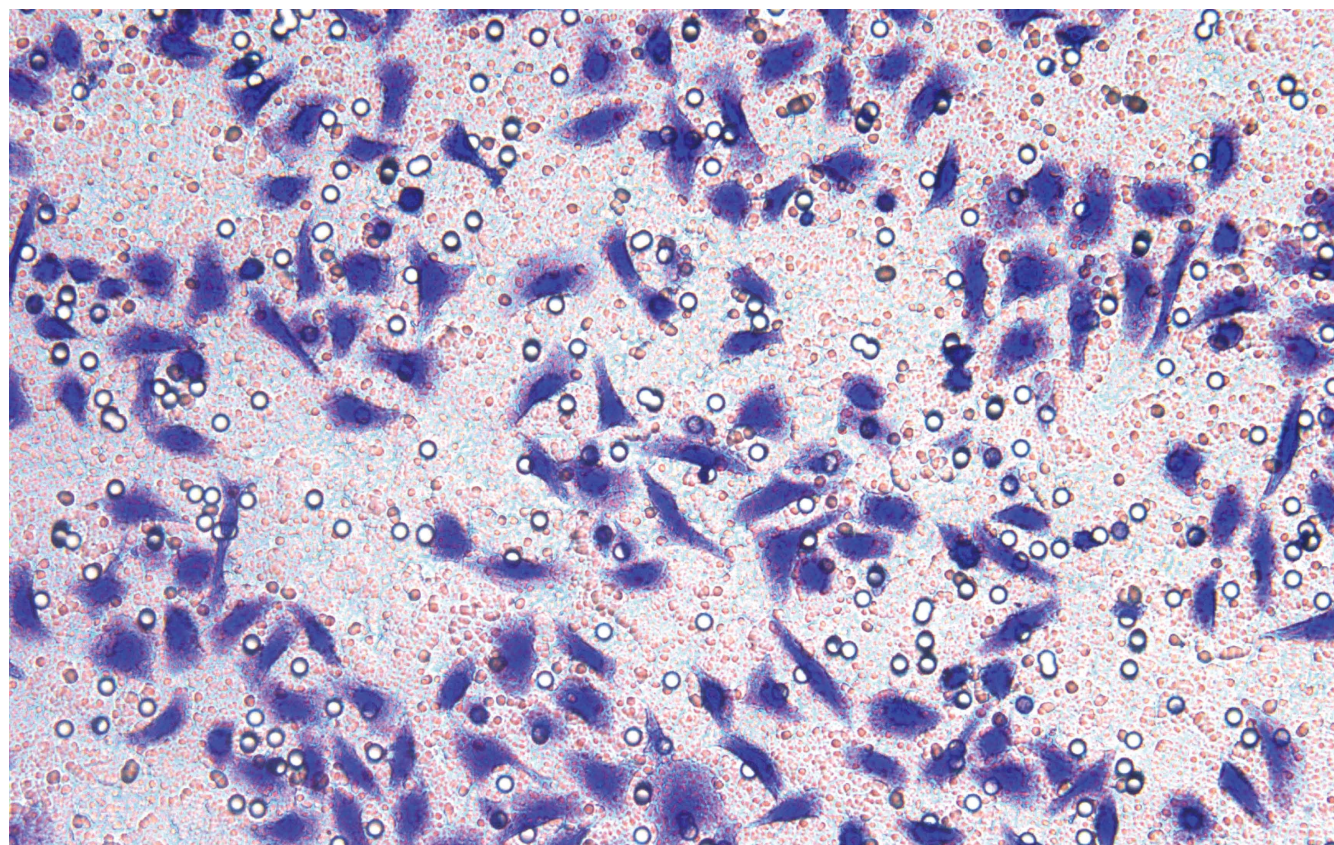


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014年12月28日 第22卷 第36期 (Volume 22 Number 36)



36/2014

ISSN 1009-3079



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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

编委

消化内科学

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

房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
甘华田教授
高凌副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
关晓辉主任医师
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
何继满教授
何松教授
洪天配教授
黄培林教授
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘亮明副教授
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
朴云峰教授

秦成勇教授
任粉玉教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
度必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学
白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师

陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凜教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅思源副教授
傅晓辉副教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾国利副主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
郝立强副教授
何超教授
何向辉教授
何晓顺教授
何裕隆教授
胡安斌副教授
黄志勇教授
季加孚教授
姜卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇教授
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
吴江锋教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014年12月28日 第22卷 第36期 (总第476期)

基础研究

- 5579 PUR α 通过上皮间叶转化促进食管癌细胞KYSE 510的侵袭和转移
郭志敏, 李薇, 赵晓航
- 5587 PI3K/Akt信号通路及SP1在VEGF上调胃癌细胞MRP1中的作用
李娟, 许文林, 冷加燕
- 5594 白藜芦醇对抗酒精诱导的SH-SY5Y细胞损伤作用: 氧化应激与凋亡
王明娟, 耿永芝, 刘景华, 侯志平, 何培元
- 5602 外源性硫化氢在PI3K/Akt通路对大鼠纤维化肝细胞增殖、凋亡的影响
岳雅伦, 宋丽秀, 郑娜娜, 张传峰, 张宁, 韩延智, 陈卫刚, 郑勇

临床研究

- 5609 早期肠内营养加培菲康对重症急性胰腺炎患者血浆中炎症介质水平变化的效果
李进, 王娟, 徐艳琴
- 5615 便秘型肠易激综合征与功能性便秘患者精神心理的比较
张庆, 张庆霞, 左绪艳, 肖安华, 谭小平
- 5623 p85a与nm23、MMP-2在大肠癌原发灶和淋巴结内转移癌中的表达及临床意义
思蓉, 吴淑华, 何双, 温菲菲

文献综述

- 5631 针刺治疗胃食管反流病的研究进展
吴玲玲, 林征
- 5636 自然杀伤细胞在乙型肝炎病毒感染中的作用
吴韶飞, 周振华, 孙兴华, 朱晓骏, 李曼, 张鑫, 高月求
- 5643 自然杀伤细胞功能与维生素信号调节在免疫性肝病中的研究进展
焦国慧, 王邦茂, 周璐
- 5648 溃疡性结肠炎栓剂治疗的研究进展
杨坤, 唐志鹏
- 5653 肠道菌群与大肠癌发病相关性的研究进展
熊一白, 朱惠蓉, 程悦蕾, 余志红, 柴妮

研究快报

- 5659 生长抑素对裸鼠人胃癌种植瘤内VEGF和bFGF表达的影响
邵国庆, 张南征
- 5665 Twist2诱导上皮细胞间质转分化对结肠癌的增殖和迁移的影响
李义

临床经验

- 5671 新络纳联合耐信治疗胃食管反流病的临床效果比较
王艳萍, 姬林松, 倪猛, 樊宏伟, 沙金苹
- 5675 经典与改良Ivor-Lewis手术治疗对中下段食管癌患者肺功能和术后并发症的影响
杨丽, 段东奎, 金哲, 李伟, 张耕瑞, 王俊钢
- 5680 HIF-1 α 、COX-2在疣状胃炎患者胃黏膜组织中的表达及临床意义
吴县斌, 苏东星, 潘志刚, 陆才金, 陈庆洲, 战廷正
- 5684 中药方联合TCF方案化疗改善中晚期胃癌患者的疗效评价
刁隽丽, 彭波
- 5688 三镜联合胆囊切除及胆道探查术治疗急性梗阻性化脓性胆管炎的临床效果
牛海刚, 高瑞忠, 朱福义, 张国锋
- 5693 梗阻性黄疸行ERCP或PTCD/PTGD术收取胆汁行细菌培养99例
朱晓丹, 陈卫刚, 韩岩智, 尚国臣, 郑勇
- 5699 腹腔镜联合胆道镜与传统开腹手术治疗胆总管结石的临床疗效对比
程利民, 刘洋, 孙志德, 刘淑敏, 张学军
- 5703 优质护理在急诊胆囊切除术中的应用效果
陈桂英
- 5707 高海拔地区重症急性胰腺炎的早期危险因素
孔祥才, 张方信, 高娟, 周毅, 邓芝云, 陈嘉屿, 张久聪, 王彪猛, 王秀峰, 张潇艺
- 5712 小肠CT仿真内镜对小肠疾病的诊断价值
陈龙华, 卢禹, 贾西中, 张武, 张书仁
- 5716 自制胶囊内镜辅助推送器的临床应用
黄文柱, 罗先桃, 林凤英, 钟晓文
- 5721 人巨细胞病毒感染与难治性溃疡性结肠炎相关性的系统评价
赵海明, 赵正兰, 罗玉明, 郭睿, 沈虹
- 5732 TRPV6、Ki-67在溃疡性结肠炎、结肠癌中的表达及意义
张慧, 刘模荣, 刘微
- 5737 老年消化系肿瘤贫血患者血红蛋白和红细胞体积及细胞免疫的临床意义
杨华强, 张荣环, 李红, 李玉玲, 覃骏, 鲍红霞
- 5742 护理干预联合CLS生物治疗对消化系统肿瘤患者的预后影响
张琳, 孙雯雯, 付丽娜
- 5746 消化内科常用药物多潘立酮人体内药物代谢动力学影响
赵传勇, 丁艳芳, 梁辉, 李玲

病例报告

- 5750 肝细胞腺瘤1例
舒德军, 彭慈军, 朱洪江, 梅永, 李雄雄, 李伟男
- 5754 超声内镜诊断胰腺内分泌肿瘤2例
艾启雄, 吴会超

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	5586 《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 5593 《世界华人消化杂志》栏目设置 5601 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 5630 《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) 5670 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 5683 《世界华人消化杂志》正文要求 5693 《世界华人消化杂志》出版流程 5711 《世界华人消化杂志》修回稿须知 5720 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 5731 《世界华人消化杂志》外文字符标准 5741 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 5745 《世界华人消化杂志》参考文献要求
封面故事	郭志敏, 李薇, 赵晓航. PUR α 通过上皮间叶转化促进食管癌细胞KYSE 510的侵袭和转移. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5579-5586 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5579.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5579
本期责任人	编务 李香; 送审编辑 闫晋利, 都珍珍; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 郭鹏; 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 2014-12-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

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

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

郭鹏, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035 手机: 18311378628

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 Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

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

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

December 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 36

BASIC RESEARCH

- 5579 Purine-rich element binding protein alpha promotes invasion and migration of esophageal squamous cell carcinoma KYSE 510 cells by inducing epithelial-mesenchymal transition
Guo ZM, Li W, Zhao XH
- 5587 Role of PI3K/Akt and SP1 in VEGF induced up-regulation of MRP1 in gastric cancer cell line BGC-823
Li J, Xu WL, Leng JY
- 5594 Protective effects of resveratrol against alcohol-induced oxidative stress and apoptosis in human SH-SY5Y cells
Wang MJ, Geng YZ, Liu JH, Hou ZP, He PY
- 5602 Exogenous hydrogen sulfide promotes proliferation and inhibits apoptosis of hepatocytes via PI3K/Akt pathway
Yue YL, Song LX, Zheng NN, Zhang CF, Zhang N, Han YZ, Chen WG, Zheng Y

CLINICAL RESEARCH

- 5609 Effect of early enteral nutrition with Bifico on levels of inflammatory mediators in plasma of patients with severe acute pancreatitis
Li J, Wang J, Xu YQ
- 5615 Comparison of psychological characteristics between patients with irritable bowel syndrome with constipation and those with functional constipation
Zhang Q, Zhang QX, Zuo XY, Xiao AH, Tan XP
- 5623 Clinical significance of expression of p85a, nm23 and MMP-2 in primary colorectal cancer and lymph node metastasis
Si R, Wu SH, He S, Wen FF

REVIEW

- 5631 Recent advances in treatment of gastroesophageal reflux disease by acupuncture
Wu LL, Lin Z
- 5636 Role of natural kill cells in hepatitis B virus infection
Wu SF, Zhou ZH, Sun XH, Zhu XJ, Li M, Zhang X, Gao YQ
- 5643 Role of natural killer cells and vitamin signaling in autoimmune liver disease
Jiao GH, Wang BM, Zhou L
- 5648 Suppositories for treatment of ulcerative colitis
Yang K, Tang ZP
- 5653 Gut microbiome and risk for colorectal cancer
Xiong YB, Zhu HR, Cheng YL, Yu ZH, Chai N

RAPID COMMUNICATION

- 5659 Effect of somatostatin on expression of VEGF and bFGF in human gastric cancer xenografts in nude mice
Shao GQ, Zhang NZ
- 5665 Twist2 promotes colon cancer progression by inducing epithelial-mesenchymal transition
Li Y

**CLINICAL
PRACTICE**

- 5671 Clinical effects of esomeprazole combined with mosapride for treatment of gastroesophageal reflux disease
Wang YP, Ji LS, Ni M, Fan HW, Sha JP
- 5675 Influence of classic vs modified Ivor-Lewis procedure on lung function and postoperative complications in patients with middle-lower thoracic esophageal carcinoma
Yang L, Duan DK, Jin Z, Li W, Zhang GR, Wang JG
- 5680 HIF-1 α and COX-2 expression in varioliform gastritis
Wu XB, Su DX, Pan ZG, Lu CJ, Chen QZ, Zhan TZ
- 5684 Impact of traditional Chinese medicine combined with TCF regimen chemotherapy on quality of life in patients with advanced gastric cancer
Xi JL, Peng B
- 5688 Clinical effects of duodenoscopy, laparoscopy, and choledochoscopy combined with cholecystectomy and common bile duct exploration in treatment of acute obstructive suppurative cholangitis
Niu HG, Gao RZ, Zhu FY, Zhang GF
- 5693 Bacterial culture of bile harvested from obstructive jaundice patients by ERCP or PTCD/PTGD drainage: Analysis of 99 cases
Zhu XD, Chen WG, Han YZ, Shang GC, Zheng Y
- 5699 Clinical effects of laparoscopy combined with choledochoscopy vs open surgery for common bile duct stones
Cheng LM, Liu Y, Sun ZD, Liu SM, Zhang XJ
- 5703 Clinical effects of emergency cholecystectomy combined with quality care in treatment of patients with acute cholecystitis
Chen GY
- 5707 Risk factors for prognosis in patients with severe acute pancreatitis in high altitude areas
Kong XC, Zhang FX, Gao J, Zhou Y, Deng ZY, Chen JY, Zhang JC, Wang BM, Wang XF, Zhang XY
- 5712 Diagnostic value of CT virtual endoscopy in small bowel disease
Chen LH, Lu Y, Jia XZ, Zhang W, Zhang SR
- 5716 Clinical application of a self-made capsule endoscope pusher
Huang WZ, Luo XT, Lin FY, Zhong XW
- 5721 Relationship between human cytomegalovirus infection and refractory ulcerative colitis: A meta-analysis
Zhao HM, Zhao ZL, Luo YM, Guo R, Shen H
- 5732 TRPV6 and Ki-67 expression in ulcerative colitis and colon carcinoma
Zhang H, Liu MR, Liu W
- 5737 Changes in hemoglobin, red blood cell volume and cellular immunity in elderly patients with gastrointestinal tumors and anemia
Yang HQ, Zhang RH, Li H, Li YL, Qin J, Bao HX
- 5742 Nursing intervention combined with CLS biological therapy improves prognosis of patients with digestive system tumors
Zhang L, Sun WW, Fu LN
- 5746 Pharmacokinetics of different domperidone preparations in humans
Zhao CY, Ding YF, Liang H, Li L

**CASE
REPORT**

- 5750 A case of hepatocellular adenoma
Shu DJ, Peng CJ, Zhu HJ, Mei Y, Li XX, Li WN
- 5754 Two cases of pancreatic endocrine tumors diagnosed by endoscopic ultrasonography
Ai QX, Wu HC

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	<i>Guo ZM, Li W, Zhao XH.</i> Purine-rich element binding protein alpha promotes invasion and migration of esophageal squamous cell carcinoma KYSE 510 cells by inducing epithelial-mesenchymal transition. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2014; 22(36): 5579-5586 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5579.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5579
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xiang Li</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Zhen-Zhen Du</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Peng Guo</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date December 28, 2014

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathol

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

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Peng Guo, 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 18311378628
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wjcd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bjpgoffice@wjgnet.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 Inc. 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 journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, and not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

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.

PUR α 通过上皮间叶转化促进食管癌细胞KYSE 510的侵袭和转移

郭志敏, 李薇, 赵晓航

郭志敏, 李薇, 赵晓航, 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室北京市100021
郭志敏, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤癌变机制的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81372591
国家高技术发展计划“863”基金资助项目, No. 2012AA020206
国家重点基础研究发展计划“973”基金资助项目, No. 2011CB910703
作者贡献分布: 本课题由赵晓航设计; 研究过程由郭志敏与李薇操作完成; 数据分析由郭志敏完成; 论文起草由郭志敏与李薇完成; 文章修改及审阅由赵晓航完成。
通讯作者: 赵晓航, 研究员, 100021, 北京市朝阳区潘家园南里17号, 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室. zhaoxh@cicams.ac.cn
电话: 010-67709015 传真: 010-87778360
收稿日期: 2014-09-30 修回日期: 2014-11-03
接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Purine-rich element binding protein alpha promotes invasion and migration of esophageal squamous cell carcinoma KYSE 510 cells by inducing epithelial-mesenchymal transition

Zhi-Min Guo, Wei Li, Xiao-Hang Zhao

Zhi-Min Guo, Wei Li, Xiao-Hang Zhao, State Key Laboratory of Molecular Oncology, Cancer Institute & Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100021, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81372591; the State “863” High Technology R & D Project of China, No. 2012AA020206; and the State Key Development Program for Basic Research of China (973), No. 2011CB910703
Correspondence to: Xiao-Hang Zhao, Researcher, State Key Laboratory of Molecular Oncology, Cancer Institute & Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, 17 Panjiayuan, Chaoyang District, Beijing 100021, China. zhaoxh@cicams.ac.cn
Received: 2014-09-30 Revised: 2014-11-03
Accepted: 2014-11-12 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To investigate the role of purine-rich element binding protein alpha (PUR α) in the invasion and migration of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) KYSE 510 cells and the underlying mechanisms.

METHODS: An ESCC cell line overexpressing PUR α (KYSE 510-PUR α) was established, and the expression levels of epithelial-mesenchymal transition associated proteins were determined by comparing with control cells transfected with an empty vector of pCMV6 (KYSE 510-pCMV6). The expression of E-cadherin and vimentin was analyzed by Western blot and immunofluorescent staining. The capabilities of invasion and migration of cancer cells were assessed *via* transwell and wound healing assays.

RESULTS: PUR α was overexpressed in KYSE 510 cells transfected with the pCMV6- PUR α vector. The expression of E-cadherin was reduced, and that of Vimentin, N-cadherin and Snail was increased in KYSE 510-PUR α cells. Most strikingly, the cell morphology was changed as fibroblasts and the abilities of migration and invasion were altered.

CONCLUSION: Our data suggest that regulation of PUR α expression in ESCC cells may induce esophageal epithelial-mesenchymal transition.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: PUR α ; Esophageal squamous cell carcinoma; Epithelial-mesenchymal transition

Guo ZM, Li W, Zhao XH. Purine-rich element binding protein alpha promotes invasion and migration of esophageal squamous cell carcinoma KYSE 510 cells by inducing epithelial-mesenchymal transition. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5579-5586 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5579.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5579>

摘要

目的: 富含嘌呤元件结合蛋白 α (purine-rich element binding protein alpha, PUR α)是调控细胞周期和恶性转化的关键因子. 本研究旨在探讨在食管鳞状细胞癌中转录因子PUR α 蛋白的多种功能及其相关机制.

■背景资料

食管癌是我国常见恶性肿瘤之一, 具有进展较快, 易发生淋巴结转移, 预后较差的特点, 而他的侵袭和转移是与食管癌预后密切相关的重要生物学特性. 细胞上皮间叶改变对于肿瘤细胞的侵袭有重要的影响.

■同行评议者

李苏宜, 教授, 主任医师, 安徽省肿瘤医院肿瘤内科

■ 研究前沿

在肿瘤的侵袭转移过程中细胞上皮间叶转化具有重要作用,这一过程受多种转录因子的调节.富含嘌呤元件结合蛋白 α (purine-rich element binding protein alpha, PUR α)在细胞生长过程中扮演着多种角色,研究PUR α 作为转录因子对阐明食管癌细胞侵袭转移机制有重要意义.

方法: 构建过表达PUR α 蛋白的食管癌细胞KYSE510-PUR α 和pCMV6空载体转染的对照食管癌细胞KYSE 510-pCMV6.用蛋白免疫印迹和细胞免疫荧光分析检测过表达PUR α 蛋白的食管癌细胞和对照食管癌细胞中上皮间叶转变相关蛋白的表达差异,如E-钙黏蛋白和波形蛋白等;采用细胞划痕实验和Transwell小室检测食管癌细胞的侵袭转移能力.

结果: 成功构建过表达PUR α 的食管癌细胞.蛋白免疫印迹和免疫荧光分析表明,与对照细胞相比,过表达PUR α 的食管癌细胞中E-钙黏蛋白的表达减少, N-钙黏蛋白、波形蛋白和Snail蛋白表达升高.引人注目的是,过表达PUR α 的食管癌细胞的划痕愈合能力增强,侵袭性显著增加.与此同时,细胞形态发生了纤维样改变,呈现上皮间叶转化表型.

结论: PUR α 能通过调控食管鳞癌细胞上皮间叶转化而促进肿瘤细胞的侵袭转移能力.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 富含嘌呤元件结合蛋白 α ; 食管鳞状细胞癌; 上皮间叶转化

核心提示: 过表达富含嘌呤元件结合蛋白 α (purine-rich element binding protein alpha, PUR α)的食管癌细胞划痕愈合能力增强,侵袭性显著增加.同时,细胞形态发生了纤维样改变,呈现上皮间叶转化表型.说明PUR α 具有调控食管癌细胞运动和上皮间叶转变的作用,并间接影响食管癌的侵袭和转移.

郭志敏, 李薇, 赵晓航. PUR α 通过上皮间叶转化促进食管癌细胞KYSE 510的侵袭和转移. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5579-5586 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5579.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5579>

0 引言

食管癌是我国常见恶性肿瘤之一,其发病率居我国恶性肿瘤第4位^[1].食管癌的主要组织学类型包括食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)和食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EA)两种,ESCC是我国食管癌的主要组织类型^[2].食管癌进展较快,易发生淋巴结转移,预后较差,5年生存率<10%^[3-5].侵袭和转移是与食管癌预后差密切相关的重要生物学特性.因此,探讨食管癌细胞侵袭转移的分子机制对认识食管癌癌变机制,寻找新的治疗方法具有重要意义.

细胞上皮间叶改变(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是胚胎发育、组织重建和伤口修复的基础过程,同时也是肿瘤细胞突破基质束缚,进入循环系统发生远处转移的重要机制^[6].在这一过程中,上皮细胞由于受到某种外界信号的刺激和内源转录因子的影响,获得了间叶样的表型,由多角形叠瓦状排列转变为梭形不规则排列,同型黏附能力减弱,异型黏附能力和运动能力增强.生长因子信号在大多数情况下诱导许多转录因子表达,而转录因子对细胞上皮间叶转变具有关键作用,如Snail-1/2、Zeb-1/2和Twist等为强有力的抑制性转录因子,可抑制维持上皮极性和组织结构的基因的表达^[7,8].其中Snail作为参与上皮间叶转变过程重要的转录因子,通过直接抑制E-cadherin转录和间接促进间叶表型分子如Vimentin、N-cadherin的转录从而促使细胞上皮间叶转变^[9].许多转录因子在细胞EMT转变的不同阶段发挥调控作用^[10].

富含嘌呤元件结合蛋白 α (purine-rich element binding protein alpha, PUR α)是PUR蛋白家族成员之一,能结合单链或双链DNA以及RNA,从而在DNA复制和RNA转录与翻译过程中发挥重要作用^[11].研究^[12]表明,转录因子PUR α 与多种肿瘤的形成和脑肿瘤的发育密切相关. PUR α 在DNA复制中双链DNA的解旋过程中起着重要的作用,同时能与单链DNA或RNA结合,促进后者的不稳定性^[13].我们前期工作^[14]发现, PUR α 转录因子可通过与E2F1和Pol II相互作用而结合到CASP8的第二个启动子,影响CASP8基因G亚型的表达.本研究对比食管癌KYSE 510细胞过表达PUR α 前后,食管癌细胞划痕愈合、迁移和上皮间叶转变相关表型改变,发现PUR α 具有调控食管癌细胞运动和上皮间叶转变的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 人食管癌细胞KYSE 510由日本兵库县医学院Shimada Y教授惠赠. RPMI 1640和Opti-MEM培养液、LipofectamineTM 2000购自Gibco/BRL公司(Grand land, NY, USA)公司;胎牛血清购自PAA公司(Pasching, Austria);兔抗人Snail和PUR α 多克隆抗体购自Abcam(Cambridge, UK)公司;小鼠抗人E-cadherin单克隆抗体购自BD Transduction Lab(Lexington, KY, USA);小鼠抗人 β -actin单克隆抗体购自Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA);小鼠抗人Flag单克隆抗体和pCMV6-Entry-PUR α 真核基因表达质粒购自

Origene公司(Rockville, MD, USA); Alexa 488标记荧光二抗购自Invitrogen(Carlsbad, CA, USA); 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔和抗鼠二抗购自中杉金桥生物技术公司(北京, 中国); DH5 α 大肠杆菌感受态细胞购自北京天根生物技术公司; pCMV6-Entry-PUR α 质粒购自Origene(Rockville, USA); 倒置相差和Nikon E400荧光显微镜为Nikon(Japan)产品; TCS SP2共聚焦显微镜为Leica产品; LAS4000图像分析仪为GE公司产品; 细胞培养箱购自NAPCO(Winchester, VA, USA).

1.2 方法

1.2.1 过表达PUR α 食管癌稳定细胞株构建与筛选: pCMV6-Entry-PUR α 为SV40启动子驱动的, 带有青霉素和新霉素抗性基因的PUR α 真核基因表达载体, 其重组PUR α 蛋白C端带有Myc和Flag标签. 将处于对数生长期的KYSE 510细胞接种于6孔板, 细胞密度为80%汇合度. 分别用150 μ L Opti-MEM培养基稀释1 μ g质粒DNA和4 μ L LipofectamineTM 2000试剂, 将二者混合后室温放置45 min; 细胞用PBS洗2遍, 每孔加入Opti-MEM无血清培养基1 mL并逐滴加入转染试剂, 转染6 h后每孔加入1 mL含20%胎牛血清的RPMI 1640培养基, 24 h后加入800 μ g/mL的G418, 筛选和克隆化, 获得稳定表达细胞株.

1.2.2 蛋白提取和Western blot分析: 细胞经预冷的1 \times PBS洗涤3次, 加入含有蛋白酶抑制剂的RIPA buffer(50 mmol/L Tris-HCl, pH 7.4; 150 mmol/L NaCl; 1 mmol/L EDTA; 1%NP-40; 0.1%SDS)裂解细胞并收集裂解液至1.5 mL离心管中; 冰浴超声并于12000 g , 4 $^{\circ}$ C离心15 min后取上清. 考马斯亮蓝法测定蛋白质浓度, 10%SDS-PAGE电泳, 110 V恒压转膜, 10%脱脂牛奶室温封闭3 h, 加入稀释抗体于4 $^{\circ}$ C摇床上孵育过夜, 经TBST洗膜后加入二抗室温孵育1 h, 加入ECL化学发光试剂显色并在LAS4000图像分析仪中曝光和采集图像.

1.2.3 细胞爬片制备和免疫荧光分析: 将无菌盖玻片置于6孔细胞培养板中, 表面经0.01%多聚赖氨酸处理30 min; 将消化后的细胞悬液滴于爬片上, 37 $^{\circ}$ C孵箱孵育1 h后每孔加入完全培养液1 mL继续培养至30%-50%细胞汇合. 细胞爬片经4 $^{\circ}$ C预冷的1 \times PBS洗涤3次, 4%多聚甲醛室温固定30 min; 以1 \times PBS洗涤后加入0.1% Triton X-100处理10 min, 1 \times PBS洗涤3次; 2% BSA室温封闭30 min; 加入1:50稀释Vimentin或E-cadherin抗体湿盒内4 $^{\circ}$ C孵育过夜; 1 \times PBS漂

洗后, 加入1:400稀释的Alexa 488标记二抗, 室温孵育1 h; DAPI染色, 50%甘油-PBS封片, 荧光显微镜下观察.

1.2.4 细胞Transwell侵袭实验: 密度为1 \times 10⁶/L细胞悬液100 μ L接种于Fibronectin包被的Corning 24孔板Transwell小室, 下室加入600 μ L完全培养基后于37 $^{\circ}$ C孵箱孵育36 h, 取出上室, 细胞经20%甲醇固定15 min后用结晶紫染色. 倒置显微镜下计数穿膜到下层的细胞, 每张膜分别计数4个随机视野并取平均值.

1.2.5 细胞划痕实验和划痕创伤愈合修复分析: 处于对数生长期的食管癌细胞经2.5 g/L的胰酶消化后, 与含100 mL/L胎牛血清的RPMI 1640培养基混合, 制成单细胞悬液, 按每孔约3 \times 10⁵细胞密度均匀接种于预先放置有0.01%多聚赖氨酸包被的无菌盖玻片的6孔细胞培养板中, 37 $^{\circ}$ C培养至细胞融合率达到60%-70%, 用无菌200 μ L枪头沿细胞层纵轴作两道平行的划痕, 造成单层融合细胞划痕创伤模型. 沿划痕边缘等间距作4个标记作为观察点, 倒置显微镜下拍照, 此时划痕宽度作为划痕初始宽度(时间记为0 h). 观察细胞迁移能力的影响: 根据不同处理因素随机分为对照组和实验组, 根据不同处理时间, 每组又进一步分为48 h和72 h组, 各组均设3个平行对照孔. 37 $^{\circ}$ C孵育相应时间后, 在上述标记的4个相同观察点拍照, 然后1 \times PBS轻轻洗3次, 更换2 mL含100 mL/L胎牛血清的DMEM培养液继续培养. 每隔4 h拍照1次, 直至划痕愈合或基本愈合, 结束观察. 各处理组划痕的愈合速度即反映各组细胞的迁移能力^[15,16].

统计学处理 计量资料以mean \pm SD表示, 用 t 检验比较PUR α 转染前后KYSE 510细胞的侵袭和迁移能力的差异, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 建立稳定过表达PUR α 的食管癌细胞KYSE 510-PUR α 为研究PUR α 过表达对细胞的影响, 首先构建PUR α 过表达食管癌KYSE 510细胞系. 采用外源表达PUR α 的pCMV6-PUR α 载体介导转染食管鳞癌细胞KYSE 510, 经800 μ g/mL G418筛选和克隆化, 获得稳定表达PUR α 的单克隆食管癌细胞KYSE 510-PUR α 和多克隆空载体做对照细胞KYSE 510-pCMV6. 分别扩大培养后, 提取细胞总蛋白进行Western blot分析, 鉴定PUR α 的表达水平. 结果显示, 在KYSE

■ 相关报道

我们前期工作发现, PUR α 作为转录因子可通过与E2F1和Pol II相互作用而影响Caspases8不同异构体的表达. 同样有研究发现PUR α 与多种肿瘤的形成和发育密切相关, 还在胞质中参与RNA转运以及细胞致癌性转化等多种生理功能.

■ 创新盘点

本研究发现了转录因子PUR α 对细胞上皮间叶转变的影响, 转录因子PUR α 抑制E-cadherin表达, 间接促进Vimentin和N-cadherin等间叶表型分子的表达, 使细胞发生上皮间叶转变, 进而促进肿瘤细胞的侵袭和转移。

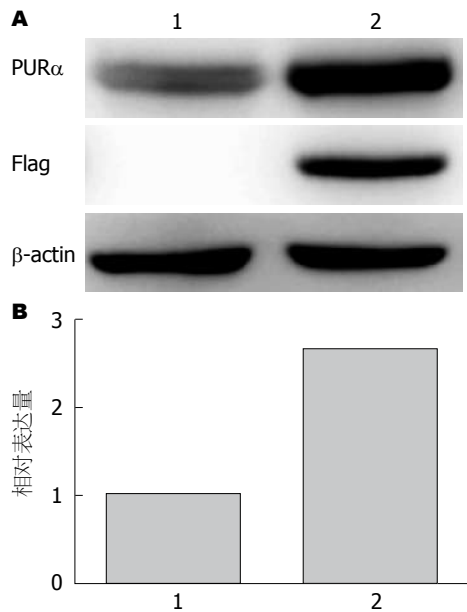


图1 稳定表达PUR α 食管癌细胞KYSE 510-PUR α 的Western blot分析和灰度扫描。A: Western blot检测PUR α 在这两种细胞中的过表达; B: 灰度扫描PUR α 的相对表达量。1: KYSE 510-pCMV6; 2: KYSE 510-PUR α 。PUR α : 富含嘌呤元件结合蛋白 α 。

KYSE 510-PUR α 中鉴定到外源表达PUR α 的标签蛋白Flag, 且分子量与PUR α 大小相同。鉴定到PUR α 蛋白的过表达, 说明稳定过表达PUR α 的食管癌细胞系构建成功(图1)。

2.2 过表达PUR α 食管癌细胞KYSE 510细胞免疫荧光分析 为检测过表达PUR α 食管癌细胞的上皮间叶转化, 采用免疫荧光法观察食管癌细胞上皮间叶转化重要标志分子E-cadherin和Vimentin的表达、定位和细胞形态改变。结果发现与转染空载体对照细胞KYSE 510-pCMV6相比, 过表达PUR α 食管癌细胞KYSE 510-PUR α 膜蛋白E-cadherin的表达明显降低, 而骨架蛋白Vimentin的表达明显升高。细胞形态由上皮样趋于纤维样改变(图2)。

2.3 过表达PUR α 增强KYSE 510细胞迁移能力 采用细胞划痕试验检测食管癌细胞迁移能力, 分别在培养的KYSE 510-PUR α 和对照KYSE 510-pCMV6食管癌细胞爬片上划痕, 并于划痕后继续培养48 h和72 h测量划痕区域愈合度。与转染空载体对照细胞KYSE 510-pCMV6相比, PUR α 过表达的KYSE 510食管癌细胞划痕区域细胞移行速度和划痕愈合率明显加快, 具有显著差异($P < 0.001$)。结果提示PUR α 过表达增强了食管癌细胞KYSE 510细胞的迁移能力(图3)。

2.4 过表达PUR α 促进KYSE 510细胞侵袭能力 采用底膜带孔并涂胶的培养小室接种癌细胞,

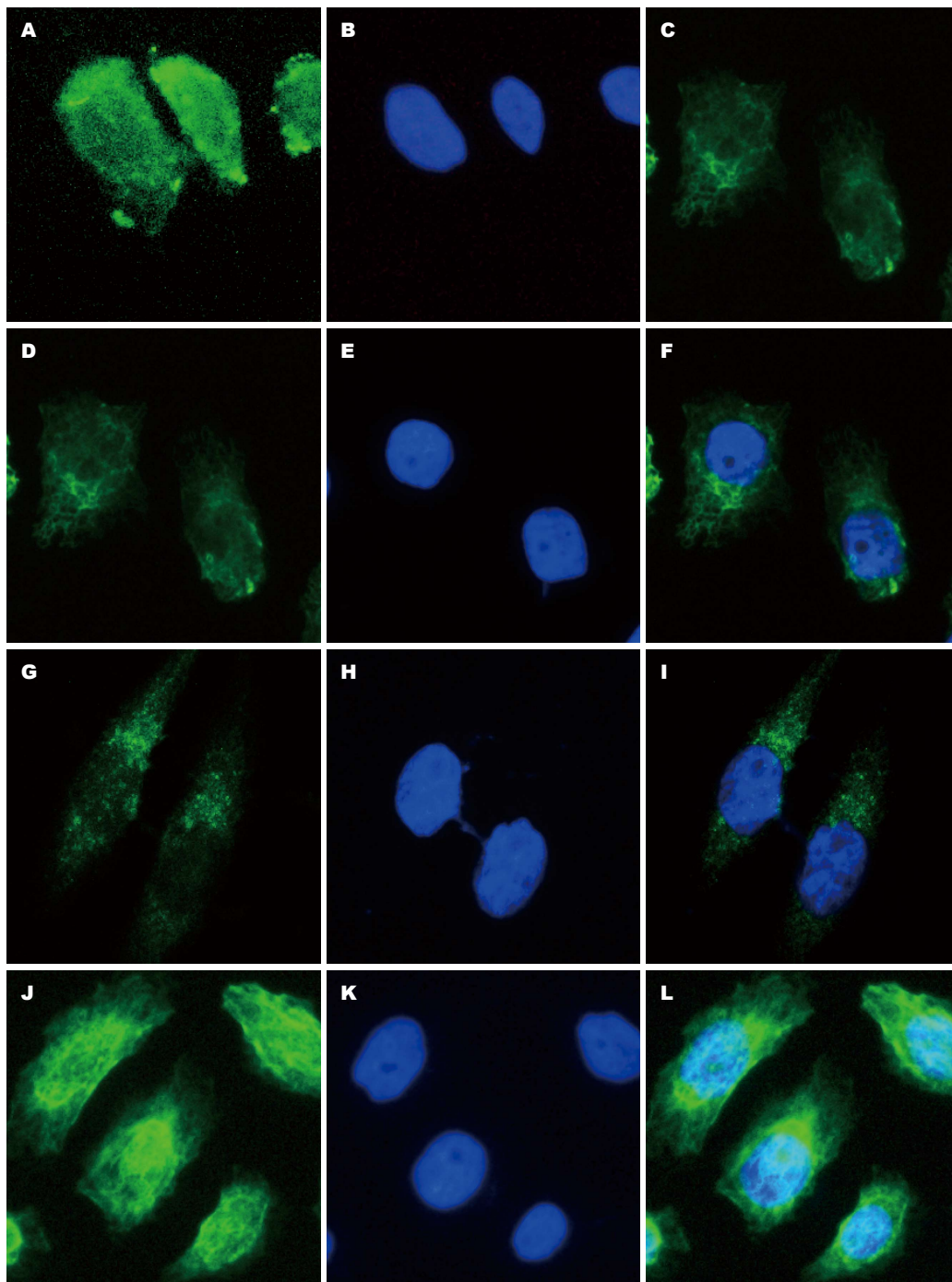
观察迁移到底膜另一面的癌细胞数目, 以此来观察癌细胞的侵袭力的变化。细胞经Transwell小室培养模型培养后, 每个小室随机抽取4个视野, 计算每个视野的细胞总数。结果发现, 经PUR α 基因转染后KYSE 510细胞穿过微孔膜的细胞数明显高于空载质粒转染组, 提示在PUR α 过表达后KYSE 510细胞的体外迁移能力有显著增强, 具有显著差异($P < 0.001$)(图4)。

2.5 过表达PUR α 促进食管癌细胞上皮间叶改变 用Western blot比较过表达PUR α 食管癌细胞和转染空载体对照细胞上皮间叶改变相关蛋白标志分子的表达变化, 结果显示KYSE 510-PUR α 细胞E-cadherin表达明显降低, 而N-cadherin、Vimentin和Snail表达明显增加, 提示PUR α 过表达促进了食管癌细胞KYSE 510细胞上皮间叶转化(图5)。

3 讨论

PUR蛋白家族包含PUR α 、PUR β 和PUR γ 三个亚型, 在进化过程中高度保守。其中PUR α 基因定位于人类染色体5q31^[17], 编码322个氨基酸, 表达一个亲单双链DNA结合蛋白, 功能多样^[18,19]。其结构由一个DNA结合结构域, 富含甘氨酸的氨基端结构域和富含谷氨酰胺与谷氨酸盐的羧基端结构域组成。研究^[20-22]发现, PUR α 蛋白与*c-MYC*基因上游的DNA复制起始区相结合, 该区域是一段约1.6 kb富含嘌呤的序列。在肿瘤发生机制的相关研究中发现PUR α 蛋白能与Pol II、E2F1等蛋白相互作用^[23], 从而影响肿瘤细胞的发生发展。另有研究^[24]发现, PUR α 蛋白参与某些化疗药物诱导的DNA损伤修复过程。PUR α 蛋白在细胞生长过程中扮演着多种角色, 通过与DNA和RNA相互作用, 并招募调节蛋白到特定的核酸序列^[25], 从而参与DNA复制与基因转录; 在胞质中参与RNA转运以及细胞周期调节和致癌性转化等多种生理功能^[26,27]。

在食管鳞癌中E-cadherin表达水平降低与低分化肿瘤, 及其侵袭和转移表型密切相关^[28]。E-cadherin是跨膜糖蛋白, 以钙离子依赖的模式介导特异的细胞间黏附, 其表达水平降低与肿瘤进展和转移相关^[29]。Vimentin是细胞骨架的重要成分之一, 主要在间叶组织来源的细胞及某些未分化细胞中表达, 在多种发生上皮间叶转变的肿瘤细胞中, E-cadherin表达下降或缺失, 而Vimentin表达异常增高。本研究通过在食管鳞癌KYSE 510细胞中过表达PUR α , 促进肿瘤细胞中E-cad-



■应用要点
 本研究发现PUR α 过表达显著增强食管鳞癌细胞发生细胞上皮间叶改变(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 使食管鳞癌细胞运动能力和侵袭转移能力增强, 为认识食管癌侵袭转移机制积累了新的数据.

图 2 细胞免疫荧光结果($\times 400$). A: KYSE 510-pCMV6细胞E-cadherin染色(绿色); D: KYSE 510-pCMV6细胞Vimentin染色(绿色); G: KYSE 510-PUR α 细胞E-cadherin染色(绿色); J: KYSE 510-PUR α 细胞Vimentin染色(绿色); B, E, H, K: DAPI对细胞核染色(蓝色); C, F, I, L: 绿色通道和蓝色通道整合图像. PUR α : 富含嘌呤元件结合蛋白 α .

herin表达降低和Vimentin的表达增高. PUR α 过表达后, KYSE 510细胞形态趋于长梭形, 具有明显的上皮间叶转变特征. 通过细部划痕实验发现, 与对照细胞相比, 48 h和72 h后转染PUR α 的食管癌KYSE 510细胞迁移能力明显增强. Transwell实验也表明, 在铺有基质胶的Transwell小室中培养36 h后, 过表达PUR α 的食管癌KYSE 510细胞的侵袭转移能力显著增加($P < 0.001$). 我们进一步

发现, 过表达PUR α 蛋白的食管癌细胞, 上皮间叶转变相关蛋白标志E-cadherin、N-cadherin、Vimentin和Snail等蛋白表达变化, 除E-cadherin表达降低外, 其他几个标志蛋白均表达升高, 说明该细胞的侵袭能力增加. PUR α 可能是作为转录因子, 通过结合到Snail基因转录调控区, 上调Snail的表达, 而Snail是参与上皮间叶转变调节的重要转录因子, 可以通过直接抑制E-cadherin

■名词解释

上皮间质转化: 在上皮细胞与周围间质的相互作用过程中由于受到某种外界信号的刺激和内源转录因子的影响, 获得间叶样表型, 由多角形叠瓦状排列转变为梭形不规则排列, 同型黏附能力减弱, 异型黏附能力和运动能力增强等。

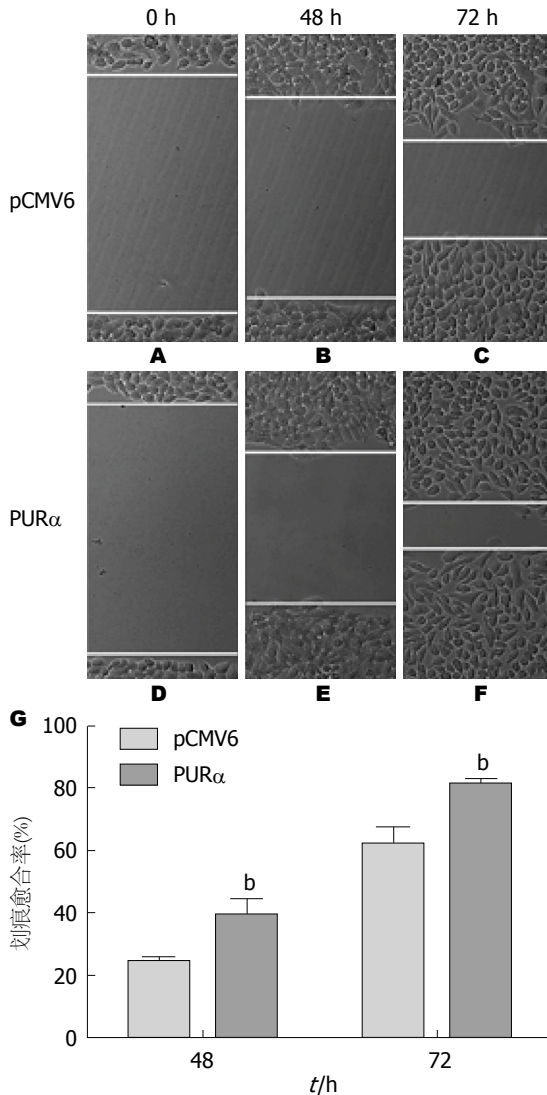


图3 划痕创伤愈合实验结果(200×)。A-C: KYSE 510-pCMV6细胞初始划痕和培养48 h和72 h时划痕; D-F: KYSE 510-PURα细胞初始划痕和培养48 h和72 h时划痕; G: 两种细胞48 h和72 h的划痕愈合率, ^b $P < 0.01$ vs pCMV6组。PURα: 富含嘌呤元件结合蛋白α。

的转录和间接促进间叶表型分子如Vimentin、N-cadherin的转录促使细胞发生上皮间叶转变^[30-33], 进而促进细胞的侵袭和转移。

本研究发现转录因子PURα通过诱导食管鳞细胞上皮间叶转变而参与食管癌细胞侵袭转移过程, 对认识食管癌转移复发分子机制及其治疗措施积累了科学数据, 具有重要意义。以往研究, 尽管已经发现PURα可以作为DNA/RNA结合蛋白和转录因子, 调节肿瘤细胞的发生发展以及对化疗药物的耐药, 但未能阐明PURα与肿瘤细胞侵袭转移表型间的关系。本研究发现PURα这一单双链DNA/RNA结合蛋白同样参与对细胞侵袭转移的调节。通过影响对该目标基

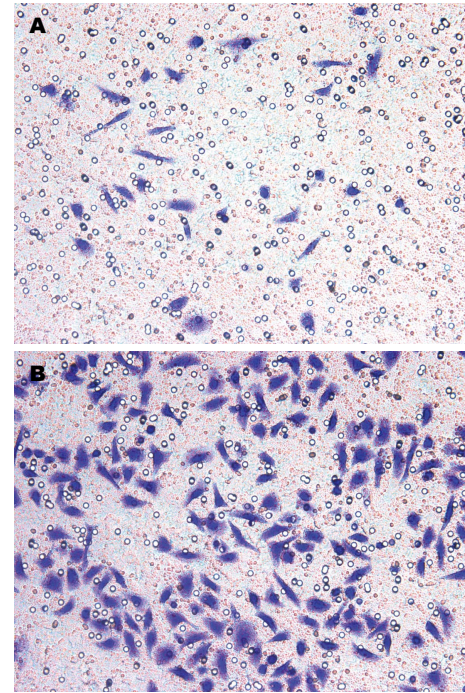


图4 Transwell侵袭实验结果。A: KYSE 510-pCMV6组(200×); B: KYSE 510-PURα组(200×); C: 各组穿过滤膜细胞数。1: KYSE 510-pCMV6; 2: KYSE 510-PURα。^b $P < 0.01$ vs pCMV6组。PURα: 富含嘌呤元件结合蛋白α。

因的转录和翻译, 有可能阻止上皮细胞的间叶转变, 使肿瘤细胞恢复上皮细胞特性, 就有可能逆转上皮间叶转变, 阻碍肿瘤细胞的侵袭转移能力, 从而为降低食管癌的复发转移措施提供新思路。另外, 通过检测食管癌组织中PURα蛋白的表达水平, 可以对食管癌患者可能的转移进行预测, 而对临床治疗有一定的辅助意义。

4 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Lambert R, Hainaut P. Esophageal cancer: cases and causes (part I). *Endoscopy* 2007; 39: 550-555 [PMID: 17554654]
- Weir HK, Thun MJ, Hankey BF, Ries LA, Howe HL, Wingo PA, Jemal A, Ward E, Anderson RN, Edwards BK. Annual report to the nation on the status

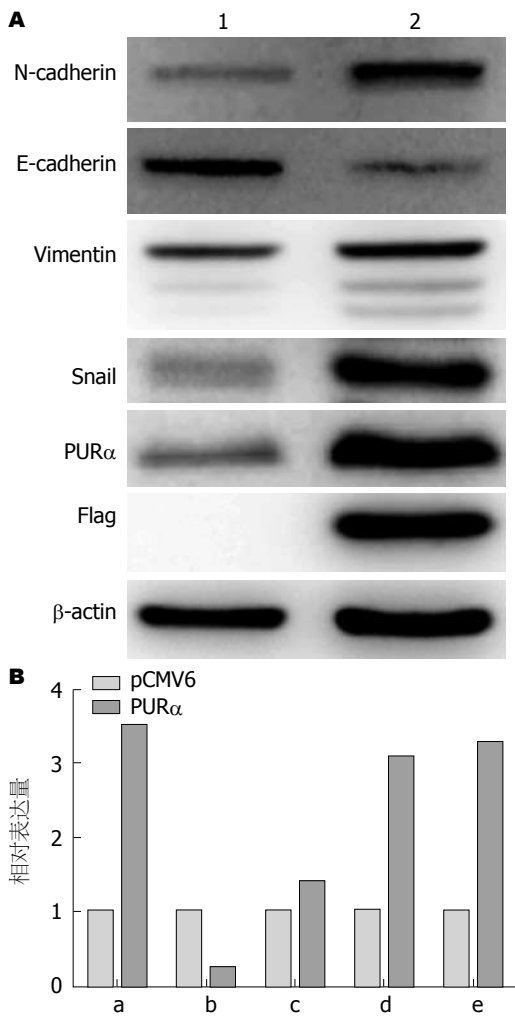


图 5 上皮间叶相关蛋白Western blot结果和灰度扫描。A: Western blot检测PUR α 在这两种细胞中的过表达, 1: KYSE 510-pCMV6, 2: KYSE 510-PUR α ; B: 灰度扫描各种蛋白的相对表达量, a: N-cadherin, b: E-cadherin, c: Vimentin, d: Snail, e: PUR α . PUR α : 富含嘌呤元件结合蛋白 α .

of cancer, 1975-2000, featuring the uses of surveillance data for cancer prevention and control. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1276-1299 [PMID: 12953083]

4 王国清. 食管癌高发发现场早诊早治30年临床经验研究. *中国医学科学院学报* 2001; 23: 4

5 Wang LD, Yang HH, Fan ZM, Lü XD, Wang JK, Liu XL, Sun Z, Jiang YN, He X, Zhou Q. Cytological screening and 15 years' follow-up (1986-2001) for early esophageal squamous cell carcinoma and precancerous lesions in a high-risk population in Anyang County, Henan Province, Northern China. *Cancer Detect Prev* 2005; 29: 317-322 [PMID: 16118042]

6 Shook D, Keller R. Mechanisms, mechanics and function of epithelial-mesenchymal transitions in early development. *Mech Dev* 2003; 120: 1351-1383 [PMID: 14623443]

7 Peinado H, Olmeda D, Cano A. Snail, Zeb and bHLH factors in tumour progression: an alliance against the epithelial phenotype? *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 415-428 [PMID: 17508028]

8 Zhang S, Schafer-Hales K, Khuri FR, Zhou W, Vertino PM, Marcus AI. The tumor suppressor LKB1 regulates lung cancer cell polarity by mediating

cdc42 recruitment and activity. *Cancer Res* 2008; 68: 740-748 [PMID: 18245474 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2989]

9 Zheng H, Shen M, Zha YL, Li W, Wei Y, Blanco MA, Ren G, Zhou T, Storz P, Wang HY, Kang Y. PKD1 phosphorylation-dependent degradation of SNAIL by SCF-FBXO11 regulates epithelial-mesenchymal transition and metastasis. *Cancer Cell* 2014; 26: 358-373 [PMID: 25203322 DOI: 10.1016/j.ccr.2014.07.022]

10 Wyckoff JB, Wang Y, Lin EY, Li JF, Goswami S, Stanley ER, Segall JE, Pollard JW, Condeelis J. Direct visualization of macrophage-assisted tumor cell intravasation in mammary tumors. *Cancer Res* 2007; 67: 2649-2656 [PMID: 17363585]

11 Johnson EM. The Pur protein family: clues to function from recent studies on cancer and AIDS. *Anti-cancer Res* 2003; 23: 2093-2100 [PMID: 12894583]

12 Johnson EM, Daniel DC, Gordon J. The pur protein family: genetic and structural features in development and disease. *J Cell Physiol* 2013; 228: 930-937 [PMID: 23018800 DOI: 10.1002/jcp.24237]

13 Darbinian N, Gallia GL, Khalili K. Helix-destabilizing properties of the human single-stranded DNA- and RNA-binding protein Puralpha. *J Cell Biochem* 2001; 80: 589-595 [PMID: 11169743]

14 Lin Z, Guo Z, Xu Y, Zhao X. Identification of a secondary promoter of CASP8 and its related transcription factor PUR α . *Int J Oncol* 2014; 45: 57-66 [PMID: 24819879 DOI: 10.3892/ijo.2014.2436]

15 Zhang S, Yang X, Shi H, Li M, Xue Q, Ren H, Yao L, Chen X, Zhang J, Wang H. Overexpression of leucine aminopeptidase 3 contributes to malignant development of human esophageal squamous cell carcinoma. *J Mol Histol* 2014; 45: 283-292 [PMID: 24477662 DOI: 10.1007/s10735-014-9566-3]

16 Han P, Fu Y, Luo M, He J, Liu J, Liao J, Tian D, Yan W. BVES inhibition triggers epithelial-mesenchymal transition in human hepatocellular carcinoma. *Dig Dis Sci* 2014; 59: 992-1000 [PMID: 24442236 DOI: 10.1007/s10620-013-2992-3]

17 熊鸣, 曲佳, 周兰萍, 张达矜, 乔媛媛, 胡明, 赵晓航. 海水浸泡降低血管内皮细胞迁移能力并抑制血管生成. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2152-2158

18 Gallia GL, Johnson EM, Khalili K. Puralpha: a multifunctional single-stranded DNA- and RNA-binding protein. *Nucleic Acids Res* 2000; 28: 3197-3205 [PMID: 10954586]

19 Ma ZW, Pejovic T, Najfeld V, Ward DC, Johnson EM. Localization of PURA, the gene encoding the sequence-specific single-stranded-DNA-binding protein Pur alpha, to chromosome band 5q31. *Cytogenet Cell Genet* 1995; 71: 64-67 [PMID: 7606931]

20 Ma ZW, Bergemann AD, Johnson EM. Conservation in human and mouse Pur alpha of a motif common to several proteins involved in initiation of DNA replication. *Gene* 1994; 149: 311-314 [PMID: 7959008]

21 Muralidharan V, Cort L, Meier E, Blankenhorn EP, Khalili K. Molecular characterization and chromosomal localization of mouse Puralpha gene. *J Cell Biochem* 2000; 77: 1-5 [PMID: 10679811]

22 Bergemann AD, Ma ZW, Johnson EM. Sequence of cDNA comprising the human pur gene and sequence-specific single-stranded-DNA-binding properties of the encoded protein. *Mol Cell Biol* 1992; 12: 5673-5682 [PMID: 1448097]

23 Bergemann AD, Johnson EM. The HeLa Pur factor

■同行评价
本文就食管鳞癌的转移机制展开研究, 创新性较为突出. 发现转录因子PUR α 通过诱导食管鳞癌细胞EMT而参与食管癌转移复发分子机制的理解具有重要意义. 实验设计严谨, 结论可信程度高.

- binds single-stranded DNA at a specific element conserved in gene flanking regions and origins of DNA replication. *Mol Cell Biol* 1992; 12: 1257-1265 [PMID: 1545807]
- 24 Kaminski R, Darbinyan A, Merabova N, Deshmane SL, White MK, Khalili K. Protective role of Puralpha to cisplatin. *Cancer Biol Ther* 2008; 7: 1926-1935 [PMID: 18927497]
- 25 Wang H, Wang M, Reiss K, Darbinian-Sarkissian N, Johnson EM, Iliakis G, Amini S, Khalili K, Rappaport J. Evidence for the involvement of Puralpha in response to DNA replication stress. *Cancer Biol Ther* 2007; 6: 596-602 [PMID: 17374989]
- 26 van Roy F, Berx G. The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 3756-3788 [PMID: 18726070 DOI: 10.1007/s00018-008-8281-1]
- 27 Zhang T, Zhang H, Wang Y, McGown LB. Capture and identification of proteins that bind to a GGA-rich sequence from the ERBB2 gene promoter region. *Anal Bioanal Chem* 2012; 404: 1867-1876 [PMID: 22899247 DOI: 10.1007/s00216-012-6322-y]
- 28 Darbinian N, White MK, Gallia GL, Amini S, Rappaport J, Khalili K. Interaction between the pura and E2F-1 transcription factors. *Anticancer Res* 2004; 24: 2585-2594 [PMID: 15517862]
- 29 König K, Meder L, Kröger C, Diehl L, Florin A, Rommerscheidt-Fuss U, Kahl P, Wardelmann E, Magin TM, Buettner R, Heukamp LC. Loss of the keratin cytoskeleton is not sufficient to induce epithelial mesenchymal transition in a novel KRAS driven sporadic lung cancer mouse model. *PLoS One* 2013; 8: e57996 [PMID: 23536778 DOI: 10.1371/journal.pone.0057996]
- 30 White MK, Johnson EM, Khalili K. Multiple roles for Puralpha in cellular and viral regulation. *Cell Cycle* 2009; 8: 1-7 [PMID: 19182532]
- 31 Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7: 131-142 [PMID: 16493418]
- 32 Yang J, Weinberg RA. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell* 2008; 14: 818-829 [PMID: 18539112 DOI: 10.1016/j.devcel.2008.05.009]
- 33 Kang Y, Massagué J. Epithelial-mesenchymal transitions: twist in development and metastasis. *Cell* 2004; 118: 277-279 [PMID: 15294153]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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%。

PI3K/Akt信号通路及SP1在VEGF上调胃癌细胞MRP1中的作用

李娟, 许文林, 冷加燕

李娟, 许文林, 冷加燕, 江苏大学附属人民医院肿瘤科 江苏省镇江市 212002

李娟, 住院医师, 主要从事消化系统肿瘤多药耐药的研究。

作者贡献分布: 此课题由李娟与许文林设计; 研究过程由李娟与冷加燕操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由许文林提供; 数据分析由李娟与冷加燕完成; 本论文写作由李娟与许文林完成。

通讯作者: 许文林, 教授, 主任医师, 212002, 江苏省镇江市京口区电力路8号, 江苏大学附属人民医院肿瘤科。

2536810249@qq.com

电话: 0511-89915061

收稿日期: 2014-07-26 修回日期: 2014-08-20

接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2014-12-28

Role of PI3K/Akt and SP1 in VEGF induced up-regulation of MRP1 in gastric cancer cell line BGC-823

Juan Li, Wen-Lin Xu, Jia-Yan Leng

Juan Li, Wen-Lin Xu, Jia-Yan Leng, Department of Oncology, the Affiliated People's Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212002, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Wen-Lin Xu, Professor, Chief Physician, Department of Oncology, the Affiliated People's Hospital of Jiangsu University, 8 Dianli Road, Jingkou District, Zhenjiang 212002, Jiangsu Province, China. 2536810249@qq.com

Received: 2014-07-26 Revised: 2014-08-20

Accepted: 2014-11-18 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To explore the mechanism by which vascular endothelial growth factor (VEGF) up-regulates multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1) in gastric cancer cell line BGC-823.

METHODS: BGC-823 cells cultured in the absence or presence of VEGF for 24 h were pretreated with phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K/protein kinase B, and PKB (PI3K/Akt) inhibitor LY294002 for 1 h before stimulation with VEGF. Western blot assay was applied to assess the expression of MRP1, Akt, p-Akt and specificity protein1 (SP1) proteins in the three groups of cells described above, and electrophoretic mobility shift assay (EMSA) was adopted to detect the DNA binding activity of transcriptional fac-

tor SP1. The sequences of MRP1 promoter and MRP1 promoter with SP1 binding site mutants were synthesized and cloned into the luciferase reporter gene vector PGL3-Basic to result in recombinant plasmids PGL3-Basic-MRP1w and PGL3-Basic-MRP1m, respectively. The recombinant plasmid was transiently co-transfected into BGC-823 cells using lipofectamine 2000 reagent, and the alteration of the mutant MRP1 promoter activity and the effect of VEGF on MRP1 promoter activity were then investigated.

RESULTS: Compared with the control group, the MRP1, p-Akt and SP1 proteins were all up-regulated, and the DNA binding activity of SP1 was significantly enhanced in BGC-823 cells treated with 32 ng/mL VEGF for 24 h. Contrarily, the protein levels of MRP1, p-Akt and SP1 were down-regulated, and the DNA binding activity of SP1 was remarkably decreased in the LY294002 pretreated group when compared with the VEGF 32 ng/mL group. The analysis of the luciferase reporter gene activity indicated that the recombinant plasmid PGL3-Basic-MRP1m possessed its promoter activity (110.000 ± 2.603) in BGC-823 cells, and compared with the control vector PGL3-Basic, its transcriptional activity was increased by 1.8-fold ($t = -8.936$, $P < 0.01$). On the contrary, the transcriptional activity of PGL3-Basic-MRP1w was reduced by 23.6% compared with PGL3-Basic-MRP1w ($t = 4.617$, $P < 0.05$), and this was dose-dependently enhanced at the 12-h time point after the transfected cells were treated with VEGF ($r = 0.911$, $P < 0.01$). When the concentration of VEGF was increased to 32 ng/mL to continuously stimulate the cells for 12 h, the transcriptional activity of PGL3-Basic-MRP1m (191.000 ± 14.799) was 0.7-fold increased than the control group (112.000 ± 11.358 , $t = -7.335$, $P < 0.01$). Similarly, 24 h after the transfected cells were treated with VEGF, the mutant MRP1 promoter activity was also up-regulated in a dose-dependent manner ($r = 0.945$, $P < 0.01$). Compared with untreated cells (133.000 ± 6.083), the greatest activity (426.000 ± 7.000) of

■背景资料

目前已研究发现恶性肿瘤中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的高表达与肿瘤细胞多药耐药(multidrug resistance, MDR)密切相关, 肿瘤患者血清中VEGF含量的高低与疾病的预后密切相关, 肿瘤细胞的MDR已成为国内外研究的热点。

■同行评议者

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

■ 研发前沿

本文初步探讨VEGF引起肿瘤细胞MDR的机制,为靶向多药耐药相关蛋白1(multidrug resistance-associated protein 1, MRP1)的肿瘤治疗提供了理论依据。

about 2.2-fold was observed ($t = -56.032, P < 0.01$).

CONCLUSION: The PI3K/Akt signaling pathway and transcriptional factor SP1 are two critical factors involved in VEGF-mediated augmentation of the activity of the *MRP1* promoter; the transcriptional activity of the *MRP1* promoter is decreased by SP1 binding site mutation, and the enhancing effect of VEGF on the promoter activity is weakened when compared with the wild type *MRP1* promoter.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Vascular endothelial growth factor; Multidrug resistance-associated protein 1; Promoter activity; PI3K/Akt; SP1

Li J, Xu WL, Leng JY. Role of PI3K/Akt and SP1 in VEGF induced up-regulation of MRP1 in gastric cancer cell line BGC-823. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5587-5593 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5587.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5587>

摘要

目的: 从多药耐药相关蛋白1(multidrug resistance-associated protein 1, *MRP1*)基因转录调控入手,初步探讨血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)上调*MRP1*表达的机制。

方法: (1)以人胃癌BGC-823细胞为模型,一正常组培养24 h,另一组VEGF作用24 h,最后一组PI3K/Akt抑制剂LY294002预处理1 h后再加VEGF作用24 h, Western blot法分别检测各实验组*MRP1*、Akt、p-Akt及SP1蛋白表达水平, EMSA方法检测各实验组转录因子SP1与DNA的结合活性; (2)构建分别含*MRP1*基因启动子序列及SP1结合位点突变的*MRP1*基因启动子序列的重组荧光素酶报告基因载体(PGL3-Basic-MRP1w、PGL3-Basic-MRP1m), 荧光素酶活性分析突变后的*MRP1*基因启动子在BGC-823细胞中活性的改变及VEGF对其转录活性的影响。

结果: (1)VEGF 32 ng/mL作用24 h组与未处理组相比, *MRP1*、p-Akt、SP1在蛋白水平均上调,且SP1的DNA结合活性明显增强; LY294002 50 μmol/mL预处理1 h再联合VEGF 32 ng/mL作用24 h后,与VEGF 32 ng/mL单独作用组相比, *MRP1*、p-Akt、SP1在蛋白水平均下调,SP1的DNA结合活性明显减弱; (2)在BGC-823细胞中, PGL3-Basic-MRP1m具有启

动子活性(110.000 ± 2.603),其转录活性为空载体PGL3-Basic的1.8倍($t = -8.936, P < 0.01$),但与SP1结合位点突变之前的*MRP1*启动子(PGL3-Basic-MRP1w)活性(144.000 ± 6.888)相比,其转录活性下降23.6%($t = 4.617, P < 0.05$); VEGF作用12 h后,其活性增强,且呈剂量依赖关系($r = 0.911, P < 0.01$), VEGF作用浓度为32 ng/mL时达最大值(191.000 ± 14.799),与无VEGF作用组(112.000 ± 11.358)相比,活性增高0.7倍($t = -7.335, P < 0.01$); VEGF作用24 h后,也能以剂量依赖的方式上调SP1结合位点突变后*MRP1*启动子区的转录活性($r = 0.945, P < 0.01$),与无VEGF作用组(133.000 ± 6.083)相比,最大活性(426.000 ± 7.000)增高2.2倍($t = -56.032, P < 0.01$)。

结论: VEGF对*MRP1*启动子活性的上调作用与激活PI3K/Akt信号通路及增强转录因子SP1的表达及活性相关; *MRP1*基因启动子区SP1结合位点突变后其启动子活性减弱, VEGF对其活性的上调作用不如突变之前明显。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 血管内皮细胞生长因子; 多药耐药相关蛋白1; 启动子活性; PI3K/Akt信号通路; 转录因子SP1

核心提示: 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)对多药耐药相关蛋白1(multidrug resistance-associated protein 1, *MRP1*)启动子活性的上调作用与激活PI3K/Akt信号通路及增强转录因子SP1的表达及活性相关; *MRP1*基因启动子区SP1结合位点突变后其启动子活性减弱, VEGF对其活性的上调作用不如突变之前明显。

李娟, 许文林, 冷加燕. PI3K/Akt信号通路及SP1在VEGF上调胃癌细胞MRP1中的作用. *世界华人消化杂志* 2014; 22(36): 5587-5593 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5587.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5587>

0 引言

人类血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF), 1989年由Ferrara等^[1]发现具有促血管内皮细胞有丝分裂的活性. VEGF对于肿瘤新生血管的生成及肿瘤的发展、转移、预后判断具有十分重要的意义^[2]. 现已经研究证实, 大多数肿瘤细胞存在VEGF自分泌机制, 通过某种机制调节自身的分裂增殖和其他生物学行为^[3-5]. 在病理条件下, 特别是肿瘤细胞, VEGF无论是在mRNA水平还是在蛋白水平均有过量

表达, VEGF的表达水平和肿瘤组织的血管化程度及恶性程度呈明显正相关^[6-8]. 目前已有研究^[9,10]发现恶性肿瘤中VEGF的高表达与肿瘤细胞多药耐药(multidrug resistance, MDR)密切相关, 肿瘤患者血清中VEGF含量的高低与疾病的预后密切相关^[11]. 我们的前期工作发现VEGF可以上调肿瘤细胞中多药耐药相关蛋白1(multidrug resistance-associated protein 1, MRP1) mRNA和蛋白的表达, 之后我们又构建了含MRP1启动子区-91/+103序列的重组荧光素酶报告基因载体(命名为PGL3-Basic-MRP1w)^[12], 发现这段序列在人胃癌BGC-823细胞中具有启动子活性, VEGF能以剂量依赖的方式增强MRP1启动子区的活性, PI3K/Akt信号通路抑制剂可以有效地抑制VEGF对MRP1启动子区的转录激活. 但是MRP1基因的转录调控机制非常复杂, 在启动子近侧区的正负调控结构域有多个公认的调节位点如TATA及CAT盒, 进一步对序列检测后显示这些位点包含转录因子specificity protein 1(SP1)、activator protein 1(API)、activator protein 2(AP2)等结合序列. 因此, 本研究采用Western blot、EMSA方法分析了PI3K/Akt信号通路及转录因子SP1在VEGF上调MRP1启动子活性中的作用, 并构建了含SP1结合位点突变的MRP1启动子区序列的重组荧光素酶报告基因载体(命名为PGL3-Basic-MRP1 m), 探讨了SP1结合位点突变后对MRP1启动子区活性及VEGF上调MRP1转录调控作用的影响, 从而进一步阐述VEGF参与肿瘤细胞MDR发生、发展的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞株BGC-823由本实验室保存, 37 °C、50 mL/L CO₂饱和湿度条件下于含10%小牛血清的DMEM培养基中培养. 重组人VEGF购自Peprotech公司, LY294002购自Cell Signaling公司, Lightshift EMSA Kit购自PIERCE公司, 重组PGL3-Basic-MRP1w及PGL3-Basic-MRP1m报告基因质粒及空载体PGL3-Basic由上海捷瑞生物工程有限公司提供, 内参质粒β-半乳糖苷酶(β-galactosidase, β-gal)由江苏大学基础医学和医学技术学院陈永昌教授惠赠, 转染试剂Lipofectamine 2000购自Invitrogen公司, 荧光素酶报告基因检测试剂盒及β-半乳糖苷酶报告基因检测试剂盒购自碧云天生物技术研究所.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 取BGC-823细胞, 按 2.5×10^5 /孔

接种于6孔板中, 37 °C、50 mL/L CO₂培养箱内培养. 实验分3组(每组设3个复孔): 一组常规培养24 h; 另一组加入32 ng/mL VEGF培养24 h; 最后一组加50 μmol/mL LY294002预处理1 h后, 再加入32 ng/mL VEGF继续培养24 h.

1.2.2 Western blot法检测MRP1、Akt、p-Akt及SP1蛋白的表达: 取上述3组细胞各 2×10^6 , PBS洗涤2次, 按Nuclear/cytosol Fractionation Kit说明书提取胞浆及胞核蛋白, 行BCA蛋白制作标准曲线后定量, 取50 μg总蛋白加适量上样缓冲液100 °C煮沸5 min变性, 12%SDS-PAGE电泳, 1 mA/cm²恒流半干转膜, 5%的脱脂奶粉室温摇床封闭1 h, 以GAPDH(1:500)作内参照, 兔抗人MRP1抗体(1:200)、Akt抗体(1:500)、p-Akt抗体(1:500)和SP1抗体(1:500), 4 °C过夜, 1 × TBST液洗膜3次, 10 min/次, 山羊抗兔二抗(1:2000)室温摇床40 min, 洗膜同上, DAB显色试剂盒显色后拍摄.

1.2.3 EMSA法检测SP1的DNA结合活性: 取上述3组细胞各 1×10^6 , PBS洗涤2次, 参照PIERCE公司试剂盒实验方法进行, 等量细胞核抽提物(10 μg)与生物素标记的凝胶寡核苷酸探针(50 ng)在20 °C下反应30 min; 反应混合物经非变性聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)在0.5 × TBE电泳缓冲液中于4 °C、120 V电泳3 h, 用半干电转移法转移于尼龙膜上; 用GAE封闭液Q室温下封闭尼龙膜1 h; 加入碱性磷酸偶联的链亲和素(用1 × 缓冲液F 1:7500稀释), 室温震荡15 min, 加1.0 mL化学发光底物室温震荡孵育5 min, X线下显影.

1.2.4 重组PGL3-Basic-MRP1w及PGL3-Basic-MRP1m报告基因质粒的合成: 对人MRP1基因5'端-2008/+103侧翼序列进行分析后, 发现此区域-91/+103序列具有启动子活性^[12], 合成这段DNA序列, 经Kpn I、Nco I双酶切后, 连于PGL3-Basic荧光素酶报告基因载体上, 其中MRP1基因启动子位于报告基因的上游(命名为PGL3-Basic-MRP1w). 这段序列包含3个SP1结合位点, 分别为-28/-22、-24/-18、-14/-8, 结合位点序列为5'-GGGCGGG-3'. 有研究^[13]发现将质膜-细胞骨架连接蛋白Ezrin基因启动子区-75/-69经典的SP1结合位点序列GGGCGGG突变为AATATTT后, 荧光素酶活性降低约50%. 因此, 本研究中将MRP1启动子区3个SP1结合位点突变为AATATTT, 合成突变之后的MRP1 5'端-91到+103序列, 构建重组荧光素酶报告基因质粒PGL3-Basic-MRP1m.

■ 相关报道

越来越多的研究认为VEGF与肿瘤细胞MDR关系密切, 外周血VEGF水平已成为肿瘤治疗和预后判断的重要因素, 也是肿瘤治疗的靶标.

■创新盘点

肿瘤细胞MDR已成为国内外研究的热点,但大量的工作主要集中于MRP1基因及其编码的P-gp、MRP1则相对研究较少。目前国内外学者对于VEGF的研究主要着眼于其与肿瘤增殖、侵袭凋亡及转移的关系,VEGF与肿瘤耐药的研究则相对较少。

1.2.5 质粒瞬时共同转染人胃癌BGC-823细胞:

取指数生长期人胃癌BGC-823细胞株按 2.5×10^5 /孔接种于6孔板中, 37°C 、 50 mL/L CO_2 培养箱内过夜培养,直到细胞80%融合。参照Lipofectamine 2000 Reagent说明书,在EP管中配制重组质粒或空载体PGL3-Basic、内参质粒 β -gal及转染脂质体Lipofectamine 2000复合物。A液:将重组质粒或空载体PGL3-Basic、内参质粒 β -gal各 $1\ \mu\text{g}$ /孔稀释至 $100\ \mu\text{L}$ /孔不含血清的DMEM培养液中,用加样枪混合均匀,室温静置5 min; B液:将Lipofectamine 2000 $6\ \mu\text{L}$ /孔溶于 $100\ \mu\text{L}$ /孔不含血清的DMEM培养液中,用加样枪混合均匀,室温静置5 min;将A、B两液混合,室温下静置30 min后加入用无菌PBS洗涤2次的待转染细胞中。 37°C 、 50 mL/L CO_2 培养箱常规培养4-6 h,弃去培养液,换含10%小牛血清的DMEM培养液继续培养。

1.2.6 SP1结合位点突变前后MRP1启动子区活性的测定:收集上述转染之后的细胞,参照试剂盒说明分别测定荧光素酶和 β -gal活性。其中 β -gal活性用于校正细胞转染效率,启动子活性为细胞转染效率校正后的荧光素酶活性,即启动子活性 = 荧光素酶/ β -gal活性。

1.2.7 SP1结合位点突变后VEGF对MRP1启动子区活性的影响:VEGF设5个浓度,即0、0.5、2.0、8.0、32.0 ng/mL。每孔细胞中共同转染 $1\ \mu\text{g}$ 重组质粒PGL3-Basic-MRP1m和 $1\ \mu\text{g}$ 内参质粒 β -gal,转染4-6 h后换含10%小牛血清的DMEM培养液,加入不同浓度的VEGF分别继续培养6、12、24 h,测定荧光素酶和 β -gal活性,计算启动子活性,方法同上。

统计学处理 计量资料以mean \pm SD表示,应用SPSS17.0软件对实验数据进行统计分析,采用两组资料t检验及直线相关分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Western blot法检测各组细胞MRP1、Akt、p-Akt及SP1蛋白的表达量 结果如图1所示,3组Akt蛋白总量无明显差异,与对照组(未处理组)相比较,VEGF单独作用组MRP1、p-Akt及SP1蛋白表达出现上调,蛋白条带变粗;而LY294002+VEGF处理组与VEGF单独作用组相比,MRP1、p-Akt及SP1蛋白表达出现下调,蛋白条带明显变细。提示在VEGF上调MRP1蛋白表达的过程中,Akt、SP1蛋白发生了磷酸化激活。

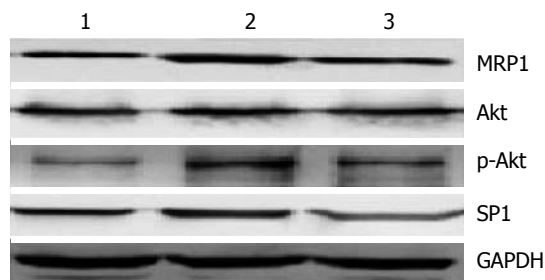


图1 蛋白表达的变化。1: BGC-823; 2: BGC-823+VEGF; 3: BGC-823+LY294002+VEGF。VEGF: 血管内皮生长因子; MRP1: 多药耐药相关蛋白1。

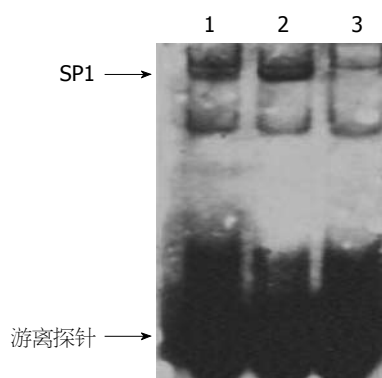


图2 VEGF及LY294002对转录因子SP1活性的影响。1: BGC-823; 2: BGC-823+VEGF; 3: BGC-823+LY294002+VEGF。VEGF: 血管内皮生长因子。

2.2 EMSA法检测转录因子SP1与DNA的结合活性 结果发现(图2),未处理组、VEGF组、LY294002+VEGF组SP1与DNA结合的荧光强度分别为:3753.27、4898.64、1296.22,可见SP1与其探针结合的荧光强度在VEGF单独作用组明显增强,而此增强作用可被PI3K/Akt信号通路抑制剂LY294002有效抑制。

2.3 SP1结合位点突变后MRP1启动子活性的测定结果 荧光素酶活性分析显示(图3),重组质粒PGL3-Basic-MRP1m组转录活性(110.000 ± 2.603)是空载体PGL3-Basic组(60.000 ± 4.910)的1.8倍,差异具有统计学意义($t = -8.936, P < 0.01$),但与重组质粒PGL3-Basic-MRP1w组(144.000 ± 6.888)相比,重组质粒PGL3-Basic-MRP1m组转录活性下降23.6%($t = 4.617, P < 0.05$),提示MRP1启动子区SP1结合位点突变后其转录活性减弱。

2.4 VEGF对SP1结合位点突变后MRP1启动子活性的影响 结果如图4。VEGF作用6 h后,与无VEGF作用组相比,SP1结合位点突变后的MRP1启动子活性无明显变化($P > 0.05$);作用12 h后,活性逐渐增强,呈剂量依赖关系($r = 0.911, P < 0.01$),VEGF作用浓度为32 ng/mL时达最大值,与无

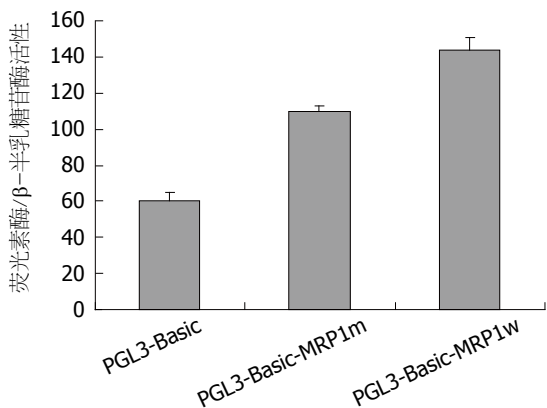


图 3 重组质粒转染BGC-823细胞后其活性的测定.

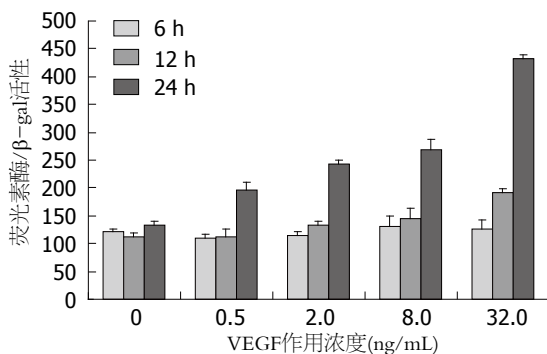


图 4 VEGF对重组PGL3-Basic-MRP1m活性的影响. VEGF: 血管内皮生长因子.

VEGF作用组相比, 活性增高0.7倍($t = -7.335$, $P < 0.01$); VEGF作用24 h后, 也能以剂量依赖的方式上调SP1结合位点突变后MRP1启动子区的转录活性($r = 0.945$, $P < 0.01$), 与无VEGF作用组相比, 最大活性增高2.2倍($t = -56.032$, $P < 0.01$).

3 讨论

众所周知, 血管新生是肿瘤生长、进展和转移进程中必需的一个病理生理过程, 可导致原发肿瘤细胞呈指数性增长^[14], 而VEGF是肿瘤血管生成过程中作用最强、特异性最高的调控因子, 其调控肿瘤血管生成的作用机制已经证实, 在肿瘤生长的各个环节中起重要作用^[15]. 目前, 越来越多的研究认为VEGF与肿瘤细胞MDR关系密切, 外周血VEGF水平已成为肿瘤治疗和预后判断的重要因素, 也是肿瘤治疗的靶标^[16]. Volm等^[17]通过研究31种细胞因子对多柔比星与非小细胞肺癌敏感性的影响, 发现耐多柔比星的非小细胞肺癌中VEGF及其受体Flt-1表达明显高于对多柔比星敏感的细胞, 这提示我们VEGF可能与耐药形成有关. Klement等^[18]在治疗耐

药的乳腺癌时, 同时应用小剂量化疗药物和抗VEGFR抗体, 发现能明显增强化疗效果, 逆转肿瘤细胞P-gp介导的耐药性, 治疗3 wk, 耐药乳腺癌细胞开始死亡, 瘤体明显缩小. Zhang等^[19]发现VEGF165介导的HDMEC多药耐药表型对多种药物耐受, 如顺铂、丝裂霉素、VP-16、泰素等, 而这种保护性作用部分归因于MRP和LRP的上调. 且我们前期的工作发现VEGF可以上调白血病细胞K562、胃癌细胞BGC-823中MRP1 mRNA和蛋白的表达, 同时能以剂量依赖的方式增强MRP1启动子区的活性. 研究表明, VEGF与其特异性受体VEGFR结合之后, 引发受体酪氨酸激酶活化, 可以激活其下游的PI3K/Akt信号通路, 从而发挥生物学行为. PI3K/Akt信号通路是体内重要的信号转导通路之一, 在维持细胞的正常生理功能, 如生长、分化、代谢等方面起着关键作用^[20-22]. Akt在PI3K调节作用下发生磷酸化而激活, Akt的异常表达与肿瘤的发生、发展以及对放化疗产生的耐受密切相关^[23-25]. Tazari等^[26]研究发现, PI3K/Akt信号转导网络系统在调控MRP1水平中起着很重要的作用, 可以通过上调MRP1的表达水平而导致白血病细胞耐药, MRP1水平与PI3K/Akt表达在AML细胞中呈正相关性. 我们用PI3K/Akt信号通路抑制剂LY294002预处理细胞后, 发现VEGF上调MRP1蛋白作用明显减弱, 进一步证实了PI3K/Akt信号通路在VEGF激活MRP1转录过程中的积极作用.

同时, 在对MRP1表达调控的研究过程中, 寻找关键的转录因子及其结合部位, 并明确其在转录调控过程中发挥怎样的作用对于靶向MRP1的肿瘤治疗意义重大. MRP1基因的转录调控机制非常复杂, 其启动子区中含有多个正负调控元件, 包括SP1结合位点、GC丰富区、NE-1结合域等. SP1是一种基本的参与真核生物转录起始的转录因子, 以细胞和启动子特异性方式通过调控富含GC启动子的基因表达, 参与调节细胞功能如细胞增殖、凋亡、分化和肿瘤形成^[27]. SP1自身表达水平、磷酸化、糖基化等翻译后修饰、其他蛋白质的结合以及染色质结构与修饰等方面均能影响SP1蛋白的转录活性^[28,29]. 有研究^[30]发现, 激活PI3K/Akt信号通路可有效刺激转录因子SP1磷酸化, 使其DNA结合力增加, 转录活性增强, 进而启动下游基因的转录. 我们在实验过程中也发现VEGF不仅能上调转录因子SP1的蛋白表达水平, 同时还能使其

应用要点
PI3K/Akt信号通路及转录因子SP1在VEGF调控MRP1转录表达过程中作用重大, 是否能通过阻断此途径下调MRP1的表达从而达到抑制肿瘤细胞生长、促进肿瘤细胞凋亡、逆转或预防肿瘤细胞多药耐药的目的, 值得研究, 进而为靶向MRP1的肿瘤治疗提供实验依据.

■名词解释

多药耐药(MDR):指肿瘤细胞接触一种抗肿瘤药物并产生耐药以后,同时对结构和作用机制不同的多种天然来源的抗肿瘤药物具有交叉耐药性。

DNA结合活性增强,而这一作用可被PI3K/Akt信号通路抑制剂LY294002有效抑制。因此,我们进一步合成MRP1基因启动子区SP1结合位点突变序列的重组荧光素酶报告基因载体,并将其转染入人胃癌BGC-823细胞,发现MRP1基因启动子区SP1结合位点突变后其启动子活性减弱,VEGF作用12 h和24 h后虽然也能以剂量依赖的方式上调突变后的MRP1启动子的活性,与未处理组相比,最大活性分别上调0.7倍、2.2倍,但对其活性的上调作用均不如突变之前明显(前期工作发现SP1结合位点突变之前VEGF作用12 h和24 h后最大活性分别上调4.4倍、2.5倍),提示转录因子SP1在MRP1的转录调控过程中发挥了关键作用。

总之,PI3K/Akt信号通路及转录因子SP1在VEGF调控MRP1转录表达过程中作用重大,是否能通过阻断此途径下调MRP1的表达从而达到抑制肿瘤细胞生长、促进肿瘤细胞凋亡、逆转或预防肿瘤细胞多药耐药的的目的值得研究,进而为靶向MRP1的肿瘤治疗提供实验依据。

4 参考文献

- Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. 1989. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 425: 540-547 [PMID: 22925671 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.08.021]
- Inda AM, Andrini LB, García MN, García AL, Fernández Blanco A, Furnus CC, Galletti SM, Prat GD, Errecalde AL. Evaluation of angiogenesis with the expression of VEGF and CD34 in human non-small cell lung cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2007; 26: 375-378 [PMID: 17987799]
- Byeon SH, Lee SC, Choi SH, Lee HK, Lee JH, Chu YK, Kwon OW. Vascular endothelial growth factor as an autocrine survival factor for retinal pigment epithelial cells under oxidative stress via the VEGF-R2/PI3K/Akt. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 1190-1197 [PMID: 19834034 DOI: 10.1167/iops.09-4144]
- Issaka RB, Oommen S, Gupta SK, Liu G, Myers JL, Ryu JH, Vlahakis NE. Vascular endothelial growth factors C and D induces proliferation of lymphangioliomyomatosis cells through autocrine crosstalk with endothelium. *Am J Pathol* 2009; 175: 1410-1420 [PMID: 19717640 DOI: 10.2353/ajpath.2009.080830]
- Arbiser JL. Unexpected autocrine role of vascular endothelial growth factor in squamous cell carcinoma. *J Invest Dermatol* 2009; 129: 538-540 [PMID: 19209155 DOI: 10.1038/jid.2008.427]
- Ghanem MA, van Steenbrugge GJ, Sudaryo MK, Mathoera RB, Nijman JM, van der Kwast TH. Expression and prognostic relevance of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor (FLT-1) in nephroblastoma. *J Clin Pathol* 2003; 56: 107-113 [PMID: 12560388]
- Imura S, Miyake H, Izumi K, Tashiro S, Uehara H. Correlation of vascular endothelial cell proliferation with microvessel density and expression of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in hepatocellular carcinoma. *J Med Invest* 2004; 51: 202-209 [PMID: 15460907]
- Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS, Ferrara N. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature* 1993; 362: 841-844 [PMID: 7683111 DOI: 10.1038/362841a0]
- Avramis IA, Kwock R, Avramis VI. Taxotere and vincristine inhibit the secretion of the angiogenesis inducing vascular endothelial growth factor (VEGF) by wild-type and drug-resistant human leukemia T-cell lines. *Anticancer Res* 2001; 21: 2281-2286 [PMID: 11724283]
- Katoh O, Takahashi T, Oguri T, Kuramoto K, Mihara K, Kobayashi M, Hirata S, Watanabe H. Vascular endothelial growth factor inhibits apoptotic death in hematopoietic cells after exposure to chemotherapeutic drugs by inducing MCL1 acting as an antiapoptotic factor. *Cancer Res* 1998; 58: 5565-5569 [PMID: 9850095]
- Lieto E, Ferraraccio F, Orditura M, Castellano P, Mura AL, Pinto M, Zamboli A, De Vita F, Galizia G. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) is an independent prognostic indicator of worse outcome in gastric cancer patients. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 69-79 [PMID: 17896140 DOI: 10.1245/s10434-007-9596-0]
- Zhu Q, Center MS. Cloning and sequence analysis of the promoter region of the MRP gene of HL60 cells isolated for resistance to adriamycin. *Cancer Res* 1994; 54: 4488-4492 [PMID: 8044800]
- 高书颖, 李恩民, 孟令英, 崔磊, 袁华敏, 杜泽澎, 许丽艳. 肺癌细胞中调控ezrin基因基本转录活性的顺式作用元件及转录因子的鉴定. *生物化学与生物物理进展* 2009; 36: 288-296
- Meric JB. [Angiogenesis targeting in gastro-intestinal cancers]. *Bull Cancer* 2007; 94: F207-F215 [PMID: 17964998]
- Calvo A, Catena R, Noble MS, Carbott D, Gil-Bazo I, Gonzalez-Moreno O, Huh JI, Sharp R, Qiu TH, Anver MR, Merlino G, Dickson RB, Johnson MD, Green JE. Identification of VEGF-regulated genes associated with increased lung metastatic potential: functional involvement of tenascin-C in tumor growth and lung metastasis. *Oncogene* 2008; 27: 5373-5384 [PMID: 18504437 DOI: 10.1038/onc.2008.155]
- Podar K, Anderson KC. The pathophysiologic role of VEGF in hematologic malignancies: therapeutic implications. *Blood* 2005; 105: 1383-1395 [PMID: 15471951 DOI: 10.1182/blood-2004-07-2909]
- Volm M, Rittgen W. Cellular predictive factors for the drug response of lung cancer. *Anticancer Res* 2000; 20: 3449-3458 [PMID: 11131647]
- Klement G, Huang P, Mayer B, Green SK, Man S, Bohlen P, Hicklin D, Kerbel RS. Differences in therapeutic indexes of combination metronomic chemotherapy and an anti-VEGFR-2 antibody in multi-drug-resistant human breast cancer xenografts. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 221-232 [PMID: 11801563]
- Zhang XS, Zhu XF, Gao JS, Qian CN, Kuang ZJ, Liu ZC, Zeng YX. Multiple drug resistance phenotype of human endothelial cells induced by vascular

- endothelial growth factor 165. *Acta Pharmacol Sin* 2001; 22: 731-735 [PMID: 11749847]
- 20 Xu Q, Simpson SE, Scialla TJ, Bagg A, Carroll M. Survival of acute myeloid leukemia cells requires PI3 kinase activation. *Blood* 2003; 102: 972-980 [PMID: 12702506 DOI: 10.1182/blood-2002-11-3429]
- 21 Kubota Y, Ohnishi H, Kitanaka A, Ishida T, Tanaka T. Constitutive activation of PI3K is involved in the spontaneous proliferation of primary acute myeloid leukemia cells: direct evidence of PI3K activation. *Leukemia* 2004; 18: 1438-1440 [PMID: 15175626 DOI: 10.1038/sj.leu.2403402]
- 22 Min YH, Eom JI, Cheong JW, Maeng HO, Kim JY, Jeung HK, Lee ST, Lee MH, Hahn JS, Ko YW. Constitutive phosphorylation of Akt/PKB protein in acute myeloid leukemia: its significance as a prognostic variable. *Leukemia* 2003; 17: 995-997 [PMID: 12750723 DOI: 10.1038/sj.leu.2402874]
- 23 Testa JR, Bellacosa A. AKT plays a central role in tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 10983-10985 [PMID: 11572954]
- 24 Nicholson KM, Anderson NG. The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy. *Cell Signal* 2002; 14: 381-395 [PMID: 11882383]
- 25 Neri LM, Borgatti P, Tazzari PL, Bortul R, Cappellini A, Tabellini G, Bellacosa A, Capitani S, Martelli AM. The phosphoinositide 3-kinase/AKT1 pathway involvement in drug and all-trans-retinoic acid resistance of leukemia cells. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 234-246 [PMID: 12556562]
- 26 Tazzari PL, Cappellini A, Ricci F, Evangelisti C, Papa V, Grafone T, Martinelli G, Conte R, Cocco L, McCubrey JA, Martelli AM. Multidrug resistance-associated protein 1 expression is under the control of the phosphoinositide 3 kinase/Akt signal transduction network in human acute myelogenous leukemia blasts. *Leukemia* 2007; 21: 427-438 [PMID: 17215852 DOI: 10.1038/sj.leu.2404523]
- 27 Rieber M, Strasberg Rieber M. Unequal nuclear Sp1/GC box DNA binding activity distinguishes proliferating from differentiated senescent or apoptotic cells. *Int J Cancer* 1999; 83: 359-364 [PMID: 10495428]
- 28 French SW, Malone CS, Shen RR, Renard M, Henson SE, Miner MD, Wall R, Teitell MA. Sp1 transactivation of the TCL1 oncogene. *J Biol Chem* 2003; 278: 948-955 [PMID: 12421830 DOI: 10.1074/jbc.M207166200]
- 29 Li L, He S, Sun JM, Davie JR. Gene regulation by Sp1 and Sp3. *Biochem Cell Biol* 2004; 82: 460-471 [PMID: 15284899]
- 30 Pore N, Liu S, Shu HK, Li B, Haas-Kogan D, Stokoe D, Milanini-Mongiat J, Pages G, O'Rourke DM, Bernhard E, Maity A. Sp1 is involved in Akt-mediated induction of VEGF expression through an HIF-1-independent mechanism. *Mol Biol Cell* 2004; 15: 4841-4853 [PMID: 15342781 DOI: 10.1091/mbc.E04-05-0374]

■同行评价
课题组成员在前期研究工作中发现VEGF可以上调肿瘤细胞中MRP1的表达,并发现含MRP1启动子区-91/+103序列在人胃癌BGC-823细胞中具有启动子活性.此文在此基础上探讨对MRP1启动子区的调控作用,并从信号机制入手,进一步探讨PI3K/Akt信号通路及转录因子SP1对MRP1的转录调控作用,研究工作具有一定的延续性和创新性.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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.

白藜芦醇对抗酒精诱导的SH-SY5Y细胞损伤作用: 氧化应激与凋亡

王明娟, 耿永芝, 刘景华, 侯志平, 何培元

■背景资料

我国酒精消费量逐年升高, 不久的将来酒精将成为致残致死的主要病因。早期患者即可发现脑部出现“萎缩”, 酒精成瘾者脑部灰质白质均有减少, 而临床上缺乏特效的治疗方案及药物。

王明娟, 承德医学院形态学实验中心 河北省承德市 067000
耿永芝, 承德县医院内一科 河北省承德市 067402
刘景华, 承德市中心医院神经内科 河北省承德市 067000
侯志平, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000
何培元, 承德医学院附属医院消化内科 河北省承德市 067000
王明娟, 助理实验师, 主要从事消化系统疾病病理学的研究。
河北省卫生厅基金资助项目, No. 201110179
作者贡献分布: 本课题设计由何培元与侯志平完成; 研究过程由王明娟、何培元、耿永芝及刘景华完成; 数据统计分析由王明娟与何培元完成; 论文写作由王明娟与侯志平完成; 由何培元完成论文的修改。
通讯作者: 何培元, 主治医师, 067000, 河北省承德市南营子大街36号, 承德医学院附属医院消化内科。peiyuanhe@163.com
电话: 0314-2279514 传真: 0314-2279514
收稿日期: 2014-10-13 修回日期: 2014-11-04
接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Protective effects of resveratrol against alcohol-induced oxidative stress and apoptosis in human SH-SY5Y cells

Ming-Juan Wang, Yong-Zhi Geng, Jing-Hua Liu, Zhi-Ping Hou, Pei-Yuan He

Ming-Juan Wang, Morphology Experimental Department, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Yong-Zhi Geng, First Department of Internal Medicine, the Hospital of Chengde, Chengde 067402, Hebei Province, China

Jing-Hua Liu, Department of Neurosurgery, Chengde Central Hospital, Chengde 067000, Hebei Province, China

Zhi-Ping Hou, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Pei-Yuan He, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Supported by: Foundation of Department of Health of Hebei Province, No. 201110179

Correspondence to: Pei-Yuan He, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, 36 Nanyingzi Street, Chengde 067000, Hebei Province, China. peiyuanhe@163.com

Received: 2014-10-13 Revised: 2014-11-04

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

Abstract

AIM: To assess the effects of resveratrol as an antioxidant against alcohol-induced oxidative

stress and apoptosis in SH-SY5Y cells and explore the underlying mechanisms.

METHODS: SH-SY5Y cells were pretreated with resveratrol for 24 h before treatment with alcohol to induce oxidative stress and apoptosis. MTT assay was then performed to detect the viability of SH-SY5Y cells in both resveratrol-treated and control groups. ELISA was performed to detect the presence of superoxide dismutase (SOD) and the level of total intracellular reactive oxygen species (ROS). Flow cytometry was used to detect cell apoptosis. RT-PCR was performed to detect the expression levels of SOD₁, SOD₂, catalase, PARP and Caspase 3, which are key genes involved in anti-oxidation and apoptosis pathways.

RESULTS: MTT assay showed that in comparison with control cells (non-treated with resveratrol), toxicity of resveratrol (25, 50, 100 μmol/L) towards SH-SY5Y cells was below 20%. Treatment with 300 mmol/L alcohol without pretreatment with resveratrol resulted in death of around 57% cells. Resveratrol at concentrations from 25-100 μmol/L played an antagonistic role against cytotoxicity of 300 mmol/L alcohol to SH-SY5Y cells. ELISA results showed that SOD activity was significantly higher in cells treated with 100 μmol/L resveratrol (0.559 ± 0.021) than in non-treated cells (0.296 ± 0.023). After alcohol induction, non-resveratrol-treated cells showed a higher ROS level (16163.89 ± 624.67) compared to cells treated with 25, 50, and 100 μmol/L resveratrol ($29302.79.26 \pm 1208.38$; 25528.34 ± 1126.63 ; 20219.78 ± 1622.35). Flow cytometry showed that the percentage of apoptotic cells in alcohol treated cells were higher than those in other groups. RT-PCR results showed that compared to cells treated with 300 mmol/L alcohol, resveratrol increased the expression of SOD₁ (0.623 ± 0.033 ; 0.686 ± 0.022 ; 0.853 ± 0.014), SOD₂ (1.19 ± 0.123 ; 0.928 ± 0.0121 ; 1.09 ± 0.0101), catalase (1.828 ± 0.067 ; 2.018 ± 0.079 ; 2.196 ± 0.081), PARP (2.828 ± 0.161 ; 3.018 ± 0.208 ; 4.196 ± 0.190) and Caspase3 (5.828 ± 0.367 ; 5.318 ± 0.279 ; 4.196 ± 0.200).

■同行评议者

迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院
消化内科

CONCLUSION: Our findings show the neuro-protective of resveratrol against alcohol-induced oxidative stress and apoptosis in SH-SY5Y cells.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Resveratrol; Oxidative stress; SH-SY5Y; Anti-oxidant; Apoptosis

Wang MJ, Geng YZ, Liu JH, Hou ZP, He PY. Protective effects of resveratrol against alcohol-induced oxidative stress and apoptosis in human SH-SY5Y cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5594-5601 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5594.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5594>

摘要

目的: 探讨白藜芦醇在酒精诱导的SH-SY5Y细胞损伤中的抗氧化及抗凋亡作用, 揭示白藜芦醇抗酒精神经性损伤的作用机制。

方法: SH-SY5Y细胞经维甲酸诱导成正常神经细胞后以白藜芦醇预处理SH-SY5Y细胞24 h, 用酒精诱导氧化应激及凋亡的产生。MTT方法检测白藜芦醇处理组与对照组SH-SY5Y细胞活力; 用ELISA试剂盒检测不同实验组的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)及细胞内总活性氧(reactive oxygen species, ROS)含量、流式细胞术检测不同实验组细胞凋亡水平; 采用RT-PCR方法检测抗氧化应激凋亡通路中关键基因SOD₁、SOD₂、过氧化氢酶及Caspase3和PARP的mRNA表达水平。

结果: MTT结果显示, 与对照组比较, 白藜芦醇(25、50、100 μmol/L)对SH-SY5Y细胞的细胞毒性均在20%以下, 300 mmol/L酒精可致近50% SH-SY5Y细胞死亡; 25-100 μmol/L白藜芦醇可有效对抗300 mmol/L酒精对SH-SY5Y引起的细胞毒性作用; SOD活性显示100 μmol/L白藜芦醇预处理组SOD含量(0.391 ± 0.011)明显高于非处理组(0.286 ± 0.019), 而ROS结果显示酒精诱导组(29234.79 ± 2288)明显高于白藜芦醇25、50、100 μmol/L预处理组(18023.26 ± 1359.66; 13528.44 ± 1078.99; 8219.87 ± 635.99); RT-PCR结果显示, 与300 mmol/L酒精比较, 25、50和100 μmol/L白藜芦醇可上调SOD₁(0.623 ± 0.032; 0.686 ± 0.0213; 0.854 ± 0.014)、SOD₂(1.001 ± 0.058; 0.938 ± 0.021; 1.190 ± 0.078)、过氧化氢酶(1.828 ± 0.067, 2.018 ± 0.079; 2.196 ± 0.100)及PARP(2.828 ± 0.161; 3.018 ± 0.208; 4.196 ± 0.190)mRNA表达量; 不同剂量白藜芦均可下调

调Caspase3 mRNA表达量(5.828 ± 0.367; 5.318 ± 0.279; 4.196 ± 0.200)。

结论: 本实验结果揭示了300 mmol/L的酒精可以引起SH-SY5Y细胞氧化应激与凋亡的发生, 表明白藜芦醇通过介导氧化应激及氧化应激引起的抗凋亡途径发挥了神经保护作用

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 白藜芦醇; 氧化应激; SH-SY5Y; 抗氧化; 凋亡

核心提示: 本研究发现白藜芦醇通过介导氧化应激及氧化应激引起的抗凋亡途径发挥了神经保护作用。实验数据表明白藜芦醇可降低酒精诱导引起的细胞内总活性氧(reactive oxygen species, ROS)增高, 提高超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)含量及减少酒精引起的细胞凋亡, mRNA表达水平的检测证明白藜芦醇可以通过增加抗氧化酶的表达提高抗氧化酶活性, 加快活性氧自由基代谢, 抑制酒精引起的凋亡, 从而起到神经保护作用。

王明娟, 耿永芝, 刘景华, 侯志平, 何培元. 白藜芦醇对抗酒精诱导的SH-SY5Y细胞损伤作用: 氧化应激与凋亡. *世界华人消化杂志* 2014; 22(36): 5594-5601 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5594.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5594>

0 引言

长期过度饮酒可以导致酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)。ALD致死率占全球死亡率近4%^[1]。在美国, ALD引起的肝脏相关疾病死亡率比丙型肝炎病毒引起的死亡率还要高^[2,3]。使用计算机断层扫描技术发现在ALD早期患者即可发现脑部出现“萎缩”^[4]。核磁共振(magnetic resonance imaging, MRI)和死后尸检发现酒精成瘾者脑部在包括海马区在内的皮层区域灰质和白质均有减少^[5]。

白藜芦醇是一种主要存在于各种红葡萄果实和红葡萄酒中非黄酮类多酚化合物^[6], 研究^[7-10]证据表明白藜芦醇具有抗衰老、抗氧化、抗肿瘤、抗炎和免疫调节作用。目前其在肝脏疾病的治疗方面有一些研究^[11,12], 其作用机制主要为消除自由基、抗氧化和抗凋亡。文献报道^[13,14]了很多天然产物(绿茶、黑茶、葡萄等)通过抗氧化活力在神经保护方面的作用, 其中既有体内实验也有体外实验。因此, 抗氧化与神经保护具

■ 研究前沿
氧化应激与凋亡是酒精性神经退行性变中导致神经细胞损伤的重要发病机制。多种自由基、抗氧化酶及凋亡参与其中构成了一个较为复杂的网络式反应体系。各种不同的组分在整个体系中的地位及其相互关系成为研究的热点。如何应用天然化合物及中草药对抗氧化应激及凋亡保护酒精性神经细胞损伤是研究的重点。

■相关报道

长期大量饮酒可以引起脑细胞受损和大脑损伤,最终发展为酒精性痴呆,引起记忆力障碍,语言受损,不能胜任诸如包装等复杂手部动作。然而酒精引起的神经细胞受损及相关的神经退行性改变潜在机制并不十分清楚。

有密切的相关性。

虽然有很多关于嗜酒性痴呆和神经退行性改变的相关性研究报道,但是对于酒精和神经毒性机制目前并不清楚。但是目前还没有关于白藜芦醇对抗酒精诱导的神经细胞毒性作用及其机制的研究。本实验旨在研究白藜芦醇对酒精性中枢神经系统损伤的保护作用及作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 人SH-SY5Y细胞株购自美国ATCC公司;酒精、二甲基亚砜(DMSO)购自天津化工厂;DMEM/F-12培养基、NEM、胎牛血清、链霉素、胰蛋白酶、MTT购自Sigma公司;总RNA提取试剂盒、RT-PCR扩增试剂盒购自上海生工公司;细胞培养箱(美国Thermo)、倒置显微镜为日本Olympus公司产品,由承德医学院基础研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 SH-SY5Y细胞:于DMEM/F-12(Dulbecco's modified Eagle's medium)培养液,包含10%(V/V)小牛血清和100 μg/mL链霉素,37℃、50 mL/L CO₂培养箱中培养。细胞密度达到80%以上后种在96孔细胞培养板上,密度为每孔2×10⁵个,维甲酸预处理7 d,SH-SY5Y细胞分化为正常神经细胞。

1.2.2 毒性检测:通过MTT(3-[4,5-di-methylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)方法检测细胞活性从而代表化学试剂的细胞毒性,方法同参考文献[11]。分化的SH-SY5Y细胞(2×10⁵)种于96孔细胞培养板中,培养24 h后以不同浓度的白藜芦醇(0-100 μmol/L)处理24 h后测细胞活性以观察白藜芦醇的细胞毒性;同样以不同浓度的酒精^[12](0-400 mmol/L)处理细胞24 h后检测细胞活性以观察酒精的细胞毒性。

1.2.3 白藜芦醇减弱酒精诱导的神经毒性:以不同浓度的白藜芦醇(0-100 μmol/L)预处理分化后的SH-SY5Y细胞24 h后,用300 mmol/L浓度的酒精诱导24 h,之后在每孔中加入20 μL MTT,孵育4 h,弃去培养液,加入100 μL DMSO,摇床震荡15 min,待紫色结晶完全溶解后,酶标仪570 nm处读取吸光度(A)值。

1.2.4 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)与细胞内总活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测:使用武汉华美生物工程有限公司的ELISA试剂盒检测SOD、ROS表达,按照说明书进行严格操作,用荧光酶标仪在490 nm处读取

SOD A值;以激发波长480 nm,发射波长530 nm读取ROS A值;酶标仪450 nm处读取ROS读数。

1.2.5 细胞凋亡检测:白藜芦醇与酒精处理过的SH-SY5Y细胞用预冷的PBS冲洗后,0.1%胰蛋白酶收取细胞,离心后用试剂盒自带缓冲液预冷后重悬细胞, FITC Annexin V和碘化丙啶(PI)荧光标志物孵育15 min,流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.2.6 RT-PCR检测细胞内SOD₁、SOD₂、过氧化氢酶、多聚ADP核糖聚合酶[poly(ADP-ribose) polymerase, PARP]和Caspase3 mRNA的表达:使用上海生工总RNA提取试剂盒严格按照说明书提取SH-SY5Y细胞总RNA;使用紫外分光光度计检测A_{260/230}和A_{260/280}以检测RNA纯度及计算RNA浓度。引物设计参考文献[13,14]并在GenBank中比对,由上海生工合成,表1为相关基因上下游引物基本信息。根据上海生工一步法反转录试剂盒说明书配制RT-PCR混合物。反转录体系为:RNA样本(50 ng/μL)1 μL, 5×RT Buffer 4 μL, 反转录引物2 μL, 反转录酶1 μL, 双蒸水12 μL, 总共20 μL。使用PCR仪48℃ 1 min, 42℃ 60 min, 95℃ 5 min进行反转录。PCR复合扩增体系为:各基因cDNA 9.3 μL, 10.7 μL PCR反应混合物, 包含5×PCR Buffer、25 μmol/L MgCl₂和上下游引物。扩增条件:95℃ 10 min, 94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 延长1 min, 34个循环, 4℃ 保存。内参基因为ACTB。应用GeXP基因分析仪分析抗氧化酶基因(SOD₁、SOD₂和过氧化氢酶)和凋亡基因(PARP, Caspase3) mRNA水平的变化。

统计学处理 采用SPSS20.1软件进行分析,统计结果以mean±SD表示,计量资料采用方差分析。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞毒性检测情况 白藜芦醇与酒精的细胞毒性结果如图1。图1A为不同浓度酒精(0-300 mmol/L)作用于SH-SY5Y细胞24 h后的细胞活力。各不同酒精浓度组细胞活性较对照组均有所下降,差异均有统计学意义(P<0.05)。图1B为不同浓度的白藜芦醇(0-100 μmol/L)作用于SH-SY5Y细胞24 h后的细胞毒性,各组与对照组相比均无明显变化(P>0.05)。

2.2 细胞活力检测情况 白藜芦醇对抗酒精毒性的细胞活力检测显示了不同浓度的白藜芦醇均可削弱300 mmol/L酒精诱导的细胞毒性作用(P<0.05)(图1C);与对照组比较,25 μmol/L白藜芦醇组差异无统计学意义(P>0.05)(图1C),50和

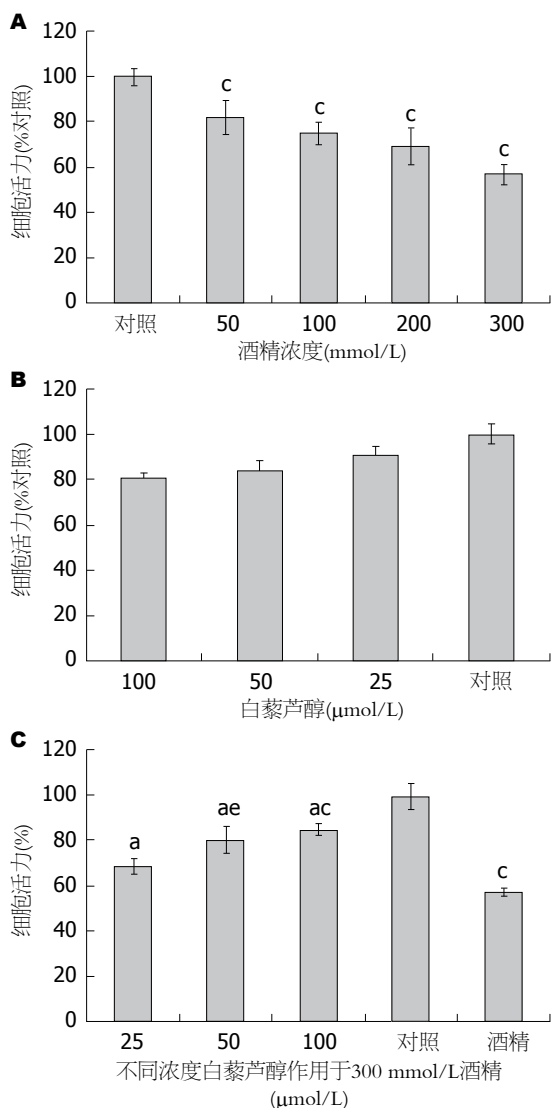


图 1 细胞活力检测. A: 不同浓度酒精作用于SH-SY5Y细胞的细胞毒性; B: 不同浓度白藜芦醇对SH-SY5Y细胞的细胞毒性; C: 不同浓度白藜芦醇作用SH-SY5Y细胞24 h后, 300 mmol/L酒精作用24 h后的细胞活力. ^a*P*<0.05 vs 酒精组; ^b*P*<0.05 vs 对照组; ^c*P*<0.05 vs 100 μmol/L组.

100 μmol/L的白藜芦醇比较, 差异有统计学意义 (*P*<0.05).

2.3 SOD、ROS检测情况 细胞内SOD、ROS含量改变如图2所示. 图2A为SOD活性改变: 与对照组比较, 酒精组细胞内SOD活性明显下降, 差异有统计学意义 (*P*<0.01); 与酒精组比较100和50 μmol/L白藜芦醇组细胞内SOD活性明显升高, 差异有统计学意义 (*P*<0.01), 而其25 μmol/L白藜芦醇预处理组SOD活性略有升高与酒精组比较差异无统计学意义 (*P*>0.05). 图2B所示为ROS水平: 与对照组比较, 酒精组细胞内ROS水平明显升高. 与酒精组比较, 各组白藜芦醇组细胞内ROS水平明显下降, 差异有统计学意义

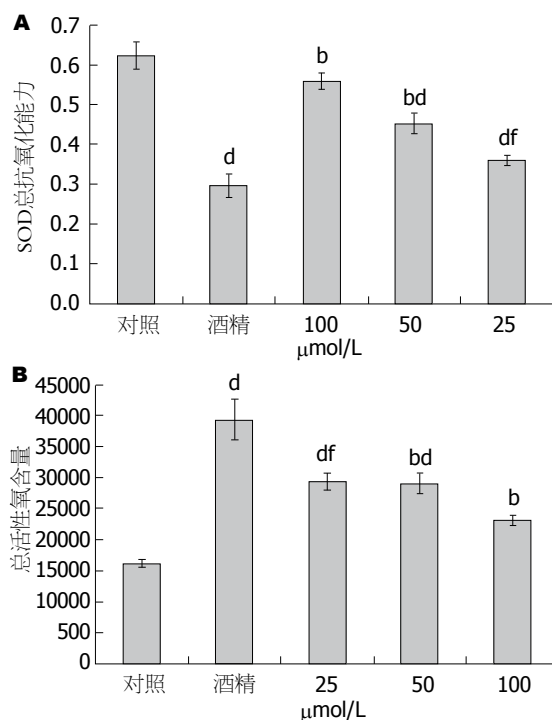


图 2 不同浓度白藜芦醇对抗300 mmol/L酒精诱导的氧化应激反应. A: SOD活性检测; B: 细胞内总ROS水平检测. ^b*P*<0.01 vs 酒精组; ^d*P*<0.01 vs 对照组; ^f*P*<0.01 vs 100 μmol/L组. SOD: 超氧化物歧化酶; ROS: 活性氧.

(*P*<0.01), 而最低浓度的25 μmol/L组ROS水平与对照组比较差异也有统计学意义 (*P*<0.01).

2.4 流式细胞术细胞凋亡检测 细胞凋亡是指细胞在生理或病理条件下, 遵循自身的程序, 结束自己生命的过程, 其与坏死是完全不一样的死亡过程. 在细胞凋亡早期, 细胞膜内部的磷脂酰丝氨酸(PS)迁移到细胞外层表面, Annexin V对PS有高度亲和力的磷脂结合蛋白, 可作为探针识别细胞膜表面是否有PS而识别早期凋亡细胞. 与对照组早期凋亡细胞(R6)10.46%±0.93%和晚期凋亡细胞(R4)6.48%±1.02%相比, 300 mmol/L酒精诱导后SH-SY5Y早晚期凋亡细胞明显增加22.61%±2.28%和27.81%±3.14% (*P*<0.01); 同样, 两组间健康活力细胞比较也具有统计学意义 (*P*<0.01), 对照组活力细胞(R5)为82.85%±1.75%, 酒精组为49.1%±2.43%. 不同浓度白藜芦醇均可抑制酒精诱导的凋亡发生, 并且呈剂量依赖关系, 白藜芦醇浓度越高, 健康有活力细胞越多, 反之则减少, 如图3所示.

2.5 细胞内SOD₁、SOD₂、过氧化氢酶、PARP和Caspase3 mRNA表达变化 图4显示经不同浓度白藜芦醇预处理再以300 mmol/L酒精诱导后SH-SY5Y细胞内SOD₁、SOD₂、过氧化氢酶、

■ 创新盘点

本文测定了神经细胞内SOD活性, ROS含量及凋亡细胞数量, 并应用PCR技术检测了凋亡与氧化应激相关基因的mRNA水平, 从而对酒精性肝病中氧化应激发生的机制有了新的认识. 并通过毒性检测获得了用酒精和白藜芦醇处理神经细胞的浓度, 为后续的科研工作提供了有价值的参数.

应用要点

本研究检测了经白藜芦醇处理前后细胞内ROS含量、SOD活性以及细胞凋亡水平的检测,并且应用PCR技术检测了相关基因mRNA水平,证实白藜芦醇对酒精诱导的氧化应激所致神经细胞损伤有保护作用,提供了一种有潜在研发价值的酒精性脑病治疗药物,并为其可能的临床应用提供理论基础。

表1 复合扩增基因列表

基因名称	GeneBank 号	加标记(带下划线部分的)引物序列(5'-3')	
		上游引物	下游引物
<i>ACTBa</i>	NM_001101	GATCATTGCTCCTCCTGAGC	AAAGCCATGCCAATCTCATC
<i>SOD₁</i>	NM_000454	TCATCAATTCGAGCAGAAGG	TGCTTTTTCATGGACCACC
<i>SOD₂</i>	NM_000636	CATCAAACGTGACTTTGGTTC	CTCAGCATAACGATCGTGGTT
<i>Catalase</i>	NM_001752	GAAGTGC GGAGATTCAACT	ACACGGATGAACGCTAAGCT
<i>PARP</i>	NM_001618	TATCGAGTCGAGTACGCCAA	GTGTGGGACTTTCCATCAA
<i>Caspase3</i>	NM_032991.2	TTGAGACAGACAGTGGTGTT	GTTAACCGAAAGGTGGCAA

ACTB: β -actin; SOD: 超氧化物歧化酶; PARP: 多聚ADP核糖聚合酶。

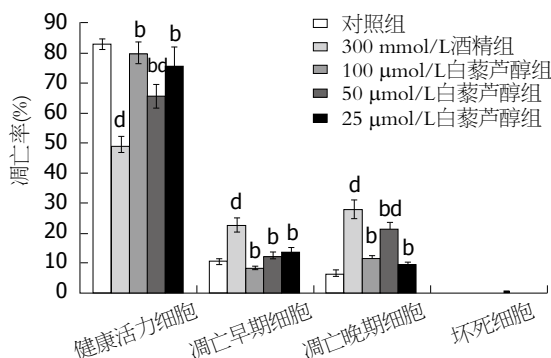


图3 Annexin V-碘化丙啶流式细胞术细胞凋亡检测。细胞被分为4组:健康活力细胞、凋亡早期细胞、凋亡晚期细胞和坏死细胞。^b $P < 0.01$ vs 酒精组; ^d $P < 0.01$ vs 对照组。

*PARP*和*Caspase3*五种基因mRNA水平与未施加任何处理因素的对照组比较,酒精组*SOD₁*、*SOD₂*、过氧化氢酶、*PARP*和mRNA水平均明显下降,*Caspase3* mRNA明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);不同浓度的白藜芦醇预处理组*SOD₁*、*SOD₂*、过氧化氢酶和*PARP* mRNA水平与酒精组比较均有所升高,而*Caspase3* mRNA明显下降,并且差异有统计学意义($P < 0.05$)。组间比较显示,*SOD₁*、*SOD₂*、过氧化氢酶、*PARP* mRNA表达中100 μ mol/L白藜芦醇组中*SOD₁*明显高于50和25 μ mol/L组;而*Caspase3*组mRNA表达中100 μ mol/L白藜芦醇组明显低于其他剂量组。充分说明白藜芦醇作用与剂量呈正比。

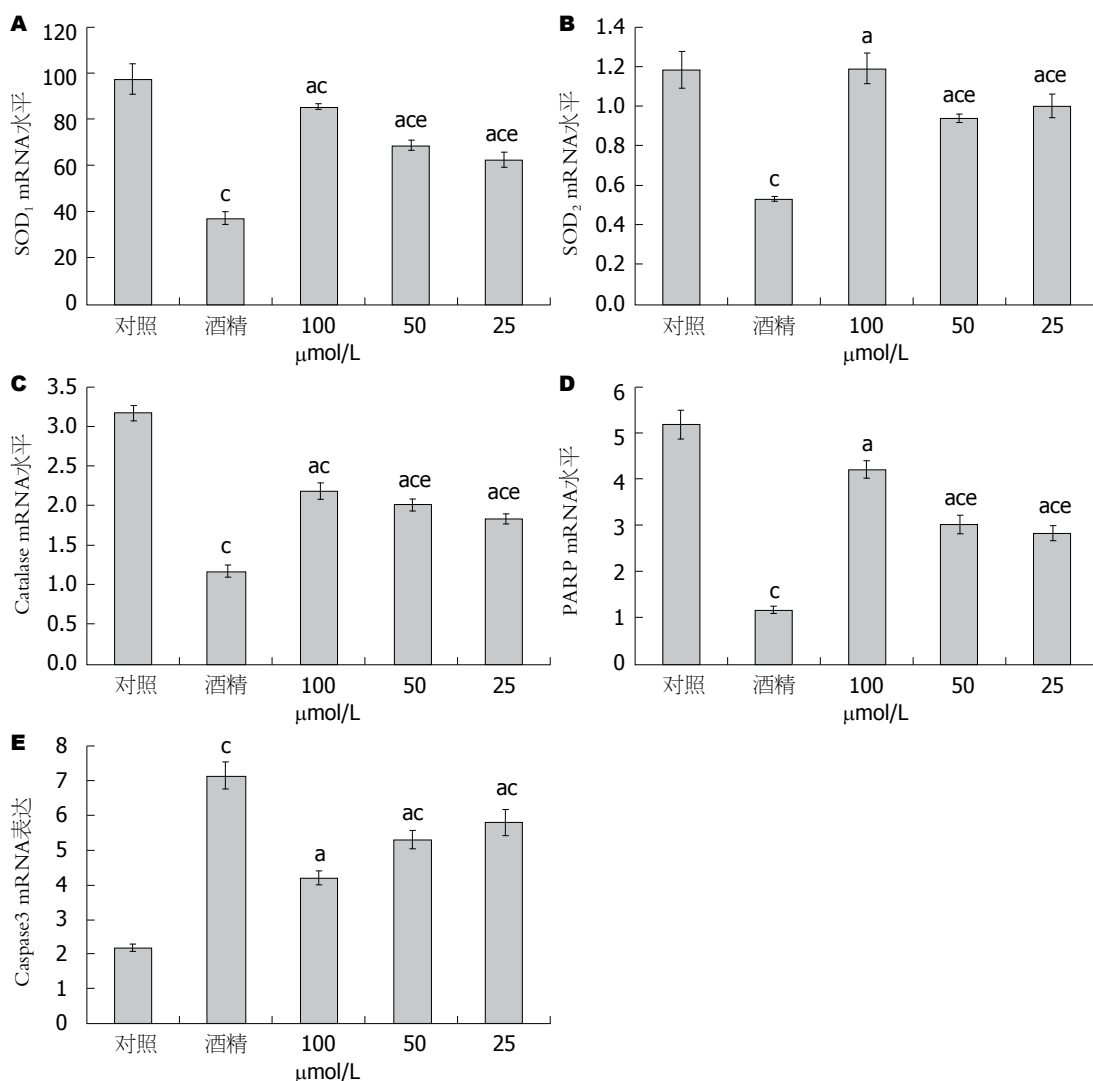
3 讨论

白藜芦醇是众所周知的抗氧化与抗炎化合物,其在红酒中含量较大,可以发挥很多药理学作用,包括肝脏保护和心血管保护作用^[1,15,16]。研究^[17]表明中等量的红酒对肝脏酶的活性并不发挥作用。因此,由于白藜芦醇在白酒中的低溶解性和低吸附性科研数据并不支持通过饮用红

酒来预防治疗酒精相关性疾病^[18]。氧化应激引起的酒精性肝病致病机制已成为公认的致病机制,在氧化应激损伤过程中,又引起了凋亡的发生,凋亡与氧化应激相互作用,共同促进酒精性疾病的发展^[19-21]。长期大量饮酒可以引起脑细胞受损和大脑损伤,最终发展为酒精性痴呆^[22-24]。酒精性痴呆患者可引起记忆力障碍,语言受损,不能胜任诸如包装等复杂手部动作^[19,25,26]。然而酒精引起的神经细胞受损及相关的神经退行性改变潜在机制并不十分清楚。

因此,本研究的主要目的是检测白藜芦醇在分化的SH-SY5Y神经元样细胞中的抗氧化活性,抑制了凋亡通路,进而发挥了抗酒精性损伤作用。本研究发现暴露于300 mmol/L酒精的细胞24 h后其细胞活力下降了近一半,并引起了细胞内自由基明显增高,而与此同时,抗氧化酶活性却大大降低。流式细胞仪检测细胞凋亡发现,酒精在引起氧化应激反应的同时,激活了凋亡的产生。通过复合扩增方式检测细胞的mRNA水平发现,酒精诱导的细胞在氧化应激和凋亡相关基因中均有所变化。这些研究结果与之前的相关研究结果相一致。实际上,有些研究结果表明了酒精可以干扰正常发育的大脑,尤其是新皮质和海马区的神经细胞^[27]。酒精发挥作用的机制可能是通过DNA修复不足或点突变,这样即可引起DNA损伤和细胞死亡。

一些天然化合物,比如黄酮类化合物,由于潜在的预防效果已经被用于预防神经保护和抗炎作用^[28-31]。近期研究^[32]表明,白藜芦醇除了经典的抗氧化功能,还通过诱导抗凋亡信号通路和线粒体损伤清除来发挥神经细胞保护作用。本研究证明白藜芦醇是通过削弱酒精引起的自由基增多,同时激活氧化还原酶提高抗氧化活



■名词解释
 氧化应激: 氧化应激的概念包含氧化和抗氧化两个大方面内容。人体在新陈代谢过程中及遭受各种有害刺激时会产生多种有氧化作用的高活性分子称作自由基(Free radical), 包括超氧阴离子(O₂⁻)、羟自由基(.OH)和过氧化氢(H₂O₂)等多种分子。这些分子可氧化脂质等多种重要机体组分而造成细胞损伤。人体内也同时存在抗氧化系统包括以SOD和过氧化氢酶为代表的抗氧化酶和以还原型谷胱甘肽为代表的非酶抗氧化物。氧化应激即指因体内氧化作用强于抗氧化作用而出现的失衡现象。

图 4 SH-SY5Y细胞中mRNA水平的表达。A: SOD₁ mRNA表达量; B: SOD₂ mRNA表达量; C: Catalase mRNA表达量; D: PARP mRNA表达量; E: Caspase3 mRNA表达量。*P<0.05 vs 酒精组; #P<0.05 vs 对照组; △P<0.05 vs 100 μmol/L组。SOD: 超氧化物歧化酶; PARP: 多聚ADP核糖聚合酶。

性, 继而减少酒精损伤性细胞的凋亡而发挥的神经保护作用。在本实验中, 我们使用了三种不同浓度的白藜芦醇: 25、50和100 μmol/L, 实验数据表明白藜芦醇的神经保护作用具有剂量依赖性, 高剂量的白藜芦醇神经保护作用强, 低剂量组神经保护作用弱, 尤其是100 μmol/L组可以明显降低酒精引起的神经细胞损伤作用。

凋亡是在基因调控下发生的一种程序性细胞死亡, 凋亡既可以在生理条件下产生, 也可以在病理刺激下发生^[33], 对胚胎发育、正常细胞群的稳定、肿瘤等其他疾病的发生进展起着重要作用^[34-36]。流式细胞结果显示酒精可以引起细胞凋亡的发生, 而白藜芦醇通过减弱凋亡发挥了保护作用。实验数据表明抗凋亡通路中的PARP和Caspase3均发生了相关变化。PARP是细胞凋

亡核心成员Caspase的切割底物。因此, 他在DNA损伤修复与细胞凋亡中发挥着重要作用。PARP对于细胞的稳定和存活非常重要, PARP失去酶活力会加速细胞的不稳定。已有体内体外实验表明半胱氨酸介导的PARP-1可以有效地引起DNA损伤依赖的催化剂活性的失活^[37]。

总之, 本实验结果揭示了300 mmol/L的酒精可以引起SH-SY5Y细胞氧化应激与凋亡的发生。表明白藜芦醇通过介导氧化应激及氧化应激引起的抗凋亡途径发挥了神经保护作用。由于本文只是初步研究, 比如实验数据表明的白藜芦醇可降低酒精诱导引起的ROS增高, 在实验中只探讨了抗氧化酶SOD的作用, 并没有探讨非抗氧化酶, 比如谷胱甘肽, 在氧化应激中的作用。因此, 在未来的实验中, 应该继续探讨白藜芦醇

同行评价

本研究具有一定的新意, 实验结果较明确, 实验证据基本充足, 讨论条理分明, 有系统的理论分析和有价值的科学结论。文章具有一定的创新性、可读性和科学性。

在酒精诱导的神经细胞损伤保护作用中的确切靶点, 从而为临床治疗打下坚实基础。

4 参考文献

- Liu LQ, Fan ZQ, Tang YF, Ke ZJ. The resveratrol attenuates ethanol-induced hepatocyte apoptosis via inhibiting ER-related caspase-12 activation and PDE activity in vitro. *Alcohol Clin Exp Res* 2014; 38: 683-693 [PMID: 24224909 DOI: 10.1111/acer.12311]
- Barnes MA, McMullen MR, Roychowdhury S, Pisano SG, Liu X, Stavitsky AB, Bucala R, Nagy LE. Macrophage migration inhibitory factor contributes to ethanol-induced liver injury by mediating cell injury, steatohepatitis, and steatosis. *Hepatology* 2013; 57: 1980-1991 [PMID: 23174952 DOI: 10.1002/hep.26169]
- Tome S, Lucey MR. Review article: current management of alcoholic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 707-714 [PMID: 15043511]
- Cala LA, Thickbroom GW, Black JL, Collins DW, Mastaglia FL. Brain density and cerebrospinal fluid space size: CT of normal volunteers. *AJNR Am J Neuroradiol* 1981; 2: 41-47 [PMID: 6784549]
- Crews F, Nixon K, Kim D, Joseph J, Shukitt-Hale B, Qin L, Zou J. BHT blocks NF-kappaB activation and ethanol-induced brain damage. *Alcohol Clin Exp Res* 2006; 30: 1938-1949 [PMID: 17067360]
- Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992; 339: 1523-1526 [PMID: 1351198 DOI: 10.1016/0954-6820(92)91277-F]
- Singh CK, Kumar A, Lavoie HA, Dipette DJ, Singh US. Diabetic complications in pregnancy: is resveratrol a solution? *Exp Biol Med* (Maywood) 2013; 238: 482-490 [PMID: 23436883 DOI: 10.1177/1535370212]
- Sinha K, Chaudhary G, Gupta YK. Protective effect of resveratrol against oxidative stress in middle cerebral artery occlusion model of stroke in rats. *Life Sci* 2002; 71: 655-665 [PMID: 12072154 DOI: 10.1016/S0024320502016910]
- Polycarpou E, Meira LB, Carrington S, Tyrrell E, Modjtahedi H, Carew MA. Resveratrol 3-O-D-glucuronide and resveratrol 4'-O-D-glucuronide inhibit colon cancer cell growth: evidence for a role of A3 adenosine receptors, cyclin D1 depletion, and G1 cell cycle arrest. *Mol Nutr Food Res* 2013; 57: 1708-1717 [PMID: 23650147 DOI: 10.1002/mnfr.201200742]
- Puca AA, Carrizzo A, Ferrario A, Villa F, Vecchione C. Endothelial nitric oxide synthase, vascular integrity and human exceptional longevity. *Immun Ageing* 2012; 9: 26 [PMID: 23153280 DOI: 10.1186/1742-4933-9-26]
- 何培元, 高淑梅, 侯志平, 马立新, 李炳庆. 白藜芦醇对酒精诱导的HepG2细胞氧化损伤的保护作用及相关基因表达的变化. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 1928-1935
- 何培元, 高淑梅, 张聪, 侯志平, 马立新, 李炳庆. 白藜芦醇通过MEK/ERK-SIRT1通路的激活调节酒精诱导的HepG2细胞凋亡损伤. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 3011-3018
- Zhao B. Natural antioxidants protect neurons in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Neurochem Res* 2009; 34: 630-638 [PMID: 19125328 DOI: 10.1007/s11064-008-9900-9]
- Mancuso C, Siciliano R, Barone E, Preziosi P. Natural substances and Alzheimer's disease: from pre-clinical studies to evidence based medicine. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1822: 616-624 [PMID: 21939756 DOI: 10.1016/j.bbadis.2011.09.004]
- Kasdallah-Grissa A, Mornagui B, Aouani E, Hammami M, El May M, Gharbi N, Kamoun A, El-Fazaâ S. Resveratrol, a red wine polyphenol, attenuates ethanol-induced oxidative stress in rat liver. *Life Sci* 2007; 80: 1033-1039 [PMID: 17258234]
- Rivera H, Shibayama M, Tsutsumi V, Perez-Alvarez V, Muriel P. Resveratrol and trimethylated resveratrol protect from acute liver damage induced by CCl4 in the rat. *J Appl Toxicol* 2008; 28: 147-155 [PMID: 17541932]
- Pinzani P, Petruzzi E, Orlando C, Malentacchi F, Petruzzi I, Pazzagli M, Masotti G. Healthy centenarian subjects: the effect of red wine consumption on liver function tests. *J Endocrinol Invest* 2005; 28: 120-122 [PMID: 16760640]
- Rodrigo R, Miranda A, Vergara L. Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. *Clin Chim Acta* 2011; 412: 410-424 [PMID: 21130758 DOI: 10.1016/j.cca.2010.11.034]
- Iliev A, Traykov V, Prodanov D, Mantchev G, Yakimova K, Krushkov I, Boyadjieva N. Effect of the acetylcholinesterase inhibitor galanthamine on learning and memory in prolonged alcohol intake rat model of acetylcholine deficit. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1999; 21: 297-301 [PMID: 10399139]
- Liang S, Su WW, Wang YG, Peng W, Nie YC, Li PB. Effect of quercetin 7-rhamnoside on glycochenodeoxycholic acid-induced L-02 human normal liver cell apoptosis. *Int J Mol Med* 2013; 32: 323-330 [PMID: 23756642 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1414]
- Goldin RD, Hunt NC, Clark J, Wickramasinghe SN. Apoptotic bodies in a murine model of alcoholic liver disease: reversibility of ethanol-induced changes. *J Pathol* 1993; 171: 73-76 [PMID: 8229461]
- Tiwari V, Chopra K. Resveratrol abrogates alcohol-induced cognitive deficits by attenuating oxidative-nitrosative stress and inflammatory cascade in the adult rat brain. *Neurochem Int* 2013; 62: 861-869 [PMID: 23422878 DOI: 10.1016/j.neuint.2013.02.012]
- Peters R, Peters J, Warner J, Beckett N, Bulpitt C. Alcohol, dementia and cognitive decline in the elderly: a systematic review. *Age Ageing* 2008; 37: 505-512 [PMID: 18487267 DOI: 10.1093/ageing/afn095]
- Schuckit MA. Alcoholism and other psychiatric disorders. *Hosp Community Psychiatry* 1983; 34: 1022-1027 [PMID: 6642446]
- Jung ME, Gatch MB, Simpkins JW. Estrogen neuroprotection against the neurotoxic effects of ethanol withdrawal: potential mechanisms. *Exp Biol Med* (Maywood) 2005; 230: 8-22 [PMID: 15618121]
- Khalil R, King MA, Soliman MR. Testosterone reverses ethanol-induced deficit in spatial reference memory in castrated rats. *Pharmacology* 2005; 75: 87-92 [PMID: 16088249]
- Tiwari V, Chopra K. Resveratrol prevents alcohol-induced cognitive deficits and brain damage by blocking inflammatory signaling and cell death cascade in neonatal rat brain. *J Neurochem* 2011; 117: 678-690 [PMID: 21375533 DOI: 10.1111/j.1471-4159.2011.07236]
- Mancuso C, Bates TE, Butterfield DA, Calafato S,

- Cornelius C, De Lorenzo A, Dinkova Kostova AT, Calabrese V. Natural antioxidants in Alzheimer's disease. *Expert Opin Investig Drugs* 2007; 16: 1921-1931 [PMID: 18042001]
- 29 Essa MM, Vijayan RK, Castellano-Gonzalez G, Memon MA, Braidy N, Guillemin GJ. Neuroprotective effect of natural products against Alzheimer's disease. *Neurochem Res* 2012; 37: 1829-1842 [PMID: 22614926 DOI: 10.1007/s11064-012-0799-9]
- 30 Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J Nat Prod* 2012; 75: 311-335 [PMID: 22316239 DOI: 10.1021/np200906s]
- 31 Chou TC, Dong H, Zhang X, Lei X, Hartung J, Zhang Y, Lee JH, Wilson RM, Danishefsky SJ. Multifaceted cytoprotection by synthetic polyacetylenes inspired by the ginseng-derived natural product, panaxytriol. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 14336-14341 [PMID: 21844359 DOI: 10.1073/pnas.1111332108]
- 32 Wu Y, Li X, Zhu JX, Xie W, Le W, Fan Z, Jankovic J, Pan T. Resveratrol-activated AMPK/SIRT1/autophagy in cellular models of Parkinson's disease. *Neurosignals* 2011; 19: 163-174 [PMID: 21778691 DOI: 10.1159/000328516]
- 33 Steller H. Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science* 1995; 267: 1445-1449 [PMID: 7878463]
- 34 von Pawel J, Harvey JH, Spigel DR, Dediu M, Reck M, Cebotaru CL, Humphreys RC, Gribbin MJ, Fox NL, Camidge DR. Phase II trial of mapatumumab, a fully human agonist monoclonal antibody to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor 1 (TRAIL-R1), in combination with paclitaxel and carboplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2014; 15: 188-196. e2 [PMID: 24560012 DOI: 10.1016/j.clcc.2013.12.005]
- 35 Garimella SV, Gehlhaus K, Dine JL, Pitt JJ, Grandin M, Chakka S, Nau MM, Caplen NJ, Lipkowitz S. Identification of novel molecular regulators of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis in breast cancer cells by RNAi screening. *Breast Cancer Res* 2014; 16: R41 [PMID: 24745479 DOI: 10.1186/bcr3645]
- 36 Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1456-1462 [PMID: 7878464]
- 37 D'Amours D, Sallmann FR, Dixit VM, Poirier GG. Gain-of-function of poly(ADP-ribose) polymerase-1 upon cleavage by apoptotic proteases: implications for apoptosis. *J Cell Sci* 2001; 114: 3771-3778 [PMID: 11707529]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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)

外源性硫化氢在PI3K/Akt通路对大鼠纤维化肝细胞增殖、凋亡的影响

岳雅伦, 宋丽秀, 郑娜娜, 张传峰, 张宁, 韩延智, 陈卫刚, 郑勇

■背景资料

硫化氢(H₂S)作为一种新型的气体信号分子,广泛参与体内多种组织和器官的生理调节,本课题组前期研究发现:H₂S在肝纤维化的发生发展过程中具有保护作用。

岳雅伦, 郑娜娜, 张传峰, 石河子大学医学院 新疆维吾尔自治区石河子市 832002

宋丽秀, 张宁, 韩延智, 陈卫刚, 郑勇, 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

岳雅伦, 在读硕士, 主要从事慢性肝病及消化系统肿瘤的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81170402

作者贡献分布: 本课题由岳雅伦、郑勇及陈卫刚设计; 研究过程由岳雅伦、宋丽秀、郑娜娜、张传峰、张宁及韩延智完成; 研究所用试剂由郑勇与陈卫刚提供; 数据分析由岳雅伦完成; 本论文写作由岳雅伦、郑勇及陈卫刚完成。

通讯作者: 郑勇, 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。zy2850@126.com

收稿日期: 2014-08-25 修回日期: 2014-11-10

接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2014-12-28

Exogenous hydrogen sulfide promotes proliferation and inhibits apoptosis of hepatocytes via PI3K/Akt pathway

Ya-Lun Yue, Li-Xiu Song, Na-Na Zheng, Chuan-Feng Zhang, Ning Zhang, Yan-Zhi Han, Wei-Gang Chen, Yong Zheng

Ya-Lun Yue, Na-Na Zheng, Chuan-Feng Zhang, College of Medicine of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Li-Xiu Song, Ning Zhang, Yan-Zhi Han, Wei-Gang Chen, Yong Zheng, Department of Gastroenterology, 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: Yong Zheng, 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. zy2850@126.com

Received: 2014-08-25 Revised: 2014-11-10

Accepted: 2014-11-18 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To explore the effect of exogenous hydrogen sulfide on rat hepatocyte proliferation and apoptosis and the role of phosphoinositide-3-kinase (PI3K)/Akt pathway.

METHODS: Female SD rats were subcutaneous-

ly injected with carbon tetrachloride to induce hepatic fibrosis, and hepatocytes were isolated from the rats. Primary hepatocytes were divided into three groups: a normal control group, a hydrogen sulfide group, and an LY294002 plus hydrogen sulfide group. MTT method was used to determine cell proliferation. Apoptosis of liver cells was detected by Hoechst 33342 staining. The expression of PI3K and phosphorylated Bad protein was detected by Western blot.

RESULTS: Sodium hydrosulfide at 50 $\mu\text{mol/L}$ promoted cell proliferation ($P < 0.05$, compared with the control group), while 50 $\mu\text{mol/L}$ LY294002 inhibited cell proliferation ($P < 0.05$, compared with the control group). Compared with the control group and sodium hydrosulfide group, the LY294002 plus hydrogen sulfide group had a significantly higher rate of cell apoptosis ($P < 0.05$). The expression of PI3K and phosphorylated Bad protein in the sodium hydrosulfide group was significantly higher than that in the control group and LY294002 plus hydrogen sulfide group ($P < 0.05$). However, PI3K and phospho-Bad protein expression in the LY294002 plus hydrogen sulfide group was significantly less than in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Hydrogen sulfide promotes primary hepatocyte proliferation and inhibits its apoptosis possibly through the PI3K/Akt pathway.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hydrogen sulfide; Hepatocytes; Proliferation; Apoptosis; PI3K/Akt pathway

Yue YL, Song LX, Zheng NN, Zhang CF, Zhang N, Han YZ, Chen WG, Zheng Y. Exogenous hydrogen sulfide promotes proliferation and inhibits apoptosis of hepatocytes via PI3K/Akt pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5602-5608 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5602.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5602>

■同行评议者

陈积圣, 教授, 中山大学孙逸仙纪念医院肝胆外科; 邓庆, 副研究员, 上海人类基因组研究中心功能基因组部

摘要

目的: 探讨硫化氢(H₂S)对原代肝纤维化鼠肝细胞增殖、凋亡的作用及其与磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide-3-kinase, PI3K)/Akt通路的关系。

方法: 采用CCl₄复合因素法制备肝纤维化大鼠模型, 胰酶两步灌注法提取肝纤维化鼠肝细胞, 设对照组、NaHS组、NaHS+LY294002组, MTT法测定NaHS和LY294002对大鼠肝细胞的增殖抑制率(inhibition rate), Hochest33342法检测各组肝细胞的凋亡率, Western blot检测PI3K、Phospho-Bad蛋白的表达量。

结果: 50 μmol/L NaHS、50 μmol/L LY294002为最适浓度; 与对照组相比, NaHS+LY294002组细胞凋亡率高($P<0.05$), NaHS组细胞凋亡率低, 但差异无统计学意义; NaHS组PI3K、Phospho-Bad蛋白表达量高于对照组和NaHS+LY294002组, 而NaHS+LY294002组PI3K、Phospho-Bad蛋白表达量低于对照组和NaHS组, 各组间相互比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。

结论: H₂S可以通过激活PI3K/Akt通路促进肝细胞的增殖, 抑制肝细胞的凋亡。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 硫化氢; 肝细胞; 细胞增殖; 细胞凋亡; PI3K/Akt通路

核心提示: 在本实验中, 给予外源性硫化氢(H₂S)可促进肝细胞的增殖, 抑制肝细胞的凋亡, 激活磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide-3-kinase, PI3K)/Akt通路的上游蛋白PI3K, 促使下游的凋亡蛋白Bad磷酸化而失活, 给予PI3K/Akt通路抑制剂LY294002后, H₂S对肝细胞的保护作用可被完全阻断, 这提示我们, H₂S对肝细胞的保护作用可能是通过PI3K/Akt通路来调节的。

岳雅伦, 宋丽秀, 郑娜娜, 张传峰, 张宁, 韩延智, 陈卫刚, 郑勇. 外源性硫化氢在PI3K/Akt通路对大鼠纤维化肝细胞增殖、凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5602-5608
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5602.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5602>

0 引言

硫化氢(H₂S)是继NO、CO之后发现的第三类气体信号分子, 分布于哺乳动物的多种组织和器官中, 有着广泛的生物学效应. 课题组的前期研

究^[1,2]已表明, H₂S可降低门静脉压力, 下调肝组织中I、III型胶原蛋白的表达, 这提示H₂S可以显著延缓肝纤维化的进程, 但具体机制尚需进一步探讨. 激活磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide-3-kinase, PI3K)/Akt通路是广泛存在细胞中的信号转导通路, 参与调节细胞的增殖、凋亡, 维持周期运行^[3]. 近来研究^[4,5]表明, PI3K/Akt通路介导了H₂S对心肌细胞、海马神经元等的保护作用, 然而其具体机制尚不明确. 肝纤维化是肝硬化演变过程的一个重要阶段, 肝细胞是肝脏的主要实质细胞^[6], 各种因素导致肝细胞损伤, 发生变性坏死, 纤维结缔组织增生, 进而促使肝纤维化形成. 本实验拟从肝纤维化大鼠中成功提取肝细胞, 并给予外源性H₂S及LY294002(PI3K/Akt通路抑制剂)干预, 探讨H₂S在PI3K/Akt通路对原代肝纤维化鼠肝细胞增殖、凋亡的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 SD大鼠, 150-200 g, 清洁级, 新疆医科大学实验动物中心提供; 多聚赖氨酸(北京Solarbio公司); WME培养基(美国Gibco公司); 胎牛血清(美国Hyclone公司); 胰酶(美国Amresco公司); 青霉素、链霉素、胰岛素、地塞米松(美国Sigma公司); D-Hank液、Hank液(北京Solarbio公司); NaHS(美国Sigma公司); LY294002(美国Sigma公司); 噻唑蓝(MTT, 美国Sigma公司); Hochest33342(美国Gibco公司); 兔抗鼠PI3K单克隆一抗(美国Cell Signal Technology公司); 兔抗鼠bad单克隆一抗(英国Abcam公司); 二抗检测试剂盒均购自北京中杉金桥有限公司; 化学发光试剂盒(美国Thermo公司); 变性型裂解液(北京Biotek公司); 二氧化碳培养箱(美国Forma公司); 其他试剂国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 肝纤维化模型的制备: 参照刘浩等^[4]CCl₄复合因素法制备肝纤维化大鼠模型, 模型制备成功后用于下一步实验。

1.2.2 大鼠肝细胞的分离、纯化与培养: 造模好的大鼠腹部备皮, 消毒, 10%的水合氯醛3 mL/kg腹腔注射麻醉, 将大鼠四肢固定于泡沫板上, 腹部皮肤消毒, 剪开腹腔, 分离下腔静脉及门静脉并结扎其远心端, 将连接输液器的留置针从门静脉的近心端插入, 然后将输液器的所有开关开到最大, 待肝脏肿大时剪开下腔静脉. 将37℃预热的D-Hank液以流速25 mL/min灌注约10 min待肝脏变为土黄色后, 改用37℃预热含0.18%的

■ 研发前沿

H₂S可通过活化PI3K/Akt通路调节心肌细胞、海马神经元和肝星状细胞的增殖和凋亡, 但对肝细胞, 尤其是肝纤维化进程中的肝细胞的作用目前报道较少。

■相关报道

刘浩等研究发现,在H₂S缺乏的状态下,肝硬化大鼠肝细胞的凋亡增加,进而促进肝纤维化启动与发生甚至引起门静脉压力的进一步增高,这说明在肝纤维化的进程中,H₂S可能通过调节肝细胞的增殖和凋亡来抗肝纤维化。

胰酶继续灌流约10 min至肝脏呈白色龟裂状停止灌流。取下灌流好的肝脏,用含1%双抗的4℃预冷的Hanks液冲洗2遍,置入培养皿中,Hanks液终止消化,去除肝包膜及血管等纤维结缔组织,收集肝细胞悬液,200目筛网过滤,500 r/min离心5 min,弃上清液,再次重复上述操作,离心4-5次以去除胰酶及非肝实质细胞。将纯化后的肝细胞收集于含10%FBS、0.8 μmol/L胰岛素、0.5 μmol/L地塞米松和1%双抗的WME培养基培养,台盼蓝染色检测细胞活力并计数,细胞活力>80%者用于后续实验,将调整好密度的肝细胞种于提前用多聚赖氨酸铺过板的35 mm培养板中,37℃、50 mL/L CO₂条件下培养。4-6 h细胞贴壁后换液,去除活力不高的肝细胞,继续培养进行后续实验。

1.2.3 四甲基偶氮唑蓝(MTT)法检测细胞增殖:将提取的原代肝细胞以10⁵个/孔种于无菌96孔板中,每孔加入培养基至200 μL,37℃ CO₂培养箱培养6 h,换液,去除活力不好的肝细胞,继续培养20 h后加药处理。NaHS组分别按照25、50、75、100、200 μmol/L浓度梯度给药,LY组分别按照25、50、75、100、200 μmol/L浓度梯度给药,确定最适浓度。每组设6个复孔,边缘孔用PBS填充,继续在CO₂培养箱中继续孵育48 h后,除边缘孔外每孔均加入5 mg/mL的MTT 20 μL。反应4 h后吸去培养基,并加150 μL DMSO,避光振荡混匀10 min后用酶标仪测定其吸光度(A)值,测定波长490 nm,计算细胞增殖抑制率(inhibition rate, IR),换算公式为:IR = (1-实验组A值/对照组A值)×100%。

1.2.4 Hoechst染色检测细胞凋亡:将提取的原代肝细胞接种于6孔培养板中,培养6 h后换液,去除活力不好的肝细胞,继续培养20 h后加药处理,设N组(正常对照组),H₂S组(加入50 μmol/L NaHS),LY+H₂S组(加入50 μmol/L NaHS+50 μmol/L LY294002)处理48 h,以4%多聚甲醛固定液2 min,去固定液,用PBS洗2次,每次3 min,吸尽液体,加入终浓度为10 ng/L的Hoechst33342染色液染色,37℃孵育15 min,用PBS洗2次,每次3 min,荧光显微镜可检测到呈蓝色的细胞核。

1.2.5 Western blot检测PI3K、Bad蛋白的表达:提取的肝细胞按上述步骤接种于6孔培养板中,分组加药处理,48 h后用PBS洗2次,加入细胞裂解液,4℃静置30 min,12000 r/min离心5 min,取上清,采用紫外分光光度计法测定蛋白浓度,统一蛋白浓度为20 g/L,蛋白变性后待用。加样量

每孔5 μL,总蛋白经SDS-PAGE分离后,Marker位置标记,转移至PVDF膜上。室温下目的蛋白用5%BSA封闭2 h,内参用5%脱脂奶粉封闭2 h,PI3K、Bad加入兔抗鼠一抗均为1:1000,β-actin加入鼠抗鼠一抗1:1000,4℃冰箱过夜,TBST洗5次,5 min/次,再各加入山羊抗兔二抗1:30000,β-actin加入山羊抗鼠二抗1:30000常温下孵育2 h,再用TBST洗5次,5 min/次。将PVDF膜用发光试剂ECL显色,暗室曝光到X线片上,显影、定影后将胶片置于凝胶成像进行定量分析,计算目的蛋白灰度值与β-actin蛋白灰度值的比值。

统计学处理 所有数值均用mean±SD示,采用SPSS17.0统计学软件,多个处理组与对照组相比采用单因素方差分析,进一步组间两两比较采用SNK-*q*检验,*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 分离纯化的原代肝纤维化鼠肝细胞形态学观察 置于倒置相差显微镜下观察,可见刚提的原代纤维化鼠的肝细胞呈圆形透亮,核仁清晰,培养24 h后,肝细胞拉平变薄,立体结构明显,多呈岛状连接,双核或多核多见,台盼蓝染色可见,活细胞拒染,整个活细胞呈透亮无色(图1)。

2.2 MTT法检测NaHS与LY对原代纤维化鼠肝细胞增殖、增殖抑制率的影响 由表1可知,在25-75 μmol/L,NaHS可促进肝细胞的增殖,而当NaHS浓度>100 μmol/L以后,肝细胞的增殖受到抑制,且各组与对照组相比差异有统计学意义,以50 μmol/L NaHS促增殖作用最明显,LY294002在各个浓度下A值均小于对照组(*P*<0.05),且随着药物浓度的增大,抑制率逐渐增高。低浓度的LY294002抑制作用不明显,高浓度的LY294002又对肝细胞的形态,功能影响较大,因此本实验选用50 μmol/L浓度的LY294002用于后续实验。

2.3 各组肝纤维化鼠肝细胞凋亡的比较 如图2所示,对照组与NaHS组肝细胞细胞核呈淡蓝色低密度荧光,无明显的核碎裂,两组相比差异无统计学意义,而加入LY294002(PI3K/Akt通路抑制剂)后凋亡细胞较对照组与NaHS组明显增多,细胞核碎裂明显,细胞膜通透性增加,细胞核呈高密度蓝色荧光。NaHS+LY294002组与对照组和NaHS组比较差异有统计学意义(图2D)。

2.4 Western-blot检测各组PI3K、Bad蛋白表达量 与对照组相比,NaHS组PI3K蛋白表达量高(*P*<0.05),Phospho-Bad蛋白表达量明显增高

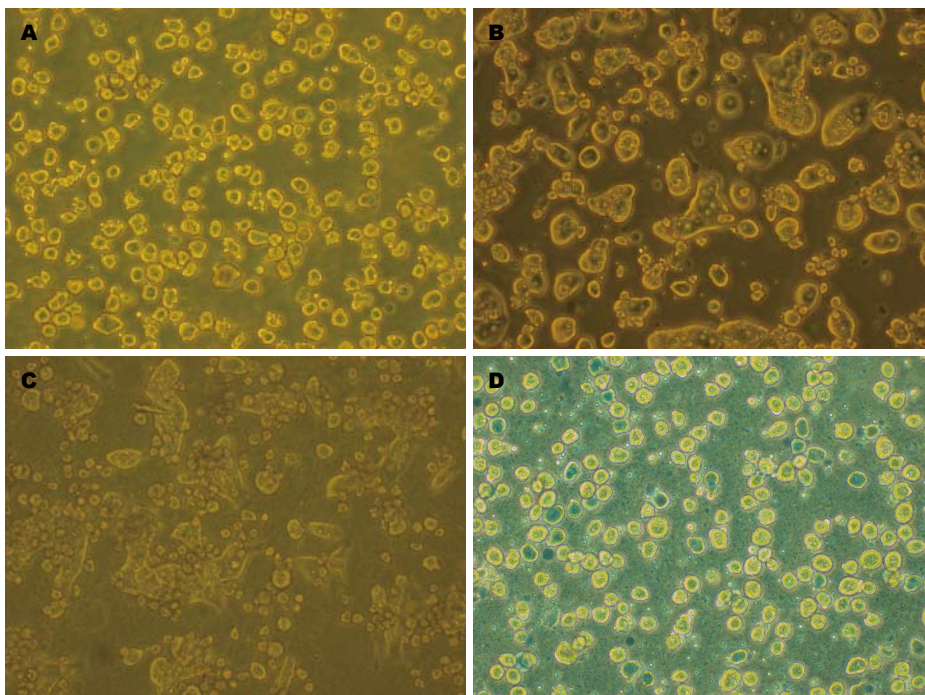


图 1 细胞形态观察($\times 200$)。A: 原代肝细胞刚提; B: 原代肝细胞种板24 h; C: 原代肝细胞种板48 h; D: 台盼蓝染色观察细胞活性。

■创新盘点

本实验通过提取原代肝纤维化大鼠的肝细胞, 并给予 H_2S 供体(NaHS)及PI3K/AKT信号通路特异性阻断剂(LY294002)干预, 观察在体外 H_2S 对肝细胞数量的调节及其对PI3K/Akt通路的影响, 为明确 H_2S 产生的抗肝纤维化机制提供了理论基础。

表 1 NaHS与LY对原代纤维化鼠肝细胞增殖、增殖抑制的作用

分组	药物浓度($\mu\text{mol/L}$)	A值	P值	IR(%)
对照组	-	0.63 ± 0.36	-	0.0
NaHS组	25	0.69 ± 0.30	0.001	9.7 ^b
	50	0.78 ± 0.20	0.000	23.9 ^b
	75	0.64 ± 0.10	0.592	1.2
	100	0.57 ± 0.01	0.000	10.0 ^b
	200	0.55 ± 0.14	0.000	12.1 ^b
LY294002组	25	0.52 ± 0.01	0.000	17.0 ^b
	50	0.47 ± 0.02	0.000	24.7 ^b
	75	0.36 ± 0.01	0.000	42.7 ^b
	100	0.22 ± 0.01	0.000	64.5 ^b
	200	0.17 ± 0.07	0.000	73.7 ^b

^b $P < 0.01$ vs 对照组。

($P < 0.05$); NaHS+LY294002组PI3K蛋白表达量低($P < 0.05$), Phospho-Bad蛋白表达量降低, 但差异无统计学意义(图3)。

3 讨论

肝纤维化是肝硬化演变发展过程中的一个重要阶段, 细胞外基质的大量沉积是肝纤维化的基础, 其中以胶原的合成, 过度沉积为主, 近年来, 肝细胞的胶原合成功能已经得到公认^[7-10], 这使得在肝纤维化发生发展过程, 对肝细胞的研究价值大为提高。临床上, 慢性重型肝炎患者应用

促肝细胞生长素可促进肝细胞在损伤过程中的修复和再生, 显著提高慢性重型肝炎患者的疗效^[11], 这说明, 肝细胞的增殖和凋亡对肝纤维化的发生发展和转归产生了重要的作用。

H_2S 是广泛存在体内的第3种气体信号分子, 本课题组前期研究发现, H_2S 在肝硬化发生发展过程中具有保护性作用, 其机制与其对肝组织内细胞增殖的调节有关^[12,13]。研究^[14]发现, 在组织中, H_2S 缺乏可促使肝硬化大鼠肝细胞的凋亡增加, 进而促进肝纤维化的启动与发生甚至引起门静脉压力的进一步提高。但机体是多因素

应用要点

在肝纤维化进程中, H₂S通过PI3K/Akt通路促进肝细胞的增殖, 从而延缓肝纤维化的发生, 这可能会为肝纤维化的防治及研究提供新的思路.

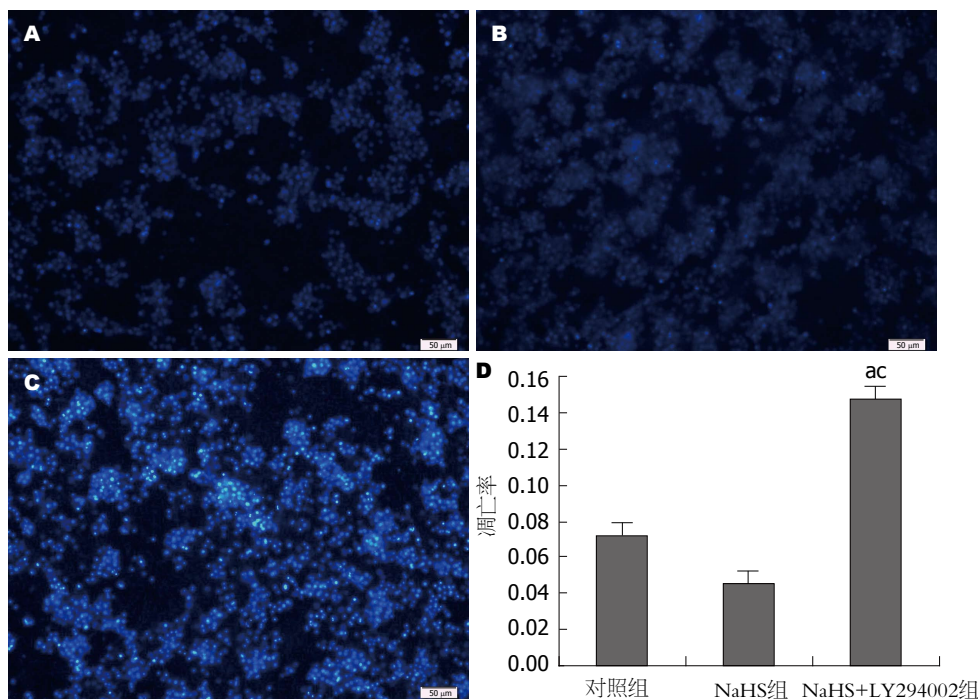


图2 Hoechst染色荧光显微镜下观察细胞凋亡($\times 200$). A: 对照组; B: NaHS(50 $\mu\text{mol/L}$)组; C: NaHS+LY294002(50 $\mu\text{mol/L}$ +50 $\mu\text{mol/L}$); D: 统计图. ^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^c $P < 0.05$ vs NaHS组.

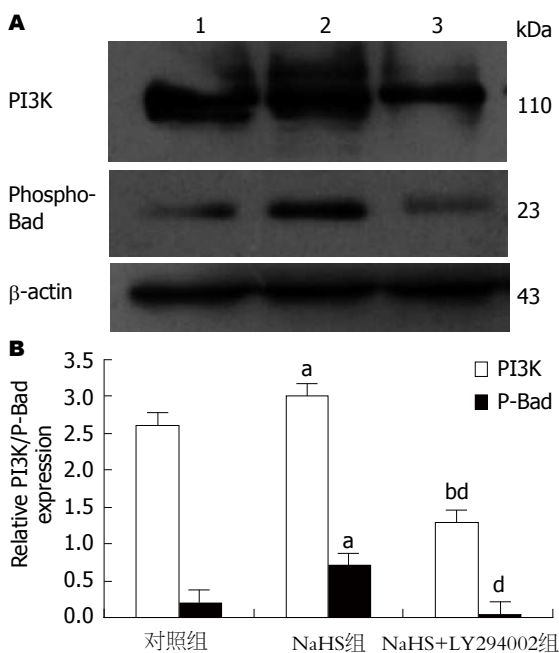


图3 各组大鼠肝细胞中PI3K和Phospho-Bad蛋白的表达. A: Western blot. 1: 对照组; 2: NaHS组; 3: NaHS+LY294002组; B: 统计图. ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^d $P < 0.01$ vs NaHS组. PI3K: 磷酸酰肌醇3激酶.

综合作用的结果, 为了进一步说明H₂S对肝细胞的具体作用及其与PI3K/Akt通路的关系, 本课题组对传统的Seglen两步胶原酶灌流法进行改良, 经过反复实验发现, 胶原酶提取的肝细胞产量高, 但活力低, 难以进行后续实验, 且胶原酶价

格昂贵, 胰酶提取的肝细胞产量较胶原酶较低, 但活力高, 且胰酶的价格便宜, 使用两步胰酶灌流肝细胞方便、经济^[15], 另外, 因Ca、Mg离子对胰酶的活化有抑制作用, 因此, 本实验选用无Ca、Mg离子的D-Hanks液作为灌流液, 并且在灌流的过程中, 灌流时的温度和灌注压对肝细胞的活性和产量有很大的影响. 本课题组成功从CCl₄所致肝纤维化大鼠肝脏中提取原代肝纤维化肝细胞, 这种肝细胞较正常肝细胞内含较多脂滴, 细胞核大.

我们的研究发现, 低浓度的H₂S促进原代肝纤维化鼠肝细胞的增殖, H₂S对细胞的生存有双重调节作用. Du等^[16]证实NaHS浓度在100-500 $\mu\text{mol/L}$ 之间时可抑制鼠动脉血管平滑肌细胞的增殖, 而Baskar等^[17]发现当H₂S的浓度在10-75 $\mu\text{mol/L}$ 时, NaHS的浓度越高, 人类肺纤维化细胞的增殖越明显, 因此, H₂S既可以是毒性的, 也可以是保护作用的, 这取决于不同的实验条件, 包括着研究的细胞的类型和H₂S的浓度^[18,19]. 在当前的研究中, H₂S在体外可直接影响肝细胞的数量, 但是这个研究展示在体外培养肝细胞时, H₂S仅仅在25-75 $\mu\text{mol/L}$ 之间可促进肝细胞的增殖, 提示H₂S可能是调节肝细胞数量的一个关键因子. 而H₂S对肝细胞凋亡的抑制作用与正常组对比差异并不显著, 因此, 我们并不能说, H₂S抑制了肝

细胞的凋亡, 分析原因为, 肝细胞在提取过程中会受到损伤, 而到第3天时, 受损的肝细胞的功能和活性可以得到完全修复, 其功能为最佳状态^[20], 因此, 我们推测, 由于对照组的肝细胞凋亡较少, 所以在加入H₂S干预后对他的抑制凋亡作用并不显著, 与对照组相比差异无统计学意义, 而我们在另一组同时加入NaHS和LY294002后, 肝细胞的凋亡大量增加, 这说明当我们用LY294002阻断PI3K/Akt通路后, H₂S对肝细胞的这一保护作用也被阻断。

当前的研究展示H₂S的促肝细胞增殖作用是依赖于PI3K/Akt通路的活化, PI3K/Akt通路广泛存在细胞中, 是参与细胞生长、增殖、分化调节、维持周期运行、抑制细胞凋亡的信号转导通路^[21], PI3K作为联系胞外信号和细胞应答效应的桥梁分子, 可被一系列上游或旁路信号分子所影响, 研究发现在Cajal间质细胞^[22]和海马神经元细胞^[23]中, H₂S可以诱导PI3K的活化, 活化的PI3K通过一系列级联反应促使下游Akt的活化, Akt是PI3K下游的关键因子, 活化的Akt通过磷酸化作用激活或抑制其下游的一系列底物如Bad、核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)、糖原合成酶激酶-3β(glycogen synthesis kinase-3β, GSK-3β)等改变, 从而调节细胞的增殖、分化、凋亡以及迁移等。LY294002, 一种PI3K/Akt信号通路传统抑制剂^[24], 可以阻止H₂S激活PI3K/Akt通路, 更重要的是, 他能破坏低浓度的H₂S增加肝细胞的数量, 当我们用NaHS作为外源性H₂S的供体处理肝细胞时, NaHS组PI3K蛋白的表达量较对照组明显增加, NaHS促使PI3K的活化, 也就是说, H₂S在肝细胞中激活了PI3K/Akt通路。活化的PI3K/Akt通路可促使下游的凋亡蛋白磷酸化而失活, 从而起到抗凋亡的作用, 例如, Bad蛋白, 作为Bcl-2家族的一员, Bad蛋白在多种细胞中表达, 参与细胞凋亡的全过程^[25,26], 当PI3K/Akt信号通路被H₂S激活后, 活化的Akt可以磷酸化Bad使他处于失活状态, 从而起到抗凋亡的作用^[27], 王慧等^[28]通过体外培养大鼠肝星状细胞并给予外源性H₂S干预发现, 对照组与各处理组之间Bad总蛋白的表达无明显差异, Yadav等^[29]也发现, LY294002可以降低磷酸化Bad蛋白的表达, 但对Bad总蛋白的表达无明显影响, 因此, 本实验通过检测磷酸化Bad蛋白的表达量, 发现H₂S可以通过活化PI3K/Akt通路增加磷酸化Bad蛋白的表达量, Bad磷酸化而失活, 促凋亡作用被抑制, 我们推测, 在肝细胞中, H₂S通过活化PI3K/Akt通路上游的蛋白因子, 促

使下游的一系列促凋亡蛋白磷酸化或去磷酸化而失活, 从而起到抗凋亡, 促进肝细胞增殖的作用, 但是, 已有报道^[19]显示, H₂S在不同组织和细胞中分布的浓度不同, 所起到的作用也不同, 本实验也证实, 低浓度的H₂S可以起到促进肝细胞增殖的保护作用, 但高浓度的H₂S却抑制肝细胞的增殖, 对肝细胞表现为损害作用, 张宁等^[30]通过检测大鼠肝纤维化早、中、晚期门静脉血中H₂S的浓度, 发现随着肝纤维化的发生发展, 门静脉血中H₂S的浓度呈递减的趋势, 那么, 在肝纤维化发生发展的不同时期, 内源性的H₂S在肝细胞中的浓度是如何变化的, 是不是随着肝纤维化的发生, 内源性的H₂S在肝细胞中的浓度会再分布, 从而表现为促进肝细胞增殖, 抑制肝纤维化的保护作用, 这些问题尚有待于我们的进一步研究。

总之, 我们的初步研究显示, 给予外源性H₂S可促进肝细胞的增殖, 抑制肝细胞的凋亡, 激活PI3K/Akt通路上游蛋白, 促使下游的凋亡蛋白磷酸化而失活, 给予PI3K/Akt通路抑制剂LY294002后, H₂S对肝细胞的保护作用可被完全阻断, 这提示我们, H₂S对肝细胞的保护作用可能是通过PI3K/Akt通路来调节的。但其具体调节机制尚待我们进一步研究。我们推测, H₂S可能通过PI3K/Akt通路来调节肝细胞的增殖、凋亡, 从而延缓肝纤维化的发生, 这可能会为肝纤维化的防治及研究提供新的思路。

4 参考文献

- 1 李文娟, 郑勇, 陈卫刚, 刘清华, 张宁, 宋丽秀, 刘维国. 内源性硫化氢对实验性肝硬化门静脉高压调节作用. *中华实用诊断与治疗杂志* 2010; 24: 429-432
- 2 Fiorucci S, Antonelli E, Mencarelli A, Orlandi S, Renga B, Rizzo G, Distrutti E, Shah V, Morelli A. The third gas: H₂S regulates perfusion pressure in both the isolated and perfused normal rat liver and in cirrhosis. *Hepatology* 2005; 42: 539-548 [PMID: 16108046]
- 3 Yan-nan B, Zhao-yan Y, Li-xi L, Jiang Y, Qing-jie X, Yong Z. MicroRNA-21 accelerates hepatocyte proliferation in vitro via PI3K/Akt signaling by targeting PTEN. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 443: 802-807 [PMID: 24342610 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.12.047]
- 4 Yao LL, Huang XW, Wang YG, Cao YX, Zhang CC, Zhu YC. Hydrogen sulfide protects cardiomyocytes from hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis by preventing GSK-3β-dependent opening of mPTP. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 298: H1310-H1319 [PMID: 20154265 DOI: 10.1152/ajp-heart.00339.2009]
- 5 Chen Y, Zhao J, Du J, Xu G, Tang C, Geng B. Hydrogen sulfide regulates cardiac sarcoplasmic reticulum Ca(2+) uptake via K(ATP) channel and

■同行评价
选题先进, 设计合理, 讨论得当, 有一定的科研意义。

- PI3K/Akt pathway. *Life Sci* 2012; 91: 271-278 [PMID: 22884808 DOI: 10.1016/j.lfs.2012.07.026]
- 6 Zeisberg M, Yang C, Martino M, Duncan MB, Rieder F, Tanjore H, Kalluri R. Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition. *J Biol Chem* 2007; 282: 23337-23347 [PMID: 17562716]
 - 7 刘浩, 郑勇, 陈卫刚, 赵瑾, 李睿, 张宁, 刘芳, 阎继攀. 内源性硫化氢对肝硬化大鼠肝细胞凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 670-674
 - 8 周滔, 刘成海. 肝细胞凋亡在肝纤维化中的作用. *肝脏* 2007; 12: 503-505
 - 9 刘学松, 李定国, 陆汉明. 肝细胞的胶原合成与肝纤维化. *中华消化杂志* 1994; 14: 53-54
 - 10 Guzelian PS, Qureshi GD, Diegelmann RF. Collagen synthesis by the hepatocyte: studies in primary cultures of parenchymal cells from adult rat liver. *Coll Relat Res* 1981; 1: 83-93 [PMID: 7346223]
 - 11 王术梅, 张红. 恩替卡韦联合促肝细胞生长素治疗慢性重型肝炎临床疗效观察. *中国实用内科杂志* 2014; 34: 105-106
 - 12 任嫄, 李睿, 赵强, 徐霞, 杨新疆, 陈卫刚, 郑勇. LY294002在外源性H₂S预处理肝纤维化大鼠肝星状细胞增殖、凋亡中的作用. *胃肠病学和肝病学杂志* 2013; 22: 804-807
 - 13 Łowicka E, Bęłtowski J. Hydrogen sulfide (H₂S) - the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacol Rep* 2007; 59: 4-24 [PMID: 17377202]
 - 14 赵强, 陈卫刚, 赵瑾, 李睿, 宋丽秀, 任嫄, 杨新疆, 郑勇. 硫化氢对肝纤维化大鼠肝脏 I、III 型胶原表达的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 300-306
 - 15 贾珍容, 邱银生, 王大菊, 宫新江, 潘学营, 何映, 屈文. 比较两种消化酶对分离大鼠肝细胞的影响. *中国药师* 2006; 9: 590-592
 - 16 Du J, Hui Y, Cheung Y, Bin G, Jiang H, Chen X, Tang C. The possible role of hydrogen sulfide as a smooth muscle cell proliferation inhibitor in rat cultured cells. *Heart Vessels* 2004; 19: 75-80 [PMID: 15042391]
 - 17 Baskar R, Li L, Moore PK. Hydrogen sulfide induces DNA damage and changes in apoptotic gene expression in human lung fibroblast cells. *FASEB J* 2007; 21: 247-255 [PMID: 17116745]
 - 18 Deplancke B, Gaskins HR. Hydrogen sulfide induces serum-independent cell cycle entry in nontransformed rat intestinal epithelial cells. *FASEB J* 2003; 17: 1310-1312 [PMID: 12738807]
 - 19 Fiorucci S, Distrutti E, Cirino G, Wallace JL. The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. *Gastroenterology* 2006; 131: 259-271 [PMID: 16831608]
 - 20 Wen X, Qi D, Sun Y, Huang X, Zhang F, Wu J, Fu Y, Ma K, Du Y, Dong H, Liu Y, Liu H, Song Y. H₂S attenuates cognitive deficits through Akt1/JNK3 signaling pathway in ischemic stroke. *Behav Brain Res* 2014; 269: 6-14 [PMID: 24768640 DOI: 10.1016/j.bbr.2014.04.027]
 - 21 刘禹, 兰海楠, 李维, 杨艳红, 付志玲, 马思慧, 吴天成, 郭凤. 大鼠原代肝脏细胞的分离培养及其膜受体鉴定. *中国畜牧兽医* 2013; 40: 144-147
 - 22 Huang Y, Li F, Tong W, Zhang A, He Y, Fu T, Liu B. Hydrogen sulfide, a gaseous transmitter, stimulates proliferation of interstitial cells of Cajal via phosphorylation of AKT protein kinase. *Tohoku J Exp Med* 2010; 221: 125-132 [PMID: 20484843]
 - 23 Shao JL, Wan XH, Chen Y, Bi C, Chen HM, Zhong Y, Heng XH, Qian JQ. H₂S protects hippocampal neurons from anoxia-reoxygenation through cAMP-mediated PI3K/Akt/p70S6K cell-survival signaling pathways. *J Mol Neurosci* 2011; 43: 453-460 [PMID: 20967511 DOI: 10.1007/s12031-010-9464-4]
 - 24 李洋, 杨东波, 张俊和, 陈灵朝, 蒋传路. LY294002通过抑制胶质瘤的PI3k/Akt通路增强三氧化二砷的毒性作用. *哈尔滨医科大学学报* 2014; 48: 13-17
 - 25 何家璇, 薛荣亮. Bad蛋白对细胞凋亡的调控作用. *医学综述* 2007; 13: 161-163
 - 26 Yang E, Zha J, Jockel J, Boise LH, Thompson CB, Korsmeyer SJ. Bad, a heterodimeric partner for Bcl-XL and Bcl-2, displaces Bax and promotes cell death. *Cell* 1995; 80: 285-291 [PMID: 7834748]
 - 27 Datta SR, Dudek H, Tao X, Masters S, Fu H, Gotoh Y, Greenberg ME. Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery. *Cell* 1997; 91: 231-241 [PMID: 9346240]
 - 28 王慧, 陈卫刚, 李睿, 宋丽秀, 刘芳, 任嫄, 郑勇. 硫化氢对大鼠肝星状细胞PI3k/Akt通路的影响. *广东医学* 2014; 35: 660-662
 - 29 Yadav UC, Naura AS, Aguilera-Aguirre L, Boldogh I, Boulares HA, Calhoun WJ, Ramana KV, Srivastava SK. Aldose reductase inhibition prevents allergic airway remodeling through PI3K/AKT/GSK3 β pathway in mice. *PLoS One* 2013; 8: e57442 [PMID: 23460857 DOI: 10.1371/journal.pone.0057442]
 - 30 张宁, 郑勇, 王于理, 李睿, 孙侃, 常向云, 陈卫刚, 赵瑾, 李洪安. 内源性硫化氢在不同时期大鼠肝硬化中的作用. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 307-311

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



早期肠内营养加培菲康对重症急性胰腺炎患者血浆中炎症介质水平变化的效果

李进, 王娟, 徐艳琴

李进, 王娟, 徐艳琴, 南阳医学高等专科学校第一附属医院
消化内科二病区 河南省南阳市 473058
李进, 主治医师, 主要从事消化内科基础与临床的研究。
作者贡献分布: 李进负责课题的设计、数据分析及论文写作; 王娟负责研究过程; 徐艳琴负责试剂的提供。
通讯作者: 李进, 主治医师, 473058, 河南省南阳市车站南路47号, 南阳医学高等专科学校第一附属医院消化内科二病区。
lijin1366@163.com
电话: 0377-63328336
收稿日期: 2014-09-04 修回日期: 2014-10-21
接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Effect of early enteral nutrition with Bifico on levels of inflammatory mediators in plasma of patients with severe acute pancreatitis

Jin Li, Juan Wang, Yan-Qin Xu

Jin Li, Juan Wang, Yan-Qin Xu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang 473058, Henan Province, China
Correspondence to: Jin Li, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, 47 Chezhan South Road, Nanyang 473058, Henan Province, China. lijin1366@163.com
Received: 2014-09-04 Revised: 2014-10-21
Accepted: 2014-11-12 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To explore the effect of early enteral nutrition combined with probiotic treatment (Bifico) on the levels of inflammatory mediators in plasma of patients with severe acute pancreatitis (SAP).

METHODS: Eighty patients diagnosed with SAP between January 2006 and October 2013 at our hospital were included. They were given parenteral nutrition (PN group), enteral nutrition (EN group) or EN and probiotics (P + EN group). Plasma levels of interleukin-8 (IL-8), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), C-reactive protein (CRP) and lactate dehydrogenase (LDH), white blood cell count, serum amylase, and plasma lipase were measured 1 d before and 7 d and 14 d

after treatment. Hospitalization time and gastrointestinal function score were also recorded and compared.

RESULTS: After treatment, white blood cell count, serum amylase, plasma lipase and IL-8, CRP and LDH, and gastrointestinal function score were decreased in all the three groups ($P < 0.05$), while TNF- α in the PN group had no significant change between before and after treatment ($F = 0.793, 0.745; P = 0.854, 0.772$). White blood cell count, amylase and lipase levels after treatment in the P + EN group were significantly lower than those in the PN group and EN group ($4.9 \times 10^9/L \pm 2.4 \times 10^9/L$ vs $9.6 \times 10^9/L \pm 3.0 \times 10^9/L$ vs $5.3 \times 10^9/L \pm 2.7 \times 10^9/L$; $197 U/L \pm 50 U/L$ vs $297 U/L \pm 77 U/L$ vs $253 U/L \pm 63 U/L$; $297 U/L \pm 72 U/L$ vs $724 U/L \pm 103 U/L$ vs $323 U/L \pm 74 U/L$; $F = 5.346, 5.753; P = 0.023, 6.556, 0.022, 0.029$). IL-8 and TNF- α levels were also significantly lower than those in the PN group and EN group ($27.0 \text{ pg/mL} \pm 7.9 \text{ pg/mL}$ vs $47.6 \text{ pg/mL} \pm 8.4 \text{ pg/mL}$ vs $31.0 \text{ pg/mL} \pm 8.0 \text{ pg/mL}$; $43.5 \text{ pg/mL} \pm 22.7 \text{ pg/mL}$ vs $132.5 \text{ pg/mL} \pm 32.6 \text{ pg/mL}$ vs $67.5 \text{ pg/mL} \pm 21.4 \text{ pg/mL}$; $F = 8.375, 7.278; P = 0.017, 0.012$). Plasma CRP and LDH levels were significantly lower in the P + EN group after treatment than in the PN group and EN group ($39.4 \text{ mg/L} \pm 19.7 \text{ mg/L}$ vs $102.5 \text{ mg/L} \pm 41.9 \text{ mg/L}$ vs $68.3 \text{ mg/L} \pm 32.9 \text{ mg/L}$; $20.3 U/L \pm 12.3 U/L$ vs $79.3 U/L \pm 34.4 U/L$ vs $35.3 U/L \pm 10.4 U/L$; $F = 8.353, 10.354; P = 0.032, 0.013$). Gastrointestinal function scores in the PN group, EN group and P + EN group on 14 d were significantly decreased, and the decrease was more significant in the P + EN group than in the PN group and EN group (0.25 ± 0.02 vs 0.71 ± 0.08 vs 0.40 ± 0.04 ; $F = 12.456; P = 0.000$). The mortality and incidence of complications were significantly lower and duration of hospitalization was significantly shorter in the combination group than in the EN group ($\chi^2 = 4.428, 28.986; P = 0.019, 0.000$).

CONCLUSION: Early application of EN com-

背景资料

重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 病死率高、并发症多, 近几年来, 由于外科手术对SAP的治疗进步, 治愈率有所提高, 但病死率仍在20%左右。其主要发病原因为病损的胰腺组织激活了巨噬细胞而释放白介素-8、肿瘤坏死因子 α 等细胞因子, 从而使局部病变迅速发展为全身炎症综合征。而炎症因子对肠黏膜的刺激作用使其通透性增高, 易引发细菌移位造成全身感染。

同行评议者

郭长江, 研究员, 中国人民解放军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

针对急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)病因,国内外专家普遍认为肠内营养以及微生态制剂等可能有效加强肠道屏障功能。但因微生态制剂种类繁多、成分参差不齐给临床医生在选择药物上造成巨大困难。

combined with Bifico can reduce the levels of enzymes and mediators of inflammation, pancreatic secretion, complications, hospitalization time, and mortality in SAP patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Inflammatory mediators; Probiotics; Enteral nutrition

Li J, Wang J, Xu YQ. Effect of early enteral nutrition with Bifico on levels of inflammatory mediators in plasma of patients with severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5609-5614 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5609.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5609>

摘要

目的: 探讨早期肠内营养加微生态制剂培菲康对重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者血浆中炎症介质水平变化的效果。

方法: 选择2006-01/2013-10于南阳医学高等专科学校第一附属医院进行诊治的80例SAP患者为研究对象。分别给予肠外营养(parenteral nutrition, PN)组、肠内营养(enteral nutrition, EN)组以及肠内营养加微生态制剂[(probiotics, P)+EN组]三种治疗方式,于患者进行治疗开始前1 d及治疗后7 d和14 d检测患者血浆白介素-8(interleukin-8, IL-8)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)及乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)等,并对患者白细胞计数、血淀粉酶、脂肪酶、住院时间以及胃肠功能评分等进行记录比较。

结果: 治疗后三组患者的白细胞计数、血淀粉酶、脂肪酶以及IL-8、CRP及LDH和胃肠功能评分等均降低($P < 0.05$),其中肠外营养组的TNF- α 在治疗前后无明显改变($F = 0.793$, 0.745 ; $P = 0.854$, 0.772); P+EN组治疗后白细胞计数、淀粉酶以及脂肪酶值均低于PN组及EN组,差异有统计学意义($4.9 \times 10^9/L \pm 2.4 \times 10^9/L$ vs $9.6 \times 10^9/L \pm 3.0 \times 10^9/L$ vs $5.3 \times 10^9/L \pm 2.7 \times 10^9/L$; $197 U/L \pm 50 U/L$ vs $297 U/L \pm 77 U/L$ vs $253 U/L \pm 63 U/L$; $297 U/L \pm 72 U/L$ vs $724 U/L \pm 103 U/L$ vs $323 U/L \pm 74 U/L$; $F = 5.346$, 6.556 , 5.753 ; $P = 0.023$, 0.022 , 0.029); 其IL-8及TNF- α 值均低于PN组及EN组,差异有统计学意义($27.0 \text{ pg/mL} \pm 7.9 \text{ pg/mL}$ vs $47.6 \text{ pg/mL} \pm 8.4 \text{ pg/mL}$ vs $31.0 \text{ pg/mL} \pm 8.0 \text{ pg/mL}$; $43.5 \text{ pg/mL} \pm 22.7 \text{ pg/mL}$ vs $132.5 \text{ pg/mL} \pm 32.6$

pg/mL vs $67.5 \text{ pg/mL} \pm 21.4 \text{ pg/mL}$; $F = 8.375$, 7.278 ; $P = 0.017$, 0.012); P+EN组治疗后的血浆CRP以及LDH值均小于PN组以及EN组,差异具有统计学意义($39.4 \text{ mg/L} \pm 19.7 \text{ mg/L}$ vs $102.5 \text{ mg/L} \pm 41.9 \text{ mg/L}$ vs $68.3 \text{ mg/L} \pm 32.9 \text{ mg/L}$; $20.3 \text{ U/L} \pm 12.3 \text{ U/L}$ vs $79.3 \text{ U/L} \pm 34.4 \text{ U/L}$ vs $35.3 \text{ U/L} \pm 10.4 \text{ U/L}$; $F = 8.353$, 10.354 ; $P = 0.032$, 0.013)。PN组、EN组以及P+EN组的胃肠评分在治疗14 d后均有明显下降,且P+EN组的降低大于PN组及EN组(0.25 ± 0.02 vs 0.71 ± 0.08 vs 0.40 ± 0.04 ; $F = 12.456$; $P = 0.000$); 其病死率及并发症发生率也明显低于单纯及EN组且明显缩短了住院时间,差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.428$, 28.986 ; $P = 0.019$, 0.000)。

结论: 早期应用肠内营养加用微生态制剂培菲康可降低体内胰腺分泌酶类以及炎症介质的水平,减少相关并发症发生及住院时间,有效降低了SAP的病死率。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 重症急性胰腺炎; 炎症介质; 微生态制剂; 肠内营养

核心提示: 重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者常因营养不足而恶化,肠外营养治疗对SAP患者不良反应较大,但肠内营养可以促进胃肠道激素分泌维持正常肠道屏障功能,微生态制剂可以保持肠道固有菌群平衡,抵抗有害物质的侵入。本文对肠内、肠外以及微生态制剂治疗进行对比验证了其效果。

李进, 王娟, 徐艳琴. 早期肠内营养加培菲康对重症急性胰腺炎患者血浆中炎症介质水平变化的效果. *世界华人消化杂志* 2014; 22(36): 5609-5614 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5609.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5609>

0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是一种病死率高、并发症多的急腹症,常伴有其他器官功能的改变。近几年来,由于外科手术对SAP的治疗进步,治愈率有所提高,但病死率仍在20%左右^[1]。其主要发病原因为病损的胰腺组织激活了巨噬细胞而释放白介素-8(interleukin-8, IL-8)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)等细胞因子,从而使局部病变迅速发展为全身炎症综合征(systemic inflamma-

表 1 患者基础情况比较 (mean ± SD)

分组	n	年龄(岁)	性别(n, 男/女)	Ranson(分)	APACHE- II (分)	CT检查(n, D级/E级)
PN组	25	48.2 ± 12.4	15/10	5.2 ± 1.4	10.5 ± 3.7	12/13
EN组	28	47.5 ± 9.6	17/11	4.9 ± 2.0	11.1 ± 2.7	13/15
P+EN组	27	49.3 ± 11.5	17/10	5.1 ± 1.7	11.0 ± 2.0	14/13
统计值	-	F = 0.374	χ ² = 0.053	F = 0.643	F = 0.439	χ ² = 0.170
P值	-	0.905	0.974	0.832	0.927	0.919

PN组: 肠外营养组; EN组: 肠内营养组; P+EN组: 培菲康+肠内营养组.

■ 相关报道

Al Samaraee等的研究发现对于AP的营养补充方法, 对临床应用具有良好的意义.

tory syndrome, SIRS)引起多器官功能衰竭^[2,3]. 而炎症因子对肠黏膜的刺激作用使其通透性增高, 易引发细菌移位造成全身感染. 因此, 针对此致病病因, 国内外专家普遍认为肠内营养(enteral nutrition, EN)以及微生态制剂等可能有效加强肠道屏障功能^[4]. 但因微生态制剂种类繁多、成分参差不齐给临床医生在选择药物上造成巨大困难. 因此, 本研究即选择SAP患者, 在早期肠内营养基础上辅以微生态制剂培菲康, 以探究此疗法对患者血浆中胰腺分泌有关酶类及炎症介质的影响以利于临床应用.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2006-01/2013-10于南阳医学高等专科学校第一附属医院进行诊治的80例SAP患者为研究对象. 入选标准: 诊断符合Ranson评分 ≥ 3; APACHE- II 评分 ≥ 8; 计算机断层扫描(computed tomography, CT)检查为D级或E级^[5]. 排除标准: 免疫力低下、严重心肝疾病者; 原发感染以及肠道功能性动力障碍者; 肠道肿瘤以及机械性肠梗阻者. 70例患者中, 原发疾病包括胆源性胰腺炎40例, 暴饮暴食32例, 高脂血症8例, 且均符合入院检查是血淀粉酶及脂肪酶大于3倍正常参考值. 将患者随机分为肠外营养(parenteral nutrition, PN)组、EN组、培菲康(probiotics, P)+EN组(P+EN组). 3组年龄、性别、Ranson评分、APACHE- II 评分以及影像学检查等比较无统计学差异(P > 0.05), 具有可比性(表1).

1.2 方法

1.2.1 治疗: 经患者以及家属同意, 由专业医护人员给予3组患者以下治疗措施: (1)PN组: 深静脉置管后按照患者体质量及代谢速率滴注葡萄糖、脂肪乳以及氨基酸和电解质(全营养混合液); (2)EN组: 入院72 h内在纠正休克、止血的基础上, 使用胃镜引导置鼻饲管, 连续24 h泵

入能全力、米菜汤等营养物质; (3)P+EN组: 在EN组的治疗基础上, 从鼻饲管途径联合使用培菲康4粒, 2次/d(每粒含菌124亿个/g, 加入EN营养液中). 三组患者均保持电解质平衡以及补充血容量, 对感染患者及时应用抗生素对症治疗等, 待肠道功能完全恢复后停止营养供给(恢复标准: 肠鸣音4-5次/min, 每日1-2次成形大便, 无腹痛等症状)^[6-8].

1.2.2 疗效评定: 分别于患者进行治疗开始前1 d及7 d和14 d的8:00取静脉血8 mL, 离心分离血浆后于-80 °C冰箱中保存. 采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测患者血浆IL-8和TNF-α; 采用自动生化分析仪进行C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)的检测. 并对患者白细胞计数、血淀粉酶、脂肪酶、住院时间以及胃肠功能评分等进行记录比较.

统计学处理 所有数据均采用SPSS20.0进行处理, 计量数据以mean ± SD表示, 计算方差齐性. 方差齐者使用t检验, 组间比较使用单因素方差分析(AVONA检验), 计数资料使用χ²检验或四格表确切概率分析. 所有统计检验均为双侧概率检验, 检验水准为0.05, P < 0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同营养供给SAP患者组血浆中白细胞计数、淀粉酶以及脂肪酶的比较 对不同营养供给的SAP患者血浆中的白细胞计数、淀粉酶以及脂肪酶等进行分析, 治疗前三组患者处于同一基线, 差异无统计学意义(F = 0.977, 0.456, 0.399; P = 0.723, 0.889, 0.907), 且治疗前与治疗14 d时相比, 各血生化指标都有显著降低, 差异均有统计学意义(均P < 0.01); 在白细胞计数、淀粉酶以及脂肪酶的三组比较中, P+EN组治疗后的值均低于PN组及EN组, 差异有统计学意义(4.9 ×

■创新盘点

目前的文章聚集于肠内营养,而对人体不良反应更少的肠内营养并未进行详尽阐述,本文立足于肠内营养,并通过营养补给探索炎症因子的变化,为临床选择营养方式提供了依据。

表 2 不同营养供给SAP患者组血浆中白细胞计数、淀粉酶以及脂肪酶的结果 (mean ± SD)

分组	n	白细胞计数($\times 10^9/L$)					淀粉酶(U/L)					脂肪酶(U/L)				
		治疗前	治疗7d时	治疗14d时	t值 ¹	P值	治疗前	治疗7d时	治疗14d时	t值 ¹	P值	治疗前	治疗7d时	治疗14d时	t值 ¹	P值
PN组	25	18.5	14.5	9.6	12.462	0.000	1589	957	297	21.456	0	4004	2187	724	19.734	0
		± 4.3	± 3.3	± 3.0			± 422	± 224	± 77			± 1098	± 492	± 103		
EN组	28	17.2	11.7	5.3	9.885	0.000	1408	724	253	27.485	0	4122	1723	323	18.367	0
		± 3.9	± 3.5	± 2.7			± 390	± 217	± 63			± 987	± 399	± 74		
P+EN组	27	17.5	9.8	4.9	5.862	0.001	1433	634	197	19.356	0	3976	1333	297	19.364	0
		± 5.0	± 2.9	± 2.4			± 397	± 235	± 50			± 1023	± 375	± 72		
F值	-	0.977	3.945	5.346	-	-	0.456	4.983	6.556	-	-	0.399	6.980	5.753	-	-
P值	-	0.723	0.047	0.023	-	-	0.889	0.034	0.022	-	-	0.907	0.032	0.029	-	-

¹治疗前与治疗14 d时相比结果. PN组: 肠外营养组; EN组: 肠内营养组; P+EN组: 培菲康+肠内营养组.

表 3 不同营养供给SAP患者组血浆中CRP及LDH的结果 (mean ± SD)

分组	n	CRP(mg/L)			t值 ¹	P值	LDH(U/L)			t值 ¹	P值
		治疗前	治疗7d时	治疗14d时			治疗前	治疗7d时	治疗14d时		
PN组	25	387.2	263.2	102.5	14.972	0.000	304.5	135.7	79.3	19.457	0
		± 179.3	± 104.3	± 41.9			± 89.5	± 51.3	± 34.4		
EN组	28	378.2	173.4	68.3	16.385	0.000	297.7	74.5	35.3	23.456	0
		± 180.4	± 99.7	± 32.9			± 90.4	± 42.3	± 10.4		
P+EN组	27	384.2	99.4	39.4	13.875	0.000	311.4	39.5	20.3	21.465	0
		± 177.4	± 62.3	± 19.7			± 91.4	± 29.3	± 12.3		
F值	-	0.798	9.325	8.353	-	-	0.657	15.456	10.354	-	-
P值	-	0.815	0.024	0.032	-	-	0.756	0.000	0.013	-	-

¹治疗前与治疗14 d时相比结果. PN组: 肠外营养组; EN组: 肠内营养组; P+EN组: 培菲康+肠内营养组. CRP: C-反应蛋白; LDH: 乳酸脱氢酶; SAP: 重症急性胰腺炎.

$10^9/L \pm 2.4 \times 10^9/L$ vs $9.6 \times 10^9/L \pm 3.0 \times 10^9/L$ vs $5.3 \times 10^9/L \pm 2.7 \times 10^9/L$; $197 U/L \pm 50 U/L$ vs $297 U/L \pm 77 U/L$ vs $253 U/L \pm 63 U/L$; $297 U/L \pm 72 U/L$ vs $724 U/L \pm 103 U/L$ vs $323 U/L \pm 74 U/L$; $F = 5.346, 6.556, 5.753$; $P = 0.023, 0.022, 0.029$ (表2).

2.2 不同营养供给SAP患者组血浆中炎症介质的比较 而在不同营养供给的SAP患者血浆中的炎症反应中, 分组后三组IL-8以及TNF- α 的基础计量无统计学差异($F = 0.793, 0.745$; $P = 0.854, 0.772$), 但营养治疗使三组IL-8均明显下降($t = 15.327, 16.345, 13.573$; $P = 0.000, 0.000, 0.001$)而PN组的TNF- α 治疗前后无显著差异($t = 1.546, P = 0.052$); 同样, 三种不同方式的处理后P+EN组治疗后的值均低于PN组及EN组, 差异有统计学意义($27.0 \text{ pg/mL} \pm 7.9 \text{ pg/mL}$ vs $47.6 \text{ pg/mL} \pm 8.4 \text{ pg/mL}$ vs $31.0 \text{ pg/mL} \pm 8.0 \text{ pg/mL}$; $43.5 \text{ pg/mL} \pm$

22.7 pg/mL vs $132.5 \text{ pg/mL} \pm 32.6 \text{ pg/mL}$ vs $67.5 \text{ pg/mL} \pm 21.4 \text{ pg/mL}$; $F = 8.375, 7.278$; $P = 0.017, 0.012$).

2.3 不同营养供给SAP患者组血浆中CRP及LDH的比较 PN组、EN组以及P+EN组的CRP及LDH在治疗前处于同一水平线, 差异无统计学意义, 而在治疗后均有明显下降(均 $P < 0.001$); 且P+EN组治疗后的血浆CRP以及LDH值均小于PN组以及EN组, 差异具有统计学意义($39.4 \text{ mg/L} \pm 19.7 \text{ mg/L}$ vs $102.5 \text{ mg/L} \pm 41.9 \text{ mg/L}$ vs $68.3 \text{ mg/L} \pm 32.9 \text{ mg/L}$; $20.3 U/L \pm 12.3 U/L$ vs $79.3 U/L \pm 34.4 U/L$ vs $35.3 U/L \pm 10.4 U/L$; $F = 8.353, 10.354$; $P = 0.032, 0.013$ (表3).

2.4 不同营养供给SAP患者组胃肠评分、并发症以及住院时间和病死率比较 PN组、EN组以及P+EN组的胃肠评分在治疗14 d后均有明显下降, 且P+EN组的降低大于PN组及EN组(0.25

表 4 不同营养供给SAP患者组胃肠评分、并发症以及住院时间和病死率结果

分组	n	胃肠评分(mean ± SD, 分)			F值 ¹	P值	并发症(n)			住院时间 (mean ± SD, d)	病死率 n(%)
		治疗前	治疗7 d时	治疗14 d时			胰周感染	上消化道出血	肾衰竭		
PN组	25	1.37 ± 0.34	0.93 ± 0.21	0.71 ± 0.08	18.387	0.000	12	8	5	24.6 ± 5.2	5(20.0)
EN组	28	1.38 ± 0.40	0.63 ± 0.18	0.40 ± 0.04	16.094	0.000	8	6	3	19.5 ± 4.1	2(7.14)
P+EN组	27	1.36 ± 0.29	0.32 ± 0.13	0.25 ± 0.02	15.953	0.000	5	2	1	12.2 ± 3.8	1(3.70)
F值	-	0.638	11.645	12.456	-	-	$\chi^2 = 28.986$			9.645	$\chi^2 = 4.428$
P值	-	0.667	0.001	0.000	-	-	0			0.003	0.019

¹治疗前与治疗14 d时相比结果。PN组: 肠外营养组; EN组: 肠内营养组; P+EN组: 培菲康+肠内营养组。SAP: 重症急性胰腺炎。

± 0.02 vs 0.71 ± 0.08 vs 0.40 ± 0.04; $F = 12.456$; $P = 0.000$); 其病死率及并发症发生率也明显低于单纯及EN组且明显缩短了住院时间, 差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.428, 28.986$; $P = 0.019, 0.000$)(表4)。

3 讨论

重症胰腺炎因自身胰腺消化作用常使肠屏障功能障碍而促使细菌及内毒素易位, 这与炎质介质的释放、肠动力障碍以及免疫功能障碍等因素有关^[9]。胃肠道分泌的大量酶类是肠道屏障的重要组成部分, 而胰腺自身消化使淀粉酶等大量释放到血清, 从而破坏肠道功能。由因为SAP患者全身器官处于高代谢状态, 且长期禁食, 无法获取充分的营养而加重SAP的进展^[10,11]。因此, 营养治疗对SAP患者至关重要, 不仅可以促进胃肠道激素分泌维持正常肠道屏障功能, 而且微生态制可以保持肠道固有菌群平衡, 抵抗有害物质的侵入。但目前因临床药物种类繁多, 药物配伍方式尚不明确, 且在开始进行肠内营养的时间上还有所分歧, 使临床应用受到限制。因此, 本文即通过对重症胰腺炎患者分组进行肠内、肠外以及微生态制剂治疗, 以探究此方法引起患者血中炎症介质的变化以方便临床应用以及对预后效果进行评价预测。

对不同营养供给的SAP患者血浆中的白细胞计数、淀粉酶以、脂肪酶、CRP以及LDH等进行分析, 各血生化指标都有显著降低, 而P+EN组的治疗效果明显优于PN组及EN组。此结果说明使用肠内营养辅以微生态制剂明显优于单纯肠外或肠内营养者。SAP的发病机制主要是胰腺对胰腺自身的消化, 使胰腺腺泡破裂从而释放

脂肪酶以及淀粉酶等从而加重组织水肿。肠外营养不良反应多, 包括体内糖、脂肪等代谢紊乱, 与脂肪酶相互作用破坏内环境的平衡, 不利于胰腺的自身恢复^[12]。而肠内营养利用自身消化功能进行分解糖、脂肪等物质, 利于体内环境的稳定, 辅以微生态制剂抑制内源以及外源性细菌的生长, 保护肠屏障维持体内葡萄糖、脂肪酸以及水电解质的平衡^[13]。这对临床治疗SAP具有重要临床意义, 从营养供给以及代谢的角度, 医务人员应选用肠内营养方式辅以微生态制剂保持禁食患者的营养供应。

SAP的发病机制除了酶的释放, 还有细胞因子的作用。早在20世纪90年代^[14]就已经发现炎症细胞因子可导致多系统的器官衰竭, 而受损的胰腺组织在体内作为抗原激活的巨噬细胞释放出IL-8、TNF- α 等炎症因子使局部的胰腺病变转化为全身炎症反应, 因此作为判定胰腺损伤程度的重要标准之一, 炎症因子的血浆浓度对SAP具有重要意义^[15-17]。在此研究中, 肠外营养供给组的TNF- α 水平在治疗前后无变化, 说明肠外营养对部分炎性过程作用微弱, 而肠内营养加培菲康组的炎症因子水平则大大低于单纯营养供给组, 这说明微生态制剂抑制体内炎症反应过程, 可用于治疗SAP, 减轻胰腺损伤引起的全身反应。此结果为医生临床用药选择提供了更为有力的依据, 同时也根据病因作出了合理解释。

SAP的主要发病机制为自身组织消化释放的酶类对组织的损伤以及炎症因子对全身反应的影响, 因此治疗SAP的关键是保持内环境稳定, 更为迅速有效的降低酶类与炎症因子对组织的损伤, 这与胃肠道吸收与排泄具有重要相

■应用要点

本文即通过对SAP患者分组进行肠内、肠外以及微生态制剂治疗, 以探究此方法引起患者血中炎症介质的变化以方便临床应用以及对预后效果进行评价预测。其中描述的方法措施非常具体, 可为临床医生进行营养补充提供良好的依据。

■名词解释

SAP: 与水肿性胰腺炎不同, 他存在组织的坏死, 胰酶的释放, 而水肿性的胰腺炎为组织的轻度水肿, 多可自愈。

■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 有实际参考价值.

关关系^[18]. 培菲康为多种肠道活性菌的复方制剂, 服用后可在肠黏膜上形成有益菌层增强体内屏障, 同时可抑制肠道有害细菌的繁殖及侵入, 维持肠道正常的消化吸收功能, 有效阻止细菌移位降低全身性的炎症反应^[19,20]. 肠内营养加培菲康患者体内环境平衡, 利于患者胰腺功能的自我恢复, 因此病死率及并发症发生率也明显低于单纯肠内及肠外营养组且明显缩短了住院时间, 对SAP起到有效的治疗.

总之, 早期应用肠内营养加用微生态制剂培菲康可降低体内胰腺分泌酶类以及炎症介质的水平, 减少相关并发症发生率及住院时间, 有效降低了SAP的病死率.

4 参考文献

- Gou S, Yang Z, Liu T, Wu H, Wang C. Use of probiotics in the treatment of severe acute pancreatitis: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit Care* 2014; 18: R57 [PMID: 24684832 DOI: 10.1186/cc13809]
- Buddingh KT, Koudstaal LG, van Santvoort HC, Besselink MG, Timmer R, Rosman C, van Goor H, Nijmeijer RM, Gooszen H, Leuvenink HG, Ploeg RJ, Nieuwenhuijs VB. Early angiopoietin-2 levels after onset predict the advent of severe pancreatitis, multiple organ failure, and infectious complications in patients with acute pancreatitis. *J Am Coll Surg* 2014; 218: 26-32 [PMID: 24355874 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2013.09.021]
- 崔立红, 王晓辉, 彭丽华. 早期肠内营养加微生态制剂对重症急性胰腺炎患者疗效的影响. *中华危重病急救医学* 2013; 25: 224-228
- Wang G, Wen J, Xu L, Zhou S, Gong M, Wen P, Xiao X. Effect of enteral nutrition and ecoimmunonutrition on bacterial translocation and cytokine production in patients with severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 2013; 183: 592-597 [PMID: 23726433 DOI: 10.1016/j.jss.2012.12.010]
- Cui LH, Wang XH, Peng LH, Yu L, Yang YS. [The effects of early enteral nutrition with addition of probiotics on the prognosis of patients suffering from severe acute pancreatitis]. *Zhonghua Weizhongbing Jijiu Yixue* 2013; 25: 224-228 [PMID: 23660099 DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.04.011]
- 乔晓萍, 杨长卫, 韦婕. 微生态制剂联合肠内营养对重症急性胰腺炎大鼠肠运转功能的影响. *陕西医学杂志* 2011; 40: 276-279
- 聂佳佳, 熊光苏, 吴叔明. 微生态制剂在重症急性胰腺炎中应用的meta分析. *胃肠病学* 2014; 19: 83-88
- Hooijmans CR, de Vries RB, Rovers MM, Gooszen HG, Ritskes-Hoitinga M. The effects of probiotic supplementation on experimental acute pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e48811 [PMID: 23152810 DOI: 10.1371/journal.pone.0048811]
- van Baal MC, Kohout P, Besselink MG, van Santvoort HC, Benes Z, Zazula R, Rijkers GT, Gooszen HG. Probiotic treatment with Probioflora in patients with predicted severe acute pancreatitis without organ failure. *Pancreatology* 2012; 12: 458-462 [PMID: 23127536 DOI: 10.1016/j.pan.2012.08.004]
- Capurso G, Zerboni G, Signoretti M, Valente R, Stigliano S, Piciocchi M, Delle Fave G. Role of the gut barrier in acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46 Suppl: S46-S51 [PMID: 22955357 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182652096]
- Kotzampassi K, Giamarellos-Bourboulis EJ. Probiotics for infectious diseases: more drugs, less dietary supplementation. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 40: 288-296 [PMID: 22858373 DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2012.06.006]
- 余炳取, 贾杰, 张益光. 生大黄联合培菲康对重症急性胰腺炎大鼠的早期保护作用. *中国中医急症* 2012; 21: 394-396
- 刘统成, 赵晓雷. 微生态肠内营养治疗重症急性胰腺炎肠屏障损伤的临床研究. *中外健康文摘* 2014; 2: 18-19, 20
- Bordejé Laguna L, Lorenzo Cárdenas C, Acosta Escribano J. [Guidelines for specialized nutritional and metabolic support in the critically ill-patient. Update. Consensus of the Spanish Society of Intensive Care Medicine and Coronary Units-Spanish Society of Parenteral and Enteral Nutrition (SEMICYUC-SENPE): severe acute pancreatitis]. *Med Intensiva* 2011; 35 Suppl 1: 33-37 [PMID: 22309750 DOI: 10.1016/S0210-5691(11)70007-9]
- Morrow LE, Gogineni V, Malesker MA. Synbiotics and probiotics in the critically ill after the PROPATRIA trial. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2012; 15: 147-150 [PMID: 22248590 DOI: 10.1097/MCO.0b013e3182834fcea8]
- Sharma B, Srivastava S, Singh N, Sachdev V, Kapur S, Saraya A. Role of probiotics on gut permeability and endotoxemia in patients with acute pancreatitis: a double-blind randomized controlled trial. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 442-448 [PMID: 21135704 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318201f9e2]
- Zou XP, Chen M, Wei W, Cao J, Chen L, Tian M. Effects of enteral immunonutrition on the maintenance of gut barrier function and immune function in pigs with severe acute pancreatitis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2010; 34: 554-566 [PMID: 20852186 DOI: 10.1177/0148607110362691]
- Spanier BW, Bruno MJ, Mathus-Vliegen EM. Enteral nutrition and acute pancreatitis: a review. *Gastroenterol Res Pract* 2011; 2011: pii: 857949 [PMID: 20811543 DOI: 10.1155/2011/857949]
- Al Samaraee A, McCallum IJ, Coyne PE, Seymour K. Nutritional strategies in severe acute pancreatitis: a systematic review of the evidence. *Surgeon* 2010; 8: 105-110 [PMID: 20303893 DOI: 10.1016/j.surge.2009.10.006]
- Suemitsu R, Takeo S, Kusumoto E, Hamatake M, Ikejiri K, Saitsu H. Results of a pulmonary metastasectomy in patients with colorectal cancer. *Surg Today* 2011; 41: 54-59 [PMID: 21191691 DOI: 10.1007/s00595-009-4244-x]

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



便秘型肠易激综合征与功能性便秘患者精神心理的比较

张庆, 张庆霞, 左绪艳, 肖安华, 谭小平

张庆, 长江大学临床医学院 湖北省荆州市 434000
张庆, 左绪艳, 肖安华, 谭小平, 长江大学附属第一医院消化内科 湖北省荆州市 434000
张庆霞, 湖北省荆州市第二人民医院药剂科 湖北省荆州市 434000
张庆, 副教授, 主要从事消化系统疾病的相关研究。
作者贡献分布: 此课题由张庆与谭小平设计; 研究过程由张庆、张庆霞、左绪艳及肖安华完成; 文献检索、数据分析由张庆与张庆霞完成; 本论文写作由张庆与谭小平完成。
通讯作者: 谭小平, 主任医师, 434000, 湖北省荆州市航空路8号, 长江大学附属第一医院消化内科. tg95@163.com
电话: 0716-8114055
收稿日期: 2014-10-07 修回日期: 2014-11-14
接受日期: 2014-11-19 在线出版日期: 2014-12-28

Comparison of psychological characteristics between patients with irritable bowel syndrome with constipation and those with functional constipation

Qing Zhang, Qing-Xia Zhang, Xu-Yan Zuo, An-Hua Xiao, Xiao-Ping Tan

Qing Zhang, Clinical College, Yangtze University, Jingzhou 434000, Hubei Province, China
Qing Zhang, Xu-Yan Zuo, An-Hua Xiao, Xiao-Ping Tan, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Yangtze University, Jingzhou 434000, Hubei Province, China
Qing-Xia Zhang, Department of Pharmacy, the Second People's Hospital of Jingzhou, Jingzhou 434000, Hubei Province, China
Correspondence to: Xiao-Ping Tan, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Yangtze University, 8 Hangkong Road, Jingzhou 434000, Hubei Province, China. tg95@163.com
Received: 2014-10-07 Revised: 2014-11-14
Accepted: 2014-11-19 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To explore the difference in psychological characteristics between patients with irritable bowel syndrome with constipation (IBS-C) and those with functional constipation (FC), to seek the role of psychological factors in the pathogenesis of the two diseases, and to provide a theoretical basis for the development of individualized treatments for them.

METHODS: We retrospectively compared the

psychological characteristics (depression, anxiety profiles and score for life quality) between patients with IBS-C vs those with FC using validated questionnaires. Subjects rated the intensity of digestive symptoms experienced using visual analogue scales and questionnaires. Colonic transit time measurements and anorectal manometry were performed.

RESULTS: Of the 208 consecutive constipated patients included, 102 suffered from IBS-C and 106 from FC. Demographic and physiological traits were similar between the two groups. Levels of the common symptoms such as constipation, bloating, abdominal pain and diarrhea in patients with IBS-C were higher than those in patients with FC ($P < 0.05$), although there was no significant difference in Bristol stool form scale or constipation symptom score ($P > 0.05$). Patients with FC had higher transit time in the recto-sigmoid area than IBS-C patients, although transit time in other regions was similar between the two groups. There was no significant difference in anorectal manometry measures between the two groups. Patients suffering from IBS-C reported significantly higher depression score (18.156 ± 1.476 vs 11.902 ± 1.351 , $P < 0.01$), and high depression scores were found more frequently in the IBS-C group as compared to the FC group, although trait anxiety and state anxiety were similar between the two groups ($P > 0.05$). Multiple linear regression showed a positive correlation between symptom intensity and depression and anxiety scores only for FC patients.

CONCLUSION: IBS-C and FC have some differences in the psychological aspects. IBS-C patients are more depressed than patients with FC. There is a correlation between depression, anxiety and levels of symptoms in FC patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Irritable bowel syndrome with constipation; Functional constipation; Depression; Anxiety

■背景资料
便秘是消化系统最常见的症状之一, 虽不危及生命, 但严重影响人们的生活质量。

■同行评议者
任粉玉, 教授, 延边大学附属医院消化内科

■ 研究前沿

所有的功能性胃肠病的病理生理包括大脑、脊髓、肠神经内分泌系统及肠道的相关作用的结果,从而导致腹痛和胃肠功能紊乱,近年来,精神心理因素对胃肠动力影响的研究成为热点。

Zhang Q, Zhang QX, Zuo XY, Xiao AH, Tan XP. Comparison of psychological characteristics between patients with irritable bowel syndrome with constipation and those with functional constipation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5615-5622 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5615.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5615>

摘要

目的: 探讨便秘型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)与功能性便秘(functional constipation, FC)患者精神心理临床特点的差异,进一步寻求精神心理因素在其发生发展的作用,为发展个体化治疗提供理论依据。

方法: 通过问卷调查分析IBS-C与FC患者的精神心理特点(包括抑郁、焦虑特征和生活质量评分)。通过直观模拟标度尺(visual analogue scale/score, VAS)法和问卷来评估消化系统症状,进行结肠传输时间的测定和直肠肛门测压了解肠道生理功能情况。

结果: 208例长期便秘的患者,包括102例IBS-C患者和106例FC患者。在临床症状方面,IBS-C患者比FC患者在便秘、腹胀、腹痛和腹泻这些症状上更明显($P < 0.05$),但粪便性状和便秘症状评分两者差异无统计学意义($P > 0.05$);结肠传输时间测定,FC患者在直乙状结肠区域比IBS-C患者具有更高的传输,在其他区域传输时间两组者相似,而肛门直肠测压两者差异无统计学意义;IBS-C患者比FC患者在抑郁方面更明显(18.156 ± 1.476 vs 11.902 ± 1.351 , $P < 0.01$),高抑郁水平更多,但是两组中特质焦虑与状态焦虑、生活质量评分相似($P > 0.05$);多元线性回归分析表明症状程度和抑郁、焦虑评分仅在FC患者中呈正相关。

结论: IBS-C与FC在精神心理方面存在着一定的差异,IBS-C比FC更抑郁,FC患者的抑郁、焦虑与症状程度存在相关性。我们结论支持针对便秘患者传统的治疗中融合社会心理的因素。此外,进一步的探讨了精神心理因素与特殊胃肠功能紊乱之间的病因关系,这将有利于发展个体化治疗的方法。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 便秘型肠易激综合征; 功能性便秘; 抑郁; 焦虑

核心提示: 便秘型肠易激综合征(Irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)与功能性便秘

(functional constipation, FC)患者在精神心理方面存在着一定的差异,IBS-C患者比FC患者更易抑郁。

张庆, 张庆霞, 左绪艳, 肖安华, 谭小平. 便秘型肠易激综合征与功能性便秘患者精神心理的比较. *世界华人消化杂志* 2014; 22(36): 5615-5622 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5615.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5615>

0 前言

便秘是消化系最常见的症状之一,虽不危及生命,但严重影响人们的生活质量,还增加高血压、心脑血管疾病的致死率,增加了结肠癌的发病危险性^[1,2]。长期便秘加重了患者经济负担,因此对便秘进行研究,以改善患者生活质量已引起关注^[3]。

所有的功能性胃肠病的病理生理包括大脑、脊髓、肠神经内分泌系统和肠道的相关作用的结果,从而导致腹痛和胃肠功能紊乱^[4-7]。近年来,精神心理因素对胃肠动力影响的研究成为热点,较多的研究证实了长期抑郁和焦虑可致便秘,尤以女性及老年人为主^[8]。

功能性便秘(functional constipation, FC)和便秘型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)为便秘的常见类型,同属于功能性肠病,两者均表现为便秘,且缺乏器质性和结构性改变、生化异常引起症状的证据,容易造成混淆。精神心理因素在两种疾病的发病和发展中所起作用可能有所不同,既往不良应激事件、受虐待史可能是IBS-C发病的始动因素;FC患者长期存在的顽固性便秘导致了精神心理异常,后者使患者对便秘的感受更糟;另一方面,疾病对生活影响程度不同,由于腹痛的存在,IBS-C患者生活质量受损更严重^[9-17]。总之,FC与IBS-C同属功能性肠病,其便秘表现有所不同,IBS-C患者腹痛和腹部不适的产生具有复杂的病理生理基础,尤其在精神心理因素方面有着差异^[18],故我们对FC和IBS-C患者的精神心理情况进行评估,进一步探讨社会心理因素与特殊胃肠功能紊乱之间的病因关系,以期为进一步发展个体化治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 2010-10/2014-03 208例功能性胃肠病门诊就诊的便秘患者。纳入标准:所有的患者达到FC或IBS-C罗马III诊断标准;年龄 ≥ 18 岁;有基本读写能力。排除标准:具有消化系统器质性疾病;

具有代谢性、内分泌性和神经性病因; 合并其他严重的慢性躯体疾病; 有精神疾病史或意识障碍; 吸毒、使用麻醉药品、抗抑郁药物或钙离子拮抗剂; 具有胃肠道手术史. 全部研究过程均在患者知情同意下进行, 并且在同一个调查者独立确定初次诊断功能性胃肠病.

1.2 方法

1.2.1 研究设计: 通过回顾观察法研究两组便秘患者的区别.

1.2.2 调查表: 基于功能性胃肠病的诊断标准(罗马III标准)制定标准临床问卷. 便秘的诊断标准, 达到以下2项或更多的则被定义: (1)至少25%的排便感到费力; (2)至少25%的排便为干球状便或硬便; (3)至少25%的排便有不尽感; (4)至少25%的排便有肛门直肠梗阻感/阻塞感; (5)至少25%的排便需要手法帮助(如用手指帮助排便、盆底支持); (6)排便次数<3次/wk. IBS的诊断标准: 反复发作的腹痛或不适(不适意味着感觉不舒服而非疼痛), 最近3 mo内每个月至少有3 d出现症状, 合并以下2条或多条: (1)排便后症状缓解; (2)发作时伴有排便频率改变; (3)发作时伴有大便性状(外观)改变. 诊断前症状出现至少6 mo, 近3 mo符合以上标准. 根据IBS亚型分类标准, IBS-C: 硬便或块状便占大便量 $\geq 25\%$, 稀便(糊状便)或水样便占大便量 $< 25\%$; FC未到以上标准的便秘.

1.2.3 心理评估: 心理评估主要针对焦虑和抑郁两方面. 抑郁的程度通过Beck抑郁调查表(Beck depression inventory-second edition, BDI-II)^[19,20]. 他包括21项选择项目, 每一项分0-3分, 所有总分为0-63分. 根据评分, 患者被分为2个等级: 高抑郁(15-63分)和低抑郁(0-14分). 焦虑由状态-特质焦虑问卷来评估, 包括2个方面(A1针对状态焦虑, A2针对特质焦虑), 两者都包括20选项, 每项为1-4分, A1和A2两方面的总分为20-80分.

生活质量评分: 采用SF-36健康量表来评价便秘患者的生活质量, SF-36属于普适性量表, 反映了个体的躯体和和精神功能两方面, 分8个维度, 包括生理功能(physical functioning, PF)、生理职能(role-physical, RP)、躯体疼痛(bodily pain, BP)、活力(vitality, VT)、情感职能(role-emotional, RE)、精神健康(mental health, MH)、社会功能(social functioning, SF)和总体健康(general health, GH), 分数越高, 生活质量越好^[21,22].

1.2.4 常见症状程度评估: 所有的患者通过10 cm视觉模拟评分法(visual analogue scale/score,

VAS)来评估四种消化系症状的程度: 便秘、腹泻、腹胀及腹痛. VAS等级为0(无症状)-10级(最严重症状).

1.2.5 便秘症状评分: 设计问卷对患者近1 wk的症状进行评分: 腹胀、排便困难、排便不尽感、辅助排便、大便的性状以及排便次数情况. 其中症状严重程度分为: 0-3级, 0分: 无症状; 1分: 轻度, 症状轻微, 经提起才能感觉到; 2分: 中度, 自觉症状明显, 不经提起即可感到有症状, 但不影响工作生活; 3分: 重度, 自觉症状明显, 影响工作生活. 大便性状采取布里斯托大便分类法(Bristol stool scale)计分: 0分: 4-7型; 1分: 3型; 2分: 2型; 3分: 1型. 排便次数的情况: 0分: 1-2次/1-2 d; 1分: 2次/wk; 2分: 1次/wk; 3分: 平均<1次/wk. 各症状评分相加即为总分对便秘症状进行评分. 具体标准如表1.

1.2.6 结肠传输时间测定: 按Hinton法及Arhan法测定了便秘患者的全肠道通过时间及结肠分段通过时间. 检查前1 wk起停用一切可能影响消化系功能的药物, 保持正常的饮食、生活和工作习惯. 于检查日早餐之后, 上午8 h一次吞服20个不透X线标志物(置于胶囊内). 每隔24 h摄腹部平片(不能灌肠), 每次拍片记录存留在肠道内的标志物数量及其分布, 如果80%以上标志物已从腹部平片上消失就停止摄片, 摄片最多不超过7 d. 读片方法: 从胸椎棘突至第5腰椎棘突作连线, 再从第5腰椎棘突向骨盆出口两侧作切线, 将大肠分国右侧结肠区、左侧结肠区、直肠乙状结肠区3个区段. 各区标志物的滞留情况按Hinton法计算全结肠通过时间, 各分段结肠通过时间采用Arhan法, 公式为结肠传输时间(colonic transit time, CCT) = $1.2 \sum ni$ (ni表示第i天在指定区内存留的标志物数量).

1.2.7 肛门直肠测压: 检查前3 d禁服胃肠动力药及镇静药, 检查当日不需禁食及肠道准备, 不做肛门指诊, 排空粪便. 定标后, 嘱受试者左侧屈膝卧位, 将前端附有刺激球囊的测压导管通过肛门插入直肠内10 cm, 向外缓慢牵拉至近侧压力传感器距肛缘6 cm处, 停2-10 min使受试者充分放松, 并依次进行下列指标的测定: 直肠压力、肛管静息压、肛管收缩压、直肠初始便意容量和最大耐受容量.

统计学处理 利用IBM SPSS软件(IBM SPSS v19.0)进行统计分析. 数据通过mean \pm SD表示. *t*检验用于分析计量数据, χ^2 检验或Fisher精确检验用于分析计数数据; 症状的程度和心理评

■ 相关报道
较多的研究证实了长期抑郁和焦虑可致便秘, 尤以女性及老年人为著.

■创新盘点

本文探讨便秘型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)与功能性便秘(functional constipation, FC)患者精神心理临床特点的差异,进一步寻求精神心理因素在其发生发展的作用。

表 1 便秘症状评分标准

分值	排便间隔	排便困难/ 用力排便	排便不尽/ 坠胀感	腹胀	粪便形状 (Bristol分型)
0分	1-2次/1-2 d	无	无	无	4-7
1分	2次/wk	轻度	轻度	轻度	3
2分	1次/wk	中度	中度	中度	2
3分	<1次/wk	重度	重度	重度	1

分之间的关系通过Spearman相关分析。多因素线性回归分析用于分析各症状VAS评分、粪便类型、年龄、性别与抑郁或焦虑之间的关系。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床病例资料特点 208例持续便秘的患者(78%女性)被入选,平均年龄50.7岁 \pm 16.9岁,平均体质量指数(body mass index, BMI)为25.1 kg/m² \pm 7.6 kg/m²。根据罗马III诊断标准,106例患者被诊断为FC,102例为IBS-C。两组年龄、性别、BMI之间差异无统计学意义(表2)。

2.2 常见临床症状特点 在便秘、腹胀、腹痛和腹泻这些常见症状方面,IBS-C患者比FC患者具有更高的VAS评分,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。在大便性状方面,FC患者和IBS-C患者的Bristol评分分别为1.959 \pm 0.204、2.201 \pm 0.298,差异无统计学意义($P = 0.599 > 0.05$)(表2)。FC患者、IBS-C患者的便秘症状评分为9.78 \pm 5.74、10.50 \pm 3.76,差异亦无统计学意义($P = 0.247 > 0.05$)(表2)。

2.3 生理特征 根据结肠传输时间测定,FC患者在直乙状结肠区域比IBS-C患者具有更高的传输,在其他区域传输时间两组者相似。同样,两组的肛门直肠压力及直肠敏感性没有不同(表2)。

2.4 心理特征 IBS-C组患者比FC患者更易抑郁(18.156 \pm 1.476 vs 11.902 \pm 1.351, $P = 0.002 < 0.01$)(表2);59.8%的IBS-C患者中被发现高抑郁水平,而仅39.6%的FC患者被发现高抑郁水平,由此,IBS-C患者高抑郁的比例高于FC患者(59.8% vs 39.6%, $P = 0.005 < 0.01$)(表3)。但是两组中特质焦虑与状态焦虑相似($P > 0.05$)。21项抑郁量表表明,IBS-C患者分别在6个方面高于FC患者(表4),分别为失败感($P = 0.012 < 0.05$)、罪恶感($P = 0.009 < 0.01$)、痛哭($P = 0.015 < 0.05$)、烦躁($P = 0.042 < 0.05$)、易激惹($P = 0.000 < 0.001$)、食欲改变($P = 0.000 < 0.001$)及注意力集中困难($P = 0.023 < 0.05$),余项目两组差异无统计学意义。

$= 0.023 < 0.05$),余项目两组差异无统计学意义。

在生活质量评分方面,FC患者和IBS-C患者分别为90.4 \pm 13.6、103.4 \pm 12.2,两组无明显差异($P = 0.095 > 0.05$)(表5)。但是在活力与精神健康方面,IBS-C患者评分要低于FC患者($P = 0.034 < 0.05$, $P = 0.041 < 0.05$)(表5)。

2.5 症状强度与心理学参数间的关系 在表6中,常见症状便秘、腹胀、腹痛的VAS、Bristol粪便评分与3种心理学参数之间的关系被分析(通过Spearman相关性检验)。在FC患者中,抑郁及特质焦虑与便秘VAS评分及腹胀VAS评分相关($P < 0.01$);而状态焦虑与便秘VAS评分及腹痛VAS评分相关($P < 0.05$)。相反的,在IBS-C患者中,3种心理学参数与VAS评分及Bristol粪便评分无关(表6)。此外,FC患者多变量线性回归分析表明抑郁和便秘VAS评分存在一定联系($\beta = 0.352$, $P = 0.015 < 0.05$),但是IBS-C患者中则无此联系($\beta = 0.552$, $P = 0.000 < 0.001$)。另外,多变量线性回归分析表明在FC组中状态焦虑与腹胀VAS评分具有明显相关性($\beta = 0.422$, $P = 0.000 < 0.001$),而在IBS-C组中则不存在此联系($\beta = 0.221$, $P = 0.092 > 0.05$)。相似的,多变量线性回归分析表明在FC组中特质焦虑与腹痛VAS评分具有明显相关性($\beta = 0.309$, $P = 0.035 < 0.05$),而在IBS-C组中则不存在此联系($\beta = 0.179$, $P = 0.325 > 0.05$)。

3 讨论

FC和IBS-C为慢性便秘的两种不同的类型,便秘为其共有的主要表现之一,但是症状方面各有自身的特点^[9,23,24]。如同样是存在便秘,但IBS-C患者常以腹痛为主诉,充分体现了腹痛作为IBS核心症状的重要性。IBS-C患者腹痛程度最严重,且腹痛程度随未排便天数的增加而加重。FC便秘症状多为持续性,或发作后持续一段时间。IBS-C多为发作性,患者便秘可与腹泻稀粪相交替,其症状严重程度也可随时间推移而发生变化^[9-12,25-29]。在我们的研究结果中,同样也符合了

表 2 临床病例、精神心理评估及临床资料

分组	FC	IBS-C	P值
<i>n</i>	106	102	
一般情况			
年龄(岁)	52.7 ± 9.7	49.3 ± 8.6	0.655
男	20	26	0.220
女	86	76	
BMI(kg/m ²)	24.241 ± 3.673	24.762 ± 3.779	0.932
症状直观模拟标度尺			
便秘	4.775 ± 0.412	6.997 ± 0.401	0.042
腹泻	0.189 ± 0.102	0.611 ± 0.114	0.034
腹胀	3.745 ± 0.389	6.546 ± 0.324	0.000
腹痛	3.053 ± 0.421	6.232 ± 0.375	0.000
Bristol粪便评分	1.959 ± 0.204	2.201 ± 0.298	0.599
排便症状评分	9.780 ± 5.740	10.500 ± 3.760	0.247
结肠传输时间测定(h)			
CTT	81.5 ± 6.9	75.1 ± 7.2	0.084
RCTT	21.9 ± 6.5	27.8 ± 5.6	0.045
LCTT	26.6 ± 7.3	27.7 ± 6.1	0.869
RSCTT	29.3 ± 6.4	19.7 ± 8.6	0.037
肛门直肠测压(mmHg)			
直肠压力	5.45 ± 2.28	5.63 ± 2.95	1.023
肛管静息压	59.08 ± 22.18	54.69 ± 16.16	0.885
肛管收缩压	135.66 ± 35.82	141.13 ± 29.27	0.756
直肠初始便意容量(mL)	72.72 ± 27.74	69.80 ± 29.76	0.335
最大耐受容量(mL)	157.06 ± 58.32	162.39 ± 57.36	0.925
心理评估(分)			
抑郁评分	11.902 ± 1.351	18.156 ± 1.476	0.001
状态焦虑评分	43.017 ± 1.573	47.715 ± 1.823	0.095
特质焦虑评分	44.922 ± 1.504	47.793 ± 1.690	0.126
生活质量评分	90.4 ± 13.6	103.4 ± 12.2	0.095

FC: 功能性便秘; IBS-C: 便秘型肠易激综合征; CTT: 结肠传输时间; RCTT: 右半结肠传输时间; LCTT: 左半结肠传输时间; RSCTT: 直乙状结肠传输时间; BMI: 身体质量指数。

表 3 FC与IBS-C抑郁程度的比较 *n*(%)

分组	FC	IBS-C	P值
高抑郁	42(39.6)	61(59.8)	0.005
低抑郁	64(60.4)	41(40.2)	

FC: 功能性便秘; IBS-C: 便秘型肠易激综合征。

FC和IBS-C这两种疾病的特点, 在便秘、腹胀、腹痛和腹泻这些常见症状方面, IBS-C患者比FC患者具有更高的VAS评分, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$), 但在大便性状、排便症状方面, FC患者和IBS-C患者之间差异无统计学意义。正常的排便有赖于结肠动力正常、结肠分泌功能的正常和肛门直肠排便功能的协调。胃肠道动力

■应用要点

IBS-C与FC患者在精神心理方面存在着一定的差异, IBS-C比FC更抑郁, 支持针对便秘患者传统的治疗中融合社会心理的因素, 探讨精神心理因素与特殊胃肠功能紊乱之间的病因关系, 从而利于发展个体化治疗的方法。

不足、肠内容物在肠道特别是结肠存留时间延长、水分过度吸收, 导致粪便干硬, 是产生便秘的主要机制之一。FC患者结肠高幅推进性收缩(high amplitude propagated contraction, HAPC)较正常人明显减少, IBS-C除HAPC次数减少外, 还存在空肠移行性复合运动周期延长, 乙状结肠时相性运动和张力下降^[12,26]。我们的研究发现, FC和IBS-C患者CTT均超过正常人群, 虽FC患者CTT长于IBS-C患者, 但两者差异无统计学意义; 在大肠分段传输时间上, FC患者直乙状结肠传输时间(retal-sigmoid colon transit time, RSCTT)长于IBS-C患者, 但在右半结肠传输时间(right colon transit time, RCTT)短于IBS-C患者, 且差异均有统计学意义, 在左半结肠传输时间(left colon transit time, LCTT)上两者差异无统计学意义。

■名词解释

便秘(constipation):是临床常见的复杂症状,而不是一种疾病,主要是指排便次数减少、粪便量减少、粪便干结、排便费力等,必须结合粪便的性状、本人平时排便习惯和排便有无困难作出有无便秘的判断。

表 4 FC患者和IBS-C患者Beck抑郁评分各项目比较 (mean ± SD)

分组	FC	IBS-C	P值
悲伤	0.557 ± 0.085	0.704 ± 0.093	0.065
悲观	0.714 ± 0.117	1.001 ± 0.129	0.067
失败感	0.681 ± 0.115	1.016 ± 0.109	0.012
乐趣	0.604 ± 0.087	0.839 ± 0.097	0.062
罪感	0.337 ± 0.086	0.746 ± 0.101	0.009
惩罚感	0.382 ± 0.127	0.876 ± 0.151	0.063
自厌	0.521 ± 0.102	0.799 ± 0.129	0.083
自责	0.557 ± 0.119	0.723 ± 0.130	0.823
自杀意向	0.182 ± 0.074	0.276 ± 0.069	0.354
痛哭	0.432 ± 0.097	0.886 ± 0.126	0.015
烦躁	0.422 ± 0.109	0.824 ± 0.108	0.042
失去兴趣	0.542 ± 0.111	0.628 ± 0.109	0.967
犹豫不决	0.562 ± 0.108	0.737 ± 0.115	0.289
价值观	0.580 ± 0.097	0.713 ± 0.109	0.331
失去精力	0.932 ± 0.096	1.029 ± 0.087	0.372
睡眠变化	1.154 ± 0.183	1.458 ± 0.165	0.097
易激惹	0.469 ± 0.099	0.986 ± 0.110	0.000
食欲改变	0.692 ± 0.131	1.442 ± 0.124	0.000
注意力集中困难	0.692 ± 0.083	0.997 ± 0.091	0.023
疲乏	1.120 ± 0.129	1.213 ± 0.112	0.623
性欲下降	0.863 ± 0.193	1.067 ± 0.162	0.302

FC: 功能性便秘; IBS-C: 便秘型肠易激综合征。

表 5 FC患者和IBS-C患者生活质量评分各项目比较 (mean ± SD)

分组	FC	IBS-C	P值
生理功能	85.4 ± 15.4	81.5 ± 17.1	0.454
生理职能	54.7 ± 41.5	50.3 ± 37.2	0.651
躯体疼痛	79.7 ± 21.3	72.1 ± 18.6	0.742
总体健康	46.6 ± 21.1	46.9 ± 13.9	2.124
情感职能	58.1 ± 39.5	64.6 ± 26.3	0.912
社会功能	71.1 ± 22.8	64.9 ± 18.8	0.831
活力	63.5 ± 17.1	45.7 ± 18.1	0.034
精神健康	63.5 ± 16.1	48.2 ± 17.8	0.041

FC: 功能性便秘; IBS-C: 便秘型肠易激综合征。

义。在肛门直肠测压方面, FC和IBS-C患者直肠压力、肛管静息压、肛管收缩压、直肠初始便意容量、最大耐受容量差异均无统计学意义。总体来看, 结肠动力降低和传输延缓是FC的主要病理生理异常, IBS-C患者除结肠动力降低外, 还存在移行性复合运动和时相运动等动力紊乱, 在结肠传输时间上可以有一点鉴别的价值, 不能单纯依据肛门直肠动力学检查对两者进行鉴别。

消化系运动受自主神经和内分泌系统的影响, 以上2系统中枢与情感中枢的皮层下整合中

心位于同一解剖部位, 故易受精神心理因素的影响, 有关与精神心理因素有关的慢性便秘的发病机制尚不十分清楚, 可能与通过大脑皮质影响下丘脑及自主神经系统, 从而使肠蠕动和肠管张力减弱有关。精神心理因素尤其抑郁和焦虑是慢性便秘发病的重要因素之一, 应引起高度的重视, 研究^[16,30,31]表明, 精神心理因素在FC和IBS-C的发病和发展中所起作用可能有所不同。我们的研究发现, IBS-C组患者比FC患者更抑郁(18.156 ± 1.476 vs 11.902 ±

表 6 常见症状与心理学参数间的关系

分组		VAS			Bristol粪便评分
		便秘	腹胀	腹痛	
FC	抑郁	0.379 ^b	0.391 ^b	0.131	-0.212
	特质焦虑	0.413 ^b	0.451 ^b	0.202	-0.063
	状态焦虑	0.292 ^a	0.221	0.269 ^a	-0.122
IBS-C	抑郁	0.086	0.121	0.122	0.174
	特质焦虑	0.069	0.196	0.185	-0.076
	状态焦虑	-0.038	0.089	0.211	-0.069

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs IBS-C. FC: 功能性便秘; IBS-C: 便秘型肠易激综合征; VAS: 视觉模拟评分法.

1.351, $P = 0.002 < 0.01$), IBS-C患者高抑郁的比例高于FC患者(59.8% vs 39.6%, $P = 0.005 < 0.01$). 具体到Beck抑郁评分的各分项上, 发现IBS-C在失败感、罪感、痛哭、烦躁、易激惹、食欲改变及注意力集中困难高于FC患者. FC患者和IBS-C患者在焦虑方面(包括状态焦虑评分和特质焦虑评分)差异均无统计学意义. 同样两者在生活质量方面差异亦无统计学意义, 但在具体分项上, IBS-C患者活力、精神健康方面要明显低于FC患者, 这些可能因为IBS-C患者症状多, 更加抑郁等生理、精神因素所致.

精神心理因素是影响胃肠道功能的重要因素, 是便秘发生的决定性因素之一. 焦虑和抑郁是最主要的两大精神心理因素^[5,6]. FC与IBS-C患者中常见症状便秘、腹胀、腹痛的VAS、Bristol粪便评分与3种心理学参数之间的关系又存在何种区别? 我们研究发现, 在便秘方面, FC患者焦虑、抑郁均与便秘存在相关性, 但所有患者中状态焦虑除外, 而IBS-C患者则不存在联系; 在腹胀方面, FC患者状态焦虑与腹胀VAS评分具有明显相关性, 而在IBS-C患者则不存在此联系; 在腹痛方面, FC和IBS-C患者焦虑、抑郁均与腹痛无联系; 在粪便评分方面, FC患者和IBS-C患者均与粪便评分无关系. 心理学因素在便秘患者开始和进展中的作用仍存在争议, 目前的研究表明仅在FC患者中, 一些症状和体征有关: 抑郁与自觉便秘有关, 状态焦虑与自觉腹胀有关. 然而, 在FC患者中发现的关联仅限于便秘或腹胀的自我估计水平, 而不是客观的测量如结肠传输时间或直肠敏感性. 进一步的研究是评估抗抑郁药和/或抗焦虑药和心理治疗在两组患者的确切作用需要. 特别是, 今后的调查将需要确认FC患者中便秘或腹胀的感觉的联系,

腹胀FC患者之间的关联, IBS-C患者心理学参数与临床症状程度的关联.

总之, FC与IBS-C同属功能性肠病, 其便秘表现有所不同, 精神心理因素也存在着差异, IBS-C患者比FC患者要更抑郁, 在此基础上有针对性地选择治疗方案是改善治疗效果的关键, 从而为这两种患者提供有效的个体化治疗提供理论依据.

4 参考文献

- Talley NJ. Functional gastrointestinal disorders as a public health problem. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20 Suppl 1: 121-129 [PMID: 18402649 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2008.01097.x]
- Basilisco G, Coletta M. Chronic constipation: a critical review. *Dig Liver Dis* 2013; 45: 886-893 [PMID: 23639342 DOI: 10.1016/j.dld.2013.03.016]
- Agarwal J. Chronic constipation. *Indian J Pediatr* 2013; 80: 1021-1025 [PMID: 23943571 DOI: 10.1007/s12098-013-1133-5]
- Egloff N, Beer C, Gschossmann JM, Sendensky AH, von Känel R. [Pathogenesis of functional gastrointestinal disorders - an interdisciplinary perspective]. *Praxis (Bern 1994)* 2010; 99: 419-427 [PMID: 20358517 DOI: 10.1024/1661-8157/a000087]
- Van Oudenhove L, Vandenberghe J, Demyttenaere K, Tack J. Psychosocial factors, psychiatric illness and functional gastrointestinal disorders: a historical perspective. *Digestion* 2010; 82: 201-210 [PMID: 20588034 DOI: 10.1159/000269822]
- Fukudo S, Kuwano H, Miwa H. Management and pathophysiology of functional gastrointestinal disorders. *Digestion* 2012; 85: 85-89 [PMID: 22269284 DOI: 10.1159/000334652]
- Talley NJ. Decade in review-FGIDs: 'Functional' gastrointestinal disorders-a paradigm shift. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 11: 649-650 [PMID: 25245015 DOI: 10.1038/nrgastro.2014.163]
- Costilla VC, Foxx-Orenstein AE. Constipation: understanding mechanisms and management. *Clin Geriatr Med* 2014; 30: 107-115 [PMID: 24267606 DOI: 10.1016/j.cger.2013.10.001]
- Talley NJ. Differentiating functional constipation from constipation-predominant irritable bowel syn-

同行评价

本文针对IBS-C与FC患者精神心理进行了分析, 设计合理, 具有可读性与临床参考价值.

- drome: management implications. *Rev Gastroenterol Disord* 2005; 5: 1-9 [PMID: 15741927]
- 10 Ghoshal UC. Review of pathogenesis and management of constipation. *Trop Gastroenterol* 2007; 28: 91-95 [PMID: 18383994]
 - 11 Müller-Lissner S. The pathophysiology, diagnosis, and treatment of constipation. *Dtsch Arztebl Int* 2009; 106: 424-431; quiz 431-432 [PMID: 19623313 DOI: 10.3238/arztebl.2009.0424]
 - 12 Andrews CN, Storr M. The pathophysiology of chronic constipation. *Can J Gastroenterol* 2011; 25 Suppl B: 16B-21B [PMID: 22114753]
 - 13 Camilleri M. New treatment options for chronic constipation: mechanisms, efficacy and safety. *Can J Gastroenterol* 2011; 25 Suppl B: 29B-35B [PMID: 22114755]
 - 14 Zhao YF, Ma XQ, Wang R, Yan XY, Li ZS, Zou DW, He J. Epidemiology of functional constipation and comparison with constipation-predominant irritable bowel syndrome: the Systematic Investigation of Gastrointestinal Diseases in China (SILC). *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1020-1029 [PMID: 21848795 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04809.x]
 - 15 Fortea J, Prior M. Irritable bowel syndrome with constipation: a European-focused systematic literature review of disease burden. *J Med Econ* 2013; 16: 329-341 [PMID: 23216014 DOI: 10.3111/13696998.2012.756397]
 - 16 Nellesen D, Yee K, Chawla A, Lewis BE, Carson RT. A systematic review of the economic and humanistic burden of illness in irritable bowel syndrome and chronic constipation. *J Manag Care Pharm* 2013; 19: 755-764 [PMID: 24156644]
 - 17 辛海威, 方秀才, 柯美云. 功能性便秘和便秘型肠易激综合征-我们能鉴别吗. *胃肠病学和肝病学杂志* 2013; 22: 158-162
 - 18 Shekhar C, Monaghan PJ, Morris J, Issa B, Whorwell PJ, Keevil B, Houghton LA. Rome III functional constipation and irritable bowel syndrome with constipation are similar disorders within a spectrum of sensitization, regulated by serotonin. *Gastroenterology* 2013; 145: 749-757; quiz e13-e14 [PMID: 23872499 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.07.014]
 - 19 Kung S, Alarcon RD, Williams MD, Poppe KA, Jo Moore M, Frye MA. Comparing the Beck Depression Inventory-II (BDI-II) and Patient Health Questionnaire (PHQ-9) depression measures in an integrated mood disorders practice. *J Affect Disord* 2013; 145: 341-343 [PMID: 23021192 DOI: 10.1016/j.jad.2012.08.017]
 - 20 Vasegh S, Baradaran N. Using the Persian-language version of the Beck Depression Inventory-II (BDI-II-Persian) for the screening of depression in students. *J Nerv Ment Dis* 2014; 202: 738-743; quiz 743-744 [PMID: 25208346 DOI: 10.1097/NMD.0000000000000183]
 - 21 FriedenberG FK, Dadabhai A, Palit A, Sankineni A. The impact of functional constipation on quality of life of middle-aged Black Americans: a prospective case-control study. *Qual Life Res* 2012; 21: 1713-1717 [PMID: 22179971 DOI: 10.1007/s11136-011-0089-z]
 - 22 Kinikli GI, Celik D, Yuksel I, Atay OA. Turkish version of the Anterior Cruciate Ligament Quality of Life questionnaire. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2014 Nov 8. [Epub ahead of print][PMID: 25380970 DOI: 10.1007/s00167-014-3404-8]
 - 23 Ansari R, Sohrabi S, Ghanaie O, Amjadi H, Merat S, Vahedi H, Khatibian M. Comparison of colonic transit time between patients with constipation-predominant irritable bowel syndrome and functional constipation. *Indian J Gastroenterol* 2010; 29: 66-68 [PMID: 20443103 DOI: 10.1007/s12664-010-0015-2]
 - 24 Wong RK, Palsson OS, Turner MJ, Levy RL, Feld AD, von Korff M, Whitehead WE. Inability of the Rome III criteria to distinguish functional constipation from constipation-subtype irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2228-2234 [PMID: 20502449 DOI: 10.1038/ajg.2010.200]
 - 25 Cofré L P, Germain P F, Medina L L, Orellana G H, Suárez M J, Vergara A T. [Constipation in adults: an update]. *Rev Med Chil* 2008; 136: 507-516 [PMID: 18769795 DOI: /S0034-98872008000400013]
 - 26 Zhao JS, Tong WD. [Pathophysiology of slow transit constipation]. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2012; 15: 758-760 [PMID: 22851084]
 - 27 廖奕, 刘诗. 慢性功能性便秘病理生理机制研究. *临床消化病杂志* 2013; 25: 225-229
 - 28 El-Salhy M, Svensen R, Hatlebakk JG, Gilja OH, Hausken T. Chronic constipation and treatment options (Review). *Mol Med Rep* 2014; 9: 3-8 [PMID: 24189940 DOI: 10.3892/mmr.2013.1770]
 - 29 笮妮丽, 张建斌. 功能性便秘与情感障碍相关性分析. *辽宁中医药大学学报* 2014; 16: 127-129
 - 30 Carmona-Sánchez R. [Functional constipation]. *Rev Gastroenterol Mex* 2006; 71 Suppl 1: 79-80 [PMID: 17037782]
 - 31 Porcelli P, Todarello O. Psychological factors affecting functional gastrointestinal disorders. *Adv Psychosom Med* 2007; 28: 34-56 [PMID: 17684319 DOI: 10.1159/0000106796]

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



p85a与nm23、MMP-2在大肠癌原发灶和淋巴结内转移癌中的表达及临床意义

思蓉, 吴淑华, 何双, 温菲菲

思蓉, 温菲菲, 滨州医学院病理学教研室 山东省滨州市 256603

吴淑华, 何双, 滨州医学院附属医院病理科 山东省滨州市 256603

思蓉, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

山东省科技攻关基金资助项目, No. 2010GSF10259

作者贡献分布: 本课题由思蓉与吴淑华设计; 研究过程由思蓉、何双及温菲菲共同操作完成; 研究用试剂由吴淑华提供; 切片阅片及结果判读由吴淑华、何双及思蓉完成; 本论文写作由思蓉完成。

通讯作者: 吴淑华, 教授, 硕士生导师, 256603, 山东省滨州市黄河二路661号, 滨州医学院附属医院病理科。

wsh6108@126.com

电话: 0543-3258653

收稿日期: 2014-09-14 修回日期: 2014-11-06

接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2014-12-28

Clinical significance of expression of p85a, nm23 and MMP-2 in primary colorectal cancer and lymph node metastasis

Rong Si, Shu-Hua Wu, Shuang He, Fei-Fei Wen

Rong Si, Fei-Fei Wen, Department of Pathology, Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China

Shu-Hua Wu, Shuang He, Department of Pathology, Affiliated Hospital, Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China

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

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

Received: 2014-09-14 Revised: 2014-11-06

Accepted: 2014-11-18 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To detect the expression of p85a, nm23 and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in primary colorectal cancer and lymph node metastasis, and to discuss the role and significance of p85a, nm23 and MMP-2 in colorectal cancer metastasis.

METHODS: Two hundred and forty-three colorectal cancer patients were divided into two groups: patients with cervical lymph node metas-

tasis and those without. Primary tumor samples from patients without cervical lymph node metastasis ($n = 51$) and those with lymph node metastasis ($n = 192$), cervical lymph node metastasis samples ($n = 192$), and normal colorectal tissue samples from normal controls ($n = 243$) were collected. Immunohistochemistry was used to detect the expression of p85a, nm23 and MMP-2 in the above samples. The correlations between expression of p85a, nm23 and MMP-2 and clinicopathological and prognostic factors of colorectal cancer were analyzed.

RESULTS: The positive expression rates of p85a and MMP-2 in primary tumor and lymph node metastasis samples from patients with lymph node metastasis were significantly higher than those in primary tumors from patients without cervical lymph node metastasis and normal colorectal tissue samples. The expression of nm23 in the metastasis was significantly lower than those in the other groups. In metastatic cancer, the expression of p85a and nm23 had a negative correlation ($P < 0.05$), and p85a and MMP-2 had a positive correlation ($P < 0.05$). According to survival analysis, p85a, nm23 and MMP-2 were independent factors for the prognosis of colorectal cancer. The cases with higher p85a and lower nm23 or with both higher p85a and MMP-2 had shorter lifetime.

CONCLUSION: In the process of colorectal cancer metastasis, p85a can enhance the expression of MMP-2 and restrain the expression of nm23. They all play an important role in colorectal metastasis, and all of them are prognostic factors for colorectal cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; PI3K p85a; nm23; MMP-2; Metastasis

Si R, Wu SH, He S, Wen FF. Clinical significance of expression of p85a, nm23 and MMP-2 in primary

■背景资料

大肠癌的发病率逐年上升, 早期症状隐匿, 发现时多为中晚期, 仍有半数患者在手术治疗后发生转移, 临床预后不良. 发现大肠癌转移过程中的关键因素, 研究其与大肠癌患者生存之间的关系, 对于大肠癌的诊断、治疗和提高大肠癌患者的生存率, 具有十分重要的意义。

■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

■研究前沿

近年来有关大肠癌与PI3K/AKT通路、nm23、MMP-2之间关系的研究多集中于基础研究领域,然而,关于这些因素与大肠癌患者淋巴结转移及预后之间的相关性研究鲜见报道。

colorectal cancer and lymph node metastasis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(36): 5623-5630 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5623.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5623>

摘要

目的: 探讨大肠癌原发灶和淋巴结内转移瘤中p85a与nm23、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)的表达及其临床意义。

方法: 收集有完整随访资料的243例大肠癌病例,根据有无淋巴结转移进行分组,分为无淋巴结转移组51例、有淋巴结转移的原发灶组192例、淋巴结内转移瘤组(简称转移瘤组)192例,设大肠癌旁正常黏膜组织为对照组243例,免疫组织化学方法检测对照组、无转移组、原发灶组、转移瘤组中p85a、nm23、MMP-2的表达情况,分析其相关性以及与临床病理因素、患者生存的关系。

结果: p85a和MMP-2在大肠癌原发灶组和转移瘤组中的阳性表达率明显高于无转移组和对照组, nm23在无转移组中的阳性表达率明显高于转移瘤组和原发灶组,差异有统计学意义。转移瘤组中p85a与nm23的表达呈负相关($P<0.05$), p85a与MMP-2的表达呈正相关($P<0.05$)。生存分析结果显示, p85a、nm23、MMP-2是大肠癌预后的独立影响因素。高表达p85a并低表达nm23或者同时高表达p85a和MMP-2的患者预后差。

结论: 在大肠癌转移过程中, p85a协同增强MMP-2并抑制nm23, 三者在大肠癌转移中均发挥重要作用且与患者预后密切相关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 大肠癌; PI3K p85a; nm23; MMP-2; 转移

核心提示: p85a、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)在转移灶中的表达率高于原发灶,在转移灶中p85a与MMP-2的表达呈正相关; nm23在转移灶中的表达率低于原发灶,在转移灶中p85a与nm23的表达率呈负相关。p85a、nm23、MMP-2蛋白的异常表达是影响大肠癌患者预后的独立危险因素,存在p85a和MMP-2同时高表达或者高表达p85a且低表达nm23的患者术后生存期明显缩短。

思蓉, 吴淑华, 何双, 温菲菲. p85a与nm23、MMP-2在大肠癌原发灶和淋巴结内转移瘤中的表达及临床意义. 世界华

人消化杂志 2014; 22(36): 5623-5630 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5623.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5623>

0 引言

我国大肠癌的患病率逐年升高,居全部恶性肿瘤的第4位,消化系肿瘤的第3位^[1]。大肠癌的发生是一个多环节、复杂的过程,其中细胞转导通路的异常发挥了重要作用^[2]。磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase/Akt, PI3K/Akt)信号转导通路^[3]作为重要的细胞生存通路之一,在促进细胞生长、增殖,促进细胞运动、侵袭,抑制细胞凋亡,促进血管生成,抵抗化疗和放疗等方面起作用^[4-7]。PI3K/Akt通路中的IA型PI3K分子的调节亚基p85a在介导PI3K和胞膜受体激酶的相互作用中起了关键作用,并且与肿瘤的生物活性密切相关^[8-10]。本研究通过检测大肠癌原发灶和淋巴结内转移瘤中p85a、nm23、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)的表达情况,对三者在大肠癌转移过程中的相关性及其临床意义进行初步探讨。

1 材料和方法

1.1 材料 收集滨州医学院附属医院2006-01/2009-01大肠癌手术标本300例,所选病例均为首次发现,术前未经任何治疗,并对其进行随访,剔除失访及因其他原因死亡的病例。最后获得完整随访资料243例,其中女111例,男132例,年龄27-87岁,平均年龄64.23岁±1.21岁。入选病例病理切片经两位病理专家重新阅片,根据有无淋巴结转移进行分组,分为无淋巴结转移组51例,有淋巴结转移的原发灶组192例,淋巴结内转移瘤组192例,并设大肠癌旁正常黏膜组织为对照组243例。p85a兔多克隆抗体、nm23鼠多克隆抗体、MMP-2人单克隆抗体均购自ImmunoWay公司,稀释浓度分别为1:100、1:200、1:150。柠檬酸,通用型二抗及DAB显色液购自北京中杉金桥生物技术有限公司。分别采用已知阳性表达的子宫内膜癌组织、胃癌组织、乳腺癌组织做阳性对照,采用PBS代替一抗做阴性对照。

1.2 方法

1.2.1 随访: 对大肠癌术后患者以电话、书信等方式进行回访,对死亡病例以医院出具的死亡诊断书为准,除去非肿瘤原因死亡的病例,最终获得有完整随访资料的病例243例。

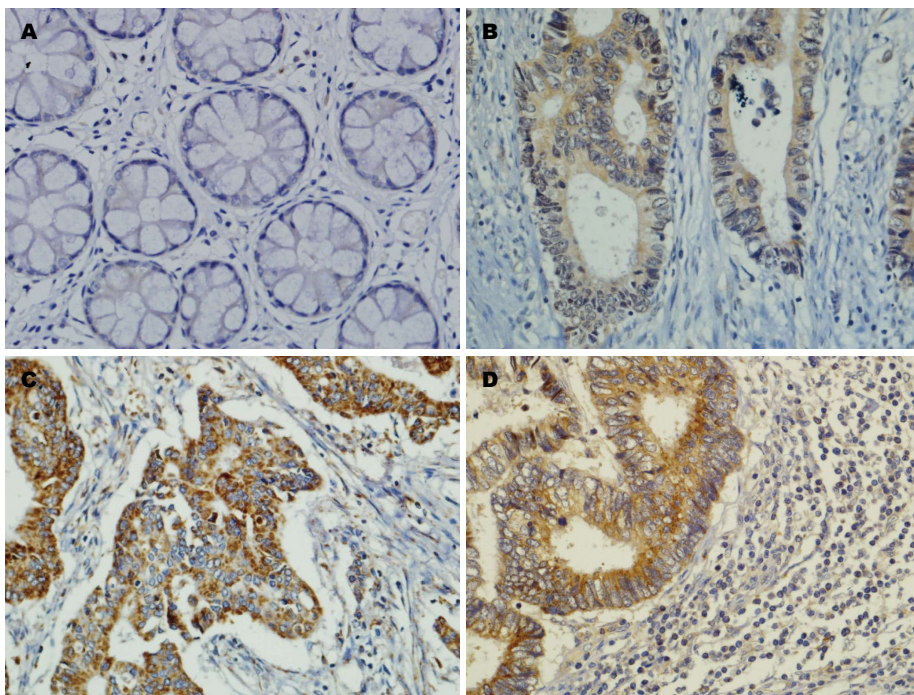


图 1 大肠癌各组中P85a蛋白的阳性表达(EnVision法×400). A: 对照组; B: 无转移组; C: 原发灶组; D: 转移癌组. MMP-2: 基质金属蛋白酶-2.

■ 相关报道
p85a的表达与大肠癌Dukes'分期相关,随分期增高而增高,明显降低细胞的侵袭能力. nm23具有二磷酸核苷酶的活性,通过影响微管聚合及G蛋白信号通路来抑制转移. MMP-2属胶原酶类,通过影响IV型胶原促进转移.

表 1 p85a、nm23、MMP-2在大肠癌不同组中的表达 n(%)

分组	n	p85a	MMP-2	nm23
对照组	243	72(29.6)	69(28.4)	129(78.4)
无转移组	51	10(18.8)	33(64.7)	42(82.4)
原发灶组	192	135(70.3)	159(82.8)	41(29.4)
转移癌组	192	156(81.3)	162(84.3)	32(19.3)

MMP-2: 基质金属蛋白酶-2.

1.2.2 免疫组织化学检测p85a、nm23、MMP-2: 按照EnVision法步骤进行, 3 μm石蜡切片经二甲苯、梯度乙醇脱蜡至水后, 进行柠檬酸修复(热修复2 min), 滴加一抗, 4 °C过夜. PBS洗涤后, 滴加通用型二抗, 37 °C孵育30 min, DAB显色(p85a, nm23显色时间为2 min, MMP-2显色时间为3 min), 苏木素复染, 盐酸酒精分化, 脱水后中性树胶封片.

1.2.3 结果判读: p85a以上皮细胞胞浆内出现棕黄色颗粒为阳性标志, nm23、MMP-2均以上皮细胞胞浆均质黄染为阳性标志, 结果判定采用半定量积分法, 根据每张切片上的阳性细胞比例和染色深浅积分. 着色深度: 无色0分, 浅黄色1分, 棕黄色2分, 棕褐色3分. 同倍数物镜单个视野下阳性细胞数面积: ≤1/4为1分, 1/4-1/2为2分, 1/2-3/4为3分, ≥3/4为4分. 2项积分相乘所得的总分进行结果判定, 0-6分为阴性, 8-12分为阳性.

统计学处理 使用SPSS19.0统计软件, 不同分组间三种蛋白的表达差异及与临床病理因素之间的关系采用χ²检验. p85a和nm23、MMP-2之间的相关性采用Spearman相关分析. 用Kaplan-Meier法进行单因素生存分析, 对有统计学差异的变量应用Cox模型进行多因素生存分析, 所有统计学分析均以α≤0.05为检验水准. P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 p85a、MMP-2、nm23在不同分组间的表达差异 p85a、MMP-2在转移癌组的表达明显高于无转移组和对照组(P<0.05), 与原发灶组无显著性差异(P>0.05); nm23在无转移组的表达明显高于原发灶组和转移癌组(P<0.05), 但与对照组之间无显著性差异(P>0.05)(表1, 图1-3).

2.2 p85a、nm23、MMP-2在大肠癌不同分组

■创新盘点

本研究通过对所选病例进行随访,并对随访的资料做生存分析,找寻可以与患者不良预后密切相关的临床病理指标.在大肠癌原发灶和转移灶中利用免疫组织化学的方法同时测定p85a、nm23、MMP-2的表达,并分析其表达的相关性,探讨了p85a和nm23、MMP-2与大肠癌的转移及影响预后的机制.

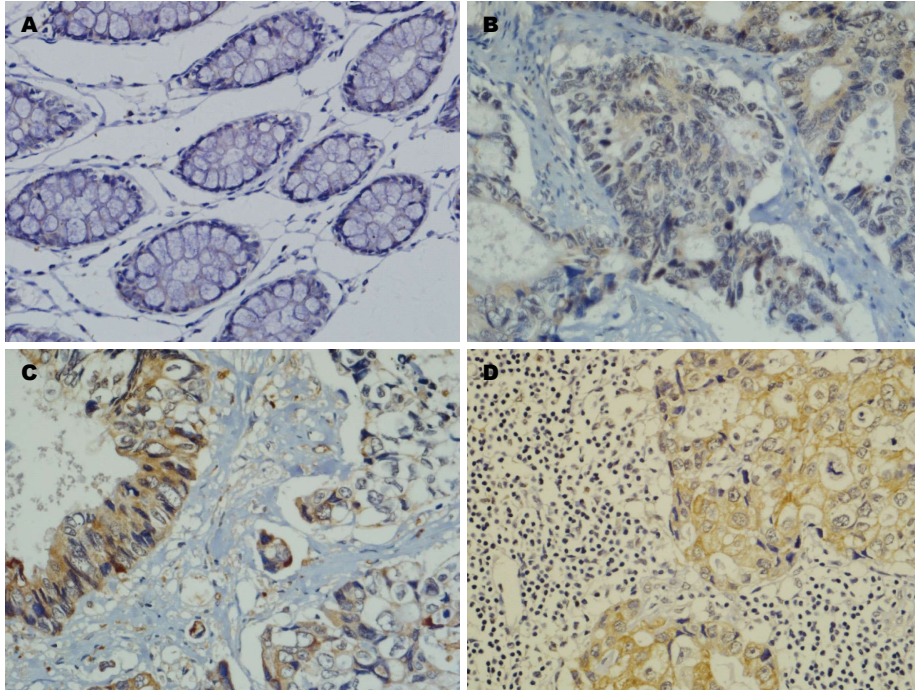


图2 大肠癌各组中MMP-2蛋白的阳性表达(EnVision法×200). A: 对照组; B: 无转移组; C: 原发灶组; D: 转移癌组.

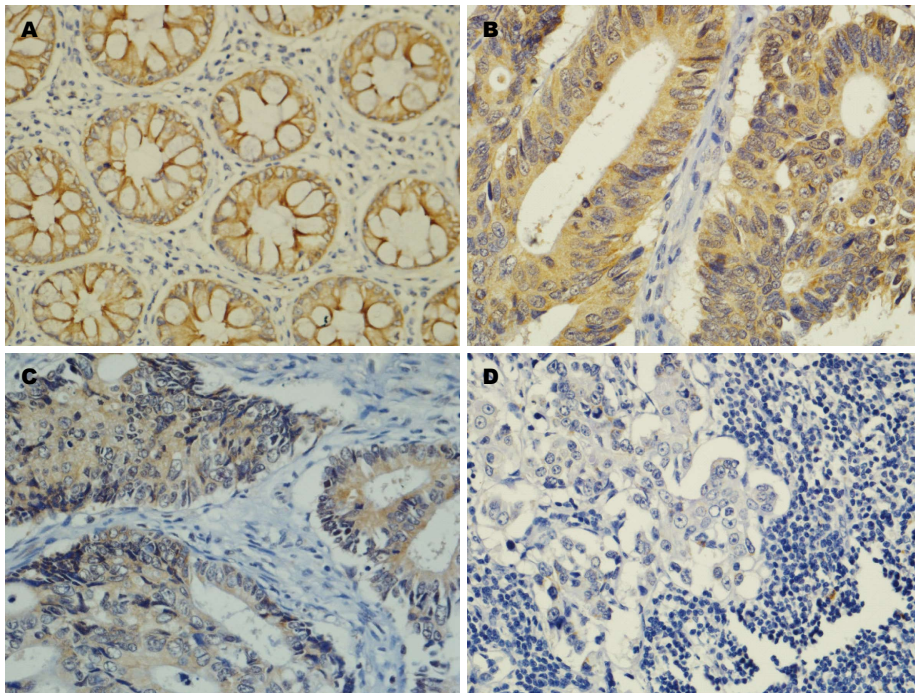


图3 大肠癌各组中nm23蛋白的阳性表达(EnVision法×200). A: 对照组; B: 无转移组; C: 原发灶组; D: 转移癌组.

中表达的相关性 统计学分析结果显示,在转移癌组中p85a与MMP-2的表达呈正相关, p85a与nm23的表达呈负相关($P < 0.05$),而在对照组、无转移组、原发灶组中的表达无相关性($P > 0.05$)(表2).

2.3 p85a、nm23、MMP-2蛋白的表达与临床病理因素的相关性 在各种临床病理因素中,

p85a、nm23、MMP-2蛋白的表达与肿瘤的分化程度及淋巴结是否转移相关($P < 0.05$),而与性别、年龄、肿瘤直径、部位及TNM分期无相关性(表3).

2.4 随访及生存分析 对300例大肠癌患者进行随访,获得完整随访资料243例.其中57例死亡,186例生存,总生存期1-60 mo,平均生存28.5 mo,

表 2 p85a与MMP-2、nm23在大肠癌不同分组中表达的相关性

分组	n	MMP-2		nm23	
		Spearman(r)	P值	Spearman(r)	P值
对照组	243	0.717	0.276	0.735	0.346
无转移组	51	0.145	0.764	0.231	0.582
原发灶组	192	0.251	0.297	0.243	0.315
转移癌组	192	0.417	0.004	-0.382	0.040

应用要点
为进一步完善大肠癌发病机制的研究,改善患者预后,开发新的靶向治疗药物提供新的方向和思路。

MMP-2: 基质金属蛋白酶-2.

表 3 p85a、nm23、MMP-2与大肠癌患者临床病理因素的相关性 n(%)

临床病理因素	n	p85a ⁺	P值	nm23 ⁺	P值	MMP-2 ⁺	P值
性别			0.854		0.584		0.442
男	132	102(41.9)		99(40.8)		117(48.1)	
女	111	69(28.4)		84(34.6)		84(34.6)	
年龄(岁)			0.753		0.717		0.504
≤65	117	84(34.5)		87(35.8)		96(39.5)	
>65	126	87(35.8)		96(39.5)		105(43.2)	
肿瘤直径(cm)			0.809		0.347		0.369
≤3	128	116(47.7)		114(46.9)		52(21.4)	
>3	115	110(45.3)		98(40.3)		94(38.7)	
肿瘤部位			0.401		0.066		0.888
结肠	108	78(32.1)		78(32.1)		90(37.3)	
直肠	135	93(38.3)		105(43.2)		111(45.7)	
分化程度			0.049		0.037		0.010
高分化	72	48(19.8)		54(22.2)		54(22.2)	
中分化	126	87(35.8)		93(38.3)		102(41.9)	
低分化	45	36(14.8)		36(14.8)		45(18.5)	
TNM分期			0.406		0.175		0.069
I+II	54	39(16.5)		18(7.4)		30(12.3)	
III+IV	189	132(54.3)		165(67.9)		171(70.4)	
淋巴结转移			0.023		0.017		0.011
无	54	42(17.3)		45(18.5)		45(18.5)	
有	189	129(53.1)		138(56.8)		156(64.2)	

MMP-2: 基质金属蛋白酶-2.

中位生存期为21 mo(95%CI: 18.6-23.4), 5年生存率为50.2%(图4).

2.5 单因素生存分析 应用Kaplan-Meier法进行单因素生存分析, 结果显示, p85a、nm23、MMP-2蛋白的异常表达是大肠癌预后的独立影响因子(表4).

2.6 多因素生存分析 将243例大肠癌病例根据p85a、nm23、MMP-2表达差异的变量, 采用Cox模型进行多因素生存分析. 结果提示p85a高表达并nm23低表达或p85a和MMP-2同时高表达的患者术后生存期明显缩短(图5, 6).

3 讨论

PI3K p85a是PI3K中表达量最高的一种调节亚基, p85a的异常可导致PI3K/Akt细胞信号传导通路异常, 与多种肿瘤的发生发展密切相关^[11-13]. Catusas等^[14]学者发现p85a蛋白的表达水平与卵巢癌的临床分期和组织学分级成正相关. 王彦云^[15]发现p85a蛋白在大肠正常黏膜、大肠腺瘤、大肠癌中的表达呈上升趋势. 本研究结果表明p85a在对照组、无转移组、原发灶组和转移癌组中的阳性表达率呈逐渐上升的趋势, 提示p85a蛋白不但与大肠癌的发生发展有关, 并且

同行评价

本文选题新颖, 内容重要, 符合伦理学要求, 具有一定理论及实用价值。

表 4 p85a、nm23、MMP-2与大肠癌预后的关系

参数	B	SE	Wald	df	Exp(B)	95%CI	P值
p85a	-0.348	0.518	0.450	1	0.706	0.256-1.950	0.050
nm23	0.258	0.578	0.200	1	1.295	0.417-4.021	0.025
MMP-2	-0.678	0.528	1.646	1	0.508	0.180-0.430	0.013

MMP-2: 基质金属蛋白酶-2.

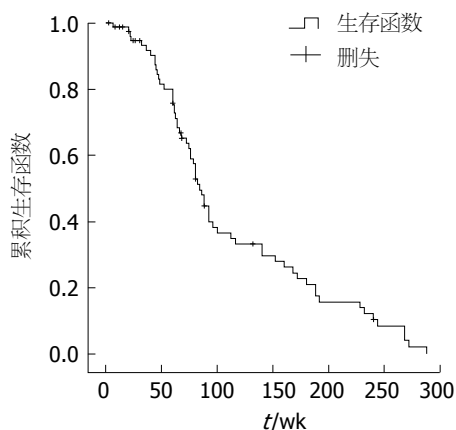


图 4 大肠癌患者的生存曲线.

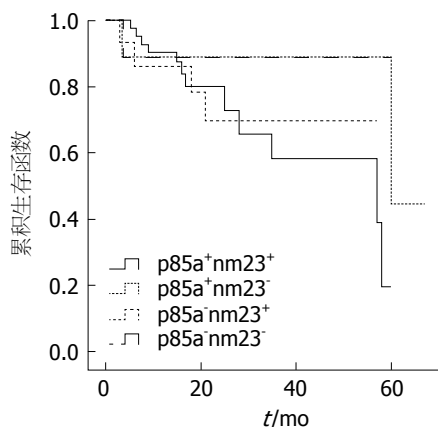


图 5 p85a和nm23不同表达情况下大肠癌患者术后生存曲线.

与其转移密切相关。

MMP-2是基质金属蛋白酶家族的重要成员, 可降解基膜IV型胶原, 在肿瘤的转移中发挥重要作用^[16-18]. 本实验发现, MMP-2在对照组、无转移组、原发灶组和转移癌组中的表达呈上升趋势, 印证了其促进肿瘤细胞转移的作用. 并且, 我们发现在转移癌组中MMP-2的表达与p85a的表达呈正相关, 由此我们推测, p85a高表达可激活PI3K/Akt细胞信号传导通路, 影响其下游的效应因子Rho、Rac1和cdc42等细胞生物学活性的关键分子, 使细胞骨架重排、调节细胞膜褶皱

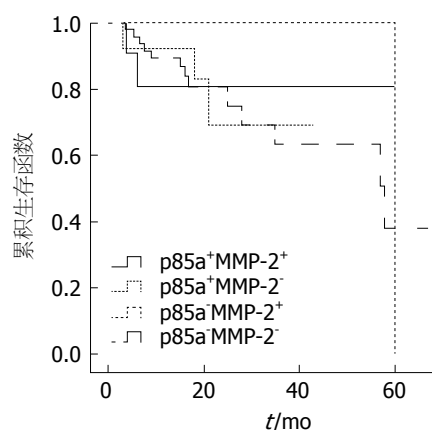


图 6 p85a和MMP-2不同表达情况下大肠癌患者术后生存曲线. MMP-2: 基质金属蛋白酶-2.

运动、细胞运动和细胞蔓延. 并可通过多种途径, 促进肿瘤细胞产生过多的MMP-2, 促进其发挥水解细胞外基质的作用, 从而促进肿瘤细胞的侵袭与转移.

*nm23*基因是第一个被发现的转移抑制基因^[19], 在肿瘤细胞增殖分化侵袭及转移中起重要作用^[20-22]. 他与乳腺癌、肝癌、恶性黑色素细胞瘤等多种肿瘤的转移有关^[23-26]. Kanat等^[27]研究发现高表达*nm23*的胃肠道间质瘤患者中位生存期明显延长. 本实验发现, *nm23*在无转移组中的表达明显高于原发灶组和转移癌组, 并且在转移癌组中与p85a的表达呈负相关. 我们认为, p85a蛋白高表达以及*nm23*基因的失活与大肠癌的转移具有相关性, 其机制可能是p85a蛋白高表达活化PI3K/Akt细胞信号传导通路, 由于该通路具有较高的生物学效应, 能够通过多种途径抑制*nm23*基因的活性, 从而降低或失去抑制大肠癌细胞转移和浸润的作用.

研究^[28-30]表明, 大肠癌的5年生存率约为40%-65%. 本研究对243例大肠癌患者进行随访, 同时对p85a、nm23、MMP-2蛋白的表达与临床病理因素的相关性进行分析. 结果显示, 5年生存率为50.2%. 并且, 高表达p85a和低表达nm23或者p85a和MMP-2同时高表达的患者术后生

存期明显缩短. 多因素回归分析表明, 在影响患者预后的各种临床病理因素中, p85a、nm23、MMP-2蛋白的异常表达是独立影响因子.

本实验研究结果表明, 在大肠癌组织中同时存在p85a、nm23、MMP-2基因及蛋白的异常表达, 并与患者的预后密切相关. 检测大肠癌组织中p85a、nm23、MMP-2的表达对于判断大肠癌的进展及预后有重要的意义. 然而, 肿瘤的发生发展是多种因素共同参与作用的结果, 对于p85a与nm23、p85a与MMP-2在大肠癌发生中的相互影响和调控的关系以及机制还有待于进一步研究.

4 参考文献

- 1 Kerr D. Clinical development of gene therapy for colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 615-622 [PMID: 12894249 DOI: 10.1038/nrc1147]
- 2 Griffin Lengyel JN, Park EY, Brunson AR, Pinali D, Lane MA. Phosphatidylinositol 3-kinase mediates the ability of retinol to decrease colorectal cancer cell invasion. *Nutr Cancer* 2014; 66: 1352-1361 [PMID: 25356626]
- 3 Carnero A. The PKB/AKT pathway in cancer. *Curr Pharm Des* 2010; 16: 34-44 [PMID: 20214616]
- 4 Liu P, Cheng H, Roberts TM, Zhao JJ. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2009; 8: 627-644 [PMID: 19644473 DOI: 10.1038/nrd2926]
- 5 Liu S, Knapp S, Ahmed AA. The structural basis of PI3K cancer mutations: from mechanism to therapy. *Cancer Res* 2014; 74: 641-646 [PMID: 24459181]
- 6 Kolasa IK, Rembiszewska A, Felisiak A, Ziolkowska-Seta I, Murawska M, Moes J, Timorek A, Dansonka-Mieszekowska A, Kupryjanczyk J. PIK3CA amplification associates with resistance to chemotherapy in ovarian cancer patients. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 21-26 [PMID: 19029838 DOI: 10.4161/cbt.8.1.7209]
- 7 Samuels Y, Ericson K. Oncogenic PI3K and its role in cancer. *Curr Opin Oncol* 2006; 18: 77-82 [PMID: 16357568 DOI: 10.1097/01.cco.0000198021.99347.b9]
- 8 Mamali I, Tatari MN, Micheva I, Lampropoulou M, Marmaras VJ. Apoptosis in medfly hemocytes is regulated during pupariation through FAK, Src, ERK, PI-3K p85a, and Akt survival signaling. *J Cell Biochem* 2007; 101: 331-347 [PMID: 17177294]
- 9 De Gregorio G, Coppa A, Cosentino C, Ucci S, Messina S, Nicolussi A, D'Inzeo S, Di Pardo A, Avvedimento EV, Porcellini A. The p85 regulatory subunit of PI3K mediates TSH-cAMP-PKA growth and survival signals. *Oncogene* 2007; 26: 2039-2047 [PMID: 17043656]
- 10 Cosentino C, Di Domenico M, Porcellini A, Cuozzo C, De Gregorio G, Santillo MR, Agnese S, Di Stasio R, Feliciello A, Migliaccio A, Avvedimento EV. p85 regulatory subunit of PI3K mediates cAMP-PKA and estrogens biological effects on growth and survival. *Oncogene* 2007; 26: 2095-2103 [PMID: 17016431]
- 11 Huang J, Zhang L, Greshock J, Colligon TA, Wang Y, Ward R, Katsaros D, Lassus H, Butzow R, Godwin AK, Testa JR, Nathanson KL, Gimotty PA, Coukos G, Weber BL, Degenhardt Y. Frequent genetic abnormalities of the PI3K/AKT pathway in primary ovarian cancer predict patient outcome. *Genes Chromosomes Cancer* 2011; 50: 606-618 [PMID: 21563232]
- 12 Donini CF, Di Zazzo E, Zuchegna C, Di Domenico M, D'Inzeo S, Nicolussi A, Avvedimento EV, Coppa A, Porcellini A. The p85 α regulatory subunit of PI3K mediates cAMP-PKA and retinoic acid biological effects on MCF7 cell growth and migration. *Int J Oncol* 2012; 40: 1627-1635 [PMID: 22366926]
- 13 Fruman DA, Rommel C. PI3K and cancer: lessons, challenges and opportunities. *Nat Rev Drug Discov* 2014; 13: 140-156 [PMID: 24481312]
- 14 Catusus L, Gallardo A, Cuatrecasas M, Prat J. PIK3CA mutations in the kinase domain (exon 20) of uterine endometrial adenocarcinomas are associated with adverse prognostic parameters. *Mod Pathol* 2008; 21: 131-139 [PMID: 18084252]
- 15 王彦云. RNA干扰靶向抑制PI3K p85a表达对大肠癌细胞侵袭转移的影响. 广州: 南方医科大学, 2010
- 16 Raffetto JD, Khalil RA. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease. *Biochem Pharmacol* 2008; 75: 346-359 [PMID: 17678629]
- 17 Xu YP, Zhao XQ, Sommer K, Moubayed P. Correlation of matrix metalloproteinase-2, -9, tissue inhibitor-1 of matrix metalloproteinase and CD44 variant 6 in head and neck cancer metastasis. *J Zhejiang Univ Sci* 2003; 4: 491-501 [PMID: 12861629]
- 18 Wang LB, Jiang ZN, Fan MY, Xu CY, Chen WJ, Shen JG. Changes of histology and expression of MMP-2 and nm23-H1 in primary and metastatic gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1612-1616 [PMID: 18330957]
- 19 Lombardi D, Lacombe ML, Paggi MG. nm23: unraveling its biological function in cell differentiation. *J Cell Physiol* 2000; 182: 144-149 [PMID: 10623877]
- 20 Lovato A, Marioni G, Manzato E, Staffieri C, Giacomelli L, Ralli G, Staffieri A, Blandamura S. Elderly patients at higher risk of laryngeal carcinoma recurrence could be identified by a panel of two biomarkers (nm23-H1 and CD105) and pN+ status. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2014 Oct 4. [Epub ahead of print][PMID: 25280747]
- 21 He F, York JP, Burroughs SG, Qin L, Xia J, Chen D, Quigley EM, Webb P, LeSage GD, Xia X. Recruited metastasis suppressor NM23-H2 attenuates expression and activity of peroxisome proliferator-activated receptor δ (PPAR δ) in human cholangiocarcinoma. *Dig Liver Dis* 2014 Sep 29. [Epub ahead of print][PMID: 25277864]
- 22 Wang YF, Chang CJ, Chiu JH, Lin CP, Li WY, Chang SY, Chu PY, Tai SK, Chen YJ. NM23-H1 expression of head and neck squamous cell carcinoma in association with the response to cisplatin treatment. *Oncotarget* 2014; 5: 7392-7405 [PMID: 25277180]
- 23 杨育生, 刘斌, 邢传平, 高自芳, 顾立萍, 钱震, 董亮, 苏勤军. 胃癌组织中Caveolin-1, nm23及MMP-2的表达及其意义. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1725-1730
- 24 Marqués M, Kumar A, Poveda AM, Zuluaga S, Hernández C, Jackson S, Pasero P, Carrera AC. Specific function of phosphoinositide 3-kinase beta in the control of DNA replication. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 7525-7530 [PMID: 19416922]
- 25 于观贞, 王杰军, 陈颖, 倪灿荣, 朱明华. 转移相关基因nm23和P53及S100A4在晚期胃癌中的表达及与

- 侵袭转移的相关性研究. 中华胃肠外科杂志 2006; 9: 165-169
- 26 Dbouk HA, Backer JM. A beta version of life: p110 β takes center stage. *Oncotarget* 2010; 1: 729-733 [PMID: 21321382]
- 27 Kanat O, Adim S, Evrensel T, Yerci O, Ediz B, Kurt E, Demiray M, Gonullu G, Arslan M, Manavoglu O. Prognostic value of nm23 in gastrointestinal stromal tumors. *Med Oncol* 2004; 21: 53-58 [PMID: 15034214]
- 28 Qi JK, Huang XL, Meng ZM, Gan HT, Fu DG. [The relationship between PTEN expression and PI3K/AKT signal pathway in colon carcinoma]. *Sichuan Daxue Xuebao Yixueban* 2009; 40: 644-646, 654 [PMID: 19764563]
- 29 胡金龙, 何双, 孙晨博, 吴淑华. 自噬相关基因Beclin1、LC3与大肠癌多药耐药性的相关性. 临床与实验病理学杂志 2014; 30: 135-139
- 30 燕炜, 吴淑华, 李扬扬, 高向前, 孟晓. 大肠癌组织中PIK3CA和PIK3CB的表达及意义. 临床与实验病理学杂志 2013; 29: 18-22

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

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

针刺治疗胃食管反流病的研究进展

吴玲玲, 林征

吴玲玲, 南京医科大学护理学院 江苏省南京市 210029
林征, 南京医科大学第一附属医院护理部 江苏省南京市 210029
吴玲玲, 在读硕士, 主要从事内科护理的研究。
江苏省一级学科重点学科护理学开放基金资助项目, No. NYHL201201
作者贡献分布: 本文综述由吴玲玲完成; 林征审校。
通讯作者: 林征, 教授, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院护理部. linzheng100@163.com
电话: 025-68137320
收稿日期: 2014-09-16 修回日期: 2014-11-05
接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2014-12-28

Recent advances in treatment of gastroesophageal reflux disease by acupuncture

Ling-Ling Wu, Zheng Lin

Ling-Ling Wu, Nursing College of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Zheng Lin, Department of Nursing, the First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by: Jiangsu Provincial Key Discipline (Nursing Discipline) Open Fund, No. NYHL201201
Correspondence to: Zheng Lin, Professor, Department of Nursing, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. linzheng100@163.com
Received: 2014-09-16 Revised: 2014-11-05
Accepted: 2014-11-18 Published online: 2014-12-28

Abstract

The purpose of this paper is to summarize the effect and mechanism of three kinds of common acupuncture methods for gastroesophageal reflux disease (GERD), and to analyze their advantages and disadvantages. Currently, there have been no uniform standards for the selection of acupuncture points and acupuncture frequency, which often depends on the experience. By using different evaluation methods, such as 24 h esophageal pH monitoring, high resolution manometry, and the quality of life and symptom scores, we found that treatment of GERD by acupuncture can improve patients' symptoms and quality of life.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Acupuncture; Gastroesophageal reflux disease; Curative effect

Wu LL, Lin Z. Recent advances in treatment of gastroesophageal reflux disease by acupuncture. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5631-5635 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5631.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5631>

摘要

本综述阐明了三种常见的针刺方法对胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)的疗效及其机制,并对各自优缺点进行了分析。虽然目前对于针刺的穴位、频率的选择尚无统一标准,都是依靠经验而定,但通过运用24 h食管pH监测、高分辨率食管测压、生活质量和症状评分等4种不同的评价方法,均发现针刺治疗GERD能较好地改善患者症状及生活质量,具有一定研究前景。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 针刺; 胃食管反流病; 疗效

核心提示: 本文较为系统地结合国内外最新进展综述了针刺治疗胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease)的相关应用,对其优缺点进行了相互的比较,目前该方法的治疗在穴位及频率上也无统一规定,均按照经验而定,提示在日后的治疗过程中可以从这些方面来获得突破。

吴玲玲, 林征. 针刺治疗胃食管反流病的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(36): 5631-5635 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5631.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5631>

0 引言

中医的针刺是一种古老的治疗方式,最早可以追溯到5000年前。它是一种治在体表的物理疗法,既能治疗体表疾患,又能治疗内在病变,主要是通过刺激经络、腧穴,疏通经络,调和气血,促使脏腑、经络、气血、阴阳恢复相对平衡,使疾病趋于好转或痊愈^[1]。研究^[2-4]表明针刺治疗

■背景资料

近年来,随着生活方式的改变,胃食管反流病的发病率也在逐年增加,在众多治疗的方法中,或多或少的存在着一些弊端,而针刺在治疗胃肠道疾病中的疗效已得到肯定。为此,本文就针刺治疗胃食管反流病进行深入研究。

■同行评议者

潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

■ 研发前沿

对于针刺治疗胃食管反流病,目前电针、经皮神经电刺激、植入式电刺激等三种方法是研究的重点和热点。

胃肠道症状在中国已有几千年的历史并具有良好的效果,因此正广泛被国内外学者及患者所接受。胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是一种常见的慢性消化系统疾病,是由于胃内容物反流入食管或以上部位,进入口腔(包括咽部)或肺引起的症状或并发症,GERD典型的症状包括烧心和反酸^[5],根据GERD共识意见^[6],目前治疗GERD的方法包括改变生活方式、药物治疗、手术治疗及内镜治疗,但这些治疗方法都存在一定弊端^[7-9],本文就针刺治疗GERD做一综述。

1 针刺治疗GERD穴位的选择

穴位又称腧穴、孔穴,他是脏腑、经络和体表相通的联系点,也是针灸治疗的刺激点^[10]。大量的文献及书籍记载针刺治疗消化系统疾病主要选择足阳明胃经,属胃络脾,主治胃肠疾病,凡是胃气不足的都可以针刺足阳明胃经的穴位^[11-14],因此,针刺治疗GERD的穴位有足三里、中脘、内关、太冲、公孙等,其中针刺足三里、中脘具有和胃降逆、理气止痛的作用;针刺内关、公孙则具有开胸和胃的功效,这些穴位联合使用则可以有效地疏肝理气、降逆和胃。然而在这众多穴位中内关和足三里又是最常用的两个穴位。研究表明^[15]针刺足三里对胃肠运动具有调节作用,可以增加食管下段括约肌(lower esophageal sphincter, LES)压力及食管蠕动峰值,同时也可以明显的改善胃肠动力,加速胃排空;Zou等^[16]的研究表明刺激内关可以明显抑制一过性食管下段括约肌松弛(transient lower esophageal sphincter relaxation, TLESR)的频率,使TLESR减少约40%。

2 针刺治疗GERD的方法

2.1 电针刺激 电针刺激(electroacupuncture)是中医针刺的一种,是现代中医研究的结果。传统的针刺是将针刺入皮肤后施用针法达到刺激穴位的效果。而电针刺激是将针刺入皮肤后在针尾处通电,通过电刺激穴位而达到治疗目的^[17]。在过去的10年中,已经有相当多的研究证明电针刺激对于治疗GERD有较好的疗效^[18,19],人类及动物实验研究^[20]证实电针刺激通过影响胃肠分泌、感觉、运动及肌电活动而发挥作用。Wang等^[21]将空气灌入12只健康猫的胃内使其胃胀,随后将其随机分为内关组及对照组,内关组给予内关穴位电刺激,对照组给予假穴位电刺激,结

果显示内关组TLESR的频率显著低于对照组,内关组及对照组在LES压力、胃内压力上均无统计学意义。张晓艳等^[22]观察了电针足三里对健康猫及反流性食管炎猫LES的影响,结果发现针刺足三里对LES有显著的兴奋作用,并且可以使食管体部远段蠕动收缩的波幅显著增加。Dickman等^[23]通过比较电针足三里联合传统的质子泵抑制剂治疗与双倍剂量质子泵抑制剂治疗,发现电针联合治疗比双倍剂量质子泵抑制剂在减轻患者烧心和反酸症状方面治疗效果更好。与此同时,国内张超贤等^[24]也认为电针能显著抑制食管内酸和胆汁反流,降低内镜评分,缓解胃食管反流症状,提高患者的生活质量,并具有较好的安全性和远期疗效,这与国外的研究结果相一致。

2.2 经皮神经电刺激 由于电针治疗具有侵入性,容易造成感染,而且在治疗过程中需要患者每天去医院进行治疗,这导致患者的依从性不是特别高,因此在20世纪70年代兴起了另外一种电疗法^[25],即经皮神经电刺激疗法(transcutaneous electrical nerve stimulation, TENS),他是将电流通过放置在穴位上的电极而起作用,将特定的低频脉冲电流通过刺激感觉纤维而发挥治疗作用的一种电疗方法^[26]。在目前的研究中经皮神经电刺激广泛应用于缓解急慢性疼痛^[27-30],尽管目前尚无经皮神经电刺激治疗胃食管反流病的报道,但经皮神经电刺激对于治疗其他胃肠道疾病疗效明确,在动物或人体试验中均有较好的治疗效果。Liu等^[31]使用TENS对功能性消化不良患者的内关及足三里两个穴位进行刺激时发现慢性TENS显著的改善了患者消化不良的症状,对腹胀症状的改善尤为明显,另外他们还发现无论是急性刺激还是慢性刺激都可以增加高频率的心率变异性。国内的周国赢等^[32]将功能性消化不良患者随机分为TENS治疗组与药物治疗组,TENS组给予足三里、梁门等穴位的刺激,研究结果表明TENS治疗比药物治疗更能减轻反酸、暖气等症状。另外Zou等^[16]发现胃胀的患者经过TENS治疗后,可以显著的抑制TLESR的频率,从而改善胃胀的症状,因此他们认为TENS对GERD具有治疗作用,可以减少TLESR和反流的频率。

2.3 植入式电刺激 通常使用电刺激治疗GERD都是给予急性刺激或短期治疗,但现有报道称^[33]可以将电刺激系统植入皮下进行长期的刺激,该系统为LES刺激系统,是一种植入式,可以对LES提供长期的电刺激,主要由3部分组成:植入前

腹部皮下的起搏器、双极电极和外部程序. Sanmiguel等^[34]将植入式电刺激装置植入狗的LES处给予长期电刺激后发现可以使其LES压力持续增高. 在对人体试验的研究中也证实了这一观点, Rodríguez^[35]对24例GERD患者进行为期6 mo的LES电刺激后, 结果显示患者的LES压力显著增加, 远段食管酸暴露减少, 患者症状及生活质量显著改善, 而且在6 mo后的评估发现有21例患者完全停止使用PPI. 另外Banerjee等^[36]对6例男性患者在内镜下植入微刺激器于LES黏膜下治疗GERD, 发现LES静息压显著增高, 且不影响食管体部的机能或是吞咽引起的LES松弛, 这与Rodríguez等^[35]的研究结果相一致. 尽管该装置可以长期作用于LES, 但同时植入式电刺激也存在着诸多不良反应, 据Rodríguez等报道^[35]在对24例植入式电刺激的GERD患者6 mo的随访中发现共发生不良事件32起, 与该装置有关的不良事件有5起, 与植入手术有关的不良事件有7起; 同时, 由于需要手术将LES刺激系统植入皮下, 并且一直置入体内, 并不是所有患者都能接受.

3 针刺治疗GERD频率的选择

众多研究显示, 针刺的脉冲电流频率不同, 其作用也不同^[37,38], 通常把低于15 Hz叫做低频电针, 16-1000 Hz叫高频电针^[39]. 有研究^[40]显示使用低频疏密波2 Hz/15 Hz针刺可以降低猫的LES压力, 而高频疏密波2 Hz/100 Hz针刺则可以升高猫的LES压力, 而国外有研究显示对狗的LES使用低频连续波进行电刺激也可以使其LES压力持续升高^[34]. 但国外Rodríguez^[41]认为对人的LES无论是使用高频的连续波还是低频的连续波都可以使其压力增高, 另外还有研究^[15]表明使用15 Hz的低频连续波针刺猫的LES可以使其压力下降, 但在老鼠身上使用同样的频率却使其LES压力增加, 这可能与物种、针灸过程的不同等有关.

4 针刺治疗GERD的疗效评价

4.1 24 h食管pH监测 用来监测24 h食管酸反流情况, 可以视为诊断GERD的“金标准”, 同时也可以作为疗效评价的一个指标^[42]. 研究^[13]表明针刺治疗GERD患者后24 h食管pH监测的所有参数, 包括pH<4总反流次数、pH<4长时间反流次数、直立位pH<4时间百分比、卧位时pH<4时间百分比等较治疗前比较均显著下降.

4.2 高分辨率食管测压 也是治疗GERD后效果评价常用的一种安全、方便的检查技术, 可以测

定LES压力、食管体部运动功能^[43]. 张晓艳等^[44]在观察电针健康猫足三里对食管体部运动的影响后发现, 经过电刺激后食管体部下段蠕动波压力及传导速度均显著增加.

4.3 症状评分 通常评估患者烧心、胸骨后疼痛、反流、反酸这四种症状的程度和频率来筛查GERD患者及治疗的效果^[45,46]. 研究^[13]证实了GERD患者使用针刺治疗后症状评分与治疗前相比显著下降, 与对照组进行比较具有统计学意义.

4.4 生活质量 GERD患者生活质量的评价通常使用生活质量量表, 包括普适性的生活质量量表, 如简明健康调查问卷(short form-36, SF-36)、生活质量指数问卷(quality of life-index, QL-INDEX)^[47,48]及GERD特异性量表, 如胃食管反流病生活质量量表(the gastroesophageal reflux disease-health related quality of life, GERD-HRQL)、反流及消化不良生活质量量表(quality of life in reflux and dyspepsia, RADQOL)^[49,50], 研究均表明GERD患者通过电针刺后生活质量明显的改善.

5 结论

针刺治疗GERD是一种行之有效的办法, 但各种针刺治疗方法各有利弊. 电针虽较人工针刺改良不少, 可以节省人力, 但他还是沿用了人工针刺的特点: 具有侵入性, 而且需要患者经常到医院进行治疗. 使用TENS具有无创、方便患者等优点, 虽有研究报道称TENS可以抑制TLESR的频率, 但目前尚无使用TENS治疗GERD的有效确切数据. 植入式电刺激虽然可以对LES提供长期的电刺激, 方便患者, 但同时植入式电刺激也存在着许多不良反应, 患者的耐受性差. 此外, 目前对于针刺的穴位、频率的选择也尚无统一标准, 没有循证依据可辩, 都是依靠经验而定. 通过采用4种不同的主、客观评价指标, 均能够反映出针刺治疗胃食管反流病具有较好的效果, 从而为下步深入研究提供较为可靠的理论依据.

6 参考文献

- 1 石学敏. 针灸学. 第1版. 北京市: 中国中医药出版社, 2004: 4-5
- 2 Ulett GA, Han S, Han JS. Electroacupuncture: mechanisms and clinical application. *Biol Psychiatry* 1998; 44: 129-138 [PMID: 9646895]
- 3 Zhuo LS. [The mathematical theory of acupoints]. *Zhongguo Zhenjiu* 2013; 33: 1094-1098 [PMID: 24617236]
- 4 Zhuang Y, Xing JJ, Li J, Zeng BY, Liang FR. History

■创新盘点

本文通过对针刺治疗胃食管反流病的大量文献研究, 总结了目前这方面最新研究的结果, 对针刺的方法、穴位及频率的选择、疗效的评价作出了全面的总结和分析.

■应用要点

本文通过对针刺方法、穴位及频率的选择、疗效的评价的探讨,为针刺治疗胃食管反流病提供了一定的理论依据。

- of acupuncture research. *Int Rev Neurobiol* 2013; 111: 1-23 [PMID: 24215915 DOI: 10.1016/B978-0-12-411545-3.00001-8]
- 5 Katz PO, Gerson LB, Vela MF. Guidelines for the diagnosis and management of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 308-328; quiz 329 [PMID: 23419381 DOI: 10.1038/ajg.2012.444]
 - 6 林三仁, 许国铭, 胡品津, 周丽雅, 陈旻湖, 柯美云, 袁耀宗, 房殿春, 萧树东. 中国胃食管反流病共识意见. *胃肠病学* 2007; 12: 233-239
 - 7 Eherer AJ, Netolitzky F, Högenauer C, Puschnig G, Hinterleitner TA, Scheidl S, Kraxner W, Krejs GJ, Hoffmann KM. Positive effect of abdominal breathing exercise on gastroesophageal reflux disease: a randomized, controlled study. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 372-378 [PMID: 22146488 DOI: 10.1038/ajg.2011.420]
 - 8 Huang JQ, Hunt RH. pH, healing rate, and symptom relief in patients with GERD. *Yale J Biol Med* 1999; 72: 181-194 [PMID: 10780580]
 - 9 Bruley des Varannes S, Löfman HG, Karlsson M, Wahlqvist P, Ruth M, Furstnau ML, Despiéglé N, Stålhammar NO. Cost and burden of gastroesophageal reflux disease among patients with persistent symptoms despite proton pump inhibitor therapy: an observational study in France. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 39 [PMID: 23448382 DOI: 10.1186/1471-230X-13-39]
 - 10 杨占林, 吕景山. 实用针灸手册. 第1版. 北京市: 人民军医出版社, 2005: 65-66
 - 11 梁维松, 吴绪平. 电针治疗常见疾病. 第1版. 北京市: 中国医药科技出版社, 2008: 32-35
 - 12 Zhang CX, Qin YM, Guo BR. Clinical study on the treatment of gastroesophageal reflux by acupuncture. *Chin J Integr Med* 2010; 16: 298-303 [PMID: 20697939]
 - 13 Zhang C, Guo L, Guo X, Guo X, Li G. Clinical curative effect of electroacupuncture combined with zhizhukuanzhong capsules for treating gastroesophageal reflux disease. *J Tradit Chin Med* 2012; 32: 364-371 [PMID: 23297557]
 - 14 Guo LK, Zhang CX, Guo XF. [Long-term efficacy and safety research on functional dyspepsia treated with electroacupuncture and Zhizhu Kuanzhong capsule]. *Zhongguo Zhenjiu* 2011; 31: 1071-1077 [PMID: 22256637]
 - 15 Shuai X, Xie P, Liu J, Xiang Y, Li J, Lan Y. Different effects of electroacupuncture on esophageal motility and serum hormones in cats with esophagitis. *Dis Esophagus* 2008; 21: 170-175 [PMID: 18269654 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2007.00757.x]
 - 16 Zou D, Chen WH, Iwakiri K, Rigda R, Tippett M, Holloway RH. Inhibition of transient lower esophageal sphincter relaxations by electrical acupoint stimulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289: G197-G201 [PMID: 15831714]
 - 17 洪文学, 刘海燕. 电针镇痛的原理及仪器. *医疗卫生装备* 2006; 27: 52-54
 - 18 Ęfendieva MT. [Efficacy of acupuncture in the treatment of patients with gastroesophageal reflux disease]. *Eksp Klin Gastroenterol* 2013; (5): 49-52 [PMID: 24501947]
 - 19 Zhang CX, Guto LK, Guo BR. [Clinical efficacy of electroacupuncture combined with dalitong granule for gastroesophageal reflux disease and its mechanism]. *Zhongguo Zhenjiu* 2012; 32: 491-498 [PMID: 22741253]
 - 20 Yin J, Chen JD. Gastrointestinal motility disorders and acupuncture. *Auton Neurosci* 2010; 157: 31-37 [PMID: 20363196 DOI: 10.1016/j.autneu.2010.03.007]
 - 21 Wang C, Zhou DF, Shuai XW, Liu JX, Xie PY. Effects and mechanisms of electroacupuncture at PC6 on frequency of transient lower esophageal sphincter relaxation in cats. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4873-4880 [PMID: 17828819]
 - 22 张晓艳, 谢鹏雁. 电针足三里穴对猫食管下括约肌功能及食管体动力的影响. *基础医学与临床* 2003; 23: 45-46
 - 23 Dickman R, Schiff E, Holland A, Wright C, Sarella SR, Han B, Fass R. Clinical trial: acupuncture vs. doubling the proton pump inhibitor dose in refractory heartburn. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 1333-1344 [PMID: 17875198]
 - 24 张超贤, 郭李柯, 郭宝瑞. 电针联合达立通颗粒治疗胃食管反流病的临床疗效及其作用机制. *中国针灸* 2012; 32: 491-498
 - 25 Reeve J, Menon D, Corabian P. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS): a technology assessment. *Int J Technol Assess Health Care* 1996; 12: 299-324 [PMID: 8707503]
 - 26 叶春山. 经皮神经电刺激疗法及其临床应用. *中华理疗杂志* 1991; 14: 111-114
 - 27 Nnoaham KE, Kumbang J. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for chronic pain. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; (3): CD003222 [PMID: 18646088 DOI: 10.1002/14651858.CD003222]
 - 28 Bennett MI, Johnson MI, Brown SR, Radford H, Brown JM, Searle RD. Feasibility study of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS) for cancer bone pain. *J Pain* 2010; 11: 351-359 [PMID: 19853518 DOI: 10.1016/j.jpain.2009.08.002]
 - 29 Hurlow A, Bennett MI, Robb KA, Johnson MI, Simpson KH, Oxberry SG. Transcutaneous electric nerve stimulation (TENS) for cancer pain in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 3: CD006276 [PMID: 22419313 DOI: 10.1002/14651858.CD006276]
 - 30 Chesterton LS, van der Windt DA, Sim J, Lewis M, Mallen CD, Mason EE, Warlow C, Vohora K, Hay EM. Transcutaneous electrical nerve stimulation for the management of tennis elbow: a pragmatic randomized controlled trial: the TATE trial (ISRCTN 87141084). *BMC Musculoskelet Disord* 2009; 10: 156 [PMID: 20003341 DOI: 10.1186/1471-2474-10-156]
 - 31 Liu S, Peng S, Hou X, Ke M, Chen JD. Transcutaneous electroacupuncture improves dyspeptic symptoms and increases high frequency heart rate variability in patients with functional dyspepsia. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20: 1204-1211 [PMID: 18694444 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2008.01164.x]
 - 32 周国赢, 周国胜, 靳建宏. 经皮穴位电刺激治疗功能性消化不良疗效观察. *中国针灸* 2009; 29: 436-440
 - 33 Rodríguez L, Rodríguez P, Gómez B, Ayala JC, Oksenberg D, Perez-Castilla A, Netto MG, Soffer E, Crowell MD. Long-term results of electrical stimulation of the lower esophageal sphincter for the treatment of gastroesophageal reflux disease. *Endoscopy* 2013; 45: 595-604 [PMID: 23881803 DOI: 10.1055/s-0033-1344213]
 - 34 Sanmiguel CP, Hagiike M, Mintchev MP, Cruz RD, Phillips EH, Cunneen SA, Conklin JL, Soffer EE. Effect of electrical stimulation of the LES on LES pressure in a canine model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G389-G394 [PMID: 18687754]

- DOI: 10.1152/ajpgi.90201.2008]
- 35 Rodríguez L, Rodríguez P, Gómez B, Ayala JC, Saba J, Perez-Castilla A, Galvao Neto M, Crowell MD. Electrical stimulation therapy of the lower esophageal sphincter is successful in treating GERD: final results of open-label prospective trial. *Surg Endosc* 2013; 27: 1083-1092 [PMID: 23073680 DOI: 10.1007/s0046-012-2561-4]
- 36 Banerjee R, Pratap N, Kalpala R, Reddy DN. Effect of electrical stimulation of the lower esophageal sphincter using endoscopically implanted temporary stimulation leads in patients with reflux disease. *Surg Endosc* 2014; 28: 1003-1009 [PMID: 24170067 DOI: 10.1007/s00464-013-3271-2]
- 37 钟煜朝, 王婷婷, 梁佳, 胡光迪, 邬继红. 不同电针频率对急性脊髓损伤大鼠MDA和SOD影响的实验研究. *针灸临床杂志* 2009; 25: 22-24
- 38 Lin SY, Gao J, Yin ZL, Zhou LJ, Chen X. [Impacts of the different frequencies of electroacupuncture on cognitive function in patients after abdominal operation under compound anesthesia of acupuncture and drugs]. *Zhongguo Zhenjiu* 2013; 33: 1109-1112 [PMID: 24617242]
- 39 周幸来. 电针疗法大全. 第1版. 长沙市: 湖南科学技术出版社, 2010: 42-43
- 40 帅晓玮, 谢鹏雁, 刘建湘, 项妍妹, 李江, 蓝宇. 电刺激足三里穴对猫反流性食管炎模型食管动力及胃肠激素的影响. *中华内科杂志* 2007; 46: 499-500
- 41 Rodríguez L, Rodríguez P, Neto MG, Ayala JC, Saba J, Berel D, Conklin J, Soffer E. Short-term electrical stimulation of the lower esophageal sphincter increases sphincter pressure in patients with gastroesophageal reflux disease. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 446-450, e213 [PMID: 22292889 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01878.x]
- 42 熊丽, 陈静. 24小时食管pH监测的操作及护理. *川北医学院学报* 2004; 19: 110-111
- 43 樊晓明. 酸相关性疾病. 第1版. 上海市: 复旦大学出版社, 2011: 243-244
- 44 张晓艳, 谢鹏雁, 王化虹, 刘建湘, 牟向东. 电针足三里穴对猫食管体动力的影响. *中国康复* 2009; 24: 298-300
- 45 中国胃食管反流病研制协作组. 反流性疾病问卷在胃食管反流病诊断中的价值. *中华消化杂志* 2003; 23: 651-654
- 46 王连芬, 郑长青, 林连捷. GerdQ量表在胃食管反流病中的诊断价值. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1941-1945
- 47 Lee SW, Lien HC, Lee TY, Yang SS, Yeh HJ, Chang CS. Heartburn and regurgitation have different impacts on life quality of patients with gastroesophageal reflux disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 12277-12282 [PMID: 25232262]
- 48 李乾静, 张西亮, 王玉霞. 心理干预对非糜烂性胃食管反流病伴抑郁症患者生活质量的影响. *中国实用护理杂志* 2008; 24: 52-54
- 49 Kappaz GT, Sallum RA, Szachnowicz S, Rocha JR, Ceconello I. Improvement in quality-of-life after laparoscopic Nissen fundoplication. *Arq Gastroenterol* 2014; 51: 212-216 [PMID: 25296081]
- 50 Kahrilas PJ, Jonsson A, Denison H, Wernersson B, Hughes N, Howden CW. Impact of regurgitation on health-related quality of life in gastro-oesophageal reflux disease before and after short-term potent acid suppression therapy. *Gut* 2014; 63: 720-726 [PMID: 23831734 DOI: 10.1136/gutjnl-2013-304883]

同行评价

本文介绍了三种常见的针刺方法对胃食管反流病的疗效及其机制, 并列其不足之处, 虽然疗效不是很理想说明针刺治疗GERD尚不够成熟, 但有一定的前景, 对今后研究针刺治疗GERD有一定的帮助。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



自然杀伤细胞在乙型肝炎病毒感染中的作用

吴韶飞, 周振华, 孙学华, 朱晓骏, 李曼, 张鑫, 高月求

■背景资料

由于慢性乙型肝炎病程长, 既往多认为针对乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的特异性免疫起到重要作用, 而固有免疫在慢性乙型肝炎中的研究尚不充分, 本文对近年来自然杀伤(natural killer, NK)细胞在慢性乙型肝炎中的最新研究成果进行综述, 以一个新的角度探讨慢性乙型肝炎的病理机制。

吴韶飞, 周振华, 孙学华, 朱晓骏, 李曼, 张鑫, 高月求, 上海中医药大学附属曙光医院肝病科 上海市中临床重点实验室 上海市 201203

吴韶飞, 在读博士, 主要从事中西医结合防治慢性肝病的研究。

国家十二五“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”科技重大专项基金资助项目, Nos. 2012ZX10005004-002, 2012ZX-10005010-002-003

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81102570, 81202662
国家中医药管理局中医肝胆病重点学科基金资助项目, No. 2010sh

教育部博士点专项基金资助项目, No. 20123107110003

上海市科委临床重点基金资助项目, No. 11411951600

上海市科委科技支撑基金资助项目, No. 13401902900

上海高校创新团队基金资助项目(第一期)

上海市中医药事业发展三年行动计划基金资助项目, No. ZYSNXD-CC-ZDYJ015/048

上海市科委扬帆计划基金资助项目, No. 14YF1411600

上海中医药大学预算内基金资助项目, No. 2013JW40

中国肝炎防治基金会王宝恩肝纤维化研究基金资助项目,

Nos. CFHPC20131045, CFHPC20131046

上海市重中之重临床医学中心(中医肝病)基金资助项目

作者贡献分布: 本综述由吴韶飞与周振华共同完成; 孙学华与朱晓骏提供部分文献资料; 李曼与张鑫修改; 高月求审校。

通讯作者: 高月求, 教授, 主任医师, 201203, 上海市浦东新区张衡路528号, 上海中医药大学附属曙光医院肝病科。

gaoyueqiu@hotmail.com

电话: 021-20256188

收稿日期: 2014-08-26 修回日期: 2014-11-14

接受日期: 2014-11-19 在线出版日期: 2014-12-28

Role of natural kill cells in hepatitis B virus infection

Shao-Fei Wu, Zhen-Hua Zhou, Xue-Hua Sun, Xiao-Jun Zhu, Man Li, Xin Zhang, Yue-Qiu Gao

Shao-Fei Wu, Zhen-Hua Zhou, Xue-Hua Sun, Xiao-Jun Zhu, Man Li, Xin Zhang, Yue-Qiu Gao, Department of Hepatology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Key Laboratory of Traditional Chinese Clinical Medicine, Shanghai 201203, China

Supported by: Science Research Project of Twelve Five-year Plan "AIDS and Viral Hepatitis Major Infectious Diseases Prevention and Control", Nos. 2012ZX10005004-002 and 2012ZX-10005010-002-003; National Natural Science Foundation of China, Nos. 81102570 and 81202662; Leading Academic Discipline of Hepatology of State Administration of TCM China, No. 2010sh; Doctoral Fund of Ministry of Education of China, No. 20123107110003; Clinical Key Project Fund of Shanghai Science and Technology Commission, No. 11411951600; Science and Technology Support Fund of Shanghai Science and Technology Commission, No. 13401902900; Shanghai College Innovation Team Project (phase one); Three-year Action Plan of Development of TCM in Shanghai, Nos. ZYSNXD-CC-ZDYJ015 and ZYSNXD-CC-ZDYJ048; Yangfan Project of Shanghai Science and Technology Commission, No. 14YF1411600; Budgetary Fund of Shanghai University of Traditional Chi-

■同行评议者

庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

nese Medicine, No. 2013JW40; Wang Bao-en Foundation of Hepatic Fibrosis of Chinese Foundation for Hepatitis Prevention and Control, Nos. CFHPC20131045 and CFHPC20131046; Shanghai Priority Among Priorities Clinical Medical Center (TCM hepatopathy) Fund

Correspondence to: Yue-Qiu Gao, Professor, Chief Physician, Department of Hepatology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 528 Zhangheng Road, Pudong New District, Shanghai 201203, China. gaoyueqiu@hotmail.com

Received: 2014-08-26 Revised: 2014-11-14

Accepted: 2014-11-19 Published online: 2014-12-28

Abstract

Natural killer (NK) cells are a unique group of lymphocytes with cytotoxicity, playing an important role in anti-tumor and anti-infection activities. Recently, NK cells are increasingly recognized to play a role during hepatitis B virus (HBV) infection. Studies have confirmed that NK cells participate in anti-HBV responses by secreting cytokines, mediating apoptosis and killing target cells, indicating a potential strategy for controlling HBV infection *via* regulation of NK cell functions. This review discusses the contribution of NK cells to HBV elimination, liver injury, and other parts of immune system and the formulation of new therapeutic strategies.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B; Natural killer cells; Innate immunity

Wu SF, Zhou ZH, Sun XH, Zhu XJ, Li M, Zhang X, Gao YQ. Role of natural kill cells in hepatitis B virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5636-5642
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5636.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5636>

摘要

自然杀伤(natural killer, NK)细胞是一种具有杀伤活性的淋巴细胞, 在机体对抗肿瘤、感染等方面发挥重要作用。近年来, NK细胞在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染中的作用日益受到重视, 研究证实, NK细胞可通过分泌细胞因子、介导凋亡和杀伤靶细胞等途径参与机体对HBV的免疫应答反应, 通过调节

NK细胞功能控制HBV感染可能是今后治疗乙型病毒性肝炎的一个新策略. 本文从NK细胞对病毒的清除、参与肝脏损伤、对免疫系统的影响以及新的治疗策略的制订等方面进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 乙型肝炎; 自然杀伤细胞; 固有免疫

核心提示: 由于慢性乙型肝炎病程较长, 既往认为适应性免疫在其中起到主导作用. 近年研究发现, 特异性T细胞数量少且难以恢复, 适应性免疫功能紊乱长期存在, 因此, 对固有免疫的研究逐渐增多. 本文对近年来自然杀伤(natural killer)细胞的研究做一综述, 以期对科研、临床乃至新的免疫疗法的开发提供帮助.

吴韶飞, 周振华, 孙学华, 朱晓骏, 李曼, 张鑫, 高月求. 自然杀伤细胞在乙型肝炎病毒感染中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5636-5642 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5636.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5636>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)并不直接损伤肝细胞, 机体在感染HBV之后, 通过一系列途径激发免疫应答清除HBV, 但同时也会造成肝脏的损伤^[1]. 因此, 免疫反应在HBV应答中起到了极为关键的作用, 也是我们研究的重点和热点.

固有免疫在HBV感染中的作用一直存在广泛的争议. 众所周知, 适应性免疫在有效而持久的抗HBV免疫应答中起到了重要的作用^[2]. 因为HBV感染免疫耐受期的存在以及HBV可在入侵的最初几周内不引起任何肝脏内基因的异常表达^[3], 很多专家和学者认为固有免疫在对抗HBV感染中作用甚微. 随着技术手段的更新以及结合多种动物模型的应用, 越来越多的研究表明固有免疫系统参与了针对HBV的免疫应答, 自然杀伤(natural killer, NK)细胞作为固有免疫的重要组成部分, 在其中起到了重要作用.

1 NK细胞简介

NK细胞不表达T细胞受体, 一般认为其表面标志为CD3⁻CD56⁺, 占人体外周血淋巴细胞的15%左右, 但在肝组织中可达30%^[4]. NK细胞的抗病毒效应至少包括三个方面: (1)通过释放穿孔素等杀伤效应分子发挥自然细胞不良反应; (2)分泌干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子

α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等细胞因子调节免疫反应; (3)通过表达配体或受体介导细胞凋亡、传递胞间信号等. 因此, NK细胞既可以影响固有免疫, 也可以调节适应性免疫, 对免疫系统间的通信起到桥梁作用. 根据CD56的表达情况, NK细胞可以分为两个亚群: 相对低表达CD56分子的CD56^{dim}亚群和相对高表达CD56分子的CD56^{bright}亚群. CD56^{dim}亚群占NK细胞的90%左右, 是穿孔素的主要分泌细胞; CD56^{bright}亚群占10%左右, 主要分泌IFN- γ 等细胞因子而表达极少量的穿孔素^[4]. 因此, 一般认为CD56^{dim}亚群主要介导细胞不良反应, 而CD56^{bright}亚群主要介导免疫调节作用. NK细胞表面表达的受体根据其功能不同可分为活化性受体和抑制性受体两类, NK的功能也主要通过这两类受体分别传递的抑制或活化性信号的平衡来调节. 生理状态下, 人体细胞表达一定量的自身主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I类分子, 其与抑制性受体结合传导的抑制性信号占优势, NK细胞无法被激活而处于静息状态. 病理状态下, 一些自身细胞表达的MHC I类分子数量减少导致抑制性信号减少, 或者活化性受体的配体表达上调导致活化信号增强, 均可以使NK细胞活化, 这两种活化机制分别称为“丧失自我(missing self)”和“压力诱导(stress-induced self)”^[5]. 此外, NK细胞还能被某些白介素(interleukin, IL)如IL-12、IL-15、IL-18, 以及I型干扰素等细胞因子激活^[6].

2 NK细胞对HBV的清除作用

NK细胞作为固有免疫系统的重要组成部分, 在对细菌、病毒等外界抗原物质的清除反应中起到重要作用. 一系列针对病毒的研究证实, NK细胞参与了对人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)等RNA病毒和巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)等DNA病毒清除的免疫反应^[7-9]. 但是, HBV感染具有一定的隐匿性, 以无显著症状和肝损害为特征, 这种状态可持续长达数年甚至数十年. 正是由于这种特性, 导致在感染最初期的患者资料难以获得. 另一方面, 能够自然感染HBV的动物模型少, 这也大大限制了研究. 土拨鼠感染土拨鼠肝炎病毒(woodchuck hepatitis virus, WHV)模型以及HBV持续复制小鼠模型为我们提供了良好的体内试验对象^[10,11], 但其能否完全模拟人类感染HBV的病理过程仍需进一步

■ 研发前沿

近年来对慢性乙型肝炎中固有免疫的研究逐步增多, 取得了初步的成果, 但由于研究模型等的限制, 仍然没有对临床治疗有重大意义的突破进展. 科研的最终目的是服务临床, 因此, 通过研究慢性乙型肝炎中的免疫机制以开发新的免疫学治疗策略具有重要的意义.

■ 相关报道

Bertoletti与Ferrari于2012年发表在*Gut*杂志的综述详细阐述了慢性乙型肝炎中固有免疫和适应性免疫的作用,提出了目前研究中存在的问题并提示了今后研究的方向,但对NK细胞的作用阐述不详; Han等于2013年发表在*Seminars in Immunopathology*杂志的综述结合最近进展,进一步对慢性乙型肝炎中固有免疫的作用进行了阐释,但同样对NK细胞论述不多。

证实. 这些因素使得我们至今对于免疫系统尤其是先天免疫在HBV感染中作用的认识仍十分有限. 一些实验表明NK细胞甚至固有免疫在对抗HBV感染中作用甚微. 针对黑猩猩和土拨鼠的研究显示, 病毒在入侵的最初几周内不引起任何肝脏内基因表达的改变, 也不能激发肝脏内细胞(包括肝细胞和免疫细胞)的免疫反应, 直到数周后适应性免疫系统激活, 才开始清除病毒^[3,12].

另外一些研究结果与此相悖. 体外研究^[13]表明, NK细胞可以以Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)依赖的形式直接被来源于HBV的DNA片段激活, 并在IFN- α 的参与下分泌IFN- γ 和穿孔素. 一项在HBV嵌合型小鼠体内进行的试验表明, NK细胞对诱导HBV特异性CD8⁺ T细胞的产生有重要作用, NK细胞缺失的小鼠不能有效诱导特异性的T细胞应答^[14]. 土拨鼠感染高载量的WHV(1011)后8-12 h, 可以观察到NK细胞的活化^[15]. 人类试验研究相对也较少, 在一项针对两个由血液HBV血清学阴性转变为乙型肝炎病毒表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)和HBV DNA阳性患者的NK细胞的表型、功能的研究显示, NK细胞已经处于激活状态, 提示在病毒感染的早期NK细胞即可发现HBV, 参与免疫应答, 并可能在激活特异性免疫中起到重要作用^[16]. 这些研究提示NK细胞参与了感染早期对HBV的应答反应.

但是, 以上研究大多是动物模型中进行, 而人类感染HBV产生的免疫应答过程与动物模型不一定完全相同; 以人为研究对象的试验较少, 也缺乏足够的说服力. 因此, NK细胞在病毒感染早期能否被激活以及他在病毒清除过程中起到怎样的作用, 仍需要进一步的研究来阐释.

3 NK细胞参与肝损伤

在HBV感染中, NK细胞往往起到“双刃剑”的作用, 即NK细胞在杀伤病毒感染细胞、抑制病毒复制的同时, 也是造成肝脏损伤的“元凶”. 病毒感染的肝细胞表型发生改变, 被机体的免疫细胞识别并杀伤, 这是机体清除病毒、自我保护的一种形式, 是有益的. 但在病毒持续复制的状态下, 免疫系统介导的肝细胞的持续损伤是肝脏发生纤维化乃至肝癌的前提. NK细胞可以通过释放杀伤效应分子以及介导凋亡的途径导致肝细胞的死亡. 在慢性HBV感染的免疫清除期, 肝脏内活化的NK细胞比例增高, 细胞不

良反应增强而导致肝损伤^[17]; NK细胞表达的自然杀伤细胞2族成员D受体(natural-killer group 2, member D, NKG2D)与肝细胞表达的配体间的相互识别在介导肝细胞的死亡中起到重要作用^[18].

除了通过杀伤效应分子介导的肝损伤外, 凋亡信号介导的肝脏损伤也不容忽视. 正常肝细胞只表达极低水平的肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand, TRAIL)受体1和2, 但在病毒感染状态下, 此受体表达上调, 同时, NK细胞在肝脏中富集的IFN- α 和IL-8的作用下, 上调表达TRAIL介导肝细胞的凋亡^[19]. 此外, NK细胞活化后, 也能以Fas/FasL途径诱导HBV感染肝细胞的凋亡^[20], 参与HBV相关的慢加急性肝衰竭的病理过程^[21]. 肝脏中PD-1/PD-L1的水平与炎症程度相关, 炎症程度高的部位PD-1/PD-L1的表达量也高; 炎症消退后, PD-1/PD-L1的水平也下降, 这提示PD-1/PD-L1途径参与了肝损伤^[22,23].

4 NK细胞在慢性HBV感染中的特征

前已述及, NK细胞在HBV感染急性期的作用争议较多. 在慢性感染期, NK细胞存在不同程度的数量、表型改变或功能失调, 各研究间也存在较大差异. Li等^[24]发现在免疫清除期, NK细胞数量和比例与正常者无明显差别, 但表达抑制性受体自然杀伤细胞2族成员A受体(natural-killer group 2, member A, NKG2A)的NK细胞数量和比例升高, 而其他一些抑制性受体和激活性受体表达与正常对照无明显差别, 阻断NKG2A与其相应配体间作用可增强病毒清除; Tjwa等^[25]发现NK细胞数量、比例及杀伤活性未发生明显改变, 但分泌IFN- γ 和TNF- α 功能障碍, 这一功能缺陷主要表现在CD56^{dim}亚群. NK细胞激活性受体自然杀伤细胞相关蛋白30(natural killer cell p30-related protein, NKp30)表达下调, 抑制性受体NKG2A表达上调, 给予恩替卡韦抗病毒治疗后, NKG2A表达趋于正常, IFN- γ 分泌功能也得到恢复; Zhang等^[17]的研究结果更倾向于NK细胞功能未发生缺陷甚或增强: 免疫清除期患者NK细胞在肝脏和外周血中比例下降, 杀伤活性升高, 但分泌IFN- γ 的能力并没有降低, 激活性受体NKp30、NKp44、NKp46在肝脏和外周血中均表达上调, NKG2D无明显改变, 抑制性受体NKG2A表达上调, 但CD158a和CD158b表达下调; Li等^[26]的研究显示外周血NK细胞的数量、细胞不良反应和细胞因子分泌功能都下调, 且激活性受体NKp30和

NKG2D表达下调. 另外, 一些功能抑制性分子如T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子3(T cell immunoglobulin-and mucin-domain-containing molecule-3, Tim-3)在NK细胞表达上调也造成NK细胞分泌细胞因子功能缺陷^[27]. 由此可见, 以上诸多研究结果在NK细胞数量、表型、功能的改变上存在较大争议, 但综合各研究结果, NK细胞的受体表达倾向于抑制性, 细胞不良反应不变甚或增强, 抗病毒细胞因子分泌功能下降. 造成研究结论差异的原因目前尚不明确, 可能和患者的种族、数量、病程以及刺激NK细胞的活化手段不同等因素相关.

5 导致NK细胞发生改变的因素

NK细胞表达所有已知TLR受体的mRNA(TLR1-10), 可以通过TLR途径直接活化^[28]. 在病毒持续感染期, NK细胞的功能发生缺陷, 且能随着病毒载量下降而部分恢复, 在此过程中必然也受到细胞周围环境改变的影响, 这些影响因素至少包括与NK细胞产生作用的细胞的变化和微环境细胞因子水平的变化等, 导致了NK细胞出现异常改变.

NK细胞与其他免疫细胞可通过受体-配体形式和/或细胞因子相互作用. 树突状细胞(dendritic cell, DC)是最重要的抗原提呈细胞, 分为髓样树突状细胞(myeloid dendritic cell, mDC)和浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cell, pDC), 是固有免疫和适应性免疫间的桥梁, 在清除外来病原体感染过程中起到重要作用. 在HBV感染中, mDC和pDC均存在功能缺陷^[29-31], 这些功能缺陷也导致DC细胞与NK细胞间的相互作用障碍, 使得NK细胞不能有效活化. 其中, mDC分泌IL-6、IL-12以及IL-18能力降低导致不能有效激活NK细胞, NK细胞产生IFN- γ 能力下降^[32]; pDC产生IFN- α 功能下调和高表达OX40L而使其激活NK细胞功能缺陷^[33,34].

除了DC以外, 肝脏内的巨噬细胞-Kupffer细胞也在HBV的持续感染中起到重要作用. Kupffer细胞是肝脏中抑制性细胞因子IL-10的重要来源, IL-10可维持病毒感染后的免疫耐受状态, 抑制NK细胞IFN- γ 的分泌, 并可能增强NK细胞的细胞不良反应^[35,36]. 通过阻断IL-10途径, 可恢复NK细胞分泌IFN- γ 的功能^[37]. 另外, 转化生长因子 β 1(transforming growth factor β 1, TGF- β 1)水平在HBV感染中也升高^[38], 其可通过下调NK细胞受体NKG2D和2B4的表达并使胞外-胞内信

号转导障碍而影响机体对HBV的清除^[39]. 以上因素均在NK细胞“上游”作用, 以直接或间接的形式介导了NK细胞的改变.

6 NK细胞功能异常对其他免疫细胞的影响

NK细胞自身功能的异常改变也可以对其他免疫细胞诸如效应T细胞的功能造成影响. 在感染早期, HBV特异性CD8⁺ T细胞在控制感染, 清除HBV的过程中起到重要作用, 但在慢性病程中, HBV特异性CD8⁺ T细胞数量锐减, 且对活化信号反应性降低^[40], 这也许是HBV感染慢性化的重要原因之一. CD8⁺效应T细胞的减少的原因部分归咎于NK细胞, 因NK细胞不仅可通过上调TRAIL表达, 从而介导HBV特异性CD8⁺ T凋亡^[41], 还可以以NKG2D参与的、穿孔素介导的途径杀伤CD8⁺ T细胞^[42]. NK细胞在沟通固有免疫与适应性免疫间的作用虽不如DC等细胞重要, 但其对适应性免疫的影响或许在HBV感染中起到独特的作用.

7 基于NK细胞的疗法

目前临床对慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的治疗药物主要有两类: 以调节抗病毒免疫为主的干扰素和直接抑制病毒复制的核苷类似物. 但两种治疗方法并不完美: 干扰素只对约1/3的患者有应答, 且有大量的不良反应与禁忌证; 核苷类似物存在疗程不确定与病毒耐药等问题. 个体间对干扰素应答存在巨大差异的原因虽没有完全明确^[43], 但可能和NK细胞的改善存在一定的关联性, 包括数量、受体表达与功能的改变^[44,45]. 核苷类似物的治疗也存在类似的结论, 说明病毒的载量会影响NK细胞的功能, 同样, NK细胞的功能也会对HBV的复制具有重要作用. 因此, 调节NK细胞的功能可能是今后治疗CHB的一个潜在方向.

前已述及, CHB中NK细胞的功能改变至少包括三个方面: 细胞因子分泌功能的下降和细胞不良反应与介导凋亡能力的上升. 因此, 我们对NK的调节的作用点在于增加其抗病毒因子的分泌和保护NK对其他细胞的杀伤, 潜在的作用靶点在于NK受体及其配体的相互作用以及微环境中的细胞因子等. 免疫系统是一个复杂的系统, 治疗策略的制订需要考虑到对各个环节的影响, 防止免疫系统出现过度的反应.

虽然在病毒载量下降后NK细胞功能恢复已经见于在体试验, 但基于对NK细胞的功能调节

■创新盘点

本文从不同角度客观总结了近年来对NK细胞在慢性乙型肝炎中的研究进展, 包括对病毒的清除, 参与肝脏损伤, 对免疫系统的影响等, 既有正面又有负面, 既有上游又有下游, 围绕NK细胞进行较为全面的论述.

■应用要点

本文从固有免疫这样一个较新的角度总结了慢性乙型肝炎中NK细胞的作用特点,在现有治疗方案存在诸多弊端以及对适应性免疫的研究进展缓慢的大环境下,为新的治疗策略的制订提出了新的论点和依据。

来治疗HBV感染的治疗策略目前只在动物模型中进行.通过阻断NK细胞不同激活或抑制性受体与其配体的相互作用能提高NK细胞的抗病毒活性或减轻其对肝细胞的损伤^[24].PD-1在肝脏中的高表达会导致肝脏内免疫功能的紊乱,不利于病毒的清除,阻断PD-1/PD-L1途径可以增加IFN- γ 的分泌,加速机体清除HBV^[46].对NK细胞具有抑制作用的细胞因子有IL-10和TGF- β 1,阻断IL-10途径虽然不能改变NK细胞表面NKR的表达,但能增强其细胞因子的分泌功能^[37];阻断TGF- β 1可提高NK表面激活性受体NKG2D和2B4的表达,恢复NK细胞分泌IFN- γ 的功能^[39].在急性感染期,IFN- γ 和TNF- α 等的水平升高可能对病毒清除具有重要作用,但在持续感染期,血清中升高的IFN- γ 和TNF- α 水平并不足以完全清除病毒^[47],因此,相对于定性改善NK细胞分泌细胞因子功能,调节NK细胞因子分泌量也是一个重要的问题。

8 讨论

NK细胞在HBV感染中扮演的角色存在很大争议.NK细胞有没有参与HBV感染早期的免疫反应,以及在持续感染期NK细胞的功能发生了怎样的改变,仍然没有定论.但不可否认的是,HBV的持续复制和肝脏的持续损伤应部分归咎于NK细胞自身的功能改变及其介导的免疫系统紊乱和肝脏细胞的死亡.由于对NK细胞在CHB中认识的局限性,基于NK细胞的免疫疗法也仅仅处于一个最初级的探索阶段.最近发现能够分泌IL-22的NK细胞一个新亚型-NK-22细胞^[48],而IL-22被证明能够保护肝细胞^[49,50],并能促进肝脏干细胞的增殖^[51],这或许为CHB疗法的开发提供了一个新的思路.总之,立足于现有结论的基础上,对NK细胞在HBV感染中的作用仍然需要更多的研究支持,而今后研究的方向应在于通过不同途径恢复并改善NK细胞的功能,抑制病毒复制,减轻肝脏损伤。

9 参考文献

- Guidotti LG, Chisari FV. Immunobiology and pathogenesis of viral hepatitis. *Annu Rev Pathol* 2006; 1: 23-61 [PMID: 18039107 DOI: 10.1146/annurev.pathol.1.110304.100230]
- Bertoletti A, Ferrari C. Innate and adaptive immune responses in chronic hepatitis B virus infections: towards restoration of immune control of viral infection. *Gut* 2012; 61: 1754-1764 [PMID: 22157327 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301073]
- Wieland S, Thimme R, Purcell RH, Chisari FV.

- Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 6669-6674 [PMID: 15100412 DOI: 10.1073/pnas.0401771101]
- Doherty DG, Norris S, Madrigal-Estebas L, McEntee G, Traynor O, Hegarty JE, O'Farrelly C. The human liver contains multiple populations of NK cells, T cells, and CD3+CD56+ natural T cells with distinct cytotoxic activities and Th1, Th2, and Th0 cytokine secretion patterns. *J Immunol* 1999; 163: 2314-2321 [PMID: 10438977]
- Jost S, Altfeld M. Control of human viral infections by natural killer cells. *Annu Rev Immunol* 2013; 31: 163-194 [PMID: 23298212 DOI: 10.1146/annurev-immunol-032712-100001]
- Vivier E, Tomasello E, Baratin M, Walzer T, Ugolini S. Functions of natural killer cells. *Nat Immunol* 2008; 9: 503-510 [PMID: 18425107 DOI: 10.1038/ni1582]
- Martin MP, Gao X, Lee JH, Nelson GW, Detels R, Goedert JJ, Buchbinder S, Hoots K, Vlahov D, Trowsdale J, Wilson M, O'Brien SJ, Carrington M. Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to AIDS. *Nat Genet* 2002; 31: 429-434 [PMID: 12134147 DOI: 10.1038/ng934]
- Khakoo SI, Thio CL, Martin MP, Brooks CR, Gao X, Astemborski J, Cheng J, Goedert JJ, Vlahov D, Hilgartner M, Cox S, Little AM, Alexander GJ, Cramp ME, O'Brien SJ, Rosenberg WM, Thomas DL, Carrington M. HLA and NK cell inhibitory receptor genes in resolving hepatitis C virus infection. *Science* 2004; 305: 872-874 [PMID: 15297676 DOI: 10.1126/science.1097670]
- Orange JS, Fassett MS, Koopman LA, Boyson JE, Strominger JL. Viral evasion of natural killer cells. *Nat Immunol* 2002; 3: 1006-1012 [PMID: 12407408 DOI: 10.1038/ni1102-1006]
- Fletcher SP, Chin DJ, Ji Y, Iniguez AL, Taillon B, Swinney DC, Ravindran P, Cheng DT, Bitter H, Lopatin U, Ma H, Klumpp K, Menne S. Transcriptional analysis of the woodchuck model of chronic hepatitis B. *Hepatology* 2012; 56: 820-830 [PMID: 22431061 DOI: 10.1002/hep.25730]
- Yang D, Liu L, Zhu D, Peng H, Su L, Fu YX, Zhang L. A mouse model for HBV immunotolerance and immunotherapy. *Cell Mol Immunol* 2014; 11: 71-78 [PMID: 24076617 DOI: 10.1038/cmi.2013.43]
- Fletcher SP, Chin DJ, Cheng DT, Ravindran P, Bitter H, Gruenbaum L, Cote PJ, Ma H, Klumpp K, Menne S. Identification of an intrahepatic transcriptional signature associated with self-limiting infection in the woodchuck model of hepatitis B. *Hepatology* 2013; 57: 13-22 [PMID: 22806943 DOI: 10.1002/hep.25954]
- Zhu R, Mancini-Bourguine M, Zhang XM, Bayard F, Deng Q, Michel ML. Plasmid vector-linked maturation of natural killer (NK) cells is coupled to antigen-dependent NK cell activation during DNA-based immunization in mice. *J Virol* 2011; 85: 10201-10212 [PMID: 21775455 DOI: 10.1128/JVI.00062-11]
- Yang PL, Althage A, Chung J, Maier H, Wieland S, Isogawa M, Chisari FV. Immune effectors required for hepatitis B virus clearance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 798-802 [PMID: 20080755 DOI: 10.1073/pnas.0913498107]
- Guy CS, Mulrooney-Cousins PM, Churchill ND,

- Michalak TI. Intrahepatic expression of genes affiliated with innate and adaptive immune responses immediately after invasion and during acute infection with woodchuck hepadnavirus. *J Virol* 2008; 82: 8579-8591 [PMID: 18596101 DOI: 10.1128/JVI.01022-08]
- 16 Fiscicaro P, Valdatta C, Boni C, Massari M, Mori C, Zerbini A, Orlandini A, Sacchelli L, Missale G, Ferrari C. Early kinetics of innate and adaptive immune responses during hepatitis B virus infection. *Gut* 2009; 58: 974-982 [PMID: 19201769 DOI: 10.1136/gut.2008.163600]
- 17 Zhang Z, Zhang S, Zou Z, Shi J, Zhao J, Fan R, Qin E, Li B, Li Z, Xu X, Fu J, Zhang J, Gao B, Tian Z, Wang FS. Hypercytolytic activity of hepatic natural killer cells correlates with liver injury in chronic hepatitis B patients. *Hepatology* 2011; 53: 73-85 [PMID: 21254163 DOI: 10.1002/hep.23977]
- 18 Chen Y, Wei H, Sun R, Dong Z, Zhang J, Tian Z. Increased susceptibility to liver injury in hepatitis B virus transgenic mice involves NKG2D-ligand interaction and natural killer cells. *Hepatology* 2007; 46: 706-715 [PMID: 17626270 DOI: 10.1002/hep.21872]
- 19 Dunn C, Brunetto M, Reynolds G, Christophides T, Kennedy PT, Lampertico P, Das A, Lopes AR, Borrow P, Williams K, Humphreys E, Afford S, Adams DH, Bertolotti A, Maini MK. Cytokines induced during chronic hepatitis B virus infection promote a pathway for NK cell-mediated liver damage. *J Exp Med* 2007; 204: 667-680 [PMID: 17353365 DOI: 10.1084/jem.20061287]
- 20 Okazaki A, Hiraga N, Imamura M, Hayes CN, Tsuge M, Takahashi S, Aikata H, Abe H, Miki D, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Ohdan H, Chayama K. Severe necroinflammatory reaction caused by natural killer cell-mediated Fas/Fas ligand interaction and dendritic cells in human hepatocyte chimeric mouse. *Hepatology* 2012; 56: 555-566 [PMID: 22331638 DOI: 10.1002/hep.25651]
- 21 Zou Y, Chen T, Han M, Wang H, Yan W, Song G, Wu Z, Wang X, Zhu C, Luo X, Ning Q. Increased killing of liver NK cells by Fas/Fas ligand and NKG2D/NKG2D ligand contributes to hepatocyte necrosis in virus-induced liver failure. *J Immunol* 2010; 184: 466-475 [PMID: 19949088 DOI: 10.4049/jimmunol.0900687]
- 22 Xie Z, Chen Y, Zhao S, Yang Z, Yao X, Guo S, Yang C, Fei L, Zeng X, Ni B, Wu Y. Intrahepatic PD-1/PD-L1 up-regulation closely correlates with inflammation and virus replication in patients with chronic HBV infection. *Immunol Invest* 2009; 38: 624-638 [PMID: 19811426 DOI: 10.1080/08820130903062210]
- 23 Germanidis G, Argentou N, Hytiroglou P, Vassiliadis T, Patsiaoura K, Germenis AE, Speletas M. Liver FOXP3 and PD1/PDL1 Expression is Down-Regulated in Chronic HBV Hepatitis on Maintained Remission Related to the Degree of Inflammation. *Front Immunol* 2013; 4: 207 [PMID: 23898331 DOI: 10.3389/fimmu.2013.00207]
- 24 Li F, Wei H, Wei H, Gao Y, Xu L, Yin W, Sun R, Tian Z. Blocking the natural killer cell inhibitory receptor NKG2A increases activity of human natural killer cells and clears hepatitis B virus infection in mice. *Gastroenterology* 2013; 144: 392-401 [PMID: 23103614 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.10.039]
- 25 Tjwa ET, van Oord GW, Hegmans JP, Janssen HL, Woltman AM. Viral load reduction improves activation and function of natural killer cells in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2011; 54: 209-218 [PMID: 21095036 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.009]
- 26 Li Y, Wang JJ, Gao S, Liu Q, Bai J, Zhao XQ, Hao YH, Ding HH, Zhu F, Yang DL, Zhao XP. Decreased peripheral natural killer cells activity in the immune activated stage of chronic hepatitis B. *PLoS One* 2014; 9: e86927 [PMID: 24520324 DOI: 10.1371/journal.pone.0086927]
- 27 Ju Y, Hou N, Meng J, Wang X, Zhang X, Zhao D, Liu Y, Zhu F, Zhang L, Sun W, Liang X, Gao L, Ma C. T cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule-3 (Tim-3) mediates natural killer cell suppression in chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2010; 52: 322-329 [PMID: 20133006 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.12.005]
- 28 Lauzon NM, Mian F, MacKenzie R, Ashkar AA. The direct effects of Toll-like receptor ligands on human NK cell cytokine production and cytotoxicity. *Cell Immunol* 2006; 241: 102-112 [PMID: 17049504 DOI: 10.1016/j.cellimm.2006.08.004]
- 29 van der Molen RG, Sprengers D, Binda RS, de Jong EC, Niesters HG, Kusters JG, Kwekkeboom J, Janssen HL. Functional impairment of myeloid and plasmacytoid dendritic cells of patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2004; 40: 738-746 [PMID: 15349914 DOI: 10.1002/hep.20366]
- 30 Woltman AM, Boonstra A, Janssen HL. Dendritic cells in chronic viral hepatitis B and C: victims or guardian angels? *Gut* 2010; 59: 115-125 [PMID: 20007959 DOI: 10.1136/gut.2009.181040]
- 31 Vincent IE, Zannetti C, Lucifora J, Norder H, Protzer U, Hainaut P, Zoulim F, Tommasino M, Trépo C, Hasan U, Chemin I. Hepatitis B virus impairs TLR9 expression and function in plasmacytoid dendritic cells. *PLoS One* 2011; 6: e26315 [PMID: 22046272 DOI: 10.1371/journal.pone.0026315]
- 32 Tjwa ET, van Oord GW, Biesta PJ, Boonstra A, Janssen HL, Woltman AM. Restoration of TLR3-activated myeloid dendritic cell activity leads to improved natural killer cell function in chronic hepatitis B virus infection. *J Virol* 2012; 86: 4102-4109 [PMID: 22318141 DOI: 10.1128/JVI.07000-11]
- 33 Shi CC, Tjwa ET, Biesta PJ, Boonstra A, Xie Q, Janssen HL, Woltman AM. Hepatitis B virus suppresses the functional interaction between natural killer cells and plasmacytoid dendritic cells. *J Viral Hepat* 2012; 19: e26-e33 [PMID: 22239523 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01496.x]
- 34 Martinet J, Dufeu-Duchesne T, Bruder Costa J, Larat S, Marlu A, Leroy V, Plumas J, Asporc C. Altered functions of plasmacytoid dendritic cells and reduced cytolytic activity of natural killer cells in patients with chronic HBV infection. *Gastroenterology* 2012; 143: 1586-1596.e8 [PMID: 22960656 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.08.046]
- 35 Xu L, Yin W, Sun R, Wei H, Tian Z. Kupffer cell-derived IL-10 plays a key role in maintaining humoral immune tolerance in hepatitis B virus-persistent mice. *Hepatology* 2014; 59: 443-452 [PMID: 23929689 DOI: 10.1002/hep.26668]
- 36 Park JY, Lee SH, Yoon SR, Park YJ, Jung H, Kim TD, Choi I. IL-15-induced IL-10 increases the cytolytic activity of human natural killer cells. *Mol Cells* 2011; 32: 265-272 [PMID: 21809216 DOI: 10.1007/s10059-011-1057-8]
- 37 Peppas D, Micco L, Javaid A, Kennedy PT, Schurich

同行评价

本文将NK细胞在HBV感染中的作用方面的各种研究综述到了一起, 有较好的科学性、创新性和可读性, 可以较好地反映国际胃肠病学在该领域基础研究方面的先进水平, 对基础以及临床研究有良好的借鉴意义。

- A, Dunn C, Pallant C, Ellis G, Khanna P, Dusheiko G, Gilson RJ, Maini MK. Blockade of immunosuppressive cytokines restores NK cell antiviral function in chronic hepatitis B virus infection. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1001227 [PMID: 21187913 DOI: 10.1371/journal.ppat.1001227]
- 38 Murawaki Y, Nishimura Y, Ikuta Y, Idobe Y, Kitamura Y, Kawasaki H. Plasma transforming growth factor-beta 1 concentrations in patients with chronic viral hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13: 680-684 [PMID: 9715417 DOI: 10.1111/j.1440-1746.1998.tb00713.x]
- 39 Sun C, Fu B, Gao Y, Liao X, Sun R, Tian Z, Wei H. TGF- β 1 down-regulation of NKG2D/DAP10 and 2B4/SAP expression on human NK cells contributes to HBV persistence. *PLoS Pathog* 2012; 8: e1002594 [PMID: 22438812 DOI: 10.1371/journal.ppat.1002594]
- 40 Boni C, Fiscicaro P, Valdatta C, Amadei B, Di Vincenzo P, Giuberti T, Laccabue D, Zerbinì A, Cavalli A, Missale G, Bertoletti A, Ferrari C. Characterization of hepatitis B virus (HBV)-specific T-cell dysfunction in chronic HBV infection. *J Virol* 2007; 81: 4215-4225 [PMID: 17287266 DOI: 10.1128/JVI.02844-06]
- 41 Peppà D, Gill US, Reynolds G, Easom NJ, Pallett LJ, Schurich A, Micco L, Nebbia G, Singh HD, Adams DH, Kennedy PT, Maini MK. Up-regulation of a death receptor renders antiviral T cells susceptible to NK cell-mediated deletion. *J Exp Med* 2013; 210: 99-114 [PMID: 23254287 DOI: 10.1084/jem.20121172]
- 42 Lang PA, Lang KS, Xu HC, Grusdat M, Parish IA, Recher M, Elford AR, Dhanji S, Shaabani N, Tran CW, Dissanayake D, Rahbar R, Ghazarian M, Brüstle A, Fine J, Chen P, Weaver CT, Klose C, Diefenbach A, Häussinger D, Carlyle JR, Kaech SM, Mak TW, Ohashi PS. Natural killer cell activation enhances immune pathology and promotes chronic infection by limiting CD8⁺ T-cell immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 1210-1215 [PMID: 22167808 DOI: 10.1073/pnas.1118834109]
- 43 Buster EH, Hansen BE, Lau GK, Piratvisuth T, Zeuzem S, Steyerberg EW, Janssen HL. Factors that predict response of patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B to peginterferon- α . *Gastroenterology* 2009; 137: 2002-2009 [PMID: 19737568 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.08.061]
- 44 Micco L, Peppà D, Loggi E, Schurich A, Jefferson L, Cursaro C, Panno AM, Bernardi M, Brander C, Bihl F, Andreone P, Maini MK. Differential boosting of innate and adaptive antiviral responses during pegylated-interferon- α therapy of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2013; 58: 225-233 [PMID: 23046671 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.09.029]
- 45 Mahdavi M, Amirrasouli H, Alavian SM, Behnava B, Kazerouni F, Keshvari M, Namaki S, Gholami Fesharaki M, Rahimpour H, Mohammadzade J, Zohrehbandian F, Mahdavi F. Impact of Pegylated Interferon- α 2a on Perforin Level in Patients With Chronic Hepatitis B: Preliminary Study. *Hepat Mon* 2013; 13: e11903 [PMID: 24348645 DOI: 10.5812/hepatmon.11903]
- 46 Tzeng HT, Tsai HF, Liao HJ, Lin YJ, Chen L, Chen PJ, Hsu PN. PD-1 blockage reverses immune dysfunction and hepatitis B viral persistence in a mouse animal model. *PLoS One* 2012; 7: e39179 [PMID: 22761734 DOI: 10.1371/journal.pone.0039179]
- 47 Sukriti S, Pati NT, Bose S, Hissar SS, Sarin SK. Impaired antigen processing and presentation machinery is associated with immunotolerant state in chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Immunol* 2010; 30: 419-425 [PMID: 20300807 DOI: 10.1007/s10875-010-9379-4]
- 48 Cella M, Fuchs A, Vermi W, Facchetti F, Otero K, Lennerz JK, Doherty JM, Mills JC, Colonna M. A human natural killer cell subset provides an innate source of IL-22 for mucosal immunity. *Nature* 2009; 457: 722-725 [PMID: 18978771 DOI: 10.1038/nature07537]
- 49 Zenewicz LA, Yancopoulos GD, Valenzuela DM, Murphy AJ, Karow M, Flavell RA. Interleukin-22 but not interleukin-17 provides protection to hepatocytes during acute liver inflammation. *Immunity* 2007; 27: 647-659 [PMID: 17919941 DOI: 10.1016/j.immuni.2007.07.023]
- 50 Zhang Y, Cobleigh MA, Lian JQ, Huang CX, Booth CJ, Bai XF, Robek MD. A proinflammatory role for interleukin-22 in the immune response to hepatitis B virus. *Gastroenterology* 2011; 141: 1897-1906 [PMID: 21708106 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.06.051]
- 51 Feng D, Kong X, Weng H, Park O, Wang H, Dooley S, Gershwin ME, Gao B. Interleukin-22 promotes proliferation of liver stem/progenitor cells in mice and patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 2012; 143: 188-198.e7 [PMID: 22484119 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.03.044]

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



自然杀伤细胞功能与维生素信号调节在免疫性肝病中的研究进展

焦国慧, 王邦茂, 周璐

焦国慧, 王邦茂, 周璐, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052

焦国慧, 在职博士, 主要从事消化系统免疫学的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81470834

作者贡献分布: 本文献资料由焦国慧收集; 综述由焦国慧完成与周璐指导; 王邦茂审核.

通讯作者: 王邦茂, 教授, 主任医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科. tjmedgie@yeah.net
电话: 022-60362810

收稿日期: 2014-09-28 修回日期: 2014-11-03

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Role of natural killer cells and vitamin signaling in autoimmune liver disease

Guo-Hui Jiao, Bang-Mao Wang, Lu Zhou

Guo-Hui Jiao, Bang-Mao Wang, Lu Zhou, Department of Digestive Diseases, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81470834

Correspondence to: Bang-Mao Wang, Professor, Chief Physician, Department of Digestive Diseases, General Hospital of Tianjin Medical University, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. tjmedgie@yeah.net

Received: 2014-09-28 Revised: 2014-11-03

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

Abstract

Natural killer (NK) cells are a major group of human hepatic lymphocytes. Their precursors undergo a maturation process that leads to the acquisition of their effector functions to regulate the innate and acquired immune responses. With the changes in the expression of chemotactic receptors and adhesion molecules, NK cells migrate to the target organ, leading to the immune-related liver diseases. The discovery of the vitamin signaling and vitamin receptor expression in NK cell lineage, particularly the interaction with nuclear receptors, suggests a novel role for vitamin signaling in modulating immunological function and in the development or prevention of autoimmune diseases.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Natural killer cell; Liver; Vitamin

Jiao GH, Wang BM, Zhou L. Role of natural killer cells and vitamin signaling in autoimmune liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5643-5647 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5643.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5643>

摘要

自然杀伤细胞(natural killer cell, NK细胞)在肝脏中占有很大比例, 通过分泌细胞因子和细胞间接触调节天然免疫和获得性免疫反应. NK细胞表达趋化因子受体迁移到炎症部位作用, 与免疫性肝病发病相关. 维生素相关代谢产物信号对NK细胞分化的调节是近年来受关注的热点, 通过与细胞核受体相互作用实现功能调控, 是自身免疫疾病治疗的新靶点.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 自然杀伤细胞; 肝脏; 维生素

核心提示: 自然杀伤细胞(natural killer cell, NK细胞)是免疫性肝病发病的重要机制. NK细胞的分化受到维生素信号调节, 提示自身免疫性疾病的发生和治疗都可能与肠源性因素相关.

焦国慧, 王邦茂, 周璐. 自然杀伤细胞功能与维生素信号调节在免疫性肝病中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(36): 5643-5647 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5643.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5643>

0 引言

自然杀伤细胞(natural killer cell, NK细胞)在不同的免疫器官中所起的作用各异^[1], 与环境中的不同炎症调控因子有关^[2]. 以往根据其产生细胞因子的效应不同, NK细胞经典分类为NK1, 产生干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)和白介素-10(interleukin-10, IL-10), 表达高水平的IL-12 β 2受体; NK2产生IL-5/IL-13, IL-12 β 2受体表达水平相对较低^[3]. NKT细胞属于T细胞群体, 表达T细胞

■背景资料

自然杀伤细胞(natural killer cell, NK细胞)是肝脏内重要的免疫调节细胞. 肝脏具有独特的免疫耐受环境. NK细胞在免疫性肝病中的作用受到关注, 其功能和分化受到维生素信号的调节.

■同行评议者

王凯, 教授, 山东大学齐鲁医院肝病科

■研发前沿

研究热点是在肝脏的特殊免疫环境下, NK细胞的功能与分化调节-其与多种细胞外信号相关. 维生素相关代谢产物对肝脏内NK细胞分化的调节是未来研究的方向.

(抗原)受体(T cell receptor, TCR)和NK1.1, 分为I型(经典, CD1d依赖)、II型(其他CD1d依赖的T细胞)和NKT样细胞(非CD1d, 表达NK1.1的T细胞^[4]).

近来的研究^[5]发现由于在不同器官中的免疫环境不同, 因此对NK细胞动态分化产生影响. 目前根据CD56和CD16的表达分群^[6]: 循环中为CD56^{low}CD16⁺ NK细胞, 可以杀伤靶细胞并产生细胞因子. CD56^{hi}CD16⁻ NK细胞多存在于外周淋巴器官, 产生IFN- γ , 肿瘤坏死因子以及粒细胞集落刺激因子, 并可以分化成CD56^{low}CD16⁺ NK细胞. 10%的NK细胞为对细胞因子高反应的CD56^{bright}, 90%为杀伤性的CD56^{dim}.

1 肝脏中的NK细胞亚群

NK细胞来源于CD34⁺造血干细胞, 在脾脏、肝脏和外周血中占有5%-20%, 而在骨髓、胸腺和淋巴结中占有比例较低, 在中枢和外周免疫器官中有不同的分化模式^[7]. 肠道NK细胞与其他有所不同, 称为“辅助”NK细胞, 维持肠道上皮完整, 与肠道内T细胞相同, 需要诸如IFN- γ 、IL-15和IL-18的激活^[8].

NK细胞是肝脏内重要的免疫调节细胞. 肝脏具有独特的免疫环境, 存在大量来自于肠道的抗原却不产生显著的炎症, 与免疫细胞诱导的免疫耐受有关^[9]. 人类30%-50%的肝脏淋巴细胞是NK细胞及NKT细胞^[10], 主要存在于肝窦并黏附于内皮细胞^[11], 分为不同的亚群, 参与肝脏微环境的免疫调控^[12]. NKT细胞促进肝内黏附分子的表达和趋化因子的产生, 促进Th1细胞的分化和调节T细胞在肝脏内浸润, 因此参与调节炎症反应平衡及介导肝脏损伤^[13].

肝脏作为肠道和全身其他系统的屏障, 可以阻止细菌产物的暴露以及毒物和食物抗原的不良刺激, NK和NKT细胞在天然免疫反应中也是必不可少的^[14], 在肝损伤和肝纤维化的发展中起到作用^[15].

NK细胞表达不同的受体识别不同来源的配体, 发挥激活或抑制性作用^[16]. NK细胞的杀伤作用是通过穿孔素, 丝氨酸酯酶和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)家族受体介导的. NK细胞通过分泌细胞因子和细胞间接触调节天然免疫和获得性免疫反应^[17].

2 肝脏免疫性疾病中的NK细胞功能

NK细胞在疾病中发挥着促进疾病进展或者抑制的角色-NK细胞同时表达激活和抑制受体. NK

细胞的抑制性受体结合主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I类分子时, 其产生细胞毒性和细胞因子的作用被阻断, 与激活受体的信号的效应拮抗^[18].

骨髓来源的NK前体细胞在成熟过程中表达趋化因子受体和黏附分子, 迁移定居至脾脏、肝脏、肺和其他器官并动态循环, 其表达趋化因子受体包括CCR2、CCR5、CXCR3和CX3CR1等^[19]. 目前为止对NK细胞的循环模式并不十分清楚, 不同的脏器表达不同的趋化因子募集不同的NK细胞. 肝脏内产生的CCL2、CCL3、CXCL10诱导表达相应受体的NK细胞到达病变处; 表达抑制性细胞受体NKG2A的NK细胞参与诱导肝脏免疫耐受^[20]. 高表达CX3CR1的NK细胞表达Th2类细胞因子, 促进NK细胞的成熟和迁移^[21]. 肝脏内存在的IFN- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-6、IL-12和IL-18激活NK细胞, IL-15和IL-2维持细胞存活.

NK细胞表达Toll样受体(Toll-like receptor, TLR), 激活后产生IFN- γ 等参与炎症反应^[22]. 研究^[23]表明, poly I:C诱导的肝病模型中NK细胞在肝脏中大量积累. NK细胞通过细胞间相互作用诱导肝脏免疫耐受. NK细胞调节树突细胞(dendritic cell, DC)功能. 肝脏和肠道内的CLEC9A⁺/BDCA3⁺(CD141)DC和其他亚群在IL-12、IL-15等细胞因子作用下, 参与介导NK细胞激活^[24]. Kupffer细胞产生IL-10抑制NKT细胞的杀伤功能, 减少肝脏炎症破坏^[25].

NK以及NKT细胞在免疫性肝病中可扮演多种“角色”-具有促炎作用和抗炎作用, 参与其他免疫调节细胞向肝脏内募集的过程^[26]. NK细胞受体基因多态性与原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)发生及其癌变相关^[27]. 原发性胆汁性肝硬化(primary biliary disease, PBC)患者肝脏组织中NK细胞与自身免疫的激活有关^[28].

在PBC中, NK细胞起到了极为关键的调节免疫耐受的作用. 在PBC动物模型的胆管损伤中, 人们发现, NK细胞在早期打破免疫耐受方面起到重要作用, 并且诱导该疾病特异性的自身抗体产生^[29], 参与激活下游免疫细胞导致胆管损伤. 也有研究发现PBC早期肝内的NK细胞数目减少, 但CD56⁺ NKT细胞在进展期PBC中明显增多, 并表达FasL参与胆管上皮损伤, 由于TLR4配体激活的NK细胞联合TLR3配体激活的单核细胞可以攻击破坏胆管上皮细胞, 加速了PBC的进展^[30].

■相关报道

原发性硬化性胆管炎患者肝脏组织中NK细胞与自身免疫的激活有关. 维生素D通过抑制T细胞促炎因子的表达, 抑制NK细胞以及NKT细胞的发育成熟.

CD1d- α -GalCer活化的NKT细胞在PBC患者体内明显升高, 加重了胆管损伤和肝脏纤维化程度. 在缺失NK细胞和NKT细胞动物体内, 会发现抗线粒体抗体滴度的降低, 而胆管炎症没有明显改善. 因此认为, NK细胞和NKT细胞在PBC早期免疫耐受的失衡中发挥作用^[31].

3 维生素信号参与NK细胞功能调节

维生素与细胞免疫功能相关, 近年来发现维生素A、D和维生素E信号通路与免疫功能基因相互作用, 在免疫性疾病的发生、发展中起到作用^[32,33]. 维生素相关代谢产物对免疫细胞, 特别是NK细胞分化的调节是最近几年来受关注的热点之一^[34], 由于受到“肝-肠”循环的影响, 肠道对于维生素的吸收和利用可能与肝脏内NK细胞的功能状态密不可分^[35], 也是未来研究的方向.

饮食和皮肤来源的维生素D无活性, 经过肝脏和肾脏的两步代谢产生活性维生素D. 维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)在细胞核内结合特定反应元件促进靶基因的表达^[36]. 维生素D一直被认为与骨代谢有关, 越来越多的研究显示其参与免疫调节过程, 涉及单核细胞, 树突细胞和活化的T细胞, 维生素D摄入的减少增加免疫性疾病发生的几率, 维生素D水平与组织功能与炎症改变有关, 缺乏维生素D可以导致肝脏纤维化的进展^[37].

维生素D的代谢产物, 其受体基因多态性及转录调节因子在免疫性肝病的发病和治疗中有重要意义^[38]. VDR的多态性和转录调节参与T细胞和NK细胞的分化^[39], 其在PBC发病中的意义还有争论^[40,41]. 免疫性肝病多伴有维生素D的缺乏, 其参与调节患者体内磷酸化激酶信号通路活化^[42], $\gamma\delta$ T细胞分化, IFN- γ , 一氧化氮合酶和氧自由基的表达水平.

维生素D受体在肝窦内皮细胞、Kupffer细胞、星状细胞和胆管细胞中均有表达, 其作为重要的核受体成为PBC胆汁淤积的治疗靶点. PBC患者常常缺乏维生素D, 维生素D具有抗增殖和抗纤维化作用, 其与MHC II类分子, TLR信号有相互作用, 并调节基质金属蛋白酶、前列腺素、活性氧自由基及转化生长因子的表达^[43].

1,25(OH)₂D₃抑制Th1和Th17细胞产生IL-17和IFN- γ , 诱导调节T细胞和NKT细胞产生^[44]. 维生素D缺失时iNKT细胞多进入凋亡, 使最终成熟iNKT数目减少, 而缺失VDR的iNKT细胞停滞在S2阶段, 不能发育成熟^[45]. 维生素D

可以上调NK细胞毒性受体NKp30、NKp44和NKG2D, 阻断抑制性受体CD158的表达, 促进NK17/NK1的细胞溶解效应^[46]. 维生素D抑制脐带来源的CD34⁺细胞向NK细胞分化, 降低其毒性作用和细胞因子的表达, 但不影响成熟NK细胞上述功能^[47].

维甲酸(retinoic acid, RA)是维生素A的代谢产物, 在黏膜免疫中被发现有重要作用^[48]. RA可以抑制IL-1受体上调, 抑制IL-6R表达, 通过促进免疫抑制的机制治疗免疫性疾病. RA通过激活抗原提呈细胞表达CD1d激活NKT细胞, 减少IFN- γ 和IL-4的产生, 通过RAR α 介导并减少MAPK信号磷酸化实现^[49].

RA可以诱导DC免疫耐受, 减少Th1和Th2类细胞因子分泌, 视黄醇结合蛋白(retinoid binding protein, RBP)是从肝细胞到靶细胞的重要转运蛋白, 主要由肝脏合成, 其通过作用于DC-NK细胞, 促进IFN- γ 的产生^[50]. RA通过抑制NKT细胞产生IFN- γ 和由TCR/CD28激活的下游信号的磷酸化减少肝脏内的炎症反应^[51].

维生素E可以延缓免疫性疾病的进展, 减少IL-6、IL-10及TNF- α 的水平. 维生素C和E可以降低NK细胞活性, 减轻炎症反应^[52]. 维生素E可以降低肝脏内一氧化氮、肿瘤坏死因子、IL-6、C反应蛋白和IgG的水平, 从而起到肝脏保护作用^[53].

4 结论

目前对于NK细胞的器官特异性分布和调节成为研究热点, NK细胞通过迁移, 与其他免疫细胞相互作用在自身免疫性疾病中发挥作用. 肝脏内具有特殊的免疫微环境, 肠道抗原参与了肝脏内免疫耐受环境的形成, NK细胞在炎症因子的诱导下参与免疫损伤, 维生素信号直接或间接的诱导不同亚群和功能的NK细胞分化, 未来可能成为免疫性肝病的治疗的新方向.

5 参考文献

- 1 Lysakova-Devine T, O'Farrelly C. Tissue-specific NK cell populations and their origin. *J Leukoc Biol* 2014; 96: 981-990 [PMID: 25246601]
- 2 Shi FD, Ljunggren HG, La Cava A, Van Kaer L. Organ-specific features of natural killer cells. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 658-671 [PMID: 21941294 DOI: 10.1038/nri3065]
- 3 Kimura MY, Nakayama T. Differentiation of NK1 and NK2 cells. *Crit Rev Immunol* 2005; 25: 361-374 [PMID: 16167886]
- 4 Constantinides MG, Bendelac A. Transcriptional regulation of the NKT cell lineage. *Curr Opin Im-*

■创新盘点

NK细胞在肝脏免疫性疾病的发生中有重要作用. 该综述将目前最新的基础研究与临床研究进行分析、讨论及总结, 提出维生素信号直接或间接的诱导不同亚群和功能的NK细胞分化, 未来可能成为免疫性肝病的治疗的新方向.

■应用要点

本综述对免疫性肝病环境中, NK细胞的亚群特征和功能研究的最新进展总结分析, 提出肠道来源的维生素信号参与调节NK细胞分化, 可能成为未来治疗的新途径。

- munol 2013; 25: 161-167 [PMID: 23402834 DOI: 10.1016/j.coi.2013.01.003]
- 5 Sharma R, Das A. Organ-specific phenotypic and functional features of NK cells in humans. *Immunol Res* 2014; 58: 125-131 [PMID: 24366663 DOI: 10.1007/s12026-013-8477-9]
 - 6 Campos C, Pera A, Lopez-Fernandez I, Alonso C, Tarazona R, Solana R. Proinflammatory status influences NK cells subsets in the elderly. *Immunol Lett* 2014; 162: 298-302 [PMID: 24998470 DOI: 10.1016/j.imlet.2014.06.015]
 - 7 Gotthardt D, Prchal-Murphy M, Seillet C, Glasner A, Mandelboim O, Carotta S, Sexl V, Putz EM. NK cell development in bone marrow and liver: site matters. *Genes Immun* 2014; 15: 584-587 [PMID: 25319498 DOI: 10.1038/gene.2014.55]
 - 8 Schulthess J, Meresse B, Ramiro-Puig E, Montcuquet N, Darche S, Bègue B, Rueemmele F, Combadière C, Di Santo JP, Buzoni-Gatel D, Cerf-Bennussan N. Interleukin-15-dependent Nkp46+ innate lymphoid cells control intestinal inflammation by recruiting inflammatory monocytes. *Immunity* 2012; 37: 108-121 [PMID: 22705105 DOI: 10.1016/j.immuni.2012.05.013]
 - 9 Montalvillo E, Garrote JA, Bernardo D, Arranz E. Innate lymphoid cells and natural killer T cells in the gastrointestinal tract immune system. *Rev Esp Enferm Dig* 2014; 106: 334-345 [PMID: 25287236]
 - 10 Hudspeth K, Pontarini E, Tentorio P, Cimino M, Donadon M, Torzilli G, Lugli E, Della Bella S, Gershwin ME, Mavilio D. The role of natural killer cells in autoimmune liver disease: a comprehensive review. *J Autoimmun* 2013; 46: 55-65 [PMID: 23880068 DOI: 10.1016/j.jaut.2013.07.003]
 - 11 Kumar V. NKT-cell subsets: promoters and protectors in inflammatory liver disease. *J Hepatol* 2013; 59: 618-620 [PMID: 23669283 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.02.032]
 - 12 Mattner J. Natural killer T (NKT) cells in autoimmune hepatitis. *Curr Opin Immunol* 2013; 25: 697-703 [PMID: 24148235 DOI: 10.1016/j.coi.2013.09.008]
 - 13 Swain MG. Natural killer T cells within the liver: conductors of the hepatic immune orchestra. *Dig Dis* 2010; 28: 7-13 [PMID: 20460885 DOI: 10.1159/000282059]
 - 14 Daussy C, Faure F, Mayol K, Viel S, Gasteiger G, Charrier E, Bienvenu J, Henry T, Debien E, Hasan UA, Marvel J, Yoh K, Takahashi S, Prinz I, de Bernard S, Buffat L, Walzer T. T-bet and Eomes instruct the development of two distinct natural killer cell lineages in the liver and in the bone marrow. *J Exp Med* 2014; 211: 563-577 [PMID: 24516120 DOI: 10.1084/jem.20131560]
 - 15 Zimmermann HW, Tacke F. Modification of chemokine pathways and immune cell infiltration as a novel therapeutic approach in liver inflammation and fibrosis. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2011; 10: 509-536 [PMID: 22150762]
 - 16 Moretta L, Montaldo E, Vacca P, Del Zotto G, Moretta F, Merli P, Locatelli F, Mingari MC. Human natural killer cells: origin, receptors, function, and clinical applications. *Int Arch Allergy Immunol* 2014; 164: 253-264 [PMID: 25323661 DOI: 10.1159/000365632]
 - 17 Yamaguchi Y, Takahashi H, Satoh T, Okazaki Y, Mizuki N, Takahashi K, Ikezawa Z, Kuwana M. Natural killer cells control a T-helper 1 response in patients with Behçet's disease. *Arthritis Res Ther* 2010; 12: R80 [PMID: 20459787 DOI: 10.1186/ar3005]
 - 18 Yadav PK, Chen C, Liu Z. Potential role of NK cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 348530 [PMID: 21687547 DOI: 10.1155/2011/348530]
 - 19 Watzl C. How to trigger a killer: modulation of natural killer cell reactivity on many levels. *Adv Immunol* 2014; 124: 137-170 [PMID: 25175775 DOI: 10.1016/B978-0-12-800147]
 - 20 Bernardini G, Santoni A. The pathophysiological role of chemokines in the regulation of NK cell tissue homing. *Crit Rev Oncog* 2014; 19: 77-90 [PMID: 24941375]
 - 21 Hamann I, Unterwalder N, Cardona AE, Meisel C, Zipp F, Ransohoff RM, Infante-Duarte C. Analyses of phenotypic and functional characteristics of CX3CR1-expressing natural killer cells. *Immunology* 2011; 133: 62-73 [PMID: 21320123 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2011]
 - 22 Adib-Conquy M, Scott-Algara D, Cavaillon JM, Souza-Fonseca-Guimaraes F. TLR-mediated activation of NK cells and their role in bacterial/viral immune responses in mammals. *Immunol Cell Biol* 2014; 92: 256-262 [PMID: 24366517 DOI: 10.1038/icb.2013.99]
 - 23 Weiss ID, Shoham H, Wald O, Wald H, Beider K, Abraham M, Barashi N, Galun E, Nagler A, Peled A. Ccr5 deficiency regulates the proliferation and trafficking of natural killer cells under physiological conditions. *Cytokine* 2011; 54: 249-257 [PMID: 21376626 DOI: 10.1016/j.cyto.2011.01.011]
 - 24 Ferlazzo G, Morandi B. Cross-Talks between Natural Killer Cells and Distinct Subsets of Dendritic Cells. *Front Immunol* 2014; 5: 159 [PMID: 24782864 DOI: 10.3389/fimmu.2014.00159]
 - 25 Tang T, Sui Y, Lian M, Li Z, Hua J. Pro-inflammatory activated Kupffer cells by lipids induce hepatic NKT cells deficiency through activation-induced cell death. *PLoS One* 2013; 8: e81949 [PMID: 24312613 DOI: 10.1371/journal.pone.0081949]
 - 26 Santodomingo-Garzon T, Swain MG. Role of NKT cells in autoimmune liver disease. *Autoimmun Rev* 2011; 10: 793-800 [PMID: 21740985 DOI: 10.1016/j.autrev.2011.06.003]
 - 27 Melum E, Karlsen TH, Schruppf E, Bergquist A, Thorsby E, Boberg KM, Lie BA. Cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis is associated with NKG2D polymorphisms. *Hepatology* 2008; 47: 90-96 [PMID: 18023027]
 - 28 Shimoda S, Tsuneyama K, Kikuchi K, Harada K, Nakanuma Y, Nakamura M, Ishibashi H, Hisamoto S, Niuro H, Leung PS, Ansari AA, Gershwin ME, Akashi K. The role of natural killer (NK) and NK T cells in the loss of tolerance in murine primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Immunol* 2012; 168: 279-284 [PMID: 22519590 DOI: 10.1111/j.1365-2249]
 - 29 Chang CH, Chen YC, Yu YH, Tao MH, Leung PS, Ansari AA, Gershwin ME, Chuang YH. Innate immunity drives xenobiotic-induced murine autoimmune cholangitis. *Clin Exp Immunol* 2014; 177: 373-380 [PMID: 24547942 DOI: 10.1111/cei.12298]
 - 30 Aso-Ishimoto Y, Yamagiwa S, Ichida T, Miyakawa R, Tomiyama C, Sato Y, Watanabe H, Aoyagi Y. Increased activated natural killer T cells in the liver of patients with advanced stage primary bili-

- ary cirrhosis. *Biomed Res* 2014; 35: 161-169 [PMID: 24759184]
- 31 Shi TY, Zhang FC. Role of autoimmunity in primary biliary cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7141-7148 [PMID: 23326118 DOI: 10.3748/wjgv.18.i48.7141]
- 32 Moroni L, Bianchi I, Lleo A. Geoepidemiology, gender and autoimmune disease. *Autoimmun Rev* 2012; 11: A386-A392 [PMID: 22142547 DOI: 10.1016/j.autrev.2011.11.012]
- 33 Shaik-Dasthagirisahab YB, Varvara G, Murmura G, Saggini A, Caraffa A, Antinolfi P, Tete' S, Tripodi D, Conti F, Cianchetti E, Toniato E, Rosati M, Speranza L, Pantalone A, Saggini R, Tei M, Speziali A, Conti P, Theoharides TC, Pandolfi F. Role of vitamins D, E and C in immunity and inflammation. *J Biol Regul Homeost Agents* 2013; 27: 291-295 [PMID: 23830380]
- 34 Bendik I, Friedel A, Roos FF, Weber P, Eggersdorfer M. Vitamin D: a critical and essential micronutrient for human health. *Front Physiol* 2014; 5: 248 [PMID: 25071593 DOI: 10.3389/fphys.2014.00248]
- 35 Ramakrishna BS. Role of the gut microbiota in human nutrition and metabolism. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28 Suppl 4: 9-17 [PMID: 24251697 DOI: 10.1111/jgh.12294]
- 36 Trauner M, Halilbasic E, Kazemi-Shirazi L, Kienbacher C, Staufer K, Traussnigg S, Hofer H. Therapeutic role of bile acids and nuclear receptor agonists in fibrosing cholangiopathies. *Dig Dis* 2014; 32: 631-636 [PMID: 25034298 DOI: 10.1159/000360517]
- 37 Nobili V, Reif S. Vitamin D and liver fibrosis: let's start soon before it's too late. *Gut* 2014 Aug 28. [Epub ahead of print][PMID: 25192564 DOI: 10.1136/gutjnl-2014-308175]
- 38 Smyk DS, Orfanidou T, Invernizzi P, Bogdanos DP, Lenzi M. Vitamin D in autoimmune liver disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: 535-545 [PMID: 23845396 DOI: 10.1016/j.clinre.2013.05.016]
- 39 Mo C, Lu Y, Deng Y, Wang J, Xie L, Li T, He Y, Qin X, Li S. Lack of association between vitamin D receptor gene ApaI, BsmI, and TaqI polymorphisms and primary biliary cirrhosis risk: a meta-analysis. *Tumour Biol* 2014; 35: 4913-4920 [PMID: 24526415 DOI: 10.1007/s13277-014-1645-2]
- 40 Kempirńska-Podhorecka A, Wunsch E, Jarowicz T, Raszeja-Wyszomirska J, Loniewska B, Kaczmarczyk M, Milkiewicz M, Milkiewicz P. Vitamin d receptor polymorphisms predispose to primary biliary cirrhosis and severity of the disease in polish population. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 408723 [PMID: 22690210 DOI: 10.1155/2012/408723]
- 41 Li YJ, Tang YW, Shi YQ, Han S, Wang JB, Zhou XM, Chen Y, Wu ZD, Han ZY, Han Y, Wu KC, Fan DM. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and risk of primary biliary cirrhosis: a meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2014; 29: 706-715 [PMID: 24224838 DOI: 10.1111/jgh.12443]
- 42 Luong KV, Nguyen LT. The role of vitamin d in autoimmune hepatitis. *J Clin Med Res* 2013; 5: 407-415 [PMID: 24171052 DOI: 10.4021/jocmr1505w]
- 43 L Ng KV, Nguayn LT. The role of vitamin d in primary biliary cirrhosis: possible genetic and cell signaling mechanisms. *Gastroenterol Res Pract* 2013; 2013: 602321 [PMID: 23589715 DOI: 10.1155/2013/602321]
- 44 Yang CY, Leung PS, Adamopoulos IE, Gershwin ME. The implication of vitamin D and autoimmunity: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol* 2013; 45: 217-226 [PMID: 23359064 DOI: 10.1007]
- 45 Ooi JH, Chen J, Cantorna MT. Vitamin D regulation of immune function in the gut: why do T cells have vitamin D receptors? *Mol Aspects Med* 2012; 33: 77-82 [PMID: 22079836 DOI: 10.1016/j.mam.2011.10.014]
- 46 Al-Jaderi Z, Maghazachi AA. Effects of vitamin D3, calcipotriol and FTY720 on the expression of surface molecules and cytolytic activities of human natural killer cells and dendritic cells. *Toxins (Basel)* 2013; 5: 1932-1947 [PMID: 24169587 DOI: 10.3390/toxins5111932]
- 47 Weeres MA, Robien K, Ahn YO, Neulen ML, Bergerson R, Miller JS, Verneris MR. The effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on in vitro human NK cell development from hematopoietic stem cells. *J Immunol* 2014; 193: 3456-3462 [PMID: 25149465 DOI: 10.4049/jimmunol.1400698]
- 48 Lu L, Lan Q, Li Z, Zhou X, Gu J, Li Q, Wang J, Chen M, Liu Y, Shen Y, Brand DD, Ryffel B, Horwitz DA, Quismorio FP, Liu Z, Li B, Olsen NJ, Zheng SG. Critical role of all-trans retinoic acid in stabilizing human natural regulatory T cells under inflammatory conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111: E3432-E3440 [PMID: 25099355 DOI: 10.1073/pnas.1408780111]
- 49 Lee KA, Song YC, Kim GY, Choi G, Lee YS, Lee JM, Kang CY. Retinoic acid alleviates Con A-induced hepatitis and differentially regulates effector production in NKT cells. *Eur J Immunol* 2012; 42: 1685-1694 [PMID: 22585464 DOI: 10.1002/eji.201142322]
- 50 Nagy L. Would eating carrots protect your liver? A new role involving NKT cells for retinoic acid in hepatitis. *Eur J Immunol* 2012; 42: 1677-1680 [PMID: 22806070 DOI: 10.1002/eji.201242705]
- 51 Chang HK, Hou WS. Retinoic Acid Modulates Interferon- γ Production by Hepatic Natural Killer T Cells via Phosphatase 2A and the Extracellular Signal-Regulated Kinase Pathway. *J Interferon Cytokine Res* 2014 Oct 24. [Epub ahead of print][PMID: 25343668]
- 52 Wang XH, Zhou XQ, Xu JP, Wang Y, Lu J. The effects of vitamin E on NK cell activity and lymphocyte proliferation in treated mice by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2009; 31: 432-438 [PMID: 19259883 DOI: 10.1080/08923970902756056]
- 53 Al-Rasheed NM, Al-Rasheed NM, Abdel Baky NA, Faddah LM, Fatani AJ, Hasan IH, Mohamad RA. Prophylactic role of α -lipoic acid and vitamin E against zinc oxide nanoparticles induced metabolic and immune disorders in rat's liver. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2014; 18: 1813-1828 [PMID: 24992626]

同行评价

本文对NK细胞在免疫性肝病发病和治疗中的应用有重要的意义。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



溃疡性结肠炎栓剂治疗的研究进展

杨坤, 唐志鹏

■背景资料

近年来, 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病率逐年上升, 治疗方法由传统的口服药转变为口服药与局部治疗联合应用, 栓剂作为方便、耐受性好、疗效好等优势的优势的局部给药剂型受到国内外重视, 成为指南推荐的治疗方法。

杨坤, 唐志鹏, 上海中医药大学附属龙华医院消化科 上海市 200032

杨坤, 在读硕士, 主要从事中医药防治胃肠疾病的研究。

2012年上海市科学技术委员会中药现代化基金资助项目, No. 12401902101

作者贡献分布: 综述由杨坤完成; 唐志鹏审校。

通讯作者: 唐志鹏, 主任医师, 200032, 上海市徐汇区宛平南路 725号, 上海中医药大学附属龙华医院消化科。

zhipengtang@sohu.com

电话: 3923-64385700

收稿日期: 2014-10-05 修回日期: 2014-11-03

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Suppositories for treatment of ulcerative colitis

Kun Yang, Zhi-Peng Tang

Kun Yang, Zhi-Peng Tang, Department of Gastroenterology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China

Supported by: the Foundation of Shanghai Municipal Science and Technology Commission, No. 12401902101

Correspondence to: Zhi-Peng Tang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, 725 Wanping South Road, Xuhui District, Shanghai 200032, China. zhipengtang@sohu.com

Received: 2014-10-05 Revised: 2014-11-03

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

Abstract

In recent decades, the incidence of ulcerative colitis (UC) presents a gradually upward trend. The combination of topical and oral therapy is more widely adopted in current management of UC in comparison with traditional oral therapy. As a typical topical therapy, suppository treatment has received increasing attention due to its convenience, high tolerance and good curative effect. Aminosalicyclic acid preparations are the major Western medicine suppositories, consisting of sulfasalazine suppository and mesalazine suppository, with the latter considered the first choice for mild-to-moderate UC due to better efficacy and fewer side effects. For traditional Chinese medicine (TCM), several drugs have been applied as suppositories. Qingchang suppository is a representative of TCM suppositories whose therapeutic principle is based on heat-clearing and detoxicating effects. This article reviews the recent progress in suppository treatment of UC.

■同行评议者

阴赅宏, 研究员, 首都医科大学附属北京友谊医院感染与急救医学

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Mesalazine suppository; Qingchang suppository

Yang K, Tang ZP. Suppositories for treatment of ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5648-5652
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5648.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5648>

摘要

近年来, 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病率逐年上升, 治疗方法由传统的口服药转变为口服药与局部治疗联合应用, 栓剂作为方便、耐受性好、疗效好等优势优势的局部给药剂型受到国内外重视。西药栓剂为氨基水杨酸制剂, 包括柳氮磺吡啶栓和美沙拉秦栓, 美沙拉秦栓因其疗效好、不良反应少而成为轻中度UC局部治疗的首选药物。中药栓剂较多, 以清肠栓为代表, 以清热解毒为基本治疗原则。现根据相关文献报道, 对中、西医药物栓剂治疗UC的实验研究及临床疗效观察作一综述。

© 2014年版版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 美沙拉秦栓; 清肠栓

核心提示: 栓剂对于溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的治疗越来越重要, 栓剂的实验研究多为免疫机制研究, 而最新的研究侧重于肠道菌群的调节。国外的临床疗效研究多为严格的随机双盲安慰剂对照研究, 研究科学严谨, 质量较高。

杨坤, 唐志鹏. 溃疡性结肠炎栓剂治疗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(36): 5648-5652 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5648.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5648>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是以腹泻、黏液脓血便、腹痛和里急后重为主要症状的慢性非特异性结肠炎。特征为结肠黏膜的持续炎症从直肠开始, 且大部分患者伴有直乙结肠

炎^[1], 2012年对炎症性肠病的发病率的调查^[2]显示, 在亚洲69%的UC患者患有溃疡性直肠炎或左半结肠炎, 广泛型UC的发病率占31%。普通口服药口服后大部分被上消化道吸收, 药物难以到达结肠病变部位产生有效药物浓度, 同时吸收的药物易引起不良反应。局部治疗可以避免口服药的弊端, 较口服用药有不良反应少、疗效好、局部药物浓度高等优点^[3]。局部治疗主要包括灌肠、泡沫、栓剂, 治疗中病变范围和严重程度决定了治疗剂型与剂量的选择, 对于病变范围集中在直肠的UC多适用局部治疗^[4]。栓剂因其携带方便且耐受性好而深受国内外重视, 成为指南推荐的治疗方法。

1 西药栓剂

临床上治疗UC的传统药物有氨基水杨酸类、肾上腺糖皮质激素和免疫抑制剂, 目前作为栓剂应用于临床的主要为氨基水杨酸制剂。氨基水杨酸制剂是治疗UC的一线用药, 主要包括柳氮磺吡啶(salicylazosulfapyridine, SASP)和5-氨基水杨酸(5-aminosalicylic acid, 5-ASA)。口服此类药物会引起恶心、呕吐、腹泻、皮疹、发热、肝功能异常等不良反应。SASP是5-ASA的前体药物, 其不良反应发生率高于5-ASA^[5-9]。关于SASP与5-ASA的疗效比较各家说法不一, 以往普遍认为5-ASA较SASP疗效好、不良反应少^[5-7], 但亦有调查与Meta分析^[8,9]发现SASP与5-ASA对轻中度溃疡性结肠炎诱导缓解和维持治疗的疗效无明显差异。美沙拉秦(mesalazine)口服制剂因其药物成分被上消化道吸收而引起一定的不良反应, 同时降低局部药物浓度及疗效, 而美沙拉秦栓剂进行局部治疗很大程度上限制了全身性吸收、增加了局部药物浓度, 故降低了不良反应的发生率、增加了治疗效果。

1.1 美沙拉秦的作用机制 关于溃疡性结肠炎的发病机制尚不明确, 目前认为肠道免疫系统调节异常为主要原因, 主要表现为促炎因子如: 白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等水平的升高及抑炎因子如: IL-4、IL-10、IL-13等水平的降低, 且其水平异常的程度与疾病的严重程度呈正相关。美沙拉秦可降低IL-1 β 、IL-8、TNF- α 水平和升高IL-10、IL-13水平^[10-12], 从而调节肠道免疫系统, 抑制免疫应答。另有研究证实美沙拉秦可以通过对核转录因子的活性抑制, 起到抑制结肠过氧化物酶, 抑制前列腺素E、白三烯等的合

成与释放, 从而减轻肠黏膜炎症反应^[13-15]。此外美沙拉秦亦可诱导钙黏蛋白的表达并增加细胞间的黏附性^[16], 上调紧密连接蛋白Occludin、ZO-1的表达^[17]从而保护肠黏膜屏障功能。

近些年关于UC的发病机制及美沙拉秦的作用机制的研究侧重于肠道菌群的影响, 研究^[18]证实活动期UC患者肠道菌群的种类多样性较缓解期或炎症已控制的UC患者减少, 而美沙拉秦可通过增加益生菌、减少条件致病菌而调节肠道菌群, 缓解肠道炎症^[17,19]。但目前具体机制尚不明确, 仍需进一步研究。

1.2 美沙拉秦栓的临床研究 美沙拉秦是临床使用最广泛的药物, 栓剂常被视为轻中度溃疡性直肠炎或末端直乙结肠炎的首选用药。据调查, 首次发病治疗的溃疡性直肠炎的患者中42%应用美沙拉秦栓, 19%的患者应用美沙拉秦口服剂型, 另有14%患者联合应用^[20], 由此可见美沙拉秦栓在UC治疗中起着至关重要的作用。

截至目前使用美沙拉秦栓导致的不良反应较少^[21-24]。有报道两例UC患者在使用美沙拉秦栓后分别出现急性嗜酸性粒细胞性肺炎和急性胰腺炎, 并在停用美沙拉秦栓后疾病恢复^[21,22]。另有报道UC患者使用美沙拉秦栓后病情加重, 被认为是美沙拉秦栓的过敏反应^[23,24]。在治疗效果上, Römken等^[25]对PubMed和科克伦中心注册的关于5-ASA治疗UC的随机临床对照试验进行荟萃分析, 发现在黏膜愈合率方面, 局部用药可达到和口服相同效果; Gionchetti等^[26]对病变范围在距肛缘15 cm内的溃疡性结肠炎患者做随机单盲试验, 发现5-ASA栓在改善疾病活动指数得分均值上显著优于口服剂型; Cohen等^[27]对1958-1997年发表的关于远端溃疡性结肠炎或直肠炎的文章进行了综合分析, 结果显示5-ASA栓能够达到临床改善并能维持缓解, 且比局部用法的激素缓解率更高, 但没有剂量反应曲线; 可以看出5-ASA作为栓剂使用不良反应发生率较低, 且有较好的治疗效果。

多项临床双盲随机对照研究证实美沙拉秦栓优于安慰剂组, 如Watanabe等^[28]对轻中度UC患者随机双盲予以1 g美沙拉秦栓和安慰剂栓, 治疗4 wk后发现, 内镜缓解率两组分别是81.5%和29.7%, χ^2 检验 $P<0.0001$, 有统计学意义; 而对于直肠炎两组的内镜缓解率分别为83.8%和36.1%, 费希尔检验 $P<0.0001$, 有统计学意义。d'Albasio等^[29]通过多中心双盲安慰剂对照试验对111例溃疡性直肠炎患者(病变范围局限于距肛缘15 cm内)进行用药12 mo后的复发率比较(500 mg *bid*

■ 研发前沿

关于溃疡性结肠炎的发病机制尚不明确, 目前认为肠道免疫系统调节异常为主要原因, 栓剂治疗UC的研究亦针对免疫系统, 但近些年的研究侧重于对肠道菌群的调节。

■ 相关报道

Gionchetti等对美沙拉秦栓不同剂量与给药频率的疗效的比较具有较大的临床价值与创新性。

■创新盘点

本文全面分析与总结了各类中西药栓剂治疗UC的作用机制及临床疗效,并阐述了美沙拉秦栓对肠道菌群的调节等最新研究进展及其应用剂量和方法对疗效的影响。

美沙拉秦栓组为10%, 500 mg *qd*美沙拉秦栓为32%及空白对照组为47%), 得出美沙拉秦栓对溃疡性直肠炎安全有效,且可长期使用。

虽然栓剂尚缺乏药代动力学研究,亦无剂量曲线,但国外仍有多项临床试验研究美沙拉秦栓的剂量问题,如Gionchetti等^[30]对50例病变范围在距肛缘20 cm内的UC患者随机给予1 g *qd*美沙拉秦栓和500 mg *bid*美沙拉秦栓,Andus等^[31]通过对354例患者进行分析,比较了1g *qd*美沙拉秦栓和500 mg *tid*美沙拉秦栓,结果得出1 g每日1次较500 mg每日2次、3次均有更快的临床和乙状结肠镜缓解及更好的耐受性,故最佳使用剂量为1 g,每日1次。

2 中药栓剂

中医学认为溃疡性结肠炎属于中医学“痢疾”、“肠癖”、“泄泻”等范畴,目前临床上比较一致的观点认为UC多由先天禀赋不足、脾胃虚弱,或饮食不节,或外感邪毒,或情志不畅而诱发,导致脾胃受损,湿热疫毒,蕴结肠中,阻滞脉络,腑气壅塞,血腐肉败而罹患。

2.1 清肠栓 清肠栓是上海中医药大学附属龙华医院治疗UC的纯中药特色制剂,由马贵同教授根据UC发病的主要病理因素及特点,结合朱丹溪痢疾“皆湿热为本”的理论,及其数十年的诊治经验所制成的肠道用制剂。主要组成为青黛、马齿苋、三七等,具有清热解毒、活血化瘀、祛腐生新、生肌愈疡之功效,已在临床使用将近30年。凭借其较好疗效和价格低廉因素,已经在国内UC患者群体中建立了良好的信誉。

如前所述,目前认为UC的发病机制与免疫相关,故清肠栓的实验研究主要从免疫学的角度观察,如施斌等^[32]运用电镜、TUNEL染色法、Bcl-2及Bax蛋白免疫组织化学染色等检测方法,发现清肠栓可能通过调节Bcl-2、Bax二者间的比例变化诱导淋巴细胞凋亡;张涛等^[33]、张晓峰等^[34]、Hao等^[35]分别证实了清肠栓能抑制促炎因子IL-1 β 、IL-6 mRNA的表达,促进抑炎因子IL-13、IL-4、IL-10的表达,薛筠等^[36]通过流式细胞仪检测发现清肠栓可降低结肠上皮细胞凋亡率,从而改善了结肠黏膜的炎症状态。另Wang等^[37]从细胞增殖动力学角度发现清肠栓可促进结肠黏膜细胞增殖、增加杯状细胞的数量和分泌黏液的水平,从而促进结肠溃疡的愈合、黏膜损伤的修复。

临床研究主要为回顾性分析或与西药柳氮磺吡啶栓进行比较,马贵同教授等^[38]通过大量

临床观察,发现清肠栓治疗UC,尤其是治疗急性UC效果较好;而且在巩固治疗、防止UC发作方面也有很好的作用。马教授通过回顾性分析清肠栓治疗253例UC患者得出总有效率为92.10%。龚雨萍等^[39]通过随机对照研究比较清肠栓与柳氮磺吡啶栓,结果:治疗组综合疗效总有效率为91.49%,对照组为87.23%,两组综合疗效差异无统计学意义;而对于中医证候疗效总有效率分别为97.87%和91.48%,治疗组优于对照组,故清肠栓对于左半结肠以下轻中度活动期UC改善肠道湿热所致的下痢赤白、腹痛腹胀、里急后重、肛门灼热等症的疗效优于SASP栓。

2.2 锡类散栓 锡类散在我国具有悠久的历史,原载于清朝尤在泾的《金匱翼方》,主要成分为珍珠、冰片、青黛、牛黄等,有清热解毒、活血止痛、托毒排脓、去腐生肌之功效,主要用于治疗舌、咽及口腔溃疡、糜烂等。锡类散栓是以锡类散为主要成分,加入溶融的基质,制成栓剂。

近些年锡类散常被用于治疗溃疡性结肠炎且取得较好疗效,灌肠剂的有效率等于甚至优于激素灌肠^[40],欧阳建东等^[41]在此启发下以锡类散为主要,加聚乙二醇机制制成栓剂。此栓能促进溃疡愈合,炎症吸收及提高大鼠结肠黏膜超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性。临床研究显示对于美沙拉秦或激素口服制剂无效的难治性溃疡性直肠炎,锡类散栓与安慰剂栓应用180 d后未复发率分别是81.8%和16.7%,明显优于安慰剂组,充分说明锡类散栓是安全有效、耐受性好的外用药^[42]。具体治疗机制尚不十分明确,可能通过调高CD8T淋巴细胞及降低CD4/CD8来调节T淋巴细胞亚群的平衡,从而降低免疫反应的程度,减轻炎症损伤^[43]。

2.3 雷公藤多甙栓 中药雷公藤具有祛风湿、活血通络、消肿止痛、杀虫解毒之功效。雷公藤多甙是中药雷公藤的提取物,有“中药激素”之称,现代药理研究表明,雷公藤多甙有抗炎、抑制免疫等作用,被广泛用于多种自身免疫性疾病的治疗^[44,45]。

实验研究方面证实雷公藤多甙栓通过抑制T细胞、巨噬细胞分泌TNF- α 和IL-8,从而起到对UC大鼠抗炎和调节免疫的作用^[46]。也可能通过清除氧自由基和NO而升高血清及组织中SOD的水平升高,通过减少中性粒细胞的数量而减少髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO),从而达到抗炎作用^[47]。另有实验证实雷公藤多甙栓可改善UC大鼠结肠黏膜充血、水肿、炎细胞浸润及表层坏

■应用要点

虽然栓剂的药代动力学研究尚有不足,但在溃疡性结肠炎的治疗中栓剂应用率越来越高,单独使用以维持缓解或联合口服药诱导缓解,这对临床治疗意义重大。

死, 疗效优于SASP栓^[48]。总之雷公藤多甙栓治疗UC的疗效是肯定的, 可作为治疗药物的选择之一。

另有具有较好黏膜保护作用的太宁栓, 主要成分是角菜酸酯和二氧化钛和氧化锌, 主要作用机制是在黏膜表面形成一层黏液膜状结构, 并能保留8-12 h, 因而能够尽快促进溃疡愈合, 并能防止复发^[49]。还有壮药溃结栓, 罗氏认为微血栓的形成可能是UC的重要发病机制之一, 故溃结栓由白花丹根、三七、三叉三药合用, 共奏清热解毒、活血化瘀以利于改善胃肠动力、血流供应及抑制促炎性介质的释放, 从而改善局部炎症反应; 另外可止血止泻, 保护受损肠黏膜, 促进溃疡愈合^[50]。

3 结论

栓剂因其优点已成为治疗溃疡性结肠炎的重要剂型之一, 对于发作期UC患者栓剂多配合口服药联合应用诱导缓解, 而对于缓解期患者亦可单独使用以维持治疗。但对栓剂的药代动力学研究尚有不足, 且缺乏对栓剂应用剂量的研究, 所用剂量多凭临床医生经验, 仍需进一步研究。另国内研究多不是严格的双盲随机安慰剂对照研究, 缺乏科学严谨性。

4 参考文献

- Di Sabatino A, Biancheri P, Rovedatti L, Macdonald TT, Corazza GR. Recent advances in understanding ulcerative colitis. *Intern Emerg Med* 2012; 7: 103-111 [PMID: 22068230 DOI: 10.1007/s11739-011-0719-z]
- Ng SC, Tang W, Ching JY, Wong M, Chow CM, Hui AJ, Wong TC, Leung VK, Tsang SW, Yu HH, Li MF, Ng KK, Kamm MA, Studd C, Bell S, Leong R, de Silva HJ, Kasturiratne A, Mufeeena MN, Ling KL, Ooi CJ, Tan PS, Ong D, Goh KL, Hilmi I, Pisespong-sa P, Manatsathit S, Rerknimitr R, Aniwan S, Wang YF, Ouyang Q, Zeng Z, Zhu Z, Chen MH, Hu PJ, Wu K, Wang X, Simadibrata M, Abdullah M, Wu JC, Sung JJ, Chan FK. Incidence and phenotype of inflammatory bowel disease based on results from the Asia-pacific Crohn's and colitis epidemiology study. *Gastroenterology* 2013; 145: 158-165.e2 [PMID: 23583432 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.04.007]
- Frei P, Biedermann L, Manser CN, Wilk M, Manz M, Vavricka SR, Rogler G. Topical therapies in inflammatory bowel disease. *Digestion* 2012; 86 Suppl 1: 36-44 [PMID: 23051725 DOI: 10.1159/000341947]
- Seibold F, Fournier N, Beglinger C, Mottet C, Pittet V, Rogler G. Topical therapy is underused in patients with ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2014; 8: 56-63 [PMID: 23566922 DOI: 10.1016/j.crohns.2013.03.005]
- 柳汝明, 吴斌, 赵雨晋, 唐尧. 美沙拉秦与柳氮磺吡啶比较治疗溃疡性结肠炎疗效与安全性的系统评价. *中国循证医学杂志* 2011; 11: 181-186
- 黄慧民, 黄勤. 美沙拉秦与柳氮磺吡啶治疗溃疡性结肠炎的效果对比研究. *中国当代医药* 2014; 11: 85-86
- 李宜华. 美沙拉秦与柳氮磺吡啶治疗溃疡性结肠炎的效果及安全性比较. *中国当代医药* 2014; 7: 57-59
- Feagan BG, Macdonald JK. Oral 5-aminosalicylic acid for induction of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 10: CD000543 [PMID: 23076889 DOI: 10.1002/14651858.CD000543.pub3]
- Nikfar S, Rahimi R, Rezaie A, Abdollahi M. A meta-analysis of the efficacy of sulfasalazine in comparison with 5-aminosalicylates in the induction of improvement and maintenance of remission in patients with ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1157-1170 [PMID: 18770034 DOI: 10.1007/s10620-008-0481-x]
- D'Inca R, Barollo M, Scarpa M, Grillo AR, Brun P, Vettorato MG, Castagliuolo I, Sturniolo GC. Rectal administration of *Lactobacillus casei* DG modifies flora composition and Toll-like receptor expression in colonic mucosa of patients with mild ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1178-1187 [PMID: 20737210 DOI: 10.1007/s10620-010-1384-1]
- Wang K, Xuan X, Wang L, Tong L, Huang Q, Zhu L, Ruan H. [Expression and correlation analysis between inflammatory cytokines and calprotectin in the rat model of ulcerative colitis]. *Xibao Yu Fenzi Mianyixue Zazhi* 2014; 30: 278-80, 283 [PMID: 24606747]
- Zhou HY, Yan J, Fang L, Zhang H, Su LG, Zhou GH. Change and significance of IL-8, IL-4, and IL-10 in the pathogenesis of terminal ileitis in SD rat. *Cell Biochem Biophys* 2014; 69: 327-331 [PMID: 24307283 DOI: 10.1007/s12013-013-9802-6]
- Mbodji K, Charpentier C, Guérin C, Querec C, Bole-Feysot C, Aziz M, Savoye G, Déchelotte P, Marion-Letellier R. Adjunct therapy of n-3 fatty acids to 5-ASA ameliorates inflammatory score and decreases NF- κ B in rats with TNBS-induced colitis. *J Nutr Biochem* 2013; 24: 700-705 [PMID: 22841543 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2012.03.022]
- Serra D, Paixão J, Nunes C, Dinis TC, Almeida LM. Cyanidin-3-glucoside suppresses cytokine-induced inflammatory response in human intestinal cells: comparison with 5-aminosalicylic acid. *PLoS One* 2013; 8: e73001 [PMID: 24039842 DOI: 10.1371/journal.pone.0073001]
- Managlia E, Katzman RB, Brown JB, Barrett TA. Antioxidant properties of mesalamine in colitis inhibit phosphoinositide 3-kinase signaling in progenitor cells. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 2051-2060 [PMID: 23867870 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318297d741]
- Khare V, Lang M, Dammann K, Campregher C, Lyakhovich A, Gasche C. Modulation of N-glycosylation by mesalamine facilitates membranous E-cadherin expression in colon epithelial cells. *Biochem Pharmacol* 2014; 87: 312-320 [PMID: 24184502 DOI: 10.1016/j.bcp.2013.10.021]
- 姜宗丹, 张振玉, 孔超美, 赵有财, 王劲松, 黄文斌. 美沙拉秦对溃疡性结肠炎患者肠黏膜紧密连接蛋白表达的影响. *胃肠病学* 2013; 8: 462-464
- Zitomersky NL, Atkinson BJ, Franklin SW, Mitchell PD, Snapper SB, Comstock LE, Bousvaros A. Characterization of adherent bacteroidales from intestinal biopsies of children and young adults with inflammatory bowel disease. *PLoS One* 2013; 8: e63686 [PMID: 23776434 DOI: 10.1371/journal.pone.0063686]
- Xue L, Huang Z, Zhou X, Chen W. The possible effects of mesalazine on the intestinal microbiota. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 813-814 [PMID: 22984958 DOI: 10.1111/apt.12034]
- Richter JM, Kushkuley S, Barrett JA, Oster G. Treatment of new-onset ulcerative colitis and ulcerative proctitis: a retrospective study. *Aliment Pharmacol*

■ 名词解释

局部治疗(topical therapy): 是指在病变的局部外用药物治疗, 对于UC的局部治疗剂型包括灌肠剂、泡沫剂及栓剂, 能够直达病所、降低药物对胃黏膜的刺激并避免肝脏的首过效应。

■同行评价

本文综述了中西药栓剂对UC治疗的机制与疗效研究,思路清晰、内容新颖,对于各个结论均有详细、充足的文献支持。

- Ther 2012; 36: 248-256 [PMID: 22690748 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05175.x]
- 21 Kim JH, Lee JH, Koh ES, Park SW, Jang AS, Kim D, Park CS. Acute eosinophilic pneumonia related to a mesalazine suppository. *Asia Pac Allergy* 2013; 3: 136-139 [PMID: 23667838 DOI: 10.5415/apallergy.2013.3.2.136]
 - 22 Kim KH, Kim TN, Jang BI. [A case of acute pancreatitis caused by 5-aminosalicylic acid suppositories in a patient with ulcerative colitis]. *Korean J Gastroenterol* 2007; 50: 379-383 [PMID: 18159175]
 - 23 Ding H, Liu XC, Mei Q, Xu JM, Hu XY, Hu J. Ulcerative colitis flair induced by mesalamine suppositories hypersensitivity. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 3716-3718 [PMID: 24707159 DOI: 10.3748/wjg.v20.i13.3716]
 - 24 Borum ML, Ginsberg A. Hypersensitivity to 5-ASA suppositories. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 1076-1078 [PMID: 9149065 DOI: 10.1023/a: 1018857607739]
 - 25 Römken TE, Kampschreur MT, Drenth JP, van Oijen MG, de Jong DJ. High mucosal healing rates in 5-ASA-treated ulcerative colitis patients: results of a meta-analysis of clinical trials. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 2190-2198 [PMID: 22419617 DOI: 10.1002/ibd.22939]
 - 26 Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Ferretti M, Brignola C, Miglioli M, Campieri M. Comparison of oral with rectal mesalazine in the treatment of ulcerative proctitis. *Dis Colon Rectum* 1998; 41: 93-97 [PMID: 9510317 DOI: 10.1007/BF02236902]
 - 27 Cohen RD, Woseth DM, Thisted RA, Hanauer SB. A meta-analysis and overview of the literature on treatment options for left-sided ulcerative colitis and ulcerative proctitis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1263-1276 [PMID: 10811338 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.01940.x]
 - 28 Watanabe M, Nishino H, Sameshima Y, Ota A, Nakamura S, Hibi T. Randomised clinical trial: evaluation of the efficacy of mesalazine (mesalamine) suppositories in patients with ulcerative colitis and active rectal inflammation -- a placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 264-273 [PMID: 23734840 DOI: 10.1111/apt.12362]
 - 29 d'Albaso G, Paoluzi P, Campieri M, Bianchi Porro G, Pera A, Prantera C, Sturniolo GC, Miglioli M. Maintenance treatment of ulcerative proctitis with mesalazine suppositories: a double-blind placebo-controlled trial. The Italian IBD Study Group. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 799-803 [PMID: 9625131 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1998.228_a.x]
 - 30 Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brignola C, Ferretti M, Peruzzo S, Campieri M. Comparison of mesalazine suppositories in proctitis and distal proctosigmoiditis. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11: 1053-1057 [PMID: 9663829 DOI: 10.1046/j.1365-2036.1997.00259.x]
 - 31 Andus T, Koçjan A, Müser M, Baranovsky A, Mikhailova TL, Zvyagintseva TD, Dorofeyev AE, Lozynskyy YS, Cascorbi I, Stolte M, Vieth M, Dilger K, Mohrbacher R, Greinwald R. Clinical trial: a novel high-dose 1 g mesalamine suppository (Salofalk) once daily is as efficacious as a 500-mg suppository thrice daily in active ulcerative proctitis. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1947-1956 [PMID: 20310020 DOI: 10.1002/ibd.21258]
 - 32 施斌, 谢建群, 张涛, 徐海珍, 袁建业, 郑昱, 马贵同, 陆雄. 清肠栓对大鼠溃疡性结肠炎淋巴细胞凋亡调控蛋白Bcl-2及Bax表达的影响. *河南中医* 2008; 12: 28-31
 - 33 张涛, 谢建群. 清肠栓对大鼠溃疡性结肠炎结肠黏膜固有层淋巴细胞凋亡及血清IL-1 β 与IL-13的影响. *上海中医药大学学报* 2006; 2: 37-40
 - 34 张晓峰, 胡鸿毅, 陈英群, 郝微微, 陆雄, 马贵同. 清肠栓对实验性溃疡性结肠炎大鼠IL-1 β 、IL-6 mRNA表达的影响. *中国中医药科技* 2003; 5: 263-265
 - 35 Hao WW, Ma GT, Zhang XF, Tang ZP, Gong YP, Zhu LY. Effects of qingchangshuan on IL-4 and IL-10 mRNA expression in rat colon tissue of ulcerative colitis induced by TNBS. *Chin J Integr Trad West Med Dig* 2007; 15: 177-180
 - 36 薛筠, 谢建群. 清肠栓对溃疡性结肠炎大鼠结肠上皮凋亡影响的流式细胞术研究. *上海中医药大学学报* 2005; 3: 44-46
 - 37 Wang ZN, Tang ZP, Ma GT, Zhang YL. Effect of Qingchang suppository on cell proliferation of colonic mucous in trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Chin J Integr Trad West Med Dig* 2006; 14: 383-386
 - 38 马贵同, 龚雨萍, 胡鸿毅, 张晓峰, 谢建群, 柳文. 清肠栓治疗溃疡性结肠炎53例回顾性分析. *中国中西医结合消化杂志* 2003; 4: 231-232
 - 39 龚雨萍, 柳文, 马贵同, 胡鸿毅, 谢建群, 唐志鹏, 郝薇薇, 卞慧, 朱凌云, 武和平, 朱生禄, 张亚声. 清肠栓治疗溃疡性结肠炎的随机对照研究. *上海中医药大学学报* 2007; 6: 33-36
 - 40 Zhang F, Li Y, Xu F, Chu Y, Zhao W. Comparison of Xilei-san, a Chinese herbal medicine, and dexamethasone in mild/moderate ulcerative proctitis: a double-blind randomized clinical trial. *J Altern Complement Med* 2013; 19: 838-842 [PMID: 23383973 DOI: 10.1089/acm.2012.0296]
 - 41 欧阳建东, 高靖, 李明, 夏培君, 李祖苾, 徐文生, 王金鹏, 沈力. 锡类散栓剂治疗大鼠溃疡性结肠炎的实验研究. *铁道医学* 1999; 27: 150-151
 - 42 Fukunaga K, Ohda Y, Hida N, Iimuro M, Yokoyama Y, Kamikozuru K, Nagase K, Nakamura S, Miwa H, Matsumoto T. Placebo controlled evaluation of Xilei San, a herbal preparation in patients with intractable ulcerative proctitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1808-1815 [PMID: 22775479 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07215.x]
 - 43 Li A, Xu XY, Dong W, Wang Y. [Inhibitory effects of Sanlengwan on aromatase and cyclooxygenase-2 in rats of endometriosis]. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 2008; 33: 1297-1301 [PMID: 18831212]
 - 44 强春倩, 刘世任, 都本敏. 雷公藤药理研究进展. *中国中医急症* 2006; 15: 198, 216
 - 45 王坤明, 来旭华, 郑伟明, 陈寿山. 雷公藤多甙治疗溃疡性结肠炎临床研究. *实用中医内科杂志* 2005; 19: 336, 428
 - 46 Zhou L, Liu ZZ. Effect of Tripterygium wilfordii polyglycosidium suppository on TNF-a and IL-8 in ulcerative colitis (UC) model rats. *Acta Acad Med Zunyi* 2006; 29: 31-33
 - 47 周冷, 刘卓志. 雷公藤多甙栓对溃疡性结肠炎大鼠SOD和MPO的影响. *医学动物防制* 2006; 22: 403-405
 - 48 Zhou L, Liu ZZ. Effect of tripterygium wilfordii polyglycosidium suppository on pathology and tectology in experimental model rats. *Acta Acad Med Zunyi* 2008; 31: 470-473
 - 49 李春耕. 中西医结合治疗直乙型溃疡性结肠炎120例. *辽宁中医杂志* 2010; 37: 2418-2419
 - 50 蒋志洪, 罗和生, 史宏, 贺菊乔. 壮药溃栓纳肛给药对溃疡性结肠炎模型动物的影响. *武汉大学学报(医学版)* 2009; 30: 104-106

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



肠道菌群与大肠癌发病相关性的研究进展

熊一白, 朱惠蓉, 程悦蕾, 余志红, 柴妮

熊一白, 朱惠蓉, 程悦蕾, 柴妮, 上海中医药大学附属曙光医院肿瘤科 上海市 200021
余志红, 上海中医药大学附属曙光医院医务处 上海市 200021
熊一白, 在读硕士, 主要从事中医药治疗恶性肿瘤的临床研究。上海市中医药事业发展三年行动计划(重大研究)基金资助项目, No. ZYSNXD-CC-ZDYJ048
作者贡献分布: 选题由熊一白与朱惠蓉完成; 查阅资料与写作由熊一白完成; 余志红、程悦蕾及柴妮参与修改。
通讯作者: 朱惠蓉, 研究员, 硕士生导师, 200021, 上海市浦东新区张衡路528号, 上海中医药大学附属曙光医院肿瘤科。
zhu_huirong@126.com
电话: 021-20256011
收稿日期: 2014-10-10 修回日期: 2014-11-05
接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Gut microbiome and risk for colorectal cancer

Yi-Bai Xiong, Hui-Rong Zhu, Yue-Lei Cheng, Zhi-Hong Yu, Ni Chai

Yi-Bai Xiong, Hui-Rong Zhu, Yue-Lei Cheng, Ni Chai, Department of Oncology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China
Zhi-Hong Yu, Medical Department, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China
Supported by: Three-year Action Plan to Promote Shanghai Traditional Chinese Medicine, No. ZYSNXD-CC-ZDYJ048
Correspondence to: Hui-Rong Zhu, Researcher, Department of Oncology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 528 Zhangheng Road, Pudong District, Shanghai 200021, China. zhu_huirong@126.com
Received: 2014-10-10 Revised: 2014-11-05
Accepted: 2014-11-12 Published online: 2014-12-28

Abstract

The cause and pathogenesis of colorectal cancer are still not completely understood. The development of microbiology in recent years has increasingly provided more evidence for the importance of infectious agents in colorectal cancer. This review highlights investigations of four agents in relation to colorectal cancer: *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Bacteroides fragilis*, and *Streptococcus bovis*. The possible mechanisms of carcinogenesis for each of these agents and epidemiologic evidence are discussed.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Rectal cancer; Gut microbiome

Xiong YB, Zhu HR, Cheng YL, Yu ZH, Chai N. Gut microbiome and risk for colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5653-5658 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5653.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5653>

摘要

现在, 对于大肠癌的诱因及病理机制还没有建立起来, 而近年随着微生物学的发展, 越来越多的证据表明在大肠癌中微生物导致的炎性因子的重要性。本综述主要讨论四种消化系统微生物和大肠癌的关系, 大肠埃希菌、幽门螺杆菌、脆弱类杆菌、牛链球菌。对于每种微生物, 本综述都详细讨论了其可能致癌的机制及流行病学证据。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结肠癌; 直肠癌; 消化系统菌群

核心提示: 本综述主要讨论了大肠埃希菌、幽门螺杆菌、脆弱类杆菌、牛链球菌的可能致癌的信号通路以及关键基因, 阐述了对这些细菌不同研究所得到的不同结论, 并且跟进了最新研究进展如梭杆菌的致癌机制和Toll样受体的研究等。

熊一白, 朱惠蓉, 程悦蕾, 余志红, 柴妮. 肠道菌群与大肠癌发病相关性的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(36): 5653-5658 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5653.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5653>

0 引言

大肠癌是临床上常见的恶性肿瘤之一, 2014年世界卫生组织癌症趋势分析表明, 中国新增病例和死亡人数的绝对数值为世界首位, 其中大肠癌位列第3位, 并且有逐年上升趋势^[1]。而Siegel等^[2]统计结果显示, 在美国, 大肠癌仍是第三常见以及致死率列于第三的恶性肿瘤。大量实

■背景资料

随着微生物学的发展, 人们认识到微生物不仅仅可以引起人体炎症及免疫应答的发生, 更可以由此介导肿瘤的发生发展。本文旨在详细介绍几种微生物介导肿瘤产生的机制, 藉此希望更多的目光投入其中以拓展抗癌的新领域。

■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

■ 研发前沿

本综述介绍的为消化道中主要几种细菌对于肿瘤发生发展的影响以及其最新可能机制的探讨,但是对于微生物和肿瘤的关系及机制众说纷纭而且影响因素(如年龄、饮食结构)众多,所以如何研究其中机制为以后研究重点。

验数据表明^[3],大肠癌的发生与外周环境,生活习惯,饮食偏好有明显关系,其中,饮食偏好对于大肠癌的影响,在很大程度上是因为细菌的异常代谢造成的。Gill等^[4]把人看做是与共生微生物构成的超级生物体(superorganism),消化菌群作为此超级生物体的重要组成部分,通过对人体肠道内食物的分解摄取营养,与人体共同参与进行代谢免疫反应,协同维持此超级生物体的平衡。当消化道菌群变化时,肠道环境随之变化,人就有一定的几率会最终演变成大肠癌。有研究发现目前有许多的消化道菌群与大肠癌的发生具有一定的相关性,我们查阅近5-10年的相关文献,对消化系菌群诱发大肠癌的关系做一归纳分析。

1 大肠杆菌与大肠癌的关系

大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)是一种革兰氏阴性短杆菌,正常时寄生于大肠内,约占肠道菌中的1%。Swidsinski等发现^[5],在无症状的普通人中,利用PCR技术活检肠黏膜,只有3%的人为*E. coli*阳性,但在大肠癌和大肠腺瘤的患者中,92%的患者有细菌定植,其中72%的细菌是*E. coli*。

*E. coli*诱发癌变的机制,可能主要是通过释放毒素使宿主肠道细胞DNA突变,失活其修复功能,导致细胞增殖活跃最终形成肿瘤。Arthur等^[6]研究发现,在结肠癌、炎性肠病、克罗恩病和溃疡性结肠炎患者的结肠中大量存在一种携带*pks*基因的黏性*E. coli*,他们对携带*pks*基因的*E. coli*进行深入研究后证实,*pks*基因阳性的*E. coli*可以使小鼠易于罹患大肠癌,且*pks*基因阳性的*E. coli*似乎并没有增进肠道炎症的程度。此种*E. coli*可以编码一种毒素,大量破坏宿主DNA,有几率诱发大肠癌。实验还表明,无论是原本为炎症肠病发展为结肠癌还是无炎症基础的结肠癌患者,其肠道内都大量存在这种*pks E. coli*,可能证明这种*E. coli*对DNA的损伤是其关键步骤,也有可能于此诱发结肠癌。而更加清晰的证据则来源于Maddocks等^[7]的实验,此实验通过检测在大肠癌患者肠道内的肠致病性大肠杆菌(enteropathogenic *E. coli*, EPEC)里携带有关键成分-EPEC分泌效应蛋白(EspF),此种蛋白可以导致宿主细胞中DNA错配修复蛋白(mismatch repair, MMR)的缺失,使得DNA无法自身修复,进而通过线粒体靶向的EspF,显著提高宿主细胞的自发性突变率,增加氧自由基的水平,

从而可能诱发结肠癌的发生。Collins等^[8]的发现也同样如此,大肠杆菌可以产生细胞毒性坏死因子,这种坏死因子能激发G₁-S相诱导宿主基因组的复制,并且激活Rho GTP酶,使细胞骨架重塑,从而细胞转移活性得以增加,可能与形成肿瘤有关。

以上这些研究虽然可以证明,细菌和炎性肠病与肿瘤的发生有关,但是却没有直接的证据证明*E. coli*与致癌基因和肿瘤的发展有关,因为大多数对于大肠杆菌如何致癌的研究是在慢性炎症性肠病的患者中进行的,从过往的实验中可以看出,这部分患者的大肠癌发生率本就是普通人的20倍,而在能证明有相对清晰机制的研究中,溃疡性肠病的患者中却没有找到上述具有侵袭性的大肠杆菌^[9]。

2 *H. pylori*与大肠癌的关系

我国是幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染的大国,50%的人群中,胃黏膜携带有*H. pylori*,IARC将其归为I类致癌物质。一项流行病学调查显示,*H. pylori*感染不仅仅是胃癌的高危因素,和患进展性大肠癌也高度相关^[10]。

而*H. pylori*致癌的机制,Correa等^[11]发现,*H. pylori*含有有毒因子CagA,是其致癌重要组成成分。Ohnishi等^[12]也第一次在动物活体内证实了CagA是*H. pylori*潜在的癌基因。CagA和膜外蛋白BabA以及细胞毒素VacA被认为是*H. pylori*致癌的三大关键因子^[13]。*H. pylori*菌致癌,可能是通过编码cag-PAI和VacA,使得MARK-EGFR信号通路改变,从而调节细胞分裂和细胞凋亡收到影响,引发癌症。有的专家则认为,大肠癌的发生,可能是与*H. pylori*的副产品胃泌素有关。*H. pylori*可以抑制胃酸的分泌,从而通过负反馈调节增加胃泌素的分泌^[14],而胃泌素作为一种胃肠道的生长促进剂,其作用在结肠肿瘤中有一定表现^[15],与大肠癌的发生正相关^[16]。一项在诊断大肠癌之前就评估胃泌素水平的前瞻性的研究证实了这一点^[17],*H. pylori*有可能是通过胃泌素来诱导肿瘤发生。

但于此相反的是,Thorburn等^[18]通过临床对照试验发现,113例病例和226例对照组中,尽管萎缩性胃炎和直肠癌相关,*H. pylori*感染和直肠癌却不存在任何内在联系。造成研究结果不同的原因有可能与地域因素有关,如在一项针对克什米尔人的研究中^[14],通过glmM gene PCR技术检测发现,86例患者中只有8例是*H. pylori*感染,显

示与大肠癌并不直接相关, 而在一项针对日本女性的调查显示^[19], *H. pylori*感染和大肠癌有着密切联系(对于腺瘤OR = 1.60, 95%CI: 1.18-2.02, 对于腺癌OR = 1.80, 95%CI: 1.28-2.32).

由于目前对于大肠癌与*H. pylori*感染的关系的实验研究不是很多, 研究覆盖的人群样本量少, 不够广泛, 更为合理可靠的结论还必须通过进行大范围及严密设计的随机双盲对照试验来进一步验证和支持.

3 脆弱类杆菌与大肠癌的关系

脆弱类杆菌(*Bacteroides fragilis*)为革兰阴性短杆厌氧菌, 是肠道中数量最庞大的优势菌种之一^[20]. 通常情况下, 脆弱类杆菌被肠道黏膜隔绝, 不能进入血液循环, 只能寄生在肠道内^[21], 一旦产生肠毒素脆弱类杆菌(*Enterotoxigenic Bacteroides fragilis, ETBF*)进入血液循环, 就会引起多种免疫反应, 是人和家畜的腹泻常见的原因^[21], 更可能引发大肠癌^[22].

一项针对大肠癌患者的粪便菌种调查中, 有38%的患者培养出脆弱类杆菌, 而在正常人中只有10%左右, 是第一个证明肠毒素脆弱类杆菌广泛存在于大肠癌患者的研究实验^[23-25]. Durmaz^[26]也证实肠毒素脆弱类杆菌分泌的BFT(enterotoxin gene)可触发原癌基因表达而与结肠癌的发病相关. 研究也发现BFT使得增加STAT3的表达来激活Th17旁路, 并通过不可控的炎症反应, 激活癌前基因生成肿瘤. 还有研究表明, 肠毒素脆弱类杆菌能经由 β -catenin/Wnt旁路, 进一步激活核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B), 使上皮细胞癌变, 并增加大肠癌细胞对肠黏膜的通透性, 使肿瘤细胞通过肠黏膜屏障, 同时激活血管生成以及转运的关键因子IL-17和IL-6^[26-28], 使肿瘤达到增长并转移的目的. 另外, 肠毒素脆弱类杆菌也能引起细胞的不可控的增殖继而诱发癌症^[29], 通过裂解E-cadherin让细胞骨架破坏, 导致MYC和cyclin-D的激活^[27], 最终让细胞快速增殖形成肿瘤. 另外, 在动物体外实验中, 肠毒素脆弱类杆菌还能通过分泌脱氧胆酸, 促进实验动物的大肠癌细胞的增殖, 诱导癌症发生, 并且流行病学报告也同样显示, 脱氧胆酸在粪便中的浓度和患有大肠癌的风险程度成线性相关^[30].

4 牛链球菌与大肠癌的关系

牛链球菌(*Streptococcus bovis*)是牛等食草动物

消化道内的正常菌群, 常见于动物的肠道和粪便, 上世纪70年代, 人们发现大肠癌患者的粪便中常常能找到牛链球菌, 并且60%被牛链球菌感染的心内膜炎患者伴有大肠癌^[31], 而其中25%的人仅仅是因为检测出牛链球菌感染而使用肠镜检查确诊的大肠癌患者^[32,33].

Abdulmir等^[34]对NF- κ B和人白介素-8(interleukin-8, IL-8)跟踪检测后发现, 牛链球菌正是可能通过这两种因子促进合成环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2), 诱发炎症、抵抗凋亡并且进行血管生成诱导癌症发生, 从而证明牛链球菌和大肠癌的发生具有一定的相关性^[34].

其他人则提出另一种假说, 人体被牛链球菌感染后, 细胞因子及ROS的产生均会增加, 且牛链球菌不需要通过上皮细胞, 且无需介导IL-8和IL-1 β ^[35], 即可对造成正常细胞DNA的破坏或者感染DNA的修复途径, 导致基因的不稳定而产生突变, 使癌症发生^[36,37]. 随着研究的进展, 人们还发现, 不仅仅是牛链球菌可能促进肿瘤的生长, 肿瘤本身的代谢也为牛链球菌提供了一个高糖, 高氨基酸的适宜生长的环境^[38-40], 两者互为因果, 共同促进疾病的发生和发展.

5 其他细菌与大肠癌的关系

人体消化系中除了以上提到的几种主要的细菌外, 其他细菌也对人体消化系微生物平衡起着重要的作用, 其中特定几种细菌菌落的变化, 有可能导致人患大肠癌.

Ahn等^[41]对47例肠癌患者和94例健康对照组使用16S rRNA基因测序技术, 从粪便中提取DNA, 从而进行比照后发现, 肠癌患者的粪便中, 能够发酵食物中纤维素, 抑制炎症反应和致癌基因的梭状芽孢杆菌比在正常肠道黏膜表面显著减少, 这一点与Kostic等^[42]发现的一致, 而且此研究发现, 奇异菌属、梭菌属及口腔中多见的卟啉单胞菌属则有不同程度的增加, 提示口腔细菌也可能与大肠癌的发生有间接或直接的关系. 口腔中不仅仅有卟啉单胞菌属可能会诱发大肠癌, 口腔中其他菌群失调也有可能使大肠癌发生. 在癌前病变大肠腺瘤中, 口腔中的梭杆菌(*Fusobacterium*)活跃并大量繁殖, Rubinstein等^[43]在研究口腔中的核梭杆菌(*Fusobacterium*)的生物特性后发现, 核梭杆菌的特异性元件FadA, 可以和细胞中的E-cadherin相结合, 激活信号 β -catenin, 诱发肠道炎症, 使细胞快速增殖, 形成肿瘤. 依照菌群失调会诱发癌症的假设, Bongers等^[44]逆向的设计了

■ 相关报道

改变肠道菌群引起的炎症反应可以控制或者延长大肠癌患者的生存期, 比如Adelaide大学的一项最新研究葡萄籽可以提升化疗药物在杀伤结肠癌细胞上的作用效力, 这可能和肠道内微生物群落的变化有关, 可以值得研究.

■应用要点

本文对于研究肠道中主要微生物和肿瘤的发生发展机制有详尽以及最新的总结,对于今后的研究有一定的指导意义。

实验,用抗生素破坏小鼠肠道中的菌群,失活了HB-EGF/EGFR信号通路,防止中性粒细胞浸润,从而让细菌不能穿过肠道黏膜进入肠壁,引发了炎症反应,最终防止肿瘤的发生。

6 结论

肠道细菌失调所导致的慢性炎症被认为是大肠癌发生的高危因素^[45],炎症通过诱导基因突变、阻止细胞凋亡以及刺激血管新生和细胞增殖产生癌变倾向,而随着研究的深入,有研究者^[46]认为Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)介导的NF- κ B是炎症刺激导致肿瘤发生的关键,NF- κ B通过诱导Wnt信号通路的突变,进而使肠道表皮细胞突变为肿瘤始动细胞,并释放炎症因子(如IL-1、IL-6 and IL-8等)、黏附分子以及血管新生因子共同促进肿瘤细胞在肠道内的生存^[47]。最新的研究^[48]更表明,同样是通过TLRs,在肠上皮细胞(intestinal epithelial cells, IECs)中IL-17C在肠癌中发生显著上调,而失调的肠道菌群对于其上调至关重要,IL-17C进而通过诱导IECs中Bcl-2和Bcl-xL的表达抑制肠道肿瘤细胞的凋亡来促进肠癌的发生发展。这也得到了临床数据的支持,长期低剂量摄入阿司匹林被认为是可以预防大肠癌的一种保护措施^[49],阿司匹林可能是通过抑制过氧化物酶体增殖物激活受体 δ (PPAR δ)^[50]来调低COX-2、PGE2及NF- κ B的水平从而诱导细胞凋亡来降低大肠癌的风险,而治疗大肠癌的新药Thiazolides,是一类针对细菌、病毒、蠕虫和原虫的新型抗菌药物,现在众多数据表明,他在治疗大肠癌中的主要功效来自于他独特的抗菌能力,Thiazolides可以通过抗菌作用诱导大肠癌细胞凋亡,而对正常的细胞没有明显的不良反应^[51,52]。

肠道细菌诱发大肠癌的机制正越来越清晰,但是对于多种细菌如何产生协同作用,以及肠道细菌导致的炎症诱发大肠癌之后,是如何作用于肿瘤生长,转移以及复发的机制却不甚了解,这将是以后研究的重点,也许可以通过对比各期肿瘤所在肠道表皮定植的细菌,以及对比同例病患肿瘤组织所在表皮和非肿瘤组织所在表皮的细菌构成来详细研究多种细菌的协同作用以及其中关键的细菌导致的主导作用,最终使肠道细菌与大肠癌的关系更加清晰。

7 参考文献

- Bernard WS, Christopher PW. World cancer report 2014. WHO, 2014 Available from: <http://apps.who.int/bookorders/anglais/detart1.jsp?codlan=1&codcol=80&codcch=275>
- Siegel R, Desantis C, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64: 104-117 [PMID: 24639052 DOI: 10.3322/caac.21220]
- 马全玲, 魏殿军. 细菌在致癌中的作用. *中国卫生检验杂志* 2013; 23: 2857-2862
- Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, Gordon JI, Relman DA, Fraser-Liggett CM, Nelson KE. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 2006; 312: 1355-1359 [PMID: 16741115]
- Swidsinski A, Khilkin M, Kerjaschki D, Schreiber S, Ortner M, Weber J, Lochs H. Association between intraepithelial *Escherichia coli* and colorectal cancer. *Gastroenterology* 1998; 115: 281-286 [PMID: 9679033]
- Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan TJ, Campbell BJ, Abujamel T, Dogan B, Rogers AB, Rhodes JM, Stintzi A, Simpson KW, Hansen JJ, Keku TO, Fodor AA, Jobin C. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science* 2012; 338: 120-123 [PMID: 22903521]
- Maddocks OD, Scanlon KM, Donnenberg MS. An *Escherichia coli* effector protein promotes host mutation via depletion of DNA mismatch repair proteins. *MBio* 2013; 4: e00152-e00113 [PMID: 23781066 DOI: 10.1128/mBio.00152-1]
- Collins D, Hogan AM, Winter DC. Microbial and viral pathogens in colorectal cancer. *Lancet Oncol* 2011; 12: 504-512 [PMID: 21067973 DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70186-8]
- Martin HM, Campbell BJ, Hart CA, Mpofu C, Nayar M, Singh R, Englyst H, Williams HF, Rhodes JM. Enhanced *Escherichia coli* adherence and invasion in Crohn's disease and colon cancer. *Gastroenterology* 2004; 127: 80-93 [PMID: 15236175]
- Shmueli H, Melzer E, Braverman M, Domniz N, Yahav J. *Helicobacter pylori* infection is associated with advanced colorectal neoplasia. *Scand J Gastroenterol* 2014; 49: 35-42 [PMID: 24164483 DOI: 10.3109/00365521.2013.848468]
- Correa P, Piazzuelo MB. *Helicobacter pylori* Infection and Gastric Adenocarcinoma. *US Gastroenterol Hepatol Rev* 2011; 7: 59-64 [PMID: 21857882]
- Ohnishi N, Yuasa H, Tanaka S, Sawa H, Miura M, Matsui A, Higashi H, Musashi M, Iwabuchi K, Suzuki M, Yamada G, Azuma T, Hatakeyama M. Transgenic expression of *Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 1003-1008 [PMID: 18192401 DOI: 10.1073/pnas.0711183105]
- Peek RM, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 28-37 [PMID: 11902583 DOI: 10.1038/nrc703]
- Machida-Montani A, Sasazuki S, Inoue M, Natsukawa S, Shaura K, Koizumi Y, Kasuga Y, Hanaoka T, Tsugane S. Atrophic gastritis, *Helicobacter pylori*, and colorectal cancer risk: a case-control study. *Helicobacter* 2007; 12: 328-332 [PMID: 17669106]
- 范学工, 夏华向. 幽门螺杆菌感染基础与临床. 第1版. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1997: 78-79
- Kikendall JW, Glass AR, Sobin LH, Bowen PE. Se-

- rum gastrin is not higher in subjects with colonic neoplasia. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 1394-1397 [PMID: 1415093]
- 17 Mulholland G, Ardill JE, Fillmore D, Chittajallu RS, Fullarton GM, McColl KE. Helicobacter pylori related hypergastrinaemia is the result of a selective increase in gastrin 17. *Gut* 1993; 34: 757-761 [PMID: 8314507]
- 18 Thorburn CM, Friedman GD, Dickinson CJ, Vogelmann JH, Orentreich N, Parsonnet J. Gastrin and colorectal cancer: a prospective study. *Gastroenterology* 1998; 115: 275-280 [PMID: 9679032]
- 19 Sameer AS, Abdullah S, Nissar S, Rasool R, Baba SM, Siddiqi MA. Helicobacter pylori in colorectal neoplasms of Kashmiri patients: What is the prevalence. *Clin Cancer Investig J* 2012; 1: 23-25 [DOI: 10.4103/2278-0513.95015]
- 20 Fujimori S, Kishida T, Kobayashi T, Sekita Y, Seo T, Nagata K, Tatsuguchi A, Gudis K, Yokoi K, Tanaka N, Yamashita K, Tajiri T, Ohaki Y, Sakamoto C. Helicobacter pylori infection increases the risk of colorectal adenoma and adenocarcinoma, especially in women. *J Gastroenterol* 2005; 40: 887-893 [PMID: 16211345]
- 21 Brook I. Clinical review: bacteremia caused by anaerobic bacteria in children. *Crit Care* 2002; 6: 205-211 [PMID: 12133179]
- 22 Linko-Kettunen L, Arstila P, Jalkanen M, Jousimies-Somer H, Lassila O, Lehtonen OP, Weintraub A, Viljanen MK. Monoclonal antibodies to Bacteroides fragilis lipopolysaccharide. *J Clin Microbiol* 1984; 20: 519-524 [PMID: 6386867]
- 23 Basset C, Holton J, Bazeos A, Vaira D, Bloom S. Are Helicobacter species and enterotoxigenic Bacteroides fragilis involved in inflammatory bowel disease? *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1425-1432 [PMID: 15481314]
- 24 Toprak NU, Yagci A, Gulluoglu BM, Akin ML, Demirkalem P, Celenk T, Soyletir G. A possible role of Bacteroides fragilis enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 782-786 [PMID: 16842574]
- 25 Sears CL. Enterotoxigenic Bacteroides fragilis: a rogue among symbiotes. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22: 349-369, Table of Contents [PMID: 19366918 DOI: 10.1128/CMR.00053-08]
- 26 Durmaz B. [Enterotoxigenic Bacteroides fragilis as a factor in diarrhea]. *Mikrobiyol Bul* 2002; 36: 99-103 [PMID: 12476774]
- 27 Wu S, Rhee KJ, Albesiano E, Rabizadeh S, Wu X, Yen HR, Huso DL, Brancati FL, Wick E, McAllister F, Housseau F, Pardoll DM, Sears CL. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med* 2009; 15: 1016-1022 [PMID: 19701202 DOI: 10.1038/nm.2015]
- 28 Wu S, Morin PJ, Maouyo D, Sears CL. Bacteroides fragilis enterotoxin induces c-Myc expression and cellular proliferation. *Gastroenterology* 2003; 124: 392-400 [PMID: 12557145]
- 29 Housseau F, Sears CL. Enterotoxigenic Bacteroides fragilis (ETBF)-mediated colitis in Min (Apc^{+/-}) mice: a human commensal-based murine model of colon carcinogenesis. *Cell Cycle* 2010; 9: 3-5 [PMID: 20009569]
- 30 Nougayrède JP, Taieb F, De Rycke J, Oswald E. Cyclomodulins: bacterial effectors that modulate the eukaryotic cell cycle. *Trends Microbiol* 2005; 13: 103-110 [PMID: 15737728]
- 31 Little J, Owen RW, Fernandez F, Hawtin PG, Hill MJ, Logan RF, Thompson MH, Hardcastle JD. Asymptomatic colorectal neoplasia and fecal characteristics: a case-control study of subjects participating in the nottingham fecal occult blood screening trial. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 1233-1241 [PMID: 12352242]
- 32 Boleij A, van Gelder MM, Swinkels DW, Tjalsma H. Clinical Importance of Streptococcus gallolyticus infection among colorectal cancer patients: systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 870-878 [PMID: 21960713 DOI: 10.1093/cid/cir609]
- 33 Lieberman DA, Weiss DG, Bond JH, Ahnen DJ, Garewal H, Chejfec G. Use of colonoscopy to screen asymptomatic adults for colorectal cancer. Veterans Affairs Cooperative Study Group 380. *N Engl J Med* 2000; 343: 162-168 [PMID: 10900274]
- 34 Abdulmir AS, Hafidh RR, Mahdi LK, Al-jeboori T, Abubaker F. Investigation into the controversial association of Streptococcus gallolyticus with colorectal cancer and adenoma. *BMC Cancer* 2009; 9: 403 [PMID: 19925668 DOI: 10.1186/1471-2407-9-403]
- 35 Abdulmir AS, Hafidh RR, Bakar FA. Molecular detection, quantification, and isolation of Streptococcus gallolyticus bacteria colonizing colorectal tumors: inflammation-driven potential of carcinogenesis via IL-1, COX-2, and IL-8. *Mol Cancer* 2010; 9: 249 [PMID: 20846456 DOI: 10.1186/1476-4598-9-249]
- 36 Boleij A, Muytjens CM, Bukhari SI, Cayet N, Glaser P, Hermans PW, Swinkels DW, Bolhuis A, Tjalsma H. Novel clues on the specific association of Streptococcus gallolyticus subsp gallolyticus with colorectal cancer. *J Infect Dis* 2011; 203: 1101-1109 [PMID: 21451000 DOI: 10.1093/infdis/jiq169]
- 37 Maddocks OD, Short AJ, Donnenberg MS, Bader S, Harrison DJ. Attaching and effacing Escherichia coli downregulate DNA mismatch repair protein in vitro and are associated with colorectal adenocarcinomas in humans. *PLoS One* 2009; 4: e5517 [PMID: 19436735 DOI: 10.1371/journal.pone.0005517]
- 38 Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 2000; 21: 361-370 [PMID: 10688856]
- 39 Hirayama A, Kami K, Sugimoto M, Sugawara M, Toki N, Onozuka H, Kinoshita T, Saito N, Ochiai A, Tomita M, Esumi H, Soga T. Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry. *Cancer Res* 2009; 69: 4918-4925 [PMID: 19458066 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4806]
- 40 Chan EC, Koh PK, Mal M, Cheah PY, Eu KW, Backshall A, Cavill R, Nicholson JK, Keun HC. Metabolic profiling of human colorectal cancer using high-resolution magic angle spinning nuclear magnetic resonance (HR-MAS NMR) spectroscopy and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS). *J Proteome Res* 2009; 8: 352-361 [PMID: 19063642 DOI: 10.1021/pr8006232]
- 41 Ahn J, Sinha R, Pei Z, Dominianni C, Wu J, Shi J, Goedert JJ, Hayes RB, Yang L. Human gut microbiome and risk for colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105: 1907-1911 [PMID: 24316595 DOI: 10.1093/jnci/djt300]
- 42 Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, Michaud M, Duke F, Earl AM, Ojesina AI, Jung J, Bass AJ, Tab-

■同行评价

本综述研究肠道微生物与大肠癌关系, 信息量大且内容新颖, 对临床操作以及实验研究都有较好的指导作用。

- enero J, Baselga J, Liu C, Shivdasani RA, Ogino S, Birren BW, Huttenhower C, Garrett WS, Meyerson M. Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012; 22: 292-298 [PMID: 22009990 DOI: 10.1101/gr.126573]
- 43 Rubinstein MR, Wang X, Liu W, Hao Y, Cai G, Han YW. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/ β -catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe* 2013; 14: 195-206 [PMID: 23954158 DOI: 10.1016/j.chom.2013.07.012]
- 44 Bongers G, Pacer ME, Geraldino TH, Chen L, He Z, Hashimoto D, Furtado GC, Ochando J, Kelley KA, Clemente JC, Merad M, van Bakel H, Lira SA. Interplay of host microbiota, genetic perturbations, and inflammation promotes local development of intestinal neoplasms in mice. *J Exp Med* 2014; 211: 457-472 [PMID: 24590763 DOI: 10.1084/jem.20131587]
- 45 Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 2008; 454: 428-435 [PMID: 18650913 DOI: 10.1038/nature07201]
- 46 Schwitalla S, Fingerle AA, Cammareri P, Nebelsiek T, Göktuna SI, Ziegler PK, Canli O, Heijmans J, Huels DJ, Moreaux G, Rupec RA, Gerhard M, Schmid R, Barker N, Clevers H, Lang R, Neumann J, Kirchner T, Taketo MM, van den Brink GR, Sansom OJ, Arkan MC, Greten FR. Intestinal tumorigenesis initiated by dedifferentiation and acquisition of stem-cell-like properties. *Cell* 2013; 152: 25-38 [PMID: 23273993 DOI: 10.1016/j.cell.2012.12.012]
- 47 Femia AP, Luceri C, Toti S, Giannini A, Dolara P, Caderni G. Gene expression profile and genomic alterations in colonic tumours induced by 1,2-dimethylhydrazine (DMH) in rats. *BMC Cancer* 2010; 10: 194 [PMID: 20459814 DOI: 10.1186/1471-2407-10-194]
- 48 Song X, Gao H, Lin Y, Yao Y, Zhu S, Wang J, Liu Y, Yao X, Meng G, Shen N, Shi Y, Iwakura Y, Qian Y. Alterations in the microbiota drive interleukin-17C production from intestinal epithelial cells to promote tumorigenesis. *Immunity* 2014; 40: 140-152 [PMID: 24412611 DOI: 10.1016/j.immuni.2013.11.018]
- 49 Cuzick J, Thorat MA, Bosetti C, Brown PH, Burn J, Cook NR, Ford LG, Jacobs EJ, Jankowski JA, La Vecchia C, Law M, Meyskens F, Rothwell PM, Senn HJ, Umar A. Estimates of benefits and harms of prophylactic use of aspirin in the general population. *Ann Oncol* 2014 Aug 5. [Epub ahead of print][PMID: 25096604]
- 50 Wang D, Fu L, Ning W, Guo L, Sun X, Dey SK, Chaturvedi R, Wilson KT, DuBois RN. Peroxisome proliferator-activated receptor δ promotes colonic inflammation and tumor growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111: 7084-7089 [PMID: 24763687 DOI: 10.1073/pnas.1324233111]
- 51 Hemphill A, Mueller J, Esposito M. Nitazoxanide, a broad-spectrum thiazolide anti-infective agent for the treatment of gastrointestinal infections. *Expert Opin Pharmacother* 2006; 7: 953-964 [PMID: 16634717]
- 52 Keeffe EB, Rossignol JF. Treatment of chronic viral hepatitis with nitazoxanide and second generation thiazolidines. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1805-1808 [PMID: 19370775]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



生长抑素对裸鼠人胃癌种植瘤内VEGF和bFGF表达的影响

邵国庆, 张南征

邵国庆, 张南征, 中国人民解放军第九七医院消化内科 江苏省徐州市 221004

邵国庆, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究.

军区医学科技创新资助项目, No. 10MA032

作者贡献分布: 此课题由邵国庆与张南征设计; 动物模型制作及免疫组织化学、免疫印迹由邵国庆操作完成; 数据分析及论文写作由邵国庆与张南征完成.

通讯作者: 张南征, 主任医师, 221004, 江苏省徐州市云龙区铜山路226号, 中国人民解放军第九七医院消化内科.

nanzhzhang@sina.com

电话: 0516-83349831

收稿日期: 2014-09-22 修回日期: 2014-10-28

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Effect of somatostatin on expression of VEGF and bFGF in human gastric cancer xenografts in nude mice

Guo-Qing Shao, Nan-Zheng Zhang

Guo-Qing Shao, Nan-Zheng Zhang, Department of Gastroenterology, the 97th Hospital of PLA, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China

Supported by: the Program of Medical Scientific and Technological Innovation of Military Region, No. 10MA032

Correspondence to: Nan-Zheng Zhang, Department of Gastroenterology, the 97th Hospital of PLA, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China. nanzhzhang@sina.com

Received: 2014-09-22 Revised: 2014-10-28

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

Abstract

AIM: To observe the effect of somatostatin on the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor (bFGF) in subcutaneous xenografts derived from human gastric carcinoma SGC-7901 cells in nude mice.

METHODS: An animal model of human gastric cancer xenograft was established by subcutaneously implanting SGC-7901 cells in nude mice. Twenty-four nude mice were randomly divided into four groups and treated with normal saline (group A), octreotide (group B), high-dose somatostatin (group C) and low-dose somatostatin (group D) for three weeks, respectively. After treatment, the animals were killed to take the tumors. The expression of VEGF and bFGF was

examined by immunohistochemistry and Western blot.

RESULTS: Immunohistochemical analysis indicated that the integral optical density (IOD)/area (/pix²) of VEGF in groups A-D were 0.644 ± 0.022, 0.549 ± 0.002, 0.345 ± 0.019 and 0.435 ± 0.018, respectively. The expression of VEGF protein in tumor tissue was significantly higher in group A than in the other three groups ($P < 0.001$). Compared with group B, the expression of VEGF was reduced more significantly in groups C and D ($P < 0.001$ for both). The IOD/area (/pix²) of bFGF in groups A-D were 0.723 ± 0.018, 0.558 ± 0.004, 0.288 ± 0.017 and 0.595 ± 0.011, respectively. The expression of bFGF protein in tumor tissue was significantly higher in group A than in the other three groups ($P < 0.001$). Compared with group B, the expression of bFGF was reduced more significantly only in group C ($P < 0.001$). Western blot analysis indicated that the relative expression of VEGF in groups A-D were 0.98 ± 0.02, 0.76 ± 0.02, 0.53 ± 0.01 and 0.53 ± 0.01, respectively. The relative expression of bFGF in groups A-D were 0.76 ± 0.02, 0.71 ± 0.02, 0.32 ± 0.01 and 0.51 ± 0.01, respectively. The expression of bFGF and VEGF protein was significantly higher in group A than in the other three groups ($P < 0.001$). Compared with group B, the expression of VEGF and bFGF was reduced more significantly in groups C and D ($P < 0.001$).

CONCLUSION: Somatostatin can down-regulate the expression of VEGF and bFGF in subcutaneous xenografts derived from human gastric carcinoma SGC-7901 cells in nude mice, and the effect is more obvious than that of octreotide.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Nude mice; Somatostatin; Vascular endothelial growth factor; bFGF

Shao GQ, Zhang NZ. Effect of somatostatin on expression of VEGF and bFGF in human gastric cancer xenografts in nude mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi*

■背景资料

生长抑素类似物(somatostatin analogues, SSTA)能够在体内外抑制胃癌细胞的增殖、促进其凋亡, 主要机制是与部分生长抑素受体结合发挥作用, 而十四肽生长抑素不仅能够与5种受体亚型完全结合, 且结合能力明显优于SSTA, 但目前国内外尚缺乏十四肽生长抑素对胃癌作用的动物实验研究.

■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

随着对实验动物模型的观察,发现生长抑素不仅能够显著抑制胃癌细胞的增殖,还能够下调肿瘤血管生成相关因子的表达,为胃癌的内分泌治疗提供了新的思路。

2014; 22(36): 5659-5664 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5659.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5659>

摘要

目的: 观察生长抑素对裸鼠人胃癌SGC-7901细胞种植瘤血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)表达的影响。

方法: 采用人胃癌SGC-7901细胞株建立裸鼠人胃癌种植瘤模型24只,随机分为4组,分别尾静脉给予生理盐水(A组)、奥曲肽(B组)、高剂量生长抑素(C组)及低剂量生长抑素(D组)干预3 wk后,处死动物并获取肿瘤组织;采用免疫组织化学法及蛋白印迹法检测各肿瘤组织内VEGF和bFGF的表达情况。

结果: 免疫组织化学结果显示, A、B、C、D组肿瘤组织中VEGF的平均光密度值(pix^2)分别为 0.644 ± 0.022 、 0.549 ± 0.002 、 0.345 ± 0.019 、 0.435 ± 0.018 ,与A组相比, B、C、D组VEGF表达量均下调($P < 0.001$);与B组相比, C、D组VEGF表达量下调更为显著($P < 0.001$)。A、B、C、D组肿瘤组织中bFGF的平均光密度值(pix^2)分别为 0.723 ± 0.018 、 0.558 ± 0.004 、 0.288 ± 0.017 、 0.595 ± 0.011 ,与A组相比, B、C、D组bFGF的表达量均下调($P < 0.001$);与B组比较, C组bFGF的表达下调更为显著($P < 0.001$)。免疫印迹结果显示: A、B、C、D组肿瘤组织中VEGF的相对灰度值分别为 0.98 ± 0.02 、 0.76 ± 0.02 、 0.53 ± 0.01 、 0.53 ± 0.01 ; bFGF的相对灰度值分别为 0.76 ± 0.02 、 0.71 ± 0.02 、 0.32 ± 0.01 、 0.51 ± 0.01 ;与A组相比, B、C、D组VEGF、bFGF表达量下调明显($P < 0.001$); C、D组较B组二者表达量亦显著下调($P < 0.001$)。

结论: 生长抑素能够下调裸鼠人胃癌种植瘤内VEGF、bFGF的表达,且较奥曲肽表现出更明显的下调优势。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 裸鼠; 生长抑素; 血管内皮生长因子; 碱性成纤维细胞生长因子

核心提示: 生长抑素能够下调裸鼠人胃癌种植瘤内血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor)的表达,且较类似物奥曲肽表现出更明显的下调优势。

■ 相关报道

国内有报道了生长抑素在体外对胃癌细胞株生长有明显的抑制作用,尚缺乏动物实验研究。

邵国庆, 张南征. 生长抑素对裸鼠人胃癌种植瘤内VEGF和bFGF表达的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5659-5664 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5659.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5659>

0 引言

胃癌是消化系最常见的恶性肿瘤之一,最新的统计结果发现^[1],在我国,不论城市还是农村地区,其发病率均高居第2位,死亡率均居于第3位.对于失去手术机会的中晚期胃癌患者,传统的化疗、放疗等手段效果欠佳.生长抑素是一种具有广泛生物学活性的环形多肽类激素,在体内主要表现为对内、外分泌显著的抑制效应,其类似物治疗肿瘤的研究已开展多年^[2].胃癌虽为实体肿瘤,但研究发现^[3,4]生长抑素类似物(somatostatin analogues, SSTA)在体内外同样能够抑制胃癌细胞的增殖、促进细胞凋亡.已探讨的可能机制包括直接^[5]和间接^[6]2条途径:前者是SSTA通过与不同的生长抑素受体(somatostatin receptor, SSTR)亚型结合后,激活下游信号通路来发挥抗肿瘤作用;后者则主要是SSTA通过抑制促肿瘤生长的细胞外因子的合成与分泌、抑制肿瘤血管生成等作用来完成.但由于SSTA只能与部分受体亚型结合,且结合能力相对有限,可能限制了其抗肿瘤作用的发挥.而十四肽生长抑素不仅能够与5种受体亚型完全结合^[7],且结合能力明显由于SSTA.故本研究采用人工合成十四肽生长抑素治疗胃癌裸鼠种植瘤,观察其较类似物奥曲肽在调控血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)等肿瘤血管生成相关因子表达上的优劣,并为生长抑素治疗胃癌提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 SGC-7901细胞株为中分化人胃腺癌细胞由徐州医学院肿瘤研究所保存惠赠.♀ Balb/c裸鼠, SPF级, 4-6周龄, 体质量16-20 g, 购自上海斯莱克实验动物有限公司, 动物合格证号: SCXK(沪)2008-0016, 饲养于徐州医学院动物实验中心SPF屏障系统内.生长抑素为默克雪兰诺公司生产(购自徐州医学院附属医院).奥曲肽为瑞士诺华公司生产(购自中国人民解放军第九七医院).兔抗人VEGF单克隆抗体和兔抗人bFGF多克隆抗体均购自美国Abcam公司. SP

三步法检测试剂盒和DAB试剂盒均购自碧云天公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和裸鼠模型构建: SGC-7901细胞培养于含10%灭活小牛血清的RPMI 1640培养基中, 1-2 d换液1次。取对数生长期的细胞, 台盼蓝检测细胞活力 $\geq 90\%$, 用PBS制备成 $(1-2) \times 10^7$ cells/mL浓度的细胞悬液, 以每只0.2 mL接种于各裸鼠右腋皮下。裸鼠置于SPF层流系统中饲养, 所应用的饲料、垫料、笼具及接触的器械等均高压消毒后使用。

1.2.2 药物治疗: 待裸鼠接种部位肿瘤长至100-300 mm³时, 将裸鼠称质量并随机分为4组: 对照组(给予同体积无菌生理盐水)、奥曲肽组(0.1 mg/kg)、高剂量生长抑素组(1.0 mg/kg)、低剂量生长抑素组(0.1 mg/kg), 每组各6只裸鼠。采用每天1次尾静脉给药, 连续用药3 wk, 末次用药24 h后处死动物并获取肿瘤组织。

1.2.3 免疫组织化学法检测VEGF和bFGF表达: 肿瘤组织用40 g/L甲醛溶液固定, 经脱水、包埋、4 μ m厚连续切片。VEGF和bFGF抗体稀释度分别为1:100和1:200, 操作步骤严格按照SP试剂盒说明书进行。用PBS代替一抗作阴性对照, 用已知阳性片作阳性对照。VEGF和bFGF阳性表达均为肿瘤细胞胞质染成棕黄色。显微镜下观察并拍摄图片, 采用Image pro-plus 6.0图像分析软件测量各图片免疫阳性区的总光密度值(integral optical density, IOD)和面积(area), 以平均光密度值[optical density (mean) = IOD/area]代表各蛋白的含量。

1.2.4 免疫印迹法检测VEGF和bFGF表达: 提取肿瘤组织中的总蛋白, BCA法检测蛋白浓度, SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜, 5%脱脂奶粉封闭, TBST洗膜后一抗孵育, 4 $^{\circ}$ C过夜, TBST洗膜后二抗室温孵育2 h, DAB显色试剂盒显色并拍照。采用Image J图像分析系统对结果进行分析, 计算目的蛋白与内参的OD比值。

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件包进行统计分析, 所有数据均以mean \pm SD表示, 单处理因素多样本均数的比较采用单因素方差分析, 并用LSD-*t*检验进行样本均数间两两比较。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组织化学法检测VEGF和bFGF的表达结果 VEGF在A、B、C、D组表达量的平均

光密度值(/pix²)分别为 0.644 ± 0.022 、 0.549 ± 0.002 、 0.345 ± 0.019 和 0.435 ± 0.018 , 各组间比较, 差异有统计学意义($F = 120.662$, $P < 0.001$); 与在B组表达量的平均光密度值比较, C组VEGF的表达量显著下调, 差异有统计学意义($t = 13.6$, $P < 0.001$); 与在B组表达量的平均光密度值比较, D组VEGF的表达量下调显著, 差异有统计学意义($t = 7.6$, $P < 0.001$); 与在D组表达量的平均光密度值比较, C组VEGF表达下调更为明显, 差异有统计学意义($t = 6.0$, $P < 0.001$)(图1)。bFGF在A、B、C、D组的表达量的平均光密度值(/pix²)分别为 0.723 ± 0.018 、 0.558 ± 0.004 、 0.288 ± 0.017 和 0.595 ± 0.011 , 各组件比较, 差异有统计学意义($F = 591.857$, $P < 0.001$); 与在B组表达量的平均光密度值比较, D组bFGF的表达量下调更为显著, 差异有统计学意义($t = 27.0$, $P < 0.001$); 与在D组表达量的平均光密度值比较, C组bFGF表达下调更为明显, 差异有统计学意义($t = 31.0$, $P < 0.001$)(图2)。

2.2 免疫印迹法检测VEGF和bFGF蛋白表达结果 VEGF在A、B、C、D组表达量的相对灰度值分别为 0.98 ± 0.02 、 0.76 ± 0.02 、 0.53 ± 0.02 和 0.53 ± 0.01 , 各组间比较, 差异有统计学意义($F = 737.201$, $P < 0.001$); 与在B组表达量的相对灰度值比较, C组VEGF的表达量显著下调, 差异有统计学意义($t = 23.0$, $P < 0.001$); 与在B组表达量的相对灰度值比较, D组VEGF的表达量下调显著, 差异有统计学意义($t = 23.0$, $P < 0.001$); C、D两组间VEGF表达量的相对灰度值无统计学差异($P = 0.598$)(图3)。bFGF在A、B、C、D组的表达量的相对灰度值分别为 0.76 ± 0.02 、 0.71 ± 0.02 、 0.32 ± 0.01 和 0.51 ± 0.01 , 各组间比较, 差异有统计学意义($F = 501.312$, $P < 0.001$); 与在B组表达量的相对灰度值比较, C组bFGF的表达量下调显著, 差异有统计学意义($t = 39.0$, $P < 0.001$); 与在B组表达量的相对灰度值比较, D组bFGF的表达量下调显著, 差异有统计学意义($t = 20.0$, $P < 0.001$); 与在D组表达量的相对灰度值比较, C组bFGF表达下调更为明显, 差异有统计学意义($t = 18.0$, $P < 0.001$)(图3)。

3 讨论

生长抑素是一种具有广泛生物学活性的环形多肽类激素, 在人体内包括十四肽(SST14)和二十八肽(SST28)两种天然存在形式。其生理功能主要表现为显著地抑制效应。目前认为, 生长

■创新盘点

大多数研究关注生长抑素衍生物奥曲肽, 本研究在此基础上对生长抑素本身的作用进行了研究, 并将其作用结果与奥曲肽进行了对比。

■应用要点

生长抑素对胃癌移植瘤内血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)的表达下调优于奥曲肽,因此若将生长抑素与常规的手术、化疗和放疗联合应用,可能会进一步改善胃癌患者预后。

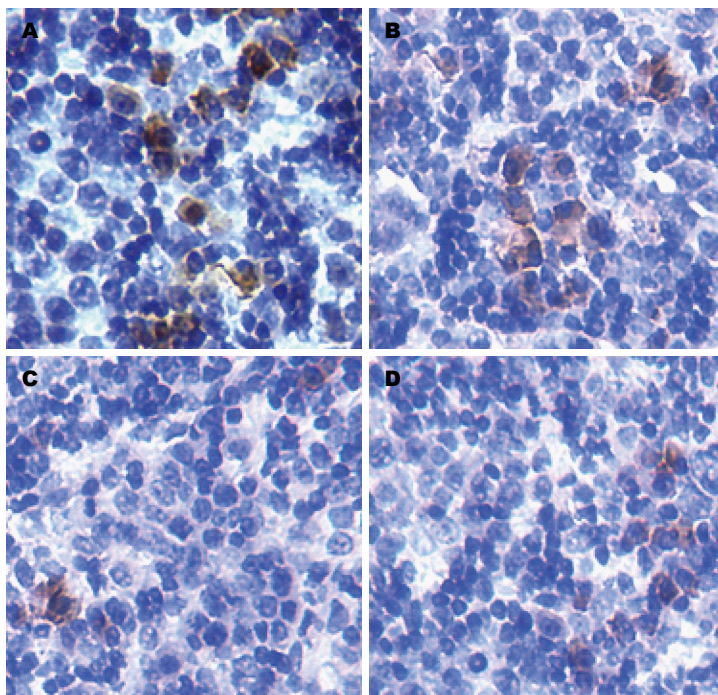


图 1 免疫组织化学法检测各种植瘤组织中VEGF蛋白的表达(SP×400)。A: 对照组; B: 奥曲肽组; C: 生长抑素高剂量组; D: 生长抑素低剂量组。VEGF: 血管内皮生长因子。

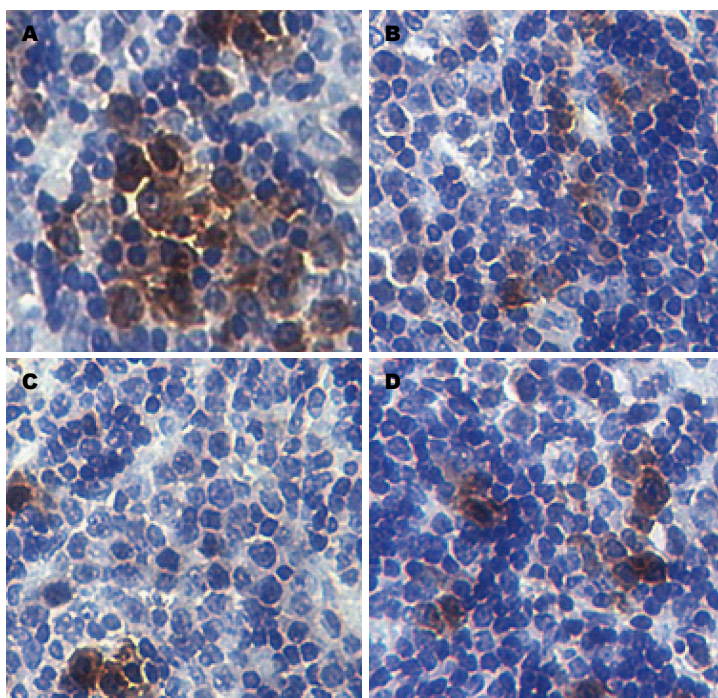


图 2 免疫组织化学法检测各种植瘤组织中bFGF蛋白的表达(SP×400)。A: 对照组; B: 奥曲肽组; C: 生长抑素高剂量组; D: 生长抑素低剂量组。bFGF: 碱性成纤维细胞生长因子。

抑素及其类似物主要通过与其体内细胞膜上的SSTR相结合而发挥其抗肿瘤作用。SSTR属G蛋白偶联型受体家族,包括SSTR1-SSTR5 5个受体亚型^[8]。不同的受体亚型介导发挥不同的作用^[9]: SSTR1能够介导抗肿瘤细胞增殖效应; SSTR2则介导抑制生长激素的释放及抗肿瘤增殖; SSTR3能诱导细胞产生凋亡; SSTR4被发现在肺内高表达,但其具体作用尚不明确;而SSTR5除了介导抑制胰岛素与胰高血糖素的分泌外,同时也参与抗肿瘤细胞的增殖。

多数学者选择人工合成的SSTA(如奥曲肽、伐普肽等)而不是生长抑素进行抗肿瘤相关研究,其主要原因是,天然生长抑素作用范围广泛、血浆半衰期短(1-3 min)、选择性不强^[10],而未能充分考虑SST14和SST28是目前仅有的能够与5种受体亚型均具有高亲和力的药物^[7]。奥曲肽不仅能够抑制肿瘤的生长,其对化疗药物的增敏作用也获得证实^[11]。因此,如果天然生长抑素能够较类似物在抑制肿瘤增殖、减少肿瘤血管生成等方面有更好的表现,肿瘤的内分泌

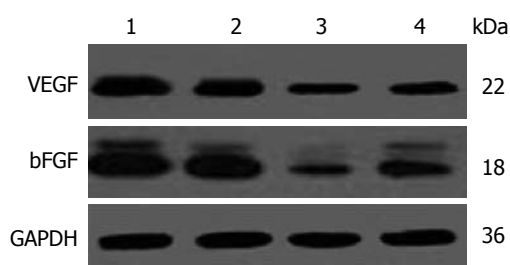


图3 免疫印迹法检测各种种植瘤组织中VEGF和bFGF蛋白的表达。1: 对照组; 2: 奥曲肽组; 3: 生长抑素高剂量组; 4: 生长抑素低剂量组。VEGF: 血管内皮生长因子; bFGF: 碱性成纤维细胞生长因子。

治疗有可能成为化疗、放疗及生物治疗等现有治疗手段的补充治疗方式。基于对生长抑素及其类似物发挥抗肿瘤作用的机制的考虑, 我们推测生长抑素在抑制胃癌生长方面较类似物可能更具优势。由于在各类似物中奥曲肽的研究在目前最为广泛和深入, 故在本实验中我们利用奥曲肽作为阳性对照药物, 比较二者对裸鼠人胃癌种植瘤内促血管生成相关因子VEGF、bFGF表达的影响。

VEGF、bFGF均已被证实为最强有力的促血管生成因子, 在肿瘤的局部生长和远处转移方面发挥着重要作用。有体外研究表明^[12,13]奥曲肽能够抑制人胃癌细胞SGC-7901中VEGF和鼠科内皮细胞HECa10中bFGF的分泌, 动物实验亦证实^[14,15], 奥曲肽能够下调胃癌种植瘤内VEGF、bFGF的表达, 而李洪华等^[16]研究也发现, 奥曲肽皮下注射不仅能够降低SSTR2表达阳性的胃癌患者血清中VEGF、bFGF的浓度, 还能够下调其肿瘤组织中二者的表达, 提示奥曲肽在体内外均可能参与抑制肿瘤新生血管的形成。本实验采用动物皮下移植瘤模型, 于体内水平研究生长抑素及其类似物对胃癌组织VEGF、bFGF表达的影响, 结果发现, 生长抑素及奥曲肽作用于裸鼠后, 肿瘤组织中VEGF、bFGF蛋白的表达均较对照组有所下调, 且同等质量浓度下, 生长抑素组的下调量明显高于奥曲肽组。免疫组织化学法和免疫印迹法的检测结果基本一致, 提示生长抑素及其类似物均可能参与抑制VEGF和bFGF的合成与分泌。而生长抑素较奥曲肽之所以表现出一定的抑制优势, 分析可能的原因包括: (1)生长抑素较奥曲肽能够更高效地结合瘤体及瘤周分布的各生长抑素受体亚型, 使受体后抑制肿瘤效应达到最大化; (2)生长抑素在体内对瘤体分泌的各种促肿瘤生长的

激素和因子较奥曲肽有更强的抑制作用; (3)奥曲肽是生长抑素长效类似物, 长期应用可能会导致瘤体和瘤周生长抑素受体的封闭, 反而抑制了其作用的发挥。另外, 从手术中所获取的人胃癌组织标本的检测情况来看, 生长抑素受体亚型的表达在不同分化类型的胃癌组织中存在差异^[17], 而不同的受体亚型又介导发挥不同的抗肿瘤效应, 这必然在一定程度上影响生长抑素及其类似物作用的发挥。具体到本实验, SGC-7901细胞系是我国自行建系的细胞系^[18], 属于中分化腺癌, 因此对SGC-7901种植瘤内生长抑素受体亚型表达情况的检测、对分别应用生长抑素及其类似物后种植瘤内生长抑素受体亚型的检测均将成为下一步实验的重点。需要注意的是, 免疫组织化学法和免疫印迹法仅仅是对VEGF、bFGF在蛋白水平的表达情况进行了定性和半定量的分析, 生长抑素及其类似物对二者在mRNA水平和血清内含量的影响是否同样存在差异还需进一步检测获知。

本研究结果表明, 生长抑素对胃癌移植瘤内VEGF、bFGF的表达下调优于奥曲肽, 提示若将生长抑素与常规的手术、化疗和放疗联合应用, 可能会进一步改善胃癌患者预后。

4 参考文献

- 1 陈万青, 张思维, 曾红梅, 郑荣寿, 邹小农, 赵平, 吴良有, 李光琳, 赫捷. 中国2010年恶性肿瘤发病与死亡. 中国肿瘤 2014; 23: 1-10
- 2 Rinke A, Müller HH, Schade-Brittinger C, Klose KJ, Barth P, Wied M, Mayer C, Aminossadati B, Pape UF, Bläker M, Harder J, Arnold C, Gress T, Arnold R. Placebo-controlled, double-blind, prospective, randomized study on the effect of octreotide LAR in the control of tumor growth in patients with metastatic neuroendocrine midgut tumors: a report from the PROMID Study Group. *J Clin Oncol* 2009; 27: 4656-4663 [PMID: 19704057 DOI: 10.1200/JCO.2009.22.8510]
- 3 张南征, 杜文琪, 王消冰. 奥曲肽对人胃癌细胞抑制作用的实验研究. 实用临床医药杂志 2003; 7: 293-299
- 4 Szepeshazi K, Schally AV, Nagy A, Wagner BW, Bajo AM, Halmos G. Preclinical evaluation of therapeutic effects of targeted cytotoxic analogs of somatostatin and bombesin on human gastric carcinomas. *Cancer* 2003; 98: 1401-1410 [PMID: 14508826 DOI: 10.1002/cncr.11649]
- 5 Weckbecker G, Lewis I, Albert R, Schmid HA, Hoyer D, Bruns C. Opportunities in somatostatin research: biological, chemical and therapeutic aspects. *Nat Rev Drug Discov* 2003; 2: 999-1017 [PMID: 14654798 DOI: 10.1038/nrd1255]
- 6 Barnett P. Somatostatin and somatostatin receptor physiology. *Endocrine* 2003; 20: 255-264 [PMID: 12721505 DOI: 10.1385/ENDO: 20: 3: 255]
- 7 Hoyer D, Lübbert H, Bruns C. Molecular pharmaco-

■名词解释

生长抑素类似物(SSTA): 指人工合成的多肽, 其相较于生长抑素具有作用相对单一、在某些方面更强大、血浆半衰期较长等特点, 种类有数百种, 根据残基个数, 分为六肽、七肽、八肽、十四肽等, 其中具有代表性的有奥曲肽、伐普肽、兰瑞肽及司格列肽等。

■同行评价

文章研究了生长抑素对胃癌细胞 VEGF、bFGF 的影响, 研究设计合理、方法得当, 得出结果可靠, 结论正确, 与大多数研究关注生长抑素衍生物奥曲肽相比具有一定的创新性。

- cology of somatostatin receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1994; 350: 441-453 [PMID: 7870182 DOI: 10.1007/BF00173012]
- 8 Froidevaux S, Eberle AN. Somatostatin analogs and radiolabeled peptides in cancer therapy. *Biopolymers* 2002; 66: 161-183 [PMID: 12385036 DOI: 10.1002/bip.10256]
 - 9 Lewis I, Bauer W, Albert R, Chandramouli N, Pless J, Weckbecker G, Bruns C. A novel somatostatin mimic with broad somatotropin release inhibitory factor receptor binding and superior therapeutic potential. *J Med Chem* 2003; 46: 2334-2344 [PMID: 12773038 DOI: 10.1021/jm021093t]
 - 10 Schally AV, Szepeshazi K, Nagy A, Comaru-Schally AM, Halmos G. New approaches to therapy of cancers of the stomach, colon and pancreas based on peptide analogs. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61: 1042-1068 [PMID: 15112052 DOI: 10.1007/s00018-004-3434-3]
 - 11 苏海燕, 刘文天, 王邦茂, 张文治, 苏心. 生长抑素类似物联合丝裂霉素对胃癌细胞的抑制作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 815-81
 - 12 郭雯珩, 王川, 洪天姿, 傅芳萌, 张捷, 郑美春. 生长抑素受体亚型2、5在胃癌细胞株中的表达及奥曲肽对胃癌细胞分泌VEGF的抑制作用. *临床和实验医学杂志* 2010; 9: 321-323
 - 13 Lawnicka H, Stepień H, Wyczółkowska J, Kolago B, Kunert-Radek J, Komorowski J. Effect of somatostatin and octreotide on proliferation and vascular endothelial growth factor secretion from murine endothelial cell line (HECa10) culture. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 268: 567-571 [PMID: 10679244 DOI: 10.1006/bbrc.2000.2119]
 - 14 王承党, 陈滢珊, 刘霞. 生长抑素类似物抑制人胃癌裸鼠种植瘤的生长增殖的研究. *中华肿瘤防治杂志* 2006; 13: 1060-1063
 - 15 季永生, 王承党. 生长抑素类似物对裸鼠人胃癌种植瘤Hpa和bFGF表达的影响. *中华肿瘤防治杂志* 2006; 13: 740-743
 - 16 李洪华, 王昕琛, 陆建荣, 何科基, 杨镇. 短期给予生长抑素抑制胃癌血管形成的研究. *癌症* 2003; 22: 990-993
 - 17 杨晓莉, 李小京. 不同亚型的生长抑素受体在胃癌组织中的表达变化及临床诊断意义. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 4306-4311
 - 18 林超鸿, 富志民, 刘亚伦, 杨金龙, 徐竞芳, 陈其三, 陈海明. 人体胃腺癌细胞株SGC-7901的建立. *肿瘤* 1981; 1: 1-3

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



Twist2诱导上皮细胞间质转分化对结肠癌的增殖和迁移的影响

李义

李义, 贵航贵阳医院普外科 贵州省贵阳市 550009
李义, 副主任医师, 主要从事普外科的临床研究.
作者贡献分布: 李义负责课题的设计、数据的统计分析 & 论文的写作.
通讯作者: 李义, 副主任医师, 550009, 贵州省贵阳市黄河路420号, 贵航贵阳医院普外科. liyi193312@126.com
电话: 0851-3831283
收稿日期: 2014-09-29 修回日期: 2014-10-17
接受日期: 2014-11-25 在线出版日期: 2014-12-28

Twist2 promotes colon cancer progression by inducing epithelial-mesenchymal transition

Yi Li

Yi Li, Department of General Surgery, Guihang Guiyang Hospital, Guiyang 550009, Guizhou Province, China
Correspondence to: Yi Li, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Guihang Guiyang Hospital, 420 Huanghe Road, Guiyang 550009, Guizhou Province, China. liyi193312@126.com
Received: 2014-09-29 Revised: 2014-10-17
Accepted: 2014-11-25 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To investigate the role of Twist2 as a potential target for the treatment of colon cancer in regulating epithelial-mesenchymal transition (EMT).

METHODS: Cell proliferation and migration were determined in colon cancer SW480 cells transfected with pBABE-puro-Twist2, a vector expressing Twist2, and expression levels of E-cadherin, β -catenin and N-cadherin were assessed using qRT-PCR and Western blot. Cancer stem cell subpopulations in non-transfected cells and transfected cells were detected by flow cytometry. Cell migration assay (scratch test) and cell invasion assay were used to determine cell migration and invasion capacity.

RESULTS: Real-time quantitative PCR and Western blot analyses showed that the expression of EMT-related markers E-cadherin

and N-cadherin was up-regulated and down-regulated in the transfected cells, respectively. The transfected cells showed stronger ability of migration and invasion. Twist2 enhanced the capability of forming colonospheres and colonies. CD24 is a HCC stem cell marker, and we discovered that overexpression of Twist2 increased the proportion of CD24⁺ subpopulation and up-regulated the stem cell proteins. Cell migration assay (scratch test) and cell invasion assay suggested that Twist could promote the migration and invasion of colon cancer cells.

CONCLUSION: Twist2 can promote liver cancer progression by inducing EMT and endowing cancer cells with stem cell-like ability.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Twist2; Epithelial-mesenchymal transition; Cancer stem cell; Colon cancer

Li Y. Twist2 promotes colon cancer progression by inducing epithelial-mesenchymal transition. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5665-5670 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5665.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5665>

摘要

目的: 探讨Twist2在膀胱癌形成中的机制, 希望为解决临床实际问题提供了理论依据, 具有重要的理论价值意义。

方法: 实时定量PCR和Western blot检测在肿瘤上皮-间充质细胞转分化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程中基因mRNA表达水平的变化, 流式细胞标技术检测对照组和实验组中与肿瘤干细胞亚群的表达变化. 细胞迁移实验结果(刮痕实验)和细胞侵袭实验检测结肠癌细胞株的迁移和侵袭的变化。

结果: 实时定量PCR和Western blot检测结果表明, 实验组EMT相关标志物E-cadherin和N-cadherin在mRNA水平的表达分别上

背景资料

上皮-间充质细胞转分化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是存在于生物体特定生理和病理条件下的常见过程. 在这个变化的过程中, 上皮细胞丢失掉上皮样的特征, 转变为没有极性、迁移能力强的间充质样细胞。

同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

■ 研究前沿

当上皮细胞的基底面降解和细胞迁移离开上皮层时, 此时就意味着EMT过程的完成。随着对肿瘤的深入研究, 人们发现恶性肿瘤细胞的生长、分化等特征与干细胞密切相关, 进而推测肿瘤的发生起源于干细胞, 并提出肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)学说。

调和下调($P < 0.05$)。流式细胞标技术检测对照组和实验组中与肿瘤干细胞亚群的表达变化。其中实验组肿瘤干细胞CD44⁺/CD24⁻的亚群相比于对照组有明显的上调, 具有统计学意义($P < 0.05$)。说明Twist2蛋白可能通过抑制*E-cadherin*基因转录活性, 诱发结肠癌细胞发生EMT来提高肿瘤干细胞的比例。细胞迁移实验结果(刮痕实验)和细胞侵袭实验, 显示Twist过表达细胞与SW480空载细胞相比, 出现了明显的迁移和侵袭运动, 说明Twist可以促进结肠癌细胞株的迁移和侵袭。

结论: Twist2蛋白可能通过抑制*E-cadherin*基因转录活性, 诱发结肠癌细胞发生EMT来提高肿瘤干细胞的比例和自我更新的能力来促进结肠癌的发生和发展。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: Twist2; 上皮-间充质细胞转分化; 肿瘤干细胞; 结肠癌

核心提示: Twist2蛋白可能通过抑制*E-cadherin*基因转录活性, 诱发结肠癌细胞发生上皮细胞间质转分化来提高肿瘤干细胞的比例和自我更新的能力来促进结肠癌的发生和发展。

李义. Twist2诱导上皮细胞间质转分化对结肠癌的增殖和迁移的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5665-5670 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5665.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5665>

0 引言

正常的上皮细胞具有典型的顶面-底面极性, 细胞间存在紧密连接和黏附连接, 他的基底面与基底膜相连。当上皮细胞失去这种典型的上皮样结构, 获得迁移和侵袭的能力, 变成具有间充质细胞形态和特征的细胞, 该变化过程即上皮-间充质细胞转分化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)^[1,2]。在EMT转分化的过程中, 细胞的特征性蛋白表达发生一系列的变化, 上皮样细胞特征蛋白*E-cadherin*等表达量下降, 间充质样细胞特征蛋白Vimentin、 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)等表达量上升^[3]。当上皮细胞的基底面降解和细胞迁移离开上皮层时, 此时就意味着EMT过程的完成。Snail、Slug、Twist、ZEB1、ZEB2等转录因子可以直接或间接地作用于*E-cadherin*的启动子上抑制其表达。随着对肿瘤的深入研究, 人们发现

恶性肿瘤细胞的生长、分化等特征与干细胞密切相关, 进而推测肿瘤的发生起源于干细胞, 并提出肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)学说。随后, 研究者先后从急性髓系白血病、乳腺癌、脑肿瘤(如星形胶质瘤)都分离出来肿瘤干细胞^[4-6]。因此本文从Twist2诱导EMT和增强肿瘤干细胞特性从而促进结肠癌的发生发展的视角来探讨结肠癌的发生发展, 为后续治疗结肠癌提供理论参考价值。

1 材料和方法

1.1 材料 细胞株Caco2采购自美国菌种保藏中心(American Tissue Culture Collection, ATCC), 包装细胞系GP2-293和逆转录病毒载体pBABE-puro由美国加州大学伯克利分校罗坤新教授惠赠。Twist2(Abnova, Taipei, Taiwan), Flag(Sigma-Aldrich), *E-cadherin*、 β -catenin、N-cadherin均购自Santa Cruz公司(America)。异硫氰酸荧光素标记的CD44抗体、PE标记的CD24抗体及FAC-SCalibur流式细胞仪购自BD Biosciences公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 细胞培养在DMEM完全培养基中, 添加10%的胎牛血清(fatal bovine serum, FBS), 青霉素(100 U/mL)和链霉素(100 μ g/mL), 于37 $^{\circ}$ C、50 mL/L CO₂培养箱中通气培养。

1.2.2 目的基因Twist2过表达细胞系的构建: 人源的Twist2-HA cDNA克隆到pBABE-puro表达载体上。稳定表达的细胞系的构建通过反转录病毒感染获得。包装细胞系GP2-293长至60%丰度时, 通过脂质体2000(Invitrogen, USA)转染5 μ g的pBABE-puro或者pBABE-puro-Twist 2-HA和5 μ g的pCMV-VSVG。转染48 h后, 收集病毒上清液并在3000 *g*离心3 min。上清转移至新的Eppendorf管并经由0.45 μ m的滤膜过滤获得干净的实验用病毒颗粒。将其感染目的细胞, 24 h后, 替换含有2 mg/mL嘌呤霉素的选择性培养基。含有Twist2-HA或者空载的细胞系通过体外实验RT-PCR和Western blot进行验证。

1.2.3 实时定量PCR验证EMT相关基因的mRNA水平: 总RNA的提取参考TRIzol试剂盒(Invitrogen公司)使用说明书, 整个提取处于无RNase的环境下。EMT标志物相关基因, 包括*E-cadherin*和Vimentin的mRNAs水平通过SYBR Green法实时定量逆转录PCR进行扩增。数据同时以3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)作为标准内参并进行归一化处理, 计算出每个基因在不同

分组细胞中的表达量,每个样本进行三个生物学重复.引物序列如下: E-cadherin, 正向引物: 5'-TGCCCAGAAAATGAAAAAGG-3', 反向引物: 5'-GTGTATGTGGCAATGCGTTC-3'; Vimentin, 正向引物: 5'-GAGA AACTTTGCC-GTTGAAGC-3', 反向引物: 5'-GCTTCCTGTAG-GTGGCAATC-3'; GAPDH, 正向引物序列为: 5'-CACCCACTCCTCCACCTTTG-3', 反向引物: 5'-CCACCACCCTGTTGCTGTAG-3'.

1.2.4 Western blot检测: 蛋白免疫印迹(Western blot)实验方法介绍如文献[1]所示: 通过破裂细胞, 获取细胞裂解液进行SDS-PAGE凝胶电泳, 并与抗Twist2、Flag、E-cadherin、 β -catenin、N-cadherin进行免疫分析, 稀释比例为1:1000, 用于进一步实验分析, 判定各基因在不同细胞样本中的蛋白表达水平.

1.2.5 流式细胞术检测肿瘤细胞干性: CD44⁺/CD24⁻细胞亚群的分选通过异硫氰酸荧光素标记的CD44抗体和PE标记的CD24抗体进行检测. 细胞标记后用FACSCalibur流式细胞仪对CD44/CD24标志物进行检测, 分析结肠癌细胞株中CD44⁺/CD24⁻细胞亚群的数量并做进一步分析.

1.2.6 细胞划痕实验: 细胞以 5×10^5 个的密度接种于6 cm培养皿中, 培养24 h后, 在培养板中间铺满细胞的位置划出一道伤痕, 并轻轻洗去划痕周围分离的细胞并加入新鲜的培养基进行培养. 用倒置显微镜记录划痕在不同的时间点下相衬图像的大小, 并对划痕做比较分析.

1.2.7 细胞侵袭实验: 体外侵袭实验: 将生长状态良好的SW480-Twist2 siRNA、SW480-Twist2、SW480及其对照细胞, 常规胰酶消化, 调整细胞浓度为 1×10^5 个/mL. 将包被有Matrigel的Transwell小室置于24孔培养板孔中, 在每一Transwell小室的下室加条件培养液0.6 mL, 上室加细胞悬液0.2 mL. 常规培养72 h后, 取出Transwell小室用棉花棒轻轻擦去杯底膜上层的细胞, 用0.1%的结晶紫染色20 min高倍镜下计数穿透滤膜并黏附于其下表面的细胞数. 每小室底膜取6个不同视野, 计算穿膜细胞数的平均值.

统计学处理 采用SPSS17.0统计学软件进行分析, 实验数据以mean \pm SD表示, 采用Student's *t*检验方式检测组间的差异, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 实时定量PCR检测EMT相关标志物在mRNA

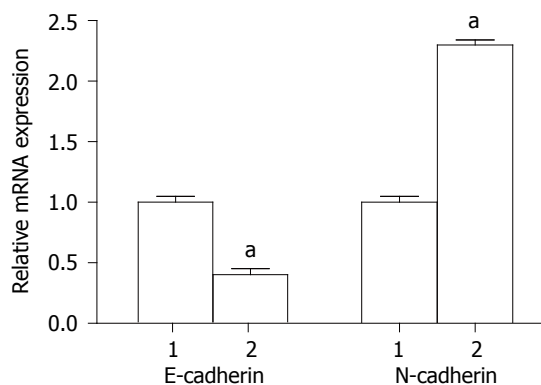


图1 实时定量PCR结果检测EMT相关标志物E-cadherin和N-cadherin在mRNA水平的表达. 1: 空白对照组(pBABE-puro); 2: 实验组(pBABE-puro-Twist 2). * $P < 0.05$ vs 空白对照组. EMT: 上皮-间充质细胞转分化.

■ 相关报道

Twist2是bHLH转录因子家族的一员. 我们发现在人结肠癌细胞系中高表达Twist2能诱导细胞发生EMT转分化, 抑制E-cadherin载体启动子活性, 并增强细胞迁徙和侵袭能力. 同时, 高表达Twist2蛋白可明显地提高结肠癌细胞系中CD24⁺细胞亚群的比例及体外成球能力, 并促进干细胞特征蛋白的表达.

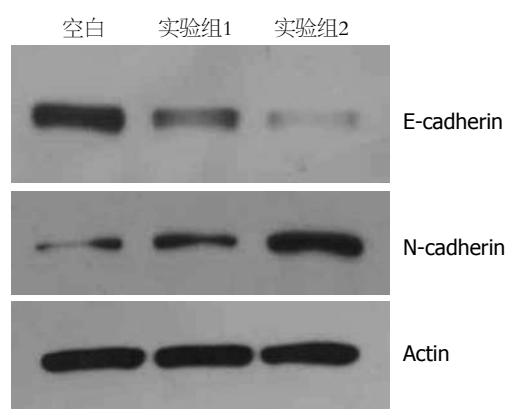


图2 Western blot结果检测EMT相关标志物E-cadherin和N-cadherin在蛋白水平的表达.

的表达水平 通过实时定量PCR检测在肿瘤EMT过程中基因mRNA表达水平的变化, 实验结果EMT相关标志物E-cadherin和N-cadherin在mRNA水平的表达分别上调和下调, 如图1所示.

2.2 EMT相关蛋白标志物的检测 通过Western blot检测在肿瘤EMT过程中蛋白表达水平的变化, 实验结果EMT相关标志物E-cadherin和N-cadherin在蛋白水平的表达分别上调和下调, 如图2所示.

2.3 流式细胞术检测结肠癌细胞株中CD44⁺/CD24⁻细胞亚群的比例 流式细胞术检测对照组和实验组中与肿瘤干细胞亚群的表达变化, 检测结果如图3所示, 其中实验组肿瘤干细胞CD44⁺/CD24⁻的亚群相比于对照组有明显的上调, 具有统计学意义($P < 0.05$). 说明Twist2蛋白可能通过抑制E-cadherin基因转录活性, 诱发结肠癌细胞发生EMT来提高肿瘤干细胞的比例.

2.4 细胞迁移实验结果(划痕实验) 图4显示Twist过表达细胞与SW482空载细胞相比, 出现了明

应用要点

本文从Twist2诱导EMT和增强肿瘤干细胞特性从而促进结肠癌的发生发展的视角来探讨结肠癌的发生发展,为后续治疗结肠癌提供理论参考价值。

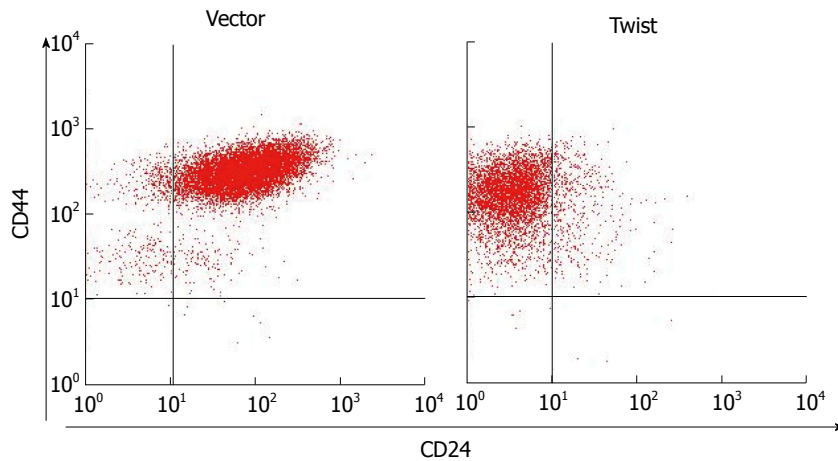


图3 流式细胞术检测结肠癌细胞株中CD44⁺/CD24⁻细胞亚群的比例在实验组和对照组中变化。

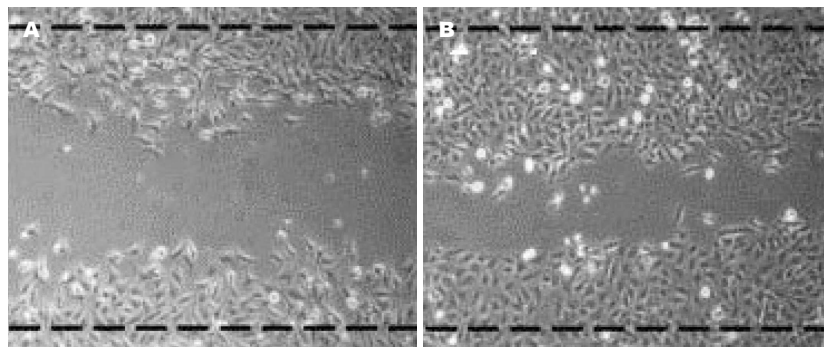


图4 转染Twist2基因前后细胞迁移的变化。A: 空白对照组(pBABE-puro)的肿瘤细胞迁移水平; B: 实验组(pBABE-puro-Twist2)的肿瘤细胞迁移水平。

显的迁移运动,说明Twist可以促进结肠癌细胞株的迁移。

2.5 细胞侵袭实验结果(Transwell实验) 细胞侵袭能力通过Transwell实验进行验证。转染Twist的SW480实验组与对照组相比具有明显的侵袭能力,说明转染Twist后可以明显增强结肠癌细胞株的侵袭能力(图5)。

3 讨论

生物体发生EMT可以引起多种不同的效应,根据其产生的不同效果,EMT可被分成三种亚型^[1]。I型EMT和胚胎的形成、器官的发育有关,这种类型的EMT可以产生多种类型的细胞,并且产生的这些细胞虽然具有间充质细胞的特征,但是却不会引起组织纤维化,也不会发生侵染组织的现象。II型EMT发生在伤口愈合、组织再生和器官纤维化的过程中。当机体发生外伤或炎症时,II型EMT参与成纤维细胞和其他相关细胞的形成而促进组织修复。III型EMT发生在肿瘤细胞中,参与肿瘤的侵袭和转移。正常的上

皮细胞基因发生突变,加上其他外界因素的刺激,上皮细胞可转化为肿瘤细胞,形成原位癌。如果肿瘤继续恶化下去,上皮样细胞丢失掉上皮样细胞的特征,逐渐获得间充质细胞的特征,形态上也发生相应的变化,并且能够突破基底膜的阻碍,侵染周围组织,进入血液循环,在其他组织器官形成转移灶。

肿瘤的形成归根结底是由基因组的不稳定性造成的,这种基因组的不稳定性使肿瘤获得了标志性的能力:拥有持续的增殖信号、能够规避生长抑制、能够抗拒细胞死亡、能够永不停息的复制、能够诱导血管生成及侵袭和转移的能力^[7]。肿瘤转移是大多数实体癌治疗不成功几乎必然发生的后果。肿瘤侵袭转移是肿瘤由原发部位向周围组织的侵袭和性不连续的远隔部位或器官的转移。肿瘤发生侵袭转移是肿瘤导致患者死亡的最主要原因,也是肿瘤恶性的重要标志和最本质表现。肿瘤的侵袭转移基本过程包括转化细胞的生长、实体瘤的细胞解离、周围组织侵袭、穿入脉管进入循环、在循

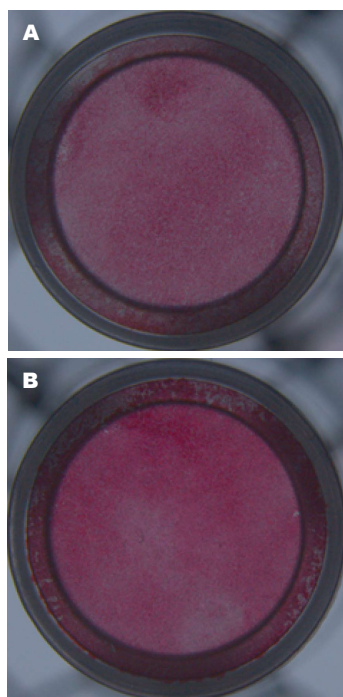


图 5 转染Twist2基因前后细胞侵袭实验结果的变化。A: 空白对照组(pBABE-puro)的肿瘤细胞侵袭水平; B: 实验组(pBABE-puro-Twist2)的肿瘤细胞侵袭水平。

环中存活并聚集、毛细血管床处停留、穿出血管壁、进入周围组织以及在新病灶处生长,最后形成转移癌。人类80%-90%的肿瘤来自上皮细胞^[8],上皮细胞发生癌变,要成功发生侵袭转移,自身会发生EMT,逐步丢失掉上皮样细胞特征,获得间充质细胞特征。这种变化在肿瘤侵袭前沿(front invasion)表现得最明显。有趣的是,当肿瘤细胞成功发生转移到达一个新的部位后,这些细胞就发生间充质样细胞向上皮样细胞转化(mesenchymal-epithelial transition, MET),丢失间充质细胞特征,重新获得上皮样细胞特征^[9]。由此可以推测,间充质样细胞迁移能力强,有利于细胞的转移,而肿瘤细胞要在一个新的部位驻扎生长,就需要恢复上皮样细胞特征,因为上皮样细胞能与新的环境形成结实的联系,加强营养物质和信息的交流。由此可见,肿瘤的侵袭转移是一个EMT和MET交替发生的动态过程。

生物体内任何一个行为都是在多个分子,多条信号通路的相互协调,共同发挥作用完成的,EMT转分化过程也不例外。研究^[10]发现在EMT过程中,细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinase, ERK)、磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)、Wnt、转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)等信

号通路异常活跃。每条信号通路或者说每个蛋白都能多方面起作用诱发EMT。目前发现许多分子高表达或活性增高会诱发EMT从而促进肿瘤的发生和发展,比如Snail、Slug、Twist1、ZEB1(zinc finger E-box binding homeobox 1)、ZEB2、SIP1、TGF- β 等^[11-15]。

4 参考文献

- 1 Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119: 1420-1428 [PMID: 19487818 DOI: 10.1172/JCI39104]
- 2 Zhao XL, Sun T, Che N, Sun D, Zhao N, Dong XY, Gu Q, Yao Z, Sun BC. Promotion of hepatocellular carcinoma metastasis through matrix metalloproteinase activation by epithelial-mesenchymal transition regulator Twist1. *J Cell Mol Med* 2011; 15: 691-700 [PMID: 20219012 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2010.01052.x]
- 3 Sigurdsson V, Hilmarsdottir B, Sigmundsdottir H, Fridriksdottir AJ, Ringnér M, Villadsen R, Borg A, Agnarsson BA, Petersen OW, Magnusson MK, Gudjonsson T. Endothelial induced EMT in breast epithelial cells with stem cell properties. *PLoS One* 2011; 6: e23833 [PMID: 21915264 DOI: 10.1371/journal.pone.0023833]
- 4 Fang X, Cai Y, Liu J, Wang Z, Wu Q, Zhang Z, Yang CJ, Yuan L, Ouyang G. Twist2 contributes to breast cancer progression by promoting an epithelial-mesenchymal transition and cancer stem-like cell self-renewal. *Oncogene* 2011; 30: 4707-4720 [PMID: 21602879 DOI: 10.1038/onc.2011.181]
- 5 Lee TK, Castilho A, Cheung VC, Tang KH, Ma S, Ng IO. CD24(+) liver tumor-initiating cells drive self-renewal and tumor initiation through STAT3-mediated NANOG regulation. *Cell Stem Cell* 2011; 9: 50-63 [PMID: 21726833 DOI: 10.1016/j.stem.2011.06.005]
- 6 Isenmann S, Arthur A, Zannettino AC, Turner JL, Shi S, Glackin CA, Gronthos S. TWIST family of basic helix-loop-helix transcription factors mediate human mesenchymal stem cell growth and commitment. *Stem Cells* 2009; 27: 2457-2468 [PMID: 19609939 DOI: 10.1002/stem.181]
- 7 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]
- 8 Christofori G, Semb H. The role of the cell-adhesion molecule E-cadherin as a tumour-suppressor gene. *Trends Biochem Sci* 1999; 24: 73-76 [PMID: 10098402]
- 9 Zeisberg M, Shah AA, Kalluri R. Bone morphogenic protein-7 induces mesenchymal to epithelial transition in adult renal fibroblasts and facilitates regeneration of injured kidney. *J Biol Chem* 2005; 280: 8094-8100 [PMID: 15591043]
- 10 Tse JC, Kalluri R. Mechanisms of metastasis: epithelial-to-mesenchymal transition and contribution of tumor microenvironment. *J Cell Biochem* 2007; 101: 816-829 [PMID: 17243120]
- 11 Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 442-454 [PMID: 12189386]
- 12 Jechlinger M, Grünert S, Beug H. Mechanisms in epithelial plasticity and metastasis: insights from 3D

■名词解释

上皮-间充质细胞转分化(EMT): 正常的上皮细胞具有典型的顶面-底面极性,细胞间存在紧密连接和黏附连接,他的基底面与基底膜相连。当上皮细胞失去这种典型的上皮样结构,获得迁移和侵袭的能力,变成具有间充质细胞形态和特征的细胞,该变化过程即上皮细胞向间充质细胞转分化。

■同行评价

探索诱导上皮细胞间质转分化从而促进结肠癌的增殖和迁移是肿瘤研究的热点, 本文课题设计合理, 方法科学, 数据分析可靠, 结论可信, 是一篇较好的研究论文, 具有较好的发表价值。

- cultures and expression profiling. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2002; 7: 415-432 [PMID: 12882526]
- 13 Shi Y, Massagué J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell* 2003; 113: 685-700 [PMID: 12809600]
- 14 Niessen K, Fu Y, Chang L, Hoodless PA, McFadden D, Karsan A. Slug is a direct Notch target required for initiation of cardiac cushion cellularization. *J Cell Biol* 2008; 182: 315-325 [PMID: 18663143 DOI: 10.1083/jcb.200710067]
- 15 Medici D, Hay ED, Olsen BR. Snail and Slug promote epithelial-mesenchymal transition through beta-catenin-T-cell factor-4-dependent expression of transforming growth factor-beta3. *Mol Biol Cell* 2008; 19: 4875-4887 [PMID: 18799618 DOI: 10.1091/mbc.E08-05-0506]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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。

新络纳联合耐信治疗胃食管反流病的临床效果比较

王艳萍, 姬林松, 倪猛, 樊宏伟, 沙金苹

王艳萍, 姬林松, 倪猛, 樊宏伟, 沙金苹, 南阳市中心医院消化科 河南省南阳市 473000

王艳萍, 主任医师, 主要从事消化内科的研究。

作者贡献分布: 此课题由于王艳萍设计; 研究过程由王艳萍与姬林松完成; 数据分析由倪猛、樊宏伟及沙金苹完成; 写作由王艳萍、姬林松、倪猛、樊宏伟及沙金苹共同写作完成。

通讯作者: 王艳萍, 主任医师, 473000, 河南省南阳市宛城区工农路312号, 南阳市中心医院消化科。641727493@qq.com

收稿日期: 2014-09-23 修回日期: 2014-10-26

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Clinical effects of esomeprazole combined with mosapride for treatment of gastroesophageal reflux disease

Yan-Ping Wang, Lin-Song Ji, Meng Ni, Hong-Wei Fan, Jin-Ping Sha

Yan-Ping Wang, Lin-Song Ji, Meng Ni, Hong-Wei Fan, Jin-Ping Sha, Department of Gastroenterology, the Central Hospital of Nanyang, Nanyang 473000, He'nan Province, China

Correspondence to: Yan-Ping Wang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Central Hospital of Nanyang, 312 Gongnong Road, Wancheng District, Nanyang 473000, He'nan Province, China. 641727493@qq.com

Received: 2014-09-23 Revised: 2014-10-26

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

Abstract

AIM: To explore the clinical effects of esomeprazole combined with mosapride in the treatment of gastroesophageal reflux disease.

METHODS: One hundred and sixteen patients with gastroesophageal reflux disease were randomly divided into either an observation group or a control group. The observation group was treated by esomeprazole combined with mosapride, and the control group was treated by esomeprazole alone. The scores of gastroesophageal reflux disease-Q (GERD-Q), the rate of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and the effective rate were compared for the two groups.

RESULTS: The scores of GERD-Q at 2, 4, and 8 wk post treatment were lower than that prior treatment (15.80 ± 2.32 , 11.80 ± 1.88 , 10.94 ± 1.32

$vs 19.23 \pm 2.75$; 17.02 ± 2.06 , 13.52 ± 1.77 , $11.41 \pm 1.46 vs 19.56 \pm 2.55$; $P < 0.05$). There were no significant differences in the scores of GERD-Q among different time points ($19.23 \pm 2.75 vs 19.56 \pm 2.55$, $15.80 \pm 2.32 vs 17.02 \pm 2.06$, $11.80 \pm 1.88 vs 13.52 \pm 1.77$, $10.94 \pm 1.32 vs 11.41 \pm 1.46$, $P > 0.05$). The effective rate for the observation group was significantly higher than that for the control group ($82.76% vs 65.52%$, $P < 0.05$). The rates of *H. pylori* infection post treatment for the two groups were lower than those prior treatment ($17.24% vs 48.28%$, $24.14% vs 50.00%$, $P < 0.05$). There was no significant difference in the rate of *H. pylori* infection post treatment between the two groups ($17.24% vs 24.14%$, $P > 0.05$).

CONCLUSION: Esomeprazole combined with mosapride has good clinical effects in the treatment of gastroesophageal reflux disease with regards to improved effective rate, scores of GERD-Q, and reduced rate of *H. pylori* infection.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Esomeprazole; Mosapride; Gastroesophageal reflux disease

Wang YP, Ji LS, Ni M, Fan HW, Sha JP. Clinical effects of esomeprazole combined with mosapride for treatment of gastroesophageal reflux disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5671-5674 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5671.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5671>

摘要

目的: 探讨埃索美拉唑联合莫沙必利治疗胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)的临床效果。

方法: 按照随机数字表法将南阳市中心医院消化科收治的116例GERD患者均分为观察组和对照组, 观察组患者给予埃索美拉唑联合莫沙必利治疗, 对照组患者仅给予埃索美拉唑治疗, 比较两组患者治疗前后胃食管反流病评分量表(gastroesophageal reflux disease-Q, GERD-Q)评分变化情况、幽门螺

■背景资料

近几年, 随着国内居民生活水平提高、饮食结构改变、生活压力增加以及非甾体抗炎药或抗胆碱能药物的大范围应用, 导致胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)发病率逐年升高, 已经引起了临床医师的普遍关注。GERD发病因素较为复杂, 下食管括约肌静息压力下降、食管远端蠕动波幅降低、食管廓清能力下降、食管黏膜屏障功能受损、胃十二指肠功能紊乱以及幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染等均可引起GERD发生。

■同行评议者

唐世刚, 教授, 河南省人民医院

■ 研发前沿

目前临床治疗GERD手段较多,包括一般资料、药物治疗、内镜治疗、手术治疗等,主要治疗目的是改善患者烧心、反流等临床症状、控制食管炎、预防和减少复发及并发症。

杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染率以及临床疗效。

结果: 观察组和对照组患者治疗2、4、8 wk后GERD-Q评分呈现明显下降趋势,均显著低于治疗前(15.80分±2.32分 vs 19.23分±2.75分、11.80分±1.88分 vs 19.23分±2.75分、10.94分±1.32分 vs 19.23分±2.75分、17.02分±2.06分 vs 19.56分±2.55分、13.52分±1.77分 vs 19.56分±2.55分、11.41分±1.46分 vs 19.56分±2.55分),差异具有统计学意义($P<0.05$); 两组间不同时间GERD-Q评分比较(19.23分±2.75分 vs 19.56分±2.55分、15.80分±2.32分 vs 17.02分±2.06分、11.80分±1.88分 vs 13.52分±1.77分、10.94分±1.32分 vs 11.41分±1.46分),差异无统计学意义($P>0.05$); 观察组患者临床疗效显著优于对照组(82.76% vs 65.52%),差异具有统计学意义($P<0.05$); 两组患者治疗后*H. pylori*感染率均显著下降,与治疗前比较(17.24% vs 48.28%、24.14% vs 50.00%),差异具有统计学意义($P<0.05$); 观察组患者治疗后*H. pylori*感染率低于对照组,但两组间比较(17.24% vs 24.14%),差异无统计学意义($P>0.05$)。

结论: 埃索美拉唑联合莫沙必利可有效提高GERD临床疗效、改善GERD-Q评分、降低*H. pylori*感染率,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: 埃索美拉唑; 莫沙必利; 胃食管反流病

核心提示: 本研究结果显示,两组患者治疗2、4、8 wk后胃食管反流病评分量表(gastroesophageal reflux disease-Q, GERD-Q)评分呈现明显下降趋势,幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染率均显著下降,提示埃索美拉唑对GERD有确切疗效。而观察组治疗2、4、8 wk后GERD-Q评分均略低于对照组,治疗后*H. pylori*感染率低于对照组,临床疗效显著优于对照组,提示莫沙必利在辅助治疗GERD上有显著效果,能够有效提高埃索美拉唑的治疗效果。

王艳萍, 姬林松, 倪猛, 樊宏伟, 沙金平. 新络纳联合耐信治疗胃食管反流病的临床效果比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5671-5674 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5671>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5671>

0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease,

GERD)属于临床常见胃肠道并发症,以烧心、反流、反酸或非心源性胸痛为典型症状,易反复发作,严重影响患者生活质量^[1]. 常见的GERD包括非糜烂性反流病(non-erosive reflux disease, NERD)、反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)、Barret食管(Barret esophageal, BE)等^[2]. 目前GERD的药物治疗方案主要为H₂受体拮抗剂和质子泵抑制剂抑酸. 埃索美拉唑具有强效抑酸作用,是常用GERD治疗药物,临床研究指出在此基础上加用促动力药物可有效提高治疗效果^[3]. 现对南阳市中心医院消化科采用埃索美拉唑联合莫沙必利与单用埃索美拉唑治疗GERD的临床效果进行比较分析,报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-12/2013-12南阳市中心医院收治的116例GERD患者作为研究对象. 所有患者均符合《内科学(第七版)》^[4]食管反流病相关诊断标准,入选前4 wk内均出现不同程度烧心、反流、反酸或非心源性胸痛症状. 排除内镜检查发现消化性溃疡、胃部肿瘤及其他病因引起的食管病变者,合并重要脏器器质性疾病者,入选前4 wk内有质子泵抑制剂或任何胃肠促动力药用史者,有胃食管手术史者以及对埃索美拉唑和莫沙必利过敏者. 按照随机数字表法将116例患者均分为观察组和对照组,每组58例. 其中观察组男32例,女26例,患者年龄为18-74岁,平均年龄为45.57岁±11.06岁,胃食管反流病评分量表(gastroesophageal reflux disease-Q, GERD-Q)评分为19.23分±2.75分,其中NERD 34例、RE 19例、BE 5例; 对照组男26例,女32例,患者年龄为60-74岁,平均年龄为65.26岁±7.68岁,GERD-Q评分为19.56分±2.55分,其中NERD 36例、RE 18例、BE 4例. 两组患者在性别、年龄、GERD-Q评分以及患病类型等上差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性. 埃索美拉唑镁肠溶片(商品名: 耐信,阿斯利康制药有限公司,国药准字: H20046379, 20 mg×7片),枸橼酸莫沙必利分散片(商品名: 新络纳,成都康弘药业集团股份有限公司,国药准字: H20031110, 5 mg×20片).

1.2 方法

1.2.1 治疗: 观察组患者给予埃索美拉唑联合莫沙必利治疗,埃索美拉唑镁肠溶片20 mg/次,2次/d,口服,枸橼酸莫沙必利分散片10 mg/次,3次/d,口服; 对照组患者仅给予埃索美拉唑治

表 1 两组患者治疗前后GERD-Q评分变化情况比较 ($n = 58$, mean \pm SD)

分组	治疗前	治疗后2 wk	治疗后4 wk	治疗后8 wk
观察组	19.23 \pm 2.75	15.80 \pm 2.32 ^a	11.80 \pm 1.88 ^{bc}	10.94 \pm 1.32 ^{bc}
对照组	19.56 \pm 2.55	17.02 \pm 2.06 ^a	13.52 \pm 1.77 ^{bc}	11.41 \pm 1.46 ^{bc}

^a $P < 0.05$ vs 同组治疗前; ^b $P < 0.05$ vs 治疗后2 wk. GERD-Q: 胃食管反流病评分量表.

表 2 两组患者临床疗效比较 ($n = 58$, $n(\%)$)

分组	痊愈	有效	无效	总有效
观察组	20(34.48)	28(48.28)	10(17.24)	48(82.76) ^a
对照组	13(22.41)	25(43.10)	20(34.48)	38(65.52)

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

表 3 两组患者治疗前后*H. pylori*感染率比较 ($n = 58$, $n(\%)$)

分组	治疗前	治疗后
观察组	28(48.28)	10(17.24) ^a
对照组	29(50.00)	14(24.14) ^a

^a $P < 0.05$ vs 同组治疗前. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

疗, 用药剂量和方法与观察组相同. 两组患者均连续治疗8 wk, 治疗期间均戒烟戒酒、忌咖啡、浓茶. 两组患者治疗前及疗程结束后均空腹进行胃镜检查并行内镜下快速尿素酶试验检测幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染情况.

1.2.2 观察指标: 比较两组患者治疗前后GERD-Q评分^[5]变化情况、*H. pylori*感染率以及临床疗效.

1.2.3 疗效评价标准: 疗效评价标准: 痊愈: 临床症状完全消失, 且停药3 mo未复发, 胃镜检查内镜评分降低1级以上; 有效: 临床症状部分消失, 胃镜检查内镜评分降低1级以上; 无效: 临床症状无明显改善, 胃镜检查内镜评分未降低^[6]. 总有效率 = (痊愈+有效)/总例数 \times 100%. 内镜评分参照洛杉矶分级法分为正常、A级、B级、C级、D级.

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行统计分析, 计量资料结果用mean \pm SD表示, 治疗前后及组间比较用*t*检验, 计数资料以构成比表示, 用 χ^2 检验. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者治疗前后GERD-Q评分变化情况比

较 两组患者治疗后2、4、8 wk GERD-Q评分呈现明显下降趋势, 均显著低于治疗前, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 两组间不同时间GERD-Q评分比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)(表1).

2.2 两组患者治疗效果比较 观察组患者临床疗效显著优于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表2).

2.3 两组患者治疗前后*H. pylori*感染率比较 两组患者治疗后*H. pylori*感染率均显著下降, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 观察组患者治疗后*H. pylori*感染率低于对照组, 但两组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)(表3).

3 讨论

近几年, 随着国内居民生活水平提高、饮食结构改变、生活压力增加以及非甾体抗炎药或抗胆碱能药物的大范围应用, 导致GERD发病率逐年升高, 已经引起了临床医师的普遍关注^[7]. GERD发病因素较为复杂, 下食管括约肌静息压力下降、食管远端蠕动波幅降低、食管廓清能力下降、食管黏膜屏障功能受损、胃十二指肠功能紊乱以及*H. pylori*感染等均可引起GERD发生^[8]. 目前临床治疗GERD手段较多, 包括一般资料、药物治疗、内镜治疗、手术治疗等^[9], 主要治疗目的是改善患者烧心、反流等临床症状、控制食管炎、预防和减少复发及并发症^[10]. 其中一般治疗主要针对症状较轻者, 通过改变患者生活方式和适当心理干预改善患者主观症状^[11]. 内镜和手术治疗对患者有一定创伤且治疗花费较高. 因此, 多数患者一般选择药物治疗.

抑酸治疗及促动力药物治疗是目前临床常

■ 相关报道

目前GERD的药物治疗方案主要为H₂受体拮抗剂和质子泵抑制剂抑酸. 埃索美拉唑具有强效抑酸作用, 是常用GERD治疗药物, 临床研究指出在此基础上加用促动力药物可有效提高治疗效果.

■同行评价

本研究内容实用,设计合理,统计正确,有一定的学术价值。

用的GERD药物治疗方案,主要药物为质子泵抑制剂及H2受体阻滞剂^[12]。已有大量研究指出,促动力药物不仅在治疗GERD上有确切疗效,与抑酸剂联用时更可达到协同促进的效果^[13]。本研究即采用埃索美拉唑联合莫沙必利对GERD进行治疗。埃索美拉唑为奥美拉唑的纯左旋异构体,具有特异性抑制壁细胞质子泵、减少胃酸分泌的作用^[14],能够有效改善GERD患者临床症状和胃肠黏膜损伤,生物利用度较高,效果持久,在临床上应用较为广泛^[15]。莫沙比利属于新型5羟色胺(5-hydroxytryptamine)受体激动剂,具有协同胃肠运动、增强食管蠕动及食道下括约肌的张力、抑制食物滞留于反流以及降低食管对食管腔内机械刺激敏感性的作用,同时还可促进食管损伤黏膜愈合^[16]。但目前临床上对单独应用莫沙比利治疗GERD的研究较少。本研究结果显示,两组患者治疗2、4、8 wk后GERD-Q评分呈现明显下降趋势,*H. pylori*感染率均显著下降,提示埃索美拉唑对GERD有确切疗效。而观察组治疗2、4、8 wk后GERD-Q评分均略低于对照组,治疗后*H. pylori*感染率低于对照组,临床疗效显著优于对照组,提示莫沙必利在辅助治疗GERD上有显著效果,能够有效提高埃索美拉唑的治疗效果。

总之,埃索美拉唑联合莫沙必利GERD可有效提高临床疗效、改善GERD-Q评分、降低*H. pylori*感染率,临床疗效显著。

4 参考文献

- 张弓羽, 张振玉. 胃食管反流病的流行病学. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2552-2557
- 史燕妹, 赵公芳, 黄华. 胃食管反流病的发病机制及其诊治的进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3713-3718
- 王河, 汪安江, 朱萱王. 胃食管反流病药物治疗进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1711-1719
- 陆再英, 钟南山. 内科学(第七版). 北京: 人民卫生出版社, 2008: 372-375
- 王连芬, 郑长青, 林连捷, 任建立. GerdQ量表在胃食管反流病中的诊断价值. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1941-1945
- Liu HF, Zhang JG, Li J, Chen XG, Wang WA. Improvement of clinical parameters in patients with gastroesophageal reflux disease after radiofrequency energy delivery. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4429-4433 [PMID: 22110270 DOI: 10.3748/wjg.v17.i39.4429]
- Mendez BM, Davis CS, Weber C, Joehl RJ, Fisi-chella PM. Gastroesophageal reflux disease in lung transplant patients with cystic fibrosis. *Am J Surg* 2012; 204: e21-e26 [PMID: 22921151 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2012.07.019]
- Rydén A, Martin M, Halling K, Niklasson A. Night-time symptoms and their impact on sleep in patients with gastroesophageal reflux disease who have a partial response to proton pump inhibitors: a qualitative patient interview study. *Patient* 2013; 6: 307-314 [PMID: 23990378 DOI: 10.1007/s40271-013-0024-1]
- 朱风尚, 陈锡美, 王志荣, 张东伟, 张霞. 埃索美拉唑对胃食管反流病患者症状和生活质量的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16: 530-534
- 卢英军. 埃索美拉唑联合莫沙必利治疗胃食管反流病临床效果分析. 河北医药 2012; 34: 1788-1789
- Yao G, Liu K, Fan Y. Robotic Nissen fundoplication for gastroesophageal reflux disease: a meta-analysis of prospective randomized controlled trials. *Surg Today* 2014; 44: 1415-1423 [PMID: 24909497 DOI: 10.1007/s00595-014-0948-7]
- Suter M. Comment on: Evaluation of gastroesophageal reflux before and after laparoscopic sleeve gastrectomy using symptom scoring, scintigraphy and endoscopy. *Surg Obes Relat Dis* 2014; 10: 605-606 [PMID: 24913587 DOI: 10.1016/j.soard.2014.02.020]
- 侯俊珍, 张莉. 埃索美拉唑联合莫沙必利治疗胃食管反流病的疗效观察. 实用医院临床杂志 2012; 9: 127-129
- 陈桂良, 邵洁锐. 埃索美拉唑联合枸橼酸莫沙必利治疗老年胃食管反流病36例. 实用医学杂志 2010; 26: 845-846
- 季文锋. 埃索美拉唑与莫沙必利联用治疗胃食管反流病疗效观察. 实用临床医药杂志 2011; 15: 89-90, 93
- 马雪, 陈路佳, 刘立立, 罗梦林, 唐尧. 莫沙必利联合质子泵抑制剂治疗胃食管反流病的系统评价. 中国药业 2011; 20: 31-35

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



经典与改良Ivor-Lewis手术治疗对中下段食管癌患者肺功能和术后并发症的影响

杨丽, 段东奎, 金哲, 李伟, 张耕瑞, 王俊钢

杨丽, 段东奎, 金哲, 李伟, 王俊钢, 南阳市中心医院胸外科 河南省南阳市 473009
张耕瑞, 南阳市中心医院血液透析科 河南省南阳市 473009
杨丽, 护师, 主要从事胸外科的护理研究。
作者贡献分布: 本文主要由杨丽与段东奎设计; 金哲、李伟及张耕瑞实施完成; 数据分析由王俊钢完成; 本论文由杨丽与段东奎写作完成。
通讯作者: 段东奎, 主治医师, 473009, 河南省南阳市工农路312号, 南阳市中心医院胸外科. 592108419@qq.com
电话: 0377-63200092
收稿日期: 2014-10-15 修回日期: 2014-11-11
接受日期: 2014-11-25 在线出版日期: 2014-12-28

Influence of classic vs modified Ivor-Lewis procedure on lung function and postoperative complications in patients with middle-lower thoracic esophageal carcinoma

Li Yang, Dong-Kui Duan, Zhe Jin, Wei Li, Geng-Rui Zhang, Jun-Gang Wang

Li Yang, Dong-Kui Duan, Zhe Jin, Wei Li, Jun-Gang Wang, Department of Thoracic Surgery, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473009, Henan Province, China
Geng-Rui Zhang, Department of Hemodialysis, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473009, Henan Province, China
Correspondence to: Dong-Kui Duan, Attending Physician, Department of Thoracic Surgery, Nanyang Central Hospital, 312 Gongnong Road, Nanyang 473009, Henan Province, China. 592108419@qq.com
Received: 2014-10-15 Revised: 2014-11-11
Accepted: 2014-11-25 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To compare the influence of classic vs modified Ivor-Lewis procedure on lung function and postoperative complications in patients with middle-lower thoracic esophageal carcinoma.

METHODS: Clinical data for 67 patients with middle-lower thoracic esophageal cancer undergoing classic Ivor-Lewis esophagectomy and 66 patients with middle-lower thoracic esophageal cancer undergoing modified Ivor-Lewis esophagectomy from January 2010 to December 2013 were collected. The operative time, number of

resected lymph nodes and postoperative pathology were compared between the two groups. The lung function, including respiratory rate, vital capacity (VC), forced expiratory volume in one second (FEV1) and maximal ventilatory volume (MVV), was investigated 1 wk and 1 d preoperatively and 2 wk postoperatively. Postoperative complications were recorded.

RESULTS: The operative time did not differ significantly between the classic group and modified group (204.7 min \pm 42.1 min vs 192.5 min \pm 38.7 min, $P > 0.05$). No statistically significant difference was found in the total number of resected lymph nodes between the two groups, although a higher number of mediastinal lymph nodes were dissected in the classic group (8.02 \pm 1.65 vs 3.73 \pm 0.89, $P < 0.05$). The postoperative lymph node metastasis rate was significantly higher in the classic group (23.88% vs 12.12%, $P < 0.05$). The respiratory rate, VC and FEV1 of the classic group were superior to those of the modified group ($P < 0.05$). Similar incidence rates of postoperative chylothorax, recurrent laryngeal nerve injury and anastomotic leakage were observed between groups, but there was a significantly lower rate of postoperative pulmonary complications in the classic group than in the modified group (2.99% vs 12.12%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Classic Ivor-Lewis procedure has more satisfying clinical effects in terms of mediastinal lymph node dissection, decreased lung injury and postoperative complications.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Classic Ivor-Lewis procedure; Modified Ivor-Lewis procedure; Middle-lower thoracic esophageal carcinoma; Lung cancer

Yang L, Duan DK, Jin Z, Li W, Zhang GR, Wang JG. Influence of classic vs modified Ivor-Lewis procedure on lung function and postoperative complications in patients with middle-lower thoracic esophageal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5675-5679 URL:

背景资料

食管癌是一种常见恶性肿瘤, 手术将病灶切除是主要治疗手段。Ivor-Lewis手术为治疗中下段食管癌的经典术式, 经典Ivor-Lewis手术操作中需要更换体位, 需再次消毒, 会延长手术时间。而改良Ivor-Lewis手术无需再次消毒。但目前对中下段食管癌采用何种术式还存在争议, 同时何种术式对肺功能的影响较小以及术后并发症发生率较低目前尚不清楚。

同行评议者

许玲, 教授, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

■研发前沿

食管癌淋巴结清扫情况是评价手术效果的重点,目前建议每个病例应至少清扫12枚以上,利于提高分期准确性。食管与肺的解剖学位置较近,而胸部手术会影响肺部功能,对于食管癌患者在切除病灶的同时,应尽可能地降低对肺部的损伤及相关并发症发生率。

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5675.asp> DOI:
<http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5675>

摘要

目的: 比较经典Ivor-Lewis手术与改良Ivor-Lewis手术治疗对中下段食管癌患者肺功能和术后肺部并发症的影响,为中下段食管癌术式的选择提供依据。

方法: 收集2010-01/2013-12于河南省南阳市中心医院接受经典Ivor-Lewis手术的67例(经典组)或改良Ivor-Lewis手术的66例(改良组)中下段食管癌患者的临床资料。分析两组的手术时间、淋巴结清扫数量及术后病理情况,检测两组术前1 wk、1 d及术后2 wk的肺功能指标[呼吸频率、肺活量(vital capacity, VC)、一秒用力呼气容积(forced expiratory volume in one second, FEV1)及最大通气量(maximal voluntary ventilation, MVV)],同时记录两组的术后并发症。

结果: 经典组和改良组的手术时间为204.7 min \pm 42.1 min和改良组192.5 min \pm 38.7 min,差异无统计学意义($P>0.05$);两组清扫淋巴结总数的差异无统计学意义,但经典组上纵隔淋巴结清扫数目多于改良组(8.02 \pm 1.65 vs 3.73 \pm 0.89, $P<0.05$),且术后淋巴结转移率及N₁的比例高于改良组(23.88% vs 12.12%, $P<0.05$);两组术后的呼吸频率高于术前,且VC、FEV1及MVV水平低于术前,且经典组术后的呼吸频率、VC及FEV1均优于改良组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。两组术后乳糜胸、喉返神经损伤和吻合口瘘发生率的差异无统计学意义($P>0.05$),但经典组的术后肺部并发症的差异低于改良组(2.99% vs 12.12%, $P<0.05$)。

结论: 经典Ivor-Lewis手术对于中下段食管癌的上纵隔淋巴结清扫效果较好,且在降低肺损伤及术后并发症上有优势,更符合食管癌手术治疗原则。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 经典Ivor-Lewis手术; 改良Ivor-Lewis手术; 中下段食管癌; 肺功能

核心提示: 食管癌淋巴结清扫情况对于提高手术疗效及分期准确性有重要性,同时降低对肺部损伤及相关并发症发生率是食管癌手术治疗原则,而经典Ivor-Lewis手术较改良Ivor-Lewis手术在以上两方面均具优势。

杨丽, 段东奎, 金哲, 李伟, 张耕瑞, 王俊钢. 经典与改良Ivor-Lewis手术治疗对中下段食管癌患者肺功能和术后并发症的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5675-5679 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5675.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5675>

0 引言

食管癌是一种常见的恶性肿瘤,手术将病灶切除是食管癌的主要治疗手段^[1]。目前,对于食管癌手术切除有多种术式选择,其中Ivor-Lewis手术为治疗中下段食管癌的经典术式,目前被广泛用于临床^[2]。经典的Ivor-Lewis手术操作中需要更换体位,由仰卧位更换为左侧卧位,因此需要再次消毒,会延长手术时间^[3]。而改良Ivor-Lewis手术采取的体位为左侧卧位30度,同时也采用右胸前外切口取代腹部正中切口,无需再次消毒,也被国内广泛使用^[4]。但目前对中下段食管癌采用何种术式还存在争议,同时何种术式对肺功能的影响较小以及术后并发症发生率较低目前尚不清楚,故本研究对河南省南阳市中心医院收治的中下段食管癌患者实施经典Ivor-Lewis手术与改良Ivor-Lewis手术,并进一步分析其对术后肺功能及并发症的影响,现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 病例为2010-01/2013-12于河南省南阳市中心医院接受经典Ivor-Lewis手术的67例(经典组)或改良Ivor-Lewis手术的66例(改良组)中下段食管癌患者。经典组:男41例,女26例,年龄范围41-82岁,中位年龄为62岁;病理类型:鳞癌59例,腺癌8例;病灶直径为1.1-8.2 cm,平均直径为4.4 cm \pm 2.1 cm。改良组:男39例,女26例,年龄范围42-84岁,中位年龄为63岁;病理类型:鳞癌60例,腺癌6例;病灶直径为1.2-7.8 cm,平均直径为4.2 cm \pm 1.9 cm。两组例数、年龄、性别比、病理类型及病灶直径的差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 手术: (1)经典Ivor-Lewis手术:取仰卧位,常规消毒后,行上腹正中切口探查,对腹腔干、脾动脉干、胃左动脉及肝总动脉近侧端淋巴结彻底清扫,逐层关闭腹腔;更改体位为左侧卧位,重新消毒后,由右后外侧切口第5肋间进胸探查,游离食管,清扫后纵隔、隆突下及中下胸段食管旁淋巴结,然后向上清扫食管旁及气管旁淋

■相关报道

有研究指出经典手术的手术视野暴露较好,故减少了对肺部的牵拉,也利于手术操作,因此减少对肺的损伤并降低术后并发症,同时一定程度上降低了手术污染,故对肺功能的影响较小。

表 1 两组术中淋巴结的清扫情况 (mean ± SD, 枚)

分组	总数	上纵隔	下纵隔	腹腔
经典组	22.27 ± 3.68	8.02 ± 1.65	5.68 ± 1.24	9.54 ± 1.88
改良组	18.51 ± 4.23	3.73 ± 0.89 ^a	6.73 ± 1.58	7.91 ± 1.23

^a $P < 0.05$ vs 经典组.表 2 两组术后淋巴结转移情况 $n(\%)$

分组	总数	N ₁	N ₂	N ₃
经典组	32(47.76)	16(23.88)	14(20.90)	2(2.99)
改良组	19(28.79) ^a	8(12.12) ^a	7(10.61)	4(6.06)

^a $P < 0.05$ vs 经典组.

巴结, 将食管癌病灶切除后进行胃食管吻合; (2) 改良Ivor-Lewis手术: 取左侧卧位30度, 常规消毒后, 由右外侧切口第4肋间进胸, 同时进行胸腹部手术, 完成胸腔、腹腔及纵隔的淋巴结清扫, 切除食管癌病灶, 经裂孔将胃上提至右侧胸顶部进行胃食管吻合重建手术。

1.2.2 观察指标: 分析两组的手术时间、淋巴结清扫数量及术后病理情况, 其中淋巴结清扫情况包括清扫淋巴结总数及不同部位(上纵隔、下纵隔及腹腔)的清扫枚数, 而术后病理根据淋巴结转移个数, 分为3级: N₁(1-2枚)、N₂(3-6枚)和N₃(7枚以上)。采用Master-Screen型肺功能检测系统检查肺功能, 主要指标包括呼吸频率、肺活量(vital capacity, VC)、一秒用力呼气容积(forced expiratory volume in one second, FEV1)及最大通气量(maximal voluntary ventilation, MVV), 其中VC、FEV1及MVV均采用实测值与预测值的比值表示。检测两组术前1 wk、1 d及术后2 wk的肺功能指标, 同时记录两组的术后并发症。

统计学处理 采用Windows SPSS16.0软件对数据进行处理。除术后并发症以“率”表示并行 χ^2 检验外, 其余指标均以mean ± SD表示并行 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组的手术情况 两组均顺利完成手术, 无死亡病例。经典组的手术时间为204.7 min ± 42.1 min, 与改良组192.5 min ± 38.7 min的差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组清扫淋巴结总数的差异无统计学意义, 且在下纵隔及腹腔部位清扫数目的差

异亦无统计学意义($P > 0.05$), 但经典组的上纵隔淋巴结清扫数目多于改良组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表1)。

2.2 两组的术后病理情况 术后病理显示经典组术后淋巴结转移率高于改良组($P < 0.05$), 其中N₁的比例亦高于改良组($P < 0.05$), 且两组N₂、N₃的比例的差异亦无统计学意义($P > 0.05$)(表2)。

2.3 两组手术前后的肺功能情况 两组术前1 wk及1 d的呼吸频率、VC、FEV1及MVV的差异均无统计学意义($P > 0.05$); 两组术后的呼吸频率均高于术前, 且VC、FEV1及MVV均低于术前, 以上差异均有统计学意义($P < 0.05$); 经典组术后2 wk的呼吸频率、VC及FEV1均优于改良组($P < 0.05$), 但术后MVV的差异无统计学意义($P > 0.05$)(表3)。

2.4 两组术后并发症情况 两组术后乳糜胸、喉返神经损伤和吻合口瘘发生率的差异无统计学意义($P > 0.05$), 但经典组的术后肺部并发症的差异低于改良组($P < 0.05$)(表4)。

3 讨论

Ivor-Lewis术式用于中下段食管癌的治疗已被广大学者认同, 但在选择经典术式和改良术式上目前还存在争议^[5]。与经典术式相比, 改良术式无需再次消毒, 节省了手术时间, 此外, 改良术式还可同时进行胸部和腹部手术, 故在一定程度上也减少了手术时间^[6]。故改良术式更易于接受。本研究发现, 尽管经典组需再次消毒, 总体手术时间略长于改良组外, 但差异无统计学意义, 表明改良手术在节省手术时间上不具备太大优势。推测两种术式手术时间相当的主要原因

■ 创新盘点

本研究对比了经典Ivor-Lewis手术与改良Ivor-Lewis手术对手术效果的影响, 同时进一步分析其对术后肺功能及并发症的影响, 为中下段食管癌治疗术式的选择提供依据。

■ 应用要点

经典Ivor-Lewis手术对于中下段食管癌的上纵隔淋巴结清扫效果较好, 且在降低肺损伤及术后并发症上有优势, 更符合食管癌手术治疗原则。

■名词解释

改良Ivor-Lewis手术: 与经典术式相比, 采取的体位为左侧卧位30度, 无需再次消毒, 采用右胸前外切口取代腹部正中切口, 节省了手术时间。

表 3 两组手术前后的肺功能比较

分组	呼吸频率(次/min)	VC(% , 实测值/预测值)	FEV1(% , 实测值/预测值)	MVV(% , 实测值/预测值)
经典组				
术前1 wk	16.23 ± 1.33	91.53 ± 7.37	89.63 ± 8.41	87.64 ± 6.42
术前1 d	15.64 ± 0.92	92.16 ± 6.81	91.48 ± 7.93	88.25 ± 7.67
术后2 wk	18.57 ± 1.65 ^{ac}	86.47 ± 6.52 ^{ac}	74.97 ± 8.64 ^{ac}	72.79 ± 5.28 ^{ac}
改良组				
术前1 wk	15.89 ± 1.08	92.64 ± 8.85	91.64 ± 8.30	91.64 ± 7.35
术前1 d	16.21 ± 1.24	89.15 ± 7.26	89.22 ± 7.29	89.35 ± 6.83
术后2 wk	22.46 ± 2.16 ^{ace}	79.32 ± 5.24 ^{ace}	68.53 ± 7.58 ^{ace}	71.66 ± 7.62 ^{ace}

^a $P < 0.05$ vs 术前1 wk; ^c $P < 0.05$ vs 术前1 d; ^e $P < 0.05$ vs 经典组. VC: 肺活量; FEV1: 一秒用力呼气容积; MVV: 最大通气量。

表 4 两组术后肺部并发症情况 n (%)

分组	n	肺部并发症	乳糜胸	喉返神经损伤	吻合口瘘
经典组	67	2(2.99)	2(2.99)	2(2.99)	1(1.49)
改良组	66	8(12.12) ^a	1(1.52)	3(4.55)	2(3.03)

^a $P < 0.05$ vs 经典组。

因: (1)本手术小组在实施经典术式中加强对消毒操作的安排, 在一定程度降低了手术时间; (2)食管癌规范化治疗的开展使术者重视了对纵隔淋巴结的清扫, 由于经典术式对纵隔淋巴结的暴露效果较优; (3)在两种术式中均使用了超声刀, 获得较好止血效果的同时, 使改良组的时间优势不明显。

食管癌淋巴结清扫情况是评价手术效果的重点, 目前建议每个病例应至少清扫12枚以上, 利于提高分期准确性^[7]。本研究对此两术式的淋巴结清扫情况, 发现经典组在清扫淋巴结上有一定优势, 尽管两组清扫淋巴结总数相当, 但经典组的上纵隔淋巴结清扫数目多于改良组, 表明经典术式采用的胸腹腔手术可获得更好的淋巴结清扫效果。而在术后病理检测中发现经典组的淋巴结转移率较高, 推测改良术式可能是由于淋巴结清扫不足, 而影响了术后N分期降低, 对于术后辅助治疗方案的制定会造成影响^[8]。

食管与肺的解剖学位置较近, 而胸部手术会影响肺部功能^[9,10], 对于食管癌患者在切除病灶的同时, 应尽可能地降低对肺部的损伤及相关并发症发生率^[11,12]。本研究检测术后2 wk的肺功能发现, 经典组的肺功能优于改良组, 且术后肺部并发症发生率亦低于对照组, 差异有统计学意义。经典术式对肺的保护较好, 可能与以下原

因有关: (1)经典手术的手术视野暴露较好, 故减少了对肺部的牵拉, 也利于手术操作, 因此减少对肺的损伤并降低术后并发症^[13]; (2)与改良组的胸腹腔同时手术相比, 经典术式不同时开放胸腹腔, 在一定程度上降低了手术污染, 故对肺功能的影响较小^[14,15]。此外, 经典术式还具有以下优点: (1)术者可最大程度的进行上纵隔淋巴结的清扫, 利于术后分期; (2)可更彻底将病灶切除, 防止复发^[16]。

总之, 典Ivor-Lewis手术对于中下段食管癌的上纵隔淋巴结清扫效果较好, 且在降低肺损伤及术后并发症上有优势, 更符合食管癌手术治疗原则。

4 参考文献

- Chen W, Zheng R, Zhang S, Zhao P, Li G, Wu L, He J. The incidences and mortalities of major cancers in China, 2009. *Chin J Cancer* 2013; 32: 106-112 [PMID: 23452393 DOI: 10.5732/cjc.013.10018]
- Götzky K, Jähne J. [Quality of life after operation for early Barrett's cancer: a prospective comparison of Ivor Lewis resection versus modified Merendino resection]. *Chirurg* 2014; 85: 822 [PMID: 25123190 DOI: 10.1007/s00104-014-2856-1]
- Huang L, Onaitis M. Minimally invasive and robotic Ivor Lewis esophagectomy. *J Thorac Dis* 2014; 6 Suppl 3: S314-S321 [PMID: 24876936 DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.04.32]
- 甄福喜, 骆金华, 张憬. 经典Ivor-Lewis手术与改良Ivor-Lewis手术治疗中下段食管癌的比较分析. 中华

- 胃肠外科杂志 2013; 16: 1180-1182
- 5 中国抗癌协会食管癌专业委员会. 食管癌规范化诊疗指南. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2011: 21-28
 - 6 Li H, Yang S, Xiang J, Chen H. The number of lymph node metastases influences survival and International Union Against Cancer tumor-node-metastasis classification for esophageal squamous cell carcinoma: does lymph node yield matter? *Dis Esophagus* 2011; 24: 108 [PMID: 20819096 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2010.01108.x]
 - 7 Däster S, Soysal SD, Stoll L, Peterli R, von Flüe M, Ackermann C. Long-term quality of life after Ivor Lewis esophagectomy for esophageal cancer. *World J Surg* 2014; 38: 2345-2351 [PMID: 24756548 DOI: 10.1007/s00268-014-2576-1]
 - 8 Juloori A, Tucker SL, Komaki R, Liao Z, Correa AM, Swisher SG, Hofstetter WL, Lin SH. Influence of preoperative radiation field on postoperative leak rates in esophageal cancer patients after trimodality therapy. *J Thorac Oncol* 2014; 9: 534-540 [PMID: 24736077 DOI: 10.1097/JTO.0000000000000100]
 - 9 Xie SP, Kang GJ, Fan GH, Geng Q, Huang J. Ivor-Lewis esophagectomy for esophageal cancer after distal gastrectomy. *J Thorac Dis* 2014; 6: E22-E26 [PMID: 24605241 DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.02.03]
 - 10 Mokashi S, Rajab TK, Lee LY, McCain DA, Abdel-Razek AM, Elmann EM. Extracorporeal membrane oxygenation support after Ivor-Lewis esophagectomy for esophageal adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2014; 97: 1073-1075 [PMID: 24580930 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2013.06.117]
 - 11 Tapias LF, Morse CR. A preliminary experience with minimally invasive Ivor Lewis esophagectomy. *Dis Esophagus* 2012; 25: 449-455 [PMID: 21967644 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01269.x]
 - 12 盛守寅, 吴起才. 经典与改良Ivor Lewis手术治疗食管中下段癌的对比研究. *江西医药* 2010; 45: 853-855
 - 13 Zapletal Ch, Heesen Ch, Origer J, Pauthner M, Pech O, Ell Ch, Lorenz D. Quality of life after surgical treatment of early Barrett's cancer: a prospective comparison of the Ivor-Lewis resection versus the modified Merendino resection. *World J Surg* 2014; 38: 1444-1452 [PMID: 24378548 DOI: 10.1007/s00268-013-2410-1]
 - 14 陈海泉, 相加庆, 缪珑升, 胡鸿, 罗晓阳. 胸、腹腔镜联合Ivor Lewis食管癌根治术. *中国微创外科杂志* 2009; 15: 709-711
 - 15 Gutschow CA, Hölscher AH, Leers J, Fuchs H, Bludau M, Prenzel KL, Bollschweiler E, Schröder W. Health-related quality of life after Ivor Lewis esophagectomy. *Langenbecks Arch Surg* 2013; 398: 231-237 [PMID: 22661100 DOI: 10.1007/s00423-012-0960-6]
 - 16 方卫民, 阮伟忠, 朱坤. 腹腔镜在Ivor-Lewis食管癌根治术中的应用. *中国癌症杂志* 2012; 22: 528-532

■同行评价

本研究比较了经典Ivor-Lewis手术与改良Ivor-Lewis手术在中下段食管癌治疗中的应用效果, 并进一步探索了对肺功能的影响, 试验设计合理, 数据充分。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



HIF-1 α 、COX-2在疣状胃炎患者胃黏膜组织中的表达及临床意义

吴县斌, 苏东星, 潘志刚, 陆才金, 陈庆洲, 战廷正

■背景资料

疣状胃炎为一种慢性胃炎, 也称疣状胃炎, 隆起糜烂性胃炎或慢性糜烂性胃炎。研究发现疣状胃炎与胃癌存在一定联系, 因此研究疣状胃炎发病机制有重要作用。

吴县斌, 苏东星, 潘志刚, 陆才金, 陈庆洲, 南宁市第二人民医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530031

战廷正, 广西医科大学寄生虫教研室 广西壮族自治区南宁市 530021

吴县斌, 主治医师, 主要从事不同类型胃炎的发病机制及与胃癌关系的研究。

作者贡献分布: 本研究设计及论文写作主要由吴县斌完成; 苏东星负责实验的指导、质控; 潘志刚、陆才金及陈庆洲负责协助标本收集; 战廷正负责标本切片、免疫组织化学分析。

通讯作者: 吴县斌, 主治医师, 530031, 广西壮族自治区南宁市江南区淡村路13号, 南宁市第二人民医院消化内科。

godtfoot@163.com

收稿日期: 2014-10-12 修回日期: 2014-11-10

接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2014-12-28

HIF-1 α and COX-2 expression in varioliform gastritis

Xian-Bin Wu, Dong-Xing Su, Zhi-Gang Pan, Cai-Jin Lu, Qing-Zhou Chen, Ting-Zheng Zhan

Xian-Bin Wu, Dong-Xing Su, Zhi-Gang Pan, Cai-Jin Lu, Qing-Zhou Chen, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Nanning City, Nanning 530031, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Ting-Zheng Zhan, Department of Parasitology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Xian-Bin Wu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Nanning City, 13 Dancun Road, Jiangnan District, Nanning 530031, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. godtfoot@163.com

Received: 2014-10-12 Revised: 2014-11-10

Accepted: 2014-11-18 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To examine the expression of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in varioliform gastritis.

METHODS: The expression of HIF-1 α and COX-2 in varioliform gastritis specimens and chronic superficial gastritis specimens was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: Significant expression of HIF-1 α and COX-2 was detected in chronic superficial gastritis and immature and mature verrucous gastritis ($P < 0.05$). The positive rates of HIF-1 α

and COX-2 expression were significantly higher in varioliform gastritis than in chronic superficial gastritis (42.5% vs 18.2%, $\chi^2 = 12.777$, $P < 0.05$; 46.4% vs 13.0%, $\chi^2 = 23.991$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: High expression of HIF-1 α and COX-2 was detected in varioliform gastritis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Varioliform gastritis; Hypoxia-inducible factor-1 α ; Cyclooxygenase-2; Immunohistochemistry

Wu XB, Su DX, Pan ZG, Lu CJ, Chen QZ, Zhan TZ. HIF-1 α and COX-2 expression in varioliform gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5680-5683 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5680.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5680>

摘要

目的: 研究低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)、环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)在疣状胃炎患者胃黏膜组织中的表达情况及临床意义。

方法: 采用免疫组织化学的方法检测HIF-1 α 、COX-2在成熟型疣状胃炎标本, 未成熟型疣状胃炎标本及慢性浅表性胃炎标本中的表达情况。

结果: 慢性浅表性胃炎、未成熟型疣状胃炎及成熟型疣状胃炎标本中的HIF-1 α 和COX-2阳性表达率均具有统计学意义($P < 0.05$), 且疣状胃炎标本中HIF-1 α 、COX-2阳性表达率显著性高于慢性浅表性胃炎标本(42.5% vs 18.2%, $\chi^2 = 12.777$, $P < 0.05$; 46.4% vs 13.0%, $\chi^2 = 23.991$, $P < 0.05$)。

结论: HIF-1 α 与COX-2在疣状胃炎标本中呈高表达。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

■同行评议者

赵春玲, 副教授, 潍坊医学院细胞生物学教研室

关键词: 疣状胃炎; 低氧诱导因子-1 α ; 环氧化酶-2; 免疫组织化学

核心提示: 低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α)及环氧化酶-2(cyclooxygenase-2)在疣状胃炎标本中呈高表达。

吴县斌, 苏东星, 潘志刚, 陆才金, 陈庆洲, 战廷正. HIF-1 α 、COX-2在疣状胃炎患者胃黏膜组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5680-5683 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5680.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5680>

0 引言

疣状胃炎(varioliform gastritis, VG)为一种慢性胃炎, 也称痘疹状胃炎, 隆起糜烂性胃炎或慢性糜烂性胃炎^[1]. 内镜下VG主要特征为胃黏膜中央凹陷, 表面有糜烂扁平疣状隆起, 隆起一般为椭圆形或圆形, 并且这些疣状一般位于胃底或胃窦部位. 目前研究表明VG发生原因主要为机体免疫反应, 幽门螺杆菌感染等. VG患者临床表现主要为反酸, 上腹痛及便血等, 而且研究^[2,3]也发现VG与胃癌也存在一定联系, 因此研究VG发病机制有重要作用. 低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)为一种氧依赖型转录激活因子, 他在癌细胞的发生、发展及转移中有重要作用^[4]. 环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)为一种炎症反应诱导酶, 也在肿瘤细胞的形成, 发展及转移中有重要作用^[5]. 本文采用免疫组织化学的方法检测了疣状胃炎患者胃黏膜HIF-1 α 、COX-2蛋白表达情况, 目的是研究HIF-1 α 、COX-2在疣状胃炎患者胃黏膜组织中的表达情况及临床意义.

1 材料和方法

1.1 材料 本文研究标本取2011-07/2012-08广西南宁市第二人民医院胃镜室, 其中成熟型疣状胃炎标本76例, 男45例, 女31例, 年龄23-73岁, 平均56.5岁 \pm 3.2岁; 未成熟型疣状胃炎标本51例, 男29例, 女22例, 年龄23-71岁, 平均55.9岁 \pm 3.4岁, 非活动慢性浅表性胃炎标本77例, 男47例, 女30例, 年龄22-77岁, 平均55.1岁 \pm 3.0岁. 疣状胃炎诊断标准参考我国相关诊断标准(2000年)及悉尼标准. 疣状胃炎分型根据Kawai分型标准. 所有病理排除合并其他严重心、肺及肾脏病患者, 妊娠及哺乳期患者, 就诊前接受抗生素, 质子泵抑制剂等药物治疗患者. 3组标本患者年龄等一

般资料无统计学差异, 具有可比性($P>0.05$). 鼠抗人HIF-1 α 、COX-2单克隆抗体, 二抗等均购自美国Santa Cruz公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织染色检测: 采用SABC染色进行检测. 将标本在40 g/L甲醛溶液中固定24 h, 并依次进行脱水, 包埋, 连续切片, 切片厚度约4 μ m; 60 $^{\circ}$ C烤片0.5 h, 脱蜡处理后3% H_2O_2 室温孵育10 min. 再用枸橼酸钠-微波修复抗原, 并用5%正常山羊血清室温孵育20 min. 余下步骤按SABC试剂盒说明书操作.

1.2.2 结果判定: 切片制作完成后进行观察, 高倍镜下在细胞密集区选取五个窗口进行计数, 阳性细胞为细胞质有棕黄色颗粒. 阳性细胞率 $\leq 5\%$ 为阴性(-), 5%-25%为弱阳性(+), $\geq 25\%$ 及 $<50\%$ 为阳性(++), $\geq 50\%$ 为强阳性(+++).

统计学处理 采用SPSS13.0进行数据统计与分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义.

2 结果

HIF-1 α 、COX-2在标本中表达情况如表1、图1. 慢性浅表性胃炎、未成熟型疣状胃炎及成熟型疣状胃炎中的HIF-1 α 和COX-2阳性表达率均具有统计学意义($P<0.05$), 且疣状胃炎标本中HIF-1 α 、COX-2阳性表达率显著性高于慢性浅表性胃炎标本(42.5% vs 18.2%, $\chi^2 = 12.777$, $P<0.05$; 46.4% vs 13.0%, $\chi^2 = 23.991$, $P<0.05$)

3 讨论

疣状胃炎为一种慢性胃炎, 他在内镜下主要表现为胃黏膜凹陷糜烂, 局部隆起, 而且隆起多为椭圆形或圆形^[6]. 研究表明疣状胃炎与胃癌有密切联系, 即疣状胃炎有癌变倾向, 而且在胃肠病相关会议上, 疣状胃炎被列为高度癌变倾向疾病, 因此研究疣状胃炎发病机制至关重要^[7,8]. 疣状胃炎发病分子机制为目前研究重点. HIF-1 α 为一种氧依赖型转录激活因子, 他为一种异源二聚体, 广泛存在于人体及哺乳动物体内. HIF-1 α 为HIF-1亚基, 而且是关键亚基, 对HIF-1的活性具有明显影响, 当机体处于低氧或缺氧环境下, HIF-1 α 可被上调表达, 从而激活数十种下游基因, 包括IL-8、FGF及COX等^[9-11]. 而HIF-1的下游基因中, 也有与癌细胞发生, 发展及转移有重要联系的基因, 如VEGF等^[12]. 而COX-2为一种诱导酶, 主要在机体炎症反应中产生, 是前

■研究前沿
低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)及环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)在肿瘤细胞的形成, 发展及转移中有重要的作用.

■相关报道
本研究发现疣状胃炎与胃癌存在一定联系, 相关分子的表达可能导致疣状胃炎发生癌变.

■创新盘点

本文对HIF-1 α 及COX-2在疣状胃炎中的表达进行了研究,从而为疣状胃炎癌变的预防提供一定依据。

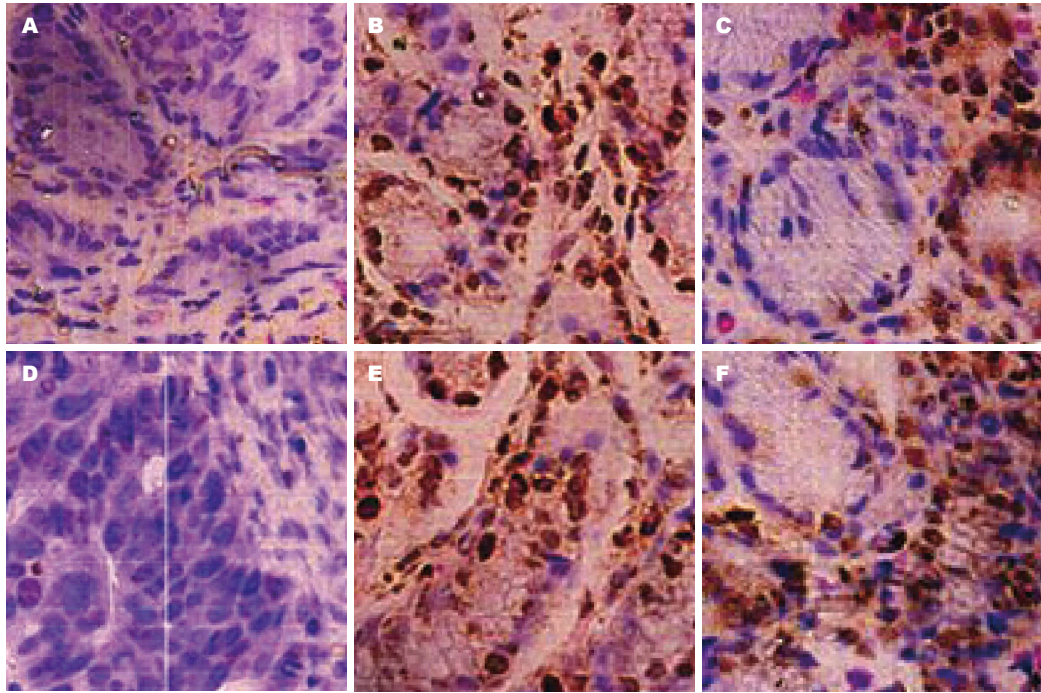


图1 HIF-1 α 、COX-2在标本中表达情况(SABC染色 $\times 400$)。A: HIF-1 α 蛋白在慢性浅表性胃炎标本中表达; B: HIF-1 α 蛋白在未成熟型疣状胃炎标本中表达; C: HIF-1 α 蛋白在成熟型疣状胃炎标本中表达; D: COX-2蛋白在慢性浅表性胃炎标本中表达; E: COX-2蛋白在未成熟型疣状胃炎标本中表达; F: COX-2蛋白在成熟型疣状胃炎标本中表达。HIF-1 α : 低氧诱导因子-1 α ; COX-2: 环氧化酶-2。

表1 HIF-1 α 、COX-2在标本中表达情况

类型	HIF-1 α		χ^2 值	P值	COX-2		χ^2 值	P值
	-	+			-	+		
慢性浅表性胃炎	63	14	17.543	0.000	67	10	28.735	0.000
未成熟型疣状胃炎	35	16			33	18		
成熟型疣状胃炎	38	38			35	41		

HIF-1 α : 低氧诱导因子-1 α ; COX-2: 环氧化酶-2。

列腺素合成的必要酶,他主要存在机体胃,血管中,具有调节血小板功能,保护胃黏膜完整性的功能^[13]。研究表明COX-2参与了癌细胞的发生,发展及转移,COX-2为Bcl-2的上游调节基因,而Bcl-2为重要癌细胞发生、发展的基因^[14,15]。

在本文研究中我们发现,疣状胃炎标本(包括未成熟及成熟)中HIF-1 α 及COX-2阳性表达率分别为42.5%、46.4%,显著性高于慢性浅表性胃炎标本的18.2%及13.0%,这说明HIF-1 α 及COX-2在疣状胃炎中呈高表达,因HIF-1 α 及COX-2高表达与胃癌有重要联系,因此疣状胃炎可能发展为胃癌。

总之, HIF-1 α 、COX-2在疣状胃炎标本中呈高表达,而且本文研究也为疣状胃炎发生,发展机制的研究提供一定依据。

4 参考文献

- 游斌, 邹利权, 刘志鹏. 放大染色胃镜下射频治疗疣状胃炎68例临床观察. 重庆医学 2011; 40: 151-152
- Honda T, Tamura G, Endoh Y, Nishizuka S, Kawata S, Motoyama T. Expression of tumor suppressor and tumor-related proteins in differentiated carcinoma, undifferentiated carcinoma with tubular component and pure undifferentiated carcinoma of the stomach. *Jpn J Clin Oncol* 2005; 35: 580-586 [PMID: 16254038]
- 丁世华, 刘俊, 舒晴, 王建平, 邓联民, 刘新民. 抑癌基因PTEN及P16蛋白在疣状胃炎及胃癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2047-2049
- 王旒, 董超然, 唐萃, 杨磊, 刘智敏. HIF-1 α , HIF-2 α 和MT在人甲状腺乳头状癌中的表达及其意义. 中国免疫学杂志 2014; 30: 662-665
- 苏帅, 陈鑫, 姜葵, 曹晓仓, 王邦茂. CDX2, COX-2和NF- κ B在胃癌和癌前病变中的表达和意义. 中国肿瘤杂志 2013; 40: 1387-1390
- 蒋星晔. 老年疣状胃炎患者66例临床分析. 中国老年学杂志 2013; 33: 4021-4022

7 郭春丽, 丁西平, 胡摇闻, 虞文永, 王巧民. 疣状胃炎胃黏膜淋巴细胞亚群变化及其临床意义. 安徽医科大学学报 2012; 47: 1229-1232

8 梁秀兰, 贾安平, 杨健. 内镜窄带成像技术对疣状胃炎胃小凹分类及其临床病理价值探讨. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 222-223

9 魏房, 孙威, 王强, 刘丽, 任庆华. HIF-1 α 与iNOS、COX-2在胃癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3900-3903

10 Ravizza R, Molteni R, Gariboldi MB, Marras E, Perletti G, Monti E. Effect of HIF-1 modulation on the response of two- and three-dimensional cultures of human colon cancer cells to 5-fluorouracil. *Eur J Cancer* 2009; 45: 890-898 [PMID: 19171477 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.12.021]

11 卜煜烽, 褚丽娟, 施惠娟, 张晓海, 张洪涛, 高丽琴. 疣状胃炎中医证型与胃黏膜低氧诱导因子- α 及其下游因子表达关系的探讨. 中国中西医结合杂志 2012; 32: 1326-1330

12 邢国辉, 冯玉光, 宗绪山, 吴美英, 朱芸. 丹参酮IIA联合5-FU对低氧下人胃癌SGC7901细胞增殖、凋亡的影响及与HIF-1 α 和突变型P53表达的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 222-228

13 Subbaramaiah K, Lin DT, Hart JC, Dannenberg AJ. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands suppress the transcriptional activation of cyclooxygenase-2. Evidence for involvement of activator protein-1 and CREB-binding protein/p300. *J Biol Chem* 2001; 276: 12440-12448 [PMID: 11278336]

14 唐摇曼, 吴摇强, 吴正升, 张瑰红, 徐晓春. COX-2、RAR- β 2在食管鳞状细胞癌组织中的表达及相互关系. 安徽医科大学学报 2012; 47: 450-453

15 刘智豪, 刘叔文, 余摇乐. COX-2抑制剂联合抗肿瘤的研究进展. 中国药理学通报 2012; 28: 1651-1654

■同行评价
本研究设计合理, 方法可靠, 具有一定的临床研究价值.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第3套为^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应在表的右上方, 表内个数、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. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小7.5 cm×4.5 cm, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

中药方联合TCF方案化疗改善中晚期胃癌患者的疗效评价

习隽丽, 彭波

■背景资料

胃癌是一种常见的恶性肿瘤, 由于早期胃癌无明显症状, 不被重视, 导致诊断准确率较低, 大部分患者在确诊时已处于中晚期, 错过了最佳的手术根治时机。中晚期胃癌对化疗相对较敏感, 规范性的治疗可缓解患者临床症状, 提高生存率, 充分发挥姑息性治疗的作用, 切实的提高患者生存质量。

习隽丽, 彭波, 武汉市第三医院光谷关山院区消化内科 湖北省武汉市 430070

习隽丽, 主要从事消化内科的研究。

作者贡献分布: 本文主要由习隽丽与彭波共同写作完成。

通讯作者: 彭波, 副主任医师, 430070, 湖北省武汉市关山路1号, 武汉市第三医院光谷关山院区消化内科。zhangzhi@yeah.net

收稿日期: 2014-09-09 修回日期: 2014-09-26

接受日期: 2014-09-30 在线出版日期: 2014-12-28

Impact of traditional Chinese medicine combined with TCF regimen chemotherapy on quality of life in patients with advanced gastric cancer

Jun-Li Xi, Bo Peng

Jun-Li Xi, Bo Peng, Department of Gastroenterology, the Third Hospital of Wuhan, Guanggu Guanshan Area, Wuhan 430070, Hubei Province, China

Correspondence to: Bo Peng, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Third Hospital of Wuhan, Guanggu Guanshan Area, 1 Guanshan Road, Wuhan 430070, Hubei Province, China. zhangzhi@yeah.net

Received: 2014-09-09 Revised: 2014-09-26

Accepted: 2014-09-30 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To evaluate the impact of Jianpi Tongluo formula combined with taxol + calcium folinate + 5-fluorouracil (TCF) regimen chemotherapy on quality of life (QOL) in patients with advanced gastric cancer.

METHODS: Ninety-eight patients with advanced gastric cancer were divided into either a control group (49 cases) or a research group (49 cases). The control group was treated with TCF alone, and the research group was treated with Jianpi Tongluo formula combined with TCF. Clinical effects were compared for the two groups.

RESULTS: The total effective rate for the research group was higher than that for the control group (81.63% vs 61.22%, $P < 0.05$). The scores of physical functioning, role function, cognitive function, emotional functioning, and social function for the research group post treat-

ment were significantly higher than those prior treatment (88.56 ± 11.24 vs 78.33 ± 13.24 , 70.89 ± 12.03 vs 53.78 ± 14.67 , 74.56 ± 11.24 vs 59.33 ± 13.24 , 71.89 ± 12.03 vs 58.78 ± 14.67 , 70.78 ± 14.86 vs 62.74 ± 15.46 , $P < 0.05$ for all). The scores of role function, emotional functioning, and social function for the control group post treatment were significantly higher than those prior treatment (61.88 ± 12.02 vs 53.75 ± 13.80 , 65.88 ± 14.00 vs 58.75 ± 13.80 , 69.94 ± 14.89 vs 61.73 ± 13.85 , $P < 0.05$ for all). The scores of physical functioning, role function, cognitive function, and emotional functioning for the research group post treatment were significantly higher than those for the control group (88.56 ± 11.24 vs 80.53 ± 13.55 , 70.89 ± 12.03 vs 61.88 ± 12.02 , 74.56 ± 11.24 vs 62.53 ± 13.55 , 71.89 ± 12.03 vs 65.88 ± 14.00 , $P < 0.05$ for all).

CONCLUSION: Jianpi Tongluo formula combined with TCF regimen chemotherapy has a higher effective rate in patients with advanced gastric cancer than chemotherapy alone, and it can increase the QOL.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Jianpi Tongluo formula; TCF regimen chemotherapy; Advanced gastric cancer; Quality of life

Xi JL, Peng B. Impact of traditional Chinese medicine combined with TCF regimen chemotherapy on quality of life in patients with advanced gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5684-5687 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5684.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5684>

摘要

目的: 分析健脾通络方联合紫杉醇+亚叶酸钙+5-氟尿嘧啶(taxol+calcium folinate+5-fluorouracil, TCF)方案化疗改善中晚期胃癌患者生存质量临床效果。

方法: 收集2013-02/2014-02寿光市中医医院肿瘤内科收治的98例中晚期胃癌患者临床资料, 按照不同的治疗方法, 将患者分为对照组与

■同行评议者
唐文富, 副教授, 四川大学华西医院中西医结合科

研究组, 每组均为49例. 对照组患者单纯采取TCF方案化疗, 研究组患者实施健脾通络方联合TCF方案化疗, 最后分析两组患者的临床治疗效果.

结果: 研究组患者治疗总有效率显著高于对照组(71.43% vs 40.82%), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 研究组患者治疗后躯体功能、角色功能、认知功能、情绪功能和社会功能评分均显著升高, 与治疗前比较(88.56分±11.24分 vs 78.33分±13.24分、70.89分±12.03分 vs 53.78分±14.67分、74.56分±11.24分 vs 59.33分±13.24分、71.89分±12.03分 vs 58.78分±14.67分、70.78分±14.86分 vs 62.74分±15.46分), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 对照组患者治疗后角色功能、情绪功能和社会功能评分均显著升高, 与治疗前比较(61.88分±12.02分 vs 53.75分±13.80分、65.88分±14.00分 vs 58.75分±13.80分、69.94分±14.89分 vs 61.73分±13.85分), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 研究组患者治疗后躯体功能、角色功能、认知功能和情绪功能评分均显著高于对照组(88.56分±11.24分 vs 80.53分±13.55分、70.89分±12.03分 vs 61.88分±12.02分、74.56分±11.24分 vs 62.53分±13.55分、71.89分±12.03分 vs 65.88分±14.00分), 差异具有统计学意义($P<0.05$).

结论: 健脾通络方联合TCF方案化疗中晚期胃癌患者, 可确保较高的治疗有效率, 提高患者生存质量, 值得临床推广.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 健脾通络方; TCF方案化疗; 中晚期胃癌; 生存质量

核心提示: 本研究表明, 研究组患者治疗总有效率为71.43%, 明显高于对照组治疗的40.82%; 且在躯体功能、角色功能、认知功能、情绪功能、社会功能等生存质量评分方面生存的质量评分方明显高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$).

刁隽丽, 彭波. 中药方联合TCF方案化疗改善中晚期胃癌患者疗效的评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5684-5687
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5684.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5684>

0 引言

在我国胃癌的死亡率一直居高不下, 其原因

是我国胃癌患者确诊时75%已为中晚期, 已无法行根治性切除, 而根治性手术后2年内仍有50%-60%发生复发转移. 对于无法手术切除的胃癌, 化疗方案已逐渐成为疗中晚期胃癌的首选方法, 有利于延长患者的生存时间, 提高患者生存质量^[1]. 但单纯化疗对中晚期胃癌患者治疗效果欠佳, 已有研究指出中药可有效改善化疗治疗的中晚期胃癌患者的生存质量. 现对寿光市中医医院肿瘤内科采取健脾通络方联合紫杉醇+亚叶酸钙+5-氟尿嘧啶(taxol+calcium folinate+5-fluorouracil, TCF)方案治疗的中晚期胃癌患者临床效果及生存质量情况进行分析, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2013-02/2014-02寿光市中医医院肿瘤内科收治的98例中晚期胃癌患者临床资料, 按照不同的治疗方法, 将患者分为对照组与研究组, 每组均为49例. 研究组中男29例, 女20例, 年龄在50-83岁之间, 平均年龄为52.34岁±2.09岁. IIIa期患者5例、IIIb期患者15例、IIIc期患者8例、IV期患者4例. 对照组中男28例, 女21例, 年龄在55-85岁之间, 平均年龄为53.33岁±2.37岁. IIIa期患者4例、IIIb期患者17例、IIIc期患者5例、IV期患者6例. 两组患者均符合中晚期胃癌疾病判断标准^[2]: 经病理学确诊的贲门、胃体及胃窦部腺癌、鳞状细胞癌及未分化癌者; 无法行手术切除的胃癌者且预计生存期>3 mo, 患者获得知情同意书等. 排除标准以下: 严重感染者; 合并严重疾病者; 既往接受过含紫杉类方案化疗者等. 两组患者性别、年龄、病情等一般资料对比无显著差异性($P>0.05$), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者化疗前均静脉注射盐酸格拉司琼、西米替丁注射液, 以保护胃黏膜. 于紫杉醇化疗前30 min均予地塞米松、盐酸异丙嗪等. 对照组患者采取TCF方案化疗, 紫杉醇注射液(taxol, TAX), 35 mg/m², 静脉滴注, d1; 亚叶酸钙(calcium folinate, CF)100 mg/m², d1-3; 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)600 mg/m²; d2-4, 每3 wk重复^[3].

研究组在TCF方案化疗基础上给予健脾通络方加减治疗, 基本方: 黄芪30 g, 人参、莪术、白术、茯苓、法半夏、炒谷芽、炒麦芽各10 g, 陈皮、木香各6 g, 砂仁、壁虎各3 g^[4]. 视患者辨证分型进行加减: 脾胃虚寒者加补骨脂10 g、肉豆

■ 相关报道

吴炳辰等将58例中晚期胃癌患者随机分为治疗组与对照组, 对照组采取紫杉醇+亚叶酸钙+5-氟尿嘧啶(taxol+calcium folinate+5-fluorouracil, TCF)方案化疗, 研究组患者实施健脾通络方联合TCF方案化疗, 结果发现, 与对照组对比, 治疗组治疗有效率明显更高, 治疗组患者EORTC QLQ-C30量表的情绪功能、总体生活质量等维度得分均高于对照组.

■ 创新盘点

在临床中最关键在于熟悉胃癌患者的临床表现、病理特征, 才能提高治疗有效率, 改善患者预后情况.

■应用要点

TCF方案中的氟尿嘧啶药物口服吸收后在体内代谢转化为5-Fu,从而发挥抗肿瘤作用.杉醇具有聚合和稳定微管的作用,导致癌细胞复制受阻而死亡.

表 1 两组患者临床疗效比较 [$n = 49, n(\%)$]

分组	完全缓解	部分缓解	疾病稳定	疾病进展	总有效
研究组	26(53.06)	9(18.37)	10(20.41)	4(8.16)	35(71.43) ^a
对照组	6(12.24)	14(28.57)	20(40.82)	9(18.37)	20(40.82)

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

表 2 两组患者治疗前后生存质量评分变化情况比较 (mean \pm SD)

分组	时间	躯体功能	角色功能	认知功能	情绪功能	社会功能
研究组	治疗前	78.33 \pm 13.24	53.78 \pm 14.67	59.33 \pm 13.24	58.78 \pm 14.67	62.74 \pm 15.46
	治疗后	88.56 \pm 11.24 ^{ac}	70.89 \pm 12.03 ^{ac}	74.56 \pm 11.24 ^{ac}	71.89 \pm 12.03 ^{ac}	70.78 \pm 14.86 ^a
对照组	治疗前	78.35 \pm 13.33	53.75 \pm 13.80	59.35 \pm 13.33	58.75 \pm 13.80	61.73 \pm 13.85
	治疗后	80.53 \pm 13.55	61.88 \pm 12.02 ^a	62.53 \pm 13.55	65.88 \pm 14.00 ^a	69.94 \pm 14.89 ^a

^a $P < 0.05$ vs 同组治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组.

寇5g、炮姜炭3g;肝胃郁热者加川连3g、淡吴茱萸1.5g;胃阴不足者加北沙参15g、麦冬12g、炎乌梅5g;痰瘀凝滞者加威灵仙15g、法半夏10g;气滞血癖者加三棱10g、水蛭5g;肝气犯胃者加制香附10g、砂仁后下3g;肠腑燥结者加火麻仁15g、槟榔10g;骨质疼痛者加川断15g、金狗脊15g.以上药方用水煎服,每袋200mL,早晚各1袋,于化疗间歇期服用,总疗程为3wk.

1.2.2 观察指标:比较两组患者临床临床疗效及治疗前后生活质量变化情况.临床疗效评价标准:完全缓解:病灶完全消退;部分缓解:病灶最长径缩小 $\geq 30\%$;疾病稳定:病灶最长径缩小 $< 30\%$;疾病进展:病灶最大长径 $\geq 20\%$,患者临床症状无改变、生命体征没有好转,甚至出现加重现象^[5].总有效率 = (完全缓解+部分缓解)/总病例数 $\times 100\%$.生活质量评分采用EORTC QLQ-C30评分量表^[6],共有30个条目,分别为躯体、角色、认知、情绪、社会等5个功能领域,得分越高表明生存质量越高.

统计学处理 使用SPSS17.0软件进行统计分析,用mean \pm SD表示计量资料,采用 t 检验,用百分比表示计数资料,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较 研究组患者治疗总有效率显著高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表1).

2.2 两组患者治疗前后生存质量评分变化情

况比较 研究组患者治疗后躯体功能、角色功能、认知功能、情绪功能和社会功能评分均显著升高,与治疗前比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$);对照组患者治疗后角色功能、情绪功能和社会功能评分均显著升高,与治疗前比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$);研究组患者治疗后躯体功能、角色功能、认知功能和情绪功能评分均显著高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表2).

3 讨论

我国胃癌发病率保持逐年增长的趋势,经流行病学调查表明,胃癌死亡率居恶性肿瘤死亡率之首位^[7],胃癌早期临床诊断具有重要的意义,加强预防处理措施,严格观察胃癌患者病情转化,才能改善患者预后情况,提高患者生存率.胃癌是一种常见的恶性肿瘤,由于早期胃癌无明显症状,不被重视,导致诊断准确率较低,大部分患者在确诊时已处于中晚期,错过了最佳的手术根治时机^[8].中晚期胃癌对化疗相对较敏感,规范性的治疗可缓解患者临床症状,提高生存率,充分发挥姑息性治疗的作用,切实的提高患者生存质量^[9].

TCF方案中的氟尿嘧啶药物口服吸收后在体内代谢转化为5-Fu,从而发挥抗肿瘤作用^[10].杉醇具有聚合和稳定微管的作用,导致癌细胞复制受阻而死亡^[11].亚叶酸钙与氟尿嘧啶联合应用,可降低疾病进展风险,延长生存期^[12].中晚期胃癌的治疗关键在于健脾通络、畅达阳气,

黄芪、人参等作为健脾通络方的重要组成成分, 党参兼补气益气、生血作用^[13]; 莪术、白术主要功效为健脾、益气、利水渗湿等; 茯苓具有健脾、补肺、清热利湿的功效; 法半夏有利于补脾养胃、生津健胃^[14]; 陈皮、木香可起到活血化瘀、散结消肿等作用; 砂仁、壁虎功能为祛风利湿、解毒消痈等, 化疗方案中黄芪、人参、莪术、陈皮、木香砂仁、壁虎等药物配方使用, 共奏扶正祛邪、益气健脾、活血通络、改善气虚等整体功效, 以巩固治疗效果, 充分改善患者临床症状^[15]。灵活应用辨证治疗方法, 以达到同病异治或者异病同治的效果。现代药理研究表明, 健脾通络方联合TCF方案化疗具有抗肿瘤、抗病毒、抗衰老、抗氧化、抗辐射、抗应激等药理作用, 不断调节免疫, 从而促进肿瘤细胞凋亡, 增强高机体免疫功能^[16]。通过以上研究表明, 研究组患者治疗总有效率为71.43%, 明显高于对照组的40.82%; 且在躯体功能、角色功能、认知功能、情绪功能、社会功能等生存质量评分方面生存的质量评分方明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。吴炳辰等的研究结果也证实这点, 他们将58例中晚期胃癌患者随机分为治疗组与对照组, 对照组采取TCF方案化疗, 研究组患者实施健脾通络方联合TCF方案化疗, 结果发现, 与对照组对比, 治疗组治疗有效率明显更高, 治疗组患者EORTC QLQ-C30量表的情绪功能、总体生活质量等维度得分均高于对照组($P < 0.05$)。可见, 在临床中最关键在于熟悉胃癌患者的临床表现、病理特征, 才能提高治疗有效率, 改善患者预后情况。

总之, 健脾通络方联合TCF方案化疗治疗中晚期胃癌, 治疗效果良好, 安全性良好, 且不增加不良反应, 缓解患者痛苦程度, 改善预后情况, 提高患者生命质量, 值得临床推广。

4 参考文献

- 1 王李杰, 白莉, 焦顺昌. 胃癌靶向治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2385-2396
- 2 Satoh T, Bang YJ, Gotovkin EA, Hamamoto Y, Kang YK, Moiseyenko VM, Ohtsu A, Van Cutsem E, Al-Sakaff N, Urspruch A, Hill J, Weber HA, Chung

- 3 HC. Quality of life in the trastuzumab for gastric cancer trial. *Oncologist* 2014; 19: 712-719 [PMID: 24951609 DOI: 10.1634/theoncologist.2014-0058]
- 4 张存良, 姚路静. 甲地孕酮联合TCF化疗方案对晚期胃癌患者生活质量的影响. 中国当代医药 2014; 11: 82-84
- 5 李朝燕, 赵爱光. 中医药治疗晚期胃癌临床对照试验疗效的文献分析. 中医药学报 2011; 26: 46-49
- 6 Lee SS, Chung HY, Kwon OK, Yu W. Quality of life in cancer survivors 5 years or more after total gastrectomy: a case-control study. *Int J Surg* 2014; 12: 700-705 [PMID: 24866069 DOI: 10.1016/j.ijsu.2014.05.067]
- 7 郑君, 郑坚, 郑培永. 生存质量量表在胃癌疗效评价中的应用进展. 中西医结合学报 2008; 6: 304-310.
- 8 Kizaki J, Aoyagi K, Sato T, Kojima M, Shirouzu K. Production of ghrelin by the stomach of patients with gastric cancer. *Kurume Med J* 2014; 60: 99-104 [PMID: 24858413]
- 9 Misawa K, Fujiwara M, Ando M, Ito S, Mochizuki Y, Ito Y, Onishi E, Ishigure K, Morioka Y, Takase T, Watanabe T, Yamamura Y, Morita S, Kodera Y. Long-term quality of life after laparoscopic distal gastrectomy for early gastric cancer: results of a prospective multi-institutional comparative trial. *Gastric Cancer* 2014 May 7. [Epub ahead of print][PMID: 24801197]
- 10 朱宇东, 阮旭东. 胃癌中药联合化疗新进展. 现代中西医结合杂志 2010; 19: 4372-4374
- 11 Koh MJ, Jeung HC, Namkoong K, Chung HC, Kang JI. Influence of the BDNF Val66Met polymorphism on coping response to stress in patients with advanced gastric cancer. *J Psychosom Res* 2014; 77: 76-80 [PMID: 24913346 DOI: 10.1016/j.jpsychores.2014.04.008]
- 12 Mitsumori N, Nimura H, Takahashi N, Kawamura M, Aoki H, Shida A, Omura N, Yanaga K. Sentinel lymph node navigation surgery for early stage gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 5685-5693 [PMID: 24914329 DOI: 10.3748/wjg.v20.i19.5685]
- 13 Lee SS1, Chung HY, Kwon O, Yu W. Long-term Shifting Patterns in Quality of Life After Distal Subtotal Gastrectomy: Preoperative- and Healthy-Based Interpretations. *Ann Surg* 2014 Jul 28. [Epub ahead of print][PMID: 25072431]
- 14 文嘉陵, 方健, 胡雪岭. 中药对晚期胃癌患者免疫功能及生存质量的影响. 细胞与分子免疫学杂志 2010; 26: 1319-1320
- 15 陈麒阳, 陈理. 中医药对肿瘤患者化疗后生存质量的影响. 中医学报 2014; 29: 182-185
- 16 王娜, 关泉林, 姜雷, 周欣, 高晨, 杨含腾. 奥沙利铂、顺铂联合5-FU/LV治疗晚期胃癌的系统评价. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3148-3154
- 17 Park S, Chung HY, Lee SS, Kwon O, Yu W. Serial comparisons of quality of life after distal subtotal or total gastrectomy: what are the rational approaches for quality of life management? *J Gastric Cancer* 2014; 14: 32-38 [PMID: 24765535 DOI: 10.5230/jgc.2014.14.1.32]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



同行评价
本研究选题实用, 结果科学, 有一定的学术价值。

三镜联合胆囊切除及胆道探查术治疗急性梗阻性化脓性胆管炎的临床效果

牛海刚, 高瑞忠, 朱福义, 张国锋

■背景资料

急性梗阻性化脓性胆管炎(acute obstructive suppurative cholangitis, AOSC)是由胆道梗阻及细菌感染引起的,使胆管内压升高,肝胆血屏障受损,导致高胆红素血症、中毒性肝炎、感染性休克以及多器官功能衰竭等一系列严重并发症,造成以肝胆系统病损为主,合并多器官受损的全身严重感染性疾病,是急性胆管炎的严重形式。

牛海刚, 高瑞忠, 山西医科大学汾阳学院外科教研室 山西省汾阳市 032200

朱福义, 张国锋, 山西省汾阳医院普外科 山西省汾阳市 032200

牛海刚, 讲师, 主要从事普通外科的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由牛海刚设计; 研究过程由牛海刚与朱福义完成; 数据分析由高瑞忠与张国锋完成; 写作由牛海刚、高瑞忠、朱福义及张国锋共同完成。

通讯作者: 牛海刚, 讲师, 032200, 山西省汾阳市英雄北路16号, 山西医科大学汾阳学院外科教研室. n965401@163.com

电话: 0358-7222619

收稿日期: 2014-10-17 修回日期: 2014-11-12

接受日期: 2014-12-08 在线出版日期: 2014-12-28

Clinical effects of duodenoscopy, laparoscopy, and choledochoscopy combined with cholecystectomy and common bile duct exploration in treatment of acute obstructive suppurative cholangitis

Hai-Gang Niu, Rui-Zhong Gao, Fu-Yi Zhu, Guo-Feng Zhang

Hai-Gang Niu, Rui-Zhong Gao, Department of Surgery, Fenyang College of Shanxi Medical University, Fenyang 032200, Shanxi Province, China

Fu-Yi Zhu, Guo-Feng Zhang, Department of General Surgery, Fenyang Hospital of Shanxi, Fenyang 032200, Shanxi Province, China

Correspondence to: Hai-Gang Niu, Lecturer, Department of Surgery, Fenyang College of Shanxi Medical University, 16 Yingxiong North Road, Fenyang 032200, Shanxi Province, China. n965401@163.com

Received: 2014-10-17 Revised: 2014-11-12

Accepted: 2014-12-08 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To observe the clinical effects of duodenoscopy, laparoscopy, and choledochoscopy combined with cholecystectomy and common bile duct exploration in the treatment of acute obstructive suppurative cholangitis (AOSC).

METHODS: Ninety-six patients with AOSC treated at our hospital were randomly divided

into either an observation group or a control group. Both groups underwent routine examination and treatment. The observation group additionally underwent endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) + endoscopic naso-biliary drainage (ENBD) + endoscopic sphincter papillotomy (EST) + laparoscopic cholecystectomy bile duct exploration (LCBDE) combination therapy, and the control group received open cholecystectomy and common bile duct exploration. Direct bilirubin, alanine aminotransferase, white blood cell count, serum albumin, and cholinesterase were compared between the two groups. Operative time, amount of intraoperative bleeding, time to anal exhaust, hospital stay, postoperative complications, residual stones, and incision infection were also compared.

RESULTS: Direct bilirubin, alanine transaminase, white blood cell count, albumin, and cholinesterase levels at postoperative week 1 were significantly better in the observation group than in the control group ($6.63 \mu\text{mol/L} \pm 1.82 \mu\text{mol/L}$ vs $11.34 \mu\text{mol/L} \pm 2.8 \mu\text{mol/L}$; $23.38 \mu\text{mol/L} \pm 10.47 \mu\text{mol/L}$ vs $40.25 \mu\text{mol/L} \pm 16.30 \mu\text{mol/L}$; $6.53 \times 10^9/\text{L} \pm 2.13 \times 10^9/\text{L}$ vs $9.65 \times 10^9/\text{L} \pm 3.10 \times 10^9/\text{L}$; $40.34 \text{ g/L} \pm 6.53 \text{ g/L}$ vs $33.64 \text{ g/L} \pm 5.21 \text{ g/L}$; $7.10 \text{ U/L} \pm 1.82 \text{ U/L}$ vs $4.93 \text{ U/L} \pm 1.63 \text{ U/L}$; $P < 0.05$). Operative time did not differ significantly between the two groups ($128.34 \text{ min} \pm 12.58 \text{ min}$ vs $118.58 \text{ min} \pm 11.67 \text{ min}$, $P > 0.05$). Blood loss, time to anal exhaust and hospital stay were significantly better in the observation group ($54.20 \text{ mL} \pm 10.10 \text{ mL}$ vs $252.50 \text{ mL} \pm 75.16 \text{ mL}$; $23.16 \text{ h} \pm 3.64 \text{ h}$ vs $70.25 \text{ h} \pm 10.53 \text{ h}$; $5.50 \text{ d} \pm 1.13 \text{ d}$ vs $15.50 \text{ d} \pm 4.38 \text{ d}$; $P < 0.05$). During 9 to 12 mo of follow-up, the rate of wound infection and residual stones was significantly lower in the observation group (6.25% vs 31.25% , $P < 0.05$).

CONCLUSION: ERCP + ENBD + EST + LCBDE combination therapy can effectively improve physiological indexes, reduce intraoperative bleeding, hospitalization time, and the incidence

■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

of complications, and improve the prognosis and quality of life in AOSC patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Acute obstructive suppurative cholangitis; Duodenoscopy; Laparoscopy; Choledochoscopy; Cholecystectomy and common bile duct exploration

Niu HG, Gao RZ, Zhu FY, Zhang GF. Clinical effects of duodenoscopy, laparoscopy, and choledochoscopy combined with cholecystectomy and common bile duct exploration in treatment of acute obstructive suppurative cholangitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5688-5692 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5688.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5688>

摘要

目的: 探讨三镜(十二指肠镜、腹腔镜、胆道镜)联合胆囊切除及胆道探查术治疗急性梗阻性化脓性胆管炎(acute obstructive suppurative cholangitis, AOSC)的临床效果。

方法: 按照随机数字表法将山西省汾阳医院普外科收治的96例AOSC患者随机分为观察组和对照组。患者入院后均行常规检查和治疗,在此基础上观察组给予内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)+鼻胆管引流(endoscopic naso-biliary drainage, ENBD)+乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)+腹腔镜下胆囊切除胆道探查术(laparoscopic cholecystectomy bile duct exploration, LCBDE)联合治疗,对照组给予开腹胆囊切除及胆道探查术治疗。观察两组患者术前、术后直接胆红素、谷丙转氨酶、白细胞计数、血清白蛋白、胆碱酯酶水平变化情况;记录患者手术时间、术中出血量、肛门排气时间以及住院时间;观察患者术后并发症、结石残留、切口感染情况。

结果: 观察组患者术后1 wk直接胆红素、谷丙转氨酶、白细胞计数、血清白蛋白、胆碱酯酶水平变化程度显著优于对照组($6.63 \mu\text{mol/L} \pm 1.82 \mu\text{mol/L}$ vs $11.34 \mu\text{mol/L} \pm 2.8 \mu\text{mol/L}$; $23.38 \mu\text{mol/L} \pm 10.47 \mu\text{mol/L}$ vs $40.25 \mu\text{mol/L} \pm 16.30 \mu\text{mol/L}$; $6.53 \times 10^9/\text{L} \pm 2.13 \times 10^9/\text{L}$ vs $9.65 \times 10^9/\text{L} \pm 3.10 \times 10^9/\text{L}$; $40.34 \text{ g/L} \pm 6.53 \text{ g/L}$ vs $33.64 \text{ g/L} \pm 5.21 \text{ g/L}$; $7.10 \text{ U/L} \pm 1.82 \text{ U/L}$ vs $4.93 \text{ U/L} \pm 1.63 \text{ U/L}$), 差异有统计学意义($P < 0.05$); 两组患者手术时间比较(128.34 min

$\pm 12.58 \text{ min}$ vs $118.58 \text{ min} \pm 11.67 \text{ min}$), 差异无统计学意义($P > 0.05$); 观察组患者术中出血量、肛门排气时间及住院时间与对照组比较有显著性差异($54.20 \text{ mL} \pm 10.10 \text{ mL}$ vs $252.50 \text{ mL} \pm 75.16 \text{ mL}$; $23.16 \text{ h} \pm 3.64 \text{ h}$ vs $70.25 \text{ h} \pm 10.53 \text{ h}$; $5.50 \text{ d} \pm 1.13 \text{ d}$ vs $15.50 \text{ d} \pm 4.38 \text{ d}$), 差异有统计学意义($P < 0.05$); 随访9-12 mo, 观察组患者术后并发症、切口感染和结石残留发生率显著低于对照组(6.25% vs 31.25%), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: ERCP+ENBD+EST+LCBDE联合治疗AOSC能有效改善患者的生理指标, 减少术中出血量, 缩短住院时间, 降低并发症发生率, 充分改善患者预后情况, 提高患者生活质量, 值得临床推广。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 急性梗阻性化脓性胆管炎; 十二指肠镜; 腹腔镜; 胆道镜; 胆囊切除及胆道探查术

核心提示: 本组研究采用磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography)+鼻胆管引流(endoscopic naso-biliary drainage)+内镜下乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy)+腹腔镜下胆囊切除胆道探查术(laparoscopic cholecystectomy bile duct exploration)联合治疗急性梗阻性化脓性胆管炎(acute obstructive suppurative cholangitis)有利于减少患者术中出血量, 缩短住院时间, 降低并发症发生率, 充分改善患者预后情况, 能有效改善患者的生理指标, 促进患者及早康复。

牛海刚, 高瑞忠, 朱福义, 张国锋. 三镜联合胆囊切除及胆道探查术治疗急性梗阻性化脓性胆管炎的临床效果. *世界华人消化杂志* 2014; 22(36): 5688-5692 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5688.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5688>

0 引言

急性梗阻性化脓性胆管炎(acute obstructive suppurative cholangitis, AOSC)是由胆道梗阻及细菌感染引起的, 使胆管内压升高, 肝胆血屏障受损, 造成以肝胆系统病损为主, 合并多器官损害的全身严重感染性疾病^[1]。随着临床内镜治疗技术的不断进步, 十二指肠镜、胆道镜技术在AOSC临床治疗中得到广泛应用。相对于传统的开腹手术, 其具有创伤小、恢复快等优点^[2]。本研究采用三镜(十二指肠镜、腹腔镜、胆道镜)联合胆囊切除

■ 研究前沿

三镜联合是指十二指肠镜联合腹腔镜、胆道镜治疗AOSC, 先行十二指肠镜鼻胆管引流术(endoscopic naso-biliary drainage, ENBD), 待有效控制胆道感染, 患者生理状况稳定后行腹腔镜胆道探查术(laparoscopic cholecystectomy, LC)+腹腔镜胆总管探查取石术(laparoscopic cholecystectomy bile duct exploration, LCBDE)。随着微创技术的飞速发展, 内镜技术(十二指肠镜、胆道镜)在AOSC中的应用越来越广泛, 并显示出相对于传统急诊开腹手术优越性。

■ 相关报道

AOSC患者机体内环境极度紊乱, 对患者行急诊开腹手术, 患者手术耐受力低, 术中及术后风险大大增加, 极易导致多器官功能衰竭, 甚至死亡。三镜联合术前先行鼻胆管引流, 尽早解除了胆道梗阻, 使胆管内梗阻的胆汁得到充分引流, 胆道内高压也得到缓解, 使进入血循环的毒素减少, 有效控制炎症蔓延。此外, 可充分引流胆汁, 待患者机体内环境稳定后再施行手术, 从而避免了急诊手术的风险。

■ 创新盘点

传统手术治疗AOSC以开腹胆道减压为主,手术创伤大,住院时间长,恢复速度慢,急诊死亡率高,特别对于高龄体弱患者,有较多合并症,会大大增加患者手术风险。随着内镜技术的进步,腹腔镜、胆道镜及十二指肠镜联合治疗AOSC具有创伤小、见效快、疗效好的优点,已成为临床上广泛应用的微创外科技术。

及胆道探查术治疗山西省汾阳医院普外科收治的96例AOSC患者,取得显著疗效,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取山西省汾阳医院普外科2010-01/2014-04收治的96例AOSC患者作为研究对象,按照随机数字表法随机分为观察组($n = 48$)和对照组($n = 48$)两组。观察组,男30例,女18例,年龄38-78岁,平均58.6岁 \pm 5.3岁。其中,胆总管结石合并胆囊结石24例、胆总管结石15例、胆总管结石合并肝内胆管结石6例、肝门部胆管癌3例;对照组,男27例,女21例,年龄45-77岁,平均61.2岁 \pm 5.5岁;其中,胆总管结石合并胆囊结石27例、胆总管结石9例、胆总管结石合并肝内胆管结石9例、肝门部胆管癌3例。所有患者影像学检查均提示胆道梗阻改变,临床表现以腹痛、黄疸、寒战发热和不同程度的休克为主,均符合AOSC诊断标准^[3]。两组患者性别、年龄、临床表现等一般资料比较($P > 0.05$),差异无统计学意义。十二指肠镜(TJF-160R,日本奥林巴斯)、腹腔镜(HD EndoEYE 10mm,日本奥林巴斯)、胆道镜(JS05EO-270F,北京中西远大科技)。**1.2 方法** 患者入院后均行常规检查和治疗,包括:血常规、肝功能、动脉血气、血尿酸淀粉酶、肝胆脾胰计算机断层扫描(computed tomography, CT)、肝胆胰腺彩超、磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)等检查,给予禁食、禁水、解痉、抑酸、静脉营养支持、维持水电解质、抑制胰酶分泌以及抗休克等治疗。

1.2.1 对照组: 给予十二指肠镜、腹腔镜、胆道镜联合胆囊切除胆道探查术治疗。均急诊行内镜下逆行ERCP,同时在十二指肠镜下进行鼻胆管引流(endoscopic naso-biliary drainage, ENBD),以明确胆管结石的分布、数量及体积等情况;对于十二指肠乳头狭窄的患者,应行内镜下乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)。在十二指肠镜下取石成功后,要及时给予患者静脉营养支持、维持水电解质平衡、护肝利胆等治疗。术后,待患者的脉搏、体温、血常规等恢复正常,血转氨酶、胆红素降低后行腹腔镜下胆囊切除胆道探查术(laparoscopic cholecystectomy bile duct exploration, LCBDE)。建立气腹,用4孔法充分显露出胆囊三角与胆总管,通过牵拉胆囊以促使胆总管的充分暴露,根据鼻胆管的定位切开胆总管,利用胆囊的牵引作用对胆总管起到固定作用;采用弯组织剪沿

着胆总管纵轴进行胆总管前的剪开,并用分离钳将结石取出,采用开腹胆道手术器械直接经剑突下套管针孔将纤维胆道镜置入,进行胆道探查,尽可能将胆道内结石全部取出。对于胆道内结石较多无法一次性取完的患者,放置T管引流,并于术后再经胆道镜进行二次取石。对于胆总管直径 < 1 cm的患者,放置16-18 F T管引流;对于胆总管直径 ≥ 1 cm的患者,采用4-0薇乔缝线对胆管进行缝合。术中在网膜孔放置多孔引流管引流,自右腋前线套管针孔处引出,术后留置鼻胆管7 d, 3-5 d拔出引流管。

1.2.2 观察组: 给予开腹胆囊切除及胆道探查术治疗,术中尽可能将胆道内结石全部取出,术后放置T管引流2-3 wk。

1.2.3 观察指标: 于术前、术后抽取患者清晨空腹静脉血,常温静置40 min, 4000 r/min离心取血清。采用日本OlymPus全自动生化分析仪测定患者直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、白细胞计数(white blood cell count, WBC)、血清白蛋白(albumin, ALB)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)水平^[4];记录两组患者的手术时间、术中出血量、肛门排气时间以及住院时间;随访9-12 mo,观察患者术后并发症、结石残留、切口感染情况^[5]。

统计学处理 本研究数据均采用SPSS17.0进行统计学处理,计量资料以mean \pm SD表示,计数资料以数(n)与率(%)表示,组间比较采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者术前、术后DBIL、ALT、WBC、ALB、CHE水平变化比较 术前,两组患者的DBIL、ALT、WBC、ALB、CHE水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);观察组患者术后1 wk的DBIL、ALT、WBC、ALB、CHE水平变化程度均显著优于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)(表1)。

2.2 两组患者手术时间、术中出血量、肛门排气时间以及住院时间比较 两组患者手术时间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);观察组患者术中出血量、肛门排气时间及住院时间与对照组比较有显著性差异,差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

2.3 两组患者术后并发症、切口感染和结石残留情况比较 随访9-12 mo,观察组患者术后并

表 1 两组患者术前、术后DBIL、ALT、WBC、ALB、CHE水平变化比较 ($n = 48$, mean \pm SD)

分组	DBIL(μ mol/L)		ALT(μ mol/L)		WBC($\times 10^9$ /L)		ALB(g/L)		CHE(U/L)	
	术前	术后1 wk	术前	术后1 wk	术前	术后1 wk	术前	术后1 wk	术前	术后1 wk
观察组	14.86	6.63	49.35	23.38	10.88	6.53	30.43	40.34	4.28	7.1
	± 3.24	$\pm 1.82^a$	± 17.64	$\pm 10.47^a$	± 3.58	$\pm 2.13^a$	± 6.24	$\pm 6.53^a$	± 1.54	$\pm 1.82^a$
对照组	14.21	11.3	48.62	40.25	10.75	9.65	29.95	33.64	4.35	4.93
	± 3.20	± 2.8	± 17.58	± 16.30	± 3.52	± 3.10	± 4.20	± 5.21	± 1.55	± 1.63

^a $P < 0.05$ vs 对照组术后1 wk. DBIL: 直接胆红素; ALT: 谷丙转氨酶; WBC: 白细胞计数; ALB: 血清白蛋白; CHE: 胆碱酯酶.

应用要点

三镜(十二指肠镜、腹腔镜、胆道镜)联合胆囊切除及胆道探查术治疗AOSC能有效改善患者的生理指标,减少术中出血量,缩短住院时间,降低并发症发生率,充分改善患者预后情况,提高患者生活质量,值得临床推广。

表 2 两组患者手术时间、术中出血量、肛门排气时间以及住院时间比较 ($n = 48$, mean \pm SD)

分组	手术时间(min)	术中出血量(mL)	肛门排气时间(h)	住院时间(d)
观察组	128.34 \pm 12.58	54.20 \pm 10.10 ^a	23.16 \pm 3.64 ^a	5.50 \pm 1.13 ^a
对照组	118.58 \pm 11.67	252.50 \pm 75.16	70.25 \pm 10.53	15.50 \pm 4.38

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

表 3 两组患者术后并发症、切口感染和结石残留情况比较 ($n = 48$, $n(\%)$)

分组	并发症	切口感染	结石残留	发生率
观察组	0(0)	0(0)	1(6.25)	1(6.25) ^a
对照组	1(6.25)	2(12.50)	2(12.50)	5(31.25)

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

发症、切口感染和结石残留发生率显著低于对照组(6.25% vs 31.25%),差异有统计学意义($P < 0.05$)(表3).

3 讨论

AOSC是一种主要由胆管结石、胆管狭窄堵塞胆管等引起胆道感染而导致的严重性胆道疾病^[6]. AOSC具有发病急、发展快等特点,一旦确诊,应尽早解除梗阻,充分引流出脓性胆汁,使胆道压力降低,以起到治疗的目的^[7]. 临床中传统的治疗方法主要以开腹胆道减压为主,虽然减压效果较好,但手术创伤较大,且患者的机体内环境紊乱. 若直接行急诊开腹手术,由于患者对手术的耐受力降低,就会增加术中及术后的风险^[8]. 研究报道,内镜治疗能有效解除胆道梗阻,并能起到减压引流的作用,符合AOSC临床治疗的原则^[9]. 随着内镜技术在肝内外胆管结石临床中应用越来越成熟,目前临床中手术治疗AOSC,主要有二镜、三镜联合治疗,EST+LC或者ENBD+LC+LCBDE^[10].

本组研究采用ERCP+ENBD+EST+LCBDE联合治疗AOSC. 早期行十二指肠镜诊治,在建立胆道引流之后,尽早解除患者的胆道梗阻,使患者胆管内梗阻的胆汁被充分引流出来,并缓解患者的胆道内高压,从而减少进入血液循环中的血栓、毒素、细菌等,抑制炎症的蔓延,使患者的临床症状及体征得到一定程度的改善^[11];待患者病情趋于稳定后,再行胆道镜手术治疗^[12,13]. 对于一些急诊手术患者,先进行通畅引流再进行取石,主要是为了缩短手术时间和降低手术风险^[14];对于易于取出、单发、细小的胆总管结石,可在患者可耐受下取出,对于不能耐受手术的患者则要在患者的病情趋于稳定后,在平稳期再行胆道镜手术取石^[15]. 研究结果显示:术后1 wk,观察组患者的DBIL、ALT、WBC、ALB、CHE水平变化程度均显著优于对照组,表明ERCP+ENBD+EST+LCBDE联合治疗AOSC能有效改善患者的生理指标,促进患者及早康复;观察组患者的术中出血量、肛门排气时间、住院时间以及术后并发症、切口感

■同行评价

本研究应用三镜(十二指肠镜、腹腔镜、胆道镜)联合胆囊切除及胆道探查术治疗AOSC取得显著疗效,选题实用,具有一定的可读性。

染和结石残留发生率均显著低于对照组,表明ERCP+ENBD+EST+LCBDE联合治疗AOSC有利于减少患者术中出血量,缩短住院时间,降低并发症发生率,充分改善患者预后情况。

总之,ERCP+ENBD+EST+LCBDE联合治疗AOSC能有效改善患者的生理指标,减少术中出血量,缩短住院时间,降低并发症发生率,充分改善患者预后情况,提高患者生活质量,值得临床推广。

4 参考文献

- 1 庄东海. 内镜治疗急性梗阻性化脓性胆管炎的疗效观察. *山东医药* 2012; 52: 67-68
- 2 刘继东, 阎玉矿, 戴璟瑜, 鲍兴, 叶进军. 腹腔镜和胆道镜及十二指肠镜联合治疗急性梗阻性化脓性胆管炎的临床分析. *广西医学* 2014; 36: 969-971
- 3 吴中. ENBD在急性梗阻性化脓性胆管炎的临床疗效分析. *中国现代医生* 2010; 48: 153-154
- 4 李峰, 肖帅, 周筱筠. 急性梗阻性化脓性胆管炎三镜联合治疗的临床研究. *中国内镜杂志* 2010; 16: 771-773
- 5 王辉, 李峰, 周筱俊, 谢荣俊, 张树友, 周明利. 三镜联合与开腹手术治疗急性梗阻性化脓性胆管炎的对比分析. *腹腔镜外科杂志* 2012; 17: 580-582
- 6 Bin OY, Zeng KW, Hua HW, Zhang XQ, Chen FL. Endoscopic nasobiliary drainage and percutaneous transhepatic biliary drainage for the treatment of acute obstructive suppurative cholangitis: a retrospective study of 37 cases. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 2454-2456 [PMID: 22591676]
- 7 Yoshiki Y, Yamamoto G, Takazawa Y, Nannya Y, Ishida J, Nagai R, Fukayama M, Kurokawa M. AL amyloidosis with severe gastrointestinal invasion and acute obstructive suppurative cholangitis. *Ann Hematol* 2012; 91: 467-468 [PMID: 21643678 DOI: 10.1007/s00277-011-1271-7]
- 8 Watanabe K, Yokoyama Y, Kokuryo T, Kawai K, Kitagawa T, Seki T, Nakagawa A, Nagino M. 15-deoxy-delta 12,14-prostaglandin J2 prevents inflammatory response and endothelial cell damage in rats with acute obstructive cholangitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G410-G418 [PMID: 20056897 DOI: 10.1152/ajpgi.00233.2009]
- 9 余森, 吴东, 龙伟彬. 不同手术方式治疗急性梗阻性化脓性胆管炎的临床对比分析. *吉林医学* 2014; 35: 3342
- 10 张海洋, 厉冰, 杨玉兵, 宋展, 王耿泽. 急性梗阻性化脓性胆管炎患者应用腹腔镜手术与开腹手术效果对比. *中国实用医药* 2014; 9: 56-57
- 11 龙昊, 杨秀江, 王洪林, 谢浩, 张奇能, 宋正伟. 103例急性梗阻性化脓性胆管炎手术治疗分析. *重庆医学* 2012; 41: 451-452
- 12 王小鹏, 蔡逢春, 令狐恩强, 杨云生, 王向东, 孟江云, 杜红, 王红斌, 李闻. 急性梗阻性化脓性胆管炎的早期内镜介入与外科手术治疗的比较. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 866-869
- 13 汪青峰. 双镜联合治疗急性梗阻性化脓性胆管炎并胆总管一期缝合疗效观察. *中国药物经济学* 2012; 7: 171-172
- 14 张云峰, 高森, 李良. 老年急性梗阻性化脓性胆管炎(AOSC)临床治疗分析. *肝胆外科杂志* 2011; 19: 427-428
- 15 周利民, 童裳越, 方敏, 方晓红. 内镜逆行胰胆管造影内外引流治疗巨大胆总管结石所致急性梗阻性化脓性胆管炎疗效比较. *中国乡村医药* 2013; 20: 7-8

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



梗阻性黄疸行ERCP或PTCD/PTGD术收取胆汁行细菌培养99例

朱晓丹, 陈卫刚, 韩岩智, 尚国臣, 郑勇

朱晓丹, 陈卫刚, 韩岩智, 尚国臣, 郑勇, 石河子大学第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市 832000

朱晓丹, 在读硕士, 主要从事肝胆胰肿瘤诊治的研究。

作者贡献分布: 朱晓丹与郑勇对此文所作贡献均等; 此课题由朱晓丹、陈卫刚、韩岩智、尚国臣及郑勇设计; 技术操作由郑勇、陈卫刚、韩岩智及尚国臣操作完成; 数据分析及论文写作由朱晓丹完成。

通讯作者: 郑勇, 主任医师, 832000, 新疆维吾尔自治区石河子市北二路, 石河子大学第一附属医院消化内科。

zy2850@126.com

电话: 0993-2859284

收稿日期: 2014-08-13 修回日期: 2014-11-05

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Bacterial culture of bile harvested from obstructive jaundice patients by ERCP or PTCD/PTGD drainage: Analysis of 99 cases

Xiao-Dan Zhu, Wei-Gang Chen, Yan-Zhi Han, Guo-Chen Shang, Yong Zheng

Xiao-Dan Zhu, Wei-Gang Chen, Yan-Zhi Han, Guo-Chen Shang, Yong Zheng, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to: Yong Zheng, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Beier Road, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zy2850@126.com
Received: 2014-08-13 Revised: 2014-11-05
Accepted: 2014-11-12 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To assess the distribution and characteristics of bile pathogenic bacteria in obstructive jaundice patients who received endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) or percutaneous transhepatic cholangiography/gallbladder drainage (PTCD/PTGD) and analyze the isolated bile bacteria, in order to guide the reasonable and individualized use of antibiotics.

METHODS: A retrospective analysis was performed of the clinical data for 90 patients with obstructive jaundice who received ERCP or PTCD/PTGD drainage at the First Affiliated

Hospital of Shihezi University from January 2008 to September 2013. The relationship between bacterial spectrum and the nature of biliary obstruction or the selection of drainage methods was analyzed.

RESULTS: A total of 99 bile samples were harvested from 90 patients (including 55 cholelithiasis patients and 35 malignancy patients), of which 32 were obtained by ERCP and 67 by PTCD/PTGD. Bacterial growth was found in the bile drainage of 64 (64.6%) patients. A total of 73 strains were cultured, including 63 (86.3%) gram-negative strains and 10 (13.7%) gram-positive strains. The rate of bacterial detection was 56.8% in malignant obstruction patients and 70.9% in cholelithiasis patients ($P > 0.05$). In patients who received ERCP or PTCD/PTGD drainage for the first time, the rate of bacterial detection was 78.1% and 56.9%, respectively, which showed a significant difference ($P < 0.05$). The rate of bacterial detection did not differ significantly between bile samples (from those who had one or more operations) collected by ERCP and those by PTCD/PTGD ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Gram-negative bacteria remain the commonest pathogens in patients with obstructive jaundice. The top three pathogenic bacteria are *Escherichia coli*, *Enterococcus*, and *Klebsiella pneumoniae*. Bile collected by ERCP can more accurately reflect the fact of biliary bacterial colonization than PTCD/PTGD, and ERCP is associated with lower rates of reoperation and postoperative infection.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Obstructive jaundice; ERCP; PTCD/PTGD; Bacterial spectrum

Zhu XD, Chen WG, Han YZ, Shang GC, Zheng Y. Bacterial culture of bile harvested from obstructive jaundice patients by ERCP or PTCD/PTGD drainage: Analysis of 99 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5693-5698 URL:

■背景资料

胆道梗阻所致的胆汁引流不畅是引起胆道感染的重要因素。经皮肝穿刺胆管/胆囊引流术(percutaneous transhepatic cholangiography/gallbladder drainage, PTCD/PTGD)和经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)作为引流胆汁的方式可快速有效的缓解临床症状,纠正胆汁淤积、反流等因素所引起的肝脏功能的损害。然而,ERCP、PTCD及PTGD亦是胆道感染的独立危险因素,不同的病因引起感染的细菌谱及不同术式细菌检出率及细菌分布可能有所不同。

■同行评议者

崔云甫, 教授, 哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

■ 研发前沿

不同病因的梗阻性黄疸引起感染的细菌谱及 ERCP、PTCD/PTGD 不同术式细菌检出率及细菌分布可能有所不同,了解细菌谱与梗阻性质、手术方法的选择等相关因素的关系,以及如何合理应用抗生素是临床医师较为关注的问题和研究方向。

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5693.asp> DOI:
<http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5693>

摘要

目的: 探讨梗阻性黄疸患者行经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)或经皮肝穿刺胆管/胆囊引流术(percutaneous transhepatic cholangiography/gallbladder drainage, PTCD/PTGD)术收取胆汁的细菌分布及特征。对胆汁分离菌进行分析,为指导临床合理、个体化应用抗菌药物提供参考依据。

方法: 回顾性分析石河子大学第一附属医院消化内科及肝胆外科2008-01/2013-09梗阻性黄疸患者的临床资料,分析细菌谱与梗阻性质、手术方法的选择等相关因素的关系。

结果: (1)90例病例共收集99份胆汁(胆石病55例,恶性肿瘤35例; ERCP术取胆汁32份, PTCD/PTGD术取胆汁67份),共检出细菌64份,阳性检出率为64.6%,共培养出细菌73株,其中革兰阴性菌63株(占86.3%),革兰阳性菌10株(占13.7%); (2)恶性梗阻细菌检出率为56.8%,胆石病细菌检出率为70.9%,差异无统计学意义($P>0.05$); (3)首次行ERCP术、PTCD/PTGD术细菌检出率分别为78.1%、56.9%,差异有统计学意义($P<0.05$),两种术式收取的所有胆汁(包括同一患者再次、多次手术收取的胆汁)细菌检出率无差别($P>0.05$)。

结论: 梗阻性黄疸患者胆汁中感染的细菌以革兰阴性菌为主,排前三位细菌依次为大肠埃希菌、肠球菌属、肺炎克雷伯氏菌; ERCP较PTCD/PTGD更能反映胆道细菌感染的真实情况,术后需再次内镜干预、感染发生率明显低于PTCD/PTGD。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 梗阻性黄疸; 经内镜逆行胰胆管造影; 经皮肝穿刺胆管/胆囊引流术; 细菌谱

核心提示: 经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography)较经皮肝穿刺胆管/胆囊引流术(percutaneous transhepatic cholangiography/gallbladder drainage, PTCD/PTGD)更能反映胆道细菌感染的真实情况,术后需再次内镜干预、感染发生率明显低于PTCD/PTGD。

朱晓丹, 陈卫刚, 韩岩智, 尚国臣, 郑勇. 梗阻性黄疸行ERCP

或PTCD/PTGD术收取胆汁行细菌培养99例. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5693-5698 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5693.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5693>

0 引言

胆道梗阻的原因以胆道系统结石最多见,约占90%,但以壶腹周围癌、胰腺癌等恶性肿瘤引起胆道梗阻的发病率也在逐渐上升^[1]. 研究^[2,3]表明通常情况下胆汁内存在定值菌,但在胆道梗阻尤其是合并梗阻性黄疸时,胆汁细菌的感染率明显上升,不同的病因引起感染的细菌谱可能有所不同^[4]. 经皮肝穿刺胆管/胆囊引流术(percutaneous transhepatic cholangiography/gallbladder drainage, PTCD/PTGD)和经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)作为引流胆汁的方式可快速有效的缓解黄疸、腹痛等症状,纠正胆汁淤积、反流等因素所引起的肝脏功能的损害. 此外, ERCP下行胆管取石、碎石等方法可作为胆道结石的治疗手段,具有微创、安全、有效等特点. 然而,多项研究表明ERCP、PTCD及PTGD是胆道感染的独立危险因素^[5-7],但ERCP、PTCD/PTGD不同术式细菌检出率及细菌分布是否存在差异尚未见报道. 本研究就90例不同类型梗阻性黄疸的病例分别接受ERCP或PTCD/PTGD术,对其胆汁分离菌进行分析,探讨细菌谱与梗阻性质、手术方法的选择等相关因素的关系,为临床抗生素的合理应用提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 统计2008-01/2013-09新疆石河子大学第一附属医院90例诊断为梗阻性黄疸并行ERCP或PTCD/PTGD术患者的病例资料,其中男44例,女46例,年龄29-89岁,平均69.0岁±13.3岁. 患者术前均有不同程度的黄疸(血清总胆红素22.1-653.9 μmol/L). 胆系结石患者55例,伴有不同程度的右上腹疼痛(55例)、发热(19例)、白细胞增高(22例),其中单纯胆总管结石22例,胆囊结石合并胆管结石13例,胆囊结石嵌顿20例; 恶性肿瘤患者35例,伴有上腹疼痛(15例)、发热(6例)、白细胞增高(8例),包括胆管癌(18例)、胰头癌(12例)、十二指肠乳头癌(3例)、胆囊癌(2例). 患者无ERCP或PTCD/PTGD术禁忌证。

1.2 方法

1.2.1 胆汁收集方法及处理: ERCP: 常规术前准

■ 相关报道

研究表明通常情况下胆汁内存在定值菌,但在胆道梗阻尤其是合并梗阻性黄疸时,胆汁细菌的感染率明显上升; 多项研究表明ERCP、PTCD及PTGD是胆道感染的独立危险因素。

表 1 病原菌分布及构成

病原菌	株数(<i>n</i>)	构成比(%)
革兰阴性菌	63	86.3
大肠埃希菌	32	43.8
肺炎克雷伯杆菌	8	11.0
假单胞菌属	9	12.3
肠杆菌属	5	6.8
鲍曼不动杆菌	3	4.1
奇异变形菌	2	2.7
嗜麦芽窄食单胞菌	1	1.4
嗜水气单胞菌	1	1.4
非发酵革兰阴性杆菌	1	1.4
产酸克雷伯氏菌	1	1.4
革兰阳性菌	10	13.7
肠球菌属	9	12.3
金黄色葡萄球菌	1	1.4
合计	73	100.0

备, 进镜达十二指肠降段, 将切开刀带导丝经十二指肠乳头插入胆管并逾越狭窄段(对于胆道阻塞明显的患者可先行胆道扩张), 在注射造影剂前, 无菌注射器抽吸胆汁, 弃去先抽出5 mL胆汁, 继续抽吸3-5 mL胆汁, 进行细菌培养。PTCD/PTGD: 患者取左侧卧位, 术前超声定位, 穿刺选择扩张较为明显的左、右肝内胆管或胆总管, 局麻后沿B超引导线行胆管穿刺, 穿刺成功后, 使用导丝、扩张器, 利用介入交换技术置入引流管并固定, 检查引流管是否通畅, 引流胆汁3-5 mL, 进行细菌培养。以上过程均执行严格的无菌操作。

细菌分离鉴定按《全国临床检验操作规程》进行, 所有使用材料生产厂家均为法国生物梅里埃公司。具体操作如下: 收取的胆汁菌用普通肉汤管增菌培养, 第二日移至血平板和中国蓝平板上, 若细菌培养阳性上生物酶梅里埃公司的VITEK2-compact做菌株鉴定及药敏试验。质控菌株为大肠埃希菌标准菌株(ATCC25922), 铜绿假单胞菌标准菌株(ATCC27853), 金黄色葡萄球菌(ATCC25923)。判定标准依据美国临床实验室国家标准化委员会(Clinical and Laboratory Standards Institute, NCCLS)公布的标准。

统计学处理 采用SPSS17.0进行统计分析, 计量资料采用mean±SD进行描述; 细菌检出率比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胆汁细菌培养及菌群分布情况 90例胆道梗

阻共送检99份胆汁, 共检出细菌64份, 检出率为64.6%, 其中9份为混合感染; 共培养出细菌23种73株, 其中革兰阴性菌63株(占86.3%), 革兰阳性菌10株(占13.7%), 主要病原菌依次为大肠埃希菌43.8%[包括产超光谱 β -内酰胺酶(extended spectrum beta lactamases, ESBLs)的大肠埃希菌6株]、肠球菌属12.3%、肺炎克雷伯氏菌11.0%、假单胞菌属12.3%、肠杆菌属6.8%, 其他少见病原菌10例, 如嗜麦芽窄食单胞菌、鲍曼不动杆菌(表1)。

2.2 梗阻类型与胆汁中细菌生长的关系 恶性梗阻送检44份胆汁, 检出细菌25份, 细菌检出率为56.8%, 检出病原菌主要有大肠埃希菌(30%)、肺炎克雷伯氏菌(20%)、假单胞菌属(16.7%); 胆系结石送检55份胆汁, 检出细菌39份, 细菌检出率为70.9%, 检出病原菌主要有大肠埃希菌(53.5%)、肠球菌属(16.3%)、假单胞菌属(9.3%), 两组细菌检出率比较差异无统计学意义($\chi^2 = 2.124, P>0.05$), 但检出细菌的分布及构成略有不同(表2)。

2.3 不同手术方式收取胆汁细菌检出率比较 首次行ERCP术和PTCD/PTGD术细菌检出率分别为56.9%、78.1%, ERCP术细菌检出率高于PTCD/PTGD术, 差异有统计学意义($P<0.05$), ERCP术主要检出病原菌依次为大肠埃希菌(46.3%)、肠球菌属(17.9%)、肠杆菌属(14.3%), PTCD/PTGD术主要检出细菌依次为大肠埃希菌(50%)、肠球菌属(9.4%)、肺炎克雷伯杆菌(9.4%)、假单胞菌属(12.5%)。

4例患者因PTCD/PTGD引流管阻塞、脱出等原因再次或多次行PTCD/PTGD术, 共取送胆汁9份(其中2例患者因引流管脱出再次行1次手术, 1例患者因引流管阻塞、胆瘘再次行2次手术, 1例患者因引流管反复脱出再次行5次手术), 均检测出病原菌, 其中5份为混合病原菌感染, 细菌检出率100%; 因行ERCP术患者无再次行手术病例, 故ERCP组无再次或多次取送胆汁。两种术式总体(包括再次、多次手术取送胆汁)细菌检出率无差别($P>0.05$)。

3 讨论

胆道梗阻所致的胆汁引流不畅是引起胆道感染的重要因素, 这可能与胆道梗阻时肠道内胆盐缺乏、胃肠道功能紊乱以及机体防御机能降低等因素有关^[8,9], 这些因素会导致小肠菌群可能发生不同程度的变化, 表现为细菌的轻度

■创新盘点

以不同梗阻原因、不同手术方式进行多次分组、比较证实了梗阻性黄疸患者胆汁中感染的细菌以革兰阴性菌为主, ERCP较PTCD/PTGD更能反映胆道细菌感染的真实情况, 术后需再次内镜干预、感染发生率明显低于PTCD/PTGD。

应用要点

了解不同病因及应用不同治疗方法的梗阻性黄疸患者的胆汁分离菌谱,从而指导临床更合理、个体化应用抗菌药。

表 1 不同梗阻类型细菌分布及构成

病原菌	胆系结石		恶性肿瘤	
	株数(n)	构成比(%)	株数(n)	构成比(%)
革兰阴性菌	35	81.4	28	93.3
大肠埃希菌 ^{1,2}	23	53.5	9	30.0
假单胞菌属 ^{1,2}	4	9.3	5	16.7
肠杆菌属 ¹	3	7.0	2	6.7
肺炎克雷伯杆菌 ²	2	4.7	6	20.0
非发酵革兰阴性杆菌	1	2.3	-	-
鲍曼不动杆菌	-	-	3	10.0
奇异变形菌	1	2.3	1	3.3
嗜麦芽窄食单胞菌	1	2.3	-	-
嗜水气单胞菌	-	-	1	3.3
产酸克雷伯氏菌	-	-	1	3.3
革兰阳性菌	8	18.6	2	6.7
肠球菌属 ¹	7	16.3	2	6.7
金黄色葡萄球菌	1	2.3	-	-
合计	43	100.0	30	100.0

¹胆系结石患者胆汁中检出率较高的病原菌; ²恶性肿瘤患者胆汁中检出率较高的病原菌。

增殖、定值菌种的增多、下段小肠细菌移位至十二指肠从而增加了胆道感染的几率。本组资料显示,居于前五位的分别是大肠埃希菌、肠球菌属、肺炎克雷伯氏菌、假单胞菌属、肠杆菌属,这些均为肠道常居或过路菌群,证明了胆道感染多为肠源性感染,且大多数为条件致病菌(在宿主免疫力下降、菌群失调、定位转移等条件下致病),所以提示在临床上防治该类疾病应注意调整肠道菌群的平衡。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、产超广谱 β -内酰胺酶阳性细菌(extended-spectrum beta-lactamases, ESBLs)细菌的出现原因与应用第3代和第4代头孢菌素、碳青霉烯类和喹诺酮类等广谱抗菌药物产生的附加损害有关^[10],本研究中ESBLs的大肠埃希菌占大肠埃希菌的18.8%,低于王敏等^[11]、薛峰等^[12]报道的64.7%、65.6%,无产ESBLs的肺炎克雷伯杆菌。

Sharma等^[13]研究表明有30%-45%的急性胆管炎患者不满足夏科氏(charcot)三联征的诊断标准,而且患者早期的临床症状与胆管炎的严重程度不相关,许多高龄胆管炎患者没有任何临床表现或仅表现出轻微的临床症状^[14]。本组胆石症患者均伴有不同程度腹痛,34.5%伴发热、寒战;恶性肿瘤患者仅有42.9%伴腹痛,17.1%伴发热、寒战,两组均存在术前无明显感染体征而胆汁培养阳性的现象,尤其是恶性肿瘤的患

者多数以无痛性黄疸就诊,仅有少数患者出现感染征象,这与Sharma等^[13]的观点一致。提示腹痛、发热、寒战等临床症状可以作为胆道感染的参考指标,但是一部分患者虽有胆道感染,但无明显发热、寒战等感染的临床症状,这可能与其高龄、肿瘤患者机体免疫力低下有关。

据报道^[15]细菌在结石的形成中起了重要作用,当胆管结石形成一定体积或胆囊结石发生嵌顿都可能导致不同程度的梗阻性黄疸,使胆汁引流不畅,继而侵入胆道的细菌异常繁殖,导致胆道系统反复的感染,而反复的胆管炎症可引起胆管纤维性梗阻,结石与感染构成了互为因果、互相促进的复杂关系^[1]。研究^[16,17]表明,正常胆道中微量细菌长期存在可能是引起胆管癌的原因,肿瘤患者机体免疫力低下,也可导致胆道多重细菌感染和感染的反复发作。另外,恶性肿瘤患者起病隐匿,临床发现时梗阻往往已较重,而有研究证明高胆红素梗阻为胆道细菌感染的高危因素^[4,6]。总之,胆石症及恶性肿瘤均为梗阻性黄疸患者胆道感染的高危因素。本项研究中胆石症的患者细菌检出率达70.9%,高于王书智等^[4]报道的12.5%;与林艳^[18]报道的71.4%相近;恶性肿瘤患者胆汁细菌检出率为56.8%,与刘阳等^[19]报道的56.6%相近,高于林艳^[18]报道的0.0%,对于王书智、林艳的研究,我们认为可能分别于与良性梗

阻组、恶性梗阻组病例数较少有关。而胆石症与恶性肿瘤组间比较细菌检出率无差别 ($P>0.05$)。

ERCP和PTCD/PTGD能有效引流胆汁,可快速有效的缓解黄疸,纠正胆汁淤积、反流等因素所引起的肝脏功能的损害和高胆红素血症、内毒素血症的状态。本研究的采用这两种方式收取胆汁,细菌检出率结果ERCP术高于PTCD/PTGD术,分析原因可能是:(1)参照上文所述,胆道感染多为肠道菌群失调,下段肠道细菌迁徙、上移所致。所以本研究认为若不合并肝内胆管或胆囊的感染,致病菌数量在梗阻部位以下应高于梗阻部位以上。ERCP经十二指肠-胆总管-胆管狭窄段途径收取胆汁较PTCD/PTGD经肝脏-肝内胆管/胆囊-胆管狭窄段途径准确性更高,更能反映胆道细菌感染的真实情况;(2)内镜介入操作时,难免将胃肠道细菌带入胆道系统;此外,插管、注射造影剂等操作使胆管内压力增加而导致胆汁、胆管静脉、淋巴逆流加重感染^[4,13]。PTCD/PTGD作为晚期恶性肿瘤患者的减黄手段,需长期保留外置引流管,但PTCD/PTGD引流管游离在肝内胆管或胆囊,易在肝脏、腹壁见发生相对运动,所以较易发生引流管脱出以及胆瘘、胆汁性腹膜炎的发生,另外这也可能增加感染的几率。

本研究行PTCD/PTGD术的恶性肿瘤患者中有4例因引流管阻塞、脱出等原因再次或多次行PTCD/PTGD术,收取9份胆汁送检均检测出病原菌,细菌检出率100%。4例患者中有3例患者首次收取的胆汁中未检测出病原菌,而再次或多次手术后收取胆汁均检测出病原菌,1例患者首次送检胆汁中检测出肺炎链球菌,再次、多次送检胆汁检测出肺炎链球菌与其他细菌混合感染。其中5份混合病原菌感染见洋葱假单胞菌、荧光假单胞菌等少见病原菌;而本研究12例行ERCP术的恶性肿瘤患者住院期间无支架堵塞、脱出的发生,故无再次手术病例。而因部分患者再次或多次行PTCD/PTGD术,考虑合并医源性感染(导管相关性感染)的可能,使ERCP与PTCD/PTGD两种术式总体(包括再次、多次手术取送胆汁)细菌检出率无差别 ($P>0.05$)。

总之,梗阻性黄疸患者胆汁中感染的细菌以革兰阴性菌为主,排前三位细菌依次为大肠埃希菌、肠球菌属、肺炎克雷伯氏菌,应针对这些特定病原菌进行科学合理使用抗菌药物;

ERCP较PTCD/PTGD更能反映胆道细菌感染的真实情况,术后需再次内镜干预、感染发生率明显低于PTCD/PTGD。

4 参考文献

- 1 焦月,张澍田.胆道感染的病因、诊断与治疗.现代消化及介入诊疗 2005;10:27-30
- 2 黄洁夫,何晓顺.抗生素在胆道外科合理的应用.普外临床 1995;10:14-16
- 3 Csendes A, Burdiles P, Maluenda F, Diaz JC, Csendes P, Mitru N. Simultaneous bacteriologic assessment of bile from gallbladder and common bile duct in control subjects and patients with gallstones and common duct stones. *Arch Surg* 1996; 131: 389-394 [PMID: 8615724 DOI: 10.1001/archsurg.1996.01430160047008]
- 4 王书智,时之梅,陆蕊,黄慧,王淑萍,邱必军,胡兵.不同类型梗阻性黄疸胆汁细菌生长分析.中华医院感染学杂志 2009;19:3130-3132
- 5 沈勇.恶性梗阻性黄疸患者胆汁细菌检出的临床分析.上海:复旦大学,2010
- 6 刘东义.梗阻性黄疸胆汁细菌学特点的临床分析.济南:山东大学,2011
- 7 夏永辉,徐克,苏洪英,冯博.晚期恶性梗阻性黄疸经皮介入治疗近期并发症的临床观察及处理.当代医学 2009;3:88-90
- 8 Brown WR, Savage DC, Dubois RS, Alp MH, Malloy A, Kern F. Intestinal microflora of immunoglobulin-deficient and normal human subjects. *Gastroenterology* 1972; 62: 1143-1152 [PMID: 4559103]
- 9 Househam KC, Mann MD, Mitchell J, Bowie MD. Duodenal microflora in infants with acute diarrheal disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1986; 5: 721-725 [PMID: 3531456 DOI: 10.1097/00005176-198609000-00009]
- 10 殷凯生.实用抗感染药物治疗学.第2版.北京:人民卫生出版社,2011:32-34
- 11 王敏,孟庆玲,林洁,范志宁,赵水娣,黄曙.胆道恶性梗阻胆汁病原菌与敏感抗生素及有关因素分析.中国微创外科杂志 2011;11:1116-1120
- 12 薛峰,肖永红.2006-2007年Mohnarin胆汁培养病原菌构成与耐药性分析.中华医院感染学杂志 2008;18:1248-1251
- 13 Sharma BC, Kumar R, Agarwal N, Sarin SK. Endoscopic biliary drainage by nasobiliary drain or by stent placement in patients with acute cholangitis. *Endoscopy* 2005; 37: 439-443 [PMID: 15844022 DOI: 10.1055/s-2005-861054]
- 14 Agarwal N, Sharma BC, Sarin SK. Endoscopic management of acute cholangitis in elderly patients. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6551-6555 [PMID: 17072990]
- 15 叶国良,陈会松,盛红,程德希.胆石症并胆道感染患者胆汁细菌分布及与年龄性别关系探讨.浙江临床医学 2005;7:626-627
- 16 Boonyanugomol W, Chomvarin C, Sripan B, Bhudhisawasdi V, Khuntikeo N, Hahnvanawong C, Chamsuwan A. Helicobacter pylori in Thai patients with cholangiocarcinoma and its association with biliary inflammation and proliferation. *HPB (Oxford)* 2012; 14: 177-184 [PMID: 22321036]
- 17 Boonyanugomol W, Chomvarin C, Baik SC, Song JY, Hahnvanawong C, Kim KM, Cho MJ, Lee WK, Kang HL, Rhee KH, Sripan B. Role of cagA-positive Helicobacter pylori on cell proliferation, apoptosis,

■名词解释

常居菌群:亦称原籍菌群,由相当固定的微生物型组成,有规律地定居于特定部位或只见于特定年龄,如果菌群有了改变,能立即自行恢复原状。

过路菌群:亦称外籍菌群,由非致病性的或潜在致病性的微生物所组成,居留在皮肤或黏膜上几小时至几周,他们来自周围环境,不引起疾病,也不能长期定居。只要定居菌群保持正常,暂居菌群一般不重要;但若定居菌群失常,且暂居的潜在致病性微生物即能增殖,并引起疾病。

■同行评价

本文通过对比不同病因的梗阻性黄疸引起感染的细菌谱及不同术式细菌检出率及细菌分布,认为ERCP是简便、准确的取胆汁行细菌检查的方法,这对梗阻性黄疸患者的抗感染治疗具有一定的指导作用。

and inflammation in biliary cells. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1682-1692 [PMID: 21181444 DOI: 10.1007/s10620-010-1512-y]

18 林艳. 胆道疾病内镜逆行胰胆管造影术中胆汁病原菌

培养及药敏分析. 南宁: 广西医科大学, 2012

19 刘阳, 张智勇, 黎一鸣, 段艳霞, 郑伟, 卢乐. 胆管恶性肿瘤患者胆汁细菌学分析. *现代肿瘤医学* 2013; 21: 814-816

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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》出版流程

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

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

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

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

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

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

第六步 组版: 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

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

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原始文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

腹腔镜联合胆道镜与传统开腹手术治疗胆总管结石的临床疗效对比

程利民, 刘洋, 孙志德, 刘淑敏, 张学军

程利民, 刘洋, 孙志德, 刘淑敏, 张学军, 承德医学院附属医院肝胆外科 河北省承德市 067000

程利民, 讲师, 主要从事肝胆外科的研究。

作者贡献分布: 本文主要由程利民、刘洋、孙志德、刘淑敏及张学军共同写作完成。

通讯作者: 程利民, 讲师, 067000, 河北省承德市南营子大街36号, 承德医学院附属医院肝胆外科, chenglimin1972@163.com

收稿日期: 2014-10-26 修回日期: 2014-11-15

接受日期: 2014-11-19 在线出版日期: 2014-12-28

Clinical effects of laparoscopy combined with choledochoscopy vs open surgery for common bile duct stones

Li-Min Cheng, Yang Liu, Zhi-De Sun, Shu-Min Liu, Xue-Jun Zhang

Li-Min Cheng, Yang Liu, Zhi-De Sun, Shu-Min Liu, Xue-Jun Zhang, Department of Hepatic Surgery, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chende 067000, Hebei Province, China

Correspondence to: Li-Min Cheng, Lecturer, Department of Hepatic Surgery, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, 36 Nanyingzi Street, Chengde 067000, Hebei Province, China. chenglimin1972@163.com

Received: 2014-10-26 Revised: 2014-11-15

Accepted: 2014-11-19 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To compare the clinical effects of laparoscopy combined with choledochoscopy vs open surgery for common bile duct stones.

METHODS: Ninety-six patients with common bile duct stones were divided into either an experiment group ($n = 51$) or a control group ($n = 45$). The experiment group was treated by laparoscopy combined with choledochoscopy, and the control group received open surgery. The operative parameters, postoperative recovery, and complications were compared for the two groups.

RESULTS: Mean operative time for the experiment group was significantly longer than that

for the control group ($126.33 \text{ min} \pm 18.42 \text{ min}$ vs $91.44 \text{ min} \pm 13.08 \text{ min}$, $P < 0.05$). Mean bleeding volume for the experiment group was significantly less than that for the control group ($45.85 \text{ mL} \pm 10.66 \text{ mL}$ vs $110.22 \text{ mL} \pm 44.59 \text{ mL}$, $P < 0.05$). The number of times of analgesia usage, time to anal exhaust, and length of stay for the experiment group were significantly lower than those for the control group (1.28 ± 0.46 vs 1.68 ± 0.72 , $29.88 \text{ h} \pm 5.71 \text{ h}$ vs $40.06 \text{ h} \pm 11.05 \text{ h}$, $7.58 \text{ d} \pm 1.16 \text{ d}$ vs $11.07 \text{ d} \pm 1.33 \text{ d}$, $P < 0.05$). The rates of postoperative pain and incision infection for the experiment group were significantly lower than those for the control group (17.65% vs 84.44% , 0.00% vs 13.33% , $P < 0.05$).

CONCLUSION: Laparoscopy combined with choledochoscopy has less surgical trauma, shorter postoperative recovery time, and fewer complications in patients with common bile duct stones.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopy; Choledochoscopy; Open surgery; Common bile duct stones

Cheng LM, Liu Y, Sun ZD, Liu SM, Zhang XJ. Clinical effects of laparoscopy combined with choledochoscopy vs open surgery for common bile duct stones. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5699-5702 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5699.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5699>

摘要

目的: 比较腹腔镜联合胆道镜与传统开腹手术治疗胆总管结石的临床疗效。

方法: 按照手术方案不同将承德医学院附属医院收治的96例胆总管结石患者分为实验组51例和对照组45例, 实验组患者给予腹腔镜联合胆道镜手术治疗, 对照组患者给予常规开腹手术治疗, 比较两组患者手术情况、术后恢复

■背景资料

目前我国胆总管结石发生率呈现逐年升高趋势, 手术是治疗胆总管结石的主要手段。传统的开腹胆囊切除或胆总管切开取石术因创伤较大, 术后恢复时间较长等缺陷已经逐渐被创伤小、痛苦小、术后恢复快的腹腔镜、胆道镜技术所替代。

■同行评议者

孔静, 副教授, 副主任医师, 中国医科大学附属盛京医院胆道、血管外科、微创外科

■研究前沿

慢性胆总管结石患者病程较长, 缺乏典型症状, 需要进一步结合影像学诊断进行准确判断。

情况及术后并发症发生情况。

结果: 实验组患者平均手术时间显著长于对照组(126.33 min±18.42 min vs 91.44 min±13.08 min), 术中平均出血量显著少于对照组(45.85 mL±10.66 mL vs 110.22 mL±44.59 mL), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 实验组患者术后镇痛次数、肛门排气时间及住院时间均显著低于对照组(1.28次±0.46次 vs 1.68次±0.72次、29.88 h±5.71 h vs 40.06 h±11.05 h、6.58 d±1.16 d vs 9.07 d±1.33 d), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 实验组患者术后疼痛和切口感染发生率均显著低于对照组(17.65% vs 84.44%、0.00% vs 13.33%), 差异具有统计学意义($P<0.05$)。

结论: 腹腔镜联合胆道镜手术创伤小、术后恢复时间短、并发症少、治疗费用低, 较传统开腹手术更具临床优势, 可作为治疗胆总管结石的优选方案。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 腹腔镜; 胆道镜; 开腹手术; 胆总管结石

核心提示: 本研究结果显示, 腹腔镜联合胆道镜组患者平均手术时间显著长于传统开腹手术组, 这是由于微创手术操作更为精细, 延长了手术时间; 而腹腔镜联合胆道镜组患者术中平均出血量显著少于传统开腹手术组, 这与国内外大量研究报道相符, 体现了微创手术创伤小、痛苦小的临床优势。

程利民, 刘洋, 孙志德, 刘淑敏, 张学军. 腹腔镜联合胆道镜与传统开腹手术治疗胆总管结石的临床疗效对比. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5699-5702 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5699.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5699>

0 引言

胆总管结石在临床上较为常见, 多继发于胆囊结石, 发病因素复杂^[1]。目前我国胆总管结石发生率呈现逐年升高趋势, 手术是治疗胆总管结石的主要手段^[2]。传统的开腹胆囊切除或胆总管切开取石术因创伤较大, 术后恢复时间较长等缺陷已经逐渐被创伤小、痛苦小、术后恢复快的腹腔镜、胆道镜技术所替代^[3]。现对承德医学院附属医院行腹腔镜联合胆道镜治疗胆总管结石的临床效果进行分析, 探讨其临床优势, 报道如下。

■相关报道

大量国外文献报道指出, 在腹腔镜基础上加用胆道镜探查可有效节省手术时间, 能够更容易的获得胆管的详细情况, 明确结石位置、形状、直径、数量等, 避免了漏诊的发生。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-04/2014-04承德医学院附属医院收治的96例胆总管结石患者作为研究对象。所有患者均经影像学检查证实为胆总管结石, 均为首次行手术治疗胆总管结石, 结石直径<20 mm, 结石数目<5个。排除合并肝内胆管结石者、合并重症胆管炎者、肝门处胆管严重狭窄者、存在心肺功能不良者以及因其他因素导致胆总管局部黏连或水肿者。按照手术方案不同将96例患者分为实验组51例和对照组45例。其中实验组男18例, 女33例, 患者年龄为32-64岁, 平均年龄为41.26岁±5.77岁, 结石直径为1-20 mm, 平均直径为9.57 mm±3.24 mm, 41例合并胆囊结石; 对照组男16例, 女29例, 患者年龄为33-65岁, 平均年龄为42.23岁±5.89岁, 结石直径为1-20 mm, 平均直径为9.85 mm±3.22 mm, 36例合并胆囊结石。两组患者在性别、年龄、结石直径及是否合并胆囊结石等上差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。所有患者均对本研究知情同意, 签署同意书。

1.2 方法

1.2.1 手术: 所有患者术前均经常规B超或计算机断层扫描(computed tomography, CT)明确胆总管结石情况, 行胃肠减压后留置导尿管, 并给予气管插管静脉复合全身麻醉。实验组患者给予腹腔镜联合胆道镜手术治疗, 常规消毒铺巾后采用四孔法操作。于患者脐上取10-12 mm切口, 常规建立气腹。使用腹腔镜30度探入观察腹腔戳孔下方有无出血、腹腔脏器有无占位性病变及肠壁或其他脏器有无损害。分别于剑突下、右锁骨中线肋缘下2-4 cm、腋前线穿刺1.2、0.5、0.5 mm戳卡, 维持气腹压力在11-16 mmHg。逐步解剖分离胆囊动脉、胆囊管, 分别于胆囊动脉近端、远端及胆囊管近胆总管部使用钛夹夹闭。于胆囊管与胆总管交汇处的无血管区域切开胆总管10-15 mm, 置入胆道镜, 采用胆道镜冲洗法或取石网篮等方法取石。取石后需继续使用胆道镜对胆总管、肝总管及左、右肝管进行探查, 发现无结石残留后置入适当大小的T管^[4]。固定T管后常规切除胆囊, 逐层关闭切口并留置引流管。对照组患者给予常规开腹手术治疗, 具体方法不再详述。

两组患者术后第1天即可拔除胃管和尿管, 无明显腹胀、腹痛等不适者可开始给予全流饮

表 1 两组患者手术情况比较 (mean ± SD)

分组	n	平均手术时间(min)	术中平均出血量(mL)
实验组	51	126.33 ± 18.42 ^a	45.85 ± 10.66 ^a
对照组	45	91.44 ± 13.08	110.22 ± 44.59

^aP<0.05 vs 对照组.

表 2 两组患者术后恢复情况比较 (mean ± SD)

分组	n	术后镇痛次数(次)	肛门排气时间(h)	术后住院时间(d)
实验组	51	1.28 ± 0.46 ^a	29.88 ± 5.71 ^a	6.58 ± 1.16 ^a
对照组	45	1.68 ± 0.72	40.06 ± 11.05	9.07 ± 1.33

^aP<0.05 vs 对照组.

表 3 两组患者术后并发症发生情况比较 n(%)

分组	n	胆瘘	术后出血	腹腔脓肿	术后疼痛	切口感染
实验组	51	4(7.84)	1(1.96)	1(1.96)	9(17.65) ^a	0(0.00) ^a
对照组	45	3(6.67)	1(2.22)	1(2.22)	38(84.44)	6(13.33)

^aP<0.05 vs 对照组.

食, 指导患者下床活动, 促进胃肠功能恢复. 密切观察T管引流情况, 防止堵塞^[5]. 实验组患者术后3 mo行胆总管T管造影检查, 对照组术后1 mo即行胆总管T管造影检查, 达到拔管指征后可拔除T管.

1.2.2 观察指标: 比较两组患者手术情况(手术时间、术中出血量)、术后恢复情况(术后镇痛次数、肛门排气时间、住院时间、住院费用)及术后并发症(胆瘘、术后出血、腹腔脓肿、术后疼痛、切口感染等)发生情况.

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行统计分析, 计量资料结果用mean±SD表示, 治疗前后及组间比较用t检验, 计数资料以构成比表示, 用 χ^2 检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者手术情况比较 实验组患者平均手术时间显著长于对照组, 术中平均出血量显著少于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.2 两组患者术后恢复情况比较 实验组患者术后镇痛次数、肛门排气时间及住院时间均显著低于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.3 两组患者术后并发症发生情况比较 实验组

患者术后疼痛和切口感染发生率均显著低于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表3).

3 讨论

胆总管结石发病原因复杂, 急性胆总管结石以反复发作的间歇性上腹部绞痛, 寒战, 高热, 黄疸, 胆囊、肝、脾肿大触痛等为典型临床表现, 患者病情严重程度及发作和持续时间与胆道梗阻严重程度有关^[6]; 而慢性胆总管结石患者病程较长, 缺乏典型症状, 需要进一步结合影像学诊断进行准确判断^[7]. 目前, 手术是治疗胆道系统结石的最有效手段. 传统的开腹胆总管切开探查结石术临床效果确切, 但手术操作对患者损伤较大, 大大增加了术后恢复时间, 术后并发症也较多, 预后效果不能令人满意^[8].

随着国内居民生活水平的提高和饮食结构的改变, 胆总管结石发病率呈现逐年升高的趋势^[9]. 传统的开腹胆总管切开探查结石术已经不能满足临床需求, 而微创技术逐渐受到的临床医师和患者的青睐^[10]. 腹腔镜以其微创、痛苦小、恢复快等优点已经逐渐在临床上得到广泛应用, 在治疗胆总管结石中疗效获得了一致认可^[11]. 国外文献^[12]报道指出, 在腹腔镜基

■应用要点

腹腔镜联合胆道镜手术创伤小、术后恢复时间短、并发症少、治疗费用低, 较传统开腹手术更具临床优势, 可作为治疗胆总管结石的优选方案.

■同行评价

本研究选题尚可, 实用性强, 有一定的参考价值。

基础上加用胆道镜探查可有效节省手术时间, 能够更容易的获得胆管的详细情况, 明确结石位置、形状、直径、数量等, 避免了漏诊的发生。Houghton等^[13]的研究指出, 对于肝外胆管结石和肝内 II-III级肝管结石患者, 在腹腔镜基础上应用胆道镜可以为取石网套取结石提供良好视野, 避免了单纯应用腹腔镜取石的盲目性, 有效减少了术中取石操作对胆管的损伤, 降低了胆道手术后结石剩余的几率。腹腔镜联合胆道镜较传统开腹手术更具临床优势, 主要体现在微创手术的自身特点上: 一方面腹腔镜与胆道镜联合能够获得更加清晰的图像, 腹腔视野也较大, 能够辅助医师准确辨认机体内部实质性及空腔脏器结构, 找准组织间隙, 方便锐性分离, 也可以减少不必要的组织损伤和出血^[14]; 另一方面, 微创技术对患者脏器损伤较小, 术后不影响胆管正常生理功能, 患者很少发生水肿, 也利于一期缝合的进行, 大大降低了患者术后并发症的发生率^[15]。

本研究结果显示, 腹腔镜联合胆道镜组患者平均手术时间显著长于传统开腹手术组, 这是由于微创手术操作更为精细, 延长了手术时间; 而腹腔镜联合胆道镜组患者术中平均出血量显著少于传统开腹手术组, 这与国内外大量研究报道相符^[16], 体现了微创手术创伤小、痛苦小的临床优势。腹腔镜联合胆道镜组患者术后镇痛次数、肛门排气时间、住院时间及住院费用均显著低于传统开腹手术组, 提示微创手术对机体损伤小, 有利于患者早期下床活动, 促进胃肠功能恢复, 减少住院时间、降低治疗费用。腹腔镜联合胆道镜组患者术后疼痛和切口感染发生率均显著低于传统开腹手术组, 提示微创手术创伤小, 大大降低了患者术后的应激反应, 有效降低了并发症发生率, 安全性更高。

总之, 腹腔镜联合胆道镜手术创伤小、术后恢复时间短、并发症少、治疗费用低, 较传统开腹手术更具临床优势, 可作为治疗胆总管结石的优选方案。

4 参考文献

- 1 王广义, 王英超, 吕国悦. 胆囊结石合并胆总管结石的现代外科治疗模式. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3579-3582
- 2 应江波, 李立波. 胆总管结石的治疗进展. 肝胆胰外科杂志 2010; 22: 522-524, 528
- 3 龚加明. 胆总管结石的微创治疗研究进展. 微创医学 2011; 6: 439-441
- 4 朱信强, 丁闯, 张明, 管小青, 陈焰. 腹腔镜联合胆道镜治疗胆总管结石107例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2496-2499
- 5 陶涛, 石刚, 彭祥玉, 赵国刚. 腹腔镜和胆道镜联合治疗胆总管结石(附523例报道). 中国普外基础与临床杂志 2009; 16: 649-653
- 6 颜禄斌, 崔鸿斌, 何秋明, 谢良恩, 沈阳, 朱德力. 胆总管结石的诊疗进展. 中国普通外科杂志 2013; 22: 1074-1077
- 7 Ustundag Y, Saritas U. Is it safer to postpone endoscopic large balloon dilatation after ES in the setting of acute cholangitis due to large bile duct stones? *Dig Dis Sci* 2014; 59: 2838-2839 [PMID: 25213080 DOI: 10.1007/s10620-014-3354-5]
- 8 Lu Y, Wu JC, Liu L, Bie LK, Gong B. Short-term and long-term outcomes after endoscopic sphincterotomy versus endoscopic papillary balloon dilation for bile duct stones. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014; 26: 1367-1373 [PMID: 25264985 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000218]
- 9 王晨, 陶文雅, 徐韦. 腹腔镜联合胆道镜与开腹手术治疗胆总管结石临床对比研究. 中国普通外科杂志 2013; 22: 230-232
- 10 宋光, 刘连新, 杨幼林. 内镜与手术治疗胆总管结石的疗效比较. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3009-3011
- 11 陈盛, 郑江华, 区应亮, 陈伟, 江寅, 简志祥, 王卫东. 两种微创方式治疗胆囊结石合并胆总管结石的临床疗效比较. 中国普外基础与临床杂志 2012; 19: 1213-1217
- 12 Phalanusitthepha C, Augkurawaranon C, Sriprayoon T, Hokierti C, Akaraviputh T. Outcomes of endoscopic sphincteroplasty using large balloon dilatation for difficult common bile duct stone removal: a single endoscopist experience. *J Med Assoc Thai* 2014; 97: 699-704 [PMID: 25265767]
- 13 Houghton EJ, Morano MA, Pedreira D, Balteiro C. [Transfistular treatment of the retained bile duct stones: analysis on complications and therapeutic success according to technologies]. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2014; 44: 94-99 [PMID: 25199302]
- 14 刘俊, 裘正军, 黄克俭, 江弢, 曹俊, 朱麟, 张放. 三镜联合在胆囊结石合并胆总管结石治疗中的应用. 肝胆胰外科杂志 2009; 21: 43-45
- 15 徐小东, 吕西, 李徐生, 刘永永, 赵彦会, 王琛, 马建忠, 康博雄, 樊勇. 胆总管结石的微创治疗. 中国微创外科杂志 2010; 10: 533-534
- 16 李运泽, 赵景松, 覃秀爱, 唐余林, 陈勇昌. 内镜下微创治疗胆总管结石的临床研究. 微创医学 2006; 11: 26-27

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



优质护理在急诊胆囊切除术中的应用效果

陈桂英

陈桂英, 武汉市汉口医院急诊科 湖北省武汉市 430012
陈桂英, 副主任护师, 主要从事门诊急诊临床护理及管理的研究。
作者贡献分布: 本文主要由陈桂英写作完成。
通讯作者: 陈桂英, 副主任护师, 430012, 湖北省武汉市江岸区
赵家条172号, 武汉市汉口医院急诊科, zmyeg@163.com
收稿日期: 2014-10-26 修回日期: 2014-11-11
接受日期: 2014-11-25 在线出版日期: 2014-12-28

Clinical effects of emergency cholecystectomy combined with quality care in treatment of patients with acute cholecystitis

Gui-Ying Chen

Gui-Ying Chen, Department of Emergency Medicine, Hankou Hospital, Wuhan 430012, Hubei Province, China
Correspondence to: Gui-Ying Chen, Co-Chief Superintendent Nurse, Department of Emergency Medicine, Hankou Hospital, 172 Zhaojiatiao, Jiang'an District, Wuhan 430012, Hubei Province, China. zmyeg@163.com
Received: 2014-10-26 Revised: 2014-11-11
Accepted: 2014-11-25 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To analyze the clinical effects of emergency cholecystectomy combined with quality care in the treatment of patients with acute cholecystitis.

METHODS: One hundred and ten patients with acute cholecystitis treated at our hospital from July 2010 to June 2011 were selected as a control group, and 134 patients with acute cholecystitis treated at our hospital from July 2011 to June 2012 were selected as a treatment group. Both groups received emergency cholecystectomy and conventional care, and the treatment group additionally received quality care. Clinical effects were compared between the two groups.

RESULTS: The operative time, time to ambulation and time to anal exhaust between the two groups had no significant difference ($P > 0.05$), while the length of hospital stay was significantly shorter in the treatment group than in the control group ($4.7 \text{ d} \pm 1.1 \text{ d}$ vs $6.3 \text{ d} \pm 1.2 \text{ d}$, $P < 0.05$). The

incidence rates of abdominal pain, bloating and constipation between the two groups had no significant difference ($P > 0.05$), while the incidence rates of nausea, vomiting and respiratory infection were significantly lower in the treatment group ($0.7\% \text{ vs } 5.4\%$, $P < 0.05$; $0\% \text{ vs } 3.6\%$, $P < 0.05$). The total rate of satisfaction to nursing care was significantly higher in the treatment group ($92.5\% \text{ vs } 81.8\%$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Emergency cholecystectomy combined with quality care has good clinical effects in the treatment of patients with acute cholecystitis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Emergency; Cholecystectomy; Quality care; Clinical effects

Chen GY. Clinical effects of emergency cholecystectomy combined with quality care in treatment of patients with acute cholecystitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5703-5706 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5703.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5703>

摘要

目的: 分析优质护理在急诊胆囊切除术中的应用效果。

方法: 选取2010-07/2011-06武汉汉口医院收治的急性胆囊炎患者110例作为对照组, 选取2011-07/2012-06收治的急性胆囊炎患者134例作为观察组, 均给予急诊腹腔镜胆囊切除术及常规护理, 而观察组患者再给予优质护理, 观察临床效果。

结果: 两组间手术时间、下地时间及排气时间无统计学差异($P > 0.05$), 但观察组住院时间显著性短于对照组($4.7 \text{ d} \pm 1.1 \text{ d}$ vs $6.3 \text{ d} \pm 1.2 \text{ d}$, $P < 0.05$)。手术后两组间腹痛、腹胀及便秘发生率无统计学差异($P > 0.05$), 但观察组恶心呕吐及呼吸道感染发生率显著性低于对照组($0.7\% \text{ vs } 5.4\%$, $P < 0.05$; $0\% \text{ vs } 3.6\%$, $P < 0.05$)。

■背景资料

胆囊炎为胆囊常见疾病, 腹腔镜胆囊切除术为常用治疗方法, 但手术前后患者可能发生一定生理和心理不良反应, 因此需对此类患者给予优质护理, 以减轻生理和心理负担。

■同行评议者

王铮, 副研究员, 西安交通大学医学院第一附属医院肝胆病肝胆外科

■ 研发前沿

传统护理以基础护理为主,而优质护理为一种高质量护理,可最大限度地满足患者需要。

观察组对护理质量总满意率为92.5%,显著性高于对照组的81.8%,且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 优质护理在急诊胆囊切除术中的应用效果满意,可显著减少住院时间,降低相关手术后并发症发生率,提高患者对护理质量满意率。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 急诊; 胆囊切除术; 优质护理; 疗效

核心提示: 优质护理在急诊胆囊切除术中的应用效果满意,可显著减少住院时间,降低相关手术后并发症发生率,提高患者对护理质量满意率。

陈桂英. 优质护理在急诊胆囊切除术中的应用效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5703-5706 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5703.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5703>

0 引言

胆囊炎为胆囊常见疾病,主要由胆汁成分改变及病原菌感染等引起,胆囊炎又可分为慢性胆囊炎和急性胆囊炎^[1]。急性胆囊炎主要发病原因为胆囊管扭转,胆内结石阻塞胆管及细菌感染等,急性胆囊炎患者临床症状主要为恶心呕吐、发热及右上腹疼痛,而且患者急性胆囊炎发作时巨疼难忍,这给患者生活和工作带来了巨大影响^[2]。一般抗菌治疗及药物保守治疗为胆囊炎常用方法,但当患者急性胆囊炎发作时,外科胆囊切除术为首选方法^[3]。过去急诊胆囊切除术常用术式为开腹手术,虽然开腹手术临床效果明显,但缺点也较多,如术中出血量大,术后可能出现感染等。随着腹腔镜技术的进步,腹腔镜胆囊切除术(laparoscopic cholecystectomy, LC)已成为急诊胆囊切除术的常用方法^[4]。虽然急诊腹腔镜胆囊切除术具有疼痛小、出血少及恢复快等优点,但患者还是可能出现各种生理和心理不良反应,因此对这类患者需给予高质量的优质护理,以减轻其生理和心理负担^[5]。本文对武汉市汉口医院收治的急性胆囊炎患者给予腹腔镜胆囊切除术,同时给予优质护理,取得满意效果,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-07/2011-06武汉汉口医院收治的急性胆囊炎患者110例作为对照组,选取

2011-07/2012-06收治的急性胆囊炎患者134例作为观察组,所有患者均进行临床检查,B超检查,计算机X线断层扫描(computed tomography, CT)检查及体格检查确诊为急性胆囊炎。所有患者临床症状主要为右上腹疼痛,发热及恶心呕吐等。排除有胆囊切除术禁忌证患者,病例资料不完全患者等。对照组110例患者中男48例,女62例,年龄32-71岁,平均年龄53.3岁±4.3岁,发病至手术时间1-5 d,平均2.8 d±0.7 d,单纯急性胆囊炎患者88例,急性坏疽性胆囊炎患者13例,其他9例;观察组134例患者中男57例,女77例,年龄32-71岁,平均54.7岁±4.5岁,发病至手术时间1-5 d,平均2.9 d±0.7 d,单纯急性胆囊炎患者99例,急性坏疽性胆囊炎患者21,其他14例。两组患者在平均年龄、发病至手术时间等均无统计学差异,具有可比性($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 手术: 两组患者均给予腹腔镜胆囊切除术:所有患者均进行气管插管全身麻醉并采用四孔法进行手术;建立CO₂气腹并使气腹压力保持在11-15 mmHg;操作孔在剑突在,钝性分离相关黏连,如胆囊与胃等的黏连,暴露胆囊管和胆囊^[6];分离前后两侧胆囊浆膜,游离胆管,明确三管一壶腹结构;切断胆囊动脉和胆囊管,剥离胆囊,电凝止血,生理盐水冲洗手术区,放置引流管;手术后患者给予抗生素预防感染,手术后24-48 h内拔出引流管^[7]。

1.2.2 护理: 两组患者均给予常规急诊胆囊切除术护理,主要有监测患者各项生命体征、护理人员定期访视等。而观察组患者再给予优质护理服务,主要有:(1)急诊胆囊炎患者往往病情进展较快,疼痛较剧烈,因此患者入院后护理人员需协助患者完成各项检查及办理入院手续,帮助患者尽快入住病房及安排手术^[8-10];(2)术前宣教:手术前护理人员需详细并用通俗的语句向患者及其家属讲解急性胆囊炎及腹腔镜切除手术相关知识,使患者及其家属对疾病和切除方法有感性的了解,同时也为手术做好生理准备;(3)手术前心理护理:由于患者均为首次进行胆囊切除术,他们难免产生紧张、焦虑及恐惧心理,甚至产生抵触心理,因此护理人员需多次与患者进行沟通,向其介绍成功案例及术后康复情况,帮助患者缓解紧张情绪,减轻其心理负担,使其树立战胜急性胆囊炎的信心^[11,12];(4)手术后护理人员需定期访视患者,严密监测其各项生理体征,并对患者进行饮食指导及药物使用方

■ 相关报道

过去对腹腔镜胆囊切除手术患者主要给予常规护理,虽然也有一定优点,但往往忽略患者个性化需求。

表 1 两组患者手术相关指标比较

分组	<i>n</i>	手术时间(min)	下地时间(d)	排气时间(d)	住院时间(d)
对照组	110	65.5 ± 12.2	1.9 ± 0.6	1.5 ± 0.6	6.3 ± 1.2
观察组	134	66.9 ± 11.8	1.7 ± 0.7	1.4 ± 0.5	4.7 ± 1.1
<i>t</i> 值		0.472	0.883	1.033	6.543
<i>P</i> 值		>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

表 2 两组间术后并发症比较 *n*(%)

分组	<i>n</i>	腹痛	腹胀	恶心呕吐	便秘	呼吸道感染
对照组	110	1(0.9)	2(1.8)	6(5.4)	4(3.6)	4(3.6)
观察组	134	1(0.7)	3(2.2)	1(0.7)	6(4.5)	0(0.0)
χ^2 值		0.020	0.053	4.806	0.109	4.954
<i>P</i> 值		>0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05

表 3 两组患者对护理质量评价

分组	<i>n</i>	满意(<i>n</i>)	基本满意(<i>n</i>)	一般(<i>n</i>)	不满意(<i>n</i>)	总满意率(%)
对照组	110	27	30	33	20	81.8
观察组	134	64	35	25	10	92.5
χ^2 值				6.437		
<i>P</i> 值				<0.05		

■创新盘点

本文对腹腔镜胆囊切除手术患者给予了优质护理服务,可为临床护理提供一定依据。

法指导。

1.2.3 效果评价:对两组患者手术时间、下地时间、排气时间、术后并发症情况进行统计和比较,同时比较两组患者对护理质量满意情况,出院前向患者发放自拟护理质量评价表,若患者对90%以上条目表示满意则为满意,75%-90%条目表示满意则为基本满意,60%-75%条目表示满意则为一般,60%以下则为不满意,总满意率=(满意+基本满意+一般)/总例数×100%。

统计学处理 应用SPSS13.0进行数据统计与分析,计量资料采用*t*检验,计数资料采用 χ^2 检验,*P*<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者手术相关指标比较 对照组手术时间、下地时间、排气时间及住院时间分别为65.5 min ± 12.2 min、1.9 d ± 0.6 d、1.5 d ± 0.6 d及6.3 d ± 1.2 d;观察组手术时间、下地时间、排气时间及住院时间分别为66.9 min ± 11.8 min、1.7 d ± 0.7 d、1.4 d ± 0.5 d及4.7 d ± 1.1 d;两组间手术时间、下地时间及排气时间无统计学差异(*P*>0.05),但观察组住院时间显著性短于对照

组(*P*<0.05)(表1)。

2.2 两组间术后并发症比较 手术后两组间腹痛、腹胀及便秘发生率无统计学差异(*P*>0.05),但观察组恶心呕吐及呼吸道感染发生率显著性低于对照组(*P*<0.05)(表2)。

2.3 两组患者对护理质量评价 对照组满意27例,总满意率81.8%;观察组满意64例,总满意率92.5%;观察组总满意率高于对照组,且差异具有统计学意义(*P*<0.05)(表3)。

3 讨论

急性胆囊炎为常见胆囊疾病,开腹胆囊切除术为治疗急性胆囊炎常见方法,随着腹腔镜技术的日臻成熟,胆囊切除术也越来越多的采用腹腔镜治疗^[13],过去急性胆囊炎为腹腔镜治疗手术的禁忌证,但目前由于具有创伤小,恢复快等优点,腹腔镜胆囊切除术也成为了急性胆囊炎的常用治疗方法。

急性胆囊炎的治疗效果不仅依赖腹腔镜手术的疗效,也依赖护理的效果^[14,15]。本文对所有纳入的急性胆囊炎患者均给予了腹腔镜胆囊切除术及常规护理,而对观察组患者又给予了优质

■同行评价

本研究设计合理,方法可靠,对护理模式的探索有一定参考意义。

护理服务,主要有入院指导、手术前相关知识宣教、术前心理护理、术后各项生命体征的监测、饮食指导、用药指导及出院指导等。通过这些护理服务,使患者尽快入院,适应医院环境,改善患者心理状态,以更积极的心态面对手术治疗。治疗后结果发现两组患者虽然手术时间,排气时间及下地时间无统计学差异,但观察组住院时间显著性短于对照组。对两组患者术后并发症统计后发现,观察组术后恶心呕吐及呼吸道感染发生率显著性低于对照组,并且观察组患者对护理质量的总满意率显著性高于对照组。以上结果均可说明优质护理临床效果满意。

总之,优质护理在急诊胆囊切除术中的应用效果满意,可显著减少住院时间,降低相关手术后并发症发生率,提高患者对护理质量满意率。

4 参考文献

- 1 钟华,张宗明,宿砚明.急性结石性胆囊炎腹腔镜手术25例.世界华人消化杂志 2006; 14: 1433-1436
- 2 Chamberlain RS, Sakpal SV. A comprehensive review of single-incision laparoscopic surgery (SILS) and natural orifice transluminal endoscopic surgery (NOTES) techniques for cholecystectomy. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1733-1740 [PMID: 19412642 DOI: 10.1007/s11605-009-0902-y]
- 3 郭正华,张昱程,楼晓楼.急性胆囊炎腹腔镜手术837例临床分析.上海交通大学学报(医学版) 2012; 32: 1497-1499
- 4 周少波,崔培元.腹腔镜与开腹手术治疗急性胆囊炎的疗效对比分析.中国内镜杂志 2008; 14: 870-872
- 5 蓝闹群,罗永丹.全程优质护理在腹腔镜胆囊切除术患者中的应用分析.中国医药指南 2013; 11: 336-337
- 6 宋建宁,罗玉政,洪明,宋林学.腹腔镜下治疗急性胆囊炎130例的临床分析.重庆医学 2010; 39: 553-554
- 7 王和曹,余鹏.腹腔镜胆囊切除术治疗急性胆囊炎46例分析.肝胆胰外科杂志 2009; 21: 74-75
- 8 尹素青.舒适护理在腹腔镜胆囊切除术患者中的应用效果.解放军护理杂志 2011; 28: 29-30
- 9 刘艳,刘飞勇,何靖雯.老年急性结石性胆囊炎患者的围手术期护理.中国实用护理杂志 2010; 26: 38-39
- 10 任爱军.急性重症胆囊炎患者行胆囊穿刺引流术的护理体会.护士进修杂志 2014; 29: 93-94
- 11 蔺建宇,樊华,张栋,朱继巧.加速康复外科理念在老年急诊胆囊切除术患者护理中的应用.护理学杂志 2011; 26: 45-46
- 12 许红霞,邹春霞,王菲.腹腔镜下胆囊切除术的护理.实用临床医药护理 2010; 14: 62-63
- 13 孙晓敏,徐萍,马志红,程晓松,朱佳莉,何桂钧,任大宾.上海松江地区胆囊良性疾病的流行病学调查30901例.世界华人消化杂志 2011; 19: 2881-2885
- 14 张平,刘国辉,杜晓宏.老年急性胆囊炎腹腔镜胆囊切除的体会.中国老年学杂志 2009; 29: 1702-1703
- 15 孙雪芬,刘晓健.不同护理干预措施对急性胆囊炎手术感染的效果分析.中国基层医药 2013; 20: 1115-1116

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



高海拔地区重症急性胰腺炎的早期危险因素

孔祥才, 张方信, 高娟, 周毅, 邓芝云, 陈嘉屿, 张久聪, 王彪猛, 王秀峰, 张潇艺

孔祥才, 张方信, 陈嘉屿, 张久聪, 王彪猛, 王秀峰, 张潇艺, 中国人民解放军兰州军区兰州总医院消化内科 甘肃省兰州市 730050

高娟, 中国人民解放军第四医院消化内科 青海省西宁市 810007
周毅, 中国人民解放军第451医院消化内科 陕西省西安市 710054

邓芝云, 中国人民解放军兰州军区兰州总医院检验科 甘肃省兰州市 730050

孔祥才, 主治医师, 主要从事高原重症急性胰腺炎的研究。

作者贡献分布: 孔祥才与张方信对此文所作贡献均等; 此课题由张方信与陈嘉屿设计; 研究过程由孔祥才、高娟、周毅、邓芝云、张久聪、王彪猛、王秀峰及张潇艺操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张久聪与王彪猛提供; 数据分析由孔祥才、高娟及周毅完成; 论文写作由孔祥才完成。

通讯作者: 张方信, 主任医师, 730050, 甘肃省兰州市滨河南路333号, 中国人民解放军兰州军区兰州总医院消化内科。

zhangfx59@126.com

电话: 0931-8994268

收稿日期: 2014-09-29 修回日期: 2014-10-27

接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2014-12-28

Risk factors for prognosis in patients with severe acute pancreatitis in high altitude areas

Xiang-Cai Kong, Fang-Xin Zhang, Juan Gao, Yi Zhou, Zhi-Yun Deng, Jia-Yu Chen, Jiu-Cong Zhang, Biao-Meng Wang, Xiu-Feng Wang, Xiao-Yi Zhang

Xiang-Cai Kong, Fang-Xin Zhang, Jia-Yu Chen, Jiu-Cong Zhang, Biao-Meng Wang, Xiu-Feng Wang, Xiao-Yi Zhang, Department of Gastroenterology, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Command, PLA, Lanzhou 730050, Gansu Province, China

Juan Gao, Department of Gastroenterology, the Fourth Hospital of PLA, Xi'ning 810007, Qinghai Province, China
Yi Zhou, Department of Gastroenterology, the 451st Hospital of PLA, Xi'an 710054, Shaanxi Province, China

Zhi-Yun Deng, Department of Clinical Laboratory, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Command, PLA, Lanzhou 730050, Gansu Province, China

Correspondence to: Fang-Xin Zhang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Lanzhou General Hospital, Lanzhou Military Command, PLA, 333 Binhe South Road, Lanzhou 730050, Gansu Province, China. zhangfx59@126.com

Received: 2014-09-29 Revised: 2014-10-27

Accepted: 2014-11-18 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To evaluate the risk factors for the prognosis of patients with severe acute pancreatitis (SAP) in high altitude areas.

METHODS: Three groups of patients from Xi'an, Lanzhou, and Xi'ning were included. Group A from Xi'an consisted of 62 SAP patients, and group B from Lanzhou of 82 SAP patients, and group C from Xi'ning of 55 SAP patients. The influence of APACHE II score, routine hematological parameters, blood sugar, serum calcium, creative protein (CRP), cytokines [interleukin-6 (IL-6), IL-18, and tumor necrosis factor- α (TNF- α)], and early active treatment on the complications and mortality were analyzed.

RESULTS: Postoperative early MODS and death in SAP patients in high altitude areas were related to hematocrit, hypoxemia, and shock. Positive correction of hypoxia, sufficient fluid resuscitation, improvement of blood concentration and inflammation control are the key to controlling early SAP in high altitude areas.

CONCLUSION: Risk factors for early MODS and death in SAP patients in high altitude areas include high concentration of blood, hypoxemia, and shock. Early interventions such as sufficient fluid resuscitation, blood concentration improvement, and inflammation control are the key points for the treatment of early SAP.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: High altitude areas; Severe acute pancreatitis; Early risk factors

Kong XC, Zhang FX, Gao J, Zhou Y, Deng ZY, Chen JY, Zhang JC, Wang BM, Wang XF, Zhang XY. Risk factors for prognosis in patients with severe acute pancreatitis in high altitude areas. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5707-5711 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5707.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5707>

摘要

目的: 探讨不同高海拔地区重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者早期相关的危险因素及其相应的治疗策略。

■背景资料

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是一种严重的全身性疾病,起病急,病情凶险,发展迅猛,并发症多。高海拔地区,因当地居民饮食、生活习惯及空气稀薄,SAP多年来一直是常见的危重病,往往早期就出现全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),极易并发成人呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS),如治疗不及时或治疗不当,进一步发展下去就会出现多脏器功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),导致SAP早期生命危险。

■同行评议者

陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

■ 研发前沿

高原SAP以其发病急、进展快、并发症多及病死率高为特点,但其导致诸多特点的致病因素尚不明确,近年来寻找高原SAP危险因素及早期防治成为该病的研究热点;血液滤过是近年来较有效的治疗SAP的手段之一,可通过滤膜的吸附和对流等机制非选择性的清除循环中的炎性介质,阻止细胞因子的级联反应,从而阻止全身炎症反应综合征的发生。

方法: 回顾性对比分析地处西安、兰州和西宁的3组SAP患者,分别将其分为A组(西安组62例) B组(兰州组82例) 和C组(西宁组55例)。通过对3组患者的APACHE II评分、血常规、血糖、血钙、C反应蛋白(C reactive protein)、细胞因子[白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-18、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)检测,给予早期积极处理,对3组SAP并发症及病死率的影响因素进行分析。

结果: C组SAP患者早期在血液浓缩(hematocrit, HCT>50%)、低氧血症、休克,以及并发多脏器功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)方面明显高于A组($P<0.01$)和B组($P<0.05$)的患者。3组患者均采用了早期液体足量复苏,早期机械通气,血液滤过等治疗。

结论: 高海拔地区SAP患者早期并发MODS及死亡的危险因素比低海拔及平原SAP高,且与血液浓缩、低氧血症、休克有关。积极纠正低氧血症,液体足量复苏纠正休克和改善血液浓缩,控制炎症反应是阻止高海拔SAP早期发生MODS的关键。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 高海拔地区;重症急性胰腺炎;早期危险因素

核心提示: 高海拔重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis)病情重、并发症多、病死率高,可能与血液浓缩、低氧血症、休克等危险因素有关,早期有效的液体复苏治疗、纠正休克、抑制炎症反应、改善微循环、纠正低氧血症,可降低其并发症的发生率及病死率。

■ 创新盘点

本研究以三个不同海拔高度的患者为研究对象,通过对不同组别患者一般资料及血清学指标及细胞因子水平检测,揭示了高海拔SAP患者早期危险因素,并在常规治疗基础上及时早期给予间断短时血液滤过治疗,达到有效纠正低氧血症、纠正休克、快速清除炎症介质、阻断SIRS等作用,从而降低SAP患者并发症发生率及死亡率,改善SAP患者预后。

孔祥才, 张方信, 高娟, 周毅, 邓芝云, 陈嘉屿, 张久聪, 王彪猛, 王秀峰, 张潇艺. 高海拔地区重症急性胰腺炎的早期危险因素. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5707-5711 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5707.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5707>

0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是一种严重的全身性疾病,起病急,病情凶险,发展迅猛,并发症多,目前病死率仍高达20%^[1]左右。高海拔地区,因当地居民饮食、生活习惯及空气稀薄, SAP多年来一直是常见的危重病,并且患者有高原地区的特点(低氧血症和血液浓缩明显),使得SA患者病情显得更加凶险,治

疗更加棘手,往往早期就出现全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),极易并发成人呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS),如治疗不及时或治疗不当,进一步发展下去就会出现多脏器功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),导致SAP早期生命危险。本研究通过对不同海拔高度的三家医院收治的167例SAP患者的早期救治及预后情况进行回顾性分析,以寻找出高海拔地区SAP患者早期临床特点,以及导致病情进一步加重的特殊危险因素,旨在指导高海拔SAP早期预防,提高其救治成功率。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-01/2014-01在中国人民解放军第451医院、中国人民解放军兰州军区兰州总医院及中国人民解放军第四医院收治的SAP患者,均按入院先后随机分组,其中为A组(中国人民解放军第451医院,海拔500 m)62例,男35例,女27例,平均年龄58.3岁 \pm 4.5岁,病因:胆源性35例,酒精性20例,其他7例; B组(中国人民解放军兰州军区兰州总医院,海拔1500 m)82例,男45例,女37例,平均年龄56.4岁 \pm 3.8岁,病因(胆源性43例,酒精性28例,其他11例); C组(中国人民解放军第四医院,海拔2200 m)55例,男31例,女24例,平均年龄54.6岁 \pm 4.2岁,病因(胆源性30例,酒精性20例,其他5例); SAP均符合中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组的诊断标准^[2]。血液净化系统WLXGL-8888型伟力血液净化-人工肝与支持系统(北京伟力公司产品),血滤器(德国Fresenius公司产品UltrafluxAV600)。

1.2 方法

1.2.1 常规治疗: 3组患者均常规给予持续胃肠减压、补液、镇痛、肠外营养支持、预防性应用抗生素、抑制胰腺外分泌、应用胰酶抑制剂、改善胰腺微循环等治疗,同时予以间断短时静-静脉血液滤过治疗,高血糖者给予常规胰岛素控制,血钙降低者给予补充治疗,急性肺损伤给予短时激素治疗,ARDS早期行呼吸末正压(positive end expiratory pressure, PEEP)通气等。

1.2.2 血液滤过治疗: 3组患者均早期给予间断短时静-静脉血液滤过(intermittent short time veno-venous hemofiltration, ISVVH)方法:于右侧颈内静脉置入双腔导管建立血液通路,置换液由本院药剂科在使用前配置,治疗中血流量为

表 1 3组白细胞及生化指标水平比较 (mean ± SD)

分组	白细胞($10^9/L$)	血细胞比容(%)	C反应蛋白(mg/L)	血淀粉酶(U/L)	血糖(mmol/L)	血钙(mmol/L)
A组	17.51 ± 4.92	39.4 ± 5.9	30.6 ± 15.3	765.8 ± 179.8	13.5 ± 5.1	1.84 ± 0.27
B组	18.37 ± 5.48	44.6 ± 7.1 ^a	38.6 ± 13.8 ^a	782.2 ± 203.5	14.9 ± 5.8	1.81 ± 0.21
C组	18.54 ± 5.76	53.1 ± 8.3 ^{bc}	48.7 ± 19.5 ^{bc}	812.3 ± 215.7	16.1 ± 6.4	1.79 ± 0.25

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs A组; ^c $P < 0.05$ vs B组. A组: 西安组; B组: 兰州组; C组: 西宁组.

表 2 3组IL-6、TNF- α 、IL-18水平比较 (mean ± SD, pg/mL)

分组	<i>n</i>	IL-6	TNF- α	IL-18
A组	62	351.34 ± 112.22	476.17 ± 98.24	187.13 ± 32.82
B组	82	389.28 ± 123.72 ^a	514.82 ± 112.56 ^a	243.52 ± 45.78 ^a
C组	55	456.54 ± 146.82 ^{bc}	579.34 ± 125.25 ^{bc}	289.23 ± 58.26 ^{bc}

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs A组; ^c $P < 0.05$ vs B组. A组: 西安组; B组: 兰州组; C组: 西宁组. IL: 白介素; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α .

表 3 3组患者并发症发生率及死亡率 (%)

分组	<i>n</i>	低氧血症	血液浓缩	休克	腹腔室隔综合征	多脏器障碍综合征	病死率
A组	62	46.88	43.45	34.67	21.35	32.25	8.23
B组	82	61.53 ^a	56.77 ^a	38.52	22.53	34.56	9.21
C组	55	85.42 ^{bc}	86.78 ^{bc}	47.82 ^{bc}	24.87	55.42 ^{bc}	20.24 ^{bc}

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs A组; ^c $P < 0.05$ vs B组. A组: 西安组; B组: 兰州组; C组: 西宁组.

120-150 mL/min, 置换液总量8 L/d, 前稀释方式输入, 超滤量根据治疗量和患者容量负荷情况设定为600-1000 mL/d, 低分子肝素抗凝.

1.2.3 观察指标: 观察心肺功能指标、心率(heart rate, HR)、呼吸(breathing, R)、血压(blood pressure, BP)、氧合指数(oxygenation index, PO/FIO₂)、血氧饱和度(blood oxygen saturation, SaO₂), 并行APACHEH评分; 检测血常规、血糖、血淀粉酶、血钙、C反应蛋白(C reactive protein, CRP), 检测血清白介素(interleukin, IL)-6、IL-18、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)水平, 统计并发症发生率、死亡率.

统计学处理 计量资料用mean ± SD表示, 全部数据采用SPSS18.0软件. 采用重复测量设计资料方差分析, 计数资料用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 3组患者入院时一般状况比较 3组患者入院时

一般状况、病因比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$).

2.2 3组患者入院时血清学指标比较 3组患者白细胞(white blood cells, WBC)、血淀粉酶、血钙、血糖差异无显著性($P > 0.05$); HCT、CRP B组较A组差异显著($P < 0.05$), C组较B组差异显著($P < 0.05$), C组较A组差异显著($P < 0.01$)(表1).

2.3 3组患者细胞因子(IL-6、TNF- α 、IL-18)检测水平比较 B组较A组差异显著($P < 0.05$), C组较B组差异显著($P < 0.05$), C组较A组差异显著($P < 0.01$)(表2).

2.4 3组患者并发症及病死率比较 3组患者治疗后, 各并发症发生率及死亡率随海拔高度增加呈增加趋势, 且低氧血症、血液浓缩、休克发生率及死亡率差异显著(表3).

3 讨论

SAP是胰腺自身消化启动的严重全身炎症反应性疾病, 炎症细胞被激活并大量释放细胞因子是病情加重的重要原因^[3,4]. 急性胰腺炎早期活化的胰酶和大量的血管活性物质使毛细血管的

■应用要点

对高海拔SAP患者通过常规治疗结合血液滤过治疗, 做到有效的液体复苏、纠正休克、抑制炎症反应、改善微循环、纠正低氧血症, 可降低其并发症的发生率及病死率, 改善其预后, 值得进一步研究及临床推广应用.

■名词解释

急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是指严重感染、创伤、休克等肺内外袭击后出现的以肺泡毛细血管损伤为主要表现的临床综合征,属于急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是严重阶段或类型。其临床特征呼吸频速和窘迫,进行性低氧血症, X线呈现弥漫性肺泡浸润。

通透性增高,造成大量血浆外渗,血液浓缩,使HCT明显升高,进一步导致胰腺微循环障碍^[5,6],造成胰腺的灌注减少,局部缺血和坏死。早期给予有效措施,给予改善微循环、纠正有效循环血容量不足可明显改善SAP患者预后,降低并发症发生率及死亡率^[7]。

高海拔低氧、高寒等特殊的自然环境导致红细胞过度增生、血细胞比容升高,高原人群因其饮食上习惯以牛羊肉、奶制品等含脂量高的食物为主,致其体内血脂增高,这些因素均可导致血液黏稠度增高,血流阻力加大,故SAP时胰腺微循环障碍较较低海拔地区发生更早,也更为明显^[8]。高海拔低氧、低气压、高寒等综合暴露因素也是促成MODS的继发因素,从而形成双重打击,更早、更重地启动了神经内分泌轴系应激反应和炎性介质网络对全身组织器官功能的影响和细胞分子水平的表达^[9],使高海拔地区SAP临床表现更为凶险危急。

我们前期高原SAP的临床及实验研究表明,高海拔作为SAP患者的一项独立危险因素,在高原SAP患者及动物模型的病因、病情发展与预后等方面起着关键的作用^[6,8,10-12]。本研究以3组不同海拔高度的SAP患者为研究对象,通过早期临床资料分析,寻求高海拔SAP早期相关因素,在常规治疗基础上,每1例患者给予早期间断血液滤过治疗,及时纠正低氧血症、休克、SIRS等并发症。研究表明,3组患者入院前一般状况及病因无明显差异,但在血液浓缩、炎症指标及白介素水平等方面随海拔高度增加呈增加趋势,3组比较具有显著差异(表1, 2); 3组患者并发症发生率随海拔高度增加呈增加趋势,其中低氧血症、休克、血液浓缩、多脏器障碍综合征等发生率具有显著差异(表3); 3组病死率随海拔高度增加亦呈增加趋势,3组分别为8.23%、9.21%、20.24%, B组较A组无显著差异($P>0.05$), C组较A组差异显著($P<0.01$)。3组患者通过以上结果分析,高海拔重症胰腺炎患者早期即存在的血液高凝状态、缺氧、炎症介质大量释放,是高海拔SAP影响预后的危险因素,在特有的危险因素作用下极易发生休克、微循环障碍、SIRS、MODS等并发症,从而提高了患者并发症发生率及死亡率。急性重型高原病并发MODS的根本原因是缺氧^[13],由于高原地区长期低氧刺激、红细胞数量增多,不少患者红细胞压积明显增高,血红蛋白增多、血液黏度升高、血流

缓慢甚至停滞,更容易导致肺微血管栓塞等一系列病损,从而导致呼吸窘迫致ARDS及MODS发生^[14]。血液滤过^[15]可很好地清除炎症介质,截断炎症介质的瀑布效应,减轻炎症因子对脏器的损害,还可以清各种胰酶,降低血浆内毒素水平,重新调节机体免疫功能,维持内环境的稳定。故早期从其可能的发病机制和病理生理变化着手,包括积极治疗原发病、控制感染、清除炎症介质、积极液体治疗纠正休克、加强代谢支持及器官支持等综合治疗,通过调控炎症反应,改善微循环等治疗方法可以阻断其进一步发展,预防MODS发生和改善SAP患者预后。

总之,随着海拔升高, SAP病情加重,并发症增多,病死率升高,这些可能与血液浓缩、低氧血症、休克等危险因素有关,早期积极有效的进行液体复苏治疗,纠正休克,抑制炎症反应,改善微循环,纠正低氧血症,并对其病因进行积极处理,可明显降低高海拔SAP患者早期并发症的发生率及病死率。

4 参考文献

- 1 幸福, 雷力民, 韦运达, 张庚. 中医药治疗重症胰腺炎机制探讨及实验研究进展. 辽宁中医药大学学报 2013; 15: 114-116
- 2 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案). 胰腺病学 2004; 4: 35-38
- 3 孔祥才, 张方信. 血液滤过治疗重症急性胰腺炎的研究进展. 医学综述 2010; 16: 2952-2956
- 4 尹康, 朱宏泉, 许庆林. 连续性血液净化对重症急性胰腺炎血浆炎症因子的影响分析. 中国当代医药 2014; 21: 37-39
- 5 Zhao T, Guo J, Li H, Huang W, Xian X, Ross CJ, Hayden MR, Wen Z, Liu G. Hemorheological abnormalities in lipoprotein lipase deficient mice with severe hypertriglyceridemia. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 341: 1066-1071 [PMID: 16460682 DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.01.067]
- 6 张方信, 孔祥才, 邓芝云, 陈嘉屿, 唐丙喜, 于晓辉, 马强, 康生朝. 大黄甘草汤联合间断短时静脉-静脉血液滤过对重症急性胰腺炎患者细胞因子的影响. 国际移植与血液净化杂志 2010; 3: 20-23
- 7 刘海东. 高原红细胞增多症合并急性胰腺炎的治疗探讨. 高原医学杂志 2009; 19: 39-40
- 8 张盼, 张方信, 邓芝云, 陈嘉屿, 单体栋. 高原缺氧环境下重症急性胰腺炎合并肠损伤的实验研究. 西北国防医学杂志 2012; 33: 210-214
- 9 张世范, 张德海, 刘惠萍, 达嘎, 高炜, 林树新, 陈天铎, 刘奋学, 刘传兰. 高海拔地区急性呼吸窘迫综合征和多器官功能障碍综合征诊断标准的研究-附高海拔地区急性呼吸窘迫综合征诊断标准重修意见稿. 中国危重病急救医学 2003; 15: 174-179
- 10 单体栋, 邓芝云, 张方信, 邵珂, 段云, 张盼, 陈嘉屿, 汪泳. 急进高原与平原大鼠肠道双歧杆菌的分子生物学实验对比研究. 中国微生态学杂志 2011; 23: 197-200
- 11 段云, 张方信, 单体栋, 邵珂, 张盼. 添加益生元对急进高原大鼠肠黏膜屏障紧密连接蛋白Occludin的作用

研究. 中国微生态学杂志 2011; 23: 391-394

12 张方信, 李文祥, 邓芝云, 张盼, 陈嘉鸣, 邓尚新, 王秀峰, 贾红梅, 苟艳子. 大黄甘草汤对高原急性坏死性胰腺炎合并肠损伤大鼠的影响. 中华胰腺病杂志 2013; 13: 390-394

13 周其全, 张世范. 急性重型高原病并发多器官功能障碍综合征的早期诊断与临床救治. 解放军医学杂志 2010; 35: 1183-1186

14 卢岩松, 李涛. 高原地区急性重症胰腺炎合并呼吸衰竭的影响因素分析. 高原医学杂志 2012; 22: 29-30

15 孙晶娣, 赵久阳, 王媛. CRRT治疗重症急性胰腺炎的临床分析. 中国血液净化 2013; 12: 662-664

同行评价
 本文回顾性对比分析地处西安、兰州和西宁的3组SAP患者, 探讨不同高海拔地区SAP患者早期相关的危险因素及其相应的治疗策略. 具有比较重要的科学价值和临床实用意义.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表, 同时保护作者与《世界华人消化杂志》的合法权益, 本刊对修回稿要求如下.

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文本表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部.

2 稿件修改

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

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有. 编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录.

小肠CT仿真内镜对小肠疾病的诊断价值

陈龙华, 卢禹, 贾西中, 张武, 张书仁

■背景资料

小肠位于整个消化系的中间部位, 管道长而迂曲, 不同的部分相互重叠, 由于小肠疾病解剖结构的特殊性, 不断增加了小肠疾病诊断的难度, 尚缺乏特异性的诊断方法。随着医疗水平的提高, 计算机断层扫描(computed tomography, CT)仿真内镜技术不断更新, 此技术可通过消化系的重建模拟内镜检查的效果, 不断明确消化系统疾病的形态学改变。

■同行评议者

周晓武, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普外科

陈龙华, 卢禹, 贾西中, 张武, 张书仁, 南阳医学高等专科学校第一附属医院核磁共振室 河南省南阳市 473000

陈龙华, 副主任医师, 主要从事疾病诊断及新技术应用的研究。
作者贡献分布: 此课题由于陈龙华设计; 研究过程由陈龙华与卢禹完成; 数据分析由贾西中、张武及张书仁完成; 写作由于陈龙华、卢禹、贾西中、张武及张书仁共同完成。

通讯作者: 陈龙华, 副主任医师, 473000, 河南省南阳市车站南路47号, 南阳医学高等专科学校第一附属医院核磁共振室。ch0824@163.com

收稿日期: 2014-09-24 修回日期: 2014-10-26

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Diagnostic value of CT virtual endoscopy in small bowel disease

Long-Hua Chen, Yu Lu, Xi-Zhong Jia, Wu Zhang, Shu-Ren Zhang

Long-Hua Chen, Yu Lu, Xi-Zhong Jia, Wu Zhang, Shu-Ren Zhang, Department of Magnetic Resonance Imaging, the First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang 473000, He'nan Province, China

Correspondence to: Long-Hua Chen, Associate Chief Physician, Department of Magnetic Resonance Imaging, the First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, 47 Chezhan South Road, Nanyang 473000, He'nan Province, China. ch0824@163.com

Received: 2014-09-24 Revised: 2014-10-26

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

Abstract

AIM: To explore the diagnostic value of computed tomography (CT) virtual endoscopy in small bowel disease.

METHODS: Eighty-four patients with small bowel disease were divided into either an observation group or a control group. The observation group underwent CT virtual endoscopy, and the control group underwent double contrast imaging of the small intestine. The filling effect, sensitivity, specificity, and the rate of misdiagnosis were compared for the two groups.

RESULTS: The filling effect for the observation group was higher than that for the control group (66.67% vs 40.48%, $P < 0.05$). The diagnostic sensitivity and specificity for the observation group were higher than those for the control group (95.24% vs 59.52%, 90.48% vs 47.62%, $P < 0.05$).

The rate of misdiagnosis for the observation group was lower than that for the control group (0.00% vs 26.19%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The diagnostic value of CT virtual endoscopy in the detection of small bowel disease is good, and it is simple, safe and has good filling effect, high sensitivity and specificity.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: CT virtual endoscopy; Double contrast examination; Small bowel disease

Chen LH, Lu Y, Jia XZ, Zhang W, Zhang SR. Diagnostic value of CT virtual endoscopy in small bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5712-5715
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5712.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5712>

摘要

目的: 探讨小肠计算机断层扫描(computed tomography, CT)仿真内镜对小肠疾病的诊断价值。

方法: 收集2013-04/2014-04南阳医学高等专科学校第一附属医院收治的84例小肠疾病患者临床资料, 按照不同的诊断方法, 将患者分为观察组与对照组, 观察组患者采取小肠CT仿真内镜诊断, 对照组患者采取小肠双对比造影诊断, 比较两组小肠控充盈效果以及敏感度、特异性和误诊率。

结果: 观察组患者充盈效果显著优于对照组(66.67% vs 40.48%), 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 观察组敏感度、特异性均显著高于对照组(95.24% vs 59.52%、90.48% vs 47.62%), 误诊率显著低于对照组(0.00% vs 26.19%), 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 应用小肠CT仿真内镜进行诊断小肠疾病, 操作简单安全, 充盈效果好, 敏感度和特异性均较高, 值得临床推广。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: CT仿真内镜; 双对比造影; 小肠疾病

核心提示: 本研究表明, 观察组患者充盈好患者占66.67%, 明显高于对照组的40.48%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。可见, 小肠计算机断层扫描(computed tomography, CT)仿真内镜的可确保良好的充盈效果, 提高小肠CT仿真内镜, 提高检查效率, 缓解患者痛苦程度。观察组患者敏感度为95.24%、特异性为90.48%明显高于对照组的59.52%、47.62%, 误诊率为0.00%明显低于对照组的26.19%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

陈龙华, 卢禹, 贾西中, 张武, 张书仁. 小肠CT仿真内镜对小肠疾病的诊断价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5712-5715
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5712.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5712>

0 引言

小肠位于整个消化系的中间部位, 管道长而迂曲, 不同的部分相互重叠, 由于小肠疾病解剖结构的特殊性, 不断增加了小肠疾病诊断的难度, 尚缺乏特异性的诊断方法^[1]。随着医疗水平的提高, 计算机断层扫描(computed tomography, CT)仿真内镜技术不断更新, 此技术可通过消化系的重建模拟内镜检查的效果, 不断明确消化系疾病的形态学改变^[2]。现对南阳医学高等专科学校第一附属医院收治的行小肠CT仿真内镜与小肠双对比造影诊断的小肠疾病患者临床资料进行比较, 分析小肠CT仿真内镜对小肠疾病的诊断价值, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2013-04/2014-04南阳医学高等专科学校第一附属医院收治的84例小肠疾病患者临床资料, 按照不同的诊断方法, 将患者分为观察组与对照组, 每组均为42例。观察组中男26例, 女16例, 年龄25-68岁, 平均年龄为50.45岁 \pm 2.46岁。对照组中男24例, 女18例, 年龄22-69岁, 平均年龄为51.24岁 \pm 2.09岁。患者均伴随不同程度的腹痛、黑便、纳差、腹泻、消瘦、便血、大便潜血阳性等临床症状。两组患者性别、年龄等一般资料对比, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。所有患者均对本研究知情同意, 签署同意书。

1.2 方法 在制备实验标本中, 选取150 cm新鲜离体猪小肠, 充分扩张肠管后, 浸入水槽内进行CT扫描。同时, 经导管缓慢注入硫酸钡, 从不同的角度进行摄片。将肠壁的残留钡剂洗干净后, 制作

表 1 两组患者小肠控充盈效果比较 [$n = 42, n(\%)$]

分组	充盈好	充盈一般	充盈差
观察组	28(66.67) ^a	13(30.95)	1(2.38) ^a
对照组	17(40.48)	10(23.81)	15(35.71)

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

隆起性病变模型, 并将肠壁翻转复原。在实施CT扫描中, 进行扫描全部小肠标本范围。

1.2.1 CT仿真内镜成像: 获取螺旋CT容积扫描数据后, 经1-115 mm间隔重建, 并输送至工作站, 选择Navigator软件获取CT仿真内镜图像, 阈值在-600--800 HU的范围内, 同时采取Fly Through软件进行处理3帧2D MPR图像, 半自动沿管腔轴从小肠一端开始逐步深入管腔, 结合MPR技术及横断图像, 进行定位病变, 标志物端距离^[3]。

1.2.2 小肠双对比造影检查: 选择飞利浦Duo Diagnost数字胃肠机、硫酸钡干混悬剂进行胃肠造影, 含气肠管移经CT扫描后移至造影室, 经导管注入500 g/L硫酸钡100 mL, 标本反复旋转数圈, 在结肠壁上均匀涂抹钡剂^[4]。在检查床放置标本, 观察发现病变后再次旋转肠管, 并进行多角度摄片。

1.2.3 观察指标: 比较两组小肠控充盈效果以及敏感度、特异性和误诊率。小肠控充盈效果评价标准: (1)充盈好: 肠管充盈分布区 $> 80\%$; (2)充盈一般: 肠管充盈分布区为 $50\% - 80\%$; (3)充盈差: 肠管充盈分布区 $< 50\%$ ^[5]。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行统计分析, 计量资料结果用mean \pm SD表示, 治疗前后及组间比较用 t 检验, 计数资料以构成比表示, 用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者小肠控充盈效果比较 观察组患者充盈效果显著优于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表1, 图1, 2)。

2.2 两组敏感度、特异性及误诊率比较 观察组敏感度、特异性均显著高于对照组, 误诊率显著低于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

3 讨论

小肠气钡双对比造影检查、CT检查和内镜检查作为小肠疾病检查的常用方法。小肠内镜包括: 小肠镜、胶囊内镜, 小肠镜观察小肠近段, 操作复杂, 消耗时间长, 加剧患者疼痛程度^[6]。胶囊内

■ 相关报道

杨冬生等对20例小肠疾病的患者行CT仿真内镜技术诊断, 患者小肠充盈良好, 达到了预期效果。

应用要点

小肠气钡双对比造影检查、CT检查和内镜检查作为小肠疾病检查的常用方法。

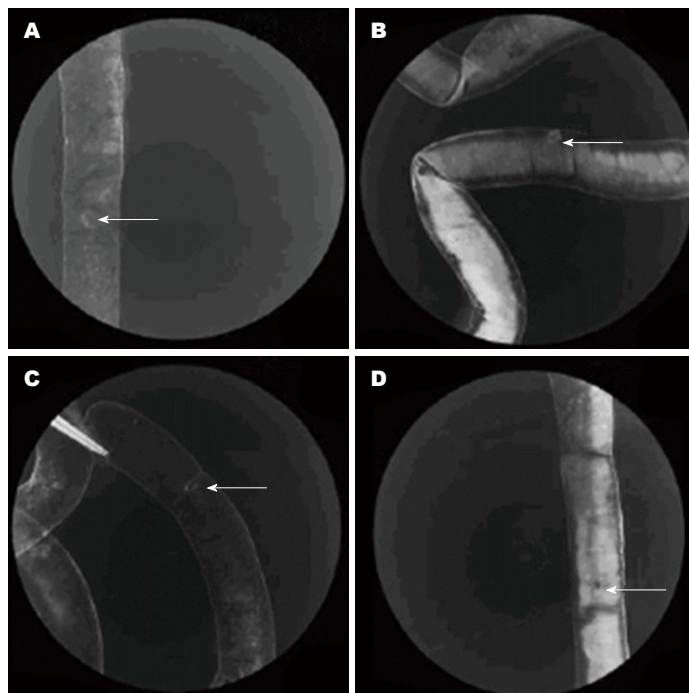


图1 气钡双对比造影显示隆起性病变. A: 近壁面低潮的图像; B: 近壁的潮间带的表面图像; C: 环征1D; D: 近壁面间的图像. MPR: 多平面重建.

表2 两组敏感度、特异性及误诊率比较 ($n = 42, n(\%)$)

分组	敏感度	特异性	误诊率
观察组	40(95.24) ^a	38(90.48) ^a	0(0.00) ^a
对照组	25(59.52)	20(47.62)	11(26.19)

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

镜虽直视效果良好,但是所需检查成本较高,检查禁忌证较多,未能得到广泛的应用^[7].

CT仿真内镜的基本原理在于:通过螺旋CT薄层无间隔扫描,结合强大的计算机软件功能,进行快速处理CT扫描获得的图像数据,进行三维重建空腔器官内表面,再利用计算机的模拟导航技术进行观察腔内,进行动态重建图像纤维内窥镜.随着小肠CT仿真内镜扫描速度的增长,Z轴分辨率逐渐增高,确保获取良好的CT仿真内镜的影像质量^[8].CT仿真内镜操作简单方便,患者耐受性良好,检查深度良好,进行多视觉观察病变^[9].CT仿真内镜检查、小肠气钡双对比造影检查的前提在于引入肠道内气体,目前,国内外许多检查方法将气体引入小肠,为检查提供了基础^[10].实验模拟的小肠隆起性病变是大多疾病的基本病理学改变,常见于小肠肿瘤及息肉.选择小肠双对比造影检查诊断,可从近地壁、侧壁、远地壁观察同一病变,根据造影剂充盈的厚度,分为中潮像、低潮像、落潮像,形成不同形态的充盈缺损及环圈征等,显示出病

变形态^[11].侧壁可见肠壁僵硬,病变发白.远地壁出现雾滴、悬滴现象.

通过以上研究表明,观察组患者充盈好患者占66.67%,明显高于对照组的40.48%,差异有统计学意义($P < 0.05$).可见,小肠CT仿真内镜的可确保良好的充盈效果,提高小肠CT仿真内镜,提高检查效率,缓解患者痛苦程度.观察组患者敏感度为95.24%、特异性为90.48%,明显高于对照组的59.52%、47.62%,误诊率为0.00%,明显低于对照组的26.19%,差异有统计学意义($P < 0.05$).两种方法均可显示病变的形态及范围,形成符合大体病理学的影像表现.

杨冬生等^[12]对20例小肠疾病的患者行CT仿真内镜技术诊断,患者小肠充盈良好,达到了预期效果.经证实,小肠CT仿真内镜可反映病变在肠腔内的形态学改变,结合多平面重建(multi-planar reformation, MPR)图像,正确判定位置、大小、形态、腔内外和周围淋巴结情况等^[13].小肠CT仿真内镜诊断的敏感性和特异性优于非离子型造影剂方法,逐渐成为结肠病灶诊断的有效手段之一^[14].多层螺旋CT可多次重建1次容积扫描所得数据,通过软件处理MPR、曲面重组(curved planar reformation, CPR)、最大密度投影(maximum intensity projection, MIP)、最小密度投影(minimum intensity projection, MinIP)、表面覆盖法成像(shadow surface display, SSD)等图像,改变了CT仿真内镜与小肠双对比造影检查

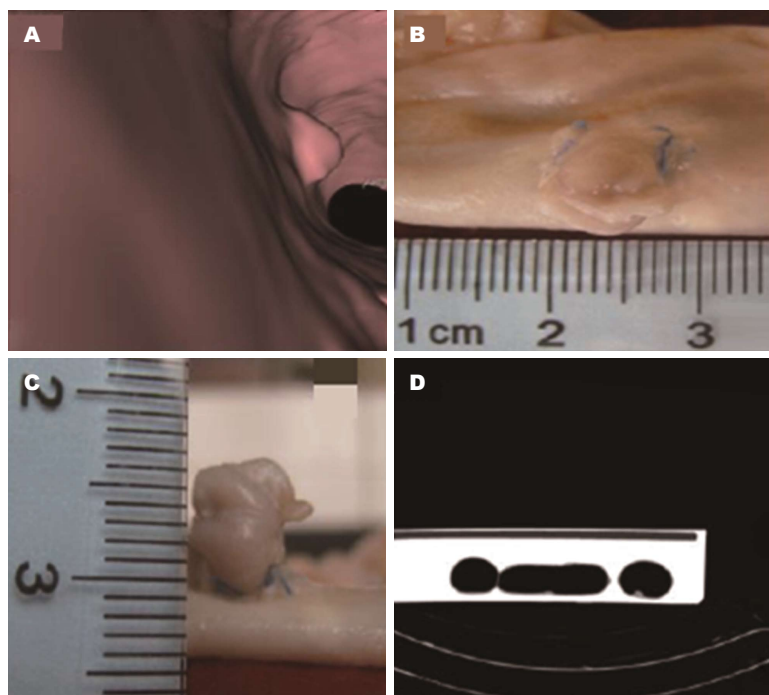


图 2 隆起性病变成像图。A: 隆起病变; B: 样品的宽度; C: 样品的高度; D: 相应的横切面MPR图像。

■同行评价
本研究选题实用, 结论可靠, 对临床医师有一定的参考价值。

对于肠腔内弥漫性病变及黏膜下占位性病变诊断准确性较低的局限性, 明确黏膜下肿瘤的诊断等^[15]。

总之, 在小肠疾病诊断中应用小肠CT仿真内镜诊断, 特异性、敏感度较高, 小肠充盈效果良好, 患者检查依从性良好, 值得临床推广使用。

4 参考文献

- 程英升, 宋富珍. 小肠疾病影像学诊断新进展. 世界华人消化杂志 2007; 15: 669-676
- 曾令延, 魏文洲. 64层螺旋CT仿真内镜在结直肠癌的检测和术前分期中的作用. 医学影像学杂志 2013; 23: 268-270, 274
- 张勇, 邱传亚, 薛彩霞. 小肠CT仿真内镜对小肠疾病的诊断价值. 中国临床医生 2011; 39: 42-44
- 纪年尚, 安丰新. 小肠气钡双对比造影的影像学评价. 山东医药 2009; 49: 114-115
- Sun Z. CT virtual endoscopy and 3D stereoscopic visualisation in the evaluation of coronary stenting. *Biomed Imaging Intero J* 2009; 5: e22 [PMID: 21610990 DOI: 10.2349/bij.5.4.e22]
- 武乐斌, 李春卫. 小肠影像学检查与诊断的发展现状. 医学影像学杂志 2008; 18: 1-3
- 袁晋华, 辛磊, 廖专, 李兆申. 胶囊内镜全小肠检查的研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3662-3666
- Liang J, Yang J. [Comparative of gastrointestinal mesenchymal tumors of CT virtual endoscopy and pathology]. *Zhongguo Yiliao Qixie Zazhi* 2013; 37:

- 464-465 [PMID: 24617224]
- 于洋, 蒋涛, 王艳, 柳建, 唐宏斌, 杨淑兰, 张红培, 李敏, 梁璐. 小肠CT造影对肠管出血性疾病的诊断价值. *CT理论与应用研究* 2014; 23: 621-630
- Su X, Ge Y, Liang B, Wu M, Guo Y, Ma B, Li J. Small intestinal tumors: diagnostic accuracy of enhanced multi-detector CT virtual endoscopy. *Abdom Imaging* 2012; 37: 465-474 [PMID: 21735262 DOI: 10.1007/s00261-011-9776-z]
- Shi Z, Liao JZ, Cheng B, Hu DY, Tong YX, Wan J. [A comparative study of CT virtual endoscopy imaging and pathologies of lower alimentary tract mesenchymal tumors]. *Zhonghua Neike Zazhi* 2011; 50: 485-488 [PMID: 21781532 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2011.06.010]
- 杨冬生, 李新, 宫凤玲, 刘振翠, 陈伟斌. CT仿真内镜与双对比造影诊断小肠隆起性病变的价值. *中国组织工程研究与临床康复* 2011; 15: 4080-4083
- Wang D, Wei XE, Yan L, Zhang YZ, Li WB. Enhanced CT and CT virtual endoscopy in diagnosis of heterotopic pancreas. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3850-3855 [PMID: 21987629 DOI: 10.3748/wjg.v17.i33.3850]
- 邱传亚, 蒋涛, 张镭, 翟仁友. 多平面重建及仿真内镜对小肠病变的诊断价值. *实用放射学杂志* 2008; 24: 333-335
- Guo ZJ, Chen YF, Zhang YH, Meng FJ, Lin Q, Cao B, Zi XR, Lu JY, An MH, Wang YJ. CT virtual endoscopy of the ampulla of Vater: preliminary report. *Abdom Imaging* 2011; 36: 514-519 [PMID: 20981423 DOI: 10.1007/s00261-010-9644-2]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



自制胶囊内镜辅助推送器的临床应用

黄文柱, 罗先桃, 林凤英, 钟晓文

■背景资料

胶囊内镜胃内排出延迟是胶囊内镜检查失败的常见原因之一, 部分患者需要借助内镜干预将胶囊内镜送入十二指肠, 但常用胃镜干预的方法有明显的缺陷难以达到预期效果。临床需要研制一种简易、快捷地把胶囊内镜送入十二指肠的辅助器械以解决胶囊内镜胃内滞留的难题。

黄文柱, 罗先桃, 林凤英, 钟晓文, 佛山市第五人民医院消化内科 广东省佛山市 528211

黄文柱, 主任医师, 主要从事消化系统疾病的临床研究。

佛山市卫生局医学科研基金资助项目, No. 2014106

作者贡献分布: 此课题由黄文柱设计; 研究过程由黄文柱、罗先桃、林凤英及钟晓文操作完成; 数据分析由黄文柱完成; 本论文写作由黄文柱完成。

通讯作者: 黄文柱, 主任医师, 528211, 广东省佛山市南海区西樵镇, 佛山市第五人民医院消化内科. xqhwz@21cn.com

电话: 0757-86890053

收稿日期: 2014-08-03 修回日期: 2014-11-04

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Clinical application of a self-made capsule endoscope pusher

Wen-Zhu Huang, Xian-Tao Luo, Feng-Ying Lin, Xiao-Wen Zhong

Wen-Zhu Huang, Xian-Tao Luo, Feng-Ying Lin, Xiao-Wen Zhong, Department of Gastroenterology, the Fifth People's Hospital of Foshan City, Foshan 528211, Guangdong Province, China

Supported by: Medical Scientific Research Foundation of Health Bureau of Foshan City, No. 2014106

Correspondence to: Wen-Zhu Huang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Fifth People's Hospital of Foshan City, Xiqiao Town, Nanhai District, Foshan 528211, Guangdong Province, China. xqhwz@21cn.com

Received: 2014-08-03 Revised: 2014-11-04

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

Abstract

AIM: To observe the clinical effects of a self-made capsule endoscope pusher, in order to solve the problem of gastric retention of capsule endoscope.

METHODS: Forty selective patients with gastric retention of capsule endoscope were divided into two groups ($n = 20$ for each): an observation group and a control group. In the observation group, the pusher was mounted to the duodenoscope front to push the capsule endoscope into the duodenum, and the capsule endoscopy was then released into the duodenum using biopsy forceps. In the control group, a snare trap was used to push the capsule endoscope into the duodenum for release.

■同行评议者

樊晓明, 教授, 复旦大学附属金山医院消化科

RESULTS: In the observation group, all endoscopes were pushed through the pylorus into the duodenum, with a success rate of 100%. The success rate in the control group was 40%. In the observation group, the success rate and the compliance of patients were significantly higher than those in the control group ($P < 0.01$). The total operative time and the running time were not statistically significant between the two groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: The capsule endoscope pusher is simple and practical, with a higher success rate, less adverse reactions, and better compliance. It solves the problem of gastric retention of capsule endoscope; however, it has disadvantage of invasiveness, pain, and increased costs.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Capsule endoscopy; Auxiliary; Pusher; Equipment; Research; Application

Huang WZ, Luo XT, Lin FY, Zhong XW. Clinical application of a self-made capsule endoscope pusher. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5716-5720
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5716.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5716>

摘要

目的: 对自制胶囊内镜辅助推送器的临床效果进行初步观察, 总结其应用效果及使用技巧, 以解决临床上常见的胶囊内镜胃内滞留的难题。

方法: 制作胶囊内镜辅助推送器, 选择胶囊内镜胃内排出延迟患者40例, 随机分为观察组、对照组各20例。观察组在清醒镇静的基础上经胃镜把胃内滞留的胶囊内镜用圈套器取出体外; 然后把胶囊内镜用辅助推送器安装固定在十二指肠镜前端, 在十二指肠镜直视下进镜, 通过推送器的侧视孔的观察定位, 辅助推送胶囊内镜进入十二指肠, 然后用活检钳推送释放胶囊内镜到十二指肠内。对照组是清醒镇静的基础上, 在胃镜直视下置入圈套器, 用圈

套器套住胶囊内镜中间,将胃镜往幽门方向推进,胃镜前端对准幽门开口后适当用力,进入十二指肠,并顺势将胶囊内镜推入并释放于十二指肠降部。

结果: 观察组20例,全部通过幽门进入十二指肠,成功率为100.0%。对照组20例仅有8例成功通过幽门,成功率为40.0%。观察组幽门通过成功率、患者依从性均显著高于对照组($P<0.01$),两组总操作时间、小肠运行时间比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。

结论: 胶囊内镜辅助推送器简便实用,成功率高,无明显不良反应,患者依从性好,基本解决了临床上常见的胶囊内镜胃内滞留通的难题,缺点是不能发挥胶囊内镜无创、无痛苦的优点,增加了费用。

© 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; 辅助; 推送; 器械; 研制; 应用

核心提示: 应用自制胶囊内镜辅助推送器把胃内排出延迟的胶囊内镜送入十二指肠,基本解决了临床上常见的胶囊内镜胃内滞留的难题。

黄文柱, 罗先桃, 林风英, 钟晓文. 自制胶囊内镜辅助推送器的临床应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5716-5720
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5716.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5716>

0 引言

随着国产胶囊内镜的开发成功,胶囊内镜检查价格的大幅下降,越来越多的患者开始接受胶囊内镜检查。目前胶囊内镜检查成功率是临床最为关注的问题之一。文献报告的胶囊内镜检查成功率差异很大,介于50%-100%,不能完成全小肠检查的发生率约为25%^[1]。导致胶囊内镜小肠检查失败的因素很多,胶囊内镜胃内排出延迟是常见原因之一,胶囊内镜胃内排出延迟发生率高达15.9%,部分患者甚至需要借助内镜干预将胶囊内镜送入十二指肠^[2,3]。但我们在临床实践中发现,常用胃镜干预的方法有明显的缺陷难以达到预期效果。因此研制一种简易的、能够在内镜直视下操作,快捷地把胶囊内镜送入十二指肠的辅助器械是临床面临的课题。从2012-01起,我们自主研发了一种胶囊内镜辅助推送器,目的是在内镜直视下把胶囊内镜推送至十二指肠,解决临床上常见的胶囊内镜胃内滞留的难题。我们对自制胶囊内镜辅助推送

器的临床应用进行了初步观察,并与胃镜干预的方法相比较,取得满意效果,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-01/2014-07在佛山市第五人民医院常规进行胶囊内镜检查的患者中,胶囊内镜胃内排出延迟(即胶囊内镜在胃内停留 >45 min)的患者,知情自愿同意参与试验。本研究共40例,采用单盲、随机数字表法分为观察组、对照组,各20例。纳入和排除标准:包括反复不明原因消化系出血、反复不明原因腹痛、腹泻等胃肠道症状,经胃镜、结肠镜检查、部分经X线钡餐、小肠钡灌、小肠计算机断层扫描(computed tomography, CT)成像等检查而未发现异常者。排除标准为:已知或怀疑存在肠道梗阻、狭窄及瘘管者,孕妇,甲状腺疾病患者等。OMOM胶囊内镜(重庆金山公司,规格13.0 mm \times 27.9 mm)、富士能250电子十二指肠镜(侧视镜)、电子胃镜(前视镜)、标准活检钳、圈套器等内镜配套器械。

1.2 方法

1.2.1 胶囊内镜辅助推送器的制作: 委托佛山市南方橡塑有限公司负责制作胶囊内镜辅助推送器,用医用橡胶特制而成,呈圆管状,总长度5 cm,分为前后两部分,前端部分为套放胶囊内镜用,长度为20 mm,内径13 mm;近端可套到十二指肠镜前端,长度3 mm,内径13.1 mm(相当于富士能250XT十二指肠镜前端直径),安装后宽紧度合适,在近端部分侧边开有10 mm \times 5 mm大小窗口,相当于十二指肠镜的侧视孔大小,用于十二指肠镜的侧视镜观察,以及注水、注气、吸引等。胶囊内镜辅助推送器用环氧乙烷气体消毒后备用(图1)。

1.2.2 内镜检查: 两组均采用右侧卧位,实时监视下进行胶囊内镜检查,当胶囊内镜在胃内停留 >45 min时,观察组在清醒镇静的基础上经胃镜把胶囊内镜用圈套器取出体外;然后把胶囊内镜用辅助推送器安装固定在十二指肠镜前端,在十二指肠镜直视下进镜,通过推送器的侧视孔的观察定位,经口、食管、胃,通过幽门进入十二指肠。可同时借助胶囊内镜的实时监视功能更加准确地确认前端方位是否已到达十二指肠;然后经活检通道送入活检钳,确认活检钳到达胶囊内镜的近端后,张开活检钳,利用活检钳推送释放胶囊内镜到十二指肠内。对照组是清醒镇静的基础上,在胃镜直视下置入圈套器,用

■研发前沿
很多研究者试图采用各种方法提高胶囊内镜通过幽门成功率,但效果欠佳。胶囊内镜辅助推送装置是研究的重点方向。

■相关报道
中华消化内镜学会胶囊内镜临床应用规范指出,辅助推送装置的临床应用有助于完成胶囊内镜的检查。

■创新盘点

本研究新颖、实用,未有类似胶囊内镜辅助推送器临床应用的相关报道。

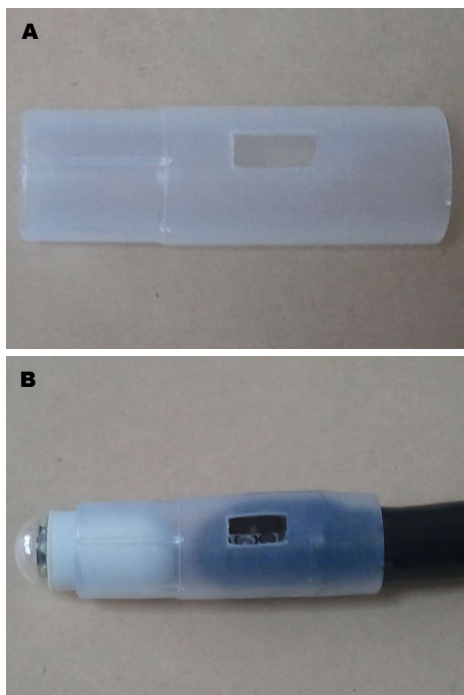


图1 胶囊内镜辅助推送器安装前后。A: 安装前; B: 安装后。

圈套器套住胶囊内镜中间,适当用力收紧圈套器后,将胃镜往幽门方向推进。近幽门时把圈套器往外拉紧,尽量使胶囊内镜贴近胃镜前端。胃镜前端对准幽门开口后适当用力,进入十二指肠,并顺势将胶囊内镜推入并释放于十二指肠降部。

1.2.3 观察内容: (1)胶囊内镜通过幽门成功率和胶囊内镜检查成功率; (2)不良反应; (3)患者依从性。

1.2.4 判断标准: (1)胃内停留时间是指胶囊进入胃内至胶囊通过幽门的时间,胶囊内镜通过幽门成功:胶囊内镜通过幽门进入十二指肠即为成功;胶囊内镜胃内排出延迟(胃内滞留)是指胶囊内镜在胃内停留 >45 min; (2)小肠运行时间是指第一幅十二指肠图像至胶囊到达回盲瓣或结肠的时间。胶囊内镜在有效工作时间内完成对整个小肠的完整拍摄,并提供可用于诊断的图像称之为胶囊内镜小肠检查成功^[1]。

统计学处理 采用SPSS15.0软件包进行统计学分析,计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,数据比较用 t 检验进行;计数资料以%表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料分析 观察组20例,其中男12例,女8例,年龄21-63岁,平均年龄 38.2 岁 ± 6.82 岁。胶囊

内镜胃内排出延迟原因包括:幽门开闭功能紊乱(幽门痉挛,幽门张开时间过短等)10例,幽门炎症水肿6例,糖尿病胃轻瘫4例。共13例检出小肠病变,未见异常7例,阳性检出率65.0%。检出的病变包括小肠溃疡5例,小肠炎4例,血管畸形3例,小肠息肉1例。对照组20例,其中男13例,女7例,年龄20-64岁,平均年龄 39.06 岁 ± 7.68 岁。胶囊内镜胃内排出延迟原因包括:幽门开闭功能紊乱(幽门痉挛,幽门张开时间过短等)9例,幽门炎症水肿6例,糖尿病胃轻瘫5例。共检出小肠病变12例,未见异常8例。阳性检出率60.0%。检出的病变包括小肠溃疡4例,小肠炎4例,血管畸形2例,小肠息肉2例。两组患者年龄、性别、检出病种、胶囊内镜胃内排出延迟原因等方面均无显著性差异($P > 0.05$),具有可比性。

2.2 两组幽门通过成功率和检查成功率比较 观察组20例在十二指肠镜直视下用辅助推送器把胶囊内镜顺利送达并释放到在十二指肠降段,操作过程顺利,从开始进胃镜,取出胶囊内镜,至改用十二指肠镜安装辅助推送器将胶囊内镜送达并释放到在十二指肠降段,总操作时间平均为 10.6 min ± 2.3 min,幽门通过成功率100%,所有患者均完成胶囊内镜小肠检查(100%),小肠运行时间为 223.8 min ± 59.2 min。对照组在胃镜直视下用圈套器辅助推送胶囊内镜,8例成功通过幽门并完成小肠检查,总操作时间平均为 9.3 min ± 4.6 min,幽门通过成功率40%,胶囊内镜小肠检查成功率40%,小肠运行时间为 223.8 min ± 59.2 min; 12例未能通过幽门,操作失败,后改用胃复安10 mg肌注,4例成功通过幽门,其中2例完成小肠检查,2例因电池不足不能完成小肠检查; 4例不能通过幽门,胶囊内镜小肠检查失败。两组比较,观察组幽门通过成功率显著高于对照组($P < 0.01$); 两组总操作时间、小肠运行时间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 不良反应 两组患者均无不良反应。

2.4 两组患者对检查的依从性比较 观察组全部患者对检查过程表示满意(100%),愿意接受再次同样检查。对照组6例对检查过程表示不满意(30%),不愿意接受再次同样检查。两组比较,观察组依从性显著高于对照组($P < 0.01$)。

3 讨论

胶囊内镜是一种方便、无创、无痛苦的检查方法,自本世纪初应用于临床以来,已经成为小肠疾病的一线诊断工具^[4,5]。小肠胶囊内镜检查成功

是指胶囊内镜被顺利吞服进入消化系, 并在工作时间内到达结肠, 对整个小肠进行完整拍摄。但目前的胶囊内镜也有先天不足, 胶囊内镜主要依靠消化系蠕动波向前移行, 其电池工作的有效时间只有8 h, 一旦移行速度太慢, 在胃内滞留时间过长, 就难以完成全小肠的检查, 从而使小肠疾病的检出率下降。而其中最为关键的环节是胶囊内镜能及时通过幽门进入十二指肠。胶囊内镜胃内排出延迟或滞留分为器质性与功能性两种^[6], 前者包括各种器质性病变所致的胃腔变形、幽门梗阻, 后者主要是糖尿病等慢性病导致胃蠕动变慢; 幽门炎症水肿; 幽门功能紊乱(幽门痉挛, 幽门张开时间过短等)导致幽门张开不理想等, 都可导致胶囊内镜通过胃的时间过长或难以通过幽门进入十二指肠而在胃内滞留。

很多研究者^[7-11]试图采用各种方法提高胶囊内镜通过幽门成功率, 但部分患者因幽门张开不理想, 促动力药物, 右侧卧位, 实时监视, 增加活动量等方法均难以解决胶囊内镜通过幽门的问题, 而且促动力药物促使小肠动力加快, 胶囊运行加快, 在小肠停留时间过短, 不利于图像的观察分析^[7,8]。此时借助内镜干预将胶囊内镜送入十二指肠就成为临床上首先考虑的选择^[12-14]。目前多数医院采取的方法是用圈套器套紧胶囊内镜后通过幽门送入十二指肠^[13-15], 其小肠动力不受影响, 胶囊运行正常, 对图像的观察分析没有影响。但我们在临床实践中发现, 常用胃镜干预的方法有明显的缺陷难以达到预期效果。因为套紧胶囊内镜后胃镜先端、圈套器均无法用力, 在幽门张开不完全情况下, 越过幽门的操作难度很大。

前期初步研究时我们用自制橡胶套管把胶囊内镜固定在前视内镜(胃镜)的远端, 但因胶囊内镜遮住了视野而无法操作, 而胶囊内镜的实时监视摄像的每秒帧数太少也不能作为前视直接指引。因此我们设计了一种应用于侧视内镜(十二指肠镜)的胶囊内镜辅助推送器, 把胶囊内镜辅助推送器固定在其远端, 则可按十二指肠镜的常规进镜方法, 既可通过十二指肠镜的侧视镜观察进镜全过程, 还可借助胶囊内镜的实时监视功能协助确认前端方位, 易于操作, 能快速把胶囊内镜送达十二指肠。本研究结果显示, 自制胶囊内镜辅助推送器应用于胶囊内镜胃内滞留患者, 操作过程顺利, 成功率为100%, 未发现不良反应, 患者依从性好。与常规的胃镜干预法对比, 观察组幽门通过成功率、患者依

从性均显著高于对照组($P<0.01$), 两组总操作时间、小肠运行时间比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。且国内外均未见类似报道。

我们自制的胶囊内镜辅助推送器主要适用于: 功能性及部分器质性原因导致胶囊内镜胃内滞留者; 因各种原因预计胶囊内镜胃内排出延迟者; 同时进行胃镜检查者; 吞咽困难、胃轻瘫、已知或怀疑上消化道解剖结构异常者的胶囊输送。胶囊内镜胃内滞留者在用胃镜取出胶囊内镜前, 可先用胃镜进入十二指肠, 相当于用镜身对幽门进行扩张, 以利于幽门的顺利张开; 然后尝试用圈套器套紧胶囊内镜后通过幽门送入十二指肠, 不成功者再取出胶囊内镜, 用十二指肠镜完成胶囊内镜辅助推送器操作。胶囊内镜辅助推送器的推送要求能熟练操作十二指肠镜。

总之, 辅助输送装置的临床应用有助于完成胶囊内镜的检查^[16]。我们研制的胶囊内镜辅助推送器制作方便, 简便实用, 成功率高, 无明显不良反应, 患者依从性好, 基本解决了临床上常见功能性及部分器质性胶囊内镜胃内滞留的难题。自制胶囊内镜辅助推送器与胃镜干预法的不足一样^[9], 主要是不能发挥胶囊内镜无创、无痛苦的优点, 虽然采用清醒镇静可达到无痛目的, 但也增加了费用。且目前病例数尚少, 还要进行更多的临床观察以获取证据, 以便进一步完善并在临床推广。

4 参考文献

- 1 Rondonotti E, Herrerias JM, Pennazio M, Caunedo A, Mascarenhas-Saraiva M, de Franchis R. Complications, limitations, and failures of capsule endoscopy: a review of 733 cases. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 712-716; quiz 752, 754 [PMID: 16246685 DOI: 10.1016/j.gie.2005.05.002]
- 2 刘翌宇, 田德安, 李荣香, 黎培员. 胶囊内镜检查失败原因分析及对策. *华中科技大学学报(医学版)* 2012; 41: 623-624
- 3 康艳, 陈星, 赵丹瑜, 李晋灏. 胃镜下经幽门将胶囊内镜送入小肠的应用研究. *中华消化杂志* 2011; 31: 706-707
- 4 黄文柱, 张亚历, 张振书, 但汉雷. 现代小肠病学. 第1版. 北京: 军事医学科学出版社, 2003: 114-117
- 5 王柏清, 孙光斌, 娄文辉, 南寿山, 张宝芹. 胶囊内镜与双气囊小肠镜诊断不明原因消化系出血的Meta分析. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 4060-4065
- 6 陈孝, 张子其, 张建萍, 张钰. 胶囊内镜检查存在的问题及副作用的初步分析. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 2233-2236
- 7 卫炜, 戈之铮. 干预因素在胶囊内镜检查中的作用评价. *胃肠病学* 2006; 11: 697-699
- 8 何洁, 杨芳, 李小华, 杨伟群, 林锋华. 莫沙比利对胶囊内镜胃肠道通过时间的影响. *中国实用医药* 2011; 17: 162-163
- 9 黄晓曦, 江雪梅, 高峰. 右侧卧位对缩短胶囊内镜检

■应用要点
胶囊内镜辅助推送器制作方便, 简便实用, 成功率高, 无明显不良反应, 患者依从性好, 基本解决了临床上常见功能性及部分器质性胶囊内镜胃内滞留的难题, 有待增加病例数进行更多的临床观察以便改进。

■同行评价

本文对自制胶囊内镜辅助推送器的临床效果进行了初步观察,有一定的新颖性和临床实用价值。

- 查时胃通过时间的作用. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 213-214
- 10 胡浩, 李红灵, 刘杰民, 刘哲. 实时监视下右侧卧位在胶囊内镜检查中的作用研究. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 130-132
- 11 许微微, 范一宏, 姜宁, 吕宾. 两种不同干预方法对胶囊内镜在小肠内运转时间的影响. 浙江中医药大学学报 2007; 31: 776-778
- 12 游思洪, 杨丽华, 王敏, 熊观瀛. 胶囊内镜上消化道滞留的干预时机和方式探讨. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 346-348
- 13 史芸, 钟慧闽. 经胃镜置入胶囊内镜检查胶囊滞留胃内3天1例报告. 中国医师杂志 2006; 10: 1299
- 14 骆泉, 王晓丽, 楼玉英, 马阿火. 经胃镜辅助推送胶囊内镜临床价值探讨. 现代实用医学 2011; 23: 1280-1281
- 15 陈向华. OMOM胶囊内镜检查中出现的问题及护理. 解放军护理杂志 2011; 28: 45-48
- 16 中华医学会消化内镜学分会小肠镜和胶囊镜学组. 中华消化内镜学会胶囊内镜临床应用规范. 中华消化内镜杂志 2008; 25: 337-338

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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。

人巨细胞病毒感染与难治性溃疡性结肠炎相关性的系统评价

赵海明, 赵正兰, 罗玉明, 郭睿, 沈虹

赵海明, 赵正兰, 罗玉明, 郭睿, 沈虹, 四川省医学科学院 四川省人民医院城东病区消化内科 四川省成都市 610101
赵海明, 主治医师, 主要从事溃疡性结肠炎临床治疗及肝脏疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由赵海明设计; 文献搜集由赵海明、赵正兰及郭睿操作完成; 数据分析由赵海明与沈虹完成; 论文写作由赵海明与赵正兰完成; 罗玉明审核。

通讯作者: 罗玉明, 主任医师, 610101, 四川省成都市龙泉驿区洪河北路585号, 四川省医学科学院, 四川省人民医院城东病区消化内科。1587198751@qq.com

电话: 028-88424503

收稿日期: 2014-09-18 修回日期: 2014-11-03

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Relationship between human cytomegalovirus infection and refractory ulcerative colitis: A meta-analysis

Hai-Ming Zhao, Zheng-Lan Zhao, Yu-Ming Luo, Rui Guo, Hong Shen

Hai-Ming Zhao, Zheng-Lan Zhao, Yu-Ming Luo, Rui Guo, Hong Shen, Sichuan Provincial Academy of Medical Sciences & Department of Gastroenterology, East Branch, People's Hospital of Sichuan Province, Chengdu 610101, Sichuan Province, China

Correspondence to: Yu-Ming Luo, Chief Physician, Sichuan Provincial Academy of Medical Sciences & Department of Gastroenterology, East Branch, People's Hospital of Sichuan Province, 585 Honghe North Road, Longquanyi District, Chengdu 610101, Sichuan Province, China. 1587198751@qq.com

Received: 2014-09-18 Revised: 2014-11-03

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

Abstract

AIM: To investigate the relationship between human cytomegalovirus (HCMV) infection and refractory ulcerative colitis (UC), and evaluate the necessity of antiviral therapy in refractory UC patients with HCMV infection.

METHODS: We searched Medline, PubMed, CNKI and Wanfang databases till 2013 to retrieve relevant studies. Meta-analyses were performed for the included case-control studies using RevMan4.2 software after strict screening to estimate odds ratio (OR) and 95% confidence

interval (CI) for the association between HCMV infection and refractory UC. We also performed heterogeneity test, sensitivity analysis and publication bias assessment.

RESULTS: Eighteen eligible studies, including 15 carried out by foreigners and 3 by Chinese researchers, were included in the meta-analysis, involving 831 patients with UC. Seven included studies were analyzed at both blood and intestinal tissue levels. Six studies on HCMV infection and refractory UC were also collected for analysis at intestinal tissue level. The results of meta-analysis showed that there was a significant difference in the HCMV infection rate between patients with refractory UC and health controls (OR = 10.62, 95%CI: 4.79-23.54, $P < 0.00001$). At the blood level, three studies on HCMV infection and refractory UC were collected. It was showed that there was a significant difference in the HCMV infection rate between patients with refractory UC and health controls (OR = 3.22, 95%CI: 1.48-7.00, $P = 0.003$). Six studies on patients with active UC who were infected with HCMV and non-responsive to steroids were collected. The results of meta-analysis showed that the incidence of hormone resistance in patients with refractory UC was positively correlated with the HCMV infection rate (OR = 8.88, 95%CI: 4.43-17.17, $P < 0.00001$). Three studies on whether antiviral therapy could increase platelet count in patients with refractory UC were collected. It was showed that the group treated by antiviral therapy was superior to others in the response rate (OR = 7.53, 95%CI: 1.59-35.72, $P = 0.01$). Funnel plot analysis indicated the existence of publication bias.

CONCLUSION: Patients with refractory UC undergoing steroid treatment are susceptible to HCMV infection. In the presence of HCMV, UC becomes more complex. Patients with active UC who are infected with HCMV are usually non-responders to steroids. The prompt application of antiviral therapy can significantly improve the condition of patients with refractory UC.

■背景资料

近年来, 国内外炎症性肠病的发病率逐渐增高, 临床上将激素(steroid)治疗无效和激素依赖的UC统称为难治性UC。人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)属于疱疹病毒家族中的一员, 能够引起全胃肠道严重的临床疾病, 临床上严重的胃肠道HCMV疾病通常发生在免疫受损的患者中, 在免疫正常人群中感染几乎很少报道。目前许多学者认为感染HCMV的UC患者易发生激素治疗无效, 难治性UC与HCMV感染关系密切。

■同行评议者

杜群, 研究员, 广州中医药大学脾胃研究所药理室

■ 研发前沿

近年来,国内外UC的发病率逐年增高,随着发病率的增高,难治性UC的患者随之增加。目前如何处理难治性UC成为临床医师面临的一大难题。研究表明HCMV与难治性UC有一定相关性,但具体机制还不十分清楚,可能与HCMV的感染再激活产生多种细胞因子有关,有待于进一步深入研究。

High quality, multi-center, prospective randomized controlled studies are needed to confirm our findings.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Human cytomegalovirus; Ulcerative colitis; Inflammatory bowel disease; Refractory; Meta-analysis

Zhao HM, Zhao ZL, Luo YM, Guo R, Shen H. Relationship between human cytomegalovirus infection and refractory ulcerative colitis: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5721-5731 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5721.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5721>

摘要

目的: 应用Meta分析评价人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)感染与难治性溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的相关性,探讨难治性UC患者合并HCMV感染后抗HCMV治疗的必要性。

方法: 计算机检索中国知网(China National Knowledge Internet, CNKI)、PubMed、Medline、万方等电子数据库,检索时限为1990-01/2013-12。搜集HCMV感染与难治性UC相关性研究文献,逐篇评价纳入文献的质量,采用RevMan4.2版软件进行Meta分析;利用漏斗图对发表偏倚进行分析。

结果: 共纳入18篇文献(外文15篇,中文3篇),涉及831例患者。对其中纳入的7篇文献分别从结肠组织和血液分子水平两方面进行分析。对纳入的有关HCMV感染与UC的相关性6篇文献在结肠组织水平方面进行分析,结果提示:UC组与对照组的HCMV感染率差异有统计学意义($OR = 10.62, 95\%CI: 4.79-23.54, P < 0.00001$);对纳入的有关HCMV感染与UC的相关性3篇文献在血液分子水平方面进行分析,结果提示:UC组与对照组的HCMV感染率差异有统计学意义, ($OR = 3.22, 95\%CI: 1.48-7.00, P = 0.003$);对纳入的有关HCMV感染与UC出现激素耐药的相关性6篇文献进行分析,结果提示: HCMV感染与UC患者发生激素难治呈正相关,有统计学意义($OR = 8.88, 95\%CI: 4.43-17.17, P < 0.00001$);对纳入有对照试验的3篇有关抗HCMV治疗与UC有效性文献进行分析,结果提示,抗HCMV治疗HCMV阳性的难治性UC组与对照组比较,差异有统计学意义($OR = 7.53, 95\%CI: 1.59-35.72, P =$

0.01)。15篇文献评价了抗HCMV治疗对CMV阳性激素难治性UC患者的有效性,结果显示总体缓解率可达74%。漏斗图提示所有文献均存在发表性偏倚。

结论: 难治性UC与HCMV感染(无论在血液分子水平还是结肠组织病理标本)呈正相关, HCMV可以使难治性UC的病情变复杂,出现激素抵抗。进行抗病毒治疗可以提高HCMV阳性激素难治性UC患者的总体缓解率,但尚需更多高质量、大样本、前瞻性、多中心的研究结果来支持上述结论。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 人巨细胞病毒; 溃疡性结肠炎; 炎症性肠病; 难治性; Meta分析

核心提示: 本文系统评价了多个小样本临床对照试验,结果表明难治性溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者中感染人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)阳性率高, HCMV可以使难治性UC的病程变得更加复杂,甚至出现激素抵抗;进行抗病毒治疗可以提高HCMV阳性激素难治性UC患者的总体缓解率。

赵海明, 赵正兰, 罗玉明, 郭睿, 沈虹. 人巨细胞病毒感染与难治性溃疡性结肠炎相关性的系统评价. *世界华人消化杂志* 2014; 22(36): 5721-5731 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5721.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5721>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组病因尚不清楚的慢性非特异性肠道炎症性疾病,主要包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)两大类疾病^[1,2]。近十年来,该病在我国的发病率逐年上升^[3],严重危害我国人民身体健康。其中UC是指发生于结肠的一种慢性、弥漫性、连续性和局限于黏膜层的非特异性炎症性肠病。临床上将激素(steroid)治疗无效和激素依赖的UC统称为难治性UC^[4]。随着医学技术不断的进步,关于UC研究的不断深入,目前国内外多项研究证实感染人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)的UC患者易发生激素治疗无效,难治性UC与HCMV感染关系密切^[5,6]。尽管国内外有不少研究支持难治性UC合并HCMV感染需要抗病毒治疗,但证据多建立在小样本病例研究的

基础上, 不足以为临床提供很好的治疗建议; 另外还有少量研究^[7]并不支持UC合并HCMV感染时需要抗病毒治疗. 为客观评价HCMV与难治性UC相关性, 探讨难治性UC患者合并HCMV感染后抗病毒治疗的必要性, 本文通过全面检索相关文献, 对符合标准的临床研究进行了系统评价, 为临床制定合理的治疗决策提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 通过互联网计算机检索PubMed、EMBASE、Medline、中国知网(China National Knowledge Internet, CNKI)、万方数据库、维普数据库、中国生物医学文献光盘数据库和中国重要会议论文全文数据库等数据库, 收集CMV与难治性UC相关性的回顾性病例-对照研究, 中文检索词为“溃疡性结肠炎”、“炎症性肠病”、“巨细胞病毒”, 英文检索词为“Ulcerative colitis”、“Inflammatory bowel disease”、“Cytomegalovirus”. 检索时限设定为1990-01/2013-12.

1.2 方法

1.2.1 纳入及排除标准: 纳入标准: (1)以英文和中文发表的涉及HCMV与难治性UC相关性的回顾性/前瞻性病例研究文献; (2)研究对象, 我国文献UC患者诊断符合2007年或2012年中华医学会炎症性肠病诊断治疗规范^[2,8]; 英文文献UC患者诊断符合临床、电子结肠镜和影像学标准; (3)UC的严重程度采用Truelove标准; (4)确诊HCMV感染检测方法: 结肠镜下活检组织HE染色找巨细胞包涵体或免疫组织化学, 血CMV-PCR检测^[9]; (5)病例组与对照组的人口学特征(年龄及性别上匹配)相似.

1.2.2 排除标准: (1)排除综述; (2)排除失访率超过20%的文献; (3)排除重复发表的文献; (4)排除不能提供HCMV与难治性UC相关性所需有效数据的临床试验; (5)排除研究方法设计不符合病例对照的试验.

1.2.3 文献筛选与评价: 两位研究者分别独立按照流行病学Meta分析指南对文献进行筛选及质量评价, 对质量较差、重复报告、报道信息过少等无法使用的文献给予剔除, 如遇分歧, 通过讨论解决或咨询第三方. 文献质量评价采用Cochrane协作网推荐的“偏倚风险评价工具”对纳入的研究进行方法学质量评价. 数据提取包括: 主要作者、题目、发表时间、杂志名称、研究

方法、对照组的选择、HCMV检测方法、UC诊断方法、病例组及对照组病例数、总病例数、HCMV感染病例数、失访数、平均年龄、是否使用过抗病毒药物、是否使用类固醇类激素.

统计学处理 采用Cochrane协作网提供的Revman4.2软件进行Meta分析: 所有评价指标均计算(95%CI). 计算HCMV与UC相关性的比值比(odds ratio, OR)值及95%可信区间(95%CI). 为判断联合各试验进行分析的合理性, 对效应量进行异质性检验(Q检验), 检验水准 $\alpha = 0.05$. 如果存在异质性, 用随机效应模型(random effect model, REM)计算总结结果的OR值, 如果同质性好, 采用固定效应模型(fixed effect model, FEM)进行合并分析. 应用漏斗图分析发表性偏倚.

2 结果

2.1 文献筛查结果 初检出有关HCMV与难治性UC相关性的文献580篇(中文138篇, 英文442篇), 通过阅读题录和摘要, 进行第一次筛选, 共纳入22篇文献, 其中有2篇文献重复报道; 1篇文献不能得到全文; 1篇文献质量较低; 经过第二次筛选, 最终纳入18个研究, 英文文献15篇, 中文文献3篇, 共涉及831例患者. 纳入的文献分别来自中国(3篇)、希腊(1篇)、芬兰(1篇)、美国(4篇)、意大利(2篇)、法国(2篇)、韩国(1篇)、日本(3篇)、西班牙(1篇).

2.2 纳入原始研究的基本特征 所有试验均为非随机对照病例研究. 前瞻性研究7篇, 回顾性研究11篇. 13篇英文文献对纳入病例的基线有比较详细描述, 3篇中文及2篇英文文献描述不够详细. 1篇研究描述了失访情况, 其余17篇研究无失访, 其中失访1例, 失访率为0.12%. 15篇文献均在结肠组织标本应用免疫组织化学及血PCR分析了CMV感染情况, 其中只有在血标本中检测了HCMV-PCR文献3篇(表1).

2.3 Meta分析结果 将纳入研究的文献给予分组分析, 选择分析有关HCMV检测阳性率和难治性UC发生率的文献7篇, 纳入文献的研究结果如表2.

2.3.1 在结肠标本中检出HCMV感染与难治性UC的相关性分析: 共纳入7篇有关肠道标本中检测出HCMV感染与难治性UC相关性的文献, 免疫组织化学检测HCMV阳性161例, 阳性率44.1%, 异质性检验提示各研究间无异质性($P = 0.43$, $I^2 = 0\%$), 采用FEM分析, Meta分析结果显示, $OR = 8.94$, $95\%CI: 5.43-14.71$, $P < 0.00001$, 森林

■ 相关报道

研究显示, 从HCMV阴性、HCMV轻微感染到HCMV重度感染, UC患者的病情逐渐加重. 与HCMV阴性UC患者相比, HCMV阳性患者手术指征更强, 手术时机更为迫切, 术后并发症更常见, 术后住院时间延长, 而适当的抗病毒治疗可降低对UC相关结肠切除术的需求和死亡率, 并可缩短术后住院时间.

■ 创新盘点

本文严格评价难治性UC与HCMV感染相关性及抗病毒治疗能改善激素的敏感性. 纳入研究证据可靠, 结果的真实性和可靠性好. 本研究为难治性UC需要抗病毒治疗提供一定证据, 具有一定创新性.

表 1 纳入原始研究的基本特征

文献	国家	样本数 (n)	平均年龄 (岁)	性别 (男/女)	失访数	研究方法	CMV 检测方法	诊断方法	文献质量评价 ¹
Roblin等 ^[11] 2011	法国	42	43.6	20/22	0	前瞻性研究	免疫组织化学	临床, 内镜,	B
李甜甜等 ^[10] 2010	中国	76	男38.5 ± 11.0 女40.0 ± 10.5	38/38	0	回顾性病例 对照研究	免疫组织化学	临床, 内镜, 影像学, 组 织学	B
赵可等 ^[11] 2011	中国	52	41 ± 10	32/20	0	回顾性病例 对照研究	免疫组织化学 血PCR-CMV 基因	临床, 内镜, 放射学, 组 织学	B
柯贤胜 ^[12] 2013	中国	75	54.6 ± 5.4	39/36	0	回顾性研究	血HCMV-PCR 肠段活检 HCMV-DNA	未描述	C
Cottone等 ^[13] 2001	意大利	55	37.1	-	1	前瞻性病例 对照研究	结肠组织标本 PCR	内镜	B
Kambham等 ^[14] 2004	美国	80	-	-	0	回顾性病例 对照研究	标本免疫组织 化学, HE 染色	内镜	B
Dimitroulia等 ^[15] 2006	希腊	43	47.4 ± 19.4	36/22	0	前瞻性研究	免疫组织化学 血PCR	内镜	B
Sipponen等 ^[16] 2011	芬兰	47	-	26/21	0	回顾性病例 对照研究	免疫组织化学	内镜	B
Domènech等 ^[17] 2008	美国	114	48.0	-	0	前瞻性观察 性研究	免疫组织化学	临床, 内镜,	C
Wada等 ^[18] 2003	日本	47	-	-	0	前瞻性观察 性研究	免疫组织化学	临床, 内镜, 放射学	C
Kim等 ^[19] 2012	韩国	72	-	-	0	前瞻性研究	免疫组织化学	临床, 内镜,	B
Yoshino等 ^[20] 2007	日本	30	41.0 ± 18.0	14/16	0	回顾性病例 对照研究	结肠组织行实 时定量PCR	临床, 内镜,	B
Minami等 ^[21] 2007	日本	23	-	14/9	0	回顾性	免疫组织化学	临床, 内镜, 放射学	C
Vega等 ^[22] 1999	西班牙	9	-	-	0	回顾性病例	免疫组织化学	临床, 内镜,	B
Papadakis等 ^[23] 2001	美国	5	-	-	0	回顾性研究	免疫组织化学	临床, 内镜,	B
Criscuoli等 ^[24] 2004	意大利	38	-	-	0	回顾性病例 对照	免疫组织化学 血PCR	临床, 内镜,	C
Piton等 ^[25] 2008	法国	2	18.5	1/1	0	回顾性研究	PCR	临床, 内镜, 放射学	B
Herfarth等 ^[26] 2010	美国	21	-	-	0	前瞻性研究	PCR	临床, 内镜, 放射学	B

¹文献质量分A、B、C 3个等级. A级为所有质量评价标准均完全满足Cochrane系统评价员手册(5.0版)提供评价标准, 偏倚可能性最小; B级为任何一条或多条质量评价标准部分满足, 偏倚可能性为中度; C级为任何一条或多条质量评价标准完全不满足, 偏倚可能性为高度. HCMV: 人巨细胞病毒; UC: 溃疡性结肠炎.

图中显示OR合并的95%CI横线在无效的右侧, 提示难治性UC和对照组比较差异有统计学意义(图1A), HCMV感染与难治性UC的发生呈正相关. 在REM下绘制漏斗图, 漏斗图显示均显示不对称, 提示纳入的文献存在发表性偏倚(图1B).

2.3.2 在血液分子水平的HCMV感染与难治性UC的相关性分析: 共纳入3篇有关在血液分子水平检测出的HCMV感染与难治性UC相关性的文献, 在血液标本中, 分子水平(PCR)的HCMV阳性86例, 阳性率81.1%, 异质性检验提示各研究

间无异质性($P = 0.95, I^2 = 0\%$), 采用FEM分析得出, $OR = 3.52, 95\%CI: 2.11-5.87, P < 0.00001$, 森林图中显示OR合并的95%CI横线在无效的右侧, 提示难治性UC和对照组比较差异有统计学意义(图2A), HCMV感染与UC的发生呈正相关. 在REM下绘制漏斗图, 漏斗图均显示不对称, 且纳入的文献少, 提示纳入的文献存在发表性偏倚(图2B).

2.3.3 HCMV感染与UC发生激素耐药的相关性分析: 共纳入6篇有关HCMV感染与UC发生激

表 2 纳入文献的研究结果 $n/n(\%)$

文献	UC样本数 (n)	激素难治发生率		HCMV 检测阳性率			
		HCMV阳性	HCMV阴性	观察组		对照组	
				血液标本中 HCMV阳性率	结肠组织中 HCMV阳性率	血液标本中 HCMV阳性率	结肠组织中 HCMV阳性率
李甜甜等 ^[10] 2010	76	9/11(81.8)	21/65(32.3)	0	11/76(14.47)	0	2/46(4.35)
赵可等 ^[11] 2011	52	7/12(58.3)	4/19(21.1)	16/52(30.8)	18/52(34.6)	5/40(12.5)	1/40(2.5)
柯贤胜 ^[12] 2013	75	29/52(55.8)	3/23(13.0)	52/75(69.3)	59/75(78.7)	28/75(37.3)	19/75(25.3)
Cottone等 ^[13] 2001	55	5/5(100.0)	11/49(22.4)	0	5/17(29.4)	0	5/38(13.2)
Kambham等 ^[14] 2004	80	10/11(90.9)	30/69(43.5)	0	10/40(25)	0	1/40(2.5)
Dimitroulia等 ^[15] 2006	43	7/9(77.8)	13/34(38.2)	18/58(31.0)	20/58(34.5)	5/42(11.9)	1/42(2.4)
Sipponen等 ^[16] 2011	47	-	-	0	38/47(81)	0	6/15(40)

HCMV: 人巨细胞病毒; UC: 溃疡性结肠炎.

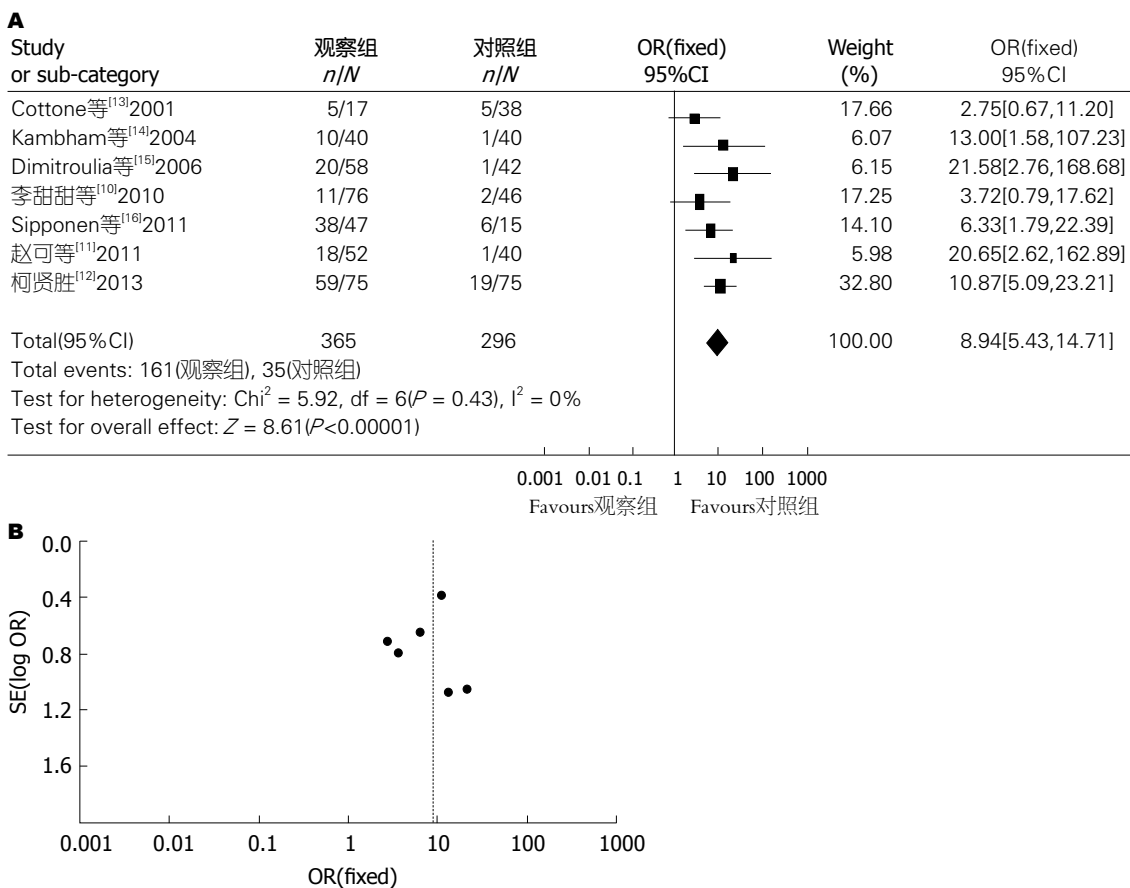


图 1 在结肠标本中检出HCMV感染与难治性UC的相关性. A: 森林图; B: 漏斗图. HCMV: 人巨细胞病毒; UC: 溃疡性结肠炎.

素难治的相关性文献, 异质性检验提示各研究间无异质性($P = 0.89$, $I^2 = 0\%$), 采用FEM分析得出, $\text{OR} = 8.88$, $95\% \text{CI}: 4.43-17.17$, $P < 0.00001$, 森林图中显示OR合并的95%CI横线在无效的右侧, 提示难治性UC和对照组比较差异有统计学意义(图3A), HCMV感染与UC发生激素难治的发生呈正相关. 在REM下绘制漏斗图, 漏斗图均显

示不对称, 提示纳入的文献存在发表性偏倚(图3B).

2.3.4 抗HCMV治疗与难治性UC的有效性系统分析: 经过检索有关抗HCMV治疗HCMV阳性的难治性UC的相关文献, 共纳入15篇文献研究, 基本特征如表3. 其中检索到有病例对照研究的文献3篇, 对这3篇文献进行异质性检验提示各

应用要点

本文进一步证实了难治性UC与HCMV的相关性, 难治性UC患者应常规评估是否存在HCMV感染, 以避免延误病情, 合并有HCMV感染的难治性UC患者抗病毒治疗的必要性. 本文为难治性UC的合理诊治提供参考.

■名词解释

实时荧光定量PCR法: 指在PCR反应体系中加入荧光基团, 利用荧光信号积累实时监测整个PCR进程, 最后通过标准曲线对未知模板进行定量分析的方法。

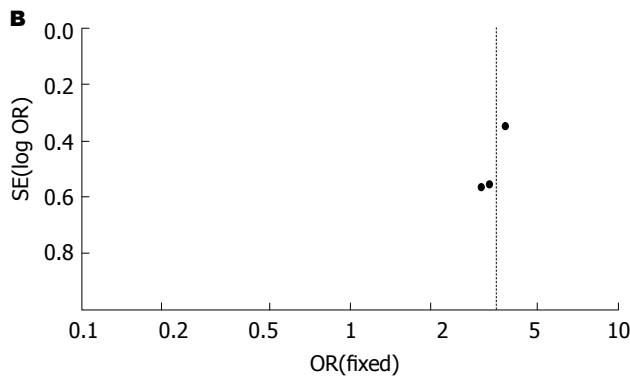
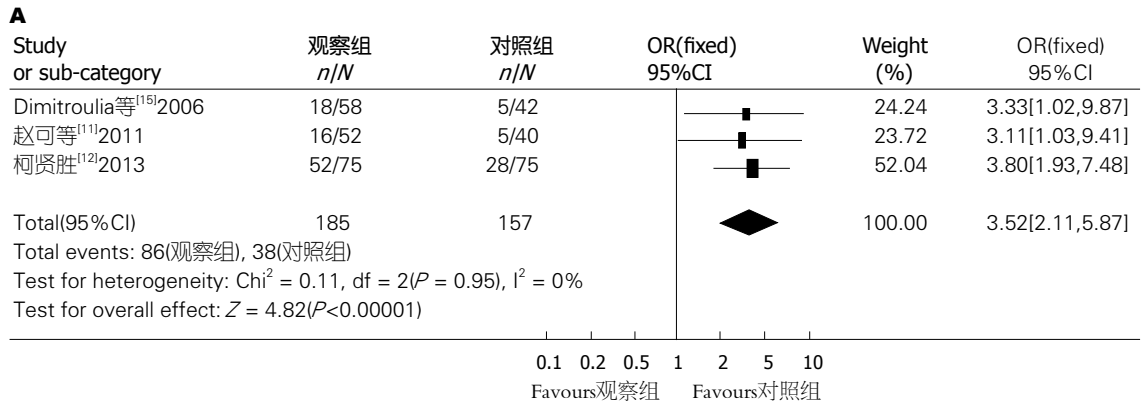


图 2 在血液标本中分子水平检出HCMV感染与UC的相关性. A: 森林图; B: 漏斗图. HCMV: 人巨细胞病毒; UC: 溃疡性结肠炎.

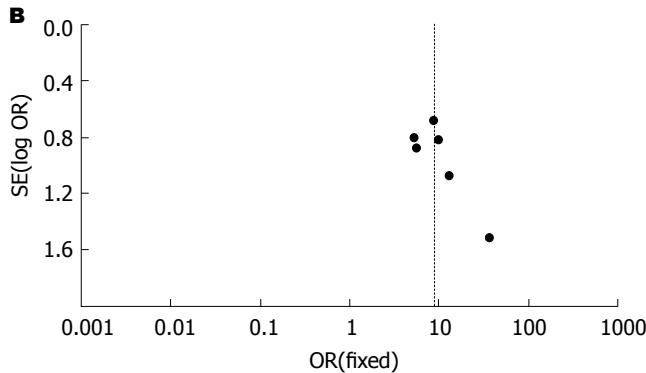
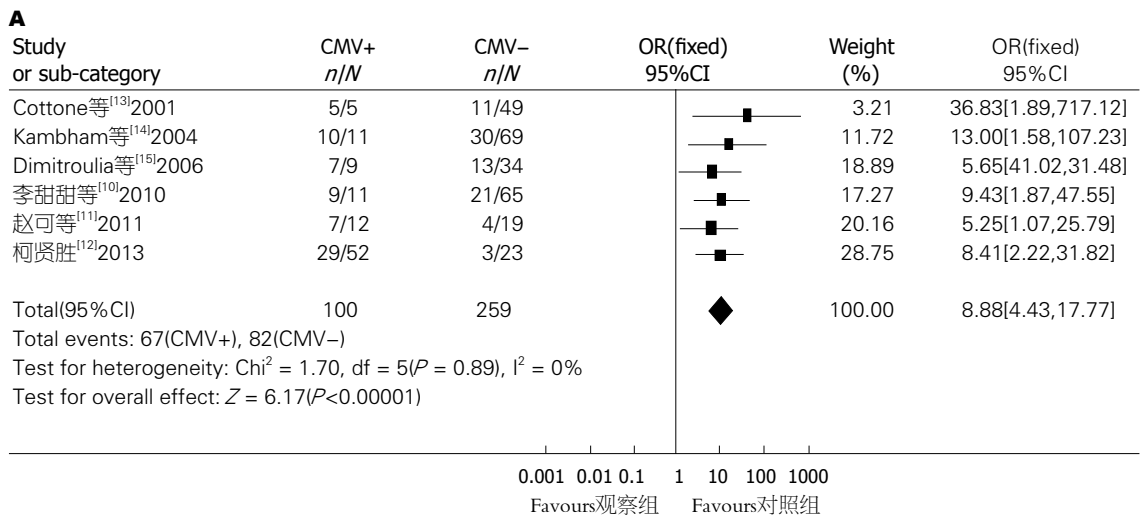
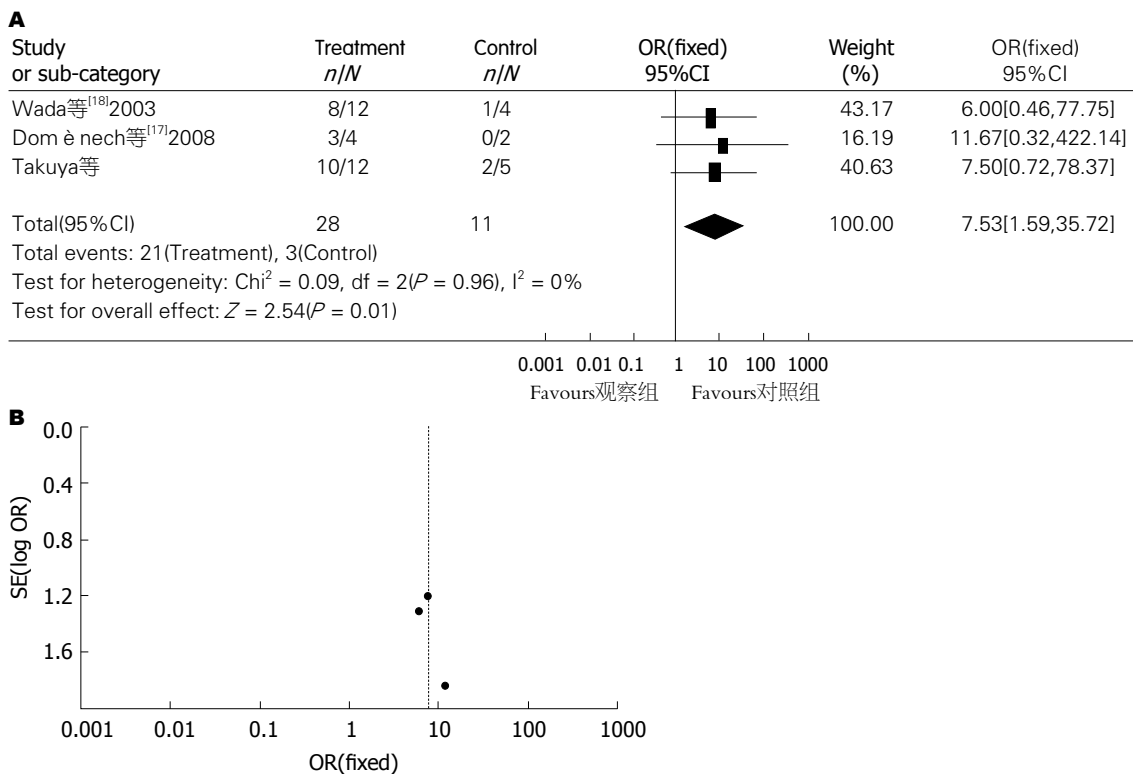


图 3 HCMV感染与UC发生激素难治的相关性. A: 森林图; B: 漏斗图. HCMV: 人巨细胞病毒; UC: 溃疡性结肠炎.



同行评价

本研究应用Meta分析评价HCMV感染与难治性UC的相关性,并探讨了难治性UC患者合并HCMV感染后抗HCMV治疗的必要性.方法选择适合,结论恰当.具有一定的学术价值.

图4 抗HCMV治疗与难治性UC有效性. A: 森林图; B: 漏斗图. HCMV: 人巨细胞病毒; UC: 溃疡性结肠炎.

研究间无异质性($P = 0.96$, $I^2 = 0\%$), 采用FEM分析得出, $\text{OR} = 7.53$, $95\% \text{CI}: 1.59-35.72$, $P = 0.01$, 森林图中显示OR合并的95%CI横线在无效的右侧, 提示抗HCMV治疗HCMV阳性的难治性UC组与对照组比较差异有统计学意义(图4A), 抗HCMV治疗可提高HCMV阳性的难治性UC组的有效率. 在REM下绘制漏斗图, 漏斗图均显示不对称, 提示纳入的文献存在发表性偏倚(图4B).

对所采集到的15文献数据根据统计学基本原理归纳分析, 抗HCMV治疗对HCMV阳性的难治性UC的总体缓解率可达74.4%(67/90), 使用更昔洛韦抗HCMV治疗的研究共12项, 使用膦甲酸钠2项, 使用伐昔洛韦1项, 使用缬更昔洛韦1项, 1项研究未具体说明药物名称. 所有文献记录抗HCMV治疗药物均无明显毒性作用及严重不良反应记录.

3 讨论

HCMV是人类疱疹病毒 β 亚科中病毒体结构最大的成员, 发生在40%-100%的普通成人中, 发达国家成人血清HCMV阳性超过70%^[26], 中国成人感染率亦达95%以上. HCMV具有线性双链DNA, 全长约240 kb, 其外包被衣壳蛋白、壳皮蛋白和囊膜蛋白, 这些蛋白有助于HCMV逃避

宿主的免疫反应, 并可调节宿主基因转录和翻译^[6,27]. HCMV病毒通过血液循环到达靶器官, 通过内吞作用进入内皮细胞, 使感染细胞肿胀并在内皮细胞核内形成巨大的包涵体^[28]. HCMV的传播途径: 主要为接触传播(如密切接触唾液、血液、尿液、精液等体液, 以及移植的器官和组织)^[29]. HCMV是机会致病性病毒, 大多数情况下, HCMV感染人体后表现为隐性或潜伏感染, 大多数感染者无临床症状, 然而在免疫低下患者中, 如人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染者、实体器官移植者或因为患有自身免疫性疾病(如UC)^[30]而接受免疫抑制治疗者, HCMV可以逃避宿主免疫监视而重新激活, 发展为肠炎、心肌炎、脑炎及其他特定器官疾病, 甚至会引起严重终末器官疾病, 从而导致HCMV感染者死亡.

UC是一种以结肠黏膜弥漫性病变为特征的慢性非特异性肠道炎症性疾病^[8], 目前大多数UC患者经过5-氨基水杨酸制剂和激素的治疗, 能使患者症状缓解, 但仍有约30%的住院患者对激素治疗无应答, 属于激素难治性UC, 需通过免疫调节剂和/或英夫利昔单抗等生物制剂来缓解症状, 甚至需要手术治疗切除结肠^[31].

目前HCMV在UC病情发展变化中的确切作

表 3 纳入文献的研究结果

文献	国家	总样本数(n)	抗CMV治疗药物	抗CMV治疗药物有效率n1/n(%)	
				观察组	对照组
Roblin等 ^[11] 2011	法国	42	更昔洛韦	7/8(87.5)	-
赵可等 ^[11] 2011	中国	52	不详	6/6(100)	无
Cottone等 ^[13] 2001	意大利	55	更昔洛韦、膦甲酸钠	5/7(71.4)	-
Kambham等 ^[14] 2004	美国	80	更昔洛韦和伐昔洛韦	3/3(100)	-
Dom è nech等 ^[17] 2008	美国	114	更昔洛韦	3/4(75)	0/2
Wada等 ^[18] 2003	日本	47	更昔洛韦	8/12(66.7)	1/4
Kim等 ^[19] 2012	韩国	72	更昔洛韦	11/14(78.6)	-
Yoshino等 ^[20] 2007	日本	30	更昔洛韦	10/12(83.3)	2/5(40)
Minami等 ^[21] 2007	日本	23	更昔洛韦	3/3(100)	-
Vega等 ^[22] 1999	西班牙	9	更昔洛韦	5/6(83.3)	-
Papadakis等 ^[23] 2001	美国	5	更昔洛韦	5/5(100)	-
Criscuoli等 ^[24] 2004	意大利	38	更昔洛韦和膦甲酸	2/3(66.7)	-
Piton等 ^[25] 2008	法国	2	更昔洛韦	2/2(100)	-
Herfarth等 ^[26] 2010	美国	21	缬更昔洛韦	3/5(60)部分缓解	-

CMV: 巨细胞病毒。

用尚不十分明确。由于UC自身的这类炎症反应特征,患者常需要使用免疫抑制剂治疗,加上自身营养状况差,以及HCMV对炎性组织的侵袭性,使得UC患者与HCMV感染有很高的相关性,尤其在病情加重或激素难治性患者中更为明显。Mariani等^[32]研究表明,环氧酶-2(cyclooxygenase2, COX-2)与UC的发病密切相关。COX-2的表达与病情严重程度亦呈正相关, HCMV感染会导致COX-2表达量增加,而生成多种前列腺素类物质,导致严重的炎症反应,加重感染状态和疾病恶化程度。亦有越来越多的研究^[33,34]表明,在炎症环境中多种细胞因子如IFN- γ 和TNF- α 能激活潜伏的HCMV,从而使UC恶化。近年来,有多项研究证据表明,UC患者中HCMV感染率为10%左右,难治性UC患者中HCMV阳性检出率可达25%,激素治疗有效的UC患者中HCMV阳性检出率仅有2.5%,感染HCMV的UC患者易发生激素治疗无效, HCMV与激素难治性UC密切相关的观点已被越来越多的医生所接受^[6]。Hamlin等^[35]研究表明: HCMV感染参与了UC的发生发展过程,甚至能导致部分UC患者发展为中毒性巨结肠,在这些患者中, HCMV检出的延迟可能是最终导致结肠切除系重要原因。Wada等^[18]报道, HCMV阳性UC患者中的重症者比例显著高于HCMV阴性患者($P = 0.016$)。Suzuki等^[36]回顾性调查发现: 大约70% HCMV阳性的IBD(UC占%)患者出现临床症状的急性加重期,需要紧急

手术治疗;在5%-21%行结肠切除术的UC患者的手术标本中能检出HCMV, HCMV感染可能是需要手术治疗的一个危险因素。Kishore等^[37]亦发现: UC患者合并HCMV感染,需接受手术治疗和死亡结局将更为常见。这些研究均表明与HCMV阴性UC患者相比, HCMV阳性UC患者手术指征更强,手术治疗时机更为紧急。通过本系统评价亦显示: 在血液分子水平与结肠标本病理水平进行Mata分析,结果显示难治性UC患者HCMV感染率无论在血液分子水平还是结肠组织病理标本中均高于对照组,大多数合并有HCMV感染的难治性UC患者对激素治疗无应答, HCMV阳性UC患者的激素耐药发生率远高于HCMV阴性者UC。

近年来,多项回顾性和前瞻性病例研究报告,对于重度或激素难治性UC患者,抗HCMV治疗可诱导缓解,避免肠段切除。因此,对于重度或激素难治性UC患者,尽早确诊HCMV感染非常重要,但由于受条件限制,广大医师易于忽略在重度或激素难治性UC患者中对HCMV感染的筛查。目前,确诊HCMV感染有赖于多种实验室检测技术,具体方法包括:血清HCMV特异性抗体;血清HCMV pp65检测;组织病理学HE染色查核内包涵体;组织病理学单克隆抗体检测HCMV早期抗原的免疫组织化学法;血浆HCMV DNA检测技术;肠黏膜组织PCR检测HCMV DNA;实时荧光定量PCR法检测

HCMV^[38]. 目前普遍认为诊断HCMV感染的金标准是组织病理学免疫组织化学法单克隆抗体检测HCMV. 对于重度或难治性UC患者, 在进一步药物拯救治疗或手术治疗前, 建议常规免疫组织化学检测HCMV^[15], 以确定是否存在HCMV感染, 这有助于为临床医生制定合理的治疗方案. 实时荧光定量PCR法能快速、早期、精确诊断HCMV感染, 其意义在于可区分潜伏性感染与活动性感染, 有利于指导临床医生及时调整治疗方案^[39]. 但对于如何选择最佳的样本类型(全血、血浆、白细胞)仍存在很大的争议, 目前还未普遍应用于临床. 实时荧光定量PCR法检测HCMV是检测HCMV感染的发展方向之一. 总之, 难治性UC与HCMV感染有关, 但是否进行抗病毒治疗, 能否改善激素的敏感性, 目前尚未达成共识. 一些回顾性和前瞻性研究报告显示: 对于合并HCMV感染的激素难治性UC患者, 抗HCMV治疗后可使患者的病情得以明显缓解. Hommes等^[40]的一项系统回顾研究显示: 在急性重度结肠炎中, HCMV的感染率为21%-34%, 经静脉更昔洛韦抗病毒治疗后, 缓解率达67%-100%, 并可避免肠段切除; Criscuoli等^[7]研究指出: 隐蔽的HCMV感染与激素难治性UC高死亡率相关, 积极抗HCMV治疗后, 死亡率能可由71%降到14.5%-17.6%, 延缓抗HCMV治疗的代价是肠切除术甚至是死亡. 然而, 并非所有研究均会显示出一致的结果. Lévêque等^[41]的一项回顾性研究显示, GCS依赖和需手术治疗与结肠组织检出HCMV无统计学相关性. Criscuoli等^[7]研究显示: 在活动性UC中, 83%的HCMV感染患者接受了免疫抑制治疗而未抗HCMV治疗, 病情不但没有恶化, 反而好转. 本系统评价显示: 抗HCMV治疗HCMV阳性的难治性UC组的有效率高于对照组, 抗病毒治疗对HCMV阳性激素难治性UC患者的总体缓解率可达74%. 但是文献显示支持抗HCMV治疗的证据多是建在小样本病例研究的基础上, 并非随机对照研究, 所以对纳入的文献进行Meta分析结果欠可靠, 不足以为临床提供很好的合理治疗建议. 总之, 抗HCMV治疗对于合并HCMV感染的中重度UC患者的有效性仍需要大样本的前瞻性临床随机对照试验来论证.

本研究在设计阶段, 拟从患者年龄、UC病理类型、对照组的选择, UC的诊断方法, 抗HCMV治疗方案等几个方面进行亚组分析, 但

由于筛选到的文献数量较少, 不能获取足够的原始数据来进行Meta分析. 最后, 我们将纳入文献按血液分子水平、结肠标本病理水平和HCMV感染、UC发生激素难治与抗HCMV治疗四亚组分析. 同时, 本系统评价也存在一定的局限性: (1)纳入的研究文献数量较少, 并且是病例对照研究, 对病因学的论证强度不高, 因此结论的强度受到一定的影响, 在指导临床方面有待进一步研究; (2)各研究间校正的混杂因素不一, 如难治性UC诊断标准、生活环境等因素, 且目前无统一的衡量标准; (3)漏斗图提示HCMV感染与UC的相关性研究存在发表偏倚.

总之, 难治性UC患者中感染HCMV阳性率高, HCMV可以使难治性UC的病程变复杂, 出现激素抵抗. 激素难治性UC患者应常规评估是否存在HCMV感染, 以避免延误病情. 进行抗病毒治疗可以提高HCMV阳性激素难治性UC患者的总体缓解率. 上述结论尚需大样本、前瞻性、双盲、多中心的基础和临床研究成果来支持.

4 参考文献

- 1 Roblin X, Pillet S, Oussalah A, Berthelot P, Del Tedesco E, Phelip JM, Chambonnière ML, Garraud O, Peyrin-Biroulet L, Pozzetto B. Cytomegalovirus load in inflamed intestinal tissue is predictive of resistance to immunosuppressive therapy in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 2001-2008 [PMID: 21788989]
- 2 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年·广州). *胃肠病学* 2012; 17: 763-781
- 3 王墨飞, 李春雨, 许广大, 邹素云, 张德巍. 双吻合器法回肠储袋肛管吻合治疗溃疡性结肠炎11例报道. *中国普外基础与临床杂志* 2012; 19: 435-436
- 4 李世荣. 难治性溃疡性结肠炎的生物靶向治疗. *中华医学杂志* 2008; 88: 3099-3101
- 5 郭丽丽, 许红梅. 人巨细胞病毒感染的流行病学研究进展. *国际检验医学杂志* 2010; 31: 1131-1133
- 6 薛猛, 似健敏. 巨细胞病毒: 激素难治性溃疡性结肠炎的一个可能病因. *胃肠病学* 2013; 18: 580-585
- 7 Criscuoli V, Rizzuto MR, Montalbano L, Gallo E, Cottone M. Natural history of cytomegalovirus infection in a series of patients diagnosed with moderate-severe ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 633-638 [PMID: 21350712 DOI: 10.3748/wjg.v17.i5.633]
- 8 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见(2007年, 济南). *中华消化杂志* 2007; 27: 545-550
- 9 Kandiel A, Lashner B. Cytomegalovirus colitis complicating inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2857-2865 [PMID: 17026558 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00869.x]
- 10 李甜甜, 吕宗舜, 王邦茂, 张洁. 难治性溃疡性结肠炎与巨细胞病毒的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1174-1177
- 11 赵可, 李弼民, 邸雅南, 谢正兴, 李丽坤, 张波, 彭德根.

- 巨细胞病毒感染与炎症性肠病相关性研究. 中国医药导刊 2011; 13: 1863-1865
- 12 柯贤胜. 人巨细胞病毒感染与溃疡性结肠炎的相关性研究. 中华医院感染学杂志 2013; 23: 3652-3654
 - 13 Cottone M, Pietrosi G, Martorana G, Casà A, Pecoraro G, Oliva L, Orlando A, Rosselli M, Rizzo A, Pagliaro L. Prevalence of cytomegalovirus infection in severe refractory ulcerative and Crohn's colitis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 773-775 [PMID: 11280549]
 - 14 Kambham N, Vij R, Cartwright CA, Longacre T. Cytomegalovirus infection in steroid-refractory ulcerative colitis: a case-control study. *Am J Surg Pathol* 2004; 28: 365-373 [PMID: 15104299 DOI: 10.1097/00000478-200403000-00009]
 - 15 Dimitroulia E, Spanakis N, Konstantinidou AE, Legakis NJ, Tsakris A. Frequent detection of cytomegalovirus in the intestine of patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 879-884 [PMID: 16954807 DOI: 10.1097/01.mib.0000231576.11678.57]
 - 16 Sipponen T, Turunen U, Lautenschlager I, Nieminen U, Arola J, Halme L. Human herpesvirus 6 and cytomegalovirus in ileocolonic mucosa in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 1324-1333 [PMID: 21879802 DOI: 10.3109/00365521.2011.605466]
 - 17 Domènech E, Vega R, Ojanguren I, Hernández A, Garcia-Planella E, Bernal I, Rosinach M, Boix J, Cabré E, Gassull MA. Cytomegalovirus infection in ulcerative colitis: a prospective, comparative study on prevalence and diagnostic strategy. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1373-1379 [PMID: 18452205]
 - 18 Wada Y, Matsui T, Mataka H, Sakurai T, Yamamoto J, Kikuchi Y, Yorioka M, Tsuda S, Yao T, Yao S, Haraoka S, Iwashita A. Intractable ulcerative colitis caused by cytomegalovirus infection: a prospective study on prevalence, diagnosis, and treatment. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: S59-S65 [PMID: 14530660]
 - 19 Kim SE, Hong SP, Kim HS, Lee BI, Kim SH, Hong SN, Yang DH, Lee SH, Shin SJ, Park DI, Kim YH, Yang SK, Kim HJ. [A Korean national survey for colorectal cancer screening and polyp diagnosis methods using web-based survey]. *Korean J Gastroenterol* 2012; 60: 26-35 [PMID: 22832797]
 - 20 Yoshino T, Nakase H, Ueno S, Uza N, Inoue S, Mikami S, Matsuura M, Ohmori K, Sakurai T, Nagayama S, Hasegawa S, Sakai Y, Chiba T. Usefulness of quantitative real-time PCR assay for early detection of cytomegalovirus infection in patients with ulcerative colitis refractory to immunosuppressive therapies. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1516-1521 [PMID: 17828781]
 - 21 Minami M, Ohta M, Ohkura T, Ando T, Ohmiya N, Niwa Y, Goto H. Cytomegalovirus infection in severe ulcerative colitis patients undergoing continuous intravenous cyclosporine treatment in Japan. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 754-760 [PMID: 17278199]
 - 22 Vega R, Bertrán X, Menacho M, Domènech E, Moreno de Vega V, Hombrados M, Cabré E, Ojanguren I, Gassull MA. Cytomegalovirus infection in patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1053-1056 [PMID: 10201482]
 - 23 Papadakis KA, Tung JK, Binder SW, Kam LY, Abreu MT, Targan SR, Vasiliauskas EA. Outcome of cytomegalovirus infections in patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2137-2142 [PMID: 11467645]
 - 24 Criscuoli V, Casà A, Orlando A, Pecoraro G, Oliva L, Traina M, Rizzo A, Cottone M. Severe acute colitis associated with CMV: a prevalence study. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 818-820 [PMID: 15646428]
 - 25 Piton G, Dupont-Gossart AC, Weber A, Herbein G, Viennet G, Manton G, Carbonnel F. Severe systemic cytomegalovirus infections in patients with steroid-refractory ulcerative colitis treated by an oral microemulsion form of cyclosporine: report of two cases. *Gastroenterol Clin Biol* 2008; 32: 460-464 [PMID: 18359591]
 - 26 Herfarth HH, Long MD, Rubinas TC, Sandridge M, Miller MB. Evaluation of a non-invasive method to detect cytomegalovirus (CMV)-DNA in stool samples of patients with inflammatory bowel disease (IBD): a pilot study. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1053-1058 [PMID: 20165976]
 - 27 Britt WJ, Boppina S. Human cytomegalovirus viron proteins. *Hum Immunol* 2004; 65: 395-402 [PMID: 15172437 DOI: 10.1016/j.humimm.2004.02.008]
 - 28 Sinzger C. Entry route of HCMV into endothelial cells. *J Clin Virol* 2008; 41: 174-179 [PMID: 18203656 DOI: 10.1016/j.jcv.2007.12.002]
 - 29 Taylor GH. Cytomegalovirus. *Am Fam Physician* 2003; 67: 519-524 [PMID: 12588074]
 - 30 Nguyen M, Bradford K, Zhang X, Shih DQ. Cytomegalovirus Reactivation in Ulcerative Colitis Patients. *Ulcers* 2011; 2011: pii: 282507 [PMID: 21731826 DOI: 10.1155/2011/282507]
 - 31 Moss AC, Peppercorn MA. Steroid-refractory severe ulcerative colitis: what are the available treatment options? *Drugs* 2008; 68: 1157-1167 [PMID: 18547130 DOI: 10.2165/00003495-200868090-00001]
 - 32 Mariani F, Sena P, Marzona L, Riccio M, Fano R, Manni P, Gregorio CD, Pezzi A, Leon MP, Monni S, Pol AD, Roncucci L. Cyclooxygenase-2 and Hypoxia-Inducible Factor-1alpha protein expression is related to inflammation, and up-regulated since the early steps of colorectal carcinogenesis. *Cancer Lett* 2009; 279: 221-229 [PMID: 19268443 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.02.001]
 - 33 Nakase H, Yoshino T, Honzawa Y, Chiba T. Low prevalence of CMV infection in patients with Crohn's disease in comparison with ulcerative colitis: effect of different immune response on prevalence of CMV infection. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1498-1499 [PMID: 20198427 DOI: 10.1007/s10620-010-1162-0]
 - 34 Dzabic M, Boström L, Rahbar A. High prevalence of an active cytomegalovirus infection in the appendix of immunocompetent patients with acute appendicitis. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 236-241 [PMID: 17973298]
 - 35 Hamlin PJ, Shah MN, Scott N, Wyatt JL, Howdle PD. Systemic cytomegalovirus infection complicating ulcerative colitis: a case report and review of the literature. *Postgrad Med J* 2004; 80: 233-235 [PMID: 15082847 DOI: 10.1136/pgmj.2003.007385]
 - 36 Suzuki H, Kato J, Kuriyama M, Hiraoka S, Kuwaki K, Yamamoto K. Specific endoscopic features of ulcerative colitis complicated by cytomegalovirus infection. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1245-1251 [PMID: 20222169 DOI: 10.3748/wjg.v16.i10.1245]
 - 37 Kishore J, Ghoshal U, Ghoshal UC, Krishnani N,

- Kumar S, Singh M, Ayyagari A. Infection with cytomegalovirus in patients with inflammatory bowel disease: prevalence, clinical significance and outcome. *J Med Microbiol* 2004; 53: 1155-1160 [PMID: 15496396]
- 38 姚雪洁, 吴小平. 巨细胞病毒与炎症性肠病的关系. *胃肠病学和肝病学杂志* 2011; 20: 955-959
- 39 Kou T, Nakase H, Tamaki H, Kudo T, Nishio A, Chiba T. Cytomegalovirus infection in patients with ulcerative colitis diagnosed by quantitative real-time PCR analysis. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1052-1055 [PMID: 16865568]
- 40 Hommes DW, Sterringa G, van Deventer SJ, Tytgat GN, Weel J. The pathogenicity of cytomegalovirus in inflammatory bowel disease: a systematic review and evidence-based recommendations for future research. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 245-250 [PMID: 15290919 DOI: 10.1097/00054725-200405000-00011]
- 41 Lévêque N, Brixi-Benmansour H, Reig T, Renois F, Talmud D, Brodard V, Coste JF, De Champs C, Andréoletti L, Diebold MD. Low frequency of cytomegalovirus infection during exacerbations of inflammatory bowel diseases. *J Med Virol* 2010; 82: 1694-1700 [PMID: 20827767]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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, $\frac{1}{2}$ cpm(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V_{max}, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ, Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max}, C_{max}, 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.

TRPV6、Ki-67在溃疡性结肠炎、结肠癌中的表达及意义

张慧, 刘模荣, 刘微

■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 和结肠癌的发生率目前呈现升高趋势, 近年来瞬时受体阳离子通道亚家族V成员6(transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 6, TRPV6)与肿瘤发生的研究取得了较大的进步。与人体内多种肿瘤形成过程相关, 本文作者主要从TRPV6和Ki-67在UC和结肠癌中的表达及意义进行研究。

张慧, 刘模荣, 刘微, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省遵义市 563003

张慧, 在读硕士, 主要从事大肠肿瘤的防治研究。

贵州省自然科学基金资助项目, No. 黔科合J字(2009)2205号
作者贡献分布: 此由刘模荣负责课题设计并指导实验及论文写作; 张慧负责实验研究过程、数据分析及论文写作; 刘微协助资料整理及数据统计。

通讯作者: 刘模荣, 主任医师, 563003, 贵州省遵义市汇川区大连路149号, 遵义医学院附属医院消化内科。zylmr@163.com
电话: 0852-8609224

收稿日期: 2014-10-21 修回日期: 2014-11-05

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

TRPV6 and Ki-67 expression in ulcerative colitis and colon carcinoma

Hui Zhang, Mo-Rong Liu, Wei Liu

Hui Zhang, Mo-Rong Liu, Wei Liu, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Supported by: the Guizhou Provincial Science and Technology Fund Project, No. J(2009)2205

Correspondence to: Mo-Rong Liu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Huichuan District, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. zylmr@163.com

Received: 2014-10-21 Revised: 2014-11-05

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

Abstract

AIM: To investigate the TRPV6 and Ki-67 expression in ulcerative colitis and colon cancer.

METHODS: The expression of TRPV6 and Ki-67 was examined by immunohistochemistry in 20 ulcerative colitis tissues, 20 colon cancer tissues and 20 normal colonic mucosal tissues.

RESULTS: TRPV6 expression gradually increased from normal colon tissue to ulcerative colitis tissue and colonic cancer. The positive rates of TRPV6 in ulcerative colitis and colon cancer were significantly higher than that in the normal colon tissue ($P < 0.05$). TRPV6 expression was located in the cytoplasm and/or cell membrane. The positive rates of Ki-67 in ulcerative colitis and colon cancer were significantly higher than that in the normal colon tissue ($P < 0.05$). Ki-67 expression was located in the nucleus. The

expression of TRPV6 had a positive correlation with that of Ki-67 in ulcerative colitis and colonic cancer ($r = 0.48, P < 0.05; r = 0.69, P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of TRPV6 and Ki-67 differs among ulcerative colitis, colon cancer and normal colon. The expression of TRPV6 in ulcerative colitis and colon cancer is significantly higher than that normal colon tissue, suggesting that TRPV6 may be related to the pathogenesis and development of ulcerative colitis and colon cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Colorectal cancer; TRPV6; Ki-67

Zhang H, Liu MR, Liu W. TRPV6 and Ki-67 expression in ulcerative colitis and colon carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5732-5736 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5732.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5732>

摘要

目的: 旨在探索TRPV6、Ki-67在溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC)、结肠癌组织中的表达情况以及与细胞增殖、恶变之间的联系。

方法: 收集遵义医学院附属医院行结肠镜下取病理活检的结肠组织标本, 结合其临床资料, 共获取UC标本20例, 结肠癌组织20例, 肠镜检查未见异常的肠黏膜组织20例。通过免疫组织化学染色, 观察UC、结肠癌及正常结肠组织中TRPV6、Ki-67的表达情况。

结果: (1)在正常结肠黏膜组织、UC以及结肠癌中均有TRPV6的表达, 但TRPV6在UC和结肠癌组中的表达率显著高于正常黏膜组 ($P < 0.05$), 其阳性表达部位位于胞浆和/或胞膜; Ki-67的阳性率呈递增趋势, 其在UC和结肠癌中的阳性表达率显著高于正常黏膜组 ($P < 0.05$), 其阳性表达部位位于胞核; (2)TRPV6、Ki-67在UC和结肠癌中的表达呈正相关 ($r = 0.48, P < 0.05; r = 0.69, P < 0.05$)。

■同行评议者

刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内科

结论: TRPV6、Ki-67在人UC、结肠癌以及正常结肠等组织中有不同程度的表达, TRPV6在UC和结肠癌组中的表达率均显著高于正常黏膜组。推测TRPV6可能在UC、结肠癌的发生、发展过程中扮演着重要的角色。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 结肠癌; TRPV6; Ki-67

核心提示: 本文应用免疫组织化学检测钙离子通道瞬时受体阳离子通道亚家族V成员6(transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 6, TRPV6)、Ki-67在溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)、结肠癌中的表达及意义, 本研究发现, 无论在UC或是结肠癌组织中TRPV6、Ki-67阳性表达均较正常结肠黏膜组织增高, 而且TRPV6、Ki-67阳性表达表现出一定相关性, 提示TRPV6可能参与结肠黏膜组织细胞的增殖, 表明TRPV6可能在UC、结肠癌的发生、发展过程中扮演着重要的角色, 该研究对临床工作具有重要的指导意义。

张慧, 刘模荣, 刘微. TRPV6、Ki-67在溃疡性结肠炎、结肠癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5732-5736
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5732.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5732>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因未明的结肠慢性非特异性炎性疾病, 病变主要局限于大肠黏膜与黏膜下层, 且以溃疡为主, 临床常常表现为反复发作而治愈难度大, 被世界卫生组织列为现代难治疾病之一^[1]。UC的发病机制是多因素、多环节协同作用的结果, 目前获得广泛认同的发病机制为: 环境因素作用于遗传易感者, 在肠道菌丛参与下, 启动肠道免疫及非免疫系统, 导致肠上皮和组织细胞持久的损伤^[2]。UC是公认的结肠癌(colon cancer, CC)癌前病变^[3]。结肠癌是消化系统主要的恶性肿瘤之一, 在我国的发病率呈逐年上升的趋势, 严重威胁着人们的健康。流行病学研究^[4-6]表明, 钙及维生素D能显著降低UC和结肠癌的发生率。但对钙如何影响UC和结肠癌的机制目前尚不清楚。本研究通过观察新型钙离子通道瞬时受体阳离子通道亚家族V成员6(transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 6, TRPV6)在UC及结肠癌的表达情况, 探索TRPV6在UC、结肠癌组织中的表达情况以及与细胞增

殖、恶变之间的联系。

1 材料和方法

1.1 材料 所有标本均来自于遵义医学院附属医院行结肠镜下取病理活检的结直肠组织标本, 其临床及病理资料均符合UC国内共识意见标准^[7]。共取UC标本20例, 结肠癌组织20例, 肠镜检查未见异常的结肠黏膜组织20例。TRPV6多克隆抗体购自Abcam公司; Ki-67多克隆抗体购自Bioss公司; GTVision™ III抗鼠/兔通用型免疫组织化学检测试剂盒购自上海基因科技有限公司; 牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)购自Invitrogen公司。

1.2 方法

1.2.1 标本处理: 将取得的结肠组织标本浸泡于4%多聚甲醛室温固定并立即送于病理科进行包埋, 制作成石蜡块。用切片机将收集的蜡块标本切成约10 μm的切片, 附于多聚赖氨酸处理过的载玻片上, 置于干燥鼓风机中干燥2 h后, 即可进行免疫组织化学实验。

1.2.2 免疫组织化学检测: TRPV6一抗稀释2500倍, Ki-67一抗稀释100倍, PBS代替一抗作空白对照, DAB显色, 苏木精对比染色, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明后封片。用已知阳性片作阳性对照。具体步骤参照说明书进行。

1.2.3 免疫组织化学检测结果判断: 光镜下观察组织切片的显色反应。按照Maruyama等^[8]提出的判断方法, TRPV6以细胞胞浆内或胞膜出现棕黄色颗粒为阳性, Ki-67则以细胞核出现棕黄色为阳性, 并用阳性片作为对照, 每张切片随机选择5个视野, 200倍显微镜下观察计数。采用双人观察, 综合评定方法参照文献方法, 根据染色的浓度及阳性细胞的数量分别记分: 不着色为0分, 浅黄色为1分, 黄色为2分, 棕黄色为3分。阳性细胞数<10%为0分, 10%-30%为1分, 31%-70%为2分, >70%为3分。根据染色深度与阳性细胞数得分之和分为4级: (-)为0分, 弱阳性(+)为1-2分, 阳性(++)为3-4分, 强阳性(+++)为5-6分。

统计学处理 本实验数据统一用SPSS17.0软件进行统计分析, 计数资料样本率之间的比较分析采用 χ^2 检验, 各指标间的相关性分析采用Spearman相关分析法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TRPV6在不同结肠组织中的表达情况 TRPV6在正常结肠黏膜组织、UC以及结肠癌中的表达率呈逐步递增趋势, 其阳性表达率分别

■ 研发前沿

近年来, 相继发现了多种钙离子的跨膜转运通道, 且主要集中在瞬时性受体电位通道(transient receptor potential, TRP)超家族这一类新型钙离子转运蛋白通道。而TRPV6是该家族中V亚家族中已知的钙离子高选择性通道之一, 目前研究发现TRPV6与人体内多种肿瘤(如骨肿瘤、乳腺癌、前列腺癌及结肠癌等)形成过程相关。

■ 相关报道

研究表明TRPV6通过调控细胞内钙离子的浓度影响细胞生物学行为, 在人乳腺癌、前列腺癌、结肠癌等多种肿瘤中呈高表达。Ki-67一种细胞核相关抗原, 存在于增殖细胞中, 已成为细胞增殖的标志之一, 在胃癌、乳腺癌、子宫内膜癌、宫颈癌、淋巴瘤、皮肤病变、胶质瘤的表达具有密切关系。

■创新亮点

本研究通过观察TRPV6、Ki-67在UC、结肠癌中的表达情况,特别是探索了TRPV6在UC、结肠癌中所扮演的角色.该研究将对UC进一步的临床工作具有重要指导的意义.

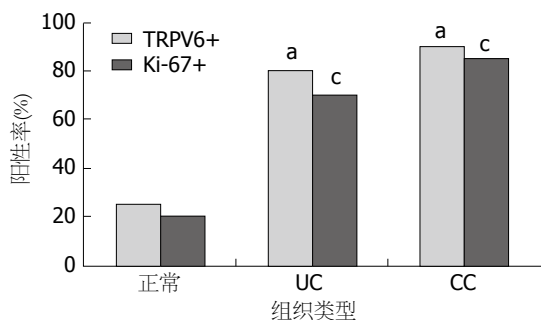


图1 TRPV6和Ki-67在各组织中的阳性表达率。^a $P < 0.05$ vs 正常对照组TRPV6; ^c $P < 0.05$ vs 正常对照组Ki-67. UC: 溃疡性结肠炎; CC: 结肠癌.

为25%、80%、90%(图1, 2).

2.2 Ki-67在不同结肠组织中的表达情况 Ki-67在正常结肠黏膜组织、UC以及结肠癌中的表达率呈逐步递增趋势,其阳性表达率分别为20%、70%、85%(图1, 3).

2.3 TRPV6、Ki-67在UC及结肠癌中表达的相关性 无论在UC或结肠癌中,TRPV6阳性表达率增高时,Ki-67的阳性表达率亦随之增高.相关性检验($r_{uc} = 0.48$, $r_{cc} = 0.69$, $P < 0.05$),表明两者有较好的相关性.

3 讨论

Lamprecht等^[9]研究指出,结肠隐窝表面与细胞内维持正常的钙离子梯度对于结肠细胞的终末分化和凋亡起着重要的调节作用,这种钙离子梯度与维生素D水平有关.在UC及结肠肿瘤发生的过程中,钙离子梯度则被破坏.此外,钙离子也可以通过干预细胞血管形成和调控细胞周期来影响结肠肿瘤的发展进程^[10,11].但钙离子对UC及结肠肿瘤影响的具体机制目前仍尚不清楚.

瞬时受体电位(transient receptor potential, TRP)是一种非电压依赖性阳离子通道,TRPV6是TRP基因超家族中的成员,广泛存在于多种哺乳动物组织中,并参与调节多种重要的生理功能,包括肌肉收缩、递质释放、细胞增殖、细胞分化、基因转录、细胞凋亡及细胞死亡等^[12].TRPV6是唯一已知的钙离子高选择性通道之一^[13].在促进跨细胞钙离子转运的三步过程中,已有研究^[14]证明TRPV6是其一部分,钙离子通过TRPV6进入细胞后,结合到钙结合蛋白D28K上和/或钙结合蛋白D9K上弥散到基底外侧膜然后钙离子经钠钙交换蛋白(Na/Ca exchanger 1, NCX1)和三磷酸腺苷(ATP)依赖性质膜钙离子-碱性磷酸酶1b排出,TRPV6除了在维持机体钙平衡中起着

重要作用外,在肿瘤的发生和进展中也有非常重要的影响.有研究表明TRPV6在前列腺、乳腺、甲状腺、卵巢和胰腺等恶性肿瘤中呈高表达^[15].对于TRPV6基因在结肠疾病中的研究,其首先发现于大鼠十二指肠,仅表达于上皮细胞,与钙离子的摄入密切相关.目前有关TRPV6在人类结肠细胞中的表达及功能仍知之甚少,虽有研究表明TRPV6在结肠癌中表达显著增加^[16],但对于其在正常结肠组织、UC及结肠癌中表达的相互关系,及其对肿瘤发生的影响仍缺乏进一步的认识.本研究免疫组织化学数据表明,TRPV6在UC及结肠癌中均高表达,其阳性率分别为80%、90%,主要定位于细胞胞浆,少量表达在细胞膜;TRPV6在UC组、结肠癌组的阳性表达率与正常黏膜组相比较差异在统计学上具有显著性($\chi^2_{uc} = 12.13$, $\chi^2_{cc} = 17.28$; $P < 0.01$);但UC、结肠癌之间TRPV6的阳性表达率两相比较差异在统计学上无显著性($\chi^2 = 0.78$, $P > 0.05$).

Ki-67是一种细胞核相关抗原,存在于增殖细胞中,是参与驱动细胞周期的调节网络,可以用来识别生长中的正常细胞和肿瘤细胞,评估细胞的增殖程度,已成为细胞增殖的标志之一^[17].国内外有诸多文献报道,Ki-67基因在正常的组织中不表达,仅在增殖的细胞核中有表达,在一定程度上能够反映出细胞的增殖活性,在癌变组织中表达强烈,且在恶变的初期就有微弱的表达,表达水平随着病变的发展呈梯度上升,显示其参与了肿瘤的发生及发展.Ki-67基因的高表达往往与胃癌、乳腺癌、子宫内膜、宫颈癌、淋巴瘤、皮肤病变、胶质瘤^[18-20]等具有密切关系,并作为肿瘤治疗效果的监测.本研究免疫组织化学数据表明,Ki-67在UC中表达阳性率为70%;在结肠癌中表达阳性率为85%,主要定位于细胞核;与正常黏膜组比较差异在统计学上具有显著性($\chi^2_{uc} = 10.11$, $\chi^2_{cc} = 16.94$; $P < 0.01$);但Ki-67在UC、结肠癌两组之间的阳性表达率比较统计学上差异无显著性($\chi^2 = 0.25$, $P > 0.05$).

本研究发现,无论在UC或是结肠癌组织中TRPV6、Ki-67阳性表达均较正常结肠黏膜组织增高,而且TRPV6、Ki-67阳性表达表现出一定相关性,提示TRPV6可能参与结肠黏膜组织细胞的增殖,通过某种途径参与了UC及结肠癌的发病过程,其具体机制尚需进一步研究.而对于UC和结肠癌组织TRPV6、Ki-67阳性表达率两者之间缺乏统计学上差异显著性现象,可能与本组样本量较小,也可能本组标本取材时UC患

■应用要点

本研究提示TRPV6可能参与结肠黏膜组织细胞的增殖,通过某种途径参与了UC及结肠癌的发病过程.认为TRPV6在肠道一些慢性炎症和癌前病变中可能成为肠道肿瘤防治的一个新的研究方向.

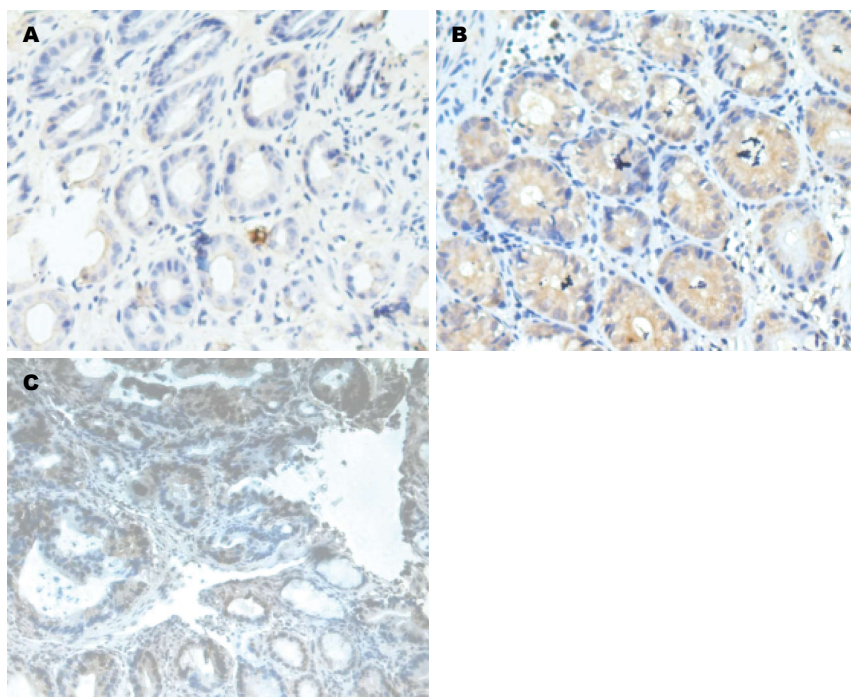


图 2 TRPV6在正常结肠组织、溃疡性结肠炎、结肠癌的表达(×200). A: 正常结肠组织; B: 溃疡性结肠炎; C: 结肠癌. 主要表达部位为细胞膜或胞浆.

■ 名词解释

TRPV6: TRP超家族中V亚家族中已知的钙离子高选择性通道之一, 其存在于具有钙离子跨细胞转运功能的器官; Ki-67: 一种细胞核相关抗原, 存在于增殖细胞中, 是参与驱动细胞周期的调节网络, 可以用来识别生长中的正常细胞和肿瘤细胞, 评估细胞的增殖程度, 已成为细胞增殖的标志之一.

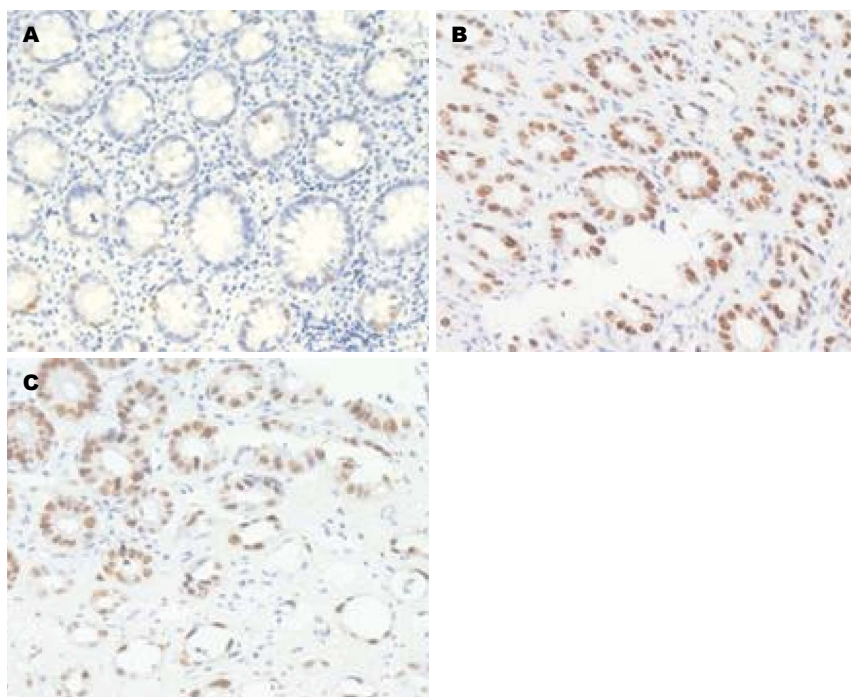


图 3 Ki-67在正常结肠组织、溃疡性结肠炎、结肠癌的表达(×200). A: 正常结肠组织; B: 溃疡性结肠炎; C: 结肠癌. 主要表达部位为细胞核.

者病情处于活动期, 细胞增殖较活跃有关. 这有待今后进一步研究结果验证.

4 参考文献

1 Bamias G, Cominelli F. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease: current concepts. *Curr Opin Gastroenterol* 2007; 23: 365-369 [PMID: 17545770 DOI: 10.1097/MOG.0b013e3281c55eb2]

2 Weersma RK, van Dullemen HM, van der Steege G, Nolte IM, Kleibeuker JH, Dijkstra G. Review article: Inflammatory bowel disease and genetics. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26 Suppl 2: 57-65 [PMID: 18081650 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03476.x]

3 Teng XD. [World Health Organization classification

■同行评价

本文较准确反映了研究工作的科学问题和特定内容,对同行在TRPV6钙离子通道与肠道肿瘤方面的研究有一定的参考价值,该研究为指导临床工作具有重要的意义。

- of tumours, pathology and genetics of tumours of the lung]. *Zhonghua Binglixue Zazhi* 2005; 34: 544-546 [PMID: 16383307]
- 4 Satia-Abouta J, Galanko JA, Martin CF, Potter JD, Ammerman A, Sandler RS. Associations of micronutrients with colon cancer risk in African Americans and whites: results from the North Carolina Colon Cancer Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 747-754 [PMID: 12917206]
 - 5 Peters U, Chatterjee N, McGlynn KA, Schoen RE, Church TR, Bresalier RS, Gaudet MM, Flood A, Schatzkin A, Hayes RB. Calcium intake and colorectal adenoma in a US colorectal cancer early detection program. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1358-1365 [PMID: 15531687]
 - 6 Heine-Bröring RC, Winkels RM, Renkema JM, Kragt L, van Orten-Luiten AC, Tigchelaar EF, Chan DS, Norat T, Kampman E. Dietary supplement use and colorectal cancer risk: A systematic review and meta-analyses of prospective cohort studies. *Int J Cancer* 2014 Oct 21. [Epub ahead of print] [PMID: 25335850 DOI: 10.1002/ijc.29277]
 - 7 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年, 广州). *中华内科杂志* 2012; 57: 818-831
 - 8 Maruyama K, Ochiai A, Akimoto S, Nakamura S, Baba S, Moriya Y, Hirohashi S. Cytoplasmic beta-catenin accumulation as a predictor of hematogenous metastasis in human colorectal cancer. *Oncology* 2000; 59: 302-309 [PMID: 11096342]
 - 9 Lamprecht SA, Lipkin M. Chemoprevention of colon cancer by calcium, vitamin D and folate: molecular mechanisms. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 601-614 [PMID: 12894248 DOI: 10.1038/nrc1144]
 - 10 Umar S, Morris AP, Kourouma F, Sellin JH. Dietary pectin and calcium inhibit colonic proliferation in vivo by differing mechanisms. *Cell Prolif* 2003; 36: 361-375 [PMID: 14710853 DOI: 10.1046/j.1365-2184.2003.00291.x]
 - 11 Lin R, White JH. The pleiotropic actions of vitamin D. *Bioessays* 2004; 26: 21-28 [PMID: 14696037 DOI: 10.1002/bies.10368]
 - 12 Spehr J, Gelis L, Osterloh M, Oberland S, Hatt H, Spehr M, Neuhaus EM. G protein-coupled receptor signaling via Src kinase induces endogenous human transient receptor potential vanilloid type 6 (TRPV6) channel activation. *J Biol Chem* 2011; 286: 13184-13192 [PMID: 21349844 DOI: 10.1074/jbc.M110.183525]
 - 13 Gunthorpe MJ, Benham CD, Randall A, Davis JB. The diversity in the vanilloid (TRPV) receptor family of ion channels. *Trends Pharmacol Sci* 2002; 23: 183-191 [PMID: 11931994]
 - 14 Nijenhuis T, Hoenderop JG, Bindels RJ. Downregulation of Ca(2+) and Mg(2+) transport proteins in the kidney explains tacrolimus (FK506)-induced hypercalciuria and hypomagnesemia. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 549-557 [PMID: 14978156]
 - 15 Wissenbach U, Niemeier BA, Fixemer T, Schneidewind A, Trost C, Cavalie A, Reus K, Meese E, Bonkhoff H, Flockerzi V. Expression of CaT-like, a novel calcium-selective channel, correlates with the malignancy of prostate cancer. *J Biol Chem* 2001; 276: 19461-19468 [PMID: 11278579 DOI: 10.1074/jbc.M009895200]
 - 16 Peleg S, Sellin JH, Wang Y, Freeman MR, Umar S. Suppression of aberrant transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 6 expression in hyperproliferative colonic crypts by dietary calcium. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G593-G601 [PMID: 20508153 DOI: 10.1152/ajpgi.00193.2010]
 - 17 Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984; 133: 1710-1715 [PMID: 6206131]
 - 18 Lazăr D, Tăban S, Sporea I, Dema A, Cornianu M, Lazăr E, Goldiș A, Vernic C. Ki-67 expression in gastric cancer. Results from a prospective study with long-term follow-up. *Rom J Morphol Embryol* 2010; 51: 655-661 [PMID: 21103622]
 - 19 Gelincik I. Ki-67 and Bcl-2 in colorectal polyps with breast cancer. *Indian J Pathol Microbiol* 2011; 54: 307-311 [PMID: 21623079 DOI: 10.4103/0377-4929.81608]
 - 20 Jin Q, Zhang W, Qiu XG, Yan W, You G, Liu YW, Jiang T, Wang L. Gene expression profiling reveals Ki-67 associated proliferation signature in human glioblastoma. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124: 2584-2588 [PMID: 22040407]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



老年消化系肿瘤贫血患者血红蛋白和红细胞体积及细胞免疫的临床意义

杨华强, 张荣环, 李红, 李玉玲, 覃骏, 鲍红霞

杨华强, 李红, 李玉玲, 覃骏, 鲍红霞, 湖北医药学院附属人民医院血液科 湖北省十堰市 442000

张荣环, 十堰市妇幼保健院妇保科 湖北省十堰市 442000
杨华强, 副主任医师, 主要从事血液病的研究。

湖北省教育厅科学技术研究计划重点项目基金资助项目, No. D20142104

作者贡献分布: 杨华强与张荣环负责课题的设计、研究过程及论文的写作; 李红与李玉玲负责研究中数据的分析; 覃骏与鲍红霞负责试剂的提供。

通讯作者: 张荣环, 主管护师, 442000, 湖北省十堰市人民北路33号, 十堰市妇幼保健院妇保科. yanghuaqiang2004@126.com
电话: 0719-8663002

收稿日期: 2014-10-04 修回日期: 2014-11-05

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Changes in hemoglobin, red blood cell volume and cellular immunity in elderly patients with gastrointestinal tumors and anemia

Hua-Qiang Yang, Rong-Huan Zhang, Hong Li, Yu-Ling Li, Jun Qin, Hong-Xia Bao

Hua-Qiang Yang, Hong Li, Yu-Ling Li, Jun Qin, Hong-Xia Bao, Department of Hematology, People's Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, Hubei Province, China

Rong-Huan Zhang, Department of Health Care, Maternal and Child Health Hospital, Shiyan 442000, Hubei Province, China

Supported by: the Key Project of Hubei Province Science and Technology Research Program, No. D20142104

Correspondence to: Rong-Huan Zhang, Nurse-in-Charge, Department of Health Care, Maternal and Child Health Hospital, 33 Renmin North Road, Shiyan 442000, Hubei Province, China. yanghuaqiang2004@126.com

Received: 2014-10-04 Revised: 2014-11-05

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

Abstract

AIM: To assess the changes in hemoglobin, red blood cell volume, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ and natural killer (NK) cells in elderly patients with digestive system tumors and anemia.

METHODS: Sixty-two elderly patients with gastrointestinal cancer treated at our hospital were divided into either an anemia group or a non-anemic cancer group according to whether

they had anemia. Thirty healthy elderly people served as a control group. Hemoglobin, red blood cell volume, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ and NK cells were detected using a blood analyzer and flow cytometer and compared between different groups.

RESULTS: Red blood cell distribution width (RDW) and CD8⁺ cells were significantly higher in patients with gastrointestinal cancer than in controls ($P < 0.05$), while hemoglobin count, CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ and NK cells were significantly lower in patients with gastrointestinal cancer ($P < 0.01$). RDW and CD8⁺ cells were significantly higher in cancer patients with anemia than in those without anemia ($P < 0.01$), while hemoglobin, CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ and NK cells were significantly lower in cancer patients with anemia than in those without anemia ($P < 0.01$).

CONCLUSION: The incidence of anemia in elderly patients with gastrointestinal cancer is higher than that in healthy people. Cellular immunity is lower in elderly patients with gastrointestinal cancer than in the normal population. Concomitance with anemia can result in a further decline in cellular immune function.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastrointestinal tumors; Anemia; Cellular immunity

Yang HQ, Zhang RH, Li H, Li YL, Qin J, Bao HX. Changes in hemoglobin, red blood cell volume and cellular immunity in elderly patients with gastrointestinal tumors and anemia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5737-5741 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5737.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5737>

摘要

目的: 观察老年消化系肿瘤贫血患者血红蛋白、红细胞体积、CD3、CD4、CD8、CD4/

■背景资料

消化系肿瘤患者常伴发贫血, 据统计其发生率达50%, 同时, 有一部分患者免疫功能有所下降, 免疫功能的下降会影响患者的治疗, 并且影响其预后, 已有研究表明免疫功能的下降与贫血有着密切的联系。

■同行评议者

甘华田, 教授, 四川大学华西医院老年消化内科

■ 研发前沿

人体的抗肿瘤免疫以T细胞介导的细胞免疫为主, T细胞亚群是反应肿瘤患者细胞免疫功能的常用指标, 国外已有研究证明, 恶性肿瘤患者合并贫血时, 其细胞免疫功能会下降, 但在消化系肿瘤合并贫血与细胞免疫的关系上研究还不够深入。

CD8和自然杀伤(natural killer, NK)细胞的变化并探究其临床意义。

方法: 将湖北医药学院附属人民医院收治的62例老年消化系肿瘤患者作为肿瘤组, 按照是否贫血分为肿瘤贫血组和肿瘤非贫血组, 并选择同时期健康体检老人30例作为对照组, 使用血液分析仪和流式细胞仪对消化系肿瘤患者的血红蛋白、红细胞体积、CD3、CD4、CD8、CD4/CD8和NK细胞进行检测, 并与对照组进行比较。

结果: 在肿瘤组患者中, 红细胞体积分布宽度、CD8均高于对照组患者, 组间差异有统计学意义($P < 0.05$); 在血红蛋白数、CD3、CD4、CD4/CD8和NK细胞等指标上, 肿瘤组患者均明显低于对照组患者, 组间差异均有显著统计学意义($P < 0.01$); 在肿瘤贫血组患者中, 红细胞体积分布宽度、CD8均明显高于肿瘤非贫血组患者, 组间差异具有显著统计学意义($P < 0.01$); 在血红蛋白数、CD3、CD4、CD4/CD8和NK细胞等指标上, 肿瘤贫血组患者均明显低于肿瘤非贫血组患者, 组间差异均具有显著统计学意义($P < 0.01$)。

结论: 老年消化系肿瘤患者发生贫血的几率高于正常健康人群, 老年消化系肿瘤患者的细胞免疫功能低于正常人群, 合并贫血时, 患者免疫功能会进一步下降, 可以为老年消化系肿瘤的诊疗提供参考。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 消化系肿瘤; 贫血; 免疫

核心提示: 消化系肿瘤患者发生贫血的几率高于正常健康人群, 老年消化系肿瘤患者的细胞免疫功能低于正常人群, 合并贫血时, 患者免疫功能会进一步下降。

■ 相关报道

据Droogendijk等报道, 老年消化系肿瘤患者会伴有转铁蛋白含量的下降, 同时红细胞对铁の利用能力也会下降; 肿瘤组织还能产生有毒分子, 抑制肾脏促红细胞生成素(hemopoietin)的分泌, 可见消化系肿瘤患者非常容易发生贫血, 老年人出现贫血的临床表现时, 要警惕消化系肿瘤的发生。

杨华强, 张荣环, 李红, 李玉玲, 覃骏, 鲍红霞. 老年消化系肿瘤贫血患者血红蛋白和红细胞体积及细胞免疫的临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5737-5741 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5737.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5737>

0 引言

消化系肿瘤是在老年人群中较常见的恶性肿瘤, 并且近年来有逐年增高的趋势, 多数消化系肿瘤患者伴有程度不同的贫血, 可能和慢性失血、肿瘤浸润、造血微环境的破坏等有关^[1], 同

时, 有一部分的患者免疫功能尤其是细胞免疫的功能有所下降, 可能与肿瘤患者的免疫功能紊乱、贫血等因素有关^[2], 我们对收治的62例老年消化系肿瘤患者, 使用血液分析仪和流式细胞仪对患者的血红蛋白、红细胞体积、CD3、CD4、CD8和自然杀伤(natural killer, NK)细胞进行检测, 并与健康体检人群进行比较, 结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 患者来源于在2012-06/2014-06于湖北医药学院附属人民医院住院的消化系肿瘤患者, 共62例, 上述患者均经消化内镜诊断并经过病理确诊, 有结肠癌患者22例, 胃癌患者13例, 食管癌患者12例, 贲门癌患者7例, 直肠癌患者8例。合并贫血患者有30例, 将其作为肿瘤贫血组, 其中男20例, 女10例, 患者年龄59-88岁, 患者平均年龄64.5岁±6.3岁; 身高150-183 cm, 平均170.3 cm±5.4 cm; 体质量36-81 kg, 平均52.6 kg±11.3 kg; 未合并贫血的患者32例, 作为肿瘤非贫血组, 其中男21例, 女11例, 患者年龄60-86岁, 患者平均年龄66.2岁±6.3岁; 身高153-182 cm, 平均171.2 cm±6.1 cm; 体质量38-78 kg, 平均52.5 kg±10.5 kg。选择同时期的健康体检老年人30例作为对照组, 男19例, 女11例, 年龄61-87岁, 患者平均年龄为63.9岁±7.0岁, 身高152-180 cm, 平均171.3 cm±5.4 cm; 体质量38-79 kg, 平均53.6 kg±10.5 kg。三组患者的性别、年龄、身高、体质量等情况差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性(表1)。HF-3700血液分析仪(山东泰诺科贸有限公司生产), 溶血素和稀释液(广东创艺生化工程有限公司生产), Epics-XL4型流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司生产), 检测试剂由美国贝克曼库尔特公司生产。

1.2 方法 空腹抽取外周静脉血4 mL, 放入抗凝管中, 使用HF-3700血液分析仪, 检测肿瘤组患者的血红蛋白和红细胞体积; 使用Epics-XL4型流式细胞仪, 测定CD3、CD4、CD8、CD4/CD8和NK细胞水平。每例标本取流式细胞仪专用试管4支, 每支试管中加入抗凝血标本100 μL, 然后分别加入各型抗体10 μL, 并设空白对照, 充分混匀后, 室温避光培育15 min; 然后分别加入500 μL溶血素, 混匀, 静置15 min, 破坏红细胞; 向内加入500 μL的PBS溶液, 静置5 min; 然后离心5 min, 弃上清液; 加入500 μL的PBS溶液, 振荡重悬细

表 1 3组患者的一般情况比较 (mean ± SD)

分组	n	性别(n)		年龄(岁)	身高(cm)	体重(kg)
		男	女			
肿瘤贫血组	30	20	10	64.5 ± 6.3	170.3 ± 5.4	52.6 ± 11.3
肿瘤非贫血组	32	21	11	66.2 ± 6.3	171.2 ± 6.1	52.5 ± 10.5
对照组	30	19	11	63.9 ± 7.0	171.3 ± 5.4	53.6 ± 10.5
P值		>0.05		>0.05	>0.05	>0.05

■创新盘点

我们发现消化系肿瘤患者发生贫血的几率高于正常健康人群,老年消化系肿瘤患者的细胞免疫功能低于正常人群,合并贫血时,患者免疫功能会进一步下降。

表 2 肿瘤组患者与对照组患者血红蛋白、红细胞体积、CD3、CD4、CD8、CD4/CD8和NK细胞检测结果的比较 (mean ± SD)

分组	n	血红蛋白(g/L)	红细胞体积分布宽度(%)	CD3(%)	CD4(%)	CD8(%)	CD4/CD8	NK细胞(%)
对照组	30	136 ± 23	25 ± 6	62 ± 5	43 ± 5	28 ± 3	1.79 ± 0.63	23 ± 6
肿瘤组	62	118 ± 19	30 ± 7	55 ± 12	39 ± 5	30 ± 4	1.02 ± 0.22	18 ± 6
t值		3.945	3.344	3.062	3.597	2.425	3.788	3.746
P值		0.000157	0.0012	0.0028	0.0005	0.0173	0.00027	0.00031

表 3 肿瘤贫血患者与肿瘤组非贫血患者血红蛋白、红细胞体积、CD3、CD4、CD8、CD4/CD8和NK细胞检测结果的比较 (mean ± SD)

分组	n	血红蛋白(g/L)	红细胞体积分布宽度(%)	CD3(%)	CD4(%)	CD8(%)	CD4/CD8	NK细胞(%)
肿瘤贫血组	30	106 ± 13	33 ± 7	46 ± 8	32 ± 1	35 ± 13	0.89 ± 0.33	15 ± 3
肿瘤非贫血组	32	119 ± 25	29 ± 5	57 ± 15	40 ± 12	27 ± 8	1.44 ± 0.91	19 ± 5
t值		2.673	3.143	3.759	3.635	3.636	3.202	4.037
P值		0.0089	0.0022	0.0003	0.00046	0.00045	0.00188	0.00011

胞, 2 h内上机检测, 将检测结果与对照组老人进行比较。

统计学处理 使用SPSS17.0对数据进行分析、处理, 计量资料用mean ± SD表示, 采用t检验或者χ²检验对相关数据进行比较分析, 在本次研究中, P<0.05表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肿瘤组患者与对照组患者血红蛋白、红细胞体积、CD3、CD4、CD8、CD4/CD8和NK细胞检测结果的比较 在肿瘤组患者中, 红细胞体积分布宽度为30% ± 7%、CD8为30% ± 4%, 均高于对照组患者, 组间差异有统计学意义(P<0.05); 在血红蛋白数、CD3、CD4、CD4/CD8和NK细胞等指标上, 肿瘤组患者分别为118 g/L ± 19 g/L、55% ± 12%、39% ± 5%、1.02 ± 0.22、18% ± 6%, 均明显低于对照组患者, 组间差异均有显著统计学意义(P<0.01)(表2)。

2.2 肿瘤贫血组患者与肿瘤非贫血组患者血红蛋白、红细胞体积、CD3、CD4、CD8、CD4/CD8和NK细胞检测结果的比较 在肿瘤贫血组患者中, 红细胞体积分布宽度为33% ± 7%、CD8为35% ± 13%, 均高于肿瘤非贫血组患者, 组间差异具有显著统计学意义(P<0.01); 在血红蛋白、CD3、CD4、CD4/CD8和NK细胞等指标上, 肿瘤贫血患者分别为106 g/L ± 13 g/L、46% ± 8%、32% ± 1%、0.89 ± 0.33、15% ± 3%, 均明显低于肿瘤非贫血组患者, 组间差异均具有显著统计学意义(P<0.01)(表3)。

3 讨论

消化系肿瘤患者, 尤其是老年患者, 起病隐匿并且早期临床表现多无特异性, 有时候仅以贫血为主要表现, 容易造成对消化系肿瘤的漏诊, 而误诊为缺铁性贫血, 会延误患者的治疗, 影响患者的生存率^[3]。老年消化系肿瘤患者, 肿瘤的出

■应用要点

老年人群中发生贫血时, 要警惕消化系恶性肿瘤的发生, 以防漏诊, 消化系肿瘤患者合并贫血时, 要积极的治疗, 从而能够改善其免疫功能, 改善预后。

■名词解释

细胞免疫(cellular immunity): T细胞受到抗原刺激后,增殖、分化、转化为致敏T细胞(也叫效应T细胞),当相同抗原再次进入机体的细胞中时,致敏T细胞(效应T细胞)对抗原的直接杀伤作用及致敏T细胞所释放的细胞因子的协同杀伤作用,统称为细胞免疫。

血、侵蚀消化管道内肿瘤周围的小血管、伴有胃酸减少的胃癌患者对铁吸收的障碍等多种因素,均会造成患者贫血的发生^[4]。据Droogendijk等^[5]报道,老年消化系肿瘤患者会伴有转铁蛋白含量的下降,同时红细胞对铁の利用能力也会下降;肿瘤组织还能产生有毒分子,抑制肾脏促红细胞生成素(hemopoietin, EPO)的分泌;另据刘彤华^[6]报道,消化系肿瘤长时间的发展,会造成患者的慢性消耗,影响患者的胃肠功能,铁的吸收、摄入、利用能力都会程度不同的下降。上述机制解释了老年消化系肿瘤患者发生贫血的几率较高的原因;据魏宜胜等^[7]报道,红细胞体积分布宽度的增高,能较为敏感的反应消化系肿瘤患者早期出现贫血。在本次研究中,老年消化系肿瘤患者的血红蛋白明显低于对照组,红细胞体积分布宽度高于对照组患者,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。消化系肿瘤患者的机体免疫功能的下降、肿瘤细胞对机体所产生的免疫逃避,是发生肿瘤和维持其生长的必要条件,因此研究机体的免疫功能对肿瘤的治疗和判断预后有重要的作用^[8,9];人体的抗肿瘤免疫以T细胞介导的细胞免疫为主,T细胞亚群是反应肿瘤患者细胞免疫功能的常用指标,包括CD3、CD4、CD8、CD4/CD8等指标^[10,11]。CD4细胞可分泌白介素-2(interleukin-2, IL-2)、干扰素(interferon, IFN)等因子,能够发挥抗炎抗肿瘤的作用;CD8细胞可抑制机体免疫功能,有利于肿瘤细胞在机体内的扩散与转移^[12]。魏玮等^[13]通过检测354例肿瘤相关性贫血患者的CD3、CD4、CD8、CD4/CD8等指标,发现随着贫血程度的增加,患者细胞免疫功能受抑制的程度会加重;NK细胞无需致敏也能发挥对肿瘤细胞的杀伤作用,在抗肿瘤中发挥着巨大的作用,大量实验证明:NK细胞在肿瘤患者中,能够限制肿瘤细胞的扩散与转移,NK细胞的检测能反应患者的免疫功能,NK细胞的下降,能反应机体对肿瘤细胞的杀伤作用减弱,同时肿瘤更容易发生扩散和转移^[14]。当消化系肿瘤患者合并贫血时,血红蛋白降低,导致体内氧含量的减少,此时体内的氧会优先供应心、脑等重要脏器,免疫器官会有不同程度的缺氧,影响其免疫功能的正常发挥^[15],加上恶性肿瘤对免疫功能的破坏,患者的细胞免疫功能会出现下降。在本次研究中,我们使用流式细胞仪对肿瘤组患者的CD3、CD4、CD8、CD4/CD8和NK细胞

等进行检测发现,肿瘤组患者在CD3、CD4、CD4/CD8和NK细胞等指标上明显低于对照组患者,并且在肿瘤组患者中,合并贫血的老年患者的肿瘤组患者明显低于不合并贫血的老年患者,可见老年消化系肿瘤患者的免疫功能处于较低水平,合并贫血时,患者的免疫功能会进一步下降。所以,纠正老年消化系肿瘤患者的贫血,能够在一定程度上提高其免疫功能,改善生活质量。

总之,老年消化系肿瘤患者发生贫血的几率高于正常健康人群,老年消化系肿瘤患者的细胞免疫功能低于正常人群,合并贫血时,患者免疫功能会进一步下降,可以为老年消化系肿瘤的诊疗提供参考。

4 参考文献

- 葛军娜,于健春,康维明,马志强,古应超. 10218例消化系恶性肿瘤贫血情况调查. 中华胃肠外科杂志 2011; 14: 340-242
- 樊永丽,于津浦,李慧,曹水,任宝柱,张乃宁,于文文,任秀宝. 原发性肝癌患者调节性T细胞与预后的关系. 中国肿瘤临床 2011; 38: 442-446
- 田文斐,高伟. 食道癌患者根治性放疗前、后T细胞亚群的变化. 检验医学 2012; 27: 321-323
- Prá D, Franke SI, Henriques JA, Fenech M. Iron and genome stability: an update. *Mutat Res* 2012; 733: 92-99 [PMID: 22349350 DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2012.02.001]
- Droogendijk J, Beukers R, Berendes PB, Tax MG, Sonneveld P, Levin MD. Screening for gastrointestinal malignancy in patients with iron deficiency anemia by general practitioners: an observational study. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 1105-1110 [PMID: 21726115 DOI: 10.3109/00365521]
- 刘彤华. 肿瘤相关性贫血相关因素分析. 中国实验诊断学 2013; 17: 1688-1691
- 魏宜胜,洪楚原,赵楚雄,梁国健,王国强,邹湘才,林航. 结直肠癌患者合并癌性贫血的临床病理特征及预后分析. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 385-387
- 刘彤华,梁勇,邵宗鸿. 非血液系统肿瘤并发贫血530例临床分析. 中国综合临床 2012; 28: 682-685
- 于健春,葛军娜,唐云,吴健雄,肖刚,于波,尉承泽,王岩,梁斌,康维明,杨华,郑朝旭,王文跃,马志强. 胃、结直肠癌患者手术前后贫血状况的多中心临床调查研究. 中华外科杂志 2011; 49: 53-56
- Yun GW, Yang YJ, Song IC, Park KU, Baek SW, Yun HJ, Kim S, Jo DY, Lee HJ. A prospective evaluation of adult men with iron-deficiency anemia in Korea. *Intern Med* 2011; 50: 1371-1375 [PMID: 21720055 DOI: 10.2169/INTERNALMEDICINE.50.5289]
- 叶辉铭,陈佳美,张清渊,朱建辉,傅建国. 免疫法粪便隐血试验用于消化系统疾病的消化道出血评估研究. 中国全科医学 2013; 16: 1128-1131
- Nikpour S, Ali Asgari A. Colonoscopic evaluation of minimal rectal bleeding in average-risk patients for colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6536-6540 [PMID: 19030208]
- 魏玮,高勇,王理伟,茅惠明. 细胞免疫状况与肿瘤相关性贫血患者生活质量的关系. 肿瘤 2010; 30:

406-409
14 郭敏, 王静, 邹阳春. 白细胞介素-2对老年人进展期消化道恶性肿瘤外周血CD4 CD25 T/CD4 T水平的影

响. 中华老年多器官疾病杂志 2011; 10: 362-363
15 阮润生, 徐克成. 肿瘤免疫治疗的新策略. 中华肿瘤杂志 2011; 33: 943-946

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



■同行评价
本文发现老年消化系肿瘤患者发生贫血的几率高于正常健康人群, 老年消化系肿瘤患者的细胞免疫功能低于正常人群, 合并贫血时, 患者免疫功能会进一步下降, 该研究有一定的临床意义。

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)

护理干预联合CLS生物治疗对消化系统肿瘤患者的预后影响

张琳, 孙雯雯, 付丽娜

■背景资料
科学关爱生命 (Care for Life in Science, CLS) 生物治疗是临床中治疗肿瘤的一种新方法, 在提高患者免疫功能方面具有明显的优势。但是, 由于新型方法的实施, 加强针对性的护理是很有必要的, 对促进治疗效果具有重要意义。

张琳, 孙雯雯, 天津市第四中心医院生物治疗科 天津市 300041

付丽娜, 天津市第四中心医院消化科 天津市 300041
张琳, 护师, 主要从事生物治疗科专业护理的研究。

作者贡献分布: 此文主要由张琳完成; 研究过程由张琳、孙雯雯及付丽娜操作完成; 试剂的提供和数据分析由张琳、孙雯雯及付丽娜完成; 本论文写作由张琳完成。

通讯作者: 孙雯雯, 主任, 300041, 天津市河北区中山路3号, 天津市第四中心医院生物治疗科. zhanglin300041@163.com
电话: 022-26183057

收稿日期: 2014-10-23 修回日期: 2014-11-24

接受日期: 2014-12-04 在线出版日期: 2014-12-28

Nursing intervention combined with CLS biological therapy improves prognosis of patients with digestive system tumors

Lin Zhang, Wen-Wen Sun, Li-Na Fu

Lin Zhang, Wen-Wen Sun, Department of Biological Treatment, Tianjin Fourth Central Hospital, Tianjin 300041, China

Li-Na Fu, Department of Gastroenterology, Tianjin Fourth Central Hospital, Tianjin 300041, China

Correspondence to: Wen-Wen Sun, Director, Department of Biological Treatment, Tianjin Fourth Central Hospital, 3 Zhongshan Road, Hebei District, Tianjin 300041, China. zhanglin300041@163.com

Received: 2014-10-23 Revised: 2014-11-24

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

Abstract

AIM: To evaluate the impact of nursing intervention combined with Care for Life in Science (CLS) biological treatment on the prognosis of patients with digestive system tumors.

METHODS: Eighty gastrointestinal cancer patients treated at Tianjin Fourth Central Hospital from January 2011 to December 2011 were randomly divided into either an intervention group or a conventional group. The conventional group received CLS biological treatment combined with routine care, while the intervention group underwent nursing intervention combined with CLS biological treatment. Clinical effects were compared between the two groups.

RESULTS: The intervention group had significantly

cantly higher 2- and 3-year survival rates than the conventional group (85.7% vs 70.0%, 75.0% vs 60.0%, $P < 0.05$). Appetite, pain and disease awareness and activities of daily living were significantly better in the intervention group than in the conventional group ($t = 5.017, 6.332, 8.407, 9.352, P < 0.05$).

CONCLUSION: CLS biological treatment combined with care intervention is feasible and can improve the patient's prognosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastrointestinal cancer; Care for life in Science; Nursing intervention; Prognosis

Zhang L, Sun WW, Fu LN. Nursing intervention combined with CLS biological therapy improves prognosis of patients with digestive system tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5742-5745 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5742.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5742>

摘要

目的: 观察临床中护理干预在科学关爱生命 (Care for Life in Science, CLS) 生物治疗消化系统肿瘤中的应用, 并观察其预后效果。

方法: 选取2011-01/2011-12天津市第四中心医院生物治疗科80例消化系统肿瘤患者为研究对象, 将其依据随机数字表法分为干预组和常规组, 常规组在CLS生物治疗过程中实施常规护理, 而干预组在CLS生物治疗过程中实施针对性护理干预措施, 观察两组效果。

结果: 干预组 vs 常规组2年和3年生存率差异有统计学意义(85.7% vs 70.0, 75.0% vs 60.0%, $P < 0.05$); 干预组 vs 常规组食欲、疼痛和病情认知度以及日常生活能力, 差异有统计学意义 ($t = 5.017, 6.332, 8.407, 9.352$, 均 $P < 0.05$)。

结论: CLS生物治疗消化系统肿瘤的过程中实施针对性的护理干预措施是可行的, 能够改善患者的预后效果, 值得临床中应用与推广。

■同行评议者
李小荣, 教授, 中南大学湘雅三医院普外二科

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 消化系统肿瘤; 科学关爱生命; 护理干预; 预后

核心提示: 科学关爱生命(Care for Life in Science)生物治疗消化系统肿瘤的过程中联合护理干预措施是可行的, 能够改善患者的预后效果, 提高其生活质量, 在临床中具有较好的指导作用。

张琳, 孙雯雯, 付丽娜. 护理干预联合CLS生物治疗对消化系统肿瘤患者的预后影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5742-5745
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5742.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcj.v22.i36.5742>

0 引言

消化系统肿瘤在消化内科属于常见疾病, 临床中常常采取手术治疗, 术后化疗. 但是, 并不意味着肿瘤治疗的结束, 经常在一定的时期依然出现复发^[1,2]. 随着临床中对该病的研究, 科学关爱生命(Care for Life in Science, CLS)生物治疗在肿瘤治疗中发挥着重要的作用, 能够对肿瘤细胞和肿瘤干细胞起到较强的杀伤作用, 从而提高患者机体免疫. 但是, 治疗的过程中加强针对性的护理是很有必要的^[3,4]. 因此, 本研究重点分析护理干预在CLS生物治疗消化系统肿瘤中的应用, 具体的分析如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-01/2011-12天津市第四中心医院生物治疗科80例消化系统肿瘤患者为研究对象, 将其依据随机数字表法分为干预组和常规组, 均40例. 干预组男22例, 女18例, 年龄24-78岁, 平均年龄为51.3岁±5.2岁. 病理类型: 胃癌14例, 结肠癌10例, 直肠癌8例, 食管癌8例. 常规组男20例, 女20例, 年龄23-79岁, 平均年龄为52.7岁±4.8岁. 病理类型: 胃癌15例, 结肠癌10例, 直肠癌9例, 食管癌6例. 干预组与常规组基本资料比较差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 此次研究的两组对象均采用CLS生物方法治疗, 采取DC-CIK细胞过继免疫治疗, 静脉采血30.0 mL, 并且放入4℃冰箱保存, 24 h内送至实验室培养, DC-CIK细胞培养时间为10-15 d, 依据DC-CIK细胞培养的方法进行制备DC-CIK细胞混悬液, 每次回输细胞 $\geq 1.0 \times 10^9$ 个, 连续3 d, 总输入量 $\geq 1.0 \times 10^9$ 个.

1.2.2 护理: 常规组患者在CLS生物治疗中仅仅临床常规的护理, 而干预组在CLS治疗中实施针对性的护理干预措施, 具体的分析如下:

心理护理^[5]: 患者在CLS生物治疗过程中应加强患者心理护理, 准确的评估心理状况, 稳定患者的情绪. 护理人员应详细的介绍CLS生物治疗的原理和治疗方法以及临床疗效, 并且向患者介绍成功案例, 增加患者的治疗信心.

采血护理^[6]: 护理人员应详细的了解患者的基本情况, 保留精神状况和病史以及肿瘤的临床分期等, 采血前详细地向患者解释工作的必要, 避免产生恐慌. 同时, 采血的过程中密切的监测患者的生命体征, 观察患者是否有头晕和乏力以及其他不适, 并及时地采取措施.

回输护理^[7]: 临床中DC-CIK细胞属于血制品, 应用输血器输注时应严格的核对, 叮嘱患者放松, 回输前30 min注射5.0 mg地塞米松, 合理的使用输血器. 输注开始前应缓慢, 20滴/min. 20 min之后逐渐地增加滴速, 控制40-50滴/min. 输液结束时应在瓶内注入30.0 mL生理盐水, 并轻轻晃动. 回输的过程中护理人员应全程陪护, 密切的观察生命体征变化.

回输后护理^[8]: 患者需要多次回输, 护理人员在每次回输之后应准确地告诉其下次回输的时间. 同时, 患者在出院前应做好各项检查, 认真的向患者介绍出院后的注意事项.

1.2.3 观察指标及评估: 主要对患者生活质量评分进行评估, 包括食欲和疼痛以及病情认知度与日常生活能力, 分值越高曾表示患者效果越好^[9].

统计学处理 采取SPSS19.0统计学软件进行数据分析与处理, 计量资料采取mean±SD表示, 独立样本采取t检验, 计数资料采取 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 生存率观察 干预组治疗2年和3年生存率明显地高于常规组, 差异有统计学意义($P<0.05$)(表1).

2.2 生活质量评分 干预组食欲、疼痛和病情认知度以及日常生活能力评分均明显地高于常规组, 差异有统计学意义($P<0.05$)(表2).

3 讨论

消化系统肿瘤在临床中具有较高的发病率, 对患者的影响较大. 临床中常常采取手术治疗和化疗以及放疗等, 在临床中具有一定的效果. 但是,

■ 研发前沿

临床中重点分析CLS生物治疗在消化系统肿瘤治疗中的应用效果, 全面的了解治疗过程中针对性护理的方法及效果. 重点阐述护理干预联合CLS生物治疗对改善患者预后的效果.

■ 相关报道

临床中对于肿瘤CLS生物治疗和护理已经有较好的报道, 均认为CLS生物治疗的优越性. 但是, 治疗过程中的针对性护理报道并不多见, 而文章重点阐述护理干预的效果.

■创新盘点

本研究研究了CLS生物治疗联合护理干预措施在消化系统肿瘤中的应用效果,通过分析患者预后和生活质量指标进行了解实施的优越性。

表 1 干预组与常规组生存率观察 ($n = 40, n(\%)$)

分组	1年生存率	2年生存率	3年生存率
干预组	39(97.5)	34(85.7)	30(75.0)
常规组	38(95.0)	28(70.0)	24(60.0)
χ^2 值	0.603	4.761	5.252
P 值	>0.05	<0.05	<0.05

表 2 干预组和常规组生活质量评分对比 ($n = 40, \text{mean} \pm \text{SD}, \text{分}$)

分组	食欲评分	疼痛评分	病情认知度评分	日常生活能力评分
干预组	27.8 ± 2.8	27.5 ± 2.1	31.5 ± 2.5	32.7 ± 3.2
常规组	13.8 ± 2.2	14.5 ± 1.9	16.8 ± 2.1	16.9 ± 2.1
t 值	5.017	6.332	8.407	9.352
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

如何有效的改善患者预后是医护人员关注的重点问题^[10]。

随着医疗水平的不断发展,CLS生物治疗在肿瘤治疗中具有重要的作用,也是临床中一种新型的治疗方法^[11]。但是,在CLS生物治疗的过程中加强针对性的护理是很有必要的。由于CLS生物治疗是一种新型的治疗方法,护理人员在实施前应加强针对性的专业知识培训,并且需要熟练的掌握无菌操作和治疗方法以及给药的方式与不良反应^[12,13]。同时,护理人员应全面的熟悉患者的病情状况,进一步的了解患者的心理状况,加强患者的沟通,更好的便于护理人员的实施,进一步提高临床护理效果^[14]。经过此次的临床研究分析,临床中对于消化系统肿瘤患者实施CLS生物治疗中,加强针对性的护理干预促使是可行的,能够改善患者预后。同时,还能够有效的提高生活质量。数据显示,干预组治疗2年和3年生存率明显地高于常规组,差异有统计学意义($P < 0.05$);数据还显示,干预组食欲、疼痛和病情认知度以及日常生活能力评分均明显地高于常规组($P < 0.05$),差异有统计学意义。由此说明,CLS生物治疗中联合护理干预措施效果明显。在治疗的过程中,加强心理护理、采血护理和回输护理以及回输后护理,护理针对性强,计划周密,从而改善预后。经过一系列的针对性护理措施,可以更好地将工作落实,确保CLS生物治疗的优越性^[15]。

总之,CLS生物治疗消化系统肿瘤的过程中联

合护理干预措施是可行的,能够改善患者的预后效果,值得临床中应用。

4 参考文献

- 施玲燕,刘继斌,刘晓玲. CIK细胞治疗恶性肿瘤的疗效及护理. 中华现代护理杂志 2010; 16: 306-307
- 程艺,刘会范. 自体CIK细胞回输治疗皮肤恶性肿瘤预防性护理干预分析. 河南医学研究 2012; 21: 449-451
- 王芳英,史瑞,张婷. 自体CIK细胞过继免疫治疗消化道恶性肿瘤的临床观察及护理. 中国医药导刊 2011; 13: 160-161
- 张和平. CIK细胞治疗消化道肿瘤的护理措施. 中国实用医药 2011; 6: 172-173
- Linch GF, Ribeiro AC, Guido Lde A. [Graduate program in nursing at the Federal University of Santa Maria: trajectory and results]. *Rev Gaucha Enferm* 2013; 34: 147-154 [PMID: 23781736]
- 吴银芳,刘继斌,施玲燕,朱海霞. CIK细胞过继免疫治疗中晚期消化道肿瘤的护理. 护理实践与研究 2010; 7: 41-43
- 周梅,李连涛,闫果珍. 自体DC-CIK细胞过继免疫治疗肾癌的护理. 护理实践与研究 2012; 9: 89-90
- 兰大华,谭文霞,王林娟. 恶性肿瘤患者DC-CIK治疗的269例护理体会. 重庆医学 2012; 41: 1078-1079, 1105
- McCabe DL. Academic dishonesty in nursing schools: an empirical investigation. *J Nurs Educ* 2009; 48: 614-623 [PMID: 19650608 DOI: 10.3928/01484834-20090716-07]
- 陈庆丽,宋战义,李惠容,欧利芳,王利平. 肿瘤患者CIK细胞回输的护理. 临床医学 2011; 31: 122-123
- 汪碧琼,郭德芬,文庆莲. DC与CIK共培养治疗恶性肿瘤的护理干预. 中国中医急症 2009; 18: 486-487
- 曾雅力,陈玲,朱红花,陈银,安东建. CIK细胞治疗老年癌症患者的护理体会. 实用预防医学 2010; 17: 1689-1690
- Pop M, Hollós S, Vingender I, Mészáros J. [New ways of higher education in nursing: globalisation of nursing leadership and its teaching--dual degree in nursing]. *Oro Hetil* 2009; 150: 437-442 [PMID:

■应用要点

通过本研究的分析,为CLS生物治疗在肿瘤中的应用提供参考价值,并为护理人员提供详细的护理参考指导。

19240013 DOI: 10.1556/OH.2009.28560]
14 陈新华, 李姗姗, 李晓雪, 于虹, 任媛媛. CIK细胞治疗消化道恶性肿瘤的临床护理. 武警医学 2013; 24:

81-82
15 李兵, 陆宇晗. 消化道肿瘤患者行DC-CIK细胞免疫治疗的护理. 护士进修杂志 2012; 27: 1388-1389

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



■同行评价
本研究从临床实际的角度分析, 全面阐述CLS生物治疗的优越性, 重点说明治疗过程中实施针对性护理的必要性和临床应用效果.

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.

消化内科常用药物多潘立酮人体内药物代谢动力学影响

赵传勇, 丁艳芳, 梁辉, 李玲

■背景资料

尽管多潘立酮的临床疗效已得到广泛评价, 但很多研究样本量较小, 缺乏代表性, 且尚未明确以何种给药途径为宜。多潘立酮是一种抗多巴胺类药物, 能够阻滞外周多巴胺受体, 具有抑制恶心和呕吐的作用, 一般用于口服和静脉注射。

赵传勇, 丁艳芳, 六盘水市水矿集团总医院临床药理学部 贵州省六盘水市 553000

梁辉, 李玲, 六盘水市水矿集团总医院消化内科 贵州省六盘水市 553000

赵传勇, 副主任药师, 主要从事临床药学的研究。

作者贡献分布: 赵传勇负责课题的设计与研究过程; 丁艳芳负责数据分析; 梁辉负责论文写作; 试剂由李玲提供。

通讯作者: 赵传勇, 副主任药师, 553000, 贵州省六盘水市龙塘街, 贵州省六盘水市水矿集团总医院临床药理学部。

zcyzhao@yeah.net

电话: 0858-8179490

收稿日期: 2014-08-24 修回日期: 2014-09-28

接受日期: 2014-10-02 在线出版日期: 2014-12-28

Pharmacokinetics of different domperidone preparations in humans

Chuan-Yong Zhao, Yan-Fang Ding, Hui Liang, Ling Li

Chuan-Yong Zhao, Yan-Fang Ding, Department of Clinical Medicine, Mineral General Hospital of Liupanshui, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China

Hui Liang, Ling Li, Department of Gastroenterology, Mineral General Hospital of Liupanshui, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China

Correspondence to: Chuan-Yong Zhao, Associate Chief Pharmacist, Department of Clinical Medicine, Mineral General Hospital of Liupanshui, Longtang Street, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China. zcyzhao@yeah.net

Received: 2014-08-24 Revised: 2014-09-28

Accepted: 2014-10-02 Published online: 2014-12-28

Abstract

AIM: To determine the concentration of domperidone in human plasma by high performance liquid chromatography (HPLC), and to study the pharmacokinetics of different domperidone preparations in humans.

METHODS: An HPLC-FLD method was developed to determine the concentration of domperidone in human plasma. The test formulation (domperidone dispersible tablets) and reference formulation (domperidone tablets) were given to 24 healthy male volunteers. The pharmacokinetics and bioequivalence of the test formulation and reference formulation were evaluated.

RESULTS: The calibration curve was linear within the range of 0.1-8.0 $\mu\text{g/mL}$. The method

recovery was 96.8%. The relative standard deviations (RSDs) of intra-day and inter-day were less than 15%. Stability met the requirements. The C_{\max} , T_{\max} and $AUC_{(0-\infty)}$ were 25.71 ng/mL, 0.718 h, and 105.2 ng/(h·mL), and 24.88 ng/mL, 0.689 h, and 107.6 ng/(h·mL), respectively. The relative bioavailability was 97.76%.

CONCLUSION: The method is sensitive without endogenous interference. The two kinds of preparations are bioequivalent.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Domperidone; Pharmacokinetics; Bio-availability

Zhao CY, Ding YF, Liang H, Li L. Pharmacokinetics of different domperidone preparations in humans. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5746-5749 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5746.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5746>

摘要

目的: 建立高效液相荧光法测定人血浆中多潘立酮的浓度, 考察不同多潘立酮制剂的人体药动学特性。

方法: 血浆样品中加入内标盐酸普萘洛尔溶液, 经乙醚萃取后, 采用高效液相荧光法测定人血浆中多潘立酮的浓度。用建立的方法测定24例男性健康志愿者单剂量口服受试制剂(多潘立酮分散片)或参比制剂(多潘立酮片)后的血药浓度, 求得药动学参数, 并对2种制剂的生物等效性进行评价。

结果: 多潘立酮在质量浓度为0.1-8.0 $\mu\text{g/mL}$ 的范围内呈现良好的线性关系, 所建立的方法日内精密度变异标准差分别为4.9%、1.8%和7.7%; 日间精密度变异标准差分别为8.1%、5.3%和6.7%, 平均提取回收率为85.6%, 平均方法回收率为96.8%, 血浆和标准血样中内标对照品在-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存12 d、反复冻融3次后含量未见明显变化, 稳定性符合要求, 受试者单剂量口服受试片及参比片后, C_{\max} 分别为

■同行评议者

刘克辛, 教授, 大连医科大学临床药理学教研室

25.71和24.88 ng/mL, T_{max} 分别为0.718和0.689 h, $AUC_{(0-\infty)}$ 分别为105.2和107.6 ng/(h·mL). 受试制剂与参比制剂的相对生物利用度为97.76%.

结论: 所建立的人体血浆内多潘立酮的测定方法灵敏, 无杂质干扰. 受试制剂的可信区间均落在参比制剂的可信区间范围内, 个体间无显著性差异, 制剂间也无显著性差异, 两种制剂生物等效.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 多潘立酮; 药动学; 生物利用度

核心提示: 24名健康志愿者口服两种制剂后血浆中多潘立酮的药时曲线趋势相同. 采与参比组制剂相比, 多潘立酮的相对生物利用度为97.76%. 受试制剂的个体间无显著性差异, 制剂间也无显著性差异, 两种制剂生物等效.

赵传勇, 丁艳芳, 梁辉, 李玲. 消化内科常用药物多潘立酮人体内药物代谢动力学影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5746-5749 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5746>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5746>

0 引言

多潘立酮(domperidone)是一种抗多巴胺类药物, 能够阻滞外周多巴胺受体, 具有抑制恶心和呕吐的作用, 一般用于口服和静脉注射^[1-3]. 另外由于多潘立酮能够刺激脑垂体释放催乳素, 所有还具有促进乳汁分泌的作用^[4,5]. 本文采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定了24名健康志愿者口服两种不同剂型多潘立酮后的药代动力学和生物利用度, 并进行了生物等效性分析.

1 材料和方法

1.1 材料 24例男性健康志愿者, 年龄均在22-24岁, 随机分成2组, 每组12例. 进行双周期双交叉试验. 志愿者在给药前2 wk至试验结束期间禁止服用其他药物、烟酒且禁止剧烈运动. 受试者禁食12 h后, 温开水服用多潘立酮20 mg, 一组服用受试制剂, 另一组服用参比制剂, 2 wk后进行交叉试验. 分别在志愿者口服给药前和给药后0.08、0.25、0.50、0.75、1、2、4、8、12及24 h上臂静脉取血, 每次5 mL, 采后装入离心管内, 此离心管事先涂好肝素, 在4000 r/min的条件下离心, 时间15 min, 分离出上层血浆, -20 °C下保

存, 待分析.

受试制剂: 多潘立酮分散片(帮能)(江西汇仁药业有限公司, 规格: 10 mg/片, 批号: 20130421), 参比制剂: 多潘立酮片(吗丁啉)(西安杨森制药有限公司, 规格: 10 mg/片, 批号: 121014159), 多潘立酮对照品(中国药品生物制品检定所). L-7100高效液相色谱仪(日本日立公司), 高速微型离心机(上海昨非实验室设备有限公司), VORTEX-5旋涡混合器(上江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司).

1.2 方法

1.2.1 血浆中样品的提取: 先将200 μ L血浆置于1.5 mL离心管内, 加入100 μ L的缓冲液(磷酸盐缓冲液, pH 5.0), 涡旋混匀, 加入内标(盐酸普萘洛尔溶液)20 μ L, 涡旋混匀, 加入萃取液乙醚800 μ L, 涡旋混匀, 在4000 r/min的条件下离心, 时间15 min, 吸出上层有机溶液, 转移到新的离心管中, 用氮气将有机溶液挥干, 残留物用100 μ L流动相复溶, 在4000 r/min的条件下离心, 时间15 min, 液相分析. 用标准曲线计算出药物在血浆中的浓度.

1.2.2 血浆内药物的分析: 色谱条件: 色谱柱: Waters C18(200 mm \times 4.6 mm, 5 μ m), C18预柱(50 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 0.02 mol/L磷酸二氢钾-乙腈(V : V = 70 : 30)(用磷酸调节pH值至3.0); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 荧光波长325 nm; 激发波长285 nm, 柱温: 40 °C \pm 2 °C; 进样量: 20 μ L.

绘制标准曲线: 配制系列标准溶液, 浓度分别为0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0和32.0 μ g/mL. 在空白甲醇及系列标准工作液中加入空白血浆和盐酸普萘洛尔溶液, 旋涡混匀后, 按照“1.2.1”项下操作, 高效液相色谱测定. 用峰面积与内标峰面积之比(A_s/A_i)对血浆内药物浓度(C)进行线性回归, 制作标准曲线, 计算出回归方程为: $A_s/A_i = 0.068C - 0.005$, $r = 0.9991$; 多潘立酮在质量浓度为0.1-8.0 μ g/mL的范围内呈现良好的线性关系(图1).

精密度: 配制高、中、低三个浓度的多潘立酮溶液, 浓度为的1.0、4.0、16.0 μ g/mL. 按照“1.2.1”项下操作. 日内精密度: 三种浓度的多潘立酮溶液每个制备5份, 每份测定1次. 日间精密度: 连续5 d, 测定1次/d. 结果: 经测定, 所建立的方法日内精密度变异标准差分别为4.9%、1.8%和7.7%; 日间精密度变异标准差分别为8.1%、5.3%和6.7%. 提取回收率: 取空白血浆,

■研发前沿

目前市面上的多潘立酮口服剂型有很多, 包括多潘立酮片、多潘立酮口腔崩解片、多潘立酮混悬液、多潘立酮分散片、多潘立酮咀嚼片等, 销售价格也相差很大, 但是各种制剂的吸收情况并不明确, 因此找出多潘立酮的吸收效果好, 价格又的剂型就尤为重要.

■相关报道

目前与本文相关的研究主要包括考察相同剂型的不同厂家生产的多潘立酮片的生物等效性研究.

■创新盘点

多潘立酮在血液中的检测方法文献报道的有很多,包括高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)-UV法、液质联用法、放射免疫法等。由于放射性免疫法存在操作繁琐以及较窄的线性范围,液质联用法的费用又比较高,本文采用高效液相色谱荧光法,优于文献报道的其他方法。

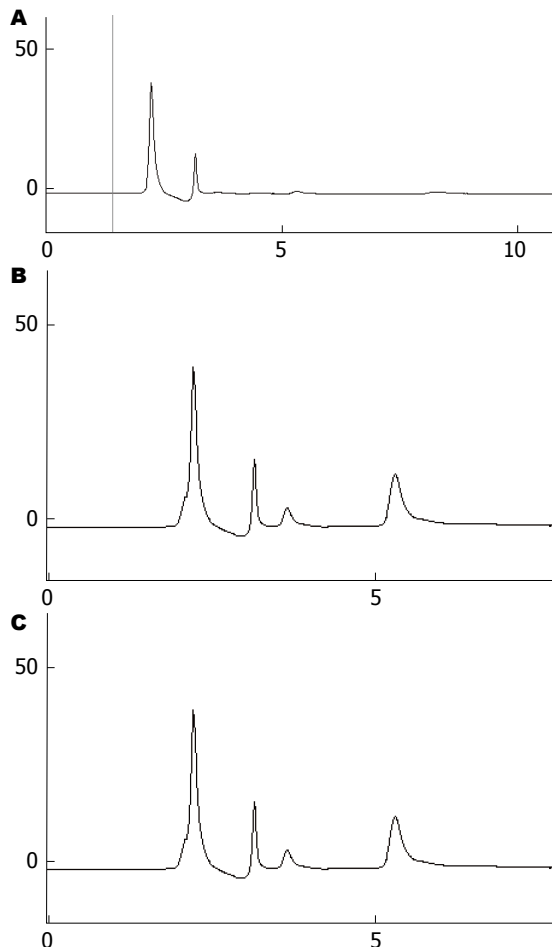


图1 多潘立酮色谱图。A: 空白血浆; B: 内标、多潘立酮和空白血浆的混合物; C: 志愿者口服药多潘立酮后加内标。

分别加入低中高三个浓度的多潘立酮溶液,使血浆中多潘立酮浓度分别为的1.0、4.0、16.0 $\mu\text{g/mL}$,测定,另外配制浓度为1.0、4.0、16.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准液,直接用高效液相色谱测定,计算在相同浓度下,提取样品与未经提取直接进样的峰面积之比,比值就是提取回收率,结果所建立方法的平均提取回收率为85.6%。方法回收率:配制高、中、低三个浓度的多潘立酮溶液,浓度为的1.0、4.0、16.0 $\mu\text{g/mL}$ 。按照“1.2.1”项下操作,测定药物与内标物的峰面积,比值 $R = A_s/A_i$ 。将比值代入标准曲线方程计算药物浓度,测得浓度与实际加入浓度之比即为所建立方法的方法回收率(%),结果平均方法回收率为96.8%。所建立方法的精密度与回收率的符合生物样品的分析要求,可用于人体血浆多潘立酮的含量测定。

稳定性试验:配制高、中、低三个浓度的多潘立酮溶液,浓度为的1.0、4.0、16.0 $\mu\text{g/mL}$ 。在-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存12 d、反复冻融3次。按“1.2.1”项下方法处理后进样测定。另取按“1.2.1”项

■应用要点

多潘立酮在血液中的检测方法文献报道的有很多,包括HPLC-UV法、液质联用法、放射免疫法等。由于放射性免疫法存在操作繁琐以及较窄的线性范围,液质联用法的费用又比较高,本文采用高效液相色谱荧光法,优于文献报道的其他方法。

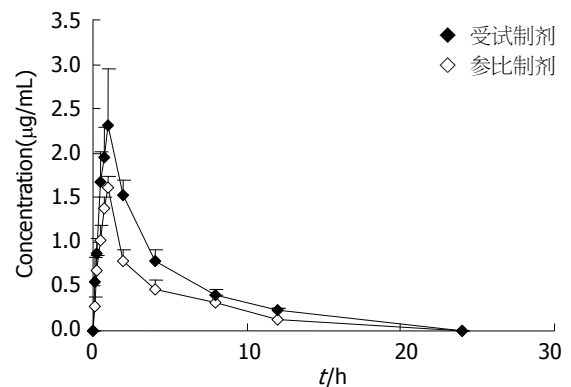


图2 志愿者口服受试制剂和参比制剂后药时曲线。

表1 两种制剂的口服药动学参数

分组	单位	受试制剂	参比制剂
$AUC_{(0-t)}$	min. $\mu\text{g/mL}$	105.1	106.3
$AUC_{(0-\infty)}$	min. $\mu\text{g/mL}$	105.2	107.6
$AUC_{(0-t)}/AUC_{(0-\infty)}$	1	0.999	0.988
C_{\max}	$\mu\text{g/mL}$	25.71	24.88
T_{\max}	h	0.718	0.689
$T_{1/2}$	h	6.481	6.128
F 值	%	97.76	100.0

下方法处理后的标准血浆样品放入4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,10 h进样后测定。计算稳定性。测定结果表明,血浆和标准血样中内标对照品的含量未见明显变化,稳定性符合要求。

统计学处理 应用SPSS13.0软件进行统计学分析,计量资料采用 F 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 药时曲线和口服药动学参数 24名健康志愿者口服两种制剂后血浆中多潘立酮的药时曲线趋势相同,如图2。采用DAS2.0版药动学分析软件进行人体内药动学数据分析,与参比组制剂相比,多潘立酮的相对生物利用度为97.76%。两种制剂的药动学参数分别如表1。

2.2 生物等效性分析 为确证两制剂吸收程度是否生物等效,对主要药动学参数 $AUC_{(0-t)}$ 和 C_{\max} 分别进行统计分析,由于 $AUC_{(0-t)}$ 和 C_{\max} 均不呈正态分布,先将其进行对数转换,然后进行方差分析(analysis of variance, ANOVA)^[6]。

本文将两种制剂中多潘立酮的 $\ln AUC_{(0-t)}$ 、 $\ln C_{\max}$ 主要参数分别作方差分析,进行显著性检验,结果表明,受试制剂的可信区间均落在参比制剂的可信区间范围内,个体间无显著性差异,

制剂间也无显著性差异, 两种制剂生物等效。

3 讨论

血浆样品一般有沉淀法和萃取法两种处理方式^[7-11], 本实验用乙醚作萃取液, 盐酸普萘洛尔作内标, 实验结果表明, 所建立的色谱条件能充分分离多潘立酮和其内标对照品, 系统适应性实验结果表明, 所建立方法可用于多潘立酮制剂血浆样品的分析。

多潘立酮在血液中的检测方法文献报道的有很多, 包括HPLC-UV法^[12,13]、液质联用法^[14]、放射免疫法^[15]等。由于放射性免疫法存在操作繁琐以及较窄的线性范围, 液质联用法的费用又比较高, 本文采用高效液相色谱荧光法, 优于文献报道的其他方法。

4 参考文献

- 1 聂方. 多潘立酮加阿米替林治疗功能性消化不良疗效观察. 现代中西医结合杂志 2009; 18: 3054-3055
- 2 程卫军. 香砂六君子汤加减合多潘立酮治疗30例功能性消化不良. 临床医学与护理研究 2011; 10: 16-17
- 3 陈明, 曹泽伟. 胃动汤对糖尿病胃轻瘫患者胃动素胃泌素的影响. 天津中医药 2013; 30: 142-144
- 4 吴勉华, 王新月. 中医内科学. 第九版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 59-69
- 5 Olausson EA, Brock C, Drewes AM, Grundin H, Isaksson M, Stotzer P, Abrahamsson H, Attvall S, Simrén M. Measurement of gastric emptying by radiopaque markers in patients with diabetes: correlation with scintigraphy and upper gastrointestinal symptoms. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: e224-e232 [PMID: 23316944 DOI: 10.1111/nmoA2075]
- 6 张阿慧, 王莉, 郭琦, 杨云, 宋军妹. 荧光法研究兔体内多潘立酮药时曲线及脏器内分布. 西北药学杂志 2000; 15: 245-246
- 7 Abdel-Rehim M. Microextraction by packed sorbent (MEPS): a tutorial. *Anal Chim Acta* 2011; 701: 119-128 [PMID: 21801877 DOI: 10.1016/j.aca.2011.05.037]
- 8 Abedin MZ, Narins SC, Park EH, Smith PR, Kirkwood KS. Lovastatin alters biliary lipid composition and dissolves gallstones: a long-term study in prairie dogs. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 2192-2210 [PMID: 12395892]
- 9 刘茜, 郑小楠, 王茜. 人血浆中多潘立酮的含量测定及药物动力学考察. 中国药理学杂志 2009; 8: 135-141
- 10 Dong SH, Lee J, Koh DH, Choi MH, Jang HJ, Kae SH. Pravastatin activates PPARalpha/PPARGamma expression in the liver and gallbladder epithelium of hamsters. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 185-190 [PMID: 21459726 DOI: 10.1016/S1499-3872(11)60029-5]
- 11 Jiang SP, Liang RY, Zeng ZY, Liu QL, Liang YK, Li JG. Effects of antireflux treatment on bronchial hyper-responsiveness and lung function in asthmatic patients with gastroesophageal reflux disease. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1123-1125 [PMID: 12717871]
- 12 汪洋, 张晏芝. 高效液相色谱-紫外检测法测定血浆多潘立酮. 安徽医药 2007; 11: 219-220
- 13 Xu DH, Lou HG, Yuan H, Jiang B, Zhou Q, Zhang ZM, Ruan ZR. Quantitative determination of domperidone in human plasma by ultraperformance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr* 2008; 22: 433-440 [PMID: 18059046]
- 14 刘祥东, 罗国安, 王一鸣. 液质联用技术在医药领域中的应用. 药物分析杂志 2005; 25: 110-116
- 15 Krull IS, Szulc ME, Bourque AJ, Zhou FX, Yu J, Strong R. Solid-phase derivatization reactions for biomedical liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1994; 659: 19-50 [PMID: 7820277 DOI: 10.1016/0378-4347(93)E0437-U]

■同行评价

本文采用HPLC测定了24名健康志愿者口服两种不同剂型多潘立酮后的药代动力学和生物利用度, 并进行了生物等效性分析, 对消化医师有一定的参考价值。

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



肝细胞腺瘤1例

舒德军, 彭慈军, 朱洪江, 梅永, 李雄雄, 李伟男

舒德军, 彭慈军, 朱洪江, 梅永, 李雄雄, 李伟男, 遵义医学院附属医院肝胆外科 贵州省遵义市 563003

舒德军, 在读硕士, 主要从事肝脏疾病的研究.

作者贡献分布: 本文撰写主要由舒德军完成; 朱洪江、梅永、李雄雄及李伟男共同参与文献检索及图片收集整理工作; 由彭慈军审核.

通讯作者: 彭慈军, 教授, 主任医师, 563003, 贵州省遵义市大连路201号, 遵义医学院附属医院肝胆外科. pengcijun@gmail.com 电话: 0852-8690580

收稿日期: 2014-10-09 修回日期: 2014-11-04

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

A case of hepatocellular adenoma

De-Jun Shu, Ci-Jun Peng, Hong-Jiang Zhu, Yong Mei, Xiong-Xiong Li, Wei-Nan Li

De-Jun Shu, Ci-Jun Peng, Hong-Jiang Zhu, Yong Mei, Xiong-Xiong Li, Wei-Nan Li, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Correspondence to: Ci-Jun Peng, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 201 Dalian Road, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. pengcijun@gmail.com

Received: 2014-10-09 Revised: 2014-11-04

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

Abstract

A 41-year-old female patient was admitted with right epigastric pain for two years and aggravation for 10 days. He had no history of liver disease, and the alpha-fetoprotein (AFP) level was normal. Contrast-enhanced computed tomography (CT) revealed a space-occupying lesion in the right liver lobe. Surgical exploration was performed, and a diagnosis of hepatocellular adenoma was made by postoperative pathology. No recurrence or metastasis occurred during one year of follow-up. Since hepatocellular adenoma is rare, we discuss the etiology, diagnosis, therapy and prognosis of this disease.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular adenoma; Liver; Diagnosis; Treatment

Shu DJ, Peng CJ, Zhu HJ, Mei Y, Li XX, Li WN. A case of

hepatocellular adenoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5750-5753 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5750.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5750>

摘要

肝细胞腺瘤比较少见, 本文报道1例女性患者, 因“右上腹疼痛2年, 加重10 d”入院. 意外检查CT增强提示肝右叶占位性病变, 不能除外恶性变的可能, 行手术探查及病理确诊为肝细胞腺瘤, 术后随访1年, 无复发及转移. 系统探讨了肝细胞腺瘤的病因、发生机制、诊断、鉴别诊断及治疗等.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝细胞腺瘤; 肝脏; 诊断; 治疗

核心提示: 肝细胞腺瘤(hepatocellular adenoma, HCA)是一种罕见的存在自发性出血倾向及恶变的可能的良性肿瘤, 常无典型的临床表现, 既往无肝病史, 甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)正常, 影响学检查虽难以做到定性诊断, 但可为HCA的诊断提供线索. 镜下表现为富含糖原或充满脂滴的肝细胞排列成片状或条索状, 不形成腺泡结构, 无细胞异型及核分裂象, 缺乏胆管及Kupffer细胞, 免疫组织化学示特异性标志物AFP阴性及CD34阳性.

舒德军, 彭慈军, 朱洪江, 梅永, 李雄雄, 李伟男. 肝细胞腺瘤1例. *世界华人消化杂志* 2014; 22(36): 5750-5753 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5750.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5750>

0 引言

肝细胞腺瘤(hepatocellular adenoma, HCA)亦称肝腺瘤(HA), 是一种罕见的存在自发性出血倾向及恶变的可能的良性肿瘤, 常无典型的临床表现, 单发多见, 偶有多发. 病因不明, 多数HCA患者为有口服避孕药史的育龄期女性. 术前诊断较困难, 易误诊为原发性肝癌、肝脏局灶性结节增生、肝血管瘤. 是肝胆外科医生面临的

■背景资料

肝细胞腺瘤, 是一种临床少见的肝脏良性肿瘤, 临床表现缺乏特异性, 目前病因不明, 与来源于肝脏的其他肿瘤鉴别较困难, 易误诊为原发性肝癌、肝脏局灶性结节增生、肝血管瘤. 有恶变和发生破裂出血可能, 因此, 一旦确诊或考虑本病, 应予以手术切除.

■同行评议者

王阔, 教授, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

■ 研发前沿

目前临床报道较少,但有增多趋势,究其原因可能与应用避孕药物的增加有关,肝细胞腺瘤生长缓慢,往往体检或剖腹探查发现,随着肿瘤逐渐增大,可出现腹胀、隐痛或恶性等压迫症状。

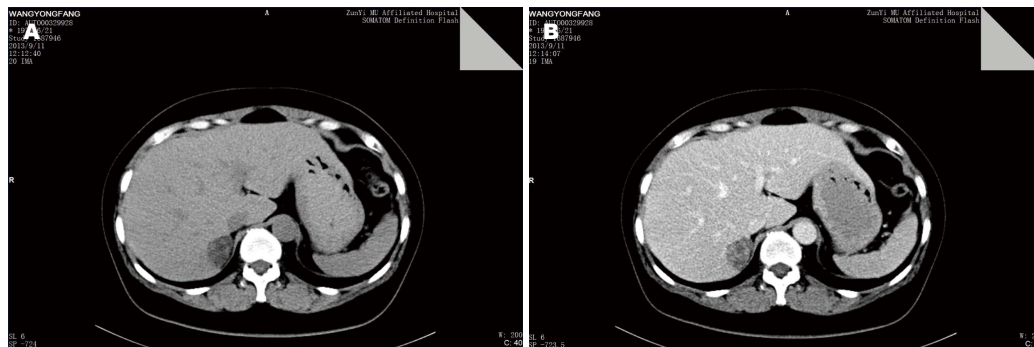


图1 右肝后叶肝细胞腺瘤的CT表现. A: CT平扫右叶后下段可见类圆形低密度影,密度欠均匀,边界清楚; B: CT增强病灶呈结节状持续强化。

诊治难点. 因此, 我们有必要提高对肝细胞腺瘤临床病理特点、诊疗方法的认识。

1 病例报告

女, 41岁, 因“右上腹疼痛2年, 加重10 d”入院. 既往有高血压病史2年, 无口服避孕药、肝炎病史. 查体: 体温 36.5 °C, 脉搏 100次/min, 呼吸 20次/min, 血压180/106 mmHg, 体质量80 kg. 皮肤巩膜无黄染, 腹平软, 右上腹浅压痛, 无反跳痛及肌紧张, Murphy征阴性, 肝脾肋下未触及, 移动性浊音阴性, 肠鸣音3-5次/min. 实验室检查: 甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)3.08 Iu/mL, 糖链抗原-199(carbohydrate antigen199, CA-199)1678.00 U/mL, 糖链抗原-125(carbohydrate antigen125, CA-125)45.2 U/mL, 乙型肝炎表面抗体(hepatitis B surface antibody, HBsAb)、乙型肝炎e抗体(hepatitis B e antibody HBeAb)、乙型肝炎c抗体(hepatitis B c antibody, HBcAb)均为阳性, γ -谷氨酰基转移酶47 U/L, 尿酸381 μ mol/L, 甘油三酯2.18 mmol/L, 总胆固醇5.46 mmol/L, 极低密度脂蛋白3.37 mmol/L, 血糖7.01 mmol/L, 转氨酶、凝血功能、丙型肝炎抗体等均正常, 肝功能评分为Child A级. 影像学检查: 胸片、心电图未见异常. B型超声检查提示考虑胆囊结石并胆囊炎, 脂肪肝. 计算机断层扫描(computed tomography, CT)检查提示肝右叶占位性病变, 考虑血管平滑肌脂肪瘤(图1).

因患者有明确的症状、体征, 且肝右叶包块性质不明确, 本拟行经皮肝脏穿刺活组织检查, 但患者拒绝, 选择手术治疗. 手术记录肝脏色泽正常, 胆囊大小约100 mm \times 70 mm \times 30 mm, 张力高, 质硬. 术中剖开胆囊见脓性胆汁, 胆囊内见一枚直径约10 mm的结石. 探查发现右肝后叶脏面靠近下腔静脉处可扪及30 mm \times 20 mm大

小的包块, 包膜欠完整, 明显凸起, 质地偏硬, 与周围边界清楚. 明确病变范围后距包块边缘约2 cm处行右肝后叶包块摘除术, 术毕剖开肿瘤, 呈灰黄色, 包膜完整, 与周围组织分界清楚. 送检右肝后叶包块术后病理学诊断: 右肝后叶肝细胞腺瘤. 免疫组织化学: AFP(局灶+); CD34(血管+); 细胞角蛋白(cytokeratin, CK)(-); CK19(-); hepatocyte(-); 雌激素受体(estrogen receptor, ER)(-); 孕激素受体(progesterone receptor, PR)(散在+); 过碘酸-银六胺(periodic acid schiff reaction, PAS)(-)(图2). 术后患者恢复良好, 未出现围手术期并发症, 复查AFP 2.48 Iu/mL, CA199 65.10 U/mL, CA125 52 U/mL, 治疗2 wk后痊愈出院, 随访1年, 无复发及转移.

2 讨论

HCA是一种罕见的肝脏良性肿瘤, 1958年Edmondson最早将肝细胞腺瘤定义为不含胆管且有包膜的肝脏肿瘤. 肝细胞腺瘤的发病率在北美及欧洲3/10万-4/10万, 在亚洲国家发病较低, 85%左右发生于女性, 上世纪60、70年代随着口服避孕药的广泛应用而被认识^[1]. 国外患者多有口服避孕药物史, 且部分患者停药后HCA可以自然消退, 多数学者认为此类HCA与长期口服避孕药有密切关系, 亦是其病因之一. 国内患者多无口服避孕药物史, 发病原因可能与代谢性疾病相关, 亦不排除自发性HCA的可能. 目前认为HCA发生可能有以下几种原因: (1)长期口服避孕药可能使肝细胞坏死, 促使肝细胞增生导致HCA发生; (2)继发于肝硬化或其损伤, 如梅毒、感染、静脉充血等所致的代偿性肝细胞结节增生; (3)源于胚胎发育期与正常组织结构脱离联系的孤立性肝胚胎细胞团; (4)近年来有发现糖原代谢病(I型与IV型)、Fanconi贫血、

■ 相关报道

据报道长期服用避孕药物者该病的发病率为(3-4)/1万, 而在不服用避孕药及服用避孕药史短于2年的妇女该病的发病率仅为1/100万. 另有研究报道, 肝细胞腺瘤的进展可能与肥胖有关.

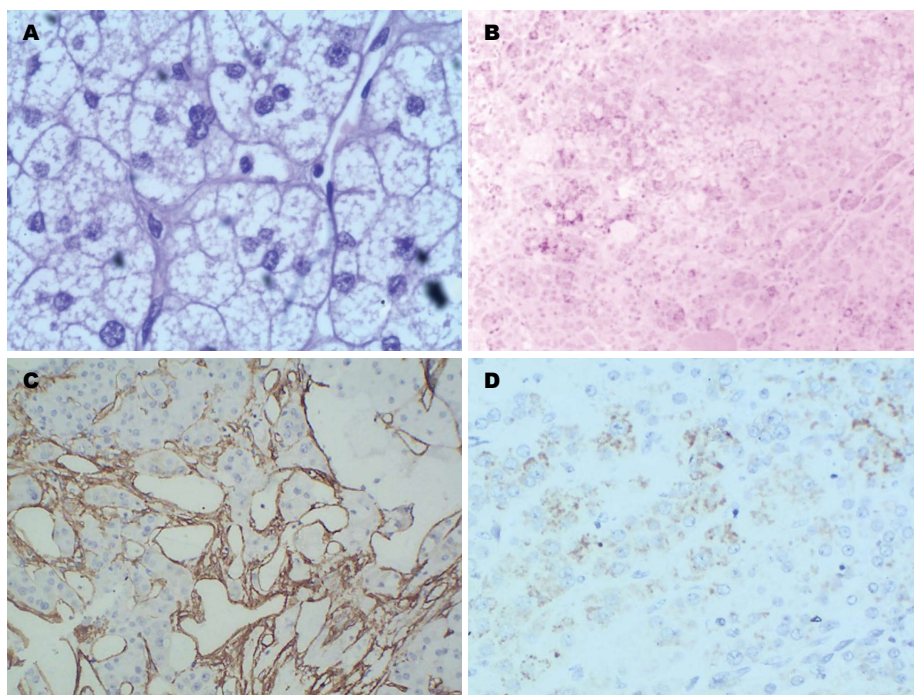


图2 右肝后叶肝细胞腺瘤病理图. A: 肿瘤包膜完整, 边界清楚, 包膜内细胞水肿, 可见丰富的血窦、少量双核细胞及巨核细胞, 细胞未见明显核分裂, 局部间质少量淋巴细胞浸润(HE×10); B: 脂肪变性(HE×10); C: CD34(+)示毛细血管瘤化(SAP×200); D: AFP示局灶阳性(SAP×400).

Hhurler病、严重混合性免疫缺陷病(severe combined immunodeficiency, SCID)、糖尿病、半乳糖血症和皮质类固醇、丹那唑、酰胺咪唑类等代谢性疾病及药物导致广泛肝损害和血管扩张引起HCA的发生^[2]. 另有研究报道, 肝细胞腺瘤的进展可能与肥胖有关^[3].

2.1 诊断及鉴别诊断 HCA发病隐匿, 临床表现出缺乏特异性, 实验室检查指标多无异常, 影像学检查不典型, 术前诊断失误率高, 容易误诊, 主要依靠影像学检查诊断. 术前通过B超、CT、MRI与DSA等影像学检查大多仅能明确肝占位病变的部位、大小, 了解其与肝内、肝周重要血管的关系, 虽难以做到定性诊断, 但可为HCA的诊断提供线索. 总结国内外相关文献, 以下几点可考虑诊断HCA: (1)生育期妇女, 有长期口服避孕药者; (2)无慢性病毒性肝炎病史和肝硬化背景, 无恶性肿瘤消耗表现; (3)实验室检查HBV及HCV阴性, AFP、肝功能正常; (4)影像学检查肝脏有单一的占位病变, B超、CT提示为等密度或低密度, CT增强或血管造影为边界清楚的高密度影和血湖征, 周围有透明环, MRI早期强化、不均匀, 中央出血、坏死^[4]; (5)精确定位下进行细针穿刺活检, 结果阳性可确诊, 但属于有创性检查, 阴性亦不能排除诊断. 临床上HCA需与高分化肝细胞腺癌、局灶性结节

性增生(focal nodular hyperplasia, FNH)及肝血管瘤相鉴别. 这对治疗和判断预后具有重要意义. 肝癌患者则多有乙型肝炎病史、肝硬化背景, 60%-70%的患者伴AFP升高以及乙型肝炎或丙型肝炎病毒指标阳性等特点, CT表现为低密度影, 增强动脉期强化明显, 门静脉期和静脉期呈低密度影, 或称“快进快出”表现. FNH病灶往往较小, 可多发、无包膜、无出血, 影像检查呈均质改变. 典型FNH具有特征性星状瘢痕组织, 并将肝脏组织分隔成结节状, 当HCA中央有出血坏死时, 也可出现类似中央瘢痕的表现, 但FNH的中央瘢痕增强扫描示延迟期多强化, 而HCA的中央坏死区各期均无强化. 肝血管瘤CT典型表现为平扫呈低密度, 增强后从病灶边缘强化并向中心充盈, 延迟后呈等或稍高密度影, 或称“早进晚出”或“晚进晚出”表现. 本HCA患者术前未能明确诊断, 最终通过手术探查和病理检查确诊为右肝后叶肝细胞腺瘤, 镜下表现为富含糖原或充满脂滴的肝细胞排列成片状或条索状, 不形成腺泡结构, 无细胞异型及核分裂象, 缺乏胆管及Kupffer细胞^[5]. 病灶内部可能有出血或坏死表现. 免疫组织化学AFP阴性及CD34阳性有助于辅助诊断. 肿瘤切除术后病理检查是诊断本病的金标准. 术中冰冻检查可提升对病变良恶性的判断, 进一步指导手术过

■创新盘点

本研究对肝细胞腺瘤进行系统性报道, 对指导临床运用具有一定价值, 同时指出, 对于普通群众来说, 加强自身身体锻炼并定期体检或普查是预防本病的关键.

■名词解释

“快进快出”: 动脉期成结节状强化, 门静脉及平衡期成低密度/信号, 见于肝癌;

“早出晚归”: 动脉期从周边开始强化, 不断向中央充填, 平衡期等密度/信号, 见于肝血管瘤.

■同行评价

本文介绍1例肝细胞腺瘤患者情况及其诊疗过程,并分析了该病种的具体情况,整篇文章内容丰富,逻辑合理,具有临床指导价值。

程中切除病变的范围。

患者术前存在胆绞痛,术中证实为慢性结石性胆囊炎,由于缺乏其他特异性临床表现,AFP阴性,但肿瘤标志物CA199高,乙型肝炎五项提示慢性乙型肝炎恢复期,B超检查未发现肝脏病变,进一步行上腹部CT意外发现肝右叶血管平滑肌脂肪瘤不能除外而引起注意,导致术前误诊,被误诊为肝脏的恶性肿瘤,最终通过术后病理学检查才得以确诊。对于本病的漏诊、误诊,分析原因有:(1)肝细胞腺瘤发病率低,临床少见,缺乏典型的临床症状;(2)诊治医生对本病的诊断与手术治疗缺乏实际经验或认识不足,未引起足够重视;(3)临床缺乏特异性诊断方法,单靠实验室检验和影像学资料结果,难以与原发肝癌相鉴别;(4)患者发病隐匿,B超检查未发现肝脏病变,导致其漏诊。因此,对于临床医生而言,临床表现缺乏特异性,影像学检查难以与原发肝癌鉴别,AFP阴性,同时患者有口服避孕药物史,无慢性病毒性肝炎病史和肝硬化背景,无恶病质表现时,应想到本病的可能,可进一步手术探查并术后标本常规行病理检查及免疫组织化学检查,可降低其漏诊、误诊率。因此在临床工作中有必要提高对肝细胞腺瘤的认识。

2.2 治疗 肝细胞腺瘤发病率较低,发病机制较为复杂、无特殊的临床症状和体征,多为意外发现而就诊,主要的并发症是肿瘤破裂出血和恶变,因而在临床工作上应该引起足够重视。对于普通群众来说,加强自身身体锻炼并定期体检或普查是预防本病的关键。综合国内外文献,本病目前尚无明确的诊断标准和治疗指南。相对

于无症状的孤立性腺瘤,一般认为直径>5 cm者应手术切除,以减少出血和癌变风险;直径<5 cm者且无症状者可定期行AFP及影像学检查,如继续增大则行手术。对于不适合行手术治疗患者,射频消融及肝动脉栓塞也可治疗肝细胞腺瘤。对于进行性肝衰或恶变者应采取肝移植治疗。由于本病缺乏典型临床及影像学表现,术前很难与肝细胞癌相鉴别,且肝细胞腺瘤有出血及恶变的可能。在宁可误诊也不放过肝细胞癌的心理作用下^[6],建议无手术禁忌的患者一经发现立即行手术治疗,切除的方式可根据肿瘤的大小和位置选择肝叶、肝段或不规则肝切除术,术后密切随访。

3 参考文献

- 1 Shanbhogue A, Shah SN, Zaheer A, Prasad SR, Takahashi N, Vikram R. Hepatocellular adenomas: current update on genetics, taxonomy, and management. *J Comput Assist Tomogr* 2011; 35: 159-166 [PMID: 21412084 DOI: 10.1097/RCT.0b013e31820bad61]
- 2 李越华,王炳煌,李立春,朱红,王琳.肝细胞腺瘤的诊断和治疗. *中华肝胆外科杂志* 2005; 11: 39-41
- 3 安松林,王黎明,荣维淇,吴凡,余微波,刘发强,冯莉,田斐,吴健雄.肝细胞腺瘤的临床诊治及文献复习. *肝胆胰外科杂志* 2013; 25: 448-455
- 4 杨维良,张东伟,张好刚,张浩明,赵志,裴建华.肝细胞腺瘤47例的诊断与外科治疗. *中华普通外科杂志* 2011; 26: 849-852
- 5 Cho SW, Marsh JW, Steel J, Holloway SE, Heckman JT, Ochoa ER, Geller DA, Gamblin TC. Surgical management of hepatocellular adenoma: take it or leave it? *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 2795-2803 [PMID: 18696154 DOI: 10.1245/s10434-008-0090-0]
- 6 郭曦,唐继红,付必莽,董丽英,唐波,李春满,胡明道,张捷.肝脏少见良性占位性病变45例. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2724-2727

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



超声内镜诊断胰腺内分泌肿瘤2例

艾启雄, 吴会超

艾启雄, 遵义医学院研究生学院 贵州省遵义市 563003
吴会超, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省遵义市 563003

艾启雄, 医师, 主要从事电子内镜与超声内镜的研究.

作者贡献分布: 本文写作及相关文献查阅由艾启雄完成; 诊断思路及指导文章修改由吴会超完成.

通讯作者: 吴会超, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 563003, 贵州省遵义市大连路149号, 遵义医学院附属医院消化内科.

wuhuichao985@163.com

电话: 0852-8608155

收稿日期: 2014-06-27 修回日期: 2014-10-29

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2014-12-28

Two cases of pancreatic endocrine tumors diagnosed by endoscopic ultrasonography

Qi-Xiong Ai, Hui-Chao Wu

Qi-Xiong Ai, Graduate School of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Hui-Chao Wu, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Correspondence to: Hui-Chao Wu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. wuhuichao985@163.com

Received: 2014-06-27 Revised: 2014-10-29

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

Abstract

This paper reports two cases of pancreatic endocrine tumors with repeated hypoglycemia as the main clinical manifestation, both of which had been misdiagnosed as epilepsy. No obvious lesions of the pancreas were revealed by abdominal computed tomography and color Doppler ultrasound. Endoscopic ultrasonography (EUS) revealed a pancreatic endocrine tumor located in the body in both cases, and the diagnosis was confirmed by postoperative pathology. EUS is of high value for the diagnosis of pancreatic endocrine tumors.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic ultrasonography; Pancreatic endocrine tumors; Insulinoma

Ai QX, Wu HC. Two cases of pancreatic endocrine tumors diagnosed by endoscopic ultrasonography. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5754-5756 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5754.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5754>

摘要

本文报告2例患者均以反复发作低血糖为临床特点, 均曾误诊为癫痫, 行上腹部计算机断层扫描(computerized tomography)及腹部彩色多普勒超声(abdominal color Doppler ultrasound)均提示胰腺未见明显病变, 行超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)考虑为胰腺内分泌肿瘤(pancreatic endocrine tumor, PET). 术后病理证实为胰岛细胞瘤. EUS对PET具有较高诊断价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 超声内镜; 胰腺内分泌肿瘤; 胰岛细胞瘤

核心提示: 本文报告胰腺内分泌肿瘤(pancreatic endocrine tumor)2例, 通过病史、实验室、影像学、内镜学、病理学检查结合相关文献进行分析讨论, 提高对该病的认识, 减少误诊率.

艾启雄, 吴会超. 超声内镜诊断胰腺内分泌肿瘤2例. *世界华人消化杂志* 2014; 22(36): 5754-5756 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5754.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5754>

0 引言

胰腺内分泌肿瘤(pancreatic endocrine tumor, PET)是源发于胰腺多能神经内分泌干细胞的一类肿瘤, 临床较少见, 症状复杂多样, 可由良性逐渐发展为恶性, 病程缓慢, 易与内分泌原发疾病混淆, 根据临床有无症状及其分泌的激素水平, 可分为功能性及无功能性两类: 前者包括胃泌素瘤(gastrinomas)、胰岛素瘤(insulinoma)、胰高血糖素瘤(glucagonoma)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide)瘤、生长抑素瘤(somatostatinoma)、生长因子释放因子(growth-

■背景资料

超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)自1980年在美国首次取得成功, 越来越广泛地应用于临床, 很多研究表明EUS对诊断胃肠道及十二指肠壶腹部肿瘤、肿瘤浸润深度及有无远处转移有较大的临床意义, 但关于EUS对胰腺小的肿瘤, 特别是对其定位意义评价较少.

■同行评议者

杨薇, 副教授, 副主任医师, 北京大学肿瘤医院超声科

■研发前沿

提高EUS对胰腺肿瘤定位,必要时行细针穿刺活检,进一步指导手术中仍是目前研究重点.

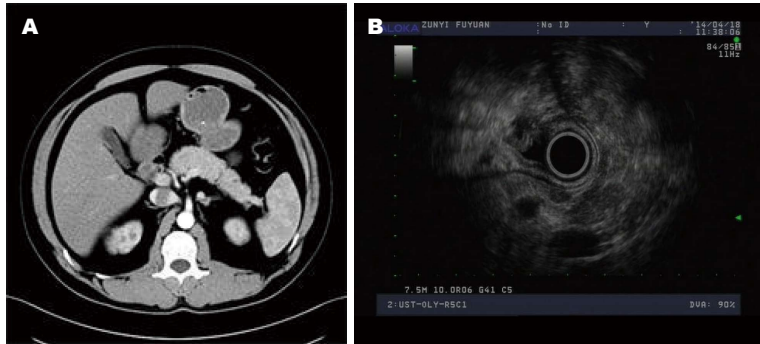


图1 病例1的CT及超声内镜表现. A: CT胰腺未见明显异常; B: 超声内镜下胰腺尾部低回声病变.

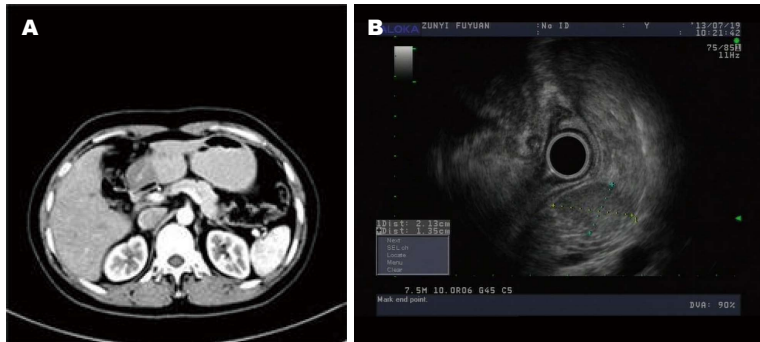


图2 病例2的CT及超声内镜图像. A: CT胰腺未见明显异常; B: 超声内镜下胰腺体部稍低回声病变.

hormone releasing factor)瘤、促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)瘤、胰多肽(pancreatic polypeptide)瘤、致类癌综合征PET、致高血钙综合征PET等10种^[1,2],无功能性是指无症状,激素分泌水平低^[1].临床医生对本病认识普遍不足,易延误或漏诊,常见误诊为癫痫、脑血管病、癔症、精神分裂症等,导致患者长期误诊误治,甚至出现严重的不可逆的损害^[3],该患者群发病率约在(4-5)/100万,仅占胰腺发病率的1%-2%^[1],可发生于任何年龄,男女比例约为13:9^[4],近年来有逐渐增加趋势,本文分析反复低血糖发作,误诊为癫痫患者的诊治过程,以期提高对PET的诊疗,减少误诊率.

1 病例报告

病例1:女,49岁,因“反复乏力、意识丧失2年,加重1 mo”于2013-07-15就诊于遵义医学院附属医院内分泌科,2年前开始出现反复突发全身乏力,神志丧失,呼之不应,好发于凌晨5点至6点,每次持续时间不等,无大小便失禁,无口角偏斜,就诊于当地某医院,考虑为“癫痫”,予“抗癫痫药物”治疗后未见明显好转.1 mo前上诉症状再发加重,持续时间延长,多次末梢血糖为2.2-2.9 mmol/L之间,入院后查空腹C肽:1462.4 pmol/L,胰岛素:25 μIU/mL;餐后2 h C肽:1328.2 pmol/L,胰岛素:22.2 μIU/mL,发作时给予10%葡萄糖注射液静推后,症状可迅速缓解,

腹部彩超未见胰腺病变,上腹部计算机断层扫描(computerized tomography, CT)提示胰腺未见明显病变(图1A).行超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)提示:胰尾见2.0 mm×1.4 mm稍低回声病变(图1B),考虑PET,于2013-07-30开腹行胰体尾部切除术+脾脏切除术后血糖恢复正常,症状未再发,术后病理提示:胰尾部胰岛细胞瘤.

病例2:男,33岁,因“反复低血糖发作2年”于2014-04-12就诊于遵义医学院附属医院内分泌科.2年前,因晚餐进食较少,夜间出现头昏、心慌、冷汗,进而出现意识障碍,小便失禁,先后就诊于中国人民解放军第三军医大学附属医院及遵义医学院附属医院神经内科,均考虑“癫痫”,予“抗癫痫药物”治疗1年后无缓解.入院后查随机末梢血糖:3.2 mmol/L,空腹C肽:2864.6 pmol/L,空腹胰岛素:74.5 μIU/mL;餐后2 h C肽:3009.6 pmol/L,胰岛素:162.4 μIU/mL,腹部彩超未见胰腺病变,上腹部CT平扫+增强未见明显异常(图2A).脑电图为轻度异常脑电图.根据患者长期反复低血糖发作,考虑胰岛细胞瘤,行EUS检查提示:胰腺体部占位病变考虑为PET(图2B),于2014-04-29于遵义医学院附属医院肝胆外科开腹行胰颈体部部分切除术+远端胰空肠Roux-en-Y吻合术+胃造瘘术后血糖恢复正常,精神症状未再发,术中、术后病理示:胰颈体部胰岛细胞瘤.

■相关报道

胰岛素瘤是最常见的胰腺内分泌肿瘤(pancreatic endocrine tumor, PET),最常见发病部位为胰体部,外科手术为唯一有效治疗手段.治疗效果一般较好.

2 讨论

胰岛细胞瘤又称胰岛素瘤, 是一种源自胰岛B细胞的一类肿瘤, 以分泌大量胰岛素而引起发作性低血糖症候群为临床特征的疾病, 胰岛素瘤是最常见的一种PRT, 年发病率为(0.5-1.0)/百万, 可见于任何年龄, 平均发病年龄为55岁. Nicholis于1902年首先在尸检中发现胰岛素瘤; 1920年Roscoe Graham首先用切除胰岛素瘤治疗“自发性低血糖”获得成功^[4]. 胰岛细胞瘤约占胰岛肿瘤的70%-75%, 占全部神经内分泌肿瘤的15%^[5], 临床表现除Whipple三联征即: (1)自发性周期性发作低血糖症状、昏迷及其精神神经症状, 每天空腹或劳动后发作者; (2)发作时血糖低于2.78 mmol/L; (3)口服或静脉注射葡萄糖后, 症状可立即消失外, 还可表现意识障碍、精神异常等. 临床症状、血浆胰岛素水平、EUS等有助诊断, 手术切除病理活检及免疫组织化学检查可确诊. 胰岛素瘤应注意与癫痫、脑血管意外、癔症、精神分裂症及其他病因所致的低血糖症相鉴别, 本文两例患者均曾误诊为癫痫, 是因部分患者发作时有癫痫的共性: 发作性、短暂性、重复性、刻板性. 也有癫痫发作的个性: 突然发病、意识丧失、四肢抽动等, 发作时因低血糖功能障碍, 脑部也会有神经元异常放电^[3]. 有些癫痫患者亦可能存在功能性低血糖^[6], 更易造成误诊. 但患者服用抗癫痫药物后未见明显好转, 空腹及多次末梢血糖均明显低于正常值, 则应考虑该病的可能^[7]. 外科手术切除是治疗胰岛素瘤唯一有效的方法^[8], 一经诊断明确后均应及时手术治疗, 因此, 胰岛细胞瘤的定位、定性诊断对以后的治疗起重要作用, 但大多数的胰岛素瘤直径<2 cm, 且大都位于胰腺的实质内, 与周围组织密度相似, 术前定位及定性较难. EUS

相较CT、核磁共振成像(magnetic resonance imaging)等影像学检查, 具有相对高的诊断率, 特别是对小的胰岛素瘤的定位、定性具有重要意义^[9]. 主要影像学表现为: 圆形或类圆形相对于胰腺实质呈均匀低回声区域, 常伴有光滑的高回声边缘^[10], 胰岛素瘤经手术治疗后预后较好, 切除肿瘤可使临床症状终止. 本文两例患者手术切除肿瘤后血糖恢复正常水平, 精神症状消失, 说明诊断的正确与否对治疗胰岛素瘤具有重要意义.

3 参考文献

- Oberg K. Pancreatic endocrine tumors. *Semin Oncol* 2010; 37: 594-618 [PMID: 21167379 DOI: 10.1053/j.seminoncol.2010.10.014]
- Halfdanarson TR, Rubin J, Farnell MB, Grant CS, Petersen GM. Pancreatic endocrine neoplasms: epidemiology and prognosis of pancreatic endocrine tumors. *Endocr Relat Cancer* 2008; 15: 409-427 [PMID: 18508996 DOI: 10.1677/ERC-07-0221]
- 赵玉沛, 丛林, 张太平, 廖泉, 戴梦华, 刘子文, 蔡力行, 朱预. 胰岛素瘤404例诊治分析. *中国实用外科杂志* 2008; 28: 357-359
- Marks V, Teale JD. Tumours producing hypoglycaemia. *Endocr Relat Cancer* 1998; 5: 111-129 [DOI: 10.1677/erc.0.0050111]
- 朱预. 胰岛素瘤诊治的进展. *中国实用外科杂志* 1988; 8: 29-30
- 苏长海, 范卫明, 高锡妮. 癫痫患者葡萄糖耐量试验及其临床意义. *中国神经精神疾病杂志* 1989; 15: 231-232
- 赵玉沛, 王欣, 杨波, 肖毅, 蔡力行, 钟守先, 朱预. 220例胰岛素瘤诊治分析. *中华外科杂志* 2000; 38: 10-13
- 赵玉沛, 张太平. *胰腺病学*. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 559-569
- 孙明军, 王雪梅, 傅宝玉, 姜若兰, 朝苍澈, 下瀚川澈, 小泉胜, 丰田隆谦. 超声内镜对胰岛素瘤的诊断价值. *中国医科大学学报* 1998; 27: 601-603
- Koito K, Namieno T, Nagakawa T, Morita K. Splenic artery prior to rupture in the pancreatic pseudocyst: detection by endoscopic color Doppler ultrasonography. *J Ultrasound Med* 1996; 15: 721-724 [PMID: 8887245]

■创新盘点

本文详细报告了两例患者的误诊、诊断及治疗经过, 引起内科医师对该病的重视, 避免因误诊导致患者经济、身体的损伤.

■同行评价

本文总结了2例通过EUS诊断PET并手术治疗的病例, 提供了比较详细的病史及辅助诊断. 显示了EUS有助此类病变检出的独特优势, 具有临床应用价值.

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology, WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》,

《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类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 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如 $37.6\text{ }^\circ\text{C} \pm 1.2\text{ }^\circ\text{C}$, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 应为 $3.56\text{ ng/L} \pm 0.27\text{ ng/L}$. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $1 \times 10^9/\text{L}$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r 明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 与 $5 \times 10^{-7}\text{ g}$ 之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量 γ 改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 95 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数±标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用^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 $P < 0.01$; 第三套为^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ 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 ± 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6 347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 ± 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 ± 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm ± 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 → 23.5 → 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≤分母≤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致谢中. 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. wjcd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材

料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个数、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。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。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/>

tgxz.pdf。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该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、补充或删节时, 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!

柏愚 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院

刘成海 教授
上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病研究所

陈钟 主任医师
南通大学附属医院普外科

刘杰民 副主任医师
贵州省人民医院消化内镜科

丁士刚 主任医师
北京大学第三医院

刘绍能 主任医师
中国中医科学院广安门医院

傅晓辉 副教授
上海东方肝胆外科医院

卢晓梅 教授
新疆医科大学第一附属医院医学研究中心

管樑 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院核医学科

麻勇 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院

郭长江 研究员
中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

秦建民 主任医师
上海中医药大学附属普陀医院

胡国信 副教授
北京大学深圳医院

王德盛 教授
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

黄成 副主任医师
复旦大学附属中山医院

王富春 教授
长春中医药大学

黄志勇 副教授
华中科技大学同济医学院附属同济医院肝脏外科中心

王晓锋 副主任医师
中国中医科学院广安门医院

姜又红 教授
中国医科大学附属第一医院

夏时海 教授
武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心)

李瀚旻 教授
湖北省中医院(湖北中医药大学附属医院)

许玲 教授
上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

李健丁 教授
山西医科大学第一医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

李孟森 教授
海南医学院海南省肿瘤发生和干预重点实验室

张进祥 主任医师
华中科技大学同济医学院附属协和医院

李胜 研究员
山东省肿瘤防治研究院

张佃 主任医师
天津医科大学肿瘤医院肝胆外科

《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，研究工作量大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

