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

世界华人消化杂志

世界华人消化杂志®

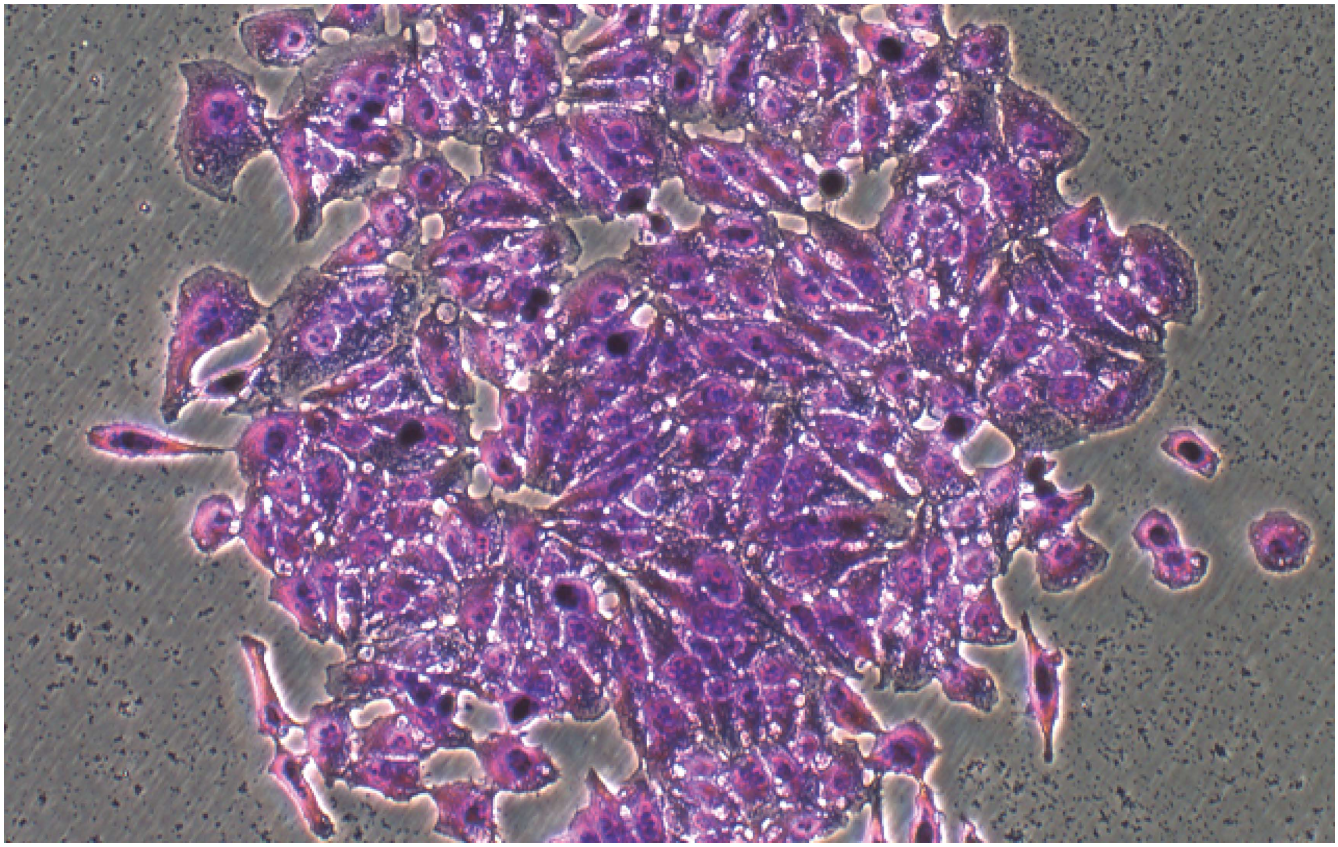
WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2015 年 1 月 18 日　第 23 卷　第 2 期　(Volume 23 Number 2)

www.wjgnet.com

二零一五年一月十八日　第二十三卷　第二期



2/2015

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

ISSN 1009-3079
02>
9 771009 307056

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2015-01-01/2017-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员，由410位专家组成，分布在中国29个省市，自治区，特别行政区和美国．其中，上海市76位、北京市62位、江苏省28位、广东省25位、辽宁省21位、陕西省18位、黑龙江省16位、山东省13位、湖北省12位、吉林省12位、天津市12位、浙江省11位、福建省10位、湖南省9位、四川省9位、广西壮族自治区8位、贵州省8位、新疆维吾尔自治区8位、河北省7位、江西省7位、安徽省6位、云南省6位、重庆市5位、甘肃省2位、海南省2位、河南省2位、山西省2位、内蒙古自治区1位、香港特别行政区1位及美国1位．

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授

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
柏愚副教授
蔡全才副教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈卫刚教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
迟雁副教授
崔立红教授
戴菲副主任医师
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
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
黄杰安主任医师
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
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李兆申教授
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
刘亮明副教授
吕农华教授
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
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
任粉玉教授
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
王承党教授
王良静研究员
王蔚虹教授
夏时海教授
徐灿副教授
徐可树教授
杨建民教授
姚定康教授
于珮主任医师
张国主任医师
张庆瑜教授
张小晋主任医师
郑培永研究员
郑鹏远教授
郑素军主任医师
郅敏副教授
周国雄主任医师
周力主任医师

消化外科学

白松主任医师
白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
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
陈凛教授
陈龙奇主任医师
陈汝福教授
程树群副教授
仇毓东教授
崔清波副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
单云峰主任医师
丁义涛教授
杜顺达副教授
傅红副教授
傅晓辉副教授
高毅主任医师
葛海燕教授
龚建平主任医师
顾国利副主任医师
顾晋教授
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
何向辉教授
胡安斌教授
黄成副主任医师
英卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授
兰平教授
李富宇教授
李革副教授
李华教授
李华山主任医师
李胜研究员
李涛副主任医师
李小荣教授
李旭副教授
李汛教授
李正荣副教授
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
刘金钢教授
刘亮副主任医师
禄韶英副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦华东教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
任宁主任医师
施宝民教授
施诚仁教授
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙星副教授
孙学英教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
唐南洪教授
汪波主任医师
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
王晓锋副主任医师
王永兵主任医师
王悦华副主任医师
王振军教授
王征副主任医师
王铮副研究员
王忠裕教授
吴文溪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

吴晓峰副主任医师
肖卫东副教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨家和主任医师
殷正丰教授
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
袁周副主任医师
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
赵青川主任医师
郑建勇副教授
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
周志祥教授
朱建伟教授
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
陈茂伟教授
丁惠国教授
范学工教授
高润平教授
高泽立副教授
管世鹤教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
兰英华副教授
林潮双副教授
刘纯杰研究员
刘正稳教授
马丽娜主任医师
毛德文教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
谢仕斌主任医师
宣世英教授
杨贵波教授
杨江华副教授
姚鹏主任医师
张明辉主任医师
张一教授
赵秀英副教授
周陶友副教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

杜群研究员
郭潮潭教授
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
马赟副教授
南极星教授
牛英才研究员
司富春教授
斯拉甫•艾白教授
谭周进教授
唐旭东主任医师
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
吴焕淦教授
徐庆教授
许玲教授
袁红霞研究员

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
陈锦飞主任医师
崔杰峰副研究员
代智副研究员
侯凤刚副教授
江建新副主任医师
姜又红教授
蒋敬庭教授
李杰主任医师
李苏宜教授
梁国刚教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
陆斌副教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
史颖弘副教授
王阁教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
徐建明主任医师
杨秋蒙副主任医师
伊力亚尔•夏合丁教授
袁媛教授
张凤春教授
张倜主任医师
郑丽端副教授
周建奖教授
朱永良副研究员

消化影像学

白彬主任医师
管樑主任医师
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授

消化内镜及介入治疗学

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
吴灵飞教授
余日胜主任医师
张火俊副教授
钟良主任医师
诸葛宇征主任医师

消化中西医结合学

陈泽雄主任医师
杜业勤主任医师
唐文富教授
王学美研究员
袁建业副研究员
张春虎副教授
赵岩教授

消化基础研究

曾柱教授
陈敬贤教授
崔莲花教授
邓安梅教授
邓庆副研究员
董玉兰副教授
段义农教授
高国全教授
高英堂研究员
郭俊明教授
郭长江研究员
黄昆教授
黄文林教授
姜宏教授
黎观红教授
李东辉教授
李瀚旻教授
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
李铮教授
刘克辛教授
刘长征副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任浩副教授
沈东炎副教授
沈涛副教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师
田文静副教授
汪思应教授
王明荣研究员
王钦红教授
王书奎教授
王秀伶教授
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
杨金娥副教授
阴赖宏研究员
张红教授
张淑坤副研究员
赵铁建教授
周南进研究员
周晓武副主任医师
朱益民教授
朱争艳研究员

消化病理学

陈云昭副教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
林洁副教授
刘芳芳副主任医师
刘丽江教授
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王娅兰教授
颜宏利教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
郑建明教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2015 年 1 月 18 日　第 23 卷　第 2 期　(总第478期)

基础研究

179 沉默*FABP-5*基因对人肝癌HepG2细胞的影响

周玲丽, 曹骥, 李薇, 罗旺, 杨香娣, 杨春, 骆成飘, 唐艳萍, 李瑗

189 锚蛋白重复序列通过NF-κB信号通路参与肠炎相关肿瘤的调控

王少鑫, 靳宝锋, 崔立红

临床研究

196 幽门螺杆菌药敏培养后四联疗法治疗上消化道疾病的临床效果

卓如平, 陈旭鹏, 吴赛珍, 谢建亮, 胡韶恺

202 大肠癌组织中PIK3CA、PIK3CB蛋白与多药耐药基因产物表达的相关性及其临床意义

温菲菲, 吴淑华, 李扬扬, 高向前, 何双

文献综述

210 胆囊结核的研究进展

舒德军, 彭慈军, 张乔, 梅永, 李伟男, 李雄雄

214 干细胞治疗溃疡性结肠炎的研究进展

徐萌, 范恒

221 儿童炎症性肠病生长发育受损的病因及治疗进展

吴静, 牛俊坤, 缪应雷

229 MAPK信号通路在炎症性肠病中的研究进展

郭灿璨, 邓颖, 叶华, 朱宇珍, 郑学宝

236 腹部手术后谵妄的研究进展

廖勃, 韩曲, 勒义官, 范纪昌, 蒋澄, 谢晓峰, 曾飞

研究快报

243 解毒化瘀健脾方对胃黏膜异型增生*Thbs1*基因甲基化的作用

李志钢, 张伟, 夏宽宏, 孙奇, 纪勇, 李玲

249 化痰消瘀方对胃癌前病变模型大鼠Notch1、β-catenin及PTEN表达的影响

郭亚云, 魏睦新

256 GSK-3β在雷公藤甲素诱导胰腺癌细胞凋亡中的作用

毛振江, 李国庆, 黄靓

临床经验

261 遗传代谢病筛查在婴儿肝炎综合征病因诊断中的意义

刘艳, 黄志华, 徐三清, 黄永建, 周华

267 不同血清25羟维生素D水平慢性乙型病毒性肝炎患者外周血T淋巴细胞亚群的比较

张龙, 褚燕君, 林姝, 王锦

272 超声造影在肝脏局灶性病变良恶性诊断中的临床价值

张煜, 周静, 李明星

278 肝硬化合并上消化道出血采用临床路径管理的体会

李山林, 刘学进, 周洪涛

281 血浆置换联合血液滤过对肝衰竭患者炎症细胞因子的影响

张雪华, 李明, 朱传武, 沈兴华, 朱晓燕

286 血清甲胎蛋白异质体在原发性肝癌中的表达及临床病理学意义

纪凤卿, 滕菁, 郑启忠

291 沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌疗效与安全性的系统评价

陈子瑶, 梁健, 邓鑫

308 泡型肝包虫病患者肝切除术后肝储备功能的评价参数

马荣花, 郭亚民, 朱海宏, 白延霖

313 肝门部胆管癌行肝移植术7例

谭勇, 邱宝安, 夏念信, 杨英祥, 祝建勇, 刘鹏, 安阳, 吴印涛

318 自噬相关蛋白Beclin1、LC3和P62在进展期胰腺癌中的表达及临床意义

张创杰, 张连峰, 周琳

324 黛力新对功能性消化不良患者治疗后焦虑和抑郁的改善作用

郭秋霞, 彭娜, 吕飞, 姜齐宏

328 心率变异性对肠易激综合征患者自主神经功能异常的评估

林秀萍, 钟文洲

332 Peutz-Jeghers综合征患者*STK11*基因突变情况

毛旭燕, 张亚飞, 毛高平, 王海丰, 宁守斌

338 全程健康教育处方在结直肠癌手术患者中的应用效果

辛云辉, 肖翠蓉

343 改良术式治疗耻骨直肠肌综合征的疗效

魏巍, 李荣先, 尚秀娟, 彭昕

348 封闭式负压引流技术治疗Fournier坏疽的临床疗效

徐小平, 蔡晓辉, 张磊, 李晓华, 刘兆辉, 潘渊, 陈冬

353 序贯疗法与含左氧氟沙星四联疗法在首次根除幽门螺杆菌失败后补救治疗的疗效比较

王俊先, 李诚, 王爱平, 程龙生, 刘隽, 杨彩虹, 武良琴, 刁磊, 季巍巍, 陆在华

病例报告

358 腹部闭合伤致门腔静脉系统广泛气体栓塞1例并文献复习

张玉波, 袁亚松, 李佳桂, 刘振坤, 陈立敏, 纪志伟

附　　录	Ⅰ－Ⅴ　《世界华人消化杂志》投稿须知 Ⅰ　2015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	195　《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 201　《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) 228　《世界华人消化杂志》出版流程 235　《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 248　《世界华人消化杂志》参考文献要求 266　《世界华人消化杂志》修回稿须知 271　《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 277　《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 307　《世界华人消化杂志》正文要求 312　《世界华人消化杂志》外文字符标准 323　《世界华人消化杂志》 栏目设置
封面故事	周玲丽, 曹骥, 李薇, 罗旺, 杨香娣, 杨春, 骆成飘, 唐艳萍, 李瑗. 沉默*FABP-5*基因对人肝癌HepG2细胞的影响. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 179-188 http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/179.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.179
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 韦元涛; 形式规范审核编辑部主任 郭鹏; 最终清样审核总编辑 马连生

世界華人消化杂志

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 2015-01-18
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编
程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
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: 13901166126
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group 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》和《Abstracts Journals》收录.

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

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和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

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

January 2015 Contents in Brief Volume 23 Number 2

BASIC RESEARCH

179 Effect of RNA interference targeting *FABP-5* on cell proliferation, apoptosis and invasion in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2

Zhou LL, Cao J, Li W, Luo W, Yang XD, Yang C, Luo CP, Tang YP, Li Y

189 Gankyrin regulates colitis-associated cancer *via* NF-κB signaling pathway

Wang SX, Jin BF, Cui LH

CLINICAL RESEARCH

196 Clinical effects of quadruple therapy based on antimicrobial susceptibility testing in treatment of *Helicobacter pylori* associated upper digestive tract diseases

Zhuo RP, Chen XP, Wu SZ, Xie JL, Hu SK

202 Expression of PIK3CA, PIK3CB and proteins associated with multidrug resistance in colorectal carcinoma

Wen FF, Wu SH, Li YY, Gao XQ, He S

REVIEW

210 Research progress of gallbladder tuberculosis

Shu DJ, Peng CJ, Zhang Q, Mei Y, Li WN, Li XX

214 Advances in stem cell treatment of ulcerative colitis

Xu M, Fan H

221 Impaired growth and puberty in pediatric patients with inflammatory bowel disease: Etiology and treatment

Wu J, Niu JK, Miao YL

229 Role of MAPK signaling pathways in inflammatory bowel disease

Guo CC, Deng Y, Ye H, Zhu YZ, Zheng XB

236 Recent progress in research of postoperative delirium after abdominal surgery

Liao B, Han Q, Le YG, Fan JC, Jiang C, Xie XF, Zeng F

RAPID COMMUNICATION

243 Effect of Jiedu Huayu Jianpi Fang on *Thbs1* gene methylation in gastric mucosal dysplasia in rats

Li ZG, Zhang W, Xia KH, Sun Q, Ji Y, Li L

249 Effect of Huatan Xiaoyu Fang on expression of Notch1, β-catenin and PTEN in precancerous lesions of gastric cancer in rats

Guo YY, Wei MX

256 Role of GSK-3β in triptolide induced apoptosis of pancreatic cancer cells

Mao ZJ, Li GQ, Huang J

CLINICAL PRACTICE

261 Inherited metabolic disease screening in etiological diagnosis of infantile hepatitis syndrome

Liu Y, Huang ZH, Xu SQ, Huang YJ, Zhou H

267 Comparison of peripheral blood T lymphocyte subsets in chronic hepatitis B patients with different serum 25-hydroxyvitamin D levels
Zhang L, Chu YJ, Lin S, Wang J

272 Clinical value of contrast-enhanced ultrasonography in differential diagnosis of benign and malignant focal liver lesions
Zhang Y, Zhou J, Li MX

278 Clinical pathway management in liver cirrhosis complicated with upper digestive tract hemorrhage
Li SL, Liu XJ, Zhou HT

281 Effect of plasma exchange plus hemofiltration on inflammatory cytokines in patients with liver failure
Zhang XH, Li M, Zhu CW, Shen XH, Zhu XY

286 Clinicopathologic significance and expression of serum alpha-fetoprotein variant in patients with primary liver cancer
Ji FQ, Teng J, Zheng QZ

291 Efficacy and safety of thalidomide combined with transcatheter arterial chemoembolization for primary hepatic carcinoma: A systematic review
Chen ZY, Liang J, Deng X

308 Parameters affecting liver functional reserve in patients after hepatectomy for alveolar echinococcosis
Ma RH, Guo YM, Zhu HH, Bai YL

313 Liver transplantation for hilar cholangiocarcinoma: Analysis of 7 cases
Tan Y, Qiu BA, Xia NX, Yang YX, Zhu JY, Liu P, An Y, Wu YT

318 Clinical significance of expression of autophagy-related proteins Beclin1, LC3 and P62 in advanced pancreatic cancer
Zhang CJ, Zhang LF, Zhou L

324 Deanxit improves anxiety and depression in patients with functional dyspepsia
Guo QX, Peng N, Lv F, Jiang QH

328 Relationship between cardiovascular autonomic function and heart rate variability in irritable bowel syndrome
Lin XP, Zhong WZ

332 *STK11* gene mutations in patients with Peutz-Jeghers syndrome
Mao XY, Zhang YF, Mao GP, Wang HF, Ning SB

338 Effect of holistic health education prescription in colorectal cancer patients undergoing surgery
Xin YH, Xiao CR

343 An improved surgical procedure for treatment of puborectalis syndrome
Wei W, Li RX, Shang XJ, Peng X

348 Clinical efficacy of vacuum-sealing drainage in treatment of Fournier's gangrene
Xu XP, Cai XH, Zhang L, Li XH, Liu ZH, Pan Y, Chen D

353 Clinical effects of sequential treatment *vs* quadruple levofloxacin-containing therapy as rescue therapy for first failure of *Helicobacter pylori* eradication
Wang JX, Li C, Wang AP, Cheng LS, Liu J, Yang CH, Wu LQ, Diao L, Ji WW, Lu ZH

CASE REPORT

358 Extensive gas embolism of portacaval system in a patient with blunt abdominal trauma
Zhang YB, Yuan YS, Li JG, Liu ZK, Chen LM, Ji ZW

APPENDIX	Ⅰ – Ⅴ Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* Ⅰ Meeting events calendar in 2015
ACKNOWLEDGMENT	Ⅰ Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Zhou LL, Cao J, Li W, Luo W, Yang XD, Yang C, Luo CP, Tang YP, Li Y.* Effect of RNA interference targeting *FABP-5* on cell proliferation, apoptosis and invasion in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 179-188 http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/179.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.179
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Jin-Li Yan, Zhen-Zhen Du* Electronic Page Editor: *Jin-Li Yan* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Yuan-Tao Wei* Proof Editor: *Peng Guo* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica and Abstract Journals.

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date January 18, 2015

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, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
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: wcjd@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: bpgoffice@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
© 2015 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.

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 179-188
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

沉默*FABP-5*基因对人肝癌HepG2细胞的影响

周玲丽, 曹 骥, 李 薇, 罗 旺, 杨香娣, 杨 春, 骆成飘, 唐艳萍, 李 瑗

周玲丽, 曹骥, 李薇, 罗旺, 杨香娣, 杨春, 骆成飘, 唐艳萍, 李瑗, 广西壮族自治区肿瘤防治研究所实验研究部 广西壮族自治区南宁市 530021
周玲丽, 李薇, 罗旺, 杨香娣, 广西医科大学研究生学院 广西壮族自治区南宁市 530021
周玲丽, 在读硕士, 主要从事肝癌病因学、发病机制的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30960428
作者贡献分布: 此课题由曹骥设计; 研究过程由周玲丽、李薇、罗旺、杨香娣、杨春、骆成飘、唐艳萍及李瑗操作完成; 数据分析与论文写作由周玲丽与曹骥完成.
通讯作者: 曹骥, 副研究员, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西壮族自治区肿瘤防治研究所实验研究部. caojicn@163.com
收稿日期: 2014-10-20 修回日期: 2014-11-09
接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2015-01-18

Effect of RNA interference targeting *FABP-5* on cell proliferation, apoptosis and invasion in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2

Ling-Li Zhou, Ji Cao, Wei Li, Wang Luo, Xiang-Di Yang, Chun Yang, Cheng-Piao Luo, Yan-Ping Tang, Yuan Li

Ling-Li Zhou, Ji Cao, Wei Li, Wang Luo, Xiang-Di Yang, Chun Yang, Cheng-Piao Luo, Yan-Ping Tang, Yuan Li, Research Department of Guangxi Cancer Institute, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Ling-Li Zhou, Wei Li, Wang Luo, Xiang-Di Yang, Graduate School of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30960428
Correspondence to: Ji Cao, Associate Researcher, Research Department of Guangxi Cancer Institute, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. caojicn@163.com
Received: 2014-10-20 Revised: 2014-11-09
Accepted: 2014-11-18 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of recombinant lentiviral mediated RNA interference (RNAi) targeting the fatty acid binding protein-5 (*FABP-5*) gene on cell proliferation, apoptosis and invasiveness in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2, and to explore the possible underlying mechanisms.

METHODS: Three vectors carrying short hairpin RNAs (shRNAs) targeting the *FABP-5* gene (FABP-5-shRNA expression vectors) were constructed and selected for the most effective one. HepG2 cells were divided into three groups: an experimental group, a normal control group and a negative control group. For the experimental group, HepG2 cells were transfected with the recombinant lentiviral vector (LV-shRNA-FABP-5), the negative control group was transfected with a control lentiviral vector (LV-shRNA-NC), and the normal control group did not undergo any treatment. The mRNA level of *FABP-5* was analyzed by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR). The relative expression of FABP-5 protein was analyzed by Western blot. Cell proliferation was detected by MTT assay, cell colony formation was detected by Giemsa staining, cell invasion ability was assessed using the cell invasion chamber method, and cell cycle and apoptosis were observed by flow cytometry (FCM).

RESULTS: FABP-5-shRNA expression vectors were transfected into HepG2 cells, and fluorescence analysis indicated that > 90% of cells showed fluorescence signal. Compared with the normal control group and negative control group, *FABP-5* mRNA and protein expression was significantly down-regulated in cells transfected with the three shRNA carrying vectors, with the LV-shRNA-FABP-5 having the highest efficiency ($P < 0.05$). HepG2 cell transfected with the FABP-5-shRNA had significantly reduced proliferation and invasion compared with the other two groups ($P < 0.05$). Flow cytometry analysis showed that the experimental group showed obvious apoptosis ($P < 0.05$). The percentage of cells in G_2/M phase significantly increased in cells transfected with the FABP-5-shRNA ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The high expression of the *FABP-5* gene could be silenced by RNAi, and RNAi-induced *FABP-5* knockdown could effectively inhibit the proliferation and invasion of HepG2 cells, block the cell cycle in G_2/M phase, and significantly increase cell apoptosis.

■背景资料
肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)在人类癌症中排明前十, 死亡率极高, 绝大部分患者就诊时已属晚期, 具有发病率高、预后较差、目前尚无有效治疗手段等特点. 及早研究促进肝癌发生发展的关键分子, 并进行有效干预对于改善肝癌患者的预后具有重要作用.

■同行评议者
姚登福, 教授, 南通大学附属医院

■研发前沿
脂肪酸结合蛋白为一族小的、高度保守的结合长链脂肪酸等疏水性配体的胞质蛋白，其中表皮型即为表皮脂肪酸结合蛋白-5(fatty acid binding protein-5, FABP-5)，能结合和转运各种疏水性配体，参与肿瘤生长相关的信号转导. 近年来，越来越多的研究发现FABP-5与肿瘤的发生发展、恶性转化密切相关.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver cancer; RNA interference; *FABP-5*

Zhou LL, Cao J, Li W, Luo W, Yang XD, Yang C, Luo CP, Tang YP, Li Y. Effect of RNA interference targeting *FABP-5* on cell proliferation, apoptosis and invasion in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 179-188 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/179.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.179

摘要

目的: 研究RNA干扰技术的重组慢病毒载体沉默人肝癌HepG2细胞中表皮脂肪酸结合蛋白-5(fatty acid binding protein-5, *FABP-5*)基因对其增殖、凋亡和侵袭力的影响及作用机制.

方法: 构建3个靶向*FABP-5*基因shRNA载体，并筛选出最有效的靶点. 将HepG2细胞分为3组: 实验组用*FABP-5*基因沉默重组慢病毒颗粒(LV-shRNA-FABP-5)感染HepG2细胞; 阴性对照组用空载慢病毒颗粒(LV-shRNA-NC组)感染HepG2; 空白对照组正常培养. 应用RT-PCR、实时荧光定量PCR检测*FABP-5*基因mRNA的表达; Western blot技术检测各组细胞FABP-5蛋白的相对表达; MTT法测定细胞体外增殖能力; Giemsa染色法检测细胞的克隆形成; 细胞侵袭小室法检测各组细胞的体外侵袭力; 流式细胞技术(flow cytometry, FCM)检测各组细胞增殖和凋亡的变化情况.

结果: 通过测序验证构建的FABP-5-shRNA表达载体，感染人肝癌HepG2细胞，荧光显微镜观察到细胞感染率>90%. Real-time PCR和Western blot结果得出: 相比空白对照组和阴性对照组，实验组的3种靶点FABP-5-shRNA干扰序列中，LV-shRNA-FABP-5(1)靶点中*FABP-5*表达的敲减率最高(P<0.05)，筛选出此组为最佳靶点; MTT法结果提示: 实验组细胞490 nm处的吸光度(A)值在转染后第1-5天时均低于阴性对照组、空白对照组，差别有统计学意义(P<0.05). Giemsa染色法结果显示: 稳定转染HepG2细胞后细胞的增殖能力明显下降(P<0.05); 细胞侵袭小室实验显示: 与空白对照和阴性对照组相比，实验组细胞的侵袭力明显受到抑制(P<0.05); 流式细胞技术检测发现实验组的细胞相对于阴性对照组出现了明显的凋亡(P<0.05). 实验组较阴性对照组、空白对照组G_2/M期延长，G_1期缩短，差别具有统计学意义(P<0.05).

结论: 人肝癌HepG2细胞中沉默*FABP-5*基因可以有效抑制其表达，能够降低肝癌细胞的侵袭力，抑制肝癌细胞的增殖，将细胞周期阻滞于G_2/M期，使其凋亡显著增加.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝癌; RNA干扰; 表皮型脂肪酸结合蛋白基因

核心提示: 本研究采用慢病毒为载体，将表皮型脂肪酸结合蛋白(fatty acid binding protein-5)-shRNA质粒转入人肝癌HepG2细胞后，有效阻滞了肝癌细胞周期进程，凋亡大幅增加，可明显降低肝癌生长增殖功能，抑制肿瘤细胞的侵袭力.

周玲丽，曹骥，李薇，罗旺，杨香娣，杨春，骆成飘，唐艳萍，李瑗. 沉默*FABP-5*基因对人肝癌HepG2细胞的影响. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 179-188 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/179.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.179

0 引言

据研究统计，肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种多见且预后较差的恶性肿瘤，在人类癌症中排名前十，死亡率在全球排名前五. 其中在男性和女性患恶性肿瘤死因排名中分别位于第2位和第6位. 全球每年肝癌的新发病例高达5000000例，严重威胁着人类的健康[1-5]. 表皮型脂肪酸结合蛋白-5(fatty acid binding protein-5, *FABP-5*)基因是在表皮细胞中发现的脂肪酸结合蛋白，分子量为15 kDa，是肿瘤发生发展的关键作用分子. 在多种肿瘤中，肿瘤相关的上皮细胞黏附分子可以上调*FABP-5*基因的表达，高表达*FABP-5*基因的肿瘤细胞通过脂肪酸代谢产物影响细胞的信号转导功能[6]. 本课题组前期应用跨种属研究人、树鼩和大鼠肝癌及其相应的癌旁和正常肝组织，发现在肝癌中*FABP-5*基因的mRNA和蛋白表达水平均显著上调[7-12]. 随后进一步用免疫组织化学方法验证了FABP-5在上述3个种属的肝癌组织中表达均明显上调，并且发现FABP-5与肝癌的转移有重要关系. 提示该基因可能有早期诊断肝癌、预测肝癌转移的应用前景[13,14].

目前对*FABP-5*基因的功能尚不太清楚，在肝癌中所起的作用也不了解. 为了进一步研究*FABP-5*基因在肝癌中的作用机制，本研究采用RNA干扰技术，沉默人肝癌HepG2细胞中*FABP-5*基因，观察其对肿瘤细胞的增殖、凋亡和对其侵袭力的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌HepG2细胞株购自上海吉凯基因技术有限公司; shRNA靶点设计和3种同时带有绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)和嘌呤霉素抗性筛选标记的*FABP-5*基因沉默重组慢病毒颗粒LV-shRNA-FABP-5(1,2,3)及对照空载体慢病毒颗粒(LV-shRNA-NC)均由上海吉凯基因技术有限公司提供; DMEM、磷酸盐缓冲液(phosphatic buffered saline, PBS)、胎牛血清均购自Hyclone公司; TRIzol购自Invitrogen公司; 逆转录试剂盒购自美国Fermentas公司; 荧光定量PCR试剂盒购自TaKaRa宝生物工程(大连)有限公司、DNA Marker购自广州东盛生物科技有限公司; Western blot及IP细胞裂解液、苯甲基磺酰氟(phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF)、SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5×)、BCA蛋白浓度测试试剂盒(增强型)、20×TBS缓冲液等均购自江苏碧云天生物技术研究所; PVDF膜购自美国Millipore公司; 碘化丙锭PI和RNase酶购自Fermentas公司; 流式细胞仪购自美国BD公司; 荧光显微镜购自奥林帕斯公司; 凋亡试剂盒购自eBioscience公司; 噻唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)均购自北京Solarbio科技有限公司; Giemsa染液(ECM550)购自美国Chemicon公司; 细胞侵袭实验采用Cell Invasion Assay Kit(Chemicon International Cat. No. ECM550); *FABP-5*和*GAPDH*基因的引物由上海生工生物工程公司合成; 兔抗人FABP-5单克隆抗体购自美国Abcam公司; 鼠抗人GAPDH单克隆抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染: 在37 ℃、50 mL/L CO_2条件下, 将人肝癌细胞株HepG2用含10%胎牛血清、100 U/mL左氧氟沙星的DMEM的培养基进行培养. 随机选取处于对数生长期的细胞: 3个实验组分别加入Lv-shRNA-FABP-5(1,2,3), 阴性对照组加入(LV-shRNA-NC), 空白对照组常规培养. 转染前12 h将对数生长期的人肝癌细胞系HepG2进行胰酶消化, 制成细胞悬液接种于6孔板(细胞数约为5×10^4), 37 ℃、50 mL/L CO_2培养箱培养待细胞融合度达到约20%-30%进行转染, 每孔均加入Polybrene及感染增强液, 转染的感染复数(multiplicity of infection, MOI)为10. 每组均设3个重复孔. 最后在荧光倒置显微镜下观察结果. 转染96 h后荧光最强, 转染后4-5 d收获细胞.

1.2.2 嘌呤霉素(puromycin)处理细胞: 通过预实验得到嘌呤霉素的最终工作浓度, 即HepG2细胞经过药物处理48 h后全部死亡的最低药物浓度. 转染72 h后每孔加入3 μg/mL的嘌呤霉素, 筛选出稳定的细胞株, 之后使用含0.1 μg/mL嘌呤霉素的培养基继续培养细胞.

1.2.3 实时荧光定量PCR、RT-PCR检测*FABP-5*基因的mRNA表达量: 首先Primer Primer 5.0软件设计引物, FABP-5上游引物: 5'-TGAAGGAGCTAGGAGTGGGAA-3', 下游引物: 5'-TGCACCATCTGTAAAGTTGCAG-3', 扩增片段212 bp; 内参GAPDH上游引物: 5'-TGACTTCAACAGCGACACCCA-3', 下游引物: 5'-CACCCTGTTGCTGTAGCCAAA-3', 扩增片段121 bp. TRIzol法分别提取5组细胞总RNA, 并逆转录为cDNA, 每组细胞设计3个重复孔. 采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$分析法, *GAPDH*基因作为内参, $2^{-\Delta\Delta Ct}$即反映*FABP-5* mRNA相对表达水平. 检测目的基因*FABP-5* mRNA的表达情况, 从而判断各个靶点的干扰效果, 确定有效的靶点.

1.2.4 Western blot检测FABP-5蛋白表达: 首先提取每组细胞蛋白, 用BCA法测定各组细胞总蛋白的浓度, 置于-80 ℃保存备用. 蛋白变性后上样, 经12%SDS-PAGE胶上电泳, 然后转至PVDF膜, TBST配制5%脱脂奶粉封闭液, 室温封闭1 h. 用FABP-5、GAPDH两张膜一抗4 ℃下孵育过夜, 第2天TBST洗膜3次, 5 min/次. 常温下孵育相应二抗1 h, TBST洗膜5 min/次×3次. 用ECL化学发光法检测蛋白质印记. 获取图像并进行条带灰度值分析; 目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白条带灰度值/内参蛋白条带灰度值.

1.2.5 MTT法检测细胞增殖: 将对数生长期的各实验组细胞用胰酶消化后, 完全培养基重悬成细胞悬液, 接种于96孔板, 每组5复孔, 每孔100 μL(细胞数大约为2000个/孔), 共5张96孔板, 用于连续检测5 d, 置37 ℃、50 mL/L CO_2培养箱培养. 从铺板后第2天开始, 培养终止前4 h, 每孔加入10 μL 5 mg/mL的MTT, 4 h后吸弃培养液, 每孔加入100 μL DMSO终止反应. 振荡器振荡5-10 min, 酶标仪490 nm检测吸光度(*A*)值, 取5个复孔的平均数, 绘制生长曲线.

1.2.6 各组细胞的克隆形成(Giemsa染色): 将对数生长期的各组细胞经胰酶消化, 完全培养基重悬, 细胞计数后将3组细胞于6孔板接种, 每组设3个复孔, 置接种好的细胞在培养箱中培养14 d或绝大多数单克隆中细胞数>50个终止. 实验终

■相关报道

本课题组前期实验结果表明, FABP-5不仅在人肝癌组织中高表达, 在大鼠和树鼩肝癌模型中也明显上调, 并且发现FABP-5表达水平与恶性肿瘤的分化、转移有密切关系, 提示FABP-5可能成为肝癌发生发展中的关键作用分子, 有望成为一个早期诊断或预测肿瘤转移的新指标.

■**创新盘点**
目前尚无*FABP-5*基因沉默对肝癌细胞侵袭力、生长和增殖的影响的报道，本实验利用慢病毒为载体，采用RNA干扰技术将重组慢病毒载体FABP-5-shRNA转入人肝癌HepG2细胞中，研究沉默FABP-5表达对HepG2细胞增殖、凋亡和其侵袭能力的影响.

表 1 阴性对照组和实验组各靶点序列

各靶点序号	靶点序列
LV–shRNA–FABP–5(1)	5'– TGGGAAGGAAAGCACAATA–3'
LV–shRNA–FABP–5(2)	5'– ATCATCACTTGTGATGGTA–3'
LV–shRNA–FABP–5(3)	5'– TGAATACATGAAGGAGCTA–3'
NC(Negative Control)	5'–TTCTCCGAACGTGTCACGT–3'

FABP–5: 表皮型脂肪酸结合蛋白.

止时用PBS洗涤细胞1次，多聚甲醛固定细胞30 min. PBS洗涤细胞1次，Giemsa染细胞20 min. 最后克隆计数.

1.2.7 细胞侵袭实验：在无菌条件下，将侵袭室放到培养箱中使其达到室温，加温无血清培养基到嵌入物内，之后从嵌入物小心移去培养基，加含比侵袭室FBS高的培养基到下室中，然后加处于对数生长期的各组细胞到每个嵌入物中. 在培养箱中培养24-72 h，倒扣嵌入物于吸水纸上以去除培养基，用棉拭子轻轻移去非侵袭细胞，加染色液到板的空孔中. 将嵌入物浸泡在Giemsa染色液中20 min，在膜的下表面染色侵入细胞，浸泡嵌入物在一个大的水杯中，冲洗数次. 空气中晾干嵌入物，显微镜拍照膜. 然后用200 μL 10 mL/L的醋酸溶解，检测A_{570}值.

1.2.8 细胞周期检测：将各组细胞接种于6孔板中. 待细胞生长至覆盖率约为80%时吸弃细胞培养上清，胰酶消化细胞，每组设3个复孔，离心并弃去上清. 用4 ℃预冷PBS洗涤细胞沉淀1次，再离心并收集细胞. 然后4 ℃预冷的700 mL/L的乙醇固定细胞至少1 h，离心后去固定液. 每管加入100 μL RNase，37 ℃水浴30 min，然后每管再加入500 μL PI染液，室温避光孵育30 min，上机进行检测.

1.2.9 流式细胞仪检测细胞凋亡：各组细胞经胰酶消化后，收集细胞，离心并弃去上清，每组设3个复孔. PBS洗涤细胞沉淀1次，然后用1×Staining buffer重悬细胞沉淀. 取细胞悬液100 μL，加入5 μL Annexin V-APC染色，室温避光10-15 min. 转移至流式上机管中，上机检测，实验重复3次.

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件进行分析，细胞凋亡计量资料两组间比较采用*t*检验；其余计量资料多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA). 实验数据以mean±SD表示，$P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 荧光显微镜观察慢病毒感染HepG2细胞效率 在感染复数MOI = 10的条件下，将3种慢病毒LV-shRNA-FABP-5(1, 2, 3)和阴性对照组慢病毒LV-shRNA-NC感染HepG2细胞，72 h后加3 μg/mL的嘌呤霉素处理，96 h后GFP(绿色荧光蛋白)表达率稳定增强，慢病毒感染效率>90%(如果转染率>50%，即可验证内源性靶点). 3组实验组转染不同靶点的慢病毒后，各组细胞GFP荧光显色均匀一致，GFP荧光蛋白表达强度无明显差别(图1).

2.2 *FABP-5* mRNA表达和筛选有效靶点 采用RT-PCR、实时荧光定量PCR的方法检测目的基因*FABP-5* mRNA的表达情况，从而判断各个靶点的干扰效果. 3个实验组相对于空白对照组和阴性对照组，*FABP-5* mRNA的表达量减少均>50%以上，差异具有统计学意义(均$P<0.05$). 其中LV-shRNA-FABP-5(1)组(即1号靶点)*FABP-5*表达的敲减率最高，达85%以上. 认为该靶点为最佳的有效靶点(表1, 2, 图2).

2.3 Western blot测定FABP-5蛋白水平 用GAPDH作为内参，实验组3个靶点KD1、KD2、KD3的蛋白相对表达量分别比阴性对照组减少了88.28%、63.28%和67.97%，差异均有统计学意义($P<0.05$). 可得出LV-shRNA-FABP-5(1)组是最有效的靶点. 该靶点相比于阴性对照组和空白对照组，FABP-5蛋白表达减少明显分别达88.28%和88.81%，差异具有统计学意义($P<0.05$). 阴性对照组和空白对照组相比较差异无统计学意义($P>0.05$)(图3).

2.4 细胞增殖活性判定 MTT检测结果表明，实验组中细胞增殖抑制率明显受到抑制. A_{490}值分别在第1、2、3、4和5天时，实验组相比空白对照组和阴性对照组(0.25±0.01 *vs* 0.35±0.02, 0.34±0.02, F = 55.56; 0.35±0.01 *vs* 0.54±0.02, 0.52±0.01, F = 270.56; 0.43±0.01 *vs*

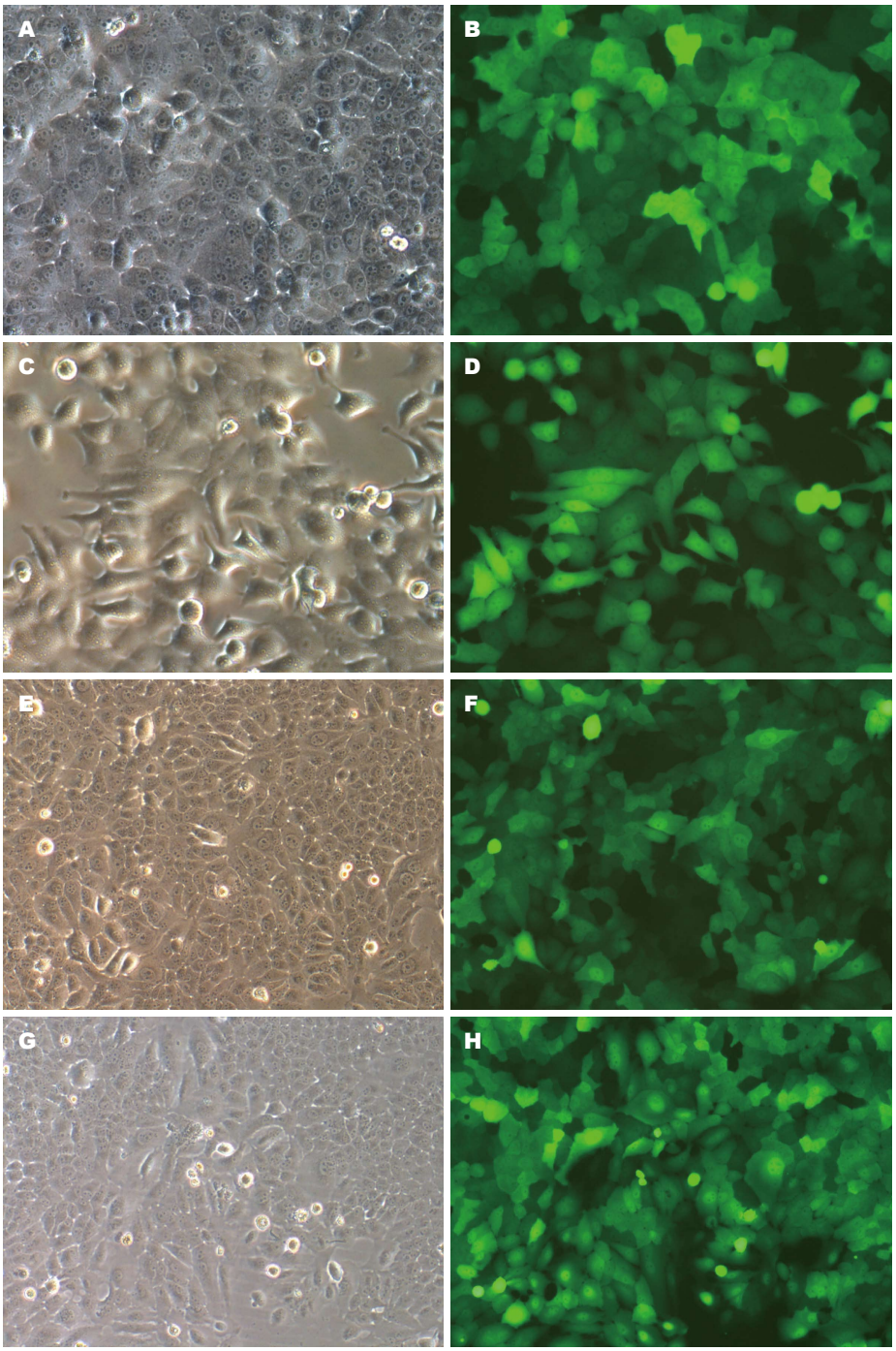


图 1 shRNA慢病毒感染HepG2细胞(96 h)(×200). A: LV-shRNA-FABP-5(1)白光; B: LV-shRNA-FABP-5(1)荧光; C: LV-shRNA-FABP-5(2)白光; D: LV-shRNA-FABP-5(2)荧光; E: LV-shRNA-FABP-5(3)白光; F: LV-shRNA-FABP-5(3)荧光; G: LV-shRNA-NC白光; H: LV-shRNA-NC荧光. FABP-5: 表皮型脂肪酸结合蛋白.

■应用要点

本研究结果表明, FABP-5 RNA干扰后肝癌细胞周期进程得到有效阻滞, 凋亡大幅增加, 可明显降低肝癌生长增殖功能, 肿瘤细胞的侵袭力明显受到抑制. *FABP-5*基因有望成为肝癌基因治疗的一个有效靶点.

0.92±0.02, 0.90±0.04, F = 573.23; 0.50±0.02 *vs* 1.38±0.07, 1.36±0.05, F = 511.69; 0.65±0.07 *vs* 2.07±0.06, 2.02±0.03, F = 2183.38, 均 P<0.05), 差异均有统计学意义. 阴性对照组和空白对照组比较, 差异无统计学意义(P>0.05). 由此可见, 实验组细胞生长明显受到抑制(表3, 图4).

2.5 各组细胞克隆形成比较 Giemsa染色法检测结果表明, 各组细胞克隆形成数不相等, 实验组较空白对照组、阴性对照的均明显减少. 实验组的克隆形成数与空白对照组和阴性对照组比较(12±2 *vs* 149±10, 146±11, F = 158.33, P<0.05), 差异具有统计学意义. 可以得出实验组细胞体外增生能力明显下降. 空白对照组和阴性对照组无统计学差异(P>0.05)(图5, 6).

2.6 细胞侵袭小室检测 该实验检测结果得出,

■名词解释
RNA干扰(RNAi): 指在进化过程中高度保守的、由双链RNA(double-stranded RNA, dsRNA)诱发的、同源mRNA高效特异性降解的现象. RNAi技术可以特异性剔除或关闭特定基因的表达. 该技术已被广泛用于多方面的研究领域, 如探索基因功能、传染性疾病和恶性肿瘤的基因治疗等.

表 2 各组细胞*FABP-5* mRNA相对表达量 (mean ± SD)

分组	FABP-5 mRNA相对表达量 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)
Control	0.998 ± 0.049
LV-shRNA-NC	1.001 ± 0.048
LV-shRNA-FABP-5(1)	0.108 ± 0.002
LV-shRNA-FABP-5(2)	0.479 ± 0.004
LV-shRNA-FABP-5(3)	0.457 ± 0.016

FABP-5: 表皮型脂肪酸结合蛋白; Control: 空白对照组.

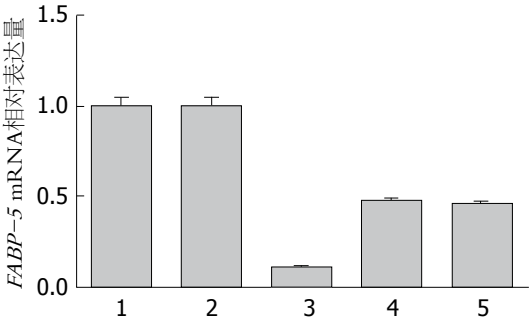


图 2 各组细胞*FABP-5* mRNA相对表达量. 1: 空白对照组; 2: LV-shRNA-NC组; 3: LV-shRNA-FABP-5(1)组; 4: LV-shRNA-FABP-5(2)组; 5: LV-shRNA-FABP-5(3)组. FABP-5: 表皮型脂肪酸结合蛋白.

实验组相比空白对照组和阴性对照组而言, 细胞的体外侵袭力明显受到抑制(0.87%±0.11% *vs* 3.45%±0.12%, 3.37%±0.06%, F = 602.29, P<0.05), 差异具有统计学意义. 而阴性对照组和空白对照组差异无统计学意义(P>0.05). 说明沉默*FABP-5*基因后能有效降低肿瘤细胞的侵袭能力(图7).

2.7 流式细胞术检测细胞周期 与阴性对照组和空白对照组相比, 实验组G_1期细胞相比空白对照组和阴性对照组比例减少(31.91%±0.59% *vs* 67.95%±0.71%, 68.52%±0.48%, F = 3666.428, P<0.05). 实验组S期细胞比例较阴性对照组和空白对照组比例增高(49.41%±0.86% *vs* 25.32%±0.74%, 24.45%±0.44%, F = 1214.32, P<0.05). 实验组G_2/M期细胞相比阴性对照组与空白对照组比例增高(18.69%±0.59% *vs* 6.73%±1.22%, 6.12%±0.63%, F = 202.06, P<0.05). 实验组G_1期比例降低, S期和G_2/M期比例增高. 阴性对照组和空白对照组比较, 差异无统计学意义(P>0.05)(表4, 图8).

2.8 流式细胞术检测细胞凋亡 实验检测结果表明, 实验组中HepG2细胞凋亡率(26.88%±0.11%)明显高于阴性对照组(2.13%±0.36%), 差异有统计学意义(P<0.05). 由于此处凋亡百分比, 为GFP细胞中凋亡细胞所占比例. 空白对照组因细胞不带荧光, 故不做统计分析. RNA干扰技术沉默*FABP-5*基因可以明显促进HepG2细胞的凋亡(图9).

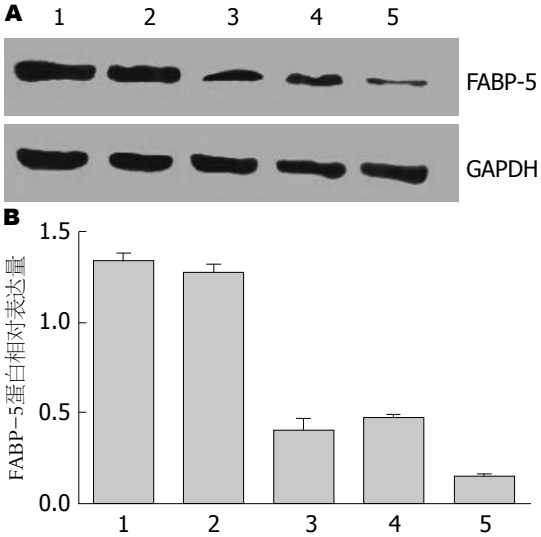


图 3 Western blot检测各组细胞中FABP-5蛋白的表达. A: Western blot结果; B: FABP-5蛋白相对表达量. 1: 空白对照组; 2: LV-shRNA-NC组; 3: LV-shRNA-FABP-5(3)组; 4: LV-shRNA-FABP-5(2)组; 5: LV-shRNA-FABP-5(1)组. FABP-5: 表皮型脂肪酸结合蛋白.

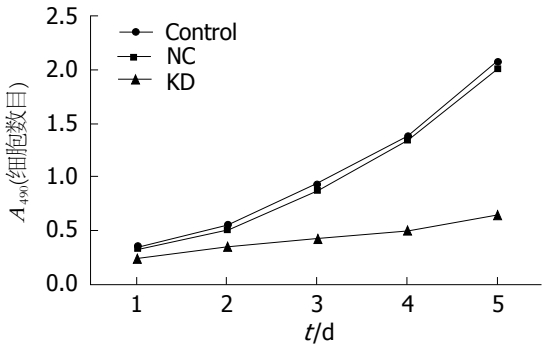


图 4 各组细胞生长曲线. Control: 空白对照组; NC: 阴性对照组; KD: 实验组.

3 讨论

FABPs为一组小的、高度保守的胞质蛋白, 广泛表达于哺乳动物的多种细胞内, 其中表皮型或牛皮癣相关型即为FABP-5. 目前研究发现, 细胞表达的FABP-5可以结合长链脂肪酸, 为细胞的生长提供能量及原材料, 并且能结合和转运各种疏水性配体, 参与肿瘤生长相关的信号转导. 脂肪酸结合蛋白与包括肿瘤在内的多种疾病密切相关[15-17]. FABP-5作为维甲酸(retinoic

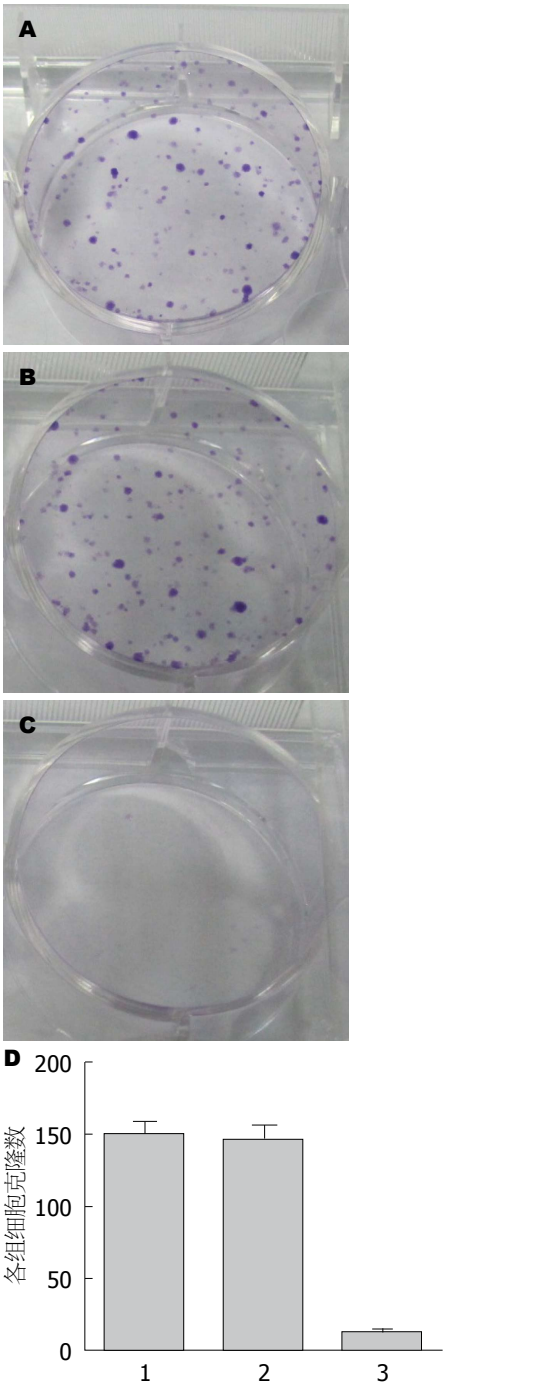


图 5 各组细胞克隆形成的比较. A: 空白对照组; B: 阴性对照组; C: 实验组; D: 各组细胞克隆形成数. 1: 空白对照组; 2: 阴性对照组; 3: 实验组.

acid, RA)的转运蛋白, 将RA从细胞质转运至细胞核, 活化过氧化物酶体增殖物激活受体β/δ (peroxisome proliferator-activated receptor β/δ, PPAR β/δ), 通过信号传导通路来调节细胞分化、抑制细胞凋亡、促进细胞增殖[18,19]. *FABP-5*基因与多种肿瘤性疾病相关. 在乳腺癌[20]、肺鳞状细胞癌[21]中, *FABP-5*基因显著上调, 促进肿瘤的发生. 非小细胞肺癌原发癌组织中, FABP-5

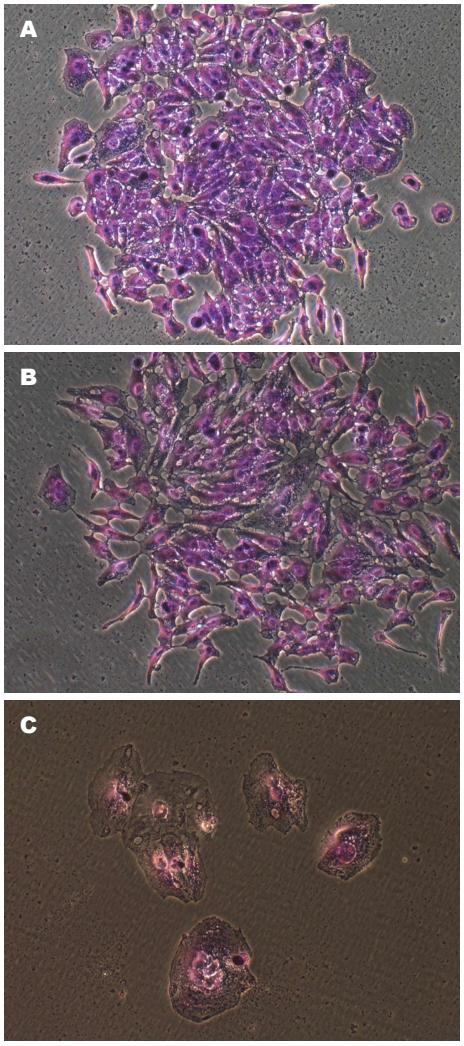


图 6 克隆形成Giemsa染色图片(×200). A: 空白对照组; B: 阴性对照组; C: 实验组.

的表达与肿瘤的病理分级、有无转移有关. 瘤体体积愈大、病理分级愈高且有转移的患者, 则FABP-5的表达愈占优势[22]. Uma等[23]报道在舌鳞状细胞癌原发组织中*FABP-5* mRNA的表达量是其转移癌组织中的4倍. 肝内胆管细胞癌和口腔鳞状细胞癌中FABP-5能促进肿瘤细胞的增殖, 增强细胞的侵袭能力[24,25]. Celis等[26]发现FABP-5在膀胱癌的表达水平与分化程度呈正相关, FABP-5的表达水平随着膀胱癌分化程度的降低而降低. 前列腺癌中, 通过体内外实验证实FABP-5下调能降低肿瘤细胞转移和抑制肿瘤生长[27,28]. 此外, 黑色素瘤[29]、头颈部癌[30]、子宫内膜癌[31]均与FABP-5的表达有密切的关系. 本课题组前期通过跨种属研究还发现了人、树鼩和大鼠肝癌组织中*FABP-5*基因表达明显增多, 这种不同种属的肝癌组织中共同高表达的现象, 提示*FABP-5*基因表达的上调可能促进肝癌发生发展.

■同行评价

本文将最佳FABP-5-shRNA表达载体转染肝癌HepG2细胞, 沉默*FABP-5*基因后促进癌细胞凋亡, 细胞分裂阻滞在G_2/M期, 抑制细胞增殖, 降低癌细胞侵袭力, *FABP-5*基因有可能成为肝癌治疗新靶点.

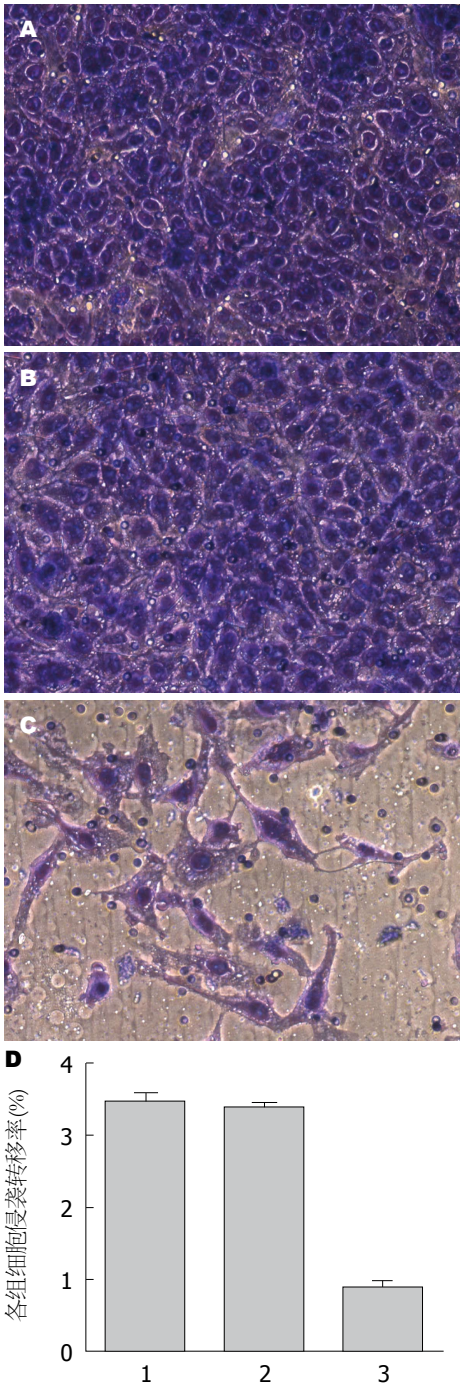


图 7 侵袭小室实验检测各组细胞侵袭率(Giemsa染色×200). A: 空白对照组; B: 阴性对照组; C: 实验组; D: 各组细胞侵袭转移率比较. 1: 空白对照组; 2: 阴性对照组; 3: 实验组.

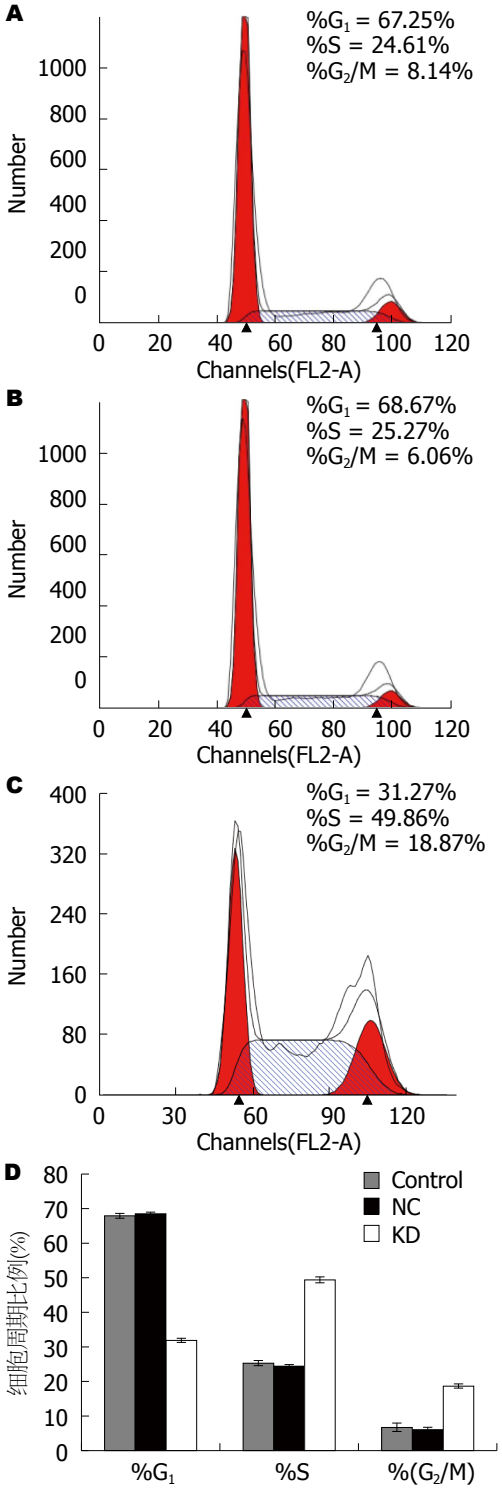


图 8 流式细胞术检测各组细胞的周期. A: 空白对照组; B: 阴性对照组; C: 实验组; D: 各组细胞周期比例. Control: 空白对照组; NC: 阴性对照组; KD: 实验组.

本研究中我们将FABP-5-shRNA表达载体转染进入人肝癌HepG2细胞中后, 实验组的3种靶点干扰序列中, FABP-5 mRNA和蛋白的表达水均下调, 其中以LV-shRNA-FABP-5(1)靶点敲减效率最高, 筛选出了最佳靶点. 实验结果表明我们所构建的FABP-5-shRNA表达载体是成功的, 明显降低了*FABP-5*基因的表达水平. MTT检测得出相比空白对照组和阴性对照组, 实验组细胞增殖活力明显受到抑制. Giemsa染色法发现实验组细胞克隆形成数明显少于空白对照组和阴性对照组. 细胞侵袭小室实验中, 实验组的细胞侵袭力明显低于空白对照组和阴性对照组. 流式细胞术检测发现, *FABP-5*基因沉默后可以明显促进肿瘤细胞的凋亡, 使细胞分裂阻滞在

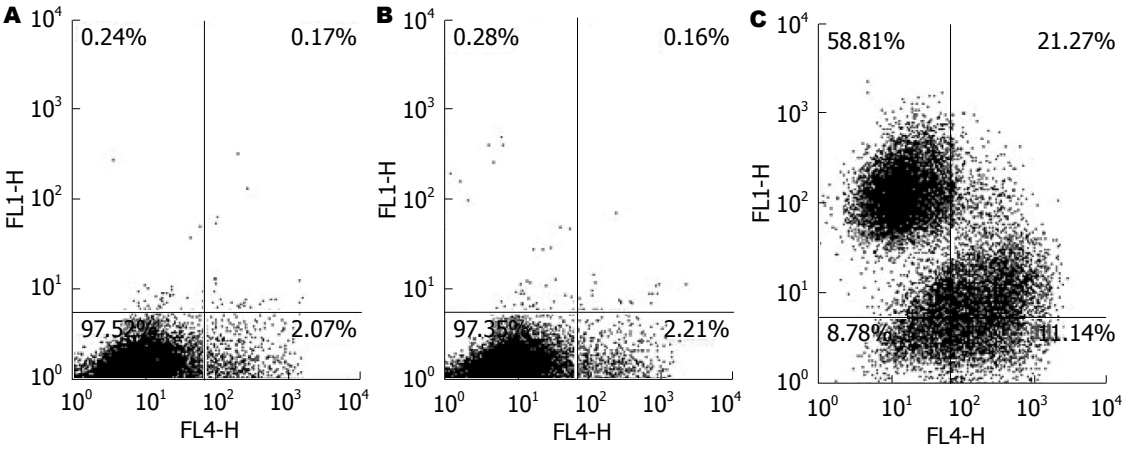


图 9 流式细胞术检测各组细胞的凋亡率. A: 空白对照组; B: 阴性对照组; C: 实验组.

表 3 3组细胞不同时点细胞活力的比较 (mean ± SD)

分组	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天
实验组	0.25 ± 0.01[a]	0.35 ± 0.01[a]	0.43 ± 0.01[a]	0.50 ± 0.02[a]	0.65 ± 0.07[a]
空白对照组	0.35 ± 0.02	0.54 ± 0.02	0.92 ± 0.02	1.38 ± 0.07	2.07 ± 0.06
阴性对照组	0.34 ± 0.02	0.52 ± 0.01	0.90 ± 0.04	1.36 ± 0.05	2.02 ± 0.03

[a]$P<0.05$ *vs* 空白对照组.

表 4 各组细胞周期的比较 (mean ± SD, %)

分组	G_1期	S期	G_2/M期
实验组	31.91 ± 0.59	49.41 ± 0.86	18.69 ± 0.59
阴性对照组	68.52 ± 0.48	24.45 ± 0.44	6.12 ± 0.63
空白对照组	67.95 ± 0.71	25.32 ± 0.74	6.73 ± 1.22

G_2/M期附近, 抑制肝癌细胞的增殖, 并且降低肝癌细胞的侵袭力.

总之, 慢病毒RNA干扰技术敲除*FABP-5*基因后可影响肝癌细胞的增殖和促进其凋亡, 而且能明显抑制肿瘤细胞的侵袭力. 提示*FABP-5*基因可能直接或间接的参与到肝癌细胞周期的调控, 其基因的表达水平改变与肿瘤细胞侵袭力有密切的关系. 因此, *FABP-5*基因有可能成为肝癌和其他肿瘤治疗的一个靶点, 其是否有临床应用价值需要做更进一步的研究.

4 参考文献

1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]

2 Thun MJ, DeLancey JO, Center MM, Jemal A, Ward EM. The global burden of cancer: priorities for prevention. *Carcinogenesis* 2010; 31: 100-110 [PMID: 19934210 DOI: 10.1093/carcin/bgp263]

3 El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2011; 365: 1118-1127 [PMID: 21992124 DOI: 10.1056/NEJMra1001683]

4 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]

5 Vivarelli M, Risaliti A. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma on cirrhosis: strategies to avoid tumor recurrence. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4741-4746 [PMID: 22147974 DOI: 10.3748/wjg.v17.i43.4741]

6 Münz M, Zeidler R, Gires O. The tumour-associated antigen EpCAM upregulates the fatty acid binding protein E-FABP. *Cancer Lett* 2005; 225: 151-157 [PMID: 15922867]

7 李瑗, 苏建家, 曹骥, 欧超, 仇效坤, 杨春, 班克臣, 岳惠芬, 张丽生, 万大方, 顾健人, 韦薇, 欧胜敬. 不同因素诱发的树鼩肝癌组织的基因表达差异. 癌症 2003; 22: 1018-1022

8 Li Y, Wan DF, Su JJ, Cao J, Ou C, Qiu XK, Ban KC, Yang C, Qin LL, Luo D, Yue HF, Zhang LS, Gu JR. Differential expression of genes during aflatoxin B(1)-induced hepatocarcinogenesis in tree shrews.

World J Gastroenterol 2004; 10: 497-504 [PMID: 14966905]
9 秦雪, 代智, 崔杰峰, 苏建家, 曹骥, 欧超, 李山, 陈晓燕, 谢丽, 王健, 岳海英, 李瑗, 刘银坤. 黄曲霉毒素B1诱发树鼩肝癌过程中的差异表达蛋白质分析及意义. 中华检验医学杂志 2006; 29: 538-542
10 Li Y, Qin X, Cui J, Dai Z, Kang X, Yue H, Zhang Y, Su J, Cao J, Ou C, Yang C, Duan X, Yue H, Liu Y. Proteome analysis of aflatoxin B1-induced hepatocarcinogenesis in tree shrew (Tupaia belangeri chinensis) and functional identification of candidate protein peroxiredoxin II. *Proteomics* 2008; 8: 1490-1501 [PMID: 18318006 DOI: 10.1002/pmic.200700229]
11 Li Y, Wan D, Wei W, Su J, Cao J, Qiu X, Ou C, Ban K, Yang C, Yue H. Candidate genes responsible for human hepatocellular carcinoma identified from differentially expressed genes in hepatocarcinogenesis of the tree shrew (Tupaia belangeri chinesis). *Hepatol Res* 2008; 38: 85-95 [PMID: 17714471 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2007.00207.x]
12 梁宏洁, 韦薇, 康晓楠, 郭坤, 曹骥, 苏建家, 杨春, 欧超, 李瑗, 刘银坤. 二乙基亚硝胺诱发大鼠肝癌过程中癌前病变阶段差异表达蛋白质的筛选. 中华肝脏病杂志 2009; 17: 669-674
13 史俊林, 曹骥, 苏建家, 杨春, 欧超, 汪多平, 李瑗. 表皮型脂肪酸结合蛋白在跨种属肝癌组织中的表达. 中华肝脏病杂志 2012; 20: 270-274
14 史俊林, 曹骥, 苏建家, 杨春, 欧超, 汪多平, 李瑗. 表皮型脂肪酸结合蛋白在不同种属肝癌组织中的高表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21: 963-969
15 Storch J, Thumser AE. Tissue-specific functions in the fatty acid-binding protein family. *J Biol Chem* 2010; 285: 32679-32683 [PMID: 20716527 DOI: 10.1074/jbc.R110.135210]
16 Thumser AE, Moore JB, Plant NJ. Fatty acid binding proteins: tissue-specific functions in health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2014; 17: 124-129 [PMID: 24500438 DOI: 10.1097/MCO.0000000000000031]
17 Kitanaka N, Owada Y, Abdelwahab SA, Iwasa H, Sakagami H, Watanabe M, Spener F, Kondo H. Specific localization of epidermal-type fatty acid binding protein in dendritic cells of splenic white pulp. *Histochem Cell Biol* 2003; 120: 465-473 [PMID: 14614628]
18 Schug TT, Berry DC, Shaw NS, Travis SN, Noy N. Opposing effects of retinoic acid on cell growth result from alternate activation of two different nuclear receptors. *Cell* 2007; 129: 723-733 [PMID: 17512406]
19 Armstrong EH, Goswami D, Griffin PR, Noy N, Ortlund EA. Structural basis for ligand regulation of the fatty acid-binding protein 5, peroxisome proliferator-activated receptor β/δ (FABP5-PPARβ/δ) signaling pathway. *J Biol Chem* 2014; 289: 14941-14954 [PMID: 24692551 DOI: 10.1074/jbc.M113.514646]
20 Levi L, Lobo G, Doud MK, von Lintig J, Seachrist D, Tochtrop GP, Noy N. Genetic ablation of the fatty acid-binding protein FABP5 suppresses HER2-induced mammary tumorigenesis. *Cancer Res* 2013; 73: 4770-4780 [PMID: 23722546 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0384]
21 汤参娥, 李萃, 肖志强, 章晓鹏, 陈主初, 易红, 李建玲, 段朝军, 梁宋平. 人肺鳞癌组织的比较蛋白质组学研究. 中华肿瘤杂志 2006; 28: 274-279
22 刘倩, 王世凤, 徐缓, 张尚福. CRABP Ⅱ和E-FABP在非小细胞肺癌中的表达及其意义. 中国肺癌杂志 2013; 16: 12-19
23 Uma RS, Naresh KN, D'Cruz AK, Mulherkar R, Borges AM. Metastasis of squamous cell carcinoma of the oral tongue is associated with down-regulation of epidermal fatty acid binding protein (E-FABP). *Oral Oncol* 2007; 43: 27-32 [PMID: 16759896]
24 Jeong CY, Hah YS, Cho BI, Lee SM, Joo YT, Jung EJ, Jeong SH, Lee YJ, Choi SK, Ha WS, Park ST, Hong SC. Fatty acid-binding protein 5 promotes cell proliferation and invasion in human intrahepatic cholangiocarcinoma. *Oncol Rep* 2012; 28: 1283-1292 [PMID: 22825302 DOI: 10.3892/or.2012.1922]
25 Fang LY, Wong TY, Chiang WF, Chen YL. Fatty-acid-binding protein 5 promotes cell proliferation and invasion in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2010; 39: 342-348 [PMID: 20040021 DOI: 10.1111/j.1600-0714]
26 Celis JE, Rasmussen HH, Vorum H, Madsen P, Honoré B, Wolf H, Orntoft TF. Bladder squamous cell carcinomas express psoriasin and externalize it to the urine. *J Urol* 1996; 155: 2105-2112 [PMID: 8618345 DOI: 10.1016/S0022-5347(01)66118-4]
27 Morgan EA, Forootan SS, Adamson J, Foster CS, Fujii H, Igarashi M, Beesley C, Smith PH, Ke Y. Expression of cutaneous fatty acid-binding protein (C-FABP) in prostate cancer: potential prognostic marker and target for tumourigenicity-suppression. *Int J Oncol* 2008; 32: 767-775 [PMID: 18360704]
28 Adamson J, Morgan EA, Beesley C, Mei Y, Foster CS, Fujii H, Rudland PS, Smith PH, Ke Y. High-level expression of cutaneous fatty acid-binding protein in prostatic carcinomas and its effect on tumorigenicity. *Oncogene* 2003; 22: 2739-2749 [PMID: 12743598]
29 Brouard MC, Saurat JH, Ghanem G, Siegenthaler G. Urinary excretion of epidermal-type fatty acid-binding protein and S100A7 protein in patients with cutaneous melanoma. *Melanoma Res* 2002; 12: 627-631 [PMID: 12459653 DOI: 10.1097/00008390-200212000-00013]
30 Rauch J, Ahlemann M, Schaffrik M, Mack B, Ertongur S, Andratschke M, Zeidler R, Lang S, Gires O. Allogenic antibody-mediated identification of head and neck cancer antigens. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 323: 156-162 [PMID: 15351715 DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.08.071]
31 Li Z, Huang C, Bai S, Pan X, Zhou R, Wei Y, Zhao X. Prognostic evaluation of epidermal fatty acid-binding protein and calcyphosine, two proteins implicated in endometrial cancer using a proteomic approach. *Int J Cancer* 2008; 123: 2377-2383 [PMID: 18729184 DOI: 10.1002/ijc.23808]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 189-195
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

锚蛋白重复序列通过NF-κB信号通路参与肠炎相关肿瘤的调控

王少鑫, 靳宝锋, 崔立红

王少鑫, 崔立红, 中国人民解放军海军总医院消化内科 北京市 100048
靳宝锋, 中国人民解放军军事医学科学院国家生物医学分析中心 北京市 100850
王少鑫, 主治医师, 主要从事消化系肿瘤的病因学机制研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81472585
作者贡献分布: 此课题由王少鑫设计并得到崔立红与靳宝峰的精心指导; 研究过程由王少鑫负责操作完成; 研究使用试剂与分析工具由靳宝峰提供; 数据分析由王少鑫完成; 本论文写作由王少鑫完成.
通讯作者: 王少鑫, 主治医师, 100048, 北京市海淀区阜成路6号, 中国人民解放军海军总医院消化内科.
wangshaoxinby005@sina.com
电话: 010-66957546
收稿日期: 2014-11-03 修回日期: 2014-11-27
接受日期: 2014-12-05 在线出版日期: 2015-01-18

Gankyrin regulates colitis-associated cancer *via* NF-κB signaling pathway

Shao-Xin Wang, Bao-Feng Jin, Li-Hong Cui

Shao-Xin Wang, Li-Hong Cui, Department of Gastroenterology, Navy General Hospital of PLA, Beijing 100048, China
Bao-Feng Jin, National Center for Biomedical Analysis of Military Academy of Medical Sciences, Beijing 100850, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81472585
Correspondence to: Shao-Xin Wang, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Navy General Hospital of PLA, 6 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100048, China. wangshaoxinby005@sina.com
Received: 2014-11-03 Revised: 2014-11-27
Accepted: 2014-12-05 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To explore the role of gann ankyrin repeats (Gankyrin) in inflammation-induced cancer.

METHODS: Thirty-six C57BL/6 male mice were randomly divided into three groups, namely, a ulcerative colitis (UC) group which was given 2.5% dextran sodium sulfate (DSS) in drinking water, a colitis-associated cancer (CAC) group which was intraperitoneally injected with azoxymethane (AOM) on the first day and given 2% DSS in drinking water, and a control group which was given only drinking water. Colon tissues were taken on the last day and observed by microscopy after hematoxylin & eosin (HE) staining. Gankyrin mRNA expression in colon tissue was detected by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). The effect of Gankyrin on the tumor necrosis factor (TNF)-α and interleukin (IL)-1β-induced nuclear factor-κB (NF-κB) transcription activity was assessed by knocking Gankyrin down with siRNA or overexpressing Gankyrin using dual-luciferase report system and Western blot.

RESULTS: UC and CAC were successfully induced as evidenced by HE staining. Gankyrin mRNA level was significantly higher in tumor tissues than in colitis tissues. In HCT116 cells, overexpression of Gankyrin significantly suppressed the TNF-α and IL-1β-induced NF-κB transcription activity; however, Gankyrin knockdown significantly enhanced the TNF-α and IL-1β-induced NF-κB transcription activity.

CONCLUSION: Up-regulated Gankyrin expression in colon cancer may be involved in regulating cancer *via* the NF-κB signaling pathway.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gankyrin; Colitis-associated cancer; NF-κB signaling pathway

Wang SX, Jin BF, Cui LH. Gankyrin regulates colitis-associated cancer *via* NF-κB signaling pathway. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 189-195 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/189.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.189

摘要

目的: 探讨锚蛋白重复序列(gann ankyrin repeats, Gankyrin)在炎症相关肿瘤进展中的作用机制.

方法: 将36只同系C57BL/6♂鼠随机分为3组, 其中12只服用2.5%葡聚糖硫酸钠盐(dextran

■背景资料
结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是严重影响人们生存质量的最常见恶性肿瘤之一, 长期慢性结肠炎症增加了结肠癌发生的风险, 深入探讨结肠炎相关肿瘤(colitis-associated cancer, CAC)的发病机制对延长肠炎患者生存期、降低CRC发病率具有重要意义.

■同行评议者
刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科

■研发前沿
氧化偶氮甲烷联合葡聚糖硫酸钠盐诱导的结肠炎相关肿瘤(colitis-associated cancer, CAC)模型能够很好的模拟溃疡性结肠炎进展至结肠癌的病变过程，已广泛用于炎症诱导肿瘤的发病机制研究，也为研究某些炎性介质和分子在CAC发生中的关键作用提供了重要线索.

sodium sulfate, DSS)饮水建立溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)模型，其中12只首日腹腔注射氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM), 10 d后开始服用2%DSS 7 d，恢复正常饮水2 wk后再次口服2%DSS共3个循环，建立结肠炎相关肿瘤(colitis-associated cancer, CAC)模型，另有12只同种系小鼠口服普通饮水饲养作为对照组. 分别采用病理组织学苏木精-伊红(hematoxylin & eosin, HE)染色观察结肠组织；并用实时荧光定量PCR方法检测3组结肠组织中Gankyrin的mRNA水平；采用双荧光报告系统检测Gankyrin对肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)-α和白介素(interleukin, IL)-1β刺激下核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)转录活性的影响，同时用免疫印迹方法检测转染效率.

结果: 病理组织学HE染色证实了UC和CAC小鼠模型的建立；3组小鼠结肠组织中Gankyrin mRNA表达明显不同，在肿瘤组织中Gankyrin mRNA水平明显高于炎症组织；在HCT116细胞中过表达Gankyrin能够明显抑制TNF-α和IL-1β刺激引起的NF-κB转录活性，而干涉Gankyrin后得到的结果则相反.

结论: 在肠炎进展至肠癌过程中Gankyrin的表达明显上调，可能通过NF-κB信号通路参与肠炎相关肿瘤的调控.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 锚蛋白重复序列; 肠炎相关肿瘤; NF-κB信号通路

核心提示: 锚蛋白重复序列(gann ankyrin repeats, *Gankyrin*)是一种新型癌基因，本研究利用肠炎相关肿瘤动物模型，发现Gankyrin很可能是在炎性因子刺激(肿瘤坏死因子和白介素-1β等)作用下表达量持续增多，进而加速了肿瘤的形成；而在此过程中Gankyrin很有可能是通过参与重要炎症信号通路核因子-κB(nuclear factor-κB)的活性调节实现的.

王少鑫, 靳宝锋, 崔立红. 锚蛋白重复序列通过NF-κB信号通路参与肠炎相关肿瘤的调控. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 189-195 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/189.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.189

0 引言

炎症与肿瘤等复杂疾病的发生发展密切相关，慢性炎症是肿瘤发生的重要决定因素之一. 据估计在全世界范围内死于肿瘤的患者中有1/5的人存在过感染或炎症反应[1]. 若微生物的感染、自身免疫系统疾病以及原因不明的各种致炎因素持续存在，就会增加机体肿瘤发生的危险. 但不是所有炎症和感染都会导致肿瘤的发生，因此炎症诱导肿瘤发生的机制已经成为国际研究的热点问题.

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是严重影响人类生存的常见消化系恶性肿瘤，位居西方国家的第3位. 据报道CRC的全国发病率以5%的速度增长，每年的新发病例高达40万，死亡率以3.05%的速度增长[2]. 结肠癌的发生与肠道炎症反应密切相关，在结肠肿瘤组织中存在有大量的炎性细胞浸润. 锚蛋白重复序列(gann ankyrin repeats, *Gankyrin*)是近年来新发现的一个癌基因，研究[3,4]表明Gankyrin参与NIH3T3细胞的恶性转化，并在肿瘤的转移中发挥作用. 核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)是炎症反应的关键作用因子，已经被证实在促进肿瘤发生过程中发挥重要作用[4,5]. 本研究中采用肠炎相关肠癌(colitis-associated cancer, CAC)的小鼠肿瘤模型模拟溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)进展至结肠癌的过程，探讨Gankyrin可能通过NF-κB信号通路在炎症进展肿瘤中发挥调控作用.

1 材料和方法

1.1 材料 选取中国人民解放军军事医学科学院动物中心C57BL/6♂鼠共36只，周龄6-8 wk，体质量约22-24 g，在军事医学科学院SPF级无菌环境中饲养，用于溃疡性结肠炎、结肠炎相关肿瘤小鼠模型建立. 实时荧光定量PCR所需试剂盒：逆转录试剂盒和PCR反应试剂盒均购自TaKaRa公司，货号分别为DRR036A和DRR081A. 动物模型建立所需试剂：氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)购自Sigma公司(A5486)；葡聚糖硫酸钠盐(dextran sodium sulfate, DSS)(MW: 36000-50000)购自MP Biomedicals公司(0216011050)；α-Tubulin购自Sigma公司(T5168). 试剂：人结肠癌HCT116细胞系为国家生物医学分析中心细胞生物学实验室保存. 实时荧光定量PCR引物由美国Invitrogen公司合成，引物序列为Gankyrin：上游：5'-TGCTCCTTGAGTCACCAGAA-3'，下游：3'-GCATCCACAAACATCCAAGA-5'；GAPDH：上游：5'-CCAGGTGGTCTCCTCTGACTTC-3',

下游: 3'-GTGGTCGTTGAGGGCAATG-5'. 转染试剂Lipofectamine 2000和细胞因子肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)-α和白介素(interleukin, IL)-1β均购自美国Invitrogen公司, Flag鼠单抗、Gankyrin兔多抗和α-微管蛋白抗体购自美国Santa Cruz公司.

1.2 方法

1.2.1 动物模型建立: 将实验中的36只C57BL/6♂鼠分别按以下方法分组建模: (1)取12只C57BL/6♂鼠服用2.5%DSS饮水, 持续给药6 d再观察4 d, 建立溃疡性结肠炎小鼠模型为UC组; (2)取12只C57BL/6♂鼠于第1天进行AOM腹腔注射, 浓度为8.5 mg/kg; 10 d后开始服用2%DSS饮水, 持续给药6 d后换正常饮用水, 恢复2 wk; 再重复2%DSS饮水6 d, 恢复2 wk; 第3个循环后, 恢复4 wk, 整个实验过程共84 d, 建立结肠炎相关肠癌小鼠模型为CAC组; (3)另取12只C57BL/6♂鼠作为对照组, 与肿瘤组小鼠同时处死. 3组小鼠实验结束时处死, 取全结肠采用Swiss-roll的方式翻卷成年轮状置于40 g/L甲醛中固定, 然后将样本固定24 h后进行石蜡包埋, 并3 μm厚连续切片, 行常规病理学苏木精/伊红(hematoxylin & eosin, HE)染色.

1.2.2 实时荧光定量PCR: 取正常对照小鼠和溃疡性结肠炎模型小鼠的结肠末端5 mm组织及CAC模型小鼠的结肠肿瘤组织5 mm, 放于1 mL TRIzol中于-80 ℃冰箱贮存. 待动物模型全部完成后进行实时荧光定量PCR检测(real-time PCR, RT-PCR). 具体过程如下: 总RNA提取: 将组织用TRIzol裂解, 待室温放置15 min后转至EP管中; 再加用氯仿充分震荡30 s, 室温放置5 min; 4 ℃离心12000 r/min, 15 min; 将上层水相吸出转至另一EP管中; 加等体积异丙醇, 充分混匀后室温放置10 min; 4 ℃离心12000 r/min, 10 min, 弃上清; 加预冷750 mL/L乙醇500 μL, 反复吹匀; 4 ℃离心6000 r/min, 5 min; 弃上清, 室温干燥15 min, 后溶解于20 μL DEPC水中.

cDNA合成: 逆转录体系包括总RNA 2 μg、5×Primerscript 4 μL及DEPC水补齐, 共20 μL, 反应程序为: 37 ℃ 15 min→85 ℃ 5 s→4 ℃终止. RT-PCR: PCR反应体系, 包括SYBR premix Ex Taq Ⅱ(2×)12.5 μL+ROX Reference Dye(50×)0.5 μL+DEPC水9 μL+总RNA反转录cDNA 1 μL+Primers 2 μL, 总体积共25 μL. PCR循环(95 ℃ 30 min→95 ℃ 5 s→60 ℃ 31 s)×40个循环.

1.2.3 双荧光报告系统检测: 将HCT116细胞种于24孔板中, 检测过表达Gankyrin对NF-κB转录活性影响时, 将pNF-κB-luc 0.1 μg及海肾报告基因(*Renilla-luc*)0.01 μg和质粒pcDNA3.0-flag-gankyrin 0.2 μg或pcDNA-flag-vector 0.2 μg共转入细胞中, 6 h后换新鲜1640培养基, 转染24 h后加入TNF-α和IL-1β(终浓度均为10 ng/mL), 刺激6 h后用冰PBS洗细胞, 然后每孔加入裂解缓冲液(Passive Lysis Buffer)100 μL, 室温裂解15 min, 收集细胞裂解液, 高速离心30 s, 取上清. 用荧光素酶检测系统测定NF-κB的转录活性. 检测干涉Gankyrin对NF-κB转录活性影响时, 共转染上述报告基因及siRNA, 具体过程与前类似, siRNA终浓度为50 nmoL, 间隔24 h, 再转染1次, 24 h后加入TNF-α和IL-1β(终浓度10 ng/mL)刺激, 刺激6 h后裂解细胞, 然后利用双荧光报告系统检测NF-κB转录活性.

1.2.4 Western blot: 将过表达和干涉Gankyrin后的细胞裂解液中加入等量2×蛋白质缓冲液, 沸水浴变性10 min; 冷却至室温后进行Western blot. 电泳时, 浓缩胶电压为恒压80 V, 分离胶电压为120 V; 转印至PVDF膜, 转印所需电流为250 mA; 转印完成后, PVDF膜用5%的脱脂奶粉封闭1 h; 一抗孵育1 h, TBST洗膜3次, 每次5 min; 二抗孵育1 h, TBST洗膜3次, 每次5 min; 最后进行显影. 一抗分别为抗Flag鼠单抗(1∶5000)和抗Gankyrin兔多抗(1∶500), α-Tubulin为内参.

统计学处理 研究中采用SPSS13.0软件进行统计分析, 计量资料以mean±SD表示, 不同组间均数比较采用Student's *t*检验或单因素方差分析, $P<0.05$为差异具有统计学意义(n = 12/组).

2 结果

2.1 小鼠结肠炎、结肠肿瘤模型的建立 在溃疡性结肠炎和结肠炎相关肿瘤小鼠模型建立后, 取小鼠全结肠组织进行病理学HE检测(图1), 在大体标本(×2)和放大标本(×200)可见正常组小鼠结肠上皮细胞呈圆柱状, 形态规则, 排列整齐, 细胞核呈圆形或卵圆形, 染色质细颗粒状, 可见散在淋巴细胞和杯状细胞; 而UC组小鼠全结肠黏膜中有间断黏膜消失, 上皮细胞层脱落, 大量淋巴细胞浸润(×200), 其中尤以结肠末端黏膜炎症较重, 黏膜剥脱范围较大; 而CAC组小鼠结肠有多个肿瘤形成, 可见大量上皮细胞呈异型性, 细胞大小不一, 形态多样, 排列紊乱, 核大而浓染, 细胞层次增多(×200).

■相关报道

锚蛋白重复序列(gann ankyrin repeats, *Gankyrin*)是近年来发现的一种新型癌基因, 在多种恶性肿瘤, 如宫颈癌、胆管癌以及结肠癌中均高表达, 且其表达水平与肿瘤分期、转移, 以及细胞增殖等密切相关.

■创新盘点
有报道Gankyrin与结肠癌进展相关，而结肠癌是与炎症密切相关的恶性肿瘤，已有研究证实在CAC的动物模型中核因子-κB(nuclear factor-κB，NF-κB)可以促进肿瘤的形成. 故推测Gankyrin有可能通过调控NF-κB信号通路在炎症向肿瘤的进程中发挥作用.

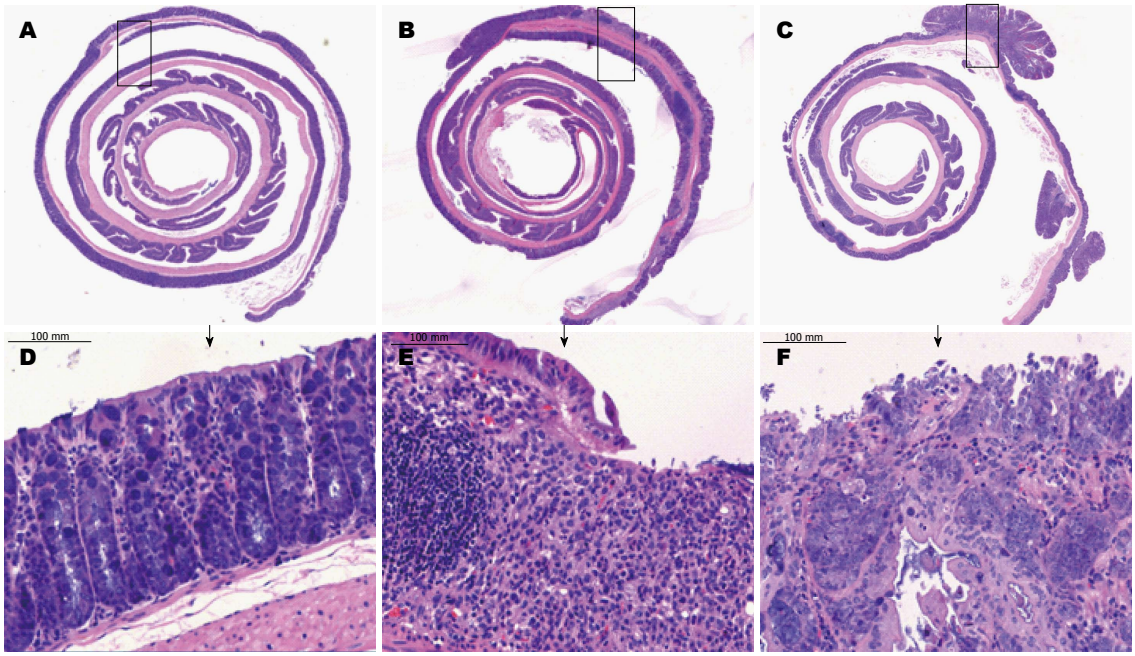


图 1 小鼠正常、UC和CAC模型结肠组织病理学光学显微镜下表现(HE染色). A: 正常对照组(×2); B: 溃疡性结肠炎组(×2); C: 肠炎相关肿瘤组(×2); D: 正常对照组(×200), 正常结肠, 结肠上皮细胞排列整齐可见杯状细胞和散在淋巴细胞; E: 溃疡性结肠炎组(×200), 可见结肠炎黏膜、大量淋巴细胞浸润; F: 肠炎相关肿瘤组(×200), 可见上皮细胞呈异型性, 细胞大小不一, 形态多样, 排列紊乱. UC: 溃疡性结肠炎; CAC: 肠炎相关肿瘤.

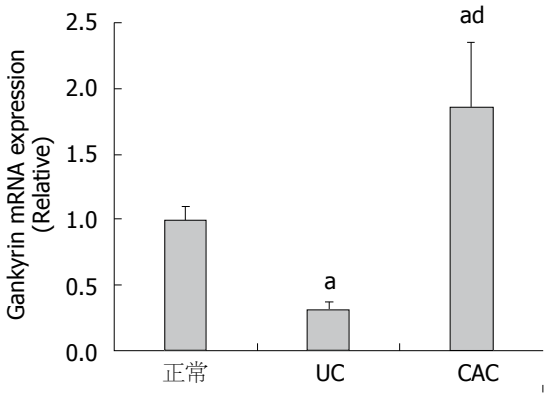


图 2 正常、UC和CAC组结肠组织的Gankyrin mRNA比较. [a]$P<0.05$ *vs* 正常组; [d]$P<0.01$ *vs* UC组. UC: 溃疡性结肠炎; CAC: 肠炎相关肿瘤; Gankyrin: 锚蛋白重复序列.

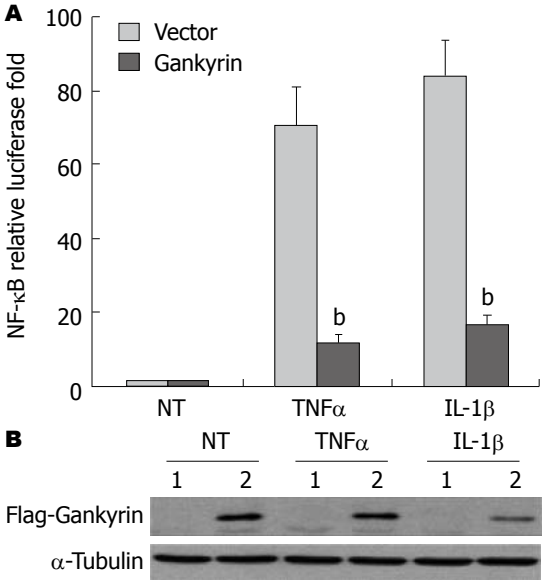


图 3 在不同刺激作用下过表达Gankyrin对NF-κB活性的影响. A: 在HCT116细胞中过表达Flag-Gankyrin与转染对照细胞相比, 过表达Gankyrin能够显著抑制TNF-α和IL-1β刺激的NF-κB转录活性. [b]$P<0.01$ *vs* Vector; B: Western blot验证过表达Gankyrin的转染效果. 1: Vector; 2: Flag-Gankyrin. NT: 未处理; TNF-α: 肿瘤坏死因子α; IL-1β: 白介素-1β; Gankyrin: 锚蛋白重复序列.

2.2 3组小鼠结肠组织中Gankyrin mRNA比较 取正常小鼠结肠末端组织、UC组小鼠结肠末端炎症组织和CAC组小鼠结肠肿瘤组织进行Gankyrin mRNA检测, 如图2结果提示Gankyrin mRNA表达水平在UC组织中明显降低, 约为正常结肠组织的1/3(32%), 而CAC组织中明显升高, 约为正常结肠的1.86倍. 3组Gankyrin mRNA表达水平两两比较差异明显, 具有统计学意义($P<0.05$或$P<0.01$, $n = 12$/组).

2.3 过表达Gankyrin抑制NF-κB的转录活性 在HCT116细胞中过表达flag-Gankyrin进行NF-κB转录活性检测, 结果如图3A所示, 与未处理细胞相比, 在TNF-α或IL-1β刺激后NF-κB转录活性均有明显升高, 均在10倍以上; 但与转染对照质粒相比, 过表达Gankyrin能够显著抑制TNF-α和IL-1β刺激的NF-κB转录活性($P<0.01$). 同时采用

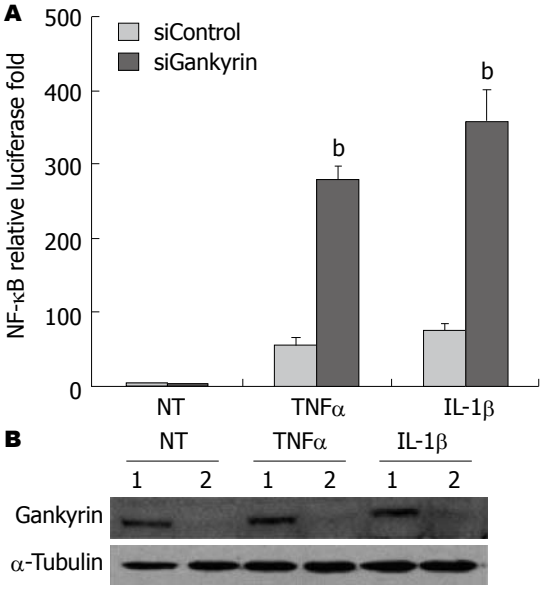


图 4 在不同刺激作用下干涉Gankyrin对NF-κB活性的影响. A: 在HCT116细胞中敲低Gankyrin与对照干涉细胞相比, 敲低Gankyrin能够显著增强TNF-α和IL-1β刺激的NF-κB转录活性. $^{b}P<0.01$ *vs* siControl. B: Western blot验证了敲低Gankyrin的转染效果. 1: siControl; 2: siGankyrin. NT: 未处理; TNF-α: 肿瘤坏死因子α; IL-1β: 白介素-1β; Gankyrin: 锚蛋白重复序列.

Western blot检测Gankyrin过表达转染效果, 如图3B所示.

2.4 干涉Gankyrin激活NF-κB的转录活性 在HCT116细胞中, 检测干涉Gankyrin后在不同刺激下NF-κB转录活性的变化, 结果提示: 与未处理组细胞相比, 在TNF-α或IL-1β两种刺激下NF-κB转录活性均明显升高; 但与对照干涉细胞相比, 敲低Gankyrin能够显著增强TNF-α和IL-1β刺激下诱导的NF-κB转录活性(图4A)($P<0.01$). 用Western blot方法检测Gankyrin的干涉效果, 结果表明在蛋白质水平上Gankyrin表达被有效抑制(图4B).

3 讨论

CRC是临床上最常见恶性肿瘤之一. 据统计, 全世界每年有超过一百万CRC新发病例[6], 结肠癌已成为世界上第3位的常见恶性病. CAC作为CRC的一种亚型, 结肠炎症程度与结肠癌的发生率呈正相关; 炎性肠病患者诊断8-10年以后CRC的发生风险以每年0.5%-1.0%的速度递增[7]. 长期结肠炎患者多死于结肠炎并发症如出血、穿孔等, 其中又有一半患者死于结肠癌并发症[8]. 因此如何阻止结肠炎症进展为肿瘤, 发现调控炎症相关肿瘤发生发展的关键分子机制, 遏制肿瘤生长并指导治疗, 已经成为近年研究的热点科学问题.

*Gankyrin*是近年来发现的一种新型癌基因, 目前研究发现在宫颈癌、肝癌、胆管癌、乳腺癌等中高表达, 其表达水平与肿瘤的浸润深度、分级分期以及肿瘤的转移等密切相关[5,9-12]. 研究[9,10,13,14]认为, Gankyrin可能通过调节细胞内重要的抑癌基因*p53*和*Rb*的功能, 调控低氧诱导因子(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)或调控STAT3/Akt或IL-8通路等在细胞的增殖中发挥作用. 另有研究[15]报道, Gankyrin表达水平与结肠肿瘤进程相关, 而肠道内存在的大量致病菌诱发的慢性炎症是结肠恶性肿瘤形成的主要病因之一[16], 推测Gankyrin在炎症向肿瘤进展中可能发挥作用, 但其作用机制尚无相关研究报道.

NF-κB是生物体内炎症反应的关键作用因子, 已经被证实与细胞的许多生命现象如炎症、免疫反应、增殖、凋亡、肿瘤进展和分化等相关, 在各种炎症、肿瘤以及免疫反应中发挥重要作用[17-19]. 机体内炎症细胞NF-κB信号通路激活是通过使IκB的激酶(IκB kinase, IKK)发生磷酸化修饰及抑制IκB蛋白质降解来实现的. 一旦NF-κB被激活, 会促使这些炎性细胞分泌大量细胞因子、生长因子、炎症趋化因子和抗细胞凋亡因子, 作用于周围组织细胞, 促进肿瘤细胞的增殖. 已有报道, NF-κB的激活与多种恶性肿瘤, 如前列腺癌[20]、乳腺癌[21,22]、卵巢癌[23]、肾癌[24]、肺癌、食管癌[25]、胃癌[26]以及结肠癌等[27,28]的病变进程密切相关, 且已在病情和预后研究中被证实. 另有研究报道在结肠炎相关肿瘤的动物模型NF-κB能够促进结肠肿瘤的形成, 而NF-κB多态性也与肿瘤易感性相关[29,30]. 因此推测Gankyrin有可能通过调控NF-κB信号通路在炎症向肿瘤的进程中发挥作用.

本研究利用肠炎相关肿瘤的动物模型, 发现Gankyrin在炎症和肿瘤状态下表达明显不同, Gankyrin在肠炎中表达水平明显低于结肠肿瘤; 同时在HCT116细胞中炎症因子刺激下低水平Gankyrin能够明显促进NF-κB转录活性. 因此提示Gankyrin很可能是在炎性因子刺激(TNF-α、IL-1β等)作用下表达量持续增多, 进而加速了肿瘤的形成; 而在此过程中Gankyrin很有可能是通过参与重要炎症信号通路NF-κB的活性调节实现的. 此结果为炎症相关肿瘤进展的调控机制研究提出了新的线索和思路, 是肿瘤相关重要调控通路关键分子网络的重要补充, 同时也为

■应用要点
Gankyrin在CAC进程中的作用机制研究, 为炎症相关肿瘤的调控机制研究提出了新的线索和思路, 是对肿瘤相关调控通路及关键分子网络的重要补充, 同时也为肿瘤诊断标志物提供了新的选择.

■名词解释
结直肠癌(CRC): 是结肠癌的一种亚型, 是由炎症性肠病反复发作、逐渐进展导致的结肠癌;
核因子-κB(NF-κB): 是一种重要的转录因子, 参与了大量与细胞凋亡、病毒复制、肿瘤增殖、炎症和各种自身免疫疾病密切相关的基因调控.

肿瘤诊断标志物提供了新的选择. 然而, 关于结肠炎中Gankyrin的表达水平明显低于正常组织的原因尚不清楚, 其在炎症进展至肿瘤过程中是如何参与对NF-κB的信号调控, 其具体机制还有待进一步深入研究.

4 参考文献

1 Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001; 357: 539-545 [PMID: 11229684 DOI: 10.1016/S0140-6736(00)04046-0]

2 张振书, 马强. 结肠癌的流行病学. 胃肠病学 2001; 6: 231-232

3 Yu H, Kortylewski M, Pardoll D. Crosstalk between cancer and immune cells: role of STAT3 in the tumour microenvironment. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 41-51 [PMID: 17186030 DOI: 10.1038/nri1995]

4 Grivennikov S, Karin M. Autocrine IL-6 signaling: a key event in tumorigenesis? *Cancer Cell* 2008; 13: 7-9 [PMID: 18167335 DOI: 10.1016/j.ccr.2007.12.020]

5 Gao L, Xie H, Dong L, Zou J, Fu J, Gao X, Ou L, Xiang S, Song H. Gankyrin is essential for hypoxia enhanced metastatic potential in breast cancer cells. *Mol Med Rep* 2014; 9: 1032-1036 [PMID: 24337075 DOI: 10.3892/mmr.2013.1860]

6 Tenesa A, Dunlop MG. New insights into the aetiology of colorectal cancer from genome-wide association studies. *Nat Rev Genet* 2009; 10: 353-358 [PMID: 19434079 DOI: 10.1038/nrg2574]

7 Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut* 2001; 48: 526-535 [PMID: 11247898 DOI: 10.1136/gut.48.4.526]

8 Lakatos PL, Lakatos L. Risk for colorectal cancer in ulcerative colitis: changes, causes and management strategies. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3937-3947 [PMID: 18609676 DOI: 10.3748/wjg.14.3937]

9 Zheng T, Hong X, Wang J, Pei T, Liang Y, Yin D, Song R, Song X, Lu Z, Qi S, Liu J, Sun B, Xie C, Pan S, Li Y, Luo X, Li S, Fang X, Bhatta N, Jiang H, Liu L. Gankyrin promotes tumor growth and metastasis through activation of IL-6/STAT3 signaling in human cholangiocarcinoma. *Hepatology* 2014; 59: 935-946 [PMID: 24037855 DOI: 10.1002/hep.26705]

10 Bai Z, Tai Y, Li W, Zhen C, Gu W, Jian Z, Wang Q, Lin JE, Zhao Q, Gong W, Liang B, Wang C, Zhou T. Gankyrin activates IL-8 to promote hepatic metastasis of colorectal cancer. *Cancer Res* 2013; 73: 4548-4558 [PMID: 23576566 DOI: 10.1158/0008-5472]

11 Qian YW, Chen Y, Yang W, Fu J, Cao J, Ren YB, Zhu JJ, Su B, Luo T, Zhao XF, Dai RY, Li JJ, Sun W, Wu MC, Feng GS, Wang HY. p28(GANK) prevents degradation of Oct4 and promotes expansion of tumor-initiating cells in hepatocarcinogenesis. *Gastroenterology* 2012; 142: 1547-1558.e14 [PMID: 22387393 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.02.042]

12 Fu XY, Wang HY, Tan L, Liu SQ, Cao HF, Wu MC. Overexpression of p28/gankyrin in human hepatocellular carcinoma and its clinical significance. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 638-643 [PMID: 12174370]

13 Dawson S, Higashitsuji H, Wilkinson AJ, Fujita J, Mayer RJ. Gankyrin: a new oncoprotein and regulator of pRb and p53. *Trends Cell Biol* 2006; 16: 229-233 [PMID: 16581249 DOI: 10.1016/j.tcb.2006.03.001]

14 Song X, Wang J, Zheng T, Song R, Liang Y, Bhatta N, Yin D, Pan S, Liu J, Jiang H, Liu L. LBH589 Inhibits proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma via inhibition of gankyrin/STAT3/Akt pathway. *Mol Cancer* 2013; 12: 114 [PMID: 24093956 DOI: 10.1186/1476-4598-12-114]

15 Tang S, Yang G, Meng Y, Du R, Li X, Fan R, Zhao L, Bi Q, Jin J, Gao L, Zhang L, Li H, Fan M, Wang Y, Wu K, Liu J, Fan D. Overexpression of a novel gene gankyrin correlates with the malignant phenotype of colorectal cancer. *Cancer Biol Ther* 2010; 9: 88-95 [PMID: 19901563 DOI: 10.4161/cbt.9.2.10283]

16 Zhong L, Zhang X, Covasa M. Emerging roles of lactic acid bacteria in protection against colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 7878-7886 [PMID: 24976724 DOI: 10.3748/wjg.v20.i24.7878]

17 Karin M. NF-kappaB as a critical link between inflammation and cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009; 1: a000141 [PMID: 20066113 DOI: 10.1101/cshperspect.a000141]

18 Lupia E, Pigozzi L, Goffi A, Hirsch E, Montrucchio G. Role of phosphoinositide 3-kinase in the pathogenesis of acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 15190-15199 [PMID: 25386068 DOI: 10.3748/wjg.v20.i41.15190]

19 Han Y, Ma TM, Lu ML, Ren L, Ma XD, Bai ZH. Role of moxibustion in inflammatory responses during treatment of rat ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 11297-11304 [PMID: 25170214 DOI: 10.3748/wjg.v20.i32.11297]

20 Luk SU, Xue H, Cheng H, Lin D, Gout PW, Fazli L, Collins CC, Gleave ME, Wang Y. The BIRC6 gene as a novel target for therapy of prostate cancer: dual targeting of inhibitors of apoptosis. *Oncotarget* 2014; 5: 6896-6908 [PMID: 25071009]

21 Becker-Weimann S, Xiong G, Furuta S, Han J, Kuhn I, Akavia UD, Pe'er D, Bissell MJ, Xu R. NFkB disrupts tissue polarity in 3D by preventing integration of microenvironmental signals. *Oncotarget* 2013; 4: 2010-2020 [PMID: 24243820]

22 Khan S, Lopez-Dee Z, Kumar R, Ling J. Activation of NFkB is a novel mechanism of pro-survival activity of glucocorticoids in breast cancer cells. *Cancer Lett* 2013; 337: 90-95 [PMID: 23693080 DOI: 10.1016/j.canlet]

23 Chen J, Li Z, Chen AY, Ye X, Luo H, Rankin GO, Chen YC. Inhibitory effect of baicalin and baicalein on ovarian cancer cells. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 6012-6025 [PMID: 23502466 DOI: 10.3390/ijms14036012]

24 Ozbek E, Aliskan T, Otunctemur A, Calik G, Cakir S, Dursun M, Somay A. Comparison of tumor grade and stage with nuclear factor kappa b and p38 mitogene activated protein kinase expressions in renal cell cancer. *Arch Ital Urol Androl* 2012; 84: 53-60 [PMID: 22908772]

25 Nguyen MH, Ueda K, Nakamura Y, Daigo Y. Identification of a novel oncogene, MMS22L, involved in lung and esophageal carcinogenesis. *Int J Oncol* 2012; 41: 1285-1296 [PMID: 22895565 DOI: 10.3892/ijo.2012.1589]

26 Kwon HC, Kim SH, Oh SY, Lee S, Lee JH, Jang JS, Kim MC, Kim KH, Kim SJ, Kim SG, Kim HJ. Clinicopathologic significance of expression of nuclear factor-κB RelA and its target gene products in gastric cancer patients. *World J Gastroenterol* 2012;

18: 4744-4750 [PMID: 23002344 DOI: 10.3748/wjg.v18.i34.4744]
27 Karin M, Cao Y, Greten FR, Li ZW. NF-kappaB in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 301-310 [PMID: 12001991 DOI: 10.1038/nrc780]
28 Moorchung N, Kunwar S, Ahmed KW. An evaluation of nuclear factor kappa B expression in colorectal carcinoma: an analysis of 50 cases. *J Cancer Res Ther* 2014; 10: 631-635 [PMID: 25313751 DOI: 10.4103/0973-1482.139159]
29 Greten FR, Eckmann L, Greten TF, Park JM, Li ZW, Egan LJ, Kagnoff MF, Karin M. IKKbeta links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer. *Cell* 2004; 118: 285-296 [PMID: 15294155 DOI: 10.1016/j.cell.2004.07.013]
30 Sun XF, Zhang H. NFKB and NFKBI polymorphisms in relation to susceptibility of tumour and other diseases. *Histol Histopathol* 2007; 22: 1387-1398 [PMID: 17701919]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

■同行评价

本研究探讨Gankyrin在炎症相关肿瘤进展中的作用机制, 发现在肠炎进展至肠癌过程中Gankyrin的表达明显上调, 可能通过NF-κB信号通路参与炎症相关肿瘤的调控, 此结果为进一步研究炎症相关肿瘤调控机制奠定了坚实的基础.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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%.

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 196-201
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床研究 CLINICAL RESEARCH

幽门螺杆菌药敏培养后四联疗法治疗上消化道疾病的临床效果

卓如平, 陈旭鹏, 吴赛珍, 谢建亮, 胡韶恺

■背景资料
上消化道疾病是临床中常见疾病, 而幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是一个重要的原因. 临床中积极的根除*H. pylori*对于上消化道疾病患者的治疗具有重要的作用. 因此, 加强*H. pylori*的培养, 对以后该病的治疗和药物选择具有重要的意义.

卓如平, 陈旭鹏, 吴赛珍, 谢建亮, 胡韶恺, 温州医科大学附属乐清医院消化内科 浙江省乐清市 325600
卓如平, 主治医师, 主要从事消化内科工作研究.
2012年浙江省温州市卫生局医药卫生科学研究基金资助项目, No. 2012A012
作者贡献分布: 此文主要由卓如平完成; 此课题由卓如平设计; 研究过程由卓如平与陈旭鹏操作完成; 病例收集由卓如平、谢建亮及胡韶恺完成; 数据分析由卓如平与吴赛珍完成; 本论文写作由卓如平完成.
通讯作者: 卓如平, 主治医师, 325600, 浙江省乐清市乐成镇清远路338号, 温州医科大学附属乐清医院消化内科.
zhuorp@163.com
电话: 0577-62061122
收稿日期: 2014-10-09 修回日期: 2014-11-24
接受日期: 2014-12-05 在线出版日期: 2015-01-18

Clinical effects of quadruple therapy based on antimicrobial susceptibility testing in treatment of *Helicobacter pylori* associated upper digestive tract diseases

Ru-Ping Zhuo, Xu-Peng Chen, Sai-Zhen Wu, Jian-Liang Xie, Shao-Kai Hu

Ru-Ping Zhuo, Xu-Peng Chen, Sai-Zhen Wu, Jian-Liang Xie, Shao-Kai Hu, Department of Gastroenterology, Affiliated Yueqing Hospital of Wenzhou Medical University, Yueqing 325600, Zhejiang Province, China
Supported by: the 2012 Medical Science Research Fund of Wenzhou Municipal Health Bureau, No. 2012A012
Correspondence to: Ru-Ping Zhuo, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Yueqing Hospital of Wenzhou Medical University, 338 Qingyuan Road, Lecheng Town, Yueqing 325600, Zhejiang Province, China. zhuorp@163.com
Received: 2014-10-09 Revised: 2014-11-24
Accepted: 2014-12-05 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To compare the clinical effects of quadruple therapy based on antimicrobial susceptibility testing *vs* empirical quadruple therapy in the treatment of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) associated upper digestive tract diseases.

METHODS: One thousand patients diagnosed with *H. pylori* infection and upper digestive tract diseased by ^{14}C breath test and endoscopy were randomly and equally divided into two groups: an observation group and a control group. The observation group underwent antimicrobial susceptibility testing, and based on the testing results, two kinds of sensitive antibiotics, plus esomeprazole magnesium tablets 20 mg, twice daily, and bismuth potassium citrate tablets 0.6 g, twice daily, were used. The control group was empirically given penicillin capsules 1.0 g, twice daily, clarithromycin tablets 0.5 g, twice daily, esomeprazole magnesium tablets 20 mg, twice daily, and bismuth potassium citrate tablets 0.6 g, twice daily. The treatment lasted 2 wk. Four weeks after treatment, ^{14}C breath test was performed again to detect if eradication therapy was successful or failed.

RESULTS: In the observation group, no patients were resistant to penicillin or gentamicin, 54 (17.3%) were resistant to clarithromycin, 88 (28.1%) to levofloxacin, 299 (95.5%) to metronidazole, and 1 (0.3%) to furazolidone. There were 313 cases in the observation group, of whom 8 were lost to follow-up, 305 completed the treatment, and 281 had successful eradication. There were 500 cases in the control group, of whom 28 were lost to follow-up, 472 completed the treatment, and 405 had successful eradication. The eradication rates by both per-protocol and intention to treat analyses were significantly higher in the observation group than in the control group (92.1% *vs* 85.8%, $P < 0.05$; 89.8% *vs* 81.0%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Quadruple therapy based on antimicrobial susceptibility testing is associated with a higher eradication rate in patients with *H. pylori* associated upper digestive tract diseases.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori* infection; Susceptibility; Upper digestive tract diseases; Individualized treatment

■同行评议者
李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

Zhuo RP, Chen XP, Wu SZ, Xie JL, Hu SK. Clinical effects of quadruple therapy based on antimicrobial susceptibility testing in treatment of *Helicobacter pylori* associated upper digestive tract diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 196-201 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/196.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.196

摘要

目的: 研究本地区幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的体外培养6种抗生素的药敏情况, 以两种敏感抗生素的四联个体化方案与的四联经验治疗方案进行疗效对比, 为临床用药提供参考依据.

方法: 选取乐清地区1000例经^{14}C呼气试验及胃镜检查后诊断为上消化道疾病的*H. pylori*感染的患者, 按照随机数字表法分为2组, 观察组取胃黏膜标本行*H. pylori*培养与药敏试验, 根据药敏结果选择2种抗生素, 加用埃索美拉唑片20 mg 2次/d、枸橼酸铋钾片0.6 g 2次/d; 经验组500例选择阿莫西林胶囊1.0 g 2次/d、克拉霉素片0.5 g 2次/d, 埃索美拉唑片20 mg 2次/d、枸橼酸铋钾片0.6 g 2次/d, 疗程均为2 wk, 治疗结束后4 wk复查^{14}C呼气试验, 阳性者为根除治疗失败, 阴性者为根除治疗成功.

结果: 观察组总体耐药情况: 阿莫西林耐药0例(0.0%), 克拉霉素耐药54例(17.3%), 左氧氟沙星耐药88例(28.1%), 甲硝唑耐药299例(95.5%), 呋喃唑酮耐药1例(0.3%), 庆大霉素耐药0例(0.0%). 观察组313例, 8例失访, 305例完成治疗, 281例根除成功. 经验组500例, 28例失访, 472例完成治疗, 405例根除治疗成功. 两组对比, 观察组方案治疗(per-protocol, PP)根除率92.1%高于经验组根除率85.8%, 两组间差异有统计学意义(P<0.05). 观察组意向治疗(intention-to-treat, ITT)根除率89.8%高于经验组根除率81.0%, 两组间差异有统计学意义(P<0.05).

结论: 本地区上消化道疾病患者的*H. pylori*体外培养对阿莫西林、呋喃唑酮、庆大霉素耐药率较低, 对克拉霉素、左氧氟沙星、甲硝唑耐药率较高. 以*H. pylori*培养加药敏为基础的个体化四联方案根除率高于经验四联方案根除率, 是目前有效的*H. pylori*根除方案, 值得推广.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 幽门螺杆菌感染; 药敏; 上消化道疾病; 个体化治疗

核心提示: 临床中上消化道疾病患者的幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)体外培养显示对阿莫西林、呋喃唑酮、庆大霉素耐药率较低. 临床中以*H. pylori*培养加药敏为基础的个体化四联方案根除率高于经验四联方案根除率, 值得推广.

卓如平, 陈旭鹏, 吴赛珍, 谢建亮, 胡韶恺. 幽门螺杆菌药敏培养后四联疗法治疗上消化道疾病的临床效果. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 196-201 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/196.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.196

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是定植于人体胃黏膜的一种螺旋状、微需氧的革兰阴性杆菌, 已被明确为是慢性胃炎、消化性溃疡的重要致病原因, 并与胃癌、胃黏膜相关性淋巴样组织淋巴瘤的发生有着密切的关系. 中国地区*H. pylori*对甲硝唑的平均耐药率高达75.6%, 对克拉霉素的耐药率达27.6%[1,2]. 国外也有研究[3]显示: 对克拉霉素耐药的菌株, 也出现对甲硝唑和喹诺酮类药物的耐药现象, 提示多重耐药现象严重. 我们通过符合纳入标准患者胃镜下黏膜标本, 进行*H. pylori*的分离培养、鉴定及药敏试验, 研究本地区人群*H. pylori*对阿莫西林、克拉霉素、甲硝唑、左氧氟沙星、呋喃唑酮、庆大霉素等临床6种常用抗生素的耐药情况, 根据药敏结果选择的两种敏感抗生素联合埃索美拉唑片、枸橼酸铋钾的四联根除方案, 与最新共识意见推荐经验四联方案(阿莫西林+克拉霉素+埃索美拉唑+枸橼酸铋钾2 wk)的*H. pylori*根除率进行对比研究, 为本地区临床用药提供参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料 2012-06/2014-07于温州医科大学附属乐清医院住院或门诊就诊患者, 纳入1000例患者随机进入观察组500例, 经验组500例. 病例纳入标准: (1)年龄: 18-70岁; (2)经^{14}C呼气试验检查显示*H. pylori*感染的患者, 胃镜证实为慢性胃炎或伴糜烂、消化性溃疡; (3)近4 wk内未使用质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)、H2受体拮抗剂、抗生素、铋剂; (4)同意取胃黏膜活检组织标本进行*H. pylori*培养及药敏试验; (5)依从性好且知情同意. 排除标准: 妊娠或哺乳期妇女; 严重心、肝、肾功能损害者; 有消

■研发前沿
临床中对于药物的耐药性一直是关注的重点, 对患者的临床治疗具有较大的意义. 临床研究中分析*H. pylori*, 了解*H. pylori*的耐药性, 并合理的选择抗生素, 为临床中治疗上消化道疾病提供重要的指导作用.

■相关报道
临床中*H. pylori*的耐药性研究相对较多, 对临床中合理的选择抗生素具有较好的指导作用. 而本次的研究也重点进行*H. pylori*的培养分析, 并且合理的选择抗生素进行治疗, 提高临床效果.

■创新盘点
本次研究中对*H. pylori*进行培养分析，了解*H. pylori*的耐药状况，从而更准确的选择抗生素，进一步提高上消化道疾病的临床疗效．同时，研究中采取对比研究，更全面的说明合理的选择抗生素的四联疗法的优越性．

表 1 两组纳入患者的基本特征比较

基本特征	观察组	经验组	*P*值
年龄(岁)	51.68 ± 15.92	52.46 ± 14.86	>0.05
男/女(*n*)	255/245	243/257	>0.05
慢性胃炎/消化性溃疡(*n*)	259/241	268/232	>0.05
吸烟(*n*)	122	118	>0.05
饮酒(*n*)	193	187	>0.05

化性溃疡伴有穿孔、出血、幽门梗阻、癌症等并发症者；精神病、严重神经官能症等不能正确表达自己的主诉的患者；服用非甾体类抗炎药或酗酒的患者；对试验药物已知过敏者．终止试验指征：试验期间出现严重不良反应，治疗期间症状出现加重，无法耐受者，治疗期间出现其他疾病干扰观察的患者，治疗期间妊娠者．在患者年龄、性别、慢性胃炎与消化性溃疡比例、吸烟、饮酒方面，两组比较差异无统计学意义(P>0.05)，具有可比性(表1)．

阿莫西林胶囊0.25 g(香港联邦制药有限公司)，克拉霉素缓释片0.5 g(江苏恒瑞制药有限公司)，左氧氟沙星片0.5 g(第一三共制药北京有限公司)，甲硝唑片0.2 g(浙江得恩德制药有限公司)，呋喃唑酮片0.1 g(山西太原药业有限公司)，埃索美拉唑片20 mg(阿斯利康制药有限公司)，枸橼酸铋钾片0.3 g(丽珠集团丽珠制药厂)．^{14}C呼气试验仪：海德威HUBT-20A(深圳市中核海德威生物科技有限公司)．

1.2 方法

1.2.1 研究：纳入1000例患者随机进入观察组500例，经验组500例．观察组予以进行胃镜下取胃黏膜进行*H. pylori*培养，培养结果为阴性者剔除，培养结果阳性者做进一步药敏试验，根据药敏试验结果选择2种敏感抗生素(阿莫西林、克拉霉素、左氧氟沙星、甲硝唑、呋喃唑酮、庆大霉素)，并予以埃索美拉唑片20 mg 2次/d、枸橼酸铋钾片0.6 g 2次/d，四联口服(2 wk)；消化性溃疡患者再继续服用埃索美拉唑片20 mg 2次/d(4 wk)．经验组500例，埃索美拉唑片20 mg 2次/d、阿莫西林胶囊1.0 g 2次/d、克拉霉素片0.5 g 2次/d、枸橼酸铋钾片0.6 g 2次/d，四联口服(2 wk)；消化性溃疡患者继续服用埃索美拉唑片20 mg 2次/d(4 wk)．

1.2.2 胃黏膜*H. pylori*培养：采集距幽门5 cm范围内胃窦小弯侧黏膜深部组织1块，置于运送培养基中，在实验室将胃黏膜组织研磨成混匀液，用灭菌滴(或1 mL移液)管，接种于哥伦比亚血琼脂平板，37 ℃三气培养箱中微需氧环境下培养72 h[4,5]．

1.2.3 疗效跟踪评价：治疗的同时，对患者开展健康教育，告知所患疾病的病因、临床表现及疾病的发展等，告诫患者遵从医嘱，治疗期间禁烟、酒、茶、辛辣等刺激食物及损害胃肠道的药物．记录服药后不良反应：头晕、头痛、皮疹、恶心、呕吐、腹痛、腹泻、便秘等．治疗结束后4 wk对患者进行^{14}C呼气试验检测复查确认根除效果．检测结果阳性为根除治疗失败，阴性为根除治疗成功[6,7]．

统计学处理 统计学处理应用SPSS17.0软件进行分析，计量资料以mean±SD表示，采用t检验，计数资料采用χ^2检验，P<0.05为差异有统计学意义．

2 结果

2.1 耐药情况观察 观察组500例完成*H. pylori*培养，其中313例*H. pylori*培养阳性，187例培养阴性，培养阴性者剔除．总体耐药情况：阿莫西林耐药0例，庆大霉素耐药0例，呋喃唑酮耐药1例，克拉霉素耐药54例，左氧氟沙星耐药88例，甲硝唑耐药299例．单一耐药共194例(62.0%)，甲硝唑192例，左氧氟沙星2例．多重耐药共108例(34.5%)，其中双重耐药：克拉霉素和甲硝唑双重耐药22例；左氧氟沙星和甲硝唑双重耐药53例；克拉霉素和左氧氟沙星双重耐药1例．三重耐药：克拉霉素、左氧氟沙星、甲硝唑三重耐药31例；左氧氟沙星、甲硝唑、呋喃唑酮三重耐药1例．

2.2 联合治疗方案耐药观察 观察组313例对*H. pylori*培养株敏感抗生素组合，具体如表2．

2.3 两种抗生素联合的选择情况 阿莫西林+克拉霉素为82.7%；阿莫西林+左氧氟沙星、阿莫西林+甲硝唑、阿莫西林+呋喃唑酮分别为7.0%、0.3%、9.9%(表3)．

2.4 根除率对比 观察组313例中，根除的281例，

表 2 观察组313例对*H. pylori*敏感抗生素组合

敏感抗生素组合	*n*	敏感率(%)
全部敏感	11	3.5
阿莫西林+克拉霉素+左氧氟沙星+呋喃唑酮+庆大霉素	192	61.3
阿莫西林+克拉霉素+甲硝唑+呋喃唑酮+庆大霉素	2	0.6
阿莫西林+甲硝唑+呋喃唑酮+庆大霉素	1	0.3
阿莫西林+克拉霉素+呋喃唑酮+庆大霉素	53	16.9
阿莫西林+左氧氟沙星+呋喃唑酮+庆大霉素	22	7.0
阿莫西林+呋喃唑酮+庆大霉素	31	9.9
阿莫西林+克拉霉素+庆大霉素	1	0.3

H. pylori: 幽门螺杆菌.

表 3 观察组选择抗生素结果

抗生素组合	*n*	百分比(%)
阿莫西林+克拉霉素	259	82.7
阿莫西林+左氧氟沙星	22	7.0
阿莫西林+甲硝唑	1	0.3
阿莫西林+呋喃唑酮	31	9.9

未根除的24例, 失访的8例, 其*H. pylori*根除率为92.1%, 经验组*H. pylori*的根除例数、根除率等具体如表4, 5.

2.5 不良反应 观察组和经验组不良反应发生率分别为8.52%和7.41%, 两组间差异无统计学意义($\chi^2 = 0.198$, $P>0.05$)(表6).

3 讨论

在临床上, 治疗根治失败的*H. pylori*感染关系到多种上消化道疾病的转归, *H. pylori*研究领域中的热点一直都属于对*H. pylori*感染治疗的研究, 目前PPI加两种抗生素的三联疗法是全球范围内所认可的*H. pylori*根除治疗一线方案, 但引起*H. pylori*根治失败的原因是多方面的, 主要包括以下几个方面[8]: *H. pylori*菌株本身的因素、宿主因素、环境因素、不同疾病以及不同治疗方法等. 流行病学和耐药率调查表明, 我国*H. pylori*感染率仍然很高, 成人感染率达40%-60%. 推荐用于根除治疗的6种抗菌药物中, 甲硝唑耐药率达60%-70%, 克拉霉素达20%-38%, 左氧氟沙星达30%-38%[9]. 由于*H. pylori*耐药性, 因此临床*H. pylori*治疗中给予*H. pylori*培养加药敏也是非常重要的.

表 4 观察组和经验组根除情况 (*n*)

分组	观察组	经验组	合计
根除	281	405	686
未根除	24	67	91
失访	8	28	36

本研究结果显示本地区经^{14}C呼气试验及胃镜检查诊断的*H. pylori*感染的上消化道疾病患者, 经体外培养得到的313株*H. pylori*, 总体耐药情况: 阿莫西林耐药率0.0%, 庆大霉素耐药率0.0%, 呋喃唑酮耐药率0.3%, 克拉霉素耐药率17.3%, 左氧氟沙星耐药率28.1%, 甲硝唑耐药率95.5%. 尽管阿莫西林也非常广泛的应用于临床, 但在世界各地, *H. pylori*对阿莫西林的耐药率均较低, 提示在排除青霉素过敏的患者中, 阿莫西林可作为根除治疗方案中的首选抗生素, 而首次根除失败的患者, 补救治疗亦可再次选择阿莫西林. 目前本地区*H. pylori*对庆大霉素的敏感性较好, 敏感率达100.0%, 其临床应用值得进一步探讨. 呋喃唑酮的耐药率为0.35%, 呋喃唑酮耐药率与全国多中心相比处于相当或较低水平, 目前耐药率仍很低, 细菌对呋喃唑酮和呋喃巯唑酮等硝基呋喃类抗生素不易产生耐药性, 而且第四次全国*H. pylori*感染处理共识报告(2012年井冈山共识)已把阿莫西林+呋喃唑酮列入推荐的4种抗菌药物组成方案, 并认为其疗效稳定, 价格低廉, 但是潜在的不良反应发生率可能稍高. 克拉霉素、左氧氟沙星耐药水平较高, 但相比全国多中心水平略低, 选择克拉霉素或左氧氟沙星用于根除*H. pylori*时需谨慎; 而甲硝唑耐药率超过95.0%, 明显高于多中心的水平, 因此甲硝唑已不推荐应用于本地区的*H. pylori*根除方案.

本研究结果还显示多重耐药率高达34.5%, 提示多重耐药现象较为严重. 左氧氟沙星、甲硝唑双重耐药达16.9%, 克拉霉素、甲硝唑双重耐药率7.0%, 克拉霉素、左氧氟沙星、甲硝唑三重耐药率近10.0%, 青霉素过敏者, 将会面临着在根除*H. pylori*时出现选择呋喃唑酮+庆大霉素这两种不良反应较大的药物, 甚至会面临无药可选的困境. 因此, 合理的选择抗生药物在临床中具有重要的作用, 对患者的治疗和提高临床疗效具有重要的指导意义. 临床研究中经常将左氧氟沙星作为一线治疗药物之一, 而且

■应用要点

临床中对*H. pylori*进行培养分析, 了解药敏状况, 对以后临床中合理的选择抗生素具有较好的指导意义. 同时, 临床中应用四联疗法根除*H. pylori*是临床中研究的热点, 应用前景好.

■名词解释
药敏实验: 进行药物敏感度的测定, 以便准确有效的利用药物进行治疗;
耐药性: 又称抗药性, 系指微生物、寄生虫以及肿瘤细胞对于治疗药物作用的耐受性, 耐药性一旦产生, 药物的治疗作用就明显下降.

表 5 观察组和经验组的*H. pylori*根除率比较 (%)

项目	观察组	经验组	合计	χ^2值	*P*值
合计(*n*)	305	500	813	–	–
根除率PP	92.1	85.8	88.3	7.71	<0.05
根除率ITT	89.8	81.0	84.4	11.24	<0.05

PP: 方案治疗; ITT: 意向治疗; *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

表 6 各治疗组的不良反应 (*n*)

不良反应	观察组	经验组	χ^2值	*P*值
腹痛	3	4	–	–
腹泻	6	6	–	–
便秘	2	3	–	–
眩晕	4	8	–	–
恶心	5	5	–	–
呕吐	3	4	–	–
皮疹	3	5	–	–
总计	26	36	0.198	> 0.05

喹诺酮类药物也很容易产生耐药, 最终导致*H. pylori*根除率下降. 经过此次的研究分析, 左氧氟沙星的耐药率相对较高, 明显地高于克拉霉素的耐药率, 因此, 临床中应根除*H. pylori*治疗时选择左氧氟沙星需谨慎[10,11]. 此次的研究数据显示, 根据药敏结果选择的两种敏感抗生素联合埃索美拉唑、枸橼酸铋钾的四联个体化2 wk治疗方案治疗(per-protocol, PP)根除率(92.1%)、意向治疗(intention-to-treat, ITT)根除率(89.8%), 均高于阿莫西林、克拉霉素、埃索美拉唑、枸橼酸铋钾的四联经验2 wk治疗组PP根除率(85.8%)、ITT根除率(81.0%), 且差异均有统计学意义($P<0.05$). 进一步说明, 临床中进行*H. pylori*培养可以较好的了解其药敏状况, 对临床中合理的选择抗生药物具有较好的指导作用. 临床中也显示, 合理的选择四联疗法可以提高消化性溃疡的临床效果, 并且改善临床症状[12-15]. 同时, 四联疗法在临床中应用也得到广泛的推广, 而此次研究中进行*H. pylori*培养与药敏分析, 且在基础上进行合理的药物选择, 从而更彻底的根除*H. pylori*, 在临床中具有较好的应用价值.

总之, 以*H. pylori*培养加药敏为基础的个体化四联方案根除率高于经验四联方案根除率, 以*H. pylori*培养加药敏为基础的个体化四联根除方案是目前有效的*H. pylori*根除方案, 值得推广, 建议有条件的地方进行*H. pylori*根除治疗前应先做*H. pylori*培养加药敏试验.

4 参考文献

1 Su P, Li Y, Li H, Zhang J, Lin L, Wang Q, Guo F, Ji Z, Mao J, Tang W, Shi Z, Shao W, Mao J, Zhu X, Zhang X, Tong Y, Tu H, Jiang M, Wang Z, Jin F, Yang N, Zhang J. Antibiotic resistance of Helicobacter pylori isolated in the Southeast Coastal Region of China. *Helicobacter* 2013; 18: 274-279 [PMID: 23418857 DOI: 10.1111/hel.12046]

2 中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌学组幽门螺杆菌科研协作组. 第三次全国幽门螺杆菌感染若干问题共识报告. 中华医学杂志 2008; 88: 652-656

3 Graham DY, Shiotani A. New concepts of resistance in the treatment of Helicobacter pylori infections. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008; 5: 321-331 [PMID: 18446147 DOI: 10.1038/ncpgasthep1138]

4 王淑君, 王蔚虹, 褚云香, 滕贵根, 胡伏莲. 不含铋剂四联疗法与标准三联疗法根除幽门螺杆菌的效果分析. 中华医学杂志 2014; 94: 576-579

5 周小红. 四联疗法治疗幽门螺杆菌阳性消化性溃疡临床疗效分析. 中国药物经济学 2014; 5: 237-238

6 程小华. 3种抗幽门螺杆菌的四联疗法在消化性溃疡中的疗效观察. 中国临床实用医学 2014; 7: 50-51

7 辛智武, 鲍有光, 龙洪波. 四联疗法治疗幽门螺杆菌阳性消化性溃疡45例临床观察. 基层医学论坛 2014; 29: 3947-3949

8 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染治疗中的问题及其处理策略. 中国中西医结合杂志 2010; 30: 229-232

9 Sun QJ, Liang X, Zheng Q, Gu WQ, Liu WZ, Xiao SD, Lu H. Resistance of Helicobacter pylori to antibiotics from 2000 to 2009 in Shanghai. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5118-5121 [PMID: 20976850]

10 刘展, 张渝, 阳佳, 方圆. 铋剂四联疗法根治幽门螺杆菌的临床观察. 国际消化病杂志 2014; 34: 149-150

11 肖玲. 四联疗法治疗幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的疗效观察. 中国现代医生 2013; 51: 152-153
12 刘勇. 四联疗法在治疗消化性溃疡中的临床疗效研究. 中国现代药物应用 2013; 7: 145
13 吕丽娜, 张小霞. 四联疗法治疗幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的体会. 中国社区医师(医学专业) 2013; 15: 40
14 郑爱琴. 消化性溃疡临床治疗中四联疗法的效果观察. 中国民康医学 2014; 26: 50-52
15 艾永华. 四联疗法治疗幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的疗效观察. 中国医药导刊 2014; 3: 99-100

■**同行评价**
本研究观点新颖, 对以后临床中合理的选择合理四联疗法的药物具有较高的指导作用, 且研究可行性强, 应用价值高.

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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索量、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)

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 202-209
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床研究 CLINICAL RESEARCH

大肠癌组织中PIK3CA、PIK3CB蛋白与多药耐药基因产物表达的相关性及其临床意义

温菲菲, 吴淑华, 李扬扬, 高向前, 何 双

■背景资料
大肠癌是我国常见的消化系肿瘤, 化疗耐药严重影响了临床化疗效果, 探讨磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinases, PI3Ks)与大肠癌耐药的关系, 对临床判断预后以及合理的筛选有效的化疗药物具有重要的意义.

温菲菲, 吴淑华, 李扬扬, 高向前, 何双, 滨州医学院附属医院病理科 山东省滨州市 256603
温菲菲, 在读硕士, 主要从事消化系肿瘤的研究.
山东省科技攻关基金资助项目, No. 2010GSF10259
作者贡献分布: 本课题由温菲菲与吴淑华设计; 研究过程由温菲菲、李扬扬、高向前及何双共同操作完成; 研究所用试剂由吴淑华提供; 切片阅片与结果判读由吴淑华、李扬扬及温菲菲完成; 本论文写作由温菲菲完成.
通讯作者: 吴淑华, 教授, 主任医师, 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: 0543-3258654
收稿日期: 2014-10-08 修回日期: 2014-11-21
接受日期: 2014-12-05 在线出版日期: 2015-01-18

Expression of PIK3CA, PIK3CB and proteins associated with multidrug resistance in colorectal carcinoma

Fei-Fei Wen, Shu-Hua Wu, Yang-Yang Li, Xiang-Qian Gao, Shuang He

Fei-Fei Wen, Shu-Hua Wu, Yang-Yang Li, Xiang-Qian Gao, Shuang He, Department of Pathology, Affiliated Hospital of 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, Chief Physician, Department of Pathology, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, 661 Huanghe Er Road, Binzhou 256603, Shandong Province, China. wsh6108@126.com
Received: 2014-10-08 Revised: 2014-11-21
Accepted: 2014-12-05 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To investigate the clinical significance of expression of PIK3CA, PIK3CB and proteins associated with multidrug resistance (MDR) in colorectal cancer (CRC) and to analyze their correlations.

METHODS: Immunohistochemistry was employed to detect the expression of PIK3CA, PIK3CB, multidrug resistance-1 (MDR-1), lung cancer resistance protein (LRP), glutathione-*S*-transferase π (GST-π), and DNA topoisomerase Ⅱ (Topo Ⅱ) in 316 CRC specimens. Patients were followed annually by telephone or at an outpatient clinic.

RESULTS: The overexpression rates of MDR-1, LRP, Topo II, and GST-π in CRC were found to be 72.78%, 70.89%, 77.53%, and 76.58%, respectively. Correlation analysis showed that PIK3CA and PIK3CB expression exhibited a positive correlation with MDR-1, LRP, and GST-π expression (r = 0.288, 0.128, and 0.197, respectively; $P < 0.05$). PIK3CA and PIK3CB expression was correlated with the degree of tumor differentiation and lymph node metastasis ($P < 0.05$). Kaplan-Meier analysis revealed that the 5-year survival rate was significantly correlated with lymph node metastasis, positive expression of PIK3CA and PIK3CB, and negative expression of GST-π and MDR-1. Multivariate analysis revealed that GST-π and MDR-1 expression and lymph node metastasis could serve as independent predictive factors of overall survival.

CONCLUSION: The expression of both PIK3CA and PIK3CB is increased and related to the development and progression of CRC and MDR. The combined detection of PIK3CA and PIK3CB is of great significance for prognostic evaluation and therapy optimization in patients with CRC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Multidrug resistance; PIK3CA; PIK3CB; Prognosis

Wen FF, Wu SH, Li YY, Gao XQ, He S. Expression of PIK3CA, PIK3CB and proteins associated with multidrug resistance in colorectal carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 202-209 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/202.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.202

摘要

目的: 检测PIK3CA、PIK3CB和多药耐药基因1(muhidrug resistance 1, *MDR-1*)、肺耐药蛋白(lung cancer resistance protein, LRP)、

■同行评议者
邓庆, 副研究员, 上海人类基因组研究中心功能基因组部

谷胱甘肽转移酶π(glutathione-*S*-transferase π, GST-π)、DNA拓扑异构酶Ⅱ(DNA topoisomeraseⅡ, TopoⅡ)在大肠癌中的表达, 探讨PIK3CA、PIK3CB对大肠癌多药耐药性的影响.

方法: 应用免疫组织化学EnVision法检测316例大肠癌组织中PIK3CA、PIK3CB、MDR-1、LRP、GST-π和TopoⅡ的表达情况, 并结合临床病理因素进行分析.

结果: 316例大肠癌中, PIK3CA、PIK3CB的表达与肿瘤的分化程度、淋巴结转移成正相关, 其相关系数分别为0.136、0.168. *MDR*基因在大肠癌组织中的阳性率分别为: *MDR-1*为72.78%(230/316)、*LRP*为70.89%(224/316)、*TOPⅡ*为77.53%(245/316)及*GST-π*为76.58%(242/316). 经Spearman相关性分析, PIK3CA、PIK3CB的表达与多药耐药蛋白MDR-1、LRP、GST-π的表达均成正相关, 相关系数分别为0.288、0.128、0.197. 316例大肠癌患者的中位生存期为60 mo, 5年生存率为47.5%, Kaplan-Meier分析结果显示, PIK3CA与PIK3CB同时高表达、淋巴结转移、MDR-1(+)、GST-π(+)患者术后5年生存率明显降低. Cox比例风险模型显示, PIK3CA(+)PIK3CB(+)、淋巴结转移、MDR-1、GST-π是影响大肠癌患者预后的独立因素.

结论: PIK3CA、PIK3CB与大肠癌的多药耐药密切相关, PIK3CA、PIK3CB、淋巴结转移、MDR-1、GST-π是影响大肠癌患者预后的独立因素, 检测PIK3CA、PIK3CB为临床合理选择化疗药物、初步判断预后具有重要参考价值.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 大肠癌; 多药耐药基因; PIK3CA; PIK3CB; 预后

核心提示: PIK3CA、PIK3CB与大肠癌的多药耐药密切相关, PIK3CA、PIK3CB、淋巴结转移、多药耐药基因1(multidrug resistance-1)、谷胱甘肽转移酶π(glutathione-*S*-transferase π)是影响大肠癌患者预后的独立因素, 检测PIK3CA、PIK3CB为临床合理选择化疗药物、初步判断预后具有重要参考价值.

温菲菲, 吴淑华, 李扬扬, 高向前, 何双. 大肠癌组织中PIK3CA、PIK3CB蛋白与多药耐药基因产物表达的相关性及其临床意义. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 202-209 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/202.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.202

■研发前沿
研究表明大肠癌中存在多药耐药(multidrug resistance, MDR)现象, 而PI3Ks在肿瘤的发生发展中具有重要的作用. 因此, 明确PI3Ks与大肠癌多药耐药的相关性, 成为亟待研究的问题.

0 引言

大肠癌是我国常见的消化系肿瘤, 目前大肠癌的治疗仍以手术辅助以放化疗为主, 而肿瘤细胞对化疗药物的耐药性严重地影响了大肠癌的临床化疗效果. 临床上大约有50%的大肠癌化疗患者完全对化疗药物产生耐药性[1]. 肿瘤的耐药机制复杂, 有关研究显示, 细胞信号通路异常不仅参与肿瘤的发生, 并且与肿瘤细胞的耐药性密切相关[2,3]. 本实验通过检测磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinases, PI3K)/AKT信号通路中关键分子PIK3CA、PIK3CB及多药耐药基因肺耐药蛋白(lung cancer resistance protein, LRP)、谷胱甘肽转移酶π(glutathione-*S*-transferase π, GST-π)、DNA拓扑异构酶Ⅱ(DNA topoisomeraseⅡ, TopoⅡ)、多药耐药基因1(multidrug resistance 1, *MDR-1*)在大肠癌组织中的表达情况, 探讨PIK3CA、PIK3CB与大肠癌多药耐药的相关性, 为临床合理选择化疗药物及判断预后提供有价值的标志物.

1 材料和方法

1.1 材料 收集滨州医学院附属医院病理科2005-01/2009-01存档的结直肠癌蜡块共316例, 选取所有病例均为首次发现, 术前未行任何放化疗, 术后均进行了联合化疗. 分化程度: 高分化161例, 中、低分化155例; 管状腺癌281例, 黏液腺癌35例; 淋巴结转移者192例, 无淋巴结转移者124例. 所有标本均经40 g/L甲醛固定, 常规石蜡包埋. 小鼠抗人PI3KCA、PIK3CB蛋白单克隆抗体浓缩液购自Abcam公司. 鼠抗人LRP、GST-π、TopoⅡ、MDR-1单克隆抗体及通用型二抗和其他辅助试剂购自福州迈新生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色: 所有标本用40 g/L甲醛固定, 石蜡包埋, 3 μm厚度连续切片. 脱蜡至水, 用3%的H_2O_2去除内源性过氧化酶活性, 柠檬酸高压抗原修复, 分别稀释加入一抗, 1∶150鼠抗人PI3KCA蛋白单克隆抗体, 1∶250鼠抗人PI3KCB蛋白单克隆抗体、鼠抗人LRP、GST-π、MDR-1和TopoⅡ单克隆抗体, 4 ℃孵育过夜, PBS冲洗, 加通用型二抗, DAB显色, 苏木素复染, 脱水透明, 封固. 用PBS代替一抗作空白

■相关报道
研究表明, PI3K/AKT信号通路在细胞生长、增殖及生存过程中发挥着重要作用, 与人类多种肿瘤的发生、发展密切相关, 其异常活化在促进正常细胞向癌细胞转化中发挥重要作用.

表 1 PIK3CA、PIK3CB的表达与大肠癌临床病理参数的相关性

临床病理参数	PIK3CA(+) PIK3CB(+)	PIK3CA(+) PIK3CB(–)	PIK3CA(–) PIK3CB(+)	PIK3CA(–) PIK3CB(–)	χ^2值	*P*值	*r*值
年龄(岁)					6.867	0.076	0.018
<60	56	16	64	28			
≥60	92	12	28	20			
性别					4.088	0.252	0.035
男	80	10	50	22			
女	68	18	42	26			
大小(cm)					6.037	0.114	–0.137
<5	60	13	48	28			
≥5	88	15	44	20			
肿瘤部位					3.528	0.317	0.001
结肠	72	16	52	20			
直肠	76	12	40	28			
分化程度					19.699	0.015	0.136
高	82	13	55	11			
中	50	11	26	27			
低	16	4	11	10			
组织学类型					14.052	0.021	0.129
管状腺癌	134	22	82	43			
黏液腺癌	14	6	10	5			
浸润深度					11.646	0.147	–0.082
黏膜及黏膜下层	8	0	5	5			
肌层	27	12	20	12			
外膜	113	16	67	31			
淋巴结转移					12.987	0.005	0.168
有	98	22	50	22			
无	50	6	42	26			

对照, 用已知PIK3CA蛋白阳性表达的脑组织切片、已知PI3KCB蛋白阳性的扁桃体组织切片及MDR-1、LRP、GST-π、TopoⅡ阳性的乳腺癌组织切片作阳性对照.

1.2.2 结果判断: 以细胞膜、质或核内出现黄色颗粒为阳性标志, 每张切片光镜下(400×)观察10个视野, 每个视野计数100个细胞, 共计1000个细胞, 根据细胞染色强度和阳性细胞比例判定实验结果: 细胞质或核无色为0分、淡黄色为1分、棕黄色为2分、棕褐色为3分; 阳性细胞数≤5%为0分, 6%-25%为1分、26%-50%为2分、51%-75%为3分、>75%为4分. 上述两分相乘≥4分判为阳性, <4分判为阴性.

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件. 组间比较及蛋白表达与临床病理参数之间的相关性分析采用χ^2检验; 蛋白表达的相关关系采用Spearman相关分析法; 生存分析采用Kaplan-Meier法, 并以Log-rank法检验, 采用Cox比例风险回归模型进行多因素生存分析. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大肠癌中PIK3CA、PIK3CB的表达与大肠癌临床病理参数的相关性 在316例大肠癌中, PIK3CA、PIK3CB的表达与患者的年龄、性别、肿瘤的大小、部位、组织学类型均无相关性, 差异无统计学意义($P>0.05$). PIK3CA、PIK3CB的表达与肿瘤的分化程度、淋巴结转移成正相关, 其相关系数分别为0.136、0.168, PIK3CA、PIK3CB均为阳性者在高分化大肠癌中的表达明显高于低分化大肠癌; 在腺癌中的表达明显高于在黏液腺癌中的表达, 其关联性分析结果差异具有统计学意义($P<0.05$)(表1, 图1A, B).

2.2 PIK3CA、PIK3CB和耐药蛋白表达的相关性 316例大肠癌中, *MDR*基因在大肠癌组织中的阳性率分别为: *MDR-1*为72.78%(230/316)、*LRP*为70.89%(224/316)、*TOPⅡ*为77.53%(245/316)及

表 2 PIK3CA、PIK3CB和耐药蛋白表达的相关性

耐药蛋白	PIK3CA(+) PIK3CB(+)	PIK3CA(+) PIK3CB(–)	PIK3CA(–) PIK3CB(+)	PIK3CA(–) PIK3CB(–)	χ^2值	*P*值	*r*值
MDR–1					37.656	0.001	0.288
(+)	122	22	68	18			
(–)	26	6	24	30			
LRP					23.608	0.023	0.128
(+)	110	18	75	21			
(–)	38	10	17	27			
Top Ⅱ					30.508	0.204	–0.072
(+)	112	13	86	34			
(–)	36	15	6	14			
GST–π					39.882	0.001	0.197
(+)	120	22	80	20			
(–)	28	6	12	28			

MDR–1: 多药耐药基因1; LRP: 肺耐药蛋白; Top Ⅱ: DNA拓扑异构酶Ⅱ; GST–π: 谷胱甘肽转移酶π.

表 3 大肠癌患者预后多因素生存分析

参数	β	SE	Wald	df	Exp(β)	95%CI	*P*值
PIK3CA(+)PIK3CB(+)	0.960	0.231	17.312	1	2.611	0.954–3.138	0.000
淋巴结转移	0.292	0.127	5.303	1	1.339	1.044–1.716	0.021
MDR–1	0.659	0.151	19.112	1	1.932	1.438–2.596	0.000
GST–π	0.487	0.160	9.266	1	1.627	1.189–2.225	0.002

MDR–1: 多药耐药基因1; GST–π: 谷胱甘肽转移酶π.

*GST-π*为76.58%(242/316). PIK3CA、PIK3CB的表达与多药耐药蛋白MDR-1、LRP、GST-π的表达均成正相关, 相关系数分别为0.288、0.128、0.197, 其关联性分析结果差异具有统计学意义($P<0.05$), 与Top Ⅱ的表达无明显相关性, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表2, 图1).

2.3 PIK3CA、PIK3CB和耐药蛋白与预后的关系 316例大肠癌患者的中位生存期为60 mo, 5年生存率为47.5%, 在PIK3CA(+)PIK3CB(+)组、PIK3CA(+)PIK3CB(-)组、PIK3CA(-)PIK3CB(+)组、PIK3CA(-)PIK3CB(-)组4组中, 平均生存时间分别54、61、61、66 mo. Kaplan-Meier分析结果显示, PIK3CA与PIK3CB同时高表达的患者术后5年生存率明显降低, 与其他3组[PIK3CA(+)PIK3CB(-)组、PIK3CA(-)PIK3CB(+)组、PIK3CA(-)PIK3CB(-)组]比较差异有统计学意义($P<0.05$); 而PIK3CA与PIK3CB同时低表达的患者术后生存率明显升高, 与其他3组比较差异有统计学意义($P<0.05$). 淋巴结转移、MDR-1(+)、GST-π(+)患者术后5年生存率明显低于未有淋巴结转移、MDR-1(-)、GST-π(-)患者, 生存曲线如图2. 多因素生存分析结果显示, PIK3CA(+)PIK3CB(+)、淋巴结转移、MDR-1、GST-π是影响大肠癌患者预后的独立因素, 而患者年龄、性别、肿瘤大小、部位、分化程度、组织学类型、浸润深度以及LRP、Tope Ⅱ均不是影响大肠癌预后的独立因素(表3).

3 讨论

大肠癌又称结直肠癌, 其发病率在我国仅次于胃癌和食管癌, 并且有年轻化和逐年上升的趋势[4]. 目前, 临床上大肠癌的治疗仍以手术联合放化疗为主, 对于失去手术机会或转移性大肠癌则采用化疗、放疗等综合治疗措施, 以延长患者生存期. 然而, 肿瘤细胞对化疗药物的MDR严重地影响了临床化疗效果. 肿瘤的MDR是指某种化疗药物作用于肿瘤后, 肿瘤细胞不仅对该种药物产生耐药, 而且对未接触过的、结构和机制均不同的多种抗肿瘤药物也产生交叉耐药[5]. 因此临床常联合检测多个*MDR*基因产物

■创新盘点

本文通过检测PIK3CA、PIK3CB与多药耐药基因在大肠癌中的表达, 通过随访探讨与预后有关的因素, 明确了PIK3CA、PIK3CB与大肠癌的多药耐药密切相关, PIK3CA、PIK3CB、淋巴结转移、MDR-1、谷胱甘肽转移酶π(glutathione-*S*-transferase π, GST-π)是影响大肠癌患者预后的独立因素.

■应用要点
本文研究发现同步检测PIK3CA、PIK3CB蛋白对于临床预测大肠癌的恶性程度、初步判断预后以及合理的筛选有效化疗药物具有重要的意义.

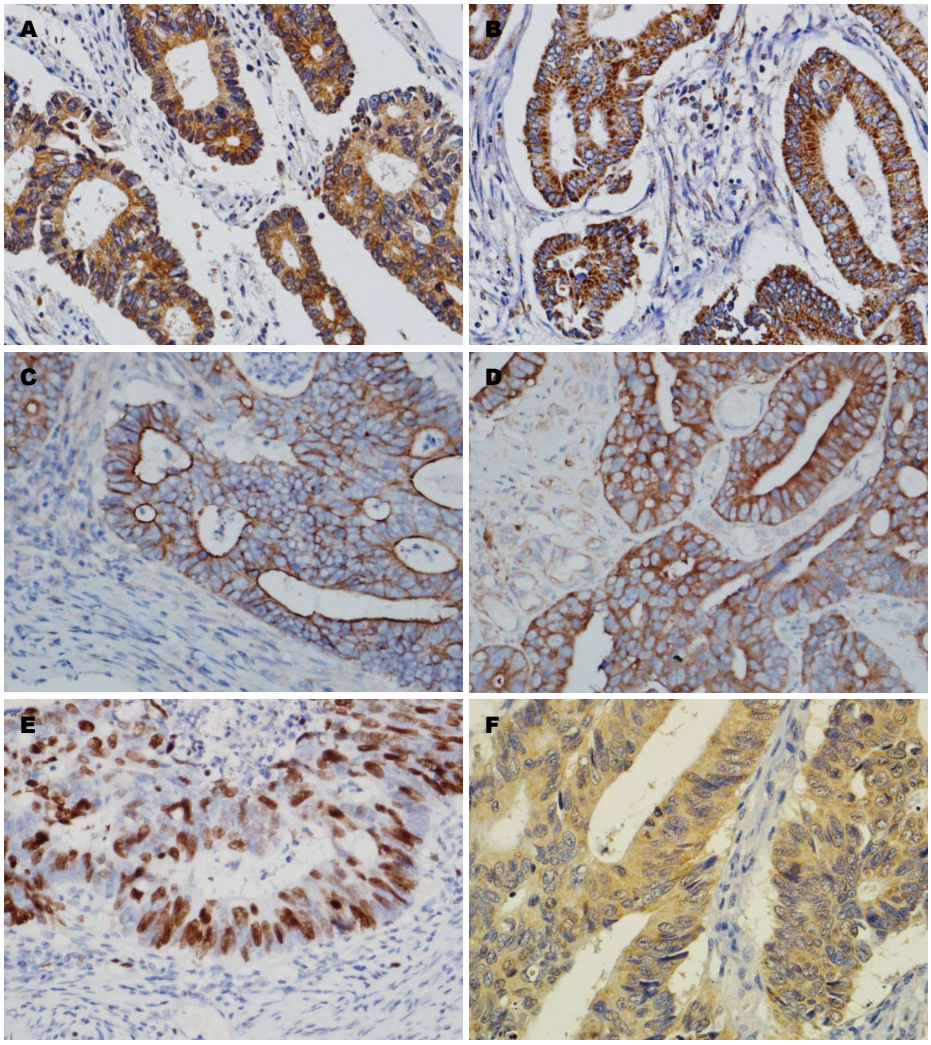


图 1 大肠癌PIK3CA、PIK3CB、MDR-1、LRP、TOPⅡ、GST-π阳性表达(免疫组织化学EnVision法×400). A: 大肠癌细胞胞质PIK3CA阳性; B: 大肠癌细胞胞质PIK3CB阳性; C: 大肠癌细胞胞膜MDR-1阳性; D: 大肠癌细胞胞质LRP阳性; E: 大肠癌细胞胞核TOPⅡ阳性; F: 大肠癌细胞胞质GSTπ阳性. *MDR-1*: 多药耐药基因1; LRP: 肺耐药蛋白; TopⅡ: DNA拓扑异构酶Ⅱ; GST-π: 谷胱甘肽转移酶π.

以期能更客观地反映肿瘤细胞对化疗药物的耐药性. 目前临床常用的耐药基因*MDR-1*、*LRP*、*GST-π*、*TopoⅡ*均可以间接反映肿瘤组织中MDR的情况[6]. 本研究结果显示, 结直肠癌中MDR-1的阳性表达率为72.78%、LRP阳性表达率为72.78%, TopoⅡ的阳性表达率为77.53%、GST-π阳性表达率为76.58%, 提示大肠癌中存在MDR现象.

研究表明许多因素可以影响化疗药物的敏感性, 包括药物的靶点发生变化、细胞信号转导通路的异常改变和细胞凋亡的逃逸等[7-9]. 其中, 细胞信号转导通路的异常与肿瘤耐药密切相关, 已成为研究肿瘤靶点治疗及耐药的热点[2]. PI3K/AKT信号通路在细胞生长、增殖及生存过程中发挥着重要作用[10,11], 与人类多种肿瘤的发生、发展密切相关, 其异常活化在促进正常细胞向癌细胞转化中发挥重要作用[12-15]. 其中, PI3Ks作为该通路的核心分子, 其催化亚基PIK3C的4个亚单位中, 由PIK3CA和PIK3CB在促进肿瘤的发生发展[16-18]. 本研究中, 大肠癌组织中PIK3CA、PIK3CB均为阳性的表达率为46.84%, 明显高于其他3组的表达率, 在与临床病理因素的相关性分析中显示大肠癌的分化程度、淋巴结转移与PIK3CA、PIK3CB表达呈正相关, 我们认为, PIK3CA、PIK3CB在大肠癌的发生发展中起着协同作用, PI3K蛋白在临床分期越晚、病理分级越低的癌组织中其蛋白表达阳性率越高, 其表达还与淋巴结转移及远处转移等临床病理因素有关, 提示PI3K与大肠癌的增生、转移及浸润有关.

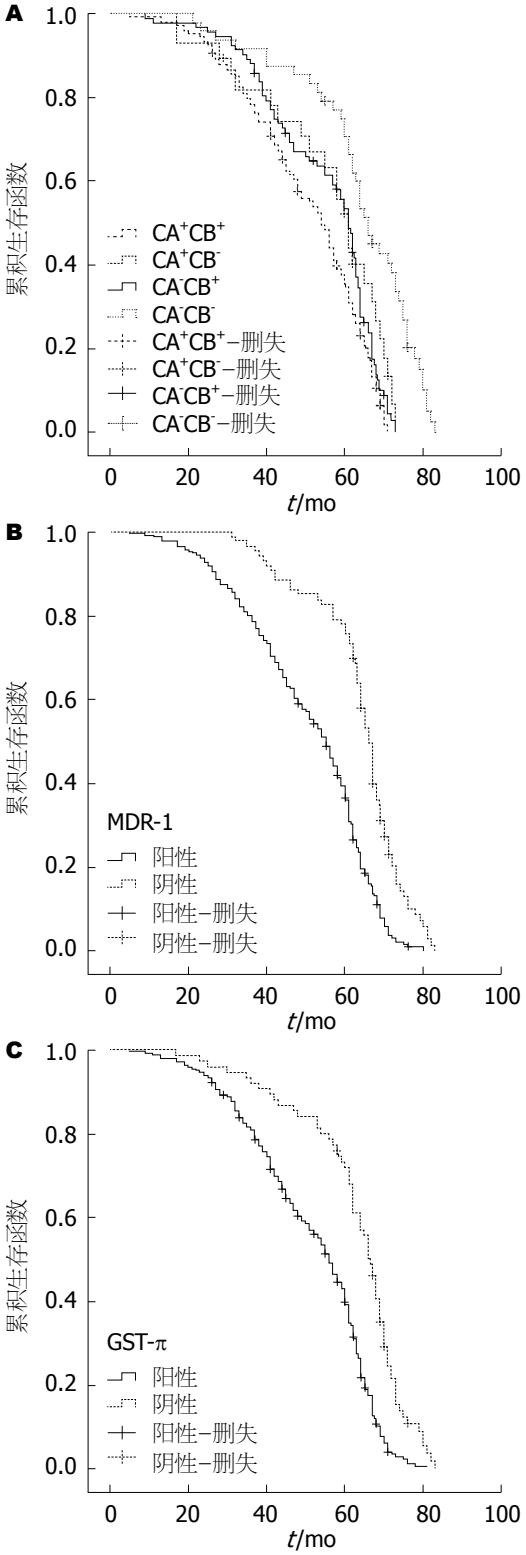


图 2 大肠癌预后生存曲线. A: PIK3CA、PIK3CB预后分析曲线; B: MDR−1预后分析曲线; C: GST−π预后分析曲线. MDR−1: 多药耐药基因1; GST−π: 谷胱甘肽转移酶π.

近年来发现PI3K/AKT信号通路不仅与肿瘤的发生发展, 还与多药耐药存在密切联系[19,20]. Jamieson等[21]用A66高度特异性和选择性抑制PIK3CA, 结果表明抑制PIK3CA可以阻止生长因子信号传导, 抑制肿瘤的生长, 降低肿瘤细胞对化疗的抵抗. Jeong等[22]发现靶向抑制PIK3CB, 能促进卵巢癌耐药细胞的凋亡, 增加耐药细胞对紫杉醇化疗的敏感性. 目前公认的肿瘤细胞耐药机制是*MDR1*基因产物P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)过度表达. P-gp是一种跨膜转运蛋白, 可以将药物从细胞内泵到胞外, 降低细胞内药物浓度, 导致肿瘤耐药[23]. 因此, 规避P-gp的介导的多药耐药仍是临床防止多药耐药主要的策略. 以往研究表明, PI3K/AKT信号通路异常激活可上调多药耐药基因的表达, 导致耐药[24,25]. García等[26]发现, 抑制PI3K/AKT通路可以下调其下游核因子κB(nuclear factor kappa B, NF-κB)的活性, 进而抑制P-gp的表达. 同时, 可以促进化疗药物诱导的细胞凋亡, 提高肿瘤细胞的对化疗药物的敏感性, 逆转耐药. 本实验结果表明, PIK3CA和PIK3CB的表达与多药耐药基因*MDR-1*(r = 0.288), *LRP*(r = 0.128)和*GST-π*(r = 0.197)密切相关. 我们推测, 大肠癌组织p110α和p110β的高表达, 可增强NF-κB活性, 激活*MDR-1*基因的转录, 增加P-gp的表达, 导致大肠癌产生耐药.

Ogino等[27]研究发现*PIK3CA*基因突变与大肠癌术后患者的生存率有关, *PIK3CA*基因突变的大肠癌患者生存时间显著降低. 本实验通过随访316例大肠癌术后患者, 发现大肠癌的预后不仅与分化程度、淋巴结转移等临床病理因素有关, 而且PIK3CA、PIK3CB的表达水平也与大肠癌患者预后密切相关. 尤其是PIK3CA、PIK3CB同时高表达的患者死亡率更高, 预后更差. 我们认为, PIK3CA、PIK3CB可作为判断大肠癌恶性程度及预后的分子生物学指标. Cox比例风险回归模型结果显示, PIK3CA、PIK3CB、淋巴结转移、MDR-1、GST-π均是影响大肠癌患者预后的独立因素, 可作为大肠癌预后中重要的独立参考指标.

随着靶向药物研究进展, 个性化治疗已经成为恶性肿瘤临床治疗的发展方向, 在很大程度上改善了治疗效果. 通过靶向药物阻断PI3K/AKT信号转导通路抗肿瘤的治疗方案已受到人们的高度重视并开始应用于临床. 酪氨酸激酶受体抑制剂如: 西妥昔单抗、吉非替尼等, 是一类新型的靶向药物, 能特异性结合表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR), 阻断EGFR介导的下游PI3K/AKT信号转导通路, 抑制肿瘤细胞的增殖[28]. 然而, 研究[29]发现大多

■名词解释

肿瘤的多药耐药(MDR): 指某种化疗药物作用于肿瘤后, 肿瘤细胞不仅对该种药物产生耐药, 而且对未接触过的、结构和机制均不同的多种抗肿瘤药物也产生交叉耐药.

■同行评价
本文通过免疫组织化学方法分析了PIK3CA、PIK3CB与大肠癌的多药耐的相关性,发现PIK3CA、PIK3CB、淋巴结转移、MDR-1、GST-π是影响大肠癌患者预后的独立因素,检测PIK3CA、PIK3CB为临床合理选择化疗药物、初步判断预后具有重要参考价值.本研究统计学方法正确,可行性强,观察指标明确,对大肠癌的预后、耐药性具有指导意义.

数患者并未明显受益,表明该类患者对治疗存在着原发性或继发性的耐受.临床回顾性研究证明[30,31],*PIK3CA*基因突变状态与西妥昔单抗的疗效密切相关,*PIK3CA*基因突变的患者疗效低,反之疗效高.另外发现,EGFR过度表达且PIK3CA无突变的患者应用西妥昔单抗后,仍有部分患者化疗失败.本研究显示,大肠癌的耐药不仅与PIK3CA的异常表达相关,而且与另一亚单位PIK3CB的异常表达有关.我们推测,在靶向EGFR突变治疗失败的大肠癌中,在靶向药物所作用的PI3K/AKT信号转导通路中,除PIK3CA突变外,其他位点的突变同样可影响疗效,如PIK3CB突变也可导致EGFR靶向治疗失败,其机制还有待于进一步研究.

总之,PIK3CA、PIK3CB在大肠癌组织中高表达,其表达不仅与大肠癌的分化、淋巴结转移等临床病理因素相关,而且与多药耐药基因*MDR-1*、*LRP*、*GST-π*明显相关.因此,同步检测PIK3CA、PIK3CB蛋白对于临床预测大肠癌的恶性程度、初步判断预后以及合理的筛选有效化疗药物具有重要的意义.

4 参考文献

1 李长龙, 柯贤福, 郭红刚, 卢领群, 戴方伟, 萨晓婴. 长春新碱诱导建立人结肠癌多药耐受性小鼠模型及MDR1和MRP1基因表达. 中国实验动物学报 2012; 20: 56-61

2 Liang J, Ge F, Guo C, Luo G, Wang X, Han G, Zhang D, Wang J, Li K, Pan Y, Yao L, Yin Z, Guo X, Wu K, Ding J, Fan D. Inhibition of PI3K/Akt partially leads to the inhibition of PrP(C)-induced drug resistance in gastric cancer cells. *FEBS J* 2009; 276: 685-694 [PMID: 19143835 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2008.06816.x]

3 Carnero A. The PKB/AKT pathway in cancer. *Curr Pharm Des* 2010; 16: 34-44 [PMID: 20214616 DOI: 10.2174/138161210789941865]

4 Kerr D. Clinical development of gene therapy for colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 615-622 [PMID: 12894249 DOI: 10.1038/nrc1147]

5 Gillet JP, Gottesman MM. Mechanisms of multidrug resistance in cancer. *Methods Mol Biol* 2010; 596: 47-76 [PMID: 19949920 DOI: 10.1007/978-1-60761-416-6_4]

6 周庚寅, 张晓芳. 肿瘤多药耐药机制及其逆转. 临床与实验病理学杂志 2009; 25: 348-351

7 Xia L, Zhang D, Du R, Pan Y, Zhao L, Sun S, Hong L, Liu J, Fan D. miR-15b and miR-16 modulate multidrug resistance by targeting BCL2 in human gastric cancer cells. *Int J Cancer* 2008; 123: 372-379 [PMID: 18449891 DOI: 10.1002/ijc.23501]

8 Xie X, Tang B, Zhou J, Gao Q, Zhang P. Inhibition of the PI3K/Akt pathway increases the chemosensitivity of gastric cancer to vincristine. *Oncol Rep* 2013; 30: 773-782 [PMID: 23743572 DOI: 10.3892/or.2013.2520]

9 Liu L, Ning X, Sun L, Zhang H, Shi Y, Guo C, Han S, Liu J, Sun S, Han Z, Wu K, Fan D. Hypoxia-inducible factor-1 alpha contributes to hypoxia-induced chemoresistance in gastric cancer. *Cancer Sci* 2008; 99: 121-128 [PMID: 17953712]

10 Owonikoko TK, Khuri FR. Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway: biomarkers of success and tribulation. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2013 [PMID: 23714559 DOI: 10.1200/EdBook_AM.2013.33.e395]

11 Yuan TL, Cantley LC. PI3K pathway alterations in cancer: variations on a theme. *Oncogene* 2008; 27: 5497-5510 [PMID: 18794884 DOI: 10.1038/onc.2008.245]

12 Kolasa IK, Rembiszewska A, Felisiak A, Ziolkowska-Seta I, Murawska M, Moes J, Timorek A, Dansonka-Mieszkowska A, Kupryjanczyk J. PIK3CA amplification associates with resistance to chemotherapy in ovarian cancer patients. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 21-26 [PMID: 19029838 DOI: 10.4161/cbt.8.1.7209]

13 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]

14 Armaghany T, Wilson JD, Chu Q, Mills G. Genetic alterations in colorectal cancer. *Gastrointest Cancer Res* 2012; 5: 19-27 [PMID: 22574233]

15 Catasus L, Gallardo A, Cuatrecasas M, Prat J. PIK3CA mutations in the kinase domain (exon 20) of uterine endometrial adenocarcinomas are associated with adverse prognostic parameters. *Mod Pathol* 2008; 21: 131-139 [PMID: 18084252]

16 Janku F, Tsimberidou AM, Garrido-Laguna I, Wang X, Luthra R, Hong DS, Naing A, Falchook GS, Moroney JW, Piha-Paul SA, Wheler JJ, Moulder SL, Fu S, Kurzrock R. PIK3CA mutations in patients with advanced cancers treated with PI3K/AKT/mTOR axis inhibitors. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 558-565 [PMID: 21216929 DOI: 10.1158/1535-7163]

17 Dbouk HA, Backer JM. A beta version of life: p110β takes center stage. *Oncotarget* 2010; 1: 729-733 [PMID: 21321382]

18 孟晓, 吴淑华, 李扬扬, 田东. PI3Kp110不同亚单位在结直肠腺瘤癌变中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21: 661-666

19 Zhang J, Roberts TM, Shivdasani RA. Targeting PI3K signaling as a therapeutic approach for colorectal cancer. *Gastroenterology* 2011; 141: 50-61 [PMID: 21723986 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.05.010]

20 Wee S, Wiederschain D, Maira SM, Loo A, Miller C, deBeaumont R, Stegmeier F, Yao YM, Lengauer C. PTEN-deficient cancers depend on PIK3CB. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 13057-13062 [PMID: 18755892 DOI: 10.1073/pnas.0802655105]

21 Jamieson S, Flanagan JU, Kolekar S, Buchanan C, Kendall JD, Lee WJ, Rewcastle GW, Denny WA, Singh R, Dickson J, Baguley BC, Shepherd PR. A drug targeting only p110α can block phosphoinositide 3-kinase signalling and tumour growth in certain cell types. *Biochem J* 2011; 438: 53-62 [PMID: 21668414 DOI: 10.1042/BJ20110502]

22 Jeong JY, Kim KS, Moon JS, Song JA, Choi SH, Kim KI, Kim TH, An HJ. Targeted inhibition of phosphatidyl inositol-3-kinase p110β, but not p110α, enhances apoptosis and sensitivity to paclitaxel in chemoresistant ovarian cancers. *Apoptosis* 2013; 18: 509-520 [PMID: 23371322 DOI: 10.1007/s10495-013-0807-9]

23 El-Readi MZ, Hamdan D, Farrag N, El-Shazly A, Wink M. Inhibition of P-glycoprotein activity by limonin and other secondary metabolites from Citrus species in human colon and leukaemia cell lines. *Eur J Pharmacol* 2010; 626: 139-145 [PMID: 19782062 DOI: 10.1016/j.ejphar.2009.09.040]
24 Kuo MT, Liu Z, Wei Y, Lin-Lee YC, Tatebe S, Mills GB, Unate H. Induction of human MDR1 gene expression by 2-acetylaminofluorene is mediated by effectors of the phosphoinositide 3-kinase pathway that activate NF-kappaB signaling. *Oncogene* 2002; 21: 1945-1954 [PMID: 11960367 DOI: 10.1038/sj.onc.1205117]
25 Barancík M, Bohácová V, Sedlák J, Sulová Z, Breier A. LY294,002, a specific inhibitor of PI3K/Akt kinase pathway, antagonizes P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Eur J Pharm Sci* 2006; 29: 426-434 [PMID: 17010577 DOI: 10.1016/j.ejps.2006.08.006]
26 García MG, Alaniz LD, Cordo Russo RI, Alvarez E, Hajos SE. PI3K/Akt inhibition modulates multidrug resistance and activates NF-kappaB in murine lymphoma cell lines. *Leuk Res* 2009; 33: 288-296 [PMID: 18640717 DOI: 10.1016/j.leukres.2008.06.010]
27 Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, Shima K, Irahara N, Kure S, Chan AT, Engelman JA, Kraft P, Cantley LC, Giovannucci EL, Fuchs CS. PIK3CA mutation is associated with poor prognosis among patients with curatively resected colon cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1477-1484 [PMID: 19237633 DOI: 10.1200/JCO.2008.18.6544]
28 Broadbridge VT, Karapetis CS, Price TJ. Cetuximab in metastatic colorectal cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2012; 12: 555-565 [PMID: 22594891 DOI: 10.1586/era.12.25]
29 Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F, Veronese S, Nichelatti M, Artale S, Di Nicolantonio F, Saletti P, De Dosso S, Mazzucchelli L, Frattini M, Siena S, Bardelli A. PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. *Cancer Res* 2009; 69: 1851-1857 [PMID: 19223544 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2466]
30 Mao C, Yang ZY, Hu XF, Chen Q, Tang JL. PIK3CA exon 20 mutations as a potential biomarker for resistance to anti-EGFR monoclonal antibodies in KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol* 2012; 23: 1518-1525 [PMID: 22039088 DOI: 10.1093/annonc/mdr464]
31 Bardelli A, Siena S. Molecular mechanisms of resistance to cetuximab and panitumumab in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1254-1261 [PMID: 20100961 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.6116]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 210-213
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

胆囊结核的研究进展

舒德军, 彭慈军, 张 乔, 梅 永, 李伟男, 李雄雄

■背景资料
胆囊结核是一种临床罕见的胆囊慢性特异性感染性疾病, 属肺外结核的一种, 临床表现缺乏特异性, 主要需要与胆囊癌、黄色肉芽肿性胆囊炎等具有相似影像学特征的疾病鉴别, 一旦确诊或考虑本病, 以胆囊切除为主的标准化抗结核治疗可获得良好的临床效果.

舒德军, 彭慈军, 张乔, 梅永, 李伟男, 李雄雄, 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, 主要从事肝脏病方面研究.
作者贡献分布: 本文撰写主要由舒德军完成; 张乔、梅永、李伟男及李雄雄共同参与文献检索及整理工作; 由彭慈军审校.
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.
doctorpengcijun@163.com
电话: 0851-28608244
收稿日期: 2014-11-05 修回日期: 2014-11-24
接受日期: 2014-12-05 在线出版日期: 2015-01-18

Research progress of gallbladder tuberculosis

De-Jun Shu, Ci-Jun Peng, Qiao Zhang, Yong Mei, Wei-Nan Li, Xiong-Xiong Li

De-Jun Shu, Ci-Jun Peng, Qiao Zhang, Yong Mei, Wei-Nan Li, Xiong-Xiong 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. doctorpengcijun@163.com
Received: 2014-11-05 Revised: 2014-11-24
Accepted: 2014-12-05 Published online: 2015-01-18

Abstract
Gallbladder tuberculosis (TB) is a form of extrapulmonary tuberculosis, and it is a rare chronic non-specific infectious disease. Gallbladder TB always appears in the context of gallbladder stones and cholecystitis. Gallbladder TB is a condition difficult to diagnose clinically and often has missed and delayed diagnosis. This paper reviews the progress in research of gallbladder TB in terms of its etiology, pathogenesis, type, diagnosis and differential diagnosis, misdiagnosis reasons and therapy.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gallbladder TB; Tuberculum bacillus; Diagnosis; Treatment

Shu DJ, Peng CJ, Zhang Q, Mei Y, Li WN, Li XX. Research progress of gallbladder tuberculosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 210-213 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/210.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.210

■同行评议者
汤朝晖, 副主任医师, 上海交大医学院附属新华医院普外科

摘要
胆囊结核是胆囊慢性特异性感染性疾病, 临床上较为罕见, 属肺外结核的一种, 常与胆囊结石及胆囊炎并存, 在临床上诊断极为困难, 容易误诊、漏诊, 因此如何对其有效的早期诊断已成为近年来国内外研究的热点. 本文就胆囊结核的病因、发病机制、类型、诊断与鉴别诊断、误诊原因以及治疗等方面的研究进展作一综述.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胆囊结核; 结核杆菌; 诊断; 治疗

核心提示: 胆囊结核是一种临床罕见的胆囊慢性特异性感染性疾病, 属肺外结核的一种, 常无典型的临床表现, 影响学检查虽难以做到定性诊断, 但可为胆囊结核的诊断提供线索. 在出现胆囊急慢性炎症合并其他全身中毒表现、血沉加快等情况时, 要认识到存在胆囊结核的可能. 胆囊切除术后病理学检查仍是诊断胆囊结核的金标准.

舒德军, 彭慈军, 张乔, 梅永, 李伟男, 李雄雄. 胆囊结核的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 210-213 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/210.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.210

0 引言
经全国结核流行病学调查, 结核病的死亡居各种死因的第9位[1]. 胆囊结核是指胆囊壁存在结核病变或引流胆囊的淋巴结同时受累者[2]. 在肺外结核中, 胆囊结核在临床上极为罕见[3], 该病常继发于身体其他部位的结核病变, 尤其是肺结核, 淋巴结核[4]. 临床上主要为进行性加重的梗阻性黄疸[5]. 目前国外报道不超过50例[6], 国内报道甚少, 小儿也有发病[7], 均为个案报道. 由于其缺乏典型的临床表现, 很容易被临床医生所忽视, 甚至很多被误诊为胆囊的恶性肿瘤, 最终通过术后病理切片才能明确诊断[8]. 目前对该病

缺乏足够的认识, 临床诊断有一定的困难, 极易误诊、漏诊. 本文就胆囊结核的研究进展及相关问题作如下概述.

1 病因及发病机制

胆囊结核在临床中罕见, 常与胆囊结石并存, 提示胆囊结石及其导致的胆囊炎症在胆囊结核的发生中具有重要作用[9], 个别与肝结核并存[10]. 大多是由体内其他部位结核病灶的结核杆菌通过血液传播侵入胆囊在黏膜层形成干酪样病灶[11], 可多年不发病, 在碱性的胆汁环境中, 结核杆菌不易生长[12], 其原因是含高浓度胆酸的胆汁具有抑制结核杆菌生长的作用, 当胆囊结石及胆囊炎症对胆囊黏膜和胆囊壁的损伤, 导致胆囊的抑菌能力下降, 局部病灶再度活动进展引起胆囊结核[13,14]. 免疫系统良好的人群, 一般会通过自身免疫而不发生胆囊结核, 相对于免疫系统功能障碍的患者, 患胆囊结核的概率增加[15]. 综合国内外文献, 胆囊结核的发生可能是由于原发综合征早期血行播散、原发阶段早期血行播散灶因机体抵抗力降低再度活动、后期血行播散或局部病灶的直接感染[16]. 其发病初期黏膜充血、水肿, 形成结核结节, 继之发生结核性溃疡、肉芽肿、纤维化. 严重时侵及肌层, 发生广泛纤维组织增生和瘢痕形成[17].

2 临床分型及意义

目前国内外对胆囊结核的病理分型尚无统一的标准. 李学信等[18]报道胆囊结核的病理可分为两型: (1)慢性溃疡型: 来源于腹腔其他部位隐性感染灶经淋巴播散而致; (2)急性型: 由血型播散而致, 常伴有全身或粟粒性结核. 胆囊结核根据结核杆菌感染胆囊的同时是否伴有胆囊外结核分为原发性胆囊结核和继发性胆囊结核, 原发性胆囊结核极为少见[19], 大多由体内其他部位的结核杆菌经血循环侵及胆囊壁黏膜层形成干烙样坏死病灶, 破溃后形成结核性溃疡, 引起胆囊周围结核性脓肿及网膜包裹黏连, 下行侵及胆总管、胰腺、十二指肠等, 逆行导致肝结核. 继发性胆囊结核则多由肠管自行吸收结核杆菌引起感染, 当表现为淋巴结结核时, 主要在肠系膜、小网膜及腹膜后L2以上区域淋巴结引起肿大[20].

3 诊断与鉴别诊断

由于胆囊结核临床表现及影像学检查与慢性胆囊炎相似, 临床上缺乏典型症状与体征以及特异性检查方法, 术前难于诊断[21], 为了早期诊断胆囊结核, Raja等[22]研究表明, 免疫球蛋白G(immune globulin G, IgG)、IgA、IgM水平的变化在肺结核的敏感性分别为62%、52%、11%, 特异性分别为100%、97%、95%. 同时进行痰培养、结核菌素实验及肺部的影像学检查可以为胆囊结核诊断提供辅助资料. B超和计算机断层扫描(computed tomography, CT)对胆囊结核无定性诊断价值, 致本病临床诊断较困难[23], 易误诊、漏诊, 其主要需要与胆囊癌、黄色肉芽肿性胆囊炎等具有相似影像学特征的疾病鉴别[24,25]. 胆囊结核早期声像图可无明显异常, 也可仅为胆囊壁轻度增厚毛糙[26]. 当胆囊壁发生结核性溃疡、纤维组织增生后, 表现为囊内新生物[27], 胆囊壁不均匀性增厚, 回声增强, 内膜不光整, 如出现肉芽肿时, 可见胆囊壁呈占位性病变, 对诊断尚有帮助, 但难以做到定性诊断, 往往被误诊为胆囊癌. 而CT检查对三者的鉴别至关重要. 胆囊结核表现为胆囊壁增厚或局部隆起性病变, 呈均匀或略低密度影, 有黏连倾向, 合并淋巴结内干酪样坏死时[28], 增强CT扫描病灶可见多环状不均匀强化, 腹膜后淋巴结可肿大. 胆囊癌早期无特殊症状和体征[29], CT检查仅能发现一些晚期的征象, 表现为胆囊壁不均匀增厚, 呈低密度影, 增强CT扫描病灶可见不均匀强化, 腹膜后淋巴结可肿大, 且恶性程度高, 较早就发生肝内转移, 且肿瘤芯片检查大多异常. 黄色肉芽肿性胆囊炎是结石所致的梗阻造成胆囊黏膜溃疡形成、罗阿窦破裂, 致胆汁渗入胆囊壁引起组织细胞的增生性反应[30], CT检查见增厚的胆囊壁内低密度结节, 增强扫描为典型的夹心饼干征, 以及完整的胆囊黏膜线是提示黄色肉芽肿性胆囊炎诊断的重要征象[31], 一般无腹膜后淋巴结肿大. 临床上胆囊结核、黄色肉芽肿性胆囊炎、胆囊癌难以鉴别, 当出现下列情况时应想到胆囊结核的可能[6,32,33]: (1)临床上出现结核中毒症状, 诊断其他部位结核时, 同时出现胆囊病变; (2)虽无明显结核中毒症状, 但患者贫血, 查纯蛋白衍生物(purified protein derivative, PPD)阳性、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)异常, 并且合并胆囊病变、胆囊壁增厚; (3)年龄大, 存在糖尿病等基础病, 影像学上表现为胆囊壁增厚或局部隆起性病变, 难以与胆囊癌鉴别, 且临床恶性肿瘤表现不典型时; (4)怀疑胆囊癌而无癌症体征且肿瘤标志物正常时. 临床上有类似急性化脓性胆囊

■研发前沿
目前临床报道较少, 但有增多趋势, 究其原因与结核病的增加有关, 胆囊结核易被误诊, 往往需要术后病理学检查才可确诊, 可出现低热、盗汗、乏力、消瘦等结核中毒症状.

■相关报道
根据报道全球约有1/3的人曾受到结核分枝杆菌的感染, 我国结核病的死亡居各种死因的第9位. 目前国内外报道甚少, 小儿也有发病, 且均为个案报道.

■创新盘点
本研究对胆囊结核进行系统性总结，对指导临床运用具有一定价值，同时指出，定期体检及病因治疗是预防胆囊结核发生的关键，治疗上在手术切除、病理诊断明确情况下，重视结核的全面正规治疗在临床上可获得良好效果.

炎表现，怀疑本病者，可选用超声引导下经皮胆囊穿刺活检或经腹腔镜直视下胆囊穿刺活检，可提高确诊率[34]. 术中冰冻检查可提升对病变良恶性的判断，但胆囊切除术后病理学检查仍是诊断胆囊结核的金标准，可发现特征性的结核病理变化和抗酸杆菌[35].

4 误诊原因

胆囊结核临床少见，临床表现缺乏特异性，误诊率较高，临床诊断十分困难[36]，分析其原因主要有：(1)长时间不发病，结核中毒症状不明显，无恶病质表现；(2)胆囊结核临床少见，缺乏典型的临床症状；(3)临床医师对胆囊结核认识不足，易被忽视；(4)胆囊结核常合并结石性胆囊炎，致使胆流受阻合并非特异性感染，表现为腹痛、寒战、高热，掩盖了结核中毒症状，导致术前漏诊[37]；(5)一般认为结核是贫穷和体虚者所患疾病，因此对原来健康和经济富裕者很难想到患结核的可能[38]；(6)对于难以与胆囊癌、黄色肉芽肿性胆囊炎鉴别的病例，临床缺乏特异性诊断方法. 因此，对于临床医生而言，我们有必要提高对胆囊结核的认识，在出现胆囊急慢性炎症合并其他全身中毒表现、血沉加快等情况时，要认识到存在胆囊结核的可能性，并进一步检查，提高初诊确诊率. 综合国内外文献[39-44]，胆囊结核的主要特点是：(1)好发于青年女性，临床表现与急慢性胆囊炎相似，体征为右上腹部痛性肿块，可合并结核中毒症状；(2)有结核病史，实验室检查有贫血，血沉快，PPD皮试阳性；(3)CT发现胆囊病变的同时能见特征性结核性淋巴结肿大；(4)胆囊有慢性炎症改变，既往或现在体内其他部位存在结核病灶；(5)术前难以确诊，术后通过组织学检查得以诊断；(6)术后抗结核治疗效果好.

5 治疗

胆囊结核是肺外结核的一种[45]，胆囊切除及全身抗结核药物治疗是胆囊结核的治疗原则[46]. 胆囊结核一经确诊，均应采用标准化的抗结核治疗，治疗期间应密切随诊，定期监测肝、肾功、血沉，及时调整治疗方案. 同时复查B超、胸片等了解本病是否彻底治愈及其他脏器有无发病情况[47]，均可获得良好的临床效果. 手术的目的是尽量切除病灶，对临床高度怀疑的胆囊结核的病例，如无并存胆囊其他病变，可先行诊断性抗结核治疗. 如并存胆囊结石，依患者身体状况、临床症状的轻重决定手术与抗结核治疗的先后. 无论有无胆囊结石，一旦难以与胆囊癌相鉴别时，在宁可误诊也不放过胆囊癌的心理作用下[48]，建议无手术禁忌的患者一经发现立即行手术治疗，术后常规送病理检查，诊断明确后进行正规的抗结核治疗[49].

■名词解释
红细胞沉降率：指红细胞在第一小时末下沉的距离表示红细胞的沉降速度，即血沉.

6 结论

总之，胆囊结核发病机理较为复杂、无特殊的临床症状和体征，目前尚无明确的诊断标准和治疗指南. 为了避免误诊、漏诊，临床医师对每位患者行胸部X线确定有无陈旧性肺结核，了解患者有无结核中毒症状，同时结合影像学观察有无胆道梗阻及胆囊壁结节的情况对诊断胆囊结核起着至关重要的作用. 定期体检及病因治疗是预防胆囊结核发生的关键，治疗上在手术切除、病理诊断明确情况下，重视结核的全面正规治疗在临床上可获得良好效果.

7 参考文献

1 朱洪江，舒德军，梅永，彭慈军. 原发性肝结核瘤1例. 中华肝脏病杂志 2014; 22: 128-129
2 范丽杉. 胆囊结核穿孔1例. 中国误诊学杂志 2010; 10: 3779
3 韩鹏，刘云霞，曲阳春，张孟超，郭建男. 胆囊结核并胆囊结石一例. 中华临床医师杂志 2013; 7: 227-228
4 王金银，王文芳. 胆囊结核并结石穿孔1例报道. 腹部外科杂志 1997; 10: 110
5 全冠民，王嗣伟. 胆囊结核一例报告. 医学影像学杂志 1996; 6: 208
6 Yu R, Liu Y. Gallbladder tuberculosis: case report. *Chin Med J* (Engl) 2002; 115: 1259-1261 [PMID: 12515279]
7 陈志远. 小儿胆囊结核并胆囊结石1例. 临床小儿外科杂志 2007; 6: 49
8 王晓琴，刘虎. 胆囊结核伴胆囊结石1例报告. 中国医药导刊 2013; 15: 1544
9 高国栋，王平，杨翀. 胆囊结核一例. 中华结核和呼吸杂志 2013; 36: 231-232
10 张鸿文，郭桂生. 以黄疸为主要表现的肝、胆囊结核1例. 中华肝胆外科杂志 2003; 9: 539
11 吴志霞，马义前，褚玉民. 糖尿病并发胆囊结核、胆结石及肝脓肿1例报道. 上海医学影像杂志 1993; 2: 21
12 何俊，汪成贵，胡应秀. 原发性胆囊结核并胆囊结石1例. 中国普通外科杂志 1997; 2: 96
13 Banerjee S, Sen S. Tuberculosis of the gall bladder. *J Indian Med Assoc* 2003; 101: 556-557 [PMID: 15168996]
14 Rouas L, Mansouri F, Jahid A, Zouaidia F, Saïdi H, Nabih N, Benabdellah M, Laraqui L, Mahassini N, Bernoussi Z, Elhachimi A. [Gallbladder tuberculosis associated with cholelithiasis]. *Rev Med Liege* 2003; 58: 757-760 [PMID: 14978850]
15 王伟，刘绪舜. 胆囊结石合并胆囊结核及糖尿病一例. 中华肝胆外科杂志 2005; 11: 355
16 张敦熔. 现代结核病学. 北京：人民军医出版社，2000: 300-400
17 肖群，张江南，张永模，邓小荣，万江萍. 胆囊结石合并胆

囊结核一例. 中华普通外科学文献(电子版) 2011; 5: 47
18 李学信, 李秀娟, 赵春山. 胆囊结核2例报告及文献复习. 中国综合临床医学 1994; 10: 329-330
19 段建国, 刘长林, 陈勇. 胆囊结核一例. 中华放射学杂志 1992; 26: 379
20 孙骏谟, 张在鹏, 涂珍珠. 本期读片窗答案. 临床放射学杂志 1999; 18: 390
21 陈宏志, 王寿九. 术中内镜检查的临床应用. 江苏医药杂志 2000; 26: 59
22 Raja A, Uma Devi KR, Ramalingam B, Brennan PJ. Immunoglobulin G, A, and M responses in serum and circulating immune complexes elicited by the 16-kilodalton antigen of Mycobacterium tuberculosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 308-312 [PMID: 11874868]
23 陈宏志. 肝、胆囊结核误诊一例报告. 中华肝胆外科杂志 1998; 4: 262
24 肖群, 张江南, 张永模, 邓小荣, 万红萍. 胆囊占位确诊为胆囊结石合并胆囊结核1例. 实用临床医学 2011; 12: 48-51
25 余日胜, 刘奕青, 章士正. 胆囊结核1例. 中华结核和呼吸杂志 2003; 26: 66
26 宋戈萍, 崔玉敏, 高兴琳. 胆囊结核的超声表现. 中国超声医学杂志 2001; 17: 387
27 张红梅, 黄晓玲. 超声对腹部结核的诊断价值. 临床超声医学杂志 2004; 6: 55
28 劳群, 王朝明, 沙水泉, 姚素春. 颈淋巴结结核的CT诊断. 中国医学计算机成像杂志 1997; 3: 166-168
29 章瑞萍, 温玲兰, 王英. 胆囊癌超声误诊21例分析. 中国误诊学杂志 2011; 11: 4294
30 张弢, 王明亮, 臧潞, 陆爱国, 毛志海, 李健文, 董峰, 蒋渝, 郑民华. 黄色肉芽肿性胆囊炎74例诊治分析. 中国实用外科杂志 2007; 27: 549-550
31 王伟忠, 刘文瑾. 黄色肉芽肿性胆囊炎CT诊断和误诊原因分析(附9例报告). 临床放射学杂志 2011; 30: 520-522
32 Saluja SS, Ray S, Pal S, Kukeraja M, Srivastava DN, Sahni P, Chattopadhyay TK. Hepatobiliary and pancreatic tuberculosis: a two decade experience. *BMC Surg* 2007; 7: 10 [PMID: 17588265 DOI: 0.1186/1471-2482-7-10]
33 吴文芳, 鲍岩, 杨冬艳. 胆囊结核误诊1例分析. 长春中医药大学学报 2013; 29: 158-159
34 陈宏志, 庄永忠, 张斌. 肝胆结核1例. 海军医高专学报 1997; 19: 183
35 姚宝珍, 吴建宏. 原发性胆囊结核二例误诊分析. 临床误诊误治 1996; 9: 48
36 李亮成, 安子元, 赵忠忱, 李怀玉, 任志刚, 郭文栋, 宋顺录, 王华余, 王仲会, 李仲孝, 刘志发, 张正行, 牛冬花, 鲍洛文, 全玉湘, 朱丽明, 周育昌. 消化道结核29例分析. 实用内科杂志 1991; 11: 357-358
37 陆卫军, 王光伟, 周亚龙, 王倩. 肝结核并胆囊结核一例. 中华肝胆外科杂志 2003; 9: 153
38 钱祝银, 赵翰林. 腹腔脏器结核致阻塞性黄疸三例报告. 南京医科大学学报 1994; 14: 240-241
39 蒋西华. 胆囊结核一例报告. 上海医学杂志 1982; 5: 243
40 朴仁杰, 张金玉, 金美兰. 胃、胰腺、肝及胆囊结核误诊一例分析. 吉林医学杂志 1993; 14: 123-124
41 杨志刚, 闵鹏秋, 何之彦, 周翔平, 缪竞陶. 腹腔和腹膜后间隙结核的CT表现及其病理基础. 中华放射学杂志 1996; 30: 155
42 周亚魁, 阙存光, 易辛. 胆囊结核一例. 临床外科杂志 2000; 8: 27
43 李铁民. 胆囊结核1例. 罕少疾病杂志 2000; 7: 20
44 王琴, 刘云霞. 胆囊结核1例并文献复习. 临床肺科杂志 2005; 10: 547
45 叶川. 胆囊结石伴胆囊结核1例. 贵阳医学院学报 2003; 28: 375
46 杨书忠, 张凤学, 王充. 胆囊结核合并胆囊结石2例报告. 实用外科杂志 1991; 11: 665
47 林震, 陈林昊. 胆道系统结核的诊疗分析. 福建医药杂志 2000; 22: 7-8
48 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
49 温宁笑, 袁红梅, 张春蕾. 胆囊结石并胆囊结核1例. 现代诊断与治疗 2011; 22: 63

■同行评价

胆囊结核临床较为罕见, 目前对胆囊结核的临床表现及治疗原则缺乏全面总结的文章, 对临床有一定的指导意义.

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 214-220
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

干细胞治疗溃疡性结肠炎的研究进展

徐 萌, 范 恒

■背景资料
溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病机制迄今尚不清楚, 而目前普遍认为其发病机制与免疫紊乱和黏膜血管的病变有关. 干细胞(stem cells)具有免疫调节和促进血管增生的功能, 近年来关于干细胞对UC的免疫调节和促进受损血管生成方面的研究取得了突破性的进展.

徐萌, 范恒, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022
作者贡献分布: 此论文写作由徐萌与范恒完成; 范恒指导.
通讯作者: 范恒, 教授, 主任医师, 博士生导师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. fanheng009@aliyun.com
电话: 027-85726395 传真: 027-85726395
收稿日期: 2014-11-10 修回日期: 2014-11-28
接受日期: 2014-12-08 在线出版日期: 2015-01-18

Advances in stem cell treatment of ulcerative colitis

Meng Xu, Heng Fan

Meng Xu, Heng Fan, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Correspondence to: Heng Fan, Professor, Chief Physician, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Avenue, Wuhan 430022, Hubei Province, China. fanheng009@aliyun.com
Received: 2014-11-10 Revised: 2014-11-28
Accepted: 2014-12-08 Published online: 2015-01-18

Abstract
Stem cells have the characteristics of multipotent differentiation and self-renewal and can modulate the immune system and promote angiogenesis. The etiology and pathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD), which includes ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD), are still not clear. It is currently widely recognized that the pathogenesis of UC is related with immune disorders and vascular lesions of the colonic mucosa. This article reviews the effect of stem cells on immune regulation and angiogenesis in UC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colitis; Ulcerative; Stem cells; Immunity; Neovascularization; Treatment

Xu M, Fan H. Advances in stem cell treatment of ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 214-220 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/214.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.214

■同行评议者
任粉玉, 教授, 延边大学附属医院消化内科

摘要
干细胞(stem cells)不仅具有多向分化潜能和自我复制的能力, 还具有免疫调节和促进血管增生的功能. 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种病因和发病机制尚不明确的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD). 目前普遍认为UC的发病机制与免疫紊乱和黏膜血管的病变有关. 本文就干细胞对UC的免疫调节和促进受损血管生成两方面的作用作一论述.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结肠炎; 溃疡性; 干细胞; 免疫; 血管; 治疗

核心提示: 干细胞移植可抑制过度活化和增殖的效应细胞和炎性细胞因子, 增加抗炎因子的产生, 调整失衡的免疫系统; 亦可促进溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)患者结肠黏膜血管的生成, 使氧和营养物质输送到局部损伤组织, 而修复受损的结肠黏膜.

徐萌, 范恒. 干细胞治疗溃疡性结肠炎的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 214-220 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/214.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.214

0 引言
溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是炎症性肠病的一种. 他以结肠黏膜的炎症为主要特征, 始发于直肠以连续的方式向近侧延伸至部分或全结肠[1]. 其临床主要表现为黏液血便, 可伴有腹痛、尿急、里急后重等, 有发作期和缓解期[2]. 与正常人相比, UC可增加结肠癌的发病风险, 左半结肠炎患者发展为结肠癌的是正常人的2.8倍, 全结肠炎为15倍. 在童年时期患有全结肠炎的患者, 其患结肠癌的风险可高达162倍[3]. UC在北美和欧洲北部的发病率和患病率最高, 而在南半球和东方国家的发病率最低[1,4]. 据2013年最新英国UC的临床指南报道, 在英国UC每年的发病率约为10/10万人, 大约240/10万人的发病率, 相当于

大约有14.6万例被诊断患有UC[5]. 近年来随着我国工业的不断发展及国民的生活方式和饮食结构的变化, UC在我国的发病率也不断增加[6].

然而, UC的病因尚不明确[4]. 有报道[7]认为, 家族遗传是最重要的独立危险因素[1]. 超过160个基因位点与炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)易感性相关. Satsangi等[8]证实在染色体3、7和12上存在克罗恩病(Crohn's disease, CD)和UC的易感基因位点. 大量文献报道, UC是遗传易感性个体对肠道共生微生物的先天性和获得性免疫异常引起的[9], 且与结肠黏膜的血管的病变有关[10].

干细胞(stem cells)是具有多向分化潜能和自我复制能力的原始的未分化的细胞, 包括胚胎干细胞(embryonic stem cell)、成人间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)和造血干细胞(hemopoietic stem cells, HSCs)等.

1 干细胞对UC的作用机制

1.1 MSCs对UC的免疫调节作用 MSCs是存在于成人骨髓, 具有广泛的增殖潜能和保持向多组织谱系分化能力, 包括成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞等. 从这些组织来源的细胞可在体外扩增为骨、扁桃体、牙髓、硬膜、脂肪、软骨、关节液、皮肤和头发. 然而, 在许多研究中MSCs在受损组织中的分化能力仍不清楚[11-16]. MSCs除了多向分化的再生性能力, 还具有免疫调节作用[17]. 他可通过抑制促炎细胞因子的释放, 并与各种免疫细胞的相互作用而诱导外周免疫耐受, 下调炎症反应和促进组织修复, 在炎症性疾病治疗中的作用被广泛应用[18].

活动性UC宿主的肠道内免疫细胞和分子与肠道菌群之间相互作用的机制, 主要是通过先天免疫系统[巨噬细胞、树突状细胞(dendritic cells, DCs)、白介素-10(interleukin-10, IL-10)、信号转导和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription-3, STAT-3)等]和适应性免疫系统(B细胞和T细胞)而发挥作用的[19]. MSCs可增加IL-10的生成, 抑制T淋巴细胞的增殖和活化, 及细胞毒性和自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)产生的细胞因子而发挥广泛免疫调节作用[20].

1.1.1 IL-10: IL-10是由T细胞、某些B细胞和巨噬细胞产生的具有多效抗炎作用的细胞因子. Toll样受体2(Toll-like receptors 2, TLR2)、转录因子GATA3、转录因子MAF、Jun蛋白、STAT蛋白等均可影响IL-10的产生, 并且不同分子的调节使对IL-10在先天性和适应性免疫系统的表达不同. IL-10可通过与细胞表面的IL-10受体(IL-10 receptor, IL-10R)和STAT3的活化诱导抗炎应答; 通过作用于DCs和巨噬细胞, 而抑制Th1细胞的应答发生; 通过增强调节性T(regulatory T, Treg)细胞的分化, 而提供了正向调节环路[21].

全基因组关联研究指出IL-10轴线在IBD发病机制中起着重要作用. 巨噬细胞分泌的IL-10依赖于肠道内环境的稳定和Treg细胞的维持, 而IL-10R表达的缺失可削弱巨噬细胞的调节作用, 导致严重的结肠炎发生[22]. IL-10作用IL-10R后通过其下游的信号可阻断核因子-κB(nuclear factor-kappa B, NF-κB)依赖性信号而抑制对促炎细胞因子的诱导[23].

Engelhardt等[24]认为IL-10和IL-10R的缺乏, 是由编码IL-10或IL-10R的基因突变引起, 导致原发性免疫缺陷而造成免疫系统严重失调. 由于UC患者存在IL-10的缺乏或IL-10R的缺陷, 故造血干细胞移植应及早成为治疗结肠炎的选择.

1.1.2 DCs: DCs在人体的免疫防御系统中参与抗原摄取、加工、提呈, 是人体最有效的抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC), 能够调节T淋巴细胞的活化[25,26]. DCs表达大量的微生物模式识别受体, 包括TLR和NOD-样受体. TLR具有抵御病原体和保护上皮的作用, 从而促进肠道内环境的稳定和维护上皮屏障. 正常肠上皮细胞主要表达TLR3和TLR5, 而缺乏TLR2和TLR4. UC患者的TLR4表达却增加, 活化的TLR可激活先天和适应性免疫反应, 导致NF-κB和其他重要的转录因子的活化, 而促进肠道炎症的发生[1]. Siddiqui等[27]实验发现使用E-钙黏蛋白刺激的DCs, 在T细胞介导的结肠炎肠道和肠道相关淋巴组织大量积聚, 且高表达TLR, 并促进辅助性T17细胞在肠道的反应, 产生促进肠道炎症的细胞因子, 如IL-6和IL-23, 进而促进肠道慢性炎症的病理反应.

MSCs可从DCs最初的分化和IL-12的分泌, 及DCs对T淋巴细胞的活化刺激作用发挥免疫抑制效应. DCs引发免疫应答的能力依赖于他们从抗原处理到抗原提呈过程中主要组织相容性复合体Ⅱ类(major histocompatibility complex Ⅱ, MHC-Ⅱ)类分子和T细胞表面的共刺激分子(CD80、CD86)的表达. 在成熟的DC中, MSCs能够下调共刺激分子CD80和CD86的表达, 降低IL-12的分泌, 从而抑制T细胞的活化和增殖[25].

■研发前沿

干细胞移植可调整失衡的免疫系统和修复受损的结肠黏膜. 然而干细胞发挥免疫抑制或增强的作用是否与其所处的微环境有关, 其最佳移植途径是静脉注射还是局部注入, 及其在缓解期和发病期分别是如何发挥作用的等等问题都是今后研究过程中亟待解决的.

■相关报道
成人间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)可通过调节机体的先天免疫系统和适应性免疫系统而发挥广泛的免疫调节作用; 干细胞“归巢”到受损的黏膜组织可促进新血管的形成及增加VP, 而防止UC的发展.

1.1.3 T淋巴细胞: T淋巴细胞分为CD4$^+$ T细胞(辅助性Th细胞)细胞和CD8$^+$ T细胞(细胞毒性T细胞). CD4$^+$ T细胞在抵抗病原菌和肠道菌群过度繁殖中起着关键性作用, CD4$^+$ T细胞失调致使某一亚群过度活化可导致IBD的发生. 普遍认为UC的发病机制主要由Th2细胞介导[9,28]. Neurath等[29]报道UC患者的黏膜炎症和上皮增生是由Th2细胞因子增高所致, 如IL-5和IL-13. Fuss等[30]通过实验证明UC与非典型Th2细胞反应有关, 通过非经典NKT细胞介导产生IL-13和对上皮细胞具有细胞毒性潜力.

MSCs不仅可在免疫应答的第一步抑制DCs的分化和成熟, 而且可直接作用于T淋巴细胞进行免疫调节. MSCs与胸腺上皮细胞表面有共同的标志物. 他们表达参与T淋巴细胞相互作用的黏附分子, 包括血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)和白细胞功能相关抗原-3(leukocyte function-associated antigen-3, LFA-3). 他表达MHC-Ⅰ分子, 但不表达MHCⅡ类分子及B7-1、B7-2、CD40或CD40L[13,14,31]. MSCs介导的免疫抑制机制主要通过细胞表面分子和可溶性因子作用的, 他可选择性地抑制T淋巴细胞和B淋巴细胞的增殖. 骨髓MSCs通过可溶性因子可有效地抑制B淋巴细胞的增殖, 通过细胞-细胞间的接触, 经程序性死亡分子-1(programmed death-1, PD-1)与其配体PD-L1、PD-L2作用激活程序性死亡-1(programmed death-1 pathway)通路而抑制T淋巴细胞的增殖[32].

不少研究[33]发现Th17细胞在IBD的发病机制中亦有重要作用. 幼稚的CD4$^+$细胞具有分化成Th1细胞、Th2细胞和诱导Treg细胞和Th17细胞成熟的潜力. Th17细胞是自身免疫组织损伤相关的促炎性CD4$^+$ T细胞的细胞群体[34]. Th17细胞的分化需要STAT-3的调节, STAT-3不仅可调节产生Th17细胞因子(IL-17、IL-21)的基因和IL-23受体, 而且还可调节Th17细胞分化所必需的转录因子, 即RORγt、IRF4和BATF. RORγt表达于Th17细胞, 是T细胞发育和分化的关键转录因子[35].

MSCs在体外阻止幼稚的CD4$^+$ T细胞向Th17细胞分化并抑制Th17细胞产生IL-17、IL-22、IFN-γ和TNF-α. Ghannam等[20]研究发现可通过促炎性细胞因子调节MSCs的黏附分子的表达, 促进Th17细胞黏附到MSCs而发挥免疫调节作用. MSCs表达CD54水平较低, 在炎性细胞因子TNF-α和IFN-γ协同作用下可高表达CD54, 从而使T细胞表达的C11a/CD18与其配体CD54结合, 并使Th17细胞分泌的CCL20与MSCs趋化因子受体CCR6结合, 从而诱导Th17细胞与MSCs黏附. MSCs可诱导*FOXP3*基因座的启动子上的组蛋白H3K4me3三甲基化, 而抑制Th17细胞的*RORC*基因对应区域的三甲基化, 抑制CD4$^+$ T细胞的增殖活化, 而发挥免疫抑制作用.

转录因子*FOXP3*可调控幼稚T细胞向Treg细胞发育, 是Treg细胞发育的关键调控基因[36]. Treg细胞是表达CD4、CD25和转录因子FOXP3的T淋巴细胞, 即CD4$^+$CD25$^+$FOXP3$^+$ T细胞, 可保护机体防止自身免疫的发生, 在维持肠道免疫耐受中起着核心作用. Treg细胞受到抗原激活后产生IL-10和/或转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)发挥抗炎作用而维持肠道的免疫稳态. Treg细胞在免疫反应过程失衡可导致慢性肠道炎症的发生[19]. Treg细胞在数量和功能上的缺失, 以及效应T细胞对Treg细胞介导的抑制作用的缺陷, 都可能导致T细胞的调节失衡, 在许多实验模型中这些缺陷导致自身免疫性疾病的发生已被证实[37].

Valmori等[34]曾报道人类Th17细胞在IL-2和IL-1β存在时可优先从FOXP3$^+$的幼稚Treg(naive Treg, NTreg)分化而来, 而非幼稚的CD4$^+$ T细胞. Ueno等[38]发现循环中IL-17$^+$FOXP3$^+$双表达的CD4$^+$ T淋巴细胞在IBD患者中增加. 这种双表达ROR-γt和FOXP3的CD4$^+$ T淋巴细胞的Treg细胞对自体T细胞增殖的抑制能力下降, 从而有利于Treg细胞向Th17细胞转换. Danese等[39]认为骨髓MSCs不仅可抑制Th17细胞的生成, 还可促进Th17细胞重编程为表达抑制性FOXP3的Treg细胞. FOXP3与核受体RORγt相互作用可明显抑制IL-17的转录, 从而影响Th17细胞的分化[40].

1.2 干细胞对受损血管的作用 UC患者的黏膜血管的病变多表现为黏膜血管纹理模糊、紊乱或消失、充血、水肿、质脆、出血等. 平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMCs)过度积累在血管性疾病的发病机制中起关键作用. 以往大量的研究致力于SMCs的迁移和增殖, 而阻止血管损伤的治疗方法仍未取得明显效果[41]. 胃肠组织损伤后的修复过程需要肉芽组织的生成, 如成纤维细胞的增殖, 结缔组织基质的沉积, 以及最为重要的黏膜微血管的生成[42]. 干细胞的靶向动员、

归巢、分化和增殖有助于受损器官组织的病理重塑, 为治疗血管相关的疾病提供了新的治疗方法.

1.2.1 SDF-1与CXCR4: Deng等[43,44]通过实验发现, 反复的炎症刺激结肠黏膜可导致结肠黏膜生成病理性血管, 病理性血管的生成是导致UC反复发作和愈合不良的关键因素. 结肠黏膜的微血管功能障碍和内皮屏障缺陷造成组织持续低灌注和缺血, 并且结肠黏膜早期释放的组胺和血管内皮生长因子促进血管通透性(vascular permeability, VP)增加, 导致血管周围组织水肿、血管瘀血和缺氧、炎症细胞浸润, 导致结肠糜烂或溃疡. 采用骨髓来源的内皮祖细胞(bone marrow-derived endothelial progenitor cells, BMD-EPCs)来介导损伤的血管内皮的再生和新生血管的发生. 在组织修复过程中, 基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)及其受体CXCR4在BMD-EPC“归巢”到受损部位和新血管的形成中起到重要作用, 并且可增加VP而阻止UC的发展.

SDF-1是趋化因子CXC亚家族的一员, 最初是从小鼠骨髓基质细胞分离, 被认为在造血干细胞归巢中发挥重要作用的细胞因子. 目前唯一已知的SDF-1受体即CXCR4, 是七跨膜G-蛋白偶联受体, 也是感染HIV-1型毒株的主要辅助受体. SDF-1可诱导CXCR4转染细胞的趋化性[45]. Tachibana等[46]通过研究*CXCR4*基因敲除对小鼠血管的影响, 发现在缺乏CXCR4或PBSF/SDF-1的小鼠中, 胃肠道大血管形成中是存有缺陷的, 小肠表现为多处出血或充血, 表明CXCR4负责小肠肠系膜血管的分支和血管内皮细胞的正常发生, PBSF/SDF-1和CXCR4的相互作用在器官血管发育中起着重要的生理作用.

Yamaguchi等[47]通过切除无胸腺小鼠的股动脉致使后肢缺血, 静脉移植EPCs后立即局部肌注SDF-1, 发现局部的SDF-1可与EPCs表面大量表达的CXCR4相互作用, 使EPCs迁移到缺血区域, 促进新生血管的生成. Kalka等[48]亦将人EPCs移植到无胸腺裸鼠的缺血后肢, 发现缺血后肢的血流恢复, 并且局部毛细血管密度均明显改善, 肢体损失率显著下降. 因此, 体外扩增hEPCs可能作为治疗新生血管的一个新策略.

HSCs不仅可作用于受损器官的愈合过程, 而且有助于病理重塑. Sata等[41]实验建立血管成形术后再狭窄、血管移植物和高血脂引起的动脉粥样硬化的小鼠模型, 发现HSCs可促进血管祖细胞归巢至受损血管, 并分化成平滑肌细胞或内皮细胞促进血管重塑. Möhle等[49]通过分离急性髓细胞白血病患者外周血中原代白细胞, 发现CXCR4是一种显著表达于$CD34^+$造血祖细胞的表面抗原, 其表达与SDF-1诱导内皮迁移效能有关, 并且在HSCs的归巢中发挥作用.

1.2.2 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF): 在胚胎脉管系统发育过程中, VEGF是内皮细胞分化和血管生成必不可少的细胞因子, 并且在各种疾病状态下可诱导血管的生成, 他在调控血管生成过程中起着核心作用. 缺氧和某些细胞因子可使VEGF的表达上调, 从而诱导内皮细胞增殖, 促进细胞迁移, 抑制细胞凋亡, 且可增加血管通透性[50].

Sandor等[42]推测UC愈合速度之所以慢, 是由结肠黏膜的血管生成和抗血管生成之间的平衡失调引起的. 其中, 抗血管生成的因子包括血管抑素和内皮抑素. 实验表明在炎症发生早期, 不仅VEGF的表达水平增加, 而且血管抑素和内皮抑素也显著增加. 血管抑素和内皮抑素是通过被裂解的细胞外基质及渗出的血浆蛋白激活的蛋白酶所产生, 蛋白酶水平的升高可降低VEGF的水平[51].

Hayashi等[52]在UC模型大鼠病变的结肠壁周围局部注射MSCs, 结果发现MSCs可加速大鼠结肠炎的愈合, 认为MSCs可能分化为结肠间质细胞, 并为受损组织提供VEGF和TGF-β1, 促进血管生成和调节免疫系统, 以加速结肠炎的愈合.

Frysz-Naglak等[53]通过测定UC患者血清和血浆中VEGF的浓度, 发现VEGF的浓度与UC的临床活动度呈正相关. 在活动期, *VEGF*基因及其*Flt-1*受体基因的表达比正常对照组和非活动期UC显著增高. 与此相反, Kapsoritakis等[54]发现活动期UC患者血浆VEGF水平均较正常健康对照组低, VEGF的浓度与UC活动与否无明显关系, 并认为UC的病理过程不依赖VEGF. 不少学者推测VEGF在UC患者中表达的差异可能与遗传背景有关, 不同的环境因素和地理区域造成UC患者的血管生成成分的不同, VEGF的表达水平亦不同[53].

2 结论

近年来关于干细胞治疗UC已成为研究热点, 并取得了一定成就. 在免疫方面, 干细胞移植可抑

■创新盘点

UC患者反复发作是否与肠道$CD4^+$记忆T细胞长期存在及结肠黏膜的血管生成和抗血管生成之间的平衡失调有关. MSCs在治疗UC时发挥免疫抑制或增强的作用是否与其所处的微环境有关.

■应用要点
大量实验均表明干细胞移植可调节UC患者失衡的免疫系统及促进受损黏膜血管的新生. 这些理论依据使干细胞为临床治疗UC成为可能.

制过度活化和增殖的效应细胞和炎性细胞因子, 增加抗炎因子的产生, 调整失衡的免疫系统; 在受损血管方面, 干细胞可促进UC患者结肠黏膜血管的生成, 使氧和营养物质可以输送到局部损伤组织, 而修复受损的结肠黏膜.

虽然, UC的发病机制从遗传、免疫和受损血管等方面都取得了突破性的进展, 但至今仍未完全明确, 这也使得干细胞治疗UC的研究受到一定的限制. 人们普遍认为MSCs可以下调炎症, 而也有些报道提出骨髓MSCs可能是产生IL-7的主要来源, 维持IBD患者肠道$CD4^+$记忆T细胞使炎症长期存在而发挥病理作用; MSCs发挥免疫抑制或增强的作用与其所处的微环境有关. 故关于干细胞治疗UC的机制亦有不少问题, 如干细胞的最佳移植途径是静脉注射还是消化内镜局部注入, 干细胞移植体内后在缓解期和发病期分别是如何发挥作用的, 干细胞移植后是否改变UC相关结肠癌的发病率, 以及干细胞移植体内后存活时间及与体内内环境的相互作用等等. 这些问题是今后研究干细胞治疗UC过程中亟待解决的, 并使干细胞为临床治疗UC提供充足的理论依据.

3 参考文献

1 Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ. Ulcerative colitis. *Lancet* 2012; 380: 1606-1619 [PMID: 22914296 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60150-0]

2 Cairns SR, Scholefield JH, Steele RJ, Dunlop MG, Thomas HJ, Evans GD, Eaden JA, Rutter MD, Atkin WP, Saunders BP, Lucassen A, Jenkins P, Fairclough PD, Woodhouse CR. Guidelines for colorectal cancer screening and surveillance in moderate and high risk groups (update from 2002). *Gut* 2010; 59: 666-689 [PMID: 20427401 DOI: 10.1136/gut.2009.179804]

3 Botoman VA, Bonner GF, Botoman DA. Management of inflammatory bowel disease. *Am Fam Physician* 1998; 57: 57-68, 71-72 [PMID: 9447214]

4 Adams SM, Bornemann PH. Ulcerative colitis. *Am Fam Physician* 2013; 87: 699-705 [PMID: 23939448]

5 Stenke E, Hussey S. Ulcerative colitis: management in adults, children and young people (NICE Clinical Guideline CG166). *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2014; 99: 194-197 [PMID: 24821990 DOI: 10.1136/archdischild-2013-305512]

6 Wang Y, Ouyang Q. Ulcerative colitis in China: retrospective analysis of 3100 hospitalized patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1450-1455 [PMID: 17716349]

7 Knights D, Lassen KG, Xavier RJ. Advances in inflammatory bowel disease pathogenesis: linking host genetics and the microbiome. *Gut* 2013; 62: 1505-1510 [PMID: 24037875 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303954]

8 Satsangi J, Parkes M, Louis E, Hashimoto L, Kato N, Welsh K, Terwilliger JD, Lathrop GM, Bell JI, Jewell DP. Two stage genome-wide search in inflammatory bowel disease provides evidence for susceptibility loci on chromosomes 3, 7 and 12. *Nat Genet* 1996; 14: 199-202 [PMID: 8841195]

9 Abraham C, Cho JH. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2009; 361: 2066-2078 [PMID: 19923578 DOI: 10.1056/NEJMra0804647]

10 Danese S, Sans M, de la Motte C, Graziani C, West G, Phillips MH, Pola R, Rutella S, Willis J, Gasbarrini A, Fiocchi C. Angiogenesis as a novel component of inflammatory bowel disease pathogenesis. *Gastroenterology* 2006; 130: 2060-2073 [PMID: 16762629]

11 Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-147 [PMID: 10102814]

12 Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp Hematol* 2000; 28: 875-884 [PMID: 10989188]

13 Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, Ferrer K, McIntosh K, Patil S, Hardy W, Devine S, Ucker D, Deans R, Moseley A, Hoffman R. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp Hematol* 2002; 30: 42-48 [PMID: 11823036]

14 Djouad F, Plence P, Bony C, Tropel P, Apparailly F, Sany J, Noël D, Jorgensen C. Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals. *Blood* 2003; 102: 3837-3844 [PMID: 12881305]

15 Weiss ML, Anderson C, Medicetty S, Seshareddy KB, Weiss RJ, VanderWerff I, Troyer D, McIntosh KR. Immune properties of human umbilical cord Wharton's jelly-derived cells. *Stem Cells* 2008; 26: 2865-2874 [PMID: 18703664 DOI: 10.1634/stemcells.2007-1028]

16 Petrie Aronin CE, Tuan RS. Therapeutic potential of the immunomodulatory activities of adult mesenchymal stem cells. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2010; 90: 67-74 [PMID: 20301222 DOI: 10.1002/bdrc.20174]

17 Zhang B, Liu R, Shi D, Liu X, Chen Y, Dou X, Zhu X, Lu C, Liang W, Liao L, Zenke M, Zhao RC. Mesenchymal stem cells induce mature dendritic cells into a novel Jagged-2-dependent regulatory dendritic cell population. *Blood* 2009; 113: 46-57 [PMID: 18832657 DOI: 10.1182/blood-2008-04-154138]

18 Nemoto Y, Kanai T, Takahara M, Oshima S, Nakamura T, Okamoto R, Tsuchiya K, Watanabe M. Bone marrow-mesenchymal stem cells are a major source of interleukin-7 and sustain colitis by forming the niche for colitogenic CD4 memory T cells. *Gut* 2013; 62: 1142-1152 [PMID: 23144054 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302029]

19 Elson CO, Cong Y, McCracken VJ, Dimmitt RA, Lorenz RG, Weaver CT. Experimental models of inflammatory bowel disease reveal innate, adaptive, and regulatory mechanisms of host dialogue with the microbiota. *Immunol Rev* 2005; 206: 260-276 [PMID: 16048554]

20 Ghannam S, Pène J, Moquet-Torcy G, Jorgensen C, Yssel H. Mesenchymal stem cells inhibit human Th17 cell differentiation and function and induce a T regulatory cell phenotype. *J Immunol* 2010; 185: 302-312 [PMID: 20511548 DOI: 10.4049/

jimmunol.0902007]
21 Saraiva M, O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 170-181 [PMID: 20154735 DOI: 10.1038/nri2711]
22 Zigmond E, Bernshtein B, Friedlander G, Walker CR, Yona S, Kim KW, Brenner O, Krauthgamer R, Varol C, Müller W, Jung S. Macrophage-restricted interleukin-10 receptor deficiency, but not IL-10 deficiency, causes severe spontaneous colitis. *Immunity* 2014; 40: 720-733 [PMID: 24792913 DOI: 10.1016/j.immuni.2014.03.012]
23 Shouval DS, Biswas A, Goettel JA, McCann K, Conaway E, Redhu NS, Mascanfroni ID, Al Adham Z, Lavoie S, Ibourk M, Nguyen DD, Samsom JN, Escher JC, Somech R, Weiss B, Beier R, Conklin LS, Ebens CL, Santos FG, Ferreira AR, Sherlock M, Bhan AK, Müller W, Mora JR, Quintana FJ, Klein C, Muise AM, Horwitz BH, Snapper SB. Interleukin-10 receptor signaling in innate immune cells regulates mucosal immune tolerance and anti-inflammatory macrophage function. *Immunity* 2014; 40: 706-719 [PMID: 24792912 DOI: 10.1016/j.immuni.2014.03.011]
24 Engelhardt KR, Shah N, Faizura-Yeop I, Kocacik Uygun DF, Frede N, Muise AM, Shteyer E, Filiz S, Chee R, Elawad M, Hartmann B, Arkwright PD, Dvorak C, Klein C, Puck JM, Grimbacher B, Glocker EO. Clinical outcome in IL-10- and IL-10 receptor-deficient patients with or without hematopoietic stem cell transplantation. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131: 825-830 [PMID: 23158016 DOI: 10.1016/j.jaci.2012.09.025]
25 Jiang XX, Zhang Y, Liu B, Zhang SX, Wu Y, Yu XD, Mao N. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood* 2005; 105: 4120-4126 [PMID: 15692068]
26 Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, Milanesi M, Longoni PD, Matteucci P, Grisanti S, Gianni AM. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood* 2002; 99: 3838-3843 [PMID: 11986244]
27 Siddiqui KR, Laffont S, Powrie F. E-cadherin marks a subset of inflammatory dendritic cells that promote T cell-mediated colitis. *Immunity* 2010; 32: 557-567 [PMID: 20399121 DOI: 10.1016/j.immuni.2010.03.017]
28 Iqbal N, Oliver JR, Wagner FH, Lazenby AS, Elson CO, Weaver CT. T helper 1 and T helper 2 cells are pathogenic in an antigen-specific model of colitis. *J Exp Med* 2002; 195: 71-84 [PMID: 11781367]
29 Neurath MF, Finotto S, Glimcher LH. The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity. *Nat Med* 2002; 8: 567-573 [PMID: 12042806]
30 Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, Leon F, Yoshida M, Fichtner-Feigl S, Yang Z, Exley M, Kitani A, Blumberg RS, Mannon P, Strober W. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *J Clin Invest* 2004; 113: 1490-1497 [PMID: 15146247]
31 Frank MH, Sayegh MH. Immunomodulatory functions of mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004; 363: 1411-1412 [PMID: 15121399]
32 Augello A, Tasso R, Negrini SM, Amateis A, Indiveri F, Cancedda R, Pennesi G. Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death 1 pathway. *Eur J Immunol* 2005; 35: 1482-1490 [PMID: 15827960]
33 Dong Z, Du L, Xu X, Yang Y, Wang H, Qu A, Qu X, Wang C. Aberrant expression of circulating Th17, Th1 and Tc1 cells in patients with active and inactive ulcerative colitis. *Int J Mol Med* 2013; 31: 989-997 [PMID: 23446770 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1287]
34 Valmori D, Raffin C, Raimbaud I, Ayyoub M. Human RORγt+ TH17 cells preferentially differentiate from naive FOXP3+Treg in the presence of lineage-specific polarizing factors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 19402-19407 [PMID: 20962281 DOI: 10.1073/pnas.1008247107]
35 Raza A, Yousaf W, Giannella R, Shata MT. Th17 cells: interactions with predisposing factors in the immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Expert Rev Clin Immunol* 2012; 8: 161-168 [PMID: 22288454 DOI: 10.1586/eci.11.96]
36 Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003; 299: 1057-1061 [PMID: 12522256]
37 Buckner JH. Mechanisms of impaired regulation by CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 849-859 [PMID: 21107346 DOI: 10.1038/nri2889]
38 Ueno A, Jijon H, Chan R, Ford K, Hirota C, Kaplan GG, Beck PL, Iacucci M, Fort Gasia M, Barkema HW, Panaccione R, Ghosh S. Increased prevalence of circulating novel IL-17 secreting Foxp3 expressing CD4+ T cells and defective suppressive function of circulating Foxp3+ regulatory cells support plasticity between Th17 and regulatory T cells in inflammatory bowel disease patients. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 2522-2534 [PMID: 24097227 DOI: 10.1097/MIB.0b013e3182a85709]
39 Danese S, Rutella S, Vetrano S. Mesenchymal stromal cells in inflammatory bowel disease: conspirators within the 'colitogenic niche'? *Gut* 2013; 62: 1098-1099 [PMID: 23263523 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303903]
40 Zhang F, Meng G, Strober W. Interactions among the transcription factors Runx1, RORgammat and Foxp3 regulate the differentiation of interleukin 17-producing T cells. *Nat Immunol* 2008; 9: 1297-1306 [PMID: 18849990 DOI: 10.1038/ni.1663]
41 Sata M, Saiura A, Kunisato A, Tojo A, Okada S, Tokuhisa T, Hirai H, Makuuchi M, Hirata Y, Nagai R. Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis. *Nat Med* 2002; 8: 403-409 [PMID: 11927948]
42 Sandor Z, Deng XM, Khomenko T, Tarnawski AS, Szabo S. Altered angiogenic balance in ulcerative colitis: a key to impaired healing? *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 350: 147-150 [PMID: 17011522]
43 Deng X, Szabo S, Chen L, Paunovic B, Khomenko T, Tolstanova G, Tarnawski AS, Jones MK, Sandor Z. New cell therapy using bone marrow-derived stem cells/endothelial progenitor cells to accelerate neovascularization in healing of experimental ulcerative colitis. *Curr Pharm Des* 2011; 17: 1643-1651 [PMID: 21548863]
44 Deng X, Szabo S, Khomenko T, Tolstanova G, Paunovic

■**名词解释**
MSCs归巢: MSCs在靶组织的脉管系统里被捕获, 随后跨越内皮细胞迁移至靶组织的过程.

■同行评价
本文对干细胞治疗UC研究进展做了详尽的论述、条理清晰、文献较全面,对UC的治疗及进一步的研究具有参考价值.

B, French SW, Sandor Z. Novel pharmacologic approaches to the prevention and treatment of ulcerative colitis. *Curr Pharm Des* 2013; 19: 17-28 [PMID: 22950505]

45 Bleul CC, Farzan M, Choe H, Parolin C, Clark-Lewis I, Sodroski J, Springer TA. The lymphocyte chemoattractant SDF-1 is a ligand for LESTR/fusin and blocks HIV-1 entry. *Nature* 1996; 382: 829-833 [PMID: 8752280]

46 Tachibana K, Hirota S, Iizasa H, Yoshida H, Kawabata K, Kataoka Y, Kitamura Y, Matsushima K, Yoshida N, Nishikawa S, Kishimoto T, Nagasawa T. The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. *Nature* 1998; 393: 591-594 [PMID: 9634237]

47 Yamaguchi J, Kusano KF, Masuo O, Kawamoto A, Silver M, Murasawa S, Bosch-Marce M, Masuda H, Losordo DW, Isner JM, Asahara T. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization. *Circulation* 2003; 107: 1322-1328 [PMID: 12628955]

48 Kalka C, Masuda H, Takahashi T, Kalka-Moll WM, Silver M, Kearney M, Li T, Isner JM, Asahara T. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 3422-3427 [PMID: 10725398]

49 Möhle R, Bautz F, Rafii S, Moore MA, Brugger W, Kanz L. The chemokine receptor CXCR-4 is expressed on CD34+ hematopoietic progenitors and leukemic cells and mediates transendothelial migration induced by stromal cell-derived factor-1. *Blood* 1998; 91: 4523-4530 [PMID: 9616148]

50 Abu-Ghazaleh R, Kabir J, Jia H, Lobo M, Zachary I. Src mediates stimulation by vascular endothelial growth factor of the phosphorylation of focal adhesion kinase at tyrosine 861, and migration and anti-apoptosis in endothelial cells. *Biochem J* 2001; 360: 255-264 [PMID: 11696015]

51 Cao Y. Endogenous angiogenesis inhibitors and their therapeutic implications. *Int J Biochem Cell Biol* 2001; 33: 357-369 [PMID: 11312106]

52 Hayashi Y, Tsuji S, Tsujii M, Nishida T, Ishii S, Iijima H, Nakamura T, Eguchi H, Miyoshi E, Hayashi N, Kawano S. Topical implantation of mesenchymal stem cells has beneficial effects on healing of experimental colitis in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 326: 523-531 [PMID: 18448866 DOI: 10.1124/jpet.108.137083]

53 Frysz-Naglak D, Fryc B, Klimacka-Nawrot E, Mazurek U, Suchecka W, Kajor M, Kurek J, Stadnicki A. Expression, localization and systemic concentration of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors in patients with ulcerative colitis. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 220-225 [PMID: 21115119 DOI: 10.1016/j.intimp.2010.11.023]

54 Kapsoritakis A, Sfiridaki A, Maltezos E, Simopoulos K, Giatromanolaki A, Sivridis E, Koukourakis MI. Vascular endothelial growth factor in inflammatory bowel disease. *Int J Colorectal Dis* 2003; 18: 418-422 [PMID: 12761641]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 221-228
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

儿童炎症性肠病生长发育受损的病因及治疗进展

吴 静, 牛俊坤, 缪应雷

吴静, 牛俊坤, 缪应雷, 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032
吴静, 主要从事炎症性肠病发病机制的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81160055, 81260074
云南省科技厅-昆明医学院联合专项基金资助项目, Nos. 2011FB183, 2007C0010R
云南省卫生厅卫生系统学科带头人培养计划基金资助项目, No. D-201215
云南省社会发展科技计划基金资助项目, No. 2013CA021
作者贡献分布: 本文综述由吴静与牛俊坤完成; 缪应雷审校.
通讯作者: 缪应雷, 主任医师, 博士生导师, 650032, 云南省昆明市西山区西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院消化内科. myldu@sina.com
电话: 0871-5324888
收稿日期: 2014-09-30 修回日期: 2014-12-02
接受日期: 2014-12-15 在线出版日期: 2015-01-18

Impaired growth and puberty in pediatric patients with inflammatory bowel disease: Etiology and treatment

Jing Wu, Jun-Kun Niu, Ying-Lei Miao

Jing Wu, Jun-Kun Niu, Ying-Lei Miao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81160055 and 81260074; Confederative Special Foundation of Science & Technology Department of Yunnan Province and Kunming Medical College, Nos. 2011FB183 and 2007C0010R; Medical Academic Leader Cultivation Fund of Yunnan Provincial Bureau of Health, No. D-201215; Social Development Science and Technology Projects of Yunnan Province, No. 2013CA021
Correspondence to: Ying-Lei Miao, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Xishan District, Kunming 650032, Yunnan Province, China. myldu@sina.com
Received: 2014-09-30 Revised: 2014-12-02
Accepted: 2014-12-15 Published online: 2015-01-18

Abstract
Growth failure associated with delayed puberty is a unique feature in pediatric patients with inflammatory bowel disease (IBD), especially those with Crohn's disease, which has a negative effect on quality of life, emotional functioning, social functioning, and body image. Although the underlying mechanisms are not fully clear, the condition may be induced by the effects of malnutrition, inflammatory process and glucocorticoid on the growth hormone/insulin-like growth factor-1 axis or on the growth plate. Nutrition, biologic agents, intestinal resection and glucocorticoids are main treatments. Standards for monitoring and treatment of impaired growth and development in pediatric IBD patients need to be formulated. To achieve optimal growth, the efforts of hospitals, families and society are necessary.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Children; Inflammatory bowel disease; Growth failure; Delayed puberty; Etiology; Treatment

Wu J, Niu JK, Miao YL. Impaired growth and puberty in pediatric patients with inflammatory bowel disease: Etiology and treatment. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 221-228 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/221.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.221

摘要
生长发育受损为儿童炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的特征表现, 常见于克罗恩病, 对患儿的生活质量、情绪功能、社会功能和身体形象具有负面影响. 其发病机制尚不明确, 可能由营养不良、炎症、糖皮质激素等多因素影响生长激素/胰岛素样生长因子-1轴或生长板所致. 目前治疗主要包括营养支持治疗、生物制剂、手术切除、激素治疗等. 针对儿童IBD生长发育受损的长期监测、治疗, 尚需制定统一标准. 由医院、家庭和社会共同努力实现最佳生长.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 儿童; 炎症性肠病; 生长受损; 发育迟缓; 病因; 治疗

核心提示: 儿童和青少年炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者占总IBD患者的25%, 其特征表现为生长发育受损, 生长发育受损的发病机制尚不明确, 治疗呈现多样化, 需制定统一标

■背景资料
生长发育受损为儿童炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的常见表现, 对患儿的生活质量、社会功能等造成负面影响, 其发病机制尚不明确, 监测、治疗等问题尚无统一标准, 临床医生易忽视此特征表现, 本文选取大量国外相关研究, 并提出IBD患儿生长发育受损的相关问题.

■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

■研发前沿
儿童IBD生长发育受损的研究热点集中于发病机制、各类型治疗的临床效果，虽然有大量的上述研究报道，但针对儿童生长发育受损的长期监测、治疗的临床问题，仍缺乏统一共识，亟待解决.

准以指导临床诊疗.

吴静，牛俊坤，缪应雷. 儿童炎症性肠病生长发育受损的病因及治疗进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 221-228 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/221.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.221

0 引言

儿童和青少年炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者占总IBD患者的25%[1]. 其高发年龄为学龄期和青春期早期，诊断有年轻化的趋势. 对于儿童IBD，最突出的特点是慢性肠道炎症对生长、发育的潜在影响，其发病机制尚不明确，可能与炎症、营养不良、糖皮质激素使用相关[2]. 目前治疗包括针对营养不良的营养支持康复，控制炎症、诱导缓解(完全肠内营养、免疫调节剂、生物制剂和局部病变切除)和激素治疗. 本文旨在对儿童IBD生长发育受损的发生、发展、治疗等作一综述.

1 儿童IBD生长发育受损的表现

1.1 生长受损 儿童生长是基因和环境共同作用的结果，主要由激素和营养介导. 虽然生长受损可以被定义为静态身高低于第三百分位或Z分数低于两个标准差(standard deviation score, SD)，但表示年龄和性别的百分位数或标准偏差积分的身高速率是识别生长损害最敏感的参数[3]. 儿童IBD生长受损的发生率随着生长损害定义的不同而各异，其发生率为36%-88%[4-6]. Kirschner[7]报道，长期随访发现70%IBD儿童身高在正常范围内(50%-80%百分位)，但有一部分不成比例的位于较低的百分位，仅有23%高于50%百分位，而30%低于5%百分位. 在儿童，溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)比克罗恩病(Crohn's disease, CD)更常见，但CD对生长的影响重于UC. 据报道88%的儿童CD在诊断前既存在身高增长速度的下降，并先于肠道症状的出现(46%)，11%-35%CD患者存在成年身高受损的表现，相反仅3%-10%UC儿童诊断时伴有生长受损[8].

1.2 青春期延迟 除生长受损外，青春期和发育延迟也常见于儿童IBD，尤其是长期活动性和反复复发性CD患者. 青春期最重要的生理特征是第二性征的发育和青春期生长迸发. 调查研究[9]显示IBD患者存在明显的青春期延迟. 与2007-2008年国家健康与营养调查结果相比，CD女童的月经初潮延迟1.9年[10]. 最近一项横断面研究[11]表明，与实际年龄相比，IBD女童骨龄延迟1.3年，男童为0.7年. 青春期生长障碍更易发生于男孩，研究估计女童最终身高下降0.48 SD，男童为1.0 SD[5]，可能与生长激素(growth hormone, GH)/胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)轴异常相关，CD男童IGF-1和IGF结合蛋白3(insulin-like growth factor binding protein-3, IGFBP-3)Z分数较女童低，可能与炎症影响性腺功能相关[11].

2 IBD生长发育受损的生理学机制

IBD动物实验已证实营养不良、基因多态性、炎症、接触脂多糖与生长受损相关，而与人类生长受损相关的被证实的仅有营养不良、基因多态性和炎症，以上因素可能导致GH/IGF-1轴异常和靶器官对GH的抵抗. 研究发现超过50%的IBD儿童存在不同程度的GH分泌异常，近40%IBD儿童伴有GH抵抗[12].

2.1 疾病易感基因 与生长受损相关的基因多态性位点包括肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, *TNF-α*)基因、身高相关性基因、自噬易感性基因和粒-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)抗体失效相关性*NOD2/CARD15*风险等位基因. 带有174GG基因型[白介素-6(interleukin-6, IL-6)基因多态性]的儿童相对于GC或CC基因型更易表现生长受限和更严重的疾病活动度[13]. 在儿童CD中，*TNF-α*基因多态性(238G/A, 863C/A)已被证实与高Z分数和较低的生长受损相关，且独立于疾病活动度[14]. Tomer等[15]提出NOD2/CARD15的多态性可能是生长损害发生的决定因素，但由NOD2/CARD15导致的表型特征并没有得到确定[16]. 最近一项研究[17]发现*CARD15*基因突变和GM-CSF抗体失效所致的先天性异常与儿童CD线性生长受损和小鼠结肠炎GH抵抗相关. 近年，一项关于IBD5位点的OCT1/1突变的影响分析表明，TC单倍体(*OCTN1*基因，SLC22A4 C/T，错义突变，和OCTN2，SLC22A5-207G/C，启动子突变)与低体质量、身高和体质量指数(body mass index, BMI)相关[18]. Lee等[19]研究发现身高相关性dymeclin(*DYM*)基因多态性(rs8099594)与儿童CD生长受损高度相关. 在生长受损的CD儿童中，两个易感性基因：10q21.1基因间隔区(rs10761659)和ATG16L1(rs10210302)存在轻微过度传输现象. 动物实验发现*DYM*基因突变小鼠

表现为软骨内成骨缺陷[19]. 上述突变基因可能通过促进炎症、抑制骨生成等方式影响生长.

2.2 慢性热量不足 长期慢性热量不足是导致生长受损的一个重要、也是可干预的原因, 包括慢性炎症相关厌食症、炎性细胞因子所致摄食量减少、肠道丢失蛋白质、吸收不良、分解代谢增加及药物毒性作用等原因, 均可使IBD儿童易患营养不良. 既往研究发现生长发育受损的儿童摄入的平均热量是相同年龄身高儿童推荐量的54%[20], 提示IBD患儿存在食欲减退, 可能与肠道炎症所产生的细胞因子有关. 而结肠炎动物模型也证实了TNF-α与下丘脑食欲通路存在交联作用[21]. 营养缺乏可影响GH的分泌、增加蛋白酶活性、降低三元复合物的稳定性及减少IGF-1与载体蛋白[胰岛素样生长因子结合蛋白和酸不稳定性亚基(acid-labile subunit, ALS)]的亲和力, 从而影响生长.

2.3 促炎因子 单独的营养不良不足以解释IBD患儿生长受损模式. 随着研究进展, 人们逐渐认识到肠道炎症释放的促炎症细胞因子对生长的直接抑制作用最为重要. GH/IGF-1轴对出生后的正常生长至关重要. 由脑垂体产生的GH与肝脏的受体相结合, 从而诱导IGF-1在肝脏释放, 刺激骨骺软骨细胞有丝分裂, 引起线性骨骼的生长. 而炎症细胞因子, 尤其是TNF-α、IL-1和IL-6可减少肝脏GH受体数量、干扰信号转导、转录激活因子5b磷酸化和*IGF*基因转录[22]. 动物实验发现IL-6对生长具有重要影响, IL-6拮抗剂在不影响能量摄入的情况下可促进TNBS结肠炎大鼠的生长[23]. 此外, TNF-α和IL-1可直接作用于生长板, 抑制软骨细胞的增殖、分化和诱导细胞凋亡, 对生长发育起负性作用. 最近关于儿童CD的横断面研究发现高内毒素与低身高增长速度密切相关, 表明暴露于内毒素可造成免疫介导的GH抵抗[24]. 动物实验也进一步表明内毒素和TNF-α可通过下调组织GH受体表达产生GH抵抗, 而抑制循环TNF-α可促进CD生长[17]. 越来越多的证据表明促炎因子可诱导组织特异性表达细胞因子信号抑制物(suppressors of cytokine signaling, SOCS), 后者可下调细胞因子信号[25]. 体外实验发现SOCS2可作为原发性GH受体通路抑制剂, 由JAK/STAT通路介导改变长骨长度[26]. 但是, 在生长板水平, SOCS蛋白是否能改变组织对促炎细胞因子的敏感性尚不明确.

2.4 糖皮质激素 虽然生物制剂诱导IBD缓解逐渐受到学者追捧, 但是糖皮质激素(glucocorticoids, GC)仍然是中-重度IBD诱导缓解的主力军, 特别是在生物治疗时代前, 基于GC在IBD药物中的广泛使用的地位, GC是否影响儿童生长受损也是人们关注的问题, 就此已经有大量研究, 但结果尚有争议. 该问题在50年前就引起学者的注意, Blodgett等[27]首次报道1.5 mg/(kg•d)可的松可能造成儿童生长受损. 随后的研究也支持该观点, Markowitz等[28]和Burnham等[29]已报道身高与GC暴露持续时间和累积剂量存在正相关关系. 但是, 另外一些研究[30]报道却显示GC对生长无影响, 除非是高剂量使用. 虽然研究结果存在争论, 但多数研究显示GC对生长发育有抑制作用. 这种抑制作用是多因素的, GC可直接作用于生长板, 抑制软骨细胞的增殖和胶原的合成或在生长轴的多个位点抑制正常的线性生长进程, 包括GH释放中枢的抑制, 肝脏GH受体转录减少, 致使IGF-1产生减少及IGF-1在软骨中结合减少.

2.5 青春期延迟 青春期延迟常见于慢性疾病的青少年, 多由炎症和营养不良介导. 全身促炎细胞因子可能对生殖腺产生负性调节, IL-1α或TNF-α可直接作用于性腺或通过抑制促性腺激素释放激素(gonadotropin releasing hormone, GnRH)的分泌从而减少性激素的分泌[8]. Ezri等[8]动物实验发现, 与健康对照组相比, 结肠炎组中雌鼠青春期延迟6.2 d, 57%♂鼠存在青春期延迟. 另外的实验也证实, 使用抗炎药物(TNF-α拮抗剂)可使部分动物青春期正常化[31]. 此外, GC可能是造成发育延迟的另一重要因素. 体外实验发现GC可影响卵泡刺激素活性, 从而减少雌激素的分泌[32]. 成人研究[32]也证实GC可能致睾酮缺乏以及可逆性促性腺激素缺乏.

3 儿童IBD生长情况的监测

IBD对最终身高最显著的影响发生于儿童Tanner Ⅰ和Ⅱ期, 其中早发型CD为影响最终身高的危险因素, 独立于疾病部位[33]. 生长受损的儿童实现生长追赶必需发生于青春期前, 所以早期诊断对避免生长延迟十分重要. 在明确诊断和开始治疗后, 应对身高进行定期测量、制表记录、计算身高增长的速率, 并记录发病前的身高, 以此评估慢性肠道炎症对儿童生长的影响. 其中, 有标度的壁式测距仪对于准确、可重复测量是必需的. 来自内分泌专家的一致意见是在进行身高增长速率计算时, 两次间隔时间不短于6 mo[34]. 若对生长速率测量的间隔时间短于6 mo, 测量指标应着眼于小腿长度的变化

■相关报道
生物制剂的出现, 大大提高了儿童IBD生长的干预范围, 现已证实青春期早期使用英夫利昔单抗、阿达木单抗可促进生长.

■创新盘点
目前国内缺乏儿童IBD生长发育受损相关的综述，本文不仅涉及发病机制，亦涉及治疗方案的选择，并重点阐述肠内营养、生物制剂的治疗作用，在综合近年来国外相关最新研究的同时，亦提出了儿童IBD生长发育受损长期监测、治疗中尚存的问题.

和血清胶原代谢标志物水平的测定[34]. 儿童CD线性生长受损与骨骼成熟延迟相关，儿童CD生长受损治疗指南建议行骨龄评估，多采用两个参考标准：TW计分法(tanner and white house)和G-P骨龄标准图谱法(greulich and pyle, G&P)[35]. Walters等[36]认为骨龄测量应代替实际年龄用于身高Z分数的计算. 但目前骨龄测量是否成为儿童CD常规检测项目尚有争议.

4 儿童IBD生长受损的治疗

身材矮小的儿童可能受到同龄人的嘲笑，这将严重影响到他们的自尊心，具有较低的生活质量. 研究发现，以低身高Z分数诊断的矮小儿童有较低的生活质量、情绪功能、社会功能和身体形象，生活质量随着身高Z分数的改善而提高[37]. 正常的成长是治疗成功和总体幸福感的最重要标志之一. 促进生长发育最重要的是控制疾病活动度、诱导黏膜愈合和实现最佳青春期迸发.

4.1 *营养支持治疗* 30年前营养支持治疗首次应用于CD的治疗. 在随后的治疗中，完全肠内营养(exclusive enteral nutrition, EEN)用于活动性CD的诱导缓解且疗效显著，尤其是儿童CD. 儿童开放性试验研究表明，单独给予EEN后，内镜下发现黏膜愈合和细胞因子产生减少，可能通过下调IL-6(IGF-1强抑制剂)而改善生长[35]. 使用EEN治疗14 d后可观察到CRP明显下降，伴随着IGF-1和IGFBP-3的上升[35]. 已有报道显示，每隔4 mo进行1 mo的夜间要素饮食，使肠道周期性休息是维持缓解和促进生长的一种手段[38]. 加拿大一项多中心研究观察到应用周期性肠内营养的患儿67%维持临床缓解，而接受隔日1次小剂量泼尼松的患儿仅47%维持临床缓解，接受液体饮食治疗组的儿童线性生长明显提高[39]. 一项关于EEN和GC的Meta分析表明，二者具有相同的疗效，但在改善生长方面，EEN明显优于GC[40]. 另外，在一项回顾性队列研究中，连续每周给予4-5次夜间鼻胃管喂养，作为非限制性日间饮食的补充，同样使疾病静止期延长，对生长产生有益影响[41]. 要素饮食，甚至是胃肠外营养均可改善儿童的营养状况，这些措施可能通过直接抑制炎症活动来促进生长. 目前尚无证据表明哪种类型肠内营养(要素/聚合)在诱导缓解中占有优势. EEN作为初始诱导治疗可高效诱导缓解、改进生长模式、促进黏膜愈合、降低复发率、实现更好的疾病控制和低GC暴露率. 但目前为止，针对EEN对生长的影响仅有短期(6 mo)评估，长期疗效尚不明确.

4.2 *生物制剂* 尽管适合的病变部位手术切除仍然是高效诱导缓解和追赶生长的治疗措施，但手术并非唯一最佳选择方案. 生物制剂的出现，大大提高了儿童IBD生长的干预范围. 目前关于英夫利昔单抗治疗儿童IBD的研究表明，生长的促进最有可能发生于青春期的早期阶段，这可能是青春期进展所致，类似于手术切除病变范围[42]. 研究[43]发现Tanner Ⅰ-Ⅱ期CD儿童早期使用英夫利昔单抗可显著改善平均身高Z分数. 一项队列研究证实了抗TNF-α治疗IBD儿童的长期有效性和安全性，发现治疗效应与低体质量、BMI相关[44]. 回顾性研究也证实IBD患儿接受英夫利昔单抗治疗后体质量上升，大部分可实现生长追赶[45]. 英夫利昔单抗不仅可以拮抗TNF-α对软骨细胞的不良作用，还可升高IGF-1、IGFBP-3水平. 此外，英夫利昔单抗可以延长GC的停用时间，对生长具有正向的作用. 这提示儿童CD的生物治疗可以降低持续性生长受限的发生率，治疗时间尤为关键. 与升阶梯治疗、GC、硫唑嘌呤(azathioprine, AZA)方案相比，英夫利昔单抗降阶梯治疗对增加体质量具有最佳效应[46]. 与基础治疗相比，英夫利昔单抗重复输注治疗在增加身高与体质量方面效果更佳[47]. 近来研究[48]报道阿达木单抗可改善疾病和促进生长. 与免疫抑制剂相比，早期应用抗TNF-α治疗可达到更佳的临床缓解和生长追赶，但仍需大规模前瞻性研究[49].

4.3 *糖皮质激素* 在世界范围内，GC仍然是儿科IBD急性复发诱导缓解最常用的药物. 短期小剂量隔日1次给予泼尼松，对类固醇依赖的UC患者仍是合理的，但要严密监控患者的生长速率，确保其维持在正常水平. 活动性CD局限于回肠和/或右半结肠，且出现中等程度症状的儿童可能对短期应用布地奈德治疗有应答. 与传统的泼尼松相比，可控性回肠释放(controlled ileal release, CIR)布地奈德对全身作用和肾上腺的抑制作用较小. 在有效控制肠道炎症的同时，避免GC对GH/IGF-1轴或骨骼的影响，促进儿童IBD线性生长是有可能的. CIR被证实对末段回肠型CD有效，但与传统GC相比，对生长仍有一定的抑制作用，可能与肠道炎症未完全控制或直接阻滞作用相关[2]. 选择性糖皮质激素受体调节剂可特异性结合GC受体，招募共刺激因子和抑制

因子, 发挥选择性免疫抑制作用. 与地塞米松和泼尼松相比, 对软骨形成的不良影响小, 可能成为一种新型的治疗措施[50].

4.4 免疫抑制剂 免疫抑制剂已广泛用于儿童IBD的治疗, 其中对生长的影响研究较多的是6-巯基嘌呤(6-mercaptopurine, 6-MP)和AZA. 目前尚无证据表明IBD诊断后早期使用免疫抑制剂能获得更好的生长. 一项关于中-重度CD儿童的多中心研究发现, 以6-MP联合小剂量泼尼松治疗, 尽管可以控制肠道炎症, 但对线性生长的作用不明显[51]. Fuentes等[52]回顾性评估高剂量AZA治疗的IBD儿童的生长, 10%儿童诊断时存在生长受损, 随访中36%CD儿童身高Z分数提高. 免疫抑制剂对儿童IBD生长的作用仍需进一步研究.

4.5 激素干预 既往研究[53]发现, 慢性肾功能不全、囊性纤维化、青少年慢性关节炎、特纳综合症和生长激素缺乏致身材矮小儿童接受GH治疗后, 身高增长速度和身高Z分数都得到了显著地提高. GH用于CD治疗始于20年前, 但结果尚不明确. 一项随机对照试验研究22例IBD儿童, 重组人生长激素(recombinant human growth hormone, rhGH)0.067 mg/(kg•d)治疗6 mo后, 身高增长速度由4.5 cm/年增至10.8 cm/年, 提示rhGH可促进CD儿童的短期线性生长[54]. 而其他研究[53-55]发现小剂量rhGH不能促进生长, 可能存在效应-剂量关系. 激素治疗成功与否关键在于治疗时期, 青春期晚期治疗不能促进生长. GH主要由IGF-1介导作用于多种细胞, 间接对生长产生作用. 由于GH/IGF-1轴缺陷可发生在多个水平, 其他形式的生长促进激素如rhIGF-1需要进一步的研究[56]. TNBS诱导大鼠结肠炎并发性腺功能低下模型证实对性激素治疗有效[57]. 在青春期极度延迟的男孩中, 应用3-6 mo的睾酮治疗后, 经儿科内分泌医师仔细监测, 发现患儿生长迸发[31]. 一项关于8例IBD男童的回顾性研究、表明睾酮治疗可促进IBD男童的生长与青春期进展[58]. 但是, 辅助激素治疗并非一线治疗, 控制肠道炎症和保证充足的营养才是最重要的.

4.6 外科手术 在UC患儿中, 不应忽视类固醇依赖性和相关的线性生长损害, 结肠切除可控制疾病并使患儿恢复生长. Hill[42]研究发现青春期晚期患儿(Tanner Ⅳ和Ⅴ)表现手术后身高增长速度不增加的现象, 而Tanner Ⅰ期的患者身高增长速度从1.79 cm/年增至7.18 cm/年. 目前, 普遍认为一旦进入青春期, 生长恢复的机会是非常有限的, 而青春期前的手术干预可有效促进身高速度和改善疾病活动度. 术后生长与两个因素相关: (1)病变部位的完全切除, 即患者处于完全缓解阶段; (2)患者处于青春期生长迸发前的时期. 新近研究[59]表明*NOD2*/*CARD15*基因突变可显著增加CD儿童手术的风险(39.5% *vs* 12.8%), 以此识别予早期手术干预可能产生更佳的长期生长结局. 目前手术被推荐为最后的治疗措施, 仅在其他治疗不能诱导缓解时使用.

■应用要点
本文通过总结国外对儿童炎症性肠病生长发育受损的病因和治疗的最新研究报道, 提示了其研究热点和治疗方案优化选择, 为相关的实验研究和临床工作提供了参考.

5 结论

对于IBD儿童和青少年, 常规评估体质量、身高和青春期进程是必要的. 为避免对最终身高造成损害, 生长监测和早期治疗、控制炎症尤为重要. 与成年人患者相比, 儿童和青少年IBD的管理关键在于避免长期应用糖皮质激素治疗、尽量应用肠内营养作为CD的首选治疗. 生物制剂的使用提高了IBD儿童生长的干预范围, 可明显改善IBD儿童的预后. 针对青春期延迟的患儿, 可采用激素治疗. 由于生长可能开始于青春期晚期并继续至成年前期, 儿童IBD的治疗管理应由儿科、内分泌等多学科协作, 共同努力.

6 参考文献

1 Sawczenko A, Sandhu BK, Logan RF, Jenkins H, Taylor CJ, Mian S, Lynn R. Prospective survey of childhood inflammatory bowel disease in the British Isles. *Lancet* 2001; 357: 1093-1094 [PMID: 11297962 DOI: 10.1016/S0140-6736(00)04309-9]

2 Kundhal P, Zachos M, Holmes JL, Griffiths AM. Controlled ileal release budesonide in pediatric Crohn disease: efficacy and effect on growth. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33: 75-80 [PMID: 11479412 DOI: 10.1097/00005176-200107000-00013]

3 Zeferino AM, Barros Filho AA, Bettiol H, Barbieri MA. Monitoring growth. *J Pediatr* (Rio J) 2003; 79: S23-S32 [DOI: 10.2223/JPED.995]

4 Alemzadeh N, Rekers-Mombarg LT, Mearin ML, Wit JM, Lamers CB, van Hogezand RA. Adult height in patients with early onset of Crohn's disease. *Gut* 2002; 51: 26-29 [PMID: 12077087]

5 Griffiths AM, Nguyen P, Smith C, MacMillan JH, Sherman PM. Growth and clinical course of children with Crohn's disease. *Gut* 1993; 34: 939-943 [PMID: 8344582]

6 Kanof ME, Lake AM, Bayless TM. Decreased height velocity in children and adolescents before the diagnosis of Crohn's disease. *Gastroenterology* 1988; 95: 1523-1527 [PMID: 3181677]

7 Kirschner BS. Growth and development in chronic inflammatory bowel disease. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1990; 366: 98-104; discussion 105 [PMID: 2206013 DOI: 10.1111/j.1651-2227.1990.tb11608.x]

8 Ezri J, Marques-Vidal P, Nydegger A. Impact of disease and treatments on growth and puberty of pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Digestion* 2012; 85: 308-319 [PMID: 22688404 DOI: 10.1159/000336766]

■名词解释
G-P骨龄标准图谱法：由Greulich和Pyle发表，将被评价的X线片与发育程度相近的图谱标准片做整片比较，直到选择出发育程度最为相似的标准片，该标准片的骨龄即为被评价儿童的骨龄. TW计分法由Tanner和Whitehouse制订，包括TW1、TW2和TW3法.

9 DeBoer MD, Denson LA. Delays in puberty, growth, and accrual of bone mineral density in pediatric Crohn's disease: despite temporal changes in disease severity, the need for monitoring remains. *J Pediatr* 2013; 163: 17-22 [PMID: 23522861]

10 Gupta N, Lustig RH, Kohn MA, Vittinghoff E. Menarche in pediatric patients with Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2975-2981 [PMID: 22744430]

11 Gupta N, Lustig RH, Kohn MA, McCracken M, Vittinghoff E. Sex differences in statural growth impairment in Crohn's disease: role of IGF-1. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 2318-2325 [PMID: 21287667]

12 Wong SC, Smyth A, McNeill E, Galloway PJ, Hassan K, McGrogan P, Ahmed SF. The growth hormone insulin-like growth factor 1 axis in children and adolescents with inflammatory bowel disease and growth retardation. *Clin Endocrinol* (Oxf) 2010; 73: 220-228 [PMID: 20184596 DOI: 10.1111/j.1365-2265.2010.03799.x]

13 Sawczenko A, Azooz O, Paraszczuk J, Idestrom M, Croft NM, Savage MO, Ballinger AB, Sanderson IR. Intestinal inflammation-induced growth retardation acts through IL-6 in rats and depends on the -174 IL-6 G/C polymorphism in children. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 13260-13265 [PMID: 16150725 DOI: 10.1073/pnas.0503589102]

14 Levine A, Shamir R, Wine E, Weiss B, Karban A, Shaoul RR, Reif SS, Yakir B, Friedlander M, Kaniel Y, Leshinsky-Silver E. TNF promoter polymorphisms and modulation of growth retardation and disease severity in pediatric Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1598-1604 [PMID: 15984988]

15 Tomer G, Ceballos C, Concepcion E, Benkov KJ. NOD2/CARD15 variants are associated with lower weight at diagnosis in children with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2479-2484 [PMID: 14638352]

16 Economou M, Trikalinos TA, Loizou KT, Tsianos EV, Ioannidis JP. Differential effects of NOD2 variants on Crohn's disease risk and phenotype in diverse populations: a metaanalysis. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2393-2404 [PMID: 15571588]

17 D'Mello S, Trauernicht A, Ryan A, Bonkowski E, Willson T, Trapnell BC, Frank SJ, Kugasathan S, Denson LA. Innate dysfunction promotes linear growth failure in pediatric Crohn's disease and growth hormone resistance in murine ileitis. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 236-245 [PMID: 21337672]

18 Russell RK, Drummond HE, Nimmo ER, Anderson NH, Noble CL, Wilson DC, Gillett PM, McGrogan P, Hassan K, Weaver LT, Bisset WM, Mahdi G, Satsangi J. Analysis of the influence of OCTN1/2 variants within the IBD5 locus on disease susceptibility and growth indices in early onset inflammatory bowel disease. *Gut* 2006; 55: 1114-1123 [PMID: 16469794 DOI: 10.1136/gut.2005.082107]

19 Lee JJ, Essers JB, Kugathasan S, Escher JC, Lettre G, Butler JL, Stephens MC, Ramoni MF, Grand RJ, Hirschhorn J. Association of linear growth impairment in pediatric Crohn's disease and a known height locus: a pilot study. *Ann Hum Genet* 2010; 74: 489-497 [PMID: 20846217 DOI: 10.1111/j.1469-1809.2010.00606.x]

20 Kelts DG, Grand RJ, Shen G, Watkins JB, Werlin SL, Boehme C. Nutritional basis of growth failure in children and adolescents with Crohn's disease. *Gastroenterology* 1979; 76: 720-727 [PMID: 105960]

21 Ballinger A, El-Haj T, Perrett D, Turvill J, Obeid O, Dryden S, Williams G, Farthing MJ. The role of medial hypothalamic serotonin in the suppression of feeding in a rat model of colitis. *Gastroenterology* 2000; 118: 544-553 [PMID: 10702205 DOI: 10.1016/S0016-5085(00)70260-5]

22 Thissen JP. How proinflammatory cytokines may impair growth and cause muscle wasting. *Horm Res* 2007; 67(Suppl 1): 64-70 [DOI: 10.1159/000097555]

23 Ballinger AB, Azooz O, El-Haj T, Poole S, Farthing MJ. Growth failure occurs through a decrease in insulin-like growth factor 1 which is independent of undernutrition in a rat model of colitis. *Gut* 2000; 46: 694-700 [PMID: 10764714 DOI: 10.1136/gut.46.5.695]

24 Pasternak BA, D'Mello S, Jurickova II, Han X, Willson T, Flick L, Petiniot L, Uozumi N, Divanovic S, Traurnicht A, Bonkowski E, Kugathasan S, Karp CL, Denson LA. Lipopolysaccharide exposure is linked to activation of the acute phase response and growth failure in pediatric Crohn's disease and murine colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 856-869 [PMID: 19924809]

25 Ahmed SF, Farquharson C. The effect of GH and IGF1 on linear growth and skeletal development and their modulation by SOCS proteins. *J Endocrinol* 2010; 206: 249-259 [PMID: 20631046]

26 Pass C, MacRae VE, Huesa C, Faisal Ahmed S, Farquharson C. SOCS2 is the critical regulator of GH action in murine growth plate chondrogenesis. *J Bone Miner Res* 2012; 27: 1055-1066 [PMID: 22228213 DOI: 10.1002/jbmr.1544]

27 Blodgett FM, Burgin L, Iezzoni D, Gribetz D, Talbot NB. Effects of prolonged cortisone therapy on the statural growth, skeletal maturation and metabolic status of children. *N Engl J Med* 1956; 254: 636-641 [PMID: 13309649 DOI: 10.1056/NEJM195604052541402]

28 Markowitz J, Grancher K, Rosa J, Aiges H, Daum F. Growth failure in pediatric inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 16: 373-380 [PMID: 8315544 DOI: 10.1097/00005176-199305000-00005]

29 Burnham JM, Shults J, Semeao E, Foster B, Zemel BS, Stallings VA, Leonard MB. Whole body BMC in pediatric Crohn disease: independent effects of altered growth, maturation, and body composition. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 1961-1968 [PMID: 15537438 DOI: 10.1359/jbmr.040908]

30 Motil KJ, Grand RJ, Davis-Kraft L, Ferlic LL, Smith EO. Growth failure in children with inflammatory bowel disease: a prospective study. *Gastroenterology* 1993; 105: 681-691 [PMID: 8359640]

31 Deboer MD, Steinman J, Li Y. Partial normalization of pubertal timing in female mice with DSS colitis treated with anti-TNF-α antibody. *J Gastroenterol* 2012; 47: 647-654 [PMID: 22322660 DOI: 10.1007/s00535-012-0542-y]

32 Mushtaq T, Ahmed SF. The impact of corticosteroids on growth and bone health. *Arch Dis Child* 2002; 87: 93-96 [PMID: 12138051 DOI: 10.1136/adc.87.2.93]

33 Herzog D, Fournier N, Buehr P, Koller R, Rueger V, Heyland K, Nydegger A, Spalinger J, Schibli S,

Braegger C. Early-onset Crohn's disease is a risk factor for smaller final height. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014; 26: 1234-1239 [PMID: 25089544 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000169]
34 Griffiths AM, Otley AR, Hyams J, Quiros AR, Grand RJ, Bousvaros A, Feagan BG, Ferry GR. A review of activity indices and end points for clinical trials in children with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 185-196 [PMID: 15677913]
35 Heuschkel R, Salvestrini C, Beattie RM, Hildebrand H, Walters T, Griffiths A. Guidelines for the management of growth failure in childhood inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 839-849 [PMID: 18266237 DOI: 10.1002/ibd.20378]
36 Walters TD. IBD: Is measuring bone age in children with Crohn's disease useful? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 620-622 [PMID: 23007476 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.181]
37 Hill R, Lewindon P, Muir R, Grangé I, Connor F, Ee L, Withers G, Cleghorn G, Davies P. Quality of life in children with Crohn disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010; 51: 35-40 [PMID: 20410845 DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181c2c0ef]
38 Belli DC, Seidman E, Bouthillier L, Weber AM, Roy CC, Pletincx M, Beaulieu M, Morin CL. Chronic intermittent elemental diet improves growth failure in children with Crohn's disease. *Gastroenterology* 1988; 94: 603-610 [PMID: 3123302]
39 Seidman E, Jones A, Issenman R. Cyclical exclusive enteral nutrition versus alternate day prednisone in maintaining remission of pediatric Crohn's disease. *J Pediatr Gastro Nutr* 1996; 23: A344
40 Heuschkel RB, Menache CC, Megerian JT, Baird AE. Enteral nutrition and corticosteroids in the treatment of acute Crohn's disease in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31: 8-15 [PMID: 10896064]
41 Wilschanski M, Sherman P, Pencharz P, Davis L, Corey M, Griffiths A. Supplementary enteral nutrition maintains remission in paediatric Crohn's disease. *Gut* 1996; 38: 543-548 [PMID: 8707085]
42 Hill RJ. Update on nutritional status, body composition and growth in paediatric inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 3191-3197 [PMID: 24696604 DOI: 10.3748/wjg.v20.i12.3191]
43 Church PC, Guan J, Walters TD, Frost K, Assa A, Muise AM, Griffiths AM. Infliximab maintains durable response and facilitates catch-up growth in luminal pediatric Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2014; 20: 1177-1186 [PMID: 24865777]
44 Assa A, Hartman C, Weiss B, Broide E, Rosenbach Y, Zevit N, Bujanover Y, Shamir R. Long-term outcome of tumor necrosis factor alpha antagonist's treatment in pediatric Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 2013; 7: 369-376 [PMID: 22483567 DOI: 10.1016/j.crohns.2012.03.006]
45 Pichler J, Hanslik A, Huber WD, Aufricht C, Bidmon-Fliegenschnee B. Paediatric patients with inflammatory bowel disease who received infliximab experienced improved growth and bone health. *Acta Paediatr* 2014; 103: e69-e75 [PMID: 24237381 DOI: 10.1111/apa.12448]
46 Agarwal J. Effect of infliximab top-down therapy on weight gain in pediatric Crohn's disease. *Indian Pediatr* 2013; 50: 615-616 [PMID: 23942412]
47 Borrelli O, Bascietto C, Viola F, Bueno de Mesquita M, Barbato M, Mancini V, Bosco S, Cucchiara S. Infliximab heals intestinal inflammatory lesions and restores growth in children with Crohn's disease. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 342-347 [PMID: 15191204 DOI: 10.1016/j.dld.2003.12.014]
48 Malik S, Ahmed SF, Wilson ML, Shah N, Loganathan S, Naik S, Bourke B, Thomas A, Akobeng AK, Fagbemi A, Wilson DC, Russell RK. The effects of anti-TNF-α treatment with adalimumab on growth in children with Crohn's disease (CD). *J Crohns Colitis* 2012; 6: 337-344 [PMID: 22405171]
49 Walters TD, Kim MO, Denson LA, Griffiths AM, Dubinsky M, Markowitz J, Baldassano R, Crandall W, Rosh J, Pfefferkorn M, Otley A, Heyman MB, LeLeiko N, Baker S, Guthery SL, Evans J, Ziring D, Kellermayer R, Stephens M, Mack D, Oliva-Hemker M, Patel AS, Kirschner B, Moulton D, Cohen S, Kim S, Liu C, Essers J, Kugathasan S, Hyams JS. Increased effectiveness of early therapy with anti-tumor necrosis factor-α vs an immunomodulator in children with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2014; 146: 383-391 [PMID: 24162032]
50 Rosen J, Miner JN. The search for safer glucocorticoid receptor ligands. *Endocr Rev* 2005; 26: 452-464 [PMID: 15814846 DOI: 10.1210/er.2005-0002]
51 Markowitz J, Grancher K, Kohn N, Lesser M, Daum F. A multicenter trial of 6-mercaptopurine and prednisone in children with newly diagnosed Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000; 119: 895-902 [PMID: 11040176]
52 Fuentes D, Torrente F, Keady S, Thirrupathy K, Thomson MA, Walker-Smith JA, Murch SH, Heuschkel RB. High-dose azathioprine in children with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 913-921 [PMID: 12656694 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2003.01540.x]
53 Calenda KA, Schornagel IL, Sadeghi-Nejad A, Grand RJ. Effect of recombinant growth hormone treatment on children with Crohn's disease and short stature: a pilot study. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 435-441 [PMID: 15867582]
54 Wong SC, Kumar P, Galloway PJ, Blair JC, Didi M, Dalzell AM, Hassan K, McGrogan P, Ahmed SF. A preliminary trial of the effect of recombinant human growth hormone on short-term linear growth and glucose homeostasis in children with Crohn's disease. *Clin Endocrinol* (Oxf) 2011; 74: 599-607 [PMID: 21470283]
55 Wong SC, Hassan K, McGrogan P, Weaver LT, Ahmed SF. The effects of recombinant human growth hormone on linear growth in children with Crohn's disease and short stature. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2007; 20: 1315-1324 [PMID: 18341091 DOI: 10.1515/JPEM.2007.20.12.1315]
56 Savage MO, Camacho-Hübner C, Dunger DB. Therapeutic applications of the insulin-like growth factors. *Growth Horm IGF Res* 2004; 14: 301-308 [PMID: 15231299 DOI: 10.1016/j.ghir.2004.04.001]
57 Azooz OG, Farthing MJ, Savage MO, Ballinger AB. Delayed puberty and response to testosterone in a rat model of colitis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 281: R1483-R1491 [PMID: 11641119]
58 Mason A, Wong SC, McGrogan P, Ahmed SF. Effect of testosterone therapy for delayed growth and puberty in boys with inflammatory bowel disease. *Horm Res Paediatr* 2011; 75: 8-13 [PMID: 20664179 DOI: 10.1159/000315902]

■同行评价

本文综述了儿童炎症性肠病生长发育受损病因和治疗的最新研究进展，内容新颖，能体现此疾病的研究现状，有一定的临床指导意义.

59 Russell RK, Drummond HE, Nimmo EE, Anderson N, Smith L, Wilson DC, Gillett PM, McGrogan P, Hassan K, Weaver LT, Bisset M, Mahdi G, Satsangi J. Genotype-phenotype analysis in childhood-onset Crohn's disease: NOD2/CARD15 variants consistently predict phenotypic characteristics of severe disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 955-964 [PMID: 16239840]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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核对, 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)

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 229-235
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

MAPK信号通路在炎症性肠病中的研究进展

郭灿璨, 邓 颖, 叶 华, 朱宇珍, 郑学宝

郭灿璨, 叶华, 朱宇珍, 郑学宝, 广东天然药物研究与开发重点实验室 广东省湛江市 524023
郭灿璨, 广东医学院药理学教研室 广东省湛江市 524023
邓颖, 广东医学院附属医院消化内科 广东省湛江市 524023
国家自然科学面上基金资助项目, No. 81173240
作者贡献分布: 本文综述由郭灿璨完成; 邓颖负责文献收集; 叶华与朱宇珍初核; 郑学宝审校.
通讯作者: 郑学宝, 教授, 主任医师, 博士生导师, 524023, 广东省湛江市霞山区文明东路2号, 广东天然药物研究与开发重点实验室, 广东医学院第二临床医学院中医学教研室.
xuebaozheng@sina.com
电话: 0759-2388405
收稿日期: 2014-10-23 修回日期: 2014-12-01
接受日期: 2014-12-15 在线出版日期: 2015-01-18

Role of MAPK signaling pathways in inflammatory bowel disease

Can-Can Guo, Ying Deng, Hua Ye, Yu-Zhen Zhu, Xue-Bao Zheng

Can-Can Guo, Hua Ye, Yu-Zhen Zhu, Xue-Bao Zheng, Guangdong Key Laboratory for Research and Development of Natural Drugs, Zhanjiang 524023, Guangdong Province, China
Can-Can Guo, Department of Pharmacology, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, Guangdong Province, China
Ying Deng, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, Guangdong Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173240
Correspondence to: Xue-Bao Zheng, Professor, Chief Physician, Guangdong Key Laboratory for Research and Development of Natural Drugs, Department of Traditional Chinese Medicine, the Second Clinical Medical College, 2 Wenming East Road, Xiashan District, Zhanjiang 524023, Guangdong Province, China. xuebaozheng@sina.com
Received: 2014-10-23 Revised: 2014-12-01
Accepted: 2014-12-15 Published online: 2015-01-18

Abstract
Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) are a group of highly conserved serine protein kinases which are distributed in the cytoplasm. MAPK signal transduction pathways play a major role in inflammatory reactions and have a close relation with inflammatory bowel disease (IBD). They could be involved in the regulation of inflammatory mediators as well as IBD-associated genes. This paper reviews the role of MAPK signaling pathways in the pathogenesis of IBD, aiming at providing a new method for the treatment of IBD.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Mitogen-activated protein kinases; Signal transduction pathways; Inflammatory bowel disease

Guo CC, Deng Y, Ye H, Zhu YZ, Zheng XB. Role of MAPK signaling pathways in inflammatory bowel disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 229-235
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/229.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.229

摘要
促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是细胞浆内一类高度保守的丝氨酸蛋白激酶, 其介导的信号转导通路在机体的炎性反应中发挥重大作用. 他与炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)关系密切, 不仅参与IBD炎性介质的调节, 还参与调控IBD发病发展相关基因. 本文综述了MAPK信号通路在IBD发病机制中的作用, 旨在为IBD的诊治研究提供新的思路.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 促分裂原活化蛋白激酶; 信号转导通路; 炎症性肠病

核心提示: 本文主要介绍促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号转导通路对炎症介质、炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)发病发展相关基因的调节, 更深入的认识MAPK通路在IBD发病中的作用.

郭灿璨, 邓颖, 叶华, 朱宇珍, 郑学宝. MAPK信号通路在炎症性肠病中的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 229-235
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/229.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.229

0 引言
炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)

■背景资料
炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)是一类慢性非特异性肠道炎症疾病, 发病机制尚未明确, 但多数学者认为其发病与环境、免疫、遗传等因素有关. 近年来, 对促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路的深入研究发现其可参与调节炎症信号通路, 且给予IBD患者通路抑制剂治疗可改善临床症状, 提示MAPK信号通路在其发病中的重要作用.

■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
c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinases, JNKs)、p38MAPK是与炎症信号通路有关的MAPKs家族的两大类, 近些年已成为炎症相关研究的热点.

是一种慢性非特异性肠道炎症疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 目前认为其发病与肠道环境、机体免疫、遗传基因等因素有关, 但具体机制尚未明确[1]. 近年来, 促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路成为IBD发病机制研究的热点之一. 现就MAPK信号通路在IBD中的作用予以综述.

1 MAPK信号通路的概述

MAPK是一类存在于真核细胞中高度保守的信号转导模块, 是连接细胞内外反应的重要成员, 可介导胞外信号刺激传入胞内, 调节细胞生长、细胞分化、细胞迁移、炎症等细胞过程[2,3]. 在哺乳动物中, MAPKs家族主要分为三大类, 即细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinases, ERKs)、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinases, JNKs)和p38MAPK激酶. 多种胞外刺激因素可激活MAPK通路, 包括炎性细胞因子、生长因子、细胞应激等. 特异性刺激因素激活下游的丝裂原活化蛋白激酶激酶激酶(MAP kinase kinase kinases, MAP3Ks), 活化的MAP3Ks磷酸化Ser和Thr而激活丝裂原活化蛋白激酶激酶(MAP kinase kinases, MAP2Ks), 活化的MAP2Ks进一步对Thr和Tyr双磷酸化激活MAPKs, 最终磷酸化和活化MAPKAPs, 调节基因转录、蛋白质合成等多种细胞生理病理过程.

2 MAPK信号通路与IBD

目前, 关于MAPK通路对IBD发病的影响有两种观点. Waetzig等[4]、Hommes等[5]研究认为MAPK对IBD的发病有着重要作用, 其研究发现IBD患者炎性结肠黏膜的p38a、JNK1/2及ERK1/2活化增强, 给予重度CD患者JNK、p38MAPK抑制剂CNI-1493进行治疗, 可改善患者的临床症状, 降低疾病活动指数, 对CD患者有益. 在动物DSS结肠炎模型中, 使用JNK通路抑制剂SP600125[6]和p38MAPK通路抑制剂SB203580[7]对缓解结肠炎有益. 然而Malamut等[8]持相反观点, 认为在IBD患者中p38MAPK和JNK的活化与正常人相似, 且动物TNBS结肠炎模型中p38MAPK通路的作用甚小, 这种现象可能是与疾病的炎症程度、动物实验结肠炎造模方法的不同有关. 基于前者观点, 本文将从MAPK通路对炎性介质的调节及其与IBD相关基因的关系两个方面重点阐述.

2.1 MAPK信号通路对IBD炎性介质的调节

IBD的发病普遍认为是由免疫功能失调、炎症介质释放引起的强烈炎症反应. 发病时, 病灶部位肠黏膜组织产生大量炎性介质, 包括血管活性胺、花生四烯酸代谢产物、细胞因子、一氧化氮等细胞释放的炎性介质及补体系统. 以下将具体阐明MAPK通路对上述炎性介质的调节.

2.1.1 血管活性胺类炎症介质: 血管活性胺类炎性介质包括组胺和5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)两大类, 其中5-HT是一种自体活性物质, 约90%合成和分布于肠嗜铬细胞(enterochromaffin cell, EC细胞). 研究表明MAPK信号通路可通过调节色氨酸羟化酶-1(tryptophan hydroxylase-1, TPH-1)和囊泡单胺转运体1(vesicle monoamine transporter 1, VMAT1)间接对5-HT的合成和分泌进行调节. 具体机制表现为EC细胞表面表达腺苷受体ADORA2B, 机械性的刺激可诱导A2B的激活, 随后又可激活蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)、磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、MAPK信号通路调节TPH-1的转录, 对5-HT进行合成, 又可通过PKA/cAMP通路调节5-HT的分泌, 这些效应在CD患者结肠炎症部位黏膜分离的EC细胞中被放大[9]. 在低氧环境下, 由IBD患者肠黏膜分离的EC细胞也可激活胞外腺苷信号通路, 使EC细胞通过表面ADORA2B受体调节MAPK的活性, 进而调节TPH-1的磷酸化和5-HT的分泌[10].

2.1.2 花生四烯酸代谢产物: 花生四烯酸代谢产物前列腺素(prostaglandins, PGs)和白三烯类(leukotrienes, LTs)在促炎过程中起重要作用. 环氧化酶(cyclooxygenase, COX)是PGs合成的限速酶, 经典抗炎药物水杨酸类通过抑制其活性减少PG的产生, 抑制炎症反应. 在血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)介导的原代人肠微血管内皮细胞(human intestinal microvascular endothelial cells, HIMECs)血管生成的过程中, JNK、p38、p44/42MAPK通路均参与COX-2的表达[11]. 此外, 对于药物抗炎机制的研究, 也发现其可通过MAPK通路下调COX-2发挥作用. Camacho-Barquero等[12]在研究姜黄素对实验性结肠炎动物的作用中, 发现姜黄素可作用于p38MAPK通路调节COX-2和iNOS表达. González-Mauraza等[13]研究发现利比亚豆科植物*Retama monosperma*对急性溃疡性结肠炎大鼠的抗炎作用可能是通过p38MAPK和核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)信号通路下调

COX-2和iNOS发挥效应的. 然而, 也有研究表明MAPK通路不参与LPS诱导的肠上皮细胞系IEC18表达COX-2[14].

2.1.3 细胞因子: 大量的研究表明在IBD患者病灶部位促炎细胞因子的分泌增多, 导致促炎与抑炎平衡破坏, 引起炎症. MAPK通路可通过磷酸化级联反应激活下游的转录因子促进或抑制基因的转录来调节细胞因子的分泌, 进而参与炎症反应. 在体内实验研究中, 给予SB203580(p38通路抑制剂)治疗DSS诱导的溃疡性结肠炎小鼠, 与模型组相比, 其可显著性下调促炎因子肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor alpha, TNF-α)、干扰素-γ(interferon γ, IFN-γ)、白介素-12 p35亚基(interleukin 12 p35, IL-12p35)、IL-18的表达[7], 同样, 给予XG-102、SP600125(JNK通路抑制剂)可保护TNBS/DSS诱导的结肠炎, TNF-α、IL-6、IFN-γ与模型组相比显著下调[6,15]. 在体外实验研究中, 由IBD患者肠黏膜活检分离出的固有层单核细胞体外培养, 给予p38a的抑制剂后, TNF-α、IL-1β、IL-6分泌均得到抑制[16]; Waetzig等[4]研究也表明p38抑制剂SB203580可抑制CD患者黏膜活检体外培养中TNF-α的分泌; p42/44MAPK通路依赖的NF-κB和AP-1的激活可介导IL-1β和TNF-α刺激活动期UC患者肠黏膜分离的结肠上皮下肌成纤维细胞(human colonic subepithelial myofibroblasts, SEMFs)高表达IL-33 mRNA[17]; p38MAPK和ERK1/2通路的激活可调节DSS诱导小鼠的腹腔巨噬细胞分泌IL-1β[18]; ERK和p38MAPK可调节IL-17诱导SEMFs分泌IL-6、IL-8和MCP-1[19]; p38、ERK1/2、JNK MAPK通路均参与IL-1诱导的肠上皮细胞caco-2分泌IL-6和IL-8[20]. 对于趋化因子的调节, 研究表明Ras/MAPK/AP-1通路可调节脆弱类杆菌肠毒素诱导肠上皮细胞分泌IL-8和趋化因子MCP-1[21]. Sunil等[22]发现p38通路参与IL-1β诱导的caco-2细胞和HT-29细胞对CXCL8和CXCL10的调节, 同时其也参与TNF-α诱导人的结肠肌成纤维细胞的CCL2和CXCL10的表达[23].

2.1.4 补体系统: 补体系统是抵抗病原微生物的天然和过继免疫的重要因子, 其可通过经典途径、替代途径、凝集素途径激活, 其中C3激活是最重要的一步. 研究[22]表明, 活动期的UC、CD患者的IL-17和补体系统C3 mRNA的表达显著提高, 用IL-17刺激SEMFs, 补体系统C3的mRNA和蛋白分泌呈时间、剂量依赖性, 且p42/44 MAPK和p38MAPK均参与其调控.

2.2 MAPK与IBD相关基因

2.2.1 *TL1A*/*TNFSF15*: *TL1A*/*TNFSF15*(TNF超家族成员15)是2005年日本学者发现, 现已被确认和证实为IBD相关基因[24], 其基因的多态性与IBD疾病发展的严重程度有关[25-27]. TL1A可调节细胞的增殖、活化和免疫细胞的分化, TL1A/死亡受体3(death receptor 3, DR3)信号通路参与调节Th1、Th2、Th17介导的免疫反应, 且TL1A与DR3结合可诱导TRADD募集TRAF2、RIP1形成信号复合物激活MAPK通路[28], 同时该通路可放大模式识别受体(pattern-recognition receptor, PRR)诱导的MAPK/NF-kb/PI3K信号通路和细胞因子的分泌[29]. 对于TL1A/DR3信号通路, 不仅其可调节MAPK通路, 而MAPK通路也可调节TL1A mRNA和蛋白的表达. Gonsky等[30]对*TNFSF15*基因研究, 发现JNK可通过活化转录因子c-jun作用于启动子元件AP-1位点部分介导*TNFSF15*基因的反式激活. Shih等[31]发现p38MAPK可通过其活化转录因子ATF-2参与大肠杆菌刺激的单核细胞和树突状细胞中TL1A的表达.

2.2.2 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型2(*PTPN2*): *PTPN2*为全基因组关联研究中确认的IBD相关基因[32,33], 其通过对免疫系统、炎症反应及肠上皮细胞功能的调节来参与IBD的发病[34-36]. 在*PTPN2*的功能研究中, 发现此基因可调节MAPK通路抑制炎症. van Vliet等[37]早期研究中发现该基因通过与衔接蛋白TRAF2相互作用、抑制Src家族酪氨酸激酶活性来抑制TNF诱导的ERK1/2信号通路的激活和IL-6的分泌. 近期研究中[38]发现, *PTPN2*基因敲除可促进IFN-γ诱导的THP-1细胞STATs、p38MAPK的磷酸化及IL-6、MCP-1的分泌, 且对TNF-α诱导肠上皮T84细胞中也有着相似的作用, 其敲除可促进ERK1/2、p38MAPK信号通路的激活和促炎介质IL-6、IL-8和iNOS的表达[39].

2.2.3 核苷酸结合寡聚域2/胱冬酶吸引域家族成员15(*NOD2*/*CARD15*): *NOD2*/*CARD15*是第一个被发现的人类CD易感基因, 他可以通过识别细菌细胞壁的肽聚糖及其裂解产物胞壁酰二肽参与宿主对病原体的免疫应答[40]. 胞壁酰二肽(muramyl dipeptide, MDP)刺激细胞可引起NOD2构相改变从而结合并激活蛋白激酶RIP2, 而NOD2-RIP2复合物又可激活NF-κB、MAPK通路, 诱导促炎细胞因子、趋化因子的表达及适应性免疫和辅助性Th2型免疫应答[41,42]. 研究

■相关报道

自从2002年Hommes等将p38MAPK抑制剂用于治疗CD患者, 现已有许多研究报道其通路抑制剂在IBD体内、体外实验中的调节作用.

■创新盘点
本文与其他报道的不同之处在于更深入的从MAPK通路对炎性介质、IBD相关基因的调节两个方面进行综述，有利于更具体的了解此通路在IBD发病的作用.

表明多种因素参与调节MDP/NOD2/MAPK通路，相关研究[43-46]发现IL-18RAP与IL-18R1介导的IL-18信号通路、共刺激分子ICOSL信号通路、干扰素调节因子5(IFN regulatory factor 5, *IRF5*)基因及IL-1β均可调节NOD2诱导的MAPK、NF-κB信号通路的激活. Spalinger等[47]发现*PTPN22*基因也参与该通路的调节，其基因敲除可增强MDP诱导的THP-1细胞激活p38/JNK MAPK及NF-κB通路和细胞因子IL-6、IL-8、TNF的分泌.

2.2.4 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型22(PTPN22): *PTPN22*基因参与T细胞活化的负性调节，在免疫稳态中发挥着重要作用. 研究发现PTPN22单核苷酸多态性与丹麦[48]、加拿大[49]、突尼斯[50]IBD人群的易感性相关，也有研究认为其与西班牙[51]、英国[52]IBD人群的易感性关系很小，提示此基因与IBD易感性关系可能与种族差异有关. 对于PTPN22功能的研究，Spalinger研究小组[47,53]发现PTPN22敲除可加剧IFN-γ诱导的THP-1细胞p38MAPK的活化，增加炎性因子IL-6和IL-17的分泌；其也参与MDP/NOD2/MAPK通路的调节. Cao等[54]研究抗中性粒细胞胞浆抗体(anti-neutrophil cytoplasmic antibody, ANCA)相关性血管炎患者发现PTPN22功能突变可加强其基底活性，负性调节ERK通路，进而影响抑炎因子IL-10的分泌.

2.2.5 自噬相关16样1(ATG16L1): *ATG16L1*基因主要表达于肠上皮细胞和$CD4^+$、$CD8^+$、$CD19^+$淋巴细胞，是一种涉及处理细胞内细菌的自噬小体代谢途径的蛋白，对自噬过程至关重要，其突变与CD显著相关[55]. 研究[56]表明ATG16L1可调控IL-1β信号通路，在IL-1β刺激下，其与受体IL-1RI结合，随之结合IL-1RI受体相关蛋白，依次募集MyD88、IRAK1、TRAF6，进而引起下游NF-κB和MAPKs的活化引发炎症反应，Lee等[56]发现对于*ATG16L1*基因的敲除使选择性自噬受体p62水平升高，升高的p62可促进TRAF6的寡聚化和激活，导致下游的NF-κB和MAPKs的过度激活引起较强炎症反应. Choe等[57]用尿酸钠结晶刺激巨噬细胞引起蛋白酶体降解受损，p62水平升高，p62进而作用于ERK/JNK通路和Capase1调节IL-1β的合成，*ATG16L1*基因敲除使p62水平升高，可放大尿酸钠结晶引起的炎症反应.

3 结论

MAPK信号的活化在IBD发生、发展中起重要作用，涉及机体内致炎因子和抗炎因子的平衡及致病基因的活化等多种病理过程. 在IBD疾病中深入研究MAPK信号及其下游信号转导通路，可以为减轻肠道炎症，延缓IBD病变进程，寻找更好抑制剂治疗提供理论依据.

4 参考文献

1 Kaser A, Zeissig S, Blumberg RS. Inflammatory bowel disease. *Annu Rev Immunol* 2010; 28: 573-621 [PMID: 20192811 DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101225]

2 Brown MD, Sacks DB. Compartmentalised MAPK pathways. *Handb Exp Pharmacol* 2008; (186): 205-235 [PMID: 18491054 DOI: 10.1007/978-3-540-72843-6_9]

3 Coulombe P, Meloche S. Atypical mitogen-activated protein kinases: structure, regulation and functions. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 1376-1387 [PMID: 17161475 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2006.11.001]

4 Waetzig GH, Seegert D, Rosenstiel P, Nikolaus S, Schreiber S. p38 mitogen-activated protein kinase is activated and linked to TNF-alpha signaling in inflammatory bowel disease. *J Immunol* 2002; 168: 5342-5351 [PMID: 11994493]

5 Hommes D, van den Blink B, Plasse T, Bartelsman J, Xu C, Macpherson B, Tytgat G, Peppelenbosch M, Van Deventer S. Inhibition of stress-activated MAP kinases induces clinical improvement in moderate to severe Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 7-14 [PMID: 11781274]

6 Assi K, Pillai R, Gómez-Muñoz A, Owen D, Salh B. The specific JNK inhibitor SP600125 targets tumour necrosis factor-alpha production and epithelial cell apoptosis in acute murine colitis. *Immunology* 2006; 118: 112-121 [PMID: 16630028 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2006.02349.x]

7 Hollenbach E, Neumann M, Vieth M, Roessner A, Malfertheiner P, Naumann M. Inhibition of p38 MAP kinase- and RICK/NF-kappaB-signaling suppresses inflammatory bowel disease. *FASEB J* 2004; 18: 1550-1552 [PMID: 15289440 DOI: 10.1096/fj.04-1642fje]

8 Malamut G, Cabane C, Dubuquoy L, Malapel M, Dérijard B, Gay J, Tamboli C, Colombel JF, Desreumaux P. No evidence for an involvement of the p38 and JNK mitogen-activated protein in inflammatory bowel diseases. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1443-1453 [PMID: 16838116 DOI: 10.1007/s10620-006-9116-2]

9 Chin A, Svejda B, Gustafsson BI, Granlund AB, Sandvik AK, Timberlake A, Sumpio B, Pfragner R, Modlin IM, Kidd M. The role of mechanical forces and adenosine in the regulation of intestinal enterochromaffin cell serotonin secretion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G397-G405 [PMID: 22038827 DOI: 10.1152/ajpgi.00087.2011]

10 Dammen R, Haugen M, Svejda B, Alaimo D, Brenna O, Pfragner R, Gustafsson BI, Kidd M. The stimulatory adenosine receptor ADORA2B regulates serotonin (5-HT) synthesis and release in oxygen-depleted EC cells in inflammatory bowel disease. *PLoS One* 2013; 8: e62607 [PMID: 23638125 DOI: 10.1371/journal.pone.0062607]

11 Binion DG, Otterson MF, Rafiee P. Curcumin

inhibits VEGF-mediated angiogenesis in human intestinal microvascular endothelial cells through COX-2 and MAPK inhibition. *Gut* 2008; 57: 1509-1517 [PMID: 18596194 DOI: 10.1136/gut.2008.152496]

12 Camacho-Barquero L, Villegas I, Sánchez-Calvo JM, Talero E, Sánchez-Fidalgo S, Motilva V, Alarcón de la Lastra C. Curcumin, a Curcuma longa constituent, acts on MAPK p38 pathway modulating COX-2 and iNOS expression in chronic experimental colitis. *Int Immunopharmacol* 2007; 7: 333-342 [PMID: 17276891 DOI: 10.1016/j.intimp.2006.11.006]

13 González-Mauraza H, Martín-Cordero C, Alarcón-de-la-Lastra C, Rosillo MA, León-González AJ, Sánchez-Hidalgo M. Anti-inflammatory effects of Retama monosperma in acute ulcerative colitis in rats. *J Physiol Biochem* 2014; 70: 163-172 [PMID: 24057513 DOI: 10.1007/s13105-013-0290-3]

14 López-Posadas R, Ballester I, Mascaraque C, Suárez MD, Zarzuelo A, Martínez-Augustin O, Sánchez de Medina F. Flavonoids exert distinct modulatory actions on cyclooxygenase 2 and NF-kappaB in an intestinal epithelial cell line (IEC18). *Br J Pharmacol* 2010; 160: 1714-1726 [PMID: 20649574 DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.00827.x]

15 Reinecke K, Eminel S, Dierck F, Roessner W, Kersting S, Chromik AM, Gavrilova O, Laukevicience A, Leuschner I, Waetzig V, Rosenstiel P, Herdegen T, Sina C. The JNK inhibitor XG-102 protects against TNBS-induced colitis. *PLoS One* 2012; 7: e30985 [PMID: 22427801 DOI: 10.1371/journal.pone.0030985]

16 Docena G, Rovedatti L, Kruidenier L, Fanning A, Leakey NA, Knowles CH, Lee K, Shanahan F, Nally K, McLean PG, Di Sabatino A, MacDonald TT. Down-regulation of p38 mitogen-activated protein kinase activation and proinflammatory cytokine production by mitogen-activated protein kinase inhibitors in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 2010; 162: 108-115 [PMID: 20731675 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2010.04203.x]

17 Kobori A, Yagi Y, Imaeda H, Ban H, Bamba S, Tsujikawa T, Saito Y, Fujiyama Y, Andoh A. Interleukin-33 expression is specifically enhanced in inflamed mucosa of ulcerative colitis. *J Gastroenterol* 2010; 45: 999-1007 [PMID: 20405148 DOI: 10.1007/s00535-010-0245-1]

18 Kwon KH, Ohigashi H, Murakami A. Dextran sulfate sodium enhances interleukin-1 beta release via activation of p38 MAPK and ERK1/2 pathways in murine peritoneal macrophages. *Life Sci* 2007; 81: 362-371 [PMID: 17628610 DOI: 10.1016/j.lfs.2007.05.022]

19 Hata K, Andoh A, Shimada M, Fujino S, Bamba S, Araki Y, Okuno T, Fujiyama Y, Bamba T. IL-17 stimulates inflammatory responses via NF-kappaB and MAP kinase pathways in human colonic myofibroblasts. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: G1035-G1044 [PMID: 12016129 DOI: 10.1152/ajpgi.00494.2001]

20 Garat C, Arend WP. Intracellular IL-1Ra type 1 inhibits IL-1-induced IL-6 and IL-8 production in Caco-2 intestinal epithelial cells through inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase and NF-kappaB pathways. *Cytokine* 2003; 23: 31-40 [PMID: 12901852]

21 Kim JM, Jung HY, Lee JY, Youn J, Lee CH, Kim KH. Mitogen-activated protein kinase and activator protein-1 dependent signals are essential for Bacteroides fragilis enterotoxin-induced enteritis. *Eur J Immunol* 2005; 35: 2648-2657 [PMID: 16114110 DOI: 10.1002/eji.200526321]

22 Sunil Y, Ramadori G, Raddatzc D. Influence of NFkappaB inhibitors on IL-1beta-induced chemokine CXCL8 and -10 expression levels in intestinal epithelial cell lines: glucocorticoid ineffectiveness and paradoxical effect of PDTC. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 323-333 [PMID: 19921217 DOI: 10.1007/s00384-009-0847-3]

23 Aomatsu T, Imaeda H, Takahashi K, Fujimoto T, Kasumi E, Yoden A, Tamai H, Fujiyama Y, Andoh A. Tacrolimus (FK506) suppresses TNF-α-induced CCL2 (MCP-1) and CXCL10 (IP-10) expression via the inhibition of p38 MAP kinase activation in human colonic myofibroblasts. *Int J Mol Med* 2012; 30: 1152-1158 [PMID: 22895606 DOI: 10.3892/ijmm.2012.1094]

24 Shih DQ, Michelsen KS, Barrett RJ, Biener-Ramanujan E, Gonsky R, Zhang X, Targan SR. Insights into TL1A and IBD pathogenesis. *Adv Exp Med Biol* 2011; 691: 279-288 [PMID: 21153332 DOI: 10.1007/978-1-4419-6612-4_29]

25 Haritunians T, Taylor KD, Targan SR, Dubinsky M, Ippoliti A, Kwon S, Guo X, Melmed GY, Berel D, Mengesha E, Psaty BM, Glazer NL, Vasiliauskas EA, Rotter JI, Fleshner PR, McGovern DP. Genetic predictors of medically refractory ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1830-1840 [PMID: 20848476 DOI: 10.1002/ibd.21293]

26 Barrett R, Zhang X, Koon HW, Vu M, Chang JY, Yeager N, Nguyen MA, Michelsen KS, Berel D, Pothoulakis C, Targan SR, Shih DQ. Constitutive TL1A expression under colitogenic conditions modulates the severity and location of gut mucosal inflammation and induces fibrostenosis. *Am J Pathol* 2012; 180: 636-649 [PMID: 22138299 DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.10.026]

27 Hirano A, Yamazaki K, Umeno J, Ashikawa K, Aoki M, Matsumoto T, Nakamura S, Ninomiya T, Matsui T, Hirai F, Kawaguchi T, Takazoe M, Tanaka H, Motoya S, Kiyohara Y, Kitazono T, Nakamura Y, Kamatani N, Kubo M. Association study of 71 European Crohn's disease susceptibility loci in a Japanese population. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 526-533 [PMID: 23388546 DOI: 10.1097/MIB.0b013e31828075e7]

28 Pobezinskaya YL, Choksi S, Morgan MJ, Cao X, Liu ZG. The adaptor protein TRADD is essential for TNF-like ligand 1A/death receptor 3 signaling. *J Immunol* 2011; 186: 5212-5216 [PMID: 21421854 DOI: 10.4049/jimmunol.1002374]

29 Hedl M, Abraham C. A TNFSF15 disease-risk polymorphism increases pattern-recognition receptor-induced signaling through caspase-8-induced IL-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111: 13451-13456 [PMID: 25197060 DOI: 10.1073/pnas.1404178111]

30 Gonsky R, Deem RL, Targan SR. Multiple activating and repressive cis-promoter regions regulate TNFSF15 expression in human primary mononuclear cells. *Cytokine* 2013; 63: 36-42 [PMID: 23642711 DOI: 10.1016/j.cyto.2013.04.004]

31 Shih DQ, Kwan LY, Chavez V, Cohavy O, Gonsky

■应用要点

在IBD疾病中深入研究MAPK信号及其下游信号转导通路, 为认识IBD发病机制、寻找更好的抑制剂或药物治疗提供理论依据.

■同行评价
本文立题有依据，研究内容集中，论点明确，结果可信，文章简洁，对IBD的发病机制研究和临床诊治有参考意义.

R, Chang EY, Chang C, Elson CO, Targan SR. Microbial induction of inflammatory bowel disease associated gene TL1A (TNFSF15) in antigen presenting cells. *Eur J Immunol* 2009; 39: 3239-3250 [PMID: 19839006 DOI: 10.1002/eji.200839087]

32 Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; 447: 661-678 [PMID: 17554300 DOI: 10.1038/nature05911]

33 Franke A, Balschun T, Karlsen TH, Hedderich J, May S, Lu T, Schuldt D, Nikolaus S, Rosenstiel P, Krawczak M, Schreiber S. Replication of signals from recent studies of Crohn's disease identifies previously unknown disease loci for ulcerative colitis. *Nat Genet* 2008; 40: 713-715 [PMID: 18438405 DOI: 10.1038/ng.148]

34 McCole DF. Regulation of epithelial barrier function by the inflammatory bowel disease candidate gene, PTPN2. *Ann N Y Acad Sci* 2012; 1257: 108-114 [PMID: 22671596 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06522.x]

35 Scharl M, Wojtal KA, Becker HM, Fischbeck A, Frei P, Arikkat J, Pesch T, Kellermeier S, Boone DL, Weber A, Loessner MJ, Vavricka SR, Fried M, McCole DF, Rogler G. Protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 2 regulates autophagosome formation in human intestinal cells. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 1287-1302 [PMID: 21987459 DOI: 10.1002/ibd.21891]

36 Hassan SW, Doody KM, Hardy S, Uetani N, Cournoyer D, Tremblay ML. Increased susceptibility to dextran sulfate sodium induced colitis in the T cell protein tyrosine phosphatase heterozygous mouse. *PLoS One* 2010; 5: e8868 [PMID: 20111595 DOI: 10.1371/journal.pone.0008868]

37 van Vliet C, Bukczynska PE, Puryer MA, Sadek CM, Shields BJ, Tremblay ML, Tiganis T. Selective regulation of tumor necrosis factor-induced Erk signaling by Src family kinases and the T cell protein tyrosine phosphatase. *Nat Immunol* 2005; 6: 253-260 [PMID: 15696169 DOI: 10.1038/ni1169]

38 Scharl M, Hruz P, McCole DF. Protein tyrosine phosphatase non-receptor Type 2 regulates IFN-γ-induced cytokine signaling in THP-1 monocytes. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 2055-2064 [PMID: 20848498 DOI: 10.1002/ibd.21325]

39 Scharl M, McCole DF, Weber A, Vavricka SR, Frei P, Kellermeier S, Pesch T, Fried M, Rogler G. Protein tyrosine phosphatase N2 regulates TNFα-induced signalling and cytokine secretion in human intestinal epithelial cells. *Gut* 2011; 60: 189-197 [PMID: 21115548 DOI: 10.1136/gut.2010.216606]

40 Chen G, Shaw MH, Kim YG, Nuñez G. NOD-like receptors: role in innate immunity and inflammatory disease. *Annu Rev Pathol* 2009; 4: 365-398 [PMID: 18928408 DOI: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092239]

41 Yang Y, Yin C, Pandey A, Abbott D, Sassetti C, Kelliher MA. NOD2 pathway activation by MDP or Mycobacterium tuberculosis infection involves the stable polyubiquitination of Rip2. *J Biol Chem* 2007; 282: 36223-36229 [PMID: 17947236 DOI: 10.1074/jbc.M703079200]

42 Philpott DJ, Sorbara MT, Robertson SJ, Croitoru K, Girardin SE. NOD proteins: regulators of inflammation in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2014; 14: 9-23 [PMID: 24336102 DOI: 10.1038/nri3565]

43 Hedl M, Abraham C. Distinct roles for Nod2 protein and autocrine interleukin-1beta in muramyl dipeptide-induced mitogen-activated protein kinase activation and cytokine secretion in human macrophages. *J Biol Chem* 2011; 286: 26440-26449 [PMID: 21659536 DOI: 10.1074/jbc.M111.237495]

44 Hedl M, Lahiri A, Ning K, Cho JH, Abraham C. Pattern recognition receptor signaling in human dendritic cells is enhanced by ICOS ligand and modulated by the Crohn's disease ICOSLG risk allele. *Immunity* 2014; 40: 734-746 [PMID: 24837102 DOI: 10.1016/j.immuni.2014.04.011]

45 Hedl M, Zheng S, Abraham C. The IL18RAP region disease polymorphism decreases IL-18RAP/IL-18R1/IL-1R1 expression and signaling through innate receptor-initiated pathways. *J Immunol* 2014; 192: 5924-5932 [PMID: 24842757 DOI: 10.4049/jimmunol.1302727]

46 Hedl M, Abraham C. IRF5 risk polymorphisms contribute to interindividual variance in pattern recognition receptor-mediated cytokine secretion in human monocyte-derived cells. *J Immunol* 2012; 188: 5348-5356 [PMID: 22544929 DOI: 10.4049/jimmunol.1103319]

47 Spalinger MR, Lang S, Vavricka SR, Fried M, Rogler G, Scharl M. Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22 modulates NOD2-induced cytokine release and autophagy. *PLoS One* 2013; 8: e72384 [PMID: 23991106 DOI: 10.1371/journal.pone.0072384]

48 Bank S, Skytt Andersen P, Burisch J, Pedersen N, Roug S, Galsgaard J, Ydegaard Turino S, Broder Brodersen J, Rashid S, Kaiser Rasmussen B, Avlund S, Bastholm Olesen T, Jürgen Hoffmann H, Kragh Thomsen M, Ostergaard Thomsen V, Frydenberg M, Andersen Nexø B, Sode J, Vogel U, Andersen V. Polymorphisms in the inflammatory pathway genes TLR2, TLR4, TLR9, LY96, NFKBIA, NFKB1, TNFA, TNFRSF1A, IL6R, IL10, IL23R, PTPN22, and PPARG are associated with susceptibility of inflammatory bowel disease in a Danish cohort. *PLoS One* 2014; 9: e98815 [PMID: 24971461 DOI: 10.1371/journal.pone.0098815]

49 Waterman M, Xu W, Stempak JM, Milgrom R, Bernstein CN, Griffiths AM, Greenberg GR, Steinhart AH, Silverberg MS. Distinct and overlapping genetic loci in Crohn's disease and ulcerative colitis: correlations with pathogenesis. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1936-1942 [PMID: 21830272 DOI: 10.1002/ibd.21579]

50 Sfar I, Ben Aleya W, Mouelhi L, Aouadi H, Ben Rhomdhane T, Makhlouf M, Ayed-Jendoubi S, Gargaoui H, Najjar T, Ben Abdallah T, Ayed K, Gorgi Y. Lymphoid tyrosine phosphatase R620W variant and inflammatory bowel disease in Tunisia. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 479-483 [PMID: 20101775]

51 Martín MC, Oliver J, Urcelay E, Orozco G, Gómez-Garcia M, López-Nevot MA, Piñero A, Brieva JA, de la Concha EG, Nieto A, Martín J. The functional genetic variation in the PTPN22 gene has a negligible effect on the susceptibility to develop inflammatory bowel disease. *Tissue Antigens* 2005; 66: 314-317 [PMID: 16185327 DOI: 10.1111/j.1399-0039.2005.00428.x]

52 Prescott NJ, Fisher SA, Onnie C, Pattni R, Steer S, Sanderson J, Forbes A, Lewis CM, Mathew CG. A general autoimmunity gene (PTPN22) is not associated

with inflammatory bowel disease in a British population. *Tissue Antigens* 2005; 66: 318-320 [PMID: 16185328 DOI: 10.1111/j.1399-0039.2005.00494.x]
53 Spalinger MR, Lang S, Weber A, Frei P, Fried M, Rogler G, Scharl M. Loss of protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 22 regulates interferon-γ-induced signaling in human monocytes. *Gastroenterology* 2013; 144: 978-988. e10 [PMID: 23380085 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.01.048]
54 Cao Y, Yang J, Colby K, Hogan SL, Hu Y, Jennette CE, Berg EA, Zhang Y, Jennette JC, Falk RJ, Preston GA. High basal activity of the PTPN22 gain-of-function variant blunts leukocyte responsiveness negatively affecting IL-10 production in ANCA vasculitis. *PLoS One* 2012; 7: e42783 [PMID: 22880107 DOI: 10.1371/journal.pone.0042783]
55 Naser SA, Arce M, Khaja A, Fernandez M, Naser N, Elwasila S, Thanigachalam S. Role of ATG16L, NOD2 and IL23R in Crohn's disease pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 412-424 [PMID: 22346247 DOI: 10.3748/wjg.v18.i5.412]
56 Lee J, Kim HR, Quinley C, Kim J, Gonzalez-Navajas J, Xavier R, Raz E. Autophagy suppresses interleukin-1β (IL-1β) signaling by activation of p62 degradation via lysosomal and proteasomal pathways. *J Biol Chem* 2012; 287: 4033-4040 [PMID: 22167182 DOI: 10.1074/jbc.M111.280065]
57 Choe JY, Jung HY, Park KY, Kim SK. Enhanced p62 expression through impaired proteasomal degradation is involved in caspase-1 activation in monosodium urate crystal-induced interleukin-1b expression. *Rheumatology* (Oxford) 2014; 53: 1043-1053 [PMID: 24587486 DOI: 10.1093/rheumatology/ket474]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 236-242
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

腹部手术后谵妄的研究进展

廖 勃, 韩 曲, 勒义官, 范纪昌, 蒋 澄, 谢晓峰, 曾 飞

■背景资料
术后谵妄(postoperative delirium, POD)是腹部手术后常见的急性综合征, 准确的诊断及正确的处理是改善预后的关键. POD的发生与患者术前存在的基础疾病及围手术期的药物使用密切相关, 但具体的发生机制尚不明确, 目前认为主要由乙酰胆碱等神经递质的缺乏所导致. 非药物性手段在POD防治中因表现出了一定的优势而逐渐受到关注.

廖勃, 韩曲, 勒义官, 范纪昌, 谢晓峰, 曾飞, 南昌大学第二附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330006
蒋澄, 南京医科大学附属脑科医院神经内科 江苏省南京市 210000
廖勃, 在读硕士, 主要从事消化系外科肿瘤的研究.
作者贡献分布: 本文综述由廖勃完成; 韩曲、勒义官、范纪昌、蒋澄及谢晓峰进行文献搜集整理; 曾飞审校.
通讯作者: 曾飞, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院胃肠外科. zenfei6405@126.com
电话: 0791-86297662
收稿日期: 2014-10-30 修回日期: 2014-11-23
接受日期: 2014-12-05 在线出版日期: 2015-01-18

Recent progress in research of postoperative delirium after abdominal surgery

Bo Liao, Qu Han, Yi-Guan Le, Ji-Chang Fan, Cheng Jiang, Xiao-Feng Xie, Fei Zeng

Bo Liao, Qu Han, Yi-Guan Le, Ji-Chang Fan, Xiao-Feng Xie, Fei Zeng, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Cheng Jiang, Department of Neurology, Affiliated Brain Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Fei Zeng, Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. zenfei6405@126.com
Received: 2014-10-30 Revised: 2014-11-23
Accepted: 2014-12-05 Published online: 2015-01-18

Abstract
Postoperative delirium (POD) is a common acute cerebral syndrome after abdominal surgery, with disturbance of consciousness, cognition and attention as the main clinical manifestations, found mostly in elderly male patients. POD often increases mortality dramatically and prolongs the length of hospital stay. There are many factors responsible for the occurrence of POD, such as age, underlying diseases and antipsychotic drugs. Due to the complex onset of the disease, multicomponent intervention strategies have been recommended and proved effective. In contrast, there has been no evidence that pharmacological prevention or therapy could reduce the incidence or shorten the duration of POD. This paper reviews the recent progress in research of postoperative delirium after abdominal surgery with regards to its mechanism, risk factors, prevention and treatment.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Postoperative delirium; Abdominal surgery

Liao B, Han Q, Le YG, Fan JC, Jiang C, Xie XF, Zeng F. Recent progress in research of postoperative delirium after abdominal surgery. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 236-242 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/236.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.236

摘要
术后谵妄(postoperative delirium, POD)是腹部外科手术后一种常见的急性综合征, 以意识、认知障碍及注意力不集中为主要临床表现. 围手术期谵妄以老年男性多见, 一旦发生会提高患者的死亡率, 延长住院时间并增加住院费用. 有多种原因参与POD的发生, 包括患者高龄、术前存在的基础性疾病及麻醉镇静药物使用等. 就治疗方面来讲, 过去主张使用氟哌啶醇等药物性治疗, 但最新的研究表明, 非药物手段的多元化介入策略(multicomponent intervention strategies)在临床试验中表现出了预防和治疗优势, 并逐渐被业界接受. 本文主要就腹部外科手POD的影响因素、预防和治疗的最新进展作一综述.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 术后谵妄; 腹部手术

核心提示: 术后谵妄(postoperative delirium, POD)是腹部手术后常见的急性综合征, 增加患者的住院时间及死亡风险, 本文就腹部POD的发生原因、机制及诊治进展进行了综述, 对临床工作提供一定的帮助.

廖勃, 韩曲, 勒义官, 范纪昌, 蒋澄, 谢晓峰, 曾飞. 腹部手术后谵妄的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 236-242

■同行评议者
刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/236.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.236

0 引言

术后谵妄(postoperative delirium, POD)指术后数天内发生的一种可逆的急性波动性精神紊乱综合征, 包括了意识、认知、注意力、记忆、定向及运动行为方面的紊乱. 谵妄是一种常见的临床表现, 2012年据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)统计, 欧洲住院老年患者谵妄发生率达50%[1]. 随着谵妄的发生, 伴随而来的是患者死亡率升高, 住院时间延长及住院花费增加, 而由于手术创伤的打击加之围手术期生理精神因素的改变, 谵妄发生率和死亡率分别可达37%-74%和20%[2], 曹建国等[3]统计380例65岁以上住院手术患者中, 135例非心脏手术患者POD占29.6%, 其中普外科腹部手术后发生率为38%. 因此普外科医生了解POD, 及时发现并采取有效措施是十分必要的. 本文就近年来腹部手术POD的发生机制、影响因素及其诊治的最新进展作一综述.

1 临床诊断及诊断工具

1.1 症状及诊断标准 患者常在术后第1-3天急性或亚急性发作且病情波动, 表现为注意力不集中、意识障碍、认知障碍(包括定向障碍、记忆障碍、语言改变), 其他表现包括睡眠-觉醒周期紊乱, 幻觉、错觉、精神运动障碍, 不良行为、情绪不稳定. 临床观察到的谵妄患者通常表现为烦躁不安, 但也可表现得异常安静, 由此分为兴奋型和沉默型. 患者症状常在夜晚加重, 称为日落现象, 意识方面出现昏睡或觉醒过度, 定向(人、空间、时间)障碍表现为不识来人、亲友, 错觉和幻觉是认知障碍的表现, 许多患者的被害妄想逼真, 导致他们易激惹、躁动甚至产生攻击行为. 另外, 患者短期记忆受损, 呈现逆行性遗忘. 沉默型患者出现情绪混乱, 可表现为严重抑郁的情感淡漠, 也可以是严重的恐慌和焦虑.

谵妄诊断确立之后, 关键需要找出导致谵妄的原因, 腹部外科大手术后身体内环境发生改变, 如感染、低血糖、电解质紊乱、脱水等, 加之镇痛不足、抗胆碱能药物、镇静止痛药物过量等是引发POD的常见原因, 还需注意肝胰手术后出现的肝性脑病、胰性脑病以及术后长期肠外营养导致的维生素B1缺乏性Wernicke脑病. 因此谵妄出现后应积极进行血生化、脑影像[计算机断层扫描(computed tomography, CT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)]等检查. 目前应用最广泛的两种谵妄诊断标准是WHO制定的国际疾病分类第10版(ICD-10 1993年)[4]和美国精神医学学会出版的精神障碍诊断与统计手册第5版(DSM-5 2013年)[5]. 前者的诊断标准中有睡眠-觉醒周期紊乱一项, 而后者更注重相似疾病之间的鉴别, 例如有痴呆病史、药物或酒精所致的戒断作用间的区别, 且诊断标准少, 应用更加简单.

1.2 诊断工具 诊断工具的使用提高了临床诊疗工作效率, 目前有超过24种谵妄诊疗工具, 最为广泛使用的是Inouye等以DSM-III-R为标准制定的谵妄评定方法(confusion assessment method, CAM)[6-8], Wei等[9]在对1000余例患者进行系统回顾中证实了其有效性, 其中敏感性为94%, 特异性89%, 评定者间信度高. 谵妄评定方法包括4项内容: (1)急性发作和波动病程: 患者精神状态在短时间内有无明显改变, 1 d之内行为是否波动(症状出现或消失, 加重或减弱); (2)注意力不集中: 注意力难以集中, 容易分散; (3)思维混乱: 谈话主题散漫, 思维不清晰或不合逻辑, 或从一个主题不可预测地跳到另一个主题; (4)意识改变: 患者意识是否表现为警醒、嗜睡、昏睡或昏迷. 当(1)和(2)共同具备, 再加上(3)或(4)中的任意一项, 即可诊断谵妄.

2 病理生理学

谵妄发生机制学说众多, 但确切机制尚不明确, 大部分理论都不能单独解释POD, 理论之间互相有关联. 但所有研究表明最后都与神经递质的合成及功能紊乱有关, 从而导致了行为及认知的改变. 神经递质紊乱中最多见的是乙酰胆碱缺乏及多巴胺过多, 或由抗胆碱药物和拟多巴胺药物使用带来的不良影响[10]. 以下列举目前最有影响的几种学说:

2.1 神经炎症(neuroinflammatory)学说 包括由外周部位感染和全身性炎症反应引起的神经炎症[11]. 有确切证据表明急性全身性炎症与谵妄之间存在关系[12,13], 当发生系统炎症、缺氧或者疼痛时, 血脑屏障通透性增加, 循环血液中的细胞、炎症因子或者神经兴奋性药物如阿片类代谢产物可透过屏障进入中枢[14,15]. 受此影响, 中枢本身会产生炎症介质, 并随着炎症反应的发生, 依次产生神经递质紊乱, 神经内分泌改变,

■研发前沿
目前手POD的非药物性预防和治疗是本领域的研究热点, 其主要手段是针对围手术期导致谵妄的多种诱因和易感因素进行干预, 因此后续研究应针对非药物防治方法进行改进, 使其更加符合现实临床需求.

■相关报道
Inouye等对谵妄进行了长期的研究，并报道了HELP(hospital elder life program)法作为一种非药物性防治手段被应用于临床，而由此法衍生出的一系列改进方法也见诸于文献报道中.

神经功能失调甚至神经细胞死亡，最终导致临床症状[16-18].

2.2 神经细胞老化(neuronal aging)学说 在对老龄人及术前痴呆患者大脑的研究中发现，由于大脑的形态及功能学改变使得在系统性炎症反应下具有更高的发病率. 乙酰胆碱能抑制小神经胶质细胞的活性，老龄人和痴呆患者大脑乙酰胆碱相对缺乏，加之抗胆碱类药物使用，造成小神经胶质细胞过分活跃[16]，活化的小神经胶质细胞是中枢系统的免疫效应细胞，过度活化造成自身细胞的免疫损伤，由此不仅能解释这些患者的POD高发生率，还能解释谵妄病程中顽固性的症状，如进行性神经炎症、神经退行性病变[18].

2.3 氧化应激反应(oxidative stress)学说 手术以后人体血流动力学发生改变，机体代谢增加造成颅内血氧、灌注率下降. 而缺氧、细胞膜ATP泵供能不足，使细胞内电解质浓缩，如胞内高钙离子，导致神经元功能失调. 此外，氧化应激引起某些神经递质代谢紊乱，如谷氨酸、多巴胺和去甲肾上腺素合成增多，乙酰胆碱合成减弱[17].

2.4 神经递质缺乏(neurotransmitter deficiency)学说 之前已述氧化应激反应会减少乙酰胆碱，与POD相关的神经介质以及抑制性神经介质γ-氨基丁酸(γ-aminobutyric acid, GABA)和5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)[17,19,20]. 乙酰胆碱在维持意识清醒、注意力和学习记忆中的作用非常关键，通常认为其缺乏是谵妄发病最后的共同通路，他的不足常常与多巴胺的过量相关[19,20]. 虽然乙酰胆碱不足与谵妄相关，但是乙酰胆碱酯酶抑制剂对谵妄无明显治疗及预防效果[21-23].

3 相关的因素

虽然POD发生的病理生理学机制尚不明了，但业界逐渐接受的是，其发病由多种易感因素与诱发因素之间共同作用引起的.

3.1 易感因素(predisposing factors) (1)年龄≥75岁; (2)基础疾病史，术前房颤; 外周血管疾病; 心脑血管疾病史; 肾功能不全; 糖尿病(尤其是血糖控制不良者); (3)术前存在认知障碍[24]，如痴呆; (4)术前听力、视觉损伤; (5)既往谵妄病史[25]; (6)酗酒[26,27]; (7)术前营养不良(血清总蛋白<30 g/L)及电解质紊乱[28-30]; (8)术前贫血; (9)抑郁症病史[31]; (10)躁郁症或精神分裂症是独立危险因素[32].

3.2 诱发因素(precipitating factors) (1)有创检查或手术[33]; (2)部分麻醉药物的使用，如术中使用长效阿片类药物对比短效制剂风险更大; 围手术期使用芬太尼的剂量与发病成正比[34,35]; (3)苯二氮卓类药物是发病的独立因素; (4)抗胆碱类药物或具有抗胆碱/抗组胺不良反应药物[36]; (5)术中低血压[37]; (6)术后48 h内缺氧是独立危险因素[38]; (7)术后镇痛不足[39]; (8)术后心输出量低; (9)急性出血性贫血、输血增加风险，且发生率与严重程度与输血量呈正相关[40]; (10)术后急性肾衰[41]; (11)围手术期感染，血清中炎症因子如白介素-6(interleukin 6, IL-6)、IL-8、C反应蛋白(C reactive protein, CRP)与发生率、严重程度、持续时间密切相关[42,43]; (12)重症监护病房(intensive care unit, ICU)患者的谵妄发生率明显提高: 导尿、限制活动(身体制动)、睡眠不足、昼夜节律紊乱[44,45]. 患者进入ICU后会导致紧张情绪，血清皮质醇水平上升[46]; (13)呼吸机的长时间使用，其使用时间与发病率及使用时间呈正相关[47]; (14)围手术期神经学合并症，如脑缺血、脑出血[48].

4 预防和治疗

4.1 非药物性预防和治疗 积极发现术前易感因素及避免诱因可以更好地针对性预防和治疗POD. 控制单一的风险因素或许不足以改善谵妄发生与病情，多元化策略才是最有效针对预防与治疗的手段.

作为一种非药物手段，多元化介入策略(multicomponent intervention strategies, MIS)因在POD的预防与治疗中表现出的优势[49,50]，已逐渐被业界所接受，并列入到英国国家优化卫生与保健研究所(National Institute for Health and Clinical Excellence, NICE)指南当中[6]. MIS针对围手术期多项诱因和易感因素进行干预. 护理方面，鼓励患者术前进行适度身体锻炼，术后尽早活动，尽量避免导尿; 帮助患者恢复定向障碍; 给视觉或听觉障碍的患者佩戴眼镜、助听器; 提高睡眠质量，有条件可给高风险及已患病患者提供单间，避免夜间护理和治疗项目; 治疗方面，应有效缓解疼痛，积极纠正贫血，低血氧，低/高血压，保证足够碳水化合物及其他营养物质摄入; 精神兴奋药物的使用及有创操作均为诱发因素，应尽量避免. 在多元化介入策略中，应用最广泛的是由美国Inouye教授提出的HELP(hospital elder life program)法，目前已被全球超过200家医院使用，并衍生出了一系列改

进方法[51]. Chen等[52]在一项前瞻性研究中观察了HELP改进法对腹部外科手POD发生率的影响, 其中实验组(n = 102)和使用常规护理方法的对照组(n = 77)POD的发病率分别为0.0%和16.7%(P<0.001).

虽然MIS能降低POD发病率, 但或许不是其中的每一项干预方法都是有效可行的. Jeffs等[53]就得出了阴性结果, 他们将649例入院时无谵妄的内科老年患者(≥65岁)纳入研究, 实验组对患者定向力、活动两项内容进行干预(n = 305), 对照组行常规护理(n = 344), 结果显示, 住院期间谵妄在实验组发生率4.9%(15/305, 95%CI: 2.3-7.3), 对照组为5.9%(20/339, 95%CI: 3.8-9.2), 两组间差异无统计学意义(χ^2 = 0.301; P>0.05). 需要指出的是, 这项研究只针对内科患者进行了定向和活动干预, 并不能否认MIS的有效性, 能否完善MIS, 使其满足临床的不同需求, 有待进行更多的研究.

4.2 *药物性预防和治疗* 一代抗精神病药物如氟哌啶醇过去被用于POD治疗, 但在氟哌啶醇与二代抗精神病药对比研究中, 前者对谵妄持续时间和严重程度的影响并无优势, 而使用后可能出现锥体外系症状[54-57], 因此不被建议用于POD. 最近的一些研究结果也不支持氟哌啶醇的使用, Fukata等[58]将119例拟择期行腹部手术或骨科手术患者(≥75岁)纳入研究, 术后前3 d给予小剂量氟哌啶醇, 观察术后7 d内谵妄发生情况, 结果在实验组(n = 59)和对照组(使用安慰剂; n = 60)中发病率分别为42.4%和33.3%, 差异无统计学意义(P = 0.309), 且发病的严重程度也未见改善. 同样的, 在ICU和老年患者的应用中, 氟哌啶醇组的发病率和持续时间和使用安慰剂的对照组差异均无统计学意义[59-61].

目前, 右旋美托咪啶治疗谵妄的效果较为肯定, 持续静脉输注可以减少谵妄的持续时间, 术中用于镇静可降低POD发病率, 他的这种作用或许与其对胆碱能和GABA能系统影响较小且促进正常睡眠结构有关[62-64], 因此被美国重症医学会(Society of Critical Care Medicine, SCCM)2013年指南推荐使用[65]. 同被推荐的还有二代抗精神病药, 而苯二氮卓类药物因可能诱发谵妄, 故不建议使用. 睡眠的不足是危险因素之一, 应用褪黑素也可预防性的减少POD的发生[66]. 另外, 乙酰胆碱的缺乏是POD关键的发生机制, 但实际上, 胆碱酯酶抑制剂如利斯的明并无预防效果[67,68]. 最近的研究[69]报道, 麻醉中使用小剂量的氯胺酮可能减少术后疼痛、预防POD的发病, 但是这一信息还未被证实, 一项大型临床研究正在进行中.

5 结论

谵妄是腹部外科手术后常见的疾病, 增加患者死亡率, 延长住院时间, 增加住院费用. 外科医生通常对POD缺乏足够的认识, 容易与一些功能性神经障碍相混淆, 有时单纯地认为是麻醉后遗症而未引起重视. 因此, 有效预防及治疗POD对医生提出了更高的要求. 降低POD的发生及严重程度主要依靠医护人员提高对疾病以及易感、诱发因素的认识, 针对高危患者进行风险评估, 采取预防措施, 在疾病发生之后积极进行治疗, 另一方面, 需要患者家属的积极配合. 同时, 外科医生限于本专业的知识范围, 应及时与相关科室沟通, 多学科之间合作.

■创新盘点
本文详细介绍了近年来对腹部手术POD发生机制、原因及治疗的研究进展.

6 参考文献

1 WHO Regional Office for Europe. European hospital morbidity database. Copenhagen: World Health Organization, 2012

2 Ganai S, Lee KF, Merrill A, Lee MH, Bellantonio S, Brennan M, Lindenauer P. Adverse outcomes of geriatric patients undergoing abdominal surgery who are at high risk for delirium. *Arch Surg* 2007; 142: 1072-1078 [PMID: 18025336 DOI: 10.1001/archsurg.142.11.1072]

3 曹建国, 洪涛, 闻大翔, 皋源, 万燕杰, 刁枢, 李立志, 杭燕南, 孙大金. 老年患者术后精神和认知障碍的发病率及相关因素分析. 上海医学 2006; 28: 939-941

4 WHO. The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders: diagnostic criteria for research. Geneva: World Health Organization, 1993

5 American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 5th edn. Washington, DC: American Psychiatric Association, 2013

6 O'Mahony R, Murthy L, Akunne A, Young J. Synopsis of the National Institute for Health and Clinical Excellence guideline for prevention of delirium. *Ann Intern Med* 2011; 154: 746-751 [PMID: 21646557 DOI: 10.7326/0003-4819-154-11-201106070-00006]

7 Inouye SK, van Dyck CH, Alessi CA, Balkin S, Siegal AP, Horwitz RI. Clarifying confusion: the confusion assessment method. A new method for detection of delirium. *Ann Intern Med* 1990; 113: 941-948 [PMID: 2240918]

8 Wong CL, Holroyd-Leduc J, Simel DL, Straus SE. Does this patient have delirium?: value of bedside instruments. *JAMA* 2010; 304: 779-786 [PMID: 20716741]

9 Wei LA, Fearing MA, Sternberg EJ, Inouye SK. The Confusion Assessment Method: a systematic review of current usage. *J Am Geriatr Soc* 2008; 56: 823-830 [PMID: 18384586]

10 Inouye SK, Westendorp RG, Saczynski JS. Delirium in elderly people. *Lancet* 2014; 383: 911-922 [PMID: 23992774 DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60688-1]

■**应用要点**
本文重点阐述了腹部POD发生的相关因素及防治进展，相信对临床中避免POD的发生、及时有效的发现和治疗会带来帮助.

11 Murray C, Sanderson DJ, Barkus C, Deacon RM, Rawlins JN, Bannerman DM, Cunningham C. Systemic inflammation induces acute working memory deficits in the primed brain: relevance for delirium. *Neurobiol Aging* 2012; 33: 603-616. e3 [PMID: 20471138 DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.04.002]

12 de Rooij SE, van Munster BC, Korevaar JC, Levi M. Cytokines and acute phase response in delirium. *J Psychosom Res* 2007; 62: 521-525 [PMID: 17467406 DOI: 10.1016/j.jpsychores.2006.11.013]

13 Poon DC, Ho YS, Chiu K, Chang RC. Cytokines: how important are they in mediating sickness? *Neurosci Biobehav Rev* 2013; 37: 1-10 [PMID: 23153795 DOI: 10.1016/j.neubiorev.2012.11.001]

14 Engelhardt S, Al-Ahmad AJ, Gassmann M, Ogunshola OO. Hypoxia selectively disrupts brain microvascular endothelial tight junction complexes through a hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) dependent mechanism. *J Cell Physiol* 2014; 229: 1096-1105 [PMID: 24375098 DOI: 10.1002/jcp.24544]

15 Takeda S, Sato N, Ikimura K, Nishino H, Rakugi H, Morishita R. Increased blood-brain barrier vulnerability to systemic inflammation in an Alzheimer disease mouse model. *Neurobiol Aging* 2013; 34: 2064-2070 [PMID: 23561508 DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.02.010]

16 van Gool WA, van de Beek D, Eikelenboom P. Systemic infection and delirium: when cytokines and acetylcholine collide. *Lancet* 2010; 375: 773-775 [PMID: 20189029 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)61158-2]

17 Maldonado JR. Neuropathogenesis of delirium: review of current etiologic theories and common pathways. *Am J Geriatr Psychiatry* 2013; 21: 1190-1222 [PMID: 24206937 DOI: 10.1016/j.jagp.2013.09.005]

18 Hshieh TT, Fong TG, Marcantonio ER, Inouye SK. Cholinergic deficiency hypothesis in delirium: a synthesis of current evidence. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2008; 63: 764-772 [PMID: 18693233 DOI: 10.1093/gerona/63.7.764]

19 Trzepacz PT. Is there a final common neural pathway in delirium? Focus on acetylcholine and dopamine. *Semin Clin Neuropsychiatry* 2000; 5: 132-148 [PMID: 10837102]

20 Hughes CG, Patel MB, Pandharipande PP. Pathophysiology of acute brain dysfunction: what's the cause of all this confusion? *Curr Opin Crit Care* 2012; 18: 518-526 [PMID: 22941208 DOI: 10.1097/MCC.0b013e328357effa]

21 van Eijk MM, Slooter AJ. Delirium in intensive care unit patients. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth* 2010; 14: 141-147 [PMID: 20478955 DOI: 10.1177/1089253210371495]

22 Overshott R, Karim S, Burns A. Cholinesterase inhibitors for delirium. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; (1): CD005317 [PMID: 18254077 DOI: 10.1002/14651858.CD005317.pub2]

23 Sampson EL, Raven PR, Ndhlovu PN, Vallance A, Garlick N, Watts J, Blanchard MR, Bruce A, Blizard R, Ritchie CW. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of donepezil hydrochloride (Aricept) for reducing the incidence of postoperative delirium after elective total hip replacement. *Int J Geriatr Psychiatry* 2007; 22: 343-349 [PMID: 17006875 DOI: 10.1002/gps.1679]

24 Youngblom E, DePalma G, Sands L, Leung J. The temporal relationship between early postoperative delirium and postoperative cognitive dysfunction in older patients: a prospective cohort study. *Can J Anaesth* 2014; 61: 1084-1092 [PMID: 25287962]

25 Steiner LA. Postoperative delirium. Part 1: pathophysiology and risk factors. *Eur J Anaesthesiol* 2011; 28: 628-636 [PMID: 21785356 DOI: 10.1097/EJA.0b013e328349b7f5]

26 Hudetz JA, Iqbal Z, Gandhi SD, Patterson KM, Hyde TF, Reddy DM, Hudetz AG, Warltier DC. Postoperative cognitive dysfunction in older patients with a history of alcohol abuse. *Anesthesiology* 2007; 106: 423-430 [PMID: 17325499 DOI: 10.1097/00000542-200703000-00005]

27 von Haken R, Gruss M, Plaschke K, Scholz M, Engelhardt R, Brobeil A, Martin E, Weigand MA. [Delirium in the intensive care unit]. *Anaesthesist* 2010; 59: 235-247 [PMID: 20127059 DOI: 10.1007/s00101-009-1664-3]

28 Koster S, Oosterveld FG, Hensens AG, Wijma A, van der Palen J. Delirium after cardiac surgery and predictive validity of a risk checklist. *Ann Thorac Surg* 2008; 86: 1883-1887 [PMID: 19022003 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2008.08.020]

29 Baranyi A, Rothenhäusler HB. The impact of intra- and postoperative albumin levels as a biomarker of delirium after cardiopulmonary bypass: results of an exploratory study. *Psychiatry Res* 2012; 200: 957-963 [PMID: 22749153 DOI: 10.1016/j.psychres.2012.05.030]

30 Chang YL, Tsai YF, Lin PJ, Chen MC, Liu CY. Prevalence and risk factors for postoperative delirium in a cardiovascular intensive care unit. *Am J Crit Care* 2008; 17: 567-575 [PMID: 18978241]

31 Tully PJ, Baker RA, Winefield HR, Turnbull DA. Depression, anxiety disorders and Type D personality as risk factors for delirium after cardiac surgery. *Aust N Z J Psychiatry* 2010; 44: 1005-1011 [PMID: 21034183 DOI: 10.3109/00048674.2010.495053]

32 Copeland LA, Zeber JE, Pugh MJ, Mortensen EM, Restrepo MI, Lawrence VA. Postoperative complications in the seriously mentally ill: a systematic review of the literature. *Ann Surg* 2008; 248: 31-38 [PMID: 18580204 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181724f25]

33 Bilotta F, Lauretta MP, Borozdina A, Mizikov VM, Rosa G. Postoperative delirium: risk factors, diagnosis and perioperative care. *Minerva Anestesiol* 2013; 79: 1066-1076 [PMID: 23511351]

34 Rasmussen LS, Johnson T, Kuipers HM, Kristensen D, Siersma VD, Vila P, Jolles J, Papaioannou A, Abildstrom H, Silverstein JH, Bonal JA, Raeder J, Nielsen IK, Korttila K, Munoz L, Dodds C, Hanning CD, Moller JT. Does anaesthesia cause postoperative cognitive dysfunction? A randomised study of regional versus general anaesthesia in 438 elderly patients. *Acta Anaesthesiol Scand* 2003; 47: 260-266 [PMID: 12648190 DOI: 10.1034/j.1399-6576.2003.00057.x]

35 Sieber FE, Zakriya KJ, Gottschalk A, Blute MR, Lee HB, Rosenberg PB, Mears SC. Sedation depth during spinal anesthesia and the development of postoperative delirium in elderly patients undergoing hip fracture repair. *Mayo Clin Proc* 2010; 85: 18-26 [PMID: 20042557 DOI: 10.4065/mcp.2009.0469]

36 Tse L, Schwarz SK, Bowering JB, Moore RL, Burns KD, Richford CM, Osborn JA, Barr AM. Pharma-

cological risk factors for delirium after cardiac surgery: a review. *Curr Neuropharmacol* 2012; 10: 181-196 [PMID: 23449337 DOI: 10.2174/157015912803217332]
37 Norkiene I, Ringaitiene D, Misiuriene I, Samalavicius R, Bubulis R, Baublys A, Uzdavinys G. Incidence and precipitating factors of delirium after coronary artery bypass grafting. *Scand Cardiovasc J* 2007; 41: 180-185 [PMID: 17487768 DOI: 10.1080/14017430701302490]
38 Rosenberg J. Hypoxaemia in the general surgical ward--a potential risk factor? *Eur J Surg* 1994; 160: 657-661 [PMID: 7888465]
39 Morrison RS, Magaziner J, Gilbert M, Koval KJ, McLaughlin MA, Orosz G, Strauss E, Siu AL. Relationship between pain and opioid analgesics on the development of delirium following hip fracture. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2003; 58: 76-81 [PMID: 12560416 DOI: 10.1093/gerona/58.1.M76]
40 Marcantonio ER, Goldman L, Orav EJ, Cook EF, Lee TH. The association of intraoperative factors with the development of postoperative delirium. *Am J Med* 1998; 105: 380-384 [PMID: 9831421 DOI: 10.1016/S0002-9343(98)00292-7]
41 Sasajima Y, Sasajima T, Azuma N, Akazawa K, Saito Y, Inaba M, Uchida H. Factors related to postoperative delirium in patients with lower limb ischaemia: a prospective cohort study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2012; 44: 411-415 [PMID: 22863895 DOI: 10.1016/j.ejvs.2012.06.028]
42 Cerejeira J, Nogueira V, Luís P, Vaz-Serra A, Mukaetova-Ladinska EB. The cholinergic system and inflammation: common pathways in delirium pathophysiology. *J Am Geriatr Soc* 2012; 60: 669-675 [PMID: 22316182 DOI: 10.1111/j.1532-5415.2011.03883.x]
43 van Munster BC, Korevaar JC, Zwinderman AH, Levi M, Wiersinga WJ, De Rooij SE. Time-course of cytokines during delirium in elderly patients with hip fractures. *J Am Geriatr Soc* 2008; 56: 1704-1709 [PMID: 18691278 DOI: 10.1111/j.1532-5415.2008.01851.x]
44 Brummel NE, Girard TD. Preventing delirium in the intensive care unit. *Crit Care Clin* 2013; 29: 51-65 [PMID: 23182527 DOI: 10.1016/j.ccc.2012.10.007]
45 McPherson JA, Wagner CE, Boehm LM, Hall JD, Johnson DC, Miller LR, Burns KM, Thompson JL, Shintani AK, Ely EW, Pandharipande PP. Delirium in the cardiovascular ICU: exploring modifiable risk factors. *Crit Care Med* 2013; 41: 405-413 [PMID: 23263581 DOI: 10.1097/CCM.0b013e31826ab49b]
46 Kazmierski J, Banys A, Latek J, Bourke J, Jaszewski R. Cortisol levels and neuropsychiatric diagnosis as markers of postoperative delirium: a prospective cohort study. *Crit Care* 2013; 17: R38 [PMID: 23452669 DOI: 10.1186/cc12548]
47 Burkhart CS, Dell-Kuster S, Gamberini M, Moeckli A, Grapow M, Filipovic M, Seeberger MD, Monsch AU, Strebel SP, Steiner LA. Modifiable and non-modifiable risk factors for postoperative delirium after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2010; 24: 555-559 [PMID: 20227891 DOI: 10.1053/j.jvca.2010.01.003]
48 Gottesman RF, Grega MA, Bailey MM, Pham LD, Zeger SL, Baumgartner WA, Selnes OA, McKhann GM. Delirium after coronary artery bypass graft surgery and late mortality. *Ann Neurol* 2010; 67: 338-344 [PMID: 20373345 DOI: 10.1002/ana.21899]
49 Brooks P, Spillane JJ, Dick K, Stuart-Shor E. Developing a strategy to identify and treat older patients with postoperative delirium. *AORN J* 2014; 99: 257-273; quiz 274-276 [PMID: 24472589 DOI: 10.1016/j.aorn.2013.12.009]
50 Martinez FT, Tobar C, Beddings CI, Vallejo G, Fuentes P. Preventing delirium in an acute hospital using a non-pharmacological intervention. *Age Ageing* 2012; 41: 629-634 [PMID: 22589080 DOI: 10.1093/ageing/afs060]
51 Yue J, Tabloski P, Dowal SL, Puelle MR, Nandan R, Inouye SK. NICE to HELP: operationalizing National Institute for Health and Clinical Excellence guidelines to improve clinical practice. *J Am Geriatr Soc* 2014; 62: 754-761 [PMID: 24697606 DOI: 10.1111/jgs.12768]
52 Chen CC, Lin MT, Tien YW, Yen CJ, Huang GH, Inouye SK. Modified hospital elder life program: effects on abdominal surgery patients. *J Am Coll Surg* 2011; 213: 245-252 [PMID: 21641835 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2011.05.004]
53 Jeffs KJ, Berlowitz DJ, Grant S, Lawlor V, Graco M, de Morton NA, Savige JA, Lim WK. An enhanced exercise and cognitive programme does not appear to reduce incident delirium in hospitalised patients: a randomised controlled trial. *BMJ Open* 2013; 3: pii: e002569 [PMID: 23794558 DOI: 10.1136/bmjopen-2013-002569]
54 Han CS, Kim YK. A double-blind trial of risperidone and haloperidol for the treatment of delirium. *Psychosomatics* 2004; 45: 297-301 [PMID: 15232043 DOI: 10.1016/S0033-3182(04)70170-X]
55 Skrobik YK, Bergeron N, Dumont M, Gottfried SB. Olanzapine vs haloperidol: treating delirium in a critical care setting. *Intensive Care Med* 2004; 30: 444-449 [PMID: 14685663 DOI: 10.1007/s00134-003-2117-0]
56 Hirota T, Kishi T. Prophylactic antipsychotic use for postoperative delirium: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Psychiatry* 2013; 74: e1136-e1144 [PMID: 24434102 DOI: 10.4088/JCP.13r08512]
57 Boettger S, Jenewein J, Breitbart W. Haloperidol, risperidone, olanzapine and aripiprazole in the management of delirium: A comparison of efficacy, safety, and side effects. *Palliat Support Care* 2014; 5: 1-7 [PMID: 25191793 DOI: 10.1017/S1478951514001059]
58 Fukata S, Kawabata Y, Fujisiro K, Katagawa Y, Kuroiwa K, Akiyama H, Terabe Y, Ando M, Kawamura T, Hattori H. Haloperidol prophylaxis does not prevent postoperative delirium in elderly patients: a randomized, open-label prospective trial. *Surg Today* 2014; 44: 2305-2313 [PMID: 24532143 DOI: 10.1007/s00595-014-0859-7]
59 van den Boogaard M, Schoonhoven L, van Achterberg T, van der Hoeven JG, Pickkers P. Haloperidol prophylaxis in critically ill patients with a high risk for delirium. *Crit Care* 2013; 17: R9 [PMID: 23327295 DOI: 10.1186/cc11933]
60 Friedman JI, Soleimani L, McGonigle DP, Egol C, Silverstein JH. Pharmacological treatments of non-substance-withdrawal delirium: a systematic review of prospective trials. *Am J Psychiatry* 2014; 171: 151-159 [PMID: 24362367 DOI: 10.1176/appi.ajp.2013.13040458]
61 Page VJ, Ely EW, Gates S, Zhao XB, Alce T, Shintani A, Jackson J, Perkins GD, McAuley DF. Effect of in-

■同行评价

本文综述了腹部POD的发生原因及诊疗进展, 针对临床常见问题提出诊疗思路, 对临床治疗具有指导意义.

travenous haloperidol on the duration of delirium and coma in critically ill patients (Hope-ICU): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Respir Med* 2013; 1: 515-523 [PMID: 24461612 DOI: 10.1016/S2213-2600(13)70166-8]

62 Pasin L, Landoni G, Nardelli P, Belletti A, Di Prima AL, Taddeo D, Isella F, Zangrillo A. Dexmedetomidine Reduces the Risk of Delirium, Agitation and Confusion in Critically Ill Patients: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2014; 28: 1459-1466 [PMID: 25034724 DOI: 10.1053/j.jvca.2014.03.010]

63 Park JB, Bang SH, Chee HK, Kim JS, Lee SA, Shin JK. Efficacy and safety of dexmedetomidine for postoperative delirium in adult cardiac surgery on cardiopulmonary bypass. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg* 2014; 47: 249-254 [PMID: 25207222 DOI: 10.5090/kjtcs.2014.47.3.249]

64 Zhang X, Zhao X, Wang Y. Dexmedetomidine: a review of applications for cardiac surgery during perioperative period. *J Anesth* 2014 Jun 10. *[Epub ahead of print]*[PMID: 24913070 DOI: 10.1097/ALN.0000000000000429]

65 Barr J, Fraser GL, Puntillo K, Ely EW, Gélinas C, Dasta JF, Davidson JE, Devlin JW, Kress JP, Joffe AM, Coursin DB, Herr DL, Tung A, Robinson BR, Fontaine DK, Ramsay MA, Riker RR, Sessler CN, Pun B, Skrobik Y, Jaeschke R. Clinical practice guidelines for the management of pain, agitation, and delirium in adult patients in the Intensive Care Unit: executive summary. *Am J Health Syst Pharm* 2013; 70: 53-58 [PMID: 23261901 DOI: 10.1097/CCM.0b013e3182783b72]

66 Al-Aama T, Brymer C, Gutmanis I, Woolmore-Goodwin SM, Esbaugh J, Dasgupta M. Melatonin decreases delirium in elderly patients: a randomized, placebo-controlled trial. *Int J Geriatr Psychiatry* 2011; 26: 687-694 [PMID: 20845391 DOI: 10.1002/gps.2582]

67 Gamberini M, Bolliger D, Lurati Buse GA, Burkhart CS, Grapow M, Gagneux A, Filipovic M, Seeberger MD, Pargger H, Siegemund M, Carrel T, Seiler WO, Berres M, Strebel SP, Monsch AU, Steiner LA. Rivastigmine for the prevention of postoperative delirium in elderly patients undergoing elective cardiac surgery--a randomized controlled trial. *Crit Care Med* 2009; 37: 1762-1768 [PMID: 19325490 DOI: 10.1097/CCM.0b013e31819da780]

68 Liptzin B, Laki A, Garb JL, Fingeroth R, Krushell R. Donepezil in the prevention and treatment of post-surgical delirium. *Am J Geriatr Psychiatry* 2005; 13: 1100-1106 [PMID: 16319303 DOI: 10.1097/00019442-200512000-00010]

69 Marcantonio ER, Palihnich K, Appleton P, Davis RB. Pilot randomized trial of donepezil hydrochloride for delirium after hip fracture. *J Am Geriatr Soc* 2011; 59 Suppl 2: S282-S288 [PMID: 22091574 DOI: 10.1111/j.1532-5415.2011.03691.x]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 243-248
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

解毒化瘀健脾方对胃黏膜异型增生*Thbs1*基因甲基化的作用

李志钢, 张 伟, 夏宽宏, 孙 奇, 纪 勇, 李 玲

李志钢, 新疆维吾尔自治区中医医院专家门诊 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000
张伟, 新疆维吾尔自治区中医医院耳鼻喉科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000
夏宽宏, 新疆维吾尔自治区中医医院病理科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000
孙奇, 新疆维吾尔自治区中医医院医学研究设计与数据处理中心 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000
纪勇, 新疆医科大学动物实验中心 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000
李玲, 石河子大学医学院医学实验教学中心 新疆维吾尔自治区石河子市 832000
李志钢, 副主任医师, 博士后, 硕士生导师, 主要从事消化病的临床及实验研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81060288
作者贡献分布: 本课题由李志钢与张伟共同设计; 研究过程由李志钢与张伟共同完成; 病理分析由夏宽宏完成; 数据分析由孙奇、纪勇及李玲共同完成; 写作由李志钢完成; 纪勇与李玲进行修改.
通讯作者: 张伟, 主管护理师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市黄河路116号, 新疆维吾尔自治区中医医院耳鼻喉科.
doctorzhangwei@163.com
电话: 0991-5857265
收稿日期: 2014-09-30 修回日期: 2014-11-20
接受日期: 2014-12-05 在线出版日期: 2015-01-18

Effect of Jiedu Huayu Jianpi Fang on *Thbs1* gene methylation in gastric mucosal dysplasia in rats

Zhi-Gang Li, Wei Zhang, Kuan-Hong Xia, Qi Sun, Yong Ji, Ling Li

Zhi-Gang Li, Department of Expert Outpatient Service, Xinjiang Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Wei Zhang, Department of ENT, Xinjiang Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Kuan-Hong Xia, Department of Pathology, Xinjiang Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Qi Sun, Study Design and Data Processing Center, Xinjiang Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Yong Ji, Animal Experimental Center of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Ling Li, Medical Experimental Teaching Center, Medical College of Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060288
Correspondence to: Wei Zhang, Nurse-in-charge, Department of ENT, Xinjiang Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, 116 Huanghe Road, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. doctorzhangwei@163.com
Received: 2014-09-30 Revised: 2014-11-20
Accepted: 2014-12-05 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To observe the effect of Chinese herbal medicine Jiedu Huayu Jianpi Fang (JHJF) on the methylation of the thrombospondin 1 (*Thbs1*) gene in gastric mucosal dysplasia (GMD), and to explore the possible mechanism of traditional Chinese medicine in the treatment of GMD.

METHODS: GMD was induced in rats, and GMD rats were randomly divided into a model control group (MG), a positive control group (PCG; treated with retinoic acid), or a JHJF treatment group (A; treated with JHJF). Ten normal rats comprised a control group (CG). Methylation specific PCR was used to detect the methylation status of the *Thbs1* gene in the gastric mucosa of rats. Pathological changes of the gastric mucosa were evaluated by HE staining.

RESULTS: The *Thbs1* gene was not methylated in groups CG and PCG, but the positive rate of *Thbs1* gene methylation was 33.33% (6/18) in group MG, and 20.00% (3/15) in group A. The methylation rate was significantly higher in group MG than in group A (P = 0.0198). HE staining results showed mild GMD symptoms in groups MG, PCG and A, and after treatment, GMD symptoms were significantly improved in groups PCG and A.

CONCLUSION: Chinese herbal medicine JHJF results in significant demethylation of the *Thbs1* gene in GMD rats, and JHJF exerts a curative effect on GMD perhaps by decreasing the methylation level of the *Thbs1* gene.

■**背景资料**
DNA甲基化与胃癌的发生发展密切相关, 胃癌癌前病变阶段可通过有效的药物干预影响抑癌基因及其相关基因的甲基化程度, 从而使病程得到控制, 甚至转归.

■**同行评议者**
毛高平, 教授, 中国人民解放军空军总医院

■研发前沿
血小板反应蛋白1基因(thrombospondin 1, *Thbs1*)是重要的抑癌基因; DNA甲基化程度与癌症发生发展密切相关, 有效地药物干预增加癌基因甲基化程度或降低抑癌基因及其相关基因的甲基化程度, 对控制癌症发生发展进程具有重要的意义.

■相关报道
Lawler与Filleur等的研究发现THBS1蛋白参与细胞黏附、移行、增生、分化以及诱导血小板聚集和抑制血管生成的过程; Filleur等认为*Thbs1*基因对肿瘤的发生发展具有抑制作用.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Jiedu Huayu Jianpi Fang; Gastric mucosal dysplasia; *Thbs1* gene; Methylation

Li ZG, Zhang W, Xia KH, Sun Q, Ji Y, Li L. Effect of Jiedu Huayu Jianpi Fang on *Thbs1* gene methylation in gastric mucosal dysplasia in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 243-248 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/243.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.243

摘要

目的: 观察解毒化瘀健脾方对胃黏膜异型增生模型大鼠血小板反应蛋白1基因(thrombospondin 1, *Thbs1*)甲基化状态的影响, 并探讨解毒化瘀健脾方治疗胃黏膜异型增生的可能机制.

方法: 将实验性胃黏膜异型增生病变模型大鼠分为: 模型对照组(model control group, MG)、阳性对照组(positive control group, PCG)-西药维甲酸治疗组、解毒化瘀健脾方治疗组(Jiedu Huayu Jianpi Fang treatment group, A), 并以健康大鼠为对照组(control group, CG), 进行相应的药物干预; 取胃黏膜组织, 应用甲基化特异PCR技术检测*Thbs1*基因甲基化状态; HE染色观察各处理组胃黏膜组织结构变化差异.

结果: CG组10只健康大鼠胃黏膜经检测*Thbs1*基因均未发生甲基化, 胃黏膜异型增生MG组大鼠*Thbs1*基因的甲基化阳性检出率为33.33%(6/18); PCG组-西药维甲酸组同正常大鼠相同, *Thbs1*基因甲基化检出率为0.00%; A组治疗大鼠*Thbs1*基因甲基化比率(20.00%), 相比MG组显著降低(P = 0.0198). HE染色结果显示MG、PCG、A组呈现中轻度胃黏膜异型增生症状, 经治疗后PCG、A组异型增生趋于正常.

结论: 解毒化瘀健脾方对发生异型增生的胃黏膜组织*Thbs1*基因具有显著地去甲基化作用. 解毒化瘀健脾方治疗胃黏膜异型增生可能与该药物使*Thbs1*基因甲基化程度显著降低有关.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 解毒化瘀健脾; 胃黏膜异型增生; *Thbs1*基因; 甲基化

核心提示: 解毒化瘀健脾中药可显著降低发生异型增生的胃黏膜血小板反应蛋白1基因(thrombospondin 1)的甲基化程度, 其临床用药取效可能与此有关.

李志钢, 张伟, 夏宽宏, 孙奇, 纪勇, 李玲. 解毒化瘀健脾方对胃黏膜异型增生*Thbs1*基因甲基化的作用. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 243-248 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/243.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.243

0 引言

胃癌是严重威胁人类健康的恶性肿瘤之一. 其病死率居世界第2位[1], 居我国首位[2]. 胃癌的发生常经历: 正常胃黏膜-慢性浅表性胃炎-慢性萎缩性胃炎-小肠型肠上皮化生-大肠型肠上皮化生-异型增生(中重度)-胃癌(肠型)[3]多个步骤的演变. 其中又将肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)和异型增生(dysplasia, Dys)统为胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)阶段, 该阶段恶性发展为胃癌的几率极高, 如发生重度异型增生的患者的胃癌发病几率高达60%-80%[4,5]. 有效缓解胃癌前病变向胃癌发展的进程甚至实现病程转归, 对胃癌的预防及治疗具有积极作用. 研究发现: DNA甲基化与胃癌发生进展密切相关[6-8]. 而基因的甲基化状态可因外界环境干预而改变, 故有效的药物干预可降低抑癌基因及其相关基因甲基化比率. 解毒化瘀健脾方为治疗胃黏膜异型增生的临床经验方, 血小板反应蛋白1(thrombospondin 1, THBS1)对肿瘤的发生发展具有抑制作用[9], 本研究拟通过检测经解毒化瘀健脾方治疗的胃黏膜异型增生模型大鼠*Thbs1*基因的甲基化状态, 探讨该药方治疗胃黏膜异型增生的可能机制, 为临床治疗提供理论参考.

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级健康♂SD大鼠[SCXK(新)2011-0004]260只, 体质量100 g±10 g(体质量<120 g), 动物合格证号: SCXK(新)2011-0004, 均购自新疆医科大学实验动物中心[10]. 解毒化瘀健脾方为临床经验方, 该组方(太子参、黄芪、百合、苏梗、三七粉、蒲公英、白花蛇舌草、焦麦芽等)药材购自新疆医科大学附属中医医院门诊中药房, 经新疆维吾尔自治区中医医院中药药理鉴定室中药师李玲主任鉴定. 精确称取解毒化瘀健脾方生药, 加入清洁自来水浸泡30 min, 常规煎煮2次, 30 min/次, 4层纱布过滤滤液, 2次药液混合后, 加热浓缩为提取药液. 制备好的药液, 装入玻璃器具中, 4 ℃放置备用. 维甲

表 1 *Thbs1*基因甲基化特异PCR检测引物

基因		上游引物	下游引物
Thbs1	M	GTAAATTATATTTTTGTTTTGGGAGTC	ATAACCACTCGTATTTCTTAACGTA
	U	ATTATATTTTTGTTTTGGGAGTTGA	ATAACCACTCATATTTCTTAACATA

M: 甲基化引物; U: 非甲基化引物.

表 2 解毒化瘀健脾方组与各组*Thbs1*基因甲基化比率差异统计 *n*(%)

分组	*n*	甲基化	非甲基化	*P*值
正常组	10	0(0.00)	10(100.00)	0.0198[1]
模型组	18	6(33.33)	12(66.67)	
阳性对照组	15	0(0.00)	15(100.00)	
解毒化瘀健脾方组	15	3(20.00)	12(80.00)	

[1]为不符合χ^2检验条件采用Fisher精确概率法.

■**创新盘点**
中医药治疗胃癌前病变具有明确的临床疗效, 但其具体的机制尚不完全明确, 本研究采用甲基化特异PCR法(methylation specific PCR, MSP)检测解毒化瘀健脾中药干预后抑癌基因*Thbs1*甲基化受抑制程度, 结合组织结构的HE染色结果, 探索分析该中药治疗胃黏膜异型增生的可能机制, 对研究胃癌前病变具有重要的意义.

酸: 上海第六制药厂生产, 批号: H31020263, 使用当日碾成粉末状, 配制成10 mL/kg(4 mg/mL)悬浊液; DNeasy Blood & Tissue Kit(69581, Lot: 143374302)、EpiTect Fast Bisulfite Conversion Kits(59104, Lot: 142347785)均购自德国Qiagen公司; Robust HotStart DNA Polymerase购自美国KAPA Biosystems公司[10]; 96孔PCR板及封板膜(PCR-96M2-HS-C)购自美国AXYGEN公司[10]; 甲醛、二甲苯、无水乙醇、苏木精伊红染液等常规试剂.

1.2 方法

1.2.1 分组及给药: 分组: 随机选择10只健康♂SD大鼠作为正常对照组(control group, CG), 其余大鼠用于胃黏膜异型增生模型造模. 从经检杀造模成功后[10]剩余的123只胃黏膜异型增生模型大鼠中随机选择18只为模型对照组(model group, MG), 其余模型大鼠阳性对照组(positive control group, PCG)-西药维甲酸组及解毒化瘀健脾方治疗组(Jiedu Huayu Jianpi Fang treatment group, A)、解毒化瘀健脾方各组方组(B、C、D、E、F组, 本文暂不作描述)各15只[10].

给药: 各组药物剂量按实验动物与成人用药量的换算方法计算, 同时采用中剂量动物实验标准方法给药. 解毒化瘀健脾方全方水煎剂30.5 g/(kg•d)+三七粉0.83 g/(kg•d), 维甲酸对照组灌服维甲酸悬浊液0.04 g/(kg•d), 分别灌胃相应各组大鼠; 其中空白对照组、模型组分别灌服生理盐水10 mL/(kg•d); 治疗6 wk后断颈处死. 取新鲜胃窦侧胃黏膜组织.

1.2.2 甲基化特异PCR法(methylation specific PCR, MSP)检测胃黏膜细胞中*Thbs1*基因的甲基化状态: 细胞DNA提取参照天根公司动物组织基因组提取试剂盒说明书; Nanodrop 2000核酸定量仪检测DNA浓度和纯度, 琼脂糖凝胶电泳检测DNA完整性; 亚硫酸盐修饰及纯化DNA参照EpiTect Fast Bisulfite Conversion Kits试剂盒进行. MSP法所用引物如表1. PCR产物经琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色, 激光密度扫描仪(Pharmacia LKB Ul troscan)采集数据, 取同一基因的所有样本的平均值进行统计分析.

1.2.3 HE染色: 将40 g/L甲醛溶液中固定的胃窦材料取出, 去离子水6 h漂洗, 经70%、80%、90%各级乙醇溶液梯度脱水; 经无水乙醇与二甲苯1∶1的混合溶液、二甲苯透明; 夹胃窦组织, 切面朝下包埋; 5 μm切片; 展片后经二甲苯脱蜡两次, 然后经过100%、95%、90%、80%、70%各级酒精溶液复水; 苏木素染色; 伊红复染; 二甲苯透明, 中性树脂封片.

统计学处理 因本实验甲基化统计数据(表2)不符合χ^2检验条件, 故采用Fisher精确概率法. 数据分析采用Sas9.3和Sas JMP Pro软件. 以$P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠胃黏膜组织中*Thbs1*基因甲基化情况 如表2所示, 33.33%的胃黏膜异型增生模型组大鼠*Thbs1*基因甲基化; CG组健康大鼠*Thbs1*基因甲基化检出率为0.00%; 由于胃异型增生具有多灶

■应用要点
分析中药解毒化瘀健脾方影响胃黏膜异型增生抑癌基因的甲基化程度与该药物临床取效的关系，为临床用药指导提供实验参考依据.

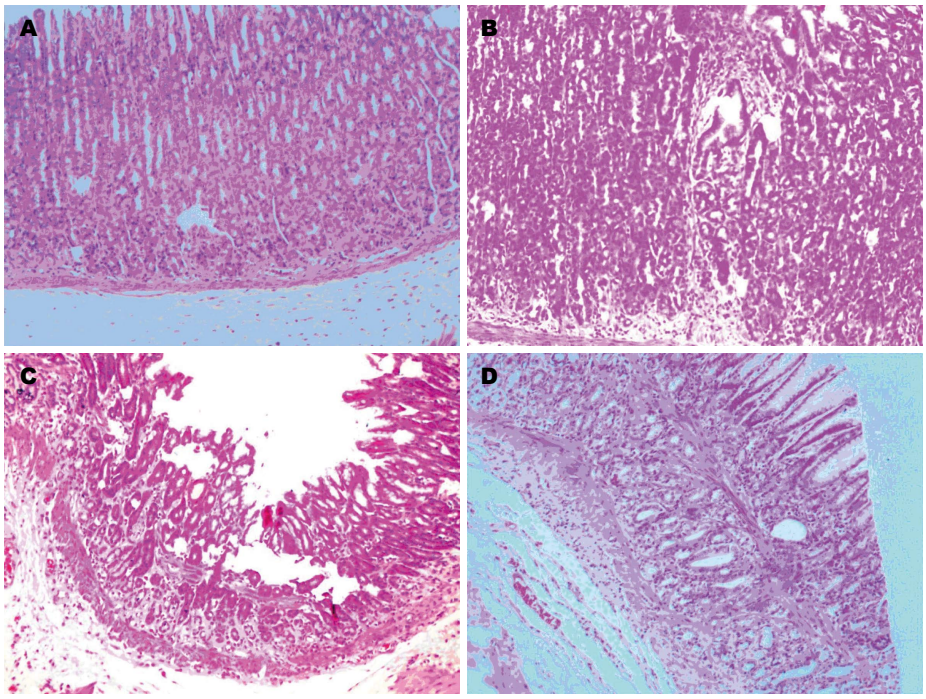


图 1 各处理组胃黏膜组织的HE染色(×100). A: 正常组; B: 模型组; C: 阳性对照组; D: 解毒化瘀健脾方组.

性的特点，以及胃黏膜异型增生造模死亡率高致样本含量少的原因，限于经费有限，本组研究资料中，未观察到PCG组发生甲基化. 经解毒化瘀健脾方药物治疗的15只胃黏膜异型增生大鼠中有3只大鼠被检测出*Thbs1*基因发生甲基化，即甲基化检出率为20.00%，相比MG组大鼠甲基化比率显著降低($P = 0.0198$).

2.2 各组大鼠胃黏膜组织HE染色 如图1所示，CG组胃黏膜厚度正常，上皮细胞及腺体排列整齐，大小形状较一致，腺上皮与腺管分界清楚；本研究中PCG组、A组的HE染色病理图片均选取了经治疗后仍可检测到异型增生改变的阳性图片(而经PCG组、A组治疗后逆转的病理组织图片改变同CG组)，结果显示：MG组、PCG组、A组胃黏膜萎缩变薄，腺体数量减少，间质内有淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞浸润，可见淋巴滤泡形，细胞核紧密排列在基地，核染色质密集深染，核增大，核分裂象较少，核一般位于细胞的一半或2/3以下，尚保持一定极性. 腺体结构不规则，形态稍紊乱，个别腺体呈共壁形象或囊性扩张.

3 讨论

异型增生是指胃黏膜上皮生长偏离了正常生长分化趋势，伴分化失调和恶性趋势的增生[11]. 异型增生是病理诊断术语，一些文献译为非典型性增生，一些文献将异型增生称之为间变，是良性的上皮内肿瘤，因胃异型增生具有多灶性的特点，其发生部位难以预料[12]. 本研究亦证实了这一特点，在进行甲基化检测中，部分样本出现阴性，有可能为未取到异型增生的部位. 异型增生属胃癌癌前病变，中、重度异型增生癌变率极高，但可因有效地药物干预得以逆转.

对于胃黏膜异型增生中医没有相应的称谓，但依据其不同的临床症状可归属于虚痞、痞满、胃痛、呃逆、嘈杂、吐酸等病证范畴. 本研究认为异型增生病机为“毒损胃络”，“胃络虚”是本病的本，其包括：脾胃虚弱、胃阴虚；“气滞、血瘀、痰湿、热毒”构成的对胃黏膜的损害是“毒损”. 解毒化瘀健脾方为临床经验方，该方由太子参、黄芪、百合、苏梗、三七粉、蒲公英、白花蛇舌草、焦麦芽等组成. 根据现代药理研究，方中的益气养阴药对机体的细胞免疫、体液免疫以及非特异性免疫功能均有明显的调节作用；同时，益气养阴药有调节内分泌系统功能，在细胞的生长、分化、凋亡及机体内环境稳定中具有重要作用，其对内分泌腺变性、萎缩及内分泌系统功能低下有一定程度的改善作用. 此外，益气养阴药对机体蛋白质、糖、脂质代谢具有一定的调节作用，他可增加蛋白质和核酸的合成. 益气养阴药还能调整胃肠功能[13]. 理气药可兴奋胃肠运动，从而消

除胀满; 同时其尚具有利胆作用, 促进胆汁分泌[13]. 活血化瘀药对免疫系统有一定的调节作用, 因而可抑制组织异常增生; 同时, 由于该类药物可加速血流、降低毛细血管的通透性、改善局部组织血液循环, 故对各种炎症的早期及不同类型的炎症浸润均有明显疗效. 清热解毒药具有抗菌、抗炎作用, 以及能提高机体免疫功能, 增强机体的抗病能力; 同时具有抗肿瘤作用[13]. 目前中医药治疗胃癌前病变在临床虽有明确的疗效, 但取效的作用机理尚不完全明确[14], 需要进一步的动物药理实验研究, 从分子水平进一步明确其机制.

研究发现, 胃癌癌前病变向胃癌渐进发生的过程涉及遗传学与表观遗传学两大机制, 其中表观遗传学机制的DNA甲基化与胃癌的发生进展密切相关[15]. DNA高甲基化可能抑制基因的表达, 相应的DNA低甲基化则可促进基因表达[16], 某些癌基因的低甲基化和抑癌基因的高甲基化改变是细胞癌变的重要特征[17,18]. *Thbs1*基因属重要的抑制肿瘤发生发展的基因, 可介导细胞黏附、移行、增生、分化以及诱导血小板聚集和抑制血管生成[9,19], 研究发现胃癌中该蛋白的表达受甲基化的影响呈下调趋势[20,21].

本研究的研究结果亦发现发生异型增生的大鼠胃黏膜*Thbs1*基因甲基化程度显著高于健康大鼠($P<0.05$). 由甲基化调节的基因表达受有效的外界药物干预发生改变, 本研究中经解毒化瘀健脾中药治疗6 wk的15只大鼠中仅3只被检出胃黏膜*Thbs1*基因甲基化, 甲基化比率(20.00%)相比MG组大鼠(33.33%)显著降低(P = 0.0198), 即解毒化瘀健脾中药的干预可显著降低抑癌基因*Thbs1*的甲基化程度. 结合各组胃黏膜组织的HE染色结果, MG组大鼠胃黏膜表现出中轻度异型增生的症状, 中西药治疗组该症状均不同程度的得到控制、减轻, 本研究认为解毒化瘀健脾中药对胃黏膜异型增生的临床有效治疗与该药方中的益气养阴药、理气药、活血化瘀药以及清热解毒药相互协同作用从而有效实现了抑癌基因*Thbs1*的去甲基化有关(有关每类中药的去甲基化作用将在今后的论文中陆续报告). 异型增生的胃黏膜*Thbs1*甲基化程度较高, THBS1蛋白较低表达, 其抑制血管生成及调节细胞分化、黏附的能力受到限制, 如病情得不到控制, 更多的血管生成可供给增生组织更多的营养物质, 增加其恶性病变的可能, 失调的细胞分化、黏附也加剧了病变恶性程度, 甚至病灶转移. 中药解毒化瘀健脾方的治疗显著降低*Thbs1*甲基化程度, 增加THBS1蛋白的表达, 使该蛋白功能得到正常发挥, 有效缓解控制异型增生病情, 阻止其向胃癌发展的进程.

胃癌的发生发展涉及多种基因、多条信号通路的共同参与调控, 中药实现胃癌及癌前病变临床治疗的机制, 仍需更多的动物实验与药理研究综合深入的分析探讨.

■名词解释
胃黏膜异型增生: 指胃黏膜上皮和腺体的一类偏离正常分化, 形态和机能上呈异型性表现的增生性病变.

4 参考文献

1 胡品津, 刘新光. 消化内科学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 34
2 Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300 [PMID: 20610543 DOI: 10.3322/caac.20073]
3 Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet* 1975; 2: 58-60 [PMID: 49653 DOI: 10.1016/S0140-6736(75)90498-5]
4 蒋时红, 刘旺根, 张文娴, 刘燕. 中医治法对胃癌前病变大鼠胃黏膜细胞凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3012-3015
5 Lee JR, Chung WC, Kim JD, Lee KM, Paik CN, Jung SH, Jung JH, Lee YK, Han SW. Differential LINE-1 Hypomethylation of Gastric Low-Grade Dysplasia from High Grade Dysplasia and Intramucosal Cancer. *Gut Liver* 2011; 5: 149-153 [PMID: 21814593 DOI: 10.5009/gnl.2011.5.2.149]
6 朱新江, 戴冬秋. 表遗传学与胃肠道肿瘤. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3251-3256
7 Kim H, Kim YH, Kim SE, Kim NG, Noh SH, Kim H. Concerted promoter hypermethylation of hMLH1, p16INK4A, and E-cadherin in gastric carcinomas with microsatellite instability. *J Pathol* 2003; 200: 23-31 [PMID: 12692837 DOI: 10.1002/path.1325]
8 Honoki K, Tsujiuchi T, Mori T, Yoshitani K, Tsutsumi M, Takakura Y, Mii Y. Expression of the p16INK4a gene and methylation pattern of CpG sites in the promoter region in rat tumor cell lines. *Mol Carcinog* 2004; 39: 10-14 [PMID: 14694443 DOI: 10.1002/mc.10165]
9 Filleur S, Volpert OV, Degeorges A, Voland C, Reiher F, Clézardin P, Bouck N, Cabon F. In vivo mechanisms by which tumors producing thrombospondin 1 bypass its inhibitory effects. *Genes Dev* 2001; 15: 1373-1382 [PMID: 11390357]
10 李志钢, 张伟, 邱作成, 夏宽宏, 纪勇, 李玲, 连军, 安娟. 解毒化瘀健脾方对胃黏膜异型增生模型大鼠p16、PTEN基因的去甲基化和蛋白诱导表达. 世界华人消化杂志 2014; 22: 1247-1255
11 刘秋梅, 孙安祥. 胃黏膜活检异型增生与癌的鉴别. 实用医技杂志 2006; 13: 2429-2430
12 王鲁平, 丁华野, 虞积耀. 胃上皮异型增生和相关病变病理诊断的进展. 中华病理学杂志 2000; 29: 458-460
13 孙建宁. 中药药理学. 北京: 中国中医药出版社, 2006: 208-212, 113-115, 142-147
14 刘尚香, 田耀洲. 中医药对逆转胃癌癌前病变的研究. 吉林中医药 2010; 30: 849-851
15 朱新江, 戴冬秋. 表遗传学与胃肠道肿瘤. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3251-3256
16 沈文静, 戴冬秋, 滕玥, 刘洁. 5-Aza-CdR体外诱导胃癌细胞系p16基因去甲基化及表达增强. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2082-2086

■同行评价
本文选题较新颖, 设计合理, 结果可信, 对慢性胃疾病的中西医结合治疗的临床和基础研究具有一定的意义.

17 Wong ML, Tao Q, Fu L, Wong KY, Qiu GH, Law FB, Tin PC, Cheung WL, Lee PY, Tang JC, Tsao GS, Lam KY, Law S, Wong J, Srivastava G. Aberrant promoter hypermethylation and silencing of the critical 3p21 tumour suppressor gene, RASSF1A, in Chinese oesophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2006; 28: 767-773 [PMID: 16465383]

18 Fang JY, Lu R, Mikovits JA, Cheng ZH, Zhu HY, Chen YX. Regulation of hMSH2 and hMLH1 expression in the human colon cancer cell line SW1116 by DNA methyltransferase 1. *Cancer Lett* 2006; 233: 124-130 [PMID: 16473673 DOI: 10.1016/j.canlet.2005.03.005]

19 Lawler J. Thrombospondin-1 as an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *J Cell Mol Med* 2002; 6: 1-12 [PMID: 12003665 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2002.tb00307.x]

20 Kim JH, Jung EJ, Lee HS, Kim MA, Kim WH. Comparative analysis of DNA methylation between primary and metastatic gastric carcinoma. *Oncol Rep* 2009; 21: 1251-1259 [PMID: 19360301 DOI: 10.3892/or_00000348]

21 Oue N, Matsumura S, Nakayama H, Kitadai Y, Taniyama K, Matsusaki K, Yasui W. Reduced expression of the TSP1 gene and its association with promoter hypermethylation in gastric carcinoma. *Oncology* 2003; 64: 423-429 [PMID: 12759541 DOI: 10.1159/000070302]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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.

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 249-255
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

化痰消瘀方对胃癌前病变模型大鼠Notch1、β-catenin及PTEN表达的影响

郭亚云, 魏睦新

郭亚云, 魏睦新, 南京医科大学第一附属医院中医科 南京医科大学中西结合研究所 江苏省南京市 210029
郭亚云, 在读硕士, 主要从事中西医结合治疗消化系统疾病的研究.
江苏省中医药局基金资助项目, No. 2011 EE11
作者贡献分布: 本课题由郭亚云与魏睦新共同设计; 研究过程由郭亚云完成; 数据分析由郭亚云完成; 写作由郭亚云完成; 魏睦新进行审改.
通讯作者: 魏睦新, 教授, 博士, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院中医科, 南京医科大学中西结合研究所. weimuxin@njmu.edu.cn
电话: 025-68136267
收稿日期: 2014-11-04 修回日期: 2014-11-27
接受日期: 2014-12-05 在线出版日期: 2015-01-18

Effect of Huatan Xiaoyu Fang on expression of Notch1, β-catenin and PTEN in precancerous lesions of gastric cancer in rats

Ya-Yun Guo, Mu-Xin Wei

Ya-Yun Guo, Mu-Xin Wei, Department of Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University; Institute of Combined Traditional Chinese and Western Medicine of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by: the Program of Jiangsu Province Bureau of Traditional Chinese Medicine, No. 2011 EE11
Correspondence to: Mu-Xin Wei, Professor, Department of Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University; Institute of Combined Traditional Chinese and Western Medicine of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. weimuxin@njmu.edu.cn
Received: 2014-11-04 Revised: 2014-11-27
Accepted: 2014-12-05 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To observe the effect of Huatan Xiaoyu Fang (HTXY) on the expression of Notch1, β-catenin and PTEN in precancerous lesions of gastric cancer (PLGC) in rats.

METHODS: PLGC was induced by a complex method, in which *N*-methyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine was mainly used. After successful modeling, the model rats were randomly divided into a model group, low-, medium- and high-dose HTXY groups, and a vitacoenzyme group, with 15 rats in each group. Fifteen normal rats comprised a blank control group. Eight weeks later, the rats' general conditions, the pathological changes in the gastric mucosa, and the expression of Notch1, β-catenin and PTEN were assessed.

RESULTS: Compared with the blank control group, the expression of Notch1 and β-catenin significantly decreased ($P < 0.01$) and that of PTEN increased ($P < 0.05$) in the model group. Compared with the model group, the expression of Notch1 and β-catenin significantly increased ($P < 0.05$) and that of PTEN decreased ($P < 0.01$) in each HTXY group and the vitacoenzyme group. Compared with the vitacoenzyme group, the expression of Notch1 and β-catenin decreased more significantly in the high-dose HTXY group ($P < 0.05$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: HTXY can significantly improve the pathological changes in the gastric mucosa of rats with PLGC possibly by up-regulating the expression of Notch1 and β-catenin and down-regulating the expression of PTEN.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Huatan Xiaoyu Fang; Precancerous lesions of gastric cancer; Notch1; β-catenin; PTEN

Guo YY, Wei MX. Effect of Huatan Xiaoyu Fang on expression of Notch1, β-catenin and PTEN in precancerous lesions of gastric cancer in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 249-255 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/249.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.249

摘要

目的: 观察化痰消瘀方对胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)模型大鼠胃黏膜Notch1、β-catenin及PTEN蛋白表达的影响, 探讨化痰消瘀方逆转PLGC的机制, 为临床上胃癌的早期诊断和治疗提供新的途径.

■背景资料
胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 但是, 胃癌病因复杂, 较难实施针对性的一级预防; 作为胃癌二级预防的重要内容, 因此, 对胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)的诊断与治疗则备受重视.

■同行评议者
姚登福, 教授, 南通大学附属医院

■研发前沿
PLGC的发生发展是多种促癌基因和抑癌基因失调的结果. 作为促癌基因*Notch1*、*β-catenin*, 抑癌基因*PTEN*, 其表达水平可因外界因素的影响而受到不同水平的调节. 选择有效的药物干预, 抑制促癌基因表达, 提升抑癌基因水平, 对抑制PLGC向胃癌的发展进程有重要意义.

方法: SD大鼠100只随机分为空白组17只, 造模组83只, 采用*N*-甲基-*N'*-硝基-*N*-亚硝基胍综合饥饱失常制备PLGC大鼠模型. 造模成功后, 空白组随机抽取15只, 造模组抽取75只随机分为模型组、中药低、中、高剂量组和维酶素组, 各15只, 分别给药干预8 wk, 观察各组大鼠一般情况和胃黏膜病理改变, 并采用免疫组织化学法检测大鼠胃黏膜Notch1、β-catenin及PTEN的表达.

结果: 较之空白组, 模型组大鼠Notch1、β-catenin表达显著增高, 差异有统计学意义(P<0.01), PTEN表达显著降低, 差异有统计学意义(P<0.05); 较之模型组, 化痰消瘀方各剂量组与维酶素组大鼠PTEN表达显著升高, Notch1、β-catenin表达显著下降, 差异有统计学意义(P<0.05); 且化痰消瘀方高剂量组下调Notch1、β-catenin表达作用优于维酶素组(P<0.05, P<0.01).

结论: 中药化痰消瘀方可显著改善大鼠胃黏膜组织病理学状况, 逆转PLGC, 其机制可能是通过上调PTEN表达、下调Notch1、β-catenin表达, 从而促使细胞增殖与凋亡的状态平衡而发挥对大鼠PLGC的治疗作用.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: **化痰消瘀方**; **胃癌前病变**; Notch1; β–catenin; PTEN

核心提示: 中药化痰消瘀方可显著改善大鼠胃黏膜组织病理学状况, 逆转胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC), 其机制可能是通过上调PTEN表达、下调Notch1、β-catenin表达, 从而促使细胞增殖与凋亡的状态平衡而发挥对大鼠PLGC的治疗作用.

郭亚云, 魏睦新. 化痰消瘀方对胃癌前病变模型大鼠Notch1、β–catenin及PTEN表达的影响. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 249–255 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/249.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.249

0 引言

1978年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将慢性萎缩性列为胃癌的癌前状态, 在其基础上伴发的不完全型肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)和/或中、重度异型增生(dysplasia, Dys)或上皮内瘤变(intraepithelial neoplasia, IN)则被视为癌前病变[1-3]. 胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率呈逐年上升趋势, 胃癌的病因及发病机制仍不完全清楚. 目前, 普遍认为胃癌及癌前病变的发生发展是多阶段、多基因、多因素参与的复杂过程[4], 其发展过程涉及多种癌基因的激活和抑癌基因的失活[5].

临床研究已证实中药化痰消瘀方在逆转胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)方面疗效显著[6-8]. 本研究旨在通过动物实验, 利用免疫组织化学法, 观察该方对大鼠*Notch1*、*β-catenin*、*PTEN*等基因表达的影响, 探索其逆转PLGC的作用机制, 为早期诊断及治疗胃癌提供更有利的依据.

1 材料和方法

1.1 材料 6 wk♂清洁级SD大鼠100只, 体质量200 g±20 g, 南京医科大学实验动物中心提供, 动物许可证号: SYXK(苏)2008-0007. 化痰消瘀方由陈皮、半夏、半枝莲、猫爪草、鸡内金、紫丹参、薏苡仁、蒲黄粉、蒲公英等中药组成, 以上药物各2 kg蒸馏水浸泡2 h后, 水煎30 min, 沸腾后保温10 min, 取上清, 药渣再次加水, 同样方法煎煮和取上清液; 合并、过滤, 调节浓度至1 kg/L, 分装-80 ℃冷冻保存, 备用. 以上由南京医科大学中西医结合研究所制剂室提供. 维酶素片0.2 g, 北海阳光药业有限公司生产, 批号: 120813, 国药准字: H45021183, 研碎制成0.1 g/mL的混悬液. *N*-甲基-*N'*-硝基-*N*-亚硝基胍(*N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine, MNNG)5 g, 购自日本东京化成工业株式会社, 批号: MV340-MJ, EC编号: 200-730-1; 雷尼替丁0.15 g, 江苏黄河药业股份有限公司产品, 生产批号: 121119, 国药准字: H32025011; β-catenin、PTEN兔多克隆抗体, β-catenin、PTEN SP免疫组织化学试剂盒由武汉博士德生物工程有限公司提供; Notch1试剂由Cell Signaling Technology, Inc(CST)公司提供.

1.2 方法

1.2.1 动物分组: 100只大鼠适应性喂养1 wk, 按随机数字表法分为空白组17只、造模组83只. 采用MNNG综合法制备模型[9,10]. 待确定造模成功后, 随机抽取空白组15只, 造模组75只. 造模组按随机数字表法分为模型组、中药高、中、低剂量组及维酶素组, 每组15只, 继续进行药物干预.

1.2.2 PLGC大鼠模型建立: MNNG综合饥饱失常及高盐水灌胃协同造模. MNNG以蒸馏水配置成1 g/L, 4 ℃避光保存, 每日配制100 μg/mL

表 1 各组大鼠体质量变化情形 (mean ± SD)

分组	给药前(n)	给药前平均体质量(g)	给药后(n)	给药后平均体质量(g)
空白组	15	472.40 ± 24.88	15	527.13 ± 21.26
模型组	15	412.27 ± 32.65	14	388.10 ± 28.53
维酶素组	15	409.31 ± 25.19	15	457.66 ± 23.20[b]
中药高剂量组	15	411.53 ± 26.36	15	482.03 ± 25.79[bc]
中药中剂量组	15	407.84 ± 30.78	13	478.72 ± 25.40[bc]
中药低剂量组	15	410.70 ± 23.04	14	463.22 ± 25.21[b]

[b]P<0.01 *vs* 模型组, [c]P<0.05 *vs* 维酶素组.

置于棕色瓶中, 大鼠自由饮用. 标准大鼠饲料中加入0.03%雷尼替丁, 饥饱失常法饲喂, 即进食2 d、禁食1 d. 禁食当天予15%氯化钠2 mL/只灌胃; 空白组于同1 d予蒸馏水2 mL/只灌胃. 分别于第10周、15周、20周随机抽取造模组大鼠各2只处死, 剖腹取胃, 将胃沿胃大弯切开, 依次从胃体、胃窦处分别取材, 40 g/L中性甲醛液固定, 梯度乙醇脱水, 常规石蜡包埋, 并作5 μm厚的连续切片, 常规苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色, 中性树胶封片, 光镜下观察造模情况. 于实验第20周观察到胃黏膜出现IM、IN, 确定造模成功.

1.2.3 给药: 空白组正常喂养; 模型组予蒸馏水2 mL灌胃, 1次/d; 中药高剂量组按3 mL/kg予制备好的化痰消瘀方灌胃, 1次/d; 中剂量组按2 mL/kg予化痰消瘀方灌胃, 1次/d; 低剂量组按1 mL/kg灌胃, 1次/d; 维酶素组按10 mL/kg予制备好的维酶素混悬液灌胃, 1次/d. 干预8 wk后将动物全部处死, 取胃窦及胃体组织, 检测相关指标.

1.2.4 检测指标: 大鼠一般情况: 观察实验造模和治疗过程中各组大鼠药物干预前后的体质量变化及其他一般情况.

胃黏膜病理检测: 大鼠处死后迅速剖腹取胃, 后于胃窦部取材, 予40 g/L甲醛溶液固定, 石蜡包埋、切片, 予HE染色. 判定各组大鼠PLGC的发生例数, 以胃黏膜出现IM、IN判定为PLGC.

免疫组织化学法检测Notch1、β-catenin及PTEN: 严格按照SP免疫组织化学试剂盒操作步骤进行. 光学显微镜下选择Notch1、β-catenin及PTEN阳性表达部位采集照片.

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件包进行统计学处理. 计量资料以mean±SD表示, 两组间采用t检验; 计数资料采用χ^2检验. 以P<0.05表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠一般情况 空白组大鼠被毛光泽, 体型健硕, 活动及进食良好, 粪便呈颗粒状, 无死亡; 模型组大鼠被毛稀疏、枯槁, 体型瘦削, 活动迟缓, 进食少, 粪便偏软、时不成形, 死亡1只; 化痰消瘀方高中低剂量组大鼠一般情况均较模型组有所好转, 体型逐渐恢复, 活动及进食增加, 粪便逐渐正常, 其中中药高、中剂量组好转明显, 中剂量组死亡2只, 低剂量组死亡1只; 维酶素组大鼠一般情况尚可, 体形恢复、活动及进食增加不明显, 粪便时偏软.

药物干预后, 化痰消瘀方各剂量组及维酶素组大鼠体质量较模型组显著增加(P<0.01); 化痰消瘀方高、中剂量组体质量较维酶素组增加更为显著(P<0.05). 表明化痰消瘀方对大鼠体质量增长作用显著, 且高、中两个剂量组效果优于维酶素组(表1).

2.2 Notch1表达情况 与空白组比较, 模型组大鼠胃黏膜Notch1表达水平显著上升, 差异有统计学意义(P<0.01); 与模型组比较, 化痰消瘀方高、中、低剂量组与维酶素组大鼠Notch1表达水平均明显降低, 差异有统计学意义(P<0.05). 与维酶素组比较, 化痰消瘀方高剂量组Notch1表达水平下降更为显著, 差异有统计学意义(P<0.01)(表2).

Notch1蛋白免疫组织化学结果显示: 化痰消瘀方高剂量组大鼠胃黏膜部分细胞可见黄色、褐色程度不同的染色, 与模型组和维酶素组比较染色较浅. 模型组和维酶素组细胞染色较重(图1).

2.3 β-catenin表达情况 与空白组比较, 模型组大鼠胃黏膜β-catenin表达水平显著上升, 差异有统计学意义(P<0.01); 与模型组比较, 化痰消瘀方

■相关报道

王延丽等研究显示在PLGC中, Wnt2、β-catenin存在着高表达. 所以β-catenin的表达上调参与了胃癌的发生. 杨晓东等研究结果亦显示Notch信号通路在胃黏膜癌变的过程中可能起着促进作用, 即预示胃癌形成的高风险. 李大卫等研究发现Notch1与PTEN在胃癌中表达呈负相关, 提示PTEN的表达缺失可能能协同促进Notch1失调导致胃癌产生.

■**创新盘点**
以临床验证有效的化痰消瘀方为干预因素，探索PLGC的中医逆转机制，并以信号通路为切入点，通过复制动物病理模型，从组织病理和信号通路层面进行中药机制的研究和作用靶点的探索，对于胃癌的防治具有意义.

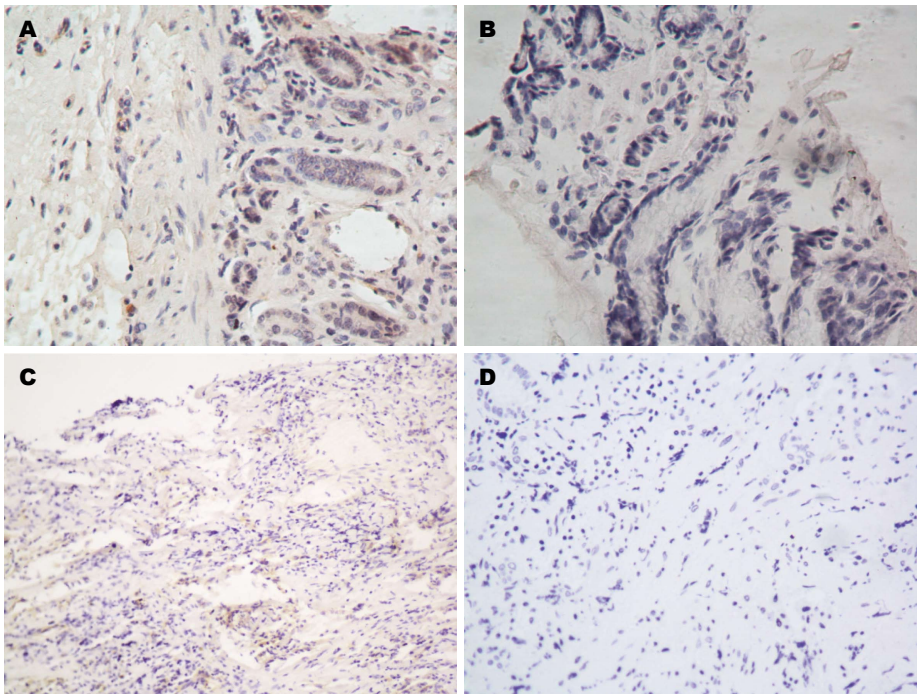


图 1 免疫组织化学检测化痰消瘀方干预对大鼠胃黏膜组织Notch1蛋白的表达影响. A: Notch1模型组(×400); B: Notch1中药低剂量组(×400); C: Notch1维酶素组(×200); D: Notch1中药高剂量组(×400).

表 2 各组大鼠胃黏膜Notch1检测结果 (mean ± SD)

分组	*n*	Notch1
空白组	15	0.32 ± 0.8
模型组	14	2.67 ± 0.33[b]
维酶素组	15	1.87 ± 0.54[c]
中药高剂量组	15	0.87 ± 0.16[cf]
中药中剂量组	13	1.44 ± 0.62[c]
中药低剂量组	14	2.33 ± 0.58[c]

[b]*P*<0.01 *vs* 空白组; [c]*P*<0.05 *vs* 模型组, [f]*P*<0.01 *vs* 维酶素组.

表 3 各组大鼠胃黏膜β-catenin检测结果 (mean ± SD)

分组	*n*	β-catenin
空白组	15	0.23 ± 0.03
模型组	14	0.49 ± 0.02[b]
维酶素组	15	0.37 ± 0.03[c]
中药高剂量组	15	0.26 ± 0.01[ce]
中药中剂量组	13	0.31 ± 0.04[c]
中药低剂量组	14	0.33 ± 0.05[c]

[b]*P*<0.01 *vs* 空白组; [c]*P*<0.05 *vs* 模型组, [e]*P*<0.05 *vs* 维酶素组.

高、中、低剂量组与维酶素组大鼠β-catenin表达水平明显降低，差异均有统计学意义(*P*<0.05). 与维酶素组比较，化痰消瘀方高剂量组β-catenin表达水平下降更为显著，差异有统计学意义(*P*<0.05)(表3).

β-catenin蛋白免疫组织化学结果显示：化痰消瘀方高剂量组大鼠胃黏膜少量细胞可见黄色、褐色程度不同的染色，与模型组和维酶素组比较染色细胞数量较少. 模型组和维酶素组细胞染色数量较多(图2).

2.4 PTEN表达情况 与空白组比较，模型组大鼠胃黏膜PTEN表达水平显著下降，差异有统计学意义(*P*<0.05)；与模型组比较，化痰消瘀方高、中、低剂量组与维酶素组大鼠PTEN表达水平明显上升，差异均有统计学意义(*P*<0.05). 与维酶素组比较，化痰消瘀方高剂量组PTEN表达水平上升更为显著，差异有统计学意义(*P*<0.01)(表4).

PTEN蛋白免疫组织化学结果显示：化痰消瘀方高剂量组大鼠胃黏膜部分细胞可见黄色、褐色程度不同的染色，与模型组和维酶素组比较染色较深. 模型组细胞染色较中药高、中剂量组和维酶素组浅(图3).

3 讨论

PLGC是胃癌发生和发展过程中的一个重要阶段，早期发现和干预是防控胃癌的重要手段. 1988年Correa等提出胃癌的发生模式为："正常胃黏膜-慢性浅表性胃炎-慢性萎缩性胃炎-小肠型肠上皮化生-大肠型肠上皮化生-异型增生(中重度)-胃癌(肠型)"[11]，这是目前较为认可的胃

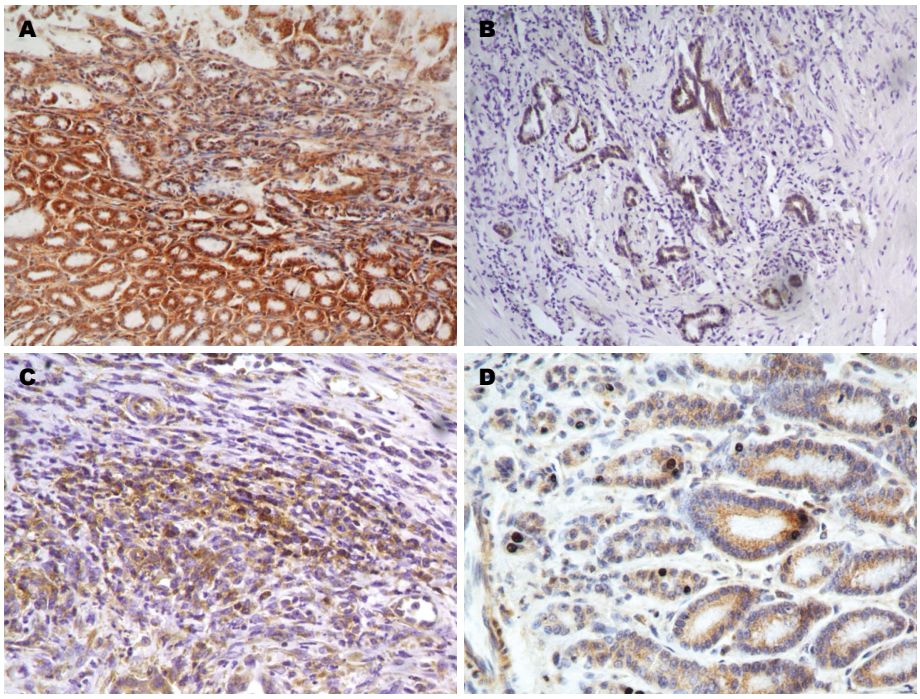


图 2 免疫组织化学检测化痰消瘀方干预对大鼠胃黏膜组织β-catenin蛋白的表达影响(×400). A: β-catenin模型组; B: β-catenin中药高剂量组; C: β-catenin维酶素组; D: β-catenin中药中剂量组.

■应用要点
观察化痰消瘀方对PLGC模型大鼠胃黏膜Notch1、β-catenin及PTEN蛋白表达的影响, 探讨化痰消瘀方逆转PLGC的机制, 为临床上胃癌的早期诊断和治疗提供新的途径.

表 4 各组大鼠胃黏膜PTEN检测结果 (mean ± SD)

分组	*n*	PTEN
空白组	15	0.23 ± 0.03
模型组	14	0.39 ± 0.02[a]
维酶素组	15	0.41 ± 0.03[c]
中药高剂量组	15	0.83 ± 0.01[cf]
中药中剂量组	13	0.55 ± 0.04[c]
中药低剂量组	14	0.48 ± 0.05[c]

[a]$P<0.05$ *vs* 空白组; [c]$P<0.05$ *vs* 模型组, [f]$P<0.01$ *vs* 维酶素组.

癌进展模式; 而PLGC则为病理概念, 指胃黏膜及腺上皮的某种病变可能转变成胃癌. 21世纪初, WHO在表述上以IN取代了DYS[12]. 目前临床上将IM和IN统称为PLGC[3]. 由于现代医学对于PLGC尚无理想治疗药物, 因此, 国内外众多学者期望从中医中药研究领域中寻求突破. 近年来研究证实, 中医药对PLGC的逆转效果显著, 显现出中医药的治疗优势[13].

中医学将PLGC归属为“胃脘痛”、“胃痞”、“嘈杂”等范畴, 其病位在胃, 中医病因不外乎外邪诱发、饮食所伤、情志不遂等因素长期积累, 不断作用, 以致机体阴阳气血失调, 脏腑经络功能失常, 引起食滞、气郁、血瘀、热郁等一系列病理性改变. 临床研究进一步表明, 活血化瘀法可以改善病变黏膜血液循环, 增强对致癌物质的抵抗能力[14], 达到预防胃癌的发生、降低胃癌发病率的效果. 因此, 中药化痰消瘀方在PLGC的治疗和胃癌的防治中具有重要意义[15]. 本方使用二陈汤加减. 方中陈皮燥湿化痰, 健脾行气; 半夏和胃降逆, 调脾胃升降之气机; 丹参活血化瘀, 功兼四物; 鸡内金消食健胃, 涩精止遗; 薏苡仁、蒲公英健脾利湿, 清热解毒, 使湿热蕴毒得以清除, 使邪有去路. 诸药合用, 共奏益气健脾、行瘀化痰之功效. 本实验旨在探索中药化痰消瘀方的作用机制, 通过动物实验, 筛选临床诊治PLGC的有效分子生物学指标.

Wnt信号通路在生物发育、细胞转运及凋亡等过程中发挥非常重要的作用, 其异常活化与胃癌密切相关. β-catenin是Wnt信号通路中的主要蛋白之一, 其稳定性与腺瘤样的结肠息肉病蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)密切相关[16]. 在肿瘤细胞中, *APC*基因的突变导致APC蛋白不能与β-catenin相互作用, 同时也失去对β-catenin表达水平的调节. β-catenin在胞浆内大量积聚并进入细胞核, 与T细胞因子(T-cell factor, TCF)/淋巴增强因子(lymphoid enhancing factor, LEF)转录因子结合, 激活相关基因的转录, 从而导致了细胞增殖异常和肿瘤发生. 王延丽等[17]研究显示在PLGC中, Wnt2、β-catenin存在着高表达. 所以β-catenin的表达上调参与了胃癌的发生. Notch信号通路又称为C启动子结合蛋白

■同行评价
本文以二陈汤加减. 方中陈皮燥湿化痰; 半夏和胃降逆; 丹参活血化瘀; 鸡内金消食健胃; 薏苡仁、蒲公英健脾利湿, 诸药合用, 共奏益气健脾、行瘀化痰之功; 探索中药化痰消瘀方的作用机制, 筛选临床诊治PLGC的有效分子生物学指标.

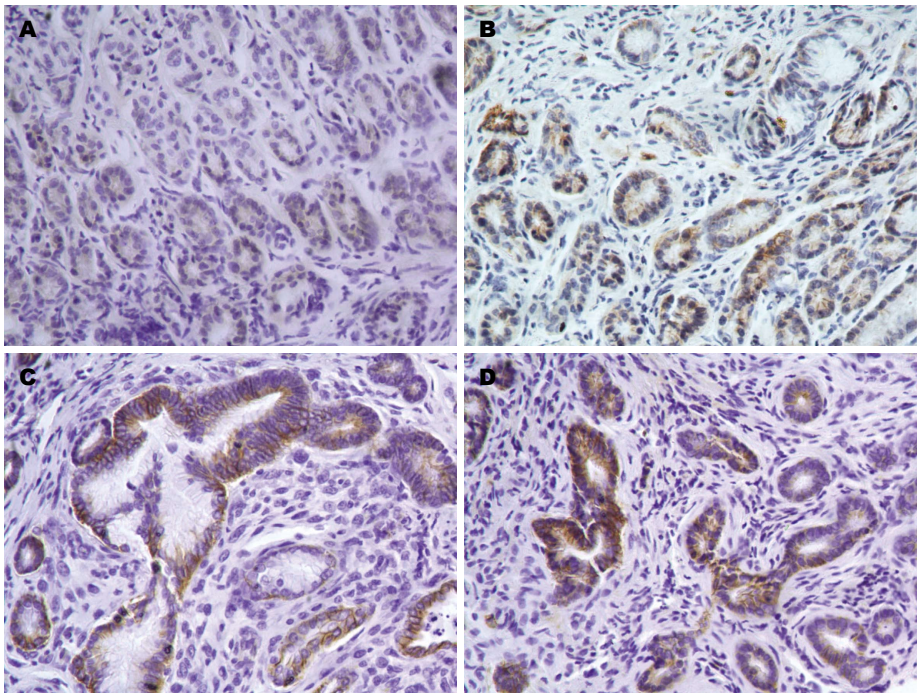


图 3 免疫组织化学检测化痰消瘀方干预对大鼠胃黏膜组织PTEN蛋白的表达影响(×400). A: PTEN模型组; B: PTEN中药高剂量组; C: PTEN中药低剂量组; D: PTEN维酶素组.

(C-promoter binding protein-1, CBF-1)/RBP-Jκ依赖途径, 其调控着细胞的分化、增殖和凋亡. 不同种类细胞中的Notch通路能阻止或促进细胞的分化, 在肿瘤干细胞向肿瘤发展的过程中也发挥重要作用. Notch1信号可通过CBF-1依赖方式结合环氧合酶2(cyclooxygenase 2, *COX-2*)启动子, 而COX-2通过前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE-2)与相邻细胞的细胞膜EP(E-prostanoid)受体结合, 经G2蛋白偶联途径或过氧化物酶增殖体激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)促进胃癌的增长[18]. 前期研究[19]也表明Notch1在PLGC组织及胃癌中均有更高的表达; 杨晓东等[20]研究结果亦显示Notch信号通路在胃黏膜癌变的过程中可能起着促进作用, 即预示胃癌形成的高风险. *PTEN*具有双特异性磷酸酶活性, 是新近发现的抑癌基因. 有研究发现Notch1与PTEN在胃癌中表达呈负相关[21], 提示PTEN的表达缺失可能能协同促进Notch1失调导致胃癌产生; 在胃癌中Notch1可能通过负性调节PTEN以及过度上调P13K/AKT[22]参与胃癌的发生发展.

本实验结果显示, 在PLGC中, Notch1、β-catenin存在着高表达, PTEN表达缺失. 经化痰消瘀方治疗后, 能显著降低Notch1、β-catenin蛋白的阳性表达率; 提高PTEN蛋白的阳性表达率, 并优于维酶素的治疗效果. Notch1、β-catenin表达下降; PTEN表达上升, 提示化痰消瘀方可能通过抑制促癌基因的激活, 和/或促进相关抑癌基因的表达, 控制和维持细胞的正常生长, 从而逆转胃黏膜损伤的病理生化指标, 修复胃黏膜损伤, 以达到逆转PLGC的结果.

4 参考文献

1 Chang DT, Schellenberg D, Shen J, Kim J, Goodman KA, Fisher GA, Ford JM, Desser T, Quon A, Koong AC. Stereotactic radiotherapy for unresectable adenocarcinoma of the pancreas. *Cancer* 2009; 115: 665-672 [PMID: 19117351 DOI: 10.1002/cncr.24059]

2 李晓丽, 刘希光, 程熙国, 姜鹏, 姚如永. 照射时间延长对小鼠LEWIS肺癌细胞杀伤作用影响. 齐鲁医学杂志 2008; 23: 195-197

3 Gutierrez-Gonzalez L, Graham TA, Rodriguez-Justo M, Leedham SJ, Novelli MR, Gay LJ, Ventayol-Garcia T, Green A, Mitchell I, Stoker DL, Preston SL, Bamba S, Yamada E, Kishi Y, Harrison R, Jankowski JA, Wright NA, McDonald SA. The clonal origins of dysplasia from intestinal metaplasia in the human stomach. *Gastroenterology* 2011; 140: 1251-1260.e1-6 [PMID: 21223968 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.12.051]

4 王茵萍, 孙茂峰, 吴旭. 胃粘膜上皮紧密连接与实验性胃癌前病变的关系. 肿瘤防治杂志 2013; 10: 259-262

5 Lee JO, Yang H, Georgescu MM, Di Cristofano A, Maehama T, Shi Y, Dixon JE, Pandolfi P, Pavletich NP. Crystal structure of the PTEN tumor suppressor: implications for its phosphoinositide phosphatase activity and membrane association. *Cell* 1999; 99: 323-334 [PMID: 10555148 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81663-3]

6 范尧夫, 魏睦新. 胃癌前病变的研究进展及防治对策. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1807-1812
7 郭亚云, 冷秀梅, 魏睦新. 化痰消瘀方用于胃癌前病变的疗效观察. 现代中西医结合杂志 2013; 22: 3663-3665
8 陈庆, 魏睦新. 魏睦新教授辨证与辨病结合治疗萎缩性胃炎经验撷要. 辽宁中医药大学学报 2013; 15: 97-99
9 Kang YH, Lee HS, Kim WH. Promoter methylation and silencing of PTEN in gastric carcinoma. *Lab Invest* 2002; 82: 285-291 [PMID: 11896207 DOI: 10.1038/labinvest.378044]
10 Nagahara A, Watanabe S, Miwa H, Endo K, Hirose M, Sato N. Reduction of gap junction protein connexin 32 in rat atrophic gastric mucosa as an early event in carcinogenesis. *J Gastroenterol* 1996; 31: 491-497 [PMID: 8844468]
11 Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, Puc J, Miliaresis C, Rodgers L, McCombie R, Bigner SH, Giovanella BC, Ittmann M, Tycko B, Hibshoosh H, Wigler MH, Parsons R. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 1997; 275: 1943-1947 [PMID: 9072974 DOI: 10.1126/science.275.5308.1943]
12 Hamilton SR, Aaltonen LA. World Health Organization classification of tumours, Pathology and genetics of tumours of digestive system. Lyon: IARC Press, 2000
13 王琦, 杨少军. 中医药在慢性萎缩性胃炎癌前期病变中的应用与研究现状. 时珍国医国药 2012; 23: 2008-2009
14 王爱武, 王梅, 袁久荣, 田景奎, 吴丽敏, 耿晖. 猫爪草提取物体外抗肿瘤作用的研究. 天然产物研究与开发 2004; 16: 530-532
15 刘皓, 王霞, 范尧夫, 魏睦新. 化痰消瘀方对胃癌前病变大鼠Caspase-3、Cyclind1及mTOR表达的影响. 中医学报 2014; 29: 941-944
16 Henderson BR. Nuclear-cytoplasmic shuttling of APC regulates beta-catenin subcellular localization and turnover. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 653-660 [PMID: 10980707 DOI: 10.1038/35023605]
17 王延丽, 朱西杰, 蔡根深, 肖清燕, 王儒, 李美丽. 复方蜥蜴散不同微粒组合剂对胃癌前病变大鼠Wnt信号通路中Wnt2、β-catenin蛋白表达影响的研究. 时珍国药 2014; 25: 1501-1504
18 Yeh TS, Wu CW, Hsu KW, Liao WJ, Yang MC, Li AF, Wang AM, Kuo ML, Chi CW. The activated Notch1 signal pathway is associated with gastric cancer progression through cyclooxygenase-2. *Cancer Res* 2009; 69: 5039-5048 [PMID: 19491270 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4021]
19 Sun Y, Gao X, Liu J, Kong QY, Wang XW, Chen XY, Wang Q, Cheng YF, Qu XX, Li H. Differential Notch1 and Notch2 expression and frequent activation of Notch signaling in gastric cancers. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135: 451-458 [PMID: 21466361 DOI: 10.1043/2009-0665-OA.1]
20 杨晓东, 张辉, 白志刚, 姜可伟, 叶颖江, 王杉. Notch信号通路在胃癌组织中的表达及其意义. 中华普通外科杂志 2009; 24: 146-148
21 李大卫, 吴晴, 彭志海, 杨兆瑞, 王一. Notch1和PTEN在胃癌组织中的表达及其意义. 癌症 2007; 26: 1183-1187
22 Liu ZJ, Xiao M, Balint K, Smalley KS, Brafford P, Qiu R, Pinnix CC, Li X, Herlyn M. Notch1 signaling promotes primary melanoma progression by activating mitogen-activated protein kinase/phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathways and up-regulating N-cadherin expression. *Cancer Res* 2006; 66: 4182-4190 [PMID: 16618740 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3589]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 256-260
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

GSK-3β在雷公藤甲素诱导胰腺癌细胞凋亡中的作用

毛振江, 李国庆, 黄 靓

■背景资料
胰腺癌是一种恶性程度很高的癌症, 其5年生存率<1%, 是临床中发现的预后最差的恶性肿瘤之一. 胰腺癌的发生和发展与肿瘤细胞的增殖与凋亡密切相关, p-糖原合酶激酶-3β(p-glycogen synthase kinase-3β, p-GSK-3β)、B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)以及GSK-3β为近年来研究最为常见的凋亡因子, 以其为药物抑制肿瘤生长的靶点具有前瞻性和实用性.

毛振江, 李国庆, 黄靓, 南华大学附属第二医院消化内科 湖南省衡阳市 421001
毛振江, 主治医师, 主要从事消化内科的相关研究.
作者贡献分布: 毛振江与李国庆对此文所作贡献均等; 此课题由毛振江、李国庆及黄靓设计; 研究过程由毛振江与李国庆操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由毛振江与黄靓提供; 数据分析由毛振江、李国庆及黄靓完成; 本论文写作由毛振江起草; 李国庆与黄靓审阅完成.
通讯作者: 李国庆, 教授, 主任医师, 421001, 湖南省衡阳市解放大道35号, 南华大学附属第二医院消化内科.
ligq1970@163.com
电话: 0734-8899977
收稿日期: 2014-10-27 修回日期: 2014-11-21
接受日期: 2014-11-27 在线出版日期: 2015-01-18

Role of GSK-3β in triptolide induced apoptosis of pancreatic cancer cells

Zhen-Jiang Mao, Guo-Qing Li, Jing Huang

Zhen-Jiang Mao, Guo-Qing Li, Jing Huang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital Affiliated to Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Correspondence to: Guo-Qing Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital Affiliated to Nanhua University, 35 Jiefang Avenue, Hengyang 421001, Hunan Province, China. ligq1970@163.com
Received: 2014-10-27 Revised: 2014-11-21
Accepted: 2014-11-27 Published online: 2015-01-18

Abstract
AIM: To investigate the role of glycogen synthase kinase 3β (GSK-3β) in triptolide induced apoptosis of pancreatic cancer cells.

METHODS: Pancreatic cancer AsPC-1 cells were treated with triptolide in the presence or absence of GSK-3β inhibitor LiCl. Cell apoptosis was assessed using flow cytometry. The expression of GSK-3β, p-glycogen synthase kinase-3β (p-GSK-3β) and B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) proteins was detected by Western blot.

RESULTS: Treatment with triptolide (TPL) at 6.54 ng/mL and 15.51 ng/mL significantly reduced the growth of AsPC-1 cells, and the rates of reduced growth were 39.64% and 52.19%, respectively. LiCl pretreatment reduced the rates of reduced growth to 27.36% and 41.94%, respectively. LiCl pretreatment significantly reduced the apoptosis rate of AsPC-1 cells. Triptolide treatment significantly increased the level of p-GSK-3β in AsPC-1 cells, but had no significant impact on GSK-3β expression; LiCl pretreatment significantly increased the expression level of p-GSK-3β in AsPC-1 cells, had no significant impact on GSK-3β expression, and significantly reduced the expression of apoptosis-related factors Bcl-2, B-cell lymphoma-xl (Bcl-xl) and myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1).

CONCLUSION: The increased level of p-GSK-3β can inhibit triptolide induced pancreatic cancer cell apoptosis.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Glycogen synthase kinase 3; Triptolide; Pancreatic cancer; Apoptosis

Mao ZJ, Li GQ, Huang J. Role of GSK-3β in triptolide induced apoptosis of pancreatic cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 256-260 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/256.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.256

摘要
目的: 分析糖原合酶激酶3β(glycogen synthase kinase 3β, GSK-3β)在雷公藤甲素(triptolide, TPL)诱导胰腺癌细胞AsPC-1凋亡中的作用.

方法: 体外培养胰腺癌细胞AsPC-1, 采用TPL处理AsPC-1细胞及采用GSK-3β抑制剂LiCl预处理AsPC-1, 流式细胞仪分析细胞凋亡情况及采用Western blot分析GSK-3β、p-糖原合酶激酶-3β(p-glycogen synthase kinase-3β, p-GSK-3β)及B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)等蛋白表达水平.

结果: 6.54 ng/mL及15.51 ng/mL TPL处理对AsPC-1细胞活性有显著的抑制作用, 分别为39.64%及52.19%, 经LiCl预处理后其抑制作用减弱为27.36%及41.94%; 采用LiCl预处理

■同行评议者
夏时海, 副教授, 副主任医师, 武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心)

组的细胞凋亡情况较相应浓度未经LiCl预处理组AsPC-1细胞的凋亡率降低; 经TPL处理后AsPC-1细胞中p-GSK-3β水平显著增加, 而GSK-3β的表达水平无显著性变化; 采用LiCl预处理后AsPC-1细胞中p-GSK-3β的表达水平增加, GSK-3β的表达水平无显著性变化, 且凋亡相关因子Bcl-2、B细胞淋巴瘤-xl(B-cell lymphoma-xl, Bcl-xl)及髓样细胞白血病-1(myeloid cell leukemia-1, Mcl-1)的表达水平降低.

结论: p-GSK-3β水平增加能够抑制TPL诱导的胰腺癌细胞的凋亡.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 糖原合酶激酶3; 雷公藤甲素; 胰腺癌; 细胞凋亡

核心提示: 本研究采用流式细胞仪及Western blot检测雷公藤甲素(triptolide, TPL)处理后的胰腺癌细胞凋亡及p-糖原合酶激酶-3β(p-glycogen synthase kinase-3β, p-GSK-3β)、B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2)以及GSK-3β蛋白表达. 提示TPL可能是通过调节凋亡相关基因p-GSK-3β蛋白的表达最终诱导胃癌细胞胰腺癌细胞凋亡的重要机制.

毛振江, 李国庆, 黄靓. GSK-3β在雷公藤甲素诱导胰腺癌细胞凋亡中的作用. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 256-260 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/256.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.256

0 引言

胰腺癌是一种恶性程度高的消化系肿瘤, 流行病学研究[1-3]显示近年来其发病率有上升趋势, 且表现出病程短、发现晚、转移早及预后差等特点. 目前主要的治疗手段为手术切除, 但大多患者发现时就属中晚期, 仅极小部分病灶是可以切除, 5年生存率低于5%. 雷公藤甲素(triptolide, TPL)是从雷公藤中提取的一种环氧二萜单体[4], 多项研究显示其具有明显的抑制胰腺癌细胞增殖, 促进凋亡及控制转移的作用, 能够阻断细胞周期, 抗细胞增殖的作用[5,6]. 糖原合酶激酶3(glycogen synthase kinase 3, GSK3)为一种调控多种细胞功能的关键酶[7], 有GSK-3α和GSK-3β两种单体, 有研究显示抑制GSK3的活性能够通过c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)介导的通路触发胰腺癌细胞的细胞凋亡[8], 本研究采用GSK-3β的抑制剂LiCl改变其活性对其在TPL在诱导胰腺癌细胞凋亡中的作用机制进行了分析.

1 材料和方法

1.1 材料 TPL购自福州迈新; DMEM培养基、胎牛血清购自GIBCO; 0.25%胰酶、MTT试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、LiCl购自Sigma; 磷酸化GSK-3β、GSKβ及B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)等抗体购自Cell Signal公司; CO_2恒温培养箱购自SANYO; Western blot电泳仪及酶标仪购自BIO-RAD; 流式细胞仪购自Becton-Dickinson Calid.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及处理: 胰腺癌细胞株AsPC-1购自上海睿智化学研究有限公司, 在含10%胎牛血清的DMEM完全培养基在37 ℃、50 mL/L CO_2及90%相对湿度的培养箱中培养.

1.2.2 药物处理: 将TPL用二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)溶解配制成1 μg/mL的溶液, 再根据实验要求配制成相应浓度; 将处于对数期的AsPC-1细胞常规传代, 细胞培养24 h后, 再加入不同TPL药物浓度(6.54 ng/mL及15.51 ng/mL, 药物浓度的确定标准为人体服用最小剂量和最大剂量后血液浓度的1/10)的培养液同时设置对照组加入等体积培养液, 另设置LiCl(10 mmoL)预孵育后的TPL药物浓度(6.54 ng/mL及15.51 ng/mL)组, 每组设3个复孔.

1.2.3 4,5-二甲基噻唑-2(4,5-dimethyl-2-thiazolyl-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide, MTT)比色法检测各组细胞增殖情况: 各组细胞培养48 h后, 吸净培养基, 加入2 mg/mL的MTT溶液50 μL/孔, 参照试剂盒说明书, 在570 nm波长下, 采用酶标仪检测各孔*A*值计算生长抑制率. 生长抑制率 = (1-药物处理组*A*值/对照组*A*值)×100%.

1.2.4 流式细胞仪检测各组细胞凋亡情况: 经处理培养后48 h的细胞, 将细胞经预冷PBS洗涤后, 用750 mL/L乙醇于-20 ℃条件下固定过夜, 洗涤离心15 min, 弃上清, 再用PBS洗涤2遍后调整细胞浓度, 加入10 μg/mL碘化丙啶(propidium iodide, PI)及0.1%RNaseA的PBS 500 μL, 避光染色30 min, 上机.

1.2.5 Western blot检测各组细胞中GSK-3β、p-GSK-3β及Bcl-2等的表达水平: 收集细胞, PBS洗涤后加入裂解液(50 mmol/L Tris-HCl pH 8.0, 150 mmoL PMSF, 0.1%NP-40, 蛋白酶抑制剂)混匀超声破碎冰浴裂解30 min, 12000 r/min离

■研发前沿
国内外的许多研究均表明, p-GSK-3β、Bcl-2以及GSK-3β 3个蛋白是决定细胞凋亡的重要因素, 而雷公藤甲素(triptolide, TPL)对胰腺癌有治疗作用首先见于2012年美国学者的报道, 但关于其是否可影响p-GSK-3β、Bcl-2以及GSK-3β 3个蛋白的报道还没有报道, 因此研究其可填补这方面的空白.

■相关报道
目前的研究已经证实TPL对如白血病、乳腺癌及肺癌等多种癌症癌细胞组织中的p-GSK-3β、Bcl-2以及GSK-3β 3个酶蛋白表达均有一定的调控作用, 但关于其对胰腺癌的报道仅见于有治疗作用, 调控上述3个酶蛋白的表达还没有文献报道.

■创新盘点
本研究显示TPL处理后可显著促进胰腺癌细胞中p-GSK-3β水平表达，而GSK-3β的表达以及Bcl-2的表达水平无显著性变化，提示TPL对胰腺癌的治疗可能是单纯通过调节GSK-3β信号通路中p-GSK-3β蛋白表达实现的，这可能是其诱导胰腺癌细胞凋亡的重要机制.

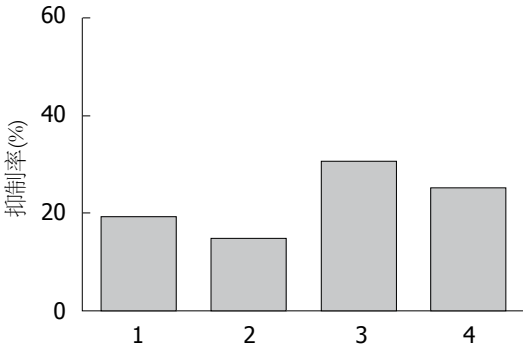


图 1 TPL对AsPC-1细胞的生长抑制情况. 1: 6.54 ng/mL TPL; 2: 6.54 ng/mL TPL+LiCl; 3: 15.51 ng/mL TPL; 4: 15.51 ng/mL TPL+LiCl. TPL: 雷公藤甲素.

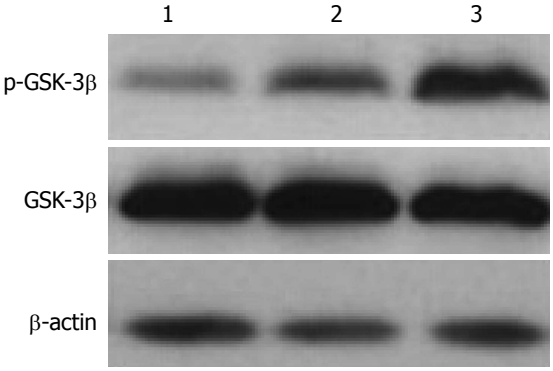


图 2 处理过的胰腺细胞蛋白表达图. 1: 对照组; 2: 6.54 ng/mL TPL组; 3: 15.51 ng/mL TPL组. TPL: 雷公藤甲素; p-GSK-3β: p-糖原合酶激酶-3β.

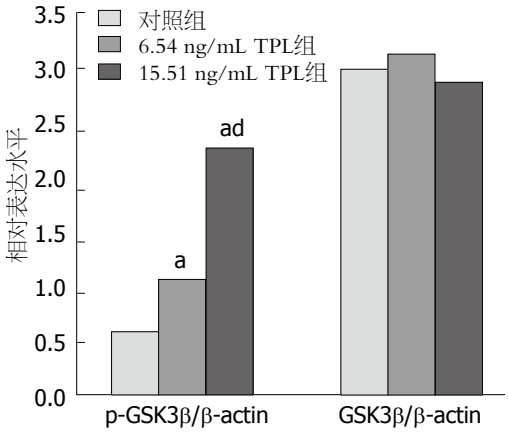


图 3 不同浓度TPL处理后AsPC-1细胞蛋白相对表达水平图. $^{a}P<0.05$ *vs* 对照组; $^{d}P<0.01$ *vs* 6.54 ng/mL TPL组. TPL: 雷公藤甲素; p-GSK-3β: p-糖原合酶激酶-3β.

表 1 各组细胞凋亡情况比较 (mean ± SD, %)

分组	凋亡率
对照组	1.72 ± 0.13
6.54 ng/mL TPL	14.91 ± 1.85
15.51 ng/mL TPL	26.17 ± 2.36
6.54 ng/mL TPL+LiCl	8.42 ± 1.47
15.51 ng/mL TPL+LiCl	14.73 ± 3.04

TPL: 雷公藤甲素.

心15 min后取上清，采用BCA法检测蛋白浓度；取上述制备的蛋白样品50 μg上样到15%SDS-PAGE凝胶，电泳完毕后将蛋白电转至NC膜，用5%脱脂奶粉封闭，分别加一抗，37 ℃孵育2 h，经0.1%TBST漂洗后加二抗(1∶2000)室温孵育2 h，TBST洗膜后加ECL，X光胶片定影，扫描后用IPP6.0进行图像分析.

统计学处理 运用SPSS17.0软件，定量数据运用mean±SD表示，定量资料采用*t*检验进行统计学分析，$P<0.05$表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 TPL对胰腺癌细胞AsPC-1的抑制作用 经MTT法对各组胰腺癌AsPC-1细胞的活性进行检测结果显示，经6.54 ng/mL及15.51 ng/mL TPL处理对AsPC-1细胞活性有显著的抑制作用，分别为39.64%及52.19%，经LiCl预处理后其抑制作用减弱为27.36%及41.94%(图1).

2.2 各组细胞凋亡情况比较 经流式细胞仪对各组细胞的凋亡情况进行比较结果显示，在TPL处理组AsPC-1细胞的凋亡率显著增加，且高浓度TPL促进细胞凋亡情况更为显著，而采用LiCl预处理组的细胞凋亡情况较相应浓度未经LiCl预处理组AsPC-1细胞的凋亡率降低(表1).

2.3 Western blot检测各组细胞p-GSK-3β等蛋白表达水平 经TPL处理后AsPC-1细胞中p-GSK-3β水平显著增加，且随着TPL浓度的增加p-GSK-3β的表达水平也随之增加，而GSK-3β的表达水平无显著性变化(图2, 3)；采用GSK-3β抑制剂LiCl预处理后AsPC-1细胞中p-GSK-3β的表达水平增加，GSK-3β的表达水平无显著性变化，且凋亡相关因子Bcl-2、B细胞淋巴瘤-xl(B-cell lymphoma-xl, Bcl-xl)及髓样细胞白血病-1(myeloid cell leukemia-1, Mcl-1)的表达水平降低(图4, 5).

3 讨论

胰腺癌作为恶性程度极高的消化系肿瘤，约占全身恶性肿瘤的2%，其发病率与死亡率相近，中位生存期不足6 mo[9]，整体生存时间不超过两年. 由于其发病隐匿、位置深、病情发展快及

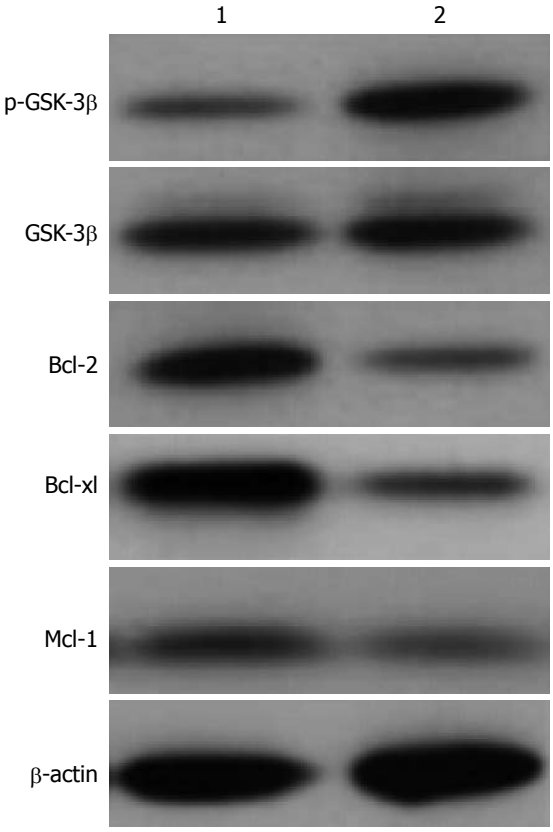


图 4 处理过的胰腺细胞蛋白表达图. 1: 对照组; 2: 15.51 ng/mL TPL+LiCl组. TPL: 雷公藤甲素; p-GSK-3β: p-糖原合酶激酶-3β; Bcl-2: B细胞淋巴瘤-2; Bcl-xl: B细胞淋巴瘤-xl; Mcl-1: 髓样细胞白血病-1.

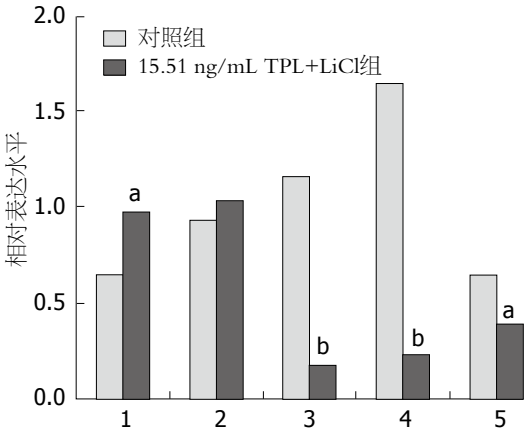


图 5 15.51 ng/mL TPL+LiCl预处理后AsPC-1细胞GSK-3β及凋亡相关因子表达水平. 1: p-GSK-3β/β-actin; 2: GSK-3β/β-actin; 3: Bcl-2/β-actin; 4: Bcl-xl/β-actin; 5: Mcl-1/β-actin. $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ *vs* 对照组. TPL: 雷公藤甲素; p-GSK-3β: p-糖原合酶激酶-3β; Bcl-2: B细胞淋巴瘤-2; Bcl-xl: B细胞淋巴瘤-xl; Mcl-1: 髓样细胞白血病-1.

■应用要点

研究显示TPL可在体外诱导胰腺癌细胞的凋亡, 并呈剂量和时间依赖性, 这些都提示, 调节凋亡相关基因*p-GSK-3β*表达是其可能作用机制, 但对TPL是否还可诱导其他肿瘤细胞凋亡, 其介导途径又是哪些均需进一步深入研究.

恶性程度高等原因, 大多数患者就诊时已属晚期, 成为全球医疗界肿瘤诊治的难题[10,11]. 雷公藤是我国传统中药, 性温、味苦涩具有活筋活络、祛风除湿等功效. 其主要制剂TPL研究表明具有抗炎、抗生育、抗肿瘤及免疫抑制等作用, 研究表明对于多种肿瘤细胞具有较强的抑制作用[12]. 师宪平等[13]的研究采用TPL诱导淋巴细胞瘤细胞凋亡与对照组相比X连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)及Mcl-1等的表达差异显著, 且存在剂量、时间依赖性. 周淑华[14]采用双向电泳技术分析TPL诱导胰腺癌细胞凋亡中差异表达蛋白结果显示角蛋白18与对照组比差异显著, 且存在时间及剂量效应关系.

GSK3是一种可以调控多种细胞功能的关键酶, 是调节糖原合成的关键激酶, 磷酸化糖原合酶并使之失活, 从而抑制糖原合成存进糖代谢[15]. GSK-3β N端第九位丝氨酸及GSK-3α第21位丝氨酸被包括丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(receptor serine/threonine kinases, AKT)、cAMP蛋白激酶A(cyclic-amp dependent protein kinase A, PKA)及蛋白激酶C(protein kinase C system, PKC)等在内的多种激酶磷酸化, 调节GSK的活性, 因此GSK参与到多种信号通路的调节[15-17]. 研究[18,19]表明GSK3的激活在多种情况下参与到细胞凋亡过程, 有研究表明GSK-3β的激活参与到抑癌蛋白肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)的抵抗过程, 后者为一种诱导细胞凋亡的配体, 是公认的抗癌物质. Saiprasad等[7]研究表明GSK-3β参与到PIK3/AKT介导的细胞凋亡过程. 本研究为了分析GSK-3β在TPL诱导胰腺细胞凋亡中的作用, 采用LiCl进行预处理AsPC-1, 结果表明, 采用TPL处理AsPC-1细胞, 细胞凋亡率显著升高, 而采用LiCl预处理的AsPC-1细胞的生长抑制情况显著改善, 细胞凋亡率也较相应浓度TPL处理的AsPC-1细胞显著降低, 采用Western blot分析经AsPC-1细胞相关蛋白表达情况, 显示经TPL处理后的细胞p-GSK-3β的表达水平显著升高, 且随着TPL的浓度升高而升高, 但GSK-3β的表达水平无显著性改变; 经LiCl预处理的AsPC-1细胞中凋亡相关因子Bcl-2、Bcl-xl及Mcl-1的表达水平降低.

总之, p-GSK-3β参与了胰腺癌AsPC-1细胞的凋亡过程, 其磷酸化水平增加能够抑制TPL诱导的胰腺癌细胞的凋亡.

4 参考文献

1 顾凯, 吴春晓, 鲍萍萍, 王春芳, 彭鹏, 龚杨明, 向泳梅, 黄哲宙, 金凡, 郑莹, 卢伟. 上海市胰腺癌流行现况、回顾与比较分析. 外科理论与实践 2009; 14: 510-515

■同行评价
本文实验设计合理，方法应用得当，研究结果具有一定的科学与可读性.

2 郑莹, 黄哲宙. 胰腺癌的流行及其预防控制的研究焦点. 诊断学理论与实践 2011; 10: 301-304
3 田力, 曾繁刺, 李德刚, 王展鹏, 李巍, 张学文. 胰腺癌与糖尿病相关性分析. 中华肝胆外科杂志 2012; 18: 508-511
4 胡永红, 曾克勤, 张明敏, 涂胜豪, 赖先阳, 张玮琛. 雷公藤甲素对胶原诱导的关节炎大鼠滑膜细胞核转录因子κB表达与活性的影响. 中华风湿病学杂志 2004; 8: 515-518
5 Shao H, Ma J, Guo T, Hu R. Triptolide induces apoptosis of breast cancer cells via a mechanism associated with the Wnt/β-catenin signaling pathway. *Exp Ther Med* 2014; 8: 505-508 [PMID: 25009609]
6 Wu J, Li QQ, Zhou H, Lu Y, Li JM, Ma Y, Wang L, Fu T, Gong X, Weintraub M, Wu S, Ding H. Selective tumor cell killing by triptolide in p53 wild-type and p53 mutant ovarian carcinomas. *Med Oncol* 2014; 31: 14 [PMID: 24880464 DOI: 10.1007/s12032-014-0014-8]
7 Saiprasad G, Chitra P, Manikandan R, Sudhandiran G. Hesperidin induces apoptosis and triggers autophagic markers through inhibition of Aurora-A mediated phosphoinositide-3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin and glycogen synthase kinase-3 beta signalling cascades in experimental colon carcinogenesis. *Eur J Cancer* 2014; 50: 2489-2507 [PMID: 25047426 DOI: 10.1016/j.ejca.2014.06.013]
8 Wei M, Zhang M, Adams A, Duan Y. JNK and AKT/GSK3β signaling pathways converge to regulate periodontal ligament cell survival involving XIAP. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 448: 485-491 [PMID: 24802394 DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.04.134]
9 丁雷, 张平. 胰腺癌治疗的研究进展. 中国老年学杂志 2014; 34: 2298-2300
10 张涛, 周丁华, 吕伟, 王国经, 王虎明, 吉王明. 高强度聚焦超声联合吉西他滨治疗不可手术切除的胰腺癌临床效果观察. 中国综合临床 2012; 28: 793-796
11 Löhr JM, Haas SL, Kröger JC, Friess HM, Höft R, Goretzki PE, Peschel C, Schweigert M, Salmons B, Gunzburg WH. Encapsulated cells expressing a chemotherapeutic activating enzyme allow the targeting of subtoxic chemotherapy and are safe and efficacious: data from two clinical trials in pancreatic cancer. *Pharmaceutics* 2014; 6: 447-466 [PMID: 25116885 DOI: 10.3390/pharmaceutics6030447]
12 居星耀. 雷公藤甲素脂质体制备及体内抗肿瘤实验研究. 中国现代应用药学 2007; 24: 271-274
13 师宪平, 蓝晓莹, 温创宇, 陈鑫, 刘焕亮. 雷公藤内酯醇对弥漫性大B淋巴瘤细胞株凋亡的影响及其机制探讨. 山东医药 2013; 53: 1-3
14 周淑华. CK18在雷公藤甲素诱导胰腺癌细胞凋亡中的机制研究. 福建医科大学 2013: 44-46
15 宋晓红, 翁丹卉, 邢辉, 卢运萍, 王世宣, 马丁. 糖原合酶激酶-3β磷酸化抑制顺铂诱导卵巢癌细胞凋亡的研究. 华中科技大学学报(医学版) 2009; 38: 645-648
16 Sokolosky M, Chappell WH, Stadelman K, Abrams SL, Davis NM, Steelman LS, McCubrey JA. Inhibition of GSK-3β activity can result in drug and hormonal resistance and alter sensitivity to targeted therapy in MCF-7 breast cancer cells. *Cell Cycle* 2014; 13: 820-833 [PMID: 24407515 DOI: 10.4161/cc.27728]
17 Singh V, Lin R, Yang J, Cha B, Sarker R, Tse CM, Donowitz M. AKT and GSK-3 are necessary for direct ezrin binding to NHE3 as part of a C-terminal stimulatory complex: role of a novel Ser-rich NHE3 C-terminal motif in NHE3 activity and trafficking. *J Biol Chem* 2014; 289: 5449-5461 [PMID: 24398676 DOI: 10.1074/jbc.M113.521336]
18 Zhang JS, Herreros-Villanueva M, Koenig A, Deng Z, de Narvajas AA, Gomez TS, Meng X, Bujanda L, Ellenrieder V, Li XK, Kaufmann SH, Billadeau DD. Differential activity of GSK-3 isoforms regulates NF-κB and TRAIL- or TNFα induced apoptosis in pancreatic cancer cells. *Cell Death Dis* 2014; 5: e1142 [PMID: 24675460 DOI: 10.1038/cddis.2014.341]
19 Beurel E, Blivet-Van Eggelpoël MJ, Kornprobst M, Moritz S, Delelo R, Paye F, Housset C, Desbois-Mouthon C. Glycogen synthase kinase-3 inhibitors augment TRAIL-induced apoptotic death in human hepatoma cells. *Biochem Pharmacol* 2009; 77: 54-65 [PMID: 18938143 DOI: 10.1016/j.bcp.2008.09.026]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 261-266
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

遗传代谢病筛查在婴儿肝炎综合征病因诊断中的意义

刘 艳, 黄志华, 徐三清, 黄永建, 周 华

刘艳, 黄志华, 徐三清, 黄永建, 周华, 华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科 湖北省武汉市 430030
刘艳, 副主任医师, 主要从事儿科消化系统疾病的研究.
卫生部临床重点专科建设基金资助项目(小儿消化专科), No. 鄂卫通[2012]112
作者贡献分布: 刘艳对此文作主要贡献; 此课题由刘艳与黄志华设计; 研究过程由刘艳与黄志华完成; 研究所用临床资料由黄志华、徐三清、黄永建及周华提供; 数据分析由刘艳完成; 本论文写作由刘艳完成.
通讯作者: 黄志华, 教授, 主任医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科. zhhuang@tjh.tjmu.edu.cn
电话: 027-83663528
收稿日期: 2014-10-11 修回日期: 2014-11-06
接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2015-01-18

Inherited metabolic disease screening in etiological diagnosis of infantile hepatitis syndrome

Yan Liu, Zhi-Hua Huang, San-Qing Xu, Yong-Jian Huang, Hua Zhou

Yan Liu, Zhi-Hua Huang, San-Qing Xu, Yong-Jian Huang, Hua Zhou, Department of Pediatrics, Tongji Hospital, Tongji Medical College Affiliated to Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Supported by: the Ministry of Health Clinical Key Discipline Construction Foundation (Pediatric Digestion Discipline), No. [2012]112
Correspondence to: Zhi-Hua Huang, Professor, Chief Physician, Department of Pediatrics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. zhhuang@tjh.tjmu.edu.cn
Received: 2014-10-11 Revised: 2014-11-06
Accepted: 2014-11-18 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To assess the significance of screening for inherited metabolic diseases in the etiological diagnosis of infantile hepatitis syndrome.

METHODS: A retrospective analysis was performed of patients with infantile hepatitis syndrome who received hereditary metabolic disease screening from October 2003 to March 2010.

RESULTS: Among 802 patients with infantile hepatitis syndrome, 35 were identified to have hereditary metabolic hepatopathy. The main causes were tyrosinemia (n = 9), citrullinemia (n = 4), neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (n = 4), hyperlactacidemia (n = 3), Niemann-Pick disease (n = 5), glycogenic thesaurismosis (n = 2), dicarboxylic aciduria (n = 2), alagille syndrome (n = 3), and progressive familial intrahepatic cholestasis (n = 3).

CONCLUSION: The causes of infantile hepatitis syndrome are diverse. It is necessary to conduct routine screening of inherited metabolic diseases in infantile hepatitis syndrome, which will be helpful to early diagnosis and correct treatment.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Infant; Hepatitis; Jaundice; Inherited metabolic diseases

Liu Y, Huang ZH, Xu SQ, Huang YJ, Zhou H. Inherited metabolic disease screening in etiological diagnosis of infantile hepatitis syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 261-266 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/261.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.261

摘要

目的: 对临床诊断为婴儿肝炎综合征的患儿进行遗传代谢病的筛查, 从而探讨遗传代谢病筛查在婴儿肝炎综合征病因诊断中的意义.

方法: 对2003-10/2010-03在华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科临床诊断为婴儿肝炎综合征的患儿中筛查出的遗传代谢肝病进行回顾性分析.

结果: 在儿科病房住院的802例婴儿肝炎综合征中筛查出遗传代谢肝病35例, 主要为酪氨酸血症9例、瓜氨酸血症4例、新生儿肝内胆汁淤积症(neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency, NICCD)4例、高乳酸血症3例、尼曼-匹克5例、糖原累积病2例、二羧酸尿症2例、Alagille综合征3例、进行性家族性肝内胆汁淤积(progressive familial intrahepatic

■**背景资料**
婴儿肝炎综合征是儿科常见病, 其病因复杂, 预后情况悬殊, 很多遗传代谢缺陷病在婴儿期即可引起肝脏损害. 对临床诊断为婴儿肝炎综合征患儿进行遗传代谢病的筛查、有利于正确治疗和预防, 从而改善预后.

■**同行评议者**
肖文华, 主任医师, 中国人民解放军总医院第一附属医院肿瘤科

■研发前沿
遗传代谢缺陷病是引起婴儿肝炎综合征的一个重要原因，大部分预后不良. 在疾病早期由于其临床表现与其他原因所致的婴儿肝炎综合征相似，往往不被临床医生所认识. 因此，早期筛查极为重要.

cholestasis, PFIC)3例.

结论: 婴儿肝炎综合征病因复杂，在查找病因时应常规进行遗传代谢病筛查，有利于早期诊断及正确治疗.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 婴儿; 肝炎; 黄疸; 遗传代谢病

核心提示: 遗传代谢缺陷病是婴儿肝炎综合征的重要原因之一. 婴儿早期即发生肝功能衰竭、胆汁淤积明显而γ-谷氨酰转移酶(γ-glutamyl transferase)正常、有异常代谢指标如低血糖、高血氨等或胆汁淤积伴有先天性心脏病及特殊容貌者等，要进行遗传代谢病的筛查.

刘艳, 黄志华, 徐三清, 黄永建, 周华. 遗传代谢病筛查在婴儿肝炎综合征病因诊断中的意义. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 261-266 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/261.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.261

0 引言

婴儿肝炎综合征是儿科常见病，其病因复杂，预后情况悬殊，故早期诊断和治疗极为重要. 肝脏是遗传代谢缺陷病最早累及和损害最为严重的脏器之一，很多遗传代谢缺陷病在婴儿期即可引起肝脏损害. 若对临床诊断为婴儿肝炎综合征患儿进行遗传代谢病的筛查、及早诊断，有利于正确治疗和预防，从而改善预后. 现将华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科2003-10/2010-03临床诊断为婴儿肝炎综合征而后确诊为遗传代谢性肝病的35例患儿进行回顾性分析.

1 材料和方法

1.1 材料 选择华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科2003-10/2010-03在802例婴儿肝炎综合征中筛查出的遗传代谢肝病35例作为研究对象. 其中男25例，女10例，起病年龄4-240 d(中位年龄90 d). 所有患儿均表现为婴儿期发病，肝功能异常、肝脏病理征(肝脏肿大或质地异常)，不同程度的黄疸.

1.2 方法

1.2.1 辅助检查: 所有患儿入院后第2天晨空腹采血查血生化包括肝功能、电解质、血气分析、血糖、乳酸、血氨、甲胎蛋白等. 留小便送尿巨细胞病毒培养. 对于有明显胆汁淤积、大便颜色变浅者做肝胆超声和/或核磁共振. 对于常规检查不能确诊而凝血功能基本正常的患儿在家长签署同意书后行经皮肝穿刺活组织检查术，部分患儿做骨髓穿刺检查.

1.2.2 血浆氨基酸分析和尿气相色谱质谱分析: 采集患儿全血标本，送华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科遗传代谢内分泌实验室. 采用美国Aglient公司API2000质谱联用仪，液相色谱法进行分析. 收集患儿新鲜尿液，采用美国Aglient公司6890N+5973N气相色谱/质谱联用仪，分析患儿尿有机酸.

1.2.3 基因分析: 对于临床表现为胆汁淤积性黄疸、低蛋白血症、低血糖症、凝血功能异常及甲胎蛋白显著升高者，临床疑诊为新生儿肝内胆汁淤积症(neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency, NICCD). 对于临床表现为胆汁淤积性黄疸、伴有先天性心脏病、血清γ-谷氨酰转移酶(γ-glutamyl transferase, γ-GT)和胆汁酸明显升高者，疑诊为Alagille综合征. 对于婴儿早期起病的胆汁淤积性黄疸、血清γ-GT正常或降低而胆汁酸明显升高、伴有皮肤瘙痒者，临床疑诊为进行性家族性肝内胆汁淤积(progressive familial intrahepatic cholestasis, PFIC)1型或2型. 取得患儿家属同意后，采以上三类患儿血标本送华中科技大学同济医学院附属同济医院基因诊断中心做相应的基因分析.

1.2.4 基因分析检测内容: NICCD的检测内容为*SLC25A13*基因热点突变所在区域第6、7、9、11、13、16、17号外显子及其邻近序列. Alagille综合征的检测内容为*JAG1*基因热点突变所在区域第2、4、6、9、17、23、24号外显子及其邻近序列，*NOTCH2*基因第8、33号外显子及其邻近序列. PFIC的检测内容为*ATP8B1*基因热点突变所在区域第2、3、4、7、10、12、13、15、16、17、18、19、22、23、25号外显子及其邻近序列(PFIC1)、*ABCB11*基因突变所在区域第2、4、6-15、19、21-28号外显子及其邻近序列(PFIC2). 采用美国OMIGA公司DNA whole blood Kit试剂盒，从全血中抽提检测对象的基因组DNA. 从美国国立生物技术信息中心(NCBI)获得相应基因组序列，使用Primer primier5.0软件设计PCR扩增引物，由北京奥科生物技术有限公司合成. 测序仪采用美国3130XL Genetic Analyzer，运用Chromas Lite

表 1 35例遗传代谢性肝病患儿的病因分布及诊断依据

病因	*n*	构成比(%)	诊断依据
酪氨酸血症	9	25.7	血氨基酸分析提示血中酪氨酸浓度异常升高
瓜氨酸血症	4	11.4	血氨基酸分析提示血中瓜氨酸浓度异常升高
NICCD	4	11.4	*SLC25A13*基因存在第9号外显子851del4突变
二羧酸尿症	2	5.7	尿有机酸分析诊断
糖原累积病	2	5.7	肝穿刺病理学检查诊断
尼曼-匹克	5	14.3	骨髓穿刺见片尾大量尼曼-匹克细胞
Alagille综合征	3	8.6	*JAG1*基因存在杂合突变
PFIC	3	8.6	*ABCB11*基因、*ATP8B1*基因突变
高乳酸血症	3	8.6	血乳酸及尿有机酸诊断

NICCD: 肝内胆汁淤积症; PFIC: 进行性家族性肝内胆汁淤积.

■相关报道
近数十年遗传代谢病学研究结果显示, 能引起婴儿肝炎综合征的遗传代谢病种类很多, 发病机制复杂, 在临床上此类肝病不易与其他获得性肝损害相鉴别, 易造成误诊、误治. 早期诊断, 早期干预是改善预后的有效措施.

2.01软件查看测序结果. 运用Danman 6.0.40软件进行多重序列比对.

2 结果

2.1 遗传代谢性肝病的病因分析 综合临床表现及实验室检查结果, 筛查出35例遗传代谢性肝病, 其具体病因、例数及诊断依据如表1. 其中9例酪氨酸血症的血氨基酸分析结果均提示血中酪氨酸浓度异常升高, 具体浓度为144.3-168.6 μmol/L(正常值为41-64 μmol/L), 此外甲硫氨酸、组氨酸浓度也升高, 同时尿有机酸检测可见大量4羟基苯乳酸、4羟基苯丙酮酸、4羟基苯乙酸、琥珀酰丙酮. 4例瓜氨酸血症的血氨基酸分析提示血中瓜氨酸浓度异常升高, 范围为783.2-847.2 μmol/L(正常值为14-44 μmol/L), 甲硫氨酸、组氨酸浓度也升高, 同时血氨升高(120.0-176.2 μmol/L). 4例NICCD患儿, 2例*SLC25A13*基因存在第9号外显子851del4突变合并第6号内含子IVS6+5 G>A突变, 2例*SLC25A13*基因存在第9号外显子851del4突变合并第11号内含子IVS11+1 G>A突变. 3例Alagille综合征中2例为*JAG1*基因第6号内含子存在IVS6+1 G>A杂合突变, 1例为*JAG1*基因第4号外显子Thr169Met杂合突变. 3例PFIC患儿2例为*ATP8B1*基因第18号外显子存在Met674Thr突变, 1例为*ABCB11*基因第13号外显子均存在1331T>C杂合突变.

2.2 遗传代谢性肝病的临床特征与合并症

2.2.1 临床特征: 35例患儿中, 酪氨酸血症、NICCD、Alagille综合征和PFIC的患儿均表现为显著的胆汁淤积和肝脏肿大、质地改变、肝功能明显异常. 2例糖原累积病以肝脏增大为主, 总胆红素(total bilirubin, TB)及直接胆红素(direct bilirubin, DB)仅轻度升高. 5例尼曼-匹克病的患儿均有明显的肝脾肿大, 部分肝脏达髂窝, 黄疸不显著. 二羧酸尿症患儿中, 1例无明显临床表现, 体检时发现肝脏肿大, 肝功能异常, 轻度黄疸, 另外1例患儿除了这些临床特征外还有运动发育迟缓, 8 mo还竖头不稳. 4例瓜氨酸血症和3例高乳酸血症患儿均有胆汁淤积, 皮肤黄疸, 但肝脏大小及肝功能异常轻重不等(肝脏为右肋下3.0-7.0 cm, 谷丙转氨酶为74-269 U/L).

2.2.2 合并症: 35例遗传代谢性肝病患儿中有20例合并巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)感染, 均为尿CMV培养阳性. 8例合并有脐疝. 5例合并先天性心脏病(主要为房间隔缺损和室间隔缺损, 1例为主动脉瓣口狭窄). 3例合并急性支气管肺炎. 2例合并中度贫血(血红蛋白分别为64 g/L及70 g/L). 1例合并慢性腹泻. 1例合并有脑发育迟缓. 1例合并胆道闭锁(手术探查及组织病理活检证实).

3 讨论

婴儿肝炎综合征(infantile hepatitis syndrome, IHS)是具有婴儿期发病、肝细胞性黄疸、肝大且质地硬及肝酶增高等特点的一种综合征, 为多种病因引起以上临床特点的一组疾病[1]. 遗

■**创新盘点**
本研究回顾性分析华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科病房确诊的1岁以内的遗传代谢性肝病，分析其临床特征、病因分布、确诊手段及合并症，为今后临床工作提供了一定的思路.

传代谢性肝病是IHS的重要组成部分. 虽然遗传代谢性病因在IHS的所有发病原因中所占比例较少[2]，但种类繁多，发病机制复杂，检测手段有限，确诊困难，而临床特征又与其他原因所引起的IHS比较常无特异性，因此易造成误诊、漏诊.

本组资料35例遗传代谢性肝病中以氨基酸代谢异常为主，酪氨酸血症9例，瓜氨酸血症4例，NICCD 4例，三者共占48.5%. 酪氨酸血症Ⅰ型最常见，是一种常染色体隐性遗传病，总患病率约为1∶100000-1∶120000. 急性型多于生后6 mo内发病，出生后即可出现呕吐、腹泻、体质量不增、肝大、黄疸和腹水，可迅速进展为肝衰竭[3]. 酪氨酸血症Ⅰ型的治疗除了支持治疗及肝移植外，还要饮食控制，应给予低苯丙氨酸、低酪氨酸膳食(大豆蛋白配方奶或母乳喂养). 本组资料通过血氨基酸和尿有机酸诊断的9例酪氨酸血症患儿均为急性型，其中2例在生后10 d左右起病，黄疸持续不退，病情进展迅速，生后1 mo时出现肝衰竭. 另1例在3 mo时也出现肝衰竭.

Citrin缺陷导致的新生儿NICCD是*SLC25A13*基因突变导致的位于线粒体内膜上的载体蛋白Citrin的异常引起的先天性代谢性疾病，在新生儿或婴儿期发病，以肝大、黄疸、肝功能异常和低血糖为主要临床表现[4]. 该病最早由日本学者Ohura等[5]报道，近几年我国报道的病例逐渐增多. 分子流行病学调查显示我国人群SLC25A13突变携带率为1/63，其中江南地区高达1/48[6]. 中国人常见的基因变异类型有851-851del4、1638-1660 dup、1638 ins23、IVS6+5G>A、IVSl6 ins3kb等[7-9]，85ldel4是最常见的突变类型. 本组4例NICCD患儿不仅存在第9号外显子851del4突变，还合并第6号内含子IVS6+5 G>A突变(2例)和第11号内含子IVS11+1 G>A突变(2例). 临床予以饮食指导，给予无乳糖、添加中链三酰甘油的配方奶喂养，大多数患儿预后良好. 临床症状和体征多在1岁左右缓解[10]. 瓜氨酸血症是先天性尿素循环障碍的一种，属常染色体隐性遗传，根据酶水平的异常分为3型，经典型即新生儿或婴儿型分为Ⅰ型和Ⅲ型. Ⅱ型即成人型几乎都在成年期发病，由于肝脏内精氨酸琥珀酸合成酶水平低下所致[11]. 本病的临床表现主要与高氨血症导致的神经功能障碍有关，如嗜睡、惊厥和昏迷等. 国内报道的瓜氨酸血症在新生儿期起病，症状主要为喂养困难、嗜睡、抽搐、昏迷[12,13]. 本组资料4例瓜氨酸血症起病最早为生后4 d，最晚为生后2 mo，均以黄疸就诊，1例合并中度贫血，1例合并先天性心脏病. 4例患儿均无明显神经系统症状，可能与血氨升高不显著，还不足以引起神经功能障碍有关. 此外，这4例病例均为华中科技大学同济医学院附属同济医院开展基因检测前的病例，血氨基酸分析提示有血中瓜氨酸浓度异常升高，此外还有甲硫氨酸、组氨酸浓度高于正常，不能排除NICCD的可能.

糖代谢和脂肪代谢障碍引起的代谢性肝病并不少见，但在婴儿期起病并能确诊的并不多. 本组资料有2例糖原累积病和5例尼曼-匹克病. 这7例患儿共同的特点是以肝脏增大为主，而黄疸不显著，血中TB、DB仅轻度升高，而谷丙转氨酶、谷草转氨酶升高显著. 2例糖原累积病患儿临床无低血糖症状，空腹血糖亦正常，因其他原因就医时发现肝脏肿大. 因当时不能开展酶学诊断，因此2例患儿是依据肝穿刺肝组织病理学诊断. 5例尼曼-匹克病患儿1例伴有慢性腹泻，其他4例均因腹胀就诊，无明显发育落后或神经系统症状，最终依据骨髓穿刺见大量尼曼匹克细胞确诊.

Alagille综合征是婴儿期少见的常染色体显性遗传病，显性率达98%左右，但个体的表现度可有很大差别，主要表现为慢性胆汁淤积性肝病、心脏杂音、蝶形椎骨、角膜后胚胎环和特殊面容等多器官受累[14]. 患儿在新生儿期或婴儿早期即可出现高结合胆红素血症，瘙痒明显，肝脾逐渐增大. 肝活检示小叶间胆管减少或缺乏. 现已证实，大多数Alagille患者有位于染色体20p12的*Jagged1*基因突变[15]，少部分源于*Notch*受体突变[16]. 本组3例患儿均有明显胆汁淤积、肝脏肿大，有2例有明显皮肤瘙痒，2例有心脏杂音，均无蝶形椎骨. 其中1例行肝穿刺病理学检查：七八个汇管区内未见胆管，其余汇管区有小胆管和胆管上皮变性；汇管区轻-中度纤维化散在慢性炎性细胞浸润. 基因分析结果为*JAG1*基因第6号内含子存在IVS6+1 G>A杂合突变. 另1例最初疑诊为胆道闭锁，转小儿外科行剖腹探查，术中见胆囊色白、体积萎缩呈条索状，切开肝门部纤维块，未见胆汁样液体流出. 肝脏病理提示为胆管增生，管腔内

胆汁淤积. 基因分析为*JAG1*基因第4号外显子Thr169Met杂合突变, 考虑Alagille综合征合并有胆道闭锁.

进行性家族性PFIC是常染色体隐性遗传性疾病, 是由于各种基因突变造成肝细胞和胆管上皮细胞上各功能蛋白的生成、修饰及调控缺陷导致肝细胞性胆汁淤积[17]. 该病分为3型: (1)PFIC1, 又称Byler病, 由*ATP8B1*基因突变引起, 突变基因*ATP8B1*位于常染色18q21-q22; (2)PFIC2源于编码胆盐排泄泵(bile salt export pump, BSEP)蛋白的基因*ABCB11*突变, *BSEP*基因位于常染色体2q24; (3)PFIC3为编码多药耐药糖蛋白的*ABCB4*基因的突变[17]. PFIC1和PFIC2出生后数月就有胆汁淤积的症状, 血清γ-GT降低或正常是此二型的标志性特征. PFIC3患儿起病的年龄从1 mo-20岁后不等, 平均为3岁半内, 较前二型晚, 瘙痒较轻微, 而血清γ-GT显著升高[18]. 本组3例患儿临床均表现为胆汁淤积, 肝脏肿大, 血清γ-GT正常或轻度升高(35-85 U/L, 正常值为10-71 U/L), 最终通过基因检测诊断, 2例为*ATP8B1*基因第18号外显子存在Met674Thr突变, 1例为*ABCB11*基因第13号外显子均存在1331T>C杂合突变.

值得一提的是35例遗传代谢性肝病患儿有20例合并有CMV感染. 由于CMV感染是婴儿肝炎综合征最常见的原因, 因此对婴儿肝炎综合征常规检查尿CMV培养并发现为阳性时, 作为一名临床医师不能单单满足于此诊断, 还要进一步考虑有无合并其他病因, 尤其是遗传代谢性疾病.

遗传代谢性肝病种类繁多, 仅依靠临床、普通生化和辅助检查诊断很困难, 必须还依靠特殊的生化检查. 很多遗传代谢性肝病的诊断还有赖于肝穿刺活检, 而这些有创性检查往往难以被患儿家长接受. 因此为进一步明确诊断或进行疾病分型, 酶学分析和基因检测则具有一定优势. 若在患儿首次发作时既能进行遗传代谢病的筛查, 得到早期诊断, 以利正确治疗和预防, 则可大大降低致残率和病死率.

4 参考文献

1 陈洁, 许春娣, 黄志华. 儿童胃肠肝胆胰疾病. 第1版. 北京: 中国医药科技出版社, 2006: 273-276, 335-368

2 魏珉, 邱正庆. 以肝脏受损为主的遗传代谢病. 中国实用儿科杂志 2009; 24: 164-168

3 Croffie JM, Gupta SK, Chong SK, Fitzgerald JF. Tyrosinemia type 1 should be suspected in infants with severe coagulopathy even in the absence of other signs of liver failure. *Pediatrics* 1999; 103: 675-678 [PMID: 10049978 DOI: 10.1542/peds.103.3.675]

4 Saheki T, Kobayashi K. Mitochondrial aspartate glutamate carrier (citrin) deficiency as the cause of adult-onset type II citrullinemia (CTLN2) and idiopathic neonatal hepatitis (NICCD). *J Hum Genet* 2002; 47: 333-341 [PMID: 12111366 DOI: 10.1007/s100380200046]

5 Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, Nishi I, Abukawa D, Sakamoto O, Iinuma K, Saheki T. Neonatal presentation of adult-onset type II citrullinemia. *Hum Genet* 2001; 108: 87-90 [PMID: 11281457]

6 Tabata A, Sheng JS, Ushikai M, Song YZ, Gao HZ, Lu YB, Okumura F, Iijima M, Mutoh K, Kishida S, Saheki T, Kobayashi K. Identification of 13 novel mutations including a retrotransposal insertion in SLC25A13 gene and frequency of 30 mutations found in patients with citrin deficiency. *J Hum Genet* 2008; 53: 534-545 [PMID: 18392553 DOI: 10.1007/s10038-008-0282-2]

7 张绍仁, 王晓红, 朱启镕, 刘丽艳, 王建设. 婴儿肝内胆汁淤积症SLC25A13基因突变分析. 中国循证儿科杂志 2008; 3: 190-195

8 邢雅智, 邱文娟, 叶军, 韩连书, 许姗姗, 张惠文, 高晓岚, 王瑜, 顾学范. Citrin缺陷导致的新生儿肝内胆汁淤积症临床和SLC25A13基因突变的研究. 中华医学遗传学杂志 2010; 27: 180-185

9 宋元宗, 牛饲美晴, 盛建胜, 饭岛干雄, 小林圭子. Citrin缺陷导致的新生儿肝内胆汁淤积症家系SLC25A13基因突变研究. 中华儿科杂志 2007; 45: 408-412

10 Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, Abukawa D, Sakamoto O, Tsuchiya S, Saheki T. Clinical pictures of 75 patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD). *J Inherit Metab Dis* 2007; 30: 139-144 [PMID: 17323144 DOI: 10.1007/s10545-007-0506-1]

11 Kim IS, Ki CS, Kim JW, Lee M, Jin DK, Lee SY. Characterization of late-onset citrullinemia 1 in a Korean patient: confirmation by argininosuccinate synthetase gene mutation analysis. *J Biochem Mol Biol* 2006; 39: 400-405 [PMID: 16889683 DOI: 10.5483/BMBRep.2006.39.4.400]

12 陈玉林, 余章斌, 韩树萍, 朱春, 邱玉芳, 沙莉, 董小玥, 孙青. 新生儿瓜氨酸血症1例报道并文献复习. 中国循证儿科杂志 2010; 5: 452-457

13 尹向云, 薛辛东, 富建华. 先天性尿素循环障碍–新生儿瓜氨酸血症1例. 中国实用儿科杂志 2010; 25: 401-402

14 Subramaniam P, Knisely A, Portmann B, Qureshi SA, Aclimandos WA, Karani JB, Baker AJ. Diagnosis of Alagille syndrome-25 years of experience at King's College Hospital. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 52: 84-89 [PMID: 21119543 DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181f1572d]

15 Warthen DM, Moore EC, Kamath BM, Morrissette JJ, Sanchez-Lara PA, Piccoli DA, Krantz ID, Spinner NB. Jagged1 (JAG1) mutations in Alagille syndrome: increasing the mutation detection rate. *Hum Mutat* 2006; 27: 436-443 [PMID: 16575836 DOI: 10.1002/humu.20310]

16 Wang JS, Wang XH, Zhu QR, Wang ZL, Hu XQ, Zheng S. Clinical and pathological characteristics of Alagille syndrome in Chinese children. *World*

■应用要点

以肝脏受损为主的遗传代谢病临床罕见, 多数医师不甚熟悉其临床特点. 了解婴儿期常见的遗传代谢性肝病的病因、临床特征、合并症及其确诊手段, 对早期诊断, 正确治疗, 降低致残率和病死率, 具有重要的临床意义.

■同行评价
本文样本量较大，所有技术较先进，有一定的临床指导意义.

J Pediatr 2008; 4: 283-288 [PMID: 19104892 DOI: 10.1007/s12519-008-0051-5]
17 Davit-Spraul A, Gonzales E, Baussan C, Jacquemin E. Progressive familial intrahepatic cholestasis. *Orphanet J Rare Dis* 2009; 4: 1 [PMID: 19133130 DOI: 10.1186/1750-1172-4-1]
18 舒赛男, 骆冉. 进行性家族性肝内胆汁淤积症诊治及研究进展. 中国实用儿科杂志 2013; 4: 300-304

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部.

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 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.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 267-271
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

不同血清25羟维生素D水平慢性乙型病毒性肝炎患者外周血T淋巴细胞亚群的比较

张 龙, 褚燕君, 林 姝, 王 锦

张龙, 褚燕君, 林姝, 王锦, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052
作者贡献分布: 本课题由张龙与褚燕君设计; 研究过程由张龙、褚燕君、林姝及王锦操作完成; 数据分析由张龙、林姝及王锦完成; 本论文写作由张龙与褚燕君完成.
通讯作者: 褚燕君, 教授, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科. 530176967@qq.com
电话: 0371-66862082
收稿日期: 2014-09-20 修回日期: 2014-11-06
接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2015-01-18

Comparison of peripheral blood T lymphocyte subsets in chronic hepatitis B patients with different serum 25-hydroxyvitamin D levels

Long Zhang, Yan-Jun Chu, Shu Lin, Jin Wang

Long Zhang, Yan-Jun Chu, Shu Lin, Jin Wang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China
Correspondence to: Yan-Jun Chu, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. 530176967@qq.com
Received: 2014-09-20 Revised: 2014-11-06
Accepted: 2014-11-18 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of vitamin D on peripheral blood T lymphocyte subsets in chronic hepatitis B patients.

METHODS: The clinical data for 93 patients with chronic hepatitis B were analyzed. These patients were divided into three groups based on serum 25-hydroxyvitamin D level. Serum 25-hydroxyvitamin D and hepatitis B virus serological markers were determined by electrochemical luminescence. Subsets of T lymphocytes were determined by flow cytometry.

RESULTS: The proportion of $CD3^+$, $CD4^+$, $CD56^+$ T lymphocyte and the ratio of $CD4^+/CD8^+$ significantly decreased ($P < 0.05$) as the level of 25-hydroxyvitamin D increased. The positive rate of HBeAg also decreased with the increase in serum vitamin D, and the difference between the high and low level 25-hydroxyvitamin D groups was significant (66.7% *vs* 40.1%, $\chi^2 = 3.85$, $P = 0.049$).

CONCLUSION: Vitamin D may play a part in the immune tolerance in the nature course of chronic HBV infection, and this finding may shed light on the immunotherapy of chronic hepatitis B.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis B; Vitamin D; T lymphocyte subsets

Zhang L, Chu YJ, Lin S, Wang J. Comparison of peripheral blood T lymphocyte subsets in chronic hepatitis B patients with different serum 25-hydroxyvitamin D levels. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 267-271 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/267.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.267

摘要

目的: 探讨维生素D在慢性乙型病毒性肝炎发病机制中对外周血T淋巴细胞免疫功能的影响.

方法: 收集慢性乙型病毒性肝炎患者93例, 其中男46例, 女47例, 年龄23-46岁. 采用电化学发光发测定血清25羟维生素D和乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)血清标志物, 采用免疫荧光标记法测定外周血T淋巴细胞亚群数目. 根据血清维生素D水平将患者分为维生素D低水平组、中水平组和高水平组, 分别对3组患者T淋巴细胞亚群数目、HBeAg阳性率、肝功能等数据进行统计分析.

结果: 3组患者在性别、年龄、HBV感染时间、HBV复制水平的两两比较上无统计学差

■背景资料
近年来随着分子生物学的发展, 维生素D在免疫功能方面的作用得到进一步研究. 研究表明, 维生素D与细胞因子的作用机制类似, 通过细胞信号传导通路广泛参与机体免疫系统的调节, 某些免疫细胞, 如单核巨噬细胞等, 含有维生素D合成酶, 可以将血清中低活性的维生素D转换成高活性1,25-$(OH)_2$维生素D_3, 进而通过自分泌或旁分泌在局部参与免疫细胞功能的调节. 而对于T淋巴细胞亚群的体外试验表明, 维生素D是T淋巴细胞迁移和归巢的重要调节因素, 还参与T淋巴细胞的分化和诱导免疫耐受的产生.

■同行评议者
胡国信, 副教授, 主任医师, 北京大学深圳医院; 王凯, 教授, 山东大学齐鲁医院肝病科

■研发前沿
目前，维生素D在病毒性肝炎的研究方面尚处于探索阶段，在慢性丙型病毒性肝炎的研究方面得到了可喜的成果，即维生素D缺乏与慢性丙型病毒病毒肝炎抗病毒无应答相关，而补充维生素D后可提高抗病毒的应答率，改善预后．现在亟待研究维生素D通过何种机制调节机体免疫功能达到抗病毒作用．

■相关报道
Farnik等发现低水平血清25羟维生素D与HBV高复制有关，Mahamid等研究发现正常血清维生素D水平同乙型肝炎表面抗原血清转换有关，这些都间接说明维生素D在慢性乙型病毒性肝炎发病中同机体免疫功能存在联系，为进一步研究其发病机制提供了思路．

异．维生素低水平组、中等水平组及高水平组的HBeAg阳性率逐渐降低，低水平组与中等水平组、中等水平组与高水平两组比较差异无统计学意义，低水平组与高水平组比较差异有统计学意义(P<0.05)．低水平组、中水平组和高水平组的$CD3^+$、$CD4^+$、$CD56^+$、$CD4^+/CD8^+$显著性下降，组间比较差异有统计学意义(P<0.05)，各组$CD8^+$两两比较无统计学差异．

结论：维生素D可能参与慢性乙型病毒性肝炎免疫功能的调节并与免疫耐受的形成有关，这可为慢性乙型病毒性肝炎发病机制的研究提供新的思路．

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有．

关键词：慢性乙型病毒性肝炎；维生素D；T淋巴细胞亚群

核心提示：维生素D与机体免疫功能之间存在密切的联系，在本研究中发现维生素D同慢性乙型病毒性肝炎的免疫耐受性存在相关性，T淋巴细胞亚群的测定也反映了维生素D对免疫功能的影响．

张龙，褚燕君，林姝，王锦．不同血清25羟维生素D水平慢性乙型病毒性肝炎患者外周血T淋巴细胞亚群的比较．世界华人消化杂志 2015; 23(2): 267-271 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/267.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.267

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染呈世界流行，全球有20亿人曾感染过HBV，其中3.5亿人为慢性HBV感染，每年约有100万人死于HBV相关的肝衰竭或原发性肝癌[1]．HBV感染时病毒的消长和肝脏病变的发展取决于免疫应答的性质、强度和范围，有效的T细胞应答是控制病毒感染的关键，目前关于HBV感染后机体免疫功能的调节机制还不明确[2,3]．维生素D是一种调节机体钙磷代谢的激素，25-羟维生素D被认为是评估机体维生素D水平最准确的指标[4,5]，根据美国Institute of Medicine标准[6]，25-羟维生素D>20 ng/mg时，机体能正常发挥调节钙磷平衡及骨骼代谢等作用．近年来研究[7,8]发现，维生素D还是一种新型的内分泌-免疫调节激素，对固有免疫和细胞免疫具有重要调节作用，可以从多方面影响机体的免疫功能，其对淋巴细胞介导的疾病的影响，如自身免疫型疾病，该类研究表明，给予系统性红斑狼疮、溃疡性结肠炎患者口服维生素D衍生物可显著降低炎症活动，改善临床症状，降低发病率[9,10]．维生素D在慢性病毒性肝炎的研究中还处于探索阶段，在慢性丙型病毒性肝炎的研究表明，体外实验中维生素D能抑制丙型肝炎病毒复制[11]，还有研究[12]证实，维生素D水平与患者抗病毒应答率和预后有关．本研究通过不同血清维生素D水平(低水平、中等水平、高水平组)慢性乙型病毒性肝炎患者外周血淋巴细胞亚群的比较来探究维生素D对慢性乙型病毒性肝炎患者免疫功能的影响．

1 材料和方法

1.1 材料 93例HBV感染患者来自郑州大学第一附属医院2014-01/2014-08门诊及住院患者，其中男46例，女47例，年龄23-46岁．所有患者均符合中华医学会肝病学分会和感染病学分会2010年制订的《乙型肝炎防治指南》中慢性乙型病毒性肝炎标准[13]，且均未服用抗病毒药物、免疫调节剂，并排除合并酒精性肝炎、非酒精性脂肪肝、自身免疫性肝病、遗传代谢性肝病、其他病毒性肝炎等疾病，无合并急慢性感染、糖尿病、冠心病、肾脏疾病、风湿病、肺纤维化等疾病．

1.2 方法 所有患者于清晨空腹静脉采血5 mL，EDTA抗凝．T淋巴细胞亚群检测采用流式细胞分析技术，仪器购自德国Partec公司；所用试剂由晶美生物工程有限公司生产；血清25-羟维生素D和HBV血清病毒学标志物检测采用电化学发光法，试剂盒购自罗氏诊断产品(上海)有限公司；HBV DNA检测采用荧光定量聚合酶链反应技术，仪器购自美国伯乐公司生产Icycler IQ，试剂由深圳匹基生物工程股份有限公司提供；血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)采用日本Olympus全自动生化分析仪检测，试剂由罗氏诊断产品(上海)有限公司提供．HBV DNA>5×10^2 copies/mL定为阳性，HBV DNA<5×10^2 copies/mL定为阴性．根据血清25-羟维生素D，将所有患者分为3组，即低水平组：血清25-羟维生素D<20 ng/mL，中等水平组：20 ng/mL≤25-羟维生素D<40 ng/mL，高水平组：25-羟维生素D≥40 ng/mL．

统计学处理 采用SAS9.1统计软件进行数据处理．定量资料以mean±SD表示，组间比较采用t检验，因HBV DNA数值分布不符合正态分布，统计检验前先予以对数转化．定性资料以频数

表 1 维生素D正常水平组与缺乏组临床及实验数据比较

临床资料	维生素D低水平组	维生素D中水平组	维生素D高水平组
n	30	36	27
性别(男)	17	16	13
年龄(岁)	32.50 ± 5.95	34.39 ± 5.81	32.67 ± 5.66
HBV感染时间(年)	23.87 ± 5.60	24.69 ± 5.69	25.04 ± 4.17
ALT(U/L)	97.83 ± 5.09	99.72 ± 5.70	98.44 ± 4.40
AST(U/L)	37.20 ± 5.98	37.78 ± 8.65	37.93 ± 6.66
HBeAg阳性数*n*(%)	20(66.7)	17(47.2)	11(40.1)[a]
HBV DNA(logIU/mL)	4.73 ± 1.07	5.27 ± 0.75	4.99 ± 0.92

[a]*P*<0.05 *vs* 维生素D低水平组. HBV: 乙型肝炎病毒; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; HBeAg: 乙型肝炎病毒e抗原. HBV DNA以log10IU/mL为单位.

表 2 血清25羟维生素D低、中、高水平组患者外周血T淋巴细胞亚群检测结果 (mean ± SD)

分组	$CD3^+$(%)	$CD4^+$(%)	$CD8^+$(%)	$CD4^+/CD8^+$	$CD56^+$(%)
低水平组	73.04 ± 4.39	42.93 ± 4.43	27.73 ± 4.35	1.72 ± 0.17	9.56 ± 3.12
中水平组	69.33 ± 3.95[a]	39.22 ± 4.02[a]	26.75 ± 3.94	1.57 ± 0.16[a]	8.11 ± 1.13[a]
高水平组	66.73 ± 4.44[ac]	36.83 ± 4.49[ac]	26.33 ± 3.99	1.47 ± 0.19[ac]	7.21 ± 2.31[ac]

[a]*P*<0.05 *vs* 低水平组; [c]*P*<0.05 *vs* 中水平组.

和率表示, 组间差异比较采用χ^2检验. 以*P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 3组数据一般资料的比较 血清25羟维生素D低水平组、中等水平组及高水平组3组数据在性别、年龄、HBV感染时间、HBV病毒复制水平的两两比较上无统计学差异. 低水平组、中等水平组及高水平组的HBeAg阳性率逐渐降低, 低水平组与中等水平组、中等水平组与高水平两组比较差异无统计学意义, 低水平组与高水平组比较差异有统计学意义(*P*<0.05)(表1).

2.2 T淋巴细胞各组之间比较 低水平组、中水平组和高水平组的$CD3^+$、$CD4^+$、$CD56^+$、$CD4^+/CD8^+$显著性下降, 组间比较差异有统计学意义(*P*<0.05), 各组$CD8^+$两两比较无统计学差异(表2).

3 讨论

慢性乙型病毒性肝炎是一种异质性疾病, 不同患者病毒复制水平高低不等, 肝组织炎症轻重各异, 反映机体对病毒不同的免疫状态. 对HBV感染患者而言, 机体免疫功能和病毒复制决定肝脏病变, 两者间的平衡制约着感染的转归, 其中有效的T细胞应答是控制病毒感染的关键, 对慢性乙型病毒性肝炎的发展有着重要的影响[3,14]. 因此, 对T淋巴细胞亚群的研究, 尤其是机体对其调节机制, 仍是慢性乙型病毒性肝炎研究中的热点.

T淋巴细胞亚群是目前临床上最常用的反映免疫功能状态的指标, 根据T细胞表面CD分子表达可将成熟的T淋巴细胞分为$CD4^+$和$CD8^+$细胞两大类, 每一类均为非均一的细胞群体, 进一步可分为效应性T细胞或调节性T细胞, T细胞总数或不同T细胞亚群的绝对数或比值发生改变, 可视为免疫异常, 并可能与某些疾病的发生与发展有关[15].

维生素D的经典作用是参与机体钙磷代谢的调节, 近些年来分子生物学研究表明, 维生素D受体几乎存在于在机体的每种细胞, 包括免疫系统中的各种细胞, 如单核巨噬细胞、树突状细胞、B/T淋巴细胞等[16,17], 这揭开了探索维生素D对机体免疫系统调节作用的序幕. 随后的研究[18]表明, 维生素D与细胞因子的作用机制类似, 通过细胞信号传导通路广泛参与机体免疫系统的调节. 某些免疫细胞, 如单核巨噬细胞等, 含有维生素D合成酶, 可以将血清中低活性的维生素D转换成高活性1,25-$(OH)_2$维生素D_3, 进而通

■创新盘点
本文直接从维生素D和T淋巴细胞亚群两方面来探究维生素D在慢性乙型病毒性肝炎发病过程中与免疫功能的关系.

■应用要点
进一步明确维生素D的调节机制后可为乙型病毒性肝炎的治疗提供新的方案.

过自分泌或旁分泌在局部参与免疫细胞功能的调节[19]. 而对于T淋巴细胞亚群的体外试验表明, 维生素D是T淋巴细胞迁移和归巢的重要调节因素, 还参与T淋巴细胞的分化和诱导免疫耐受的产生[20-22]. 研究[12,23]证实, 慢性丙型病毒性肝炎患者普遍存在维生素D缺乏且维生素缺乏与抗病毒治疗无应答相关, 补充维生素D后可提高抗病毒应答率.

本研究从维生素D和T淋巴细胞亚群两方面来探究维生素D在慢性乙型病毒性肝炎发病过程中的影响. Farnik等[24]发现低水平血清25羟维生素D与HBV高复制有关, 我们研究结果示, 随着外周血25羟维生素D水平的升高, HBeAg阳性率显著性降低, 由于HBeAg阳性反映机体对HBV存在免疫耐受性和HBV高复制水平, 这与上述结论类似, 而本实验结果中各组在HBV病毒复制水平中无统计学差异可能与样本量不足有关. 此外, 从维生素D低水平组到中水平组再到高水平组, $CD3^+$、$CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$、$CD56^+$逐渐下降, 这说明慢性乙型肝炎患者存在免疫功能异常且与维生素D存在相关性, 也可能与HBV复制有关. 以上两方面结果是否存在因果联系, 本研究不能定论.

总之, 维生素D具有调节机体免疫功能和钙磷代谢的双重作用, 而本研究揭示血清维生素D对慢性乙型病毒性肝炎患者T淋巴细胞亚群存在一定影响, 这可为慢性乙型病毒性肝炎发病机制的研究提供新的思路.

4 参考文献

1 Shepard CW, Simard EP, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. *Epidemiol Rev* 2006; 28: 112-125 [PMID: 16754644]

2 Shimizu Y. T cell immunopathogenesis and immunotherapeutic strategies for chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2443-2451 [PMID: 22654441]

3 刘明, 沈韻, 陆颖, 项明洁. 慢性乙型肝炎病毒感染者外周血T细胞亚群变化与其血清HBV DNA的水平分析. 中国实验诊断学 2008; 2: 232-235

4 Heaney RP. Assessing vitamin D status. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2011; 14: 440-444 [PMID: 21832900]

5 Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266-281 [PMID: 17634462]

6 Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, Gallagher JC, Gallo RL, Jones G, Kovacs CS, Mayne ST, Rosen CJ, Shapses SA. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 53-58 [PMID: 21118827 DOI: 10.1210/jc.2010-2704]

7 Di Rosa M, Malaguarnera M, Nicoletti F, Malaguarnera L. Vitamin D3: a helpful immuno-modulator. *Immunology* 2011; 134: 123-139 [PMID: 21896008 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2011.03482.x]

8 Maxmen A. Nutrition advice: the vitamin D-lemma. *Nature* 2011; 475: 23-25 [PMID: 21734684 DOI: 10.1038/475023a]

9 Stio M, Martinesi M, Bruni S, Treves C, Mathieu C, Verstuyf A, d'Albasio G, Bagnoli S, Bonanomi AG. The Vitamin D analogue TX 527 blocks NF-kappaB activation in peripheral blood mononuclear cells of patients with Crohn's disease. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103: 51-60 [PMID: 17049230]

10 Heine G, Drozdenko G, Lahl A, Unterwalder N, Mei H, Volk HD, Dörner T, Radbruch A, Worm M. Efficient tetanus toxoid immunization on vitamin D supplementation. *Eur J Clin Nutr* 2011; 65: 329-334 [PMID: 21224870 DOI: 10.1038/ejcn.2010.276]

11 Gal-Tanamy M, Bachmetov L, Ravid A, Koren R, Erman A, Tur-Kaspa R, Zemel R. Vitamin D: an innate antiviral agent suppressing hepatitis C virus in human hepatocytes. *Hepatology* 2011; 54: 1570-1579 [PMID: 21793032 DOI: 10.1002/hep.24575]

12 Petta S, Cammà C, Scazzone C, Tripodo C, Di Marco V, Bono A, Cabibi D, Licata G, Porcasi R, Marchesini G, Craxí A. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010; 51: 1158-1167 [PMID: 20162613 DOI: 10.1002/hep.23489]

13 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 中国肝脏病杂志(电子版) 2011; 1: 40-56

14 Chisari FV, Isogawa M, Wieland SF. Pathogenesis of hepatitis B virus infection. *Pathol Biol* (Paris) 2010; 58: 258-266 [PMID: 20116937 DOI: 10.1016/j.patbio.2009.11.001]

15 龚非力, 沈关心. 医学免疫学. 第3版. 北京: 科学出版社, 2009: 118-124

16 Provvedini DM, Tsoukas CD, Deftos LJ, Manolagas SC. 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human leukocytes. *Science* 1983; 221: 1181-1183 [PMID: 6310748]

17 Battault S, Whiting SJ, Peltier SL, Sadrin S, Gerber G, Maixent JM. Vitamin D metabolism, functions and needs: from science to health claims. *Eur J Nutr* 2013; 52: 429-441 [PMID: 22886046 DOI: 10.1007/s00394-012-0430-5]

18 Hewison M, Gacad MA, Lemire J, Adams JS. Vitamin D as a cytokine and hematopoetic factor. *Rev Endocr Metab Disord* 2001; 2: 217-227 [PMID: 11705327]

19 Baeke F, Takiishi T, Korf H, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol* 2010; 10: 482-496 [PMID: 20427238 DOI: 10.1016/j.coph.2010.04.001]

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 Topilski I, Flaishon L, Naveh Y, Harmelin A, Levo Y, Shachar I. The anti-inflammatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on Th2 cells in vivo

are due in part to the control of integrin-mediated T lymphocyte homing. *Eur J Immunol* 2004; 34: 1068-1076 [PMID: 15048717]
22 Mathieu C, Adorini L. The coming of age of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) analogs as immunomodulatory agents. *Trends Mol Med* 2002; 8: 174-179 [PMID: 11927275]
23 Lange CM, Bojunga J, Ramos-Lopez E, von Wagner M, Hassler A, Vermehren J, Herrmann E, Badenhoop K, Zeuzem S, Sarrazin C. Vitamin D deficiency and a CYP27B1-1260 promoter polymorphism are associated with chronic hepatitis C and poor response to interferon-alfa based therapy. *J Hepatol* 2011; 54: 887-893 [PMID: 21145801 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.08.036]
24 Farnik H, Bojunga J, Berger A, Allwinn R, Waidmann O, Kronenberger B, Keppler OT, Zeuzem S, Sarrazin C, Lange CM. Low vitamin D serum concentration is associated with high levels of hepatitis B virus replication in chronically infected patients. *Hepatology* 2013; 58: 1270-1276 [PMID: 23703797 DOI: 10.1002/hep.26488]

■同行评价
从维生素D和T淋巴细胞亚群两方面来探索维生素D在慢性乙型病毒性肝炎发病过程中与免疫功能的关系, 研究维生素D对HBV感染的影响, 富有科学性, 有一定新颖性, 值得深入研究.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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29个省、市、自治区、特别行政区和美国的410位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助.

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

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

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

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 272-277
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

超声造影在肝脏局灶性病变良恶性诊断中的临床价值

张 煜, 周 静, 李明星

■背景资料
由于肝脏组织有肝动脉及门静脉双重血供, 超声造影能实时观察3个相互重叠的血管时相. 目前超声造影能明显提高肝脏局灶性病变的检出和鉴别诊断能力, 成为最重要的应用领域. 超声造影的敏感性相当于甚至在一定程度上超过了增强计算机断层扫描(computed tomography, CT).

张煜, 周静, 李明星, 泸州医学院附属医院超声科 四川省泸州市 646000
张煜, 主治医师, 主要从事腹部超声诊断及超声造影的相关研究.
作者贡献分布: 张煜负责研究过程操作、资料收集及论文撰写; 周静负责研究过程操作、论文设计及文章审核、校对; 李明星负责论文写作指导.
通讯作者: 周静, 讲师, 646000, 四川省泸州市太平街25号, 泸州医学院附属医院超声科. 726874621@qq.com
电话: 0830-3165230
收稿日期: 2014-10-08 修回日期: 2014-11-03
接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2015-01-18

Clinical value of contrast-enhanced ultrasonography in differential diagnosis of benign and malignant focal liver lesions

Yu Zhang, Jing Zhou, Ming-Xing Li

Yu Zhang, Jing Zhou, Ming-Xing Li, Department of Ultrasound, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Correspondence to: Jing Zhou, Lecturer, Department of Ultrasound, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Street, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 726874621@qq.com
Received: 2014-10-08 Revised: 2014-11-03
Accepted: 2014-11-12 Published online: 2015-01-18

Abstract
AIM: To assess the clinical value of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in the differentiation of benign and malignant focal liver lesions.

METHODS: Two hundred and sixty-two patients with focal liver lesions were examined by conventional ultrasound and CEUS. Imaging findings were compared with pathology results.

RESULTS: The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, and diagnostic coincidence rate of conventional ultrasound in the diagnosis of benign and malignant focal liver lesions were 88.8%, 75.2%, 76.6%, 88.0% and 81.7%, respectively, and the corresponding values for CEUS were 99.2%, 98.5%, 98.4%, 99.3% and 98.8%, respectively. There was a statistical difference for each index between the two methods ($P < 0.05$ for all). CEUS had good consistency with pathological examination in the diagnosis of benign and malignant focal liver lesions.

CONCLUSION: Contrast-enhanced ultrasound is of high clinical value in qualitative diagnosis of focal liver lesions.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Contrast-enhanced ultrasound; Focal liver lesion; Qualitative diagnosis

Zhang Y, Zhou J, Li MX. Clinical value of contrast-enhanced ultrasonography in differential diagnosis of benign and malignant focal liver lesions. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 272-277 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/272.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.272

摘要
目的: 进一步研究超声造影在肝脏局灶性病变良恶性鉴别诊断中的价值.

方法: 选取肝局灶性病变患者262例为研究对象, 行常规超声和超声造影检查, 并与病理结果做对比.

结果: 常规超声及超声造影诊断肝脏局灶性病变良恶性的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、诊断符合率分别为88.8%、75.2%、76.6%、88.0%、81.7%及99.2%、98.5%、98.4%、99.3%、98.8%, 二者比较差异有统计学意义(P<0.05). 超声造影与病理诊断一致性较好($Kappa$ = 0.976).

结论: 超声造影提高了对肝脏局灶性病变的定性诊断能力, 具有重要临床价值.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 超声造影; 肝脏局灶性病变; 鉴别诊断

核心提示: 本文应用超声造影技术对肝局灶性病

■同行评议者
程树群, 教授, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

变行检查, 操作简便易行, 根据超声造影表现的不同并结合病史及临床相关资料, 做出病变的定性诊断, 超声诊断准确性明显提高.

张煜, 周静, 李明星. 超声造影在肝脏局灶性病变良恶性诊断中的临床价值. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 272-277 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/272.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.272

0 引言

常规彩色多普勒超声可探及肝局灶性病变的形态、大小及血流情况, 为病变的鉴别诊断提供了客观依据, 但由于不能显示整个病变组织的血流灌注方式, 因而在病变的定性方面存在一定局限性. 随着超声造影技术的不断发展以及超声造影剂SonoVue的应用, 对肝脏局灶性病变的鉴别诊断具有较大价值且明显提高检出率[1]. 本研究通过对262例肝内局灶性病变行超声造影检查并探讨其在定性诊断中的价值.

1 材料和方法

1.1 材料 2009-07/2013-06来四川泸州医学院附属医院就诊的262例肝局灶性病变患者, 男192例, 女70例, 年龄30-78岁, 平均55.0岁±12.5岁. 病灶直径1.0-10.4 cm, 平均3.5 cm±2.7 cm. 临床无特殊症状者126例, 乙型肝炎病史者85例, 确诊肝硬化者31例, 脂肪肝患者20例. 根据病理类型可分为: 肝脏良性病变137例(血管瘤72例, 局灶性结节性增生11例, 肝硬化增生结节28例, 肝局限性脂肪浸润或者缺失灶20例, 孤立性坏死结节3例, 肝脓肿3例); 恶性病变125例(肝细胞性肝癌75例, 肝内胆管细胞性肝癌23例, 转移性肝癌27例). 使用GE Logiq E9彩色多普勒超声诊断仪并配备实时谐波灰阶造影成像技术, 探头中心频率3.5 HMz, 机械指数(mechanical index, MI)0.08-0.14. 超声造影剂采用意大利Bracco公司的声诺维(SonoVue).

1.2 方法 所有患者检查前均禁食6-8 h. 造影前先行常规超声检查肝脏病灶的形态、大小、回声、内部及周边血流情况, 做出初步诊断. 然后行超声造影检查, 启用造影模式并获得造影最佳切面. 抽取生理盐水5 mL注入药瓶内配置成六氟化硫悬浮液, 振荡混匀后抽取2.4 mL, 经肘部浅静脉以团注方式注入体内随即注入5 mL生理盐水冲洗, 注射同时打开计时器, 病灶行动脉相、门静脉相、延迟相全时相观察, 造影时间不少于4 min, 动态图像存储于仪器硬盘中. 回放造影资料并由两位医师共同读片分析. 超声造影诊断肝脏局灶性病变良、恶性的标准依据2008版欧洲超声医学与生物学联合会(European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology, EFSUMB)超声造影使用规范和临床应用指南[2].

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件, 计算常规超声与超声造影对肝脏局灶性病变定性诊断灵敏性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、诊断符合率; 二者可靠性的比较行χ^2检验. 常规超声、超声造影与病理诊断的一致性行*Kappa*检验, *Kappa*值越接近1, 证明一致性越好. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 肝脏局灶性病变良恶性超声造影表现 良性组: 共计137例. 其中肝血管瘤72例, 造影表现(图1)动脉相病灶周边呈环状或结节状增强, 门静脉相造影剂持续向心性填充, 延迟相整体增强. 局灶性结节性增生11例, 其中9例病灶造影的典型表现为动脉相中心轮幅状增强或偏心状增强, 可探及供养动脉, 门静脉相持续高增强, 延迟相等增强. 肝硬化增生结节28例的造影表现动脉相、门脉相、延迟相均呈等增强. 孤立性坏死结节3例造影表现动脉相、门脉相、延迟相均未见造影剂进入. 肝局限性脂肪浸润或者缺失灶20例超声造影表现动脉相、门脉相、延迟相均为等增强. 肝脓肿(未液化型)3例造影表现为动脉相病灶周边增强, 病灶内于动脉相、门静脉相、延迟相均未见造影剂进入, 病灶与周围组织对比清晰.

恶性组: 共计125例. 其中肝细胞性肝癌75例, 72例病灶造影表现(图2)动脉相高增强或低增强, 动脉相晚期、门静脉相、延迟相造影剂退出, 呈典型的“快进快出”, 3例病灶造影表现动脉相快速增强, 造影剂消退缓慢, 于门静脉相及延迟相与周围肝脏实质强化几乎一致. 肝内胆管细胞性肝癌23例的造影表现(图3)病灶动脉相快速不均匀增强早于周围肝实质, 门静脉相造影剂即开始消退, 延迟相病灶内回声强度低于周围肝实质. 转移性肝癌27例的造影表现(图4)动脉相快速环状增强, 门脉相造影剂缓慢消退呈低回声, 延迟相呈无回声, 呈典型的“黑洞征”.

2.2 常规超声、超声造影与病理诊断结果比

■研发前沿
超声造影作为目前现代超声技术领域研究热点, 尤其在鉴别肝脏良恶性病变方面研究活跃.

■相关报道
目前有国内外报道显示超声造影主要运用于常规超声或其他影像学检查发现病变的前提下, 其诊断的准确率与增强CT和磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)一样高.

■**创新盘点**
本研究对大小不同的肝局灶性病变超声造影表现进行回顾性分析，根据病灶不同的灌注方式特点行相关研究，结论对肝局灶性病变的鉴别诊断具有重要的临床价值.

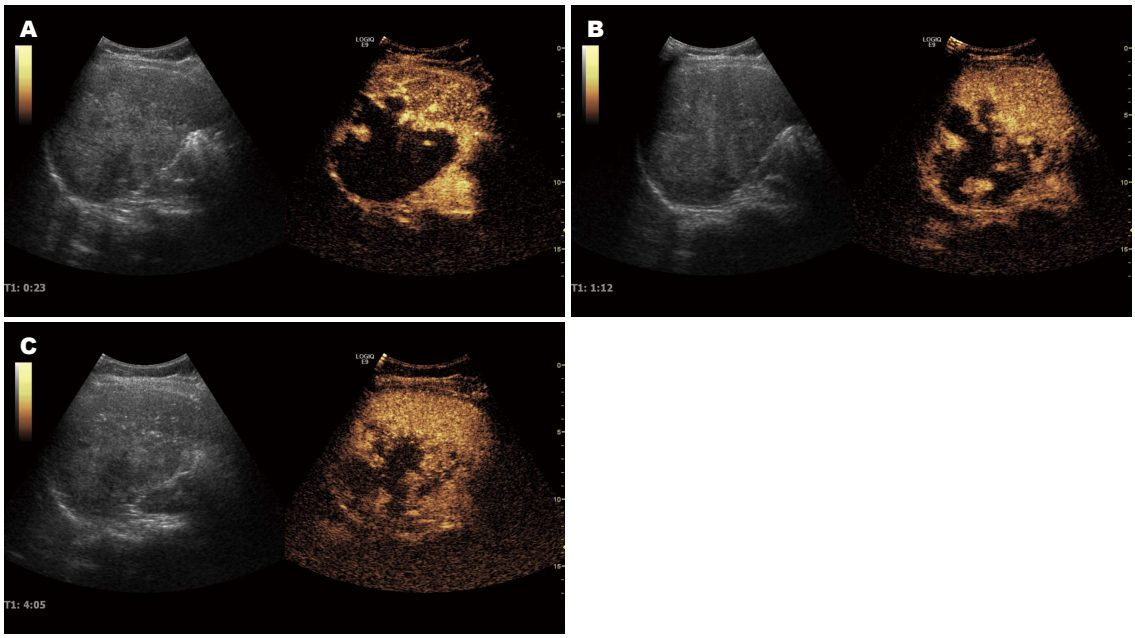


图 1 **肝血管瘤造影表现**. A: 动脉相病灶周边环状增强; B: 门静脉相造影剂持续向心性填充; C: 延迟相整体增强.

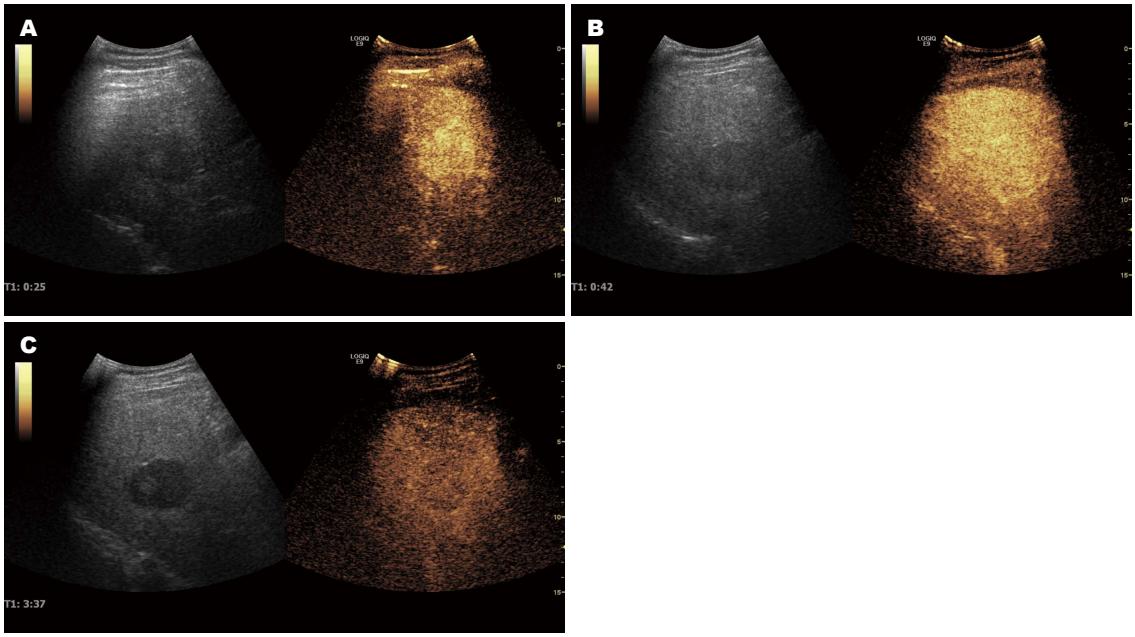


图 2 **肝细胞性肝癌造影表现**. A: 动脉相快速高增强; B: 门静脉相造影剂开始退出; C: 延迟相廓清呈低回声.

表 1 常规超声与病理诊断结果比较 (*n*)

常规超声	病理诊断		合计
	恶性	良性	
恶性	111	34	145
良性	14	103	117
合计	125	137	262

χ^2 = 106.05, P<0.01.

较 本组262例病例均经手术或穿刺活检病理证实. 常规超声、超声造影与病理诊断结果比较，经腹超声造影诊断肝局灶性病变良恶性的灵敏性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、诊断符合率均优于常规超声，且差异有统计学意义(P<0.05). 诊断的一致性行*Kappa*检验，超声造影与病理诊断的一致性更佳(*Kappa* = 0.976)(表1-3).

3 讨论

肝脏局灶性病变的检查方法公认首选二维灰阶超声与彩色多普勒血流成像相结合，虽然能对

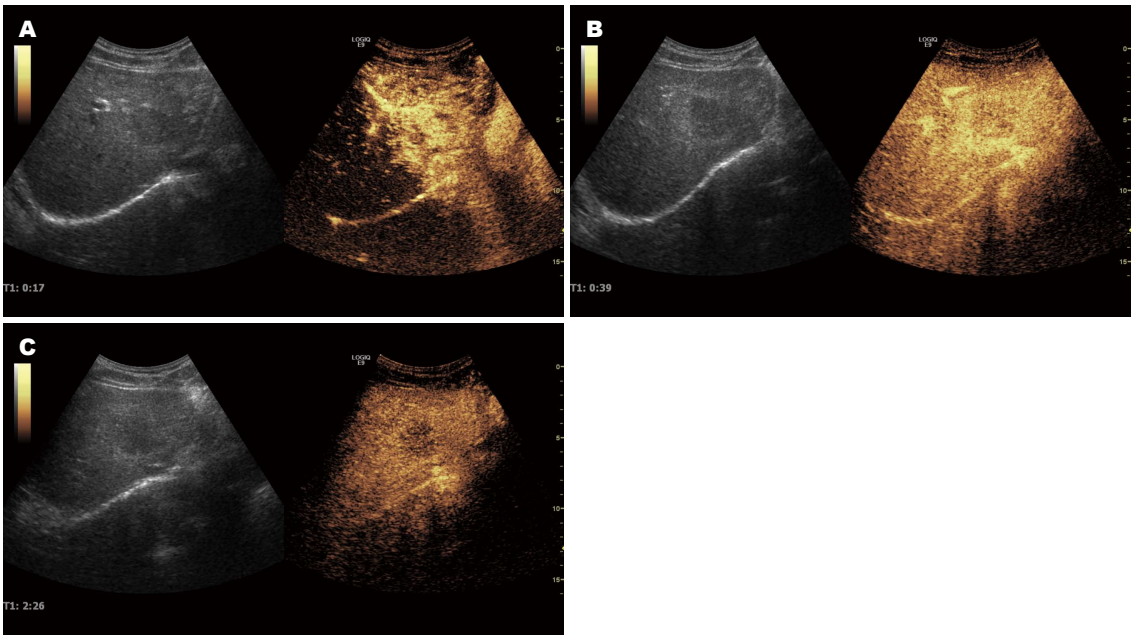


图 3 肝内胆管细胞性肝癌造影表现. A: 动脉相快速不均匀增强; B: 门静脉相造影剂开始消退; C: 延迟相持续廓清呈低回声.

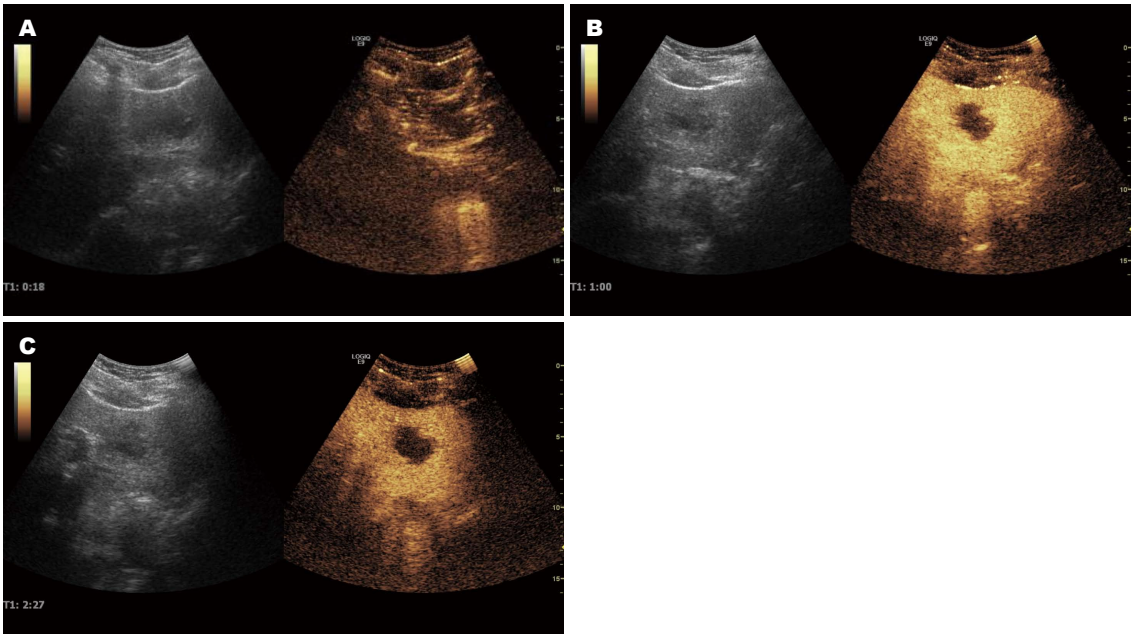


图 4 转移性肝癌造影表现. A: 动脉相快速环状增强; B: 门静脉相缓慢消退呈低回声; C: 延迟相呈无回声.

表 2 超声造影与病理诊断结果比较 (n)

超声造影	病理诊断		合计
	恶性	良性	
恶性	124	2	126
良性	1	135	136
合计	125	137	262

χ^2 = 250.13, P<0.01.

大部分典型、特点明显的病变能做出诊断, 但是对病变内部低速血流及微小血管敏感性及特异性较低, 其常规超声诊断符合率较低[3]. 近年来, 超声造影技术在肝脏局灶性病变的定性诊断有重要的应用价值[4]. 对于<2 cm的结节, 超声造影也能清楚地显示其血流灌注方式[5]. 由于肝脏局灶性病变的组织的血流灌注方式不同, 反映出来的超声表现也不同[6,7].

本组研究总结了肝脏局灶性病变良恶性的超声造影共同表现. 肝恶性局灶性病变特征: (1) 动脉相病灶快速整体增强, 门静脉相快速消退

■应用要点
本研究发现肝局灶性病变的超声造影表现与其良恶性具有一定的相关性, 为进一步提高临床医生对肝局灶性病灶的认识水平提供依据.

■名词解释
超声造影(CEUS): 主要借助静脉注射造影剂和超声造影谐波成像技术, 显示微血管和组织血流灌注情况, 被称为超声技术的第三次革命.

表 3 常规超声及超声造影对肝局灶性病变良恶性的诊断效能比较 (%)

检查方法	灵敏性	特异性	阳性预测值	阴性预测值	诊断符合率
常规超声	88.8	75.2	76.6	88.0	81.7
超声造影	99.2[a]	98.5[a]	98.4[a]	99.3[a]	98.8[a]

[a]$P<0.05$ *vs* 常规超声.

或门静脉相早期持续增强, 门静脉相晚期消退, 延迟相病灶均消退且回声低于周围正常肝组织; (2)动脉相呈整体高增强或环状增强, 门静脉相与延迟相均明显消退, 回声低于周围正常肝实质. 肝良性病灶的超声表现特征: (1)动脉相、门静脉相、延迟相均无增强或等增强; (2)动脉相虽表现各异, 但门静脉相和延迟相均为持续增强或等增强. 所以本研究观察认为判断病灶的良恶性其动脉相的表现并非关键, 对门静脉相、延迟相病灶内造影剂廓清情况的观测是最重要的. 同样也有研究认为超声造影延迟相时病灶的回声与周围肝组织比较对判断病灶的良恶性具有重要价值[8].

本组262例肝局灶性病变造影依据2008版欧洲指南标准得出的结果在良恶性病灶的判别上其灵敏性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、诊断符合率分别达到99.2%、98.5%、98.4%、99.3%、98.8%, 明显优于常规超声. 本研究对肝局灶性病变鉴别诊断符合率达95%以上, 与刘利平等[9]、吕明德等[10]、荣雪余等[11]报道相似, 具有较高的临床应用价值. 本组研究中超声造影仍有3例未能准确诊断, 其中1例诊断为孤立性坏死结节, 穿刺病理结果为乏血供的肝内转移癌, 分析原因可能由于乏血供型转移灶动脉相增强不明显, 误以为未有造影剂进入病灶. 另2例诊断为肝癌, 穿刺病理结果为局灶性结节性增生, 其原因分析未观察到典型的离心性轮辐状增强特点.

在实际工作中, 超声造影虽然具有无辐射、实时动态、可重复性好、无不良反应等优势, 但仍有其局限性, 例如造影检查只能获得相对局部或邻近病灶的造影资料, 1次造影剂难以进行全面观察, 不像增强CT和MRI能多层面成像[12]; 而位置较深或显像较困难的病灶, 超声造影效果可能受到影响. 对于一些缺乏特征性造影表现的病变, 需要结合病史、其他影像学检查及活检等综合分析进一步证实.

总之, 超声造影能敏感地反映不同类型病变的整个血流灌注过程, 直观显示病变与正常组织之间的微循环灌注差异, 对肝局灶性病变的诊断及鉴别诊断有重要价值[13-15], 且具有实时动态、可重复性好、无不良反应等优越性, 可作为第一线成像方法[16], 为临床提供了新的判断病变类型的方法, 具有非常重要的临床诊断价值.

4 参考文献

1 徐金锋, 吴瑛, 熊奕, 彭启慧, 董发进, 谢明星. 超声造影对肝脏实质性小病灶的早期诊断价值. 华中科技大学学报(医学版) 2008; 37: 266-269

2 Claudon M, Cosgrove D, Albrecht T, Bolondi L, Bosio M, Calliada F, Correas JM, Darge K, Dietrich C, D'Onofrio M, Evans DH, Filice C, Greiner L, Jäger K, Jong Nd, Leen E, Lencioni R, Lindsell D, Martegani A, Meairs S, Nolsøe C, Piscaglia F, Ricci P, Seidel G, Skjoldbye B, Solbiati L, Thorelius L, Tranquart F, Weskott HP, Whittingham T. Guidelines and good clinical practice recommendations for contrast enhanced ultrasound (CEUS) - update 2008. *Ultraschall Med* 2008; 29: 28-44 [PMID: 18270887 DOI: 10.1055/s-2007-963785]

3 李锐, 郭燕丽, 何芸, 张晓航, 丁俊, 陈朝晖. 脉冲反向谐波实时超声造影对肝占位性病变良恶性的鉴别诊断. 中国医学影像技术 2006; 22: 186-188

4 Beaton C, Cochlin D, Kumar N. Contrast enhanced ultrasound should be the initial radiological investigation to characterise focal liver lesions. *Eur J Surg Oncol* 2010; 36: 43-46 [PMID: 19709846 DOI: 10.1016/j.ejso.2009.07.187]

5 Xu HX, Xie XY, Lu MD, Liu GJ, Xu ZF, Zheng YL, Liang JY, Chen LD. Contrast-enhanced sonography in the diagnosis of small hepatocellular carcinoma & lt; or =2 cm. *J Clin Ultrasound* 2008; 36: 257-266 [PMID: 18088056 DOI: 10.1002/jcu.20433]

6 Sporea I, Badea R, Martie A, Sirli R, Socaciu M, Popescu A, Dănilă M. Contrast enhanced ultrasound for the characterization of focal liver lesions. *Med Ultrason* 2011; 13: 38-44 [PMID: 21390342]

7 Sporea I, Badea R, Martie A, Dumitru E, Ioanițescu S, Şirli R, Socaciu M, Popescu A, Dănilă M, Voiculescu M. Contrast Enhanced Ultrasound for the evaluation of focal liver lesions in daily practice. A multicentre study. *Med Ultrason* 2012; 14: 95-100 [PMID: 22675708]

8 周元媛, 张瑞芳, 秦石成. 超声造影对肝脏瘤样病变的诊断及鉴别诊断. 中国医学影像技术 2009; 25: 823-825

9 刘利平, 董宝玮, 于晓玲, 刘吉斌, 康春松. 常规超声与超声造影对肝局灶性病变定性诊断的比较研究. 中华超声影像学杂志 2007; 16: 821

10 吕明德, 徐辉雄, 刘广健, 徐作峰, 谢晓燕, 郑艳玲, 梁

瑾瑜. 应用低机械指数连续超声造影鉴别诊断肝脏局灶性病变. 中国超声医学杂志 2005; 21: 440-443
11 荣雪余, 冀鸿涛, 朱强, 肖萍, 王振常. 超声造影在肝局灶性病变鉴别诊断中的应用. 中国医学影像技术 2008; 24: 402-405
12 刘洪媛, 薛莉, 宋长悦, 刘薇, 杨先. 超声造影在肝脏局灶性病变的诊断价值. 中国医疗设备 2013; 28: 171-173
13 张春莉, 陈文卫, 柏刚, 陈辽, 黄慧. 动态血管模式在肝局灶性病变超声造影鉴别诊断中的应用价值. 中华超声影像学杂志 2013; 22: 226-230
14 周悦, 高剑波, 郭华, 万娅敏, 张瑞芳, 潘元威. 实时超声造影技术对VX2兔肝癌影像学模型的诊断价值. 世界华人消化杂志 2011; 19: 472-476
15 马琳, 卢强, 凌文武, 周翔, 林玲, 时莹瑜, 罗燕. 不同大小的肝细胞癌超声造影特点. 世界华人消化杂志 2012; 20: 200-204
16 Sporea I, Martie A, Bota S, Sirli R, Popescu A, Dănila M. Characterization of focal liver lesions using contrast enhanced ultrasound as a first line method: a large monocentric experience. *J Gastrointestin Liver Dis* 2014; 23: 57-63 [PMID: 24689098]

■同行评价
本文研究设计合理, 样本量大, 数据可靠, 结论可信, 具有重要的临床应用价值.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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)

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 278-280
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

肝硬化合并上消化道出血采用临床路径管理的体会

李山林, 刘学进, 周洪涛

■背景资料
肝硬化是一种常见的慢性、弥漫性肝病, 与人类健康密切相关. 其诊疗过程需要一种先进的管理模式来规范, 而临床路径管理是一种系统而科学的管理模式, 本文探讨了该管理模式在肝硬化合并上消化道出血中的应用.

李山林, 刘学进, 周洪涛, 周口市中心医院消化内科 河南省周口市 466000
李山林, 主要从事消化系统疾病的诊治.
作者贡献分布: 此课题由李山林设计、操作并撰写; 刘学进修稿; 周洪涛统计分析.
通讯作者: 李山林, 466000, 河南省周口市人民路26号, 周口市中心医院消化内科. wo-2154308@163.com
电话: 0394-8521608
收稿日期: 2014-09-27 修回日期: 2014-11-06
接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2015-01-18

Clinical pathway management in liver cirrhosis complicated with upper digestive tract hemorrhage

Shan-Lin Li, Xue-Jin Liu, Hong-Tao Zhou

Shan-Lin Li, Xue-Jin Liu, Hong-Tao Zhou, Department of Gastroenterology, Zhoukou City Central Hospital, Zhoukou 466000, He'nan Province, China
Correspondence to: Shan-Lin Li, Department of Gastroenterology, Zhoukou City Central Hospital, 26 Renmin Road, Zhoukou 466000, He'nan Province, China. wo-2154308@163.com
Received: 2014-09-27 Revised: 2014-11-06
Accepted: 2014-11-18 Published online: 2015-01-18

Abstract
AIM: To investigate the application and effect of clinical pathway management in liver cirrhosis complicated with upper digestive tract hemorrhage.

METHODS: Ninety patients with liver cirrhosis complicated with upper digestive tract hemorrhage who received clinical pathway management were included in a study group, and 20 patients with liver cirrhosis complicated with upper digestive tract hemorrhage without the implementation of clinical pathway management were included in a control group. The average length of hospitalization, medical cost, and patients' satisfaction to medical care were compared for the two groups.

RESULTS: The average length of hospitalization was significantly shorter in the study group than in the control group (9.42 d ± 2.00 d *vs* 11.10 d ± 1.68 d, $P < 0.05$). Medical cost was significantly lower in the study group than in the control group (13404.07 yuan ± 692.97 yuan *vs* 15306.90 yuan ± 732.11 yuan, $P < 0.05$). The rate of patients' satisfaction to medical care was significantly higher in the study group than in the control group (87.8% *vs* 70.0%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The implementation of clinical pathway management can improve the quality of medical care, reduce medical costs, shorten the length of hospitalization, and improve the patients' satisfaction to medical care in liver cirrhosis complicated with upper digestive tract hemorrhage.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Clinical pathway; Liver cirrhosis complicated with upper digestive tract hemorrhage; Medical cost; Average length of hospitalization; Patients' satisfaction

Li SL, Liu XJ, Zhou HT. Clinical pathway management in liver cirrhosis complicated with upper digestive tract hemorrhage. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 278-280 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/278.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.278

摘要
目的: 探讨临床路径(clinical pathway, CP)管理在肝硬化合并上消化道出血的应用及效果.

方法: 将90例已实施CP管理的肝硬化合并上消化道出血患者为试验组, 20例未实施CP管理的肝硬化合并上消化道出血患者作为对照组, 对两组患者的平均住院日、医疗费用、患者满意度等进行比较分析.

结果: 试验组的平均住院时间少于对照组(9.42 d±2.00 d *vs* 11.10 d±1.68 d, $P<0.05$); 医疗费用低于对照组(13404.07元±692.97元 *vs* 15306.90元±732.11元, $P<0.05$); 患者满意度高于对照组(87.8% *vs* 70.0%, $P<0.05$).

结论: 实施CP管理能更好地提高医疗质量, 降

■同行评议者
杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

低住院费用, 缩短平均住院日, 提高患者满意度, 规范用药.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 临床路径; 肝硬化合并上消化道出血; 医疗费用; 平均住院日; 患者满意度

核心提示: 实施临床路径(clinical pathway)管理能更好地提高医疗质量, 降低住院费用, 缩短平均住院日, 提高患者满意度, 规范用药.

李山林, 刘学进, 周洪涛. 肝硬化合并上消化道出血采用临床路径管理的体会. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 278-280 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/278.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.278

0 引言

肝硬化是我国常见疾病和主要死亡原因之一[1], 是一种常见的慢性、进行性、弥漫性肝病, 在代偿期多无症状或症状轻微, 当进展到失代偿期阶段会出现多种并发症, 如消化道出血、感染、肝癌、肝肾综合征等严重并发症, 严重威胁人类健康[2], 其中上消化道大量出血是肝硬化门脉高压最常见、最严重的并发症[3], 因此该病的疗效与人类健康密切相关. 其治疗方式主要有药物治疗、介入治疗、外科治疗及内镜下治疗, 目前药物治疗是首选治疗手段[4].

临床路径(clinical pathway, CP)是一种系统而科学的管理模式, 是各个学科的专业人员根据循证医学将检查、护理以及治疗标准化, 根据预计住院天数将其设置成表格, 使诊疗项目尽量达到最优化, 使患者从入院到出院都依靠此模式来接受诊疗[5,6], 其目的是确保医疗质量, 缩短住院日, 促进临床安全、合理用药, 提高患者满意度, 使患者获得最佳的医疗服务[7]. 本文将实施CP管理的90例肝硬化合并上消化道出血患者与同期住院20例未实施CP管理的肝硬化合并上消化道出血患者(对照组)进行比较, 现将结果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 将周口市中心医院消化科2013-09/2014-09对肝硬化合并上消化道出血实施CP管理的患者中随意选取90例作为试验组, 与同期住院20例未实施CP管理的肝硬化合并上消化道出血患者(对照组)进行比较. 试验组均为肝硬化合并上消化道出血, 年龄55-65岁, 平均60岁±0.5岁; 对照组亦为肝硬化合并上消化道出血, 年龄57-68岁, 平均61.0岁±0.7岁. 所有患者诊断均符合肝硬化诊断标准[8], 且既往无高血压、糖尿病、冠心病等基础病, 为第1次出现上消化道出血. 两组患者年龄、性别、经济状况等一般资料比较, 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: 对照组按传统的诊疗程序实施诊疗和用药; 试验组在患者入院后, 经主管医师明确诊断后将符合要求的患者, 按CP进入标准进行评估. 由主管医师与患者或委托人签署进入CP告知书, 按肝硬化合并上消化道出血CP表单实施诊疗服务. (1)制作标准CP表: 以卫生部肝硬化合并上消化道出血的CP表为基础, 结合我院实际情况制作标准的CP管理表; (2)主管护士对患者进行宣教工作, 对当天的服务项目完成后, 主管医师及主管护士签名; (3)所有患者治疗用药均采用同种、同批药品, 辅助检查设备均相同.

1.2.2 评价指标: 患者住院时间、住院总费用、患者的满意度等情况. 满意度调查表采用我院自制的“患者满意度调查表”.

统计学处理 所有数据以mean±SD表示, 应用SPSS18.0统计软件对数据采用t检验和方差分析, 分析时检测方差齐性, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

观察组患者住院时间, 住院费用分别为9.42 d±2.00 d, 13404.07元±692.97元; 对照组患者住院时间, 住院费用分别为11.10 d±1.68 d, 15306.90元±732.11元. 观察组住院时间和住院费用均少于对照组, 且差异具有统计学意义(P<0.05); 试验组患者的满意度明显高于对照组(87.8% *vs* 70.0%, P<0.05)(表1).

3 讨论

3.1 提高医疗质量, 有效降低医疗费用 在全面改革的形势下, 卫生体制改革也在逐渐推进, 为了加强医疗质量管理, 降低医疗费用, 规范临床的诊疗行为[9], 我国于2009年启动了CP管理工作. 在CP治疗方案的指导下, 医疗机构尽量缩短住院日, 同时从根本上加强医疗行为的一致性, 为医疗质量提高奠定良好的基础, 从而为医疗工作提供质量改进的机会[10]. CP在提高医疗质量的同时也节省了医疗资源, 国内外研究发现实施CP能有助于医院降低医疗费用, 缩短平均住

■研发前沿
目前关于肝硬化合并上消化道出血的治疗上的模式各个医疗机构不完全一致, 需要一种管理模式统一其诊疗过程以降低治疗费, 使患者对于治疗更加满意, 而临床路径管理的提出就是为了加强医疗质量管理, 降低医疗费用, 规范临床的诊疗行为.

■相关报道
近年关于临床路径在临床工作中实施的意义方面的研究很多, 广泛涉及不同系统的常见病, 如直肠息肉、小儿腹股沟疝和急性心梗等诸多疾病的应用. 该文章探讨了临床路径管理在肝硬化合并上消化道出血的应用及效果.

■创新盘点
临床路径管理在肝硬化合并上消化道出血的应用情况分析在国内尚属首例.

表 1 两组患者及家属满意度调查比较

分组	*n*	满意(*n*)	较满意(*n*)	不满意(*n*)	满意率(%)
试验组	90	79	8	3	87.8[a]
对照组	20	14	5	1	70.0

[a]P = 0.047<0.05 *vs* 对照组 .

院日, 增加患者的满意度[11,12].

3.2 改善医患关系, 提高患者的满意度 CP的实施需要医生与患者的共同参与, 患者在入院时, 提前告知患者及其家属住院时间、诊疗内容、费用和出院后的注意事项等详细情况, 并告知治疗全过程中注意事项, 促进了患者自我管理, 调动了患者的积极性和主动性[13]. 医患之间交流更加频繁, 增加了相互理解及信任, 改善了医患关系, 提高了患者的满意度, 减少医疗纠纷, 为患者提供了最佳的一体化服务.

3.3 CP的给药方案更科学合理, 也更加安全 CP模式要求医生对患者给药情况进行追踪、评估, 医生要严格监管患者的用药后情况, 及时查找变化原因, 调整用药方案, 以便在以后的工作中进行整改, 从而形成一套信息化的科学的治疗系统, 加快药品的更新, 推动安全、合理用药[14].

总之, CP是一种控制医疗费用、保证医疗质量、提高患者满意度的标准化治疗模式, 完全符合“以患者为中心”的医疗原则. 周口市中心医院实行CP后合理的降低了医疗费用[15], 减少了住院日, 改善了医患关系, 提高了患者的满意度[16]; 同时CP管理的应用使临床用药更加安全、合理, 治疗的针对性更强. 我们将进一步完善、推广CP管理, 其更加规范、安全、合理, 达到医院和患者双赢的目的. 总之, CP管理是一种高效率、高品质的健康服务模式, 值得临床上大力推广.

■同行评价
本文以实行和未实行CP管理颖肝硬化合并上消化道出血患者从住院时间、住院费用及患者满意度进行分析, 角度较新颖, 调理较清楚, 证据较充分.

4 参考文献

1 王瑞, 张宗霞, 骆欧, 张铭光. 肝硬化患者心理特征和心理护理的系统评价. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3037-3042

2 廖金卯, 胡小宣. 脐血间充质干细胞移植治疗肝硬化的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 508-513

3 刘信, 李敏. 三种不同方法预防肝硬化食管静脉曲张首次出血的疗效及安全性评价. 世界华人消化杂志 2014; 22: 253-258

4 中国医师协会急诊医师分会. 急性上消化道急诊诊治专家共识. 中国急救医学 2010; 30: 292-293

5 孙川, 石志成, 王立, 马少锋, 陈健明, 冯穗华, 陈锦钜, 郭林生, 周红英, 冯翠仪. 临床路径在医疗改革新形势下的应用研究. 当代医学 2009; 15: 1-3

6 尹德静, 候宪保. 临床路径质量评估与持续改进体系研究. 中外健康文摘 2014; 25: 296

7 胡鹏. 临床路径质量评估与持续改进体系研究. 南京: 南京医科大学, 2012: 146-148

8 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 中华临床感染病杂志 2011; 4: 1-13

9 伍伟锋, 赵劲民, 唐卫中, 吴易, 石昌荆, 张立民, 曾自三, 刘祖军. 临床路径管理的实践与思考. 中国医药指南 2011; 9: 170-171

10 刘兵. 医院临床路径实施效果评价. 北京: 北京中医药大学, 2012: 123-126

11 王燕丽. 临床路径在大肠息肉住院患者中的应用. 中国医药指南 2010; 8: 58

12 van Dam PA, Verheyden G, Sugihara A, Trinh XB, Van Der Mussele H, Wuyts H, Verkinderen L, Hauspy J, Vermeulen P, Dirix L. A dynamic clinical pathway for the treatment of patients with early breast cancer is a tool for better cancer care: implementation and prospective analysis between 2002-2010. *World J Surg Oncol* 2013; 11: 70 [PMID: 23497270]

13 蒋锋. 临床路径在单病种限价收费管理中的应用研究. 贵阳中医学院学报 2008; 30: 65-68

14 杨倩. 探讨临床路径管理对于安全、合理用药的作用. 中外健康文摘 2014; 13: 106-107

15 宋守君, 邓国志, 石斗飞, 于鹏, 刘树文, 嵇丽红. 临床路径实施前后医疗费用对比分析. 中国医院统计 2012; 19: 88-91

16 Munitiz V, Martinez-de-Haro LF, Ortiz A, Ruiz-de-Angulo D, Pastor P, Parrilla P. Effectiveness of a written clinical pathway for enhanced recovery after transthoracic (Ivor Lewis) oesophagectomy. *Br J Surg* 2010; 97: 714-718 [PMID: 20187171 DOI: 10.1002/bjs.6942]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 281-285
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

血浆置换联合血液滤过对肝衰竭患者炎症细胞因子的影响

张雪华, 李 明, 朱传武, 沈兴华, 朱晓燕

张雪华, 李明, 朱传武, 沈兴华, 朱晓燕, 苏州市第五人民医院 苏州大学附属传染病医院重症医学科 江苏省苏州市 215007
张雪华, 副主任医师, 主要从事病毒性肝炎与重症医学的临床和基础研究.
作者贡献分布: 张雪华、李明及朱传武参与论文的设计、研究观察及数据分析与论文写作; 沈兴华参与研究观察与数据收集; 朱晓燕参与研究观察及部分实验操作.
通讯作者: 李明, 副教授, 主任医师, 215007, 江苏省苏州市姑苏区南门西二路1号, 苏州市第五人民医院, 苏州大学附属传染病医院重症医学科. lltyy97@163.com
电话: 0512-65291474
收稿日期: 2014-09-16 修回日期: 2014-10-15
接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2015-01-18

Effect of plasma exchange plus hemofiltration on inflammatory cytokines in patients with liver failure

Xue-Hua Zhang, Ming Li, Chuan-Wu Zhu, Xing-Hua Shen, Xiao-Yan Zhu

Xue-Hua Zhang, Ming Li, Chuan-Wu Zhu, Xing-Hua Shen, Xiao-Yan Zhu, the Fifth People's Hospital of Suzhou; Department of ICU, Infectious Disease Hospital of Soochow University, Suzhou 215007, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Ming Li, Associate Professor, Chief Physician, the Fifth People's Hospital of Suzhou; Department of ICU, Infectious Disease Hospital of Soochow University, 1 Nanmen Xier Road, Gusu District, Suzhou 215007, Jiangsu Province, China. lltyy97@163.com
Received: 2014-09-16 Revised: 2014-10-15
Accepted: 2014-11-12 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To analyze the influence of plasma exchange (PE) combined with hemofiltration (HF) on the levels of serum inflammatory cytokines and biochemical parameters in patients with liver failure.

METHODS: Seventeen patients were treated by PE plus HF and 20 patients were treated by PE alone. Serum levels of cytokines including tumor necrosis factor (TNF), interleukin (IL)-2 receptor, IL-6, IL-10 and biochemical parameters were measured before and after treatment. The differences in the levels of serum cytokines and biochemical parameters were compared between the two groups.

RESULTS: There were significant differences in biochemical parameters except albumin level between before and after treatment in the PE plus HF group ($P < 0.05$ for all). Total bilirubin (T-BIL), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (CRE), ammonia (NH_3) and C reactive protein (CRP) after treatment differed significantly between the two groups ($P < 0.05$ for all). The levels of tumor necrosis factor (TNF), IL-2R, IL-6 and IL-10 after treatment were significantly lower than those before treatment in the PE plus HF group ($P < 0.05$ all), and these parameters in the combination group after treatment were significantly lower than those in the PE group (all $P < 0.05$). Total effective rate was 82.4% in the PE plus HF group, significantly higher than that in the PE group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The results suggest that serum levels of inflammatory cytokines can be significantly reduced by PE plus HF therapy, and the curative effect of PE plus HF is more remarkable than PE alone in patients with liver failure.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver failure; Plasma exchange; Hemofiltration; Cytokines; Treatment

Zhang XH, Li M, Zhu CW, Shen XH, Zhu XY. Effect of plasma exchange plus hemofiltration on inflammatory cytokines in patients with liver failure. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 281-285 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/281.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.281

摘要

目的: 通过观察血浆置换(plasma exchange, PE)联合血液滤过(hemofiltration, HF)治疗肝衰竭患者临床生化指标以及炎症细胞因子的水平变化, 探讨其在肝衰竭治疗中的作用机制及意义.

方法: 在37例肝衰竭患者中, 采用PE联合HF治疗17例、单用PE治疗20例, 分别在治疗前后

■背景资料
肝衰竭病情凶险, 进展迅速, 常合并多脏器衰竭而死亡. 但目前尚无特效疗法, 内科综合治疗和人工肝支持治疗是近年来肝衰竭的有效治疗手段, 抢救成功率仍不高. 如何进一步提高抢救成功率是肝衰竭治疗领域的重要课题. 该研究在内科综合治疗基础上采用血浆置换(plasma exchange, PE)联合血液滤过(hemofiltration, HF)的人工肝技术治疗肝衰竭取得了较好的疗效, 可以提高抢救成功率.

■同行评议者
张明辉, 副主任医师, 河北医科大学第一医院肝病中心(传染病)

■研发前沿
在肝衰竭疾病进展中，内源性和外源性毒素除直接损伤肝细胞外，还可刺激单核巨噬细胞系统释放大量的细胞因子肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白介素2(interleukin-2, IL-2)、IL-6、IL-10等炎症细胞因子，通过一系列的级联反应形成炎性细胞因子的“瀑布效应”及全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)等，进一步加重肝细胞的变性、坏死、凋亡及功能衰竭，并可导致多器官功能衰竭等. 临床医生需要考虑人工肝的局限性，生物人工肝技术又难在短期内得到突破性的发展，PE联合HF治疗肝衰竭是目前主要方法之一.

检测临床生化指标以及炎症细胞因子肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白介素2受体(interleukin-2 receptor, IL-2R)、IL-6和IL-10的变化，并比较其在治疗前后的变化.

结果：17例PE与HF联合治疗组患者治疗后临床及生化指标除白蛋白(albumin, ALB)外均明显改善，治疗后总胆红素(total bilirubin, T-BIL)、尿素氮(urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, Cr)、血氨(blood ammonia, NH_3)和C反应蛋白(C reactive protein, CRP)与单用PE对照组比较，差异有统计学意义；同时PE联合HF治疗组患者治疗后炎症细胞因子TNF、IL-2R、IL-6、IL-10均明显下降，也显著低于单用PE治疗组. 此外，PE联合HF治疗组患者治疗后近期总有效率为82.4%，显著高于PE治疗组.

结论：PE联合HF治疗肝衰竭患者可显著降低炎性细胞因子水平，疗效优于PE单独治疗组.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：肝衰竭；血浆置换；血液滤过；炎症细胞因子；治疗

核心提示：血浆置换(plasma exchange, PE)是治疗肝衰竭的常用方法，但PE联合血液滤过(hemofiltration)比单用PE治疗具有更显著降低炎性细胞因子的作用，因而有利于提高肝衰竭患者治疗的有效率.

张雪华，李明，朱传武，沈兴华，朱晓燕. 血浆置换联合血液滤过对肝衰竭患者炎症细胞因子的影响. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 281-285 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/281.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.281

0 引言

肝衰竭是临床常见的严重肝病症候群，病情严重、并发症多、治疗困难、病死率高. 目前肝衰竭的内科治疗尚缺乏特效药物和手段，人工肝支持系统是治疗肝衰竭有效的方法之一，其治疗机制是基于肝细胞的强大再生能力，通过一个体外的机械、理化和生物装置，清除各种有害物质，改善内环境，暂时替代衰竭肝脏的部分功能，为肝细胞再生及肝功能恢复创造条件. 在临床实践中，血浆置换(plasma exchange, PE)联合血液滤过(hemofiltration, HF)能高效清除各种毒素或炎症细胞因子、调节水电解质平衡，可取得较好疗效. 我们在内科综合治疗基础上采用PE联合HF治疗肝衰竭患者17例，并与PE治疗20例患者进行比较. 现将疗效报告如下，并进一步探讨该技术作用的机制.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2013-01/2014-06入住苏州市第五人民医院、苏州大学附属传染病医院的肝衰竭患者37例，PE联合持续HF治疗组17例，男13例，女4例，年龄19-56岁，平均年龄35.4岁±16.5岁；病因为乙型肝炎11例，戊型肝炎3例，乙型肝炎重叠戊型肝炎1例，未分型病毒性肝炎2例；并发症：肝性脑病9例，均为Ⅱ期或以上，自发性腹膜炎4例，肝肾综合征3例. 单用PE治疗组20例，男15例，女5例，年龄23-61岁，平均年龄36.1岁±10.7岁；病因为乙型肝炎12例，戊型肝炎3例，乙型肝炎重叠戊型肝炎2例，未分型病毒型肝炎3例；并发症：肝性脑病12例，均为Ⅱ期或以上，自发性腹膜炎6例，肝肾综合征4例. 两组入选病例诊断均符合2006年制定的《肝衰竭诊疗指南》的标准[1]. 两组患者的性别、年龄和病情等方面无统计学差异. 所有患者在接受PE或PE联合HF治疗前均签署知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 治疗：患者入院后予以绝对卧床，高碳水化合物和低脂饮食，静脉输注还原型谷胱甘肽、多烯磷脂酰胆碱、甘草酸制剂、促肝细胞生长素、前列地尔等基础治疗；并适时补充电解质、人血白蛋白、新鲜冰冻血浆等支持治疗，同时评估人工肝治疗指征. 人工肝治疗包括PE联合HF或单用PE. 治疗前后收集患者静脉血，分别行生化、血常规、凝血功能检查，并留取血清样本于-80 ℃冰箱中保存，标本均于1 wk内集中检测. 治疗开始前行床旁股静脉或颈外静脉穿刺，置入单针双腔导管建立循环回路，肝素化循环回路. PE联合HF患者先行PE，PE置换液用同型新鲜冰冻血浆，每次总量2000-3000 mL，血流速度为60-100 mL/min，血浆分离速度20-30 mL/min，每次治疗时间为2-3 h. PE结束后更换为血滤器，使用同一副管路继续行HF治疗. HF血流速度为100-150 mL/min，置换总量10-30 L，每次治疗时间为4-10 h，根据患者临床表现及肝肾功能等情况决定每次滤过时超滤液体量及滤过时间，治疗间隔1-3 d. 单行PE的患者，每次置换2000-2500 mL并补充等量的新鲜冰冻血浆，一般2-3次/wk，病情严重时隔日1次. 每组患者平均治疗3.7次.

表 1 两组患者治疗前后临床及生化指标的变化 (mean ± SD)

项目	PE与HF联合治疗组		PE治疗组	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
n	17	17	20	20
T-BIL(μmol/L)	354.6 ± 151.4	191.2 ± 82.6[b]	367.7 ± 146.2	264.8 ± 101.4[ac]
ALT(U/L)	223.9 ± 98.3	97.5 ± 78.3[b]	226.7 ± 114.6	121.1 ± 102.2[a]
AST(U/L)	201.3 ± 129.4	98.3 ± 72.2[a]	217.8 ± 112.8	116.1 ± 103.4[a]
GGT(U/L)	74.1 ± 22.3	54.2 ± 23.7[a]	68.1 ± 22.5	57.6 ± 31.2
ALB(g/L)	28.6 ± 6.3	31.3 ± 5.7	28.1 ± 7.5	30.8 ± 6.1
BUN(mmol/L)	6.7 ± 2.3	3.4 ± 2.5[b]	6.6 ± 3.5	5.4 ± 3.0[c]
Cr(μmol/L)	79.5 ± 22.3	52.2 ± 15.5[b]	81.1 ± 31.4	66.6 ± 18.5[c]
PTA(× 10^2)	30.6 ± 12.3	41.7 ± 13.1[a]	29.2 ± 11.8	38.6 ± 14.5[a]
NH_3(μmol/L)	111.5 ± 72.6	44.2 ± 36.4[b]	108.3 ± 84.3	76.5 ± 47.2[c]
CRP(mg/L)	56.8 ± 26.7	13.5 ± 9.2[b]	52.1 ± 33.2	31.7 ± 29.8[d]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 同组治疗前; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 治疗后. T-BIL: 总胆红素; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; GGT: 谷氨酰转肽酶; ALB: 白蛋白; BUN: 尿素氮; Cr: 肌酐; PTA: 凝血酶原活动度; NH_3: 血氨; CRP: C反应蛋白; PE: 血浆置换; HF: 血液滤过.

■**相关报道**
目前均强调了人工肝治疗肝衰竭的重要性, 但在具体的方法上还存在一些差别, 主要是人工肝支持系统可分为非生物型、生物型和杂交型3种. 生物型人工肝尚停留于临床试验阶段, 故目前临床应用的人工肝均为非生物型, 其实质是血液净化技术在肝衰竭治疗中的应用, 采用的手段多为PE、血浆灌流和胆红素吸附, 其中尤以PE应用最为广泛.

1.2.2 观察项目: 临床及生化指标: 包括血清总胆红素(total bilirubin, T-BIL)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、谷氨酰转肽酶(glutamyl transpeptidase, GT), 白蛋白(albumin, ALB)、尿素氮(urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, Cr)、凝血酶原活动度(prothrombin activity, PTA)、血氨(blood ammonia, NH_3)、C反应蛋白(C reactive protein, CRP)等采用常规实验室检查方法检测. 血清肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白介素-2受体(interleukin-2 receptor, IL-2R)、IL-6、IL-10采用化学发光法检测, 试剂盒购于西门子医学诊断产品(上海)有限公司, 操作过程均严格按试剂盒说明书上步骤进行.

1.2.3 近期疗效判断标准: 在人工肝治疗结束2 wk内评定近期疗效. 显效: 临床症状如乏力、食欲、精神、腹胀等明显改善; 黄疸、腹水、出血等体征明显好转; 肝性脑病改善; T-BIL下降>50%、PTA>60%. 有效: 上述症状缓解, T-BIL下降>30%, PTA>40%. 无效: 死亡或症状、体征无缓解或继续恶化; T-BIL无下降或上升、PTA<40%, 总有效率 = 显效+有效.

统计学处理 所有资料均应用SPSS19.0统计软件建立数据库并进行统计学分析. 数据采用mean±SD表示. 均数比较采用进行t检验; 率的比较采用χ^2检验. 全部双侧检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 治疗前后临床及生化指标的变化 17例PE与HF联合治疗组患者治疗后临床及生化指标除ALB外均明显改善, 并且治疗后T-BIL、BUN、Cr、NH_3和CRP与单用PE对照组比较, 差异有统计学意义. 而单用PE治疗组患者治疗后仅T-BIL、ALT、AST、PTA和CRP有显著下降(P<0.05)(表1).

2.2 治疗前后炎症细胞因子的变化 17例PE联合HF治疗组患者治疗后炎症细胞因子TNF、IL-2R、IL-6、IL-10均明显下降, 并且治疗后与单用PE治疗组比较, 差异均有统计学意义. 单用PE治疗组患者治疗后仅IL-6有显著下降(P<0.05)(表2).

2.3 近期疗效情况 17例PE联合HF治疗组患者治疗后近期显效5例、好转9例, 无效3例, 总有效率为82.4%. 20例单用PE治疗组患者治疗后近期显效2例、好转8例, 无效10例, 总有效率为50.0%. 两组间总有效率差异具有显著统计学意义(P<0.05).

3 讨论

肝衰竭是由多种因素引起肝细胞严重损害, 导致其合成、解毒和生物转化等功能发生严重障碍, 出现以黄疸、凝血功能障碍、肝性脑病和腹水等为主要表现的一种临床综合征, 病情凶险, 进展迅速, 常合并多脏器衰竭而死亡. 目前尚无特效疗法. 人工肝支持治疗是近年来肝衰竭的有效治疗手段, 包括PE、HF、血液灌

■创新盘点
本文较为系统地介绍了PE联合HF不仅可去除较大量的血浆中较大分子量、不同溶解性的毒素，还可以清除中小分子物质，纠正肝衰竭患者常伴有的水、电解质及酸碱平衡紊乱，清除炎症介质或细胞因子等，从而利于维持内环境的稳定及阻断SIRS向多器官功能障碍综合症发展. 为临床医生对肝衰竭患者进行抢救时提供一定的参考.

表 2 两组患者治疗前后炎症细胞因子变化 (mean ± SD)

项目	PE与HF联合治疗组		PE治疗组	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
n	17	17	20	20
TNF(pg/mL)	21.6 ± 8.4	8.2 ± 6.6[b]	19.7 ± 11.2	14.8 ± 9.4[c]
IL-2R(U/L)	1725.9 ± 989.3	958.7 ± 542.5[a]	1885.4 ± 1127.5	1687.1 ± 1262.3[c]
IL-6(pg/mL)	41.7 ± 34.7	8.3 ± 6.1[b]	39.8 ± 31.2	19.1 ± 18.5[ac]
IL-10(pg/mL)	20.6 ± 13.3	8.7 ± 5.7[b]	18.9 ± 12.5	14.6 ± 9.8[c]

[a]$P<0.05$, [b]$P<0.01$ *vs* 同组治疗前; [c]$P<0.05$ *vs* 治疗后. TNF: 肿瘤坏死因子; IL: 白介素; PE: 血浆置换; HF: 血液滤过.

流等. 与人工肾曾给肾功能衰竭治疗带来的革命性变化不同, 人工肝仅具有正常肝脏部分解毒、代谢功能, 对肝衰竭患者只能起辅助治疗作用, 故只能称为人工肝支持系统(artificial liver support system, ALSS), 其中尤以PE应用最为广泛. PE是通过血浆分离器滤出并丢弃肝衰竭患者的内源性毒素(血氨、芳香族氨基酸、假性神经传导递质)、与血浆蛋白结合的大分子物质(内毒素、胆红素)、循环免疫复合物等, 同时补充生物活性物质如凝血因子、白蛋白、调理素等. 单纯PE存在很大的缺点, 在置换过程中会损失许多必要的有益物质, 消耗大量新鲜冰冻血浆, 并可能出现血浆过敏反应、高钠血症、代谢性碱中毒和胶体渗透压的下降[2,3]; 同时PE不能有效清除细胞因子, 如治疗前后血清TNF-α、IL-6及IL-8无变化[4]. HF是利用一种孔径较透析器更大的滤过膜, 在跨膜压的作用下从体内均匀超滤出水分, 同时依靠输液装置同步输入与细胞外液成分相仿的平衡液, 借此使血液中的毒性物质经膜滤过而清除, 可以清除中小分子物质, 并且可吸附内毒素、细胞因子的功能. 因此, PE联合HF不仅可去除较大量的血浆中较大分子量、不同溶解性的毒素, 还可以清除中小分子物质, 纠正肝衰竭患者常伴有的水、电解质及酸碱平衡紊乱, 清除炎症介质或细胞因子等[5], 从而利于维持内环境的稳定及阻断全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)向多器官功能障碍综合征(metadata object description schema, MODS)发展.

本文资料显示, 17例PE联合HF治疗组患者治疗后临床及生化指标除ALB外均明显改善, 并且治疗后T-BIL、BUN、Cr及NH_3与单用PE治疗组比较, 差异有统计学意义. 此外, CRP作为一种急性期炎症标志物已广泛应用于判断或监测各种感染、炎症或损伤发生及发展, 当机体有急性炎症或进展时此蛋白可明显升高. 我们的观察结果显示, 联合治疗组患者治疗后CRP明显下降, 与单用PE组患者比较, 也显著改善. 本文资料还显示, PE联合HF治疗组患者治疗后近期总有效率为82.4%, 也明显高于单用PE组患者.

在肝衰竭疾病进展中, 内源性和外源性毒素除直接损伤肝细胞外, 还可刺激单核巨噬细胞系统释放大量的TNF、IL-2、IL-6、IL-10等炎症细胞因子, 通过一系列的级联反应形成炎性细胞因子的“瀑布效应”及SIRS等, 进一步加重肝细胞的变性、坏死、凋亡及功能衰竭, 并可导致MODS等[6-8]. IL-2R在调节免疫反应中作用至关重要, IL-2与淋巴细胞表面的IL-2R结合, 可引起一系列细胞内信号反应. 健康人中仅较低水平的可溶成分IL-2R, 而在激活状态下细胞表面大量表达、可溶成分被释放, 因而是免疫反应的标志物之一. TNF和IL-6均是强效的促炎细胞因子, TNF是造成肝细胞损伤的主要因子, 高水平的TNF可以诱导肝细胞凋亡与坏死; IL-6是一种多效性前炎症细胞因子, 有多种生物学活性, 包括介导炎症反应和免疫反应, 并与多种细胞因子关系密切, 在Th17细胞分化及IL-17发挥促炎作用过程中占有重要地位, 血清IL-6水平与肝细胞坏死程度相关, 在一定程度上反映急性肝衰竭的严重程度[9,10]. IL-10是一种重要的抗炎和免疫抑制细胞因子, 有抑制Th1细胞分泌IL-2、IL-3、IFN等; 同时, IL-10也可抑制自然杀伤细胞活性, 干扰自然杀伤细胞和巨噬细胞产生细胞因子[11]. 本资料中PE联合CVVH治疗组患者治疗后炎症因子TNF、IL-2R、IL-6、IL-10均明显下降, 与单用PE治疗组比较差异也有统计学意义. 提示联合HF治疗对这些炎性细胞因子具有明显的清除作用, 与文献报道[12,13]相似. PE

联合HF治疗可降低炎性细胞因子的水平, 机体免疫紊乱得到一定纠正, 从而减轻细胞因子对肝细胞的第二次打击, 缓解或减轻肝脏的炎性坏死, 为肝细胞的再生争取了时间. 虽然生物人工肝是较理想的人丁肝支持与治疗模式, 但由于肝细胞来源问题尚未解决且费用昂贵, 临床上广泛应用受到很大限制[14,15]. PE联合HF治疗肝衰竭的疗效好, 有一定的临床应用价值.

4 参考文献

1 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南. 中华内科杂志 2006; 45: 1053-1056

2 Sadahiro T, Hirasawa H, Oda S, Shiga H, Nakanishi K, Kitamura N, Hirano T. Usefulness of plasma exchange plus continuous hemodiafiltration to reduce adverse effects associated with plasma exchange in patients with acute liver failure. *Crit Care Med* 2001; 29: 1386-1392 [PMID: 11445692]

3 Biancofiore G, Bindi LM, Urbani L, Catalano G, Mazzoni A, Scatena F, Mosca F, Filipponi F. Combined twice-daily plasma exchange and continuous veno-venous hemodiafiltration for bridging severe acute liver failure. *Transplant Proc* 2003; 35: 3011-3014 [PMID: 14697964 DOI: 10.1016/j.transproceed.2003.10.077]

4 Nakae H, Yonekawa T, Narita K, Endo S. Are proinflammatory cytokine concentrations reduced by plasma exchange in patients with severe acute hepatic failure? *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2001; 109: 65-72 [PMID: 11458986]

5 Nakae H, Yonekawa C, Wada H, Asanuma Y, Sato T, Tanaka H. Effectiveness of combining plasma exchange and continuous hemodiafiltration (combined modality therapy in a parallel circuit) in the treatment of patients with acute hepatic failure. *Ther Apher* 2001; 5: 471-475 [PMID: 11800083 DOI: 10.1046/j.1526-0968.2001.00380.x]

6 Martin CM, Welge JA, Shire NJ, Shata MT, Sherman KE, Blackard JT. Cytokine expression during chronic versus occult hepatitis B virus infection in HIV co-infected individuals. *Cytokine* 2009; 47: 194-198 [PMID: 19625194 DOI: 10.1016/j.cyto.2009.06.005]

7 Rolando N, Wade J, Davalos M, Wendon J, Philpott-Howard J, Williams R. The systemic inflammatory response syndrome in acute liver failure. *Hepatology* 2000; 32: 734-739 [PMID: 11003617 DOI: 10.1053/jhep.2000.17687]

8 Foston TP, Carpentar D. Acute liver failure. *Crit Care Nurs Clin North Am* 2010; 22: 395-402 [PMID: 20691389 DOI: 10.1016/j.ccell.2010.05.001]

9 Ambrosino G, Naso A, Feltracco P, Carraro P, Basso SM, Varotto S, Cillo U, Zanus G, Boccagni P, Brolese A, Plebani M, Giron G, D'Amico DF. Cytokines and liver failure: modification of TNF- and IL-6 in patients with acute on chronic liver decompensation treated with Molecular Adsorbent Recycling System (MARS). *Acta Biomed* 2003; 74 Suppl 2: 7-9 [PMID: 15055025]

10 Di Campli C, Zocco MA, Gaspari R, Novi M, Candelli M, Santoliquido A, Flore R, Tondi P, Proietti R, Gasbarrini G, Pola P, Gasbarrini A. The decrease in cytokine concentration during albumin dialysis correlates with the prognosis of patients with acute on chronic liver failure. *Transplant Proc* 2005; 37: 2551-2553 [PMID: 16182740 DOI: 10.1016/j.transproceed.2005.06.040]

11 Berry PA, Antoniades CG, Hussain MJ, McPhail MJ, Bernal W, Vergani D, Wendon JA. Admission levels and early changes in serum interleukin-10 are predictive of poor outcome in acute liver failure and decompensated cirrhosis. *Liver Int* 2010; 30: 733-740 [PMID: 20456041 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02219.x]

12 Nakae H, Asanuma Y, Tajimi K. Cytokine removal by plasma exchange with continuous hemodiafiltration in critically ill patients. *Ther Apher* 2002; 6: 419-424 [PMID: 12460404 DOI: 10.1046/j.1526-0968.2002.00464.x]

13 Yonekawa C, Nakae H, Tajimi K, Asanuma Y. Effectiveness of combining plasma exchange and continuous hemodiafiltration in patients with postoperative liver failure. *Artif Organs* 2005; 29: 324-328 [PMID: 15787627 DOI: 10.1111/j.1525-1594.2005.29054.x]

14 Kumar A, Tripathi A, Jain S. Extracorporeal bioartificial liver for treating acute liver diseases. *J Extra Corpor Technol* 2011; 43: 195-206 [PMID: 22416599]

15 Tritto G, Davies NA, Jalan R. Liver replacement therapy. *Semin Respir Crit Care Med* 2012; 33: 70-79 [PMID: 22447262]

■同行评价
本文对一般临床工作者尚有一定的参考意义.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 286-290
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

血清甲胎蛋白异质体在原发性肝癌中的表达及临床病理学意义

纪凤卿, 滕 菁, 郑启忠

■背景资料
甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是肝癌重要的临床血清学指标, 但研究显示有15%-58%慢性乙型肝炎患者和11%-47%肝硬化患者中AFP也可升高. 为此专家们认为AFP作为肝癌诊断指标尚缺乏特异性. AFP异质体与原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)密切相关, 但目前国内研究对于AFP-L3与肿瘤直径大小、分化程度和分期的报道却较少, 甚至存在相互矛盾的结论.

纪凤卿, 滕菁, 福建中医药大学附属厦门市中医院检验科 福建省厦门市 361009
郑启忠, 福建中医药大学附属厦门市中医院病理科 福建省厦门市 361009
纪凤卿, 主管检验技师, 主要从事临床检验的研究.
作者贡献分布: 纪凤卿与滕菁对此文所作贡献均等; 此课题纪凤卿与滕菁设计; 研究过程由纪凤卿、滕菁及郑启忠操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由滕菁与郑启忠提供; 数据分析由纪凤卿完成; 本论文写作由纪凤卿完成.
通讯作者: 纪凤卿, 主管检验技师, 361009, 福建省厦门市湖里区仙岳路1739号, 福建中医药大学附属厦门市中医院检验科. drjfq108@163.com
电话: 0592-5579573
收稿日期: 2014-10-15 修回日期: 2014-11-08
接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2015-01-18

Clinicopathologic significance and expression of serum alpha-fetoprotein variant in patients with primary liver cancer

Feng-Qing Ji, Jing Teng, Qi-Zhong Zheng

Feng-Qing Ji, Jing Teng, Department of Clinical Laboratory, Xiamen Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Xiamen 361009, Fujian Province, China
Qi-Zhong Zheng, Department of Pathology, Xiamen Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Xiamen 361009, Fujian Province, China
Correspondence to: Feng-Qing Ji, Technician-in-Charge, Department of Clinical Laboratory, Xiamen Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 1739 Xianyue Road, Huli District, Xiamen 361009, Fujian Province, China. drjfq108@163.com
Received: 2014-10-15 Revised: 2014-11-08
Accepted: 2014-11-18 Published online: 2015-01-18

Abstract
AIM: To determine serum levels of alpha-fetoprotein variant (AFP-L3) in patients with primary hepatic carcinoma (PHC) and to analyze its clinicopathologic significance.

METHODS: Sixty-two patients with PHC and 52 patients with benign liver diseases (BLD) were included. Serum levels of AFP and AFP-L3 were examined by lens culinaris agglutinin (LCA)-coupled spin column (ACSC) and electrochemiluminescence method, respectively. The percentage content of AFP-L3 was calculated. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to assess the pathology of PHC. The correlation between serum AFP-L3 and tumor size, differentiation, and stage was evaluated.

RESULTS: The positive rate of APF showed no significant difference between patients with PHC and those with BLD (51.51% *vs* 34.62%, $P > 0.05$). The positive rate of APF-L3 was significantly higher in PHC patients than in BLD patients (79.03% *vs* 15.38%, $P < 0.05$). The sensitivity and specificity of AFP for diagnosis of PHC were 51.61% and 65.39%, respectively, and the corresponding values for AFP-L3 were 79.03% and 84.62%. The Youden index (YI) of AFP and AFP-L3 were 17% and 63.65%, respectively. The sensitivity and specificity of combined detection of the two markers were 88.70% and 86.32%, respectively. The percentage content of AFP-L3 was significantly higher in PHC patients than in BLD patients (13.35% *vs* 2.05%, $P < 0.05$). The positive rate of AFP-L3 in PHC patients was significantly higher than that in BLD patients (79.03% *vs* 15.38%, $P < 0.05$). The percentage content of AFP-L3 and the positive rate of AFP-L3 were significantly associated with tumor size and stage ($P < 0.05$), but not with tumor differentiation.

CONCLUSION: Serum AFP-L3 has significant clinical value in estimating clinicopathologic characteristics of PHC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Alpha-fetoprotein variant; Primary hepatic carcinoma; Pathologic characteristics; Correlation

Ji FQ, Teng J, Zheng QZ. Clinicopathologic significance and expression of serum alpha-fetoprotein variant in patients with primary liver cancer. Shijie Huaren

■同行评议者
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

Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 286-290 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/286.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.286

摘要

目的: 探讨原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)患者血清中的甲胎蛋白异质体L3(alpha-fetoprotein variant, AFP-L3)在PHC的表达及临床病理学意义.

方法: 随机选取62例PHC患者和52例良性肝病(benign liver diseases, BLD)的血清, 采用亲和吸附方法与电化学发光方法分别进行总AFP检测和AFP-L3的纯化和检测, 并计算AFP-L3的百分含量(AFP-L3检测结果). PHC的病理标本切片用苏木精伊红染色法. 然后对AFP-L3检测结果与PHC分化程度和肿瘤直径大小及肿瘤分期进行相关性分析.

结果: PHC组血清AFP阳性率为51.51%, BLD组血清AFP阳性率为34.62%; PHC组AFP阳性率与BLD组AFP阳性率相比较, 差异无统计学意义($\chi^2 = 3.318$, $P = 0.069$). PHC组血清AFP-L3阳性率为79.03%, BLD组血清AFP-L3阳性率为15.38%; PHC患者血清AFP-L3阳性率高于BLD组(79.03% *vs* 15.38%, $P<0.05$). AFP灵敏度为51.61%, 特异度为65.39%; AFP-L3灵敏度为79.03%, 特异度为84.62%; AFP的Youden指数(Youden index, YI)为17%, AFP-L3的YI为63.65%. AFP、AFP-L3联合检测的灵敏度为88.70%, 特异度为86.32%. PHC患者血清AFP-L3百分含量高于BLD组(13.35% *vs* 2.05%, $P<0.05$), PHC患者血清AFP-L3阳性率高于BLD组(79.03% *vs* 15.38%, $P<0.05$). PHC患者血清AFP-L3百分含量、AFP-L3阳性率与癌灶大小、肿瘤分期呈正相关($P<0.05$). 与肿瘤分化程度不相关. 以上各组阳性率比较差异均无统计学意义.

结论: AFP-L3的测定对于判断PHC的肿瘤病理学特性具有一定的临床意义.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 甲胎蛋白异质体; 原发性肝癌; 病理学特性; 相关性

核心提示: 本研究结果显示原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)患者血清甲胎蛋白异质体L3(alpha-fetoprotein variant, AFP-L3)百分含量与阳性率显著高于良性肝病(benign liver diseases)组; PHC患者血清AFP-L3的百分含量及阳性率与癌灶大小、肿瘤分期呈正相关, 而与肿瘤分化程度的相关性不明显. 认为检测AFP-L3含量可判断PHC的肿瘤病理学特性.

纪凤卿, 滕菁, 郑启忠. 血清甲胎蛋白异质体在原发性肝癌中的表达及临床病理学意义. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 286-290 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/286.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.286

0 引言

原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)是当今最常见的十大恶性肿瘤之一, 每年约有60-70万人死于PHC, 在亚太地区有很高的发生率[1]. 1970年Purves等[2]首次提出甲胎蛋白异质体(alpha-fetoprotein variants, AFP)这一概念. 现通常把与小扁豆素结合的甲胎蛋白异质体L3(alpha-fetoprotein variant, AFP-L3)称为AFP异质体, 与PHC密切相关, 是重要的肝癌诊断因子, 是新一代的肿瘤标志物[3]. 国内AFP-L3的临床应用已相当广泛, 但目前国内研究多局限于研究AFP-L3对PHC的诊断效能、鉴别诊断价值、早期预警价值等. 但对于AFP-L3与肿瘤直径大小、分化程度和分期的报道却较少, 甚至存在相互矛盾的结论[4]. 而对于AFP-L3百分含量及阳性率与PHC肿瘤分化程度的关系更是鲜见报道. 为此本文针对AFP-L3与PHC病理学相关性作一回顾性分析.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2011-05/2012-06收治于福建中医药大学附属厦门市中医院的114例血清标本. 其中肝癌62例, 其中男50例, 女12例, 年龄30-74岁; 慢性良性肝病(benign liver diseases, BLD)52例, 其中男38例, 女14例, 年龄19-79岁. 各类肝病患者经临床结合、免疫学、B超、CT检查诊断确诊. 各种慢性BLD的诊断参照2010年中华医学会肝病学分会、感染病学分会制定的《慢性乙型肝炎防治指南》的标准[5]. PHC的临床诊断均经组织病理学或影像学证实, 诊断符合2001-09广州第八届全国肝癌学术会议制订的PHC临床诊断与分期标准[6]. 肝癌TNM分期, 其中Ⅰ期5例、Ⅱ期5例、Ⅲ期26例、Ⅳ期19例. 根据影像学诊断, 癌灶大小分布为<3 cm 8例、3-5 cm 11例、>5 cm 17例. 罗氏公司电化学发光免疫分析仪1601. AFP检测试剂为罗氏1601电化学发光免疫分析仪原装配套, AFP-L3凝集素亲和层析微量离心柱分离试剂由北京热景生物技术有限公司提供. 苏木精伊红

■研发前沿
鉴于目前国内研究中对于AFP-L3与肿瘤直径大小、分化程度和分期的报道却较少, 甚至存在相互矛盾的结论. 而对于AFP-L3百分含量及阳性率与PHC肿瘤分化程度的关系更是鲜见报道.

■相关报道
近年来国内仅有报道过陈燕等学者研究中指出AFP-L3百分含量及阳性率与肿瘤的大小、肿瘤分期呈正相关. 张健等学者研究中却指出AFP-L3百分含量与肿瘤的大小呈正相关, 阳性率与肿瘤的大小不相关性. AFP-L3百分含量与肿瘤分期不相关性, 而阳性率与肿瘤分期有相关性.

■创新盘点
国内对于AFP-L3与肿瘤直径大小、分化程度和分期的报道却较少，甚至存在相互矛盾的结论. 而对于AFP-L3百分含量及阳性率与PHC肿瘤分化程度的关系更是鲜见报道. 从而可见目前各方学者对于此方面的研究仍存在不少争议. 我们仍然有必要进一步研究.

■应用要点
本文的结果对临床上采用AFP-L3判断PHC的病理状况具有一定的参考价值. 并且目前PHC的病理诊断中AFP-L3免疫组织化学方法并未在临床上推广. 而本研究主要采用亲和吸附方法与电化学发光方法相结合，自动分析系统具有方便、快捷、操作简单等优点，易于在临床上推广使用.

表 1 肝癌组和慢性良性肝病组AFP、AFP-L3的表达情况

分组	*n*	AFP阳性		AFP-L3阳性	
		n	阳性率(%)	*n*	阳性率(%)
肝癌组	62	32	51.61	49	79.03[a]
良性肝病	52	18	34.62	8	15.38

[a]$P<0.05$ *vs* 慢性良性肝病组. AFP: 甲胎蛋白.

染色液由上海蓝季科技发展有限公司提供.

1.2 方法

1.2.1 亲和吸附法纯化AFP-L3: (1)样本准备: 将血清样本完全离心，吸取400 μL血清加入600 μL清洗液，混匀，待用; (2)去除保护液: 去除AFP-L3亲和吸附离心管的上部离心管中，装入离心柱外管中，3000 r/min，室温下离心20 s; (3)加样: 吸出已经稀释好的血清600 μL加入上部离心管中，室温静置10 min，此操作请不要盖离心管盖子; (4)清洗: 取1.2 μL清洗液加入上部离心管中，盖上离心盖，3000 r/min，室温下离心20 s; (5)将上部离心管取出，装入新的离心柱外管中，将原离心柱外管及其中液体全部弃去; (6)洗脱: 取600 μL洗脱液加入上部离心管，盖上离心盖，3000 r/min室温下离心20 s; (7)离心柱外管中的液体即为备检样本.

1.2.2 电化学发光方法检测血清AFP、AFP-L3水平: 严格按照仪器标准化操作规程，应用罗氏公司电化学仪器1601检测总AFP和AFP-L3的含量并计算AFP-L3占AFP总量的百分比. 以AFP>400 ng/mL，AFP-L3占总AFP比率>10%作为阳性标准.

1.2.3 苏木精伊红染色: (1)取手术标本的切缘组织、肝癌原发灶，经中性甲醛固定，常规石蜡包埋、切片; (2)二甲苯Ⅰ脱蜡10 min，二甲苯Ⅱ脱蜡5 min，无水乙醇洗去二甲苯，1次×2 min; (3)950、900、850 mL/L乙醇各1 min，然后自来水洗2 min; (4)苏木精染色1-5 min，自来水洗1 min; (5)1%盐酸乙醇分化20 s，自来水洗1 min; (6)稀氨水(1%)反蓝30 s，自来水洗1 min; (7)伊红染色20 s-5 min，自来水洗30 s; (8)850 mL/L乙醇脱水20 s，900 mL/L乙醇30 s，950 mL/L Ⅰ乙醇1 min，950 mL/L Ⅱ乙醇1 min，无水乙醇Ⅰ2 min，无水乙醇Ⅱ 2 min，二甲苯Ⅰ 2 min，二甲苯Ⅱ 2 min，二甲苯Ⅲ 2 min; (9)中性树胶或加拿大树胶封片.

统计学处理 应用SPSS18.0统计学软件进行统计分析. 计量资料结果用中位数(四分位数)表达呈偏态分布的定量资料，计算每份标本的AFP-L3/AFP比值(AFP-L3检测结果)，以AFP>400 ng/mL、AFP-L3/AFP>10%为阳性判断值，随后分别对每例患者的癌灶大小、肝癌分化程度、分期与AFP-L3百分含量、AFP-L3阳性率的进行Spearson相关性分析; 良恶性肝病AFP-L3/AFP比值比较采用两独立样本非参数检验方法统计分析; 计数资料组间比较采用χ^2检验，$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 肝癌组和慢性肝病组AFP、AFP-L3的表达情况 PHC组AFP阳性率为51.61%，BLD组AFP阳性率为34.62%; PHC组AFP阳性率与BLD组AFP阳性率相比较，差异无统计学意义($\chi^2 = 3.318$, $P = 0.069>0.05$). AFP灵敏度为51.61%，特异度为65.39%. PHC组AFP-L3阳性率为79.03%，BLD组AFP-L3阳性率为15.38%，灵敏度为79.03%，特异度为84.62%; AFP的YI = 51.61%+65.39%-1 = 17%，AFP-L3的YI = 79.03%+84.62%-1 = 63.65%. AFP、AFP-L3联合检测的灵敏度为88.70%，特异度为86.32%(表1).

PHC组AFP-L3的阳性率高于BLD组，差异有统计学意义($\chi^2 = 45.826$, $P = 0.000$). PHC组AFP-L3的中位数水平为13.35%，慢性BLD组AFP-L3的中位数水平为2.05%. 比较两组中位数水平，PHC组高于慢性BLD组，差异有统计学意义($Z = -6.723$, $P = 0.000$).

2.2 血清AFP-L3检测结果与PHC肿瘤大小相关性分析 用AFP-L3检测结果对癌灶直径进行线性回归分析，统计结果显示两者呈正相关性($r = 0.615$, $P = 0.000$). 癌灶直径与AFP-L3阳性率分布结果如表2，统计分析表明两者呈正相关性(Kendall相关系数$r = 0.617$, $P = 0.000$; Spearman相关系数$r = 0.631$, $P = 0.000$). 但是不同肿瘤直径大小组间AFP-L3阳性率之间比较，差异无统计学意义($\chi^2 = 2.935$, $P = 0.230$).

表 2 AFP-L3的表达与原发性肝癌临床病理特征的关系

临床病理特征	*n*	AFP-L3检测结果(中位数)	AFP-L3阳性率(%)
肿瘤直径(cm)			
<3	8	9.90	50.00
3-5	11	11.40	63.64
>5	17	17.50	88.24
肿瘤分期			
Ⅰ	5	5.70	40.00
Ⅱ	7	11.50	57.14
Ⅲ	26	13.22	84.62
Ⅳ	19	18.10	94.74
肿瘤分化			
高分化	6	6.90	66.66
中分化	36	10.20	77.78
低分化	16	23.51	87.50

AFP-L3: 甲胎蛋白异质体L3.

2.3 血清AFP-L3检测结果与PHC的分化程度相关性分析 肿瘤分化程度与AFP-L3阳性率分布结果如表2, 统计分析表明两者的相关性不具有统计学意义(Kendall相关系数r = -0.143, P = 0.132; Spearman相关系数r = -0.148, P = 0.134). 但是各分化组间AFP-L3阳性率之间比较, 差异无统计学意义(χ^2 = 1.290, P = 0.525).

2.4 血清AFP-L3检测结果与PHC肿瘤分期的相关性分析 用AFP-L3检测结果对肿瘤分期进行线性回归分析, 统计分析表明两者呈正相关性(Spearson相关系数r = 0.189, P = 0.034). 肿瘤不同分期与AFP-L3阳性率分布结果如表2, 统计分析表明两者相关性具有统计学意义, 呈正相关(Kendall相关系数r = 0.362, P = 0.002; Spearman相关系数r = 0.386, P = 0.002). 不同肿瘤分期组间AFP-L3阳性率之间比较, 差异无统计学意义(χ^2 = 10.472, P = 0.015).

3 讨论

AFP是一种单链糖蛋白, 是肝癌重要的临床血清学指标[7], 但据有关研究[8,9]显示有15%-58%慢性乙型肝炎患者和11%-47%肝硬化患者中AFP也可升高. 为此众多专家认为AFP作为高危人群中肝癌诊断指标尚缺乏特异性. 本研究中, PHC组AFP阳性率为51.51%, BLD组AFP阳性率为34.62%; AFP敏感性为51.61%, 特异性为65.39%. 肝癌组AFP的阳性率为51.61%, 与BLD组阳性率34.62%相比较, 差异无统计学意义(χ^2 = 3.318, P = 0.069). 可见, 血清AFP在鉴别良恶性肝脏肿瘤方面存在一定的局限性. AFP-L3为肝癌细胞特有, 有研究显示其在诊断PHC时特异性达90%以上, 敏感性为70.00%-75.50%[10,11]. 而本研究也显示血清AFP-L3在诊断PHC的敏感性为79.03%, 特异性为84.62%; AFP的YI = 17%, AFP-L3的YI = 63.65%, 由此可见, AFP-L3在诊断PHC方面的无论是灵敏度还是特异性都优于AFP, 诊断实验真实性比AFP好. 而在本实验研究中联合检测血清AFP、AFP-L3, 其灵敏度为88.70%, 特异度为86.32%. 联合检查已经成为PHC有效的诊疗方法, 但总体分析显示PHC诊断敏感性及特异性还是不够高, 临床还须要发现新的更敏感的肿瘤标志物, 进一步提高肝癌的诊断效率. 目前, 还没有一种指标能诊断全部PHC, 因此在血清标志物检测的同时还必须结合临床及影像学检查, 综合判断, 以免漏诊.

另有临床研究[12]表明AFP-L3是PHC的一种生物恶性标志物, 表达AFP-L3的PHC细胞有早期血管侵袭和肝内转移的倾向. 有报道[12]约有35%的直径<2 cm的小肝癌病灶患者可出现AFP-L3的升高. 食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)于2005年批准将该指标应用于肝癌诊断, 并把AFP-L3诊断肝癌的阳性界定值为10%. 本实验研究中, 肝癌组的AFP-L3的阳性率为79.03%, 中位水平为13.35%, 与慢性肝病组相比较, 其阳性率和水平显著高于慢性肝病组, 差异有统计学意义(P<0.05). 该结论和国内何兰香等[13]报道一致. 由此说明, AFP-L3对良恶性肝脏肿瘤有良好的鉴别诊断价值.

以往的一些研究[14-16]也发现了AFP-L3在早期肝癌的预警方面能发挥巨大作用. 也有研究[17]表明其在肝癌术后预后判断具有重要的临床意义. 但目前国内研究对于AFP-L3与肿瘤直径大小、分化程度和分期的报道却较少, 甚至存在相互矛盾的结论. 本研究对62例PHC血清标本的AFP-L3进行了测定和分析, 结果显示PHC患者血清中的AFP-L3百分含量及阳性率与肿瘤的大小呈正相关, 进一步分析表明AFP-L3的阳性率随着肿瘤直径的增大而增加, 然而在所分的3个不同肿瘤直径组的阳性率比较无显著差异. 上述回顾性分析提示: 总体上讲AFP-L3来源于肝癌细胞的分泌, 基本上随着肿瘤直径的增加, 其分泌到血中的AFP-L3含量也随之增多. 既往偶

■名词解释
甲胎蛋白异质体: 研究人员根据与外源性凝集素亲和性的不同, 可对AFP来源作出判断. Taketa等发现PHC患者血清中AFP与小扁豆素(lens culinaris agglutinin, LCA)结合后, 电泳分成LCA非结合型(AFP-L1、AFP-L2)和LCA结合型(AFP-L3). 现通常把与小扁豆素结合的AFP-L3称为AFP异质体.

■同行评价
本文的结果对临床上采用AFP-L3判断PHC的病理状况具有一定的参考价值.

见有学者的研究结论与本研究是相矛盾, 究其原因可能是因为这些研究在对象选择上未排除多发性肝癌, 造成了不同研究结论间的矛盾; 而本研究是结合影像学结果及临床病历资料进行了回顾性分析, 对研究对象进行了严格的筛选, 入组病例均为单发肿瘤. 通常情况下分化程度低的恶性肿瘤较分化程度高的肿瘤更易转移, 恶性程度更高, 预后不好. 本研究结果也显示AFP-L3百分含量虽然随着肝癌分化程度的提高而降低, 然而却与PHC分化程度相关性不具有统计学意义; 并且各组的阳性率比较差异无统计学意义. 同时我们的研究也显示AFP-L3百分含量肿瘤分期成正相关(r = 0.189, P =0.034), AFP-L3阳性率与肿瘤分期成正相关(Kendall相关系数r = 0.362, P = 0.002; Spearman相关系数r = 0.386, P = 0.002). 这也提示AFP-L3的检测结果与阳性率对PHC肿瘤分期具有一定的临床应用价值. 对于此部分研究, 我们认为有必要加大样本量, 并且从PHC整个生物化学变化过程进一步研究, 以期获得更加可靠的研究结论.

当然我们也可运用AFP和AFP-L3免疫组织化学方法进行该项研究, 但是通常情况下免疫组织化学方法只可做到定性检测. 而本研究所采用方法主要为采用亲和吸附方法与电化学发光方法相结合, 自动分析系统具有方便、快捷、操作简单等优点, 易于在临床上推广使用. 但由于仪器灵敏度的限制, 当总AFP浓度低于10 ng/mL时, 无法测定AFP-L3的百分比[18]. 因此, 不同检测技术的灵敏度和精确度存在差异, 可影响AFP- L3的检测结果及临床意义判断.

总之, AFP-L3的测定对于判断PHC的肿瘤病理学特性具有一定的临床意义. 由于入选例数有限, 今后的研究中可加大样本数量的积累, 进一步探讨其在PHC病理学特性诊断中的价值.

4 参考文献

1 Kudo M. The 2008 Okuda lecture: Management of hepatocellular carcinoma: from surveillance to molecular targeted therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 439-452 [PMID: 20370723]

2 Purves LR, van der Merwe E, Bersohn I. Variants of alpha-fetoprotein. *Lancet* 1970; 2: 464-465 [PMID: 4195136 DOI: 10.1016/S0140-6736(70)90076-0]

3 Li D, Mallory T, Satomura S. AFP-L3: a new generation of tumor marker for hepatocellular carcinoma. *Clin Chim Acta* 2001; 313: 15-19 [PMID: 11694234 DOI: 10.1016/S0009-8981(01)00644-1]

4 张健, 阿克木江, 刘爱霞, 刘佳, 赵静, 徐军, 戴亮, 王卫东, 卞成蓉, 郭晓东, 李伯安. 血清中甲胎蛋白异质体L3含量与肝癌分期及大小的相关性. 中华实验和临床病毒学杂志 2014; 28: 221-223

5 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 13-24

6 中国抗癌协会肝癌专业委员会. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准. 中华肝脏病杂志 2001; 9: 324

7 常树建, 洪婷婷, 朱文英. 非肝癌血清甲胎蛋白阳性意义的探讨. 中华全科医学 2010; 8: 1249-1250

8 朱波, 王英, 李美琴, 陈艳华, 黄玲莎, 黄文成, 张玮, 陈铃. 原发性肝癌患者血清肿瘤标志物的测定及临床意义. 中华实用诊断与治疗杂志 2009; 23: 948-949

9 赵威, 窦科峰, 岳树强, 杨雁灵. 外周血sICAM-1联合AFP检测对原发性肝癌诊断的意义. 中华实用诊断与治疗杂志 2008; 22: 481-482

10 王莉, 贾志凌, 刘畅, 柴丽娜. 3种血清肿瘤标志物检测在原发性肝癌诊断中价值. 中华实用诊断与治疗杂志 2013; 27: 759-761

11 戴亚新, 张时良, 裴豪. 肝癌和肝病患者血清甲胎蛋白异质体的检测及临床意义. 中国实验诊断学 2013; 17: 296-297

12 常彬霞, 辛邵杰. 甲胎蛋白及其临床应用研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 576-580

13 何兰香, 毛智趣, 黄海深, 江伟河, 唐光定. AFP-L3对肝癌鉴别诊断的临床价值. 实验与检验医学 2013; 31: 258-259

14 Taketa K, Ichikawa E, Sakuda H, Iwamasa T, Hayakawa M, Taga H, Hirai H. Lectin reactivity of alpha-fetoprotein in a case of renal cell carcinoma. *Tumour Biol* 1989; 10: 275-280 [PMID: 2479080 DOI: 10.1159/000217625]

15 王寿明, 高蕾, 于乐成, 何长伦. 甲胎蛋白异质体对肝癌诊断及疗效评估价值研究进展. 实用肝脏病杂志 2011; 14: 479-481

16 陈燕, 林莺莺, 胡敏华, 陈岩松. 甲胎蛋白异质体在肝癌早期诊断和预警作用研究. 现代肿瘤医学 2012; 20: 1652-1654

17 李宾, 刘志伟, 刘艳芬, 李磊, 陈秋英, 杜爱君, 胡万宁. 原发性肝癌患者术后甲胎蛋白异质体的变化及临床意义. 贵阳中医药学报 2014; 36: 52-54

18 Sterling RK, Jeffers L, Gordon F, Sherman M, Venook AP, Reddy KR, Satomura S, Schwartz ME. Clinical utility of AFP-L3% measurement in North American patients with HCV-related cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2196-2205 [PMID: 17617202]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 291-307
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌疗效与安全性的系统评价

陈子瑶, 梁 健, 邓 鑫

陈子瑶, 梁健, 邓鑫, 广西中医药大学附属瑞康医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530011
陈子瑶, 住院医师, 主要从事中西医结合防治消化系疾病的研究.
广西中医药科技重大专项基金资助项目, No. GZKZ-Z1103
国家科技部国际合作专项基金资助项目,
No. 2011DFA32620
作者贡献分布: 陈子瑶、梁健及邓鑫对此文所作贡献均等; 此课题由陈子瑶与梁健共同设计; 研究过程由陈子瑶、梁健及邓鑫操作完成; 数据分析由陈子瑶与邓鑫完成; 论文写作由陈子瑶完成.
通讯作者: 陈子瑶, 住院医师, 530011, 广西壮族自治区南宁市华东路10号, 广西中医药大学附属瑞康医院消化内科.
chenziyao118@163.com
电话: 0771-2188107
收稿日期: 2014-10-19 修回日期: 2014-11-14
接受日期: 2014-11-25 在线出版日期: 2015-01-18

Efficacy and safety of thalidomide combined with transcatheter arterial chemoembolization for primary hepatic carcinoma: A systematic review

Zi-Yao Chen, Jian Liang, Xin Deng

Zi-Yao Chen, Jian Liang, Xin Deng, Department of Gastroenterology, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi Chinese Medicine University, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the Traditional Chinese Medicine Science and Technology Major Project Foundation of Guangxi, No. GZKZ-Z1103; the International Cooperation Foundation of National Ministry of Science and Technology, No. 2011DFA32620
Correspondence to: Zi-Yao Chen, Resident Physician, Department of Gastroenterology, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi Chinese Medicine University, 10 Huadong Road, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. chenziyao118@163.com
Received: 2014-10-19 Revised: 2014-11-14
Accepted: 2014-11-25 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of thalidomide (TLD) combined with transcatheter arterial chemoembolization (TACE) for primary hepatic carcinoma (PHC).

METHODS: We searched all randomized controlled trials (RCTs) about TLD combined with TACE for PHC from the Cochrane Library (2014, Issue 3), Web of Science (1986 to March 2014), PubMed (1966 to March 2014), CNKI (1917 to March 2014), VIP (1989 to March 2014) and WanFang Databases (1998 to March 2014). The retrieved articles were screened by two reviewers according to the inclusion criteria, and the data were then extracted. The quality of the included RCTs was evaluated with reference to the Cochrane systematic review. Meta-analysis of overall response rate (ORR), disease control rate (DCR), change of KPS score, survival rate, the change of VEGF and rate of adverse effects was conducted using RevMan 5.2 software.

RESULTS: A total of 22 RCTs involving 1590 patients were included. The meta-analysis showed that compared with TACE alone, TLD combined with TACE was superior in ORR [relative risk (RR) = 1.29, 95% confidence interval (CI): 1.15-1.44], DCR (RR = 1.27, 95%CI: 1.16-1.39), change of KPS score [mean difference (MD) = 9.23, 95%CI: 6.90-11.55], 6-month survival rate (RR = 1.10, 95%CI: 1.01-1.20), 1-year survival rate (RR = 1.25, 95%CI: 1.13-1.39), 2-year survival rate (RR = 1.45, 95%CI: 1.18-1.78), 3-year survival rate (RR = 1.70, 95%CI: 1.16-2.50), and change of VEGF score (MD = -123.64, 95%CI: -143.72--103.55) ($P < 0.05$). TLD combined with TACE was associated with a higher incidence of drug rash compared with TACE alone (RR = 4.50, 95%CI: 2.34-8.64, $P < 0.00001$), although the two groups had comparable incidence of gastrointestinal reactions (RR = 1.08, 95%CI: 0.93-1.25), myelosuppression (RR = 1.12, 95%CI: 0.82-1.52), and liver dysfunction (RR = 1.00, 95%CI: 0.72-1.39) ($P > 0.05$).

CONCLUSION: The current research shows that compared with TACE alone, TLD combined with TACE was associated with higher ORR, DCR, change of KPS score, 0.5-, 1-, 2- and 3-year survival rates, and change

■背景资料
原发性肝癌(primary hepatic carcinomas, PHC)是临床常见的消化系恶性肿瘤, 死亡率居我国恶性肿瘤的第3位, 很多患者就诊时已属于不可切除的中晚期而错失手术机会. 肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是已被公认了的非手术治疗肝癌的首选方法, 但由于术后肝癌组织缺氧, 促进癌肿新的血管生成, 使术后3年生存率仅约20%. 近年来, 许多研究表明沙利度胺(thalidomide, TLD)可有效抑制血管生成, 巩固TACE治疗PHC的整体疗效.

■同行评议者
庹必光, 教授, 遵义医学院附属医院消化科

■研发前沿
近年来，许多关于TLD联合TACE治疗PHC的研究报道了TLD可有效阻止血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)诱导的Caveolin-1的下调，从而选择性抑制VEGF的血管生成作用，弥补TACE的不足，巩固TACE治疗PHC的整体疗效.

of VEGF score, as well as a higher incidence of drug rash, although the incidence of gastrointestinal reactions, myelosuppression, and liver dysfunction was similar between the two groups.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Primary hepatic carcinoma; Thalidomide; Transcatheter arterial chemoembolization; Systematic review; Randomized controlled trials

Chen ZY, Liang J, Deng X. Efficacy and safety of thalidomide combined with transcatheter arterial chemoembolization for primary hepatic carcinoma: A systematic review. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 291-307 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/291.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.291

摘要

目的: 系统评价沙利度胺(thalidomide, TLD)联合肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)治疗原发性肝癌(primary hepatic carcinomas, PHC)的疗效和安全性.

方法: 计算机检索Cochrane Library(2014年第3期)、Web of Science(1986/2014-03)、PubMed(1966/2014-03)、CNKI(1917/2014-03)、维普(1989/2014-03)、万方数据库(1998/2014-03)，收集所有TLD联合TACE治疗PHC的随机对照试验. 由两名评价员严格按照纳入标准选择文献，提取资料，并参照Cochrane系统评价的要求，对选择纳入的随机对照试验进行方法学质量评估后，采用Cochrane协作网提供的RevMan 5.2软件对总有效率、疾病控制率、生活质量KPS评分、不同年限生存率、甲胎蛋白的变化、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的变化及不良反应发生率进行Meta分析.

结果: 最终纳入22项随机对照试验，包括1590例PHC患者，Meta分析结果显示，TLD联合TACE组治疗PHC的总有效率($RR_{合并}$ = 1.29, 95%CI: 1.15-1.44)、疾病控制率($RR_{合并}$ = 1.27, 95%CI: 1.16-1.39)、生活质量KPS评分($MD_{合并}$ = 9.23, 95%CI: 6.90-11.55)、半年生存率($RR_{合并}$ = 1.10, 95%CI: 1.01-1.20)、1年生存率($RR_{合并}$ = 1.25, 95%CI: 1.13-1.39)、2年生存率($RR_{合并}$ = 1.45, 95%CI: 1.18-1.78)、3年生存率($RR_{合并}$ = 1.70, 95%CI: 1.16-2.50)、VEGF水平的变化($MD_{合并}$ = -123.64, 95%CI: -143.72--103.55)优于单纯TACE组，差异有统计学意义(均P<0.05)；不良反应发生率：在药物性皮疹发生率方面，TLD联合TACE组明显高于单纯TACE组，差异有统计学意义(RR = 4.50, 95%CI: 2.34-8.64, P<0.00001)；在减少消化系应发生率(RR = 1.08, 95%CI: 0.93-1.25)、降低骨髓抑制发生率(RR = 1.12, 95%CI: 0.82-1.52)、降低肝功能异常发生率方面(RR = 1.00, 95%CI: 0.72-1.39)，TLD联合TACE组与单纯TACE组相近似，差异无统计学意义(均P>0.05).

结论: 目前研究显示，与单纯TACE疗法相比，TLD联合TACE治疗PHC在总有效率、疾病控制率、生活质量KPS评分、半年生存率、1、2、3年生存率、降低VEGF方面具有明显的优势，但在安全性方面，TLD联合TACE组在药物性皮疹发生率方面明显高于单纯TACE组，而在消化系反应、骨髓抑制率、肝功能异常方面与单纯TACE组相似.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 原发性肝癌; 沙利度胺; 肝动脉化疗栓塞术; 系统评价; 随机对照试验

核心提示: 原发性肝癌(primary hepatic carcinomas, PHC)属于多血管实体瘤，肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是晚期肝癌的首选治疗方法，但术后肝癌组织缺氧而促进新的血管生成，从而降低治疗效果. 沙利度胺沙利度胺(thalidomide)是一种目前研究较为成熟的抗肿瘤血管生成药物，能选择性抑制血管的新生，与TACE联合应用可明显提高抑制癌肿的疗效，使对PHC的治疗更为彻底.

陈子瑶, 梁健, 邓鑫. 沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌疗效与安全性的系统评价. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 291–307 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/291.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.291

0 引言

原发性肝癌(primary hepatic carcinomas, PHC)是全球范围内最常见的消化系恶性肿瘤之一，据统计，2008年，全球范围内PHC新发病例达748300例；因PHC死亡病例达695900例，而这些新发病例和死亡病例约50%发生在中国，分别位居我国恶性肿瘤的第2、3位[1,2]，严重危害着人们的生命和健康. 目前对于PHC的治疗，局部手

术切除仍是首选的治疗方法, 但由于肝癌发病隐匿, 进展迅猛, 临床上很多患者就诊时病情已属于不可切除的中晚期, 因此非手术治疗PHC成为临床各个学科积极研究的方向[3]. 肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是已被公认了的非手术治疗肝癌的首选方法[4-7], 但由于PHC属于多血管实体肿瘤, 新生血管为其细胞提供了充分的营养, 促进其增殖、浸润和转移, 从而大大地影响了TACE治疗的整体疗效, 使TACE治疗后3年生存率仅约20%[8,9], 且TACE术后肝癌组织缺氧导致血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的生成增加[10], 更加促进癌肿组织新的血管生成, 因此抗肿瘤血管生成在治疗PHC上显得尤为重要.

沙利度胺(thalidomide, TLD)是一种目前研究较为成熟的抗肿瘤血管生成分子靶向药物, 近年来, 许多学者不断尝试TLD联合TACE治疗PHC的研究, 表明, TLD可有效阻止VEGF诱导的Caveolin-1的下调, 从而选择性抑制VEGF的血管生成作用, 弥补TACE的不足, 巩固TACE治疗PHC的整体疗效[11]. 但目前大部分相关的临床对照研究规模都比较小, 数据零散, 样本量小, 说服力不足. 因此, 本文采用Cochrane系统评价方法, 搜集已发表的随机对照试验(randomized controlled trial, RCT)进行严格评价和分析, 以期为临床应用TLD联合TACE治疗PHC提供参考.

1 材料和方法

1.1 材料 国内外所有关于TLD联合TACE治疗PHC的临床RCT, 无论是否采用盲法和分配隐藏, 语种不限. 符合2001年“原发性肝癌的临床诊断与分期标准”[12]的诊断标准, 确诊为PHC、不能手术切除、Karnofsky(简称KPS)评分>60分的中晚期患者, 不限性别、年龄、种族. 干预措施: (1)TLD+TACE术 *vs* 单纯TACE术; (2)TLD+TACE术+其他疗法 *vs* TACE术; (3)TLD+TACE术+其他疗法 *vs* TACE术+其他疗法. 两组若都采用了TACE术治疗, TACE术的操作和化疗方案均完全相同. 评价指标: (1)主要指标: 总有效率: 按世界卫生组织(World Health Organization, WHO)实体瘤近期疗效标准[13]进行评估, 总有效率 = (CR+PR)/总例数; (2)次要指标: 疾病控制率: 按WHO实体瘤近期疗效标准[13]进行评估, 疾病控制率 = (CR+PR+SD)/总例数. 生活质量KPS评分: 按Karnofsky评分标准[14], 治疗后提高10分者为改善. 不同年限生存率: 从试验治疗开始至死亡(注明原因)的病例数/总病例数. VEGF水平的变化: 试验治疗前后的对比. 不良反应发生率: 按WHO抗癌药物急性与亚急性不良反应分度标准[15]来评估, 包括药物性皮疹、消化系反应、骨髓抑制及肝功能异常. 检索策略: 按照Cochrane协作网工作手册的要求制定检索策略, 计算机检索Cochrane Library(2014年第3期)、Web of Science(1986-2014.3)、PubMed(1966-2014.3)、CNKI(1917-2014.3)、维普(1989-2014.3)、万方数据库(1998-2014.3), 收集所有TLD联合TACE治疗PHC的RCT. 中文检索式为(原发性肝癌、肝细胞癌 、沙利度胺或反应停、肝动脉化疗栓塞术), 英文检索式为(primary hepatic carcinoma, thalidomide, transcatheter arterial chemoembolization). 检索途径以“原发性肝癌”为主题, 在全文中搜索“沙利度胺”、“肝动脉化疗栓塞术”, 对搜索结果进行相关文献筛选.

1.2 方法

1.2.1 筛选文献: 由两位研究员独立筛选文献的摘要和题目, 剔除动物实验研究、病例报告、综述、临床经验总结、体会、非随机对照试验及重复的文献, 然后查看全文, 进一步确定是否符合上述纳入标准. 交叉核对纳入研究的结果, 如遇分歧, 由第3位研究员协助解决.

1.2.2 提取资料: 由两位研究员对符合纳入标准的文献进行数据提取, 填写预先设计好数据提取表, 包括: (1)一般信息, 包括标题、研究ID号、作者、作者ID号、作者联系方式、发表时间和文献来源; (2)受试者, 包括性别、年龄、诊断标准、参加的人数、描述退出或随访丢失的原因; (3)设计和实施, 包括设计类型、研究和随访时间、干预措施、测量指标; (4)结局指标, 包括总有效率、疾病控制率、生活质量KPS评分、不同年限生存率、VEGF水平的变化和不良反应发生率. 缺乏的资料通过电话方式与原始作者联系进行补充.

1.2.3 纳入研究的方法学质量评价: 纳入RCT的方法学质量采用Higgins等[16]Cochrane Reviewer Handbook 5.1.4的RCT质量评价标准进行评价: (1)随机分配方法, 即随机序列的产生方法; (2)分配隐藏的实施情况; (3)是否采用盲法, 包括研

■相关报道
许多学者, 如叶祯开、姜海英、尚岩等通过研究发现TLD联合TACE治疗PHC有一定疗效, 在治疗有效率、疾病控制率、生存率等方面明显优于单纯TACE组, 值得进一步临床应用及观察.

■**创新盘点**
对于错失手术切除的中晚期原发性肝癌患者的治疗仍较为棘手，目前认为TACE可促进肝癌癌肿坏死，提高患者的生存率. 但术后肝组织缺氧，刺激肝癌组织新的血管生成，导致肿瘤的继续发展. TLD具有抑制血管生成作用，与TACE联合治疗PHC可提高患者的生存率及近期有效率.

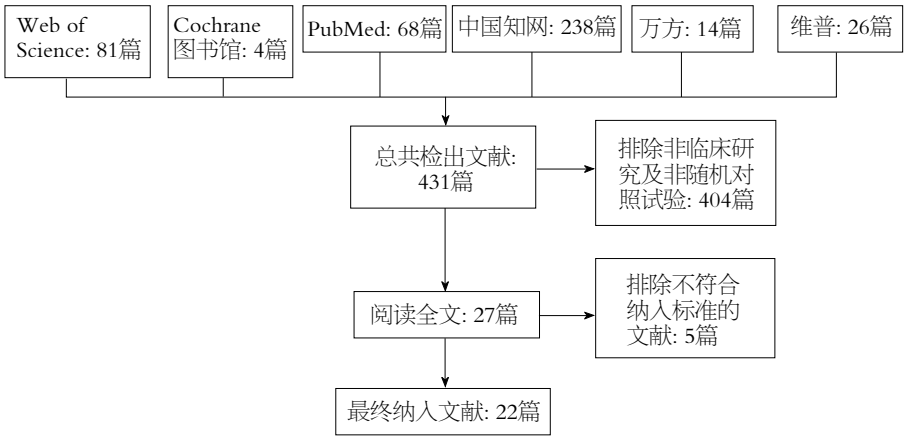


图 1 文献检索流程图.

究实施过程和测量结果过程中是否采用了盲法; (4)纳入研究结果数据的完整性，对失访情况的报道; (5)是否选择性报告研究结果; (6)是否有其他偏倚来源.

1.2.4 *证据质量的评估*: 按照Cochrane系统评价推荐使用的GRADE标准，采用GRADE 3.6软件来评估证据质量，影响GRADE证据质量的因素主要有: (1)研究设计和实施过程中的局限性; (2)证据的间接性; (3)结果间无法解释的异质性; (4)结果不精确; (5)发表偏倚的高度可能性.

统计学处理 采用Cochrane协作网提供的RevMan 5.2软件进行Meta分析. 各纳入研究结果间的异质性采用χ^2检验. 当各研究结果间有统计学同质性(P>0.1, I^2<50%)时，采用固定效应模型进行Meta分析; 如各研究结果间存在统计学异质性(P<0.1, I^2>50%)，分析其异质性原因，根据可能导致异质性的因素进行亚组分析，当亚组内各研究之间及亚组间有足够相似性(亚组P>0.1, I^2<50%)时则用固定效应模型进行Meta分析，若纳入研究各亚组之间存在统计学异质性而无临床异质性或临床差异无统计学意义时，采用随机效应模型进行Meta分析. 若亚组中存在低质量研究时则采用敏感性分析检验结果的稳定性和强度.

2 结果

2.1 *文献筛选结果的描述* 初检出相关文献431篇，通过去重、阅读文题与摘要后，初步纳入文献27篇，阅读全文后排除5篇，最终纳入22个RCT[11,17-37]，共1590例患者，其中试验组783例，对照组807例. 文献筛选流程及结果如图1.

2.2 *纳入研究的基本特征* 纳入研究的基本特征如表1. 各项研究的试验组和对照组中患者的性别、年龄、临床分期、生活质量等差异无统计学意义，具有良好的可比性.

2.3 *纳入研究的方法学质量评价* 纳入RCT的方法学质量评价按照Cochrane协作网偏倚风险评价标准，采用Cochrane评价员手册5.2推荐的偏倚风险评价工具进行评估. 所有纳入的研究均提及随机对照，其中有6项研究[20,21,23,24,27,33]使用了随机数字表，有1项研究[19]使用了信封法产生随机序列，其余15项研究[11,17,18,22,25,26,28-32,34-37]未描述具体的随机方法. 所有研究均未提及方案分配隐藏. 有2项研究[11,30]也实施了盲法(双盲)，其余20项研究未描述盲法的使用情况. 全部研究的数据均完整. 1项研究[26]报告的结局指标与预先的指标不一致. 所有研究均因信息不全而不清楚是否存在其他偏倚来源(表2).

2.4 Meta分析结果

2.4.1 *总有效率*: 15项研究[11,17-22,24,27,28,31,32,34,35,37]报道了TLD联合TACE组与单纯TACE组治疗PHC的总有效率，固定效应模型分析结果显示，两组总有效率差异显著(Z = 4.41, P<0.0001); 合并效应值$RR_{合并}$ = 1.29, 95%可信区间(95%CI): 1.15-1.44. 提示TLD联合TACE组的总有效率明显优于单纯TACE组，差异有统计学意义(P<0.0001). 5个亚组有效率分析结果分别如下: TLD+TACE *vs* 单纯TACE(Z = 3.90, P<0.0001), TLD+TACE+放疗 *vs* TACE+放疗(Z = 0.62, P = 0.53), TLD+TACE+热疗 *vs* 单纯TACE(Z = 0.25, P = 0.80), TLD+替吉奥+TACE *vs* 单纯TACE(Z = 0.90, P = 0.37), TLD+TACE+中药 *vs* TACE+中药(Z = 2.16, P = 0.03). 敏感性分析结果提示，不论剔除哪一项研究RR值和95%CI都不会发生很大改变(图2).

2.4.2 *疾病控制率*: 9项研究[11,18,20-22,24,27,28,37]报道了

表 1 纳入研究特征表

纳入研究	病例人数(n)		男/女	年龄(岁)	TNM分期(n)	生活质量	干预措施		终点指标
	T组	C组					T组	C组	
冯龙等[17]2008	15	20	28/7	31–73	NA	KPS	TACE+TLD	TACE	(1)、(4)、(5)
刘秀芳等[18]2007	40	58	62/36	36–70	Ⅱ(64) Ⅲ(34)	NA	TACE+TLD	TACE	(1)、(2)、(5)、(6)、(7)、(9)
叶祯开等[19]2013	38	39	72/5	23–69	Ⅱ(55) Ⅲ(22)	KPS	TACE+TLD+放疗	TACE+放疗	(1)、(4)、(5)、(6)
姜海英等[20]2010	32	32	48/16	37–72	Ⅱb–Ⅲ(49) Ⅳ(15)	KPS	TACE+TLD	TACE	(1)、(2)、(5)、(6)、(8)、(9)
姜海英等[21]2011	50	50	77/23	30–60	Ⅱb–Ⅲ(77) Ⅳ(23)	KPS	TACE+TLD	TACE	(1)、(2)、(5)、(6)、(8)、(9)
尚岩等[22]2011	60	60	69/51	31–74	Ⅱ(88) Ⅲ(32)	NA	TACE+TLD	TACE	(1)、(2)、(5)、(6)、(7)
戚晓军等[23]2007	34	34	48/20	30–83	Ⅱ(28) Ⅲ(22) Ⅳ(18)	NA	TACE+TLD	TACE	(8)
李泽锋等[24]2009	20	23	36/7	NA	Ⅱ(43)	KPS	TACE+TLD+热疗	TACE+热疗	(1)、(2)、(3)、(4)、(5)
林海澜等[25]2007	32	31	53/10	22–75	Ⅰ(6) Ⅱ(57)	NA	TACE+TLD	TACE	(8)
林云笑等[26]2010	70	62	94/38	30–77	Ⅱ(91) Ⅲ(41)	NA	TACE+TLD	TACE	(4)、(5)、(6)
潘骥群等[27]2013	27	27	38/16	36–76	NA	KPS	TACE+TLD	TACE	(1)、(2)、(8)
王为民等[11]2009	21	26	30/17	25–75	Ⅱ(15) Ⅲ(32)	KPS	TACE+TLD	TACE+纤维素片	(1)、(2)、(9)
王飞[28]2010	38	34	48/24	15–70	NA	NA	TACE+TLD	TACE	(1)、(2)、(5)、(8)
苏小琴等[29]2012	37	35	NA	NA	NA	KPS	TACE+TLD	TACE	(3)
袁孝兵等[30]2009	18	21	31/8	35–75	Ⅱ(27) Ⅲ(12)	KPS	TACE+TLD	TACE+纤维素片	(4)、(5)
赵增虎等[31]2010	45	42	66/21	39–68	Ⅱ(17) Ⅲ(70)	KPS	TACE+TLD+中药	TACE+中药	(1)、(8)
郑伟生[32]2006	14	15	26/3	21–70	NA	KPS	TACE+TLD	TACE	(1)、(3)
郝明志等[33]2007	45	51	86/10	22–75	Ⅰ(6) Ⅱ(76) Ⅲ(14)	KPS	TACE+TLD	TACE	(4)、(5)、(6)
郭鹏等[34]2007	15	17	20/12	33–66	NA	KPS	TACE+TLD	TACE	(1)
陆向东等[35]2014	30	30	41/19	26–77	NA	KPS	TACE+TLD	TACE	(1)、(8)
陈昌南等[36]2008	40	40	58/22	32–79	Ⅰ(13) Ⅱ(49) Ⅲ(18)	NA	TACE+TLD	TACE	(4)、(5)、(6)
陈昌南等[37]2012	62	60	106/16	18–82	Ⅰ(3) Ⅱ(26) Ⅲ(93)	NA	TACE+TLD+替吉奥	TACE	(1)、(2)、(9)

T组: 试验组; C组: 对照组; NA: 未提及. (1): 总有效率; (2): 疾病控制率; (3): KPS评分的变化; (4): 半年生存率; (5): 1年生存率; (6): 2年生存率; (7): 3年生存率; (8): VEGF水平的变化; (9)不良反应的发生率. TACE: 血管内皮生长因子; TLD: 沙利度胺; VEGF: 血管内皮生长因子.

■应用要点

TACE联合抗血管生成是目前治疗中晚期肝癌比较有效的一种方法, 越来越受人关注. TACE联合TLD治疗中晚期肝癌的近期疗效较好, 能明显缓解患者的临床症状, 延长患者的生存期, 提高患者的生存质量, 值得进一步研究.

TLD联合TACE组与单纯TACE组治疗PHC的疾病控制率, 固定效应模型分析结果显示, 两组疾病控制率差异显著(Z = 5.21, P<0.00001); 合并效应值$RR_{合并}$ = 1.27, 95%CI: 1.16-1.39. 提示TLD联合TACE组的疾病控制率明显优于单纯TACE组, 差异有统计学意义(P<0.00001). 3个亚组疾病控制率分析结果分别如下: TLD+TACE *vs* 单纯TACE(Z = 4.46, P<0.00001), TLD+TACE+热

■同行评价
本文从整体上比较了TLD联合TACE治疗和单用TACE治疗的两种方法，有重要的临床参考价值.

表 2 纳入研究质量方法学的评价

纳入研究	随机方法	分配隐藏	盲法实施	不完整报告资料	选择性报告结果	其他偏倚
冯龙等[17]2008	不清楚	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
刘秀芳等[18]2007	不清楚	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
叶祯开等[19]2013	低风险	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
姜海英等[20]2010	低风险	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
姜海英等[21]2011	低风险	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
尚岩等[22]2011	不清楚	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
戚晓军等[23]2007	低风险	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
李泽锋等[24]2009	低风险	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
林海澜等[25]2007	不清楚	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
林云笑等[26]2010	不清楚	不清楚	高风险	低风险	高风险	不清楚
潘骥群等[27]2013	低风险	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
王为民等[11]2009	不清楚	不清楚	低风险	低风险	低风险	不清楚
王飞[28]2010	不清楚	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
苏小琴等[29]2012	不清楚	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
袁孝兵等[30]2009	不清楚	不清楚	低风险	低风险	低风险	不清楚
赵增虎等[31]2010	不清楚	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
郑伟生[32]2006	不清楚	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
郝明志等[33]2007	低风险	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
郭鹏等[34]2007	不清楚	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
陆向东等[35]2014	不清楚	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
陈昌南等[36]2008	不清楚	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚
陈昌南等[37]2012	不清楚	不清楚	高风险	低风险	低风险	不清楚

疗 *vs* 单纯TACE(Z = 1.64, P = 0.10), TLD+替吉奥+TACE *vs* 单纯TACE(Z = 2.19, P = 0.03). 敏感性分析结果提示, 不论剔除哪一项研究RR值和95%CI都不会发生很大改变(图3).

2.4.3 生活质量KPS评分: 3项研究[24,29,32]报道了TLD联合TACE组与单纯TACE组治疗PHC的生活质量KPS评分, 固定效应模型分析结果显示, 两组生活质量KPS评分差异显著(Z = 7.78, P<0.00001); 合并效应值$MD_{合并}$ = 9.23, 95%CI: 6.90-11.55. 提示TLD联合TACE组的生活质量改善率明显优于单纯TACE组, 差异有统计学意义(P<0.00001). 2个亚组生活质量改善率分析结果分别如下: TLD+TACE *vs* 单纯TACE(Z = 6.89, P<0.00001), TLD+TACE+热疗 *vs* 单纯TACE(Z = 3.62, P = 0.0003). 敏感性分析结果提示, 不论剔除哪一项研究MD值和95%CI都不会发生很大改变(图4).

2.4.4 半年生存率: 7项研究[17,19,24,26,30,33,36]报道了TLD联合TACE组与单纯TACE组治疗PHC的半年生存率, 异质性检验结果显示, 7项研究间具有异质性(P<0.00001, I^2 = 83%), 进行异质性分析和处理, 剔除研究[19]后显示6项研究具有同质性(P = 0.84, I^2 = 0%). 固定效应模型分析结果显示, 两组生存率差异显著(Z = 2.27, P = 0.02); 合并效应值$RR_{合并}$ = 1.10, 95%CI: 1.01-1.20. 提示TLD联合TACE组的半年生存率明显优于单纯TACE组, 差异有统计学意义(P = 0.02). 2个亚组半年生存率分析结果分别如下: TLD+TACE *vs* 单纯TACE(Z = 2.04, P = 0.04), TLD+TACE+热疗 *vs* 单纯TACE(Z = 1.05, P = 0.29). 敏感性分析结果提示, 不论去除哪一项研究RR值和95%CI都不会发生很大改变(图5).

2.4.5 1年生存率: 12项研究[17-22,24,26,28,30,33,36]报道了TLD联合TACE组与单纯TACE组治疗PHC的1年生存率, 固定效应模型分析结果显示, 两组生存率差异显著(Z = 4.40, P<0.0001); 合并效应值$RR_{合并}$ = 1.25, 95%CI: 1.13-1.39. 提示TLD联合TACE组的1年生存率明显优于单纯TACE组, 差异有统计学意义(P<0.0001). 3个亚组1年生存率分析结果分别如下: TLD+TACE *vs* 单纯TACE(Z = 4.24, P<0.0001), TLD+TACE+放疗 *vs* TACE+放疗(Z = 0.14, P = 0.89), TLD+TACE+热疗 *vs* 单纯TACE(Z = 1.87, P = 0.06). 敏感性分析结果提示, 不论去除哪一项研究RR值和95%CI都不会发生很大改变(图6).

2.4.6 2年生存率: 8项研究[18-22,26,33,36]报道了TLD

1.1.1 沙利度胺+TACE *vs* 单纯TACE

Study or Subgroup	Experimental Events	Experimental Total	Control Events	Control Total	Weight (%)	Risk Ratio M-H, Fixed, 95%CI
冯龙等[17]2008	10	15	12	20	4.3	1.11[0.67, 1.84]
刘秀芳等[18]2007	23	40	20	58	6.8	1.67[1.07, 2.60]
姜海英等[20]2010	19	32	15	32	6.3	1.27[0.79, 2.02]
姜海英等[21]2011	28	50	21	50	8.8	1.33[0.89, 2.01]
尚岩等[22]2011	53	60	39	60	16.4	1.36[1.10, 1.67]
潘骥群等[27]2013	16	27	13	27	5.5	1.23[0.75, 2.03]
王为民等[11]2009	9	21	9	26	3.4	1.24[0.60, 2.55]
王飞[28]2010	18	38	17	34	7.5	0.95[0.59, 1.52]
郑伟生[32]2006	9	14	4	15	1.6	2.41[0.96, 6.08]
郭鹏等[34]2007	11	15	9	17	3.5	1.39[0.81, 2.38]
陆向东等[35]2014	18	30	17	30	7.1	1.06[0.69, 1.62]
Subtotal(95%CI)		342		369	71.2	1.30[1.14, 1.48]
Total events	214		176			
Heterogeneity: Chi^2 = 6.20, df = 10(P = 0.80); I^2 = 0%						
Test for overall effect: Z = 3.90(P < 0.0001)						
1.1.2 沙利度胺+TACE+放疗 *vs* TACE+放疗						
叶祯开等[19]2013	16	31	14	32	5.8	1.18[0.70, 1.98]
Subtotal(95%CI)		31		32	5.8	1.18[0.70, 1.98]
Total events	16		14			
Heterogeneity: Not applicable						
Test for overall effect: Z = 0.62(P = 0.53)						
1.1.3 沙利度胺+热疗+TACE *vs* TACE						
李泽锋等[24]2009	5	20	5	23	1.9	1.15[0.39, 3.40]
Subtotal(95%CI)		20		23	1.9	1.15[0.39, 3.40]
Total events	5		5			
Heterogeneity: Not applicable						
Test for overall effect: Z = 0.25(P = 0.80)						
1.1.4 沙利度胺+替吉奥+TACE *vs* TACE						
陈昌南等[37]2012	33	62	27	60	11.5	1.18[0.82, 1.70]
Subtotal(95%CI)		62		60	11.5	1.18[0.82, 1.70]
Total events	33		27			
Heterogeneity: Not applicable						
Test for overall effect: Z = 0.90(P = 0.37)						
1.1.5 沙利度胺+TACE+中药 *vs* TACE+中药						
赵增虎等[31]2010	34	45	22	42	9.5	1.44[1.03, 2.01]
Subtotal(95%CI)		45		42	9.5	1.44[1.03, 2.01]
Total events	34		22			
Heterogeneity: Not applicable						
Test for overall effect: Z = 2.16(P = 0.03)						
Total(95%CI)		500		526	100.0	1.29[1.15, 1.44]
Total events	302		244			
Heterogeneity: Chi^2 = 7.01, df = 14(P = 0.93); I^2 = 0%						
Test for overall effect: Z = 4.41(P < 0.0001)						
Test for subgroup differences: Chi^2 = 0.81, df = 4(P = 0.94), I^2 = 0%						

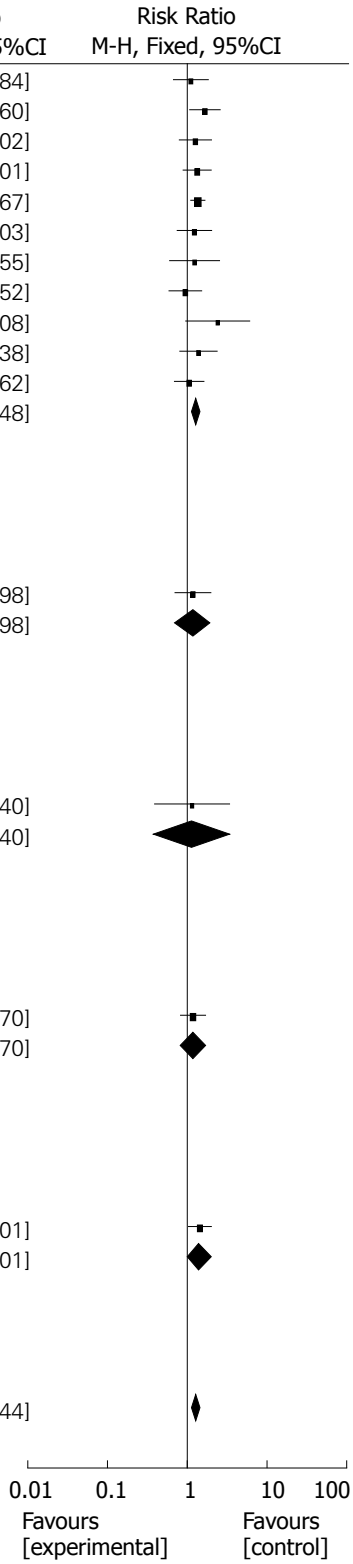


图 2 沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌总有效率的Meta分析结果. TACE: 肝动脉化疗栓塞术.

联合TACE组与单纯TACE组治疗PHC的2年生存率, 固定效应模型分析结果显示, 两组生存率差异显著(Z = 3.57, P = 0.0004); 合并效应值$RR_{合并}$ = 1.45, 95%CI: 1.18-1.78. 提示TLD联合TACE组的2年生存率明显优于单纯TACE组, 差异有统计学意义(P = 0.0004). 2个亚组2年生存率分析结果分别如下: TLD+TACE *vs* 单纯TACE(Z = 3.46, P = 0.0005), TLD+TACE+放疗 *vs* TACE+放

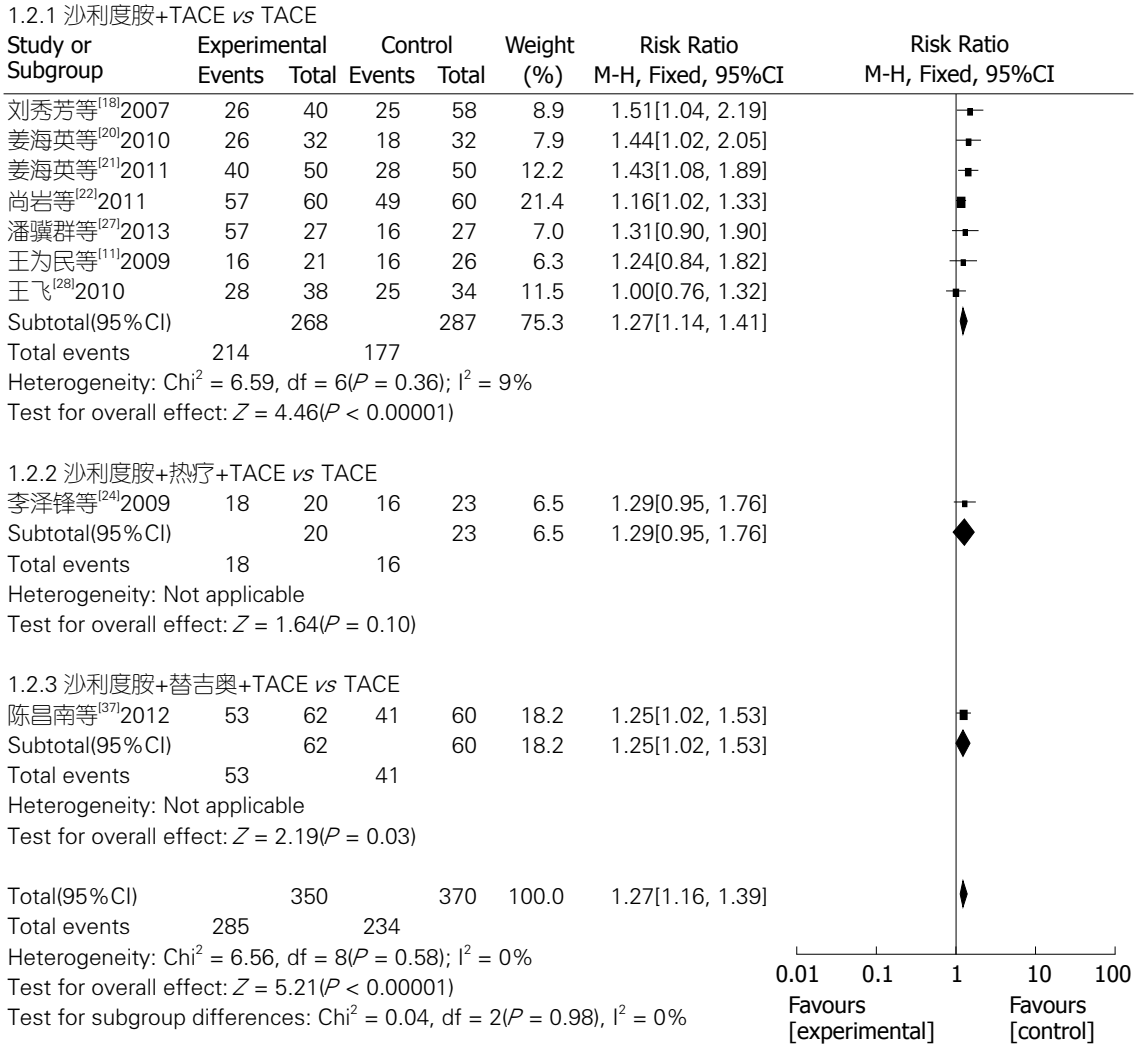


图 3 沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌疾病控制率的Meta分析结果. TACE: 肝动脉化疗栓塞术.

疗(Z = 0.91, P = 0.36). 敏感性分析结果提示, 不论去除哪一项研究RR值和95%CI都不会发生很大改变(图7).

2.4.7 3年生存率: 2项研究[18,22]报道了TLD联合TACE组与单纯TACE组治疗PHC的3年生存率, 固定效应模型分析结果显示, 两组生存率差异显著(Z = 2.70, P = 0.007); 合并效应值$RR_{合并}$ = 1.70, 95%CI: 1.16-2.50. 提示TLD联合TACE组的3年生存率明显优于单纯TACE组, 差异有统计学意义(P = 0.007)(图8).

2.4.8 VEGF水平的变化: 8项研究[20,21,23,25,27,28,31,35]报道了TLD联合TACE组与单纯TACE组治疗PHC的VEGF水平的变化, 异质性检验结果显示, 8项研究间具有中度异质性(P = 0.09, I^2 = 43%), 采用随机效应模型分析结果显示, 两组VEGF水平变化差异显著(Z = 12.07, P<0.00001); 合并效应值$MD_{合并}$ = -123.64, 95%CI: -143.72--103.55. 提示TLD联合TACE组的VEGF水平变化明显优于单纯TACE组, 差异有统计学意义(P<0.00001). 2个亚组VEGF水平变化分析结果分别如下: TLD+TACE *vs* 单纯TACE(Z = 9.54, P<0.00001), TLD+TACE+中药 *vs* TACE+中药(Z = 8.90, P<0.00001). 敏感性分析结果提示, 不论剔除哪一项研究MD值和95%CI都不会发生很大改变(图9).

2.4.9 不良反应发生率: 4项研究[11,20,21,37]报道了TLD联合TACE组与单纯TACE组治疗PHC的药物性皮疹发生率, 固定效应模型分析结果显示, 两组药物性皮疹发生率差异显著(Z = 4.52, P<0.00001); 合并效应值RR = 4.50, 95%CI: 2.34-8.64. 提示TLD联合TACE组的药物性皮疹发生率明显高于单纯TACE组, 差异有统计学意义(P<0.00001)(图10).

5项研究[11,18,20,21,37]报道了TLD联合TACE组

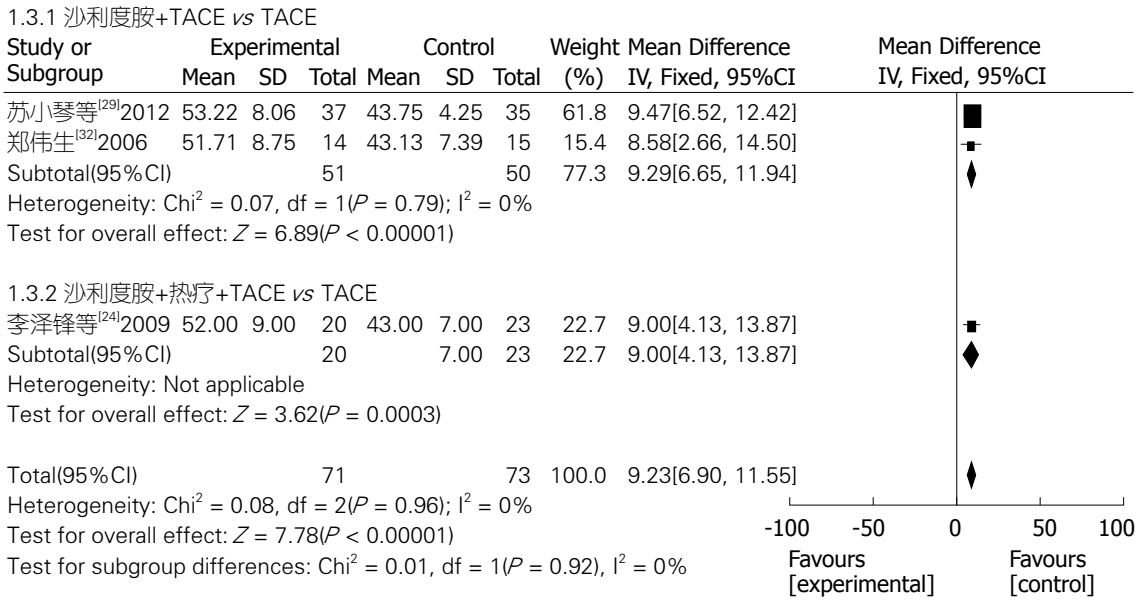


图 4 沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌KPS评分变化的Meta分析结果. TACE: 肝动脉化疗栓塞术.

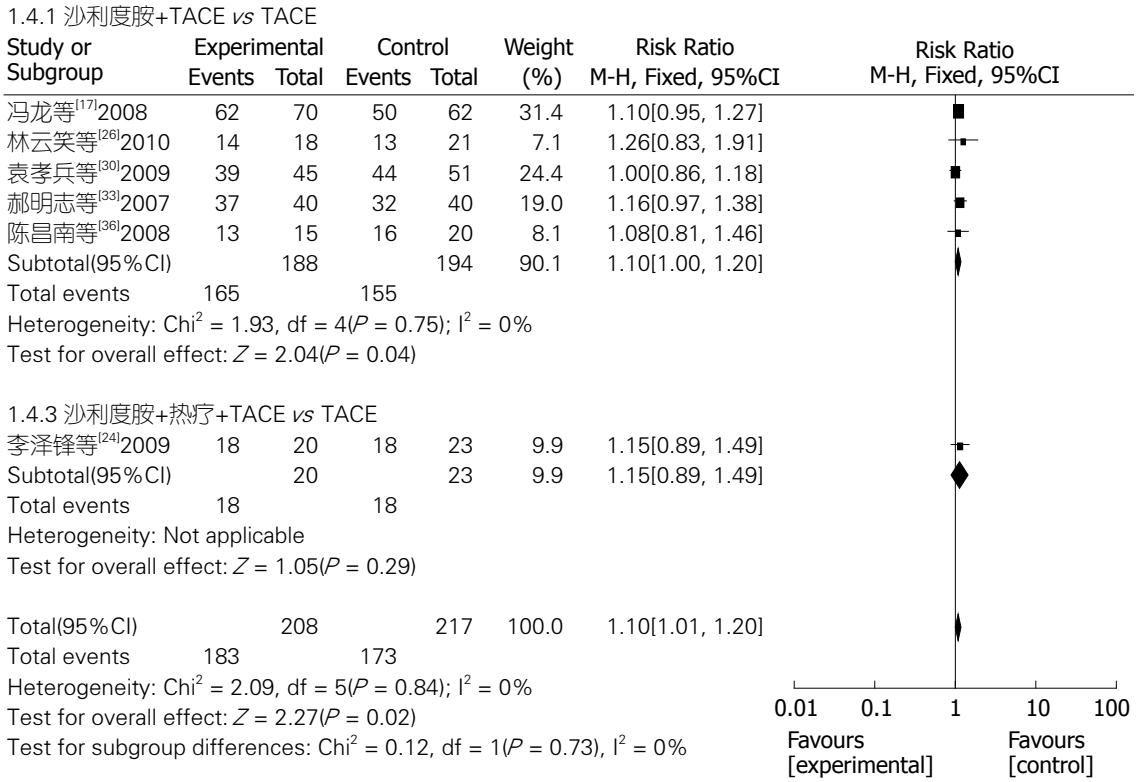


图 5 沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌半年生存率的Meta分析结果. TACE: 肝动脉化疗栓塞术.

与单纯TACE组治疗PHC的消化系反应发生率, 固定效应模型分析结果显示, 两组消化系反应发生率无明显差异(Z = 0.98, P = 0.33); 合并效应值RR = 1.08, 95%CI: 0.93-1.25. 提示TLD联合TACE组的消化系反应发生率与单纯TACE组相近似, 差异无统计学意义(P = 0.33)(图10).

4项研究[11,20,21,37]报道了TLD联合TACE组与单纯TACE组治疗PHC的骨髓抑制发生率, 固定效应模型分析结果显示, 两组骨髓抑制发生率无明显差异(Z = 0.71, P = 0.48); 合并效应值RR = 1.12, 95%CI: 0.82-1.52. 提示TLD联合TACE组的骨髓抑制发生率与单纯TACE组相近似, 差异无统计学意义(P = 0.48)(图10).

3项研究[11,20,21]报道了TLD联合TACE组与单

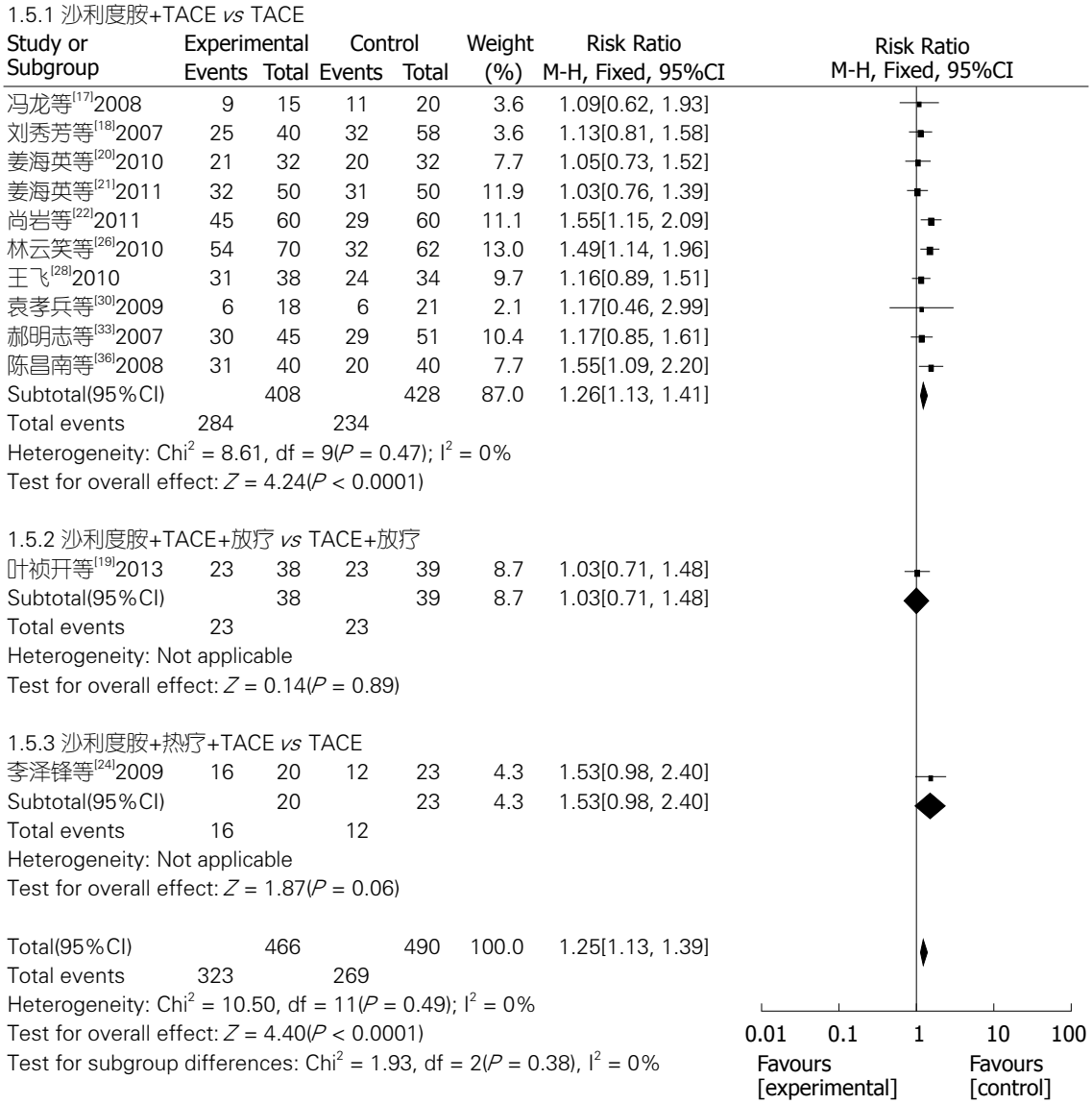


图 6 沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌1年生存率的Meta分析结果. TACE: 肝动脉化疗栓塞术.

纯TACE组治疗PHC的肝功能异常发生率, 固定效应模型分析结果显示, 两组肝功能异常发生率无明显差异($Z = 0.01$, $P = 0.99$); 合并效应值RR = 1.00, 95%CI: 0.72-1.39. 提示TLD联合TACE组的肝功能异常发生率与单纯TACE组相近似, 差异无统计学意义($P = 0.99$)(图10).

2.5 发表偏倚 我们采用总有效率指标及1年生存率指标对纳入研究进行漏斗图分析. 漏斗图对称性良好, 提示结果受发表偏倚影响的可能性较小(图11).

2.6 证据质量的评估 根据GRADE标准质量分级原则把证据质量评级分为四级(高质量、中等质量、低质量、极低质量), 本研究中纳入研究的证据评级基本都是中等质量, 具体情况如表3(GRADE分级证据质量评估表).

3 讨论

3.1 主要结果 本研究检索了2014-03以前国内外关于TLD联合TACE与单纯TACE治疗PHC疗效与安全性的临床研究, Meta分析结果证实, 在总有效率、疾病控制率、生活质量KPS的变化、不同年限生存率、VEGF的变化指标方面, TLD联合TACE组明显优于单纯TACE组. 关于安全性方面, TLD联合TACE组的药物性皮疹发生率明显高于单纯TACE组, 而TLD联合TACE组与单纯TACE组在消化系反应、骨髓抑制及肝功能损害三方面的发生率相近似.

3.2 获效机制 PHC是全球死亡率极高的恶性肿瘤之一, 尤其是亚洲国家[1].目前对于PHC的治疗, 根治性切除术仍被认为是首选手段, 手术后的5年生存率高达23.8%-54.85%[38-41], 但PHC起

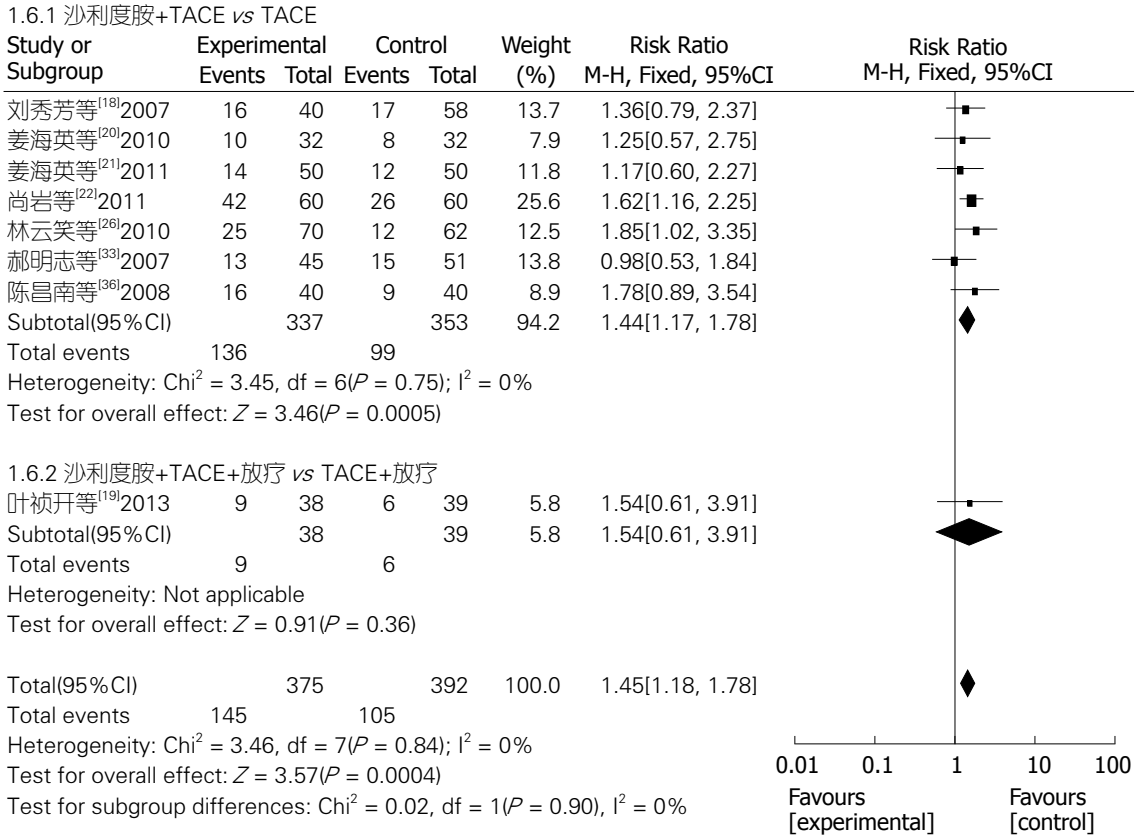


图 7 沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌2年生存率的Meta分析结果. TACE: 肝动脉化疗栓塞术.

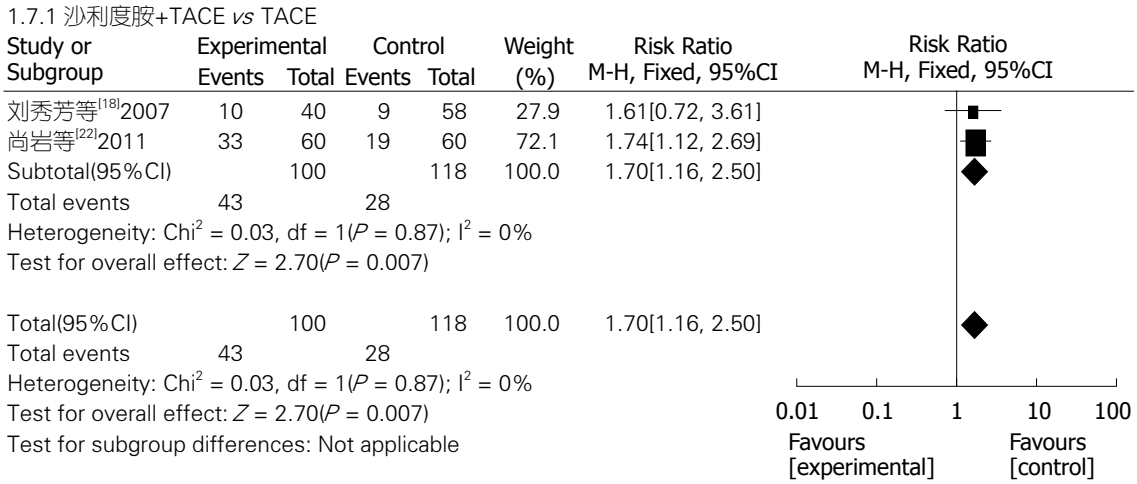


图 8 沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌3年生存率的Meta分析结果. TACE: 肝动脉化疗栓塞术.

病隐匿, 发展迅速, 很多患者就诊时因错失手术的机会而选择非手术治疗. TACE被推荐为不能手术治疗的PHC患者的首选的一线姑息治疗方法[42], 他的原理主要是基于PHC几乎完全是由肝动脉供养, 堵塞供养的肝动脉后能诱导肿瘤缺血坏死, 与化疗结合, 更能大大增加化疗药物的局部浓度, 从而提高治疗的效果. 研究显示, 与一般治疗相比, TACE明显促进了不能手术切除的PHC的肿瘤坏死和提高了患者的2年生存率[43-45]. 然而, 肝脏主要是通过门静脉系统供养, 肝癌结节的典型特征是动脉血管过度生成, 血管生成涉及到不同的细胞因子、生长分化因子和金属蛋白酶, 如VEGF就是被证明了的参与血管生成过程的关键因子之一[46], 肝组织缺氧会激活VEGF从而导致肝动脉血流灌注的增加[47,48]. 研究表明TACE会引起肝癌组织血氧不足, 激活

1.8.1 沙利度胺+TACE *vs* TACE

Study or Subgroup	Experimental Mean	Experimental SD	Experimental Total	Control Mean	Control SD	Control Total	Weight (%)	Mean Difference IV, Fixed, 95%CI
姜海英等[20]2010	147.34	121.28	32	296.64	128.36	32	8.2	−149.30[−210.49, −88.11]
姜海英等[21]2011	146.34	120.18	50	295.44	127.26	50	11.4	−149.10[−197.62, −100.58]
戚晓军等[23]2007	148.56	122.32	34	362.18	226.16	34	4.7	−213.62[−300.05, −127.19]
林海澜等[25]2007	589.62	178.13	32	669.54	191.16	31	4.2	−79.92[−171.23, 11.39]
潘骥群等[27]2013	144.35	70.63	27	254.35	154.48	27	7.6	−110.00[−174.07, −45.93]
王飞[28]2010	123.43	45.34	38	253.35	63.37	34	21.7	−129.92[−155.64, −104.20]
陆向东等[35]2014	128.00	42.74	30	220.33	62.58	30	20.9	−92.33[−119.45, −65.21]
Subtotal(95%CI)			243			238	78.5	−126.58[−152.59, −100.56]
Heterogeneity: $Tau^2 = 542.73$; $Chi^2 = 12.17$, df = 6($P = 0.06$); $I^2 = 51\%$								
Test for overall effect: $Z = 9.54$($P < 0.00001$)								
1.8.2 沙利度胺+TACE+中药 *vs* TACE+中药								
赵增虎等[31]2010	165.12	48.65	45	283.54	72.31	42	21.5	−118.42[−144.50, −92.34]
Subtotal(95%CI)			45			42	21.5	−118.42[−144.50, −92.34]
Heterogeneity: Not applicable								
Test for overall effect: $Z = 8.90$($P < 0.00001$)								
Total(95%CI)			288			280	100.0	−123.64[−143.72, −103.55]
Heterogeneity: $Tau^2 = 311.92$; $Chi^2 = 12.19$, df = 7($P = 0.09$); $I^2 = 43\%$								
Test for overall effect: $Z = 12.07$($P < 0.00001$)								
Test for subgroup differences: $Chi^2 = 0.19$, df = 1($P = 0.66$), $I^2 = 0\%$								

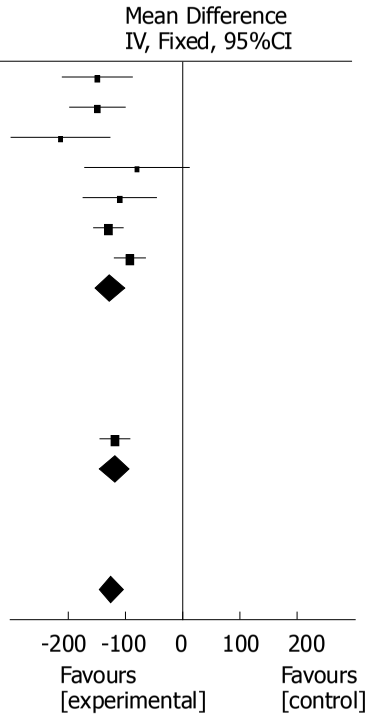


图 9 沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌VEGF值变化的Meta分析结果. TACE: 肝动脉化疗栓塞术; VEGF: 血管内皮生长因子.

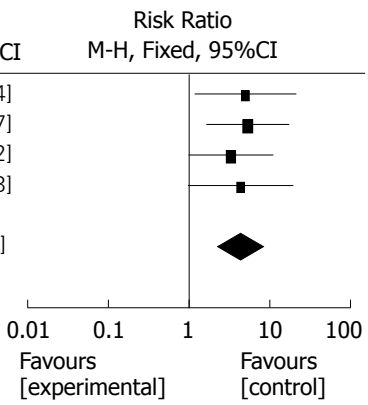
VEGF, VEGF释放并进入血液中, 刺激肝癌组织新的血管生成, 导致肿瘤的继续发展[49]. 因此, 在TACE治疗PHC的同时抗血管生成显得尤为重要.

抗血管生成是20世纪70年代由Folkman等[50]发起的一个癌症治疗新理论. 肿瘤的增长依赖于血管生成, 血管生成抑制剂能阻止肿瘤的增长和治疗肿瘤, 尤其是血管化肿瘤. 近年来, 在学者们的不懈努力下, 研究出了许多抗血管生成药物, TLD就是其中之一. TLD是一种特异性的抗血管生成药物[51,52], 能明显地抑制癌症细胞的VEGF和BFGF等因子[53,54], 从而抑制血管生成. Ⅱ期研究[55,56]发现TLD适用于大多数PHC患者, 但仅仅应用TLD单药治疗取得的效应比较温和, 联合其他药物或者其他治疗方法可能会提高治疗的效果, 延长患者的生存期, 如联合TACE. 姜海英等[21]采用TLD联合TACE治疗PHC发现, 治疗后患者的近期疗效明显提高, 疾病控制率明显改善, 生存期明显延长, VEGF水平显著下降. 可见, TLD与TACE具有明显的优势互补作用, 两者联合应用可明显提高抑制癌肿的疗效, 使对PHC的治疗更为彻底.

A

Study or Subgroup	Experimental Events	Experimental Total	Control Events	Control Total	Weight (%)	Risk Ratio M-H, Fixed, 95%CI
姜海英等[20]2010	10	32	2	32	20.6	5.00[1.19, 21.04]
姜海英等[21]2011	16	50	3	50	30.9	5.33[1.66, 17.17]
王为民等[11]2009	8	21	3	26	27.6	3.30[1.00, 10.92]
陈昌南等[37]2012	9	62	2	60	20.9	4.35[0.98, 19.33]
Total(95%CI)		165		168	100.0	4.50[2.34, 8.64]
Total events	43		10			

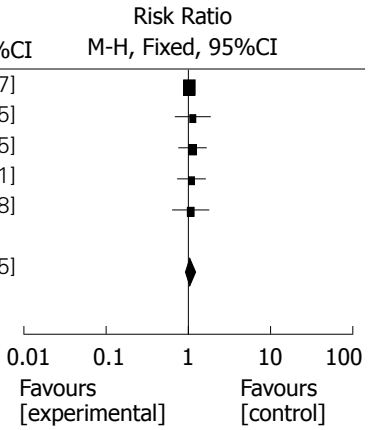
Heterogeneity: $Chi^2 = 0.36$, df = 3($P = 0.95$); $I^2 = 0\%$
Test for overall effect: $Z = 4.52$($P < 0.00001$)



B

Study or Subgroup	Experimental Events	Experimental Total	Control Events	Control Total	Weight (%)	Risk Ratio M-H, Fixed, 95%CI
刘秀芳等[18]2007	37	40	52	58	36.6	1.03[0.91, 1.17]
姜海英等[20]2010	17	32	15	32	12.9	1.13[0.69, 1.85]
姜海英等[21]2011	27	50	24	50	20.7	1.13[0.77, 1.65]
王为民等[11]2009	15	21	17	26	13.1	1.09[0.74, 1.61]
陈昌南等[37]2012	21	62	19	60	16.7	1.07[0.64, 1.78]
Total(95%CI)		205		226	100.0	1.08[0.93, 1.25]
Total events	117		127			

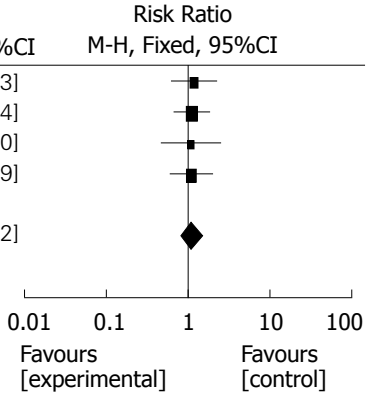
Heterogeneity: $Chi^2 = 0.58$, df = 4($P = 0.97$); $I^2 = 0\%$
Test for overall effect: $Z = 0.98$($P = 0.33$)



C

Study or Subgroup	Experimental Events	Experimental Total	Control Events	Control Total	Weight (%)	Risk Ratio M-H, Fixed, 95%CI
姜海英等[20]2010	13	32	11	32	21.4	1.18[0.63, 2.23]
姜海英等[21]2011	20	50	18	50	35.0	1.11[0.67, 1.84]
王为民等[11]2009	7	21	8	26	13.9	1.08[0.47, 2.50]
陈昌南等[37]2012	17	62	15	60	29.7	1.10[0.60, 1.99]
Total(95%CI)		165		168	100.0	1.12[0.82, 1.52]
Total events	57		52			

Heterogeneity: $Chi^2 = 0.04$, df = 3($P = 1.00$); $I^2 = 0\%$
Test for overall effect: $Z = 0.71$($P = 0.48$)



D

Study or Subgroup	Experimental Events	Experimental Total	Control Events	Control Total	Weight (%)	Risk Ratio M-H, Fixed, 95%CI
姜海英等[20]2010	10	32	11	32	26.6	0.91[0.45, 1.83]
姜海英等[21]2011	16	50	17	50	41.1	0.94[0.54, 1.65]
王为民等[11]2009	14	21	15	26	32.4	1.16[0.74, 1.81]
Total (95%CI)		103		108	100.0	1.00[0.72, 1.39]
Total events	40		43			

Heterogeneity: $Chi^2 = 0.51$, df = 2 ($P = 0.77$); $I^2 = 0\%$
Test for overall effect: $Z = 0.01$ ($P = 0.99$)

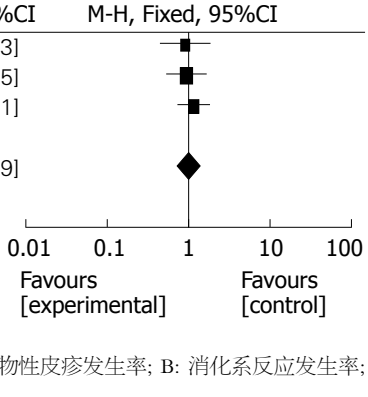


图 10 沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌不良反应发生率的Meta分析结果. A: 药物性皮疹发生率; B: 消化系反应发生率; C: 骨髓抑制发生率; D: 肝功能异常发生率. TACE: 肝动脉化疗栓塞术.

3.3 证据的完整性和实用性 对纳入的研究进行Meta分析时, 研究的偏倚风险不能被忽视, 本系统评价共纳入22项随机对照试验, 其中有7项随机对照试验均描述了具体的随机方法; 所有纳

表 3 GRADE分级证据质量评估表

评价指标	受试者人数	效应值[RR(95%CI)]	证据质量
总有效率	1026	RR = 1.29, 95%CI: 1.15–1.44	中等质量
疾病控制率	720	RR = 1.27, 95%CI: 1.16–1.39	中等质量
半年生存率	425	RR = 1.10, 95%CI: 1.01–1.20	中等质量
1年生存率	956	RR = 1.25, 95%CI: 1.13–1.39	中等质量
2年生存率	767	RR = 1.45, 95%CI: 1.18–1.78	中等质量
3年生存率	218	RR = 1.70, 95%CI: 1.16–2.50	中等质量
VEGF值的变化	568	MD = –123.64, 95%CI: –143.72––103.55	中等质量

VEGF: 血管内皮生长因子.

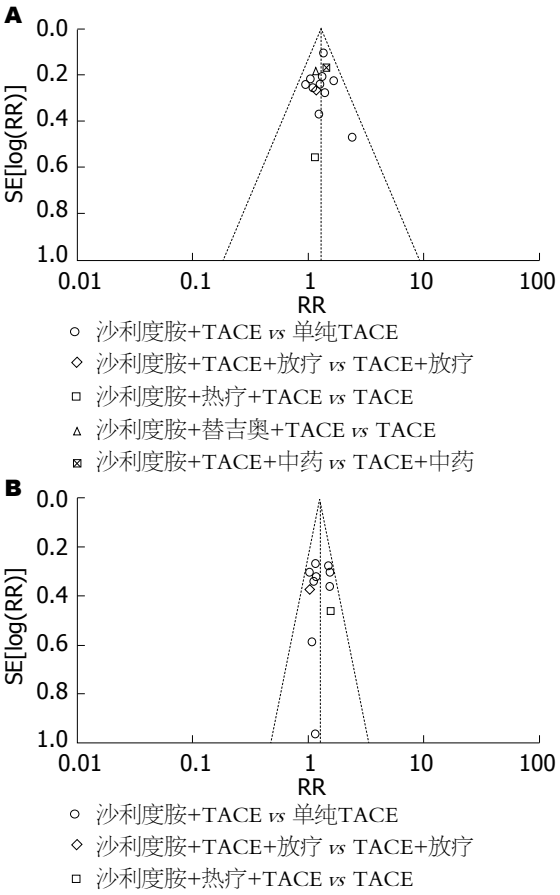


图 11 沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌总有效率、1年生存率比较的RR漏斗图. A: 总有效率; B: 1年生存率. TACE: 肝动脉化疗栓塞术.

入的随机对照试验均未描述了分配方案隐藏, 因而有中度选择性偏倚的可能性. 有2项随机对照试验采用了双盲实施试验, 其余20个盲法实施情况不明, 因此存在中度测量性偏倚的可能性. 有4项随机对照试验报告了失访、脱落人数, 但失访及脱落而缺失的数据不足以对效应值产生影响, 其余18项随访率100%, 因此随访偏倚风险较小. 有1项随机对照试验未报告所有预先指定的主要结局指标, 其余21项有研究方案及报告研究方案所预定的所有结局指标, 因此报告偏倚风险较小. 我们采用总有效率指标及1年生存率指标对纳入研究进行漏斗图分析, 漏斗图对称性良好, 表明发表偏倚较小.

3.4 证据质量 研究方法的局限性、研究结果不一致性、间接证据、结果不精确性、发表性偏倚的5个因素会使得证据的质量而相应降低, 本系统评价结果一致性、精确性较好, 不存在间接证据, 无发表偏倚, 但在研究设计、实施等方面存在一定的缺陷, 有一定的偏倚风险, 由此可能会夸大评价结果, 所以GRADE证据质量评级为中等质量证据, 产生偏倚的可能性为中度.

3.5 局限性 纳入研究总体质量不高, 存在中度选择性偏倚、实施偏倚及测量性偏倚, 所以在方法学上有一定的局限性. 所纳入的随机对照试验的样本含量均相对较小, 可能造成抽样误差增大, 影响抽样推断的可靠性. 多数测量指标纳入研究数量少, 使论证强度受到影响. 另外本系统评价中纳入的随机对照试验来自规模比较大型的三甲医院, 无国外及基层医院, 故在研究人群的选择上可能有选择偏倚. 此外, 所纳入的随

机对照试验均未报告经济学指标, 故未能进行相关的经济学分析.

3.6 对临床实践的意义和对未来的启示 本系统研究地对TLD联合TACE疗法与单纯TACE疗法治疗PHC进行了近期疗效、疾病控制率、生活质量、生存率、甲胎蛋白与VEGF的变化、不良反应指标的比较, 结果显示: TLD联合TACE疗法在提高近期疗效、稳定瘤体、改善生活质量、延长生存期、降低复发转移方面优于单纯TACE疗法; 在安全性方面, TLD联合TACE疗法有明显药物性皮疹的不良反应, 但在消化系反应、骨髓抑制、肝功能损害反面相近似, 表明TLD联合TACE疗法更适用于不能行局部手术切除治疗的中晚期PHC患者, 且适合长期应用, 但对某些因药物引起的不良反应应作相关处理. 同时, 我们发现所纳入的22项随机对照试验中的样本量均不大, 进而提示TLD联合TACE治疗中晚期PHC疗效尚需要开展多中心、大样本的随机对照试验来验证. 总之, 今后在随机对照试验设计中, 应做到充分随机、充分实施方案隐藏和实施盲法, 注意数据不完整性的处理, 提高研究报告的质量, 重视阴性结果临床试验的报告. 建议严格按照临床试验注册制度[57]和临床随机对照试验报告统一规范(CONSORT)声明[58]规范PHC治疗的RCT, 为临床提供科学的依据.

本研究结果显示TLD联合TACE疗法治疗PHC疗效确切, 但其证据质量为中等质量证据, 进一步的研究有可能改变此种疗法的可信度. 因此, 我们需要更为严格的RCT去提高TLD联合TACE治疗PHC疗效的可信度.

4 参考文献

1 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]

2 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]

3 刘蒙, 董卫国. 原发性肝癌非手术治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1224-1228

4 王传玺, 吴德华, 孙爱民, 陈龙华. 低分割三维适形放疗联合肝动脉化疗栓塞治疗中晚期原发性肝癌的疗效评价. 中华肿瘤防治杂志 2010; 17: 245-248

5 张宁, 司爽, 陈曙光. 多种方法联合互补治疗无法切除的原发性肝癌. 中国肿瘤临床与康复 2010; 17: 230-232

6 陈卫, 陆忠华, 邓俊, 杨小娟, 黄利华. 原发性肝癌双灌注介入治疗前后血清TNF-α和sFas水平的改变及意义探讨. 临床肝胆病杂志 2010; 26: 52-54

7 周信达. 重视原发性肝癌的综合治疗. 肝胆外科杂志 2000; 8: 401-402

8 茅国新, 于志坚, 张一心, 成建萍. 经导管肝动脉和B超引导下经细针门静脉双重化疗栓塞治疗原发性肝癌. 中华肿瘤杂志 2002; 24: 391-393

9 左朝晖. 原发性肝癌治疗方法的选择: 附265例报告. 中国普通外科杂志 2002; 13: 908-911

10 丁罡, 林钧华, 李国安, 宋明志, 于尔辛. 血清VEGF在肝癌栓塞化疗时的变化对疗效影响的研究. 中国癌症杂志 2003; 2: 221-223

11 王为民, 殷世武, 孙祥, 李成发, 孟曼, 袁孝兵, 黄孟芹, 姚荣杰, 程莹星. 中大剂量沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌临床研究. 安徽医学 2009; 30: 1419-1422

12 中国抗癌协会肝癌专业委员会. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准. 中华肝脏病杂志 2001; 9: 324

13 孙燕, 周际昌. 临床肿瘤内科手册. 第4版, 北京: 人民卫生出版社, 2003: 102-107

14 Burris HA, Moore MJ, Andersen J, Green MR, Rothenberg ML, Modiano MR, Cripps MC, Portenoy RK, Storniolo AM, Tarassoff P, Nelson R, Dorr FA, Stephens CD, Von Hoff DD. Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2403-2413 [PMID: 9196156]

15 孙燕, 石远凯. 临床肿瘤内科手册. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 142-143, 152-153, 542

16 Higgins J, Green S. Cochrane sandbook for systematic reviews of interventions version 5.1.0 [updated March 2011]. The Cochrane ColloBoration, 2011

17 冯龙, 郭武华, 李凌, 吴建兵, 谢春英. TACE术联合沙利度胺治疗中晚期肝癌的初步观察. 实用临床医学 2008; 9: 29-34

18 刘秀芳, 张海, 王炳胜, 张建宇. 沙利度胺联合介入治疗中晚期肝癌疗效观察. 中国肿瘤临床与康复 2007; 14: 546-550

19 叶祯开, 卢耀振, 龙江珍, 陈艳. 沙利度胺联合TACE序贯适形放疗治疗原发性肝癌的疗效. 现代肿瘤医学 2013; 21: 2276-2279

20 姜海英, 谢晓东, 朱梅. 沙利度胺联合TACE术治疗中晚期肝癌的疗效分析. 肿瘤基础与临床 2010; 23: 226-228

21 姜海英, 谢晓东, 朱梅. 沙利度胺联合TACE术治疗中晚期肝癌的临床观察. 中华肿瘤防治杂志 2011; 18: 871-881

22 尚岩, 陈明聪, 江辉斌, 徐学明, 刘树勋. 沙利度胺联合肝动脉化疗栓塞治疗中晚期肝癌的临床研究. 中华肿瘤防治杂志 2011; 18: 1043-1045

23 戚晓军, 姜宇东. 沙利度胺在肝动脉化疗栓塞中的作用. 中华肿瘤防治杂志 2007; 14: 788-789

24 李泽锋, 宋保国, 周静, 陈忠祥, 侯宪花, 陈多才, 陈景礼. 肝动脉栓塞化疗联合沙利度胺及区域性热疗治疗原发性肝癌. 中国实用医刊 2009; 36: 46-47

25 林海澜, 郝明志, 郑伟生, 叶韵斌, 陈起忠, 陈建彬, 郑建雄. 沙利度胺对原发性肝癌介入栓塞术后血管生长因子的影响. 中国介入影像与治疗学 2007; 4: 440-443

26 林云笑, 陈昌南, 潘歧作, 黄活勋. 沙利度胺联合肝动脉栓塞化疗治疗中晚期原发性肝癌. 赣南医学院学报 2010; 30: 44-45

27 潘骥群, 鲁光平, 邵柏, 徐炳山, 陆晓梅, 于志坚. 肝动脉化疗栓塞序贯沙利度胺靶向治疗中晚期肝癌近期疗效观察. 现代肿瘤医学 2013; 21: 811-813

28 王飞. TACE术联合沙利度胺对中晚期肝癌的治疗作用. 中国医药指南 2010; 8: 228-229

29 苏小琴, 姚登福, 徐爱兵, 王建红, 于洪波, 谭清和. 肽胺哌啶酮联合TACE治疗原发性肝癌后免疫功能的变化. 医学研究杂志 2012; 41: 135-137
30 袁孝兵, 胡兴龙, 孙祥, 殷世武, 李成发, 孟曼. 沙利度胺联合TACE治疗中晚期肝癌临床观察. 安徽医药 2009; 13: 1259-1261
31 赵增虎, 刘秀芳, 丁瑞亮, 宁全福. TACE联合沙利度胺及健脾理气中药治疗中晚期肝癌疗效观察. 中国中医急症 2010; 19: 1492-1493
32 郑伟生. 沙利度胺联合TACE治疗原发性肝癌. 福州: 福建医科大学, 2006
33 郝明志, 林海澜, 陈强, 吴晖, 余文昌, 陈唐庚. 沙利度胺联合肝动脉栓塞化疗治疗原发性肝癌随机对照研究. 癌症 2007; 26: 861-865
34 郭鹏, 陈卉, 卢红, 宿向东, 金梅. 沙利度胺联合介入疗法治疗中晚期肝癌的临床研究. 华西药学杂志 2007; 22: 359
35 陆向东, 张汀荣, 黄祥忠. 沙利度胺联合肝动脉栓塞治疗中晚期原发性肝癌的临床观察. 江苏医药 2014; 40: 95-96
36 陈昌南, 潘岐作, 林云笑, 苏铭俊, 黄活勋, 朱家康, 钟妙文, 杨劲松. 沙利度胺联合TACE术对原发性肝癌复发和生存期的影响. 中国热带医学 2008; 8: 406-408
37 陈昌南, 潘岐作, 张呈, 苏铭俊, 林云笑, 方伟达, 梁文勇. 替吉奥与沙利度胺联合干预治疗肝癌切除术/TACE术后肝内外转移. 现代肿瘤医学 2012; 20: 2569-2571
38 Katz SC, Shia J, Liau KH, Gonen M, Ruo L, Jarnagin WR, Fong Y, D'Angelica MI, Blumgart LH, Dematteo RP. Operative blood loss independently predicts recurrence and survival after resection of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2009; 249: 617-623 [PMID: 19300227 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31819ed22f]
39 Fan ST, Mau Lo C, Poon RT, Yeung C, Leung Liu C, Yuen WK, Ming Lam C, Ng KK, Ching Chan S. Continuous improvement of survival outcomes of resection of hepatocellular carcinoma: a 20-year experience. *Ann Surg* 2011; 253: 745-758 [PMID: 21475015 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3182111195]
40 Zhou Y, Sui C, Li B, Kan T, Yang J, Wu M. Safety and efficacy of trisectionectomy for hepatocellular carcinoma. *ANZ J Surg* 2011; 81: 895-899 [PMID: 22507416 DOI: 10.1111/j.1445-2197.2010.05605.x]
41 Shrager B, Jibara G, Schwartz M, Roayaie S. Resection of hepatocellular carcinoma without cirrhosis. *Ann Surg* 2012; 255: 1135-1143 [PMID: 22258064 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31823e70a3]
42 Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2005; 42: 1208-1236 [PMID: 16250051 DOI: 10.1002/hep.20933]
43 Adachi E, Matsumata T, Nishizaki T, Hashimoto H, Tsuneyoshi M, Sugimachi K. Effects of preoperative transcatheter hepatic arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. The relationship between postoperative course and tumor necrosis. *Cancer* 1993; 72: 3593-3598 [PMID: 8252473 DOI: 10.1002/1097-0142(19931215)]
44 Harada T, Matsuo K, Inoue T, Tamesue S, Inoue T, Nakamura H. Is preoperative hepatic arterial chemoembolization safe and effective for hepatocellular carcinoma? *Ann Surg* 1996; 224: 4-9 [PMID: 8678616 DOI: 10.1097/00000658-199607000-00002]
45 Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003; 37: 429-442 [PMID: 12540794 DOI: 10.1053/jhep.2003.50047]
46 Fernández M, Semela D, Bruix J, Colle I, Pinzani M, Bosch J. Angiogenesis in liver disease. *J Hepatol* 2009; 50: 604-620 [PMID: 19157625 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.12.011]
47 Hoofring A, Boitnott J, Torbenson M. Three-dimensional reconstruction of hepatic bridging fibrosis in chronic hepatitis C viral infection. *J Hepatol* 2003; 39: 738-741 [PMID: 14568255 DOI: 10.1016/S0168-8278(03)00413-6]
48 Ross MA, Sander CM, Kleeb TB, Watkins SC, Stolz DB. Spatiotemporal expression of angiogenesis growth factor receptors during the revascularization of regenerating rat liver. *Hepatology* 2001; 34: 1135-1148 [PMID: 11732003 DOI: 10.1053/jhep.2001.29624]
49 Seki T, Tamai T, Ikeda K, Imamura M, Nishimura A, Yamashiki N, Nakagawa T, Inoue K. Rapid progression of hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization and percutaneous radiofrequency ablation in the primary tumour region. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 291-294 [PMID: 11293452 DOI: 10.1097/00042737-200103000-00014]
50 Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* 1989; 339: 58-61 [PMID: 2469964 DOI: 10.1038/339058a0]
51 Bauer KS, Dixon SC, Figg WD. Inhibition of angiogenesis by thalidomide requires metabolic activation, which is species-dependent. *Biochem Pharmacol* 1998; 55: 1827-1834 [PMID: 9714301 DOI: 10.1016/S0006-2952(98)00046-X]
52 D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, Folkman J. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 4082-4085 [PMID: 7513432]
53 Kenyon BM, Browne F, D'Amato RJ. Effects of thalidomide and related metabolites in a mouse corneal model of neovascularization. *Exp Eye Res* 1997; 64: 971-978 [PMID: 9301478 DOI: 10.1006/exer.1997.0292]
54 Peuckmann V, Fisch M, Bruera E. Potential novel uses of thalidomide: focus on palliative care. *Drugs* 2000; 60: 273-292 [PMID: 10983733 DOI: 10.2165/00003495-200060020-00003]
55 Patt YZ, Hassan MM, Lozano RD, Nooka AK, Schnirer II, Zeldis JB, Abbruzzese JL, Brown TD. Thalidomide in the treatment of patients with hepatocellular carcinoma: a phase II trial. *Cancer* 2005; 103: 749-755 [PMID: 15660400 DOI: 10.1002/cncr.20821]
56 Lin AY, Brophy N, Fisher GA, So S, Biggs C, Yock TI, Levitt L. Phase II study of thalidomide in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 119-125 [PMID: 15565573 DOI: 10.1002/cncr.20732]
57 De Angelis CD, Drazen JM, Frizelle FA, Haug C, Hoey J, Horton R, Kotzin S, Laine C, Marusic A, Overbeke AJ, Schroeder TV, Sox HC, Van Der Weyden MB. Is this clinical trial fully registered?--A statement from the International Committee

of Medical Journal Editors. *N Engl J Med* 2005; 352: 2436-2438 [PMID: 15911780 DOI: 10.1056/NEJMe058127]
58 Moher D, Schulz KF, Altman DG. The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomised trials. *Lancet* 2001; 357: 1191-1194 [PMID: 11323066 DOI: 10.1016/S0140-6736(00)04337-3]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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$^{e}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 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注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用t/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃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)志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 308-312
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

泡型肝包虫病患者肝切除术后肝储备功能的评价参数

马荣花, 郭亚民, 朱海宏, 白延霖

■背景资料
泡肝是我省流行较严重的一种寄生虫病, 对我省牧区群众造成严重的生命威胁. 外科切除病变肝脏是治疗的最佳途径, 掌握影响肝储备功能的因素, 对于手术成功率及术后并发症的防治有重要意义.

马荣花, 郭亚民, 朱海宏, 白延霖, 青海省人民医院普外科 青海省西宁市 810007
马荣花, 青海大学研究生院 青海省西宁市 810001
马荣花, 在读硕士, 主要从事普通外科学的研究.
作者贡献分布: 马荣花与郭亚民对此文所作贡献均等; 此课题由郭亚民、马荣花及朱海宏设计; 研究过程由马荣花、朱海宏及白延霖操作完成; 研究所用试剂及分析工具由郭亚民与白延霖提供; 数据分析由马荣花、郭亚民及朱海宏完成; 论文写作由马荣花完成.
通讯作者: 郭亚民, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 810007, 青海省西宁市共和南路2号, 青海省人民医院普外科.
443499902@qq.com
电话: 0971-8068853
收稿日期: 2014-10-18 修回日期: 2014-12-06
接受日期: 2014-12-15 在线出版日期: 2015-01-18

Parameters affecting liver functional reserve in patients after hepatectomy for alveolar echinococcosis

Rong-Hua Ma, Ya-Min Guo, Hai-Hong Zhu, Yan-Lin Bai

Rong-Hua Ma, Ya-Min Guo, Hai-Hong Zhu, Yan-Lin Bai, Department of General Surgery, People's Hospital of Qinghai Province, Xining 810007, Qinghai Province, China
Rong-Hua Ma, Graduate School of Qinghai University, Xining 810001, Qinghai Province, China
Correspondence to: Ya-Min Guo, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, People's Hospital of Qinghai Province, 2 Gonghe South Road, Xining 810007, Qinghai Province, China. 443499902@qq.com
Received: 2014-10-18 Revised: 2014-12-06
Accepted: 2014-12-15 Published online: 2015-01-18

Abstract
AIM: To investigate the influence of size of standard remnant liver volume (SRLV), cholinesterase (CHE), gamma-glutamyl transferase (GGT), liver cirrhosis (LC) and alkaline phosphate (ALP) on the liver functional reserve in patients after hepatectomy for alveolar echinococcosis.

METHODS: Sixty patients with alveolar echinococcosis who underwent liver resection from January 2012 to October 2014 in People's Hospital of Qinghai Province were included in the study. SRLV, GGT, LC and ALP were determined, and multivariate Logistic analysis was performed to detect their influence on the liver functional reserve.

RESULTS: LC, size of total liver volume (TLV), and GGT had a significant effect on liver functional reserve preoperatively (OR = 2.484, 0.2796, and 1.0000, respectively). LC, SRLV and GGT had a significant effect on the liver functional reserve postoperatively (OR = 6.78480, 1.00002, and 1.00031, respectively). The influence of cholinesterase and ALP on liver functional reserve could not be determined. Surgery also had an impact on the reserve function of the liver.

CONCLUSION: LC, SRLV, and GGT have an effect on the liver reserve function in patients with alveolar echinococcosis. Postoperative liver reserve function declines significantly after surgery, and the influencing factors include LC, SRLV, and GGT.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Alveolar echinococcosis; Hepatectomy; Functional liver reserve

Ma RH, Guo YM, Zhu HH, Bai YL. Parameters affecting liver functional reserve in patients after hepatectomy for alveolar echinococcosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 308-312 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/308.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.308

摘要
目的: 探讨标准残肝体积(standard remnant liver volume, SRLV)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)、γ-谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transferase, GGT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphates, ALP)、肝硬化(liver cirrhosis, LC)对于青海地区泡型肝包虫病患者肝切除术后肝储备功能的影响大小.

方法: 对青海省人民医院普外科2012-01/2014-10收治的60例泡型肝包虫病患者行肝切除术, 通过测定术后SRLV、CHE、GGT、ALP的值及有无LC, 采用多因素Logistic回归方程, 分析

■同行评议者
施宝民, 教授, 上海同济医院普外科, 同济大学附属同济医院普外科

SRLV、CHE、GGT、ALP及LC对青海地区泡型肝包虫病患者肝切除术后对于肝脏储备功能的影响及其大小.

结果: 术前导致泡型肝包虫病患者肝储备功能下降的因素为LC、肝脏的总体积(total liver volume, TLV)、GGT(P<0.05), 其中LC影响最大, OR值为2.484. 其次为TLV, OR值为0.2796. GGT影响极小, OR值为1.0000. 导致泡型肝包虫患者肝切除术后肝储备功能下降的因素为为LC、SRLV、GGT(P<0.05), 其中LC影响最大, OR值为6.7848. 其次为SRLV、GGT, OR值分别为1.00002、1.00031. CHE、ALP对泡肝患者的肝功能暂时无法确定, 手术因素对泡型肝包虫患者术后肝储备功能有一定的影响.

结论: 影响高海拔地区泡型肝包虫患者肝储备功能的因素有LC、SRLV、GGT. 术后储备功能较术前明显下降, 其影响因素大小依此为LC、SRLV、GGT. 此研究对预测患者术后发生肝功能代偿不全的程度及避免患者术后发生肝功能衰竭有重要的临床指导作用.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 泡型肝包虫病; 肝切除术; 肝储备功能

核心提示: 术前导致泡型肝包虫病患者肝储备功能下降的因素为肝硬化(liver cirrhosis, LC), OR值为2.484. 其次为肝脏的总体积(total liver volume), OR值为0.2796. 导致肝切除术后肝储备功能下降的因素为为LC, OR值为6.7848. 其次为标准残肝体积(standard remnant liver volume)、γ-谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transferase)OR值分别为1.00002、1.00031.

马荣花, 郭亚民, 朱海宏, 白延霖. 泡型肝包虫病患者肝切除术后肝储备功能的评价参数. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 308-312 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/308.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.308

0 引言

泡型包虫病是我国西北地区流行较严重的一种寄生虫病, 90%以上原发病灶位于肝脏, 外科切除病变肝脏是治疗泡型肝包虫的最佳途径, 故术前监测肝脏储备功能, 对于手术成功率及术后并发症的防治有重要意义. 近几年随着手术技能的进步和围手术期管理的提高, 肝病患者的发病率和死亡率明显降低[1], 但对于因肝脏疾病行外科手术的风险仍然不能忽略. 一些肝功能下降的患者, 肝硬化、梗阻性黄疸、需要行大范围肝切除术的患者, 术前详细的评估对于手术风险是相当重要的[2,3]. 高胆红素血症、难以控制的腹水、腹腔内感染等都是肝切除术后严重的并发症, 降低患者的生活质量, 延长住院时间, 并且可能因肝功能衰竭危及生命[4]. 因此, 进行仔细的术前规划, 综合评估肝储备功能对预防术后并发症发生是非常重要的. 评价肝脏储备功能的方法很多, 吲哚氰绿实验已经用于评价术前的肝脏储备功能, 为临床上对肝损伤的患者实行手术治疗的适应证和肝切除范围提供重要的信息[5-9], Nanashima等[10]研究表明血清透质酸水平(HA)能反映肝衰和腹水程度, HA测定能反映肝储备功能、预测肝切除术后并发症. 去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)是精确反映肝储备功能的指标[11,12], 有效肝血流量、肝瞬时弹性值等都可评估肝切除患者肝储备功能. 标准残肝体积(standard remnant liver volume, SRLV)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、γ-谷氨酰转肽酶(γ-glutamyl transpeptidase, GGT)、肝硬化(liver cirrhosis, LC)均对肝癌患者肝储备功能有影响. 然而, 青海省处于西北高海拔地区, 泡型肝包虫患者居多, 行肝切除术后以上因素是否对泡型肝包虫患肝储备功能有无影响有待进一步证实, 且很少有研究报道以上因素对肝储备功能影响程度的大小. 本文将通过建立Logistic回归方程, 对以上问题进行深入探讨.

■研发前沿
手术因素严重影响了术后泡肝患者的肝储备功能, 但因手术时间、病灶体积、术中输血、血管侵犯程度等不同, 使手术因素变得复杂, 故需进一步研究.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-01/2014-10年青海省人民医院普外科的60例因泡型肝包虫行肝切除术的患者, 其中包括男33例, 女27例, 平均年龄46岁±12岁. 这些行肝切患者中, 有7例患者同时伴有肝硬化, 术后行病理检查均符合术前诊断. 排除标准: (1)肝癌或者肝脏转移癌; (2)未发生远处器官转移; (3)未接受肝切除术治疗; (4)术前未接受相关实验室检查.

1.2 方法

1.2.1 术前采取患者血样: 使用全自动生化分析仪测定CHE、GGT、ALP值. 术前均进行CT检查, 判断有无LC, 并测得术前肝脏的总体积(total liver volume, TLV). 术前进行常规体格检查, 测量患者身高、体质量, 计算患者体表面积: 计算公式根据参考文献[5]为: 体表面积(m^2) = 0.0061×身高(cm)+0.0128×体质量(kg)-0.1529. 术中

■相关报道
陈熙等研究标准残肝体积是评估肝切除术患者肝脏储备功能的有效且简便的方法. 此文计算出标准残肝体积的临界值, 有助于临床的应用.

表 1 术前肝储备功能影响因素

变量	回归系数	标准误差	Wald χ^2检验	自由度	*P*值	OR值
TLV	0.6443	0.279	1.6688	1	0.005	0.2796
LC	1.9098	0.836	1.1836	1	0.008	2.4840
GGT	0.0000	0.004	0.0020	1	0.039	1.0000
ALP	−0.0020	0.006	0.1540	1	0.306	0.9980
CHE	0.0000	0.095	3.2590	1	0.929	0.9990
Constant	−0.5730	1.807	0.1530	1	0.987	0.5640

TLV: 全肝体积; LC: 肝硬化; GGT: γ–谷氨酰转肽酶; ALP: 碱性磷酸酶; CHE: 胆碱酯酶.

表 2 术后肝储备功能影响因素

变量	回归系数	标准误差	Wald χ^2检验	自由度	*P*值	OR值
SRLV	0.0160	0.00266	0.2614	1	0.00492	1.00002
LC	1.9169	0.91890	4.3516	1	0.00132	6.78476
GGT	0.3760	0.00480	0.0038	1	0.04936	1.00031
ALP	−0.023	0.00544	0.0811	1	0.22425	0.99845
CHE	0.0350	0.00024	0.0208	1	0.11476	1.00004
Constant	−0.980	1.96726	0.2488	1	0.38213	0.37478

SRLV: 标准残肝体积; LC: 肝硬化; GGT: γ–谷氨酰转肽酶; ALP: 碱性磷酸酶; CHE: 胆碱酯酶.

切除的肝脏用排水法测得: 将离体肝脏室温下放入盛满水的容器, 放入标本后使容器内水外溢, 收集全部溢出的水并测量其体积, 为待测肝脏体积, 可精确到10 mL. 同时测定残留肝脏体积: 术前CT测得的全肝体积与切除肝脏体积之差, 并与计算所得患者体表面积相除, 即可得到SRLV.

1.2.2 对选取样本进行国际常用的Child-Pugh肝功能分级: 通过血清白蛋白、血清总胆红素、腹水、肝性脑病、凝血酶原时间几项指标, 将每项变量评1-3分, 5项分值相加, 根据患者积分值将肝功能分为A、B、C等级: Child-Pugh A级为: 5-6分; B级为: 7-9分; C级为: 10-15分; 总分越多表示病情越重. 以上几项指标是评价肝储备功能的主要指标, 但是还有一些指标也影响着肝储备功能. 如SRLV、CHE、GGT、ALP、LC等. 因此, 将分析这些肝组织功能状态在术前和术后对肝功能的影响. 根据以上对于肝储备功能影响因素的分析, 建立影响肝储备功能的术前和术后Logistic方程. 术前方程: $Logit(CTP) = \alpha_0+\alpha_1TLV+\alpha_2LC+\alpha_3CHE+\alpha_4GGT+\alpha_5ALP$; 术后方程: $Logit(CTP) = \alpha_0+\alpha_1SRLV+\alpha_2LC+\alpha_3CHE+\alpha_4GGT+\alpha_5ALP$, 均严格按照回归假设条件检验各指标满足方程建立要求.

统计学处理 所有统计分析均用SPSS16.0统计软件处理. 试验数据中的计量资料均以mean±SD表示, 采用Logistic回归进行相关分析, 检验水准$\alpha = 0.05$, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

经SPSS16软件处理, 表1显示术前TLV、LC、GGT在$\alpha = 0.05$水平下显著, OR值表明肝硬化对肝储备功能影响最大, 其次是TLV和GGT. 通过回归系数和OR值发现术前正常肝脏体积每增大1%患者肝储备功能增加0.2796%, 无肝硬化时患者肝储备功能是有肝硬化肝储备功能的2.484倍, GGT的变化对术前患者肝储备功能没有影响. 对于泡型肝包虫患者来说手术是最有效的治疗方式, 但是术后患者各生理指标发生了变化, 通过表2显示术后各要素对患者肝储备功能的影响, SRLV、LC和GGT在$\alpha = 0.05$水平下显著, 这与表1结果一致, 但个别变量对其患者肝储备功能产生了与表1不同的影响. SRLV每增加1%, 肝储备功能增加1.00002%, LC对患者肝储备功能影响加大, 没有肝硬化是有肝硬化患者肝储备功能的6.78倍, 如果GGT超出正常范围将降低肝储备功能, 如果GGT在正常范围时的肝储备功能是异常范围的1.0031倍.

3 讨论

本研究发现, 影响泡型肝包虫患者肝储备功能的因素同其他肝脏占位性病变的肝功能影响因素大致一致. 吕文平等[13]研究证明ALP、GGT、总胆红素、Child-Pugh分级和肝硬化是影响肝癌术后预后的重要指标. 陈熙等[14]认为标准残肝体积是评估肝切除术患者肝脏储备功能的有效且简便的方法, 对预测患者术后发生肝功能损害的程度及避免患者术后发生肝功能衰竭有重要的临床指导作用.

通过本研究(表1, 2)发现, 手术因素较大程度地影响了泡型肝包虫患者的肝储备功能. 术前正常肝脏体积每增大1%患者储备功能增加0.2796%, 术后SRLV每增加1%, 肝储备功能增加1.00002%. 术前没有肝硬化时患者肝储备功能是有肝硬化患者肝储备功能的2.484倍, 术后没有肝硬化是有肝硬化患者肝储备功能的6.78倍. 术前GGT的变化对泡肝患者肝储备功能没有影响, 术后GGT在正常范围时肝储备功能是异常范围的1.0031倍. CHE及ALP对于术前及术后的泡型肝包虫患者的影响暂时无法确定, 需进一步行相关研究证实, 这与吕文平等[13]和彭志平等[15]的研究结果不符, 吕文平等[13]研究结果显示ALP超过200 IU/L严重影响根治性切除术后的HCC病例的术后存活时间; 彭志平等[15]研究结果发现血清CHE的含量和活性可作为判断肝储备功能和肝病严重程度的有效指标, 可用于判断预后.

泡型肝包虫易向肝门部聚集, 侵犯肝门部胆管, 并包裹压迫胆管, 使其狭窄变形, 甚至闭塞, 引起胆汁淤积性肝硬化. 通过本研究结果发现, 在本文所选指标中, 影响青海地区泡型肝包虫病患者肝储备功能的最大因素为LC, 其次为SRLV、GGT. 手术是影响了术后肝功能的恢复重要因素, 因泡型肝包虫是由众多个小泡球蚴聚集成结节状, 且持续增长, 无限制的浸润肝脏组织, 晚期可造成梗阻性黄疸、恶病质、胆道感染、中毒性休克、脏器转移、肝功能衰竭等, 故施行外科手术是治疗泡型肝包虫的最有效方法, 术前进行肝储备功能的评价是保证手术成功的重要前提. 目前有关泡型肝包虫病患者行肝切除术后肝储备功能的评价尚未见报道, 本研究不仅分析了影响泡肝患者肝储备功能的因素, 且得出了其中部分指标对肝储备功能的影响大小, 能更准确的预测术后并发症发生率, 对临床上及时针对性地采取措施, 提高疗效, 降低术后并发症和死亡率有重大意义. 手术无疑是影响肝功能恢复的因素之一, 但因病灶大小不一、手术方式、手术时间的不同, 故尚无法判定其影响大小, 需进一步研究. 而且本课题的样本例数为60例, 其实验结果在临床应用价值有待于进一步扩大样本作深入广泛的研究.

■创新盘点
本文选择了高海拔地区泡型肝包虫患者为研究对象, 与相关研究中的肝癌有所差异统计方法使用上, 本文应用Logistic, 不仅研究影响因素, 并计算出影响因素的大小.

4 参考文献

1 Poon RT, Fan ST, Lo CM, Liu CL, Lam CM, Yuen WK, Yeung C, Wong J. Improving perioperative outcome expands the role of hepatectomy in management of benign and malignant hepatobiliary diseases: analysis of 1222 consecutive patients from a prospective database. *Ann Surg* 2004; 240: 698-708; discussion 708-710 [PMID: 15383797]

2 Kokudo N, Vera DR, Tada K, Koizumi M, Seki M, Matsubara T, Ohta H, Yamaguchi T, Takahashi T, Nakajima T, Muto T. Predictors of successful hepatic resection: prognostic usefulness of hepatic asialoglycoprotein receptor analysis. *World J Surg* 2002; 26: 1342-1347 [PMID: 12297928 DOI: 10.1007/s00268-002-6262-3]

3 Fan ST, Lo CM, Liu CL, Lam CM, Yuen WK, Yeung C, Wong J. Hepatectomy for hepatocellular carcinoma: toward zero hospital deaths. *Ann Surg* 1999; 229: 322-330 [PMID: 10077043 DOI: 10.1097/00000658-199903000-00004]

4 Fan ST. Methods and related drawbacks in the estimation of surgical risks in cirrhotic patients undergoing hepatectomy. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 17-20 [PMID: 11941945]

5 Miyagawa S, Makuuchi M, Kawasaki S, Kakazu T. Criteria for safe hepatic resection. *Am J Surg* 1995; 169: 589-594 [PMID: 7771622]

6 Hemming AW, Scudamore CH, Shackleton CR, Pudek M, Erb SR. Indocyanine green clearance as a predictor of successful hepatic resection in cirrhotic patients. *Am J Surg* 1992; 163: 515-518 [PMID: 1575310]

7 Nagino M, Nimura Y, Kamiya J, Kondo S, Uesaka K, Kin Y, Hayakawa N, Yamamoto H. Changes in hepatic lobe volume in biliary tract cancer patients after right portal vein embolization. *Hepatology* 1995; 21: 434-439 [PMID: 7843717]

8 El-Desoky A, Seifalian AM, Cope M, Delpy DT, Davidson BR. Experimental study of liver dysfunction evaluated by direct indocyanine green clearance using near infrared spectroscopy. *Br J Surg* 1999; 86: 1005-1011 [PMID: 10460634 DOI: 10.1046/j.1365-2168.1999.01186.x]

9 Schneider PD. Preoperative assessment of liver function. *Surg Clin North Am* 2004; 84: 355-373 [PMID: 15062650 DOI: 10.1016/S0039-6109(03)00224-x]

10 Nanashima A, Yamaguchi H, Shibasaki S, Sawai T, Yamaguchi E, Yasutake T, Tsuji T, Jibiki M, Nakagoe T, Ayabe H. Measurement of serum hyaluronic acid level during the perioperative period of liver resection for evaluation of functional liver reserve. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 1158-1163 [PMID: 11686844]

11 Yang W, Zhang X, Liu Y. Asialoglycoprotein receptor-targeted radiopharmaceuticals for measurement of liver function. *Curr Med Chem* 2014; 21: 4-23 [PMID: 23992344 DOI: 10.2174/0929867311

■同行评价
本文具有一定的创新性.

3209990213]
12 Tatsumi H, Masuda Y, Imaizumi H, Yoshida S, Goto K, Yama N, Mizuguchi T, Hirata K. Asialoglycoprotein receptor scintigraphy with 99mTc-galactosyl human serum albumin (99mTc-GSA) as an early predictor of survival in acute liver failure. *Anaesth Intensive Care* 2013; 41: 523-528 [PMID: 23808513]
13 吕文平, 于学军, 董家鸿. 根治性肝切除肝细胞癌术后患者肝功能与其预后关系的临床研究. 第三军医大学学报 2006; 28: 1529-1531
14 陈熙, 杜正贵, 李波, 魏永刚, 严律南, 文天夫. 标准残肝体积对肝脏储备功能的评价. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1829-1833
15 彭志平, 王序. 血清前白蛋白和胆碱酯酶在肝硬化患者肝储备功能评估中的应用. 实用医学杂志 2011; 27: 1278-1279

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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, T1/2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, ℃), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max}, C_{max}, *V*d, $T_{1/2}$ *Cl*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.

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 313-317
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

肝门部胆管癌行肝移植术7例

谭 勇, 邱宝安, 夏念信, 杨英祥, 祝建勇, 刘 鹏, 安 阳, 吴印涛

谭勇, 南方医科大学研究生学院 广东省广州市 510515
谭勇, 邱宝安, 夏念信, 杨英祥, 祝建勇, 刘鹏, 安阳, 吴印涛, 中国人民解放军海军总医院肝胆外科 北京市 100048
谭勇, 在读硕士, 主要从事普通外科学肝胆胰方向研究.
首都市民健康培育基金资助项目, No. Z141100002114015
作者贡献分布: 谭勇收集资料并完成初稿; 手术由邱宝安、夏念信、杨英祥、祝建勇、刘鹏、安阳及吴印涛完成; 指导与审校由邱宝安与祝建勇完成.
通讯作者: 邱宝安, 教授, 主任医师, 100048, 北京市海淀区阜成路6号, 中国人民解放军海军总医院肝胆外科.
luckqiufimmu@163.com
电话: 010-66951296
收稿日期: 2014-09-14 修回日期: 2014-11-26
接受日期: 2014-12-05 在线出版日期: 2015-01-18

Liver transplantation for hilar cholangiocarcinoma: Analysis of 7 cases

Yong Tan, Bao-An Qiu, Nian-Xin Xia, Ying-Xiang Yang, Jian-Yong Zhu, Peng Liu, Yang An, Yin-Tao Wu

Yong Tan, Graduate School of Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Yong Tan, Bao-An Qiu, Nian-Xin Xia, Ying-Xiang Yang, Jian-Yong Zhu, Peng Liu, Yang An, Yin-Tao Wu, Department of Hepatobiliary Surgery, Navy General Hospital of PLA, Beijing 100048, China
Supported by: the Capital Health Cultivation Fund, No. Z141100002114015
Correspondence to: Bao-An Qiu, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Navy General Hospital of PLA, 6 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100048, China. luckqiufimmu@163.com
Received: 2014-09-14 Revised: 2014-11-26
Accepted: 2014-12-05 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To report seven cases of patients with unresectable hilar cholangiocarcinoma who underwent liver transplantation and to analyze prognostic factors and clinical outcome through a literature review.

METHODS: The clinical data for seven patients with unresectable hilar cholangiocarcinoma who underwent liver transplantation were retrospectively analyzed. The clinicopathological features, tumor recurrence, postoperative survival and prognostic-related factors are discussed.

RESULTS: Hilar cholangiocarcinoma was confirmed by histopathology postoperatively in all patients, and no perioperative deaths occurred. Lymph node metastases were found in three patients (3/7), and preoperative CA19-9 > 100 KU/L was found in two cases. During a 108-month follow-up period, all patients died. Of 5 patients who died of tumor recurrence, the survival time was 108 and 37 mo in two lymph node-negative patients [both had Union for International Cancer Control (UICC) stage II disease], and 11, 26 and 7 mo in the three with lymph node metastases (UICC stage IIIb in 2 patients, and IVa in 1). The survive time for the 2 patients dying from other causes was 18 and 34 mo.

CONCLUSION: Liver transplantation may be an effective treatment strategy for lymph node-negative patients with unresectable hilar cholangiocarcinoma.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hilar cholangiocarcinoma; Liver transplantation; Unresectable

Tan Y, Qiu BA, Xia NX, Yang YX, Zhu JY, Liu P, An Y, Wu YT. Liver transplantation for hilar cholangiocarcinoma: Analysis of 7 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 313-317 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/313.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.313

摘要

目的: 报道7例不可手术切除的肝门部胆管癌患者行肝移植术, 结合文献对其临床预后因素、临床结果进行分析.

方法: 回顾性调查研究分析2000-03/2010-12中国人民解放军海军总医院7例肝门部胆管癌行肝移植患者的临床资料, 分析总结其临床病理特征、术后生存时间、肿瘤复发以及预后因素.

结果: 7例患者术前评估均不能达到根治性切

■背景资料
肝门部胆管癌是一种相对罕见以及具有生长缓慢、晚期转移为特点的恶性肿瘤, 预后差; 外科完全切除肿瘤(包括达到组织学切缘阴性)是肝门部胆管癌患者获得长期生存的唯一方法, 但肿瘤侵犯肝门区重要结构往往导致其根治性切除率低. 而肝移植用于治疗肝门部胆管癌则一直饱受争议.

■同行评议者
陈进宏, 副主任医师, 复旦大学附属华山医院普外科

■研发前沿
肝移植用于治疗肝门部胆管癌已有数十年历史，但前期由于病例入选条件不恰当，导致术后长期随访结果令人失望. 目前研究焦点主要集中在移植术后肿瘤复发率高和生存率低上，且缺少统一的病例选择标准，也缺少循证医学的依据. 因此，如何降低移植术后肿瘤复发率、提高术后生存率以及制定相应病例入选标准是目前亟需解决的问题.

■相关报道
对于一部分不可手术切除的肝门部胆管癌，原位肝移植术则可做到根治性切除，为治愈这类患者带来了新的希望；但早期由于病例入选条件不恰当导致在术后肿瘤复发率以及生存率上的结果一直难令人满意. 近期相关报道了通过严格的术前评估筛选病例行肝移植术，其术后肿瘤复发率和生存率均得到较大的改观.

除，均行肝移植术，术后病理诊断明确，无围手术期死亡，淋巴结转移者为57.1%(4/7)，2例术前CA19-9>100 KU/L. 随访时间为7-108 mo，7例均死亡，肿瘤特异性死亡者5例，其中淋巴结阴性者[国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)分期均为2期]生存时间分别为108、37 mo，淋巴结阳性者(UICC分期，2例3b期，1例4a期)则分别为11、26、7 mo；而肿瘤非特异性死亡者2例，生存时间分别为18、34 mo.

结论：对于不能外科手术切除且无淋巴结转移的肝门部胆管癌患者行肝移植术是一种有效的治疗手段.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：肝门部胆管癌；肝移植；不可切除

核心提示：对于不能外科手术切除且无淋巴结转移的肝门部胆管癌患者行肝移植术是一种有效的治疗手段.

谭勇，邱宝安，夏念信，杨英祥，祝建勇，刘鹏，安阳，吴印涛. 肝门部胆管癌行肝移植术7例. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 313-317 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/313.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.313

0 引言

胆管癌是一种不常见但非罕见的恶性肿瘤，占整个胃肠道肿瘤的3%左右，他来源于肝内或肝外胆管上皮细胞，大概60%-70%的胆管癌发生在肝胆管汇合部附近(肝门部胆管癌)[1-3]. 尽管其具有生长缓慢、罕见的血道转移特点，但肿瘤侵犯肝门区结构往往导致其根治性切除率低. Jarnagin等[4]报道了在美国纪念斯隆-凯特琳癌症中心1991-2000年间225例肝门部胆管癌患者中，仅27.6%得到了根治性切除. 针对这些非根治性切除患者，肝移植被认为是一种治疗手段，但由于术后肿瘤复发率高、器官资源的短缺以及缺乏足够长期随访结果等，使得肝移植作为肝门部胆管癌治疗手段的合理性一直受到置疑. 在这里，我们报道了7例海军总医院2000-03/2010-12间肝门部胆管癌接受肝移植病例，并结合文献对其临床预后因素、临床结果进行分析.

1 材料和方法

1.1 材料 所有资料均来自于中国人民解放军海军总医院2000-03/2010-12间肝门部胆管癌接受肝移植患者，术后病理诊断明确. 采用回顾性调查研究分析每例患者临床和肿瘤特征，以及预后因素等. 根据第7版TNM分期法对每例患者进行TNM分期.

1.2 方法 术前影像学检查包括胸片、腹部超声、胸腹计算机断层扫描(computerized tomography, CT)、磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)等，用于诊断、分期以及排除远处转移. 所有患者均进行严格肝移植评估，即术前认为肿瘤不可切除(包括预计不能行R0切除以及严重肝损害不允许行肝部分切除来达到根治性切除等)、未发现远处转移、患者有行肝移植强烈意愿，且影像学评估可通过全肝切除来完整切除肿瘤，包括达到组织学切缘阴性、肝十二指肠韧带骨骼化，但不需附加行胰十二指肠切除. 符合以上要求进行肝移植的肝门部胆管癌共7例. 采用电话、门诊以及住院复查进行随访，随访起点为手术日期，随访截止点为2013-12. 7例患者均有较完整的随访资料，无失访者，术后随访时间为7-108 mo.

统计学处理 使用Kaplan-Meier方法绘制术后总生存曲线图. 因病例数较少缘故，故未对每个变量分组以及组间进行统计学分析.

2 结果

在这10年当中，中国人民解放军海军总医院共有82例肝移植患者，其中因肝门部胆管癌行肝移植者7例. 关于这7例患者的临床和肿瘤特征如表1. 7例患者中男5例，女2例，平均年龄为52岁(41-63岁)；术前肿瘤标志物检查提示2例CA19-9>100 KU/L，分别为797.72、145.8 KU/L；淋巴结转移者为57.1%(4/7)；肿瘤复发者为5例；所有患者均为尸体肝移植，无围手术期死亡，均达到R0切除. 术后并发症发生率为42.9%(3/7). 1例术后2 mo出现进行性加重性肝损害，经T管造影提示胆管近段部分充盈缺损，但行腹部CT以及正电子发射计算机断层显像(positron emission tomography, PET)/CT检查并未发现胆道吻合口肿瘤复发，综合考虑为肝移植术后胆道缺血狭窄，给予经皮经肝胆管穿刺置管引流后肝功能渐恢复，后此患者因肿瘤腰椎转移，在术后7 mo死亡. 1例患者术后出现溶血性贫血，给予输血、激素冲击疗法后病情好转. 1例患者术后出现切

表 1 病例分布和肿瘤特征

参数	肝门部胆管癌
n	7
性别(男/女)	5/2
年龄(岁), 平均(范围)	52(41–63)
供肝类(尸体肝)	7
术前CA19–9>100 KU/L	2
肿瘤大小(cm), 平均(范围)	4.7(2.8–6.5)
组织学分级	
低	2
中	4
高	1
T分类(UICC 2010)	
pT_1	0
pT_{2a}	1
pT_{2b}	3
pT_3	2
pT_4	1
N分类	
N_0	3
N_1	4
M分类	
M_0	7
M_1	0
切缘(R0)	7
术后并发症	3
围手术期死亡	0
肿瘤复发	5

UICC: 国际抗癌联盟.

口感染和肺部感染, 给予加强抗感染、换药后感染得到控制, 切口预后良好.

7例患者随访结果以及临床病理特征参数如表2. 术后随访时间为7-108 mo, 无失访者. 术后1、3、5年总生存率分别为71%、29%、14%, 累积生存曲线图如图1. 在随访过程当中, 7例患者均死亡, 其中5例患者因肿瘤复发所致; 1例患者死于严重肺部感染, 1例患者死于卵巢癌, 且均无原发肿瘤复发证据. 2例患者术前CA19-9分别为797.72 KU/L、145.8 KU/L, 其生存时间分别为108、7 mo, 其余患者CA19-9均<100 KU/L. 5例肿瘤特异性死亡者中, 淋巴结阴性者(UICC分期均为2期)生存时间分别为108、37 mo, 淋巴结阳性者(UICC分期, 2例3b期, 1例4a期)则分别为11、26、7 mo, 其中前者无瘤生存时间最长者为104 mo, 后者1例术中发现肿瘤侵犯门静脉主干壁, 在保证血管吻合良好的情况下完全切除所受侵犯的血管, 但此患者术后出现肿瘤腰椎以及腹腔淋巴结转移, 并于术后7 mo死于肿瘤复发.

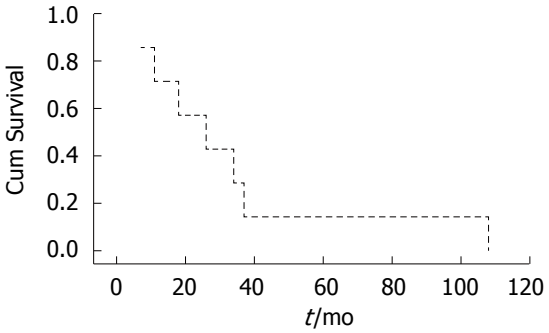


图 1 肝门部胆管癌接受肝移植患者总体生存曲线.

综合以上, 提示以下因素显示较差的生存趋势: 淋巴结阳性、高TNM分期. 然而由于病例数较少, 并未针对这些因素分组行统计学分析.

3 讨论

外科手术切除和肝移植是肝门部胆管癌患者唯一有望得到根治的治疗手段. 但由于起始阶段肝门部胆管癌行肝移植患者入选条件不恰当, 以致术后长期随访结果令人失望[5], 再加上器官资源的短缺以及近年来肝门部胆管癌根治性切除率的提高, 使得肝移植作为肝门部胆管癌治疗的合理性一直成为肝胆外科医师们的一个敏感话题. 最近国外学者报道了肝门部胆管癌患者行姑息性化疗或同步放化疗, 其中位生存时间为仅9-12 mo, 且没有长期存活者[6]. 而Robles等[7]报道了在1990-2003年对36例肿瘤非广泛浸润且不可切除的肝门部胆管癌患者行原位肝移植, 术后1、3、5年生存率分别为82%、53%、30%, 达到了与手术根治相似的效果. 中国人民解放军海军总医院7例肝门部胆管癌行肝移植术者中, 术后3年总生存率为29%(2/7), 术后5年总生存率为14%(1/7), 其中有2例分别在术后18、34 mo死亡, 但并未发现原发肿瘤复发迹象. 显示对于手术不可切除的患者行肝移植有望获得较好的预后.

关于本研究预后因素方面, 虽然未对各参数行统计学分析, 但我们的资料显示无淋巴结转移患者的预后趋势要明显好于淋巴结转移者. 在5例肿瘤特异性死亡患者中, 淋巴结阴性者生存时间分别为108、37 mo, 淋巴结阳性者则分别为11、7、26 mo, 其中前者无瘤生存时间最长者为104 mo; 而在另外2例肿瘤非特异性死亡者中, 淋巴阴性者存活时间为34 mo, 随访期间

■创新盘点
如何合理选择不可手术切除的肝门部胆管癌患者行肝移植术是目前亟需解决的问题, 本文研究结果以及结合相关文献报道, 显示不能外科手术切除且无淋巴结转移的肝门部胆管癌是肝移植术的重要适应证.

■应用要点
本文分析7例不可手术切除的肝门部胆管癌患者行肝移植术, 并结合文献对其临床预后因素、临床结果进行分析, 显示肝移植术适应于不能外科手术切除且无淋巴结转移的肝门部胆管癌患者.

■名词解释
肝门部胆管癌：又称近端胆管癌或高位胆管癌，是指发生于胆囊管开口以上肝总管与左右二级肝管起始部之间的肿瘤；1965年美国Klatskin教授最先描述了此病临床病理特征，因此又称Klatskin瘤.

表 2 7例接受肝移植肝门部胆管癌患者的临床病理特征

病例	病理TNM分期	UICC分期 (2010)	组织分级	复发类型	无瘤时间 (mo)	生存状态	生存时间 (mo)
1	$T_3N_1M_0$	3b	低	肝内转移	6	死亡	11
2	$T_4N_1M_0$	4a	中	骨转移	4	死亡	7
3	$T_{2b}N_0M_0$	2	低	肺转移	104	死亡	108
4	$T_{2b}N_1M_0$	3b	中	无复发 (死于肺部感染)	18	死亡	18
5	$T_3N_1M_0$	3b	中	淋巴结复发	21	死亡	26
6	$T_{2b}N_0M_0$	2	中	局部复发	32	死亡	37
7	$T_{2a}N_0M_0$	2	高	无复发 (死于卵巢癌)	34	死亡	34

UICC: 国际抗癌联盟.

无肿瘤复发证据. 回顾过去肝门部胆管癌患者行肝移植术的文献, 大量文献报道了淋巴结转移是其重要的预后因素, 且有着惨淡的5年生存率[8,9]. Schüle等[10]报道16例肝门部胆管癌接受肝移植患者, 淋巴结阴性者和阳性者各8例, 前者3年、5年生存率分别为63%、50%, 而后者仅分别为15%、0%, 且在总体生存率方面, 淋巴结转移在统计学上是唯一有意义的参数. 另一组研究[11]报道, 在肝门部胆管癌行肝移植联合胰十二指肠切除术病例中, 剔除围手术期死亡病例, 淋巴结阴性者10年生存率达到56%, 在随访截止点时, 仍无瘤生存时间最长者已达到200 mo.

Pichlmayr等[12]报道了25例肝门部胆管癌行肝移植术, 1期和2期患者5年生存率为37.8%, 而4期患者为5.8%, 显示肝移植用于2期以内肝门部胆管癌患者是合理的. 我们的资料亦显示相似的数据, 在7例患者中, UICC分期为2期的患者生存时间分别为108、34、37 mo, 而UICC分期大于2期者生存时间分别为7、11、18、26 mo. 除了淋巴结转移、UICC分期是影响患者生存的因素外, 国外另有报道显示血管和神经浸润、CA19-9>100 U/mL等亦是影响预后的因素[11,13,14]. 但由于本研究病例数有限, 并未分析术前CA19-9水平、肿瘤大小、组织学分级以及血管神经浸润等因素对术后生存的影响.

正如前面所提及一样, 对于肝门部胆管癌不可手术切除患者, 通过严格的病例入选标准, 包括术前腹腔镜探查、剖腹探查排除肝外转移, 甚至给予辅助放化疗等措施, 其5年生存率有望得到大幅度提高. 在此等条件下, Rosen等[15]报道了胆管癌行肝移植术其5年生存率为79%, 肿瘤复发率仅为17%. 在Mayo Clinic中心研究报道, 此类肝门部胆管癌移植术后5年生存率达到76%[14]. Rea等[16]报道, 对61例患者行剖腹探查以排除肿瘤肝外转移, 最终共有38例肝门部胆管癌患者接受肝移植术, 在剔除3例死于术后并发症的病例后, 其1年、3年、5年肿瘤复发率分别为0%、5%、12%, 生存率分别为92%、82%、82%; 而另外54例接受外科手术切除者, 仅26例达到R0切除, 其1年、3年、5年则分别为82%、48%、21%; 上述结果显示移植组术后生存明显优于手术组. 而在我们所报道的7例患者当中, 1例淋巴结阴性、UICC分期为2期患者在术后没有行辅助放化疗等治疗手段的情况下, 其无瘤生存时间达到104 mo.

总之, 我们可以初步认为, 对于手术不可切除的肝门部胆管癌患者, 经过合适的病例入选, 行肝移植甚至附加胰十二指肠切除术以及辅助放化疗等治疗, 可为此类患者长期存活提供了一线生机. 但在当今器官资源短缺时代, 如何降低肿瘤复发率以及进一步提高术后生存时间是广大器官移植者需要攻克的一个难题.

4 参考文献

1 Cheng Q, Luo X, Zhang B, Jiang X, Yi B, Wu M. Predictive factors for prognosis of hilar cholangiocarcinoma: postresection radiotherapy improves survival. *Eur J Surg Oncol* 2007; 33: 202-207 [PMID: 17088040 DOI: 10.1016/j.ejso.2006.09.033]

2 Rerknimitr R, Angsuwatcharakon P, Ratanachu-ek T, Khor CJ, Ponnudurai R, Moon JH, Seo DW, Pantongrag-Brown L, Sangchan A, Pisespongsa P, Akaraviputh T, Reddy ND, Maydeo A, Itoi T, Pausawasdi N, Punamiya S, Attasaranya S, Devereaux B, Ramchandani M, Goh KL. Asia-Pacific consensus recommendations for endoscopic and interventional management of hilar cholangiocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 593-607 [PMID:

23350673 DOI: 10.1111/jgh.12128]
3 Soares KC, Kamel I, Cosgrove DP, Herman JM, Pawlik TM. Hilar cholangiocarcinoma: diagnosis, treatment options, and management. *Hepatobiliary Surg Nutr* 2014; 3: 18-34 [PMID: 24696835 DOI: 10.3978/j.issn.2304-3881.2014.02.05]
4 Jarnagin WR, Fong Y, DeMatteo RP, Gonen M, Burke EC, Bodniewicz BS J, Youssef BA M, Klimstra D, Blumgart LH. Staging, resectability, and outcome in 225 patients with hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2001; 234: 507-517; discussion 517-519 [PMID: 11573044]
5 Ringe B, Wittekind C, Bechstein WO, Bunzendahl H, Pichlmayr R. The role of liver transplantation in hepatobiliary malignancy. A retrospective analysis of 95 patients with particular regard to tumor stage and recurrence. *Ann Surg* 1989; 209: 88-98 [PMID: 2535924 DOI: 10.1097/00000658-198901000-00013]
6 Seehofer D, Kamphues C, Neuhaus P. Management of bile duct tumors. *Expert Opin Pharmacother* 2008; 9: 2843-2856 [PMID: 18937616 DOI: 10.1517/14656566.9.16.2843]
7 Robles R, Figueras J, Turrión VS, Margarit C, Moya A, Varo E, Calleja J, Valdivieso A, Garcia-Valdelcasas JC, López P, Gómez M, de Vicente E, Loinaz C, Santoyo J, Casanova D, Bernardos A, Fernández JA, Marín C, Ramírez P, Bueno FS, Jaurrieta E, Parrilla P. Liver transplantation for hilar cholangiocarcinoma: Spanish experience. *Transplant Proc* 2003; 35: 1821-1822 [PMID: 12962808 DOI: 10.1016/S0041-1345(03)00724-3]
8 Friman S, Foss A, Isoniemi H, Olausson M, Höckerstedt K, Yamamoto S, Karlsen TH, Rizell M, Ericzon BG. Liver transplantation for cholangiocarcinoma: selection is essential for acceptable results. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 370-375 [PMID: 21073376 DOI: 10.3109/00365521.2010.533384]
9 Robles R, Figueras J, Turrión VS, Margarit C, Moya A, Varo E, Calleja J, Valdivieso A, Valdecasas JC, López P, Gómez M, de Vicente E, Loinaz C, Santoyo J, Fleitas M, Bernardos A, Lladó L, Ramírez P, Bueno FS, Jaurrieta E, Parrilla P. Spanish experience in liver transplantation for hilar and peripheral cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2004; 239: 265-271 [PMID: 14745336 DOI: 10.1097/01.sla.0000108702.45715.81]
10 Schüle S, Altendorf-Hofmann A, Uteß F, Rauchfuß F, Freesmeyer M, Knösel T, Dittmar Y, Settmacher U. Liver transplantation for hilar cholangiocarcinoma--a single-centre experience. *Langenbecks Arch Surg* 2013; 398: 71-77 [PMID: 23053456 DOI: 10.1007/s00423-012-1007-8]
11 Seehofer D, Thelen A, Neumann UP, Veltzke-Schlieker W, Denecke T, Kamphues C, Pratschke J, Jonas S, Neuhaus P. Extended bile duct resection and [corrected] liver and transplantation in patients with hilar cholangiocarcinoma: long-term results. *Liver Transpl* 2009; 15: 1499-1507 [PMID: 19877250 DOI: 10.1002/lt.21887]
12 Pichlmayr R, Weimann A, Klempnauer J, Oldhafer KJ, Maschek H, Tusch G, Ringe B. Surgical treatment in proximal bile duct cancer. A single-center experience. *Ann Surg* 1996; 224: 628-638 [PMID: 8916878 DOI: 10.1097/00000658-199611000-00007]
13 Hong JC, Jones CM, Duffy JP, Petrowsky H, Farmer DG, French S, Finn R, Durazo FA, Saab S, Tong MJ, Hiatt JR, Busuttil RW. Comparative analysis of resection and liver transplantation for intrahepatic and hilar cholangiocarcinoma: a 24-year experience in a single center. *Arch Surg* 2011; 146: 683-689 [PMID: 21690444 DOI: 10.1001/archsurg.2011.116]
14 Heimbach JK, Gores GJ, Haddock MG, Alberts SR, Pedersen R, Kremers W, Nyberg SL, Ishitani MB, Rosen CB. Predictors of disease recurrence following neoadjuvant chemoradiotherapy and liver transplantation for unresectable perihilar cholangiocarcinoma. *Transplantation* 2006; 82: 1703-1707 [PMID: 17198263 DOI: 10.1097/01.tp.0000253551.43583.d1]
15 Rosen CB, Heimbach JK, Gores GJ. Liver transplantation for cholangiocarcinoma. *Transpl Int* 2010; 23: 692-697 [PMID: 20497401 DOI: 10.1111/j.1432-2277.2010.01108.x]
16 Rea DJ, Heimbach JK, Rosen CB, Haddock MG, Alberts SR, Kremers WK, Gores GJ, Nagorney DM. Liver transplantation with neoadjuvant chemoradiation is more effective than resection for hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2005; 242: 451-458; discussion 458-461 [PMID: 16135931 DOI: 10.1097/01.sla.0000179678.13285.fa]

■同行评价

本文虽病例数尚少, 且非前瞻性对照研究, 但结果提示对于不能外科手术切除且无淋巴结转移的肝门部胆管癌患者行肝移植术是一种有效的治疗手段. 为进一步研究奠定一定基础.

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 318-323
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

自噬相关蛋白Beclin1、LC3和P62在进展期胰腺癌中的表达及临床意义

张创杰, 张连峰, 周 琳

■背景资料
胰腺癌是恶性程度最高的消化系肿瘤之一, 发病率与病死率相当, 相关基础研究一直是学术界关注的热点. 自噬现象贯穿于肿瘤细胞发生、发展的整个过程, 在肿瘤进展的不同阶段及细胞周围环境发生不同的变化时, 可对细胞产生不同的影响.

张创杰, 张连峰, 周琳, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052
张创杰, 在读硕士, 主要从事消化系疾病的研究.
国家自然科学基金资助资助项目, Nos. 81001103, 81472325
河南省卫生科技创新型人才工程基金资助项目, No. 4107
作者贡献分布: 此课题立题由张创杰、张连峰及周琳完成; 设计由张创杰、张连峰及周琳完成; 研究过程由张创杰与周琳完成; 数据分析及论文撰写由张创杰完成; 实验指导及论文修改由张连峰与周琳完成.
通讯作者: 周琳, 副教授, 硕士生导师, 450052, 河南省郑州市二七区建设东路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科.
zl372@126.com
电话: 0371-66862062
收稿日期: 2014-10-15 修回日期: 2014-11-12
接受日期: 2014-11-25 在线出版日期: 2015-01-18

Clinical significance of expression of autophagy-related proteins Beclin1, LC3 and P62 in advanced pancreatic cancer

Chuang-Jie Zhang, Lian-Feng Zhang, Lin Zhou

Chuang-Jie Zhang, Lian-Feng Zhang, Lin Zhou, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81001103 and 81472325; Health Science and Technology Innovative Talent Project of Henan Province, No. 4107
Correspondence to: Lin Zhou, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Erqi District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. zl372@126.com
Received: 2014-10-15 Revised: 2014-11-12
Accepted: 2014-11-25 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of Beclin1, LC3 and P62 in advanced pancreatic cancer and to analyze their correlation with clinical and pathological parameters of pancreatic cancer.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of Beclin1, LC3 and P62 in 64 pancreatic cancer specimens and matched tumor-adjacent noncancerous tissues.

RESULTS: The positive rates of Beclin 1 [28.1% (18/64) *vs* 90.6% (58/64), $P < 0.05$] and LC3 [34.4% (22/64) *vs* 75% (48/64), $P < 0.05$] expression were significantly lower, and that of P62 expression [75% (48/64) *vs* 46.9% (30/64) $P < 0.05$] was significantly higher in pancreatic cancer than in matched tumor-adjacent noncancerous tissues. There was a significant correlation between Beclin1 and LC3 expression in pancreatic cancer ($r = 0.572$, $P < 0.05$). The expression of Beclin1 in pancreatic cancer was associated with tumor differentiation and stage ($P < 0.05$), while Beclin1, LC3 and P62 expression in pancreatic cancer had no significant correlation with gender, depth of tumor invasion, or lymph node metastasis ($P > 0.05$).

CONCLUSION: The abnormal expression of Beclin1, LC3 and P62 may be related to the carcinogenesis of pancreatic cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; Autophagy; Beclin1; LC3; P62

Zhang CJ, Zhang LF, Zhou L. Clinical significance of expression of autophagy-related proteins Beclin1, LC3 and P62 in advanced pancreatic cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 318-323 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/318.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.318

摘要

目的: 探讨自噬相关蛋白Beclin1、LC3和P62在进展期胰腺癌组织中的表达及临床意义.

方法: 应用免疫组织化学法检测64例胰腺癌组织及相应癌旁正常组织中自噬相关蛋白Beclin1、LC3和P62的表达情况; 分析自噬蛋白表达水平与胰腺癌临床病理特征的关系.

结果: 免疫组织化学法检测提示Beclin1蛋白

■同行评议者
谭晓冬, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

在胰腺癌组织及癌旁正常组织中阳性表达率分别为28.1%(18/64)、90.6%(58/64), LC3蛋白阳性表达率分别为34.4%(22/64)、75%(48/64), P62蛋白表达阳性率分别为75%(48/64)、46.9%(30/64), 均$P<0.05$; 胰腺癌组织中Beclin1与LC3的表达水平呈正相关($r = 0.572$, $P<0.05$), Beclin1、LC3的表达与肿瘤分化、TNM分期相关($P<0.05$), Beclin1、LC3和P62的表达均与性别、年龄、有无门脉浸润、淋巴结转移无明显相关($P>0.05$).

结论: 自噬相关蛋白Beclin1、LC3和P62在胰腺癌组织中的异常表达及Beclin 1与LC3两者表达呈正相关提示自噬活动下降可能参与了进展期胰腺癌的发展.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胰腺癌; 自噬; Beclin1; LC3; P62

核心提示: 自噬相关蛋白在胰腺癌组织中表达失调, 且与胰腺癌的分化程度及TNM分期相关, 提示自噬活动降低在胰腺癌的发病过程中、尤其是进展期胰腺癌的发展中起着重要作用.

张创杰, 张连峰, 周琳. 自噬相关蛋白Beclin1、LC3和P62在进展期胰腺癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 318–323 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/318.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.318

0 引言

胰腺癌是一种具有高度侵袭性的恶性肿瘤, 发病隐匿, 大部分患者确诊时已属中晚期, 5年生存率仅有1%-4%, 预后极差[1,2]. 深入研究胰腺癌的发病机制对提高胰腺癌的早期诊断及改善预后非常重要. 自噬是真核细胞的非细胞凋亡性程序性死亡, 又称为II型程序性细胞死亡. 近年来大量研究表明[3-5], 自噬参与了多种肿瘤的发生、发展, 并且在肿瘤发展的不同阶段扮演不同角色. 本研究通过免疫组织化学法研究自噬相关蛋白Beclin1、LC3和P62在进展期胰腺癌组织中的表达水平变化及其与胰腺癌临床病理特征的关系, 旨在探讨自噬在胰腺癌发病过程中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 收集郑州大学第一附属医院2011-06/2013-06经外科手术切除的胰腺癌组织标本64例, 并搜集对应癌旁正常组织标本64例作为对照, 所有标本经两位病理医师证实, 均为胰腺导管腺癌. 患者术前均未接受放、化疗及免疫治疗. 64例胰腺癌中, 男47例, 女17例; 年龄36-81岁, 中位年龄61.0岁; 胰头癌41例, 胰体癌21例, 胰尾癌2例. 根据国际抗癌联合会(Union for International Cancer Control, UICC)的肿瘤分类法, 分为I期5例、II期22例、III期37例. 高分化癌4例、中分化癌44例、低分化癌16例. 标本均经40 g/L甲醛固定, 常规石蜡包埋, 4 μm厚连续切片, 所有标本的临床和病理资料均完整. 试剂采用兔抗人Beclin1、LC3、P62多克隆抗体, 购自美国ABGENT公司; DAB显色试剂盒、SP免疫组织化学试剂盒(PV-9000), 购自北京中杉金桥生物技术有限公司.

1.2 方法 采用免疫组织化学超敏两步法(SP法)染色, 一抗均采用工作液(其中Beclin1和P62以1∶100稀释, LC3以1∶50稀释), 用PBS代替一抗作对照, 在同一条件下进行S-P染色. 将所有标本进行脱蜡水化, 操作步骤按照说明书进行, 经SP染色, DAB显色, 苏木素复染, 脱水、透明、封片后显微镜下观察. 结果判断参照李良庆等[6]与王丽华等[7]的判断方法, 每个视野计数100个细胞, 根据其中阳性细胞的比率和染色深度分别进行评估, 最后综合评定. (1)阳性细胞的比率评分: 0分为阳性细胞数占总细胞数<10%, 1分为阳性细胞数占总细胞数10%-25%, 2分为阳性细胞数占总细胞数26%-50%, 3分为阳性细胞数占总细胞数>50%; (2)染色深度评分: 0分为无染色, 1分为淡黄色, 3分为黄色至棕黄色, 2分为染色强度介于1-3分之间; (3)总积分 = 阳性细胞比率评分×染色强度评分, ≤3分为阴性, >3分为阳性.

统计学处理 采用SPSS17.0进行统计分析. 不同病理特征间蛋白阳性率的比较采用χ^2检验, 不同蛋白水平的相关性采用Spearman相关分析, 检验水准$\alpha = 0.05$, $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 Beclin1、LC3和P62在胰腺癌组织及癌旁正常组织中的表达情况 免疫组织化学法显示, Beclin1、LC3和P62阳性染色呈棕褐色颗粒, Beclin1阳性定位于细胞膜及细胞浆, LC3定位于细胞浆及部分胞核, P62阳性定位于细胞浆(图1). Beclin1在胰腺癌组织和癌旁正常组织中阳性表达率分别为28.1%(18/64)、90.6%(58/64); LC3在胰腺癌组织和癌旁正常组织中阳性表达

■研发前沿
大量的研究显示自噬与包括胰腺癌在内的恶性肿瘤存在着一定的联系, 自噬在肿瘤发生、发展、治疗和预后等阶段都起重要作用, 自噬与肿瘤是何种关系? 不同药物调节自噬的能力是否相同? 在肿瘤发展转移哪一阶段、干扰自噬哪一通路对肿瘤治疗效果最好? 目前均缺乏大量的基础和临床依据, 均有待学者们更深层次的探索.

■相关报道
目前已经有研究证实自噬同膀胱癌、前列腺癌、结肠癌等密切相关, 而对于其在胰腺癌中的研究尚少.

■**创新盘点**
本文通过免疫组织化学方法检测胰腺癌组织、癌旁正常组织中Beclin1、LC3和P62的表达, 探讨胰腺癌(pancreatic cancer)的发病机制, 为胰腺癌的诊断和治疗提供新的方向.

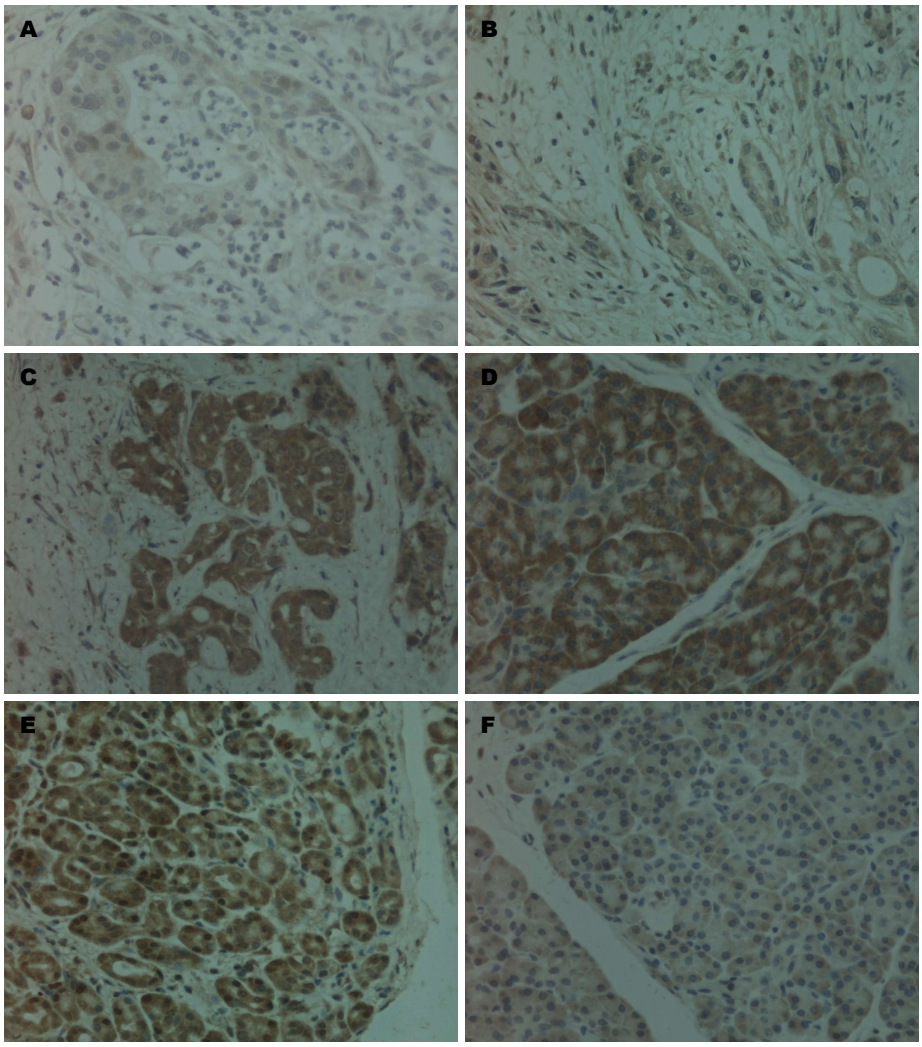


图 1 Beclin1、LC3和P62在胰腺癌组织和癌旁正常组织中的表达. A: Beclin1在癌组织中低表达(IHC×200); B: LC3在癌组织中低表达(IHC×200); C: P62在癌组织中高表达(IHC×400); D: Beclin1在癌旁正常组织中高表达(IHC×400); E: LC3在癌旁正常组织中高表达(IHC×400); F: P62在癌旁正常组织中低表达(IHC×200).

率分别为34.4%(22/64)、75%(48/64); P62在胰腺癌组织和癌旁正常组织中阳性表达率分别为75%(48/64)、46.9%(30/64). 三种蛋白各自在癌组织及癌旁正常组织中的表达水平差异均具有统计学意义(均P<0.05)(表1).

2.2 Beclin1、LC3和P62的表达水平与胰腺癌临床病理特征的关系 Beclin1在高、中、低分化腺癌中的阳性率为75%(3/4)、31.8%(14/44)、6.3%(1/16), LC3在高、中、低分化腺癌中的阳性率为75%(3/4)、38.6%(17/44)、12.5%(2/16), 各自差异均具有统计学意义(均P<0.05). Beclin1在TNMⅠ-Ⅱ期表达阳性率为44.4%(12/27)、Ⅲ-Ⅳ期表达阳性率为16.2%(6/37), LC3在TNMⅠ-Ⅱ期表达阳性率为48.1%(13/27), Ⅲ-Ⅳ期表达阳性率为24.3%(9/37), 差异均具有统计学意义(均P<0.05)(表2).

2.3 Beclin1、LC3和P62的表达相关性分析 Spearman相关分析显示, Beclin1与LC3在胰腺癌组织中的表达水平呈正相关(r = 0.572, P<0.05). P62蛋白的表达与Beclin1、LC3蛋白的表达均无明显相关(r值分别为0.04、0.11, P>0.05).

3 讨论

自噬是真核细胞不依赖于半胱氨酰天冬氨酸特异性蛋白酶(Caspase)的程序性细胞死亡, 是体内多余的蛋白质和亚细胞成分在溶酶体内降解的复杂的催化过程, 又被称为Ⅱ程序性细胞死亡[8]. 近年来大量研究发现, 自噬通过多种途径抑制肿瘤的发生, 如清除受损细胞器以避免有害自由基及突变的发生、限制DNA损伤、维持基因组完整性、抑制细胞生长、诱发程序性细胞死亡等[9,10]. 体外研究发现, 饥饿、缺氧、生长因子

■应用要点
通过检测自噬相关蛋白在胰腺癌中的表达并比较与胰腺癌临床病理资料的关系,探讨自噬在胰腺癌发生发展中的作用, 为胰腺癌的诊断和治疗提供新思路、新方法, 有望开辟新的治疗途径、并提高患者预后.

表 1 Beclin1、LC3和P62在胰腺癌组织和癌旁正常组织中的表达比较

组织类型	Beclin1		χ^2值	*P*值	LC3		χ^2值	*P*值	P62		χ^2值	*P*值
	+	−			+	−			+	−		
胰腺癌组织	18	46			22	42			48	16		
癌旁正常组织	58	6	51.882	0.000	48	16	21.312	0.000	30	34	10.634	0.001

表 2 Beclin1、LC3和P62的表达水平与胰腺癌临床病理特征的关系

因素	*n*	Beclin1		χ^2值	*P*值	LC3		χ^2值	*P*值	P62		χ^2值	*P*值
		−	+			−	+			−	+		
性别				0.589	0.443			1.651	0.199			2.129[1]	0.145
男	47	35	12			33	14			14	33		
女	17	11	6			9	8			2	15		
年龄(岁)				0.914	0.339			1.523	0.217			1.022	0.312
≤60	31	24	7			18	13			6	25		
>60	33	22	11			24	9			10	23		
肿瘤直径(cm)				0.059	0.087			3.782	0.052			0.084	0.772
<3	30	22	8			16	14			8	22		
≥3	34	24	10			26	8			8	26		
分化程度				8.432[1]	0.015[1]			6.675[1]	0.036[1]			1.455[1]	0.483[1]
高	4	1	3			1	3			2	2		
中	44	30	14			27	17			10	34		
低	16	15	1			14	2			4	12		
肿瘤部位				1.038[1]	0.595[1]			1.360[1]	0.507[1]			0.818[1]	0.664[1]
胰头	41	31	10			29	12			10	31		
胰体	21	14	7			12	9			6	15		
胰尾	2	1	1			1	1			0	2		
TNM分期				6.153	0.013			3.927	0.048			0.192	0.661
Ⅰ-Ⅱ期	27	15	12			14	13			6	21		
Ⅲ-Ⅳ期	37	31	6			28	9			10	27		
门静脉或腹腔神经侵犯					0.487[1]				0.115[1]				1.000[1]
无	62	45	17			42	20			16	46		
有	2	1	1			0	2			0	2		
淋巴结转移				0.928	0.336				0.352[1]				0.740[1]
无	48	36	12			30	18			13	35		
有	16	10	6			12	4			3	13		

[1]确切概率法.

缺乏等生理、病理状态均可诱发自噬. 胰腺癌是高度乏氧、乏血供的实体肿瘤, 我们由此推断自噬可能在胰腺癌的发生、发展中扮演一定角色. 本研究通过检测自噬相关蛋白Beclin1、LC3和P62在胰腺癌组织中表达水平的变化, 以探讨自噬活动在胰腺癌发病中的作用.

*Beclin1*是哺乳动物中首个被发现的具有调节细胞自吞噬作用的抑癌基因, 定位于人染色体17q21, 大约有150 kb[11]. Beclin1是自噬起始的重要调节因子, 通过与磷脂酰肌醇3激酶(PIK3或Vps34)结合形成Atg1/ULK1复合物. 该复合物受到雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)调节. 哺乳动物体内能量充足时, mTORC1被激活, 雷帕霉素靶蛋白结合自噬复合体, 通过抑制Beclin1的活性抑制自噬发生; mTORC1在细胞能量缺乏时与复合体解离, 释放出Beclin1以诱导自噬[12]. 大量研究[13,14]发现, 在多种肿瘤中, 癌组织自噬水平都低于相应正常组织, 提示自噬活性降低可能是肿瘤发病过程中的原因之一. 本研究发现, 胰腺癌组织中

■名词解释
细胞自噬: 指细胞利用溶酶体降解自身成分的过程, 被降解的成分包括细胞质及细胞器. 细胞自噬的表现形式有多种, 其共性是通过溶酶体降解细胞内的成分.

Beclin1蛋白的阳性表达率明显低于癌旁正常组织, 且与肿瘤分化及TNM分期密切相关. 肿瘤分化程度越低、TNM分期越高, Beclin1表达水平越低, 提示在胰腺癌发病过程中, Beclin1活性下降或功能缺失抑制了自噬启动, 进而促进了胰腺癌的进展.

LC3是哺乳动物细胞中酵母自噬相关基因8(autophagy-related gene, *ATG8*)基因的同源物, 靶向定位于自噬体膜, 参与自噬的形成, 分为Ⅰ型和Ⅱ型. 当自噬发生时, Ⅰ型经泛素样加工修饰与自噬膜表面的磷脂酰乙醇胺结合, 形成Ⅱ型LC3, LC3-Ⅱ蛋白结合并始终位于胞内自噬体膜上, 其含量与自噬泡数量成正比[15], 被认为是自噬体的标志分子, 研究中所测LC3水平均为LC3-Ⅱ. 本研究结果显示, 胰腺癌组织中LC3-Ⅱ表达水平与癌旁正常组织相比发生了明显下调, 相比中-高分化腺癌, 低分化胰腺癌中自噬水平进一步下降, 且TNMⅢ期癌组织中LC3-Ⅱ水平也显著低于TNMⅠ-Ⅱ期, 提示自噬体数量减少与胰腺癌的恶性程度及疾病进展密切相关, 进而影响患者的预后.

P62是由原癌基因*c-myc*编码, 定位于细胞核, 在细胞质中合成. 自噬发生时, 细胞质中的P62先与泛素化的蛋白质结合, 再与定位于自噬小体内膜上的LC3-Ⅱ蛋白结合形成复合物, 并在自噬溶酶体中降解. 自噬发生时, P62水平下降; 而自噬活动受到抑制时, P62蛋白则不断累积[16]. 本研究中发现, P62的表达与Beclin1、LC3表达水平呈负相关; 在胰腺癌组织中, P62表达水平明显高于癌旁正常组织, 且表达水平与胰腺癌的TNM分期呈正向变化. 上述结果进一步证实了进展期胰腺癌中自噬活动受到了抑制.

细胞自噬对肿瘤的作用非常复杂, 可能因肿瘤类型, 或者肿瘤发展的不同阶段而不同. 在大鼠胰腺肿瘤的研究中发现, 癌前病变或良性肿瘤期, 自噬活性增强; 而在腺瘤向腺癌转化的过程中, 自噬活性则明显降低[17,18]. 本研究发现在自噬诱导、起始过程起着重要作用的Beclin1、LC3蛋白在低分化、中晚期胰腺癌中显著下调. 这些结果均提示自噬活性降低促进了胰腺癌的发生发展. 可能的机制是因细胞自噬减少增加了肿瘤的易感性, 自噬缺失的细胞不能及时清除受损的线粒体及过氧化物酶体, 这些受损的细胞器是活性氧的潜在来源, 而活性氧易导致DNA损伤和染色体不稳定, 从而诱发或促进肿瘤的发生. 由于胰腺癌的早期诊断率极低, 我们尚缺乏大量的样本以研究自噬在早期胰腺癌及胰腺癌前病变如慢性胰腺炎、IPMN中的水平变化. 因此, 进一步扩大样本量、选择合适的动物模型是非常有必要的.

总之, 本研究发现自噬相关蛋白Beclin1、LC3和P62在胰腺癌组织中表达失调, 并与肿瘤的分化程度及TNM分期相关, 提示自噬活动降低在胰腺癌的发病过程中、尤其是进展期胰腺癌的发展中起着重要作用. 进一步深入探讨自噬在胰腺癌发病中的作用机制对开辟新的治疗途径、提高患者预后有着重要意义.

4 参考文献

1 Li D, Xie K, Wolff R, Abbruzzese JL. Pancreatic cancer. *Lancet* 2004; 363: 1049-1057 [PMID: 15051286 DOI: 10.1016/S0140-6736(04)15841-8]

2 Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300 [PMID: 20610543 DOI: 10.3322/caac.20073]

3 李姣, 范松青. 自噬与肿瘤. 国际肿瘤学杂志 2013; 40: 325-328

4 李丹, 李翀, 蒋敬庭. 自噬在肿瘤发生与发展中的调控机制. 临床肿瘤学杂志 2013; 18: 561-564

5 Yu M, Gou WF, Zhao S, Xiao LJ, Mao XY, Xing YN, Takahashi H, Takano Y, Zheng HC. Beclin 1 expression is an independent prognostic factor for gastric carcinomas. *Tumour Biol* 2013; 34: 1071-1083 [PMID: 23334926]

6 李良庆, 潘敦, 林振孟. 自噬相关基因Beclin 1和微管相关蛋白轻链3在胃癌组织中的表达及临床意义. 中华实验外科杂志 2014; 31: 508-510

7 王丽华, 张兢, 王亮亮, 王蓓蓓. Beclin 1、LC3-II及P62蛋白在上皮性卵巢癌中的表达及意义. 中华解剖与临床杂志 2014; 19: 58-61

8 Klionsky DJ. Autophagy revisited: a conversation with Christian de Duve. *Autophagy* 2008; 4: 740-743 [PMID: 18567941 DOI: 10.4161/auto.6398]

9 Wu WK, Coffelt SB, Cho CH, Wang XJ, Lee CW, Chan FK, Yu J, Sung JJ. The autophagic paradox in cancer therapy. *Oncogene* 2012; 31: 939-953 [PMID: 21765470 DOI: 10.1038/onc.2011.295]

10 Jin S. p53, Autophagy and tumor suppression. *Autophagy* 2005; 1: 171-173 [PMID: 16874039 DOI: 10.4161/auto.1.3.2051]

11 Aita VM, Liang XH, Murty VV, Pincus DL, Yu W, Cayanis E, Kalachikov S, Gilliam TC, Levine B. Cloning and genomic organization of beclin 1, a candidate tumor suppressor gene on chromosome 17q21. *Genomics* 1999; 59: 59-65 [PMID: 10395800 DOI: 10.1006/geno.1999.5851]

12 Jung CH, Ro SH, Cao J, Otto NM, Kim DH. mTOR regulation of autophagy. *FEBS Lett* 2010; 584: 1287-1295 [PMID: 20083114 DOI: 10.1016/j.febslet.2010.01.017]

13 沈扬, 梁立治, 洪明晃, 熊樱, 魏梅, 朱孝峰. 微管相关蛋白LC3和自噬基因Beclin 1在上皮性卵巢癌中的表达及其意义. 癌症 2008; 27; 595-599

14 Kapoor V, Paliwal D, Baskar Singh S, Mohanti BK, Das SN. Deregulation of Beclin 1 in patients with tobacco-related oral squamous cell carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 422: 764-769

[PMID: 22627130 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.05.079]
15 Gozuacik D, Kimchi A. Autophagy as a cell death and tumor suppressor mechanism. *Oncogene* 2004; 23: 2891-2906 [PMID: 15077152 DOI: 10.1038/sj.onc.1207521]
16 Mathew R, Karp CM, Beaudoin B, Vuong N, Chen G, Chen HY, Bray K, Reddy A, Bhanot G, Gelinas C, Dipaola RS, Karantza-Wadsworth V, White E. Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62. *Cell* 2009; 137: 1062-1075 [PMID: 19524509 DOI: 10.1016/j.cell.2009.03.048]
17 Köchl R, Hu XW, Chan EY, Tooze SA. Microtubules facilitate autophagosome formation and fusion of autophagosomes with endosomes. *Traffic* 2006; 7: 129-145 [PMID: 16420522 DOI: 10.1111/j.1600-0854.2005.00368.x]
18 Tóth S, Nagy K, Pálfia Z, Réz G. Cellular autophagic capacity changes during azaserine-induced tumour progression in the rat pancreas. Up-regulation in all premalignant stages and down-regulation with loss of cycloheximide sensitivity of segregation along with malignant transformation. *Cell Tissue Res* 2002; 309: 409-416 [PMID: 12195297 DOI: 10.1007/s00441-001-0506-7]

■同行评价
本文具有一定的科学性和创新性, 行文严谨, 为胰腺癌的诊断和治疗提供新的方向.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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.

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 324-327
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

黛力新对功能性消化不良患者治疗后焦虑和抑郁的改善作用

郭秋霞, 彭 娜, 吕 飞, 姜齐宏

■背景资料
由于功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)患者的发病机理尚不明确, 传统的促进胃肠动力的药物对于治疗FD的疗效并未达到令人满意的效果, 因此采取何种治疗方式治疗FD成为医师们关注的重点.

郭秋霞, 彭娜, 吕飞, 姜齐宏, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院消化内科 湖北省武汉市 430034
郭秋霞, 住院医师, 主要从事功能性胃肠病及消化内镜的研究.
作者贡献分布: 此课题由郭秋霞设计; 研究过程及数据分析由郭秋霞、彭娜、吕飞及姜齐宏共同实施完成; 本论文写作由郭秋霞完成.
通讯作者: 姜齐宏, 主任医师, 430034, 湖北省武汉市硚口区古田三路50号, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院消化内科. guoqiuxia120@163.com
电话: 027-68831686
收稿日期: 2014-10-12 修回日期: 2014-11-14
接受日期: 2014-11-19 在线出版日期: 2015-01-18

Deanxit improves anxiety and depression in patients with functional dyspepsia

Qiu-Xia Guo, Na Peng, Fei Lv, Qi-Hong Jiang

Qiu-Xia Guo, Na Peng, Fei Lv, Qi-Hong Jiang, Department of Gastroenterology, Puai Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430034, Hubei Province, China
Correspondence to: Qi-Hong Jiang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Puai Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 50 Gutian Three Road, Qiaokou District, Wuhan 430034, Hubei Province, China. guoqiuxia120@163.com
Received: 2014-10-12 Revised: 2014-11-14
Accepted: 2014-11-19 Published online: 2015-01-18

Abstract
AIM: To assess the clinical effects of flupentixol and melitracen tablets (Deanxit) in the treatment of functional dyspepsia (FD).

METHODS: One hundred and ten patients with FD treated at our hospital from November 2012 to May 2014 were randomly divided into either an observation group or a control group, with 55 cases in each group. The control group was given conventional basic therapy, and the observation group was given Deanxit on the basis of conventional therapy. Treatment satisfaction, mental status, and clinical results were compared for the two groups.

RESULTS: After treatment, the observation group had a significantly higher rate of patient satisfaction than the control group with (92.7% *vs* 83.6%, $P < 0.05$). Self-rating anxiety scale (SAS) score and self-rating depression scale (SDS) score were significantly lower in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). The total effective rate was significantly higher in the observation group than in the control group (85.45% *vs* 54.55%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Deanxit can effectively improves anxiety and depression in patients with FD.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Flupentixol and melitracen tablets; Functional dyspepsia; Treatment effect

Guo QX, Peng N, Lv F, Jiang QH. Deanxit improves anxiety and depression in patients with functional dyspepsia. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 324-327 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/324.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.324

摘要
目的: 探讨氟哌噻吨美利曲辛片(黛力新)治疗功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)的临床效果, 为FD的临床治疗提供参考.

方法: 将华中科技大学同济医学院附属普爱医院2012-11/2014-05收治的110例FD患者随机分为观察组和对照组, 每组55例, 两组患者均给予常规基础治疗, 观察组患者在常规治疗的基础上给予氟哌噻吨美利曲辛片口服治疗, 对两组患者治疗后的对治疗的满意度、心理状态、临床效果进行比较和分析.

结果: 经治疗, 观察组患者对治疗的满意度为92.7%, 对照组患者对治疗的满意度为83.6%, 比较两组间差异具有统计学意义($P<0.05$). 观察组患者焦虑自评量表(self-rating anxiety

■同行评议者
李勇, 教授, 主任医师, 上海中医药大学附属市中医医院消化科

scale, SAS)评分、抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)评分显著低于对照组(P<0.05); 观察组治疗总有效率为85.45%, 对照组治疗总有效率为54.55%, 两组患者治疗总有效率的比较差异具有统计学意义(P<0.05).

结论: 在常规治疗的基础上加用氟哌噻吨美利曲辛片治疗FD可有效减轻患者的情绪障碍, 提高治疗有效率, 值得临床推广.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 氟哌噻吨美利曲辛片; 功能性消化不良; 治疗效果

核心提示: 临床中在常规治疗的基础上加用氟哌噻吨美利曲辛片在治疗功能性消化不良(functional dyspepsia)是可行的, 术后临床效果也较好, 对以后该病的治疗具有较好的指导意义.

郭秋霞, 彭娜, 吕飞, 姜齐宏. 黛力新对功能性消化不良患者治疗后焦虑和抑郁的改善作用. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 324-327 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/324.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.324

0 引言

近年来, 随着社会压力的不断上升、生活节奏越来越快, 功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)的发病率呈逐年增高的趋势[1]. FD的主要表现为早饱、上腹疼痛、餐后腹胀等. FD多迁延不愈, 且易反复发作, 对患者的生存质量产生严重不良影响, 给患者家庭造成沉重的经济负担, 成为不容忽视的社会医疗问题. 目前, 临床上对其病因及发病机理尚不明确. 治疗方式也呈多样化, 疗效差异较大. 传统治疗多以质子泵抑制剂及促胃肠动力药物为主. 随着对该病的认识不断加深, 相关研究认为, 精神心理治疗及抗焦虑抑郁药物的使用可有效提高FD的治疗效果. 为探讨氟哌噻吨美利曲辛片对FD患者治疗效果的影响, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院对110例FD患者给予分组治疗, 现将结果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取华中科技大学同济医学院附属普爱医院2012-11/2014-05收治的110例FD患者作为研究对象, 患者经确诊均无器质性疾病, 符合FD的诊断标准[2]. 依据随机数字表法将患者随机分为观察组和对照组, 每组55例. 观察组中男34例, 女21例; 年龄为28-76岁, 平均年龄为42.3岁±2.7岁; 病程分布为4 mo-13年, 平均病程为4.8岁±1.1年; 焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)评分为48.2分±2.7分, 抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)评分为48.3分±2.4分. 对照组中男35例, 女20例; 年龄为27-75岁, 平均年龄为42.5岁±2.4岁; 病程分布为6 mo-12年, 平均病程为4.6年±1.3年; SAS评分为48.3分±2.5分, SDS评分为48.1分±2.6分. 两组患者一般资料的比较差异无统计学意义(P>0.05), 具有可比性.

表 1 SAS及SDS判定标准

项目	SAS	SDS
<50分	无焦虑	无抑郁
50-60分	轻度焦虑	轻微至轻度抑郁
60-70分	中度焦虑	中至重度抑郁
>70分	重度焦虑	重度抑郁

SAS: 焦虑自评量表; SDS: 抑郁自评量表.

1.2 方法

1.2.1 入选标准: (1)经内镜检查未发现胃糜烂、十二指肠糜烂或溃疡, 未发现消化系肿瘤及食管炎等器质性病变; (2)出现早饱、恶心、呕吐等不适症状, 且持续1 mo以上; (3)未进行腹部手术患者; (4)已经签署知情书且自愿参加本项研究者.

1.2.2 排除标准: (1)不符合上述纳入标准者; (2)经B超、X线等检查发现肝胆胰疾病; (3)有药物滥用史及酗酒史患者; 有精神病、结缔组织病、糖尿病等严重疾病患者; (4)合并肠易激综合征患者; (5)严重精神疾病患者.

1.2.3 手术: 根据综合性、个体化治疗原则对两组患者均给予包括抑酸、止泻、导泻、解痉、调节肠道菌群、促动力及保护胃肠黏膜的常规治疗, 疗程为1 mo. 观察组患者在常规治疗的基础上给予丹麦灵北药厂生产的氟哌噻吨美利曲辛片治疗, 剂量为25 mg/次, 2次/d, 疗程为1 mo[3].

1.2.4 观察指标: 对患者消化系症状进行评分, 无症状为0分; 偶有症状, 但无严重影响为1分; 常出现症状, 对日常活动产生一定影响为2分; 症状持续发生, 对患者日常生活造成显著影响为3分. 采用SDS及SAS对患者心理状态进行评估, 两个量表均20个题目. 判定标准如表1.

1.2.5 疗效判定标准: (1)显效: 症状积分下降

■研发前沿
本研究对FD患者在常规治疗的基础上加用氟哌噻吨美利曲辛片进行治疗, 分析其治疗后的临床疗效, 了解其可行性与临床效果.

■相关报道
临床中对于如何治疗FD已经有较多的报道, 并且临床中采取的治疗方式也比较多. 而本研究中重点为在常规治疗的基础上加用氟哌噻吨美利曲辛片进行治疗.

■创新盘点
FD一直以来是临床医师关注的重点，本研究中重点阐述在常规治疗的基础上加用氟哌噻吨美利曲辛片进行治疗的临床效果，且这种治疗方式临床疗效较好，同时能够很好地改善患者的心理状况.

表 2 两组患者治疗后SDS评分及SAS评分的比较 (mean ± SD)

项目	观察组	对照组	*t*值	*P*值
SDS评分	36.5 ± 2.3	41.7 ± 2.5	11.3522	0.0000
SAS评分	34.6 ± 2.2	42.7 ± 2.4	18.4507	0.0000

SAS: 焦虑自评量表; SDS: 抑郁自评量表.

表 3 两组患者疗效对比 *n*(%)

分组	显效	有效	好转	无效	总有效率
观察组	30(54.55)	17(30.91)	5(9.09)	3(5.45)	47(85.45)
对照组	18(32.73)	12(21.82)	12(21.82)	13(23.63)	30(54.55)
χ^2值		2.2000			12.5108
*P*值		0.1380			0.0004

表 4 两组患者对治疗的满意度比较 [*n* = 55, *n*(%)]

分组	护理工作满意度		
	满意	良好	不满意
对照组	51(92.7)	3(5.4)	1(1.9)
观察组	46(83.6)	5(9.1)	4(7.3)
χ^2值	7.387	4.384	5.475
*P*值	0.012	0.042	0.037

幅度超过75%; (2)有效: 症状积分下降幅度为50%-75%; (3)好转: 症状积分下降幅度为25%-50%; (4)无效: 症状积分下降幅度不超过25%; (5)总有效病例 = 显效病例+有效病例.

统计学处理 本组研究所有数据的录入及分析均通过统计学软件SPSS18.0进行统计分析，计量资料采用mean±SD表示，组间比较采用*t*进行检验；计数资料采用百分比表示，组间比较采用χ^2进行检验. $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者治疗后SDS评分及SAS评分的比较 观察组患者治疗后SDS评分及SAS评分显著低于对照组($P<0.05$)(表2).

2.2 两组患者疗效对比 观察组患者治疗总有效率为85.45%，对照组患者治疗总有效率为54.55%，两组患者比较差异具有统计学意义($P<0.05$)(表3).

2.3 两组患者对治疗的满意度比较 观察组患者对治疗的满意度为92.7%，对照组患者对治疗的满意度为83.6%，两组间比较差异具有统计学意义($P<0.05$)(表4).

■应用要点
本研究是从临床角度出发，进一步说明在常规治疗的基础上加用氟哌噻吨美利曲辛片在治疗FD中的应用，对以后该病的治疗具有较大的指导意义.

3 讨论

根据病因可将消化不良分为器质性和功能性，通过服用钡餐对消化系进行检查，或通过内镜检查等方式可明确消化不良的病因[4]. 如排除消化性溃疡、反流性食管炎及上消化道肿瘤等器质性疾病，则可将此类消化不良归类为FD. FD是临床常见的功能性肠胃疾病，无器质性疾病可解释，以餐后腹胀、早饱、烧灼感及上腹疼痛等上腹症状为主要临床表现，大部分患者合并有烧心、呕吐及呃逆等消化系症状，另外，常伴有抑郁、焦虑及睡眠障碍等精神症状[5]. 目前，学界对FD的发病机制及病因尚不明确，大部分患者发病前有明显诱因，如家庭不和、事业等. 本研究中，患者诱因主要有失恋、事业、工作不顺、痛失至亲等. 大量研究结果表明，情绪障碍在FD的发生及发展过程中具有重要作用，认为该疾病患者多伴有较高的心理疾病患病率，且伴有心理疾病的FD患者胃肠道症状的严重程度高于未伴有心理疾病患者[6]. FD是消化科门诊常见疾病，具有易复发的特点，对患者的生活质量产生不良影响[7].

氟哌噻吨美利曲辛片是氟哌噻吨与盐酸美利曲辛符合制剂，属抗抑郁焦虑药物[8]. 氟哌噻吨可增加突触间隙中多巴胺的含量，并促进多巴胺合成及释放，盐酸美利曲辛可抑制去甲肾上腺素的再摄取，有效提高突触间隙单胺类递质的含量，两种药物复合使用，在抗抑郁及焦虑的同时可产生相互拮抗作用，有效降低了不良反应的发生率. FD的发生与发展受生理及心理各方面因素的共同作用，机体在抑郁及焦

虑的状态下, 可通过脑-肠轴对器官功能产生影响, 导致机体产生内脏感觉过敏及分泌功能紊乱, 从而诱发FD; FD对患者的精神产生进一步刺激, 两者互相促进[9]. 有研究[10-12]表明, 躯体化焦虑与消化不良症状之间存在密切关系, 对于常规治疗效果不佳的患者可联合使用氟哌噻吨美利曲辛片, 改善患者抑郁焦虑的同时减轻内脏的不适感, 从而改善患者的临床症状. 本组研究中, 对两组患者同时给予抑酸、止泻、导泻、解痉、调节肠道菌群、促动力及保护胃肠黏膜的常规治疗, 观察组患者在常规治疗的基础上给予氟哌噻吨美利曲辛片进行治疗, 取得了满意的效果, 两组患者治疗前SDS评分及SAS评分的比较无统计学意义(P>0.05), 治疗后, 观察组患者SDS评分及SAS评分显著低于对照组(P<0.05); 观察组治疗总有效率为85.45%, 对照组治疗总有效率为54.55%, 观察组显著高于对照组(P<0.05). 提示氟哌噻吨美利曲辛片辅助治疗FD效果显著, 与前人的研究成果一致[13-15].

总之, FD与心理、生理等多方面因素相关, 在对患者给予常规治疗的同时需给予氟哌噻吨美利曲辛片进行抗焦虑抑郁治疗, 以缓解患者情绪障碍, 减轻消化不良症状, 提高治疗有效率. 目前学界对FD的诊断、疗效评价、治疗方式等仍缺乏统一标准, 存在巨大差异, 因此, 需对该疾病进行进一步研究, 为临床治疗提供参考.

4 参考文献

1 关庆才, 王邦茂. 氟哌噻吨美利曲辛片辅助治疗功能性消化不良的Meta分析. 中国医药 2014; 9: 77-80

2 王会丽, 高天曙, 杨小平, 赵玉瑶. 柴胡桂干姜汤联合氟哌噻吨美利曲辛治疗顽固性功能性消化不良60例. 中医研究 2013; 26: 31-33

3 上海黛力新临床协作组. 氟哌噻吨美利曲辛联合多潘立酮治疗伴有焦虑抑郁状态的功能性消化不良患者的疗效研究. 中华消化杂志 2013; 33: 441-445

4 殷勤, 刘志强, 张敏. 氟哌噻吨美利曲辛治疗功能性消化不良的临床研究. 医药前沿 2013; (15): 7-8

5 张晖. 氟哌噻吨美利曲辛片联合多潘立酮治疗功能性消化不良50例疗效观察. 中国药物与临床 2012; 12: 529-530

6 曾阳, 古赛. 氟哌噻吨美利曲辛片治疗功能性消化不良的临床研究. 现代医药卫生 2012; 28: 2609-2611

7 冯晨晨, 颜秀娟, 陈胜良. 氟哌噻吨美利曲辛片辅助治疗中国功能性消化不良患者疗效的Meta分析. 胃肠病学 2012; 17: 673-677

8 陈香宇, 张东辉, 李淑英. 小剂量氮平联合氟哌噻吨美利曲辛片治疗功能性消化不良并心理障碍疗效观察. 中华使用诊断与治疗杂志 2012; 26: 584-585

9 饶芳, 田峰. 联用氟哌噻吨美利曲辛片治疗功能性消化不良50例. 实用医学杂志 2011; 27: 97-99

10 孔海鸿. 氟哌噻吨美利曲辛片联合莫沙必利治疗功能性消化不良58例的疗效观察. 中国当代医药 2011; 18: 75-77

11 Talley NJ, Locke GR, Herrick LM, Silvernail VM, Prather CM, Lacy BE, DiBaise JK, Howden CW, Brenner DM, Bouras EP, El-Serag HB, Abraham BP, Moayyedi P, Zinsmeister AR. Functional Dyspepsia Treatment Trial (FDTT): a double-blind, randomized, placebo-controlled trial of antidepressants in functional dyspepsia, evaluating symptoms, psychopathology, pathophysiology and pharmacogenetics. *Contemp Clin Trials* 2012; 33: 523-533 [PMID: 22343090 DOI: 10.1016/j.cct.2012.02.002]

12 Kim SE, Chang L. Overlap between functional GI disorders and other functional syndromes: what are the underlying mechanisms? *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 895-913 [PMID: 22863120 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01993.x]

13 宋素贞, 任卿, 王洪波. 氟哌噻吨/美利曲辛片治疗老年功能性消化不良. 中国老年学杂志 2010; 30: 3564-3565

14 刘红芬, 常丽丽. 氟哌噻吨美利曲辛联合常规治疗用于胃食管反流病的疗效观察. 临床合理用药杂志 2013; 6: 58-59

15 李娜, 徐珞. 伊托必利、多潘立酮和甲氧氯普胺联合用药对FD患者胃肠功能和Ghrelin表达的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18: 596-600

■名词解释

器质性疾病: 是指多种原因引起的机体某一器官或某一组织系统发生的疾病, 而造成该器官或组织系统永久性损害.

■同行评价

本文阐述在常规治疗的基础上加用氟哌噻吨美利曲辛片在治疗FD方面的可行性和临床疗效, 且对以后的治疗具有较好的指导作用. 同时, 立意新颖, 可行性强, 值得临床中推广.

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 328-331
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

心率变异性对肠易激综合征患者自主神经功能异常的评估

林秀萍, 钟文洲

■背景资料
肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)伴有自主神经功能异常的情况, 而加强心血管自主神经功能异常的判断对患者的预后具有重要的作用. 临床中心率变异性是临床中常常判断自主神经活动的主要指标. 因此, 加强二者的分析对该病判断具有重要的作用.

林秀萍, 海口市第三人民医院心电图室 海南省海口市 571100
钟文洲, 海口市人民医院消化科 海南省海口市 571100
林秀萍, 主管技师, 主要从事自主神经功能与心率变异性关系的研究.
作者贡献分布: 此文主要由林秀萍完成; 研究过程由林秀萍与钟文洲操作完成; 试剂的提供与数据分析由林秀萍与钟文洲完成; 本论文写作由林秀萍完成.
通讯作者: 林秀萍, 主管技师, 571100, 海南省海口市府城建国路15号, 海口市第三人民医院心电图室. lxping2012@126.com
电话: 0898-65882829
收稿日期: 2014-10-24 修回日期: 2014-11-11
接受日期: 2014-12-08 在线出版日期: 2015-01-18

Relationship between cardiovascular autonomic function and heart rate variability in irritable bowel syndrome

Xiu-Ping Lin, Wen-Zhou Zhong

Xiu-Ping Lin, Electrocardiography Room, the Third People's Hospital of Haikou City, Haikou 571100, Hainan Province, China
Wen-Zhou Zhong, Department of Gastroenterology, Haikou City People's Hospital, Haikou 571100, Hainan Province, China
Correspondence to: Xiu-Ping Lin, Chief Engineer, Electrocardiography Room, the Third People's Hospital of Haikou City, 15 Fucheng Jianguo Road, Haikou 571100, Hainan Province, China. lxping2012@126.com
Received: 2014-10-24 Revised: 2014-11-11
Accepted: 2014-12-08 Published online: 2015-01-18

Abstract
AIM: To investigate the relationship between cardiovascular autonomic function and heart rate variability in irritable bowel syndrome.

METHODS: Seventy-eight patients with irritable bowel syndrome treated at the the Third People's Hospital of Haikou City, Hainan from January 2011 to December 2012 were included. The patients underwent cardiovascular autonomic function tests, and based on the results, the patients were divided into either a positive or a negative group. Fifty healthy subjects were included in a control group. Heart rate variability was compared between the three groups.

RESULTS: The abnormal rate of cardiovascular autonomic function was significantly higher in patients with irritable bowel syndrome than in normal controls (71.8% *vs* 28.0%, $P < 0.05$). Standard deviation of NN intervals (SDNN), self-developing artificial neural network (SDANN), percentage of differences between adjacent normal RR intervals exceeding 50 milliseconds (PNN_{50}), root mean square successive difference (RMSSD), average standard deviation of 5 min NN intervals (SDNN index), high frequency (HF), and LF/HF in the positive group were significantly different from those in the control group (104.6 ms ± 23.6 ms *vs* 151.6 ms ± 23.7 ms, 99.5 ms ± 18.9 ms *vs* 128.5 ms ± 18.9 ms, 15.6 ± 3.6 *vs* 10.5 ± 2.8, 38.9 ms ± 9.8 ms *vs* 25.5 ms ± 6.7 ms, 36.7 ms ± 8.5 ms *vs* 105.5 ms ± 21.2 ms, 412.6 ms^2 ± 88.9 ms^2 *vs* 299.6 ms^2 ± 77.8 ms^2, 0.9 ± 0.2 *vs* 1.3 ± 0.3, $P < 0.05$). RMSSD, PNN_{50}, HF, and LF/HF in the negative group were significantly different from those in the control group (39.4 ms ± 9.6 ms *vs* 25.5 ms ± 6.7 ms, 15.7 ± 3.8 *vs* 10.5 ± 2.8, 408.6 ms^2 ± 90.6 ms^2 *vs* 299.6 ms^2 ± 77.8 ms^2, 0.9 ± 0.3 *vs* 1.3 ± 0.3, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Clinical monitoring of heart rate variability may allow for the discovery of irritable autonomic function abnormality as early as possible in patients with irritable bowel syndrome.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Irritable bowel syndrome; Cardiovascular; Autonomic nervous function; Heart rate variability

Lin XP, Zhong WZ. Relationship between cardiovascular autonomic function and heart rate variability in irritable bowel syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 328-331 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/328.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.328

摘要
目的: 探讨肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者心血管自主神经功能变化与心率变异性的相互关系.

■同行评议者
杜群, 副研究员, 广州中医药大学脾胃研究所药理室

方法: 选取海南省海口市第三人民医院2011-01/2012-12的78例IBS患者为研究组对象, 对其进行心血管自主神经功能测试, 依据结果分为阳性组和阴性组两个亚组, 并且选取同期50名健康对象为对照组, 观察3组心率变异性的变化.

结果: 研究组自主神经功能异常率与对照组比较, 差异有统计学意义(71.8% *vs* 28.0%, $P<0.05$); 阳性组正常RR间期标准差(standard diviation of NN intervals, SDNN)、每5 min平均RR间期标准差(self-developing artificial neural network, SDANN)、相邻RR之差>50 ms所占总窦性心搏百分值(percentage of differences between adjacent normal RR intervals exceeding 50 milliseconds, PNN_{50})、相邻RR之差均方根(root mean square successive difference, RMSSD)、RR间期标准差平均值(average standard deviation of 5 min NN intervals, SDNN index)、高频(high frequency, HF)、低频/高频(LF/HF)与对照组比较, 差异有统计意义(104.6 ms±23.6 ms *vs* 151.6 ms±23.7 ms, 99.5 ms±18.9 ms *vs* 128.5 ms±18.9 ms, 15.6±3.6 *vs* 10.5±2.8, 38.9 ms±9.8 ms *vs* 25.5 ms±6.7 ms, 36.7 ms±8.5 ms *vs* 105.5 ms±21.2 ms, 412.6 ms^2±88.9 ms^2 *vs* 299.6 ms^2± 77.8 ms^2, 0.9±0.2 *vs* 1.3±0.3)($P<0.05$); 阴性组RMSSD、PNN_{50}、HF、LF/HF与对照组比较, 差异有统计学意义(39.4 ms±9.6 ms *vs* 25.5 ms±6.7 ms, 15.7±3.8 *vs* 10.5±2.8, 408.6 ms^2±90.6 ms^2 *vs* 299.6 ms^2±77.8 ms^2, 0.9±0.3 *vs* 1.3±0.3)($P<0.05$).

结论: 临床中可以通过监测心率变异性的变化能够尽早的发现IBS患者心血管自主神经功能异常情况, 二者存在紧密的联系.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肠易激综合征; 心血管; 自主神经功能; 心率变异性

核心提示: 肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者存现明显的心血管自主神经功能异常的情况, 通过监测心率变异性的变化能够尽早的发现IBS患者心血管自主神经功能异常事件.

林秀萍, 钟文洲. 心率变异性对肠易激综合征患者自主神经功能异常的评估. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 328-331 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/328.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.328

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是临床中常见疾病, 多数的患者伴有自主神经功能异常的情况, 严重的影响病情[1-3]. 加强心血管自主神经功能异常的判断对患者的预后具有重要的作用, 而心率变异性是临床中常常判断自主神经活动的主要指标[4,5]. 因此, 本研究重点分析IBS患者心血管自主神经功能变化与心率变异性相互关系进行探讨, 旨在了解IBS的临床诊治方法.

1 材料和方法

1.1 材料 选取海南省海口市第三人民医院2011-01/2012-12的78例IBS患者为研究组对象, 其中男40例, 女38例, 年龄为22-62岁, 平均年龄为43.5岁±6.4岁. 选取同期体检健康的50名为对照组, 其中男25名, 女25名, 年龄为23-65岁, 平均年龄为44.7岁±5.8岁. 研究组与对照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 心血管自主神经功能测试: 试验前1 d的夜晚和当日对象需要禁饮咖啡和茶以及酒等, 禁用一系列影响血压和心率的药物, 并且试验测试前需要静坐半个小时[6,7]. 测试主要包括三项心血管副交感神经和两项交感神经测试: (1)Valsava动作反应指数测试: 正常值1.21, 临界值1.1-1.2, 阳性值不足1.1; (2)卧位至立位心率即刻反应: 正常值1.04, 临界值1.0-1.03, 阳性值不足1.0; (3)呼吸差: 正常值>15次/min, 临界值10-15次/min, 阳性值不足10次/min; (4)卧位压差: 正常值收缩压(systolic blood pressure, SBP)下降<10.0 mmHg, 临界值10.0-30.0 mmHg, 阳性值>30.0 mmHg; (5)握力试验血压反应: 正常值>16.0 mmHg, 临界值10.0-16.0 mmHg, 阳性值不足10.0 mmHg. 阳性: 上述5项中有2项或者2项以上异常; 阴性: 正常或者迷走神经功能试验中均有1项异常.

1.2.2 心率变异性监测: 选取Holter-star三导联全信息24 h动态心电图记录器和3.0心率变异性分析系统进行监测分析[8]. 指标为: 正常RR间期标准差(standard deviation of NN intervals, SDNN)、每5 min平均RR间期标准差(self-developing artificial neural network, SDANN)、相邻RR之差>50 ms所占总窦性心搏百分值

■研发前沿
临床中重点分析心率异常性在判断自主神经功能异常中的作用, 并且定量的分析, 从而更准确的说明二者的关系, 更好地对IBS患者心血管自主神经功能状况进行说明.

■相关报道
临床中对于心率异常性的研究相对较多, 且对神经功能的相关报道也比较常见. 而对于IBS与心率变异性的研究也有提示. 但是, 通过心率变异性分析进行判断IBS自主神经功能的研究较少.

■**创新盘点**
本研究重点分析心率异常性在IBS患者心血管自主神经功能异常判断中的作用，且通过定量的分析，更科学的说明其临床应用的价值.

表 1 研究组与对照组自主神经功能异常率观察

分组	*n*	阳性	阴性	异常率(%)
研究组	78	56	22	71.8
对照组	50	14	36	28.0[a]

[a]*P*<0.05 *vs* 研究组.

表 2 自主神经功能与心率变异性相关分析 (mean ± SD)

分组	*n*	SDNN (ms)	RMSSD (ms)	SDANN (ms)	PNN_{50}	SDNN index (ms)	HF (ms^2)	LF (ms^2)	LF/HF
阳性组	56	104.6 ± 23.6[a]	38.9 ± 9.8[a]	99.5 ± 18.9[a]	15.6 ± 3.6[a]	36.7 ± 8.5[a]	412.6 ± 88.9[a]	345.5 ± 83.6	0.9 ± 0.2[a]
阴性组	22	133.5 ± 21.7	39.4 ± 9.6[a]	116.7 ± 21.6	15.7 ± 3.8[a]	112.5 ± 21.7	408.6 ± 90.6[a]	342.7 ± 85.1	0.9 ± 0.3[a]
对照组	50	151.6 ± 23.7	25.5 ± 6.7	128.5 ± 18.9	10.5 ± 2.8	105.5 ± 21.2	299.6 ± 77.8	339.6 ± 80.7	1.3 ± 0.3

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组. SDNN: 正常RR间期标准差; SDANN: 每5 min平均RR间期标准差; PNN_{50}: 相邻RR之差>50 ms所占总窦性心搏百分值; RMSSD: 相邻RR之差均方根; SDNN index: RR间期标准差平均值; HF: 高频; LF: 低频.

(percentage of differences between adjacent normal RR intervals exceeding 50 milliseconds, PNN_{50})、相邻RR之差均方根(root mean square successive difference, RMSSD)、RR间期标准差平均值(average standard deviation of 5 min NN intervals, SDNN index)、高频(high frequency, HF)、低频(low frequency, LF)、低频/高频(LF/HF).

统计学处理 采取SPSS19.0统计学软件进行数据分析，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 两组自主神经功能异常情况观察 研究组自主神经功能异常率明显地高于对照组，差异有统计学意义(*P*<0.05)(表1).

2.2 自主神经功能与心率变异性相关分析 阳性组与对照组比较，SDNN、SDANN、PNN_{50}、RMSSD、SDNN index、HF、LF/HF差异有统计学意义(*P*<0.05)；阴性组与对照组比较，RMSSD、PNN_{50}、HF、LF/HF差异有统计学意义(*P*<0.05)(表2).

3 讨论

IBS在临床中属于常见疾病，患者表现为持续性或间歇性的发作. 临床中常常表现为腹痛和腹胀以及排便习惯发生改变，且属于缺乏胃肠道结构与生化异常的一种肠道功能紊乱性疾病，严重的影响患者的生活[9]. 临床研究[10-13]显示，心血管自主神经功能的变化与多种疾病存现联系，而心率变异性也是反映自主神经系统活性与平衡协调的一种状态，是临床中评估自主神经活动的常见定量指标.

经过此次的临床研究分析，IBS患者有多数发生自主神经功能异常的情况，且异常率高达71.8%，且明显的高于正常对照组，差异有统计学意义. 另外，通过对心率变异性的分析，IBS自主神经功能阳性患者其SDNN、SDANN、SDNN index值均存现降低的情况，而HF、PNN_{50}、RMSSD值均出现增加的情况. 由此分析，IBS患者存现心血管自主神经功能异常的情况，且表现为迷走神经异常，迷走神经张力出现增加的情况. 研究显示，阳性组和阴性组RMSSD、PNN_{50}、HF均出现增加，而LF/HF均降低. 进一步说明，临床中分析心率变异性更准确的反映出IBS的基本情况，且避免迷走神经与交感神经的感染，其临床特异性更具优越性[14]. 临床研究也显示，部分的心血管自主神经功能测试阴性的IBS患者，其心率变异性也发生改变. 进一步提示，临床中心率变异性分析是尽早的发现IBS自主神经功能异常的一个重要方法[15].

■**应用要点**
通过对IBS心血管自主神经功能与心率异常性的相关分析，更好的了解心率变异性在评估心血管自主神经功能异常的重要性.

总之, 临床中IBS患者存现明显的心血管自主神经功能异常的情况, 临床中通过心率变异性的分析可以更准确的评估心血管自主神经功能异常, 二者存在紧密的联系.

4 参考文献

1 常媛媛, 王邦茂, 王玉明, 张洁, 苏帅. 肠易激综合征患者的精神心理因素与自主神经功能紊乱. 世界华人消化杂志 2011; 19: 309-313

2 刘小溪, 吴爱勤. 恶劣心境患者述情障碍与自主神经功能的相关研究. 临床精神医学杂志 2012; 22: 95-98

3 Evans S, Cousins L, Tsao JC, Sternlieb B, Zeltzer LK. Protocol for a randomized controlled study of Iyengar yoga for youth with irritable bowel syndrome. *Trials* 2011; 12: 15 [PMID: 21244698]

4 Chang CC, Chang HA, Chen TY, Fang WH, Huang SY. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphism affects sympathetic tone in a gender-specific way. *Psychoneuroendocrinology* 2014; 47: 17-25 [PMID: 25001952 DOI: 10.1016/j.psyneuen.2014.04.019]

5 潘永明, 刘瑞敏, 吴蔚. 心率变异性分析评估不同因素致亚健康大鼠自主神经功能的影响. 实验动物与比较医学 2012; 32: 467-472

6 孙亚娟. 自主神经功能改变与房颤射频消融术后复发的关系的研究. 北京: 中国人民解放军军医进修学院, 2013

7 张月霞, 蓝宇. 有胃肠症状糖尿病患者自主神经功能的变化研究. 中华全科医师杂志 2010; 9: 765-768

8 Costa T, Boccignone G, Ferraro M. Gaussian mixture model of heart rate variability. *PLoS One* 2012; 7: e37731 [PMID: 22666386 DOI: 10.1371/journal.pone.0037731]

9 周冬翠, 裴志勇, 毕磊. 300例高龄冠心病患者心率变异性分析. 医学综述 2012; 18: 620-621

10 李爽. 肠易激综合征亚型心率变异性分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 650-652

11 马海娥, 王晨霞. 心率变异性的临床应用进展. 中西医结合心血管病电子杂志 2014; 11: 147-148

12 王步青, 张政波, 王卫东. 心率变异性分析系统的开发. 中国医疗器械杂志 2012; 21: 333-337

13 黄晓林. 心率变异性的分析方法研究. 南京: 南京大学, 2009

14 彭继晖, 方涛, 廖夏. 395例不同疾病短程心率变异性分析临床探讨. 医学理论与实践 2009; 22: 1195-1196

15 邹细岩, 李文芳, 王琍玫. 肠易激综合征与心率变异性的相关性探讨. 中国现代医药杂志 2008; 10: 69-70

■名词解释

心率变异性: 反映自主神经系统活性、定量评估心脏交感神经与迷走神经张力及其平衡性, 判断其对心血管疾病的病情及预防指标; 自主神经系统: 脊椎动物的末梢神经系统.

■同行评价

本研究观点新颖, 详细的了解心率变异性在临床中评估IBS心血管自主神经功能异常的重要性, 对IBS诊治具有重要的指导作用.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 332-337
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

Peutz–Jeghers综合征患者*STK11*基因突变情况

毛旭燕, 张亚飞, 毛高平, 王海丰, 宁守斌

■背景资料
既往研究表明位于19号染色体短臂19p13.3区间的丝/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine kinase 11, *STK11*)基因是Peutz-Jeghers综合征(Peutz-Jeghers syndrome, PJS)的主要致病基因, 但*STK11*基因仍存在着散在的突变位点, 仍有部分患者未见*STK11*基因突变, 提示可能有其他基因参与或还存在其他未知的突变位点.

毛旭燕, 河北北方学院研究生院 河北省张家口市 075000
张亚飞, 毛高平, 宁守斌, 中国人民解放军空军总医院 北京市 100142
王海丰, 上海南方基因科技有限公司 上海市 201203
毛旭燕, 医师, 主要从事Peutz–Jeghers综合征疾病方面的研究.
北京市科技委员会基金资助项目, No. D101100050010037
作者贡献分布: 此课题由毛旭燕与宁守斌设计; 研究过程由毛旭燕、张亚飞、宁守斌、毛高平及王海丰操作完成; 研究所用试剂由王海丰与毛旭燕提供; 研究所用数据由毛旭燕提供; 数据分析由毛旭燕与王海丰完成; 本论文写作由毛旭燕、宁守斌及张亚飞完成.
通讯作者: 宁守斌, 教授, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院消化科. ning–shoubin@163.com
电话: 010–66928046
收稿日期: 2014–09–30 修回日期: 2014–11–06
接受日期: 2014–11–12 在线出版日期: 2015–01–18

STK11 gene mutations in patients with Peutz-Jeghers syndrome

Xu-Yan Mao, Ya-Fei Zhang, Gao-Ping Mao, Hai-Feng Wang, Shou-Bin Ning

Xu-Yan Mao, Graduate School, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China
Ya-Fei Zhang, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China
Hai-Feng Wang, Shanghai South Gene Technology Company, Shanghai 201203, China
Supported by: the Foundation of Beijing Municipal Science and Technology Commission, No. D101100050010037
Correspondence to: Shou-Bin Ning, Professor, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital of Chinese PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. ning-shoubin@163.om
Received: 2014-09-30 Revised: 2014-11-06
Accepted: 2014-11-12 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To identify point mutations in the *STK11* gene coding region in patients with Peutz-Jeghers syndrome (PJS).

METHODS: The sequences of the coding region of the *STK11* gene in 36 PJS patients were analyzed using PCR and DNA sequencing and compared with the normal sequence of the *STK11* gene.

RESULTS: Of the 36 patients with PJS, 22 showed *STK11* gene mutations in the coding region, including 3 patients having the same mutation and 19 patients with a unique mutation site. The remaining 14 patients were not found to have mutations in the *STK11* gene coding region. Of the 22 patients with *STK11* gene mutations, 5 showed frame-shift mutations, of which 2 were included in SNP gene databases, and 17 showed missense mutations, of which 8 were changed to a termination codon and 4 were included in SNP gene databases. Among the gene mutations identified in our patients, 15 were not included in gene databases and were considered new mutations. The gene mutation rate was 62.5% in patients with a family history and 60.0% in sporadic cases ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Mutations of the *STK11* gene are a major cause of PJS. The newly found missense and frame-shift mutations may be associated with PJS.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *STK11* gene; Gene mutation; Peutz-Jeghers syndrome

Mao XY, Zhang YF, Mao GP, Wang HF, Ning SB. *STK11* gene mutations in patients with Peutz-Jeghers syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 332-337 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/332.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.332

摘要

目的: Peutz-Jeghers综合征(Peutz-Jeghers syndrome, PJS)是一种较为罕见的以胃肠道多发息肉和皮肤黏膜色素沉着为特征的常染色体显性遗传性疾病, 具有较高的肿瘤易感性. 研究表明, 位于19p13.3位点丝/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine kinase 11, *STK11*)基因的突变是PJS发病的主要原因. 我们通过检测36例(16例具有家族史, 20例散发患者)PJS患者*STK11*基因外显子及侧翼序列突变情况, 捕获新的突变位点.

方法: 采用PCR扩增及DNA直接测序的方法

■同行评议者
王蒙, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

检测36例PJS患者*STK11*基因外显子及侧翼序列突变情况, 并与*STK11*基因的正常序列对比分析.

结果: 在所有36例PJS患者中22例检测到*STK11*基因编码区的突变, 其中3例患者携带同一个突变位点, 余19例患者均携带单一突变位点. 其余14例患者*STK11*基因编码区未见突变位点. 22例发生突变的患者中, 5例患者发生移码突变(其中2例移码突变位点已被SNP收录); 17例患者发生错义突变(其中8例患者错义突变为终止密码子, 此8例中4例突变已被SNP收录). 所有突变的患者中共15例未被SNP及Clinwar基因库收录, 未见相关报道, 考虑为新发现的突变位点. 家族史组*STK11*基因突变率62.5%(10/16), 散发组*STK11*基因突变率60.0%(12/20), 两组差异无统计学意义(P>0.05).

结论: *STK11*基因突变是PJS(无论家族史或散发患者)发病的主要致病原因, 新发现的移码突变或错义突变可能是PJS患者发病的遗传基础之一.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: *STK11*基因; 基因突变; Peutz-Jeghers综合征

核心提示: *STK11*基因突变是Peutz-Jeghers综合征(Peutz-Jeghers syndrome, PJS)(无论家族史或散发患者)发病的主要致病原因, 新发现的移码突变或错义突变可能是PJS患者发病的遗传基础之一.

毛旭燕, 张亚飞, 毛高平, 王海丰, 宁守斌. Peutz-Jeghers综合征患者*STK11*基因突变情况. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 332-337 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/332.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.332

0 引言

Peutz-Jeghers综合征(Peutz-Jeghers syndrome, PJS)是一种较为罕见的以胃肠道多发息肉和皮肤黏膜色素沉着为特征的常染色体显性遗传性疾病, 约30%-50%PJS患者有家族遗传病史[1]. 发病无种族和性别间的差异[2]. 色素沉着斑可行激光治疗[3]. PJS息肉可致急慢性腹痛、肠套叠、肠扭转、肠梗阻、胃肠道出血等严重并发症, 其中以小肠套叠最常见[4]. 同时, PJS患者更易患胃肠道及胃肠道以外的多种恶性肿瘤, 考虑也与相关的基因突变有关[5,6], PJS患者息肉主要为错构瘤, 可发生癌变, 建议每2-3年进行息肉检查及切除[7]. 分子遗传学研究表明, 位于19号染色体短臂19p13.3区间的丝/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine kinase 11, *STK11*)基因是PJS的主要致病基因[8,9], 可发生基因的杂合性缺失、移码突变或无义突变等, 从而造成*STK11*基因功能丧失. *STK11*基因DNA全长2155 bp, 编码区含1302 bp, 含有9个外显子和11个内含子, 分布在23 kb的gDNA区域, 转录方向是从端粒到着丝粒, 编码相对分子质量为60 kDa的433个氨基酸组成的丝氨酸/苏氨酸激酶, 是迄今为止发现的唯一有抑癌作用的蛋白激酶, 属于一种cAMP依赖的蛋白激酶, 其功能催化区域位于第44-309位氨基酸残基. 国内一些学者对PJS患者进行*STK11*基因分析也发现*STK11*基因存在着散在的突变位点, 但仍有部分患者未见*STK11*基因突变, 提示可能有其他基因参与或还存在其他未知的突变位点[10,11]. 本研究通过PCR-DNA测序技术对36例中国PJS患者*STK11*基因编码区进行检测, 与*STK11*基因的正常序列比对分析(http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/), 发现了新的突变位点, 现将结果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2013-04/2014-08在中国人民解放军空军总医院确诊PJS患者36例. 其中男20例, 女16例, 年龄范围7-48岁, 平均年龄23.57岁±7.75岁. 15个家系共16例患者, 20例散发患者. 所有患者均符合PJS的诊断标准[12], 即: (1)胃肠道≥3个息肉, 且组织学符合PJS特点, 即起源于黏膜肌层的平滑肌像树枝样延伸至息肉的黏膜下层, 称之为PJ息肉(Peutz-Jeghers polyps); (2)具有PJS家族史且伴有PJS的发生; (3)具有PJS家族史且典型的皮肤黏膜色素沉着; (4)典型的皮肤黏膜色素沉着且伴有PJS的发生, 符合2项或以上患者可诊断本病. 本研究征得所有患者及家属同意, 并签署知情同意书. 抽取所有患者外周血, 肝素抗凝, -80 ℃保存备用.

1.2 方法

1.2.1 DNA提取: 提取PJS患者外周静脉血2 mL, EDTA-K2抗凝. 采用血液基因组DNA提取试剂盒(上海南方基因科技有限公司)方法提取基因组DNA, 经紫外分光光度法检测DNA的浓度及纯度, -20 ℃保存备用.

1.2.2 引物设计: 对外周血DNA外显子及侧翼序列设计引物, 引物合成由上海南方基因科技有限公司合成, 合成后稀释成反应浓度20 μmol/L,

■研发前沿
*STK11*基因突变是PJS(无论家族史或散发患者)发病的主要致病原因, 新发现的移码突变或错义突变可能是PJS患者发病的遗传基础之一. 不仅填补尚未被证实的基因突变谱, 又有助于更精确的评估PJS患者的临床过程和预测其患癌风险强度, 并为该病的基因诊断与遗传咨询提供分子生物学依据.

■相关报道
国内一些学者对PJS患者进行*STK11*基因分析也发现*STK11*基因存在着散在的突变位点, 但仍有部分患者未见*STK11*基因突变, 提示可能有其他基因参与或还存在其他未知的突变位点.

■创新盘点
*STK11*基因是PJS患者主要的致病基因，对于*STK11*基因突变阴性患者可能有其他基因或还存在其他未知的突变位点参与疾病的发生，此研究通过检测36例PJS患者*STK11*基因外显子突变情况，捕获新的突变位点.

表 1 36例PJS患者*STK11*基因编码区突变情况

患者	外显子	核苷酸改变	突变类型	氨基酸改变	病理类型	SNP编码
PJS-1	Exon1	c.178 Int[1]A	移码突变	Y60&Termination	错构瘤	Novel
PJS-2	Exon1	c.95 del[2]C	移码突变	T32T	错构瘤	Novel
PJS-3	Exon1	c.193 G>[3]T	错义突变	E65&Termination	错构瘤	Novel
PJS-4	Exon1	c.152 IntG	移码突变	M51M	错构瘤	Novel
PJS-5	Exon1	c.250 A>T	错义突变	K84&Termination	错构瘤	rs137853076
PJS-6	Exon1	c.56 G>C	错义突变	S19W	错构瘤	Novel
PJS-7	Exon1	c.180 C>G	错义突变	Y60&Termination	错构瘤	Novel
PJS-8	Exon1	c.180 C>G	错义突变	Y60&Termination	错构瘤	Novel
PJS-9	Exon1	c.180 C>G	错义突变	Y60&Termination	错构瘤	Novel
PJS-10	Exon2	c.354 C>G	错义突变	Y118&Termination	错构瘤	Novel
PJS-11	Exon4	c.521 A>G	错义突变	H174R	错构瘤	Novel
PJS-12	Exon4	c.526 G>A	错义突变	D176N	错构瘤	Novel
PJS-13	Exon4	c.552 T>G	错义突变	L184R	错构瘤	Novel
PJS-14	Exon4	c.580 G>A	错义突变	D194N	错构瘤	rs121913315
PJS-15	Exon5	c.716 G>A	错义突变	W239&Termination	错构瘤	Novel
PJS-16	Exon6	c.805 A>T	错义突变	K269&Termination	错构瘤	Novel
PJS-17	Exon6	c.837 delC	移码突变	G215G	错构瘤	rs121913321
PJS-18	Exon6	c.837 IntC	移码突变	G215G	错构瘤	rs121913321
PJS-19	Exon6	c.862 G>A	错义突变	G288S	错构瘤	Novel
PJS-20	Exon7	c.911 G>C	错义突变	R304P	错构瘤	rs376280361
PJS-21	Exon8	c.950 C>G	错义突变	S317W	错构瘤	rs59912467
PJS-22	Exon9	c.1113 C>T	错义突变	R371W	错构瘤	rs368466538

[1]碱基的插入; [2]碱基的缺失; [3]碱基的置换.

-20 ℃保存备用.

1.2.3 PCR扩增及琼脂糖凝胶电泳：对以上*STK11*外显子区域及侧翼序列在PCR仪上进行PCR扩增，并用2%的琼脂糖凝胶电泳检测PCR扩增效果.

1.2.4 DNA测序：对PCR扩增产物纯化后用DNA全自动测序仪进行测序，测序反应引物同扩增产物，测序产物用Bio Edit软件进行序列分析，并将测序结果与基因库中提供的*STK11*基因进行比对.

统计学处理 数据处理采用SPSS17.0统计软件，对患者的相关资料及临床检查数据进行描述性统计，对连续计量资料采用mean±SD表示，均数比较采用χ^2检验，$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 PCR扩增产物电泳分析结果 对36例PJS患者提取的DNA样本在上述扩增条件下进行扩增. 扩增后所得PCR产物用1%琼脂糖凝胶电泳进行检测，结果表明PCR扩增产物长度符合目的片段理论值且特异性好.

2.2 DNA测序结果及分析 将36例PJS患者纯化后的PCR产物作为反应模板直接测序，经与基因库中*STK11*基因的正常序列比对(http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/)，发现22例PJS患者中存在*STK11*基因编码区的突变(表1)，15例患者突变于SNP基因库中及Clinwar数据库中未见报道，其中3例于外显子1处因碱基缺失或插入突变为移码突变，导致后序氨基酸的种类及顺序发生改变，余12例发生错义突变(包括8例终止突变)，考虑为PJS综合征新的突变位点. 其余14例患者*STK11*基因编码区未检测到突变. 在外显子1处共发生8例突变：3例移码突变，导致后序氨基酸种类及顺序发生改变；1例碱基置换致错义突变为另一种氨基酸；4例错义突变为终止密码子，导致终止氨基酸提前出现，蛋白质翻译停止. 外显子2处，发生1例错义突变为终止氨基酸，导致编码停止. 外显子4处，4例错义突变导致氨基酸种类改变，蛋白质功能可能发生改变. 外显子5处发生一例错义突变为终止氨基酸. 外显子6处，2例错义突变致氨基酸种类改变(包括1例错义突变为终止氨基酸，导致编码终止). 外显子7及外显子9处各发生1例错义突变. 所收集的36例患者中，2例患者在外显子6处携带同一位点突变，发生

表 2 家族史和散发患者*STK11*基因突变率的比较 (*n*)

类型	阳性	阴性	合计	*P*值
家族史	10	6	16	
散发者	12	8	20	
合计	22	14	36	0.577

■应用要点

*STK11*基因突变是PJS(无论家族史或散发患者)发病的主要致病原因, 新发现的移码突变或错义突变可能是PJS患者发病的遗传基础之一. *STK11*基因突变在PJS综合征发生发展中的重要地位, 为进一步阐明PJS发生机制提供理论依据, 为早期疾病的预防及下一步发现PJS其他致病基因奠定理论基石.

碱基的缺失或插入, 导致移码突变的发生, 但已报道为*STK11*基因的SNP现象. 2例家系共3例患者于外显子1处C.180位点发生同一点突变类型C>G, 此突变为终止密码子, 导致氨基酸编码终止, 致疾病发生. 具体测序结果如图1. 家族史组*STK11*基因突变率62.5%(10/16), 散发组*STK11*基因突变率60.0%(12/20), 两组差异无统计学意义(P>0.05)(表2).

3 讨论

PJS, 即黑斑息肉综合征, 是一种较罕见的以皮肤/黏膜黑斑及胃肠多发息肉为特征的肿瘤易感性常染色体显性遗传性疾病, 约50%的PJS患者有家族史, 发病率约1/200000. 目前, 随着研究深入, 对PJS诊治已受到越来越多的关注. 研究表明, 位于19p13.3区域的*STK11*基因是PJS的主要致病基因, *STK11*通过控制AMP相关蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)家族成员的活性参与细胞代谢、血管内皮生长因子信号途径、细胞极性、p53依赖的细胞凋亡和DNA损伤应答过程, 是目前发现的唯一有抑癌作用的蛋白激酶, 属于cAMP依赖的蛋白激酶, 研究已表明此基因的缺失与突变也是PJS患者发生多器官恶性肿瘤的重要原因. 迄今为止, 在PJS和散发癌症患者中, 在人类基因突变库(Human Gene Mutations Database, HGMD)(http://www.hgmd.cf.ac.uk; the state on 08.2012)中已鉴定出的*STK11*突变有230余种, 所以, 随着基因检测技术的不断提高, PJS的基因突变率和类型也会不断增多, 通过对*STK11*基因突变的研究, 一方面可填补尚未被证实的基因突变谱, 同时又将有助于更精确的评估PJS患者的临床过程和预测其患癌风险强度, 并为该病的基因诊断与遗传咨询提供分子生物学依据, 为进一步阐明PJS患者发病机制提供科学依据, 并为后期研究新的突变基因及其位点奠下坚实的基础.

我们通过对36例PJS患者进行*STK11*基因测序, 测序结果与基因库中正常*STK11*序列对比, 发现22例患者存在*STK11*基因突变, 13例突变未被SNP基因库及Clinwar数据库收录, 2例发生同义突变, 1例移码突变, 余10例发生错义突变, 导致氨基酸的种类或顺序发生改变, 考虑可能为新的突变位点. 其中10例发生错义的类型中, 7例错义突变后导致终止密码子的提前产生, 致蛋白质翻译提前终止, 最终影响STK11蛋白激酶功能表达; 余3例发生碱基的置换, 引起错义突变致氨基酸序列的改变, 由于此突变位点位于具有催化活性的激酶区, 我们推测可能导致激酶活性的降低或缺失. 在我们所研究的36例家系中, 2例家系共3例患者于外显子1处C.180位点发生同一点突变类型C>G, 此突变为终止密码子, 导致氨基酸编码终止, 致疾病发生. 考虑常见*STK11*基因突变位点. 余家系携带的突变位点类型不同. 在我们发现的突变中, 突变位点主要集中在外显子1、4、6, 表明1、4、6号外显子为PJS最常见的突变位点, 可进一步通过大量样本检测, 进行此外显子区域突变位点蛋白功能的测定, 发现突变与STK11蛋白改变之间的关系.

此次发生突变的22例患者中, 突变类型均为DNA的杂合突变, 一条链正常, 而另一条异常的DNA链导致STK11蛋白表达量的减少, 进而影响蛋白功能及活性导致疾病的发生. 进而我们推测, STK11蛋白表达量的多少可能与疾病的发生成正相关, 而*STK11*基因的纯和突变可能致命, 此蛋白功能的改变有待深入研究.

此次研究的36例患者中, 8例散发及6例家族史患者具有典型PJS临床特征, 但未发现*STK11*基因的突变, 可能存在以下原因: (1)据文献报道[13], *STK11*基因在PJS患者中检测的阳性率大约在70%-94%, 除此之外, 在个别家系的患者中检测到与19q13.4、6p11-cen[7]及MYH11[14]有关; (2)DNA测序技术尚未发现*STK11*基因的突变, DNA测序尚未检测到阳性突变的患者通过MLPA可检测到若干大的片段的缺失[1]. 此现象表明可能存在除*STK11*基因外其他的基因突变, 对其致病基因的研究尚需深入开展. 同时家族史和散发患者*STK11*基因突变率比较, 两者无显著性差异, 表明*STK11*基因是散发和家族史PJS

■名词解释

Peutz-Jeghers综合征(PJS): 又称皮肤黏膜色素斑-肠道多发息肉综合征, 是一种常染色体显性遗传疾病, *LKB1*/*STK11*为其主要的致病基因, 临床表现以口唇、手指、足趾等部位黑/褐色素斑沉着和胃肠道多发息肉为主要特征.

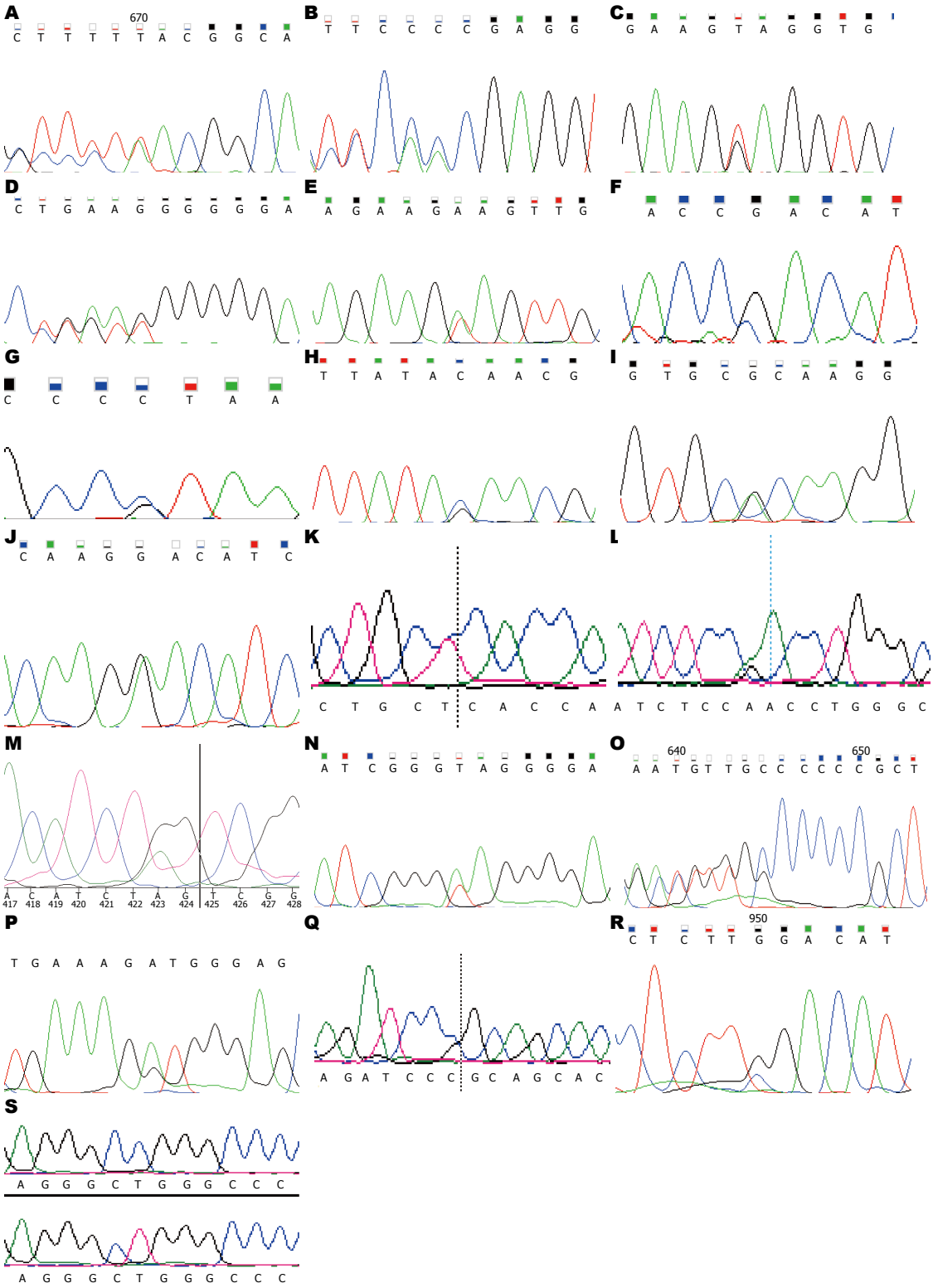


图 1 新发现的突变测序结果图. A: PJS1 IntA; B: PJS2 delC; C: PJS3 G>T; D: PJS4 IntG; E: PJS5 A>T; F: PJS6 G>C; G: PJS7/8/9 C>G; H: PJS10 C>G; I: PJS11 A>G; J: PJS12 G>A; K: PJS13 T>G; L: PJS14 G>A; M: PJS15 G>A; N: PJS16 A>T; O: PJS17−18 delC/IntC; P: PJS19 G>A; Q: PJS20 G>C; R: PJS21 C>G; S: PJS22 C>T.

患者最常见致病基因, 无论家族史或散发PJS患者, 应首先考虑此基因突变情况, 阴性者可进行其他致病基因的检测.

总之, 通过对36例PJS患者行*STK11*基因编码区的检测, 发现22例患者存在突变位点, 13例突变位点未被SNP及Clinwar基因库收录, 此些突变位点的发现丰富了*STK11*基因突变数据库, 表明了*STK11*基因突变在PJS综合征发生发展中

的重要地位, 为进一步阐明PJS发生机制提供理论依据, 为早期疾病的预防及下一步发现PJS其他致病基因奠定理论基石.

4 参考文献

1 Aretz S, Stienen D, Uhlhaas S, Loff S, Back W, Pagenstecher C, McLeod DR, Graham GE, Mangold E, Santer R, Propping P, Friedl W. High proportion of large genomic STK11 deletions in Peutz-Jeghers syndrome. *Hum Mutat* 2005; 26: 513-519 [PMID: 16287113 DOI: 10.1002/humu.20253]

2 McGarrity TJ, Kulin HE, Zaino RJ. Peutz-Jeghers syndrome. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 596-604 [PMID: 10710046 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.01831.x]

3 童晓荣, 李延, 刘凌, 谭志建, 郭小红, 崔曙光, 涂亚庭. 调Q开关紫翠宝石激光治疗40例色素沉着肠息肉综合征唇部皮疹的疗效观察. 中国美容医学 2012; 21: 87-88

4 van Lier MG, Mathus-Vliegen EM, Wagner A, van Leerdam ME, Kuipers EJ. High cumulative risk of intussusception in patients with Peutz-Jeghers syndrome: time to update surveillance guidelines? *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 940-945 [PMID: 21157440 DOI: 10.1038/ajg.2010.473]

5 Korsse SE, Peppelenbosch MP, van Veelen W. Targeting LKB1 signaling in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1835: 194-210 [PMID: 23287572 DOI: 10.1016/j.bbcan.2012.12.006]

6 Zhu XS, Dai YC, Nan QZ, Chen ZX, Xie JP, Zeng W, Fu YK, Lin YY, Lian QN, Sang QF, Zhan XJ. Analysis of differentially expressed tumor related genes in Peutz-Jeghers syndrome combined with colorectal carcinoma with cDNA microarrays. *Chinese-German J Clin Oncol* 2011; 10: 462-467 [DOI: 10.1007/s10330-011-0823-6]

7 Zhang YF, Mao XY, Zheng JC, Zu ZF, Mao GP, Ning SB. Small intestine adenocarcinoma associated with Peutz-Jeghers syndrome: a report of 5 cases and literature review. *Chinese-German J Clin Oncol* 2014; 13: 337-340 [DOI: 10.1007/s10330-014-1332-1]

8 Jiang CY, Esufali S, Berk T, Gallinger S, Cohen Z, Tobi M, Redston M, Bapat B. STK11/LKB1 germline mutations are not identified in most Peutz-Jeghers syndrome patients. *Clin Genet* 1999; 56: 136-141 [PMID: 10517250 DOI: 10.1034/j.1399-0004.1999.560207.x]

9 Yajima H, Isomoto H, Nishioka H, Yamaguchi N, Ohnita K, Ichikawa T, Takeshima F, Shikuwa S, Ito M, Nakao K, Tsukamoto K, Kohno S. Novel serine/threonine kinase 11 gene mutations in Peutz-Jeghers syndrome patients and endoscopic management. *World J Gastrointest Endosc* 2013; 5: 102-110 [PMID: 23515270 DOI: 10.4253/wjge.v5.i3.102]

10 Zuo YG, Xu KJ, Su B, Ho MG, Liu YH. Two novel STK11 mutations in three Chinese families with Peutz-Jeghers syndrome. *Chin Med J* (Engl) 2007; 120: 1183-1186 [PMID: 17637250]

11 Gao Y, Zhang FM, Huang S, Wang X, Zhang P, Huang XD, Ji GZ, Fan ZN. A De Novo mutation of STK11 gene in a Chinese patient with Peutz-Jeghers syndrome. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1032-1036 [PMID: 19507030 DOI: 10.1007/s10620-009-0837-x]

12 Beggs AD, Latchford AR, Vasen HF, Moslein G, Alonso A, Aretz S, Bertario L, Blanco I, Bülow S, Burn J, Capella G, Colas C, Friedl W, Møller P, Hes FJ, Järvinen H, Mecklin JP, Nagengast FM, Parc Y, Phillips RK, Hyer W, Ponz de Leon M, Renkonen-Sinisalo L, Sampson JR, Stormorken A, Tejpar S, Thomas HJ, Wijnen JT, Clark SK, Hodgson SV. Peutz-Jeghers syndrome: a systematic review and recommendations for management. *Gut* 2010; 59: 975-986 [PMID: 20581245 DOI: 10.1136/gut.2009.198499]

13 Salloch H, Reinacher-Schick A, Schulmann K, Pox C, Willert J, Tannapfel A, Heringlake S, Goecke TO, Aretz S, Stemmler S, Schmiegel W. Truncating mutations in Peutz-Jeghers syndrome are associated with more polyps, surgical interventions and cancers. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 97-107 [PMID: 19727776 DOI: 10.1007/s00384-009-0793-0]

14 Alhopuro P, Phichith D, Tuupanen S, Sammalkorpi H, Nybondas M, Saharinen J, Robinson JP, Yang Z, Chen LQ, Orntoft T, Mecklin JP, Järvinen H, Eng C, Moeslein G, Shibata D, Houlston RS, Lucassen A, Tomlinson IP, Launonen V, Ristimäki A, Arango D, Karhu A, Sweeney HL, Aaltonen LA. Unregulated smooth-muscle myosin in human intestinal neoplasia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 5513-5518 [PMID: 18391202 DOI: 10.1073/pnas.0801213105]

■同行评价
本文为充填地区PJS基因库有重要参考意义.

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 338-342
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

全程健康教育处方在结直肠癌手术患者中的应用效果

辛云辉, 肖翠蓉

■背景资料
随生活方式的加快, 近年来结直肠癌的发病率不断上升, 且有升高的趋势, 死亡率现已居世界第2位. 健康教育处方指医生根据患者的病种特点, 个体化制定影响患者病情的文字资料, 并将资料内容以医嘱形式告知患者, 有研究证明健康教育处方可以改善糖尿病患者自我管理水平, 全程式健康教育处方则是在患者整个住院期间给予全面的健康教育处方.

辛云辉, 肖翠蓉, 武汉市第十一医院普外科 湖北省武汉市 430015
辛云辉, 副主任护师, 主要从事临床护理的研究.
作者贡献分布: 本文主要由辛云辉与肖翠蓉共同写作完成.
通讯作者: 辛云辉, 副主任护师, 430015, 湖北省武汉市江汉区香港路392号, 武汉市第十一医院普外科.
xinyishengwh@163.com
电话: 027-85600315
收稿日期: 2014-10-15 修回日期: 2014-11-08
接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2015-01-18

Effect of holistic health education prescription in colorectal cancer patients undergoing surgery

Yun-Hui Xin, Cui-Rong Xiao

Yun-Hui Xin, Cui-Rong Xiao, Department of General Surgery, the Eleventh Hospital of Wuhan City, Wuhan 430015, Hubei Province, China
Correspondence to: Yun-Hui Xin, Deputy Director Nurse, Department of General Surgery, the Eleventh Hospital of Wuhan City, 392 Xianggang Road, Jianghan District, Wuhan 430015, Hubei Province, China. xinyishengwh@163.com
Received: 2014-10-15 Revised: 2014-11-08
Accepted: 2014-11-18 Published online: 2015-01-18

Abstract
AIM: To assess the effect of holistic health education prescription in colorectal cancer patients undergoing surgery.

METHODS: One hundred and sixty patients with colorectal cancer treated from January 2011 to May 2014 at our hospital were randomly divided into either an observation group (80 cases) or a control group (80 cases). Holistic health education prescription was applied in the observation group, and routine oral health education was applied in the control group. Colorectal cancer awareness, clinical knowledge and function recovery, complications, and patient's satisfaction to medical care were compared for the two groups.

RESULTS: The rates of awareness of basic knowledge on colorectal cancer, complications, treatment, drugs, diet nursing, sports training and bowel habit were significantly higher in the observation group than in the control group (93.75% *vs* 70.00%, 87.50% *vs* 52.50%, 90.00% *vs* 56.25%, 87.50% *vs* 55.00%, 91.25% *vs* 56.25%, 91.25% *vs* 53.75%, $P < 0.05$). The times to ambulation and first anal exhaust were significantly shorter in the observation group than in the control group (11.58 h ± 2.00 h *vs* 18.07 h ± 3.76 h, 32.15 h ± 7.83 h *vs* 64.73 h ± 10.52 h, $P < 0.05$). The rate of complications was significantly lower in the observation group (10.00% *vs* 45.00%, $P < 0.05$), and the rate of patient's satisfaction to medical care was significantly higher in the observation group (97.50% *vs* 68.75%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The application of holistic health education prescription in patients with colorectal cancer can improve the awareness of colorectal cancer knowledge, promote recovery, reduce complications, and increase patient's satisfaction.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Holistic health education; Prescription; Colorectal cancer

Xin YH, Xiao CR. Effect of holistic health education prescription in colorectal cancer patients undergoing surgery. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 338-342 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/338.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.338

摘要
目的: 研究全程健康教育处方在结直肠癌手术患者中的应用效果.

方法: 选取2011-01/2014-05在武汉市第十一医院收治的结直肠癌患者160例, 将患者随机分为观察组80例和对照组80例, 观察组实行全程健康教育处方, 根据制定的教育处方在患者住院的各个阶段给予健康教育, 对照组进行口头常规健康教育, 观察记录两组患者教育后结直肠癌知识及机能知晓率、临床恢复情况、并

■同行评议者
刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

发症及患者满意度.

结果: 观察组在结直肠癌基本知识、并发症处理、药物作用、饮食护理、运动训练和排便习惯的知晓率分别为93.75%、87.50%、90.00%、88.75%、91.25%、91.25%, 对照组则分别为70.00%、52.50%、56.25%、55.00%、56.25%、53.75%, 观察组各项知晓率均明显高于对照组, 差异均具有统计学意义(P<0.05); 观察组下床时间和首次肛门排气时间分别为11.58 h±2.00 h、32.15 h±7.83 h, 均小于对照组时间18.07 h±3.76 h、64.73 h±10.52 h, 差异具有统计学意义(P<0.05); 观察组的并发症发生率8(10.00%), 明显低于对照组36(45.00%), 差异具有统计学意义(P<0.05); 观察组满意率为78(97.50%), 明显高于对照组65(68.75%), 差异具有统计学意义(P<0.05).

结论: 全程健康教育处方对于结直肠癌患者来说, 能够提高患者结直肠癌知识机能知晓率, 促进病情早日恢复, 减少并发症, 提高患者满意度, 值得临床推广应用.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 全程健康教育; 处方; 结直肠癌

核心提示: 本研究中观察组并发症发生率也明显低于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05), 说明全程健康教育处方通过对患者的叮嘱教育, 减少了并发症, 与患者对于术后护理的注意事项严格遵守密切相关, 患者不吃禁忌食物, 多进行适当运动训练, 在药物服用方面也谨遵护士指导, 对于切口注意不发生感染, 结直肠出现多重癌的发病率为1%-5%, 因此要密切注意复发问题.

辛云辉, 肖翠蓉. 全程健康教育处方在结直肠癌手术患者中的应用效果. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 338-342 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/338.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.338

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer)属于临床常见胃肠道肿瘤, 其发生是基因突变和表观遗传学改变共同作用的结果[1]. 早期往往无明显症状, 而随着肿瘤逐渐增大, 症状也逐渐明显, 常出现排便问题, 会有出血、腹泻和局部腹痛等现象出现, 结直肠癌对心理方面产生消极反应, 加重或恶化病情[2]. 随生活方式的加快, 近年来结直肠癌的发病率不断上升, 且有升高的趋势[3], 死亡率现已居世界第2位[4]. 健康教育处方指医生根据患者的病种特点, 个体化制定影响患者病情的文字资料, 并将资料内容以医嘱形式告知患者, 有研究[4]证明健康教育处方可以改善糖尿病患者自我管理水平, 全程式健康教育处方则是在患者整个住院期间给予全面的健康教育处方. 本文就通过对结直肠癌手术患者实行全程健康教育处方的临床观察, 分析其在结直肠癌手术患者中的应用效果.

■相关报道
有研究说个体化治疗基于肿瘤分子分型, 可以作为肿瘤治疗的新方法, 但目前国内医院无法达到此条件.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-01/2014-05在湖北省武汉市第十一医院接受手术治疗的结直肠癌患者160例, 将患者随机分为观察组和对照组, 每组各80例, 排除患有严重心肺疾病及肝肾功能不全的患者. 观察组年龄为23-67岁, 平均年龄为41.5岁±10.7岁, 其中男46例, 女34例; 对照组患者年龄为24-65岁, 平均年龄为40.8岁±11.3岁, 其中男43例, 女37例. 两组患者在年龄、性别和手术方式等一般资料方面均无统计学意义(P>0.05).

1.2 方法

1.2.1 健康教育: 观察组实行全程健康教育处方的模式, 主要分为以下几步: (1)选派专业团队制定全程健康教育处方, 挑选结直肠癌手术医生5年以上经验者2名和护理经验5年以上的护士5名, 这就组成专项小组, 制定处方前, 成员可以通过查阅文献等方式充分掌握结直肠癌健康教育知识, 然后小组成员共同制定教育处方, 处方尽量通俗易懂、简洁明了; (2)为患者发放印有结直肠癌相关知识的小册子, 册子中知识包括结直肠癌基本知识; 手术前基本知识, 如术前禁食禁水、大小便训练等; 术后康复指导, 包括严格禁食高脂肪肉类饮食、禁辛辣刺激性食物、术后短时间内以流质和高纤维食物为主, 药物使用指导等; 常见并发症处理方法, 对于切口处严密防止炎症的发生, 尽量减少大幅度的活动; (3)护士到病房中对患者进行健康指导, 进行答疑解惑. 刚入院时, 护士对患者进行入院指导, 讲解结直肠癌手术知识及相关注意事项, 持续时间约30 min; 护士进行围手术期指导, 重点讲解患者术前、术后的注意事项, 持续时间40-50 min, 在术前术后分别讲解20-25 min. 对于禁食水时间、禁忌食物

■创新盘点
健康教育处方指医生并将疾病手术相关资料以医嘱形式告知患者，全程式则是在患者整个住院期间给予健康教育处方.

表 1 两组教育后结直肠癌知识及机能知晓率比较 [n = 80, n(%)]

分组	结直肠癌基本知识	并发症处理方法	药物作用	饮食护理	运动训练	排便习惯
观察组	75(93.75)	70(87.50)	72(90.00)	71(88.75)	73(91.25)	73(91.25)
对照组	56(70.00)	42(52.50)	45(56.25)	44(55.00)	45(56.25)	43(53.75)
χ^2值	5.563	5.371	5.264	5.134	5.958	6.241
P值	0.018	0.020	0.021	0.023	0.017	0.013

及药物服用时间等重点，护士在处方册子上用红笔标出；并发症预防及处理指导，护士在术后一天内向患者讲解术后可能出现的切口感染、尿路感染等并发症，尽量减少切口的碰触等注意事项，持续时间约30 min；出院前1 d，护士对患者出院后的生活方式、训练方法予以指导，叮嘱患者定期来院复查，并将全程健康教育处方交给患者，方便患者阅读，健康教育时间约30 min. 对照组则按照口头常规的方式对患者进行健康教育，在患者住院期间口头讲解健康教育内容，健康教育次数和时间问题无法统一规定.

1.2.2 观察标准：观察记录两组患者教育后结直肠癌知识及机能知晓率、临床恢复情况、并发症及患者满意度. 结直肠癌知识及机能知晓率包括结直肠癌基本知识、并发症处理、药物作用、饮食护理、运动训练和排便习惯；临床恢复情况包括下床时间和首次肛门排气时间；并发症则包括肠梗阻、切口感染、吻合口瘘、尿路感染、腹腔内出血及咽喉疼痛；患者满意度则采用我院自制患者满意度调查表，分为3个等级：非常满意、较满意及不满意. 由专业护士记录统计上述各个项目的人数.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件对数据结果进行处理，计量结果用mean±SD表示，均数比较采用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 两组教育后结直肠癌知识及机能知晓率比较 观察组在结直肠癌基本知识、并发症处理、药物作用、饮食护理、运动训练和排便习惯的知晓率分别为93.75%、87.50%、90.00%、88.75%、91.25%、91.25%，对照组则分别为70.00%、52.50%、56.25%、55.00%、56.25%、53.75%，观察组各项知晓率均明显高于对照组，差异均具有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.2 两组教育后临床恢复情况比较 观察组和对照组下床时间分别为为11.58 h±2.00 h、18.07 h±3.76 h，两组相比，观察组时间明显短于对照组，差异具统计学意义(P<0.05)；观察组首次肛门排气时间为32.15 h±7.83 h，明显少于对照组时间(64.73 h±10.52 h)，且差异具有统计学意义(P<0.05).

2.3 两组教育后并发症比较 观察组在肠梗阻、切口感染、吻合口瘘、尿路感染、腹腔内出血及咽喉疼痛方面的发生率分别为2例(2.50%)、1例(1.25%)、0例(0.00%)、2例(2.50%)、1例(1.25%)、2例(2.50%)，与对照组发生率 7例(8.75%)、6例(7.50%)、5例(6.25%)、7例(8.75%)、5例(6.25%)、6例(7.50%)相比，观察组明显低于对照组，差异具统计学意义(P<0.05)；观察组的并发症发生率8例(10.00%)，明显低于对照组36例(45.00%)，差异具有统计学意义(P<0.05).

2.4 两组教育后患者满意度比较 观察组在非常满意的例数68例(85.00%)明显多于对照组30例(37.50%)，不满意的2例(2.50%)明显少于对照组25(31.25%)，差异均具有统计学意义(P<0.001)；而观察组满意率为78例(97.50%)，明显高于对照组65例(68.75%)，差异具有统计学意义(P<0.05).

3 讨论

结直肠癌又称为大肠癌，是临床较常见的胃肠道肿瘤. 近几年我国结直肠癌发病率有逐年升高的趋势[5]，结肠癌肝转移导致患者死亡较为多见[6]，外科手术作为主要治疗手段[7]，腹腔镜手术因手术切口小、术后恢复快得到推广[8]，其并发症发生率也明显低于开腹法[9]. 结肠镜可以有效诊断结直肠癌[10]，多学科综合治疗模式是实行结直肠癌治疗规范化的主要方式[11]. 有研究说个体化治疗基于肿瘤分子分型，可以作为肿瘤治疗的新方法[12]，但目前国内医院无法达到此条件.

健康教育处方指医生并将疾病手术相关资料以医嘱形式告知患者, 全程式则是在患者整个住院期间给予健康教育处方. 本文就通过对我院收治的160例结直肠癌手术患者实行全程健康教育处方的临床观察, 研究其在结直肠癌手术患者中的应用效果.

本文研究发现观察组结直肠癌知识机能知晓率均明显高于对照组, 差异均具有统计学意义(P<0.05), 说明全程健康教育处方能够使患者充分掌握疾病相关知识, 这与全程健康教育对患者各个阶段进行确切的知识讲解相关, 全程健康教育处方将提高患者疾病知识掌握纳入住院护理中, 健康教育知识宣教有了确切的时间、次数, 使之系统化、规范化, 患者在每次住院期间的健康教育中潜移默化, 了解了知识, 行为和生活习惯自然发生改变. 此外, 处方有了明确的文字资料, 也可以避免护理人员出现健康教育片面化, 患者接受的健康教育知识更全面, 因此患者的结直肠癌知识机能知晓率相对提高. 研究还发现观察组的下床时间和首次肛门排气时间明显短于对照组, 说明观察组临床恢复比对照组快, 全程式健康教育对患者的饮食指导、排便训练都有所帮助, 患者多食低脂肪、高纤维的食物, 血清胆固醇可促进结直肠癌发生, 水平随结直肠癌发展而下降[13], 研究[14]证明饮食脂肪的含量是通过增加总热量而易引发结直肠癌, 有助于胃肠道功能的尽快恢复, 饮食最优化有利于预防很多结直肠癌的产生[15]. 对于结直肠癌术后注意事项的掌握有利于养成良好的习惯, 早日康复, 而对照组患者接受的健康教育不稳定, 往往肠道功能恢复较晚.

本研究中观察组并发症发生率也明显低于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05), 说明全程健康教育处方通过对患者的叮嘱教育, 减少了并发症, 与患者对于术后护理的注意事项严格遵守密切相关, 患者不吃禁忌食物, 多进行适当运动训练, 在药物服用方面也谨遵护士指导, 对于切口注意不发生感染, 结直肠出现多重癌的发病率为1%-5%[16], 因此要密切注意复发问题. 每次30 min左右的健康宣教给患者的身体和精神上都给予莫大的支持鼓励, 患者谨遵医嘱, 身体相对恢复较快, 并发症也会随即减少. 而在患者满意度上, 观察组满意度明显高于对照组, 这与护士与患者增强了沟通密切相关, 护士可以通过健康宣教时间与患者进行结直肠癌术后恢复的问题交流, 解决患者疑惑的同时, 也加深了双方的信任感, 因此观察组满意度较高.

总之, 全程健康教育处方在结直肠癌手术患者的护理中, 能够提高患者结直肠癌知识机能知晓率, 减少并发症, 提高患者满意度, 具有良好的应用效果, 值得临床推广应用.

■**同行评价**
本研究结果详细, 方法合理, 有一定的学术意义.

4 参考文献

1 剧宏燕, 柴秀坤, 白文元. 结直肠癌的表观遗传学. 世界华人消化杂志 2014; 22: 2128-2133
2 杜童, 韩琳, 牛洪欣. 心理干预对结直肠癌患者生活质量的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22: 885-889
3 万德森. 我国结直肠癌的流行趋势及对策. 中华肿瘤杂志 2011; 33: 481-483
4 Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 212-236 [PMID: 21685461]
5 代珍, 郑荣寿, 邹小农, 张思维, 曾红梅, 李霓, 陈万青. 中国结直肠癌发病趋势分析和预测. 中华预防医学杂志 2012; 46: 598-603
6 刘坤, 赵任. 结直肠癌肝转移标志物的研究进展. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 794-796
7 林俊忠, 潘志忠. 结直肠癌肝转移外科治疗的争议. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 714-717
8 Roscio F, Bertoglio C, De Luca A, Frigerio A, Galli F, Scandroglio I. Outcomes of laparoscopic surgery for colorectal cancer in elderly patients. *JSLS* 2011; 15: 315-321 [PMID: 21985716]
9 Ohtani H, Tamamori Y, Arimoto Y, Nishiguchi Y, Maeda K, Hirakawa K. A meta-analysis of the short- and long-term results of randomized controlled trials that compared laparoscopy-assisted and open colectomy for colon cancer. *J Cancer* 2012; 3: 49-57 [PMID: 22315650 DOI: 10.7150/jca.3621]
10 蒋绚, 袁一平, 徐定婷, 张葆, 刘玉兰. 结直肠癌就诊模式对肿瘤早期诊断的影响. 中华医学杂志 2011; 91: 2886-2890
11 Wille-Jørgensen P, Sparre P, Glenthøj A, Holck S, Nørgaard Petersen L, Harling H, Stub Højen H, Bülow S. Result of the implementation of multidisciplinary teams in rectal cancer. *Colorectal Dis* 2013; 15: 410-413 [PMID: 22958614 DOI: 10.1111/codi.12013]
12 Cortés J, Calvo E, Vivancos A, Perez-Garcia J, Recio JA, Seoane J. New approach to cancer therapy based on a molecularly defined cancer classification. *CA Cancer J Clin* 2014; 64: 70-74 [PMID: 24249308 DOI: 10.3322/caac.21211]
13 Gorin A, Gabitova L, Astsaturov I. Regulation of cholesterol biosynthesis and cancer signaling. *Curr Opin Pharmacol* 2012; 12: 710-716 [PMID: 22824431 DOI: 10.1016/j.coph.2012.06.011]
14 Pendyala S, Neff LM, Suárez-Fariñas M, Holt PR. Diet-induced weight loss reduces colorectal inflammation: implications for colorectal carcinogenesis. *Am J Clin Nutr* 2011; 93: 234-242 [PMID: 21147860 DOI: 10.3945/ajcn.110.002683]
15 陈辰, 房静远. 饮食因素影响结直肠癌发生的研究进

展. 中华医学杂志 2014; 26: 2069-2072
16 Rozen P, Liphshitz I, Barchana M. The changing epidemiology of colorectal cancer and its relevance for adapting screening guidelines and methods. *Eur J Cancer Prev* 2011; 20: 46-53 [PMID: 21102339 DOI: 10.1097/CEJ.0b013e328341e309]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 343-347
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

改良术式治疗耻骨直肠肌综合征的疗效

魏 巍, 李荣先, 尚秀娟, 彭 昕

魏巍, 李荣先, 尚秀娟, 彭昕, 新乡市中心医院肛肠科 河南省新乡市 453000
魏巍, 主治医师, 主要从事结直肠功能性疾病的诊断与治疗研究.
作者贡献分布: 此课题由魏巍与李荣先设计; 研究过程及数据分析由魏巍、尚秀娟及彭昕操作完成; 本论文写作由魏巍完成.
通讯作者: 魏巍, 主治医师, 453000, 河南省新乡市金穗大道56号, 新乡市中心医院肛肠科. weew120@126.com
电话: 0373-2041093
收稿日期: 2014-08-07 修回日期: 2014-11-27
接受日期: 2014-12-08 在线出版日期: 2015-01-18

An improved surgical procedure for treatment of puborectalis syndrome

Wei Wei, Rong-Xian Li, Xiu-Juan Shang, Xin Peng

Wei Wei, Rong-Xian Li, Xiu-Juan Shang, Xin Peng, Department of Anorectal Medicine, the Central Hospital of Xinxiang, Xinxiang 453000, Henan Province, China
Correspondence to: Wei Wei, Attending Physician, Department of Anorectal Medicine, the Central Hospital of Xinxiang, 56 Jinsui Avenue, Xinxiang 453000, Henan Province, China. weew120@126.com
Received: 2014-08-07 Revised: 2014-11-27
Accepted: 2014-12-08 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy of an improved surgical procedure for treatment of puborectalis syndrome.

METHODS: This prospective randomized study included 54 patients suffering from puborectalis syndrome. They were randomized into two groups: a control group which included 27 patients who underwent partial division of puborectalis and an observation group which included 27 patients who received an improved surgical procedure (partial division of puborectalis plus rectal serosal gomphosis and lateral internal sphincterotomy). The total effective rate and recurrence rate were compared for the two groups.

RESULTS: After one year and a half, the total effective rate in the observation group was 92.6%, significantly higher than that in the control group (59.3%, $P < 0.05$). The recurrence rate in the observation group was 3.8%, significantly lower than that in control group (36%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The improved surgery has low recurrence rate and high safety.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Puborectalis; Improved surgery; Partial division of puborectalis

Wei W, Li RX, Shang XJ, Peng X. An improved surgical procedure for treatment of puborectalis syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 343-347 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/343.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.343

摘要

目的: 评价改良术式治疗耻骨直肠肌综合征(puborectalis syndrome, PRS)的临床效果.

方法: 将54例PRS患者随机分为对照组和观察组, 对照组27例采用耻骨直肠肌部分切除术, 观察组27例采用改良术式(耻骨直肠肌部分切除、直肠浆膜层嵌合术加肛门内括约肌侧方切除术), 对两组患者术后相关指标进行观察, 并进行统计学分析.

结果: 所有54例均随访1.5年. 术后1.5年, 观察组总有效率为92.6%, 明显优于对照组59.3%, 差异有统计学意义(P<0.05); 观察组复发率为3.8%, 明显低于对照组36%, 差异有统计学意义(P<0.05).

结论: 改良术式远期效果可靠, 复发率低, 安全性高.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 耻骨直肠肌; 改良术式; 耻骨直肠肌部分切除术

核心提示: 本研究在耻骨直肠肌综合征(puborectalis syndrome, PRS)的传统外科手术基础上进行改良, 并就两种手术方式进行比较研究,

■背景资料
耻骨直肠肌综合征(puborectalis syndrome, PRS)是一种排便障碍性疾病, 占所有便秘患者的8.2%. 其主要症状为排便过度用力, 排便时间延长, 甚至部分患者需要手法帮助排便. 目前认为其与老年性痴呆、结直肠癌、乳腺疾病、心源性猝死等多种疾病的发生相关, 严重影响患者的生活质量.

■同行评议者
于则利, 教授, 首都医科大学附属北京同仁医院外科

■研发前沿
PRS外科手术治疗以耻骨直肠肌部分切除术为主要术式. 临床观察发现, 该术式早期疗效满意, 远期疗效欠佳且复发率高. 因此, 探索一种远期效果可靠, 复发率低, 安全性高的手术方式成为医师们关注的重点.

结果显示改良手术远期效果可靠, 复发率低, 安全性高. 对以后该病的治疗提供了一个新的途径, 具有较好的临床指导意义.

魏巍, 李荣先, 尚秀娟, 彭昕. 改良术式治疗耻骨直肠肌综合征的疗效. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 343-347 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/343.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.343

0 引言

耻骨直肠肌综合征(puborectalis syndrome, PRS)由Wasserman[1](1964年)首先命名, 是一种功能障碍性疾病. 该病是以耻骨直肠肌痉挛性肥大, 致使盆底出口处梗阻为特征的排便障碍性疾病. 其主要症状为缓慢进行加重的排便困难, 排便过度用力, 排便时间过长, 每次达1-2 h, 便块细小, 便次频繁及有排便不净感. 部分患者排便时肛门或骶区疼痛, 精神常较紧张. 直肠指检可以发现患者肛管张力增高, 肛管明显延长, 耻骨直肠肌明显肥大、触痛, 有时有锐利边缘. 本病的治疗方法有很多种, 外科手术治疗以耻骨直肠肌部分切除术为主要术式. 临床观察发现, 该术式早期疗效满意, 远期疗效欠佳. Farid等[2]报道耻骨直肠肌部分切除术的复发率为33.4%. 为此, 河南省新乡市中心医院肛肠科采用改良术式(耻骨直肠肌部分切除、直肠浆膜层嵌合术加肛门内括约肌侧方切除术)治疗PRS, 经临床疗效观察, 远期疗效、复发率等指标均优于传统单纯耻骨直肠肌部分切除术. 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-07/2014-02在新乡市中心医院肛肠科就诊的54例PRS患者, 其中男45例, 女9例, 患者年龄19-73岁, 病史0.5-20.0年. 应用随机数字表将54例样本分为对照组和观察组. 对照组27例, 其中男22例, 女5例, 平均年龄为49.40岁±7.65岁; 观察组27例, 其中男23例, 女4例, 平均年龄为48.95岁±9.21岁. 两组患者在性别、年龄、病情及病程等一般资料方面差异无统计学意义(P>0.05). 所有患者均有进行性排便困难或排便时间延长等症状, 且术前均行直肠指诊、排粪造影检查和肛门直肠压力测定检查明确诊断为PRS. 除外并存的直肠前膨出、直肠黏膜内套叠等其他类型出口梗阻型便秘, 除外结直肠功能性疾病、动力障碍性疾病以及肿瘤引起的便秘, 同时排除精神性或内分泌性等系统性疾病引起的便秘. 两组患者进行肛门直肠压力测定时, 选取同时期无排便功能紊乱的健康志愿者20名为正常组进行对比.

■相关报道
目前多数学者行PRS的外科手术治疗大多采用耻骨直肠肌部分切除术为主要术式. Farid等报道耻骨直肠肌部分切除术的复发率为33.4%, 且在临床实践中发现该术式早期疗效满意, 远期疗效欠佳且复发率高.

1.2 方法

1.2.1 手术: 对照组及观察组患者均进行必要的全身和专科检查. 术前备皮, 术晨温肥皂水灌肠. 两组均采用硬膜外麻醉, 患者取折刀位. 对照组采用传统单纯耻骨直肠肌部分切除术. 手术步骤: (1)于尾骨尖至肛门缘连线处, 做一长约5 cm纵形切口; (2)术者左手食指伸入肛门内, 触及肠壁后方耻骨直肠肌, 将其顶向切口方向, 分离切口皮下组织并游离耻骨直肠肌; (3)弯钳挑起肌肉, 止血钳分别钳夹两侧游离部分, 切除中间宽约1.5 cm肌束, 断端缝扎止血; (4)逐层缝合切口. 观察组采用改良术式即耻骨直肠肌部分切除、直肠浆膜层嵌合术加肛门内括约肌侧方切除术. 手术步骤: (1)、(2)、(3)步同对照组; (4)将直肠浆膜层与同侧皮下组织间断缝合使之嵌合于肌肉环间缺损中, 同时包埋耻骨直肠肌断端于皮下组织, 隔离两侧肌肉断端; (5)于肛门3点或9点位(截石位), 在肛门缘外侧皮肤做约2 cm弧形切口, 于括约肌间沟处用弯钳挑出内括约肌, 组织剪剪断部分内括约肌并压迫止血; (6)缝合切口.

1.2.2 评价指标: (1)疗效评价: 对所有病例取术后早期(3 wk)及远期(1.5年)两个观察节点进行疗效观察, 观察指标为患者自觉症状、复查排粪造影以及术后肛门直肠压力测定结果. 疗效标准参考2007年中华医学会消化病学分会胃肠动力学组和外科学分会结直肠肛门外科学组制定的中国慢性便秘诊治指南[3]: (1)治愈: 症状消失, 排粪造影正常, 肛门直肠测压正常; (2)有效: 症状好转, 排粪造影好转, 肛门直肠测压好转; (3)无效: 症状无改善, 排粪造影无改善, 肛门直肠测压无改善. 术后并发症: (1)伤口疼痛: 参考世界卫生组织(World Health Organization, WHO)疼痛分级标准[4]: 0级: 无痛; 1级(轻度疼痛): 平卧时无疼痛, 翻身咳嗽时有轻度疼痛, 但可以忍受, 睡眠不受影响; 2级(中度疼痛): 静卧时痛, 翻身咳嗽时加剧, 不能忍受, 睡眠受干扰, 要求用镇痛药; 3级(重度疼痛): 静卧时疼痛剧烈, 不能忍受, 睡眠严重受干扰, 需要用镇痛药; (2)感染情况: 是否需要拆除缝线, 敞开伤口二期愈合. 住院时间: 记录每1例患者的住院时间及伤口愈合时间.

统计学处理 研究数据采用SPSS17.0统计学

表 1 术后3 wk肛门直肠压力测定结果 (mean ± SD)

分组	*n*	肛管静息压 (mmHg)	直肠静息压 (mmHg)	肛管最大收缩压 (mmHg)	肛管力排时压力 (mmHg)	直肠最大耐受容积 (mL)
观察组	27	50.4 ± 4.5	6.1 ± 2.2	108.0 ± 20.2	23.9 ± 7.6	159.9 ± 20.9
对照组	27	49.8 ± 8.7	4.9 ± 0.8	110.1 ± 10.4	24.5 ± 9.4	161.4 ± 18.9
正常组	20	48.2 ± 9.2	7.2 ± 4.3	110.4 ± 18.5	25.6 ± 8.4	163.7 ± 28.5

表 2 两组患者术后3 wk疗效比较 *n*(%)

分组	*n*	治愈	好转	无效	总有效率
观察组	27	14(51.85)	12(44.44)	1(3.70)	26(96.30)
对照组	27	15(55.56)	10(37.04)	2(7.41)	25(92.60)

表 3 术后1.5年肛门直肠压力测定结果 (mean ± SD)

分组	*n*	肛管静息压 (mmHg)	直肠静息压 (mmHg)	肛管最大收缩压 (mmHg)	肛管力排时压力 (mmHg)	直肠最大耐受容积 (mL)
观察组	27	51.3 ± 6.5[a]	7.5 ± 4.2[a]	108.2 ± 17.6[a]	25.8 ± 5.6[a]	145.7 ± 15.2
对照组	27	62.5 ± 10.2	12.3 ± 2.7	111.4 ± 8.8	38.1 ± 8.7	141.2 ± 20.1
正常组	20	50.3 ± 7.6	8.1 ± 2.1	108.7 ± 13.9	27.2 ± 6.5	159.2 ± 19.2

[a]$P<0.05$ *vs* 对照组.

软件处理. 统计学分析计量资料以mean±SD表示, 采用配对*t*检验. 计数资料用率(%)表示, 率的比较采用χ^2检验. 检验水准$\alpha = 0.05$, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 术后早期(3 wk)肛门直肠压力测定结果及疗效观察 观察组术后肛门直肠压力测定结果与对照组相比较, *t*检验显示两组间差异无统计学意义($P>0.05$), 与正常组肛门直肠压力测定结果相近似(表1). 术后观察组: 缓解26例(治愈14例, 有效12例), 无效1例, 总有效率96.3%. 对照组: 缓解25例(治愈15例, 有效10例), 无效2例, 总有效率92.6%. χ^2检验显示两组间差异无统计学意义($P>0.05$)(表2).

2.2 术后远期(1.5年)肛门直肠压力测定结果及疗效观察 观察组术后肛门直肠压力测定结果与对照组相比较, *t*检验显示两组间差异有统计学意义($P<0.05$), 观察组与正常组肛门直肠压力测定结果相近似(表3). 术后观察组: 缓解25例(治愈13例, 有效12例), 无效2例; 总有效率92.6%. 对照组: 缓解16例(治愈8例, 有效8例), 无效11例; 总有效率59.3%. χ^2检验显示两组间差异有统计学意义($P<0.05$), 观察组远期疗效明显优于对照组(表4).

2.3 两组复发率比较 我们将术后1.5年观察由缓解转变为无效的患者确定为复发. 两组复发率分别为3.8%和36.0%, χ^2检验显示两组复发率差异有统计学意义($P<0.05$), 观察组复发率明显低于对照组(表5).

2.4 两组术后并发症比较 以术后伤口疼痛及感染情况作为观察指标, χ^2检验显示两组间差异无统计学意义($P>0.05$)(表6).

2.5 两组住院时间及伤口愈合时间比较 平均住院时间观察组为9 d±3 d, 对照组为10 d±2 d, *t*检验显示两组间差异无统计学意义($P>0.05$). 伤口平均愈合时间观察组为11 d±2 d, 对照组为10 d±1 d, *t*检验显示两组间差异无统计学意义($P>0.05$).

3 讨论

PRS约占所有便秘患者的8.2%[5]. 其发病原因可能与感染、先天因素、排便困难或长期腹泻及泻剂的应用、医源性损伤、盆底痉挛、心理因素等有关[6,7]. 其病理生理机制尚未完全阐明, 可能为耻骨直肠肌肌纤维肥大、痉挛、瘢痕纤维

■创新盘点
本文在传统耻骨直肠肌部分切除术治疗PRS的基础上提出了改良手术, 并与传统手术在临床疗效、手术并发症等相关指标方面进行对比与探讨, 得出的结果有一定的临床参考价值.

■应用要点
本研究在PRS的外科手术治疗方面提高了远期临床疗效, 降低了术后复发率, 且手术并发症并未增加. 为PRS患者的治疗提供了一个新的途径, 具有一定的临床指导意义.

■名词解释
耻骨直肠肌：起自耻骨联合下部和邻近耻骨，向后下方延伸，绕过阴道或前列腺的外侧，于肛管直肠连接处的后方，左右二肌连合成U形，将肛管直肠连接部向前牵引形成肛直角．耻骨直肠肌放松，肛直角增大，帮助排便．耻骨直肠肌收缩，肛直角减小，帮助控便．

表 4 两组患者术后1.5年疗效比较 [n = 20, n(%)]

分组	治愈	好转	无效	总有效率
观察组	13(48.15)	12(44.44)	2(7.41)	25(92.60)[a]
对照组	8(29.63)	8(29.63)	11(40.74)	16(59.26)

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

表 5 两组患者术后1.5年复发情况 [n = 20, n(%)]

分组	缓解	复发	复发率(%)
观察组	26	1	3.8[a]
对照组	25	9	36.0

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

表 6 两组患者术后并发症比较 (n = 27)

分组	疼痛			感染	
	轻度	中度	重度	无	有
观察组	20	6	1	27	0
对照组	21	5	1	27	0

化．其结果导致耻骨直肠肌反常性收缩，在排便时肛管直肠环不能松弛，肛直角不能扩大，粪便不能排出[8-10]．PRS的内科治疗方法有很多种，而外科手术治疗仍以耻骨直肠肌部分切除术为主要术式．但临床观察发现，该术式早期疗效满意，远期疗效欠佳．其原因可能为：(1)PRS患者合并直肠黏膜内脱垂、直肠前突以及会阴下降等多种出口梗阻型便秘类型者，术中未同时处理；(2)术中切除肌束长度过短，引起术后肌束断端黏连，致症状复发；(3)滥用缓泻药物或灌肠，使直肠反射敏感性减弱，便意阈值提高，耻骨直肠肌和肛门内括约肌长期处于收缩甚至痉挛状态，术中仅切除耻骨直肠肌，而未处理肛门内括约肌；(4)感染或多次行肛管直肠、盆底手术，使耻骨直肠肌瘢痕化严重，如果切除瘢痕范围不够，疗效欠佳[11-14]．

我们在单纯耻骨直肠肌部分切除手术基础上增加了直肠浆膜层嵌合术，使直肠浆膜层嵌合于肌肉环间缺损中，同时包埋耻骨直肠肌断端于皮下组织，隔离两侧肌肉断端，防止其形成黏连再次压迫直肠．于切口拆线后每日适度扩肛，预防术后断端重新黏连，减低术后复发率[15]．针对大多数PRS患者合并有肛门内括约肌痉挛收缩，进一步给予肛门内括约肌切除术以改善患者术后排便症状．

本次研究结果显示，观察组采用改良术式治疗PRS患者与对照组疗效比较，术后1.5年观察组总有效率为92.6%，明显优于对照组59.3%．术后1.5年观察组复发率为3.8%，明显低于对照组36%．同时该改良术式手术步骤并不繁琐，与单纯耻骨直肠肌部分切除术相比，患者术后并发症发生率、住院时间以及伤口愈合时间并未明显增加．该术式为PRS患者的治疗提供了一个新的途径．但是我们对该术式的远期疗效观察最长仅达1.5年，且观察病例样本数尚少，下一步我们将增大样本量，延长随访时间，进行更深入地研究．

4 参考文献

1 Wasserman IF. Puborectalis syndrome (rectal stenosis due to anorectal spasm). *Dis Colon Rectum* 1964; 7: 87-98 [PMID: 14128302]

2 Farid M, Youssef T, Mahdy T, Omar W, Moneim HA, El Nakeeb A, Youssef M. Comparative study between botulinum toxin injection and partial division of puborectalis for treating anismus. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 327-334 [PMID: 19039596 DOI: 10.1007/s00384-008-0609-7]

3 中华医学会消化病分会胃肠动力学组，外科学分会结直肠肛门学组．中国慢性便秘的诊治标准．中华消化杂志 2007; 27: 619-622

4 中华医学会．临床诊疗指南•麻醉学分册．北京：人民卫生出版社，2007: 13-20

5 王李华，余耀生．耻骨直肠肌综合征．大肠肛门病外科杂志 1999; 5: 16

6 姜春英，管仲安．肛肠病新论．上海：上海第二军医大学出版社，2003: 117-119

7 Bremmer S, Mellgren A, Holmström B, López A, Udén R. Peritoneocele: visualization with defecography and peritoneography performed simultaneously. *Radiology* 1997; 202: 373-377 [PMID: 9015060]

8 熊坤林，龚水根，张伟国．耻骨直肠肌综合征的影像学诊断及临床意义．中华胃肠外科杂志 2006; 9: 498-501

9 Chiarioni G, Heymen S, Whitehead WE. Biofeedback therapy for dyssynergic defecation. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7069-7074 [PMID: 17131466 DOI: 10.3748/wjg.v12.i44.7069]

10 Wang J, Luo MH, Qi QH, Dong ZL. Prospective study of biofeedback retraining in patients with chronic idiopathic functional constipation. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2109-2113 [PMID: 12970917 DOI: 10.1371/journal.pone.0087882]

11 刘宝华. 出口梗阻型便秘的外科治疗. 医学新知杂志 2007; 17: 195-196
12 黄乃健. 中国肛肠病学. 济南: 山东科学技术出版社, 1996: 1008-1010
13 Dykes S, Smilgin-Humphreys S, Bass C. Chronic idiopathic constipation: a psychological enquiry. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 39-44 [PMID: 11204807 DOI: 10.1002/cncr.11445]
14 喻德洪. 现代肛肠外科学. 北京: 人民军医出版社, 1997: 477-480
15 蔡建, 魏东, 葛雪燕, 高春芳. 耻骨直肠肌综合征两种手术方法疗效比较. 实用医药杂志 2010; 27: 396-397

■同行评价
本文的科学性、创新性及可读性可以较好地反映该医疗中心诊疗PRS的较先进的临床水平. 可持续开展该项工作, 做进一步的随访研究.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 348-352
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

封闭式负压引流技术治疗Fournier坏疽的临床疗效

徐小平, 蔡晓辉, 张 磊, 李晓华, 刘兆辉, 潘 渊, 陈 冬

■背景资料
目前, 在我国, 封闭式负压引流技术主要运用在骨科、手足外伤感染、皮肤烧伤等, 而肛肠科的运用国内普遍尚未开展.

徐小平, 蔡晓辉, 张磊, 李晓华, 刘兆辉, 潘渊, 陈冬, 杭州师范大学医学院附属余杭医院肛肠科 浙江省杭州市 311100
徐小平, 主治医师, 主要从事肛肠疾病的临床研究.
杭州市余杭区科技局重点基金资助项目, No. 2013-004
作者贡献分布: 此课题由蔡晓辉负责整个课题的实施; 由徐小平进行课题设计、资料统计并撰写论文; 由张磊与李晓华负责临床指导和观察; 由刘兆辉与潘渊负责临床观察及资料统计; 由陈冬负责资料收集及统计.
通讯作者: 徐小平, 主治医师, 311100, 浙江省杭州市余杭区南苑街道迎宾路369号, 杭州师范大学医学院附属余杭医院肛肠科. xuxiaoping800307@163.com
电话: 0571-86399156
收稿日期: 2014-10-09 修回日期: 2014-11-10
接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2015-01-18

Clinical efficacy of vacuum-sealing drainage in treatment of Fournier's gangrene

Xiao-Ping Xu, Xiao-Hui Cai, Lei Zhang, Xiao-Hua Li, Zhao-Hui Liu, Yuan Pan, Dong Chen

Xiao-Ping Xu, Xiao-Hui Cai, Lei Zhang, Xiao-Hua Li, Zhao-Hui Liu, Yuan Pan, Dong Chen, Department of Anorectal Medicine, Yuhang Hospital Affiliated to Medical College of Hangzhou Normal University, Hangzhou 311100, Zhejiang Province, China
Supported by: the Major Fund of Science and Technology Bureau of Yuhang District, Hangzhou City, No. 2013-004
Correspondence to: Xiao-Ping Xu, Attending Physician, Department of Anorectal Medicine, Yuhang Hospital Affiliated to Medical College of Hangzhou Normal University, 369 Yingbin Road, Nanyuan Street, Yuhang District, Hangzhou 311100, Zhejiang Province, China. xuxiaoping800307@163.com
Received: 2014-10-09 Revised: 2014-11-10
Accepted: 2014-11-18 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To assess the clinical effects of vacuum-sealing drainage technology in the treatment of Fournier's gangrene.

METHODS: Forty patients with Fournier's gangrene treated from September 2013 to September 2014 at our hospital were randomly divided into either an observation group or a control group. The observation group was treated by vacuum-sealing drainage, and the control group was treated by conventional debridement. Fournier's gangrene severity index (FGSI), debridement frequency, time to body temperature recovery, healing situation and hospitalization time were compared for the two groups.

RESULTS: FGSI on days 7 and 14 after treatment was significantly lower in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). The average debridement times in the observation group was 3.8, significantly less than that in the control group ($P < 0.05$). Body temperature recovery was faster in the observation group ($P < 0.05$). All the 20 patients in the observation group were cured, including 17 cases of wound healing after secondary suture under local anesthesia and 3 cases of healing after inguinal flap grafting. Sixteen patients in the control group were cured, and 4 cases died. The hospitalization time was significantly shorter in the observation group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Vacuum-sealing drainage is an effective method for the treatment of Fournier's gangrene.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Vacuum-sealing drainage; Fournier's gangrene; Clinical efficacy

Xu XP, Cai XH, Zhang L, Li XH, Liu ZH, Pan Y, Chen D. Clinical efficacy of vacuum-sealing drainage in treatment of Fournier's gangrene. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 348-352 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/348.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.348

摘要

目的: 观察应用封闭式负压引流技术治疗Fournier坏疽的临床效果.

方法: 选取杭州师范大学医学院附属余杭医院2013-09/2014-09收治的40例坏疽患者作为研究对象, 将其随机分作观察组20例与对照组20例, 观察组予以封闭式负压引流技术进行治疗, 对照组予以常规外科清创的治疗, 比较两组患者的Fournier坏疽严重程度指数(Fournier's gangrene severity index, FGSI)、清创次数、体温恢复时间、治愈情况及住院时间.

■同行评议者
任浩, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学微生物学教研室

结果: 治疗后7、14 d观察组FGSI均较对照组低(P<0.05), 观察组平均清创次数为3.8次, 明显少于对照组, 且观察组体温恢复早于对照组, 观察组20例患者均治愈, 其中17例创口局麻下行二期缝合后愈合, 3例行腹股沟皮瓣转移后愈合, 对照组16例治愈出院, 4例死亡; 观察组平均住院时间明显较对照组短(P<0.05).

结论: 封闭式负压引流技术是治疗Fournier坏疽的一种有效方法, 值得临床推广.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 封闭式负压引流; Fournier坏疽; 临床效果

核心提示: 在彻底清创后配合使用封闭式负压引流技术是治疗Fournier坏疽的一种有效的方法. 封闭负压引流技术使创口的引流更加彻底, 促进伤口的愈合及新生肉芽组织的生长.

徐小平, 蔡晓辉, 张磊, 李晓华, 刘兆辉, 潘渊, 陈冬. 封闭式负压引流技术治疗Fournier坏疽的临床疗效. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 348-352 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/348.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.348

0 引言

Fournier坏疽(Fournier's gangrene, FG)是一种发生在会阴、腹股沟和生殖器软组织为主的多部位、大范围暴发性感染, 在男性常累及阴囊及阴茎, 在女性常累及外阴, 最终可导致脓毒血症、多器官功能衰竭. 常见的原因是结直肠疾病及泌尿生殖系统疾病. 他是一种致命性、进行性发展的感染性疾病[1]. 由于发病初期常被忽视, 死亡率高达15%-50%, 又称之为爆发性阴囊坏疽[2]. 现将杭州师范大学医学院附属余杭医院肛肠科2013-09/2014-09收治的40例FG患者的临床资料进行前瞻性研究, 报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 研究对象为杭州师范大学医学院附属余杭医院2013-09/2014-09收治的40例FG坏疽患者, 均为男性, 年龄46-57岁, 原发病为肛周脓肿, 表现为肛周前位肿胀, 前位肛窦处可见明显内口, 可见脓液溢出, 恶臭, 会阴部红肿胀痛, 局部筋膜组织坏死, 阴囊皮肤坏死, 睾丸外露, 触诊可及捻发音. 其中8例有既往Ⅱ型糖尿病病史; 7例主诉平素体健, 但是入院后确诊Ⅱ型糖尿病; 3例有银屑病病史, 2例有尿毒症病史. 发病时正服用糖皮质激素. 发病至就诊时间为3-7 d. 术后病理为软组织慢性化脓性炎或片状炎性坏死纤维组织, 大量中性粒细胞浸润. 分泌物培养为26例大肠埃希杆菌, 14例阴沟肠杆菌. 将上述患者随机分作观察组20例与对照组20例, 在年龄、病症等基本方面, 两组患者无统计学差异(P>0.05), 具有可比性. 负压封闭引流技术(vacuum sealing drainage, VSD)材料: 武汉维斯第医用科技有限公司生产的一次性使用负压引流专用敷料. 成分为聚乙烯乙醇水化海藻盐, 内有多侧孔引流管; 英国施乐辉公司生产的具有分子阀功能的生物半透性薄膜; Y型连接头.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 治疗组: 入院后立即完善术前准备, 控制血糖, 维持水电解质平衡及酸碱平衡, 行手术治疗, 根据病变范围多处切开皮肤及各种筋膜组织, 尽可能清除坏死组织并引流脓液, 以大量双氧水、甲硝唑及生理盐水反复冲洗创面. 于会阴部距肛缘前位2 cm处横断缝合封闭肛缘与会阴部创口, 肛周创面依常规肛周脓肿手术方法敞开通畅引流, 会阴及阴囊部根据创面大小剪裁VSD敷料, 覆盖或填充清创后形成的创面和腔隙, 敷料与创缘皮肤连接处用丝线间断缝合, 引流管从距创缘2 cm正常皮肤处引出, 在VSD敷料外覆盖生物半透薄膜, 将引流管用Y型管与中心负压相连接, 调节负压60-80 kPa(125-450 mmHg)之间, 持续24 h负压吸引. 术后予哌拉西林他唑吧坦针抗感染, 根据药敏调整; 控制血糖及其他基础治疗. 3-5 d拆除敷料. 对照组治疗: 患者入院后即刻予以广泛清创引流, 完全清除坏死的皮肤、组织以及深筋膜, 术后多个切口引流, 二期进行切口缝合, 放入碘伏纱布引流条, 且置入多侧孔硅胶导管, 以3%双氧水、0.2%甲硝唑溶液以及生理盐水冲洗创面, 以庆大霉素与0.2%的高锰酸钾溶液冷湿敷于创面处, 每天换药1-2次.

1.2.2 观察指标: 清创次数, 体温恢复正常所需时间, 根据血常规相关参数、血钠浓度、血钾浓度、血肌酐、血碳酸氢根浓度、体温、心率、呼吸频率评估FG严重程度指数(Fournier's gangrene severity index, FGSI)评分.

统计学处理 所获得数据采用SPSS17.0统计软件包进行分析处理, 组间计数资料的对比采用χ^2检验, 计量资料的比较采用t检验, 以P<0.05

■研发前沿
患者初期对于本病的风险认识不足可能是导致预后不佳的重要原因, 需要医生足够高的重视及于患者良好的沟通. 早期大剂量联合应用有效抗生素及彻底清创、充分引流是手术成功的关键.

■相关报道
毛艳群等通过对10例阴囊坏疽患者行手术清创并使用负压封闭引流技术(vacuum sealing drainage, VSD)护理的回顾分析得出: 封闭式负压引流技术可减少阴囊坏疽患者的伤口换药次数, 促进伤口愈合. 张瀚等也指出: 在清创后配合使用封闭式负压引流技术能够明显缩短治疗时间, 减少换药次数, 而且简单易行, 值得推广.

■创新盘点
由于肛门部创口容易导致漏气及污染，我们在彻底清创后在会阴部靠近肛缘处缝合，人为地将创面分为两部分：一部分为肛周脓肿创口，常规敞开引流；一部分为会阴部及阴囊创面，填塞覆盖VSD敷料，覆盖生物半透膜时最好将整个阴囊覆盖，防止漏气. 这样使两者都得到了良好的愈合环境.

■应用要点
对尚未找到确切原因的阴囊疼痛以及肿胀患者，注意患者是否存在全身性疾病，尤其是艾滋病、高龄患者、糖尿病、使用激素等免疫力低下患者，应当注意考虑是否是Fournier坏疽.

为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 比较两组治疗前与治疗后的FGSI 治疗前观察组与对照组的FGSI基本相近，差异无统计学意义(P>0.05)，治疗后7、14 d观察组FGSI均较对照组低(P<0.05)(表1).

2.2 两组患者清创次数与体温恢复时间的比较 观察组平均清创次数为3.8次，明显少于对照组(4.5次，t = 4.687，P<0.05)；且观察组体温恢复时间(6.2 d)早于对照组(8.5 d，t = 5.321，P<0.05).

2.3 比较两组患者的治愈情况及住院时间 观察组：20例患者拆除敷料后创面均可见鲜红肉芽组织，其中17例创口局麻下行二期缝合后愈合满意，3例创面皮肤缺损太大而行腹股沟皮瓣转移后愈合. 肛周脓肿创面按常规换药而愈合；总住院时间15-31 d，平均住院为21 d±1.9 d. 对照组：16例患者清创后4 wk创面肉芽组织生长良好，以自体健康皮肤予以二期缝合后恢复出院，4例因坏死面积过大，接受多次清创手术后，感染迅速蔓延至下肢以及腹壁，积极治疗后无效死亡. 对比两组患者的治愈情况及住院时间(表2).

表 1 比较两组治疗前与治疗后的FGSI

分组	治疗前	治疗后7 d	治疗后14 d
观察组	5.7	4.3	3.0
对照组	5.6	5.0	4.5
t值	0.681	5.322	4.698
P值	>0.05	<0.05	<0.05

FGSI: Fournier坏疽严重程度指数.

表 2 比较两组患者的治愈情况及住院时间 (n = 20)

分组	治愈n(%)	死亡n(%)	住院时间(d)
观察组	20(100.0)	0(0.0)	21 ± 1.9
对照组	16(80.0)	4(20.0)	32 ± 2.8
χ^2/t值	5.362	4.305	6.301
P值	<0.05	<0.05	<0.05

3 讨论

法国性病学家Fournier于1883年对此类疾病进行了归纳和总结，将其描述为一种健康青年男性生殖区皮肤、皮下组织的病因不明、突然发作并快速进展至坏疽的感染性病变，从此便将此类疾病称为FG[2]. FG为一类罕见且严重的阴囊感染坏死性炎症，普遍为需氧细菌与厌氧细菌的混合感染，皮下组织受到细菌侵袭后使得浅筋膜层受累，扩散范围一般会波及阴囊、阴经、腹股沟、腹部皮下组织以及肛周，且浅筋膜、深筋膜、全层皮肤以及肌肉组织等也会受到侵入，死亡率高至60%. 该疾病在大多数情况下为一类厌氧菌感染所致，在机体免疫系统防御能力减退时，条件致病菌同样也会引发该病，也有可能是因为混合细菌感染导致. 大多数FG患者的病因基本明确，约有13%-50%的患者由于结直肠，17%-87%的患者因泌尿生殖系统感染，还有一些患者因局部受创感染或者皮下组织感染造成，此外，有文献报道因包皮环切手术后出现FG. 本病的病因尚未完全阐明，常由肛门直肠脓肿、泌尿生殖道感染和外伤引起. 现有研究[3,4]表明，任何削弱免疫系统的疾病均有助于本病的进展. 一些全身性疾病如糖尿病、慢性酒精中毒、肾衰竭、艾滋病、慢性肝病、长期类固醇治疗、肿瘤、化疗和放疗、免疫抑制、营养不良、药物滥用等均为本病的易患因素. 其中，糖尿病为首要全身易感因素[5,6]. 在本组病例当中上述观点得到了充分的体现. 肛肠科收治的此3例均由肛周脓肿引起，可能与专科分诊有关.

FG常是需氧菌和厌氧菌混合感染：主要有链球菌、葡萄球菌、消化道链球菌属、类杆菌属、梭状芽孢杆菌、念珠菌等，分离出的最常见的微生物是大肠杆菌，发生率高达95%[7]. 这些细菌是胃肠道正常寄生菌群的一部分，当易感因素存在或者皮肤病变时成为致病菌. Cakmak等[7]研究发现男性患者最常见病因是痔切除术后，女性则多见肛周脓肿. 另一组报道45例FG患者中最常见的病因是继发于阴囊感染及血栓性外痔的肛周脓肿. 本病大多数情况下，能够分离出2种以上细菌. 在本组3例FG病例虽未检测出多种细菌，但以上其他特点均有明显体现，治疗中注意检查并消除上述诱因，对于防范及诊断FG是有重要意义. FG的临床表现从无明显皮肤坏死的会阴区域疼痛，到感染部位皮肤和软组织的迅速坏死、蔓延，最终到全身脓毒血症和多器官衰竭，整个病程进展迅速，死亡率极高[8-10].

主要依据临床症状表现以诊断FG，对尚未找到确切原因的阴囊疼痛以及肿胀患者，注意患者是否存在全身性疾病，尤其是艾滋病、高

龄患者、糖尿病、使用激素等免疫力低下患者, 应当注意考虑是否是FG. 同时应当积极检查有无肛周以及生殖器感染性疾病等原发性感染病灶. 触诊进行局部体格检查时患者触痛感显著, 拒按, 且有波动, 然而透光检验一般呈阴性, 偶尔会听到捻发的声音. 予以X线检查, 会观察到坏死组织周围、侧腹部软组织以及盆内有气体, 针对全部的阴囊肿胀, 应当采用阴囊超声波进行扫描检查, 可在发作初期诊断FG. 为了明确诊断, 如有必要, 可实行血培养. 因该病发作急、演变快, 早期诊断有一定的难度, 常常在医治时就已经广泛扩散, 病情急重. 依据现有报道, FG暂无确切的分期, 我们主张参考临床烧伤的分期, 可将FG分作感染期以及修复期. 同时感染期可分作初期(病情发作后1 wk内)、中期(病情发作后2-4 wk内)、后期(病情发作超过1 mo). 感染初期局部组织毛细血管扩增, 增大了通透性, 许多蛋白含量丰富的血浆液体由血液循环向组织间隙渗入, 导致组织间隙出现水肿, 局部压力急剧增大, 血管内有血栓产生, 引起局部组织代谢受阻以及缺血, 再加上细菌释放的各种蛋白酶类降解组织, 导致大量局部液体渗出, 坏死组织以及渗出液体为细菌生长繁殖提供了有利机会, 抗感染药物、白细胞以及各类抗体等增强机体免疫力的因素无法有效到达病灶, 进一步为细菌的增殖提供例良好机会. 中期以及晚期和患者机体免疫力下降程度大有关, 创面通常会长久未得到愈合. 现今提倡预防感染坏死组织以及毒素的吸收, 减少治疗时间, 降低并发症, 加快恢复器官功能. 我们认为, 患者初期对于本病的风险认识不足可能是导致预后不佳的重要原因, 需要医生足够高的重视及于患者良好的沟通. 早期大剂量联合应用有效抗生素及彻底清创、充分引流是手术成功的关键. 本组3例患者疗效满意也得益于此.

填补软组织或者皮肤缺损的创面的敷料为乙烯乙醇聚合物的海藻盐泡沫, 其内包含有引流管, 然后再使用生物半透膜封闭创面, 使之形成密闭空间, 后将引流管相连于负压源, 借助可控性负压促使创面愈合的新型治疗途径即为VSD技术. 多篇文献[11-13]指出VSD技术可明显缩短患者创面的愈合时间, 尤其是对于慢性难愈创面具有显著的临床疗效. 其作用原理为高负压经过引流管传递到医用泡沫, 且均匀分布在医用泡沫表面, 医用泡沫覆盖在创面上, 使负压能够到达每一点, 形成全方位的引流, 使引流区可达到渗出物和坏死组织“零集聚”, 并使传统的被动引流变为主动引流, 创面能很快获得清洁环境[14]. 其作用机制为: (1)负压能够吸引创面组织间的水分, 减少水肿; (2)负压能够使创面的血流增加, 促进肉芽组织形成; (3)负压能够在短时间内清除伤口内的细菌; (4)负压能够增加组织张力刺激肉芽组织形成; (5)负压能够刺激修复的启动信号. 从而促进创面肉芽组织生长, 加快创面的愈合及二期手术打下良好的基础[15]. 由于肛门部创口容易导致漏气及污染, 我们在彻底清创后在会阴部靠近肛缘处缝合, 人为地将创面分为两部分: 一部分为肛周脓肿创口, 常规敞开引流; 一部分为会阴部及阴囊创面, 填塞覆盖VSD敷料, 覆盖生物半透膜时最好将整个阴囊覆盖, 防止漏气. 这样使两者都得到了良好的愈合环境.

总之, 在彻底清创后配合使用封闭式负压引流技术是治疗FG的一种有效的方法. 封闭负压引流技术使创口的引流更加彻底, 促进伤口的愈合及新生肉芽组织的生长, 此种方法简单易行, 疗效可靠, 值得在临床推广. 由于本病发病率低, 收治病例有限, 无法与常规敞开引流术进行统计学上的对比. 多中心大样本的研究, 是我们今后努力的方向之一.

■**名词解释**
负压封闭引流技术(VSD): 是以乙烯乙醇聚合物的海藻盐泡沫为敷料(其内包含有引流管), 填补软组织或者皮肤缺损的创面, 然后再使用生物半透膜封闭创面, 使之形成密闭空间, 后将引流管相连于负压源, 借助可控性负压促使创面愈合的新型治疗途径.

4 参考文献

1 Zaba R, Grzybowski A, Prokop J, Zaba Z, Zaba C. Fournier's gangrene: historical survey, current status, and case description. *Med Sci Monit* 2009; 15: CS34-CS39 [PMID: 19179975]

2 Eke N. Fournier's gangrene: a review of 1726 cases. *Br J Surg* 2000; 87: 718-728 [PMID: 10848848 DOI: 10.1046/j.1365-2168.2000.01497.x]

3 Czymek R, Hildebrand P, Kleemann M, Roblick U, Hoffmann M, Jungbluth T, Bürk C, Bruch HP, Kujath P. New insights into the epidemiology and etiology of Fournier's gangrene: a review of 33 patients. *Infection* 2009; 37: 306-312 [PMID: 19629386 DOI: 10.1007/s15010-008-8169-x]

4 Ersay A, Yilmaz G, Akgun Y, Celik Y. Factors affecting mortality of Fournier's gangrene: review of 70 patients. *ANZ J Surg* 2007; 77: 43-48 [PMID: 17295820 DOI: 10.1111/j.1445-2197.2006.03975.x]

5 吴瑶, 刘连成. Fournier坏疽诊治体会. 结直肠肛门外科 2011; 17: 33-35

6 朱晓东, 丁飞, 王国栋, 郑安, 田野. 关于弗尔涅坏疽预后因子的探讨(附15例报告). 临床泌尿外科杂志 2014; 29: 813-816

7 Cakmak A, Genç V, Akyol C, Kayaoğlu HA, Hazinedaroğlu SM. Fournier's gangrene: is it scrotal gangrene? *Adv Ther* 2008; 25: 1065-1074 [PMID: 18821069 DOI: 10.1007/s12325-008-0103-1]

8 崔蓬. Fournier坏疽5例报告并文献复习. 中华普通外

■同行评价
本研究内容实用，结果可靠，有一定的参考价值.

科学文献(电子版) 2010; 5: 332-334
9 格桑次登, 李新 , 李少勇, 陈丹, 潘进洪, 熊恩庆, 宋波, 周占松. Fournier坏疽的解剖学基础及其临床意义. 局解手术学杂志 2012; 21: 281-282
10 邢荣威, 王元利. Fournier坏疽五例报告. 中华泌尿外科杂志 2000; 21: 245-247
11 丘明志, 贲吕金, 陈坚. 封闭式负压引流治疗慢性难愈创面的临床分析. 中国医药指南 2014; 12: 180-181
12 毛艳群, 周小宁, 李凝香. 封闭式负压引流技术在阴囊坏疽护理中的应用. 护士进修杂志 2014; 29: 77-78
13 张瀚, 王胜, 张清桂. 封闭式负压引流技术辅助治疗阴囊坏疽体会(附8例报告). 岭南现代临床外科 2012; 12: 69-70
14 裘华德. 负压封闭引流技术. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 24-27
15 陈少全, 陈木龙, 王烈. 封闭式负压引流的基础研究与临床应用. 临床外科杂志 2008; 16: 495-496

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 353-357
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

序贯疗法与含左氧氟沙星四联疗法在首次根除幽门螺杆菌失败后补救治疗的疗效比较

王俊先, 李 诚, 王爱平, 程龙生, 刘 隽, 杨彩虹, 武良琴, 刁 磊, 季巍巍, 陆在华

王俊先, 李诚, 王爱平, 程龙生, 刘隽, 杨彩虹, 武良琴, 刁磊, 季巍巍, 安徽省第二人民医院消化内科 安徽省合肥市 230011
陆在华, 安徽省第二人民医院内镜中心 安徽省合肥市 230011
王俊先, 主治医师, 主要从事幽门螺杆菌感染与胃癌多药耐药的研究.
作者贡献分布: 本课题思路由王俊先、李诚及杨彩虹设计; 数据收集由王俊先、李诚、王爱平、程龙生、刘隽、杨彩虹、武良琴、刁磊、季巍巍及陆在华等共同完成; 论文撰写由王俊先完成.
通讯作者: 王俊先, 主治医师, 230011, 安徽省合肥市北二环砀山路1868号, 安徽省第二人民医院消化内科.
ahwjx168@sina.com
电话: 0551-64286030
收稿日期: 2014-09-30 修回日期: 2014-11-15
接受日期: 2014-11-19 在线出版日期: 2015-01-18

Clinical effects of sequential treatment *vs* quadruple levofloxacin-containing therapy as rescue therapy for first failure of *Helicobacter pylori* eradication

Jun-Xian Wang, Cheng Li, Ai-Ping Wang, Long-Sheng Cheng, Juan Liu, Cai-Hong Yang, Liang-Qin Wu, Lei Diao, Wei-Wei Ji, Zai-Hua Lu

Jun-Xian Wang, Cheng Li, Ai-Ping Wang, Long-Sheng Cheng, Juan Liu, Cai-Hong Yang, Liang-Qin Wu, Lei Diao, Wei-Wei Ji, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Anhui Province, Hefei 230011, Anhui Province, China
Zai-Hua Lu, Endoscopy Center, the Second People's Hospital of Anhui Province, Hefei 230011, Anhui Province, China
Correspondence to: Jun-Xian Wang, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Anhui Province, 1868 Dangshan Road, North Erhuan, Hefei 230011, Anhui Province, China. ahwjx168@sina.com
Received: 2014-09-30 Revised: 2014-11-15
Accepted: 2014-11-19 Published online: 2015-01-18

Abstract

AIM: To compare the rate of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) eradication between sequential therapy *vs* conventional levofloxacin containing quadruple therapy for patients with first failure of *H. pylori* eradication.

METHODS: From September 2010 to May 2014, 167 patients with first failure of *H. pylori* eradication were enrolled and randomly divided into two groups. Patients in the sequential treatment group received 10-day sequential therapy: rabeprazole (10 mg, twice a day) plus amoxicillin (1000 mg, twice a day) for the first five days, followed by rabeprazole (10 mg, twice a day), clarithromycin (500 mg, twice a day) and ornidazole (500 mg, twice a day) for another five days. Patients in the quadruple therapy group were administrated rabeprazole (10 mg, twice a day), amoxicillin (1000 mg, twice a day), bismuth potassium citrate (300 mg, twice a day) and levofloxacin (200 mg, twice a day) for 12 d. Clinical effects and adverse effects were compared for the two groups.

RESULTS: Four weeks after the end of treatment, ^{14}C-urea breath test (^{14}C-UBT) was performed again to assess *H. pylori* eradication status. The eradication rates in the sequential treatment group were 77.92% by per-protocol (PP) analysis and 70.6% by intention-to-treat (ITT) analysis, and the corresponding percentages in the quadruple therapy group were 84.72% and 74.4%, respectively. There was no significant difference in the eradication rates between the two groups (PP analysis: 60/77 *vs* 61/72, $\chi^2 = 1.127$, $P = 0.288$. ITT analysis: 60/85 *vs* 61/82, $\chi^2 = 0.302$, $P = 0.582$). There was also no significant difference in the rate of adverse effects between the two groups [11.7% (9/77) *vs* 14.7% (11/75), $\chi^2 = 0.295$, $P = 0.587$].

CONCLUSION: Sequential therapy and conventional levofloxacin containing quadruple therapy have comparable clinical effects, and neither of them are recommended as the preferred remedial option for patients with first failure of *H. pylori* eradication.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Sequential therapy;

■**背景资料**
随着抗幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)药物的应用增多, *H. pylori*耐药率逐渐增多, 如何提高首次*H. pylori*根除失败者再根除的成功率, 成为目前消化科医生迫切需要解决的问题.

■**同行评议者**
沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

■研发前沿
越来越多的证据表明，*H. pylori*的耐药率逐渐增加，且耐药谱也在发生不断的变化．寻找更合适的*H. pylori*根除方案已成为现在临床医生研究的热点．

Quadruple therapy; Rescue eradication

Wang JX, Li C, Wang AP, Cheng LS, Liu J, Yang CH, Wu LQ, Diao L, Ji WW, Lu ZH. Clinical effects of sequential treatment *vs* quadruple levofloxacin-containing therapy as rescue therapy for first failure of *Helicobacter pylori* eradication. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 353-357 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/353.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.353

摘要

目的: 观察对比序贯疗法及含左氧氟沙星的四联疗法对首次根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)失败患者行补救根除时的疗效.

方法: 自2010-09/2014-05共收集首次根除失败的*H. pylori*感染患者167例. 随机分为2组, 序贯治疗组共85例, 四联治疗组82例. 序贯治疗方法为: 前5天予以雷贝拉唑10 mg, 2次/d; 阿莫西林胶囊1000 mg, 2次/d; 后5天予以雷贝拉唑10 mg, 口服2次/d; 克拉霉素分散片500 mg, 2次/d; 奥硝唑片0.5 g, 2次/d. 四联治疗方法为: 雷贝拉唑10 mg, 2次/d; 枸橼酸铋钾胶囊300 mg, 2次/d; 左氧氟沙星片0.2 g, 2次/d; 阿莫西林1000 mg, 2次/d. 四联药物共服药12 d. 观察患者在治疗期间的药物不良反应.

结果: 治疗结束后1 mo复查^{14}C呼气试验, 共有152例患者随访成功. 序贯治疗组有77例随访成功, 60例为阴性, 符合方案集(per-protocol, PP)分析根除率为77.92%, 意向性治疗原则(intention-to-treat, ITT)分析根除率为70.6%. 四联治疗组随访成功的75例, 有3例发生严重不良反应而退出试验. 72中有61例为阴性, PP分析根除率为84.72%, ITT分析根除率为74.4%. 两组PP分析根除率及ITT根除率均无统计学差异(60/77与61/72, χ^2 = 1.127, P = 0.288; 60/85与61/82, χ^2 = 0.302, P = 0.582). 序贯治疗组随访的77例共有9例出现不良反应, 不良反应发生率为11.7%. 四联治疗组随访的75例中, 有11例发生不良反应, 不良反应发生率分别为14.7%. 两组不良反应发生率差异无统计学意义(χ^2 = 0.295, P = 0.587).

结论: 四联疗法及序贯疗法在对于首次*H. pylori*根除失败后再根除时的疗效无显著性差异. 不推荐将两种疗法作为*H. pylori*的补救根治首选方案.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 幽门螺杆菌; 序贯疗法; 四联疗法; 补救根除

■相关报道
黄晓曦等研究发现序贯疗法对于*H. pylori*根除率可达90%以上，但也有文献研究认为序贯疗法不适合中国*H. pylori*根除的国情．

核心提示: 大量的文献研究认为, 序贯疗法对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的根除率较高, 可以作为*H. pylori*根除的一线方案. 本文作者认为, 序贯疗法对于首次*H. pylori*根除失败者不应用作为*H. pylori*再根除时的一线方案.

王俊先, 李诚, 王爱平, 程龙生, 刘隽, 杨彩虹, 武良琴, 刁磊, 季巍巍, 陆在华. 序贯疗法与含左氧氟沙星四联疗法在首次根除幽门螺杆菌失败后补救治疗的疗效比较. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 353-357 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/353.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.353

0 引言

自从澳大利亚两位医生Marshall和Warren发现幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)以来, *H. pylori*已被充分证实与慢性胃炎、胃癌、消化性溃疡及胃黏膜相关淋巴瘤等疾病密切相关. 我国2012年井冈山共识意见明确建议10余类需要行*H. pylori*根除治疗的适应证[1]. 但是随着抗菌药物的广泛应用, *H. pylori*耐药性逐渐上升. 对于首次根除*H. pylori*失败的患者, 如何提高再次根除的成功率, 成为现在消化科医生迫切需要解决的问题. 我们对近3年在安徽省第二人民医院就诊、体检且为首次*H. pylori*根除失败的病例进行收集, 结合相关文献, 随机给予序贯疗法或含左氧氟沙星的四联疗法进行补救根除, 观察以上治疗方案对首次根除*H. pylori*失败患者行第二次根除时的疗效.

1 材料和方法

1.1 材料 自2010-09/2014-05我们共收集已行首次*H. pylori*根治后经^{14}C呼气试验证实仍为阳性的*H. pylori*感染患者209例. 排除以下情况: (1)胃镜检查有胃黏膜中度以上不典型增生者、恶变者; (2)年龄>65岁上的高龄患者及19岁以下患者; (3)孕妇、哺乳期妇女; (4)有胃手术史者; (5)对试验相关药物过敏者; (6)治疗前4 wk接受其他抗菌药物治疗者及服用过质子泵抑制剂或H2受体阻断剂药物者; (7)有较严重的基础疾病者; (8)有精神症状者; (9)长期服用非甾体类消炎镇痛药或糖皮质激素者; (10)拒绝在安徽省第二人民医院进一步治疗的病例. 共有167例患者纳入观察, 对其中142例患者予以行内镜检查证实有胃黏膜不同程度的炎症、萎缩、糜烂或溃疡, 另有25例患者拒绝复查胃镜直接要求行*H. pylori*再根除. 其年龄19-65岁, 平均年龄为39.33

表 1 两种方案补救治疗情况

分组	*n*	随访(*n*)	根除结果		PP根除率(%)	ITT根除率(%)	不良反应(*n*)
			阴性	阳性			
序贯组	85	77	60	17	77.92	70.60	9
四联组	82	75	61	11	84.72	74.40	11
*P*值					0.288	0.582	0.587

PP: 符合方案集; ITT: 意向性治疗原则.

■创新盘点
本文对含左氧氟沙星的四联疗法对首次根除*H. pylori*失败者再根除的治疗效果进行观察, 并对序贯疗法的疗效进行观察, 将两者的疗效进行比较.

岁. 男94例, 女73例. 每例参与治疗的患者均告知*H. pylori*根除的意义、可能的失败率、药物的可能不良反应及复诊的必要性, 并签署知情同意书. 以电脑编号随机分组, 其中序贯治疗组85例, 四联治疗组82例. 雷贝拉唑(江苏济川药业), 阿莫西林胶囊(珠海联邦制药), 克拉霉素分散片(南京瑞尔制药), 奥硝唑片(四川百利制药), 雷贝拉唑(江苏济川药业), 枸橼酸铋钾胶囊(苏州东瑞制药), 左氧氟沙星片(河南天方制药).

1.2 方法

1.2.1 治疗: 随机将病例分为2组, 即序贯疗法治疗组及四联疗法治疗组. 序贯治疗组给药方法为: 前5 d予以雷贝拉唑10 mg, 饭前口服, 2次/d; 阿莫西林胶囊1000 mg, 饭后口服, 2次/d; 后5 d予以雷贝拉唑10 mg, 口服2次/d; 克拉霉素分散片500 mg, 饭后口服, 2次/d; 奥硝唑片0.5 g, 饭后口服, 2次/d. 四联治疗组给药方法为: 雷贝拉唑10 mg, 饭前口服, 2次/d; 枸橼酸铋钾胶囊300 mg, 2次/d, 饭前口服; 左氧氟沙星片0.2 g, 2次/d, 饭后服用; 阿莫西林1000 mg, 2次/d, 饭后服药, 以上四联共服药12 d. 两组均在治疗过程中观察用药不良反应并记录.

1.2.2 *H. pylori*感染及根除疗效判断: 以^{14}C尿素呼气试验作为诊断*H. pylori*感染的方法. 所用仪器型号为: 海得威HUBP-01. 所有患者在予以治疗前均行^{14}C呼气试验检查为阳性者(dpm>100)判断为*H. pylori*现正感染. 患者停药1 mo后复诊, 再次行^{14}C呼气试验, 阴性者(dpm<100)则认为*H. pylori*根除成功.

统计学处理 以SPSS16.0统计软件进行统计学分析, 根除率的比较用χ^2检验, 检验水准为$\alpha = 0.05$, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 再根除率比较 共有152例随访成功, 随访成功率为91.02%. 其中3例因服药出现较严重不良反应(1例全身广泛皮疹, 1例出现全身浮肿, 1例患者严重失眠)而退出治疗. 共有149例复查^{14}C尿素呼气试验. 其中序贯治疗试验组有77例复查^{14}C尿素呼气试验, 有60例结果为阴性, 按符合方案(per-protocol, PP)分析根除率达77.92%, 按意向治疗(intention-to-treat, ITT)分析根除率为70.6%. 四联治疗组82例共有75例随访成功, 其中3例出现严重的不良反应而退出试验, 有72例复查^{14}C尿素呼气试验, 61例复查结果为阴性, PP分析根除率为84.72%, ITT分析根除率为74.4%. 结果显示四联治疗组根除率略高于标准四联疗法组. 两组PP分析根除率差异无统计学意义(60/77与61/72, $\chi^2 = 1.127$, $P = 0.288$), 在ITT根除率方面差别也无统计学意义(60/85与61/82, $\chi^2 = 0.302$, $P = 0.582$)(表1).

2.2 不良反应发生情况 我们对于每一位随访成功的患者均追踪不良反应, 并认真填写不良反应记录. 结果显示较常见的不良反应主要有: 恶心、头昏、乏力、失眠、腹泻、黑便、皮疹、口腔金属味等, 另有1例主诉服药过程中有心悸出现, 测心电图未发现心律失常等表现, 1例主诉服药后有肢体手足短暂性麻木感觉. 在治疗中有3例出现较严重的不良反应从而退出试验, 这3例严重不良反应均发生在四联疗法试验组, 经积极对症治疗后症状消失. 其余不良反应均可耐受, 未经特殊治疗并完成试验. 因为在予以治疗前均已告知患者可能的不良反应, 患者的依从性相对较高. 不良反应总体发生情况为: 序贯治疗组中, 随访的77例共有9例出现不同程度的不良反应, 不良反应发生率为11.7%. 四联治疗组中, 随访的75例中, 有11例发生不良反应(包括3例较严重不良反应), 不良反应发生率分别为14.7%. 两组不良反应发生率差异无统计学意义(9/77 *vs* 11/75, $\chi^2 = 0.295$, $P = 0.587$)(表1).

3 讨论

我国是*H. pylori*感染的高发人群, 总体感染率达56.22%, 且存在一定的地区性差异[2]. *H. pylori*

■应用要点
本文作者用3年的时间, 观察两种不同治疗方案对于首次*H. pylori*根除失败者再根除时疗效, 为临床医师在行*H. pylori*再根除时选择治疗方案提供一定的参考依据.

■名词解释
标准四联疗法: 按照《第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告》意见, 采用的两种抗菌药物、一种质子泵抑制剂、一种铋剂组成的四联根除*H. pylori*的治疗方案, 称为标准四联方案.

已被告证实与慢性胃炎、功能性消化不良、胃癌、消化性溃疡及胃黏膜相关淋巴瘤[3]、特发性血小板减少性紫癜[4]、不明原因的缺铁性分贫血[5]等有密切关系. 根除*H. pylori*可以有效减少上述疾病的发生概率[6-9]. 但是在临床上由于抗菌药物的广泛应用, *H. pylori*耐药性逐渐上升, 尤其是甲硝唑及克拉霉素的耐药率明显增加[10]. 传统的标准三联疗法根除率明显降低. 2012年Maastricht Ⅳ[11]共识及我国井冈山共识[1]正式将标准四联疗法列为根除*H. pylori*的首选方案, 同时Maastricht Ⅳ共识意见尚建议将序贯疗法作为根除*H. pylori*的一线治疗方案.

多项多中心临床研究[12,13]证明, 序贯疗法根除*H. pylori*具有根除率高且不受如*CagA*基因缺失、克拉霉素耐药或吸烟等因素的影响, 且不良发生率低, 可以作为*H. pylori*根除的一线治疗方案. 我国也有大量文献报道序贯疗法对于*H. pylori*的高根除率及低不良反应[14,15]. 但对于初次根除失败拟行再根除的患者是否适用序贯疗法方案的报道相对较少. 我们采用耐药性相对较低的替硝唑口服代替甲硝唑的序贯疗法方案根除*H. pylori*. 结果发现: 对于初次治疗失败者再次行*H. pylori*根除术者, 其再根除率仅达77.92%, 且不良反应发生率约10%左右, 达不到Maastricht Ⅲ[16]共识意见推荐的最低80%根除率的标准要求. 因此我们认为, 不建议将序贯疗法作为*H. pylori*再根除的首选方案.

标准四联疗法在我国首次*H. pylori*根除时被确定为首选的方案[1]. 能否作为*H. pylori*根除失败补救根除方案尚有争议. 我们采用的四联方案中, 去除耐药率相对较高的克拉霉素, 用文献报道耐药率相对较低的左氧氟沙星替代. 治疗时间为12 d. 结果发现, 总根除率达也仅84.72%, 根除率略高于序贯疗法组, 但意向根除率较低, <80%, 同样达不到Maastricht Ⅲ共识推荐的最低阈值, 且不良反应也较多, 3例较严重的不良反应均发生在标准四联组. 因此, 我们认为, 不建议将此四联疗法作为对首次*H. pylori*根除失败患者的首选补救根除方案.

*H. pylori*根除失败的原因很多, 细菌耐药是导致根除失败的最主要原因. 在我国阿莫西林耐药率低, 被认为是根除*H. pylori*的基础用药, 且井冈山共识也认为阿莫西林可以重复使用. 纳入试验的两组患者在首次根除*H. pylori*时基本都含有阿莫西林. 但阿莫西林也存在一定的耐药性, 我们在行*H. pylori*再根除时没有充分考虑阿莫西林耐药情况, 两个治疗方案中仍然选用阿莫西林作为治疗的基本药物之一, 这也可能是再根除率偏低的原因之一. 尽管国内外有较多的文献报道序贯疗法对*H. pylori*有较高的根除率, 但也有文献报道首次根除*H. pylori*效果不理想, 可能与细菌耐药的地区性差异有关. 我们的实验结果不支持本地区患者在行*H. pylori*再根除时将序贯疗法作为首选的方案.

另外*H. pylori*感染相关的不同的疾病类型也会影响*H. pylori*的根除率. 患者的年龄、性别、是否吸烟、胃酸环境、细菌的定植部位等均可影响*H. pylori*的根除率. 我们在行相关的试验时未将上述因素考虑在内, 这也可能是两组试验在行*H. pylori*再根除效果均不满意的原因之一. 这也要求我们以后临床工作中对于*H. pylori*的再根除时应充分考虑各种因素, 有条件的情况下应该行*H. pylori*耐药性检测, 改用根除*H. pylori*耐药性理低、更有效的相关药物, 提高*H. pylori*再根除率, 减少*H. pylori*耐药的产生. 另外也可以加用其他新治疗方法如联合口腔洁治可能会提高*H. pylori*的根除率[17]. 另外增加质子泵抑制剂的剂量也可以提高*H. pylori*的根除率[18]. 按照井冈山共识意见加用耐药率低且可以重复使用的呋喃唑酮或四环素也可能会提高*H. pylori*的再根除率[19].

4 参考文献

1 刘文忠, 谢勇, 成虹, 吕农华, 胡伏莲, 张万岱, 周丽雅, 陈烨, 曾志荣, 王崇文, 萧树东, 潘国宗, 胡品津. 第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告. 中华消化杂志 2012; 10: 655-661

2 张万岱, 胡伏莲, 萧树东, 徐智民. 中国自然人群幽门螺杆菌感染的流行病学调查. 现代消化及介入治疗 2010; 5: 265-270

3 Gisbert JP, Calvet X. Review article: common misconceptions in the management of Helicobacter pylori-associated gastric MALT-lymphoma. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1047-1062 [PMID: 21919927 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04839.x]

4 Emilia G, Luppi M, Zucchini P, Morselli M, Potenza L, Forghieri F, Volzone F, Jovic G, Leonardi G, Donelli A, Torelli G. Helicobacter pylori infection and chronic immune thrombocytopenic purpura: long-term results of bacterium eradication and association with bacterium virulence profiles. *Blood* 2007; 110: 3833-3841 [PMID: 17652264 DOI: 10.1182/blood-2006-12-063222]

5 Qu XH, Huang XL, Xiong P, Zhu CY, Huang YL, Lu LG, Sun X, Rong L, Zhong L, Sun DY, Lin H, Cai MC, Chen ZW, Hu B, Wu LM, Jiang YB, Yan WL. Does Helicobacter pylori infection play a role in iron deficiency anemia? A meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 886-896 [PMID: 20143469 DOI: 10.3748/wjg.v16.i7.886]

6 Vilariño-Güell C, Chai H, Keeling BH, Young JE,

Rajput A, Lynch T, Aasly JO, Uitti RJ, Wszolek ZK, Farrer MJ, Lin SC. MEIS1 p.R272H in familial restless legs syndrome. *Neurology* 2009; 73: 243-245 [PMID: 19620614 DOI: 10.7326/0003-4819-151-2-200907210-00009]

7 Stasi R, Sarpatwari A, Segal JB, Osborn J, Evangelista ML, Cooper N, Provan D, Newland A, Amadori S, Bussel JB. Effects of eradication of Helicobacter pylori infection in patients with immune thrombocytopenic purpura: a systematic review. *Blood* 2009; 113: 1231-1240 [PMID: 18945961 DOI: 10.1182/blood-2008-07-167155]

8 Annibale B, Marignani M, Monarca B, Antonelli G, Marcheggiano A, Martino G, Mandelli F, Caprilli R, Delle Fave G. Reversal of iron deficiency anemia after Helicobacter pylori eradication in patients with asymptomatic gastritis. *Ann Intern Med* 1999; 131: 668-672 [PMID: 10577329 DOI: 10.7326/0003-4819-131-9-199911020-00037]

9 李晓波, 戈之铮, 陈晓宇, 赵韫嘉, 张达荣, 戴军, 薛寒冰, 刘文忠, 萧树东. 功能性消化不良根除幽门螺杆菌后症状改善相关因素分析. 中华消化内镜杂志 2006; 2: 109-114

10 成虹, 胡伏莲, 谢勇, 胡品津, 王吉耀, 吕农华, 张建中, 张桂英, 周曾芬, 吴克利, 张玲霞, 彭孝伟, 戴宁, 唐国都, 姜葵, 李岩, 侯晓华, 白文元, 王明春, 叶红军, 刘玉兰, 许乐. 中国幽门螺杆菌耐药状况以及耐药对治疗的影响-全国多中心临床研究. 胃肠病学 2007; 9: 525-530

11 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ. Management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012; 61: 646-664 [PMID: 22491499 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302084]

12 Vaira D, Zullo A, Vakil N, Gatta L, Ricci C, Perna F, Hassan C, Bernabucci V, Tampieri A, Morini S. Sequential therapy versus standard triple-drug therapy for Helicobacter pylori eradication: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007; 146: 556-563 [PMID: 17438314 DOI: 10.7326/0003-4819-146-8-200704170-00006]

13 Sánchez-Delgado J, Calvet X, Bujanda L, Gisbert JP, Titó L, Castro M. Ten-day sequential treatment for Helicobacter pylori eradication in clinical practice. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2220-2223 [PMID: 18564109 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01924.x]

14 黄晓曦, 田慧, 江雪梅, 高峰. 序贯疗法治疗幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的疗效分析. 中国临床医学 2011; 2: 191-192

15 黄鑫薪, 熊理守, 马师洋, 白鹏, 董吁钢, 杨岫岩, 高修仁, 梁柳琴, 周丽雅, 陈旻湖. 三联疗法与序贯疗法在长期服用非甾体类抗炎药人群中根除幽门螺杆菌的疗效观察. 中华消化杂志 2012; 12: 814-817

16 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, Hunt R, Rokkas T, Vakil N, Kuipers EJ. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; 56: 772-781 [PMID: 17170018 DOI: 10.1136/gut.2006.101634]

17 高文, 胡伏莲, 王晓敏. 含呋喃唑酮的四联疗法联合口腔洁治对幽门螺杆菌根除多次失败的补救治疗. 中华医学杂志 2012; 12: 836-839

18 Villoria A, Garcia P, Calvet X, Gisbert JP, Vergara M. Meta-analysis: high-dose proton pump inhibitors vs. standard dose in triple therapy for Helicobacter pylori eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 868-877 [PMID: 18644011 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03807.x]

19 吕农华, 祝荫. 含呋喃唑酮的治疗方案在幽门螺杆菌根除治疗中的应用. 中华医学杂志 2012; 10: 662-663

■同行评价

虽然是阴性结果, 但是有一定临床意义.

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): 358-362
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

病例报告 CASE REPORT

腹部闭合伤致门腔静脉系统广泛气体栓塞1例并文献复习

张玉波, 袁亚松, 李佳桂, 刘振坤, 陈立敏, 纪志伟

■背景资料
肝门静脉积气症(hepatic portal venous gas, HPVG)是急腹症, 目前国内外报道的较少, 但随着高分辨率计算机断层扫描(computed tomography, CT)的应用, HPVG的诊断率较前有所增加, 该病发病急骤, 病情凶险, 但需要综合分析患者情况以制定切实有效的治疗方案.

张玉波, 刘振坤, 纪志伟, 涿州市医院急诊科 河北省涿州市 072750
袁亚松, 李佳桂, 涿州市医院消化科 河北省涿州市 072750
陈立敏, 涿州市医院重症监护室 河北省涿州市 072750
张玉波, 主治医师, 主要从事肝硬化和胰腺炎的研究.
作者贡献分布: 本文由张玉波撰写; 袁亚松、刘振坤及李佳桂收集病例资料; 陈立敏与纪志伟查阅文献等共同参与完成.
通讯作者: 张玉波, 主治医师, 072750, 河北省涿州市范阳西路129号, 涿州市医院急诊科. qaz301214@126.com
电话: 0312-5521022
收稿日期: 2014-10-21 修回日期: 2014-11-19
接受日期: 2014-11-27 在线出版日期: 2015-01-18

Extensive gas embolism of portacaval system in a patient with blunt abdominal trauma

Yu-Bo Zhang, Ya-Song Yuan, Jia-Gui Li, Zhen-Kun Liu, Li-Min Chen, Zhi-Wei Ji

Yu-Bo Zhang, Zhen-Kun Liu, Zhi-Wei Ji, Department of Emergency Medicine, Zhuozhou City Hospital, Zhuozhou 072750, Hebei Province, China
Ya-Song Yuan, Jia-Gui Li, Department of Gastroenterology, Zhuozhou City Hospital, Zhuozhou 072750, Hebei Province, China
Li-Min Chen, Intensive Care Unit, Zhuozhou City Hospital, Zhuozhou 072750, Hebei Province, China
Correspondence to: Yu-Bo Zhang, Attending Physician, Department of Emergency Medicine, Zhuozhou City Hospital, 129 Fanyang West Road, Zhuozhou 072750, Hebei Province, China. qaz301214@126.com
Received: 2014-10-21 Revised: 2014-11-19
Accepted: 2014-11-27 Published online: 2015-01-18

Abstract
Extensive portal vein and inferior vena cava gas embolism is the late presentation of hepatic portal venous gas (HPVG), and it is a rare clinical condition. This paper reports a case of extensive gas embolism of the portocaval system due to closed abdominal injury. A literature review was also performed to better understand the epidemiology, etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment of HPVG.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatic portal venous gas; Pneumatosis intestinalis

Zhang YB, Yuan YS, Li JG, Liu ZK, Chen LM, Ji ZW. Extensive gas embolism of portacaval system in a patient with blunt abdominal trauma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(2): 358-362 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/358.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.358

摘要
广泛门静脉、下腔静脉系统气体栓塞是肝门静脉积气症(hepatic portal venous gas, HPVG)的晚期表现, 临床罕见. 本文报道因腹部闭合伤所致门腔静脉系统广泛气体栓塞1例, 结合文献复习, 从流行病学、病因、发病机制、诊断方法及治疗方案等方面系统认识HPVG, 以期为临床医师提供一定的帮助.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝门静脉积气症; 肠壁囊样积气症

核心提示: 肝门静脉积气症(hepatic portal venous gas)可以由腹部闭合伤引起, 动态观察病情变化并及时复查腹部计算机断层扫描(computed tomography)有利于及早发现该症, 进行积极保守治疗是治疗基础, 必要时剖腹探查手术治疗.

张玉波, 袁亚松, 李佳桂, 刘振坤, 陈立敏, 纪志伟. 腹部闭合伤致门腔静脉系统广泛气体栓塞1例并文献复习. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 358-362 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/358.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i2.358

0 引言
广泛门静脉、下腔静脉系统气体栓塞是肝门静脉积气症(hepatic portal venous gas, HPVG)的晚期表现, HPVG属于急腹症, 临床上起病急骤, 多表现为持续剧烈的腹痛, 常伴有呕吐, 是由于肝门静脉血流受阻、侧支循环尚未建立所引起. 患者常来不及做影像学检查即迅速死亡, 故影像学资料甚少. 现报道1例并复习文献如下.

1 病例报告
李某, 男, 60岁. 主因外伤后腹痛14 h, 心悸2 h来

■同行评议者
傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

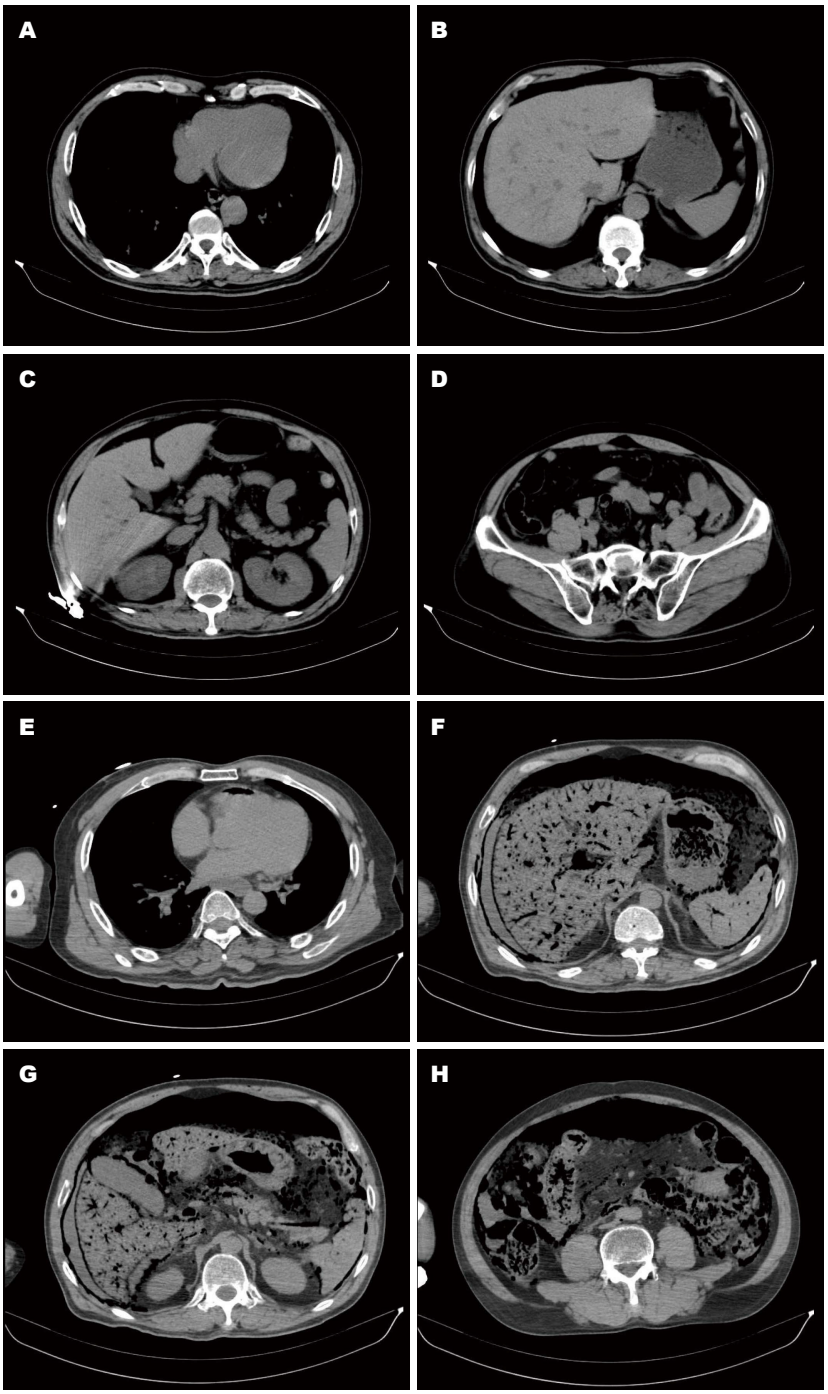


图 1 患者计算机断层扫描结果. A–D: 发病初; E–H: 复查时.

■研发前沿
HPVG的发病机制目前有细菌学说、机械学说两种理论, 或者二者共同作用, 尚待进一步明确.

院. 既往有高血压、糖尿病、心肌梗死、脑梗死等. 患者于14 h前因晚间骑自行车时不慎撞墙摔倒, 出现持续腹痛. 当时就诊外院, 生命体征在正常范围, 查体腹软, 无固定压痛. 腹部计算机断层扫描(computed tomography, CT)见双侧腹股沟疝, 少量腹水(图1A-D), 考虑腹部闭合伤, 血常规示白细胞4.23×10^9/L, 中性粒细胞3.54×10^9/L, 中性粒细胞百分比83.7%; 血红蛋白161 g/L, 血小板(platelets, PLT)163×10^9/L, 随机血糖19 mmol/L, 肝肾功能、电解质、心肌酶、凝血四项均正常. 心电图结果窦性心律, 心率83次/min. 静点抗生素并给予曲马多止痛后, 腹痛减轻离院. 但2 h前腹痛再次明显, 持续不缓解, 出现心悸、周身乏力、出汗. 遂来我院就诊, 查体血压90/60 mmHg, 心率115次/min, 腹部膨隆, 有腹肌紧张、压痛、反跳痛, 叩鼓音明显, 肠鸣音消失. 复查头胸腹CT示: (1)颅脑及胸部CT平扫未见明显异常; (2)心腔、大血管内少量积气, 腹腔大量积气, 门静脉、肝静脉、下腔静脉、胃壁、肠壁、胆囊壁广泛积气; (3)腹腔内、盆腔内少量积液; (4)双侧腹股沟疝(图1E-H). 随后患者休克, 经积极心肺复苏无好转, 宣布死亡.

■相关报道
HPVG的主要病因是肠壁缺血、坏死, 有外科创伤、肠梗阻亦有非外科疾病如秋水仙碱毒性作用, 以及内镜下逆行胰胆管造影术后等医源性病因等等.

■创新盘点
由腹部闭合伤引起门腔静脉系统广泛积气极为罕见, 须引起临床医师的警惕.

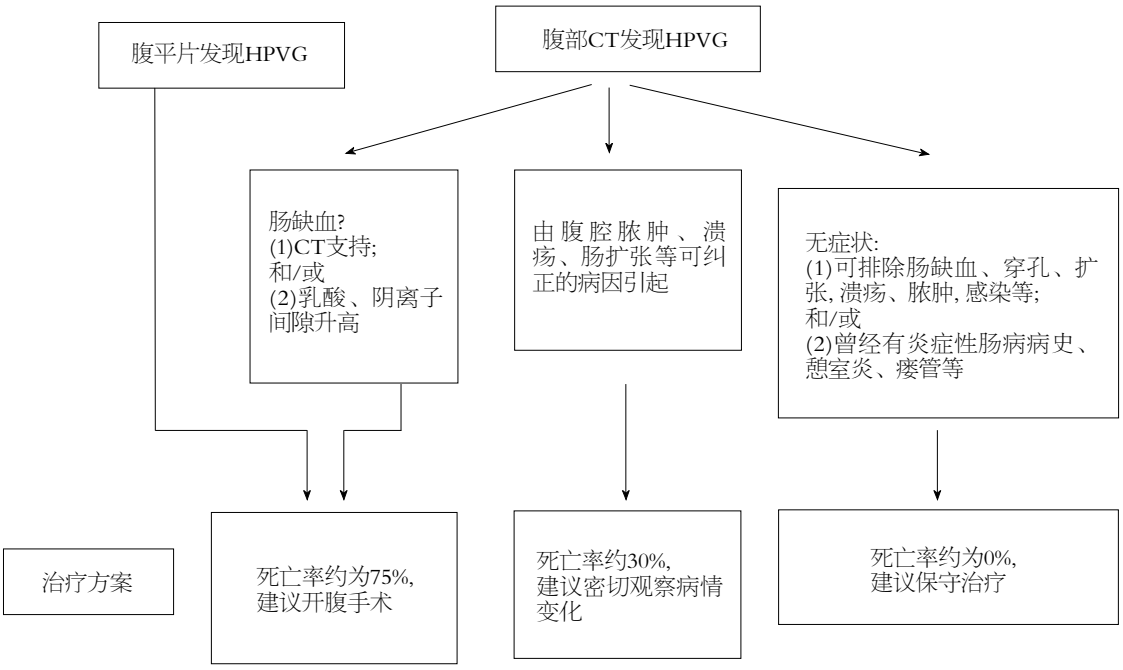


图 2 HPVG诊治路径. HPVG: 肝门静脉积气症; CT: 计算机断层扫描.

2 讨论

门静脉主干由肠系膜上静脉和脾静脉在胰颈后方汇合而成, 收集腹部盆部消化系、脾、胰和胆囊的静脉血. 肠系膜下静脉多汇入脾静脉. 门静脉携带消化系静脉血进入肝脏后经由肝静脉汇入下腔静脉[1]. 门腔静脉系统积气是指肝门静脉及其各级肝内、外属支、下腔静脉系统出现气体. 考虑本例患者HPVG在先, 如图2所示因门脉系统气体量巨大, 且压力高, 气体经由肝窦、肝静脉血液汇入下腔静脉系统, 并进入心腔, 造成门腔静脉系统广泛积气, 临床罕见.

2.1 流行病学 HPVG并非一种独立的疾病, 但却是急性腹部病理改变的一种诊断线索. 多表现为急腹症, 临床上起病急骤, 症状凶险, 患者常有剧烈的腹痛、呕吐、便血、脾大和腹水, 此为肝门静脉血流受阻、侧支循环尚未建立所引起. 患者常常来不及做影像学检查就迅速死亡, 故影像学资料甚少. 最初个案报道HPVG死亡率极高, 早在1955年Wolfe等[2]首次报道6例新生儿因坏死性肠炎, 并发HPVG后死亡. 1960[3]及1961[4]年先后报道有5例成人因HPVG死亡. 而首例存活的报道在1965年[5]. 1978年Liebman等[6]总结分析文献得出HPVG死亡率高达75%. 从而形成一种结论: HPVG预后极差, 且患者多在短时间内死亡, 需要外科剖腹探查治疗. 而随着现代腹部CT分辨率的提高, HPVG的早期诊断率也在逐步提高, 2001年的一项研究总结HPVG的死亡率仅有39%. 男女HPVG的患病率无明显区别[7]. 大约50%的HPVG有肠壁囊样积气症(pneumatosis intestinalis, PI)[8]. 而PI和HPVG先后出现于同一个疾病过程, PI多进一步进展为HPVG[2].

2.2 病因 HPVG的主要病因是肠壁缺血、坏死, 且是最主要的致死性病因, 但近半个世纪以来, 总结发现HPVG的非致死性病因有如下三类: (1)外科病变: 克罗恩病、溃疡性结肠炎、移植物抗宿主病、肠梗阻、假性肠梗阻、细菌性脓肿、憩室炎、麻痹性肠梗阻、化脓性胆管炎及肠瘘; (2)非外科疾病: 囊性纤维病、癫痫及秋水仙碱毒性作用; (3)医源性HPVG: 腹腔镜检查后、内镜下逆行胰胆管造影术后、其他内窥镜操作后、胃扩张术后[9]、肝移植后、肿瘤射频消融术后、动脉导管置入术后及灌肠后等[10,11].

2.3 发病机制 门脉系统积气的病理生理具体机制尚不明确, 积气的来源目前有两种假说: (1)细菌学说: 即微生物来源的气体, 如大肠埃希菌、梭状芽孢杆菌以及其他产气细菌经过损伤的黏膜层进入黏膜下层, 并在肠壁内产气进入门脉系统; (2)机械学说: 即肠腔内气体的吸收, 黏膜损伤以及肠扩张是重要因素. 第一种假说源自Yale等[12]的研究: 他们将产气芽孢梭菌注入无菌小鼠的小肠、盲肠或腹腔, 导致肠壁囊样积气症, 而囊里的气体被证明是氢气, 这些氢气恰恰是由产气芽孢梭菌产生的. 从而证实腹腔、肠

■应用要点
对腹部闭合伤后持续腹痛患者一定要高度警惕, 密切观察病情变化, 需动态监测腹部CT变化. 从而增加HPVG的诊断率, 及时调整治疗方案降低HPVG的死亡率.

道的细菌感染可导致HPVG. 有研究发现在仅有脓毒症而无肠坏死的患者中可出现HPVG, 证实细菌感染是HPVG的独立机制[6,7]. 第二种假说的依据是肠腔黏膜受损或肠腔压力过大, 使肠腔内的气体进入肠壁经毛细血管进而吸收入门脉系统.

2.4 诊断 HPVG主要由影像学如X线平片、超声、CT诊断. (1)腹平片: 从肝门到肝脏边缘水平走向、管状透亮现象, 即门静脉中的离心血流将气体积聚于肝边缘, 从而显示出门静脉的细小分支. 左侧卧位的腹平片更有利于发现上述征象; 有文献[13]报道, 经回顾性分析HPVG的腹平片, 通过仔细的阅片才有可能将阳性诊断率提高到12.5%, 但如经腹平片发现HPVG多提示肝门静脉积气量巨大, 病情已经发展到相当严重程度, 且多有肠坏死, 预后差; (2)超声: 门静脉内随血液流动的气泡样或点状强回声, 肝实质内边界不清的条片状强回声区[14]. 彩超的超声表现为门静脉管腔内有小的点状强回声顺血液流动方向往肝快速移动, 可流到肝包膜下; 积气数量较少只在门静脉内观察到点状强回声, 随着积气量的增加, 气体会在肝左叶积聚形成条索状强回声, 当气体数量进一步增加可导致肝回声不均[15]; (3)腹部CT: HPVG的典型CT表现是肝内枯枝状气体密度影, 自肝门向远端逐渐变细, 并可于门脉主干及其属支内见气体影, 发现门脉气栓是诊断绞窄性肠梗阻、肠坏死的有力佐证. 须与肝内胆管积气鉴别, 该症多有胆道手术史, CT表现为较分散的气体影, 且肝外胆管内常可见气体. 另外, 因门静脉血流方向为离心性, 与胆汁相反, 所以HPVG气体多位于肝包膜下2 cm的肝实质内, 而肝内胆管胆汁引流方向为向心性, 故肝内胆管内气体多位于肝实质中央[16].

2.5 治疗 本文的主要目的是系统了解HPVG, 显然CT的发展使我们有更多的机会发现门脉系统的气体, 但并不是CT的发现可以使我们制定临床或者手术的决策, 而是明确疾病的严重程度. 目前HPVG的处理主要是保守治疗和手术治疗, 需综合患者的临床表现及影像学、实验室检查决定. 如果由腹平片发现HPVG, 或CT发现HPVG且有肠缺血坏死的证据以及乳酸、阴离子间隙升高, 死亡率约为75%, 建议强有力的治疗: 立即开腹探查手术[17]. 如果仅由CT发现HPVG且是由腹腔脓肿、溃疡、肠扩张等可纠正的病因引起, 但没有肠缺血征象, 死亡率约30%, 建议保守对症治疗, 密切观察病情变化. 如果CT发现HPVG, 有消化系溃疡、脓肿、感染和或曾经有炎症性肠病、憩室炎、瘘管等病史, 但临床无症状或症状轻微, 并可排除肠缺血、穿孔、扩张等急腹症, 死亡率约为0%, 建议保守治疗. 诊治的步骤如图2[10].

本病例特点是: 该例HPVG由腹部闭合伤引起, 肠系膜静脉、门静脉、下腔静脉、心室广泛积气少见, 考虑HPVG在先, 因门脉系统气体量巨大, 且压力高, 气体经由肝窦、肝静脉血液汇入下腔静脉系统, 并进入心腔, 造成门腔静脉系统广泛积气, 更为罕见, 且导致患者不足24 h快速死亡, 国内外尚未见报道. 患者外伤后早期可能为小病灶损伤, 但腹水是重要提示, 且既往有高血压、糖尿病、心脑血管病等基础病, 临床医师须动态监测病情变化. 在胃肠道广泛积气的情况下, 复查CT所见不能明确是否出现消化系穿孔、肠系膜栓塞及其部位, 较为遗憾. 总结经验教训对持续腹痛患者一定要高度警惕, 密切观察生命体征及局部体征. 恰当选择影像学检查, 如腹平片、超声、腹部CT, 必要时增强CT, 并及时复查. 对于积极保守治疗后症状仍进行性加重, 生命体征不稳定的患者, 可考虑急诊手术治疗, 从而降低HPVG的治疗成本及死亡率.

■名词解释
门腔静脉系统积气: 是指肝门静脉及其各级肝内、外属支、下腔静脉系统出现气体或形成气体栓塞.

3 参考文献

1 周康荣, 陈祖望. 体部磁共振成像. 上海: 上海医科大学出版社, 2000: 774-775

2 Wolfe JN, Evans WA. Gas in the portal veins of the liver in infants; a roentgenographic demonstration with postmortem anatomical correlation. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1955; 74: 486-488 [PMID: 13249015]

3 Susman N, Senturia HR. Gas embolization of the portal venous system. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1960; 83: 847-850 [PMID: 13835795]

4 Wiot JF, Felson B. Gas in the portal venous system. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1961; 86: 920-929 [PMID: 14040292]

5 Lazar Hp. Survival following portal venous air embolization: Report of a case. *Am J Dig Dis* 1965; 10: 259-264 [PMID: 14263063 DOI: 10.1007/BF02233756]

6 Liebman PR, Patten MT, Manny J, Benfield JR, Hechtman HB. Hepatic--portal venous gas in adults: etiology, pathophysiology and clinical significance. *Ann Surg* 1978; 187: 281-287 [PMID: 637584 DOI: 10.1097/00000658-197803000-00012]

7 Kinoshita H, Shinozaki M, Tanimura H, Umemoto Y, Sakaguchi S, Takifuji K, Kawasaki S, Hayashi H, Yamaue H. Clinical features and management of hepatic portal venous gas: four case reports and cumulative review of the literature. *Arch Surg* 2001; 136: 1410-1414 [PMID: 11735870 DOI: 10.1001/archsurg.136.12.1410]

8 Wiesner W, Mortelé KJ, Glickman JN, Ji H, Ros PR. Pneumatosis intestinalis and portomesenteric

■同行评价
门静脉系统气体栓塞临床罕见，但危害性大. 文章不仅介绍了1例由腹部闭合伤引发的门静脉和腔静脉系统的广泛栓塞病例，提供了翔实的临床资料，且综述了门静脉系统气体栓塞的临床表现，影像学表现，以及诊疗流程. 对提高临床医师对此问题的认识有帮助. 特别是诊疗流程图，简明扼要，有较强的临床实用价值.

venous gas in intestinal ischemia: correlation of CT findings with severity of ischemia and clinical outcome. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 177: 1319-1323 [PMID: 11717075 DOI: 10.2214/ajr.177.6.1771319]
9 Lee CG, Kang HW, Song MK, Kim JH, Lee JK, Lim YJ, Koh MS, Lee JH. A case of hepatic portal venous gas as a complication of endoscopic balloon dilatation. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 1108-1110 [PMID: 21860565 DOI: 10.3346/jkms.2011.26.8.1108]
10 Nelson AL, Millington TM, Sahani D, Chung RT, Bauer C, Hertl M, Warshaw AL, Conrad C. Hepatic portal venous gas: the ABCs of management. *Arch Surg* 2009; 144: 575-581; discussion 581 [PMID: 19528392 DOI: 10.1001/archsurg.2009.88]
11 Abboud B, El Hachem J, Yazbeck T, Doumit C. Hepatic portal venous gas: physiopathology, etiology, prognosis and treatment. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3585-3590 [PMID: 19653334]
12 Yale CE, Balish E, Wu JP. The bacterial etiology of pneumatosis cystoides intestinalis. *Arch Surg* 1974; 109: 89-94 [PMID: 4365449 DOI: 10.1001/archsurg.1974.01360010067017]
13 Peloponissios N, Halkic N, Pugnale M, Jornod P, Nordback P, Meyer A, Gillet M. Hepatic portal gas in adults: review of the literature and presentation of a consecutive series of 11 cases. *Arch Surg* 2003; 138: 1367-1370 [PMID: 14662541 DOI: 10.1001/archsurg.138.12.1367]
14 崔立刚, 王金锐, 王淑敏, 黄曼维, 李红波, 张武. 肝门静脉积气的超声表现及临床意义. 中国医学影像技术 2005; 21: 1242-1244
15 周建桥, 周春, 吴志远, 詹维伟. 门静脉积气超声表现3例. 中华超声影像学杂志 2006; 15: 557
16 Hou SK, Chern CH, How CK, Chen JD, Wang LM, Lee CH. Hepatic portal venous gas: clinical significance of computed tomography findings. *Am J Emerg Med* 2004; 22: 214-218 [PMID: 15138961]
17 Hussain A, Mahmood H, El-Hasani S. Portal vein gas in emergency surgery. *World J Emerg Surg* 2008; 3: 21 [PMID: 18637169 DOI: 10.1186/1749-7922-3-21]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《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(open access, OA)期刊, 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410位专家组成, 分布在中国29个省市、自治区和特别行政区和美国.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 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 Inc, 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. OA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43种临床医学OA期刊, 其中英文版42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》和《Abstracts Journals》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.

《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.

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》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》和《Abstracts Journals》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, ℃), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max}, C_{max}, *V*d, $T_{1/2}$ *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/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、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 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, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 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υ; (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mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^aP<0.05$, $^bP<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第三套为$^eP<0.05$, $^fP<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±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分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±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志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行，每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写P, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$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注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用t/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……;

PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.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.

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2015年国内国际会议预告

2015-01-15/17
2015年胃肠道癌症研讨会(GCS)
会议地点: 美国
联系方式: http://gicasym.org/

2015-02-05/07
欧洲癌症研究协会大会(EACR)
会议地点: 德国
联系方式: http://www.eacr.org/radiationbiology2015/

2015-03-12/15
2015年第24届亚太肝病研究协会肝病大会(APASL)
会议地点: 土耳其
联系方式: http://apasl.info/about

2015-03-11/13
2015年欧洲神经内分泌肿瘤学会第12届年度会议(ENETS)
活动地点: 西班牙
联系方式: http://www.aihcc.com

2015-03-18/21
2015年第5届亚太肝胆胰腺协会双年会(A-PHPBA)
会议地点: 新加坡
联系方式: http://aphpba2015.com/

2015-03-25/28
2015年第68届肿瘤外科学会年会(SSOACS)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.aihcc.com

2015-04-17/19
2015中国超声医学学术大会(CCUM)
会议地点: 中国
联系方式: http://www.cuda.org.cn

2015-04-18/22
2015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/Pages/Home.aspx

2015-04-22/25
第6届欧洲肿瘤介入大会(ECIO)
会议地点: 法国
联系方式: http://www.ecio.org/

2015-04-22/26
2015年第50届欧洲肝病研究协年会(EASL)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.easl.eu/

2015-05-06/09
2015年世界肿瘤介入大会(WCIO)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.io-central.org/

2015-05-07/08
欧洲胃肠镜协会大会(ESGE)
会议地点: 荷兰
联系方式: http://www.esge.com/

2015-05-16/19
美国消化疾病周(DDW)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ddw.org/

2015-05-29/06-02
2015年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)
会议地点: 美国
联系方式: http://am.asco.org/

2015-06-26/28
2015年世界病毒性肝炎峰会(ISVHLD)
会议地点: 德国
联系方式: http://www.isvhld2015.org/

2015-07-01/04
第17届世界胃肠癌大会(WGIC)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://worldgicancer.com

2015-09-25/29
第18届欧洲癌症大会(ECCO)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.ecco-org.eu/

2015-09-25/29
第40届欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.esmo.org/

2015-09-28/10-02
世界胃肠病组织大会(AGW/WGO)
会议地点: 澳大利亚
联系方式: http://www.worldgastroenterology.org/

2015-10-18/21
第57届美国放射肿瘤协会大会(ASTRO)
会议地点: 美国
联系方式: https://www.astro.org/

2015-10-24/28
第23届欧洲联合胃肠病学周(UEG)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.ueg.eu/

2015-12-03/06
亚太消化病周(APDW)
会议地点: 台湾
联系方式: http://www.apdwcongress.org/

世界华人消化杂志 2015年1月18日; 23(2): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

• 志谢 •

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈积圣 教授
中山大学孙逸先纪念医院肝胆外科

程树群 教授
上海东方肝胆外科医院

邓安梅 教授
长海医院

丁士刚 主任医师
北京大学第三医院

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普外科

郭永红 副主任医师
西安交通大学医学院第二附属医院

侯风刚 副教授
上海市中医医院

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

江学良 教授
中国人民解放军济南军区总医院消化科

姜又红 教授
中国医科大学附属第一医院

李瀚旻 教授
湖北省中医院(湖北中医药大学附属医院)

李瑜元 教授
广州市第一人民医院

刘杰民 副主任医师
贵州省人民医院消化内镜科

刘占举 教授
同济大学附属上海市第十人民医院

卢晓梅 教授
新疆医科大学第一附属医院医学研究中心

麻勇 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院

秦建民 主任医师
上海中医药大学附属普陀医院

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

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

王建明 副教授
南京医科大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系

王晓锋 副主任医师
中国中医科学院广安门医院

夏时海 教授
武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心)

许剑民 教授
复旦大学附属中山医院普外科

许玲 教授
上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张进祥 主任医师
华中科技大学同济医学院附属协和医院

张明辉 主任医师
河北省唐山市人民医院

张庆瑜 教授
天津医科大学总医院

郑鹏远 教授
郑州大学第二附属医院消化科

朱建伟 教授
南通大学附属医院胃肠外科

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月

北京大学图书馆

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

百世登出版集团有限公司

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.