 2次/d或兰索拉唑30 mg/次, 2次/d, 视出血情况可增加药量)^[3]和胃黏膜保护剂(硫糖铝片1.0 g/次, 4次/d)^[4]治疗; B组患者入院后48-72 h再给予肠内营养支持治疗, 并给予药物治疗, 用药种类和剂量与A组相同; C组患者入院后12-24 h内即给予肠内营养支持治疗, 不使用药物治疗。所有患者Hb <70 g/L时需适当少量多次输入新鲜血及血浆。应激性胃肠道出血判断标准: 出现呕血、便血或胃内可抽出新鲜血液或咖啡样物, 胃内抽取物或大便潜血试验结果为阳性^[5]。

对于3组采取预防措施后发生应激性胃肠道

■ 相关报道

大量临床研究表明, 重型颅脑损伤后患者交感神经兴奋性增强, 引起胃黏膜血液循环发生异常, 导致胃黏膜发生缺血及血管剧烈收缩等异常变化, 促进了应激性溃疡发生。

表 1 3组患者临床资料比较 ($n = 40$)

分组	性别		平均年龄(岁)	平均体质量(kg)	致伤原因			
	男	女			车祸伤	打击伤	坠落伤	其他伤
A组	27	13	47.62 ± 5.33	65.36 ± 8.33	24	10	4	2
B组	26	14	46.57 ± 5.71	64.71 ± 8.29	25	8	4	3
C组	28	12	47.08 ± 5.26	64.39 ± 8.82	22	10	6	2

表 2 3组患者应激性胃肠道出血发生率比较 ($n = 40, n(\%)$)

分组	应激性胃肠道出血发生率
A组	4(10.00)
B组	8(20.00) ^{a,c}
C组	15(37.50) ^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs A组; ^c $P < 0.05$ vs C组。

表 3 3组患者胃液pH值及溃疡愈合时间比较 ($n = 40$)

分组	胃液pH平均值	溃疡平均愈合时间(d)
A组	4.97 ± 0.73	22.16 ± 3.07
B组	4.49 ± 0.35 ^{a,c}	29.02 ± 2.24 ^{a,c}
C组	3.05 ± 1.21 ^b	33.26 ± 3.61 ^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs A组; ^c $P < 0.05$ vs C组。

出血的患者, 及时抽空胃内容物, 使用冰生理盐水(必要时可使用去甲肾上腺素盐水)灌洗, 并给予西米替丁、云南白药和硫糖铝混悬液进行止血、抑酸及胃黏膜保护治疗。若患者出血情况较为严重, 发生缺血性休克时需及时进行补液治疗。对于药物治疗无效患者需及时改为内镜下止血或实施手术治疗。

1.2.2 观察指标: 比较3组患者应激性胃肠道出血发生率、胃液pH值及溃疡愈合时间, 并观察C组患者胃液pH值、血糖值与应激性胃肠道出血发生率的相关性。对所有应激性胃肠道出血患者进行临床疗效评价。疗效评价标准: 止血成功: 48-72 h无继续出血现象, 患者血压脉搏均稳定; 止血失败: 72 h后仍有出血^[6]。

统计学处理 所有数据均使用SPSS17.0数据分析软件进行统计学处理, 计量资料用mean ± SD表示, 差异性比较采用 t 检验, 计数资料比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组患者应激性胃肠道出血发生率 A组患者应激性胃肠道出血发生率明显低于B、C两组, 差异均具有显著性($P < 0.05$); B组患者胃肠道出血发生率明显低于C组, 差异具有显著性($P < 0.05$)(表2)。

2.2 3组患者胃液pH值及溃疡愈合时间比较 A组患者胃液pH平均值明显高于B、C两组, 溃疡平均愈合时间明显低于B、C两组, 差异均具有显著性($P < 0.05$); B组患者胃液pH平均值明显高于C组, 溃疡平均愈合时间明显低于C组, 差异均具

有显著性($P < 0.05$)(表3)。

2.3 C组患者不同胃液pH值、血糖值应激性胃肠道出血发生率比较 胃液pH ≤ 2.45组患者应激性胃肠道出血发生率明显高于胃液pH > 2.45组, 差异具有显著性($P < 0.05$); 血糖值 > 10 mmol/L组患者应激性胃肠道出血发生率明显低于血糖值 > 15 mmol/L组, 差异具有显著性($P < 0.05$)(表4)。

2.4 临床疗效 120例患者共27例(22.50%)发生应激性胃肠道出血, 采取有效治疗措施后25例(92.59%)止血成功, 临床疗效显著; 2例(7.41%)止血失败者1例转为手术治疗, 1例(3.70%)死亡。

3 讨论

重型颅脑损伤后引发应激性胃肠道出血的发病机制尚未有明确研究报道。但大量临床研究表明, 重型颅脑损伤后患者交感神经兴奋性增强, 引起胃黏膜血液循环发生异常, 导致胃黏膜发生缺血及血管剧烈收缩等异常变化, 促进了应激性溃疡的发生^[7]; 患者颅脑损伤常累及丘脑下部植物神经中枢, 通过传导作用刺激胃肠, 增加了胃酸及胃蛋白酶的分泌速度, 使患者胃酸升高, 加剧了应激性溃疡的发生; 重型颅脑损伤患者受到创伤后凝血机制受阻, 使患者胃肠道出血风险大大增加^[8]; 重型颅脑损伤患者多伴有高血糖症状, 加速了机体厌氧代谢, 导致胃黏膜屏障保护功能被削弱, 加剧了胃黏膜的受损情况, 也增加了应激性胃肠道出血的发生风险^[9]。

胃肠道是重型颅脑损伤并发症的靶器官, 是应激反应的“中心器官”^[10]。患者发生应激性胃肠道出血后由于胃黏膜遭到破坏, 能够引发致病微

表 4 C组患者不同胃液pH值及血糖值应激性胃肠道出血发生率比较

项目	应激性胃肠道出血发生率(%)
胃液pH值	
≤2.45	18.62 ^a
>2.45	15.69
血糖值(mmol/L)	
>10	16.38 ^c
>15	17.72

^a $P<0.05$ vs 胃液pH值>2.45组; ^c $P<0.05$ vs 血糖值>15 mmol/L组.

生物异位, 从而导致发生全身炎症反应综合征以及多器官功能障碍综合征. 因此, 预防和治疗应激性胃肠道出血是治疗重型颅脑损伤的关键环节.

早期肠内营养符合重型颅脑损伤患者的生理需求, 能够帮助患者维持胃肠道血流稳定性, 保障胃肠道神经-内分泌免疫轴正常运行, 促使肝、胆、胰腺等胃肠道重要器官分泌以及保持肠道蠕动, 有助于患者胃肠道黏膜的恢复^[11]. 对重型颅脑损伤患者采取早期肠内营养支持治疗, 不仅大大改善了患者胃肠道局部免疫系统的功能, 也缓解了神经源性应激性溃疡和出血现象^[12]. 另外, 早期肠内营养支持也能够缓解重型颅脑损伤患者胃酸过多情况, 提升胃液pH值, 对改善患者胃肠道低灌注情况. 一般临床应用过程中常在肠内营养液中添加氨基酸、膳食纤维等改善患者胃肠道免疫功能、预防腹胀或便秘的发生^[13].

本研究中, 早期肠内营养支持治疗+药物治疗组患者应激性胃肠道出血发生率明显低于晚期肠内营养支持治疗+药物治疗组, 胃液pH平均值明显高于晚期肠内营养支持治疗+药物治疗组, 溃疡平均愈合时间明显低于晚期肠内营养支持治疗+药物治疗组, 差异均具有显著性. 表明早期肠道营养支持治疗能够有效提高患者胃液pH值, 改善患者胃肠道功能, 促进溃疡愈合, 预防应激性胃肠道出血发生; 而早期肠内营养支持治疗+药物治疗组患者应激性胃肠道出血发生率明显低于单纯早期肠内营养支持治疗组, 胃液pH平均值明显高于单纯早期肠内营养支持治疗组, 溃疡平均愈合时间明显低于单纯早期肠内营养支持治疗组, 差异均具有显著性. 表明药物治疗能够有效抑制患者胃酸过多, 保护胃黏膜, 是预防应激性胃肠道出血的关键措施之一.

另外, 对C组患者不同胃液pH值及血糖值应激性胃肠道出血发生率比较结果显示胃液pH值越高, 血糖值越低, 患者应激性胃肠道出血发生率越低. 表明低pH值和高血糖值均为诱发应激性胃肠道出血的危险因素. 因此, 预防重型颅脑损伤后并发应激性胃肠道出血的措施可针对上述危险因素实施, 包括积极治疗原发病, 提高患者自身抵抗力^[14]; 早期肠道营养支持治疗, 改善患者胃液pH值较低状态, 控制血糖, 促进胃黏膜恢复; 联合应用抑酸剂和胃黏膜保护剂, 控制胃酸、保护胃黏膜、促进溃疡愈合; 及时控制出血, 预防出血性休克^[15]. 多项措施联合实施能够有效降低应激性胃肠道出血发生率.

总之, 采取早期肠内营养支持治疗和抑酸、胃黏膜保护等药物治疗能够有效预防应激性胃肠道出血发生, 应激性胃肠道出血发生后采取洗胃、补血、抑酸、保护胃黏膜等综合治疗止血成功率高, 临床疗效显著.

4 参考文献

- 1 陈志军, 叶兰芬, 彭宙, 梁汝忠. 探讨重型颅脑损伤后应激性溃疡的发病机制及防治措施. 中外医疗 2013; (23): 20-22
- 2 张爽, 刘海峰, 张成岗. 应激性胃黏膜损伤发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1697-1701
- 3 沈宏伟, 林慧萍, 吴明东, 王华富. 铝镁加联合兰索拉唑防治重型颅脑损伤应激性溃疡的临床疗效观察. 中国现代医生 2013; 51: 59-61
- 4 王娟, 杨昭徐, 崔培林. 铝碳酸镁预防大鼠急性脑外伤后应激性溃疡的作用. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2115-2118
- 5 杨海芸, 戈之铮, 戴军, 李晓波, 高云杰. 免疫法和化学法粪便隐血试验在上消化道出血性疾病中阳性率的比较. 世界华人消化杂志 2008; 16: 946-950
- 6 Han RZ, Hu JJ, Weng YC, Li DF, Huang Y. NMDA receptor antagonist MK-801 reduces neuronal damage and preserves learning and memory in a rat model of traumatic brain injury. *Neurosci Bull* 2009; 25: 367-375 [PMID: 19927173 DOI: 10.1007/s12264-009-0608-x]
- 7 周虹, 吕农华. 消化性溃疡并出血高危因素的研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3544-3547
- 8 石小峰, 史克珊, 李安民, 陈焕雄. 神经外科重症患者上消化道出血高危因素监测与治疗. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1101-1103
- 9 周凡. 颅脑损伤的继发性损伤因子和保护因子. 中国医药导刊 2010; 12: 1012-1013
- 10 Buttram SD, Wisniewski SR, Jackson EK, Adelson PD, Feldman K, Bayir H, Berger RP, Clark RS, Kochanek PM. Multiplex assessment of cytokine and chemokine levels in cerebrospinal fluid following severe pediatric traumatic brain injury: effects of moderate hypothermia. *J Neurotrauma* 2007; 24: 1707-1717 [PMID: 18001201]
- 11 黄鹏. 重型颅脑损伤后应激性消化道出血的预防及治疗分析. 中国医药导刊 2013; 15: 1149-1150
- 12 Hardy P, Johnston KM, De Beaumont L, Montgomery DL, Lecomte JM, Soucy JP, Bourbonnais

■应用要点

采取早期肠内营养支持治疗和抑酸、胃黏膜保护等药物治疗能够有效预防应激性胃肠道出血发生, 应激性胃肠道出血发生后采取洗胃、补血、抑酸、保护胃黏膜等综合治疗止血成功率高, 临床疗效显著.

■同行评价

本文选题新颖,设计合理,结果实用,具有一定临床指导意义.

- 13 D, Lassonde M. Pilot case study of the therapeutic potential of hyperbaric oxygen therapy on chronic brain injury. *J Neurol Sci* 2007; 253: 94-105 [PMID: 17234213]
- 14 李智超, 魏少伟, 赵博, 梁艳, 赵艳辉, 褚宇栋. 颅脑损伤并发上消化道出血267例原因分析与防治. *中国实用神经疾病杂志* 2011; 14: 47-48
- 15 韦玉. 重型颅脑损伤后应激性消化道出血113例临床分析. *海南医学院学报* 2009; 15: 591-592
- 16 Ojiako K, Shingala H, Schorr C, Gerber DR. Famotidine versus pantoprazole for preventing bleeding in the upper gastrointestinal tract of critically ill patients receiving mechanical ventilation. *Am J Crit Care* 2008; 17: 142-147 [PMID: 18310651]

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》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

导致药物性肝损害的相关因素分析及针对性干预措施

吕剑敏, 程锐, 吴伟东

吕剑敏, 程锐, 吴伟东, 浙江省丽水市中心医院手术室 浙江省丽水市 323000

吕剑敏, 护师, 主要从事护理学的研究.

作者贡献分布: 课题设计、研究过程数据分析及论文写作由吕剑敏完成; 研究过程由程锐完成; 吴伟东负责数据分析.

通讯作者: 吕剑敏, 护师, 323000, 浙江省丽水市括苍路289号, 浙江省丽水市中心医院手术室. 31358494@qq.com

电话: 0578-2681251

收稿日期: 2013-12-11 修回日期: 2013-12-25

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-01-28

Drug-induced liver disease: Risk factors and intervention measures

Jian-Min Lv, Rui Cheng, Wei-Dong Wu

Jian-Min Lv, Rui Cheng, Wei-Dong Wu, Operating Room, Lishui Central Hospital, Lishui 323000, ZheJiang Province, China

Correspondence to: Jian-Min Lv, Senior Nurse, Operating Room, Lishui Central Hospital, 289 Kuocang Road, LiShui 323000, ZheJiang Province, China. 31358494@qq.com

Received: 2013-12-11 Revised: 2013-12-25

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To investigate the risk factors for drug-induced liver disease (DILD), and to explore preventive measures and clinical nursing interventions.

METHODS: Three hundred and fifteen patients treated with hepatotoxic drugs were divided into 2 groups: DILD group ($n = 53$) and non-DILD group ($n = 262$). Baseline data including gender, age, body mass index, nutritional status, history of drug allergy, history of drinking and smoking were analyzed by univariate analysis and Logistic regression analysis to explore the risk factors for DILD.

RESULTS: The incidence of DILD was 16.8%. HBs-Ag positivity, history of liver diseases, obesity, diabetes, cardiovascular disease, smoking and alcohol drinking are risk factors for DILD.

CONCLUSION: HBsAg positivity, history of liver diseases, obesity, diabetes, cardiovascular

disease, smoking and alcohol drinking are risk factors for DILD. Timely and effective prevention, therapy and nursing intervention can help reduce the morbidity of DILD.

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

Key Words: Drug-induced liver disease; Risk factors; Nursing intervention

Lv JM, Cheng R, Wu WD. Drug-induced liver disease: Risk factors and intervention measures. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 409-414 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/409.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.409>

摘要

目的: 探讨药物性肝损害(drug-induced liver disease, DILD)的危险因素, 并对相应护理干预措施提出建议.

方法: 根据是否出现DILD将应用有肝毒性不良反应药物治疗的315例患者分为两组(DILD组, 共53例; 非DILD组, 共262例). 采用单因素分析及Logistic回归分析方法对性别、年龄、体质量指数、营养状况、药物过敏史、烟酒史等进行统计学分析, 探讨DILD的危险因素.

结果: DILD的发生率为16.8%. HBsAg阳性、既往有肝病史、肥胖、合并糖尿病或心血管疾病以及吸烟、饮酒为治疗剂量药物引起肝损害发生的危险因素.

结论: HBsAg阳性、既往有肝病史、肥胖、合并糖尿病或心血管疾病以及吸烟、饮酒为治疗剂量药物引起肝损害发生的危险因素, 对上述的危险因素应采取及时有效的预防、治疗和护理干预措施, 以降低药物性肝损伤的可能.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 药物性肝损害; 危险因素; 护理干预

核心提示: 本研究结果显示, 患者年龄46岁以

■背景资料

药物性肝损害(drug-induced liver disease, DILD)是临床治疗过程中的一个重要的难题, 其临床表现与诸多形式的急性和慢性肝脏疾病相类似, 对于不可避免地发生DILD的患者应加强监管和控制病情的加重. 而预防是避免药源性疾病的关键, 因此寻找导致DILD的危险因素并采取针对性预防及护理措施是医护人员紧迫而必须的挑战性任务.

■同行评议者

陈国凤, 主任医师, 中国人民解放军第302医院感染七科

■ 研究前沿

在我国,因病毒性肝炎为肝损害的主要原因,药物性肝炎所占的比率远低于国外,但DILD的发病率不断上升,现已成为药物治疗过程中不可忽视的难题。

上、肥胖、吸烟、饮酒、既往肝病史、HBsAg阳性、糖尿病以及原发疾病合并心血管疾病是药物性肝损害(drug-induced liver disease, DILD)的相关因素,其中肥胖、吸烟、饮酒、有既往肝病史、HBsAg阳性、糖尿病以及原发疾病合并心血管疾病是引起DILD发生的危险因素($OR>1$),而年龄46岁以上为保护因素($OR<1$)。

吕剑敏,程锐,吴伟东. 导致药物性肝损害的相关因素分析及针对性干预措施. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 409-414
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/409.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.409>

0 引言

肝脏是人体的解毒器官,许多药物通过肝脏的代谢和清除作用被转化或消除。然而,在治疗过程中,某些药物由于其自身的毒性损害或人体对其发生过敏反应,易引起肝脏的损伤即药物性肝损害(drug-induced liver disease, DILD),严重者可导致患者需进行肝移植治疗甚至危及生命,给患者造成沉重的精神压力和经济负担。在美国,由药物引起的暴发性肝衰竭约占25%,DILD约占住院肝疾病患者的2%-5%,占药物不良反应总数的10%-15%^[1]。在我国,因病毒性肝炎为肝损害的主要原因,药物性肝炎所占的比率远低于国外,但DILD的发病率不断上升^[2],现已成为药物治疗过程中不可忽视的难题。本研究采用病例-对照研究方法对我院于2010-01/2013-06收治并应用具有肝毒性不良反应药物治疗的患者315例进行研究,目的是明确发生DILD的主要相关因素,并为完善相关临床用药指导和规范护理干预措施提供参考和依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-01/2013-06我院收治的应用具有肝毒性不良反应药物治疗的患者315例为研究对象,其中男性147例,女性168例,年龄范围25-75岁,平均年龄43.4岁±10.2岁;应用药物治疗前,所有患者碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)和谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)指标正常。排除标准:(1)有外伤性肝脏损伤病史;(2)合并自身免疫性疾病、甲状腺功能亢进、恶性肿瘤、肝硬化以及心、肾功能和呼吸功能衰竭者;(3)意识障碍或休克;(4)妊娠;(5)严重营养不良^[3](血清白蛋白<35 g/L)。根据患者是否出现肝损害,将患者分为两组: DILD组(共53

例)及非DILD组(共262例)。

1.2 方法

1.2.1 资料采集: 统计整理患者发生DILD病例数及转归情况。比较两组患者一般资料,包括:性别、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、营养状况、药物过敏史、吸烟史、饮酒史、心血管病史、HBsAg情况、慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)、糖尿病、既往肝病史等,探寻发生DILD的危险因素。

1.2.2 评价标准: (1)肝损害诊断标准^[4]: ALP大于正常值(40-110 U/L)上限的2倍,或ALT与ALP的比值<2或>5,或ALT和ALP均大于其正常值上限的2倍且两者比值正常,伴或不伴有谷氨酰基转移酶(glutamyltransferase, GGT)升高;(2)BMI: 计算方法: $BMI = \text{体质量(kg)} / \text{身高(m}^2\text{)}$ 。偏瘦: $BMI < 18.5 \text{ kg/m}^2$; 健康体质量: $18.5 \text{ kg/m}^2 \leq BMI < 24 \text{ kg/m}^2$; 超重: $24 \text{ kg/m}^2 \leq BMI < 28 \text{ kg/m}^2$; 肥胖: $BMI \geq 28 \text{ kg/m}^2$;(3)酗酒: 每日饮酒量超过40 g,且饮酒连续5年及以上,伴或不伴有酒精戒断症状^[5];(4)肝脏基础病变: 包括既往病毒性肝炎史、酒精性肝病、脂肪肝、血吸虫肝病等,但排除药物治疗时合并的急性肝病;(5)COPD诊断及分度^[6]: 轻度: 1 s用力呼气容积(forced expiratory volume in 1 second, FEV1)/用力肺活量(forced vital capacity, FVC)<70%, FEV1>80%预计值,有或无慢性咳嗽咳痰症状;中度: FEV1/FVC<70%, 50%<FEV1<80%预计值,有或无慢性咳嗽咳痰症状;重度: FEV1/FVC<70%, 30%<FEV1<50%预计值,有或无慢性咳嗽咳痰症状;极重度: FEV1/FVC<70%, FEV1<30%预计值,或FEV1<50%预计值,伴有慢性呼吸衰竭。

统计学处理 数据分析采用SPSS17.0软件,运用单因素 χ^2 检验,提取 $P<0.05$ 的危险因素进行Logistic回归分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 应用药物治疗后患者发生DILD的情况 在315例患者中有53例发生肝损害,发生率为16.8%,无死亡病例。其中治疗剂量内应用抗生素类药物者88例,应用抗精神病类药物者45例,应用非甾体抗炎药者63例,应用抗代谢类药物者59例,服用中药及其他具有肝毒性不良反应的药物者60例。53例DILD者血清学诊断指标异常出现时间: 17.0%发生于药物治疗1 wk内,38.7%发生于药物治疗的1-2 wk,26.4%发生于

表 1 315例患者药物治疗过程中发生DILD单因素分析结果

影响因素	有DILD组(<i>n</i> = 53)		无DILD组(<i>n</i> = 262)		χ^2 值	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	百分比(%)	<i>n</i>	百分比(%)		
性别					0.709	0.138
男	23	15.6	124	84.4		
女	30	17.8	138	82.2		
年龄(岁)					9.386	0.002
25-35	2	4.4	43	95.6		
36-45	5	8.9	51	91.1		
46-55	11	16.4	56	83.6		
56-65	16	21.3	59	78.7		
66-75	19	26.4	53	73.6		
BMI(kg/m ²)					10.836	0.001
<18.5	8	12.3	57	87.7		
18.5≤BMI<24	5	5.7	83	94.3		
24≤BMI<28	19	20.2	75	79.8		
≥28	21	30.9	47	69.1		
吸烟史					5.446	0.020
有	36	21.8	129	78.2		
无	17	11.3	133	88.7		
饮酒史					6.269	0.012
有	45	20.5	174	79.5		
无	8	8.3	88	91.7		
药物过敏史					0.873	0.127
有	10	17.5	47	82.5		
无	43	16.7	215	83.3		
心血管疾病					9.545	0.002
有	39	23.2	129	76.8		
无						
HBsAg					36.252	0.000
阳性	36	40.9	52	59.1		
阴性	17	7.5	210	92.5		
COPD					0.277	0.598
轻度	20	15.7	107	84.3		
中度	21	16.8	104	83.2		
重度	12	19.0	51	81.0		
糖尿病					3.905	0.024
有	21	22.8	71	83.3		
无	32	14.3	191	83.1		
既往肝病史					20.238	0.000
有	41	27.0	111	73.0		
无	12	7.4	151	92.6		

COPD: 慢性阻塞性肺疾病; DILD: 药物性肝损害; BMI: 体质量指数.

3-4 wk, 17.9%的患者于4 wk后出现异常.

2.2 DILD单因素方差分析结果 DILD单因素方差分析结果如表1所示. 对11项可能引起DILD发生的相关因素的单因素方差分析结果表明, 患者年龄是否46岁以上、是否肥胖、吸烟、饮酒、既往是否有肝病史、HBsAg是否阳性、是否有

糖尿病以及原发疾病合并心血管疾病, 在发生DILD的概率上有统计学差异($P<0.05$), 是导致DILD的相关因素.

2.3 Logistic回归分析结果 提取表1中 $P<0.05$ 的8个变量(年龄46岁以上、肥胖、吸烟、饮酒、有既往肝病史、HBsAg阳性、糖尿病以及原发

■ 相关报道

国内外研究对于吸烟是否为发生DILD的危险因素存在争议. 美国胸腔协会对吸烟者接受具有肝脏毒性不良反应药物治疗发生DILD的最新报道指出, 尚无明确的证据指出肝毒性的发生与患者有无吸烟史有关, 而饮酒导致DILD的危险与国外的相关研究结果一致.

同行评价

本文设计合理, 结果明确, 讨论丰富, 对临床医师有一定的参考价值。

表 2 315例患者发生药物性肝损害危险因素Logistic回归分析

危险因素	β 值	Wald χ^2 值	P值	OR值	95%CI
年龄46岁以上	-0.159	1.081	0.089	0.853	0.807-0.899
肥胖	1.493	5.634	0.007	4.451	2.983-5.919
吸烟	0.781	2.447	0.025	2.183	1.156-3.210
饮酒	1.049	4.269	0.012	2.845	1.348-4.342
心血管疾病	1.055	4.545	0.010	2.872	1.297-4.447
HBsAg阳性	2.146	7.252	0.000	8.552	7.394-9.710
糖尿病	1.382	4.805	0.007	3.984	1.951-6.017
既往肝病史	1.536	5.838	0.002	4.648	3.009-6.287

比值比OR<1或OR>1时, 表明疾病与暴露因素间存在统计学联系, 前者表面暴露因素是疾病保护因素, 后者表明暴露因素是危险因素。

疾病合并心血管疾病), 采用Logistic回归模型进行多变量分析, 结果如表2所示. 多变量分析结果表明, 根据OR值由高到低依次为: HBsAg阳性、既往肝病史、肥胖、糖尿病、心血管疾病、饮酒、吸烟、年龄大于46岁. 其中HBsAg阳性、既往有肝病史、肥胖、糖尿病、伴有心血管疾病、饮酒、吸烟的OR值>1, 为DILD的危险因素. 特别是HBsAg阳性(OR = 8.552, 95%CI: 7.394-9.710)、既往肝病史(OR = 4.648, 95%CI: 3.009-6.287)、肥胖(OR = 4.451, 95%CI: 2.983-5.919), 是导致DILD发生的诸多相关因素中的较危险的因素. 年龄46岁以上OR值<1, 表明该因素为DILD保护因素。

3 讨论

DILD是临床治疗过程中的一个重要的难题. 有超过1000种药品涉及引起肝脏疾病, 虽然大多数情况下停止用药可以减轻发生DILD者的肝损症状和降低损害程度, 但仍有部分患者因致命性肝毒性和肝损害终导致患者肝移植, 甚至死亡病例的发生. DILD在临床表现上可以与诸多形式的急性和慢性肝脏疾病相类似, 对于不可避免地发生DILD的患者应加强监管和控制病情的加重. 而预防是避免药源性疾病的关键, 因此寻找到导致DILD的危险因素并采取针对性预防及护理措施是医护人员紧迫而必须的挑战性任务。

本研究结果显示, 患者年龄46岁以上、肥胖、吸烟、饮酒、既往肝病史、HBsAg阳性、糖尿病以及原发疾病合并心血管疾病是DILD的相关因素, 其中肥胖、吸烟、饮酒、有既往肝病史、HBsAg阳性、糖尿病以及原发疾病合并心血管疾病是引起DILD发生的危险因素

(OR>1), 而年龄46岁以上为保护因素(OR<1). HBsAg阳性患者在治疗过程中发生DILD的危险度是HBsAg阴性者的8.552倍, 曾有肝病史者发生DILD的危险度是无肝病患者的4.648倍. 表明携带乙型肝炎病毒或既往患有肝病会增大发生DILD的可能性, 此调查研究结果与国外的相关研究^[7-9]结果一致. 乙型肝炎病毒可引发机体抗HBV的特异性免疫应答以及非抗原特异性炎症性细胞的免疫反应, 可引起肝细胞的损伤, 一方面导致肝脏自身功能下降, 另一方面因肝脏无法分解、转化和清除药物使药物半衰期延长, 从而加重了药物的肝脏毒性作用, 增加DILD的发生率. 肥胖^[10]亦是引起DILD发生的危险因素, 发生率为21.2%. 诸多国外研究^[11-13]表明, 即使影像学表现中未出现脂肪肝的肥胖者发生DILD的概率较非肥胖者高且存在统计学差异, 且这种情况多存在于年轻人群, 其机制在于肝脏代偿性增强了脂类物质的代谢, 脂类物质亦对肝脏细胞的结构和功能造成一定的影响, 干扰了肝脏细胞对药物和毒性物质的分解、转化和清除作用, 从而降低了肝脏本身对药物的耐受. 糖尿病患者以及合并有心血管疾病的患者发生DILD的危险度分别为3.984和2.872. 对于合并糖尿病、心血管疾病的患者, 一方面由于身体长时间处于病理状态致使代谢功能下降, 因此对一般治疗剂量药物的耐受性较差, 药物在体内不良反应效果相对加重, 增加了肝脏的负担和对机体的损害^[2,5,10]; 另一方面合并糖尿病的患者自身调节能力下降, 对某些药物的肝毒性不良反应较无合并症者敏感, 引起肝脏对药物的过敏反应^[14], 加重了对肝脏的损伤, 易导致DILD的发生. 此外, 机体在病理状态下, 可对药物的代谢环节产

生影响, 合并心血管疾病的患者因其心输出量及血液循环状态出现异常, 因此会影响药物的吸收、分布、代谢和清除, 药物在体内停留时间加长, 对机体及肝脏的损害也会加重, 以致发生DILD. 吸烟者发生DILD的危险度是不吸烟者的2.183倍. 饮酒人群发生DILD的危险度是不饮酒人群的2.845倍. 国内外研究对于吸烟是否为发生DILD的危险因素存在争议, 美国胸腔协会对吸烟者接受具有肝脏毒性不良反应药物治疗发生DILD的最新报道^[15]指出, 尚无明确的证据指出肝毒性的发生与患者有无吸烟史有关, 而饮酒导致DILD的危险与国外的相关研究^[16]结果一致. 吸烟和饮酒均会对人体的代谢产生不良影响, 紊乱蛋白质和脂类的合成和分解, 而蛋白质可增加应用药物治疗时药物载体作用, 保证血中药物浓度处于适当的有效浓度; 此外, 烟、酒中含有的有害物质被人体吸收入血后在肝脏中代谢, 可直接损害肝脏, 影响肝脏功能及增加肝脏负担. Logistic回归分析结果显示年龄46岁以上OR = 0.853, 表明此因素为DILD保护因素, 国内外研究尚未明确年龄是否为DILD的危险因素. 其可能是由于在临床药物治疗过程中, 考虑到年龄大者尤其是老年患者其自身代谢减弱以及易合并与年龄因素相关的并发症, 因此会在药物治疗剂量范围内适当减少药物剂量和给药频率, 或采用间断给药方式, 以减少DILD的发生^[2,11,14,15]. 以上原因对年龄因素分析结果产生干扰.

因此, 对应用具有肝脏毒性不良反应的药物引起的DILD患者需要建立药物治疗安全规范, 包括安全评估、护理干预措施、安全监测等. 在药物引起的肝损害的许多危险因素方面, 护士有重要的识别、监督和监测作用. 护士需要掌握危险因素的一般知识、具有肝毒性不良反应的药物种类、DILD临床特征以及相关护理措施^[1,9]. 就针对性护理干预措施现建议如下.

针对HBsAg阳性患者及既往肝病者, 应做好安全用药指导, 加强安全监测. 给药前应明确药物的名称、用法以及可能出现的不良反应, 以保证患者规范正确服用药物. 对存在肝脏基础病变的患者应重点加强肝脏血清学指标的监测. 对已发生肝功能下降者应根据其血清ALT、AST和ALP指标升高程度适当减少药量或停药, 以免造成更严重的肝脏损害.

针对肥胖、吸烟、饮酒者, 应积极做好健康

教育, 护理人员有责任向易发生及已发生DILD的患者及其家属普及自我护理方法, 强化患者的健康行为模式、掌握必要的相关知识对降低DILD的发生率和提高DILD患者的预后具有十分积极的作用. 根据患者个体情况, 保证充足的蛋白质摄入量, 鼓励患者进食新鲜蔬果, 调整饮食结构, 戒烟、禁酒, 加强身体锻炼等.

针对合并糖尿病或心血管疾病患者等高危病患, 由于其自身正常代谢能力受损, 药物致毒性作用的危险性增加, 因此更应警惕DILD的发生, 护理人员应注意密切观察患者的基本病情变化, 如出现尿量减少、肢体水肿等情况需及时告知医生, 酌情减少药物剂量或停药, 以防引起药物蓄积加重DILD的损害程度. 糖尿病患者应建立低糖低脂饮食结构, 合并心血管疾病者饮食应注意低脂低钠, 同时应用降糖、降压药物积极控制糖尿病患者血糖和心血管疾病患者血压, 保证患者身体机能处于相对稳定的状态, 有利于抵抗药物对肝脏的毒性作用.

对存在以上危险因素DILD高危人群, 都应做到以下几点: 安全用药指导. 对于由于药物本身致患者出现的不同程度的不良反应, 应明确告知使患者有自我监测的能力, 能够及时发现, 以免发生严重后果. 向患者告知不同药物的用药原则, 做到规则用药、积极治疗, 避免某些药物因停药或漏服而下次加倍剂量, 引起血药浓度波动, 增加引起药物不良反应的几率或造成肝损害.

总之, 对存在DILD危险因素的人群, 应完善相关临床用药指导和规范护理干预措施, 加强健康教育, 加强患者自我监管意识, 建立健康良好的生活习惯, 加强自身营养, 改善精神心理状态, 以提高患者接受药物治疗的安全性和依从性, 降低药物不良反应的发生率, 保证药物治疗的有效进行.

4 参考文献

- 1 刘旭东, 王炳元. 我国药物性肝损害2003-2008年文献调查分析. 临床误诊误治 2010; 23: 487-488
- 2 Laine L, Goldkind L, Curtis SP, Connors LG, Yan-qiong Z, Cannon CP. How common is diclofenac-associated liver injury? Analysis of 17,289 arthritis patients in a long-term prospective clinical trial. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 356-362 [PMID: 19174782 DOI: 10.1038/ajg.2008.149]
- 3 陈艳秋, 孙建琴, 宗敏, 韩维嘉, 蔡东联, 于康, 刘景芳, 高健, 张美芳, 陈霞飞, 赵文华, 陈君石. 住院病人营养不良患病率调查与分析. 肠外与肠内营养 2006; 13: 29-32

- 4 Chalasani N, Fontana RJ, Bonkovsky HL, Watkins PB, Davern T, Serrano J, Yang H, Rochon J. Causes, clinical features, and outcomes from a prospective study of drug-induced liver injury in the United States. *Gastroenterology* 2008; 135: 1924-1934, 1924-1934 [PMID: 18955056 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.09.011]
- 5 Chitturi S, Farrell GC. Identifying who is at risk of drug-induced liver injury: is human leukocyte antigen specificity the key? *Hepatology* 2011; 53: 358-362 [PMID: 21254184 DOI: 10.1002/hep.24094]
- 6 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2007年修订版). *中华结核和呼吸杂志* 2007; 30: 8-17
- 7 Aithal GP, Watkins PB, Andrade RJ, Larrey D, Molokhia M, Takikawa H, Hunt CM, Wilke RA, Avigan M, Kaplowitz N, Bjornsson E, Daly AK. Case definition and phenotype standardization in drug-induced liver injury. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 89: 806-815 [PMID: 21544079 DOI: 10.1038/clpt.2011.58]
- 8 Suzuki A, Andrade RJ, Bjornsson E, Lucena MI, Lee WM, Yuen NA, Hunt CM, Freston JW. Drugs associated with hepatotoxicity and their reporting frequency of liver adverse events in Vigibase: unified list based on international collaborative work. *Drug Saf* 2010; 33: 503-522 [PMID: 20486732 DOI: 10.2165/11535340-000000000-00000]
- 9 Carey EJ, Vargas HE, Douglas DD, Balan V, Byrne TJ, Harrison ME, Rakela J. Inpatient admissions for drug-induced liver injury: results from a single center. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1977-1982 [PMID: 18392678 DOI: 10.1007/s10620-008-0250-x]
- 10 Bessone F. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: What is the actual risk of liver damage? *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5651-5661 [PMID: 21128314 DOI: 10.3748/wjg.v16.i45.5651]
- 11 Russmann S, Jetter A, Kullak-Ublick GA. Pharmacogenetics of drug-induced liver injury. *Hepatology* 2010; 52: 748-761 [PMID: 20607838 DOI: 10.1002/hep.23720]
- 12 Agúndez JA, Lucena MI, Martínez C, Andrade RJ, Blanca M, Ayuso P, García-Martín E. Assessment of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced hepatotoxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2011; 7: 817-828 [PMID: 21473713 DOI: 10.1517/17425255.2011.574613]
- 13 Fontana RJ, Seeff LB, Andrade RJ, Bjornsson E, Day CP, Serrano J, Hoofnagle JH. Standardization of Nomenclature and Causality Assessment in Drug-Induced Liver Injury: Summary of a Clinical Research Workshop. *Hepatology* (Baltimore, Md.) 2010; 52: 730 [DOI: 10.1002/hep.23696]
- 14 Licata A, Calvaruso V, Cappello M, Craxì A, Almasio PL. Clinical course and outcomes of drug-induced liver injury: nimesulide as the first implicated medication. *Dig Liver Dis* 2010; 42: 143-148 [PMID: 19625223 DOI: 10.1016/j.dld.2009.06.009]
- 15 Gunawan BK, Kaplowitz N. Mechanisms of drug-induced liver disease. *Clin Liver Dis* 2007; 11: 459-475 [DOI: 10.1208/aapsj080106]
- 16 Sharma SK, Singla R, Sarda P, Mohan A, Makharia G, Jayaswal A, Sreenivas V, Singh S. Safety of 3 different reintroduction regimens of antituberculosis drugs after development of antituberculosis treatment-induced hepatotoxicity. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 833-839 [PMID: 20156055 DOI: 10.1086/650576]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



抗结核药物肝损伤与无肝损伤患者化疗前血循环miRNA分子的差异性表达

叶长根, 孙水林, 白茹, 朱伟星, 陈彩萍, 谢平, 赵晖, 涂文娟, 高得勇, 刘亮明

叶长根, 白茹, 朱伟星, 陈彩萍, 谢平, 赵晖, 涂文娟, 高得勇, 刘亮明, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院感染科上海市 201600

叶长根, 景德镇市第三人民医院消化内科 江西省景德镇市 333000

孙水林, 南昌大学第二附属医院感染科 江西省南昌市 330000

叶长根, 住院医师, 主要从事肝衰竭和肝损伤的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070357, 30660066

上海市松江区医学领先合作基金资助项目, No. 2011LX02

作者贡献分布: 本文由刘亮明设计; 研究过程由叶长根、白茹、朱伟星、陈彩萍、谢平、赵晖及涂文娟操作完成; 实验技术由刘亮明、孙水林及高得勇指导; 本论文写作由刘亮明与叶长根完成。

通讯作者: 刘亮明, 201600, 上海市松江区中山中路746号, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院感染科。

liuliangming@hotmail.com

电话: 021-67720053

收稿日期: 2013-08-26 修回日期: 2013-10-28

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-28

Differentially expressed microRNAs in plasma of pretreated patients with/without anti-tuberculosis drugs-induced hepatotoxicity

Chang-Gen Ye, Shui-Lin Sun, Ru Bai, Wei-Xing Zhu, Cai-Ping Chen, Ping Xie, Hui Zhao, Wen-Juan Tu, De-Yong Gao, Liang-Ming Liu

Chang-Gen Ye, Ru Bai, Wei-Xing Zhu, Cai-Ping Chen, Ping Xie, Hui Zhao, Wen-Juan Tu, De-Yong Gao, Liang-Ming Liu, Department of Infection Diseases, Songjiang Hospital Affiliated to First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201600, China

Chang-Gen Ye, Third People's Hospital of Jingdezhen, Jingdezhen 333000, Jingxi Province, China

Shui-Lin Sun, Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jingxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070357 and 30660066; the Leading Medical Cooperation Foundation of Shanghai Songjiang, No. 2011LX02

Correspondence to: Liang-Ming Liu, Department of Infection Diseases, Songjiang Hospital Affiliated to First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, 746 Zhongshan Middle Road, Songjiang District, Shanghai 201600, China. liuliangming@hotmail.com

Received: 2013-08-26 Revised: 2013-10-28

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To investigate differential expression pro-

file of microRNAs (miRNAs) in plasma of pretreated patients with/without anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity (ATDH).

METHODS: Plasma samples were collected from patients with/without ATDH before anti-tuberculosis treatment and subjected to miRNA microarray analysis. Twenty-five miRNAs were tested using high-flux real-time quantitative PCR. The target genes of miRNAs were predicted using the Internet software, and the GO functional classification of target proteins was analyzed using the PANTHER tool.

RESULTS: Compared with patients without ATDH, there were 7 miRNAs differentially expressed in patients with ATDH before anti-tuberculosis drug therapy, 4 of which were up-regulated, including miR-4284, miR-3620, miR-652-5p and miR-4800-5p, and 3 down-regulated, including miR-338-3p, miR-424-5p and miR-194-5p.

CONCLUSION: There are differentially expressed miRNAs in the circulation of patients with ATDH before anti-tuberculosis drug therapy, and the up-regulated miRNAs (esp. miR-4284) may be new biological markers for screening ATDH susceptible population.

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

Key Words: Anti-tuberculosis drug; Hepatotoxicity; MicroRNA; Plasma; Differentially expressed

Ye CG, Sun SL, Bai R, Zhu WX, Chen CP, Xie P, Zhao H, Tu WJ, Gao DY, Liu LM. Differentially expressed microRNAs in plasma of pretreated patients with/without anti-tuberculosis drugs-induced hepatotoxicity. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 415-422 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/415.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.415>

摘要

目的: 研究抗结核药物肝毒性(anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity, ATDH)与非ATDH

■背景资料

抗结核药物肝毒性(anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity, ATDH)是结核病治疗期间最常见且严重的不良反应, 其不仅增加患者身心痛苦和经济负担, 而且会造成治疗中断使疗效丧失和诱导细菌耐药, 严重者可能引起肝衰竭造成患者死亡。近二十年来, 结核病研究人员一直在致力于ATDH易感人群的研究, 期望能从中寻找到某个或某些特异性的预测因子, 以减少甚至避免ATDH的发生。药物代谢酶基因或其相关基因多态性的研究是近年ATDH易感者筛查的主要方向。但不同的研究者得出了不同甚至相反的结论。因此, 目前仍缺少ATDH易感性的预测指标。miRNA分子是细胞功能与代谢酶基因调控的关键分子, 其在血循环中差异性的表达可能有助于ATDH易感人群的筛查。

■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; 张占卿, 主任医师, 上海市(复旦大学)公共卫生中心(肝脏病学, 传染病学)

■ 研发前沿

ATDH发生的病理生理学机制及其易感人群识别和筛查研究是结核病治疗研究焦点和前沿。

患者化疗前血浆差异性表达的miRNA分子,为ATDH易感者筛检提供新的生物学指标。

方法: 采用miRNA芯片检测ATDH及对照患者化疗前血浆标本。对存在差异表达趋势的25种miRNA分子,采用高通量实时荧光定量PCR进行分析验证。应用互联网上miRNA靶基因预测软件对表达上调的miRNA进行靶基因预测,并采用PANTHER tool查找靶蛋白GO功能分类。

结果: 与对照组相比,ATDH患者化疗前血浆中共检出7个差异性表达的miRNA分子,其中表达上调的miRNA有4个,包括miR-4284、miR-3620、miR-652-5p和miR-4800-5p;表达下调的miRNA有3个,包括miR-338-3p、miR-424-5p和miR-194-5p。

结论: ATDH患者化疗前血浆内存在差异性表达的miRNA分子,其中表达上调的miRNA分子(特别是miR-4284)可能作为ATDH易感者筛检的生物学指标。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 抗结核药物; 肝毒性; microRNA; 血浆; 差异性表达

核心提示: 本文进行了抗结核药物肝损伤或肝毒性(anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity, ATDH)与非ATDH患者化疗前血浆miRNA分子高通量微阵列检测,探讨了存在差异性表达的miRNA分子在ATDH发病中可能的作用,为ATDH易感者筛检提供了可资评估的客观生物学指标。

叶长根, 孙水林, 白茹, 朱伟星, 陈彩萍, 谢平, 赵晖, 涂文娟, 高得勇, 刘亮明. 抗结核药物肝损伤与无肝损伤患者化疗前血循环miRNA分子的差异性表达. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 415-422 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/415.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.415>

0 引言

结核病是一类可引起全球流行的感染性疾病。据WHO统计,2010年全球新增了880万例活动性结核患者,死亡110万例^[1]。中国已成为全球第2大结核病负担最重的国家,世界上12%的结核病患者生活在中国^[1]。抗结核标准短程化疗方案主要由INH、RIF、PZA和EMB 4种药物组成。肝损伤是这些药物联合治疗期间最常出现的不良反应之一^[2]。其发生率各地报道不一,在1%-47%

之间^[3]。抗结核药物肝损伤或肝毒性(anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity, ATDH)也是结核病治疗期间最严重的不良反应。ATDH的出现,不仅增加患者身心痛苦和经济负担,而且会造成治疗中断使疗效丧失和诱导细菌耐药,严重者可能引起肝衰竭造成患者死亡^[4]。药物本身的毒性^[5]及代谢中间产物^[6]被认为在ATDH的发生中起了关键作用。但是,抗结核化疗患者是否出现肝毒性反应,个体间的差异很大,即ATDH的发生存在明显的遗传易感性^[7]。将这部分易感人群方便有效地筛选出来,可能有助于减少甚至杜绝ATDH的发生。为此,我们进行了抗结核药物肝损伤和无肝损伤患者化疗前血标本miRNA芯片检测分析,以期筛选出某个或某些差异性表达的miRNA分子,为将来抗结核药物治疗前筛查ATDH易感者提供敏感而特异的生物学指标。

1 材料和方法

1.1 材料 2011-08/2012-05上海交通大学附属第一人民医院松江分院感染科收治的活动性肺结核患者。诊断标准依据2001年的《肺结核诊断和治疗指南》^[8]。所有研究对象均为抗结核初治患者,无合并症或并发症。治疗前均无基础肝脏疾病并排除乙型肝炎、丙型肝炎等嗜肝病毒感染和脂肪性及自身免疫性肝病等,腹部B超显示正常,且治疗过程中未预防性使用过护肝降酶药物。抗结核治疗采用标准的6 mo短程化疗方案:2HREZ/4HR。所有患者每周至少进行一次肝功能检测。

1.2 方法

1.2.1 标本采集: 所有患者均于抗结核药物治疗前留取血标本。ATDH的诊断标准依据文献^[9]:服药过程中,患者血清ALT超过2倍正常上限。随机选取3例ATDH和3例非ATDH患者治疗前血标本进行miRNA芯片检测。其中,男性2例,女性1例,年龄15-33岁之间。另20例ATDH和非ATDH患者治疗前血标本用于证实芯片检测结果。研究符合国家卫生部医学伦理学要求,并经患者知情同意,说明所采集的标本仅用于医学研究目的。

1.2.2 分离血浆: 外周血2 mL置EDTA抗凝管中,混匀,4℃,8200 g离心10 min;上清液移至无菌1.5 mL离心管中,16000 g,4℃离心10 min,小心吸取上清到新的1.5 mL离心管中,置-80℃冰箱中贮存备用。

1.2.3 总RNA抽提: 采用mirVana™ PARIS™

kit(Ambion, Austin, TX, US), 按照试剂盒说明书进行总RNA抽提. 简要操作方法如下: 625 μ L血浆样品与等体积2 \times Denaturing Solution混匀后, 加入1.25体积无水乙醇室温下充分混匀. 将混合液加入置于收集管内的滤筒中, 离心30 s, 弃滤过液. 滤筒内加入700 μ L miRNA Wash Solution 1(工作液内加有乙醇), 离心15 s, 弃滤过液. 用500 μ L Wash Solution 2/3洗滤筒两次后, 离心1 min以清除滤筒内残留的液体, 更换收集管. 加入预热(95 $^{\circ}$ C)无酶水至滤筒中心, 离心30 s. 收集洗脱液(含RNA), 贮存于-20 $^{\circ}$ C. 采用Agilent Bioanalyzer 2100(Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)对总RNA进行电泳质量检测.

1.2.4 miRNA标记: 采用Agilent miRNA芯片配套的试剂盒miRNA Complete Labeling and Hyb Kit(Agilent technologies, Santa Clara, CA, US), 按照说明书对样品中的miRNA分子进行荧光标记. 简要操作步骤如下: 100 ng总RNA经牛肠磷酸酶作用去磷酸化后, 加入100%DMSO使样品变性. 利用T4 RNA连接酶进行Cy3荧光标记. 反应结束后, 将样品置于真空浓缩仪中完全抽干备用.

1.2.5 miRNA芯片杂交: miRNA芯片采用Agilent技术公司提供的Agilent human miRNA(8 \times 60 k)v18.0. 该芯片共覆盖人类成熟的miRNA 1887个, 对应探针4530个; 此外芯片还包含了7种人类病毒(HBV、HHV1、HHV4、HHV5、HHV8、HIV及HSV-2)的140个miRNA, 对应探针数417个. 每个miRNA对应的探针总重复次数30次. 数据来源于Sanger miRBase release 18.0. 杂交实验采用Agilent miRNA芯片配套的试剂盒miRNA Complete Labeling and Hyb Kit的杂交部分, 按说明书进行. 简要操作步骤为: 抽干并经标记的miRNA样品用无核酸酶水重新溶解, 加入封闭试剂. 然后, 加入杂交缓冲液并混匀. 100 $^{\circ}$ C金属浴中加热5 min后, 冰水浴中冷却5 min, 离心收集反应液. 将45 μ L反应液吸至置于Agilent SureHyb chamber底座的盖片上. 将芯片点样面(带有“Agilent”字样面)朝下缓慢放置在盖片上, 组装SureHyb chamber, 并拧紧. 将SureHyb chamber置于杂交炉, 温度55 $^{\circ}$ C, 转速20 r/min, 滚动杂交20 h. 杂交完成后在洗缸staining dishes(Thermo Shandon, Waltham, MA, US)中洗片, 洗片所用的试剂为 Gene Expression Wash Buffer Kit (Agilent technologies, Santa Clara, CA, US).

1.2.6 芯片扫描及数据处理: 芯片结果采用Agilent Microarray Scanner(Agilent technologies,

Santa Clara, CA, US)进行扫描, 用Feature Extraction software 10.7(Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)读取数据, 软件设置Scan resolution = 5 μ m, PMT 100%, 5%. 最后采用Gene Spring Software 11.0(Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)进行归一化处理, 所用的算法为Quantile.

1.2.7 实时定量RT-PCR: 采用SharpvueTM miRNA Assay(Biovue Technology Ltd, USA)试剂(该试剂具有经实验验证确认的All-in-OneTM qPCR Primer, 可用于从一个合成反应的cDNA中检测多种miRNAs), 依据操作说明书进行. 0.05 μ g总RNA, 用miRNA RT kit逆转录为第一链cDNA. 以第一链cDNA为模板, 加入qPCR Master Mix进行PCR扩增. 扩增温度设定为: 95 $^{\circ}$ C预变性2 min, (96 $^{\circ}$ C/5 s, 58 $^{\circ}$ C/1 min) \times 3 cycles, (96 $^{\circ}$ C/5 s, 60 $^{\circ}$ C/30 s) \times 37 cycles.

1.2.8 生物信息学分析: 应用互联网上miRNA靶基因预测软件. 进入miRNA靶基因预测和功能研究数据库MiRDB(采用的预测工具为Mir-Target2软件)主页(<http://mirdb.org/miRDB/>). 在Target Mining页面, 选择参数为靶基因预测积分(target score)超过60分. 利用各个靶基因的识别码(基因ID), 采用PANTHER tool(<http://www.pantherdb.org/>)查找各个靶蛋白的GO功能分类.

统计学处理 归一化后的数据输入significant analysis of microarray软件, 进行SAM分析. $P < 0.05$ 且各组信号差异倍数Log₂值绝对值 > 1 (相对于原始信号之比 > 2 倍或 < 0.5 倍)为差异性表达的miRNA.

2 结果

2.1 ATDH和非ATDH患者化疗前血浆miRNA芯片检测 对ATDH与非ATDH患者化疗前血浆进行miRNA芯片检测, 数据采用SAM分析, 结果并未发现两者之间存在显著统计学差异的表达上调或下调的miRNA分子(差异性表达火山图如图1). 我们考虑芯片检测获得阴性结果的原因可能与检测病例数过少(仅3例)有关. 为在更大样本中进行分析检测, 我们选取了火山图中表达水平差异倍数较大且趋近左上或右上象限的miRNA分子共25个进行下一步分析检测.

2.2 ATDH和非ATDH患者化疗前血浆25种miRNA分子实时荧光定量PCR分析 对芯片检测中存在上调或下调趋势的25种miRNA分子进一步采用高通量实时荧光定量PCR分析. 结果

■应用要点

研究成果可应用于ATDH易感患者筛查、ATDH治疗及其病理生理机制的探讨.

同行评价

本文反映了目前ATDH领域研究的新进展, 有较为重要的学术价值。

表 1 25种血浆miRNA实时荧光定量PCR检测结果

No.	miRNA name	$\Delta \Delta Ct$	$2^{-\Delta \Delta Ct}$	Regulation
1	hsa-miR-4284	-1.9	3.66	Up
2	hsa-miR-3620	-1.6	3.09	Up
3	hsa-miR-652-5p	-1.3	2.50	Up
4	hsa-miR-4800-5p	-1.1	2.08	Up
5	hsa-miR-1249	-0.9	1.92	N
6	hsa-miR-3937	-0.9	1.85	N
7	hsa-miR-584-5p	-0.8	1.77	N
8	hsa-miR-1226-5p	-0.8	1.75	N
9	hsa-miR-4298	-0.8	1.69	N
10	hsa-miR-4655-3p	-0.6	1.57	N
11	hsa-miR-1260a	-0.6	1.50	N
12	hsa-miR-1224-5p	-0.6	1.48	N
13	hsa-miR-577	-0.4	1.29	N
14	hsa-miR-378i	-0.2	1.14	N
15	hsa-miR-663a	0.0	1.03	N
16	hsa-miR-4286	0.1	0.92	N
17	hsa-miR-7-5p	0.4	0.75	N
18	hsa-miR-34a-5p	0.6	0.66	N
19	hsa-miR-454-3p	0.6	0.65	N
20	hsa-miR-125b-5p	0.7	0.63	N
21	hsa-miR-32-5p	0.7	0.62	N
22	hsa-miR-144-5p	0.7	0.61	N
23	hsa-miR-338-3p	1.1	0.48	Down
24	hsa-miR-424-5p	1.1	0.47	Down
25	hsa-miR-194-5p	1.3	0.39	Down

发现, 与非ATDH患者相比, ATDH患者表达上调的miRNA有4个, 包括: miR-4284、miR-3620、miR-652-5p和miR-4800-5p; 表达下调的miRNA有3个, 包括: miR-338-3p、miR-424-5p和miR-194-5p(表1)。

2.3 差异性表达miRNA靶基因预测结果及靶蛋白GO功能分类 表达上调的miRNA分子进靶基因预测。将miR-4284、miR-3620、miR-652-5p和miR-4800-5p同时输入搜寻框内, 下拉菜单选择“human”。结果显示, 靶基因预测积分超过60分者共有264个基因。其中, 积分超过80分的靶基因共33个(表2)。利用每个靶基因的身份识别码(基因ID), 用PANTHER tool查找各个靶蛋白的GO功能分类(表2)。

3 讨论

抗结核药物肝毒性是结核病临床治疗过程中十分常见且严重的药物毒副作用。近二十余年来, 结核病研究人员一直在致力于ATDH易感人群的研究, 期望能从中寻找到某个或某些特异性

的预测因子。这项工作在临床工作中的重要意义显而易见, 因为抗结核治疗前对易感人群的预测, 有助于减少甚至避免ATDH的发生。药物代谢酶基因或其相关基因多态性的研究是近年ATDH易感者筛查的主要方向。N-乙酰转移酶(N-acetyl-transferase, NAT2)和细胞色素P450酶(如CYP2E1)基因多态性的研究较多。研究显示, NAT2多态性(慢乙酰化状态)与ATDH易感性间有密切的相关性^[10]。对于NAT2慢乙酰化型患者, 异烟肼可经由另一条通路, 即CYP2E1通路进行代谢, 产生毒性代谢产物, 引起ATDH^[11], 但另一项研究并未发现NAT2慢乙酰化状态与ATDH易感性之间的相关关系^[12]。CYP2E1多态性, 即c1/c1基因型与ATDH易感性之间是否相关, 也存在争论^[10]。由于谷胱甘肽S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)在清除氧自由基和细胞保护方面的重要作用, 对GST两种亚型GSTT1和GSTM1多态性的研究曾一度成为关注的焦点。文献显示, GSTM1 *0/*0 (null)或GSTT1 null基因型的患者易发生ATDH^[13,14], 但最近的一项研究指出, GSTM1 *0/*0或GSTT1 *0/*0或两个等位基因同时缺失的患者, 其ATDH的发生率也无明显增加^[15]。因此, 目前仍缺少预测ATDH易感者的检测指标。

已知, 在细胞功能与代谢酶基因的调控中, microRNA(miRNA)分子起了关键作用^[16,17]。因此, 在本项目中, 我们对服用抗结核药物后发生肝损伤和未发生肝损伤的肺结核患者化疗前血浆进行了miRNA高通量微阵列分析。芯片检测结果并未筛查出两者间存在差异性表达升高/降低的miRNA。我们对实验结果进行了认真仔细的分析和讨论, 认为芯片得出阴性结果可能与病例数过少(各3例患者), 难以获得有统计学价值的的数据有关。我们进一步对实验结果进行了比对, 对其中存在上调/下调趋势的25个miRNA分子在较大的样本中(各20例患者)采用高通量实时荧光定量PCR进行分析验证。我们发现, 肝损伤与无肝损伤患者之间有7个miRNA分子存在差异性表达。其中, miR-4284、miR-3620、miR-652-5p和miR-4800-5p在ATDH患者表达上调, miR-338-3p、miR-424-5p和miR-194-5p在ATDH患者表达下调。

对在ATDH患者化疗前表达上调的miR-4284、miR-3620、miR-652-5p和miR-4800-5p进行靶基因预测和GO生物学功能分析显示,

表 2 部分miRNA靶基因及其GO生物学功能

序号	miRNA	积分	靶基因	基因全称	GO生物学功能
1	hsa-miR-4800-5p	100	<i>ITGB1BP1</i>	integrin beta 1 binding protein 1	整合素结合蛋白, 细胞黏附功能
2	hsa-miR-4284	99	<i>GNG13</i>	guanine nucleotide binding protein (G protein), gamma 13	水解酶; G蛋白耦联受体蛋白
3	hsa-miR-4284	98	<i>VPS53</i>	vacuolar protein sorting 53 homolog (S. cerevisiae)	线粒体内膜蛋白, 参与脂质代谢过程
4	hsa-miR-4284	98	<i>MAVS</i>	mitochondrial antiviral signaling protein	线粒体信号蛋白
5	hsa-miR-4284	97	<i>ORAI2</i>	ORAI calcium release-activated calcium modulator 2	钙释放激活钙调素
6	hsa-miR-652-5p	94	<i>SEC14L1</i>	SEC14-like 1 (S. cerevisiae)	胆固醇代谢转运/携带蛋白
7	hsa-miR-4284	93	<i>SPN</i>	sialophorin	炎细胞表面糖蛋白, 负调控免疫应答
8	hsa-miR-4284	91	<i>LOC100653346</i>	uncharacterized LOC100653346	功能不清
9	hsa-miR-4284	91	<i>TMEM120B</i>	transmembrane protein 120B	物质代谢过程
10	hsa-miR-4284	90	<i>CYP20A1</i>	cytochrome P450, family 20, subfamily A, polypeptide 1	氧化酶
11	hsa-miR-4284	89	<i>OPA3</i>	optic atrophy 3 (autosomal recessive, with chorea and spastic paraplegia)	线粒体外膜蛋白
12	hsa-miR-4284	89	<i>CDK17</i>	cyclin-dependent kinase 17	非受体丝/苏氨酸蛋白激酶
13	hsa-miR-4284	89	<i>RAB3B</i>	RAB3B, member RAS oncogene family	小分子GTP结合蛋白, RAB家族成员
14	hsa-miR-652-5p	88	<i>SLC25A24</i>	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; phosphate carrier), member 24	线粒体携带因子
15	hsa-miR-4284	88	<i>PLA2R1</i>	phospholipase A2 receptor 1, 180 kDa	磷脂酶A2受体
16	hsa-miR-3620	88	<i>USP46</i>	ubiquitin specific peptidase 46	丝氨酸蛋白酶; 泛素-蛋白质连接酶
17	hsa-miR-3620	87	<i>PUM1</i>	pumilio homolog 1 (Drosophila)	翻译因子
18	hsa-miR-4800-5p	87	<i>DTL</i>	denticleless homolog (Drosophila)	核基质相关蛋白
19	hsa-miR-4284	86	<i>ZNF292</i>	zinc finger protein 292	核酸酶; 转录因子
20	hsa-miR-4284	86	<i>PLIN5</i>	perilipin 5	脂质转运/携带蛋白
21	hsa-miR-4284	86	<i>ENAH</i>	Enabled homolog (Drosophila)	细胞骨架结构成份
22	hsa-miR-4284	85	<i>RAB3IP</i>	RAB3A interacting protein (rabin3)	鸟苷酸交换因子; 信号转导
23	hsa-miR-3620	85	<i>ACPP</i>	acid phosphatase, prostate	磷酸酶
24	hsa-miR-652-5p	83	<i>TLR7</i>	toll-like receptor 7	Toll受体信号通路
25	hsa-miR-652-5p	83	<i>RRAS2</i>	related RAS viral (r-ras) oncogene homolog 2	小GTP酶
26	hsa-miR-3620	83	<i>GPBP1L1</i>	GC-rich promoter binding protein 1-like 1	功能不清
27	hsa-miR-4284	82	<i>RLIM</i>	ring finger protein, LIM domain interacting	E3泛素蛋白连接酶, 可调控细胞迁移
28	hsa-miR-3620	82	<i>INSIG2</i>	insulin induced gene 2	胆固醇代谢过程
29	hsa-miR-4284	82	<i>ZFR2</i>	zinc finger RNA binding protein 2	RNA结合蛋白
30	hsa-miR-652-5p	81	<i>UTS2D</i>	urotensin 2 domain containing	功能不清
31	hsa-miR-652-5p	81	<i>PRKCA</i>	protein kinase C, alpha	非受体丝/苏氨酸蛋白激酶
32	hsa-miR-3620	81	<i>TSPAN9</i>	tetraspanin 9	膜结合信号分子; 受体; 细胞黏附分子
33	hsa-miR-4284	80	<i>AAK1</i>	AP2 associated kinase 1	非受体丝/苏氨酸蛋白激酶

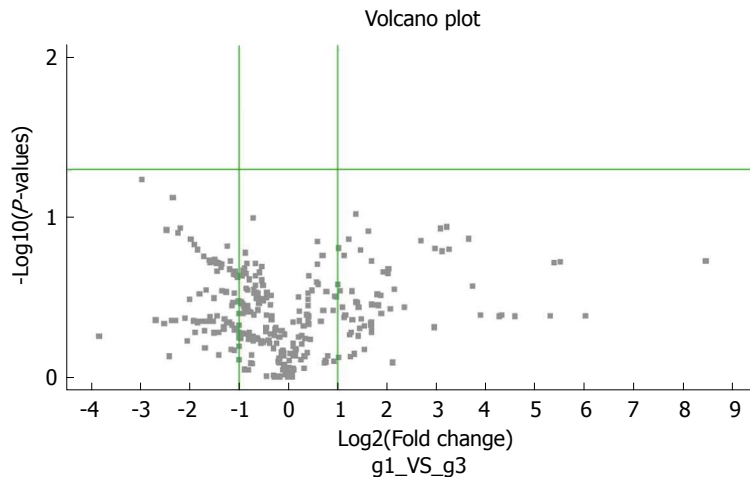


图1 ATDH与非ATDH患者化疗前血浆miRNA差异性表达火山图。两者之间未发现差异性表达的miRNA分子。横轴表示两者间miRNA表达水平的差异倍数,纵轴代表两样品间比较后的 P 值。左上及右上象限为 $P < 0.05$ 且表达水平差异倍数 \log_2 绝对值 > 1 的差异性表达的miRNA。

4种miRNA分子主要调控的蛋白质有以下几类: (1)脂质/胆固醇转运和物质代谢相关蛋白质: EC14L1、TMEM120B、PLIN5、INSIG2。其中PLIN5是细胞内脂滴包被蛋白,可运载脂滴至线粒体内完成脂肪酸氧化^[18]; INSIG2是内质网蛋白,参与脂肪酸调控和胆固醇合成^[19]; (2)线粒体功能相关蛋白: VPS53、MAVS、OPA3、SLC25A24。其中,MAVS是产生抗病毒信号的重要接头分子,参与固有免疫反应,可诱导I型干扰素生成^[20]; OPA3是线粒体外膜蛋白,其变异蛋白(G93S)高表达可诱导线粒体碎裂^[21]; SLC25A24是着床于线粒体内膜的运载蛋白,在新陈代谢中发挥着重要作用^[22]; (3)各种酶类: GNG13、CYP20A1、USP46、ZNF292、ACPP、RRAS2、RLIM、PRKCA、AAK1。其中,CYP20A1是细胞色素P450超家族,为单氧化物酶,主要催化药物代谢、胆固醇、类固醇和脂质等的合成反应^[23]; USP46属于丝氨酸蛋白酶家族,主要起去泛素化酶的作用^[24]; RRAS2是Ras样小GTP酶的R-Ras超家族的成员,主要结合于浆膜起信号转导的作用。已证实其在激活调控细胞增殖的信号转导通路中起关键作用^[25,26]; PPKCA是蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)家族的一员,已证实其在许多不同细胞效应过程,包括细胞黏附、细胞转化、细胞周期检查点和细胞体积调控等中起重要作用^[27]; (4)细胞表面糖蛋白和黏附分子: ITGB1B1、SPN、TSPAN9。其中,ITGB1B1可特异性地结合于beta1-整合素的胞浆结构域,对beta1-整合素的亲合作用起负调控作用,从而在细胞黏附中起关键作用^[28]; SPN又称CD43,是淋

巴细胞、单核细胞、胸腺细胞和粒细胞表面的涎酸糖蛋白,在获得性免疫应答过程中起负调控作用^[29,30]; (5)细胞表面受体: PLA2R1、TLR7。其中,TLR7是Toll样受体家族的成员,该家族在病原体识别和固有免疫激活方面有重要作用,能识别病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs),介导细胞因子产生。TLR7可被I型干扰素诱导表达,调控炎症反应和促进免疫反应^[31]; (6)细胞骨架成分: ENAH。总之,这些靶蛋白在脂质/胆固醇代谢和转运、线粒体能量供给、细胞形态维持、信号转导以及炎性细胞黏附和免疫应答调控等方面有重要影响。上述4种miRNA分子对这些靶蛋白的调控作用,有可能促进了肺结核患者对ATDH的易感性。因此,通过检测血浆miR-4284、miR-3620、miR-652-5p和miR-4800-5p(特别是miR-4284)可能对拟联合化疗的肺结核患者肝毒性的产生进行预测。对上述4种或其中一种miRNA分子(特别是miR-4284)表达升高者,需调整化疗药物剂量或改变化疗方案,以减少或避免ATDH的发生。

另外,在ATDH患者表达下调的miR-338-3p、miR-424-5p和miR-194-5p有可能是一些肝保护性因子。其表达的下调,可能进一步增强了肺结核患者对ATDH的易感性。将来,通过补充这些下调的miRNA分子,可望预防ATDH的发生,甚至可能作为一种治疗手段,促进ATDH患者损伤肝组织的修复。

4 参考文献

- 1 World Health Organization. Global tuberculo-

- sis control: World Health Organization Report 2011. *ANZJPH* 2012; 36: 497-498 [DOI: 10.1111/j.1753-6405.2012.00928.x]
- 2 Senousy BE, Belal SI, Draganov PV. Hepatotoxic effects of therapies for tuberculosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 543-556 [PMID: 20808293 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.134]
 - 3 Wang PY, Xie SY, Hao Q, Zhang C, Jiang BF. NAT2 polymorphisms and susceptibility to anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2012; 16: 589-595 [PMID: 22409928 DOI: 10.5588/ijtld.11.0377]
 - 4 Tost JR, Vidal R, Caylà J, Díaz-Cabanela D, Jiménez A, Broquetas JM. Severe hepatotoxicity due to anti-tuberculosis drugs in Spain. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9: 534-540 [PMID: 15875925]
 - 5 Hein DW. Molecular genetics and function of NAT1 and NAT2: role in aromatic amine metabolism and carcinogenesis. *Mutat Res* 2002; 506-507: 65-77 [PMID: 12351146]
 - 6 Sunahara S. Genetical and geographic studies on isoniazid inactivation. *Science* 1961; 134: 1530-1531 [PMID: 13918409]
 - 7 Li C, Long J, Hu X, Zhou Y. GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms and risk of anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity: an updated meta-analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32: 859-868 [PMID: 23377313 DOI: 10.1007/s10096-013-1831-y]
 - 8 中华医学会结核病学分会. 肺结核诊断和治疗指南. *中华结核和呼吸杂志* 2001; 24: 70-74
 - 9 Bénichou C. Criteria of drug-induced liver disorders. Report of an international consensus meeting. *J Hepatol* 1990; 11: 272-276 [PMID: 2254635]
 - 10 Cho HJ, Koh WJ, Ryu YJ, Ki CS, Nam MH, Kim JW, Lee SY. Genetic polymorphisms of NAT2 and CYP2E1 associated with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Korean patients with pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)* 2007; 87: 551-556 [PMID: 17950035]
 - 11 Huang YS, Chern HD, Su WJ, Wu JC, Chang SC, Chiang CH, Chang FY, Lee SD. Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis drug-induced hepatitis. *Hepatology* 2003; 37: 924-930 [PMID: 12668988]
 - 12 Vuilleumier N, Rossier MF, Chiappe A, Degoumois F, Dayer P, Mermillod B, Nicod L, Desmeules J, Hochstrasser D. CYP2E1 genotype and isoniazid-induced hepatotoxicity in patients treated for latent tuberculosis. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62: 423-429 [PMID: 16770646]
 - 13 Huang YS, Su WJ, Huang YH, Chen CY, Chang FY, Lin HC, Lee SD. Genetic polymorphisms of manganese superoxide dismutase, NAD(P)H: quinone oxidoreductase, glutathione S-transferase M1 and T1, and the susceptibility to drug-induced liver injury. *J Hepatol* 2007; 47: 128-134 [PMID: 17400324]
 - 14 Leiro V, Fernández-Villar A, Valverde D, Constenla L, Vázquez R, Piñeiro L, González-Quintela A. Influence of glutathione S-transferase M1 and T1 homozygous null mutations on the risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in a Caucasian population. *Liver Int* 2008; 28: 835-839 [PMID: 18397238 DOI: 10.1111/j.1478-3231]
 - 15 Chatterjee S, Lyle N, Mandal A, Kundu S. GSTT1 and GSTM1 gene deletions are not associated with hepatotoxicity caused by antitubercular drugs. *J Clin Pharm Ther* 2010; 35: 465-470 [PMID: 20853551]
 - 16 Whittaker R, Loy PA, Sisman E, Suyama E, Aza-Blanc P, Ingermanson RS, Price JH, McDonough PM. Identification of MicroRNAs that control lipid droplet formation and growth in hepatocytes via high-content screening. *J Biomol Screen* 2010; 15: 798-805 [PMID: 20639500 DOI: 10.1177/1087057110374991]
 - 17 Chen X, Murad M, Cui YY, Yao LJ, Venugopal SK, Dawson K, Wu J. miRNA regulation of liver growth after 50% partial hepatectomy and small size grafts in rats. *Transplantation* 2011; 91: 293-299 [PMID: 21183868 DOI: 10.1097/TP.0b013e318204756c]
 - 18 Bosma M, Minnaard R, Sparks LM, Schaart G, Losen M, de Baets MH, Duimel H, Kersten S, Bickel PE, Schrauwen P, Hesselink MK. The lipid droplet coat protein perilipin 5 also localizes to muscle mitochondria. *Histochem Cell Biol* 2012; 137: 205-216 [PMID: 22127648 DOI: 10.1007/s00418-011-0888-x]
 - 19 Hubáček JA, Suchánek P, Lánská V, Piňha J, Adámková V. INSIG2 G-102A promoter variant exhibits context-dependent effect on HDL-cholesterol levels but not on BMI in Caucasians. *Folia Biol (Praha)* 2011; 57: 170-172 [PMID: 21978759]
 - 20 Xing F, Matsumiya T, Onomoto K, Hayakari R, Imaizumi T, Yoshida H, Yoneyama M, Fujita T, Satoh K. Foreign RNA induces the degradation of mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS): the role of intracellular antiviral factors. *PLoS One* 2012; 7: e45136 [PMID: 23028806 DOI: 10.1371/journal.pone.0045136]
 - 21 Ryu SW, Jeong HJ, Choi M, Karbowski M, Choi C. Optic atrophy 3 as a protein of the mitochondrial outer membrane induces mitochondrial fragmentation. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67: 2839-2850 [PMID: 20372962 DOI: 10.1007/s00018-010-0365-z]
 - 22 Palmieri F. The mitochondrial transporter family SLC25: identification, properties and physiopathology. *Mol Aspects Med* 2013; 34: 465-484 [PMID: 23266187 DOI: 10.1016/j.mam.2012.05.005]
 - 23 Werck-Reichhart D, Feyereisen R. Cytochromes P450: a success story. *Genome Biol* 2000; 1: REVIEWS3003 [PMID: 11178272]
 - 24 Cohn MA, Kee Y, Haas W, Gygi SP, D'Andrea AD. UAF1 is a subunit of multiple deubiquitinating enzyme complexes. *J Biol Chem* 2009; 284: 5343-5351 [PMID: 19075014 DOI: 10.1074/jbc.M808430200]
 - 25 Delgado P, Cubelos B, Calleja E, Martínez-Martín N, Ciprés A, Mérida I, Bellas C, Bustelo XR, Alarcón B. Essential function for the GTPase TC21 in homeostatic antigen receptor signaling. *Nat Immunol* 2009; 10: 880-888 [PMID: 19561613 DOI: 10.1038/ni.1749]
 - 26 Rong R, He Q, Liu Y, Sheikh MS, Huang Y. TC21 mediates transformation and cell survival via activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and NF-kappaB signaling pathway. *Oncogene* 2002; 21: 1062-1070 [PMID: 11850823]
 - 27 Kang JH, Mori T, Kitazaki H, Niidome T, Takayama K, Nakanishi Y, Katayama Y. Kinase activity of protein kinase cα in serum as a diagnostic biomarker of human lung cancer. *Anticancer Res* 2013; 33: 485-488 [PMID: 23393340]
 - 28 Bouvard D, Vignoud L, Dupé-Manet S, Abed N, Fournier HN, Vincent-Monegat C, Retta SF, Fassler R, Block MR. Disruption of focal adhesions by integrin cytoplasmic domain-associated protein-1 alpha. *J Biol Chem* 2003; 278: 6567-6574 [PMID: 12473654]

- 29 Miki Y, Oguri E, Hirano K, Beppu M. Macrophage recognition of cells with elevated calcium is mediated by carbohydrate chains of CD43. *Cell Struct Funct* 2013; 38: 43-54 [PMID: 23400223]
- 30 Oguri E, Miki Y, Hirano K, Yamanaka M, Beppu M. Clearance of CD43-capped cells by macrophages: capping alone leads to phagocytosis. *Biol Pharm Bull* 2012; 35: 551-558 [PMID: 22466560]
- 31 Khoo JJ, Forster S, Mansell A. Toll-like receptors as interferon-regulated genes and their role in disease. *J Interferon Cytokine Res* 2011; 31: 13-25 [PMID: 21198355 DOI: 10.1089/jir.2010.0095]

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》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)

鱼油脂肪乳减轻全胃肠外营养引起的肝损害

马麟, 姜晶, 刘入铭, 王权, 所剑, 曹雪源

马麟, 刘入铭, 王权, 所剑, 曹雪源, 吉林大学白求恩第一医院胃肠结直肠外科 吉林省长春市 130021
姜晶, 吉林大学白求恩第一医院临床流行病学研究中心 吉林省长春市 130021
马麟, 在读硕士研究生, 主要从事胃肠结直肠肛门外科的研究。
作者贡献分布: 此课题由曹雪源设计; 临床操作由马麟、刘入铭、王权、所剑及曹雪源完成; 资料收集和统计学分析由马麟与姜晶完成; 论文由马麟完成; 曹雪源指导。
通讯作者: 曹雪源, 副教授, 130021, 吉林省长春市朝阳区新民大街71号, 吉林大学第一医院胃肠结直肠外科。
caoxy@aliyun.com
电话: 0431-81875604
收稿日期: 2013-11-07 修回日期: 2013-11-28
接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

Preventive effects of omega-3 fish oil emulsions on parenteral nutrition-associated liver disease

Lin Ma, Jing Jiang, Ru-Ming Liu, Quan Wang, Jian Suo, Xue-Yuan Cao

Lin Ma, Ru-Ming Liu, Quan Wang, Jian Suo, Xue-Yuan Cao, Department of Gastric and Colorectal Surgery, the First Bethune Hospital, Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China
Jing Jiang, Clinical Epidemiological Research Center, the First Bethune Hospital, Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China
Correspondence to: Xue-Yuan Cao, Associate Professor, Department of Gastric and Colorectal surgery, the First Bethune Hospital, Jilin University, 71 Xinmin Street, Chaoyang District, Changchun 130021, China. caoxy@aliyun.com
Received: 2013-11-07 Revised: 2013-11-28
Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To determine the efficacy of omega-3 fish oil-based intravenous lipid emulsion in the prevention of parenteral nutrition (PN)-associated liver disease (PNALD).

METHODS: Seventy-six patients who required long-term PN treatment were randomly divided into a control group (soybean-based lipid emulsion group, $n = 37$) and a study group (omega-3 fish oil-based emulsion group, $n = 39$). Omega-3 fish oil emulsions were given at 100 mL/d to the study group. The levels of serum albumin, liver function parameters and bilirubin were compared between the two groups.

RESULTS: After 30 d of PN treatment, the morbidity rate of parenteral nutrition-associated liver disease (PNALD) was significantly improved in the study group, compared to the control group (2.6% vs 21.6%, $\chi^2 = 6.60$, $P = 0.01$). The levels of serum total bilirubin ($14.6 \mu\text{mol/L} \pm 7.4 \mu\text{mol/L}$ vs $41.8 \mu\text{mol/L} \pm 29.7 \mu\text{mol/L}$, $t = 5.56$, $P < 0.001$) and direct bilirubin ($5.9 \mu\text{mol/L} \pm 2.8 \mu\text{mol/L}$ vs $27.8 \mu\text{mol/L} \pm 27.6 \mu\text{mol/L}$, $t = 4.01$, $P < 0.001$), and aminotransferase ($P < 0.001$) had a significant decrease in the study group compared with the control group.

CONCLUSION: Omega-3 fish oil emulsions may be effective in the prevention of PNALD in adults.

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

Key Words: Fish oil fatty emulsion; Parenteral nutrition; Parenteral nutrition-associated liver disease; Omega-3 poly-unsaturated fatty acid

Ma L, Jiang J, Liu RM, Wang Q, Suo J, Cao XY. Preventive effects of omega-3 fish oil emulsions on parenteral nutrition-associated liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 423-428 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/423.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.423>

摘要

目的: 研究 ω -3鱼油脂肪乳对全胃肠外营养(parenteral nutrition, PN)引起的肝损害(parenteral nutrition-associated liver disease, PNALD)的预防和保护作用。

方法: 将76例需要长期全胃肠外营养的胃肠外科住院患者随机分为对照组(普通脂肪乳组, $n = 37$)和研究组(鱼油脂肪乳组, $n = 39$), 两组均根据等氮等热量原则给予PN治疗 [104.6 - 125.5 kJ(25 - 30 kcal)/(kg·d)], 鱼油脂肪乳组联合应用 ω -3鱼油脂肪乳100 mL/d。于PN后30 d比较两组患者PNALD发生率, 平均血清总胆红素, 直接胆红素和转氨酶, 碱性磷酸酶和白蛋白水平。

背景资料

全胃肠外营养(parenteral nutrition, PN)的临床实施, 对提高胃肠道功能障碍患者的治愈率, 手术成功率起到了积极作用, 长时间使用的PN可能致肝功能障碍, 随着PN应用时间的延长, PN相关肝病(parenteral nutrition-associated liver disease, PNALD)的发生率相应增高, ω -3脂肪酸具有减轻炎症反应和调节免疫功能的作用, 近年研究发现, 含 ω -3脂肪酸的鱼油脂肪乳可改善肝脏功能。本研究观察 ω -3鱼油脂肪乳对PNALD的预防作用。

同行评议者

郭长江, 研究员, 军事医学科学院卫生学环境医学研究所营养研究室

■ 研发前沿

PNALD患者及早由PN恢复肠道喂养是有效的治疗措施, PN中加入 ω -3鱼油脂肪乳可有效预防及治疗PNALD. 目前PNALD的晚期治疗仍为比较棘手问题, 移植是目前解决的唯一途径.

结果: PN治疗30 d后, 鱼油脂肪乳组患者和普通脂肪乳组相比, PNALD发生率明显减低(2.6% vs 21.6%, $\chi^2 = 6.60, P = 0.01$). 血清总红素($14.6 \mu\text{mol/L} \pm 7.4 \mu\text{mol/L}$ vs $41.8 \mu\text{mol/L} \pm 29.7 \mu\text{mol/L}, t = 5.56, P < 0.001$), 直接胆红素($5.9 \mu\text{mol/L} \pm 2.8 \mu\text{mol/L}$ vs $27.8 \mu\text{mol/L} \pm 27.6 \mu\text{mol/L}, t = 4.01, P < 0.001$), 门冬氨酸氨基转移酶, 丙氨酸氨基转移酶, 碱性磷酸酶, γ -谷氨酰转肽酶等均有显著性差异($P \leq 0.001$).

结论: ω -3鱼油脂肪乳能调节长期PN成人患者的肝脏功能, 降低PNALD的发生率.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 鱼油脂肪乳; 全胃肠外营养; PN相关肝病; ω -多不饱和脂肪酸

核心提示: 本文通过随机分组将患者分为鱼油脂肪乳组与普通脂肪乳组, 监测治疗后肝功能比较及全胃肠外营养(parenteral nutrition)相关肝病(parenteral nutrition-associated liver disease, PNALD)发生率, 用以证明 ω -3鱼油脂肪乳可有效预防及治疗PNALD, 为临床预防及治疗PNALD提供方法.

马麟, 姜晶, 刘入铭, 王权, 所剑, 曹雪源. 鱼油脂肪乳减轻全胃肠外营养引起的肝损害. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 423-428 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/423.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.423>

0 引言

全胃肠外营养(parenteral nutrition, PN)的临床实施, 对提高胃肠道功能障碍患者, 如短肠综合征、消化系瘘、肠梗阻、炎性肠道疾病等疾病的治愈率, 提高患者的手术成功率起到了积极作用^[1]. 然而, 长时间使用的PN可能致肝功能障碍, 一般称为PN相关肝病(parenteral nutrition-associated liver disease, PNALD). PNALD患者在进展至严重纤维化及肝硬化前, 及早由PN恢复肠道喂养是有效的治疗措施, 对于大多数无法摆脱TPN的短肠综合征患者而言, 严格的导管护理, 利用剩余可用小肠尽量给予肠道喂养, 肠内营养时添加膳食纤维, 控制PN中脂质用量可预防及治疗PNALD^[2]. 张燕舞等^[3]于2006年最初报道鱼油治疗严重PNALD的成功经验, 胥子玮等^[1]证明运用鱼油 $0.15-0.2 \text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 添加至PN中给予治疗1 mo后肝功能及病理观察表明80%患者直接胆红素水平恢复正常, 肝脏组织学上

同样观察到这种改善. 对于终末期PNALD移植是唯一有效治疗途径. 随着PN应用时间的延长, PNALD的发生率相应增高. 肝功能损害对原发病产生不良影响, 严重者危及生命. 预防PNALD有利于提高PN治疗的安全性. ω -3脂肪酸具有减轻炎症反应和调节免疫功能的作用, 近年研究发现, 含 ω -3脂肪酸的鱼油脂肪乳可改善肝脏功能^[4,5]. 本研究采用随机对照方法, 对PN患者分别应用普通脂肪乳和加用鱼油脂肪乳, 观察 ω -3鱼油脂肪乳对PNALD的预防作用, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 从2009-2011年吉林大学白求恩第一医院胃肠外科住院病例中选取入组病例. 入组标准: (1)因胃肠外科原发病和/或接受胃肠手术; (2)不宜或无法进行肠内营养; (3)预计PN时间超过30 d以上; (4)既往无肝脏病史, PN前检查肝功能正常. 符合入组条件的患者治疗前均给予详细治疗说明并且征得患者及家属知情同意. 研究共纳入病例80例, 其中4例中途退出. 共有76例患者收集到完整数据. 平均年龄 49.6 ± 19.1 岁, 其中男性45例, 女性31例, A组39例, B组37例. 其中肠痿18例, 短肠综合征11例, 肠梗阻19例, 溃疡性结肠炎3例, 克罗恩病10例、胃癌根治术后7例, 结直肠癌术后8例. 各组患者一般情况如表1. 各组一般情况和肝功能检查差异无统计学意义($P \geq 0.2$). 本研究遵守吉林大学第一医院伦理委员会的相关规定, PN治疗中密切观察患者的全身及腹部情况, 诊断PNALD后, 即进行保肝等相应治疗.

1.2 方法

1.2.1 分组: 由临床流行病学中心人员依据计算机随机分为两组, 即鱼油脂肪乳组和普通脂肪乳组, 两组各40例, 其中4例中途退出, 鱼油脂肪乳组39例, 普通脂肪乳组37例.

1.2.2 PN营养治疗: 患者于入组后开始接受PN治疗, 至少连续营养治疗30 d以上. 两组患者给予热量 $[104.6-125.5 \text{ kJ}(25-30 \text{ kcal})/(\text{kg}\cdot\text{d})]$, 氮量 $0.20 \text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$, 经中心静脉输注. 研究组患者根据等氮等热量原则, 给予补充 ω -3鱼油脂肪乳注射液(尤文®/Omegaven®)100 mL/d, 连续30 d以上. 入组患者于PN期间均未给予肠内营养. PN治疗采用双盲法: 每日输注肠外营养液均由配液中心配制, 大豆脂肪乳和鱼油脂肪乳均标记为“脂肪乳”. PN实施人员和评价人员在揭盲前均不了解患者分组情况. 各组常规治疗方法, 包括: 禁食、纠

表 1 两组患者一般情况比较

项目	鱼油脂肪乳组	普通脂肪乳组	统计值	P值
<i>n</i>	39	37		
年龄(岁)	48.9 ± 18.5	50.2 ± 19.9	0.30	0.76
性别			0.18	0.67
男	24(61.5%)	21(56.8%)		
女	15(38.5%)	16(43.2%)		
既往疾病			2.11	0.91
肠痿	10	8		
短肠综合征	6	5		
肠梗阻	8	11		
溃疡性结肠炎	2	1		
克罗恩病	6	4		
胃癌根治术	4	3		
直肠癌根治术	3	5		
PN治疗前肝功能				
门冬氨酸氨基转移酶(U/L)	16.1 ± 8.8	18.7 ± 9.3	1.26	0.21
丙氨酸氨基转移酶(U/L)	16.9 ± 10.3	18.4 ± 8.2	0.73	0.47
碱性磷酸酶(U/L)	35.4 ± 18.2	34.5 ± 21.6	0.18	0.86
γ-谷氨酰转氨酶(U/L)	26.3 ± 14.3	25.3 ± 12.3	0.33	0.74
总胆红素(μmol/L)	14.0 ± 5.0	15.0 ± 5.5	0.88	0.38
间接胆红素(μmol/L)	9.5 ± 4.5	10.1 ± 5.6	0.51	0.61
直接胆红素(μmol/L)	4.5 ± 3.1	5.0 ± 2.1	0.76	0.45
血清白蛋白(g/L)	32.3 ± 5.9	31.3 ± 6.9	0.69	0.49

■ 相关报道

Gura等于2006年最初报道鱼油治疗严重PNALD的成功经验, 胥子玮等证明运用鱼油0.15-0.2 g/(kg·d)添加至PN中给予治疗1 wk后肝功能及病理观察表明80%患者直接胆红素水平恢复正常, 肝脏组织学上同样观察到这种改善。

正水电解质和酸碱失衡. 有明显低蛋白血症的患者应用白蛋白或血浆支持治疗, 必要时补充各种微量营养素, 根据原发病, 必要时应用抗菌素. 同时积极治疗原发病, 如消化功能恢复, 应用肠内营养后逐渐停用PN治疗.

1.2.3 观测指标和PNALD诊断标准: 于PN开始时和PN后第30天分别抽取患者静脉血, 分别检测: (1)血清总胆红素(total bilirubin, TBIL), 直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)和间接胆红素(indirect bilirubin, IBIL)水平; (2)丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT), 天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST), 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)和γ-谷氨酰转氨酶(γ-glutamyl transferase, γ-GT)改变; (3)血清白蛋白(albumin, ALB)含量; (4)各组患者PNALD的发生率. PNALD诊断标准: PN后血清ALT、AST、ALP、γ-GT 4个指标中任一指标大于等于正常值的1.5倍, 和/或DBIL ≥ 26 μmol/L. 伴有或不伴有DBIL/TBIL ≥ 0.5; 排除其他明确导致肝功能损伤的因素即可诊断为PNALD^[6]. 肝功能正常值参照吉林大学第一医院检验科标准: AST(8.0-40 U/L)、ALT(8.0-50 U/L)、AKP(15-112 U/L)、γ-GT(5.0-54.0 U/L)、

TBIL(6.8-30.0 μmol/L)、DBIL(0.0-6.8 μmol/L).

统计学处理 使用SPSS15.0进行数据处理和分析. 各组间数据为正态分布时, 计量资料采用mean ± SD表示. 计数资料数据采用t检验和χ²检验进行分析. P < 0.05为差异有统计学意义.

2 结果

两组患者共计76例, 平均PN时间47.3 d ± 17.8 d. PN后第30天时点PNALD发病率: 鱼油脂肪乳组1例, 普通脂肪乳组8例, 鱼油脂肪乳组明显降低(2.6% vs 21.6%, χ² = 6.60, P = 0.01). 鱼油脂肪乳组患者血清平均TBIL、DBIL、AST、ALT、ALP、γ-GT均明显低于对照组. 血清ALB无显著性差异(P > 0.05, 表2).

鱼油脂肪乳组PN前后比较胆红素和肝酶定量检测无显著性差异: 血清AST(18.7 U/L ± 9.3 U/L vs 15.3 U/L ± 9.3 U/L, P = 0.92), ALT(18.4 U/L ± 8.2 U/L vs 19.2 U/L ± 11.3 U/L, P = 0.40), ALP(34.5 U/L ± 21.6 U/L vs 33.6 U/L ± 16.3 U/L, P = 0.68), γ-GT(25.3 U/L ± 12.3 U/L vs 26.3 U/L ± 14.3 U/L, P = 0.70), TBIL(15.0 μmol/L ± 5.5 μmol/L vs 14.6 μmol/L ± 7.4 μmol/L, P = 0.40), IBIL(10.1 μmol/L ± 5.6 μmol/L vs 8.7 μmol/L

■ 创新盘点

本文通过随机分组将患者分为鱼油脂肪乳组与普通脂肪乳组, 监测治疗后肝功能比较及PNALD发生率, 有力证明了 ω -3鱼油脂肪乳可有效预防及治疗PNALD.

表 2 PN治疗后肝功能比较

	鱼油脂肪乳组	普通脂肪乳组	统计值	P值
<i>n</i>	39	37		
PN中位时间(d)	43.8 ± 17.7	46.7 ± 18.1	0.26	0.80
PNALD发生率 <i>n</i> (%)	1(2.6)	8(21.6)	6.60	0.01
PN后30 d肝功能				
门冬氨酸氨基转移酶(U/L)	16.1 ± 9.3	33.7 ± 19.3	5.11	<0.001
丙氨酸氨基转移酶(U/L)	19.2 ± 11.3	32.9 ± 15.5	4.42	<0.001
碱性磷酸酶(U/L)	33.6 ± 16.3	51.9 ± 26.5	3.63	0.001
γ -谷氨酰转氨酶(U/L)	27.9 ± 12.3	41.7 ± 20.1	3.62	0.001
总胆红素(μ mol/L)	14.6 ± 7.4	41.8 ± 29.7	5.56	<0.001
间接胆红素(μ mol/L)	8.7 ± 4.1	18.7 ± 10.1	7.43	<0.001
直接胆红素(μ mol/L)	5.9 ± 2.8	27.8 ± 27.6	4.01	<0.001
血清白蛋白(g/L)	36.4 ± 5.4	35.3 ± 5.7	0.83	0.41

PN: 全胃肠外营养; PNALD: PN相关肝病.

±4.1 μ mol/L, $P = 0.65$), DBIL(5.0 μ mol/L ± 2.1 μ mol/L vs 5.9 μ mol/L ± 2.8 μ mol/L, $P = 0.28$)无显著性差异; 血清ALB显著升高(31.3 g/L ± 6.9 g/L vs 36.4 g/L ± 5.4 g/L, $P < 0.01$).

普通脂肪乳组内PN前后比较, PN后胆红素和转氨酶等显著升高: AST(16.1 U/L ± 8.8 U/L vs 33.7 U/L ± 19.3 U/L, $P < 0.001$), ALT(16.9 U/L ± 10.3 U/L vs 32.9 U/L ± 15.5 U/L, $P < 0.001$), ALP(35.4 U/L ± 18.2 U/L vs 51.9 U/L ± 26.5 U/L, $P = 0.003$), γ -GT(27.9 U/L ± 12.3 U/L vs 41.7 U/L ± 20.1 U/L, $P < 0.001$); TBIL(14.0 μ mol/L ± 5.0 μ mol/L vs 41.8 μ mol/L ± 29.7 μ mol/L, $P < 0.001$), IBIL(9.5 μ mol/L ± 4.5 μ mol/L vs 18.7 μ mol/L ± 10.1 μ mol/L, $P < 0.001$), DBIL(4.5 μ mol/L ± 3.1 μ mol/L vs 27.8 μ mol/L ± 27.6 μ mol/L, $P < 0.001$); 血清ALB(32.3 g/L ± 5.9 g/L vs 35.3 g/L ± 5.7 g/L, $P < 0.01$)均显著升高.

不良反应: 研究组患者治疗期间未观察到与鱼油脂肪乳相关的不良反应, 如过敏反应、寒战、发热等. 治疗患者未出现不良反应和导管相关并发症.

3 讨论

本实验通过76例患者随机分为鱼油脂肪乳组和普通脂肪乳组的对照, PN后第30天时点PNALD发病率: 鱼油脂肪乳组1例, 普通脂肪乳组8例, 鱼油脂肪乳组明显降低(2.6% vs 21.6%, $\chi^2 = 6.60$, $P = 0.01$). 鱼油脂肪乳组PN前后比较胆红素和肝酶定量检测无显著性差异, 普通脂肪乳组内PN前后比较, PN后胆红素和转氨酶等显著升高, 可见

ω -3鱼油脂肪乳能调节长期PN成人患者的肝脏功能, 降低PNALD的发生率, 具体如下.

3.1 PNALD的临床特点 PNALD的主要临床特点肝内胆汁淤积, 通常于PN应用后14 d以上出现, 周志韶等和Nanji等^[7,8]报告胆汁淤积最早出现于PN应用后第12天. PNALD发病的确实机制尚不清楚, 可能和长期禁食引起淤胆、PN营养成分不平衡, 脂肪廓清能力下降以及肠道细菌移位有关. PNALD的程度与PN用量、使用时间和营养配方有关. 胆汁淤积主要表现为血清转氨酶、碱性磷酸酶, 谷氨酰转氨酶和胆红素升高, γ -GT和ALP同时异常升高为诊断胆汁淤积的主要指标. Teitelbaum等^[9]报道, 短肠综合征患儿长期应用PN, 有70%(16/23)的患儿血清DBIL > 42.75 μ mol/L, 其中4例死于肝硬化. 给予平衡的营养, 补充某些营养素(如胆碱、谷氨酰胺), 有利于防治PNALD. PNALD的发生受多种因素的影响, 徐应仁等^[10]报道402例老年肿瘤患者术后场外营养支持时PNALD发生率为15.2%. 本组患者PNALD发生率为21.6%, 可能与接受长期PN有关. 同时在本研究中, PN后血清白蛋白均明显升高, 说明加用鱼油脂肪乳并不影响外源性氮的利用.

3.2 鱼油脂肪乳的作用机制 研究表明 ω -3多不饱和脂肪酸对于治疗儿童PNALD有良好的效果^[11,12]. Heller等^[13]报道: 腹部肿瘤患者术后补充 ω -3鱼油后, ALT、TBIL和脂肪酶等肝脏和胰腺功能指标明显改善, 加速了术后快速康复. 最近的研究显示: 长期补充肠外鱼油降低胆固醇和甘油三酯水平. 传统的大豆脂肪乳含有大量的

植物甾醇, 并长期使用常规的脂肪乳导致细胞膜中的植物甾醇含量增高, 通过胆汁酸输出蛋白(bile salt export protein, Bsep)表达, 从而影响胆汁排出^[14]. 与之相反, 鱼油不包含任何植物甾醇, 鱼油中的成分EPA还可以加强对Bsep的诱导, 利于胆汁排出^[15].

蒋朱明等报道在一项随机对照研究中, 206例胃肠道肿瘤患者术后分别接受单一豆油脂肪乳剂和豆油+鱼油脂肪乳进行营养支持, 和单一豆油脂肪乳组比较, 鱼油脂肪乳组患者的感染并发症, 全身炎症反应综合征明显较少, 住院时间缩短. 从而得出结论: 鱼油乳剂全肠外营养能够减少炎症反应综合征和住院时间. 研究认为, 这些临床受益可能与鱼油调节细胞免疫功能和炎症反应相关^[16].

Xu等最近报道了鱼油治疗成人PNALD的研究结果: 15例成人短肠综合征的患者因长期PN出现胆汁淤积, 经过4 wk静脉输注 ω -3鱼油治疗, 15例中12例患者总胆红素和直接胆红素显著降低. 肝活检组织学和血清学检查均证明肠外补充 ω -3鱼油乳能够安全和有效治疗成人PNALD^[17].

本研究结果显示, ω -3鱼油在胃肠外科患者长期PN中应用是有益的. 可维持肝的正常代谢, 有利于患者的术后康复.

总之, ω -3鱼油脂肪乳剂作为一种免疫营养素, 还可改善长期PN成人患者肝脏生化指标, 具有较好的临床安全性和耐受性. 另外, PNALD损害表现为肝酶和胆红素升高、胆汁淤积、脂肪变性和肝硬化等诸多方面. 虽然鱼油补充可以减轻胆汁淤积, 但是并不能阻止肝纤维化和肝硬化的进展. 因此, 早期喂养、尽早实施肠内营养至关重要. PN所致肝损伤的确切机制和PNALD防治还需要更多的临床对照研究^[18-21].

4 参考文献

- 1 胥子玮, 李幼生. 肠外营养相关肝损害的发病机制及治疗进展. 实用医院临床杂志 2011; 8: 41-43
- 2 Gura KM, Duggan CP, Collier SB, Jennings RW, Folkman J, Bistran BR, Puder M. Reversal of parenteral nutrition-associated liver disease in two infants with short bowel syndrome using parenteral fish oil: implications for future management. *Pediatrics* 2006; 118: e197-e201 [PMID: 16818533 DOI: 10.1542/peds.2005-2662]
- 3 张燕舞, 蒋朱明, 王杨, 朱明炜, 王艳. 短期 ω -3脂肪酸乳剂干预对手术后肠外营养患者临床结局影响的Meta分析. 中华临床营养杂志 2011; 19: 213-219
- 4 Puder M, Valim C, Meisel JA, Le HD, de Meijer VE, Robinson EM, Zhou J, Duggan C, Gura KM.

- Parenteral fish oil improves outcomes in patients with parenteral nutrition-associated liver injury. *Ann Surg* 2009; 250: 395-402 [PMID: 19661785 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181b36657]
- 5 Fallon EM, Le HD, Puder M. Prevention of parenteral nutrition-associated liver disease: role of omega-3 fish oil. *Curr Opin Organ Transplant* 2010; 15: 334-340 [PMID: 20503524 DOI: 10.1097/MOT.0b013e3283394879]
- 6 Kumpf VJ. Parenteral nutrition-associated liver disease in adult and pediatric patients. *Nutr Clin Pract* 2006; 21: 279-290 [PMID: 16772545 DOI: 10.1177/015426506021003279]
- 7 周志韶, 舒志军, 黎介寿. 全肠外营养所致的肝脏损害-附5例报告. 诊断病理学杂志 1995; 2: 142-143
- 8 Nanji AA, Anderson FH. Sensitivity and specificity of liver function tests in the detection of parenteral nutrition-associated cholestasis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1985; 9: 307-308 [PMID: 2861299 DOI: 10.1177/0148607185009003307]
- 9 Teitelbaum DH, Drongowski R, Spivak D. Rapid development of hyperbilirubinemia in infants with the short bowel syndrome as a correlate to mortality: possible indication for early small bowel transplantation. *Transplant Proc* 1996; 28: 2699-2700 [PMID: 8908015]
- 10 徐仁应, 万燕萍, 单成迪, 沈婉蓉, 陈之琦, 张晓敏, 陆丽萍. 脂肪乳剂对老年肿瘤患者肠外营养相关肝功能损伤影响的回顾分析. 中华临床营养杂志 2010; 18: 24-28
- 11 Rollins MD, Scaife ER, Jackson WD, Meyers RL, Mulroy CW, Book LS. Elimination of soybean lipid emulsion in parenteral nutrition and supplementation with enteral fish oil improve cholestasis in infants with short bowel syndrome. *Nutr Clin Pract* 2010; 25: 199-204 [PMID: 20413701 DOI: 10.1177/0884533610361477]
- 12 Le HD, de Meijer VE, Robinson EM, Zurakowski D, Potemkin AK, Arsenault DA, Fallon EM, Malkan A, Bistran BR, Gura KM, Puder M. Parenteral fish-oil-based lipid emulsion improves fatty acid profiles and lipids in parenteral nutrition-dependent children. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 749-758 [PMID: 21775562 DOI: 10.3945/ajcn.110.008557]
- 13 Heller AR, Rössel T, Gottschlich B, Tiesel O, Menschikowski M, Litz RJ, Zimmermann T, Koch T. Omega-3 fatty acids improve liver and pancreas function in postoperative cancer patients. *Int J Cancer* 2004; 111: 611-616 [PMID: 15239141 DOI: 10.1002/ijc.20291]
- 14 Ellegård L, Sunesson A, Bosaeus I. High serum phyto-sterol levels in short bowel patients on parenteral nutrition support. *Clin Nutr* 2005; 24: 415-420 [PMID: 15896428 DOI: 10.1016/j.clnu.2005.01.001]
- 15 Zhao A, Yu J, Lew JL, Huang L, Wright SD, Cui J. Polyunsaturated fatty acids are FXR ligands and differentially regulate expression of FXR targets. *DNA Cell Biol* 2004; 23: 519-526 [PMID: 15307955 DOI: 10.1089/1044549041562267]
- 16 Jiang ZM, Wilmore DW, Wang XR, Wei JM, Zhang ZT, Gu ZY, Wang S, Han SM, Jiang H, Yu K. Randomized clinical trial of intravenous soybean oil alone versus soybean oil plus fish oil emulsion after gastrointestinal cancer surgery. *Br J Surg* 2010; 97: 804-809 [PMID: 20473991 DOI: 10.1002/bjs.6999]
- 17 Xu Z, Li Y, Wang J, Wu B, Li J. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids to reverse biopsy-proven parenteral nutrition-associated liver disease in

■应用要点

通过本实验证明 ω -3鱼油脂肪乳可有效预防及治疗PNALD, 在临床中长时间使用PN患者加用 ω -3鱼油脂肪乳可有效预防及治疗PNALD.

■同行评价

本文的结果国外已有不少报道,国内也有一些相关的报道,对于促进脂肪乳剂的研究和应用、防治肠外营养中肝功能损伤具有一定意义,对于国内读者而言有发表意义。

- adults. *Clin Nutr* 2012; 31: 217-223 [PMID: 22035955 DOI: 10.1016/j.clnu.2011.10.001]
- 18 Jain AK, Stoll B, Burrin DG, Holst JJ, Moore DD. Enteral bile acid treatment improves parenteral nutrition-related liver disease and intestinal mucosal atrophy in neonatal pigs. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G218-G224 [PMID: 22094603 DOI: 10.1152/ajpgi.00280.2011]
- 19 de Meijer VE, Gura KM, Meisel JA, Le HD, Puder M. Parenteral fish oil monotherapy in the management of patients with parenteral nutrition-associated liver disease. *Arch Surg* 2010; 145: 547-551 [PMID: 20566974 DOI: 10.1001/archsurg.2010.80]
- 20 Wang Y, Tao YX, Cai W, Tang QY, Feng Y, Wu J. Protective effect of parenteral glutamine supplementation on hepatic function in very low birth weight infants. *Clin Nutr* 2010; 29: 307-311 [PMID: 20416995 DOI: 10.1016/j.clnu.2010.03.009]
- 21 Wei C, Hua J, Bin C, Klassen K. Impact of lipid emulsion containing fish oil on outcomes of surgical patients: systematic review of randomized controlled trials from Europe and Asia. *Nutrition* 2010; 26: 474-481 [PMID: 20116213 DOI: 10.1016/j.nut.2009.09.011]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床疗效

王宏伟, 曹丽丽, 樊民强

王宏伟, 中国平煤神马集团一矿医院消化内科 河南省平顶山市 467000
曹丽丽, 中国人民解放军302医院青少年肝病诊疗与研究 北京市 100039
樊民强, 中国平煤神马集团八矿医院内科 河南省平顶山市 467001
王宏伟, 主治医师, 主要从事胃肠疾病与脂肪性肝病的研究。
作者贡献分布: 王宏伟与曹丽丽对本文所作贡献均等; 此课题由王宏伟、曹丽丽及樊民强共同设计; 数据收集与整理由王宏伟与曹丽丽完成; 统计分析由曹丽丽与王宏伟完成; 论文写作由王宏伟与樊民强完成。
通讯作者: 王宏伟, 主治医师, 467000, 河南省平顶山市卫东区一矿路东, 中国平煤神马集团一矿医院消化内科。
com0707@sina.com
电话: 0375-2721890
收稿日期: 2013-11-04 修回日期: 2013-11-27
接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

Effect of polyene phosphatidylcholine combined with fenofibrate capsules in treatment of nonalcoholic steatohepatitis

Hong-Wei Wang, Li-Li Cao, Min-Qiang Fan

Hong-Wei Wang, Department of Gastroenterology, the First Mine Hospital of Chinese Pdingshan Shenma Group, Pdingshang 467000, Henan Province, China
Li-Li Cao, Treatment and Research Center of Children's Liver Disease, 302 Hospital of the PLA, Beijing 100039, China
Min-Qiang Fan, Department of Gastroenterology, the Eighth Mine Hospital of Chinese Pdingshan Shenma Group, Pdingshang 467001, Henan Province, China
Correspondence to: Hong-Wei Wang, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the First Mine Hospital of Chinese Pdingshan Shenma Group, the First Mine Road East, Weidong District, Pdingshang 467000, Henan Province, China. com0707@sina.com
Received: 2013-11-04 Revised: 2013-11-27
Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To investigate the efficacy and safety of polyene phosphatidylcholine combined with fenofibrate capsules in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis (NASH).

METHODS: A total of 124 patients with NASH were selected and divided randomly into two

groups: a treatment group and two control groups. The treatment group received polyene phosphatidylcholine combined with fenofibrate capsules ($n = 45$) for 12 wk, while the two control groups received fenofibrate capsules and inosine ($n = 43$) and polyene phosphatidylcholine alone ($n = 36$) for the same duration, respectively. The levels of serum transaminase, clinical symptoms, blood lipids and B-mode ultrasonic imaging findings before and after treatment were compared between groups.

RESULTS: The levels of serum transaminase, clinical symptoms, blood lipids and B-mode ultrasonic imaging findings improved obviously after treatment. The response rates were 86.7%, 53.5% and 88.9% in the treatment group and the two control groups, respectively. There were significant differences between the three groups in the improvement of clinical symptoms, liver function and blood lipids ($P < 0.05$ for all).

CONCLUSION: Treatment of NASH with fenofibrate capsules combined with polyene phosphatidylcholine is safe and effective.

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

Key Words: Nonalcoholic steatohepatitis; Phosphatidylcholines; Fenofibrate

Wang HW, Cao LL, Fan MQ. Effect of polyene phosphatidylcholine combined with fenofibrate capsules in treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 429-433 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/429.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.429>

摘要

目的: 评价多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic fatty hepatitis, NASH)的疗效及其安全性。

方法: 124例非酒精性脂肪性肝炎患者随机分为治

背景资料

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种常见的健康问题,影响世界上35%的人口。非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic fatty hepatitis, NASH)是由单纯性脂肪肝发展而来,容易发展成肝硬化。NASH的治疗多采用饮食、运动、药物和减肥手术等综合治疗,目前尚无公认明确有效的治疗方案,NASH是临床治疗重点和难点。

同行评议者

方今女,教授,延边大学医学院预防医学教研部

■ 研究前沿

关于多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗NASH的研究较少,缺少相关试验资料,本文主要评价多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗NASH的疗效及其安全性。

疗组(45例)和对照1组(43例)、对照2组(36例),治疗组应用多烯磷脂酰胆碱胶囊联合非诺贝特治疗12 wk,对照1组口服非诺贝特和肌昔治疗12 wk,对照2组口服多烯磷脂酰胆碱胶囊,观察治疗前后3组患者症状及血脂、肝功能及肝脏超声影像变化。

结果: 治疗12 wk,治疗组有效率为86.7%,对照1组有效率为53.5%,对照2组有效率为88.9%,治疗组在改善患者临床症状、肝功能均优于对照1组,差异均有统计学意义($P<0.05$);血脂方面治疗组优于对照2组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

结论: 多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗NASH是安全有效的。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 非酒精性脂肪性肝炎;多烯磷脂酰胆碱;非诺贝特

核心提示: 多烯磷脂酰胆碱对非酒精性脂肪肝炎(non-alcoholic fatty hepatitis, NASH)的疗效理想,但降低血脂方面的效果不佳,本文采用多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗NASH具有一定疗效。

王宏伟,曹丽丽,樊民强. 多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 429-433 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/429.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.429>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)包括非酒精性单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic fatty hepatitis, NASH)及肝硬化和肝癌。NAFLD严重危害人类健康,特别NASH易发展肝硬化,10-20年内NASH进展为肝硬化的比例15%-25%。NASH的治疗多采用饮食、运动、药物和减肥手术等综合治疗,国内外关于NASH治疗的研究众多,由于研究标准、诊断的指标、研究的终点指标不统一,得出的结论不尽相同,目前尚无公认明确的单一治疗方案和药物^[1,2]。本研究主要评价多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗NASH的疗效及其安全性。

1 材料和方法

1.1 材料 2010-10/2011-12我院门诊及住院NASH患者124例,均符合2010版中华医学会制定的非

酒精性脂肪性肝病诊断标准^[1]。采用随机对照的方法,将病例分为治疗组45例;对照1组43例,对照2组36例。3组资料经统计学处理差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。所有患者均排除病毒性肝炎、药物性肝炎、自身免疫性肝炎以及酒精性脂肪肝(每周摄入乙醇量 < 40 g)等其他肝脏基础疾病。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 治疗组给予多烯磷脂酰胆碱(赛诺菲安万特北京制药有限公司)456 mg/次,每日3次;非诺贝特(法国利博福尼制药有限公司)200 mg/d,每晚1次。对照1组给予非诺贝特200 mg/d,每晚1次;肌昔片(河南中杰药业有限公司)0.4 mg/次,每日3次。对照2组给予多烯磷脂酰胆碱456 mg/次,每日3次,疗程均为12 wk。所有患者均进行健康宣教,禁酒、低脂低糖饮食、控制体质量、进行中等强度的有氧运动。

1.2.2 观察指标: 观察治疗前后乏力、腹胀、肝区隐痛症状。检测空腹血清肝功[丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、总胆红素(total bilirubin, Tbil)、 γ -谷氨酰转肽酶(glutamyl endopeptidase, GGT)、血脂[总胆固醇(total cholesterol, TC)、血清甘油三酯(serum triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)];观察治疗前后脂肪肝超声变化。

1.2.3 疗效判定标准 显效: 各种临床症状消失或明显改善,肝功能基本恢复正常,血清TC、TG恢复正常,超声提示脂肪肝声像消失。好转: 临床症状好转,肝功能指标较前下降50%以上且低于正常值2倍以上,血脂TC、TG也较治疗前下降 $\geq 50\%$,肝脏超声显示脂肪肝好转。无效: 未达到上述标准或病情加重。总有效率 = 显效 + 有效^[1]。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行分析处理,计量资料采用mean \pm SD表示,采用 t 检验;两组疗效比较采用 χ^2 检验,治疗前后及2组间观察指标采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组患者综合疗效比较 治疗组显效率为51.1%,总有效率为86.7%;对照1组显效率为25.6%,总有效率为53.5%;对照2组显效率为

表 1 3组患者综合疗效比较 $n(\%)$

分组	n	显效	有效	无效	总有效率
治疗组	45	23(51.1) ^a	16(37.2)	6(14.0) ^b	39(86.7) ^b
对照1组	43	11(25.6)	12(27.9)	20(46.5)	23(53.5)
对照2组	36	19(52.8) ^d	13(36.1)	4(11.1) ^d	32(88.9) ^d

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 对照1组; ^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$ vs 对照1组.

表 2 3组治疗后临床症状改善情况

分组	n	临床症状	消失(n)	减轻(n)	无效(n)	有效率(%)
治疗组	45	乏力	36	6	3	93.3
		腹胀	34	7	4	91.1
		肝区疼痛	36	4	5	88.9
对照1组	43	乏力	14	16	13	69.8
		腹胀	13	20	10	76.7
		肝区疼痛	14	17	12	72.1
对照2组	36	乏力	27	5	4	88.9
		腹胀	24	7	5	86.1
		腹胀	28	2	6	83.3

表 3 3组患者治疗前后肝功能比较 (U/L, mean \pm SD)

分组	肝功能检测			
	ALT	AST	Tbil	GGT
治疗组				
治疗前	88.4 \pm 23.6	78.2 \pm 19.7	33.1 \pm 14.0	117.1 \pm 66.3
治疗后	29.1 \pm 7.0 ^{ab}	28.1 \pm 10.4 ^{ab}	10.0 \pm 3.2 ^{ab}	43.2 \pm 16.3 ^{ab}
对照1组				
治疗前	85.1 \pm 25.6	76.0 \pm 17.5	27.6 \pm 10.1	115.6 \pm 38.8
治疗后	51.6 \pm 20.8	50.1 \pm 11.6	19.3 \pm 9.64	80.8 \pm 34.5
对照2组				
治疗前	78.6 \pm 38.3	89.1 \pm 42.6	42.3 \pm 9.77	94.1 \pm 42.2
治疗后	27.2 \pm 7.95 ^{cd}	26.1 \pm 7.56 ^{cd}	9.50 \pm 2.15 ^{cd}	39.3 \pm 11.5 ^{cd}

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 对照1组; ^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$ vs 对照1组. ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 谷草转氨酶; Tbil: 总胆红素; GGT: γ -谷氨酰转肽酶.

52.8%, 总有效率为88.9%. 两组间比较, 治疗组与对照2组, 差异无显著统计学意义($P>0.05$); 治疗组优于对照1组, 差异有显著统计学意义($P<0.01$, 表1).

2.2 3组治疗后临床症状改善情况 治疗组乏力、腹胀、肝区疼痛症状改善有效率分别为93.3%、91.1%、89.1%, 对照1组分别为69.8%、76.7%、72.1%, 对照2组分别为88.9%、86.1%、83.3%. 两组间比较, 治疗组与对照2组, 差异无显著统计学意义($P>0.05$); 治疗组优于对照1组,

差异具有统计学意义($P<0.05$, 表2).

2.3 3组患者治疗前后ALT、AST、Tbil、GGT变化比较 与对照1组治疗后比较, ALT、AST、Tbil、GGT均较治疗前降低, 差异有统计学意义($P<0.05$). 对照1组ALT较治疗前也有降低, 但差异无统计学意义($P>0.05$); 治疗组与对照2组, 差异无显著统计学意义($P>0.05$). 3组治疗后比较, 差异有统计学意义($P<0.01$, 表3).

2.4 3组患者治疗前后血脂比较 3组患者治疗后TC、TG、LDL均有降低, HDL-C升高, 治疗组

■ 相关报道

Fernández及关丽明报道等应用多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗NASH及酒精性脂肪肝, 结果显著改善血脂水平、胰岛素敏感性, 降低转氨酶、碱性磷酸酶和 γ -GT水平.

■ 创新盘点

本文多烯磷脂酰胆碱与非诺贝特联用治疗NASH疗效肯定、不良反应少,在改善NASH的临床症状、降低转氨酶、血脂水平方面疗效明确。

表 4 3组患者治疗前后血脂比较 (mmol/L, mean ± SD)

分组	血脂			
	TC	TG	LDL	HDL-C
治疗组				
治疗前	5.8 ± 1.0	3.9 ± 1.7	4.4 ± 1.0	1.1 ± 0.4
治疗后	1.8 ± 0.7 ^{abc}	1.2 ± 0.4 ^{bc}	1.7 ± 0.5 ^{bc}	1.6 ± 0.4 ^{bc}
对照1组				
治疗前	5.8 ± 1.2	2.2 ± 0.9	4.1 ± 0.8	1.1 ± 0.3
治疗后	4.1 ± 1.1	3.8 ± 1.4	2.7 ± 0.9	0.9 ± 0.2
对照2组				
治疗前	5.5 ± 1.2	3.6 ± 0.9	3.8 ± 0.8	1.0 ± 0.1
治疗后	2.2 ± 0.4	2.1 ± 0.5	1.9 ± 0.7	1.3 ± 0.4

^a $P < 0.05$ vs 对照1组; ^b $P < 0.05$ vs 对照2组. TC: 总胆固醇; TG: 血清甘油三酯; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL: 低密度脂蛋白。

治疗前后比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 治疗组与对照2组, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 表4).

2.5 不良反应 治疗期间, 治疗组1例出现腹泻, 对照1组2例出现轻度恶心, 可自行缓解, 无需停药, 对照2组未出现不良反应。

3 讨论

NAFLD是一种常见的健康问题, 影响世界上35%的人口^[3]. NASH是由单纯性脂肪肝发展而来, 容易发展成肝硬化. NASH存在脂质积累、炎症坏死和纤维化^[4,5], 29%的NASH患者在10年内将发展为肝硬化^[6]. NASH临床表现不特异, 表现为疲劳、乏力、右上腹不适以及转氨酶的升高, 尤其是谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和 γ -谷氨酰转肽酶(γ glutamyltranspeptidase, γ -GT)的升高, NASH是临床治疗的重点和难点。

NASH的治疗提倡改变生活方式, 控制饮食、增加运动, 改善胰岛素抵抗, 避免加重肝脏损害的因素, 合理的选用保肝及调脂药物. 多烯磷脂酰胆碱是大豆中提取物, 其主要活性成分是1,2-二亚油酰磷脂酰胆碱(1,2-linoleoyl phosphatidyl choline, DLPC), 是构成所有细胞膜和亚细胞膜的重要组成部分. 多烯磷脂酰胆碱进入体内后与肝细胞膜结合, 修复肝细胞膜, 使受损的肝细胞和转氨酶恢复正常^[7]; 此外, 减少氧化应激与脂质过氧化, 抑制肝细胞凋亡, 降低炎症反应和抑制肝星状细胞活化, 明显降低转氨酶水平, 有效地阻止肝细胞变性炎症纤维化. 多烯磷脂酰胆碱是治疗NASH的有效药物, 本研

究中能看出单用多烯磷脂酰胆碱在改善临床症状、降低肝功水平的疗效显著, 与治疗组效果相当, 但本研究中也就可以看到单用多烯磷脂酰胆碱在改善血脂水平方面并无明显的作用. 由于NASH患者多伴有肥胖、高脂血症以及代谢综合征, 如长期单用多烯磷脂酰胆碱治疗可能会导致作用下降。

非诺贝特是降血脂的代表性药物, 此药单独或与他药联合改善动脉粥样硬化, 显著降低TG, 同时提高HDL-C水平^[8-10]. 机制可能通过非诺贝特激活PPAR α ^[11], 减少纤维化标志物的表达, 逆转纤维化和肝星状细胞的数量^[12], 有效改善2型糖尿病和代谢综合征的血脂水平; 促进肝脂肪酸 β -氧化基因表达增强; 降低肝脏胰岛素抵抗, 抑制NASH的发病机制涉及瘤坏死因子- α 、细胞间黏附分子-1、血管细胞黏附分子-1和单核细胞趋化蛋白-1的表达^[13]; 限制肝巨噬细胞浸润, 降低氧化应激和改善肝脏微循环; 增加血浆脂联素水平^[14,15]; 保留AdipoR2水平, 同时防止TG积累和内质网应激^[16]. Fernández-Miranda等^[17]应用非诺贝特治疗了19例NAFLD患者, 结果显著的改善血脂水平、胰岛素敏感性, 降低转氨酶、碱性磷酸酶和 γ -GT水平, 并活检证实能显著地改善肝细胞气球样变性. 本研究提示采用两种药物同时应用, 可以发挥联合降脂作用, 随着血脂水平的下降, 肝脏的脂肪负担减轻, 有效地促进了肝功能各项指标的恢复. 研究表明, 在控制饮食及加强运动的情况下, 多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特能够迅速改善对NASH患者乏力、腹胀、肝区疼痛等临床症状, 并显著降低

患者肝功、血脂水平. 治疗过程中未发现肝肾功能恶化, 未发现横纹肌溶解症等不良反应, 无患者因药物不良反应而停药, 治疗12 wk后, 其临床症状、肝功能及血脂水平的改善等方面明显优于对照组, 治疗的总有效率达86.7%, 明显高于对照组.

通过我们的临床观察, 多烯磷脂酰胆碱与非诺贝特联用治疗NASH疗效肯定、不良反应少, 患者依从性较好. 在改善NASH的临床症状、降低转氨酶、血脂水平方面疗效明确. 由于本研究样本数量较小、未进行肝穿活检, 其远期疗效及其安全性方面尚有待进一步观察.

4 参考文献

- 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 2010版非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 胃肠病学和肝病杂志 2010; 19: 483-487
- Torres DM, Williams CD, Harrison SA. Features, diagnosis, and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 837-858 [PMID: 22446927 DOI: S1542-3565(12)00320-5]
- Bellentani S, Marino M. Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Ann Hepatol* 2009; 8 Suppl 1: S4-S8 [PMID: 19381118 DOI: 10.1002/cld.27]
- Diakou MC, Liberopoulos EN, Mikhailidis DP, Tsianos EV, Burroughs AK, Elisaf MS. Pharmacological treatment of non-alcoholic steatohepatitis: the current evidence. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 139-147 [PMID: 17327932 DOI: 10.1080/00365520601058395]
- Cuadrado A, Orive A, García-Suárez C, Domínguez A, Fernández-Escalante JC, Crespo J, Pons-Romero F. Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and hepatocellular carcinoma. *Obes Surg* 2005; 15: 442-446 [PMID: 15826485 DOI: 10.1381/0960892053576596]
- Caldwell S, Argo C. The natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis* 2010; 28: 162-168 [PMID: 20460906 DOI: 10.1159/000282081]
- 关丽明, 方亮, 胡军, 郭文. 多烯磷脂酰胆碱联合辛伐他汀治疗酒精性肝病的临床观察. 国际医药卫生导报 2006; 12: 69-71
- Agouridis AP, Kostapanos MS, Tsimihodimos V, Kostara C, Mikhailidis DP, Bairaktari ET, Tselepis AD, Elisaf MS. Effect of rosuvastatin monotherapy or in combination with fenofibrate or ω -3 fatty acids on lipoprotein subfraction profile in patients with mixed dyslipidaemia and metabolic syndrome. *Int J Clin Pract* 2012; 66: 843-853 [PMID: 22897461 DOI: 10.1111/j.1742-1241.2012.02972.x]
- Filippatos TD. A review of time courses and predictors of lipid changes with fenofibric acid-statin combination. *Cardiovasc Drugs Ther* 2012; 26: 245-255 [PMID: 22592524 DOI: 10.1007/s10557-012-6394-0]
- Filippatos TD, Tsimihodimos V, Kostapanos M, Kostara C, Bairaktari ET, Kiortsis DN, Elisaf MS. Analysis of 6-month effect of orlistat administration, alone or in combination with fenofibrate, on triglyceride-rich lipoprotein metabolism in overweight and obese patients with metabolic syndrome. *J Clin Lipidol* 2008; 2: 279-284 [PMID: 21291744 DOI: 10.1016/j.jacl.2008.06.001]
- Seo YS, Kim JH, Jo NY, Choi KM, Baik SH, Park JJ, Kim JS, Byun KS, Bak YT, Lee CH, Kim A, Yeon JE. PPAR agonists treatment is effective in a nonalcoholic fatty liver disease animal model by modulating fatty-acid metabolic enzymes. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 102-109 [PMID: 18171348 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04819]
- Ip E, Farrell G, Hall P, Robertson G, Leclercq I. Administration of the potent PPAR α agonist, Wy-14,643, reverses nutritional fibrosis and steatohepatitis in mice. *Hepatology* 2004; 39: 1286-1296 [PMID: 15122757 DOI: 10.1002/hep.20170]
- Lalloyer F, Wouters K, Baron M, Caron S, Vallez E, Vanhoutte J, Baugé E, Shiri-Sverdlov R, Hofker M, Staels B, Tailleux A. Peroxisome proliferator-activated receptor- α gene level differently affects lipid metabolism and inflammation in apolipoprotein E2 knock-in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 1573-1579 [PMID: 21474829]
- Christou GA, Tellis KC, Elisaf MC, Tselepis AD, Kiortsis DN. High density lipoprotein is positively correlated with the changes in circulating total adiponectin and high molecular weight adiponectin during dietary and fenofibrate treatment. *Hormones (Athens)* 2012; 11: 178-188 [PMID: 22801564 DOI: 10.1194/jlr.M029934]
- Li P, Shibata R, Maruyama S, Kondo M, Ohashi K, Ouchi N, Murohara T. Fenofibrate promotes ischemia-induced revascularization through the adiponectin-dependent pathway. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299: E560-E566 [PMID: 20663986 DOI: 10.1152/ajpendo.00284.2010]
- Rahman SM, Qadri I, Janssen RC, Friedman JE. Fenofibrate and PBA prevent fatty acid-induced loss of adiponectin receptor and pAMPK in human hepatoma cells and in hepatitis C virus-induced steatosis. *J Lipid Res* 2009; 50: 2193-2202 [PMID: 19502591 DOI: 10.1194/jlr.M800633-JLR200]
- Fernández-Miranda C, Pérez-Carreras M, Colina F, López-Alonso G, Vargas C, Solís-Herruzo JA. A pilot trial of fenofibrate for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 200-205 [PMID: 18261709 DOI: 10.1016/j.dld.2007.10.002]

■同行评价

采用多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗非酒精性脂肪性肝炎具有一定疗效和意义.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



肝再生增强因子在HBV相关肝硬化患者中的表达及意义

陈文, 杨春, 毕义亮, 唐黎, 吴刚, 邓存良

■背景资料

我国目前约有2000万例慢性乙型肝炎患者, 部分患者由于肝脏炎症的持续存在将经由肝纤维化最终发展为肝硬化。基础研究发现肝再生增强因子(augmenter of liver regeneration, ALR)具有抗肝纤维化作用, 提示其可能在肝硬化的发生发展中发挥作用。但有关ALR在肝硬化患者的表达及临床意义的研究国内外尚鲜见报道。

陈文, 毕义亮, 唐黎, 吴刚, 邓存良, 泸州医学院附属医院感染科 四川省泸州市 646000

杨春, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000

陈文, 主治医师, 主要从事重型肝炎发病机制的研究。

泸州市科技局基金资助项目, No. 2013-S-48(1/30)

作者贡献分布: 主要实验、数据分析及文章起草由陈文与毕义亮完成; 病例选择、样本取材及临床资料整理由杨春、唐黎及吴刚完成; 课题设计、文章修改和审阅由邓存良完成。

通讯作者: 邓存良, 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感染科。

dengcunli64@sina.vip.com

电话: 023-3165623

收稿日期: 2013-11-02 修回日期: 2013-12-11

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-01-28

Clinical significance of serum levels of augmenter of liver regeneration in patients with HBV-related cirrhosis

Wen Chen, Chun Yang, Yi-Liang Bi, Li Tang, Gang Wu, Cun-Liang Deng

Wen Chen, Yi-Liang Bi, Li Tang, Gang Wu, Cun-Liang Deng, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Chun Yang, Department of Digestive Diseases, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Supported by: the Foundation of Luzhou Science and Technology Bureau, No. 2013-S-48(1/30)

Correspondence to: Cun-Liang Deng, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Street, Jiayang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. dengcunli64@sina.vip.com

Received: 2013-11-02 Revised: 2013-12-11

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To determine serum levels of augmenter of liver regeneration (ALR) in patients with HBV-related cirrhosis and to analyze its clinical significance.

METHODS: Serum samples were collected from patients with mild chronic hepatitis B ($n = 196$), compensated cirrhosis ($n = 69$), decompensated cirrhosis ($n = 148$) and normal controls ($n = 200$). The patients with decompensated cirrhosis were divided into an ascites subgroup ($n =$

51), a gastrointestinal bleeding subgroup ($n = 32$), a hepatic encephalopathy subgroup ($n = 27$) and a chronic liver failure subgroup ($n = 38$). The patients with ascites were further divided into a spontaneous bacterial peritonitis (SBP) subgroup ($n = 9$) and a non-SBP group ($n = 42$). Serum concentrations of ALR were measured by ELISA. FibroScan was used to test the liver stiffness of patients with compensated cirrhosis. The correlation between ALR level and FibroScan score was analyzed by linear regression analysis. Unconditioned binary response logistic regression model was used to determine the correlation between ALR level and the occurrence of complications in patients with decompensated cirrhosis.

RESULTS: Serum ALR concentrations were higher in the compensated cirrhosis group and decompensated cirrhosis group than in the mild chronic hepatitis B group and normal control group ($P < 0.01$ for all). There was a negative correlation between serum ALR concentration and FibroScan score in patients with compensated cirrhosis ($r = -0.218$, $F = 15.736$, $P < 0.01$). Serum ALR concentrations in patients with chronic liver failure were higher than those in patients with compensated cirrhosis ($1.73 \mu\text{g/L} \pm 0.23 \mu\text{g/L}$ vs $1.54 \mu\text{g/L} \pm 0.53 \mu\text{g/L}$, $P = 0.012$), and ALR concentrations in patients with ascites were significantly decreased ($1.32 \mu\text{g/L} \pm 0.64 \mu\text{g/L}$ vs $1.54 \mu\text{g/L} \pm 0.53 \mu\text{g/L}$, $P = 0.027$). There was no significant difference in ALR levels between the SBP group and non-SBP group. Logistic regression analysis identified lower serum ALR level as a risk factor for the occurrence of ascites in patients with cirrhosis ($P = 0.031$, $OR = 0.841$).

CONCLUSION: Serum ALR levels are significantly increased in patients with HBV-related cirrhosis and are negatively related to the liver stiffness and occurrence of ascites, indicating that increased ALR level is a potential protective mechanism for patients with HBV-related cirrhosis.

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

■同行评议者

刘正稳, 教授, 西安交通大学医学院第一附属医院

Key Words: Augmenter of liver regeneration; Hepatitis B virus; Cirrhosis; Clinical significance

Chen W, Yang C, Bi YL, Tang L, Wu G, Deng CL. Clinical significance of serum levels of augmenter of liver regeneration in patients with HBV-related cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 434-438 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/434.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.434>

摘要

目的: 研究肝再生增强因子(augmenter of liver regeneration, ALR)在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关肝硬化患者中的表达及临床意义。

方法: 病例来源于我科门诊及住院的慢性乙型肝炎患者, 包括慢性乙型肝炎轻度组($n = 196$)、代偿期肝硬化组($n = 69$)、失代偿期肝硬化组($n = 148$); 失代偿肝硬化患者根据并发症进一步分为腹水组($n = 51$)、消化系出血组($n = 32$)、肝性脑病组($n = 27$)和慢性肝衰竭组($n = 38$), 其中腹水组分为原发性腹膜炎组($n = 9$)与非原发性腹膜炎组($n = 42$)。健康对照组($n = 200$)来源于输血科健康献血者。收集患者血清及临床资料; 采用ELISA法检测各组患者血清ALR浓度; 瞬时弹性扫描(FibroScan)检测代偿期肝硬化患者肝脏硬度。比较各组间ALR浓度差异, 分析ALR浓度与肝硬化及其并发症的关系。

结果: ALR浓度在代偿期肝硬化组和失代偿肝硬化组均明显高于健康对照组和慢性乙型肝炎轻度组($P < 0.01$)。在代偿期肝硬化患者ALR浓度($1.54 \mu\text{g/L} \pm 0.53 \mu\text{g/L}$)与肝脏FibroScan值($16.96 \text{ kPa} \pm 5.6 \text{ kPa}$)负相关($r^2 = -0.218$, $F = 15.736$, $P < 0.01$)。失代偿肝硬化组中慢性肝衰竭患者ALR浓度明显高于代偿期肝硬化组($1.73 \mu\text{g/L} \pm 0.23 \mu\text{g/L}$ vs $1.54 \mu\text{g/L} \pm 0.53 \mu\text{g/L}$, $P = 0.012$)。腹水组患者ALR浓度明显低于代偿期肝硬化组($1.32 \mu\text{g/L} \pm 0.64 \mu\text{g/L}$ vs $1.54 \mu\text{g/L} \pm 0.53 \mu\text{g/L}$, $P = 0.027$)。原发性腹膜炎组与非原发性腹膜炎组间ALR浓度无显著性差异。ALR血清浓度与肝硬化患者腹水的发生相关, 低ALR血清浓度是肝硬化患者发生腹水的危险因素($P = 0.031$, $OR = 0.841$)。

结论: ALR在HBV相关肝硬化患者表达明显升高, 其水平与肝脏硬度及腹水发生负相关, 提示ALR在肝硬化患者增高可能是机体的一种保护机制。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝再生增强因子; 乙型肝炎病毒; 肝硬化; 临床意义

核心提示: 肝再生增强因子(augmenter of liver regeneration, ALR)浓度在肝硬化患者明显升高, 代偿期肝硬化患者ALR浓度与肝脏FibroScan值负相关。肝硬化腹水患者ALR浓度明显低于代偿期肝硬化组, 低ALR血清浓度是肝硬化患者发生腹水的危险因素。

陈文, 杨春, 毕义亮, 唐黎, 吴刚, 邓存良. 肝再生增强因子在HBV相关肝硬化患者中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2014; 22(3): 434-438 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/434.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.434>

0 引言

肝再生增强因子(augmenter of liver regeneration, ALR)是近来发现的一种特殊的促肝细胞分裂原, 具有强大的促进肝细胞增殖功能^[1]。近年来研究发现ALR对肝纤维化大鼠也具有保护作用^[2,3], 提示其可能在肝硬化的发生发展中起重要作用。但对ALR在肝硬化患者的表达及临床意义的研究国内外均鲜见报道。故我们在大样本乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关肝硬化患者中观察了ALR的表达变化并分析其临床意义。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2011-04/2013-03我科收治的HBV感染后肝硬化患者217例和慢性乙型肝炎轻度患者196例。肝硬化患者分为代偿期肝硬化组($n = 69$)和失代偿肝硬化组($n = 148$); 失代偿肝硬化患者根据并发症进一步分为腹水组($n = 51$)、消化系出血组($n = 32$)、肝性脑病组($n = 27$)和慢性肝衰竭组($n = 38$), 其中腹水组分为原发性腹膜炎组($n = 9$)与非原发性腹膜炎组($n = 42$)。慢性乙型肝炎轻度和肝硬化诊断符合2010年版慢性乙型肝炎防治指南诊断标准^[4]; 慢性肝衰竭诊断符合肝衰竭诊治指南(2012年版)诊断标准^[5]; 原发性腹膜炎诊断符合2009年美国成人肝硬化腹水治疗指南诊断标准^[6]。腹水组、上消化道出血组及肝性脑病组均排除慢性肝衰竭患者。健康对照者200例来源于我院输血科血库。排除标准: (1)因酒精、药物、中毒及自身免疫等其他原因所致肝脏损伤; (2)合并甲型肝炎病毒(hapatitis A virus, HAV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)和人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染; (3)妊娠晚期; (4)肝癌或

■ 研发前沿

ALR在肝硬化患者中的表达及意义尚不清楚, 分析ALR在HBV相关肝硬化患者表达及临床意义有助于了解ALR在肝硬化发生发展中的具体作用。

■ 相关报道

体外和动物模型研究表明ALR可能通过抑制肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化,促进细胞外基质降解等机制发挥抗肝纤维化作用。

表 1 各组间人口学资料及肝功能比较

	健康对照组	慢性乙型肝炎轻度组	代偿期肝硬化组	失代偿肝硬化组
<i>n</i>	200	196	69	148
年龄(岁)	42.35 ± 8.79	39.68 ± 10.21	48.67 ± 7.23 ^a	55.92 ± 6.07 ^a
男性 <i>n</i> (%)	137(68.5)	139(70.92)	46(67.65)	106(71.62)
ALT(U/L)	24.61 ± 8.53 ^b	68.93 ± 17.37 ^b	46.26 ± 21.09 ^b	132.47 ± 66.95
TBil(μmol/L)	17.38 ± 6.51 ^b	28.47 ± 7.33 ^b	31.21 ± 10.43 ^b	146.59 ± 102.08
ALB(g/L)	38.71 ± 2.79 ^b	36.52 ± 3.04 ^b	34.07 ± 4.76 ^b	29.41 ± 4.32

^a*P*<0.05 vs 健康对照组; ^b*P*<0.01 vs 失代偿肝硬化组。ALT: 丙氨酸氨基转氨酶; TBil: 总胆红素; ALB: 白蛋白。

者其他恶性肿瘤肝转移。

1.2 方法

1.2.1 血清标本及临床资料收集: 以患者入院或者门诊首次诊断时间为基线, 患者空腹抽取EDTA抗凝外周静脉血5 mL, 2000 r/min离心15 min, 分离血清及血细胞, 于-80 °C保存待检。收集基线时患者肝肾功能、HBV DNA水平、血常规、凝血全套及B超等临床指标。所有代偿期肝硬化患者进行瞬时弹性扫描(FibroScan)检测肝脏硬度。检测方法: FibroScan仪由法国Echosens公司生产; 患者取仰卧位, 右手置于脑后尽量伸展, 探头位置选择在右腋中线与腋前线间的7-9肋间隙, 探头与皮肤表面垂直; 根据Fibroscan仪显示的TM、A模式超声影像确定检查位置, 每例患者进行10次有效测量, 取中位数作为最终结果, 以弹性值(kPa)表示; 检查区域要求肝脏有足够厚度, 没有大血管结构, 远离肝脏边缘, 通常与肝穿刺活检的位置相同; 操作成功率<60%或偏差大于中位数1/3视为检查无效。

1.2.2 血清ALR浓度检测: 采用ELISA法检测, ELISA检测试剂盒购自美国BP公司, 严格按照试剂盒要求操作。为了避免保存时间过长导致检测结果不准确, 肝硬化组及慢性乙型肝炎轻度组每6 mo检测1批, 健康对照组最后集中检测。

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行数据分析。计量资料采用mean±SD描述。多组间均数比较采用单因素方差分析, 组间均数多重比较采用SNK法, 计量资料间相关性分析采用直线回归分析, 二分类非条件Logistic回归分析ALR浓度与并发症发生的关系。*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者人口学资料及临床资料比较 各组间性别构成无显著性差异; 代偿期肝硬化组和失代偿肝硬化组年龄明显高于健康对照组和慢

性乙型肝炎轻度组, 差异有统计学意义(*P*<0.05); 失代偿肝硬化组丙氨酸氨基转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)及总胆红素(total bilirubin, TBil)水平明显高于其他三组, 差异有统计学意义(*P*<0.01); 失代偿肝硬化组ALB水平明显低于其他三组, 差异有统计学意义(*P*<0.01, 表1)。

2.2 各组间ALR浓度比较 ALR浓度在代偿期肝硬化组和失代偿肝硬化组均明显高于健康对照组和慢性乙型肝炎轻到中度组, 差异有统计学意义(*P*<0.01)。在健康对照组和慢性乙型肝炎轻到中度组间ALR水平无显著性差异。失代偿肝硬化组中慢性肝衰竭患者ALR浓度明显高于代偿期肝硬化组, 差异有统计学意义(*P* = 0.012); 腹水组患者ALR水平明显低于代偿期肝硬化组, 差异有统计学意义(*P* = 0.027), 原发性腹膜炎组与非原发性腹膜炎组间ALR水平无显著性差异(表2)。

2.3 肝硬化患者ALR浓度与Child-Pugh评分及肝脏FibroScan值相关性分析 直线相关分析表明, 在代偿期肝硬化患者ALR浓度(1.54 μg/L ± 0.53 μg/L)与肝脏FibroScan值(16.96 kPa ± 5.6 kPa)负相关(*r*² = -0.218, *F* = 15.736, *P*<0.01)(图1)。

2.4 ALR浓度与肝硬化患者并发症发生关系 由于失代偿肝硬化年龄、ALT、TBil和白蛋白与代偿期肝硬化患者间有显著性差异, 故我们将上述4种因素与ALR浓度一起进行多因素二分类非条件Logistic回归分析。结果表明ALR血清浓度与肝硬化患者腹水的发生相关, 低ALR血清浓度是肝硬化患者发生腹水的危险因素(*P* = 0.031, OR = 0.841)。ALR浓度不是肝硬化患者发生消化系出血、肝性脑病及慢性肝衰竭的危险因素。

3 讨论

本研究以大样本病例对照研究观察了ALR在

表 2 各组间ALR浓度比较 (mean ± SD)

	n	ALR浓度(μg/L)
健康对照组	200	0.93 ± 0.31
慢性乙型肝炎轻度组	196	1.12 ± 0.47
代偿期肝硬化组	69	1.54 ± 0.53 ^b
失代偿肝硬化组	148	1.47 ± 0.49 ^b
腹水组	51	1.32 ± 0.64 ^c
原发性腹膜炎组	9	1.36 ± 0.25
非原发性腹膜炎组	42	1.31 ± 0.48
消化道出血组	32	1.41 ± 0.36
肝性脑病组	27	1.45 ± 0.79
慢性肝衰竭组	38	1.73 ± 0.23 ^g

^bP<0.01 vs 健康对照组; ^cP<0.01 vs 慢性乙型肝炎轻度组; ^dP = 0.027<0.05 vs 代偿肝硬化组; ^eP = 0.012<0.05 vs 代偿肝硬化组. ALR: 肝再生增强因子.

HBV相关肝硬化患者的表达变化. 发现血清ALR水平在代偿期和失代偿肝硬化患者均明显高于慢性乙型肝炎轻度患者和健康对照者. ALR表达于多种组织、细胞, 但在肝脏特异性表达于肝细胞, 既往对于其在肝脏疾病中的研究主要集中于促肝细胞再生方面^[1]. 近年来多项研究表明ALR对肝纤维化大鼠具有保护作用^[2,3]. 升高的ALR可能通过以下机制发挥抗肝纤维化作用: (1)增强基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)表达, 抑制组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of matrix metalloproteinases, TIMPs)的表达, 促进细胞外基质降解^[7,8]; (2)通过抑制c-jun蛋白及c-fos蛋白等转化激活因子的表达而抑制肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化^[9,10]; (3)抑制HSC和枯否氏细胞表达转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β), 减少HSC活化^[11]. 肝纤维化是慢性肝炎发展至肝硬化的中间环节, 体外研究及动物模型研究均证实ALR具有抗肝纤维化作用, 我们的研究表明ALR水平在肝硬化患者升高. 由此我们推测ALR在肝硬化患者增高可能是机体的一种保护机制.

我们进一步分析了代偿期肝硬化患者ALR浓度与肝脏FibroScan值间的关系. FibroScan是一种利用切变波技术检测肝脏硬度的一种非侵入性技术, 其可以较好地反映肝脏纤维化程度^[12]. 但转氨酶、胆红素和腹水等因素均可影响其检测结果的准确性^[13,14]. 基线资料表明失代偿肝硬化患者ALT及TBil水平明显高于其他3组, 且其中包含有腹水及慢性肝衰竭患者. 所以我们仅

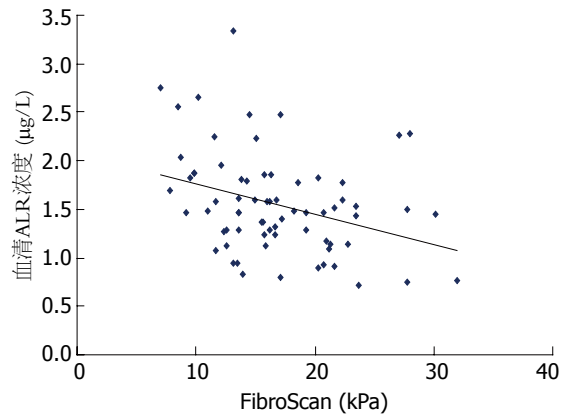


图 1 ACLF患者ALR浓度与FibroScan值相关性散点图. ALR: 肝再生增强因子.

对代偿期肝硬化患者进行了FibroScan检测. 直线相关分析表明在代偿期肝硬化患者ALR浓度与肝脏FibroScan值呈负相关, 提示高ALR水平患者肝脏硬度较小. 这一结果进一步证明高水平ALR对于肝硬化患者具有保护作用.

肝硬化失代偿常常表现为各种并发症, 我们对ALR在各种并发症患者的表达进行了分析. 发现慢性肝衰竭患者ALR浓度明显高于代偿期肝硬化患者. ALR具有强大的促肝细胞再生功能, 研究表明在CCl₄诱导的肝衰竭大鼠, ALR血清水平明显升高, 与增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)水平成正比, 可减轻CCl₄导致的肝脏损伤, 提高急性肝衰竭大鼠的存活率, 且初期高水平ALR与较好的预后有关^[15]. Yu等^[16]也证实ALR在肝衰竭患者表达增高. 提示慢性肝衰竭患者ALR浓度增高可能刺激肝细胞再生, 有利于肝脏功能恢复. 而肝硬化腹水患者ALR浓度明显低于代偿期肝硬化患者, 且进一步的多因素二分类非条件Logistic回归分析表明ALR浓度与肝硬化患者腹水的发生相关, 低ALR血清浓度是发生腹水的危险因素. 肝硬化腹水发生机制复杂, 但肝脏肝硬化门静脉高压是其始动因素. 在肝硬化门静脉高压的基础上, 发生周围动脉扩张、水钠潴留以及肾脏低灌注等后续病理生理改变, 进而导致腹水的产生^[17]. 肝硬化腹水患者ALR浓度降低, 且低ALR血清浓度为腹水发生的危险因素, 表明低水平ALR患者肝硬化门静脉高压程度可能更为严重. 进一步分析发现原发性腹膜炎组与非原发性腹膜炎组间ALR水平无显著性差异, 提示ALR的降低与细菌感染无明显关系. 但需注意的是我

■创新盘点
本研究以大样本病例对照研究观察了ALR在HBV相关肝硬化患者的表达变化, 并深入分析了ALR水平与失代偿肝硬化各种并发症的关系.

■同行评价

本文对理解ALR在肝纤维化和肝硬化腹水的发生中的作用有一定意义。

们的研究中原发性腹膜炎患者较少,有可能影响结果的准确性,关于ALR与原发性腹膜炎的关系尚需扩大病例数进一步分析。在肝硬化消化系出血和肝性脑病患者ALR水平较代偿期肝硬化患者无明显变化,这可能与这两类并发症的发生受如饮食、药物等肝外因素影响较多有关,这一结果提示ALR可能不是肝硬化肝性脑病和消化系出血发生的主要影响因素。

总之,本研究表明ALR在HBV相关代偿期和失代偿肝硬化患者表达明显升高,其水平与肝脏硬度及腹水发生负相关,表明ALR在肝硬化患者增高可能是机体的一种保护机制。其具体作用机制尚待进一步研究。

4 参考文献

- Gandhi CR. Augmenter of liver regeneration. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2012; 5: 10 [PMID: 22776437 DOI: 10.1186/1755-1536-5-10]
- Song M, Yi X, Chen W, Yuan Y, Zhang X, Li J, Tong M, Liu G, You S, Kong X. Augmenter of liver regeneration (ALR) gene therapy attenuates CCl4-induced liver injury and fibrosis in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 415: 152-156 [PMID: 22033404 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.10.039]
- 王晓东, 林镭, 陈永平, 卢明芹, 潘陈为, 金益辉, 张友才. 肝细胞生长因子与肝再生增强因子重组表达质粒对大鼠肝纤维化的影响. *中华传染病杂志* 2010; 28: 321-325
- 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版) *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 13-24
- 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学会重型肝炎与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2012年版). *中华临床感染病杂志* 2012; 5: 321-327
- Runyon BA. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update. *Hepatology* 2009; 49: 2087-2107 [PMID: 19475696 DOI: 10.1002/hep.22853]
- 王爱民, 王俊红, 张秀巧, 郭俊英, 马红菊, 王宝恩. 重组人肝再生增强因子可增强大鼠肝星状细胞间质胶原酶基因的表达. *中华实验外科杂志* 2003; 20: 14-15
- 王爱民, 杨晓明, 王文犀, 左凤亭, 王清明, 贺福初. 重组人肝再生增强因子对肝纤维化大鼠金属蛋白酶组织抑制因子-1基因表达的影响. *中华医学杂志* 2002; 82: 610-612
- 王爱民, 向英, 耿焱, 杨晓明, 马志杰, 楚瑞珏, 王宝恩. 重组人肝再生增强因子可抑制大鼠肝星状细胞c-fos基因的表达. *中华实验外科杂志* 2009; 26: 900-901
- 王爱民, 陈淑娥, 古彩拈, 张莉, 贾树杰, 楚瑞珏, 王宝恩. 重组人肝再生增强因子抑制大鼠肝星状细胞c-jun基因表达的研究. *中华实验外科杂志* 2004; 21: 1058-1059
- 张勇, 尹纪业, 宋良文, 王清明, 王晓民. 肝再生增强因子抑制肝非实质细胞TGF- β 表达的意义. *解放军医学杂志* 2006; 31: 896-898
- Loustaud-Ratti VR, Cypierre A, Rousseau A, Yagoubi F, Abraham J, Fauchais AL, Carrier P, Lefebvre A, Bordessoule D, Vidal E, Sautereau D, Jaccard A. Non-invasive detection of hepatic amyloidosis: FibroScan, a new tool. *Amyloid* 2011; 18: 19-24 [PMID: 21219116 DOI: 10.3109/13506129.2010.543443]
- Kim SU, Kim JK, Park YN, Han KH. Discordance between liver biopsy and Fibroscan® in assessing liver fibrosis in chronic hepatitis b: risk factors and influence of necroinflammation. *PLoS One* 2012; 7: e32233 [PMID: 22384189 DOI: 10.1371/journal.pone.0032233]
- Kim SU, Seo YS, Cheong JY, Kim MY, Kim JK, Um SH, Cho SW, Paik SK, Lee KS, Han KH, Ahn SH. Factors that affect the diagnostic accuracy of liver fibrosis measurement by Fibroscan in patients with chronic hepatitis B. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 498-505 [PMID: 20491742 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04353.x]
- Hongbo S, Yu C, Ming K, Honglin S, Ping HY, Ping DZ. Augmenter of liver regeneration may be a candidate for prognosis of HBV related acute-on-chronic liver failure as a regenerative marker. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1933-1938 [PMID: 22246190 DOI: 10.5754/hge11679]
- Yu HY, Xiang DR, Huang HJ, Li J, Sheng JF. Expression level of augmenter of liver regeneration in patients with hepatic failure and hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010; 9: 492-498 [PMID: 20943458]
- 邵茉莉, 刘冰熔. 肝硬化腹水形成机制的研究现状. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 160-165

编辑 田滢 电编 鲁亚静



替吉奥或卡培他滨同步三维适形放疗治疗中老年复发直肠癌疗效

胡方宽, 王亚楠, 邓业巍, 王华胜, 张胜威, 李晓洁

胡方宽, 邓业巍, 王华胜, 张胜威, 李晓洁, 南方医科大学
附属郑州人民医院肛肠外科 河南省郑州市 450003

王亚楠, 郑州大学第一附属医院肿瘤科 河南省郑州市
450052

胡方宽, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究。

郑州市科技攻关基金资助项目, No. 20120807

作者贡献分布: 胡方宽、邓业巍、王华胜、张胜威及李晓洁共同负责临床资料的收集和试验的实施; 王亚楠参与部分数据的统计; 数据分析和论文撰写由胡方宽与邓业巍共同完成; 审校由邓业巍完成。

通讯作者: 邓业巍, 主任医师, 450003, 河南省郑州市黄河路33号, 南方医科大学附属郑州人民医院肛肠外科。

nfykfsrmyygckzr@163.com

电话: 0371-67077696

收稿日期: 2013-11-09 修回日期: 2013-12-01

接受日期: 2013-12-12 在线出版日期: 2014-01-28

Efficacy of three-dimensional conformal therapy combined with S-1 or capecitabine for recurrent rectal carcinoma in elderly patients

Fang-Kuan Hu, Ya-Nan Wang, Ye-Wei Deng,
Hua-Sheng Wang, Sheng-Wei Zhang, Xiao-Jie Li

Fang-Kuan Hu, Ye-Wei Deng, Hua-Sheng Wang,
Sheng-Wei Zhang, Xiao-Jie Li, Department of Anorectal
Surgery, the People's Hospital Affiliated to Southern Medi-
cal University, Zhengzhou 450003, Henan Province, China
Ya-Nan Wang, Department of Oncology, the First Affili-
ated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052,
Henan Province, China

Supported by: the Medical Science and Technology Founda-
tion of Zhengzhou City, No. 20120807

Correspondence to: Ye-Wei Deng, Chief Physician, De-
partment of Anorectal Surgery, the People's Hospital Af-
filiated to Southern Medical University, 33 Huanghe Road,
Zhengzhou 450003, Henan Province,
China. nfykfsrmyygckzr@163.com

Received: 2013-11-09 Revised: 2013-12-01

Accepted: 2013-12-12 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of three-dimensional conformal therapy combined with S-1 or capecitabine for elderly patients with recurrent rectal carcinoma.

METHODS: Fifty-eight elderly patients with recurrent rectal cancer were randomly divided

into two groups: a trial group ($n = 30$) and a control group ($n = 28$). The treatment group received three-dimensional conformal radiation (a total of 54-66 Gy, 1.8-2.0 Gy/d, 5 d/wk) and S-1, while the control group were treated with the same radiation regimen and capecitabine. Each cycle lasted three weeks. The efficacy and toxicity were evaluated after two cycles of treatment.

RESULTS: The efficacy and toxicity could be evaluated in 58 cases. There were no significant differences in overall response rate (73.3% vs 71.4%, $P > 0.05$), median TTP (9.2 mo vs 8.2 mo, $P > 0.05$) or OS (16.9 mo vs 17.2 mo, $P > 0.05$) between the two groups. The most common toxicities were hematological, digestive toxic reactions, erythra and radiation enteritis, and all of them were tolerable and comparable between the two groups. However, the incidence of hand-foot syndrome in the control group was higher than that in the treatment group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The efficacy was comparable between the two groups, but the incidence of hand-foot syndrome was lower in the S-1-based group.

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

Key Words: Rectal carcinoma; Three-dimensional conformal therapy; S-1; Capecitabine; Comparative efficacy

Hu FK, Wang YN, Deng YW, Wang HS, Zhang SW, Li XJ. Efficacy of three-dimensional conformal therapy combined with S-1 or capecitabine for recurrent rectal carcinoma in elderly patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 439-443 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/439.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.439>

摘要

目的: 观察三维适形放疗联合替吉奥或卡培他滨治疗老年局部复发直肠癌的近期疗效和安全性。

方法: 58例直肠癌术后局部复发患者, 随机分

背景资料

对于直肠癌术后复发的中老年患者, 还没有标准的辅助治疗方案, 循证医学证据表明同步放化疗可以提高其生存率, 我们进行了一项临床试验评价替吉奥对比卡培他滨联合放疗在中老年晚期复发直肠癌的临床疗效和安全性, 为临床治疗中老年直肠癌术后复发提供参考。

同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

■ 研究前沿

目前, 针对中老年患者直肠癌术后复发的辅助治疗, 由于其体质特殊, 临床治疗中在注重疗效的同时, 也需要考虑治疗方案的耐受性和患者的依从性, 当前进行的相关临床试验主要集中于联合放化疗, 如何选择最佳的化疗方案和最佳的放疗剂量是研究重点。

为2组, 试验组30例, 给予放疗(1.8-2.0 Gy/d, 5 d/wk, 总量为54-66 Gy)联合替吉奥; 对照组28例, 给予放疗(1.8-2.0 Gy/d, 5 d/wk, 总量为54-66 Gy)联合卡培他滨, 21 d为1周期, 接受2个以上周期治疗后, 评价疗效和不良反应。

结果: 58例患者均可评价疗效, 试验组和对照组有效率(response rate, RR)分别为73.3%(22/30)、71.4%(20/28), 中位进展时间分别为9.2和8.2 mo, 中位生存时间分别为16.9、17.2 mo, 两组差异无统计学差异($P>0.05$)。试验组与对照组主要不良反应为骨髓抑制、胃肠道反应、皮疹、放射性直肠炎, 均可耐受, 两组差异无统计学意义($P>0.05$), 对照组手足综合征证明明显高于试验组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

结论: 两组疗效相似, 替吉奥联合三维适形放疗方案组手足综合征发生率较低, 耐受性优于卡培他滨联合组, 为中老年直肠癌复发临床治疗提供参考。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 直肠癌; 三维适形放疗; 替吉奥; 卡培他滨; 疗效对比

核心提示: 我们评价了替吉奥对比卡培他滨同步三维适形放疗治疗中老年复发直肠癌的临床疗效和安全性, 结果表明两组疗效相似, 替吉奥联合组手足综合征发生率较低, 耐受性更好, 可以作为老年局部复发晚期直肠癌的一种有效治疗方案。

胡方宽, 王亚楠, 邓业巍, 王华胜, 张胜威, 李晓洁. 替吉奥或卡培他滨同步三维适形放疗治疗中老年复发直肠癌疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 439-443 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/439.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.439>

0 引言

直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一, 发病率居恶性肿瘤第3位, 呈明显上升趋势, 并随着年龄增加而不断增加, 且60岁以上年龄组发病率更高^[1,2], 手术为主的综合治疗成为推荐的治疗模式之一, 直肠癌术后复发是死亡的主要原因, 循证医学证据表明, 术后化放疗可以进一步提高生存率^[2]。对于直肠癌术后局部复发的老年患者, 由于其体质特殊, 耐受性较差, 三维适形放疗有利于提高局部控制率, 同步化疗可以进一步延长生存期, 因而, 探索有效的辅助放化疗方案成为研究

的热点。我科采用卡培他滨对比替吉奥联合三维适形放疗治疗局部复发直肠癌, 取得较好的临床疗效, 现将临床结果报道如下, 为临床选择合理的辅助治疗方案提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2008-02/2011-02我科收治58例的直肠癌术后复发患者, 全部行直肠癌根治性切除术, 其中Mile's术27例, Dixon术31例; 男性32例, 女性26例; 年龄56-78岁, 中位年龄67岁; 高分化腺癌8例, 中分化腺癌16例, 低分化腺癌26例, 黏液腺癌6例, 印戒细胞癌2例; 并经组织病理学和超声、CT、MRI等检查证实有可测量的复发及转移淋巴结转移病灶, 并排除远处转移, 临床分期均为III/IV期. Karnofsky评分 >70 分, 预计生存期 ≥ 3 mo, 心、肝、肾、肺等重要器官功能基本正常, 无外周神经疾病, 无放化疗禁忌症; 采用双盲操作, 按临床试验随机对照原则, 分为试验组(30例)和对照组(28例), 两组患者一般资料具有可比性。治疗前签知情同意书和放化疗知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 试验组给予替吉奥联合三维适形放疗, 替吉奥(商品名维康达, 山东新时代药业有限公司)根据体表面积给药($<1.25 \text{ m}^2$, 40 mg; $1.25-1.5 \text{ m}^2$, 50 mg; $>1.5 \text{ m}^2$, 60 mg), 早晚口服14 d, 停药7 d, 21 d重复; 三维适形放疗, 患者仰卧位, 首先增强CT扫描下行模拟定位, 明确病灶, 由放疗科、影像科及物理师共同勾画靶区, 以CT示大体肿瘤体积及其周围亚临床靶体积确定为临床靶体积(clinical target volume, CTV)将CTV边缘向周围扩大5-15 mm, 确定计划靶体积(planning target volume, PTV), 同时注意保护器官, 经三维重建, 通过射野方向观和患者方向观设计治疗计划, 以PTV几何中心为照射野中心, 进行射束设计及权重调整, 95%等剂量曲线包括PTV, 1.8-2.0 Gy/次, 5次/wk, 总剂量54-66 Gy. 对照组给予卡培他滨联合三维适形放疗, 卡培他滨(商品名希罗达, 上海罗氏制药有限公司)2500 mg/d, 早晚口服14 d, 停药7 d, 21 d重复, 三维适形放疗方案同上。放化疗期间常规给予保肝、护胃、止吐等支持治疗, 骨髓抑制者给予人粒细胞集落刺激因子注射, 出现手足综合征给予口服维生素B₆、涂抹凡士林软膏, 腹泻较严重者给予思密达、易蒙停等对症治疗, 必要时减少延迟放化疗, 或适当减量, 疾病进展、患者拒

表 1 两组主要不良反应发生比较 (%)

不良反应	试验组	对照组	χ^2	P值
白细胞减少			1.205	0.272
1-2级	13	15		
3-4级	2	3		
血小板减少			0.056	0.813
1-2级	11	12		
3-4级	2	1		
恶心呕吐			0.064	0.800
1-2级	12	13		
3-4级	2	1		
手足综合征			21.283	0.000
1-2级	2	16		
3-4级	0	2		
放射性直肠炎			0.000	1.000
1-2级	4	3		
3-4级	0	0		
皮疹			0.000	1.000
1-2级	4	3		
3-4级	1	1		

绝、出现严重不良反应等不适合继续治疗则终止治疗, 每2个周期后评价疗效, 有效及稳定者继续化疗2周期, 进展者更换其他方案. 采用电话或书信方式随访至2013-06, 每月随访1次.

1.2.2 观测指标: 疗效及不良反应评定标准: 按照WHO实体瘤客观评价标准, 分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、稳定(stable disease, SD)和进展(progressive disease, PD). 以CR+PR计算有效率(response rate, RR). 根据NCI-CTC 2.0标准评价治疗不良反应. 总生存时间(overall survival, OS)为从本方案治疗的开始日期至死亡或末次随诊的时间, 疾病进展时间(time to progression, TTP)为从本方案治疗的开始日期至客观证据表明疾病进展的时间.

统计学处理 所有试验数据采用SPSS17.0版软件进行统计学分析, 组间差异比较采用 χ^2 检验, 总体生存率采用Kaplan-Meier分析, 化疗反应的等级资料采用非参数秩和检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$. $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 治疗依从性 58例患者均完成治疗, 期间出现的不良反应经对症处理可恢复或好转, 依从性好, 并收集了完整的临床资料进行相关评估.

2.2 近期疗效 全部58例均可评价疗效, 试验组CR 4例, PR 18例, SD 6例, PD 2例, 总有效率

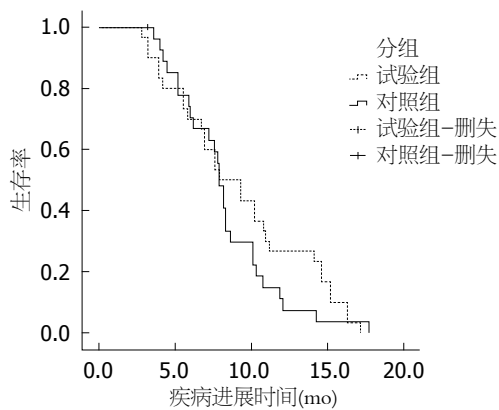


图 1 试验组与对照组间TTP的比较. TTP: 疾病进展时间.

(CR+PR)为73.3%(22/30), 2例行二次手术. 对照组CR 4例, PR 16, SD 5例, PD 3例, 总有效率(CR+PR)为71.4%(20/28), 两组间有效率之间无明显差异($P > 0.05$).

2.3 不良反应 两组患者均未出现治疗相关性死亡, 未见因严重不良反应而停药者, 两组共有常见的不良反应为骨髓抑制、消化系反应、放射性直肠炎等, 多为1-2级, 少数患者出现3或4级, 对照组略高于试验组, 但差异无统计学意义($P > 0.05$), 其中, 试验组2例患者出现IV度白细胞减少伴发热, 对照组出现1例IV度血小板降低, 经积极对症处理后好转, 推迟化疗5 d. 对照组手足综合征的发生率显著高于试验组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表1).

2.4 远期疗效 试验组无失访病例, 对照组2例失访, 平均随访时间24 mo, A组、B组中位TTP分别为9.2 mo(95%CI: 7.6-10.8 mo)、8.2 mo(95%CI: 7.0-9.5 mo), 中位OS分别为16.9 mo(95%CI: 15.5-18.3 mo)、17.2 mo(95%CI: 16.2-18.2 mo), 采用Log-rank检验对TTP和OS曲线进行分析, χ^2 分别为0.966和0.402($P > 0.05$), 差异无统计学意义(图1, 2).

3 讨论

近年来, 随着我国老龄化加剧, 中老年直肠癌患者也逐渐增多, 发达国家75岁以上直肠癌患者占35%-40%^[2], 一项Meta研究入组55例试验, 共计3767例直肠癌患者, 表明R0切除率约为56%, 5年生存率约25%, 根治性手术后有较高的复发率, 且手术切除率随着年龄增加而降低, 复发率增加^[2,3], 因而, 如何提高中老年直肠癌术后复发患者的疗效成为临床研究的一个重要内容, 循证医学证据术后放化疗提高局部晚期直肠癌的

■ 相关报道

替吉奥和卡培他滨联合放疗在直肠癌中显示出较好的临床疗效, 但替吉奥对比卡培他滨联合放疗在中老年晚期复发直肠癌的临床疗效尚未见报道. 刘红欣等进行一项临床试验, 评价三维适形放疗同步替吉奥化疗治疗术后复发直肠癌的疗效, 结果表明该方案依从性较好, 总有效率70.0%, 1年局部控制率为62.5%, 并能改善患者的生活质量. 卡培他滨作为另一种新型靶向口服药物张培良等研究表明调强放疗联合卡培他滨同步化疗治疗直肠癌术后复发患者, 不良反应轻, 近期疗效确切, 值得在临床上进一步探讨. 我们研究表明替吉奥联合三维适形放疗组手足综合征发生率较低, 更易被老年患者耐受, 且经济费用相对较低, 可以作为老年局部复发晚期直肠癌的一种有效治疗方案.

■ 创新盘点

我们研究主要评价替吉奥或卡培他滨联合三维适形放疗治疗中老年局部复发晚期直肠癌的临床疗效及其不良反应, 结果表明两组疗效相似, 但替吉奥联合三维适形放疗手足综合征发生率较低, 更易被老年患者耐受, 且经济费用相对较低, 可以作为老年局部复发晚期直肠癌的一种有效治疗方案。

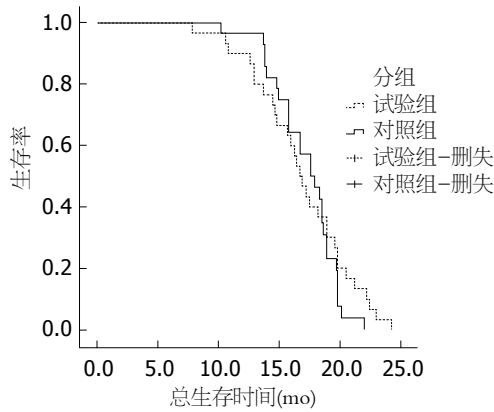


图2 试验组与对照组间OS的比较. OS: 总生存时间。

疾病控制率, 有可能进一步延长生存期^[4]。

近年来, 替吉奥和卡培他滨联合放疗在直肠癌中显示出较好的临床疗效, 替吉奥是二代5-氟尿嘧啶(5-FU)类药物, 由替加氟、吉美嘧啶和奥替拉西钾组成的复方制剂, 生物利用度高, 经肝药酶作用持续转化为5-FU发挥抗肿瘤作用, 并能降低5-FU引起的消化系统不良反应^[5]。多项研究均表明替吉奥和/或奥沙利铂方案治疗局部晚期结直肠癌、老年晚期直肠癌、直肠癌术后复发以及功能状态评分较差晚期直肠癌, 不良反应少, 临床疗效确切, 安全性好^[6-9]。刘红欣等^[10]进行一项临床试验, 评价三维适形放疗同步替吉奥化疗治疗术后复发直肠癌的疗效, 结果表明该方案依从性较好, 总有效率70.0%, 1年局部控制率为62.5%, 并能改善患者的生活质量。卡培他滨作为另一种新型靶向口服药物, 多项研究^[11-14]肯定了其在晚期直肠癌辅助治疗中的价值, 有效且安全性高。张培良等^[15]研究表明调强放疗联合卡培他滨同步化疗治疗直肠癌术后复发患者, 不良反应轻, 近期疗效确切, 值得在临床上进一步探讨。Sadahiro等^[16]报道替吉奥对比卡培他滨同步放疗治疗局部晚期、可切除的直肠腺癌, 结果表明两组临床疗效相似, 但替吉奥联合组不良反应更温和, 耐受性更好。

替吉奥对比卡培他滨联合放疗在中老年晚期复发直肠癌的临床疗效尚未见报道, 我们研究评价替吉奥或卡培他滨联合三维适形放疗的疗效及其不良反应, 结果表明两组总有效率分别为73.3%和71.4%, 中位TTP分别为9.2和8.2 mo, 中位OS分别为16.9和17.2 mo, 差异均无统计学意义($P>0.05$), 但有延长的趋势, 而且卡培他滨联合组手足综合征的发生率显著高于替吉奥联合组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 其他不

良反应发生率无统计学意义。

总之, 与三维适形放疗联合卡培他滨相比, 联合替吉奥治疗中老年局部复发晚期直肠癌, 临床疗效相似, 但手足综合征发生率较低, 更易被老年患者耐受, 且经济费用相对较低, 可以作为老年局部复发晚期直肠癌的一种有效治疗方案, 本试验由于样本量小、随访时间较短, 需要扩大样本进一步研究, 需要注意的是, 联合放疗最佳剂量的判定以及化疗或放疗的序贯组合与同步放化疗的疗效优劣问题, 都值得深入探究, 进而不断提高中老年晚期局部复发直肠癌患者的生活质量, 延长生存期。

4 参考文献

- 1 吴菲, 林国桢, 张晋昕. 我国恶性肿瘤发病现状及趋势. *中国肿瘤* 2012; 21: 81-85
- 2 Manceau G, Karoui M, Werner A, Mortensen NJ, Hannoun L. Comparative outcomes of rectal cancer surgery between elderly and non-elderly patients: a systematic review. *Lancet Oncol* 2012; 13: e525-e536 [PMID: 23182193 DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70378-9]
- 3 Tanis PJ, Doeksen A, van Lanschot JJ. Intentionally curative treatment of locally recurrent rectal cancer: a systematic review. *Can J Surg* 2013; 56: 135-144 [PMID: 23517634 DOI: 10.1503/cjs.025911]
- 4 Glynn-Jones R, Kronfli M. Locally advanced rectal cancer: a comparison of management strategies. *Drugs* 2011; 71: 1153-1177 [PMID: 21711061 DOI: 10.2165/11591330-000000000-00000]
- 5 Miura K, Shirasaka T, Yamaue H, Sasaki I. S-1 as a core anticancer fluoropyrimidine agent. *Expert Opin Drug Deliv* 2012; 9: 273-286 [PMID: 22235991 DOI: 10.1517/17425247.2012.652945]
- 6 宋法云, 许勤朴. 奥沙利铂联合替吉奥胶囊治疗晚期结直肠癌的临床观察. *中华肿瘤防治杂志* 2012; 19: 934-935
- 7 朱庆超, 金志明. 奥沙利铂联合替吉奥治疗结直肠癌的临床观察. *中华肿瘤杂志* 2011; 33: 388-390
- 8 郭守俊, 康昭洵, 曾红学. 替吉奥联合奥沙利铂治疗老年晚期大肠癌的临床观察. *实用医学杂志* 2012; 28: 3999-4000
- 9 张彤, 马晓, 张蕊. 替吉奥治疗老年或功能状态评分较差晚期结直肠癌患者的疗效观察. *中国全科医学* 2013; 16: 305-307
- 10 刘欣红, 李为路. 三维适形放疗同步替吉奥化疗治疗术后复发直肠癌的疗效观察. *中华肿瘤杂志* 2011; 32: 299-301
- 11 Fernández-Martos C, Nogué M, Cejas P, Moreno-García V, Machancoses AH, Feliu J. The role of capecitabine in locally advanced rectal cancer treatment: an update. *Drugs* 2012; 72: 1057-1073 [PMID: 22621694 DOI: 10.2165/11633870-000000000-00000]
- 12 Illum H. Current status of radiosensitizing agents for the management of rectal cancer. *Crit Rev Oncog* 2012; 17: 345-359 [PMID: 23176042 DOI: 10.1615/CritRevOncog.v17.i4.40]
- 13 Beets GL, Beets-Tan RG. Capecitabine in the treatment of rectal cancer. *Lancet Oncol* 2012; 13: 560-561 [PMID: 22652229 DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70170-5]
- 14 帖晓静, 田永巍, 高岭, 李宁, 刘培杰, 徐志巧. 卡培他滨联合放疗治疗局部进展期直肠癌的疗效观察. *中国*

- 全科医学 2013; 16: 1301-1303
- 15 张培良, 张佃富. 简化调强放疗同步卡培他滨治疗直肠癌术后复发临床观察. 中华肿瘤防治杂志 2012; 19: 1103-1105
- 16 Sadahiro S, Suzuki T, Tanaka A, Okada K, Kamijo

A, Murayama C, Akiba T, Nakayama Y. Phase I/II study of preoperative concurrent chemoradiotherapy with S-1 for locally advanced, resectable rectal adenocarcinoma. *Oncology* 2011; 81: 306-311 [PMID: 22156392 DOI: 10.1159/000334580]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



■同行评价
本文主要评价了替吉奥对比卡培他滨同步三维适形放疗治疗中老年复发直肠癌的临床疗效和安全性, 结果表明两组疗效相似, 但替吉奥联合组手足综合征发生率较低, 耐受性更好, 为中老年复发直肠癌术后复发的临床治疗提供参考。

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》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

人大肠癌癌旁不同部位组织架构及相关分子差异

苏孟, 文彬, 胡丰良, 刘金元

■背景资料

肿瘤的研究模式在逐渐发生改变, 过去人们专注于研究肿瘤细胞本身。近年来, 人们逐渐意识到组织结构及其重塑对肿瘤启动的重要意义。组织中细胞表面特征分子是反映组织结构变化的重要内容。

苏孟, 文彬, 胡丰良, 刘金元, 广州中医药大学脾胃研究所 广东省广州市 510405

苏孟, 2011年广州中医药大学在读硕士, 主要从事大肠癌早期分子机制及中药干预的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173257

作者贡献分布: 此课题由文彬负责设计; 苏孟负责操作与完成论文的撰写; 胡丰良提供组织样本; 刘金元负责免疫组织化学数据的采集。

通讯作者: 文彬, 研究员, 510406, 广东省广州市机场路12号, 广州中医药大学脾胃研究所. wen_bin2013@163.com

电话: 020-36585077

收稿日期: 2013-11-18 修回日期: 2013-11-30

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-28

Variance of crypt architecture and E-cadherin and PAR-3 expression in tissues at different distances from colorectal cancer lesions

Meng Su, Bin Wen, Feng-Liang Hu, Jin-Yuan Liu

Meng Su, Bin Wen, Feng-Liang Hu, Jin-Yuan Liu, Institute of Spleen and Stomach, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173257

Correspondence to: Bin Wen, Researcher, Institute of Spleen and Stomach, Guangzhou University of Chinese Medicine, 12 Jichang Road, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China. wen_bin2013@163.com

Received: 2013-11-18 Revised: 2013-11-30

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-28

Abstract

AIM: To observe the variation of crypt architecture, expression and distribution of E-cadherin and PAR-3 expression in tissues at different distances from colorectal cancer lesions.

METHODS: Tissue samples at 10, 5 and 2 cm from the tumor lesion were collected. The variation of crypt architecture was observed among the three groups. E-cadherin and PAR-3 expression was detected by immunohistochemistry and Western blot.

RESULTS: With the distance getting closer to the tumor lesion, crypt architecture was de-

stroyed more and more obviously. Cell crypts were irregularly arranged, and some of them disappeared. With the distance getting closer to the tumor lesion, the expression of E-cadherin and PAR-3 decreased progressively, and E-cadherin and PAR-3 translocated gradually from the plasma membrane to the cytoplasm.

CONCLUSION: With the distance getting closer to the tumor lesion, crypt architecture was destroyed more and more obviously, and some crypts disappeared; E-cadherin and PAR-3 expression in crypt epithelial cells decreased progressively and gradually translocated from the plasma membrane to cytoplasm.

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

Key Words: E-cadherin; PAR-3; Crypt; Colorectal carcinoma; Tumor-adjacent tissue

Su M, Wen B, Hu FL, Liu JY. Variance of crypt architecture and E-cadherin and PAR-3 expression in tissues at different distances from colorectal cancer lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 444-449
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/444.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.444>

摘要

目的: 观察在距大肠癌3个不同部位的癌旁组织隐窝微架构的变化及其相关上皮细胞特征分子E-cadherin和PAR-3表达分布差异。检测E-cadherin、PAR-3在距大肠癌病灶不同距离的癌旁组织中的表达及分布差异, 探讨其对大肠癌发生的意义。

方法: 从距离大肠癌病灶近端10、5、2 cm处获取组织样本, 并分别命名为1、2、3号位组织样本, 观察3个部位组织隐窝微架构变化规律, 并采用免疫组织化学(SP法)和半定量法Western blot检测1、2、3号位组织E-cadherin、PAR-3表达分布变化。

结果: 随着距离肿瘤病灶越来越近, 组织隐窝微架构破坏(隐窝微架构不整齐, 上皮缺损)愈

■同行评议者

顾国利, 副主任医师, 空军总医院普通外科

来愈明显, 免疫组织化学及Western blot实验表明, 随着组织越来越靠近病灶, 上皮细胞表面E-cadherin和PAR-3表达量依次递减, 分布由细胞膜转向细胞浆愈来愈明显。

结论: 在大肠癌组织中, 越靠近病灶的癌旁组织, 隐窝微架构的变化越明显, 甚至完全消失, 而隐窝上皮细胞中E-cadherin和PAR-3表达也逐渐减弱, 且分布由细胞膜逐渐转向细胞浆。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: E-cadherin; PAR-3; 隐窝; 大肠癌; 癌旁组织

核心提示: 肿瘤的发生发展与组织结构的重塑密切相关。观察距离肿瘤不同距离部位组织结构变化及上皮细胞表面特征分子E-cadherin和PAR-3不同部位组织中的表达分布差异, 探讨其与组织结构变化的关系, 具有重要意义。

苏孟, 文彬, 胡丰良, 刘金元. 人大肠癌旁不同部位组织架构及相关分子差异. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 444-449
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/444.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.444>

0 引言

2011年Hanahan和Weinberg^[1]梳理肿瘤研究近40年的研究成果指出, 肿瘤是远远胜过健康组织而更能处理复杂功能的异常器官。肿瘤组织原则的构建使人们意识到正常组织结构的重塑对肿瘤的发生发展有重要意义^[2]。组织结构及相关基质细胞的类型、丰度、表型特征是组织重塑的重要内容, 其改变与肿瘤的发生发展密切相关^[3-5]。隐窝是肠上皮组织的基本结构单元, 也是承载着肠道疾病变化的基本结构单元。异常隐窝(aberrant crypt foci, ACF)是大肠癌癌变早期最早可见的组织形态学改变^[6-8]。我们分别从距离肿瘤病灶不同部位取材, 观察不同部位组织结构及上皮细胞表面特征分子E-cadherin和PAR-3在不同部位癌旁组织中的表达分布差异表达变化, 以探讨分析组织结构及相关细胞表型特征对大肠癌发生发展中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 组织样本选取2012-04/2013-02在广州中医药大学第一附属医院, 广州军区总医院的结肠中分化腺癌患者, 其中男15例, 年龄为41-81岁, 中位数年龄63岁, 女8例, 年龄为42-76岁, 中位数



图1 标本取材部位示意图. 1号位: 距离病灶约10 cm; 2号位: 距离病灶约5 cm; 3号位: 距离病灶约2 cm。

年龄为58.5岁。所有大肠癌患者均为散发性大肠癌, 均经过纤维结肠镜检查 and 术后活组织病理确诊, 术前均未接受过放、化疗。每例病例依次取距离肿瘤病灶组织约10、5、2 cm 3个部位, 按顺序编为1、2、3号, 切取位置如图1所示。距离肿瘤病灶距离>5 cm的部位是公认的安全区, 被看做是正常的组织, 标记为1号位。距离肿瘤5 cm的组织被认为是中间位, 通常处于肿瘤浸润组织和正常组织之间, 标记为2号位。距离肿瘤1-3 cm的组织是公认的肿瘤浸润区, 标记为3号位, 被认为是最快发展为肿瘤的区域。免疫组织化学和Western blot选用的兔抗人多克隆抗体均购自北京博奥森生物有限公司, 包括E-cadherin(bs-1519R)、PAR-3(bs-9510R)兔抗人多克隆抗体, 免疫组织化学二抗试剂盒购自北京中杉金桥生物技术公司。Western blot实验所用的链脲佐菌素、亮肽酶、抑肽酶、叠氮钠、二硫苏糖醇均为Sigma产品, PVDF膜为Millipore产品。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学DAB显色及结果判定: 所有组织均经4%多聚甲醛固定, 石蜡包埋。石蜡切片经二甲苯2次脱蜡, 每次10 min, 无水乙醇, 950 mL/L乙醇, 700 mL/L乙醇分别5 min梯度水化后, PBS清洗3次, 每次2 min, 3% H_2O_2 阻断内源性过氧化物酶的活性, 于柠檬酸盐缓冲液中微波修复, 小牛血清孵育20 min, 加上一抗4 °C冰箱过夜, 以PBS代替一抗作阴性对照, 二抗37 °C孵育30 min, DAB显色, 复染, 封片。应用IPP6.0病理图像分析软件测定各组免疫阳性产物的光密度(A)值, 每张切片随机测定6个视野, 定同一张切片上组织的A值作为背景, 免疫反应产物的A值减去背景A值得到校正的A值(CA)值, 即为各阳性产物的实际吸光度值, 然后求平均值作为该样本的CA值。用CA值进行分析和比较, 以避免染色过程中的非特异性染色等导致的误差。

1.2.2 Western blot: 在组织中加入蛋白裂解液, 低温离心, 取上清液作为蛋白样品并定量, 进行SDS-PAGE电泳, 转至PVDF膜, 用5%脱脂奶粉室温封闭, 一抗4 °C过夜, 洗膜, 二抗室温孵育, ECL显影。采用WO-9413B型凝胶成像系统自带软件Gelpro32来分析胶片中的蛋白条带, 并与

■ 研发前沿
肿瘤的启动, 首先表现为细胞表型和组织微架构的改变。E-cadherin和PAR-3作为细胞表面反映细胞特征形态的分子, 初步探讨肿瘤发生早期E-cadherin和PAR-3在细胞组织中的表达分布具有重要意义。

■ 相关报道

Wu, Yap报道了E-cadherin的黏附受体是构建健康组织原则的决定因素。更进一步的研究表明,与黏附、收缩相关的组织细胞空间架构模式决定了细胞的形态发生。进而我们应该探讨肿瘤发生过程中组织细胞形态及细胞特征分子的变化。

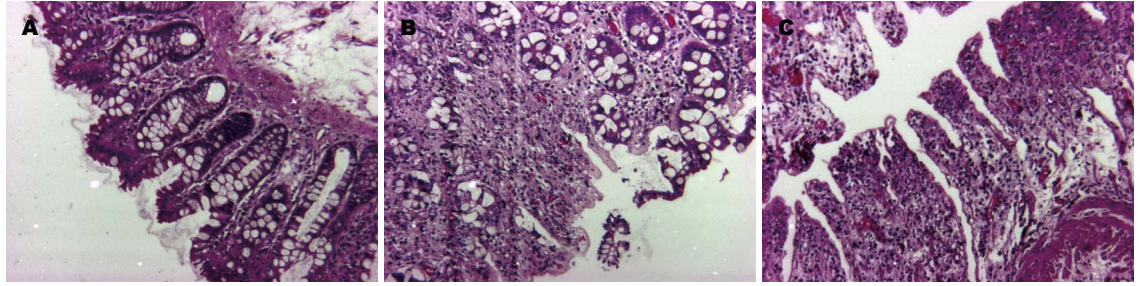


图2 大肠癌旁隐窝组织由远到近10、5、2 cm 3个部位HE染色图。A: 1号部位; B: 2号部位; C: 3号部位。

β -actin的值相比,进行标准化。

统计学处理 各组实验数据以mean \pm SD表示,采用SPSS6.0统计软件,计量资料进行均数比较采用*t*检验或方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

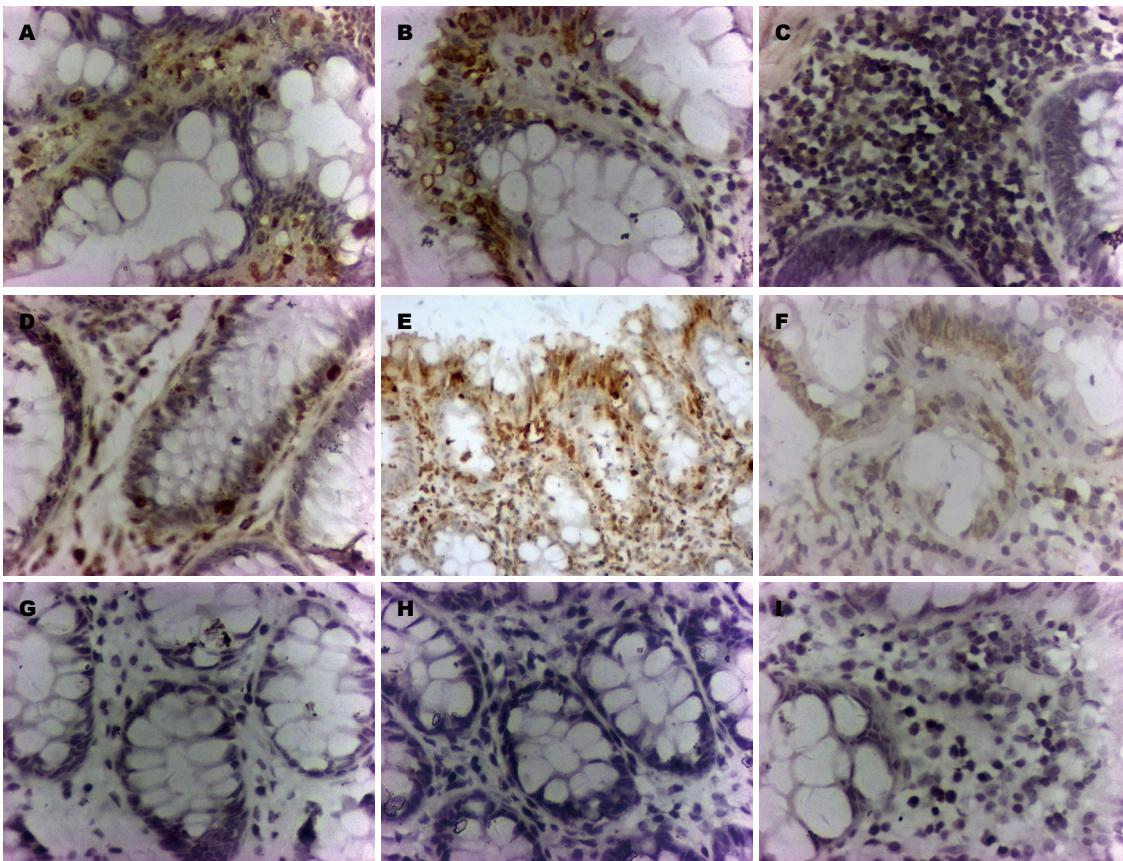
2 结果

2.1 不同部位癌旁组织隐窝结构的变化与分析
1987年,研究人员第一次在啮齿动物模型中,报道了大肠异常隐窝的大肠癌分子特征^[9],而推测异常隐窝可能是肠道最早的病变单元。2009年Gupta等^[10]对各种相关文献进行了整理:从流行病学和分子生物学的角度进行研究都支持异常隐窝是结肠腺瘤的前体,是大肠癌发生早期的生物标识。正常隐窝和异常隐窝形态学有很大差别^[11]。在大肠癌“腺瘤-癌”发生过程中,发育不良的隐窝具有发展为大肠癌潜能,不同病变期隐窝的体积、形状、表面光滑度以及有无分支都与正常隐窝不同。这种组织原则的改变使细胞中生长信号的分泌和释放,控制都发生紊乱。我们分别从距离肿瘤病灶不同部位取材,观察距离肿瘤病灶不同部位组织隐窝结构变化的特征(图2),结果发现在距离肿瘤病灶最远端的1号部位组织中,隐窝结构基本正常,隐窝细胞呈单层排列(图2A),随着距离病灶越来越近,2号部位组织隐窝开始表现为出现增生,隐窝细胞发生密集,重叠,少部分细胞出现缺失,隐窝间质细胞增多(图2B)。在最靠近病灶的3号部位组织隐窝结构发生很大变化,细胞密集非常明显,丧失组织结构,间质细胞明显增多,细胞形态发生很大变化,甚至隐窝结构完全消失。越靠近肿瘤,隐窝异常程度越高(图2C)。比较这3个部位可以得出结论:越靠近肿瘤,隐窝结构异常程度越高,隐窝细胞排列方式及形态特征变化越大。

2.2 不同部位大肠癌旁组织隐窝细胞E-cadherin表达分布 E-cadherin的黏附受体是构建健

康组织原则的决定因素^[12]。有关E-cadherin经典的理论认为E-cadherin的生物学行为是通过与收缩肌动蛋白细胞骨架相互作用而激活,不仅是黏附作用,E-cadherin还可以调控收缩肌动蛋白本身的装配。更进一步的研究表明,与黏附、收缩相关的组织细胞空间架构模式决定了细胞的形态发生^[13-15]。我们采用免疫组织化学法对不同隐窝部位上皮细胞E-cadherin表达分布进行了检测,结果说明1、2和3号部位组织中E-cadherin均有表达,但随着距离肿瘤病灶最远端的1号组织中,隐窝细胞排列规则,呈单层排列。E-cadherin主要表达分布在隐窝细胞膜上(图3),随着距离病灶组织越来越近,隐窝细胞出现增生密集,2号部位E-cadherin有部分表达于隐窝细胞胞浆中(图3),在距离病灶最近的3号组织中,隐窝细胞增生明显,且排列拥挤,E-cadherin主要表达于隐窝细胞的胞浆中(图3),应用IPP6.0病理图象分析软件测定各组免疫阳性产物的光密度值,1、2、3号部位光密度值分别为0.486219 \pm 0.03479、0.296056 \pm 0.029211、0.280068 \pm 0.034564。统计学分析显示,E-cadherin表达在1号位组织和2号位组织有明显差异($P<0.05$),有统计学意义,2号位组织和3号位组织没有明显差异($P>0.05$),无统计学意义。

2.3 不同部位大肠癌旁组织隐窝部位PAR-3表达分布 上皮细胞分布在组织器官的内外表面,要将这些上皮细胞有机的分布在组织三维结构的表面,需要包括极性、黏附、生长等多种生理功能共同协作完成^[16,17]。在此过程中,跨膜蛋白PAR-3是上皮组织最重要的极性的构建者和维持者,当PAR-3功能发生变化,则上皮细胞极性减少或消失,上皮细胞从上皮组织中逃逸出来,进入细胞间质,从而改变组织微环境。肿瘤的病理学研究发现,在肿瘤进程中,组织极性和细胞极性都将消失^[18,19]。我们检测PAR-3在不同部位的免疫组织化学结果显示在1号部位主



■创新盘点
摒弃E-cadherin和PAR-3在肿瘤研究中的有关分子生物学的经典论述, 从生物学行为角度来阐述其对肿瘤发生发展的作用。

图 3 大肠癌旁隐窝组织由远到近10、5、2 cm 3个部位E-cadherin、PAR-3免疫组织化学图. A-C: E-cadherin组; D-F: PAR-3组; G-I: 空白对照组; A, D, G: 1号部位; B, E, H: 2号部位; C, F, I: 3号部位.

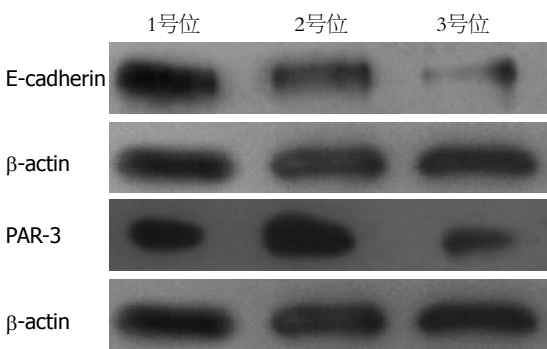


图 4 大肠癌旁隐窝组织由远到近10、5、2 cm 3个部位的Western blot图.

要表达分布在隐窝细胞膜和少量胞浆(图3), 2号组织PAR-3在少部分隐窝细胞膜和部分胞浆中表达(图3), 3号组织PAR-3则几乎全部表达于胞浆(图3). 对其进行光密度值测定, 1、2、3号部位值分别为 0.45834 ± 0.06501 、 0.423177 ± 0.03873 、 0.350675 ± 0.036247 . 统计学分析显示, PAR-3表达在1号位组织和2号位组织没有显著差异($P > 0.05$), 无统计意义, 在2号位和3号位差异显著($P < 0.05$), 有统计学意义.

2.4 E-cadherin、PAR-3在不同隐窝部位的免疫

印迹结果分析 Western blot免疫印迹反应的吸光度结果提示E-cadherin、PAR-3在1、2、3号部位呈递减关系(E-cadherin: 10.23, 6.85, 5.86; PAR-3: 9.78, 9.65, 9.45), 3个部位两两之间的差异性检测, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 隐窝微架构破坏与E-cadherin和PAR-3表达呈现明显负相关(图4).

3 讨论

近些年来, 肿瘤细胞中心观指导下的肿瘤研究模式受到了巨大的冲击, 以肿瘤相关机制为基础的肿瘤组织原则的构建, 使人们意识到组织结构重塑对肿瘤启动的重要意义. 正常组织可以精确地产生、释放、控制促进生长信号, 以维持正常组织架构和功能. 组织架构和内稳态的转变是肿瘤启动的早期信号. 大量研究表明, 组织微架构的重塑是肿瘤恶性启动的重要表征. 肿瘤恶性启动的本质就是癌细胞与其微环境相互作用的过程, 在肿瘤启动过程中, 癌细胞逐渐破坏了邻近的细胞与基质之间的正常联系, 原本这些联系可以使基质和细胞感受正常的信号

■应用要点

细胞表型分子表达分布与组织微架构变化相辅相成,对肿瘤发生早期以组织微架构为基础的研究有指导意义。

调节,以保证组织细胞的正常功能,但当癌细胞处于这个正常的组织微环境中,他可以尝试着重新去塑造一种新的表型和行为^[20,21]。

正常的组织和细胞具有极性,能维持组织架构并且行使正常的生理功能。E-cadherin和PAR-3对维持组织细胞极性有重要作用,其表达分布与组织架构紧密相关。而在肿瘤进程中,组织极性和细胞极性都将消失^[18]。探讨E-cadherin和PAR-3在肿瘤进程中的变化机制对研究肿瘤的启动有重要的意义。

隐窝结构的改变与E-cadherin和PAR-3表达分布密切相关,距离肿瘤病灶越近,表达逐渐减少,且分布由细胞膜转到细胞浆。E-cadherin和PAR-3不能在膜上表达时,细胞形态改变,极性消失^[22-24]。据此可以推断在肿瘤发生过程中,上皮细胞失去自身稳定的结构,极性消失,细胞运动能力增强,转化成为活动能力较强的间质细胞表型,组织微架构发生变化。病理观察结果显示距离肿瘤病灶越近,隐窝细胞排列出现重叠,拥挤,间质细胞增多。隐窝是肠组织微架构的直接体现,肿瘤发生过程中,存在上皮-间质表型转化。

我们的研究显示,在癌变早期,肠组织发生了明显的形态学变化,出现异常隐窝病灶,距离肿瘤病灶越近,隐窝异常越明显,间质细胞增多,E-cadherin和PAR-3的表达由细胞膜逐步表达到达胞浆,并且表达量逐渐下降。E-cadherin和PAR-3都是极性相关分子,说明组织结构,微环境的变化及E-cadherin和PAR-3的表达下降均对大肠癌的启动有重要意义,可将二者结合运用于大肠癌早期分子机制研究,但是二者之间的相互作用机制仍需探索。

4 参考文献

- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
- Ivanov AI, Naydenov NG. Dynamics and regulation of epithelial adherens junctions: recent discoveries and controversies. *Int Rev Cell Mol Biol* 2013; 303: 27-99 [PMID: 23445808 DOI: 10.1016/B978-0-12-407697-6.00002-7]
- Bettington M, Walker N, Clouston A, Brown I, Leggett B, Whitehall V. The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. *Histopathology* 2013; 62: 367-386 [PMID: 23339363 DOI: 10.1111/his.12055]
- Tarin D. Cell and tissue interactions in carcinogenesis and metastasis and their clinical significance. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 72-82 [PMID: 21147229 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.12.006]
- Valásková Z, Kinová S, Danihel L, Duris I, Mar-

- kovicová D, Mravec B, Hulín I. [The complexity of interactions of the tumour growth process]. *Vnitř Lek* 2009; 55: 1145-1158 [PMID: 20070031]
- Fuchs E, Tumber T, Guasch G. Socializing with the neighbors: stem cells and their niche. *Cell* 2004; 116: 769-778 [PMID: 15035980]
- Khare S, Chaudhary K, Bissonnette M, Carroll R. Aberrant crypt foci in colon cancer epidemiology. *Methods Mol Biol* 2009; 472: 373-386 [PMID: 19107443 DOI: 10.1007/978-1-60327-492-0_17]
- Lopez-Ceron M, Pellise M. Biology and diagnosis of aberrant crypt foci. *Colorectal Dis* 2012; 14: e157-e164 [PMID: 22182185 DOI: 10.1111/j.1463-1318]
- Bird RP. Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings. *Cancer Lett* 1987; 37: 147-151 [PMID: 3677050]
- Gupta AK, Schoen RE. Aberrant crypt foci: are they intermediate endpoints of colon carcinogenesis in humans? *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 59-65 [PMID: 19114775 DOI: 10.1016/j.gie.2008.12.060]
- Tamura S, Furuya Y, Tadokoro T, Higashidani Y, Yokoyama Y, Araki K, Onishi S. Pit pattern and three-dimensional configuration of isolated crypts from the patients with colorectal neoplasm. *J Gastroenterol* 2002; 37: 798-806 [PMID: 12424563]
- Wu SK, Yap AS. Patterns in Space: Coordinating Adhesion and Actomyosin Contractility at E-cadherin Junctions. *Cell Commun Adhes* 2013; 20: 201-212 [PMID: 24205985]
- Gomez GA, McLachlan RW, Yap AS. Productive tension: force-sensing and homeostasis of cell-cell junctions. *Trends Cell Biol* 2011; 21: 499-505 [PMID: 21763139 DOI: 10.1016/j.tcb.2011.05.006]
- Levayer R, Lecuit T. Biomechanical regulation of contractility: spatial control and dynamics. *Trends Cell Biol* 2012; 22: 61-81 [PMID: 22119497 DOI: 10.1016/j.tcb.2011.10.001]
- Martin AC, Gelbart M, Fernandez-Gonzalez R, Kaschube M, Wieschaus EF. Integration of contractile forces during tissue invagination. *J Cell Biol* 2010; 188: 735-749 [PMID: 20194639 DOI: 10.1083/jcb.2009100991]
- Mohl PC, Lomax J, Tasman A, Chan C, Sledge W, Summergrad P, Notman M. Psychotherapy training for the psychiatrist of the future. *Am J Psychiatry* 1990; 147: 7-13 [PMID: 2242103 DOI: 10.1016/j.devcel]
- Leung CT, Brugge JS. Outgrowth of single oncogene-expressing cells from suppressive epithelial environments. *Nature* 2012; 482: 410-413 [PMID: 22318515 DOI: 10.1038/nature10826]
- Huang L, Muthuswamy SK. Polarity protein alterations in carcinoma: a focus on emerging roles for polarity regulators. *Curr Opin Genet Dev* 2010; 20: 41-50 [PMID: 20093003 DOI: 10.1016/j.gde.2009.12.001]
- Zen K, Yasui K, Gen Y, Dohi O, Wakabayashi N, Mitsufoji S, Itoh Y, Zen Y, Nakanuma Y, Taniwaki M, Okanoue T, Yoshikawa T. Defective expression of polarity protein PAR-3 gene (PARD3) in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncogene* 2009; 28: 2910-2918 [PMID: 19503097 DOI: 10.1038/onc.2009.148]
- Nowell PC. Foundations in cancer research. Chromosomes and cancer: the evolution of an idea. *Adv Cancer Res* 1993; 62: 1-17 [PMID: 8109315]

- 21 Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 442-454 [PMID: 12189386]
- 22 Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009; 139: 871-890 [PMID: 19945376 DOI: 10.1016/j.cell.2009.11.007]
- 23 Huang RY, Guilford P, Thiery JP. Early events in cell adhesion and polarity during epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Sci* 2012; 125: 4417-4422 [PMID: 23165231 DOI: 10.1242/jcs.099697]
- 24 Mertens AE, Pegtel DM, Collard JG. Tiam1 takes PART in cell polarity. *Trends Cell Biol* 2006; 16: 308-316 [PMID: 16650994]

同行评价

本文提供了比较充足的有意义的信息,能促进读者对肿瘤组织架构的理解,并且实验结果可能使患者受益.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



以反复腹水为表现的嗜酸性细胞性胃肠炎2例

袁珂

■背景资料

嗜酸性细胞性胃肠炎(eosinophilic gastroenteritis, EG)是一种以胃肠道组织中嗜酸性粒细胞异常浸润为主要特征的罕见胃肠道疾病,病变可累及从食管到直肠整个胃肠道壁各层,临床表现多样,缺乏特异性,易误诊漏诊。发病率在1-20/10万,好发于30-40岁的中青年人群。

袁珂, 四川自贡市第四人民医院消化内科 四川省自贡市 643000

袁珂, 副主任医师, 主要从事胃肠病学方向的研究。

作者贡献分布: 本文由袁珂独立完成。

通讯作者: 袁珂, 副主任医师, 643000, 四川自贡市檀木林街2号, 自贡市第四人民医院消化内科。zgzyyk7113@163.com

电话: 0813-2204809 传真: 0813-5508012

收稿日期: 2013-10-10 修回日期: 2013-11-20

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-28

Eosinophilic gastroenteritis manifesting as recurrent ascites: Report of two cases

Ke Yuan

Ke Yuan, Department of Gastroenterology, the Fourth People's Hospital of Zigong, Zigong 643000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Ke Yuan, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Fourth People's Hospital of Zigong, 2 Tanmulin Street, Zigong 643000, Sichuan Province, China. zgzyyk7113@163.com

Received: 2013-10-10 Revised: 2013-11-20

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-28

Abstract

Eosinophilic gastroenteritis manifesting as ascites is clinically rare. Here we report two cases of eosinophilic gastroenteritis with recurrent ascites as the main clinical manifestation. Blood and ascites showed increased eosinophils, and bone marrow smears showed significantly increased proportion of eosinophils. Gastric biopsy has a low detection rate, and glucocorticoid treatment is effective. Clinically, for unexplained ascites, eosinophilic gastroenteritis should be suspected.

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

Key Words: Eosinophilic gastroenteritis; Ascites; Repeatedly

Yuan K. Eosinophilic gastroenteritis manifesting as recurrent ascites: Report of two cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 450-452 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/450.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.450>

■同行评议者

张庆瑜, 教授, 主任医师, 天津医科大学总医院科研处

摘要

以腹水为表现的嗜酸性细胞性胃肠炎临床少见,表现特殊。本文2例嗜酸性细胞性胃肠炎以反复腹水为主要临床表现,血及腹水嗜酸性粒细胞增多,骨髓涂片嗜酸比例明显增多,胃黏膜活检阳性率不高,对糖皮质激素治疗有效。临床对原因不明的腹水,应警惕嗜酸性细胞性胃肠炎可能。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 嗜酸性细胞性胃肠炎; 腹水; 反复

核心提示: 嗜酸性细胞性胃肠炎(浆膜病变型)临床少见,主要表现为反复发作的腹水,外周血及腹水嗜酸性粒细胞增多,骨髓涂片嗜酸比例明显增多,胃黏膜活检阳性率不高,糖皮质激素治疗有效。临床对原因不明的腹水,应警惕嗜酸性细胞性胃肠炎可能。

袁珂. 以反复腹水为表现的嗜酸性细胞性胃肠炎2例. *世界华人消化杂志* 2014; 22(3): 450-452 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/450.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.450>

0 引言

嗜酸性细胞性胃肠炎自1937年Kaijse第一次报道以来,相关研究及病例报道不断。过去10年原发的嗜酸性细胞性胃肠炎患病率明显增加,这一方面可能由于对该疾病的认识加深及诊断技术的提高,另一方面可能是该病发病率确实提高。现报道我院收治的2例嗜酸性细胞性胃肠炎病例。

1 病例报告

病例1: 患者,女,18岁,学生。因反复腹胀、腹痛6年,再发7 d入院。患者6年前始先后出现4次腹胀、腹痛,伴恶心、呕吐,在院外就医,每次均发现腹水,服药后4-7 d好转,每次发作无确切饮食诱因。本次因连续进食鸡蛋5 d后出现腹胀、腹痛,进食后加重,伴恶心、呕吐胃内容物,门诊彩超提示肝胆脾胰肾未见异常,腹腔大量腹水。既往未发现药物、食物过敏史。入院后专

科查体: 一般情况良好, 眼睑无水肿, 皮肤、巩膜无黄染, 未见肝掌、蜘蛛痣。心肺无异常。腹软、膨隆, 未见腹壁静脉曲张, 全腹散在压痛, 无反跳痛, 肝脾肋下未及, 移动性浊音(++), 双下肢无水肿。入院后检查: 血白细胞 $14.46 \times 10^9/L$, 嗜酸性粒细胞36.9%, 嗜酸性粒细胞计数 $5.33 \times 10^9/L$ 。肝肾功能、胆红素、蛋白水平均未见异常。乙肝两对半均为阴性。抗核抗体(-), 抗线粒体抗体(-), 补体C3、补体C4、IgA、IgG、IgM都不高。大便饱和盐水未找到虫卵, 肝吸虫抗体(-), 肺吸虫抗体(-), 血吸虫抗体(-), 包虫抗体(-), 囊虫抗体(-), PPD(-), SR 2 mm/h。腹水: 黄, 混, 李凡他阳性, 白细胞总数 $8.10 \times 10^9/L$, 嗜酸性粒细胞数为 $4.62 \times 10^9/L$ (占0.57), 淋巴细胞占0.29, 中性粒细胞占0.14, 蛋白23.4 g/L。胸片示心肺未见异常, 腹部CT示肝胆胰脾、双肾未见异常, 腹腔积液。胃镜示浅表性胃炎伴糜烂, 糜烂性十二指肠炎, 胃窦黏膜活检示慢性炎症。骨髓: 嗜酸比例明显增多占25%, 符合嗜酸性粒细胞增多骨髓象。入院第5天复查: 血白细胞 $12.68 \times 10^9/L$, 嗜酸性粒细胞46.9%, 嗜酸性粒细胞计数 $5.95 \times 10^9/L$ 。第10天给予强的松30 mg qd治疗, 用药5 d后复查血白细胞 $12.48 \times 10^9/L$, 嗜酸性粒细胞2.2%, 嗜酸性粒细胞计数 $0.28 \times 10^9/L$ 。腹部彩超未见腹腔积液。继续治疗5 d后停药, 随访3 mo未见复发。

病例2: 患者, 男, 49岁, 农民。因反复腹泻、腹水4年, 再发20 d入院。患者4年前始先后出现5次腹泻, 腹泻后出现腹水, 无饮食药物诱因。当地医院诊断为“肝硬化腹水”, 服中药后腹水消失, 未进一步检查及治疗。20 d前无明显诱因再次因腹泻后出现腹水, 伴恶心、纳差、尿少, 为进一步治疗转入本院。患者无肝炎病史, 饮酒20年, 100 g/d。未发现药物、食物过敏史。入院后专科查体: 一般情况良好, 眼睑无水肿, 皮肤、巩膜无黄染, 未见肝掌、蜘蛛痣。心肺无异常。腹软、膨隆, 未见腹壁静脉曲张, 全腹无压痛, 肝脾肋下未及, 移动性浊音(++), 左踝部轻度浮肿。实验室检查: 血白细胞 $9.15 \times 10^9/L$, 嗜酸性粒细胞22.7%, 嗜酸性粒细胞计数 $2.08 \times 10^9/L$ 。肝肾功能、蛋白水平正常, 总胆红素 $29.8 \mu\text{mol/L}$, 直接胆红素 $7.8 \mu\text{mol/L}$ 。乙肝两对半均为阴性。抗中性粒细胞胞浆抗体(-), 抗核抗体(-), 抗线粒体抗体(-), 补体C3、补体C4不高, IgA、IgG、IgM都不高。大便饱和盐水未找到虫卵, 肝吸虫抗体(-), 肺吸虫抗体(-), 血吸虫抗体(-), 包虫抗体(-), 囊虫抗体(-), PPD(-), SR 7 mm/h。B超示肝

回声改变, 胆囊内胆汁淤积, 腹腔积液。腹水: 黄, 稍混浊, 李凡他阳性, WBC $10.25 \times 10^9/L$, 嗜酸性粒细胞数为 $9.22 \times 10^9/L$ (占0.90), 白蛋白20.8 g/L。骨髓: 粒系增生活跃, 嗜酸比例明显增多占16%。胃镜示: 浅表性胃炎, 十二指肠炎。胃镜病理示: 慢性炎症, 没有报嗜酸粒细胞增多及浸润。联系病理科做嗜酸染色, 结果证实: 黏膜层大量嗜酸粒细胞浸润。治疗: 双氢克尿噻、安体舒通小剂量利尿及对症治疗5 d后, 腹泻停止。复查血白细胞 $8.36 \times 10^9/L$, 嗜酸性粒细胞25.4%, 嗜酸性粒细胞计数 $2.78 \times 10^9/L$ 。彩超示少量腹水。给予强的松30 mg qd治疗4 d后复查嗜酸细胞5.02%, 嗜酸细胞计数 $0.53 \times 10^9/L$, 彩超示腹水消失。继续治疗3 d后停药, 随访1 mo未见复发。

2 讨论

嗜酸性胃肠炎(eosinophilic gastroenteritis, EG)是以胃肠道组织中嗜酸粒细胞异常浸润为特征的罕见胃肠道疾病, 病变可累及从食管到直肠的全胃肠道壁各层, 典型病例多见于30-40岁患者, 但可发生于任何年龄。EG分为3型: (1)黏膜病变型, 最常见, 表现为黏膜内大量嗜酸性粒细胞浸润, 伴明显的上皮细胞异常, 肠绒毛可完全消失, 以消化吸收不良症状为主要表现。(2)肌层病变型, 较少见, 浸润以肌层为主, 胃肠壁增厚, 僵硬, 呈结节状, 可致胃肠梗阻。(3)浆膜病变型, 罕见, 浸润以浆膜为主, 浆膜增厚, 并可累及肠系膜淋巴结, 可引起腹膜炎、腹水。腹腔镜或剖腹探查活检可见浆膜下嗜酸粒细胞浸润, 腹水中可见大量嗜酸粒细胞。以上3型可单独出现或混合出现。

EG的病因不甚明确, 一般认为是由外源性或内源性过敏原引起的变态反应所致。近半数患者个人或家族有哮喘、过敏性鼻炎、湿疹或荨麻疹等病史; 部分患者的症状可由某些食物如牛奶、蛋类、羊肉、海虾或某些药物诸如磺胺、痢特灵和消炎痛等诱发^[1], 其发病机制可能为易致敏的食物、药物等通过消化系时使黏膜免疫系统被活化、致敏, T淋巴细胞释放细胞因子作用于造血干细胞, 引起嗜酸性粒细胞增多。

临床上消化系症状并无特异性, 确诊需组织学证实胃肠道组织大量嗜酸性粒细胞浸润^[2]。Talley^[3]提出的诊断标准: (1)有胃肠道症状; (2)病理活检证实有一个或一个以上部位的嗜酸性粒细胞浸润; (3)除外寄生虫感染和胃肠道外嗜酸性粒细胞增多的疾病。外周血及骨髓中嗜酸

■ 研究前沿

EG的病因、发病机制目前尚不清楚。一般认为是由外源性或内源性过敏原引起的变态反应所致。

■同行评价
本文具有一定的
临床意义。

性粒细胞增多是诊断EG的重要提示,腹水嗜酸性粒细胞升高对诊断EG有重要意义,内镜下黏膜活检证实胃肠道黏膜组织有嗜酸性粒细胞浸润(>20个/HP),是诊断EG的关键^[4]。胃肠道嗜酸性粒细胞浸润常呈局灶性分布,内镜下黏膜活检可能为阴性表现,因此内镜下多点活检(6点以上)可有效提高诊断率^[5]。

此种病例易误诊漏诊。文献报道确诊时间1 mo到8年不等^[6]。结合本文病例及文献复习,分析误诊原因:(1)对EG认识不足。对有消化不良症状的患者常规治疗无效,尤其有过敏史或进食某类食物、药物后出现胃肠道症状应警惕EG可能。但据文献报道,仍有近一半的患者无食物过敏史。本文2例未发现药物及食物过敏史,1例本次发病可疑与连续高蛋白饮食有关;(2)血常规:有消化系症状、血常规中嗜酸性粒细胞轻-中度增高,排除寄生虫感染的患者应警惕EG的可能。如嗜酸性粒细胞中-重度增高,则注意排除原发性血液系统疾病(淋巴瘤、骨髓增殖性疾病等)、免疫性疾病、嗜酸粒细胞白血病、特发性嗜酸粒细胞增多症等。本文2例外周血嗜酸性粒细胞22.7%-46.99%,嗜酸性粒细胞计数 2.08×10^9 - 5.95×10^9 /L,大便饱和盐水未找到虫卵,肝吸虫抗体(-),肺吸虫抗体(-),血吸虫抗体(-),包虫抗体(-),囊虫抗体(-),骨髓嗜酸比例明显增多16%-25%,排除了寄生虫感染及血液系统疾病;(3)腹水:不明原因的腹水患者要考虑EG的可能。不要想当然认为是肝硬化腹水,可结合生化和B

超排除之。腹水离心沉渣涂片染色进行细胞分类有重要意义。本文2例腹水嗜酸性粒细胞数占0.57-0.90,明显升高;(4)内镜活检阳性率普遍不高。对一般炎性病变不活检或活检的点数及深度不够,是造成漏诊的重要原因,阴性的可考虑做嗜酸染色。本文2例胃黏膜活检阴性,估计活检点数及深度不够有关,但1例做嗜酸染色阳性支持诊断,避免了误诊漏诊的发生。

本病为自限性变态反应性疾病,可反复发作,长期随访未见恶变,多数预后良好。疾病发作后用糖皮质激素可迅速控制症状。EG临床上较为罕见,症状表现多样。易发生误诊漏诊。临床对原因不明的腹水,应警惕嗜酸细胞性胃肠炎可能。

3 参考文献

- 1 潘国宗,曹世植.现代胃肠病学.第2版.北京:科学出版社,1994:1177-1180.
- 2 郑琴芳,梁列新,梁荣新.以消化道症状为主要表现的嗜酸性粒细胞增多症14例.实用医学杂志 2007; 3: 1686-1687
- 3 Talley NJ, Shorter RG, Phillips SF, Zinsmeister AR. Eosinophilic gastroenteritis: a clinicopathological study of patients with disease of the mucosa, muscle layer, and subserosal tissues. *Gut* 1990; 31: 54-58 [PMID: 2318432]
- 4 康晋,秦耿.嗜酸细胞性胃肠炎的诊治.中日友好医院学报 2012; 26: 236-238
- 5 张安忠,杨崇美,崔凯.嗜酸细胞性胃肠炎的临床和内镜特点.中国内镜杂志 2007; 13: 602-604
- 6 Wienand B, Sanner B, Liersch M. [Eosinophilic gastroenteritis as an allergic reaction to a trimethoprim-sulfonamide preparation]. *Dtsch Med Wochenschr* 1991; 116: 371-374 [PMID: 2001640]

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), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如 $37.6\text{ }^\circ\text{C} \pm 1.2\text{ }^\circ\text{C}$, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 应为 $3.56\text{ ng/L} \pm 0.27\text{ ng/L}$. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $1 \times 10^9/\text{L}$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r 明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 与 $5 \times 10^{-7}\text{ g}$ 之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量 γ 改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数值的文句中, 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, 95 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \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1的精度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1 000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, E-mail: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcyj@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcgy.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部.

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

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

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

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

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

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

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

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!

白浪 副教授

四川大学华西医院感染性疾病中心

蔡开琳 副教授

华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

杜雅菊 教授

哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

樊晓明 教授

复旦大学附属金山医院消化科

冯志杰 主任医师

河北医科大学第二医院消化内科

葛海燕 教授

同济大学附属第十人民医院普通外科

郭晓钟 教授

沈阳军区总医院消化内科

郝丽萍 副教授

华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

何敏 教授

广西医科大学医学科学实验中心

何松 教授

重庆医科大学附属第二医院消化内科

季国忠 教授

南京医科大学第二附属医院消化科

姜春萌 教授

大连医科大学附属第二医院消化科

姜相君 主任医师

青岛市市立医院消化科

李涛 副主任医师

北京大学人民医院肝胆外科

李瑜元 教授

广州市第一人民医院内科

刘丽江 教授

江汉大学医学院病理学

刘亮明 副教授

上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科

缪应雷 主任医师

昆明医科大学第一附属医院消化内科

宁钧宇 副研究员

北京市疾病预防控制中心卫生毒理所

齐清会 教授

大连医科大学附属第一医院

邱伟华 主任医师

上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

唐文富 副教授

四川大学华西医院中西医结合科

王刚 副研究员

哈尔滨医科大学附属第一医院肝胆外科(普外二科)

王江滨 教授

吉林大学中日联谊医院

王来友 副教授

广东药学院中医药研究院

肖秀英 副主任医师

上海市徐汇区中心医院肿瘤科

杨柏霖 副主任医师

南京中医药大学附属医院

杨江华 副教授

皖南医学院弋矶山医院感染科

俞继卫 副主任医师

上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科(胃肠外科)

张力为 副教授

新疆医科大学第一附属医院胸外科

智绪亭 教授

山东大学齐鲁医院普外科

周晓武 副主任医师

中国人民解放军空军总医院普外科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：



2012年1月

图书馆



百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079



9 771009 307056

03>