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

2016 年 3 月 18 日　第 24 卷　第 8 期　(Volume 24 Number 8)

www.wjgnet.com

二零一六年三月十八日

第二十四卷

第八期

8/2016

ISSN 1009-3079

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

WCJD 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》2015-2017年度编辑委员会，由1040位专家组成．其中，上海市146位、北京市130位、江苏省81位、广东省69位、湖北省53位、辽宁省48位、山东省45位、浙江省42位、陕西省40位、黑龙江省34位、福建省29位、四川省30位、河北省28位、天津市28位、广西壮族自治区21位、贵州省22位、湖南省21位、安徽省20位、河南省20位、吉林省20位、甘肃省18位、江西省18位、云南省17位、重庆市17位、新疆维吾尔自治区15位、山西省11位、海南省8位、内蒙古自治区3位、宁夏回族自治区2位、青海省2位、香港特别行政区1位及美国1位．

总顾问
陈可冀教授
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
柴宁莉主任医师
常丽丽主任医师
陈国忠主任医师
陈洪教授
陈明锴教授
陈其奎教授
陈伟副主任医师
陈卫昌教授
陈卫刚教授
陈贻胜教授
陈源副教授
程斌教授
池肇春教授
迟宝荣教授
迟雁副教授
褚传莲副教授
崔立红教授
戴菲副主任医师
丁浩主治医师
丁士刚教授
丁雯瑾主治医师
丁震副主任医师
董蕾教授
董卫国教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇教授
段志军教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
范一宏主任医师
冯百岁教授
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
郭津生主任医师
郭晓钟教授
韩双印主任医师
韩英教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
郝微微主任医师
郝英霞主任医师
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
黄志刚主任医师
霍丽娟主任医师
季光教授
季国忠教授
贾国葆副教授
贾林教授
菅向东主任医师
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
蒋波涛副主任医师
蒋益主任医师
金博主任医师
金海燕教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李兆申教授
梁洁副教授
林军教授
林琳教授
林志辉教授
刘爱群副主任医师
刘冰熔教授
刘德良教授
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
刘鹏飞主任医师
刘平教授
刘文天教授
龙云主治医师
芦永福副教授
罗和生教授
罗素霞主任医师
吕农华教授
吕小平教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
毛华教授
孟庆华教授
孟祥军主任医师
缪应雷主任医师
宁守斌主任医师
牛春燕教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
钦丹萍教授
曲宝戈主任医师
任粉玉教授
沙杰副主任医师
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
沈卫东副主任医师
施瑞华教授
石定主任医师
石振东副主任医师
时永全教授
宋军副教授
孙自勤教授
汤绍辉教授
唐世刚教授
唐映梅副主任医师
田德安教授
田宇彬教授
度必光教授
宛新建副教授
汪安江副主任医师
汪余勤副主任医师
王承党教授
王江滨教授
王良静研究员
王蓉主任医师
王甦副教授
王蔚虹教授
王晓娣主任医师
王志荣教授
王忠莉主任医师
吴晓玲副主任医师
夏金荣主任医师
夏时海教授
向晓星主任医师
谢会忠教授
辛永宁副教授
徐灿副教授
徐辉主任医师
徐可树教授
徐萍教授
许翠萍主任医师
许钟副主任医师
薛博瑜教授
阳学凤教授
杨建民教授
杨长青教授
姚定康教授
叶丽萍教授
于珮主任医师
展玉涛主任医师
张福奎主任医师
张国顺主任医师
张国主任医师
张海蓉教授
张锦华主任医师
张明鑫主治医师
张庆瑜教授
张秋瓒主任医师
张涛副主任医师
张伟副主任医师

张炜副教授
张小晋主任医师
张雅丽主任医师
张艳丽副主任医师
张燕主任医师
张志宏副主任医师
郑家驹主任医师
郑培永研究员
郑鹏远教授
郑盛副教授
郑素军主任医师
郅敏副教授
钟碧慧教授
钟捷教授
钟卫一副主任医师
钟英强教授
周国雄主任医师
周力主任医师
周新民教授
周莹群副主任医师
朱强教授
朱小三主治医师
朱元民主任医师
左秀丽主任医师

消化外科学
白日星主任医师
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
白月奎主任医师
卜献民副教授
蔡建春教授
蔡建辉教授
蔡金贞教授
柴新群主任医师
陈炳官教授
陈大伟主任医师
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏主任医师
陈凛教授
陈龙奇主任医师
陈平教授
陈汝福教授
陈思曾教授
陈晓鹏教授
陈孝平教授
陈钟教授
程树群副教授
迟天毅副教授
仇毓东教授
褚海波主任医师
崔清波副教授
崔彦主任医师
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
单云峰主任医师
丁健华主任医师
丁义涛教授
丁永斌主任医师
杜国盛主任医师
杜顺达副教授
杜潇副教授
范应方主任医师
范跃祖教授
方哲平主任医师
房学东教授
傅红副教授
傅廷亮教授
傅小云副主任医师
傅晓辉副教授
高军副主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
耿庆教授
耿智敏主任医师
宫轲教授
龚建平主任医师
顾国利副主任医师
顾晋教授
顾岩教授
管小青教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
何向辉教授
何裕隆教授
侯纯升主任医师
胡安斌教授
黄成副主任医师
黄耿文 副主任医师
计勇教授
英卫东教授
贾云鹤教授,
江艺主任医师
姜波健教授
姜洪伟主任医师
蒋小华副教授
焦作义教授
金黑鹰教授
金山主任医师
靖昌庆主任医师
鞠少卿教授
康春博副主任医师
克力木·阿不都热
依木教授
孔静副教授
兰平教授
李德宇主任医师
李富宇教授
李革副教授
李海民教授
李华教授
李华山主任医师
李江涛主任医师
李靖教授
李宁主任医师
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗副教授
李小荣教授
李晓武教授
李徐奇副教授
李旭副教授
李汛教授
李勇教授
李幼生教授
李玉民教授
李元新教授
李云龙副教授
李哲夫主任医师
李正荣副教授
李宗芳教授
梁道明副教授
梁力建教授
梁廷波主任医师
刘宝林教授
刘超教授
刘飞德副主任医师
刘刚主任医师
刘宏斌主任医师
刘宏鸣副教授
刘厚宝主任医师
刘江文主任医师
刘金钢教授
刘金华副主任医师
刘亮副主任医师
刘权焰教授
刘三光副教授
刘尚国副教授
刘逸副主任医师
刘作金主任医师
卢实春教授
陆才德主任医师
禄韶英副教授
骆成玉教授
吕云福教授
麻勇副研究员
孟繁杰教授
孟庆成副教授
牟一平教授
倪俊副主任医师
牛伟新 教授
潘光栋主任医师
潘明新主任医师
彭利教授
彭南海教授
彭松林副教授
齐清会教授
乔世峰主任医师
秦华东教授
秦建民主任医师
秦仁义教授
邱成志教授
邱江锋主任医师
邱伟华主任医师
邱云峰主任医师
曲兴龙主任医师
任宁主任医师
阮翊主任医师
尚东主任医师
邵万金主任医师
申占龙副教授
沈世强教授
沈志勇主任医师
施宝民教授
施诚仁教授
石毓君副研究员
帅晓明副教授
宋京海主任医师
宋武教授
宋新明教授
宋振顺教授
苏松副教授
孙诚谊教授
孙光副主任医师
孙文兵教授
孙象军副主任医师
孙星副教授
孙学英教授
孙勇副主任医师
孙勇伟主任医师
孙昀副主任医师
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授
唐哲教授
陶凯雄教授
田虎主任医师
佟立权主任医师
万赤丹教授
汪波主任医师
汪昱主任医师
王从俊副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王宏副主任医师
王坚教授
王健生教授
王蒙副教授
王巍主任医师
王卫东主任医师
王小明主任医师
王晓锋副主任医师
王晓鹏副主任医师
王雪峰主任医师
王毅军教授
王永兵主任医师
王悦华主任医师
王长森教授
王振军教授
王征副主任医师
王铮副研究员
王志明教授
王忠裕教授
尉继伟教授
魏东主任医师
魏益平副主任医师
邬林泉教授
吴德全教授
吴帆副主任医师
吴立胜副主任医师
吴硕东主任医师
吴伟顶副主任医师
吴文川副主任医师
吴文溪教授
吴晓峰副主任医师
吴学东教授
伍晓汀主任医师
向国安主任医师
向进见副主任医师
肖江卫主任医师
肖卫东副教授
谢斌辉主任医师
谢敏主任医师
谢义民副主任医师
谢于副主任医师
徐阿曼教授
徐锋副教授
徐进副教授
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许洪卫主任医师
许建新副主任医师
许剑民教授
许庆文主任医师
薛东波教授
薛英威教授
闫峰副教授
杨柏霖主任医师
杨家和主任医师
杨晓军副主任医师
姚英民教授
殷佩浩副主任医师
殷正丰教授
于则利教授
俞富祥副教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
元海成主治医师
袁周副主任医师
臧潞副主任医师
翟博副主任医师
张安平副教授
张丰深主任医师
张宏教授
张建文主任医师
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张连阳教授
张鹏副研究员
张万广副教授
张西波副教授
张新晨教授
张振海副主任医师
赵宝生主任医师
赵礼金主任医师
赵青川主任医师
郑虹主任医师
郑建勇副教授
郑民华教授
支巧明主治医师
智绪亭教授
周进学副教授
周平红教授
周彤教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
周志祥教授
朱海宏副主任医师
朱继业教授
朱建平主任医师
朱建伟教授
朱世凯副主任医师
朱小朝副主任医师
朱正纲教授
朱志军教授
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
陈良主任医师
陈茂伟教授
程明亮教授
程书权教授

戴二黑教授
丁惠国教授
丁向春副教授
范学工教授
冯全生教授
高润平教授
高泽立副教授
龚作炯教授
顾生旺主任医师
管世鹤教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
胡康洪教授
靳雪源主任医师
卡世全主任医师
兰英华副教授
梁跃东副教授
林潮双主任医师
林世德教授
刘纯杰研究员
刘妍副研究员
刘正稳教授
楼宏强副教授
卢秉久教授
伦永志副教授
马丽娜主任医师
毛德文教授
孟忠吉教授
缪梓萍主任医师
聂青和教授
彭亮副主任医师
钱福初副主任技师
钱林学主任医师
秦波教授
裘云庆教授
盛吉芳主任医师
施光峰教授
孙明瑜研究员
孙维会副主任医师
谭华炳教授
童巧霞主任医师
涂相林主任医师
王春荣副主任技师
王多春研究员
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
谢仕斌主任医师
邢卉春教授
胥婕主任医师
宣世英教授
颜学兵教授
杨东亮教授
杨贵波教授
杨江华副教授
姚鹏主任医师
于建武教授
张明辉主任医师
张婷副主任医师
张一教授
张占卿主任医师
赵春华副主任医师
赵秀英副教授
郑瑞丹副教授
周陶友副教授
朱传武教授
朱新宇教授
庄林主任医师
庄英杰主任医师

消化中医药学

陈涛教授
杜群研究员
郭潮潭教授
黄培副主任医师
贾永森副教授
李军祥教授
李康副教授
李卫强副教授
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
马增春研究员
南极星教授
牛英才研究员
秦冬梅副教授
任路教授
司富春教授
斯拉甫•艾白教授
孙学刚教授
谭周进教授
唐旭东主任医师
唐勇研究员
王兵主任医师
王富春教授
王晶副教授
王来友副教授
王笑民主任医师
吴焕淦教授
谢春娥主任医师
谢胜主任医师
徐庆教授
许玲教授
严兴科教授
杨宗保副教授
袁红霞研究员
张永生副研究员
周本杰主任药师
祝晨蔯教授

消化肿瘤学

曹巍教授
曹秀峰教授
曹志成院士
常树建副主任医师
陈锦飞主任医师
陈绍勤副教授
陈淑珍研究员
陈思宇主任医师
陈主初教授
崔杰峰副研究员
代智副研究员
戴益琛教授
丁克峰教授
董稚明教授
范辉副教授
冯继红副教授
冯茂辉副教授
符兆英教授
傅剑华教授
高林波副研究员
关泉林教授
何帮顺讲师
侯凤刚副教授
胡冰教授
胡兵副研究员
胡国清教授
华东教授
华海清教授
江家骥教授
江建新副主任医师
姜又红教授
蒋敬庭教授
蒋晓东教授
金晶主任医师
靖大道教授
李成刚副教授
李杰主任医师
李苏宜教授
李伟华教授
李子禹教授
梁国刚教授
梁后杰教授
梁颖讲师
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘国龙教授
刘云鹏教授
柳长柏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
陆斌副教授
孟立娜教授
聂飚副主任医师
朴龙镇副教授
曲春枫教授
沈克平主任医师
史颖弘副教授
隋红副教授
谭煌英主任医师
谭宁副研究员
谭盛葵教授
谭诗云教授
唐景峰副教授
唐亚雄研究员
田华副研究员
田艳涛主任医师
王成锋主任医师
王阁教授
王凯峰副主任医师
王凯娟教授
王伟主治医师
魏国副主任医师
吴健雄主任医师
向邦德主任医师
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
徐建明主任医师
徐克成教授
颜兵主治医师
杨宏强副教授
杨秋蒙副主任医师
伊力亚尔•夏合丁教授
袁媛教授
张德奎主任医师
张方信主任医师
张凤春教授
张静姝研究员
张倜主任医师
张晓丽副教授
张毅教授
张钰副研究员
郑丽端副教授
周福有教授
周建奖教授
朱永良副研究员

消化影像学

白彬主任医师
曾宪春主任医师
陈天武教授
管樑主任医师
郭顺林教授
郭万亮副教授
胡红杰主任医师
季倩副主任医师
李德春主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
吕维富教授
马立恒副主任医师
马苏美主任医师
饶圣祥副主任医师
任刚副主任医师
任小军副主任医师
沈君教授
唐磊主任医师
王劲主任医师
王军主任医师
王荣福教授
王学梅教授
王雅棣教授
危安主任医师
文碧秀教授
吴晶涛主任医师
肖恩华教授
肖文波主任医师
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

陈凤媛副教授
陈素钻主任医师
陈小勇主任医师
陈鑫副主任医师
丁西平主任医师
冯对平副主任医师
高道键副教授
高峰主任医师
郭强主任医师
孔德润教授
李家平教授
李鹏教授
刘杰民主任医师
刘展主任医师
茅爱武教授
施宏主任医师
孙冬林主任医师
孙明军教授
田锦林副主任医师
万军教授
王艳红主治医师
王跃东主任医师
吴杰主任医师
吴灵飞教授
余日胜主任医师
张火俊副教授
张立玮教授
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
邓晶晶副主任医师
杜业勤主任医师
高月求教授
郭卉主任医师
霍介格主任中医师
孔桂美讲师
梅武轩教授
南月敏主任医师
唐文富教授
王宪波教授
王学美研究员
魏睦新教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
赵岩教授

消化基础研究

安增梅副主任医师
蔡文品副主任技师
曾涛副教授
曾柱教授
陈杰副主任药师
陈敬贤教授
陈晓教授
崔莲花教授
崔梅花主任医师
邓安梅教授
邓庆副研究员
邓益斌教授
邸阜生主任医师
董玉兰副教授
段义农教授
高国全教授
高英堂研究员
顾兵副研究员
郭澄教授
郭俊明教授
郭长江研究员
哈小琴主任医师
黄辰教授
黄河副教授
黄坚副主任医师
黄昆教授
黄维亮主任检验师
黄文林教授
姜宏教授
蒋炜副教授
雷招宝主任药师
黎观红教授
李东辉教授
李刚教授
李瀚旻教授
李君文研究员
李玲副教授
李孟森教授
李姝副主任医师
李树德副教授
李文贵副教授
李夏青教授
李欣副教授
李欣教授
李焱副研究员
李增山副教授
李铮教授
刘克辛教授
刘起胜副教授
刘树业主任技师
刘松林教授

刘旭东副主任医师
刘长征副教授
柳增善教授
陆伦根主任医师
罗茂副研究员
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
乔明琦教授
秦雪教授
曲芬教授
任浩副教授
沈东炎副教授
沈美龙主任医师
沈涛副教授
石松林副教授
宋景春副主任医师
苏兆亮副教授
孙同文教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静副主任药师
田文静副教授
汪海峰教授
汪思应教授
王改平副教授
王健教授
王明荣研究员
王钦红教授
王书奎教授
王晓东主任医师
王秀伶教授
王勇教授
王友亮副研究员
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
吴巧凤副研究员
吴志强副教授
伍义行教授
夏敏教授
胥萍主任技师
秧茂盛教授
杨金娥副教授
姚继红教授
阴赖宏研究员
岳昌武副教授
张达矜副研究员
张红教授
张红杰教授
张丽军研究员
张利生教授
张淑坤副研究员
张卓副教授
赵海梅副教授
赵鹏伟讲师
赵铁建教授
郑曙云副教授
周春祥教授
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
庄园副研究员

消化病理学

陈云昭副教授
樊祥山副主任医师
耿明主任医师
郭炜教授
韩安家教授
何清主任医师
季菊玲副教授
李慧副教授
李忠武副教授
林洁副教授
刘芳芳副主任医师
刘丽江教授
陆建波主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
齐晓薇副主任医师
秦阳华主治医师
石雪迎主任医师
孙青主任医师
王宝根副主任医师
王金胜教授
王莉主任医师
王娅兰教授
颜宏利教授
杨勤教授
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

消化护理学

安力彬教授
成杰副主任护师
崔岩副主任护师
单信芝副主任护师
丁焕娟副主任护师
方英副主任护师
房辉副教授
高薇副主任护师
葛淑芝副主任护师
谷敏副主任护师
郭会敏主管护师
郭巧珍主管护师
赫玲玲主任护师
黄砚萍副主任护师
惠娜主管护师
吉建华副主任护师
江丽萍副主任护师
江萍主任护师
金凤娟副主任护师
金爽主任护师
靳雁副主任护师
孔德玲副主任护师
李金娜主任护师
李俊玲主任护师
李卡副主任护师
李丽副主任护师
李连红主任护师
李珑主任护师
李敏香副主任护师
李雯副主任护师
李秀芬副主任护师
李谆副主任护师
廖培娇副主任护师
林征教授
刘慧萍主任护师
刘永宁副主任护师
龙晓英主任护师
卢根娣主任护师
罗凝香副主任护师
马久红副主任护师
马燕兰主任护师
孟志新副主任护师
潘爱红副主任护师
潘玉凤副主任护师
齐向秀主管护师
齐艳副主任护师
乔晓斐副主任护师
乔筱玲副主任护师
任珍主任护师
史铁英主任护师
宋江美副主任护师
宋艳燕副主任护师
孙丽娟副主任护师
孙莉副主任护师
孙晓美副主任护师
唐碧云副主任护师
唐鲁主管护师
陶然主管护师
滕莉副主任护师
田银娣主管护师
王春英副主任护师
王红副主任护师
王家香主任护师
王庆华副教授
王晓春副主任护师
王琇副主任护师
王宇副主任护师
王玉娟主任护师
韦键主管护师
席惠君副主任护师
谢晓芬主管护师
许璧瑜副主任护师
薛海燕副主任护师
薛素梅主任护师
杨会副主任护师
杨云英主任护师
姚丽文副主任护师
叶海丹副主任护师
尹安春主任护师
俞静娴副主任护师
袁晓青副主任护师
张彩云主任护师
张洁副主任护师
张丽副主任护师
张丽燕主管护师
张琳琳副教授
张敏副主任护师
张善红副主任护师
张咏梅教授
赵艳伟副主任护师
郑粉善副主任护师
郑思琳主任护师
郑雪梅副主任护师
周文琴副主任护师
周谊霞副教授
朱秀琴副主任护师
朱颖副主任护师

WCJD 世界华人消化杂志®

目　次

2016年3月18日 第24卷 第8期 (总第520期)

述评

1145 门脉高压胃底静脉曲张防治进展
姜琴, 孔德润
1153 上皮-间质转化与肝胆管结石病的研究进展
赵礼金, 王芳

基础研究

1159 柴胡皂苷d对活化的HSC-T6细胞MMP-1、TIMP-1表达的影响及其分子机制
林柳兵, 阙任烨, 刘进锴, 沈艳婷, 陶智会, 李勇
1166 大蒜素抑制肝癌MHCC97H细胞的迁移、侵袭
王文涛, 原皓, 杨丙信
1175 过表达*CD44v6*基因对人大肠癌SW480细胞侵袭迁移能力的影响
吕林, 刘海光, 张筱骅

临床研究

1184 基于microRNAs调控的慢性HBV感染的分子机制
张传涛, 刘业方, 黄群, 刘真真, 王德莉, 杨鸿, 辜海英, 胡蓉, 郑政隆, 乔胃娟

文献综述

1191 肝脏缺血再灌注损伤与脂质过氧化反应的关系
郭建荣, 王继亮
1198 肝癌干细胞的调控机制及靶向治疗的研究进展
佴启元, 魏梦雪, 许伟
1206 胰腺导管腺癌的治疗进展
段睿男, 钟翔宇, 崔云甫
1213 5-羟甲基胞嘧啶: 早期检测消化系肿瘤的新标志物?
张荣, 林辉
1220 幽门螺杆菌感染与糖尿病
宋淑然, 赵丽梅, 赵宝华

研究快报

1227 X射线对食管鳞癌细胞HOTAIR, Snail及E-cadherin表达水平影响
达春丽, 谭遥, 展翼翼, 李亚伟, 刘凯, 王若峥

1233 过表达CXCR4的间充质干细胞缓解实验性结肠炎
刘星星, 范恒, 唐庆, 寿折星, 陶玲, 张丽娟, 左冬梅

1241 幽门螺杆菌不同运送条件及培养基分离效果的比较
王琼, 杨杰, 潘科, 黄亚琴, 陈峥宏, 王菲, 綦廷娜

临床经验

1247 胃食管反流病患者甘丙肽、5-羟色胺的表达及其与精神心理因素的相关性
袁媛, 刘恒旸, 陈阳, 肖茹萍, 卜平

1252 腹腔镜下根治性全胃切除术中两种食管空肠吻合方式与并发症关系
王超珺, 张思宇, 黄小蓉

1257 药物性肝损伤临床特征及预后多学科专家共识
任张青, 王进海, 李浩, 白玉茹, 杨龙宝

1264 腹腔镜联合纤维胆道镜与常规开腹术式治疗胆囊并胆总管结石的临床对比
程利民, 刘洋, 孙志德, 刘淑敏, 张学军

1269 胰腺实性假乳头状瘤的超声特征及鉴别诊断
祁晓英, 马琳, 卢强, 杨露璐, 李加伍, 凌文武, 罗燕

1277 内镜护士参与观察对结肠镜下息肉检出率的影响
任科雨, 勇春明, 崔铭娟, 王艳婷, 魏良洲, 曹彬

1282 腹腔镜手术及医生专业化程度对直肠癌治疗的临床效果
丁芝金, 刘志远, 葛洋, 曹献馗, 李树强, 孙威, 刘宝林

1289 中医情志护理干预缓解恶性肿瘤患者化疗消化系反应的效果
马晓庆, 余爱萍, 钟静静

1293 超声刀加皮桥横向转移治疗环状混合痔的临床疗效
付欢欢, 余苏萍

病例报告

1298 华法林过量致小肠黏膜下出血1例
梁灿灿, 纪文静, 丁永年, 柯月, 彭媛媛

1302 英夫利昔单抗治疗肠白塞病1例并文献复习
王一娜, 李瑭, 古洁若

附　　录

Ⅰ－Ⅴ 《世界华人消化杂志》投稿须知
Ⅰ 2016年国内国际会议预告

志　　谢

Ⅰ－Ⅱ 志谢《世界华人消化杂志》编委

目次

消　　息

1152 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
1158 《世界华人消化杂志》正文要求
1165 《世界华人消化杂志》栏目设置
1183 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
1205 《世界华人消化杂志》外文字符标准
1268 《世界华人消化杂志》修回稿须知
1276 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事
1306 《世界华人消化杂志》参考文献要求

封面故事

《世界华人消化杂志》编委, 赵礼金, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 医学博士, 563003, 贵州省遵义市汇川区大连路201号, 遵义医学院附属医院肝胆胰外科. 现任贵州省消化病医院副院长, 遵义医学院附属医院肝胆外科主任. 从事肝胆胰基础与临床研究, 主要方向为肝胆管结石病胆管纤维化的基础与临床研究. 主持了国家自然科学基金, 贵州省卫生厅、科技厅, 贵州省省长基金等多项课题, 发表论文20余篇, SCI收录3篇, 获省级科技成果二等奖一项.

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 于明茜; 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 2016-03-18
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

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

主编
程英升, **教授**, 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**, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

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》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

《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

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

WCJD 世界华人消化杂志®

Contents

Volume 24 Number 8 March 18, 2016

EDITORIAL

1145 Management of gastric varices associated with portal hypertension

Jiang Q, Kong DR

1153 Epithelial-to-mesenchymal transition and hepatolithiasis

Zhao LJ, Wang F

BASIC RESEARCH

1159 Effect of saikosaponin-d on expression of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in activated HSC-T6 cells: Underlying mechanism

Lin LB, Que RY, Liu JK, Shen YT, Tao ZH, Li Y

1166 Allicin inhibits cell migration and invasion in human hepatocellular carcinoma cell line MHCC97H

Wang WT, Yuan H, Yang BX

1175 Impact of *CD44v6* overexpression on invasion and metastasis of colon cancer SW480 cells

Lv L, Liu HG, Zhang XH

CLINICAL RESEARCH

1184 Molecular mechanism of chronic HBV infection based on miroRNA regulation

Zhang CT, Liu YF, Huang Q, Liu ZZ, Wang DL, Yang H, Gu HY, Hu R, Zheng ZL, Qiao WJ

REVIEW

1191 Relationship between hepatic ischemia-reperfusion injury and lipid peroxidation

Guo JR, Wang JL

1198 Regulatory mechanisms and therapeutic targeting of liver cancer stem cells

Nai QY, Wei MX, Xu W

1206 Progress in treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma

Duan RN, Zhong XY, Cui YF

1213 5-hydroxymethylcytosine: A new marker for early detection of digestive system tumors?

Zhang R, Lin H

1220 *Helicobacter pylori* infection and diabetes mellitus

Song SR, Zhao LM, Zhao BH

RAPID COMMUNICATION

1227 Radiation-induced expression of HOTAIR, Snail and E-cadherin in esophageal squamous cell carcinoma cells
Da CL, Tan Y, Zhan YY, Li YW, Liu K, Wang RZ

1233 Intravenous administration of mesenchymal stem cells overexpressing CXCR4 protects against experimental colitis in rats
Liu XX, Fan H, Tang Q, Shou ZX, Tao L, Zhang LJ, Zuo DM

1241 Effect of different transport conditions and media on *Helicobacter pylori* isolation
Wang Q, Yang J, Pan K, Huang YQ, Chen ZH, Wang F, Qi TN

CLINICAL PRACTICE

1247 Correlation between plasma galanin and 5-hydroxytryptamine and psychological status in patients with gastroesophageal reflux disease
Yuan Y, Liu HY, Chen Y, Xiao RP, Bu P

1252 Relationship between mode of esophagojejunostomy in laparoscopic radical total gastrectomy and complications
Wang CJ, Zhang SY, Huang XR

1257 Multidisciplinary expert consensus on clinical features and prognosis of drug-induced liver injury
Ren ZQ, Wang JH, Li H, Bai YR, Yang LB

1264 Comparative study of laparoscopy combined with fiberoptic choledochoscopy and conventional open surgery in treatment of gallbladder stones with common bile duct stones
Cheng LM, Liu Y, Sun ZD, Liu SM, Zhang XJ

1269 Ultrasonographic features and differential diagnosis of solid pseudopapillary tumors of the pancreas
Qi XY, Ma L, Lu Q, Yang LL, Li JW, Ling WW, Luo Y

1277 Impact of endoscopy nurse involvement on polyp detection rates during colonoscopy
Ren KY, Yong CM, Cui MJ, Wang YT, Wei LZ, Cao B

1282 Efficacy of laparoscopic surgery for rectal cancer and impact of surgeon's degree of specialization: A single center clinical study
Ding ZJ, Liu ZY, Ge Y, Cao XK, Li SQ, Sun W, Liu BL

1289 Traditional Chinese medicine emotional care for alleviation of gastrointestinal reactions to chemotherapy in patients with gastrointestinal cancer
Ma XQ, Yu AP, Zhong JJ

1293 Ultrasonic knife combined with peel bridge lateral transfer for treatment of circumferential mixed hemorrhoids
Fu HH, Yu SP

CASE REPORT

1298 One case of small intestinal submucosal hemorrhage caused by warfarin overdose
Liang CC, Ji WJ, Ding YN, Ke Y, Peng YY

1302 Treatment of intestinal Behcet's disease with infliximab: A case report and literature review
Wang YN, Li T, Gu JR

World Chinese Journal of Digestology
Volume 24 Number 8 March 18, 2016

Contents

APPENDIX
Ⅰ－Ⅴ Instructions to authors
Ⅰ Calendar of meetings and events in 2016

ACKNOWLEDGMENT
Ⅰ－Ⅱ Acknowledgments to reviewers for the *World Chinese Journal of Digestology*

COVER
Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Li-Jin Zhao, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 201 Dalian Road, Huichuan District, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Indexed/Abstracted by
Chinese Journal Full-text Database, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, and Abstract Journals.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE
Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Jin-Li Yan, Zhen-Zhen Du* Electronic Editor: *Jin-Li Yan*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Ming-Xi Yu* Proof Editor: *Peng Guo*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date March 18, 2016

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, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, 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 13901166126
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
© 2016 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, but 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1145

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1145-1152
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

述评 EDITORIAL

门脉高压胃底静脉曲张防治进展

姜 琴, 孔德润

姜琴, 孔德润, 安徽医科大学第一附属医院消化内科 安徽省合肥市 237000

孔德润, 主任医师, 主要从事门脉高压症的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81271736

作者贡献分布: 本研究由姜琴与孔德润共同完成; 孔德润负责审校.

通讯作者: 孔德润, 主任医师, 237000, 安徽省合肥市蜀山区绩溪路218号, 安徽医科大学第一附属医院消化内科. kdr168@sohu.com

收稿日期: 2015-12-13
修回日期: 2016-01-12
接受日期: 2016-01-19
在线出版日期: 2016-03-18

Management of gastric varices associated with portal hypertension

Qin Jiang, De-Run Kong

Qin Jiang, De-Run Kong, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 237000, Anhui Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81271736

Correspondence to: De-Run Kong, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 218 Jixi Road, Shushan District, Hefei 237000, Anhui Province, China. kdr168@sohu.com

Received: 2015-12-13
Revised: 2016-01-12
Accepted: 2016-01-19
Published online: 2016-03-18

Abstract

The rate of gastric variceal bleeding is significantly lower than that of esophageal variceal bleeding. Although gastric variceal bleeding occurs in only 10% of cirrhotic patients with hemorrhage, the bleeding is usually more severe, and is associated with higher mortality. To date, the majority of studies have focused on the treatment of esophageal variceal bleeding, but there were few studies on the treatment of gastric varices. As a result, there is still no standardized treatment for gastric varices. Endoscopic injection of cyanoacrylate is currently the optimum approach to control active bleeding from gastric varices. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) can be used in acute gastric variceal bleeding and secondary prophylaxis. Balloon-occluded retrograde transvenous obliteration (BRTO) may be used in patients with gastric varices associated with a gastrorenal shunt. In recent years, endoscopic therapy and radiologic therapy have been developed for the treatment of patients with gastric variceal bleeding associated with portal hypertension. Here we describe the optimum treatment strategies for gastric variceal bleeding associated with portal hypertension as well as their therapeutic effects and complications.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver cirrhosis; Hypertension; Portal; Portasystemic shunt; Transjugular intrahepatic; Esophageal and gastric varices; Tissue glue

Jiang Q, Kong DR. Management of gastric varices associated with portal hypertension. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1145-1152 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1145.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1145

背景资料

胃底静脉曲张发生率较低, 约占肝硬化出血的10%, 但其一旦出血, 比食管静脉曲张出血更严重, 易反复发生出血, 并且有更高的病死率. 然而, 由于随机对照试验缺乏, 目前关于胃底静脉曲张的规范化治疗尚未形成统一意见.

同行评议者

毛华, 教授, 主任医师, 南方医科大学(原第一军医大学)珠江医院消化内科

研发前沿

为了控制急性胃静脉曲张出血和预防再出血, 越来越多的治疗方法被应用, 如β-受体阻滞剂治疗、内镜下组织黏合剂治疗、内镜下凝血酶注射治疗、经颈静脉肝内门体分流术及球囊导管逆行性静脉栓塞术等.

摘要

同食管曲张静脉相比, 胃底静脉曲张发生率较低, 约占肝硬化出血的10%, 但其一旦出血, 比食管静脉曲张出血更严重, 易反复发生出血, 并且有更高的病死率. 目前国内研究主要关注食管静脉曲张出血的处理, 但关于胃底静脉曲张治疗的研究相对较少, 且其规范化治疗也未形成统一意见. 内镜下组织胶黏合剂注射治疗是控制胃静脉曲张出血最常用的治疗方法. 经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)可用于急性胃静脉曲张出血和二级预防中. 球囊导管逆行性静脉栓塞术(balloon-occluded retrograde transvenous obliteration, BRTO)可用于胃静脉曲张伴胃肾分流患者. 近年来, 门脉高压胃底静脉曲张出血的内镜下治疗及介入治疗已有很大发展, 本文就其治疗策略、疗效及并发症作一简要综述.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝硬化; 高血压; 门静脉; 门体分流术; 经颈静脉肝内; 食管胃静脉曲张; 组织胶治疗

核心提示: 组织胶黏合剂注射治疗是控制胃静脉曲张出血最常用的治疗方法. 经颈静脉肝内门体分流术可用于急性胃静脉曲张出血和二级预防中. 球囊导管逆行性静脉栓塞术可用于胃静脉曲张伴胃肾分流患者. 具体治疗方法依据临床表现及检查而定.

姜琴, 孔德润. 门脉高压胃底静脉曲张防治进展. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1145-1152 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1145.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1145

0 引言

同食管曲张静脉相比, 胃底静脉曲张发生率较低, 约占肝硬化出血的10%, 但其一旦出血, 比食管静脉曲张出血更严重, 易反复发生出血, 并且有更高的病死率[1-3]. 然而, 由于随机对照试验缺乏, 目前关于胃底静脉曲张的规范化治疗尚未形成统一意见.

胃底静脉曲张有多种分型方法, 不同类型对指导临床治疗有重要意义. 目前最常用的为Sarin's分型, 他将胃底静脉曲张按部位分四型, 分别为GOV1(食管静脉曲张跨过食管胃交界处, 沿胃小弯向下延伸2-5 cm)、GOV2(食管曲张静脉跨过食管胃交界处, 向胃底部延伸)、IGV1(曲张静脉位于胃底部, 无食管静脉曲张)、IGV2[曲张静脉位于胃体、胃窦或十二指肠(异位曲张), 无食管静脉曲张]. 且根据Sarin等[2]报道不同类型的胃静脉曲张的构成比及出血率有很大差异(表1), GOV2和IGVI型胃静脉曲张出血率相对高, 因而对这两型更需采取积极的处理措施, GOV1型治疗方法与食管静脉曲张治疗方法类似. 本文主要针对GOV2型及IGV型胃静脉曲张的微创治疗作一简要综述.

目前针对GOV2型及IGV型胃底静脉曲张治疗方案主要有药物治疗、内镜下治疗、介入治疗及外科手术治疗等.

1 药物治疗

生长抑素或其衍生物及血管加压素或其衍生物曾被用于控制急性静脉曲张出血的两大主要药物, 且特利加压素是在临床试验中被证明可以降低死亡率的药物[4]. 然而, 在既往研究[5,6]和最近的一项随机对照试验研究中, 比较特利加压素、奥曲肽及生长抑素治疗静脉曲张出血的疗效时, 发现三者的治疗成功率、再出血率及死亡率无差异. 最新指南[7]表明出血中预防性应用抗生素可降低死亡率. 然而, 上述研究的多数病例都是食管静脉曲张, 到目前为止, 很少有研究探讨药物治疗在胃底静脉曲张中的应用.

非选择性β-受体阻滞剂是静脉曲张出血一级预防和再出血预防的主要药物. 有研究[8,9]表明β-受体阻滞剂减少了再出血率, 对生存率无影响. 也有研究[10]比较了组织胶和β-受体阻滞剂预防胃静脉曲张出血疗效表明, 前者的出血率明显减少, 但两者生存率无差别. 2015年英国肝硬化静脉曲张出血防治指南提出: 在胃静脉曲张出血的一级预防中, 应根据患者意愿和临床判断, 伴有严重GOV2型的高危患者可给予β-受体阻滞剂治疗; 预防胃静脉曲张再出血时, 应根据患者意愿及临床诊断, 可考虑使用β-受体阻滞剂[7]. 然而, 临床上关于β-受体阻滞剂在胃静脉曲张出血一级预防以及再出血预防作用的研究较少, 今后仍需进一步完善.

2 内镜下治疗

美国肝病协会指南及Baveno Ⅳ将内镜下治疗

表 1 不同类型构成比和出血率(%)

分型	构成比	出血率
GOV1	74	12
GOV2	16	55
IGV1	8	78
IGV2	2	9

作为静脉曲张出血的一线治疗方案. 胃静脉曲张出血内镜下治疗主要包括内镜下曲张静脉套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)、内镜下硬化剂注射(endoscopic sclerotherapy, EIS)、内镜下组织黏合剂注射或内镜下凝血酶注射.

2.1 EVL EVL是预防和治疗食管静脉曲张出血和再出血的一线治疗. Baveno V和美国肝病协会指南推荐EVL用于GOV1型胃底静脉曲张治疗, 因为此型静脉曲张被认为是食管静脉曲张的延伸. EVL很少用于其他类型胃底静脉曲张原因主要有以下几点: (1)胃黏膜较食管黏膜厚, 增加套扎过程中吸入难度; (2)胃曲张静脉相对粗大, 很难完全进入套扎器内; (3)套扎术后易形成致命性的溃疡出血; (4)套扎仅使部分曲张静脉纤维化, 易引起术后再出血和曲张静脉再生. EVL广泛用于静脉曲张出血, 较EIS有较低的再出血发生率、病死率及并发症[11,12]. 既往研究[13]比较EVL组和组织胶组治疗胃底静脉曲张疗效表明, 两组并发症发生率相似, 但EVL组止血率低, 再出血发生率高. 但对于组织胶无效的胃底静脉曲张, EVL仍被作为一种治疗选择.

2.2 EIS EIS在治疗食管静脉曲张出血和根除食管静脉曲张方面相当有效, 但EIS在治疗胃底静脉曲张中成功率低, 且EIS治疗GOV1型胃底静脉曲张似乎比治疗GOV2型和IGV型静脉曲张更有效. 可能原因是胃底曲张静脉血流量和流速均大于食管曲张静脉, 导致治疗中硬化剂迅速被冲进血液循环中, 增加异位栓塞风险, 且对于粗大的GOV2型和IGV型曲张静脉, 需要大量硬化剂治疗, 增加了EIS术后并发症的发生, 如发热、胸痛、腹痛、巨大溃疡等. 随着EVL技术成熟, EIS治疗食管静脉曲张和GOV1型胃底静脉曲张也逐渐被EVL治疗代替. 但对于EVL和组织胶无效的曲张静脉, EIS仍被作为一种补救治疗选择.

2.3 内镜下组织黏合剂注射 内镜下组织胶注射治疗最早报道用于食管静脉曲张出血, 自1986德国医生Soehendra等[14]第一次应用组织胶治疗胃底静脉曲张, 其后应用日趋广泛. 目前应用最多的组织黏合剂为N-丁基-2-氰丙烯酸盐, 多项研究[15-21]已表明N-丁基-2-氰丙烯酸盐治疗胃底静脉曲张止血率均高于90%. 美国肝病协会和欧洲肝病协会最新指南推荐组织胶黏合剂注射作为胃底静脉曲张出血的一线治疗和二级预防. 有学者比较了组织黏合剂注射治疗组与β-受体阻滞剂药物治疗组预防和治疗胃静脉出血的疗效表明, 组织黏合剂注射组更安全、更有效[10]. 也有学者比较组织黏合剂注射与EVL治疗胃静脉曲张出血表明, 两者有相似的止血率和生存率, 但后者再出血发生率更低[22]. 有研究[16]显示组织黏合剂注射治疗胃静脉曲张较EIS治疗有较高止血率和生存率. 由于止血效果确切和再出血率低, 内镜下组织胶注射治疗胃底静脉曲张应用越来越广泛, 然而, 对于内镜下表现为蔓状胃底静脉曲张血管及胃底静脉曲张伴较大直径的胃肾或脾肾分流道患者仍是组织胶注射治疗的难点.

组织胶注射治疗相关并发症异位栓塞严重但罕见, 如Cheng等[23]回顾分析753例组织胶注射治疗胃底静脉曲张出血患者资料显示异位栓塞发生率0.7%. 国外学者对组织胶治疗后形成异位栓塞患者尸检结果为存在自发性分流道(脾肾分流或胃肾分流), 因此, 对择期手术患者术前应进行充分评估, 完善门脉系统CTA检查, 了解分流道情况, 对于存在分流道直径大的患者, 慎用组织胶注射, 改用经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)或球囊导管逆行性静脉栓塞术(balloon-occluded retrograde transvenous obliteration, BRTO)治疗, 从而减少异位栓塞发生. 组织胶注射治疗静脉曲张的其他并发症有早期排胶、再出血、发热、胸痛、感染、纵隔炎、局部脓肿形成等. 已有学者发现并发症发生率与注射组织黏合剂剂量、浓度、注射速度、曲张静脉直径及血流速度有关. 目前, 国外有治疗中心推荐超声内镜引导下组织胶注射治疗, 可使合适剂量的组织胶准确注射到曲张静脉管腔内, 减少组织胶对周围组织损伤, 还能评估

创新盘点

本文主要对门脉高压胃底静脉曲张出血的内镜下治疗及介入治疗的治疗策略、疗效及并发症作一简要综述.

应用要点

组织胶黏合剂注射治疗是胃静脉曲张出血最常用的治疗方法. 经颈静脉肝内门体分流术及球囊导管逆行性静脉栓塞术可用于急性胃静脉曲张出血和二级预防. 该选择何种治疗方法, 应在国内共识总体框架下, 结合当地医院的具体条件, 患者术前病情评估, 把握好适应证.

注射后曲张静脉是否闭塞, 同时可识别各静脉曲张来源及存在的自发性分流道, 这种检查不受食物及血液等对视野造成的影响, 能提高止血率及降低并发症的发生率, 但这种方法对技术要求高、耗时长, 因此限制了他在国内外应用推广.

内镜下组织胶注射栓塞治疗的安全性、有效性及经济效益已得到国内外同行广泛认可, 对于不存在分流道直径大的GOV2型和IGV型胃底静脉曲张, 组织胶注射治疗被作为最佳选择. 今后如何确定多大分流道直径慎用组织胶注射, 进一步确定胃静脉曲张的“入口”, 并从“入口”以量化的注射组织黏合剂, 达到最大的栓塞作用及减少相关并发症, 仍需不断探索和研究.

2.4 内镜下凝血酶注射 凝血酶注射的出现被视为内镜下组织黏合剂的替换物, 技术上操作更容易、且有更少的潜在并发症. 有研究[24]表明内镜下牛凝血酶注射治疗胃静脉曲张止血成功率92%, 且随访两年未见再出血病例发生. 以前的研究使用的是牛凝血酶, 但考虑到他增加了朊病毒的传播风险及海绵状脑病的发生, 最近使用的为人类凝血酶. 人类凝血酶注射治疗较组织胶最大优势之一, 为减少了黏膜的损伤和溃疡的形成. 在大多数研究病例中, 最初止血率高于90%, 再出血发生率0%-28%, 病死率0%-50%. 到目前为止, 有8个非随机对照包括200例患者的研究表明, 在止血率、再出血率及相关不良事件上与TIPS及组织黏合剂注射治疗相似[25-28]. 最近, 有研究报道[29]人类凝血酶治疗胃底静脉曲张(n = 37)和异位静脉曲张(n = 33), 中位随访22 mo的再出血发生率10.8%、病死率2.7%. Smith等[30]研究建议人类凝血酶注射治疗主要用于胃静脉曲张出血进一步明确治疗前的桥梁、二级预防、被TIPS治疗剔除的患者. 尽管最初病例展示了凝血酶注射治疗胃静脉曲张有前景的结果, 但人类凝血酶, 仍存在未知疾病传播的风险, 另凝血酶注射治疗成本明显高于组织胶, 从而限制了他在国内外的使用.

凝血酶尽管价格昂贵, 鉴于他的易用性、高效性和安全性, 他有望成为胃静脉曲张治疗的理想方案. 需要进一步进行凝血酶与组织胶注射治疗的随机对照试验.

3 介入治疗

目前针对胃底静脉曲张, 介入治疗主要有TIPS和BRTO.

3.1 TIPS 自1969年Rösch等[31]试探行经颈静脉胆道造影术时偶然将导管插入门静脉发现了最早的TIPS技术, 后来通过动物实验验证了TIPS的可行性, 此后开启了TIPS的发展历程. TIPS治疗食管静脉曲张出血的研究已逐渐深入, 但TIPS治疗胃底静脉曲张出血的随机对照试验仍缺乏. 目前TIPS治疗胃底静脉曲张出血的研究主要集中在难治性胃底静脉曲张出血治疗和预防胃底静脉曲张再出血治疗. 最近研究[32]表明TIPS治疗急性胃静脉曲张出血的止血率为92.3%, 其他研究[33-39]显示急诊止血率87%-100%, 再出血发生率为10%-30%. 2010年《新英格兰医学杂志》上发表的1项多中心随机对照实验[40]也表明, 早期应用覆膜支架TIPS治疗肝硬化急性静脉曲张出血, 较药物联合内镜治疗能更有效的控制出血并减少再出血, 显著改善了6 mo生存率(97% *vs* 67%)和1年生存率(86% *vs* 61%), 而肝性脑病等相关并发症的风险没有增加. 这一堪称里程碑式的研究, 将可能改写肝硬化急性静脉曲张出血的治疗方案及前景. 但也有研究比较了TIPS组和组织胶注射治疗组治疗胃底静脉曲张出血表明, 两组的术后生存率和再出血率没有差别, 但TIPS组术后相关并发症如肝性脑病和支架狭窄增加了患者的住院率[41,42]. 也有研究[43]比较TIPS和组织胶注射预防胃静脉曲张再出血显示, 前者更有效. 随着覆膜支架广泛应用、TIPS手术技术不但成熟以及术后规范化管理, 术后肝性脑病和支架狭窄发生率也逐渐降低. 近年来, 有文献报道[44]TIPS联合食道胃底静脉栓塞术治疗静脉曲张出血优于单一TIPS分流, 联合治疗有更低的再出血发生率, 在一定程度上改善了肝功能. 但也有学者表明不推荐TIPS用于GOV2型及IGV型胃底静脉曲张治疗, 因为此型静脉曲张常伴有自发性分流道(脾肾分流或胃肾分流)形成, 胃底静脉曲张破裂出血时压力低, 即使应用减压手术, 静脉曲张破裂出血的风险仍高[45-48].

Baveno V和美国肝病协会指南推荐TIPS作为胃底静脉曲张出血的二线治疗方法及抢救性治疗. 内镜治疗和药物治疗失败患者、存在蔓状胃底曲张静脉行组织胶注射治疗困难

患者以及胃底静脉曲张伴分流道直径较大患者, 仍建议行TIPS术治疗. 今后, 需进一步探讨TIPS在急性胃静脉曲张出血和二级预防中的作用.

3.2 BRTO BRTO是通过自发性分流道(如胃肾分流或脾肾分流等)栓塞曲张的胃底静脉, 适用于严重肝性脑病及存在自发性分流道的胃底静脉曲张患者. 1996年, Kanagawa第一次介绍了这个手术并将其命名为BRTO. 多中心研究[32,49,50]表明BRTO治疗急性胃静脉曲张急诊止血率76.9%-100.0%, 再出血发生率0%-15.4%, 有学者[49-51]比较BRTO与组织胶注射治疗有相似急诊止血率和低的再出血发生率, 也有学者[32]比较BRTO与TIPS治疗急性胃静脉曲张出血的有效率是相似的, 且BRTO术后无肝性脑病发生. 目前在日本, BRTO作为治疗胃静脉曲张的一种有效方法已被广泛接受, 认为增加了入肝血流量, 改善了肝功能及降低血氨水平和减少了肝性脑病发生, 对于肝功能储备差和血液系统异常者也可以使用. 尽管目前BRTO被用于TIPS禁忌(严重肝性脑病及肝功能损害)或内镜治疗失败的患者, 但由于术后再出血率低和并发症更少见, 他在美国也越来越受欢迎、并作为胃静脉曲张的一线或二线治疗.

另外, BRTO术后增加了门静脉压力, 从而导致了腹水的恶化及加重了食管静脉曲张再生, 且有门静脉血栓形成和系统性栓塞等风险, 且术后可引起血红蛋白尿、发热、一过性高血压等. 最新指南提出仍需进一步研究单一BRTO治疗或联合内镜下组织黏合剂注射在预防胃静脉曲张出血中的作用[7]. 由于与治疗方法相比, BRTO创伤小, 操作步骤少, 将来有望被广泛接受, 且对于存在较大自发性分流道的胃底静脉曲张及严重肝性脑病患者, 是一种安全、有效的介入治疗手段[51].

然而, 像内镜下组织胶注射治疗一样, BRTO技术仍在进展中, 胃静脉曲张的分级、球囊闭塞持续的时间、分流道大小统一定义、最佳栓塞物的选择等问题未来均需一一解决.

4 外科手术治疗

以前, 外科手术治疗是胃底静脉曲张出血唯一的治疗方案, 近些年, 由于微创技术(如内镜下治疗及介入治疗)的发展, 且大部分胃底静脉曲张患者肝功能储备差, 无法耐受手术治疗, 越来越少的门脉高压胃静脉曲张出血患者选择外科手术治疗. 仅仅部分患者存在脾静脉血栓或脾梗死时选择脾切除术或脾栓塞术, 但病例也是少数. 另外, 目前共识意见推荐, 当内镜及药物治疗失败时可考虑肝移植作为预防再出血的治疗方案. 已有文献表明, 肝移植是肝硬化并食管静脉曲张出血的有效治疗方法, 但对于胃底静脉曲张治疗的随机试验较少, 且肝源缺乏和经济相对落后, 国内肝移植开展相对较少, TIPS可作为肝移植前的过渡治疗.

5 结论

胃底静脉曲张治疗目前尚无最优的规范化治疗方案, 现国内外多推荐: 胃底静脉曲张一级预防选择β-受体阻滞剂; 急性胃静脉曲张出血治疗予以药物治疗联合内镜组织胶治疗, 无效时考虑TIPS术、外科手术治疗、伴严重肝性脑病患者选择BRTO治疗; 二级预防选择内镜下组织胶治疗、介入治疗或外科手术治疗.

总之, 胃底静脉曲张治疗选择何种治疗方法, 在国内共识总体框架下, 应结合当地医院的具体条件, 患者术前病情评估, 把握好适应证, 为患者及家庭及整个社会减轻医疗花费及心理负担.

同行评价

本文对胃底静脉出血的治疗有比较全面的综述, 指导临床医生了解和选择治疗方案, 具有较强的指导性.

6 参考文献

1 Kim T, Shijo H, Kokawa H, Tokumitsu H, Kubara K, Ota K, Akiyoshi N, Iida T, Yokoyama M, Okumura M. Risk factors for hemorrhage from gastric fundal varices. *Hepatology* 1997; 25: 307-312 [PMID: 9021939 DOI: 10.1002/hep.510250209]

2 Sarin SK, Lahoti D, Saxena SP, Murthy NS, Makwana UK. Prevalence, classification and natural history of gastric varices: a long-term follow-up study in 568 portal hypertension patients. *Hepatology* 1992; 16: 1343-1349 [PMID: 1446890 DOI: 10.1002/hep.1840160607]

3 Thakeb F, Salem SA, Abdallah M, el Batanouny M. Endoscopic diagnosis of gastric varices. *Endoscopy* 1994; 26: 287-291 [PMID: 8076547 DOI: 10.1055/s-2007-1008969]

4 Ioannou G, Doust J, Rockey DC. Terlipressin for acute esophageal variceal hemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; (1): CD002147 [PMID: 12535432 DOI: 10.1002/14651858.cd002147]

5 Seo YS, Park SY, Kim MY, Kim JH, Park JY, Yim HJ, Jang BK, Kim HS, Hahn T, Kim BI, Heo J, An H, Tak WY, Baik SK, Han KH, Hwang JS, Park

SH, Cho M, Um SH. Lack of difference among terlipressin, somatostatin, and octreotide in the control of acute gastroesophageal variceal hemorrhage. *Hepatology* 2014; 60: 954-963 [PMID: 24415445 DOI: 10.1002/hep.27006]
6 Wells M, Chande N, Adams P, Beaton M, Levstik M, Boyce E, Mrkobrada M. Meta-analysis: vasoactive medications for the management of acute variceal bleeds. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 1267-1278 [PMID: 22486630 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05088.x]
7 Tripathi D, Stanley AJ, Hayes PC, Patch D, Millson C, Mehrzad H, Austin A, Ferguson JW, Olliff SP, Hudson M, Christie JM. U.K. guidelines on the management of variceal haemorrhage in cirrhotic patients. *Gut* 2015; 64: 1680-1704 [PMID: 25887380 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-309262]
8 Lebrec D, Poynard T, Capron JP, Hillon P, Geoffroy P, Roulot D, Chaput JC, Rueff B, Benhamou JP. Nadolol for prophylaxis of gastrointestinal bleeding in patients with cirrhosis. A randomized trial. *J Hepatol* 1988; 7: 118-125 [PMID: 3053888 DOI: 10.1016/S0168-8278(88)80515-4]
9 Idéo G, Bellati G, Fesce E, Grimoldi D. Nadolol can prevent the first gastrointestinal bleeding in cirrhotics: a prospective, randomized study. *Hepatology* 1988; 8: 6-9 [PMID: 3276591 DOI: 10.1002/hep.1840080103]
10 Mishra SR, Chander Sharma B, Kumar A, Sarin SK. Endoscopic cyanoacrylate injection versus beta-blocker for secondary prophylaxis of gastric variceal bleed: a randomised controlled trial. *Gut* 2010; 59: 729-735 [PMID: 20551457 DOI: 10.1136/gut.2009.192039]
11 de Franchis R, Primignani M. Endoscopic treatments for portal hypertension. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 439-455 [PMID: 10643628 DOI: 10.1055/s-2007-1007131]
12 Laine L. Ligation: endoscopic treatment of choice for patients with bleeding esophageal varices? *Hepatology* 1995; 22: 663-665 [PMID: 7635437 DOI: 10.1002/hep.1840220242]
13 Ríos Castellanos E, Seron P, Gisbert JP, Bonfill Cosp X. Endoscopic injection of cyanoacrylate glue versus other endoscopic procedures for acute bleeding gastric varices in people with portal hypertension. *Cochrane Database Syst Rev* 2015; 5: CD010180 [PMID: 25966446 DOI: 10.1002/14651858.CD010180.pub2]
14 Soehendra N, Nam VC, Grimm H, Kempeneers I. Endoscopic obliteration of large esophagogastric varices with bucrylate. *Endoscopy* 1986; 18: 25-26 [PMID: 3512261 DOI: 10.1055/s-2007-1013014]
15 Sarin SK, Kumar A. Endoscopic treatment of gastric varices. *Clin Liver Dis* 2014; 18: 809-827 [PMID: 25438285 DOI: 10.1016/j.cld.2014.07.004]
16 Oho K, Iwao T, Sumino M, Toyonaga A, Tanikawa K. Ethanolamine oleate versus butyl cyanoacrylate for bleeding gastric varices: a nonrandomized study. *Endoscopy* 1995; 27: 349-354 [PMID: 7588347 DOI: 10.1055/s-2007-1005712]
17 Ogawa K, Ishikawa S, Naritaka Y, Shimakawa T, Wagatsuma Y, Katsube A, Kajiwara T. Clinical evaluation of endoscopic injection sclerotherapy using n-butyl-2-cyanoacrylate for gastric variceal bleeding. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 245-250 [PMID: 10197494 DOI: 10.1046/j.1440-1746.1999.01842.x]
18 Belletrutti PJ, Romagnuolo J, Hilsden RJ, Chen F, Kaplan B, Love J, Beck PL. Endoscopic management of gastric varices: efficacy and outcomes of gluing with N-butyl-2-cyanoacrylate in a North American patient population. *Can J Gastroenterol* 2008; 22: 931-936 [PMID: 19018339]
19 Fry LC, Neumann H, Olano C, Malfertheiner P, Mönkemüller K. Efficacy, complications and clinical outcomes of endoscopic sclerotherapy with N-butyl-2-cyanoacrylate for bleeding gastric varices. *Dig Dis* 2008; 26: 300-303 [PMID: 19188718 DOI: 10.1159/000177012]
20 Akahoshi T, Hashizume M, Shimabukuro R, Tanoue K, Tomikawa M, Okita K, Gotoh N, Konishi K, Tsutsumi N, Sugimachi K. Long-term results of endoscopic Histoacryl injection sclerotherapy for gastric variceal bleeding: a 10-year experience. *Surgery* 2002; 131: S176-S181 [PMID: 11821807 DOI: 10.1067/msy.2002.119501]
21 Noophun P, Kongkam P, Gonlachanvit S, Rerknimitr R. Bleeding gastric varices: results of endoscopic injection with cyanoacrylate at King Chulalongkorn Memorial Hospital. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7531-7535 [PMID: 16437729 DOI: 10.3748/wjg.v11.i47.7531]
22 Tantau M, Crisan D, Popa D, Vesa S, Tantau A. Band ligation vs. N-Butyl-2-cyanoacrylate injection in acute gastric variceal bleeding: a prospective follow-up study. *Ann Hepatol* 2013; 13: 75-83 [PMID: 24378269]
23 Cheng LF, Wang ZQ, Li CZ, Lin W, Yeo AE, Jin B. Low incidence of complications from endoscopic gastric variceal obturation with butyl cyanoacrylate. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 760-766 [PMID: 20621678 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.05.019]
24 Ramesh J, Limdi JK, Sharma V, Makin AJ. The use of thrombin injections in the management of bleeding gastric varices: a single-center experience. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 877-882 [PMID: 18534583 DOI: 10.1016/j.gie.2008.02.065]
25 Kitano S, Hashizume M, Yamaga H, Wada H, Iso Y, Iwanaga T, Sugimachi K. Human thrombin plus 5 per cent ethanolamine oleate injected to sclerose oesophageal varices: a prospective randomized trial. *Br J Surg* 1989; 76: 715-718 [PMID: 2765808 DOI: 10.1002/bjs.1800760721]
26 Tripathi D, Hayes PC. Endoscopic therapy for bleeding gastric varices: to clot or glue? *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 883-886 [PMID: 18984100 DOI: 10.1016/j.gie.2008.04.040]
27 Williams SG, Peters RA, Westaby D. Thrombin--an effective treatment for gastric variceal haemorrhage. *Gut* 1994; 35: 1287-1289 [PMID: 7959239 DOI: 10.1136/gut.35.9.1287]
28 Przemioslo RT, McNair A, Williams R. Thrombin is effective in arresting bleeding from gastric variceal hemorrhage. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 778-781 [PMID: 10219838]
29 McAvoy NC, Plevris JN, Hayes PC. Human thrombin for the treatment of gastric and ectopic varices. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5912-5917

[PMID: 23139607 DOI: 10.3748/wjg.v18.i41.5912]
30 Smith MR, Tidswell R, Tripathi D. Outcomes of endoscopic human thrombin injection in the management of gastric varices. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014; 26: 846-852 [PMID: 24892515 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000119]
31 Rösch J, Hanafee W, Snow H, Barenfus M, Gray R. Transjugular intrahepatic portacaval shunt. An experimental work. *Am J Surg* 1971; 121: 588-592 [PMID: 5105031 DOI: 10.1016/0002-9610(71)90147-4]
32 Choi YH, Yoon CJ, Park JH, Chung JW, Kwon JW, Choi GM. Balloon-occluded retrograde transvenous obliteration for gastric variceal bleeding: its feasibility compared with transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *Korean J Radiol* 2003; 4: 109-116 [PMID: 12845306 DOI: 10.3348/kjr.2003.4.2.109]
33 Chang CJ, Hou MC, Liao WC, Chen PH, Lin HC, Lee FY, Lee SD. Management of acute gastric varices bleeding. *J Chin Med Assoc* 2013; 76: 539-546 [PMID: 23880574 DOI: 10.1016/j.jcma.2013.06.011]
34 Ryan BM, Stockbrugger RW, Ryan JM. A pathophysiologic, gastroenterologic, and radiologic approach to the management of gastric varices. *Gastroenterology* 2004; 126: 1175-1189 [PMID: 15057756 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.01.058]
35 Henderson JM, Boyer TD, Kutner MH, Galloway JR, Rikkers LF, Jeffers LJ, Abu-Elmagd K, Connor J. Distal splenorenal shunt versus transjugular intrahepatic portal systematic shunt for variceal bleeding: a randomized trial. *Gastroenterology* 2006; 130: 1643-1651 [PMID: 16697728 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.02.008]
36 Barange K, Péron JM, Imani K, Otal P, Payen JL, Rousseau H, Pascal JP, Joffre F, Vinel JP. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt in the treatment of refractory bleeding from ruptured gastric varices. *Hepatology* 1999; 30: 1139-1143 [PMID: 10534333 DOI: 10.1002/hep.510300523]
37 Rees CJ, Nylander DL, Thompson NP, Rose JD, Record CO, Hudson M. Do gastric and oesophageal varices bleed at different portal pressures and is TIPS an effective treatment? *Liver* 2000; 20: 253-256 [PMID: 10902977 DOI: 10.1034/j.1600-0676.2000.020003253.x]
38 Gazzera C, Righi D, Doriguzzi Breatta A, Rossato D, Camerano F, Valle F, Gandini G. Emergency transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS): results, complications and predictors of mortality in the first month of follow-up. *Radiol Med* 2012; 117: 46-53 [PMID: 21509549 DOI: 10.1007/s11547-011-0682-9]
39 Chau TN, Patch D, Chan YW, Nagral A, Dick R, Burroughs AK. "Salvage" transjugular intrahepatic portosystemic shunts: gastric fundal compared with esophageal variceal bleeding. *Gastroenterology* 1998; 114: 981-987 [PMID: 9558287]
40 García-Pagán JC, Caca K, Bureau C, Laleman W, Appenrodt B, Luca A, Abraldes JG, Nevens F, Vinel JP, Mössner J, Bosch J. Early use of TIPS in patients with cirrhosis and variceal bleeding. *N Engl J Med* 2010; 362: 2370-2379 [PMID: 20573925 DOI: 10.1056/NEJMoa0910102]
41 Kochhar GS, Navaneethan U, Hartman J, Mari Parungao J, Lopez R, Gupta R, Kapoor B, Mehta P, Sanaka M. Comparative study of endoscopy vs. transjugular intrahepatic portosystemic shunt in the management of gastric variceal bleeding. *Gastroenterol Rep* (Oxf) 2015; 3: 75-82 [PMID: 25673803 DOI: 10.1093/gastro/gou095]
42 Procaccini NJ, Al-Osaimi AM, Northup P, Argo C, Caldwell SH. Endoscopic cyanoacrylate versus transjugular intrahepatic portosystemic shunt for gastric variceal bleeding: a single-center U.S. analysis. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 881-887 [PMID: 19559425 DOI: 10.1016/j.gie.2009.03.1169]
43 Lo GH, Liang HL, Chen WC, Chen MH, Lai KH, Hsu PI, Lin CK, Chan HH, Pan HB. A prospective, randomized controlled trial of transjugular intrahepatic portosystemic shunt versus cyanoacrylate injection in the prevention of gastric variceal rebleeding. *Endoscopy* 2007; 39: 679-685 [PMID: 17661241]
44 Chen S, Li X, Wei B, Tong H, Zhang MG, Huang ZY, Cao JW, Tang CW. Recurrent variceal bleeding and shunt patency: prospective randomized controlled trial of transjugular intrahepatic portosystemic shunt alone or combined with coronary vein embolization. *Radiology* 2013; 268: 900-906 [PMID: 23657891 DOI: 10.1148/radiol.13120800]
45 Watanabe K, Kimura K, Matsutani S, Ohto M, Okuda K. Portal hemodynamics in patients with gastric varices. A study in 230 patients with esophageal and/or gastric varices using portal vein catheterization. *Gastroenterology* 1988; 95: 434-440 [PMID: 3391371]
46 Sanyal AJ, Freedman AM, Luketic VA, Purdum PP, Shiffman ML, DeMeo J, Cole PE, Tisnado J. The natural history of portal hypertension after transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Gastroenterology* 1997; 112: 889-898 [PMID: 9041251]
47 Caldwell S. Gastric varices: is there a role for endoscopic cyanoacrylates, or are we entering the BRTO era? *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1784-1790 [PMID: 23211846 DOI: 10.1038/ajg.2012.160]
48 Ryan BM, Stockbrugger RW, Ryan JM. TIPS for gastric varices. *Gut* 2003; 52: 772; author reply 772 [PMID: 12692074]
49 Min SK, Kim SG, Kim YS, Bae JY, Lee JC, Lee SH, Kim HS, Jeong SW, Jang JY, Moon JH, Lee MS, Kim BS. [Comparison among endoscopic variceal obliteration, endoscopic band ligation, and balloon-occluded retrograde transvenous obliteration for treatment of gastric variceal bleeding]. *Korean J Gastroenterol* 2011; 57: 302-308 [PMID: 21623139]
50 Hong CH, Kim HJ, Park JH, Park DI, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI, Hong HP, Shin JH. Treatment of patients with gastric variceal hemorrhage: endoscopic N-butyl-2-cyanoacrylate injection versus balloon-occluded retrograde transvenous obliteration. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 372-378 [PMID: 19032446 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05651.x]

51 Wang YB, Zhang JY, Gong JP, Zhang F, Zhao Y. Balloon-occluded retrograde transvenous obliteration versus transjugular intrahepatic portosystemic shunt for treatment of gastric varices due to portal hypertension: A meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2015 Dec 5. *[Epub ahead of print]* [PMID: 26637789 DOI: 10.1111/jgh.13248]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016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31个省、市、自治区、特别行政区和美国的1040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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1153

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1153-1158
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

述评 EDITORIAL

上皮–间质转化与肝胆管结石病的研究进展

赵礼金, 王 芳

赵礼金, 王芳, 遵义医学院附属医院肝胆外科 贵州省遵义市 563003

赵礼金, 教授, 主任医师, 医学博士, 硕士生导师, 主要从事肝胆管结石基础与临床, 胆管纤维化方面的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81260085
贵州省优秀科技人才省长专项基金资助项目, No. 黔省专合字[2011]26号

作者贡献分布: 本文由赵礼金指导及修订; 王芳负责复习文献, 撰写述评.

通讯作者: 赵礼金, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 563003, 贵州省遵义市汇川区大连路149号, 遵义医学院附属医院肝胆外科. 386421696@qq.com
电话: 0852–8608244

收稿日期: 2015–12–15
修回日期: 2016–01–12
接受日期: 2016–01–19
在线出版日期: 2016–03–18

Epithelial-to-mesenchymal transition and hepatolithiasis

Li-Jin Zhao, Fang Wang

Li-Jin Zhao, Fang Wang, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81260085; Governor Foundation of Guizhou Province for Science and Technology Talents, No. [2011]26

Correspondence to: Li-Jin Zhao, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Huichuan District, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. 386421696@qq.com

Received: 2015-12-15
Revised: 2016-01-12
Accepted: 2016-01-19
Published online: 2016-03-18

Abstract

Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) is a complex physiological and pathological process in which epithelial cells acquire mesenchymal characteristics. EMT occurs during embryogenesis and organ development, wound healing and organ regeneration, tumor migration and invasion. In recent years, cholangiocytes have been shown to undergo EMT in different cholangiopathies including hepatolithiasis. Transforming growth factor-β/Smads signaling is considered the master regulator. The purpose of this article is to introduce the concept and type of EMT, summarize recent advances that support or refute the concept that cholangiocytes are capable of phenotype transition of hepaticlithiasis and discuss the probable mechanism.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Epithelial-to-mesenchymal transition; Hepatolithiasis; Cholangiocytes

Zhao LJ, Wang F. Epithelial-to-mesenchymal transition and hepatolithiasis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1153-1158 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1153.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1153

摘要

上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)是一个上皮细胞转分化成间质细胞的复杂生理病理过程, 参与胚胎形成、组织器官纤维化、肿瘤发生、转移等. 近年来研究显示胆管细胞发生上皮-间质转化在多种胆管病包括肝胆管结石病中

背景资料
近年来研究发现持续损伤可导致胆管上皮细胞(bile duct epithelia cells, BDECs)增殖, 同时发生上皮-间质化转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT), 获得间质细胞表型及功能, 参与肝胆管纤维化进程. EMT既是胚胎发育时期的正常生理过程, 也是促进肿瘤及纤维化疾病发展的病理过程.

同行评议者
陈晓鹏, 教授, 主任医师, 皖南医学院附属弋矶山医院肝胆外科; 元海成, 主治医师, 天津市南开医院微创外科

相关报道
Sung等报道肝胆管结石病患者肝组织中小胆管的BDECs可发生增殖, EMT样现象, 或与肌纤维母细胞相互作用, 促进疾病的发生发展.

发挥着重要作用, 并涉及β-转化生长因子/Smads信号通路的调节. 文章着重介绍上皮-间质转化的概念、类型, 总结胆管上皮细胞(bile duct epithelia cells, BDECs)发生EMT的研究现状及在肝胆管结石病中的作用及可能机制.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 上皮-间质转化; 肝胆管结石病; 胆管细胞

核心提示: 胆管上皮细胞在肝胆管结石病发生发展过程中, 不仅是首当其冲的被害对象, 而且他可能被激活发生上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition)促进肝胆管纤维化.

赵礼金, 王芳. 上皮-间质转化与肝胆管结石病的研究进展. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1153-1158 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1153.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1153

0 引言

肝胆管结石病指原发于肝内胆道系统, 存在于肝总管分叉以上的胆管内结石, 又称原发性肝内胆管结石. 该病是东亚地区的常见病, 在韩国、日本、我国均高发, 发病率达2%-25%, 我国主要分布于华东、华南及西南地区[1,2]. 肝胆管结石病病变广泛、病情复杂、复发率高, 常引起严重的并发症如胆汁性肝硬化, 胆管癌等, 是我国良性胆管疾病引起患者死亡的主要原因[3]. 目前肝胆管结石病病因尚不完全清楚, 可能与胆汁潴留、胆道感染、胆道寄生虫等有关, 临床研究[4]表明胆管内炎症是结石形成重要因素, 胆汁淤积是结石形成的必要条件. 近年来研究[5,6]发现持续炎性损伤可导致胆管上皮细胞(bile duct epithelia cells, BDECs)增殖, 同时发生上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT), 获得间质细胞表型及功能, 参与肝胆管纤维化进程. 本文将对BDECs发生EMT的研究现状及在肝胆管结石病中的作用及可能机制作一综述.

1 EMT的定义和类型

EMT是指相互毗邻、具有极性的上皮细胞转化成缺乏细胞间连接、非极性、具有自由移动能力的间质细胞的病理生理过程[6,7]. 他涉及一系列复杂的细胞、分子事件, 最终导致基因表达及细胞表型的改变[8-10]. 在此过程中, 上皮细胞逐渐失去细胞间连接, 细胞形态发生梭形改变, 细胞表面及细胞骨架蛋白表达和分布改变, 同时获得间质细胞自由移动的能力, 甚至具有间质细胞产生细胞外基质(exra cellular matrix, ECM)的功能. 细胞发生EMT一般表现为上皮细胞标志物E-钙黏蛋白(E-cadherin)、细胞角蛋白(cytokeratin)等表达下调, 间质细胞标志物N-钙黏蛋白(N-cadherin)、纤维特异性蛋白1(fibroblast-specific protein1, FSP1)也被称作S100A4、波形蛋白(vimentin)、α-平滑肌激动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)、Ⅰ型胶原蛋白(collagen 1)以及转录因子如SNAI1(snail)、SNAI2(slug)和Twist等表达上调[6,11,12]. 近年来研究[13-15]发现多种微小RNA(microRNA, miRNA)在EMT中的作用更是极为重要, 如miRNA21、miRNA211可促进胆管癌细胞EMT的发生, 而miRNA34a则能抑制胆管癌细胞发生EMT.

EMT既是胚胎发育时期的正常生理过程, 也是促进肿瘤及纤维化疾病发展的病理过程. 根据发生过程中不同的生物学行为, EMT被分为三型[11,12,16]: Ⅰ型发生于胚胎形成及发育过程中, 参与器官、组织的生成与发育; Ⅱ型发生于组织损伤修复过程中, 可导致组织、器官的纤维化; Ⅲ型与多种肿瘤的发生、侵袭、转移、血管生成密切相关. Ⅰ型和Ⅲ型都是以后续间质-上皮转化(mesenchymal-to-epithelialtransition, MET)形成新的上皮细胞为结局, 而Ⅱ型则是以组织器官的纤维化为结局.

2 胆管细胞与EMT

EMT最早发现于胚胎原肠胚及神经脊的发生过程中, 新近研究[17]表明人胚胎肝胆管发育过程中存在MET, 参与胆管的形成. EMT在各种肿瘤中的作用也极少受到争议[18], 几篇近期的综述[19,20]详细地讨论了EMT在肝脏肿瘤中的作用. 研究报道胆管癌组织也中存在EMT现象, 同时丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)核心蛋白可诱导胆管癌细胞系发生EMT, 促进其转移、侵袭能力[21]. 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)也可诱导胆管癌细胞系发生EMT, 在胆管癌转移侵袭过程中发挥重要作用[22]. 随着EMT在各种纤维化疾病中的作用被认识, 如研究报道心脏[23]、肺[24]、肾脏[25,26]等组织器官损伤修复过程中, 均存在EMT促进器官纤维化, 目前大量

体内外实验也证实了EMT在肝脏纤维化中的作用[27]. 国内外学者均有报道通过免疫组织化学技术, 体外证实了肝细胞、BDECs、肝祖细胞等肝脏细胞能通过EMT/MET参与肝脏纤维化, 此结论在体内实验通过细胞谱系示踪技术也得到一些支持, 而通过该技术对肝脏细胞在体内是否发生EMT的研究也得到了一些阴性结果[6].

早期国外学者[28-32]通过免疫组织化学方法, 检测胆汁淤积性肝硬化、慢性HCV感染、硬化性胆管炎、胆道闭锁等患者肝脏病理标本BDECs上皮间质标志物, 发现一些上皮标志物缺失、伴随间质标志物过表达, 这证明BDECs发生了EMT, 而且Ⅰ型胶原蛋白高表达还表明BDECs可能参与了ECM的分泌;同时将大鼠胆管结扎(bile duct ligation, BDL), 观察到近端胆管BDECs增生及EMT现象. Rygiel等[33]报道慢性肝脏疾病中, 中小胆管的BDECs可对β-转化生长因子(transforming growth factor-beta, TGF-β)产生应答, 发生EMT转化成为纤维母细胞(fibroblasts). SD大鼠行肝移植术后1 wk, BDECs也如慢性淤胆性肝硬化一样发生增殖和EMT, 促进胆管纤维化[34]. 以上实验均表明EMT在各种慢性淤胆性肝脏疾病中的促纤维化作用. 但通过细胞谱系示踪技术, 将两只转基因小鼠杂交, 拟观察BDECs在体内发生EMT的情况, 结果却令人遗憾. Scholten等[35]和Chu等[36]两个实验团队通过该技术, 检测BDL、CCl_4诱导肝纤维化, 均未发现BDECs发生EMT的阳性结果.

3 胆管细胞EMT的调控

EMT是经转录及翻译水平调控的一系列复杂过程, 并非一蹴而就, 多种信号通路可介导EMT发生, 包括转TGF-β超家族、Hh、Wnt、Notch、上皮生长因子、促纤维生长因子、促血小板生长因子等[37-40]. 肝脏纤维化EMT相关信号通路的实验证实, TGF-β1是诱导EMT发生的主要调节因子[41].

TGF-β1是一个同源二聚体分子, 分子量25 kDa. TGF-β1与Ⅰ/Ⅱ型TGF-β1受体结合后, 磷酸化Smad2/3, 与Smad4形成复合物转移细胞核, 作用于*SNAI1*、*SNAI2*、*Twist*等控制转录的目标基因, 抑制上皮细胞标志物表达, 诱导间质细胞标志物表达[42]; TGF-β1还可通过活化丝裂原活化蛋白激酶、三磷酸酶、磷脂酰肌-3激酶促进EMT[43]. 骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein 7, BMP-7)作为TGF-β超家族的一员, 可与Smad2/3竞争性结合Smad4从而拮抗TGF-β1信号通路, 阻断各种类型器官损伤后EMT过程, 抑制器官的纤维化. 在CCl_4诱导的肝脏损伤动物模型中, BMP-7通过阻断TGF-β激发的EMT过程, 减弱了肝脏纤维化的表现[44].

4 肝胆管结石病与EMT的关系

我们早期研究[45]发现, 肝胆管结石病患者胆管组织中上皮标志物E-cadherin、α-catemin出现缺失, 伴随间质标志物vimentin、α-SMA、S100A4出现, 这说明肝胆管结石病作为一种常见的胆汁淤积型疾病, 也存在EMT现象, 而且其转化程度与肝胆管结石病的病理分级呈正相关. 该实验还检测到TGF-β、Smad高表达, 表明此过程可能是通过TGF-β/Smads信号通路介导. 随后体外试验[46,47]利用LPS与人肝内胆管细胞共培养模拟胆道感染的微环境, 观察到BDECs上皮标志物下调, 间叶标志物上调, 证实了BDECs具有发生EMT的潜能; 该过程可能是由增高的TGF-β水平诱导Smad2/3后, 导致下游间质标志物基因及蛋白的表达; 通过TGF-β阻断剂紫杉醇干扰该信号通路, 可使EMT发生逆转也证明了TGF-β在胆管纤维化EMT中的重要作用. 最终, 体外动物实验中经LPS刺激SD大鼠胆管, 证实了BDECs发生EMT的能力[48]. 国外学者Sung等[49]报道肝胆管结石病患者肝组织中小胆管的BDECs可发生增殖, 通过EMT样现象, 或与肌纤维母细胞相互作用, 促进疾病的发生发展. 根据以上实验我们认为BDECs通过EMT获得纤维细胞特性主动参与了胆管周围纤维化的过程, 这对阐明原发性肝胆管结石的发生、发展具有重要提示意义, 同时TGF-β及Smads可作为预防胆管纤维化的潜在靶点.

5 结论

目前体外实验采用免疫组织化学技术检测肝胆管结石病患者肝胆管组织标本以及一定条件诱导体外培养肝胆管细胞提供了大量数据, 支持BDECs在肝胆管结石病发生发展过程中, 不仅是首当其冲的被害对象, 而且他可能被

创新盘点

本文着重介绍EMT的概念、类型, 总结BDECs发生EMT的研究现状及在肝胆管结石病中的作用及可能机制.

应用要点

BDECs通过EMT获得纤维细胞特性主动参与了胆管周围纤维化的过程, 这对阐明原发性肝胆管结石的发生、发展具有重要提示意义, 同时转化生长因子β及Smads可作为预防胆管纤维化的潜在靶点.

激活发生EMT, 参与胆汁淤积性肝胆管纤维化, 研究其信号通路的实验也不少, 但在体内实验通过细胞谱系示踪技术得出的结论却背道而驰, 这可能与以下原因密切相关: (1)EMT是一个连续发生的可逆过程, 因而细胞可能在较短时间外界刺激下未完全发生EMT, 或者解除刺激后, 发生了MET可逆过程继续表达上皮细胞特性; (2)用于判断EMT发生的标志物不同, 而不同的细胞可能表达不同的间质标志物, 且一些标志物缺乏特异性; (3)免疫组织化学技术检测某个时间点细胞表达几种蛋白标志物存在技术上的挑战, 可能一个细胞同时表达了两种不同的标志物实际上是相邻的两个不同细胞的表现; (4)体外的培养条件未必能反应体内的情况, 因此, 体外细胞培养得出的结论不能用来推断在体内的结果; (5)遗传谱系示踪技术作为一种强有力的工具, 通过遗传标记细胞, 能在任何经遗传标记的细胞后代中都可以检测到标志物, 但该技术仍然存在一定的缺陷, 如重组效率问题, 依赖免疫组织化学技术的检测、标志物缺乏特异性或者表达过少导致检测不到等; (6)发生EMT转化后的胆管细胞, 不一定获得了间质细胞产生细胞外基质的能力, 因此BDECs是否通过EMT最终促进胆管纤维化值得商榷. 各种机械性损伤、微生物诱导BDECs发生EMT的作用可能涉及多种细胞因子的参与, 同时受多种信号通路的复杂调控. 因而肝胆管结石病是否通过EMT导致肝胆管纤维化以及其全面的调节机制还需要更多更深入的实验研究证实. 这将有助于从新的角度了解肝胆管结石病的发生机制, 以及选择可能的作用靶点预防、甚至逆转胆管纤维化.

6 参考文献

1 Kim HJ, Kim JS, Joo MK, Lee BJ, Kim JH, Yeon JE, Park JJ, Byun KS, Bak YT. Hepatolithiasis and intrahepatic cholangiocarcinoma: A review. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 13418-13431 [PMID: 26730152 DOI: 10.3748/wjg.v21.i48.13418]

2 Li FY, Cheng NS, Mao H, Jiang LS, Cheng JQ, Li QS, Munireddy S. Significance of controlling chronic proliferative cholangitis in the treatment of hepatolithiasis. *World J Surg* 2009; 33: 2155-2160 [PMID: 19641953 DOI: 10.1007/s00268-009-0154-8]

3 程南生. 肝胆管结石并发症的防治. 中国普外基础与临床杂志 2006; 13: 380-381

4 中华医学会外科学分会胆道外科学组. 肝胆管结石病诊断治疗指南. 中华消化外科杂志 2007; 6: 156-160

5 Glaser SS, Gaudio E, Miller T, Alvaro D, Alpini G. Cholangiocyte proliferation and liver fibrosis. *Expert Rev Mol Med* 2009; 11: e7 [PMID: 19239726 DOI: 10.1017/S1462399409000994]

6 Xie G, Diehl AM. Evidence for and against epithelial-to-mesenchymal transition in the liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013; 305: G881-G890 [PMID: 24157970 DOI: 10.1152/ajpgi.00289.2013]

7 Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, Brooks M, Reinhard F, Zhang CC, Shipitsin M, Campbell LL, Polyak K, Brisken C, Yang J, Weinberg RA. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008; 133: 704-715 [PMID: 18485877 DOI: 10.1016/j.cell.2008.03.027]

8 Meyer C, Dzieran J, Liu Y, Schindler F, Munker S, Müller A, Coulouarn C, Dooley S. Distinct dedifferentiation processes affect caveolin-1 expression in hepatocytes. *Cell Commun Signal* 2013; 11: 6 [PMID: 23339737 DOI: 10.1186/1478-811X-11-6]

9 Meyer C, Liu Y, Kaul A, Peipe I, Dooley S. Caveolin-1 abrogates TGF-β mediated hepatocyte apoptosis. *Cell Death Dis* 2013; 4: e466 [PMID: 23328673 DOI: 10.1038/cddis.2012.204]

10 Choi SS, Diehl AM. Epithelial-to-mesenchymal transitions in the liver. *Hepatology* 2009; 50: 2007-2013 [PMID: 19824076 DOI: 10.1002/hep.23196]

11 Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119: 1420-1428 [PMID: 19487818 DOI: 10.1172/JCI39104]

12 Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest* 2009; 119: 1429-1437 [PMID: 19487819 DOI: 10.1172/JCI36183]

13 Liu Z, Jin ZY, Liu CH, Xie F, Lin XS, Huang Q. MicroRNA-21 regulates biological behavior by inducing EMT in human cholangiocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8: 4684-4694 [PMID: 26191158]

14 Qiao P, Li G, Bi W, Yang L, Yao L, Wu D. microRNA-34a inhibits epithelial mesenchymal transition in human cholangiocarcinoma by targeting Smad4 through transforming growth factor-beta/Smad pathway. *BMC Cancer* 2015; 15: 469 [PMID: 26077733 DOI: 10.1186/s12885-015-1359-x]

15 Li J, Yao L, Li G, Ma D, Sun C, Gao S, Zhang P, Gao F. miR-221 Promotes Epithelial-Mesenchymal Transition through Targeting PTEN and Forms a Positive Feedback Loop with β-catenin/c-Jun Signaling Pathway in Extra-Hepatic Cholangiocarcinoma. *PLoS One* 2015; 10: e0141168 [PMID: 26501139 DOI: 10.1371/journal.pone.0141168]

16 Acloque H, Adams MS, Fishwick K, Bronner-Fraser M, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. *J Clin Invest* 2009; 119: 1438-1449 [PMID: 19487820 DOI: 10.1172/JCI38019]

17 徐军, 周继, 张世芬, 王健, 胡勇, 余宏宇. 上皮间质转化在人胚胎肝胆管板发育过程中的发生情况及其意义. 第二军医大学学报 2014; 35: 1378-1381

18 Cao H, Xu E, Liu H, Wan L, Lai M. Epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer metastasis: A system review. *Pathol Res Pract* 2015; 211: 557-569 [PMID: 26092594 DOI: 10.1016/

j.prp.2015.05.010]
19 Ogunwobi OO, Liu C. Therapeutic and prognostic importance of epithelial-mesenchymal transition in liver cancers: insights from experimental models. *Crit Rev Oncol Hematol* 2012; 83: 319-328 [PMID: 22178416 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2011.11.007]
20 van Zijl F, Zulehner G, Petz M, Schneller D, Kornauth C, Hau M, Machat G, Grubinger M, Huber H, Mikulits W. Epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *Future Oncol* 2009; 5: 1169-1179 [PMID: 19852728 DOI: 10.2217/fon.09.91]
21 Li T, Li D, Cheng L, Wu H, Gao Z, Liu Z, Jiang W, Gao YH, Tian F, Zhao L, Wang S. Epithelial-mesenchymal transition induced by hepatitis C virus core protein in cholangiocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1937-1944 [PMID: 20162464 DOI: 10.1245/s10434-010-0925-3]
22 李航宇, 李岩, 刘丹, 孙宏治, 刘金钢. LPS通过p38/MAPK调控胆管癌细胞系ICBD的上皮间质转化. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2070-2075
23 von Gise A, Pu WT. Endocardial and epicardial epithelial to mesenchymal transitions in heart development and disease. *Circ Res* 2012; 110: 1628-1645 [PMID: 22679138 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.111.259960]
24 Nowrin K, Sohal SS, Peterson G, Patel R, Walters EH. Epithelial-mesenchymal transition as a fundamental underlying pathogenic process in COPD airways: fibrosis, remodeling and cancer. *Expert Rev Respir Med* 2014; 8: 547-559 [PMID: 25113142 DOI: 10.1586/17476348]
25 Kriz W, Kaissling B, Le Hir M. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) in kidney fibrosis: fact or fantasy? *J Clin Invest* 2011; 121: 468-474 [PMID: 21370523]
26 Carew RM, Wang B, Kantharidis P. The role of EMT in renal fibrosis. *Cell Tissue Res* 2012; 347: 103-116 [PMID: 21845400 DOI: 10.1007/s00441-011-1227-1]
27 Lee SJ, Kim KH, Park KK. Mechanisms of fibrogenesis in liver cirrhosis: The molecular aspects of epithelial-mesenchymal transition. *World J Hepatol* 2014; 6: 207-216 [PMID: 24799989 DOI: 10.4254/wjh.v6.i4.207]
28 Schulze F, Schardt K, Wedemeyer I, Konze E, Wendland K, Dirsch O, Töx U, Dienes HP, Odenthal M. [Epithelial-mesenchymal transition of biliary epithelial cells in advanced liver fibrosis]. *Verh Dtsch Ges Pathol* 2007; 91: 250-256 [PMID: 18314622]
29 Omenetti A, Porrello A, Jung Y, Yang L, Popov Y, Choi SS, Witek RP, Alpini G, Venter J, Vandongen HM, Syn WK, Baroni GS, Benedetti A, Schuppan D, Diehl AM. Hedgehog signaling regulates epithelial-mesenchymal transition during biliary fibrosis in rodents and humans. *J Clin Invest* 2008; 118: 3331-3342 [PMID: 18802480 DOI: 10.1172/JCI35875]
30 Harada K, Sato Y, Ikeda H, Isse K, Ozaki S, Enomae M, Ohama K, Katayanagi K, Kurumaya H, Matsui A, Nakanuma Y. Epithelial-mesenchymal transition induced by biliary innate immunity contributes to the sclerosing cholangiopathy of biliary atresia. *J Pathol* 2009; 217: 654-664 [PMID: 19116990 DOI: 10.1002/path.2488]
31 Deng YH, Pu CL, Li YC, Zhu J, Xiang C, Zhang MM, Guo CB. Analysis of biliary epithelial-mesenchymal transition in portal tract fibrogenesis in biliary atresia. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 731-740 [PMID: 20725787 DOI: 0.1007/s10620-010-1347-6]
32 Omenetti A, Bass LM, Anders RA, Clemente MG, Francis H, Guy CD, McCall S, Choi SS, Alpini G, Schwarz KB, Diehl AM, Whitington PF. Hedgehog activity, epithelial-mesenchymal transitions, and biliary dysmorphogenesis in biliary atresia. *Hepatology* 2011; 53: 1246-1258 [PMID: 21480329 DOI: 10.1002/hep.24156]
33 Rygiel KA, Robertson H, Marshall HL, Pekalski M, Zhao L, Booth TA, Jones DE, Burt AD, Kirby JA. Epithelial-mesenchymal transition contributes to portal tract fibrogenesis during human chronic liver disease. *Lab Invest* 2008; 88: 112-123 [PMID: 18059363]
34 Liu X, Li J, Xiong J, Li M, Zhang Y, Zheng Q. Notch-dependent expression of epithelial-mesenchymal transition markers in cholangiocytes after liver transplantation. *Hepatol Res* 2012; 42: 1024-1038 [PMID: 22594800 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2012.01011.x]
35 Scholten D, Osterreicher CH, Scholten A, Iwaisako K, Gu G, Brenner DA, Kisseleva T. Genetic labeling does not detect epithelial-to-mesenchymal transition of cholangiocytes in liver fibrosis in mice. *Gastroenterology* 2010; 139: 987-998 [PMID: 20546735 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.05.005]
36 Chu AS, Diaz R, Hui JJ, Yanger K, Zong Y, Alpini G, Stanger BZ, Wells RG. Lineage tracing demonstrates no evidence of cholangiocyte epithelial-to-mesenchymal transition in murine models of hepatic fibrosis. *Hepatology* 2011; 53: 1685-1695 [PMID: 21520179 DOI: 10.1002/hep.24206]
37 Zavadil J, Böttinger EP. TGF-beta and epithelial-to-mesenchymal transitions. *Oncogene* 2005; 24: 5764-5774 [PMID: 16123809]
38 Kaimori A, Potter J, Kaimori JY, Wang C, Mezey E, Koteish A. Transforming growth factor-beta1 induces an epithelial-to-mesenchymal transition state in mouse hepatocytes in vitro. *J Biol Chem* 2007; 282: 22089-22101 [PMID: 17513865]
39 Choi SS, Omenetti A, Syn WK, Diehl AM. The role of Hedgehog signaling in fibrogenic liver repair. *Int J Biochem Cell Biol* 2011; 43: 238-244 [PMID: 21056686 DOI: 10.1016/j.biocel.2010.10.015]
40 Omenetti A, Diehl AM. Hedgehog signaling in cholangiocytes. *Curr Opin Gastroenterol* 2011; 27: 268-275 [PMID: 21423008 DOI: 10.1097/MOG.0b013e32834550b4]
41 Liu J, Eischeid AN, Chen XM. Col1A1 production and apoptotic resistance in TGF-β1-induced epithelial-to-mesenchymal transition-like phenotype of 603B cells. *PLoS One* 2012; 7: e51371 [PMID: 23236489 DOI: 10.1371/journal.pone.0051371]
42 Mejlvang J, Kriajevska M, Berditchevski F, Bronstein I, Lukanidin EM, Pringle JH, Mellon JK, Tulchinsky EM. Characterization of E-cadherin-dependent and -independent events in a new model of c-Fos-mediated epithelial-mesenchymal transition. *Exp Cell Res* 2007; 313: 380-393 [PMID: 17141758]
43 Derynck R, Muthusamy BP, Saeteurn KY. Signaling pathway cooperation in TGF-β-induced

名词解释

上皮-间质化转化(EMT): 是指相互毗邻、具有极性的上皮细胞转化成缺乏细胞间连接、非极性、具有自由移动能力间质细胞的病理生理过程.

同行评价
肝胆管结石临床复发为临床难题, 预防复发是肝胆外科医生的理想, 本文对肝胆管结石的成因提出了新的研究方向.

epithelial-mesenchymal transition. *Curr Opin Cell Biol* 2014; 31: 56-66 [PMID: 25240174 DOI: 10.1016/j.ceb.2014.09.001]
44 Dooley S, Hamzavi J, Ciuclan L, Godoy P, Ilkavets I, Ehnert S, Ueberham E, Gebhardt R, Kanzler S, Geier A, Breitkopf K, Weng H, Mertens PR. Hepatocyte-specific Smad7 expression attenuates TGF-beta-mediated fibrogenesis and protects against liver damage. *Gastroenterology* 2008; 135: 642-659 [PMID: 18602923 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.04.038]
45 Zhao L, Yang R, Cheng L, Wang M, Jiang Y, Wang S. Epithelial-mesenchymal transitions of bile duct epithelial cells in primary hepatolithiasis. *J Korean Med Sci* 2010; 25: 1066-1070 [PMID: 20592900 DOI: 10.3346/jkms.2010.25.7]
46 赵礼金, 杨日高, 程龙, 王麦建, 江艳, 余德刚, 周廷梅, 王曙光. 肝内胆管上皮细胞上皮-间叶转化的实验研究. 第三军医大学学报 2010; 32: 214-219
47 Zhao L, Yang R, Cheng L, Wang M, Jiang Y, Wang S. LPS-induced epithelial-mesenchymal transition of intrahepatic biliary epithelial cells. *J Surg Res* 2011; 171: 819-825 [PMID: 20691985]
48 王麦建, 杨雪峰, 周廷梅, 余得刚, 江燕, 王曙光, 赵礼金. LPS刺激SD大鼠胆管上皮细胞表型转化的动物实验研究. 重庆医科大学学报 2010; 35: 1662-1665
49 Sung R, Lee SH, Ji M, Han JH, Kang MH, Kim JH, Choi JW, Kim YC, Park SM. Epithelial-mesenchymal transition-related protein expression in biliary epithelial cells associated with hepatolithiasis. *J Gastroenterol Hepatol* 2014; 29: 395-402 [PMID: 23927024 DOI: 10.1111/jgh.12349]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

•消息•

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. P值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 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, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴. (5)志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1159

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1159-1165
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

基础研究 BASIC RESEARCH

柴胡皂苷d对活化的HSC-T6细胞MMP-1、TIMP-1表达的影响及其分子机制

林柳兵, 阙任烨, 刘进锴, 沈艳婷, 陶智会, 李 勇

林柳兵, 阙任烨, 沈艳婷, 李勇, 上海中医药大学附属上海市中医医院脾胃病科 上海市 200071

刘进锴, 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一科 上海市 200433

陶智会, 上海市嘉定区中医医院肿瘤科 上海市 201800

林柳兵, 在读硕士, 主要从事消化系统的临床与基础研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81573775
上海市自然科学基金资助项目, No. 09ZR1429700
上海市卫生系统百人计划基金资助项目, No. XBR2013120

作者贡献分布: 林柳兵负责论文写作、实验研究及数据分析; 阙任烨负责论文修改、实验指导及数据分析; 林柳兵与刘进锴负责实验研究; 试剂耗材订购由沈艳婷完成; 陶智会完成文献检索; 李勇负责论文审核.

通讯作者: 李勇, 主任医师, 博士生导师, 200071, 上海市闸北区芷江中路274号, 上海中医药大学附属上海市中医医院脾胃病. liyong8256@126.com
电话: 021-56628311

收稿日期: 2016-01-16
修回日期: 2016-01-26
接受日期: 2016-02-18
在线出版日期: 2016-03-18

Effect of saikosaponin-d on expression of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in activated HSC-T6 cells: Underlying mechanism

Liu-Bing Lin, Ren-Ye Que, Jin-Kai Liu, Yan-Ting Shen, Zhi-Hui Tao, Yong Li

Liu-Bing Lin, Ren-Ye Que, Yan-Ting Shen, Yong Li, Department of Gastroenterology, Shanghai Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China

Jin-Kai Liu, Department of Hepatic Surgery I, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital Affiliated to Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Zhi-Hui Tao, Department of Oncology, Jiading Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201800, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China No. 81573775; Shanghai Natural Science Foundation, No. 09ZR1429700; Shanghai Health System Fund, No. XBR2013120

Correspondence to: Yong Li, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shanghai Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 274 Zhijiang Middle Road, Zhabei District, Shanghai 200071, China. liyong8256@126.com

Received: 2016-01-16
Revised: 2016-01-26
Accepted: 2016-02-18
Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of saikosaponin-d (SSd) on the expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) and matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) in activated HSC-T6 cells and the underlying mechanism, and to explore the mechanism of action of phytoestrogens on liver fibrosis to provide a theoretical basis for their clinical application.

METHODS: Rat hepatic stellate cell line HSC-T6 was used. Cells were seeded into cell culture plates with DMEM high glucose medium containing 10% fetal bovine serum

背景资料
肝纤维化是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成降解失调引起异常沉积. 肝星状细胞是合成ECM的主要细胞. 雌激素对肝星状细胞有抑制作用, 因不良反应大而应用受限. 目前一些植物雌激素具有抗肝纤维化效应, 如柴胡皂苷, 白藜芦醇、槲皮素等, 其不良反应小, 可考虑使用.

同行评议者
贾永森, 副教授, 华北理工大学中医学院基础教学部

研发前沿

肝纤维化主要由TGF-β1/Smad、丝裂原活化的蛋白激酶以及核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)等信号传导通路共同控制. 柴胡皂苷d(saikosaponin-d, SSd)为该病的常用药物, 具有抗癌、保肝、抗炎、免疫抑制、雌激素样等药理作用. 雌激素因不良反应大而应用受限, 故需寻找替代药物.

for 24 h. After 1 h pretreatment with estrogen receptor (ER) antagonist (1 μmol/L) or P38 MAPK antagonist SB203580 (50 μmol/L), cells were incubated with SSd (5 μmol/L) or estradiol (E_2) (1 μmol/L) for 24 h. ELISA was used to detect the contents of type I collagen (COL-I), MMP-1, and TIMP-1 in cell culture supernatants. Western blot analysis was used to detect the expression of MMP-1, TIMP-1, P38 and PP38 in HSC-T6 cells.

RESULTS: Compared with the control group, SSd or E_2 treatment significantly decreased COL-1 (140.95 ± 12.14, 143.58 ± 4.81 *vs* 198.98 ± 15.08) and TIMP-1 contents (0.23 ± 0.01, 0.21 ± 0.01 *vs* 0.31 ± 0.01) in cell culture supernatants and P-P38 expression (0.51 ± 0.14, 0.52 ± 0.12 *vs* 1.00 ± 0.11), and significantly elevated MMP-1 content (0.0127 ± 0.0008, 0.0116 ± 0.0004 *vs* 0.0049 ± 0.0001, $P < 0.01$). In the inhibitor group, the expression levels of COL-1, TIMP-1 and P-P38 increased ($P < 0.01$) and MMP-1 content decreased ($P < 0.01$). MMP-1 expression was significantly increased in cells treated with P38 inhibitor SB203580 for 24 h compared with the control group (3.58 ± 0.35 *vs* 1.00 ± 0.15, $P < 0.01$), and TIMP-1 expression was significantly decreased (0.52 ± 0.14 *vs* 1.00 ± 0.18, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The anti-fibrotic effect of SSd may be attributed to its inhibition of P38/MAPK activation and modulation of downstream molecules MMP-1 and TIMP-1 expression, which can promote the degradation of extracellular matrix *via* stimulating ERβ.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Saikosaponin-d; Hepatic fibrosis; Hepatic stellate cells; Estrogen receptor

Lin LB, Que RY, Liu JK. Shen YT, Tao ZH, Li Y. Effect of saikosaponin-d on expression of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in activated HSC-T6 cells: Underlying mechanism. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1159-1165 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1159.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1159

摘要

目的: 研究柴胡皂苷d(saikosaponin-d, SSd)对活化的HSC-T6细胞内基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)、基质金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)表达的影响及其相关分子机制, 探讨植物雌激素对肝纤维化的作用机制, 为临床应用植物雌激素提供理论依据.

方法: 体外培养大鼠肝星状细胞系HSC-T6, 细胞用含10%胎牛血清的DMEM高糖培养基培养种板, 细胞贴壁后加入雌激素受体阻断剂(1 μmol/L)或P38 MAPK阻断剂SB203580(50 μmol/L)预处理1 h后, 加入SSd(5 μmol/L)或雌二醇(1 μmol/L)孵育24 h. 采用ELISA法检测细胞培养上清液中的一型胶原(collagen type 1, COL-1)、MMP-1、TIMP-1的含量, Western blot法检测细胞MMP-1、TIMP-1、P38、PP38的表达.

结果: 与对照组(Control)比较, SSd、E_2单独给药组COL-1(140.95±12.14, 143.58±4.81 *vs* 198.98±15.08)、TIMP-1(0.23±0.01, 0.21±0.01 *vs* 0.31±0.01)、P-P38(0.51±0.14, 0.52±0.12 *vs* 1.00+0.11)明显降低($P<0.01$), MMP-1明显升高(0.0127±0.0008, 0.0116±0.0004 *vs* 0.0049±0.0001, $P<0.01$). 抑制剂组COL-1、TIMP-1、P-P38较SSd、E_2单独给药组明显升高($P<0.01$), MMP-1明显降低($P<0.01$). 我们采用P38阻断剂SB203580处理细胞, 药物作用24 h后, SB203580组与对照组相比, MMP-1蛋白表达明显增高(3.58±0.35 *vs* 1.00±0.15, $P<0.01$), TIMP-1蛋白表达明显降低(0.52±0.14 *vs* 1.00±0.18, $P<0.05$).

结论: SSd能够通过ERβ介导的效应抑制P38 MAPK的激活, 进而调节其下游的MMP-1、TIMP-1的表达, 促进细胞外基质的降解, 达到抗纤维化的作用.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 柴胡皂苷d; 肝纤维化; 肝星状细胞; 雌激素受体

核心提示: 本研究探讨了柴胡皂苷d(saikosaponin-d, SSd)对活化HSC-T6细胞内基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase-1)、基质金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase-1)表达的影响及其与P38/MAPK信号通路的关联, 并引入雌激素受体阻断剂, 进一步发掘SSd药理作用的受体机制. 确立了SSd的类雌激素样作用, 为临床应用SSd替代雌激素治疗肝纤维化提供了理论依据.

林柳兵, 阙任烨, 刘进锴, 沈艳婷, 陶智会, 李勇. 柴胡皂苷d对活化的HSC-T6细胞MMP-1、TIMP-1表达的影响及其分子机制. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1159-1165 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1159.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1159

0 引言

柴胡历来是中药中治疗肝病的最常用药物之一. 目前研究表明柴胡皂苷d(saikosaponin-d, SSd)是柴胡提取物中活性最强的成分之一, 具有解热镇痛、抗炎保肝和抗纤维化等药理作用. 我们的前期研究[1]证实, SSd作为一种植物雌激素可抑制HSC-T6增殖与活化, 调节雌激素受体的表达, 但并没有很好的阐释其抗纤维化的具体分子机制. 因此, 本研究拟通过采用HSC-T6细胞, 进一步观察SSd对调节细胞外基质的关键分子基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)、基质金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)表达及一型胶原(collagen type 1, COL-1)含量影响; 并且观察SSd作用于细胞后, 对细胞内P38丝裂原活化蛋白激酶(P38/MAPK)信号通路的影响, 进一步探讨该信号通路的激活与MMP-1和TIMP-1表达的相关性, 以阐明SSd的作用机制; 最后采用雌激素受体阻断剂, 观察SSd的抗纤维化作用是否与激活雌激素受体及其下游通路有关.

1 材料和方法

1.1 材料 大鼠肝星状细胞株HSC-T6细胞由上海第二军医大学长征医院消化科惠赠, 其表型为活化的HSC. SSd购自中国药品生物制品检定所, 批号110778-201409, 纯度≥99%; 雌二醇(17Beta-Estradiol)购自美国Sigma公司, 批号: D0005215; 雌激素受体完全拮抗剂ICI-182.780、雌激素受体α特异性拮抗剂MPP、雌激素受体β特异性拮抗剂THC购自英国TOCRIS公司, 批号: S119108、4C/144820、5A/138659. 大鼠COL-1、TIMP-1、MMP-1 ELISA试剂盒, 上海西唐生物有限公司产品, 批号: 201410; MMP-1一抗(兔抗大鼠IgG多克隆抗体), Abnova公司, 批号: 1105-828; TIMP-1一抗(兔抗大鼠IgG多克隆抗体), Santa Cruz公司, 批号: F0313; ECL化学发光试剂盒, 批号: 1115702, 美国Millipore公司; DMEM高糖培养基, 批号: NZH1209, 美国Thermo Scientific公司; 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS), 批号: A10106-0455, 奥地利PAA公司; 牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA), 批号: 201410, 美国Amresco公司; 蛋白质分子量预染Marker, Pierce公司产品产品, 批号: 27681; 山羊抗兔HRP 标记二抗, Cell Signaling公司产品, 批号: 8176; SB203580(P38 MAPK抑制剂)购自美国Selleck公司, 批号: S107604; P38一抗(兔抗大鼠IgG多克隆抗体)购自美国CST公司, 批号: 8690P; PP38一抗(兔抗大鼠IgG多克隆抗体)购自美国CST公司, 批号: 4511P.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: HSC-T6细胞用含有10%热灭活胎牛血清的DMEM完全培养基在37 ℃、体积分数为50 mL/L CO_2、完全饱和湿度条件下常规培养, 每48 h更换培养基, 细胞生长铺满培养瓶底80%后, 用0.25%胰蛋白酶联合0.02% EDTA消化传代, 实验选用对数生长期细胞.

1.2.2 ELISA检测: 取对数生长期的HSC-T6细胞, 接种于96孔培养板中, 1×10^4/(200 μL•孔); 24 h后分别采用ICI-182.780、MPP或THC预处理, 1 h后分别加入SSd(5 μmol/L)或E_2(1 μmol/L), 24 h后收获上清, 冻存于-20 ℃, 待测; 按照试剂盒说明检测.

1.2.3 Western blot检测: 将药物处理后的细胞弃去培养液, PBS洗涤细胞3次后, 将6孔板置于冰上. 向培养板中加入150 μL细胞裂解液(含蛋白酶抑制剂1∶100), 置于摇床上30 min(冰上), 用细胞刮刀将细胞刮下后, 将细胞悬液移入EP管内, 超声, 离心12000 r/min, 20 min, 取上清. 按照1∶4体积比加入4×loading buffer, 100 ℃水浴10 min, 使蛋白变性. 分装, -20 ℃保存备用. 配制PAGE胶, 分离胶的浓度为8%, 积层胶为5%. 上样10 μL预染的SDS-GAGE蛋白分子量Marker, 以确定所检测蛋白带的位置. 初始电压为60 V, 溴酚蓝电泳至积层胶和分离胶分界面后加大至100 V, 至凝胶底部时停止电泳. 将蛋白从SDS-PAGE胶上转移至相同大小的NC膜(Millipore公司)上, 转膜条件为电压100 V, 90 min. 使用5%的脱脂奶粉封闭1-2 h后, 加入按比例稀释的一抗, 4 ℃过夜, 使用TBST洗膜以后, 加入二抗, 即1∶1000稀释的山羊抗小鼠或兔抗体(Proteintech), 室温慢摇1 h, TBST洗膜后, 在条带上滴加100 μL的荧光液, 使用ChemiDoc™XRS+凝胶成像分析系统进行

相关报道

Abe等发现四氯化碳引起肝纤维化的大鼠模型中, SSd有明显的抗脂质过氧化作用. Dang等发现SSd在四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠模型中可能是下调肝脏肿瘤坏死因子-α、IL-6和NF-κB p65的表达以及增加I-κBα在肝脏中的活性而发挥抗纤维化作用.

创新盘点

前期研究发现SSd是一种植物雌激素. 在此基础上, 本研究观察SSd对肝星状细胞的影响, 并探讨其信号通路机制. 研究中还引入雌激素受体α、β的特异性拮抗剂, 首次发现了SSd对HSC-T6抑制作用与其调节雌激素受体β的作用相关.

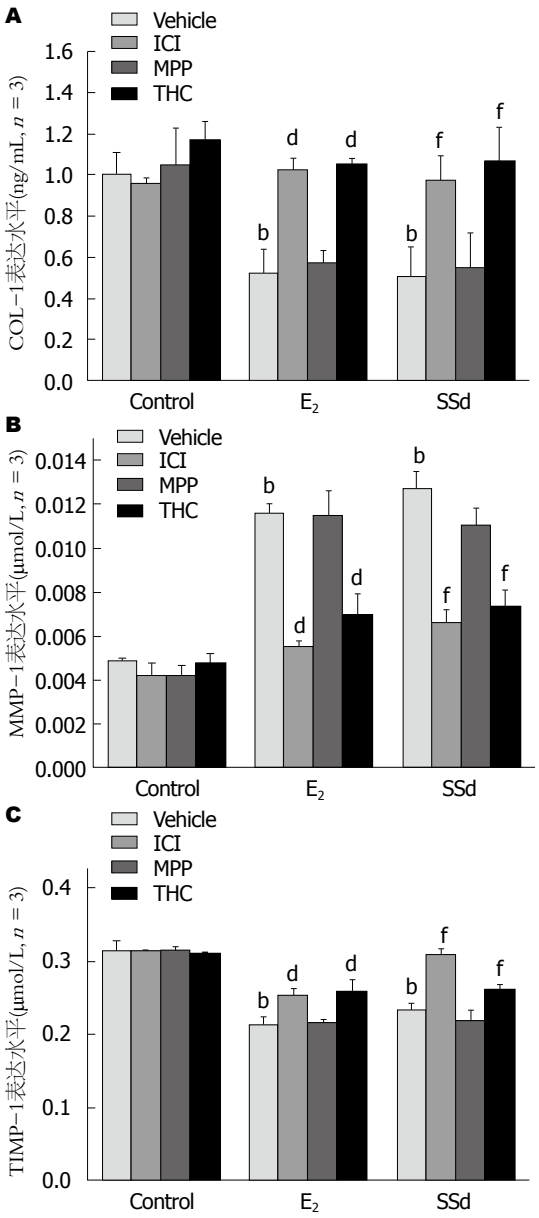


图 1 柴胡皂苷d对HSC-T6细胞培养上清液中COL-1、MMP-1、TIMP-1水平的影响. A: COL-1表达水平; B: MMP-1表达水平; C: TIMP-1表达水平. $^{b}P<0.01$ *vs* Control Vehicle; $^{d}P<0.01$ *vs* E_2 Vehicle; $^{f}P<0.01$ *vs* SSd Vehicle. MMP-1: 基质金属蛋白酶; TIMP-1: 基质金属蛋白酶组织抑制剂; COL-1: 一型胶原.

半定量分析, 以积分光密度值(integral optical density, IOD)表示, 以目的蛋白/内参蛋白表示蛋白表达的相对水平.

统计学处理 数据均用mean±SD表示, 采用SPSS16.0软件用one way-ANOVA进行处理, $P<0.05$表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 SSd对HSC-T6细胞培养上清液中COL-1、MMP-1和TIMP-1水平的影响

ELISA检测细胞上清液COL-1、MMP-1和TIMP-1实验结果显示, 与空白对照组比较, E_2、SSd单独给药组COL-1、TIMP-1水平明显降低($P<0.01$), MMP-1水平明显升高($P<0.01$)(图1), 表明单独给药后, 药物作用时可抑制活化的HSC-T6细胞中COL-1、TIMP-1的产生. 拮抗剂ICI-182.780和THC可抑制E_2、SSd这种作用. 上述结果表明, SSd对HSC-T6的活化具有抑制作用.

2.2 SSd对HSC-T6细胞培养上清液中P38/MARK通路的蛋白表达

与空白对照组比较, E_2、SSd单独给药组P-P38水平明显降低($P<0.01$)(图2), 表明单独给药后, 药物作用时可抑制活化的HSC-T6细胞中P38/MAPK通路的激活作用, 限制P38磷酸化. 拮抗剂ICI-182.780和THC可抑制E_2、SSd这种作用.

2.3 P38/MAPK信号通路对SSd处理的HSC-T6细胞MMP-1和TIMP-1蛋白表达的影响

我们采用P38阻断剂SB203580处理细胞, 药物作用24 h, 检测MMP-1与TIMP-1蛋白表达. 与空白对照组相比, SB203580组MMP-1蛋白表达明显增高($P<0.01$), TIMP-1蛋白表达明显降低($P<0.05$)(图3).

3 讨论

肝纤维化是各种慢性肝病向肝硬化发展的必然过程. 其主要病理特征为肝细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的堆积, 最终破坏肝组织结构和损坏肝功能. 导致肝ECM堆积的原因主要表现为在肝纤维化过程中ECM合成过多, 降解的减少[2-6]. 近年来, 就影响ECM合成与降解的细胞因子MMPs和TIMPs的研究越来越引起大家的重视.

在肝脏纤维化过程中, ECM大量沉积, 以Ⅰ型和Ⅲ型胶原增多为主, 其中Ⅰ型胶原含量多达肝脏胶原总量的70%以上[7,8], ECM的沉积主要是因胶原合成增多和/或分解减少造成, 而由于大量ECM沉积而形成肝纤维化. 在众多MMPs中MMP-1是肝脏中分解Ⅰ型及Ⅲ型胶原的主要胶原酶[9-11], 是参与ECM降解的主要酶家族, 几乎可降解除多糖以外的全部ECM. TIMP-1是一种能特异抑制MMPs的糖蛋白, 肝纤维化过程中, 打破了ECM合成和分解的动态平衡, 致使TIMP-1表达增加, 抑制MMPs活性, 进而ECM降解不足, 因此, MMPs及TIMP-1在

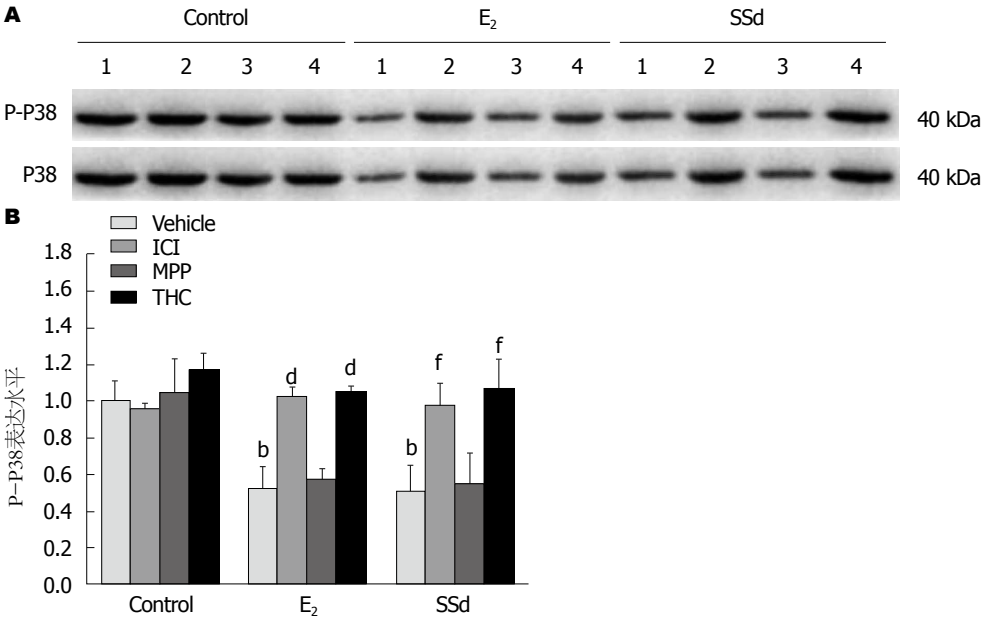


图 2　柴胡皂苷d对HSC-T6细胞培养上清液中P38/MAPK通路的蛋白表达. A: 免疫印迹结果; B: P-P38表达水平. 1: 空白对照组(Vehicle); 2: ICI-182.780; 3: MPP; 4: THC. $^{b}P<0.01$ *vs* Control Vehicle; $^{d}P<0.01$ *vs* E_2 Vehicle; $^{f}P<0.01$ *vs* SSd Vehicle. MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶.

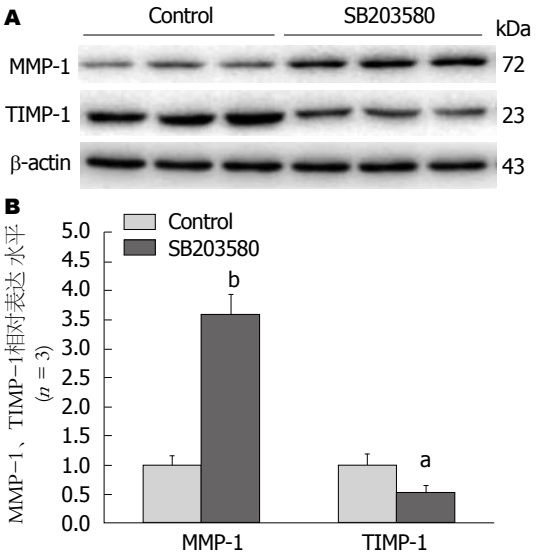


图 3　P38/MAPK信号通路对SSd处理的HSC-T6细胞MMP-1和TIMP-1蛋白表达的影响. A: 免疫印迹结果; B: MMP-1和TIMP-1相对蛋白表达水平. $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$ *vs* 对照组. MMP-1: 基质金属蛋白酶; TIMP-1: 基质金属蛋白酶组织抑制剂.

肝纤维化进程中发挥重要作用[12-14]. 我们采用ELISA实验法, 检测经E_2和SSd诱导的HSC-T6细胞上清液中MMP-1和TIMP-1的含量, 结果显示, 空白组细胞MMP-1含量较少, TIMP-1含量较高, 通过E_2、SSd诱导后, 前者含量明显增加, 后者含量明显减少.

MAPK信号传导通路在调节细胞核内基因的表达方面, 发挥着重要作用. 其可以调控一些关键的细胞功能, 如细胞增殖、分化、迁移和凋亡; 参与很多疾病过程, 如炎症和肿瘤. 在MAPK家族中, 特定氨基酸序列的磷酸化对于每条MAPK通路的激活都是必需的. 一些刺激因子, 如细胞因子, 可以启动MAPK通路的级联反应, 导致相应的MAPK通路的磷酸化和激活, 进而调节基因的转录[15-18]. 有研究证实P38/MAPK参与体外培养的星形胶质细胞缺氧/复氧损伤过程, 通过其阻断剂SB203580抑制作用, P38/MAPK信号途径降低缺氧复氧损伤后星形胶质细胞引起的炎性因子升高趋势. MAPK是外界刺激因子开启HSC-T6细胞信号转导级联反应中的重要一环[19-21].

柴胡始载于《神农本草经》, 具有抗炎、保肝、解热、镇痛等功效, 临床上多用于治疗少阳症、肝郁气结所致头痛, 妇科月经不调, 感冒, 消化系溃疡, 胆结石, 胆汁反流性胃炎等[22-25]. 柴胡中主要提取成份是柴胡皂苷, 文献报道分离鉴定的皂苷为43个, 主要有柴胡皂苷a, 柴胡皂苷b, 柴胡皂苷c, SSd等, 其中活性最强的成分之一是SSd[26-30]. 本课题组前期实验已经证实, SSd在体内外具有类雌激素作用, 是一种植物雌激素[31]. 那么, SSd是否是通过其雌激素样作用发挥抗肝纤维化作用的呢? 目前未见相关文献报道. 因此, 本研究首先通过Western blot法观察SSd是否对肝星状细胞雌激素受体具有调节作用. 结果发现通过E_2、SSd诱导后,

应用要点

本文研究发现SSd可以通过抑制HSC-T6细胞的活化, 从而起到促进ECM降解的作用. 研究结果不仅发现SSd可能是柴胡保肝、治疗肝纤维化等多种药理作用的共同物质基础, 也为临床应用诸如SSd等多种植物雌激素治疗肝纤维化提供了一定的实验依据.

名词解释

MAPK信号通路: 即有丝分裂原活化蛋白激酶信号传导通路, 其在调节细胞核内基因的表达方面, 发挥着重要作用. 其可以调控一些关键的细胞功能, 如细胞增殖、分化、迁移和凋亡; 参与很多疾病过程, 如炎症和肿瘤.

MMP-1含量明显增加, TIMP-1含量明显减少. 此种作用可被ER完全拮抗剂ICI182.780和ERβ抑制剂拮抗. 提示SSd可以通过抑制HSC-T6细胞的活化, 从而起到抑制ECM合成的作用, 是ECM各组分之间保持动态的平衡, 这种作用可能以ERβ调控为主. 另外SSd通过激活MAPK信号通路, 调节细胞合成MMP-1、TIMP-1, 药物作用于氧化应激细胞24 h后, 检测MMP-1和TIMP-1蛋白表达, E_2、SSd可使HSC-T6细胞MMP-1蛋白表达水平增高, TIMP-1蛋白表达水平降低, 阻断剂ICI182.780和MPP通过抑制MAPK通路激活, 则能抑制这种作用, 提示SSd可通过MAPK通路, 调节细胞基质金属蛋白酶及其抑制酶的水平.

本实验研究显示SSd具有类雌激素样作用, 这种作用可能通过增强靶细胞内ER诱导激活的作用而实现的; SSd具有抗肝纤维化作用, 主要通过ERβ受体转录激活作用, 调控MAPK信号通路, 促进P38磷酸化, 抑制细胞因子的表达, 这些信号通路是外界刺激因子开启肝纤维化反应信号转导级联反应中的重要一环, 进而抑制HSC-T6活化, 起到抗肝纤维化作用. 提示SSd可能是柴胡的调经、改善绝经前后诸症, 又能保肝、治疗肝纤维化等多种药理作用的物质基础. SSd具有多途径防治肝病药理作用, 但许多研究工作要进一步深化. 比如其他方面的药理活性, 有无长期的不良反应, 及其吸收、分布、代谢及排泄等各个环节进行深入细致的研究, 寻找活性代谢物, 更好地揭示其发挥药效的作用机制及物质基础, 从而为其在临床上的推广应用提供可靠的依据.

4 参考文献

1 沈艳婷, 刘进锴, 阙任烨, 陶智会, 林柳兵, 李勇. 柴胡皂苷d对氧化应激诱导的HSC-T6活化细胞内AP-1、NF-κB表达的影响及其雌激素受体机制. 江苏中医药 2015; 47: 81-84

2 洪峰. H2O2诱导的肝星状细胞凋亡以及凋亡后细胞外基质代谢的变化. 石家庄: 河北医科大学, 2008

3 邵祥强, 肖华胜. 肝纤维化发病机制与临床诊断的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 268-274

4 王美玲, 陆伦根. 肝纤维化治疗研究进展. 实用肝脏病杂志 2013; 16: 369-371

5 张莎莎, 吕文良, 张旭, 陈兰羽, 杨广栋, 李娟梅, 徐晨光. 肝纤维化的发病机制研究进展. 浙江中医药大学学报 2011; 36: 797-802

6 郭若涵, 白彬. 大型动物实验性肝纤维化及肝硬化模型的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 421-426

7 Birukawa NK, Murase K, Sato Y, Kosaka A, Yoneda A, Nishita H, Fujita R, Nishimura M, Ninomiya T, Kajiwara K, Miyazaki M, Nakashima Y, Ota S, Murakami Y, Tanaka Y, Minomi K, Tamura Y, Niitsu Y. Activated hepatic stellate cells are dependent on self-collagen, cleaved by membrane type 1 matrix metalloproteinase for their growth. *J Biol Chem* 2014; 289: 20209-20221 [PMID: 24867951 DOI: 10.1074/jbc.M113.544494]

8 Tang N, Zhang YP, Ying W, Yao XX. Interleukin-1β upregulates matrix metalloproteinase-13 gene expression via c-Jun N-terminal kinase and p38 MAPK pathways in rat hepatic stellate cells. *Mol Med Rep* 2013; 8: 1861-1865 [PMID: 24126863]

9 Bae MJ, Karadeniz F, Ahn BN, Kong CS. Evaluation of Effective MMP Inhibitors from Eight Different Brown Algae in Human Fibrosarcoma HT1080 Cells. *Prev Nutr Food Sci* 2015; 20: 153-161 [PMID: 26451351 DOI: 10.3746/pnf.2015.20.3.153]

10 Bi Y, Mukhopadhyay D, Drinane M, Ji B, Li X, Cao S, Shah VH. Endocytosis of collagen by hepatic stellate cells regulates extracellular matrix dynamics. *Am J Physiol Cell Physiol* 2014; 307: C622-C633 [PMID: 25080486 DOI: 10.1152/ajpcell.00086.2014]

11 张素梅. 基质金属蛋白酶抑制因子-1基因的RNAi载体构建及其抑制效应. 西安: 第四军医大学, 2013

12 杨莉, 冯爱东, 郑浩杰, 戴二黑. 软肝化坚颗粒对肝纤维化C57小鼠肝组织中MMP-13和TIMP-1 mRNA表达的影响. 临床肝胆病杂志 2014; 30: 340-343

13 俞芹. 化浊解毒调肝方对免疫性肝纤维化大鼠MMP-1、TIMP-1表达的影响. 石家庄: 河北医科大学, 2010

14 王宇. 基质金属蛋白酶及其抑制因子基因表达调控在治疗肝纤维化中作用的实验研究. 广州: 第一军医大学, 2000

15 张玉姣. 肝星状细胞和枯否细胞在肝纤维化过程中的相互作用. 长春: 吉林大学, 2015

16 杨悦杰, 黄芬. 肝星状细胞及相关细胞因子在肝纤维化形成中的作用. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2885-2890

17 汪美凤, 平键, 成扬. 肝星状细胞主要信号转导通路与肝纤维化的关系. 实用肝脏病杂志 2010; 13: 466-469

18 付玲珠, 郑婷, 张永生. TGF-β/Smad信号转导通路与肝纤维化研究进展. 中国临床药理学与治疗学 2014; 19: 1189-1195

19 Chen L, Li L, Chen J, Li L, Zheng Z, Ren J, Qiu Y. Oleoylethanolamide, an endogenous PPAR-α ligand, attenuates liver fibrosis targeting hepatic stellate cells. *Oncotarget* 2015; 6: 42530-42540 [PMID: 26729705]

20 Wang R, Ding Q, Yaqoob U, de Assuncao TM, Verma VK, Hirsova P, Cao S, Mukhopadhyay D, Huebert RC, Shah VH. Exosome Adherence and Internalization by Hepatic Stellate Cells Triggers Sphingosine 1-Phosphate-dependent Migration. *J Biol Chem* 2015; 290: 30684-30696 [PMID: 26534962 DOI: 10.1074/jbc.M115.671735]

21 Aher JS, Khan S, Jain S, Tikoo K, Jena G. Valproate ameliorates thioacetamide-induced fibrosis by hepatic stellate cell inactivation. *Hum Exp Toxicol* 2015; 34: 44-55 [PMID: 24812151 DOI: 10.1177/0960327114531992]

22 王志超, 张博, 杨小龙, 李瑞芳. 柴胡皂苷防治肝病机制研究进展. 河南科技大学学报(医学版) 2011; 29: 316-318

23 田耕, 于皆平. 雌激素的抗肝纤维化作用. 国外医学

(内科学分册) 2000; 27: 390-392, 398
24 王伟红. 雌二醇代谢产物对肝星状细胞增殖和TGF-β1、CTGF表达的影响. 长沙: 中南大学, 2008
25 张春燕. 肝星状细胞的活化对肝纤维化形成的影响. 当代医学 2007; 131: 170-172
26 李忻, 王琛, 于文明, 李平, 王泰龄, 潘琳, 陈玉武, 李克明, 郭景珍. 柴胡皂苷d预防实验大鼠肝纤维化的作用观察. 中日友好医院学报 2006; 20: 192, 225-228
27 朱兰香, 刘世增, 顾振纶. 柴胡皂苷的药理作用及抗肝纤维化的应用. 中草药 2002; 33: 101-102
28 黄幼异, 黄伟, 孙蓉. 柴胡皂苷对肝脏的药理毒理作用研究进展. 中国实验方剂学杂志 2011; 17: 298-301
29 黄伟, 孙蓉. 柴胡皂苷类成分化学与药理和毒理作用研究进展. 中药药理与临床 2010; 26: 71-74
30 刘进锴. 柴胡皂苷d对大鼠肝星状细胞HSC-T6的增殖活化及雌激素受体表达的影响. 上海: 第二军医大学, 2014
31 李勇, 王鹏, 任建琳, 袁冬莹, 尹守乙. 柴胡皂苷d在小鼠体内的类雌激素样作用. 中西医结合学报 2009; 7: 657-660

同行评价

以柴胡为代表对肝纤维化的临床疗效肯定. 本文探讨了有效性的分子机制, 有望对临床应用提供有力实验证据. 研究设计合理, 数据可信. 关于信号通路的研究引入了通路抑制剂, 结果可信, 结论有说服力, 提供了有用信息.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1166

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1166-1174
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

基础研究 BASIC RESEARCH

大蒜素抑制肝癌MHCC97H细胞的迁移、侵袭

王文涛, 原 皓, 杨丙信

背景资料

肝癌起病隐匿, 缺乏特异性症状和体征, 大部分患者发现时多因病灶广泛、或有远处转移等失去手术切除的机会细胞, 且肝癌存在原发性耐药, 绝大多数的肝癌发生在病毒性肝炎、肝硬化的基础上, 正常肝组织减少, 且存在不同程度肝损害, 使传统化疗药物吸收及代谢存在障碍, 很难提高患者生存时间, 改善生存质量. 因此寻找低毒兼具保肝作用的药物很有必要. 大蒜素是百合科葱属植物鳞茎中提取的含硫化合物, 不良反应少, 因此研究大蒜素对肝癌侵袭与迁移的作用有其重要临床意义.

同行评议者

汪余勤, 副主任医师, 上海交通大学医学院附属新华医院内科

王文涛, 杨丙信, 潍坊医学院临床学院 山东省潍坊市 261042

原皓, 青岛大学附属医院消化内科 山东省青岛市 266000

作者贡献分布: 此课题由原皓设计; 研究过程由王文涛与杨丙信共同完成; 数据分析由王文涛完成; 文献查阅由王文涛与杨丙信共同完成; 本论文写作由原皓与王文涛共同完成.

通讯作者: 原皓, 副教授, 266000, 山东省青岛市黄岛开发区五台山路1677号, 青岛大学附属医院消化内科. 91chuhan@163.com

收稿日期: 2015-12-16
修回日期: 2016-01-23
接受日期: 2016-02-02
在线出版日期: 2016-03-18

Allicin inhibits cell migration and invasion in human hepatocellular carcinoma cell line MHCC97H

Wen-Tao Wang, Hao Yuan, Bing-Xin Yang

Wen-Tao Wang, Bing-Xin Yang, Clinical College of Weifang Medical University, Weifang 261042, Shandong Province, China

Hao Yuan, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266000, Shandong Province, China

Correspondence to: Hao Yuan, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, 1677 Wutaishan Road, Huangdao Development District, Qingdao 266000, Shandong Province, China. 91chuhan@163.com

Received: 2015-12-16
Revised: 2016-01-23
Accepted: 2016-02-02
Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To observe the effect of allicin on the proliferation, migration and invasion of human hepatocellular carcinoma cell line MHCC97H and to explore the underlying mechanisms.

METHODS: MTT assay and transwell assay were used to assess the proliferation, migration and invasiveness of MHCC97H treated with varying concentrations of allicin for 24 h. Real-time fluorescence quantitative PCR was performed to detect the mRNA expression of MMP-2, MMP-9 and CD24.

RESULTS: MTT assay demonstrated that the proliferation of MHCC97H cell was inhibited by different concentrations of allicin. Transwell assay demonstrated that compared with the negative control group, the number of penetrating cells in the experimental group was decreased significantly ($P < 0.01$). Real-time fluorescence quantitative PCR showed that allicin could down-regulate the mRNA levels of MMP-2, MMP-9, and CD24 in a dose-dependent manner in MHCC97H cells ($P < 0.01$).

CONCLUSION: Allicin inhibits the proliferation, migration and invasion of MHCC97H cells *via* mechanisms possibly related to down-regulation of the mRNA expression of MMP-2, MMP-9, and CD24.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Allicin; MHCC97H; MMP-2; MMP-9; CD24

Wang WT, Yuan H, Yang BX. Allicin inhibits cell migration and invasion in human hepatocellular carcinoma cell line MHCC97H. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1166-1174 URL: http://www.

wjgnet.com/1009-3079/24/1166.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1166

摘要

目的: 观察大蒜素对肝癌MHCC97H细胞株体外增殖、迁移、侵袭及对MMP-2、MMP-9、CD24 mRNA表达的影响并初步探讨其机制.

方法: 以肝癌MHCC97H细胞株为研究对象, MTT法、Transwell小室实验检测不同浓度大蒜素对肝癌MHCC97H细胞株迁移、侵袭能力的影响. 实时定量PCR检测(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)法检测不同浓度大蒜素对MHCC97H细胞株MMP-2、MMP-9、CD24 mRNA表达的影响.

结果: MTT显示大蒜素抑制MHCC97H细胞增殖(P<0.01), 呈现剂量依赖性. Transwell小室实验显示大蒜素抑制MHCC97H细胞的迁移(P<0.01), 一定范围内呈现剂量依赖性, 大蒜素组侵袭细胞较阴性对照组显著减少(P<0.01). qRT-PCR检测发现不同浓度大蒜素可以下调MHCC97H细胞MMP-2、MMP-9、CD24的表达, 且呈现一定程度剂量依赖性(P<0.01).

结论: 大蒜素对肝癌MHCC97H细胞株的增殖、迁移、侵袭有抑制作用, 且在一定范围内呈现出剂量依赖性. 其机制可能与抑制其MMP-2、MMP-9、CD24 mRAN的表达有关.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 大蒜素; 肝癌MHCC97H细胞株; MMP–2; MMP–9; CD24

核心提示: 研究以大蒜素对肝癌细胞迁移和侵袭的抑制作用为主要目的, 初步阐明其机制可能与抑制MMP-2、MMP-9、CD24 mRNA的表达有关, 为大蒜素在肝癌临床治疗中的应用提供理论依据.

王文涛, 原皓, 杨丙信. 大蒜素抑制肝癌MHCC97H细胞的迁移、侵袭. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1166–1174
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1166.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1166

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)在我国为常见的恶性肿瘤. 浸润性生长和远处转移是其重要的生物学特征和致死的主要原因[1], 因此寻找有效低不良反应的能够抑制肝癌细胞增殖、迁移与侵袭的药物具有重要的临床意义. 大蒜素是百合科葱属植物鳞茎中提取的具有刺激性气味的含硫化合物, 最近研究证明其具有多种生物学功能[2,3], 不仅能杀菌消炎、抗溃疡、提高机体免疫力等药理作用[4-6], 还可以防癌、抗癌[3]. 已有多项研究[3,7-11]证明大蒜素可以抑制动物模型中及体外培养的食管癌、胃癌、结肠癌等多种肿瘤细胞的生长、增殖, 并诱导其凋亡. Chu等[12,13]研究证明大蒜素可以通过调节*p53*基因, 诱导肝癌细胞凋亡和自体吞噬, 陈传军等[14]研究证明大蒜素对人肝癌HepG-2细胞的增殖有抑制作用, 并能诱导HepG-2细胞凋亡, 其分子机制涉及上调Bax、Caspase3表达. 但大蒜素对体外培养的肝癌细胞迁移与侵袭影响的研究较少, 本研究旨在观察大蒜素对体外培养的人肝癌MHCC97H细胞株的增殖、迁移与侵袭的影响, 并通过检测其对MMP-2、MMP-9、CD24的mRNA表达影响, 分析大蒜素抑制肝癌侵袭和迁移的机制.

创新盘点
大蒜素的防癌、抗癌作用虽已早有报道, 但其对肝癌的作用, 尤其是对肝癌迁移与侵袭的影响及机制的研究较少, 因此本文旨在对这一课题进行初步研究.

1 材料和方法

1.1 材料 MHCC97H细胞株(上海富衡生物科技有限公司), MTT、DMSO、大蒜素(纯度≥98%)(索莱宝公司), 顺铂注射液(江苏豪森药业), DMEM高糖培养基、胎牛血清、0.25%胰蛋白酶-EDTA(biowest), DAPI(Applichem), Transwell小室(Costar公司), Matrigel胶、细胞培养材料(Corning公司), TRIzol试剂(Invitrogen公司), 逆转录试剂盒、实时定量PCR检测(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)试剂盒(Takara公司), MMP-2、MMP-9、CD24、GAPDH引物(上海生工).

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: MHCC97H肝癌细胞株用DMEM培养液(加入10%胎牛血清、100 IU/mL青霉素、和100 IU/mL链霉素), 在37 ℃、50 mL/L CO_2培养箱中常规培养, 细胞贴壁生长.

1.2.2 试剂配制: 20 mg大蒜素加入含40 mg吐温80的20 mL生理盐水中制成大蒜素乳剂[15], 4 ℃冰箱保存, 用时用DMEM培养液依次稀释成40、20、10 μg/mL. 30 mg/6 mL顺铂注射液加入54 mL生理盐水中, 制成0.5 g/L的溶液备用, 使用时用DMEM培养液稀释成0.5 μg/mL. DAPI配制: DAPI粉末溶于PBS中, 使其母液浓

应用要点
大蒜素较之传统化疗药物，不良反应少，且兼杀菌消炎、抗溃疡、调血脂、抗高压、提高机体免疫力、保肝等作用，因此大蒜素是一种潜在的辅助或全身治疗的药物.

表 1 基因引物序列

基因	引物序列
h-MMP2	F: TATGACAGCTGCACCACTGA R: TCATCGTAGTTGGCTGTGGT
h-CD24	F: GCTCCTACCCACGCAGATTT R: TGAGACCACGAAGAGACTGG
h-MMP9	F: GGGACGCAGACATCGTCATC R: TCGTCATCGTCGAAATGGGC
h-GAPDH	F: CCATCACCATCTTCCAGG, R: ATGAGTCCTTCCACGATAC

度为10 μg/mL.

1.2.3 实验分组: 分为DMEM培养液阴性对照组, 40 μg/mL大蒜素组, 20 μg/mL大蒜素组, 10 μg/mL大蒜素组, 5 μg/mL大蒜素组, 5 μg/mL顺铂阳性对照组.

1.2.4 四甲基偶氮唑盐(MTT)法测定大蒜素对细胞增殖活力的影响: 取对数生长期细胞, 调整细胞密度至5×10^5个/mL, 以100 μL/孔加入96孔板. 细胞贴壁后吸去培养液, 按照实验分组添加相应的培养液. 每组设5个复孔. 继续培养24 h, 每孔加入20 μL MTT继续培养4 h, 弃培养液, 加DMSO 150 μL/孔, 摇床震荡10 min, 自动酶标仪检测490 nm波长处的吸光度(A)值.

1.2.5 Transwell小室迁移实验: 结合形态学结果及MTT结果去除5 μg/mL大蒜素组, 其余组进一步行迁移实验, 取对数生长期的MHCC97H细胞, 用0.1%胎牛血清的DMEM培养液制成单细胞悬液, 调整细胞悬液浓度至5×10^5个/mL, 按200 μL/孔分别接种到Transwell上室, 上室5组分别接种0.1%胎牛血清的DMEM培养液制成的单细胞悬液200 μL/孔(5×10^5个/mL), 下室分别加入含10、20、40 μg/mL大蒜素、5 μg/mL顺铂的10%胎牛血清的DMEM培养液600 μL, 50 mL/L CO_2培养箱37 ℃培养24 h后, 去除上室中培养液, 用棉签轻轻擦去上层中的细胞, 4%多聚甲醛中固定20 min, 光镜下观察细胞迁移至小室底部的情况, 随机选取5个视野计数细胞. 每组重复3个复孔.

1.2.6 侵袭实验: Transwell小室铺100 μL Matrigel, 37 ℃凝固. 细胞接种和药物添加同迁移实验, 50 mL/L CO_2培养箱37 ℃培养48 h. 弃去上室液体, 4%多聚甲醛固定, 10 ng/mL的DAPI进行染色5 min, 荧光显微镜下观察并拍照. 每组重复3个复孔.

1.2.7 qRT-PCR检测不同浓度大蒜素作用后MHCC97H肝癌细胞MMP-2、MMP-9、CD24的mRNA表达变化: 6 cm培养皿培养细胞, 细胞铺满培养皿后, 培养皿中加入不同浓度大蒜素作用24 h, TRIzol法提取总RNA, 在Nanodrop仪器上检测核酸浓度. 根据试剂盒说明, 每组取1 μg的RNA, 10 μL体系(5×gDNA Eraser Buffer 2 μL, gDNA Eraser 1 μL, total RNA+H_2O 7 μL, 42 ℃ 2 min); 20 μL体系(反应液10 μL, 5×PrimeScript Buffer 24 μL, PrimeScript RT Enzyme MixI 1 μL, RT Primer Mix 1 μL, RNase Free water 4 μL), 37 ℃ 15 min; 85 ℃ 5 s; 所得cDNA加180 μL水稀释, 分别加入: 2×Mix 10 μL, cDNA 5 μL, 50×ROX 0.4 μL, H_2O 4.6 μL. 反应程序: 变性阶段: 95 ℃ 30 s, PCR反应阶段40个循环: 95 ℃ 5 s; 60 ℃ 30 s. 解离曲线阶段: 95 ℃ 15 s; 60 ℃ 1 min; 95 ℃ 15 s. 基因引物序列如表1. PCR得到的Ct值结果, 采用$2^{-\triangle\triangle Ct}$表示mRAN的相对表达量, 对结果进行分析.

统计学处理 所得数据应用SPSS20.0进行分析, 实验数据均以mean±SD表示, 首先进行方差齐性检验, 方差齐的两组间比较采用t检验, 多组间比较采用单因素方差分析数据, $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 MTT法检测大蒜素对MHCC97H细胞增殖的影响 各组A值如表2所示, 6组间A值进行比较差异有统计学意义($P<0.01$), 大蒜素各组与阴性对照组相比, 差异有统计学意义($P<0.01$), 大蒜素各组与阳性对照组比较, 差异有统计学意义($P<0.01$), 大蒜素各组间两两比较, 10、5 μg/mL两组差异无统计学意义, 其余组间比较差异有统计学意义($P<0.01$). 说明大蒜素对MHCC97H细胞增殖有抑制作用, 且随剂量增加细胞增殖活性降低, 但大蒜素对MHCC97H的增殖抑制作用较阳性对照组弱.

2.2 Transwell小室迁移和侵袭实验结果 阴性对照组、10、20、40 μg/mL大蒜素组、阳性对照组的细胞均能穿过滤膜, 100倍显微镜下五组小室底部细胞数分别是: 508.67±28.68、235.67±19.03、152.00±28.16、155.67±13.58、246.67±35.13, 穿过铺Matrigel胶的滤膜的细胞数分别是: 276.00±24.29、206.00±27.06、193.00±12.29、169.00±13.11、177.00

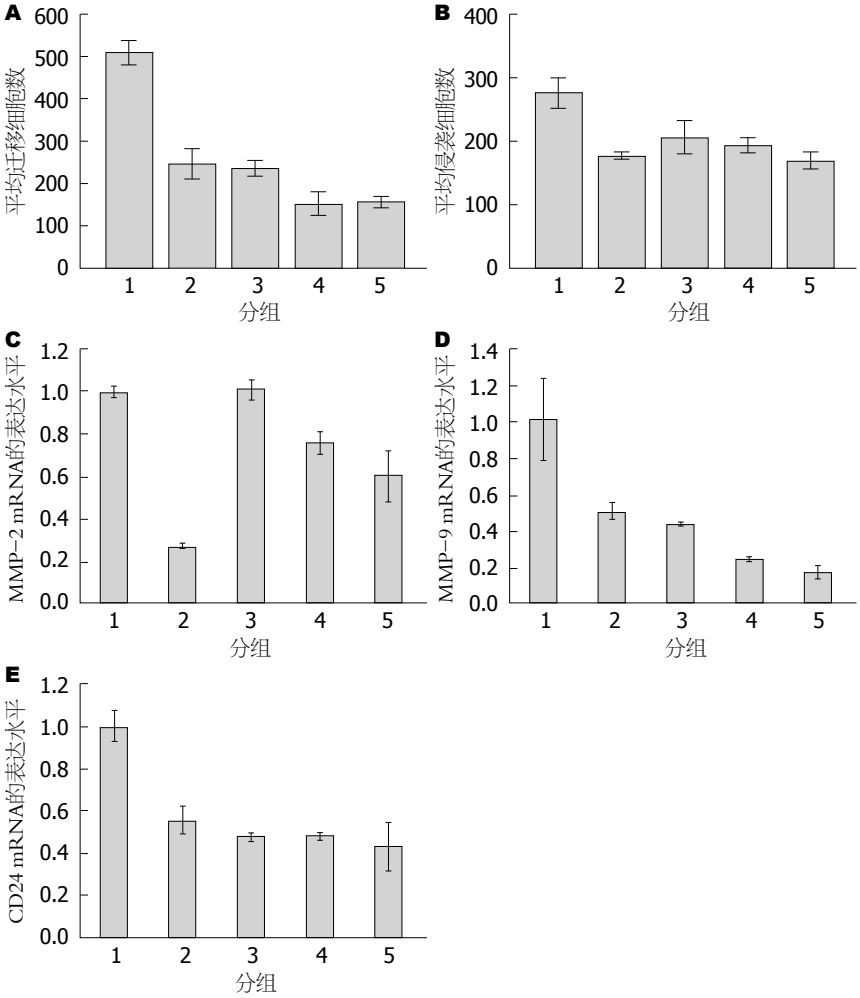


图 1　不同浓度大蒜素对MHCC97H细胞迁移、侵袭及mRNA表达的影响. A: 迁移细胞数计数结果; B: 侵袭细胞计数结果; C: MMP−2 mRNA表达; D: MMP−9 mRNA表达; E: CD24 mRNA表达. 1: 阴性对照组; 2: 阳性对照组; 3: 10 μg/mL大蒜素组; 4: 20 μg/mL大蒜素组; 5: 40 μg/mL大蒜素组. MMP: 基质金属蛋白酶.

表 2　MTT法检测大蒜素对MHCC97H细胞增殖的影响 (n = 5, mean ± SD)

分组	A值
阴性对照组	0.3722 ± 0.0274
阳性对照组	0.1730 ± 0.0148
40 μg/mL大蒜素组	0.2098 ± 0.0158[bd]
20 μg/mL大蒜素组	0.2474 ± 0.0381[bd]
10 μg/mL大蒜素组	0.2972 ± 0.0317[bd]
5 μg/mL大蒜素组	0.2936 ± 0.0298[bd]

[b]P<0.01 *vs* 阴性对照组; [d]P<0.01 *vs* 阳性对照组.

±6.00(图1A, B), 5组间比较差异有统计学意义(P<0.01). 大蒜素对MHCC97H细胞的迁移有抑制作用, 一定范围内呈现剂量依赖性, 其中40、20 μg/mL两个浓度的大蒜素对MHCC97H细胞迁移的抑制作用大于阳性对照组(图2A-E). 大蒜素对MHCC97H细胞的侵袭具有抑制作用, 但无明显剂量依赖性. 10 μg/mL以上各浓度梯度对MHCC97H细胞侵袭的抑制作用与阳性对照组无显著差异(图2F-J).

2.3 qRT-PCR结果　大蒜素作用MHCC97H肝癌细胞24 h后, MMP-2、MMP-9、CD24的mRNA表达水平(图1C-E), $2^{-\triangle\triangle Ct}$值(表3): MMP-2、MMP-9、CD24 mRNA表达五组间差异均有统计学意义(P<0.01), MMP-2 mRNA的表达: 40、20 μg/mL大蒜素组显著低于阴性对照组(0.6030±0.1185、0.7590±0.0545 *vs* 1.0003±0.0276, P<0.01), 40、20 μg/mL大蒜素组显著高于阳性对照组(0.6030±0.1185、0.7590±0.0545 *vs* 0.2761±0.0136, P<0.01), 提示大蒜素对MHCC97H细胞MMP-2的表达有抑制作用, 其作用较阳性对照组弱; MMP-9 mRNA的表达: 大蒜素各组与阴性对照组两两比较差异均有统计意义(P<0.01), 40、20 μg/mL大蒜素组显著低于阳性对照组(0.1757±0.0380、0.2480

名词解释

自体吞噬: 指细胞将自己细胞质的一部分(如线粒体和内质网)包围起来形成液泡(自体吞噬泡), 再依靠初级溶酶体供应的水解酶将其消化. 自体吞噬可由于饥饿和激素的作用等诱导产生.

同行评价

本文阐明的大蒜素对肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭有抑制作用, 初步阐述的其抑制迁移和侵袭的机制可能与下调MMP-2、MMP-9、CD24 mRNA的表达有关. 而其蛋白表达情况有待进一步阐明, 肝癌的发生、发展和远处转移是多基因改变共同作用的结果, 因此其机制有待进一步研究.

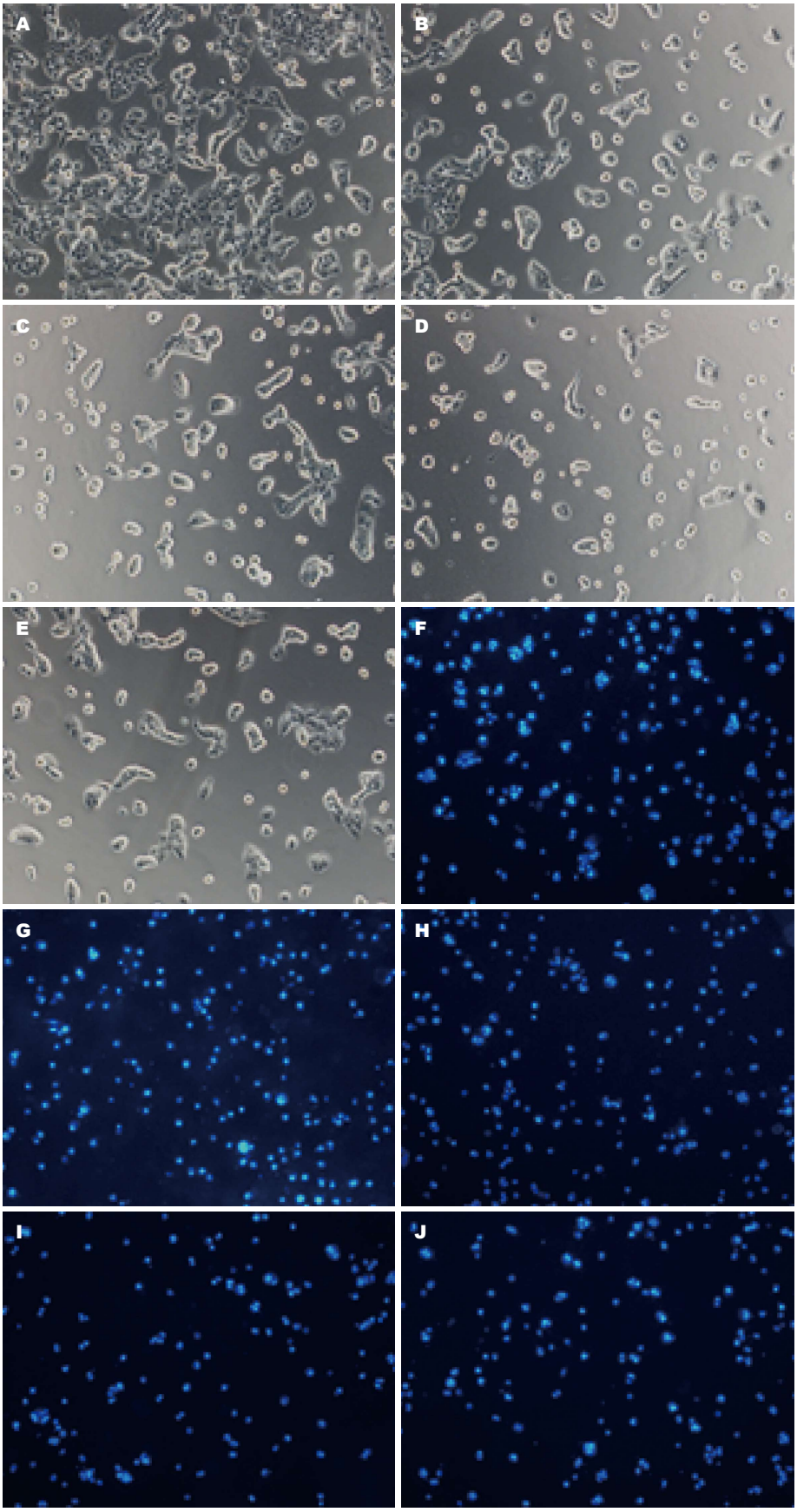


图 2　不同浓度大蒜素对MHCC97H细胞迁移和侵袭的影响(×100). A–E: 对迁移的影响; F–J: 对侵袭的影响. A, F: 阴性对照组; B, G: 10 μg/mL大蒜素组; C, H: 20 μg/mL大蒜素组; D, I: 40 μg/mL大蒜素组; E, J: 阳性对照组.

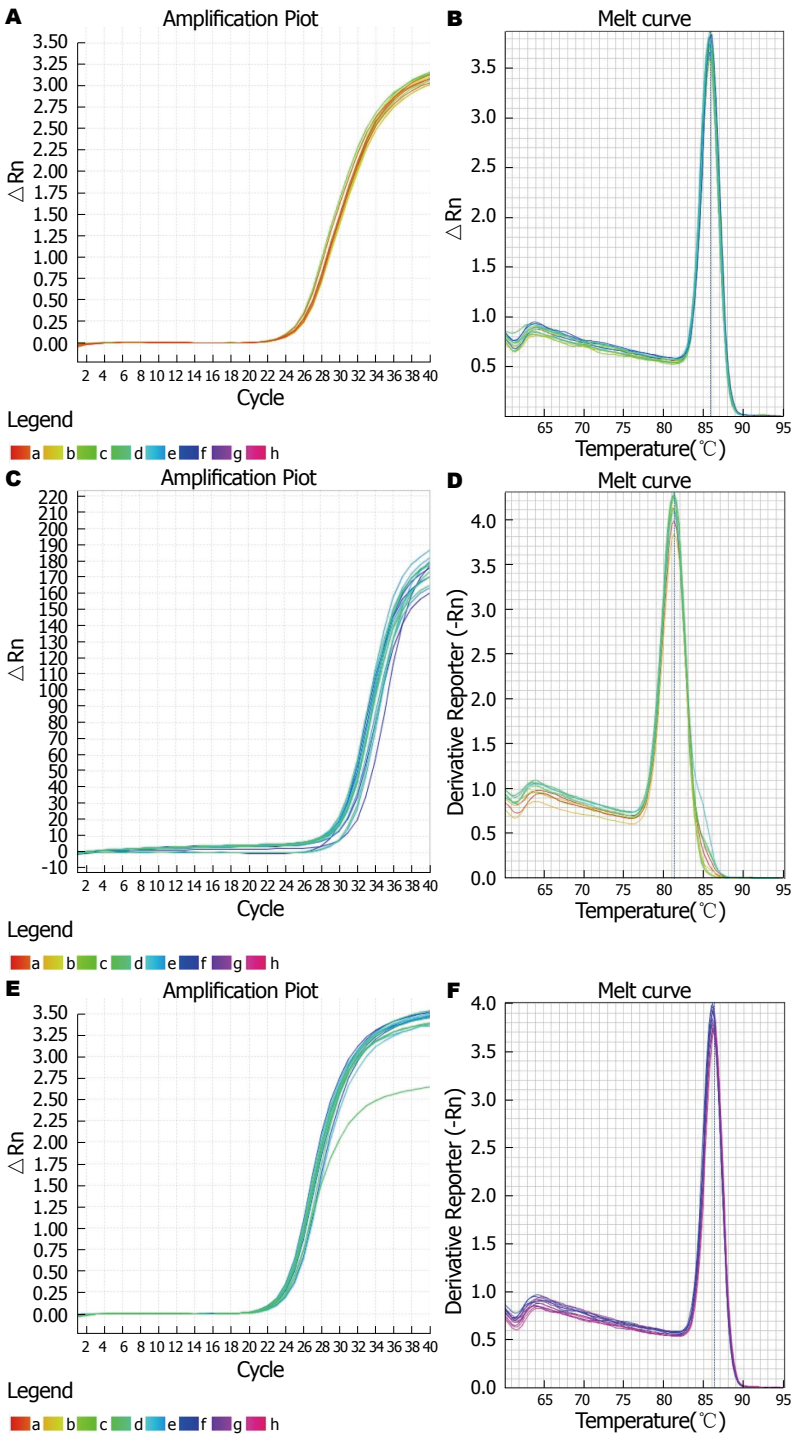


图 3　荧光定量PCR扩增及溶解曲线. A: MMP−2扩增曲线; B: MMP−2溶解曲线; C: MMP−9扩增曲线; D: MMP−9溶解曲线; E: CD24扩增曲线; F: CD24溶解曲线. MMP: 基质金属蛋白酶.

±0.0156 *vs* 0.5109±0.0459, $P<0.01$), 差异均有统计学意义. 40 μg/mL与20 μg/mL大蒜素组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$), 说明大蒜素对MHCC97H细胞MMP-9 mRNA表达有抑制作用, 且呈现剂量依赖性.

CD24 mRNA表达: 10、20、40 μg/mL大蒜素组显著低于阴性对照组(0.4726±0.0218、0.4790±0.0189、0.4321±0.1157 *vs* 1.0018±0.0719), 差异均有统计学意义($P<0.01$), 大蒜素各组与阳性对照组(0.5553±0.0645)两两比较, 差异均无统计学意义, 大蒜素各组之间两两比较, 差异均无统计学意义, 提示大蒜素对CD24 mRNA的表达有抑制作用, 无明显剂量依赖性. 扩增和溶解曲线如图3.

表 3 MMP-2、MMP-9、CD24的$2^{-\Delta\Delta Ct}$值 (n = 5, mean ± SD)

分组	MMP-2	MMP-9	CD24
阴性对照组	1.0003 ± 0.0276	1.0160 ± 0.2270	1.0018 ± 0.0719
阳性对照组	0.2761 ± 0.0136	0.5109 ± 0.0459	0.5553 ± 0.0645
10 μg/mL大蒜素组	1.0100 ± 0.0450	0.4407 ± 0.0127	0.4726 ± 0.0218[bd]
20 μg/mL大蒜素组	0.7590 ± 0.0545[bd]	0.2480 ± 0.0156[bd]	0.4790 ± 0.0189[bd]
40 μg/mL大蒜素组	0.6030 ± 0.1185[bd]	0.1757 ± 0.0380[bd]	0.4321 ± 0.1157[bd]

[b]P<0.01 *vs* 阴性对照组, [d]P<0.01 *vs* 阳性对照组.

3 讨论

肝癌细胞在侵袭、转移的过程中, 细胞外基质的降解和破坏是关键步骤, 在细胞外基质合成与降解的动态平衡中, 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)发挥了重要调节作用, MMPs是一组含锌离子的依赖性内切酶, MMPs可通过破坏肿瘤细胞周围的物理屏障, 导致肿瘤细胞脱落, 通过破坏基底膜的完整, 从而使肿瘤向周围组织浸润并侵入血管、淋巴管, 研究[16-19]证实, MMPs还可以通过改建细胞外基质, 促进肿瘤血管的生成, 参与肿瘤的免疫过程等机制促进肿瘤细胞发生侵袭和转移. 其中与肝癌侵袭、转移关系最为密切的有MMP-2、MMP-9. Bu等[20]研究表明肝癌组织中MMP-2含量升高与癌栓形成相关, 而癌栓形成是肝癌侵袭转移性最为可靠的指标之一, 因此MMP-2是判断肝癌的侵袭和转移一个重要指标; 此外, Chen等[21]研究证实MMP-9也是用于判断肝癌侵袭、转移和术后复发方面的较好指标. 陈春洲等[22]研究发现MMP-2、MMP-9在肝癌中表达升高, 与有无静脉浸润、有无肝内外转移及有无包膜有关, MMP-2、MMP-9表达明显升高, 与肝癌的生长、侵袭和转移有密切的关系. 本研究证实大蒜素下调MMP-2、MMP-9的mRNA的表达与其抑制肝癌细胞的迁移与侵袭相关, 然而MMPs的表达可在多水平上受到多种方式的调节, 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)通过转录因子Ets-1调节*MMP-9*启动子而上调MMP-9 mRNA的表达[23]; 通过转录因子EIAF调节*MMP-2*启动子[24], 高勇等[25]研究表明大蒜素能下调结肠癌细胞中的VEGF的表达, 因此我们推断大蒜素可能通过抑制VEGF的表达, 进而下调MMP-2、MMP-9的mRNA的表达. 另外肝细胞生长因子、血小板衍生生长因子、表皮生长因子、碱性成纤维细胞因子、核因子-κB等都能不同程度、不同方向的影响MMPs mRNA的表达[26], 但大蒜素对这些因子的影响的报道较少, 因此大蒜素下调肝癌MMP-2、MMP-9 mRNA表达的机制还需更深入的研究.

CD24是一种低分子量高度糖基化的蛋白质黏分子, 由27个氨基酸组成, 通过糖基化磷酯酰肌醇黏附在细胞膜上, 具有多种功能性的糖基化模式, CD24的唯一配体是P-selectin, 其在血小板和活化的内皮细胞中均呈高表达, 所以CD24阳性的肿瘤细胞更容易与血小板及内皮细胞黏附并在循环系统中形成肿瘤栓子[27,28]. CD24的糖基化具有重要作用, 其充当细胞连接位点上分子间相互作用的媒介, 介导细胞间、细胞与基质间的黏附, 这种黏附与淋巴转移和神经网络生成有关[29], 王聪仁等[30]研究发现CD24 mRAN与术前AFP水平、组织学分级、血管浸润正相关, Yang等[31]研究发现CD24的高表达与肝细胞癌的高增殖、侵袭、转移能力相关, 且CD24也可能是一个新的肝癌术后判断预后的指标. 本研究证明大蒜素可以下调CD24 mRNA的表达, 但其作用机制尚无文献报道, 有研究[32]证明NDRG2通过调控CD24进而影响肝癌细胞侵袭能力, 因此大蒜素是否通过上调NDRG2进而影响CD24 mRNA的表达有待进一步研究.

总之, MMP-2、MMP-9及CD24的作用包含导致肝癌细胞脱落、基底膜破坏、血管、淋巴管浸润以及与血小板、内皮细胞结合进而发生远处转移的全过程, 本研究证明大蒜素可以下调MMP-2、MMP-9、CD24的mRNA的表达, 进而抑制肝癌细胞的迁移与侵袭. 另外, 我国大多数的肝癌都发生在病毒性肝炎、肝硬化的基础上, 患者正常肝组织减少, 同时还存

在不同程度肝损害, 这不仅使传统化疗药物吸收及代谢出现障碍[33], 而且传统化疗药物的不良反应较多, 肝癌细胞存在原发性耐药, 这些都影响了化疗药物的疗效, 限制了其临床上的应用. 大蒜素相比其他化疗药物, 不良反应较少[34], 近来一些研究[35,36]证实大蒜素还可以提高血管内皮细胞中Ⅱ相解毒酶和谷胱甘肽的表达水平, 其解毒和抗氧化作用, 可以保护肝癌患者的残余肝功能, 因此作为一种潜在的具有保肝作用的抗癌药物, 大蒜素在肝癌中的应用, 尤其是对肝癌远处转移及预后的作用值得进一步研究, 其作用机制也有待更深入的研究.

4 参考文献

1 郭燕, 刘文超. 肝癌发生侵袭与转移分子机制的研究进展. 现代肿瘤医学 2014; 22: 932-936

2 Borlinghaus J, Albrecht F, Gruhlke MC, Nwachukwu ID, Slusarenko AJ. Allicin: chemistry and biological properties. *Molecules* 2014; 19: 12591-12618 [PMID: 25153873 DOI: 10.3390/molecules190812591]

3 Zhang X, Zhu Y, Duan W, Feng C, He X. Allicin induces apoptosis of the MGC-803 human gastric carcinoma cell line through the p38 mitogen-activated protein kinase/caspase-3 signaling pathway. *Mol Med Rep* 2015; 11: 2755-2760 [PMID: 25523417 DOI: 10.3892/mmr.2014.3109]

4 Milner JA. A historical perspective on garlic and cancer. *J Nutr* 2001; 131: 1027S-1031S [PMID: 11238810]

5 Lai KC, Hsu SC, Kuo CL, Yang JS, Ma CY, Lu HF, Tang NY, Hsia TC, Ho HC, Chung JG. Diallyl sulfide, diallyl disulfide, and diallyl trisulfide inhibit migration and invasion in human colon cancer colo 205 cells through the inhibition of matrix metalloproteinase-2, -7, and -9 expressions. *Environ Toxicol* 2013; 28: 479-488 [PMID: 21695758 DOI: 10.1002/tox.20737]

6 Majewski M. Allium sativum: facts and myths regarding human health. *Rocz Panstw Zakl Hig* 2014; 65: 1-8 [PMID: 24964572]

7 Herman-Antosiewicz A, Singh SV. Signal transduction pathways leading to cell cycle arrest and apoptosis induction in cancer cells by Allium vegetable-derived organosulfur compounds: a review. *Mutat Res* 2004; 555: 121-131 [PMID: 15476856 DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2004.04.016]

8 Cha JH, Choi YJ, Cha SH, Choi CH, Cho WH. Allicin inhibits cell growth and induces apoptosis in U87MG human glioblastoma cells through an ERK-dependent pathway. *Oncol Rep* 2012; 28: 41-48 [PMID: 22552443 DOI: 10.3892/or.2012.1772]

9 Hu Y, Chen L, Yi C, Yang F, Chen J. Experimental study on inhibitory effects of diallyl sulfide on growth and invasion of human osteosarcoma MG-63 cells. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2012; 32: 581-585 [PMID: 22886974 DOI: 10.1155/2014/378684]

10 Xu L, Yu J, Zhai D, Zhang D, Shen W, Bai L, Cai Z, Yu C. Role of JNK Activation and Mitochondrial Bax Translocation in Allicin-Induced Apoptosis in Human Ovarian Cancer SKOV3 Cells. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014; 2014: 378684 [PMID: 25097657]

11 Kaschula CH, Hunter R, Stellenboom N, Caira MR, Winks S, Ogunleye T, Richards P, Cotton J, Zilbeyaz K, Wang Y, Siyo V, Ngarande E, Parker MI. Structure-activity studies on the anti-proliferation activity of ajoene analogues in WHCO1 oesophageal cancer cells. *Eur J Med Chem* 2012; 50: 236-254 [PMID: 22381354 DOI: 10.1016/j.ejmech.2012.01.058]

12 Chu YL, Ho CT, Chung JG, Raghu R, Lo YC, Sheen LY. Allicin induces anti-human liver cancer cells through the p53 gene modulating apoptosis and autophagy. *J Agric Food Chem* 2013; 61: 9839-9848 [PMID: 24059278 DOI: 10.1021/jf403241s]

13 Chu YL, Ho CT, Chung JG, Rajasekaran R, Sheen LY. Allicin induces p53-mediated autophagy in Hep G2 human liver cancer cells. *J Agric Food Chem* 2012; 60: 8363-8371 [PMID: 22860996 DOI: 10.1021/jf301298y]

14 陈传军, 于志坚, 吕亚莉, 蔡英. 大蒜素抗人肝癌HepG-2细胞的实验研究. 中华中医药学刊 2014; 32: 1763-1767

15 钟宁, 马亚兵, 高海青, 张志勉, 程梅, 由倍安, 伊永亮, 刘新春. 大蒜素抑制体外人肝癌细胞的侵袭能力. 世界华人消化杂志 2005; 13: 743-747

16 Li Q, Park PW, Wilson CL, Parks WC. Matrilysin shedding of syndecan-1 regulates chemokine mobilization and transepithelial efflux of neutrophils in acute lung injury. *Cell* 2002; 111: 635-646 [PMID: 12464176 DOI: 10.1016/S0092-8674(02)01079-6]

17 McQuibban GA, Gong JH, Tam EM, McCulloch CA, Clark-Lewis I, Overall CM. Inflammation dampened by gelatinase A cleavage of monocyte chemoattractant protein-3. *Science* 2000; 289: 1202-1206 [PMID: 10947989 DOI: 10.3109/10409238.2013.770819]

18 Vandooren J, Van den Steen PE, Opdenakker G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9): the next decade. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2013; 48: 222-272 [PMID: 23547785]

19 Poyer F, Coquerel B, Pegahi R, Cazin L, Norris V, Vannier JP, Lamacz M. Secretion of MMP-2 and MMP-9 induced by VEGF autocrine loop correlates with clinical features in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res* 2009; 33: 407-417 [PMID: 18829111 DOI: 10.1016/j.leukres.2008.08.019]

20 Bu W, Huang X, Tang Z. [The role of MMP-2 in the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma (HCC)]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 1997; 77: 661-664 [PMID: 9772533]

21 Chen R, Cui J, Xu C, Xue T, Guo K, Gao D, Liu Y, Ye S, Ren Z. The significance of MMP-9 over MMP-2 in HCC invasiveness and recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection. *Ann Surg Oncol* 2012; 19 Suppl 3: S375-S384 [PMID: 21681378 DOI: 10.1245/s10434-011-1836-7]

22 陈春洲, 雷长江, 李磊, 曾诚, 黄剑彬. 肝癌组织中基质金属蛋白酶表达与侵袭转移的关系研究. 中华临

床医师杂志(电子版) 2015; 9: 2504-2507
23 Behrens P, Rothe M, Florin A, Wellmann A, Wernert N. Invasive properties of serous human epithelial ovarian tumors are related to Ets-1, MMP-1 and MMP-9 expression. *Int J Mol Med* 2001; 8: 149-154 [PMID: 11445865 DOI: 10.3892/ijmm.8.2.149]
24 Nishikawa A, Iwasaki M, Akutagawa N, Manase K, Yamashita S, Endo T, Kudo R. Expression of various matrix proteases and Ets family transcriptional factors in ovarian cancer cell lines: correlation to invasive potential. *Gynecol Oncol* 2000; 79: 256-263 [PMID: 11063654 DOI: 10.1006/gyno.2000.5944]
25 高勇, 刘扬清, 曹维克, 陈小飞, 万一元, 衡春, 徐丽娟. 大蒜素抗人结肠癌LoVo细胞侵袭转移作用及其机制. 中华医学杂志 2009; 89: 1382-1386
26 边晓慧, 李德天. MMPs表达与调控的研究进展. 国外医学. 泌尿系统分册 2004; 24: 136-139
27 Friederichs J, Zeller Y, Hafezi-Moghadam A, Gröne HJ, Ley K, Altevogt P. The CD24/P-selectin binding pathway initiates lung arrest of human A125 adenocarcinoma cells. *Cancer Res* 2000; 60: 6714-6722 [PMID: 11118057]
28 Kristiansen G, Sammar M, Altevogt P. Tumour biological aspects of CD24, a mucin-like adhesion molecule. *J Mol Histol* 2004; 35: 255-262 [PMID: 15339045]
29 Lee HJ, Choe G, Jheon S, Sung SW, Lee CT, Chung JH. CD24, a novel cancer biomarker, predicting disease-free survival of non-small cell lung carcinomas: a retrospective study of prognostic factor analysis from the viewpoint of forthcoming (seventh) new TNM classification. *J Thorac Oncol* 2010; 5: 649-657 [PMID: 20354454 DOI: 10.1097/JTO.0b013e3181d5e554]
30 王聪仁, 苏子剑, 潘群雄, 庄建良. CD24在原发性肝癌中的表达及其临床意义. 中国肿瘤外科杂志 2012; 4: 193-196
31 Yang XR, Xu Y, Yu B, Zhou J, Li JC, Qiu SJ, Shi YH, Wang XY, Dai Z, Shi GM, Wu B, Wu LM, Yang GH, Zhang BH, Qin WX, Fan J. CD24 is a novel predictor for poor prognosis of hepatocellular carcinoma after surgery. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 5518-5527 [PMID: 19706825 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0151]
32 邱新毓, 杨建栋, 张毅, 李燕, 李成花, 张兰慧, 刘新平, 郑瑾. NDRG2通过调控CD24影响肝癌细胞侵袭能力的研究. 现代生物医学进展 2014; 14: 1637-1640
33 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011年版). 临床肿瘤学杂志 2011; 16: 929-946
34 Tao M, Gao L, Pan J, Wang X. Study on the inhibitory effect of allicin on human gastric cancer cell line SGC-7901 and its mechanism. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2014; 11: 176-179 [PMID: 24653574]
35 Izigov N, Farzam N, Savion N. S-allylmercapto-N-acetylcysteine up-regulates cellular glutathione and protects vascular endothelial cells from oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2011; 50: 1131-1139 [PMID: 21281712 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.01.028]
36 Horev-Azaria L, Eliav S, Izigov N, Pri-Chen S, Mirelman D, Miron T, Rabinkov A, Wilchek M, Jacob-Hirsch J, Amariglio N, Savion N. Allicin up-regulates cellular glutathione level in vascular endothelial cells. *Eur J Nutr* 2009; 48: 67-74 [PMID: 19048328 DOI: 10.1007/s00394-008-0762-3]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1175

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1175-1183
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

过表达*CD44v6*基因对人大肠癌SW480细胞侵袭迁移能力的影响

吕 林, 刘海光, 张筱骅

吕林, 刘海光, 张筱骅, 温州医科大学附属第一医院肿瘤外科 浙江省温州市 325000

吕林, 在读硕士, 主要从事肿瘤干细胞的研究.

温州市科技局基金资助项目, No. Y20140713
温州医科大学附属第一医院科研孵化基金资助项目, No. FHY2014013

作者贡献分布: 此课题由张筱骅设计与指导; 研究过程由吕林操作完成; 数据分析及论文撰写由吕林与刘海光完成.

通讯作者: 张筱骅, 教授, 主任医师, 博士生导师, 325000, 浙江省温州市瓯海区南白象街道, 温州医科大学附属第一医院肿瘤外科. zhangxhoncology@163.com
电话: 0577-55579462

收稿日期: 2015-12-20
修回日期: 2016-01-29
接受日期: 2016-01-31
在线出版日期: 2016-03-18

Impact of *CD44v6* overexpression on invasion and metastasis of colon cancer SW480 cells

Lin Lv, Hai-Guang Liu, Xiao-Hua Zhang

Lin Lv, Hai-Guang Liu, Xiao-Hua Zhang, Department of Surgical Oncology, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, Zhejiang Province, China

Supported by: the Science Foundation of Health Bureau of Wenzhou City of Zhejiang, No. Y20140713; the Incubation Program of the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, No. FHY2014013

Correspondence to: Xiao-Hua Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Surgical Oncology, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Nanbaixiang Street, Ouhai District, Wenzhou 325000, Zhejiang Province, China. zhangxhoncology@163.com

Received: 2015-12-20
Revised: 2016-01-29
Accepted: 2016-01-31
Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To investigate the impact of *CD44v6* overexpression on the invasion and metastasis of human colon cancer SW480 cells.

METHODS: SW480 cells stably overexpressing *CD44v6* (CD44v6 group) and negative control cells (NC group) were developed through lentivirus infection. Transfection efficiency was evaluated by detecting the expression of enhanced green fluorescent protein (EGFP). *CD44v6* mRNA levels were determined using quantitative real-time PCR. Localization of the overexpressed protein was observed by immunofluorescence staining of Flag protein. Cell proliferation was determined by cell counting kit (CCK)-8 assay. Cell invasion and metastasis were examined by scratch assay and transwell assay.

RESULTS: EGFP detection indicated that transfection efficiency was close to 100% in both groups. *CD44v6* mRNA levels in CD44v6 overexpressing cells were significantly higher than those in the control cells ($P < 0.001$). The overexpressed CD44v6 protein was mainly localized on the cell membrane. No difference was revealed in cell proliferation between the two groups by CCK-8 assay. Scratch assay showed that the wound healing index was significantly increased in the CD44v6 group compared with the NC group ($P < 0.05$).

背景资料
CD44v6是最为公认的大肠癌肿瘤干细胞标志物之一, 被认为与肿瘤侵袭转移及不良预后相关. 但目前研究大多局限于临床相关性水平, 缺乏细胞及动物水平的功能机制研究. 建立可靠的细胞模型, 对深入研究分子机制具有重要意义.

同行评议者
肖秀英, 副主任医师, 上海交通大学医学院附属仁济医院; 白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

研发前沿
肿瘤转移和复发是导致肿瘤治疗失败的主要原因. 肿瘤干细胞被认为是肿瘤转移、复发和耐药的根源. 如何准确鉴定和靶向肿瘤干细胞是目前研究的难点, 相关机制亦有待进一步阐明.

Transwell assay showed that the invasion and metastasis index was significantly increased in the CD44v6 group compared with the NC group ($P < 0.05$), and the index was significantly decreased after the cells in the CD44v6 group were treated with CD44v6 antibody ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Overexpression of *CD44v6* significantly enhances the invasion and metastasis ability of SW480 cells.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Invasion; Metastasis; *CD44v6*; Overexpression

Lv L, Liu HG, Zhang XH. Impact of *CD44v6* overexpression on invasion and metastasis of colon cancer SW480 cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1175-1183 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1175.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1175

摘要

目的: 研究*CD44v6*基因过表达对SW480细胞侵袭和迁移能力的影响.

方法: 慢病毒介导的CD44v6过表达细胞(CD44v6组)和空载体对照细胞(NC组)由前期实验构建. 采用荧光显微镜观察增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)表达、实时荧光定量PCR检测*CD44v6* mRNA表达水平、免疫荧光检测Flag标签蛋白三种方法重新鉴定过表达细胞模型; CCK-8法检测细胞增殖活性; 划痕试验和Transwell试验检测细胞侵袭和迁移能力.

结果: 绿色荧光蛋白观察显示细胞转染效率近100%; 实时荧光定量PCR显示CD44v6组细胞*CD44v6* mRNA表达水平较对照组显著升高($P<0.001$); Flag标签蛋白免疫荧光染色显示过表达CD44v6蛋白主要定位于细胞膜. CCK-8结果显示2组细胞增殖无明显差异; 划痕试验结果显示CD44v6组细胞划痕愈合指数较对照组显著增高($P<0.05$); Transwell试验结果显示CD44v6组细胞迁移和侵袭相关指数均较对照组显著增高(均$P<0.05$), 且CD44v6抗体处理后, CD44v6组细胞迁移和侵袭相关指数均较前显著减低(均$P<0.05$).

结论: *CD44v6*基因过表达能显著增强SW480细胞侵袭和迁移能力.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 大肠癌; 侵袭; 转移; *CD44v6*; 过表达

核心提示: 本研究采用慢病毒介导基因过表达技术, 成功建立CD44v6稳定过表达SW480细胞, 通过划痕试验和Transwell试验证实CD44v6过表达可显著增强细胞侵袭和迁移能力.

吕林, 刘海光, 张筱骅. 过表达*CD44v6*基因对人大肠癌SW480细胞侵袭迁移能力的影响. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1175-1183 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1175.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1175

0 引言

大肠癌是最常见恶性肿瘤之一, 在美国其发病率和死亡率均处于第3位[1], 在中国两者均呈逐年上升趋势[2]. 虽然目前在大肠癌诊断和治疗方面取得了较大进展, 但仍有50%-60%的患者最终出现远处转移, 5年生存率低[3,4]. 因此, 对大肠癌转移相关分子标志物进行鉴定和研究具有重要临床意义.

CD44属于黏附分子家族跨膜糖蛋白, 广泛表达于多种内皮细胞、间充质细胞及中胚层来源的组织和细胞; 但其变异体CD44v6仅表达于肿瘤细胞和少数正常上皮源性细胞, 是目前最为公认的大肠癌肿瘤干细胞标志物之一[5,6]. 许多研究[7-9]表明大肠癌中CD44v6高表达与肿瘤侵袭转移及不良预后显著相关, 但各研究之间结论并不一致, 亦有报道认为其对预后起保护作用. 此外, 既往报道大多局限于临床相关性研究水平, 尚缺乏细胞及动物水平的功能机制研究. 我们通过检索CellMiner开放数据库[10], 发现SW480细胞中*CD44*基因处于低表达水平. 为进一步阐明CD44v6在肿瘤细胞播散中的作用及机制, 本研究采用慢病毒介导基因过表达技术, 构建CD44v6稳定过表达细胞模型, 检测其对SW480细胞侵袭和转移能力的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 人大肠癌SW480细胞株购自上海中科院细胞库; Leibovitz's L-15培养基和胎牛血清购自美国Gibco公司; 带有增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)、Flag标签和嘌呤霉素抗性筛选标记的*CD44v6*基因过表达重组慢病毒颗粒和空载体

对照慢病毒颗粒由上海吉凯基因技术有限公司提供; 嘌呤霉素购自美国AMRESCO公司; TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司; 逆转录试剂盒(Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit)和实时荧光定量PCR试剂盒(Power SYBR Green PCR Master Mix)购自美国Thermo公司; *CD44v6*和*GAPDH*引物由美国Invitrogen公司合成; CD44v6单抗(VFF-7)购自美国Abcam公司; Flag单抗(1B10)和Dylight-549标记荧光二抗购自美国Abbkine公司; 激光共聚焦专用玻底小皿购自无锡耐思生物科技有限公司; Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂盒购自日本Dojindo公司; Transwell小室(8 μm)购自美国Corning公司; Matrigel基质胶购自美国BD公司; DAPI染料和0.5%结晶紫染液购自上海碧云天生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染: CD44v6过表达及空载体对照SW480细胞由本实验小组前期研究构建[11], 冻存于液氮中. 培养和转染方法简述如下: 细胞用含10%胎牛血清的Leibovitz's L-15培养基, 在37 ℃、无CO_2条件下培养. 转染前接种细胞于6孔板预先培养24 h, 以感染复数(multiplicity of infection, MOI)为20, 分别加入*CD44v6*基因过表达重组慢病毒颗粒和空载体对照慢病毒颗粒进行转染, 24 h后更换培养基. 转染后72 h开始添加2 μg/mL嘌呤霉素筛选稳定转染细胞, 共筛选1 wk. 本次实验在复苏细胞后对CD44v6表达情况进行了重新鉴定. 实验均分2组进行: CD44v6过表达组(CD44v6)和空载体对照组(NC).

1.2.2 实时荧光定量PCR: 首先用TRIzol试剂提取细胞总RNA, 采用吸光度法进行质量评估, 确保$A_{260/280}$介于1.9-2.1之间, 浓度不低于300 ng/μL. 然后用Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit试剂盒逆转录为cDNA. 最后用Power SYBR Green PCR Master Mix试剂盒进行实时荧光定量PCR检测, 每个基因设3个复孔, 仪器为美国ABI 7500 Real-time PCR System. 以*GAPDH*作为内参, 采用$2^{-\triangle\triangle Ct}$法分析*CD44v6* mRNA表达水平. *CD44v6*上游引物: 5'-AGGAACAGTGGTTTGGCAAC-3', 下游引物: 5'-CGAATGGGAGTCTTCTTTGG-3', 扩增片段68 bp; *GAPDH*上游引物: 5'-ATGGGTGTGAACCATGAGAA-3', 下游引物: 5'-GTGCTAAGCAGTTGGTGGTG-3', 扩增片段79 bp.

1.2.3 免疫荧光: 细胞接种于激光共聚焦专用玻底小皿, 培养24 h至融合度约80%. 依次用4%多聚甲醛固定20 min、0.3% Triton X-100通透20 min、Flag单抗(1∶500)4 ℃孵育过夜、Dylight-549标记荧光二抗(1∶200)室温孵育30 min、DAPI染色4 min. 各步骤之间均以PBS洗涤, 完成后立即于荧光显微镜下观察并拍照.

1.2.4 CCK-8试验: 细胞接种于96孔板, 密度1×10^4个/孔, 体积100 μL. 每组各设5排, 每排5个复孔, 另设1排无细胞对照. 接种后24 h起, 每隔24 h各检测1排, 共5 d. 测定时每孔加入10 μL CCK-8试剂, 37 ℃孵育1 h, 然后用多功能酶标仪测定450 nm吸光度(A_{450}), 并以630 nm(A_{630})作为参比波长. 每组以无细胞对照孔A_{450}校正, 绘制生长曲线.

1.2.5 划痕试验: 在6孔板底面预先绘制数条参考线, 用于定位划痕位置. 细胞以6×10^5个/孔接种, 每组3个复孔. 培养24 h后, 使用200 μL枪头进行划痕处理, PBS洗涤2次, 加入无血清培养基培养, 观察并拍摄0 h划痕照片. 培养24 h后, 于相同部位拍摄24 h划痕照片. 使用Image Pro Plus 6.0软件读取划痕面积(S), 计算划痕愈合指数: $(S_{0\,h}-S_{24\,h})/S_{0\,h}$.

1.2.6 Transwell侵袭迁移试验: 为观察CD44v6单抗处理对过表达细胞侵袭迁移能力的影响, 本试验设为3组: CD44v6组、NC组和CD44v6+抗体组, 每组3个复孔. 迁移试验采用无基质胶Transwell小室, 接种前用无血清培养基预平衡30 min. 细胞消化后用无血清培养基重悬, 调整密度至5×10^5个/mL. 上室加入200 μL细胞悬液, 下室加入600 μL含10%胎牛血清的完全培养基, 培养24 h. 然后取出小室, 甲醇固定20 min, 0.5%结晶紫染色40 min, 用湿棉签拭去膜上表面细胞, 漂洗后晾干. 侵袭试验采用含基质胶Transwell小室, 基质胶用无血清培养基1∶2稀释, 每个小室铺10 μL, 并于37 ℃成胶30 min, 其余步骤同迁移试验. 最后每个小室用10倍物镜拍摄上、下、左、右、中共5个视野. 使用Image Pro Plus 6.0软件读取穿膜细胞累积面积和数目, 以NC组均值为1计算相对迁移和侵袭指数.

统计学处理 应用SPSS21.0统计软件进行分析, 数据均采用mean±SD表示, 两组间均数比较采用独立样本*t*检验, $P<0.05$为差异具有

相关报道

Ni等通过RNA干扰技术, 在前列腺癌细胞中证实*CD44v6*基因沉默后, 细胞侵袭迁移能力降低, 药物敏感性增加、增殖能力减弱等, 此过程可能为CD44v6通过影响PI3K/Akt/mTOR和Wnt信号通路所致.

创新盘点

既往CD44v6细胞水平研究均使用RNA干扰技术. 本研究首次使用慢病毒介导基因过表达技术, 从另一层面证实CD44v6在肿瘤细胞侵袭和迁移中的作用, 为后续机制研究提供基础.

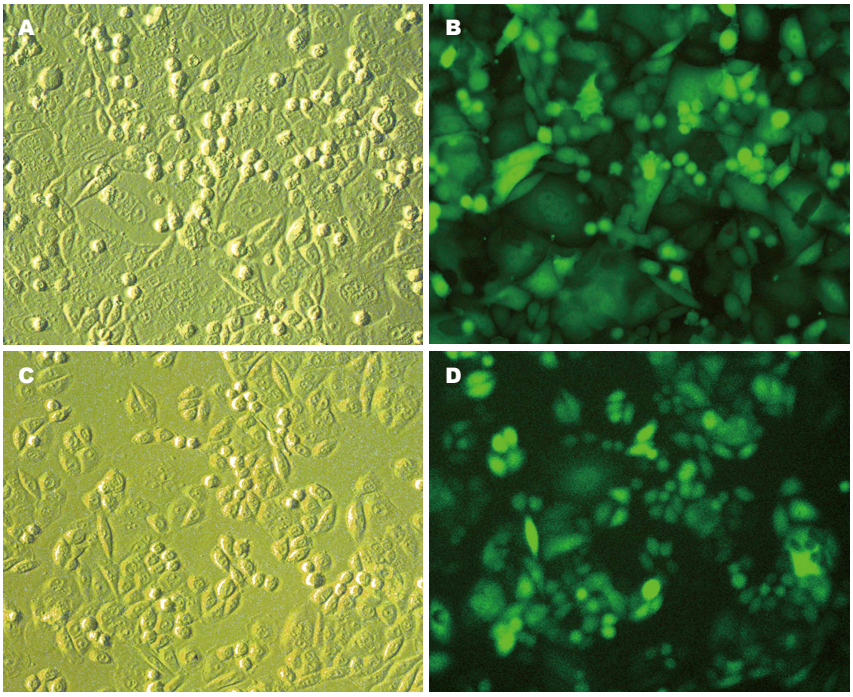


图 1 CD44v6和NC细胞绿色荧光蛋白观察(×200). A: CD44v6组白光; B: CD44v6组绿色荧光; C: NC组白光; D: NC组绿色荧光. CD44v6: CD44v6过表达组; NC: 空载体对照组.

统计学意义.

2 结果

2.1 CD44v6过表达细胞模型的鉴定 采用荧光显微镜观察EGFP表达、实时荧光定量PCR检测*CD44v6* mRNA表达水平、免疫荧光检测Flag标签蛋白3种方法重新评估过表达细胞模型. 发现2组细胞均可见明显EGFP表达, 提示转染效率均近100%(图1). 实时荧光定量PCR结果显示, CD44v6组*CD44v6* mRNA相对表达水平较NC组显著升高, 差异具有统计学意义(62.33±6.81 *vs* 1.00±0.00, P<0.001). Flag标签为过表达目的蛋白尾部由8个氨基酸组成的短肽, 易于检测而不影响目的蛋白功能. Flag标签免疫荧光染色显示, CD44v6组可见明亮红色荧光, 主要定位于细胞膜; 而NC组可见较弱的红色荧光, 呈弥漫性分布, 提示CD44v6蛋白的良好表达和正确定位(图2). 以上结果从不同层面证实过表达细胞模型状态良好.

2.2 CD44v6过表达对细胞增殖的影响 通过CCK-8细胞增殖活性检测, 发现各检测点2组细胞A_{450}值均无明显差异, 细胞倍增时间均约为48 h(图3). 提示CD44v6过表达对SW480细胞增殖无明显影响.

2.3 CD44v6过表达对细胞迁移和侵袭能力的影响 采用划痕试验和Transwell试验共同检测细胞侵袭迁移能力. 划痕试验表明, CD44v6组划痕愈合能力较NC组显著增强, 划痕愈合指数分别为0.55±0.045和0.29±0.075, 差异具有统计学意义(P = 0.007)(图4). Transwell试验表明(图5), 不论是否含有基质胶, 不论以累积面积(S)或数目(N)评价, CD44v6组细胞穿膜能力均强于NC组, 差异具有统计学意义(迁移: S: 1.62±0.21 *vs* 1.00±0.16, N: 1.44±0.11 *vs* 1.00±0.15; 侵袭: S: 1.52±0.22 *vs* 1.00±0.17, N: 1.35±0.10 *vs* 1.00±0.15; 均P<0.05); 此外, 经抗体封闭后, CD44v6组细胞穿膜能力较前明显减弱, 差异具有统计学意义(迁移: S: 0.93±0.16 *vs* 1.62±0.21, N: 1.09±0.17 *vs* 1.44±0.11; 侵袭: S: 0.96±0.16 *vs* 1.52±0.22, N: 0.91±0.16 *vs* 1.35±0.10; 均P<0.05). 以上实验表明, CD44v6过表达可显著增加SW480细胞侵袭和迁移能力, 而这种功能可以被CD44v6单抗阻断.

3 讨论

CD44分子家族为跨膜糖蛋白. 其胞外结构域与透明质酸(hyaluronic acid, HA)、胶原、层黏连蛋白等细胞外基质成分相互作用; 胞内结构域与ERM家族成员(埃兹蛋白、根蛋白、膜突蛋

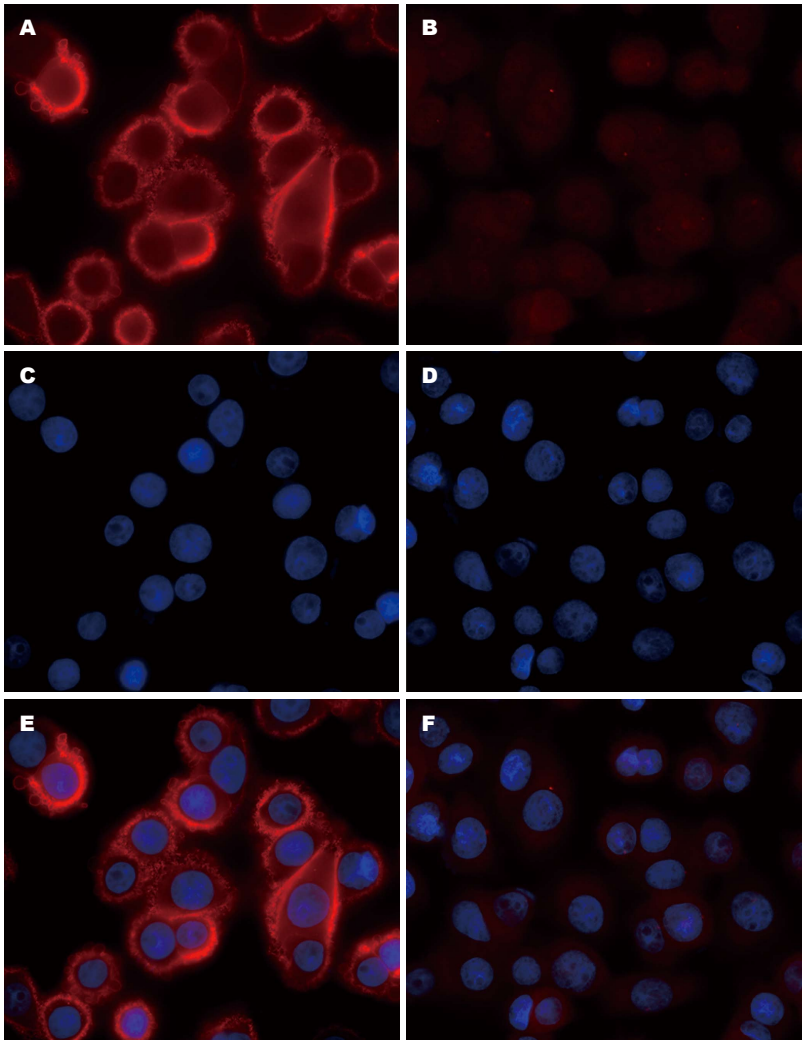


图 2　CD44v6和NC细胞Flag蛋白免疫荧光染色(×1000). A: CD44v6组Flag蛋白荧光染色; B: NC组Flag蛋白荧光染色; C: CD44v6组DAPI核染色; D: NC组DAPI核染色; E: CD44v6组荧光叠加; F: NC组荧光叠加. CD44v6: CD44v6过表达组; NC: 空载体对照组.

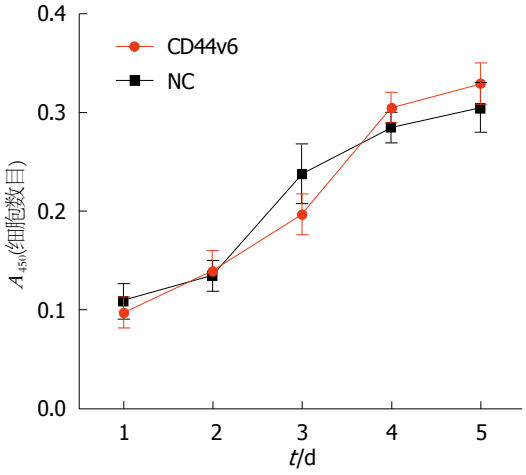


图 3　细胞生长曲线比较. CD44v6: CD44v6过表达组; NC: 空载体对照组.

白)、锚蛋白等细胞骨架成分交联; 在造血、淋巴细胞归巢与活化、胚胎发育、创口愈合等方面具有广泛功能[12]. 在胞外结构域近胞膜处可插入不同可变外显子的产物, 从而形成多种CD44变异体(CD44v), 其中不含任何可变外显子产物的CD44称为标准型CD44(CD44s), 包含可变外显子v6产物的变异体即为CD44v6[13]. 在结直肠组织中, CD44v6具有良好的肿瘤特异性, 其广泛表达于肿瘤原发灶和转移灶, 而在正常上皮组织中几乎不表达[14,15].

作为良好的潜在靶向治疗位点, 目前已有大量针对CD44v6的相关报道, 然而各研究之间结论并不一致. 在不同肿瘤, 甚至相同类型肿瘤中, 也常可见结论截然相反的报道. 在大肠癌中, Zlobec等[9]采用大样本组织芯片染色, 发现CD44v6膜表达缺失与肿瘤进展及不良预后相关; 另外, 该作者通过对30篇大肠癌

应用要点

本研究进一步证实CD44v6过表达后大肠癌细胞侵袭和迁移能力显著增强, 为CD44v6作为肿瘤干细胞标志物和潜在治疗靶点, 以及深入机制研究提供新的理论支持和实验基础.

名词解释
慢病毒介导基因过表达技术: 通常将目的基因*CDS*序列与慢病毒载体重组, 慢病毒转染细胞后, 可将目的基因序列逆转录整合到宿主细胞中, 从而实现目的基因稳定过表达. 与RNA干扰技术共同为基因功能机制研究的重要技术.

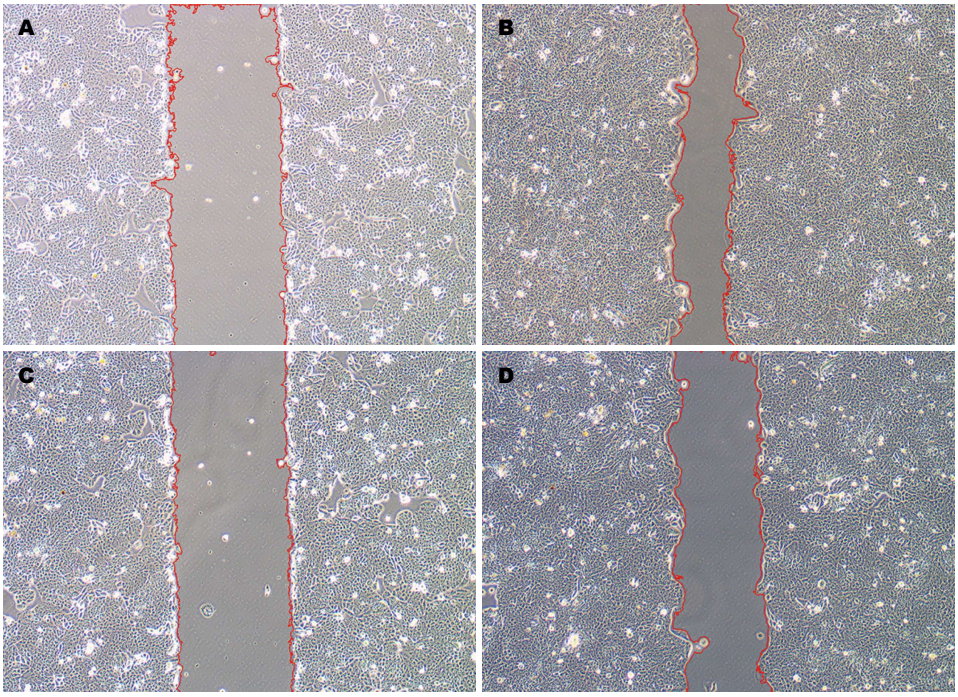


图 4　细胞划痕试验比较(×100). A: CD44v6组0 h划痕; B: CD44v6组24 h划痕; C: NC组0 h划痕; D: NC组24 h划痕. CD44v6: CD44v6过表达组; NC: 空载体对照组.

免疫组织化学染色相关文献进行分析, 发现其中6篇认为CD44v6高表达提示预后不良, 3篇提示预后良好, 8篇则提示与预后无关. 研究结果的不一致可能与以下因素有关: (1)实验方法未标准化. 例如, 不同克隆号的CD44v6抗体具有不同的抗原亲和力, 可以直接影响表达水平的检测[15]; 免疫组织化学结果的判定也缺乏统一标准, 从而减弱了不同研究之间的可比性; (2)CD44v6表达存在异质性[16]. 其存在膜型、浆型、分泌型等多种表达模式, 可能预示着不同的功能, 同时也增加了结果检测和分析的难度; (3)CD44v6功能机制复杂多样. CD44v6保留了CD44s的基本功能, 同时拥有v6结构域特有的功能. 肿瘤微环境中, CD44v6在不同配体作用下可激活不同的下游信号通路, 从而发挥不同的生物学功能[13]. 因此, 深入研究CD44v6与不同因子之间的相互作用关系, 对于阐明其具体作用机制具有重要的指导意义.

基因沉默与过表达是基因功能研究的重要技术. 其中, 过表达技术在研究分子间相互作用关系方面更具优势, 但由于不易构建等原因, 目前尚未发现关于人CD44v6过表达的报道. 本研究采用在*CD44*基因可变外显子区插入v6外显子的方式重组*CD44v6*, 构建过表达慢病毒载体, 并最终转染SW480细胞成功建立CD44v6过表达细胞模型; 划痕试验和Transwell侵袭迁移试验表明, CD44v6过表达可显著促进肿瘤细胞侵袭和迁移, 与Saito等[8]、Jung等[17]及Ni等[18]RNA干扰相关研究结论一致. 在增殖方面, Marhaba等[19]发现在小鼠胸腺瘤细胞中CD44v6通过持续激活MAPK通路促进细胞增殖, 而本研究显示其对细胞增殖无明显影响, 差异可能与细胞类型和所处微环境有关.

CD44v6介导大肠癌细胞侵袭转移为多种机制共同作用的结果. 首先, 作为细胞黏附分子, CD44v6与HA交联可直接影响细胞骨架的构象和分布, 调节细胞黏附和运动[20,21]; 其次, 多项研究表明肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)对肿瘤细胞中受体酪氨酸激酶c-Met的激活依赖于v6结构域的协同作用[22,23], 而HGF/c-Met通路在肿瘤侵袭转移中扮演重要角色, 包括促进细胞增殖、促进细胞变形和迁移、诱导肿瘤血管生成等[24,25]. 此外, CD44v6-HA交联可促进细胞外基质聚集, 并在此基础上募集特定细胞因子, 如基质金属蛋白酶家族(matrix metalloproteinases, MMPs)、骨桥蛋白(osteopontin, OPN)、多种生长因子等, 从而改造肿瘤微环境使其适合肿瘤细胞存活和转移[26]. 其中, MMPs聚集和活化可有效降解细胞外基质屏障, 为肿瘤

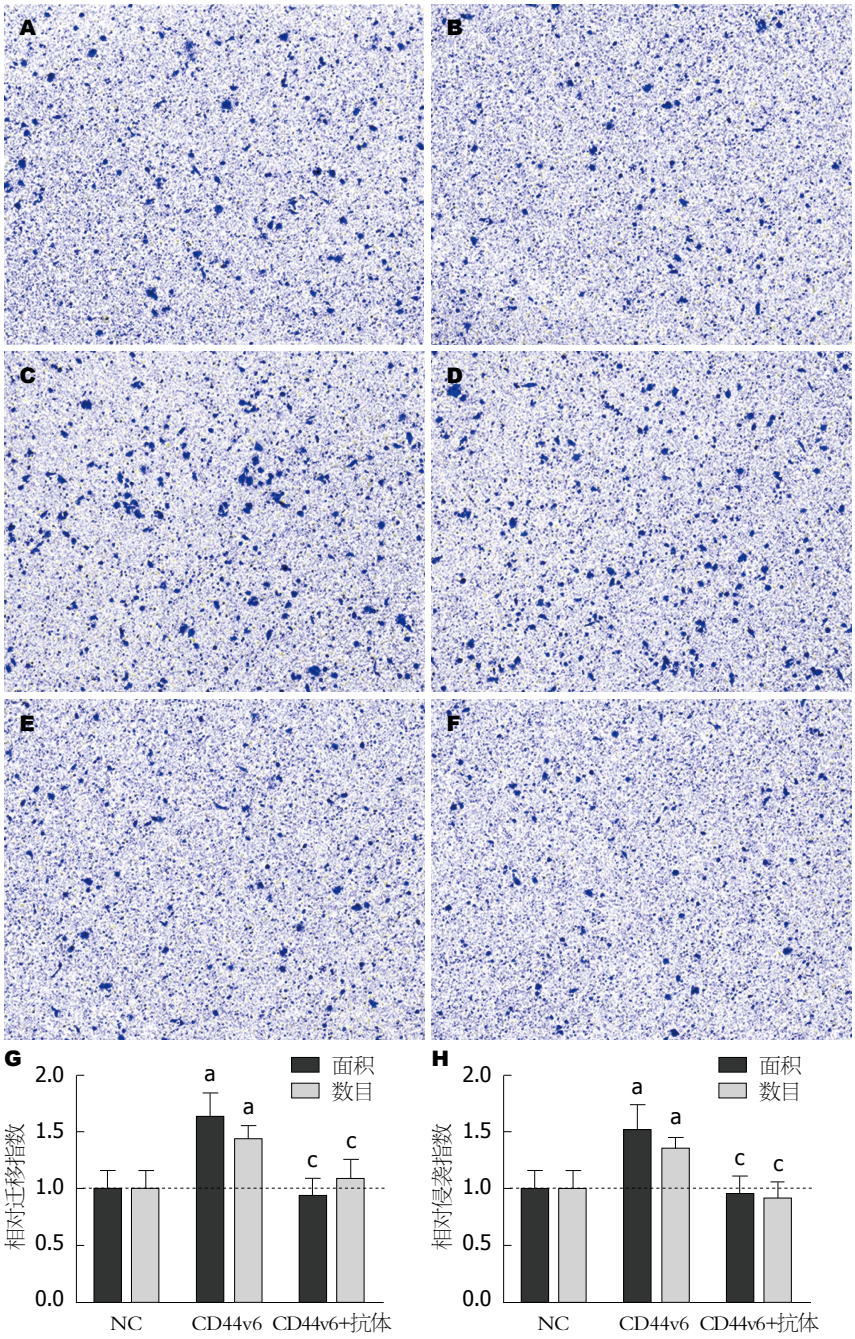


图 5　各组细胞Transwell迁移和侵袭试验比较. A: NC组迁移(×100); B: NC组侵袭(×100); C: CD44v6组迁移(×100); D: CD44v6组侵袭(×100); E: CD44v6+抗体组迁移(×100); F: CD44v6+抗体组侵袭(×100); G: 各组相对迁移指数比较; H: 各组相对侵袭指数比较. $^{a}P<0.05$ *vs* NC组; $^{c}P<0.05$ *vs* CD44v6组. CD44v6: CD44v6过表达组; NC: 空载体对照组.

细胞侵袭转移提供必要基础[27,28]; CD44v6与OPN相互作用可进一步促进肿瘤细胞黏附和迁移[29]; 而各种生长因子不但促进肿瘤细胞的存活和增殖, 也参与肿瘤血管与淋巴管的生成, 继而促进肿瘤细胞全身转移. Tremmel等[30]亦发现CD44v6可直接激活血管内皮细胞生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR-2)促进肿瘤中脉管的形成. 另外, 上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)被认为是肿瘤转移的重要机制之一[31], 我们前期研究[11]和Ni等[18]均证实CD44v6亦参与了EMT过程.

总之, 以CD44v6为中心, 多种因子共同参与了肿瘤细胞的浸润和转移, 而具体相互作用关系及调节机制有待进一步阐明. 本研究进一步证实了CD44v6在肿瘤细胞侵袭和迁移中的作用, 同时也证明了过表达细胞模型的有效性, 为后续分子机制的研究奠定了基础.

同行评价

本文立题较新颖, 采用慢病毒介导基因过表达技术, 构建CD44v6稳定过表达细胞模型, 发现CD44v6过表达可显著增加SW480细胞侵袭和转移能力, 具有一定的科学性、创新性.

4 参考文献

1 Siegel R, Desantis C, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64: 104-117 [PMID: 24639052 DOI: 10.3322/caac.21220]

2 Zhang Y, Shi J, Huang H, Ren J, Li N, Dai M. [Burden of colorectal cancer in China]. *Zhonghua Liuxingbingxue Zazhi* 2015; 36: 709-714 [PMID: 26564699 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.07.010]

3 Van Cutsem E, Nordlinger B, Adam R, Köhne CH, Pozzo C, Poston G, Ychou M, Rougier P. Towards a pan-European consensus on the treatment of patients with colorectal liver metastases. *Eur J Cancer* 2006; 42: 2212-2221 [PMID: 16904315 DOI: 10.1016/j.ejca.2006.04.012]

4 Yoo PS, Lopez-Soler RI, Longo WE, Cha CH. Liver resection for metastatic colorectal cancer in the age of neoadjuvant chemotherapy and bevacizumab. *Clin Colorectal Cancer* 2006; 6: 202-207 [PMID: 17026789 DOI: 10.3816/CCC.2006.n.036]

5 Todaro M, Gaggianesi M, Catalano V, Benfante A, Iovino F, Biffoni M, Apuzzo T, Sperduti I, Volpe S, Cocorullo G, Gulotta G, Dieli F, De Maria R, Stassi G. CD44v6 is a marker of constitutive and reprogrammed cancer stem cells driving colon cancer metastasis. *Cell Stem Cell* 2014; 14: 342-356 [PMID: 24607406 DOI: 10.1016/j.stem.2014.01.009]

6 Fan CW, Wen L, Qiang ZD, Chen T, Zhou ZG, Mo XM, Hu JK. Prognostic significance of relevant markers of cancer stem cells in colorectal cancer - a meta analysis. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1421-1427 [PMID: 22683959 DOI: 10.5754/hge10727]

7 Avoranta ST, Korkeila EA, Syrjänen KJ, Pyrhönen SO, Sundström JT. Lack of CD44 variant 6 expression in rectal cancer invasive front associates with early recurrence. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4549-4556 [PMID: 22969228 DOI: 10.3748/wjg.v18.i33.4549]

8 Saito S, Okabe H, Watanabe M, Ishimoto T, Iwatsuki M, Baba Y, Tanaka Y, Kurashige J, Miyamoto Y, Baba H. CD44v6 expression is related to mesenchymal phenotype and poor prognosis in patients with colorectal cancer. *Oncol Rep* 2013; 29: 1570-1578 [PMID: 23404221 DOI: 10.3892/or.2013.2273]

9 Zlobec I, Günthert U, Tornillo L, Iezzi G, Baumhoer D, Terracciano L, Lugli A. Systematic assessment of the prognostic impact of membranous CD44v6 protein expression in colorectal cancer. *Histopathology* 2009; 55: 564-575 [PMID: 19912362 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2009.03421.x]

10 Reinhold WC, Sunshine M, Liu H, Varma S, Kohn KW, Morris J, Doroshow J, Pommier Y. CellMiner: a web-based suite of genomic and pharmacologic tools to explore transcript and drug patterns in the NCI-60 cell line set. *Cancer Res* 2012; 72: 3499-3511 [PMID: 22802077 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-1370]

11 Lv L, Liu HG, Dong SY, Yang F, Wang QX, Guo GL, Pan YF, Zhang XH. Upregulation of CD44v6 contributes to acquired chemoresistance via the modulation of autophagy in colon cancer SW480 cells. *Tumour Biol* 2016 Jan 9. *[Epub ahead of print]* [PMID: 26747179 DOI: 10.1007/s13277-015-4755-6]

12 Naor D, Sionov RV, Ish-Shalom D. CD44: structure, function, and association with the malignant process. *Adv Cancer Res* 1997; 71: 241-319 [PMID: 9111868]

13 Zöller M. CD44: can a cancer-initiating cell profit from an abundantly expressed molecule? *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 254-267 [PMID: 21390059 DOI: 10.1038/nrc3023]

14 Coppola D, Hyacinthe M, Fu L, Cantor AB, Karl R, Marcet J, Cooper DL, Nicosia SV, Cooper HS. CD44V6 expression in human colorectal carcinoma. *Hum Pathol* 1998; 29: 627-635 [PMID: 9635685]

15 Heider KH, Kuthan H, Stehle G, Munzert G. CD44v6: a target for antibody-based cancer therapy. *Cancer Immunol Immunother* 2004; 53: 567-579 [PMID: 14762695 DOI: 10.1007/s00262-003-0494-4]

16 Koretz K, Möller P, Lehnert T, Hinz U, Otto HF, Herfarth C. Effect of CD44v6 on survival in colorectal carcinoma. *Lancet* 1995; 345: 327-328 [PMID: 7530795]

17 Jung T, Gross W, Zöller M. CD44v6 coordinates tumor matrix-triggered motility and apoptosis resistance. *J Biol Chem* 2011; 286: 15862-15874 [PMID: 21372142 DOI: 10.1074/jbc.M110.208421]

18 Ni J, Cozzi PJ, Hao JL, Beretov J, Chang L, Duan W, Shigdar S, Delprado WJ, Graham PH, Bucci J, Kearsley JH, Li Y. CD44 variant 6 is associated with prostate cancer metastasis and chemo-/radioresistance. *Prostate* 2014; 74: 602-617 [PMID: 24615685 DOI: 10.1002/pros.22775]

19 Marhaba R, Bourouba M, Zöller M. CD44v6 promotes proliferation by persisting activation of MAP kinases. *Cell Signal* 2005; 17: 961-973 [PMID: 15894169 DOI: 10.1016/j.cellsig.2004.11.017]

20 Lokeshwar VB, Fregien N, Bourguignon LY. Ankyrin-binding domain of CD44(GP85) is required for the expression of hyaluronic acid-mediated adhesion function. *J Cell Biol* 1994; 126: 1099-1109 [PMID: 7519619]

21 李祖国, 丁彦青, 邓永健, 朱梅刚. CD44V6的表达对大肠癌细胞骨架的影响. 中华病理学杂志 1998; 27: 273-277

22 Orian-Rousseau V, Chen L, Sleeman JP, Herrlich P, Ponta H. CD44 is required for two consecutive steps in HGF/c-Met signaling. *Genes Dev* 2002; 16: 3074-3086 [PMID: 12464636 DOI: 10.1101/gad.242602]

23 Damm S, Koefinger P, Stefan M, Wels C, Mehes G, Richtig E, Kerl H, Otte M, Schaider H. HGF-promoted motility in primary human melanocytes depends on CD44v6 regulated via NF-kappa B, Egr-1, and C/EBP-beta. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 1893-1903 [PMID: 20357818 DOI: 10.1038/jid.2010.45]

24 Gherardi E, Birchmeier W, Birchmeier C, Vande Woude G. Targeting MET in cancer: rationale and progress. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 89-103 [PMID: 22270953 DOI: 10.1038/nrc3205]

25 Elliott VA, Rychahou P, Zaytseva YY, Evers BM. Activation of c-Met and upregulation of CD44 expression are associated with the metastatic phenotype in the colorectal cancer liver metastasis model. *PLoS One* 2014; 9: e97432 [PMID: 24823486

DOI: 10.1371/journal.pone.0097432]
26 Ponta H, Sherman L, Herrlich PA. CD44: from adhesion molecules to signalling regulators. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 33-45 [PMID: 12511867 DOI: 10.1038/nrm1004]
27 Yu Q, Stamenkovic I. Localization of matrix metalloproteinase 9 to the cell surface provides a mechanism for CD44-mediated tumor invasion. *Genes Dev* 1999; 13: 35-48 [PMID: 9887098]
28 Murray D, Morrin M, McDonnell S. Increased invasion and expression of MMP-9 in human colorectal cell lines by a CD44-dependent mechanism. *Anticancer Res* 2004; 24: 489-494 [PMID: 15152948]
29 Huang J, Pan C, Hu H, Zheng S, Ding L. Osteopontin-enhanced hepatic metastasis of colorectal cancer cells. *PLoS One* 2012; 7: e47901 [PMID: 23112867 DOI: 10.1371/journal.pone.0047901]
30 Tremmel M, Matzke A, Albrecht I, Laib AM, Olaku V, Ballmer-Hofer K, Christofori G, Héroult M, Augustin HG, Ponta H, Orian-Rousseau V. A CD44v6 peptide reveals a role of CD44 in VEGFR-2 signaling and angiogenesis. *Blood* 2009; 114: 5236-5244 [PMID: 19773544 DOI: 10.1182/blood-2009-04-219204]
31 Cao H, Xu E, Liu H, Wan L, Lai M. Epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer metastasis: A system review. *Pathol Res Pract* 2015; 211: 557-569 [PMID: 26092594 DOI: 10.1016/j.prp.2015.05.010]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016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)

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1184

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1184-1190
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

基于microRNAs调控的慢性HBV感染的分子机制

张传涛, 刘业方, 黄 群, 刘真真, 王德莉, 杨 鸿, 辜海英, 胡 蓉, 郑政隆, 乔胃娟

背景资料

全球约20亿人曾感染乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV), 其中2.4亿人为慢性HBV感染者, 每年约有65万人死于HBV感染所致的肝衰竭、肝硬化和肝细胞癌. 慢性乙型肝炎属于我国重大传染病之一, 对我国人民健康造成严重影响.

张传涛, 成都中医药大学附属医院感染科 四川省成都市 610072

张传涛, 刘业方, 黄群, 乔胃娟, 成都中医药大学 四川省成都市 610072

刘真真, 四川大学华西医院感染科 四川省成都市 610041

王德莉, 广元市中医院消化科 四川省广元市 628000

杨鸿, 成都中医药大学附属医院医务部 四川省成都市 610072

辜海英, 成都中医药大学附属医院科研部 四川省成都市 610072

胡蓉, 成都市传染病医院感染科 四川省成都市 610072

郑政隆, 简阳市中医院消化科 四川省简阳市 641400

张传涛, 副主任医师, 主要从事中西医防治感染性疾病的研究.

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81202624, 81102720

作者贡献分布: 乔胃娟与张传涛负责课题总体设计及实施管理; 刘真真指导论文写作; 刘真真、王德莉、胡蓉及郑政隆负责患者血液样本采集; 黄群与刘业方负责数据分析及论文写作; 辜海英与杨鸿负责实验标本处理及保存.

通讯作者: 乔胃娟, 讲师, 610072, 四川省成都市十二桥路37号, 成都中医药大学. 290397199@qq.com

收稿日期: 2015-12-12
修回日期: 2016-01-19
接受日期: 2016-01-25
在线出版日期: 2016-03-18

同行评议者

何清, 主任医师, 深圳市第三人民医院肝病Ⅱ科; 曲春枫, 教授, 中国医学科学院肿瘤医院肿瘤研究所, 分子肿瘤学国家重点实验室

Molecular mechanism of chronic HBV infection based on miroRNA regulation

Chuan-Tao Zhang, Ye-Fang Liu, Qun Huang, Zhen-Zhen Liu, De-Li Wang, Hong Yang, Hai-Ying Gu, Rong Hu, Zheng-Long Zheng, Wei-Juan Qiao

Chuan-Tao Zhang, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Chuan-Tao Zhang, Ye-Fang Liu, Qun Huang, Wei-Juan Qiao, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Zhen-Zhen Liu, Department of Infectious Diseases, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

De-Li Wang, Department of Gastroenterology, Guangyuan Chinese Medicine Hospital, Guangyuan 628000, Sichuan Province, China

Hong Yang, Medical Department, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Hai-Ying Gu, Department of Scientific Research, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Rong Hu, Department of Infectious Diseases, Chengdu Infectious Disease Hospital, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Zheng-Long Zheng, Department of Gastroenterology, Jianyang Chinese Medicine Hospital, Jianyang 641400, Sichuan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81202624 and 81102720

Correspondence to: Wei-Juan Qiao, Lecturer, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 37 Shierqiao Road, Chengdu 610072, Sichuan Province, China. 290397199@qq.com

Received: 2015-12-12
Revised: 2016-01-19
Accepted: 2016-01-25
Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To reveal the molecular mechanism of chronic HBV infection from the perspective of

microRNA (miRNA) regulation.

METHODS: Patients with chronic hepatitis B virus infection (including chronic hepatitis B and chronic HBV carrier) and normal controls were included. Agilent Human miRNA8 × 60k microarray chip was used to profile the expression of miRNAs in plasma, to obtain differentially expressed miRNAs between the groups (P < 0.05). miRNA bioinformatics analysis software was used to predict the target genes, and conduct GO functional enrichment analysis and pathway analysis of target genes.

RESULTS: There were 69 differentially expressed miRNAs between the two groups (P < 0.05), including 28 up-regulated and 41 down-regulated ones. By GO enrichment analysis and pathway analysis, the target genes are mainly involved in bioadhesive, positive/negative regulation of transcription, positive/negative regulation of biosynthesis, positive/negative regulation of metabolism of nitrogen compounds, protein localization, phosphorylation of protein amino acids. Notch signaling pathway, apoptosis, Wnt signal pathway, Hedgehog signaling pathway, T cell receptor signaling pathway, MAPK signaling pathway, TGF-β signaling pathways, B cell receptor signaling pathway, ErbB signaling pathway, and p53signaling pathway.

CONCLUSION: Chronic HBV infection is regulated by specific miRNAs, and the regulation involves a number of life processes and signaling pathways.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis B infection; MicroRNAs; Molecular mechanism

Zhang CT, Liu YF, Huang Q, Liu ZZ, Wang DL, Yang H, Gu HY, Hu R, Zheng ZL, Qiao WJ. Molecular mechanism of chronic HBV infection based on miroRNA regulation. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1184-1190 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1184.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1184

摘要

目的: 从microRNAs(miRNAs)调控角度揭示慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染的分子机制.

方法: 将符合标准的病例分为慢性HBV感染者组(含慢性乙型肝炎及慢性HBV携带者)与正常组, 借助Agilent Human miRNA 8×60k微阵列芯片检测血浆中miRNAs表达谱, 求得两组间的差异表达miRNAs谱(P<0.05), 借助miRNA生物信息学分析软件预测其靶基因并对靶基因进行GO功能富集分析和Pathway分析.

结果: 两组间的差异表达miRNAs共69条(P<0.05), 28条上调, 41条下调; GO分析及Pathway分析得到其功能主要涉及生物黏附、转录正/负调控、生物合成过程的正/负调控、氮化合物的代谢过程的正/负调控、蛋白质定位、蛋白氨基酸的磷酸化、Notch信号传导途径、细胞凋亡、Wnt信号通路、Hedgehog信号通路、T细胞受体信号通路、MAPK信号通路、转化生长因子β信号通路、B细胞受体信号通路、ErbB信号通路、p53信号通路等.

结论: 慢性HBV感染受特异性miRNAs调控, 其调控涉及多个生命过程和信号通路.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 慢性HBV感染; 微小RNA; 分子机制

核心提示: 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)慢性感染患者血浆差异表达microRNAs(miRNAs)共69条, 28条上调, 41条下调; GO分析及Pathway分析发现HBV慢性感染受特异性miRNAs调控, 其调控涉及多个生命过程和信号通路.

张传涛, 刘业方, 黄群, 刘真真, 王德莉, 杨鸿, 辜海英, 胡蓉, 郑政隆, 乔胃娟. 基于microRNAs调控的慢性HBV感染的分子机制. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1184-1190 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1184.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1184

研发前沿

目前HBV发病机制研究主要局限于免疫角度, 目前抗HBV药物难以彻底清除病毒. 有必要借助新技术、新手段系统研究以更新HBV发病机制, 积极研发安全、有效、简便的抗HBV新药也是该领域亟待解决的问题.

0 引言

全球约20亿人曾感染乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV), 其中2.4亿人为慢性HBV感染者[1], 每年约有65万人死于HBV感染所致的肝衰竭、肝硬化和肝细胞癌[2]. 我国是HBV感染高流行区, 其中慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是我国三大传染性疾病之一[3]. 由HBV感染引起的肝硬化和肝癌比例分别为60%和80%[4]. 目前抗HBV治疗一线药物仍为核苷类似物和干扰素, 这些药物虽然在促进谷丙转氨

相关报道 microRNAs(miRNAs)是一类单链小分子RNA, 调控人体近1/3基因功能, miRNA能够调控HBV复制、细胞外基质生成及抑癌基因的沉默等过程.

酶复常、降低血清HBVDNA水平等方面取得较好疗效[5], 但仍难以彻底清除HBV, 且具有较明显不良反应[6,7], 核苷类似物类药物的耐药问题日益严重[8]. MicroRNAs(miRNAs)是一类具有21-25个核苷酸的单链小分子RNAs, 调控了人体近1/3基因功能[9], miRNAs调控HBV复制、细胞外基质生成及抑癌基因的沉默等过程, 从而影响疾病的进展并能在后期对乙型肝炎相关肝硬化、肝衰竭、肝细胞癌等疾病发生发展中发挥重要作用[10-13]. 研究miRNA调控进一步更新HBV感染的新机制, 已经成为研究热点[14-16]. 本研究借助目前Agilent Human miRNA 8×60k微阵列芯片从miRNA调控角度揭示慢性HBV感染分子机制, 这有利于更新HBV致病机制, 也为今后抗HBV新药研发提供了新的研究靶点.

1 材料和方法

1.1 材料 病例均来自成都市传染病医院等临床中心2013-07/2014-02期间门诊, 分为: 慢性HBV感染者组16例、正常组8例. 慢性HBV感染者组男9例, 女7例, 平均年龄30.65岁±5.64岁. 正常组男5例, 女3例, 平均年龄31.37岁±5.87岁. 参照中华医学会肝病学分会和中华医学会感染病分会联合制定《慢性乙型肝炎防治指南》(2005年版)拟定慢性乙型肝炎、慢性HBV携带者诊断标准[17]. 纳入标准: (1)符合慢性HBV感染(慢性乙型肝炎、慢性HBV携带者)诊断标准; (2)就诊前3 mo内未进行过中西医抗病毒及保肝等治疗; (3)20岁≤年龄≤40岁; (4)同意并签署知情同意书者. 同时以上标准者, 才能进入本研究. 微阵列扫描仪(安捷伦P/N G2565BA)、不锈钢杂交室(安捷伦P/N G2534A)、杂交室垫片幻灯片8微阵列(安捷伦P/N G2534A)、miRNA的完整标签和HYB套件(安捷伦P/N 5190-0456)、基因表达的洗涤液套装(安捷伦P/N 5188-5327).

1.2 方法 用血常规管(EDTA抗凝)采取符合标准患者肘静脉血10 mL, 立即4 ℃静置30 min, 离心, 提取血浆, RNA抽提, 杂交, 8×60k微阵列芯片技术检测, 芯片洗涤、扫描, 在线SAS系统(http://www.ebioservice.com)行t检验和SAM筛选, 对筛选出来2倍以上表达差异的miRNAs利用miRNA生物信息学分析软件进行靶基因预测, 将筛选的靶基因行GO功能富集基因分类和Pathway分析.

统计学处理 差异miRNAs筛选采用SAS系统进行. 比较采用配对t检验, miRNAs表达组间比较进行方差分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 慢性乙型肝炎感染者组与正常组之间差异表达miRNAs谱 慢性乙型肝炎感染者组与正常组两组间的差异表达miRNAs共69条($P<0.05$), 28条上调, 41条下调. 2倍以上差异表达的miRNAs 31条, 8条上调, 23条下调. 上调的8条为hsa-miR-122、hsa-miR-26a、hsa-miR-130a、hsa-miR-103、hsa-miR-142-3p、hsa-miR-630、hsa-miR-3195、hsa-miR-4281等. 下调的23条为: hsa-miR-638、hsa-miR-3665、hsa-miR-671-5p、hsa-miR-15a、hsa-miR-92a、hsa-miR-4306、hsa-miR-107、hsa-miR-1246、hsa-miR-19b、hsa-let-7i、hsa-miR-15b、hsa-miR-123、hsa-miR-106b、hsa-miR-16、hsa-miR-451、hsa-miR-25、hsa-miR-486-5p、hsa-miR-1228、hsa-miR-1280、hsa-miR-1281、hsa-miR-1234、hsa-miR-191*、hsa-miR-20a等.

2.2 差异miRNAs靶基因GO功能分析 利用miRNA生物信息学分析软件miRDB, miRNA, TarBase等对两组间2倍以上的差异miRNAs进行靶基因预测, 利用DAVID在线软件对所预测的靶基因进行GO功能富集分析. 上调组差异miroRNAs所对应的靶基因共参与66项显著生物功能(表1), 包括生物黏附、细胞黏附、细胞内的信号级联、小GTP酶介导的信号转导调控、转录正调控、RNA代谢过程正调控、生物合成过程的正/负调控、RNA聚合酶Ⅱ启动子转录调控、Ras蛋白信号转导调控、蛋白氨基酸的磷酸化、Wnt受体信号通路、蛋白质定位等.

下调组的差异miroRNAs所对应的靶基因共参与56项显著生物功能(表2), 包括细胞增殖、细胞内的信号级联、生物黏附、细胞黏附、RNA代谢过程正调控、转录正调控、囊泡介导的转运、生物合成过程的正/负调控、氮化合物的代谢过程的正/负调控、酶联受体蛋白信号通路、细胞投影组织、大分子生物合成过程中的积极调控、离子转运、蛋白氨

表 1 慢性HBV感染组/正常组上调差异miroRNAs的靶基因GO分析(部分)

项目	类目名	*n*	*P*值	富集	伪发现率(%)
GO:0022610	生物黏附	502	5.95×10^{15}	1.24184964	1.17×10^{11}
GO:0007155	细胞黏附	501	7.46×10^{15}	1.241146373	1.46×10^{11}
GO:0007242	intracellular signaling cascade	847	9.01×10^{14}	1.169437693	1.76×10^{10}
GO:0051056	细胞内的信号级联	197	1.04×10^{11}	1.355654444	2.03×10^{8}
GO:0045893	转录正调控, DNA依赖性	345	2.01×10^{11}	1.254249778	3.93×10^{8}
GO:0051254	RNA代谢过程正调控	347	2.98×10^{11}	1.251029974	5.82×10^{8}
GO:0010557	大分子生物合成过程中的积极调控	457	4.90×10^{11}	1.211774386	9.59×10^{8}
GO:0009891	生物合成过程的正调控	482	8.36×10^{11}	1.202667431	1.64×10^{7}
GO:0006357	调控转录由RNA聚合酶II启动子	502	9.32×10^{11}	1.197436861	1.82×10^{7}
GO:0046578	Ras蛋白信号转导调控	166	1.06×10^{10}	1.370793732	2.08×10^{7}
GO:0031328	细胞生物合成过程中的积极调控	475	1.20×10^{10}	1.202503516	2.35×10^{7}
GO:0042127	细胞增殖调节	539	1.36×10^{10}	1.187674274	2.67×10^{7}

表 2 慢性HBV感染组/正常组下调差异miRNAs的靶基因GO分析(部分)

项目	类目名	*n*	*P*值	富集	伪发现率(%)
GO:0042127	细胞增殖调节	718	7.29×10^{13}	1.107198032	1.44×10^{9}
GO:0007242	细胞内的信号级联	1117	2.14×10^{11}	1.079292421	4.23×10^{8}
GO:0022610	生物黏附	639	2.43×10^{11}	1.106263118	4.80×10^{8}
GO:0007155	细胞黏附	638	2.10×10^{11}	1.10610978	5.34×10^{8}
GO:0051254	RNA代谢过程正调控	444	3.90×10^{10}	1.12024622	7.69×10^{7}
GO:0045893	转录正调控, DNA依赖性	440	6.23×10^{10}	1.119463379	1.23×10^{6}
GO:0016192	囊泡介导的转运	526	8.56×10^{10}	1.108252843	1.69×10^{6}
GO:0009891	生物合成过程的正调控	629	9.88×10^{10}	1.09835172	1.95×10^{6}
GO:0051173	氮化合物的代谢过程的正调控	584	1.88×10^{9}	1.100531742	3.71×10^{6}
GO:0030030	细胞投影组织	343	2.23×10^{9}	1.131154415	4.40×10^{6}
GO:0007167	酶联受体蛋白信号通路	320	2.38×10^{9}	1.135532231	4.69×10^{6}
GO:0031328	细胞生物合成过程中的积极调控	619	2.64×10^{9}	1.096669262	5.21×10^{6}
GO:0010557	大分子生物合成过程中的积极调控	592	3.06×10^{9}	1.0985493	6.03×10^{6}

创新盘点

本研究使用Agilent Human miRNA 8×60k微阵列芯片研究了包含不同状态的HBV慢性感染患者血浆miRNAs差异表达谱，并对差异miRNAs的靶基因和Pathway进行了初步分析，获得了一些与HBV感染相关的重要成果.

基酸的磷酸化、蛋白质转运、细胞迁移、细胞内受体介导信号途径、嘌呤核苷酸代谢过程等.

2.3 差异miRNAs靶基因参与的Pathway分析 慢性HBV感染组/正常组上调差异miRNAs的靶基因参与的显著性信号通路58条(图1A), 包括Hedgehog信号通路、T细胞受体信号途径、细胞凋亡、硫酸软骨素合成、肌动蛋白骨架调节、Ⅱ型糖尿病、急性髓细胞性白血病、FcγR-介导的吞噬作用、胞吞作用、紧密连接、Jak-STAT信号途径、细胞外基质受体相互作用、醛固酮调节钠重吸收、心脏相关疾病、ErbB信号途径、Notch信号途径、Wnt信号通路、轴突导向、胰岛素信号通路、神经营养因子信号通路、MAPK信号通路、癌症途径、磷脂酰肌醇信号系统、脂肪细胞因子信号通路、钙信号通路、B细胞受体信号通路、p53信号通路等.

下调差异miRNAs的靶基因参与的显著性信号通路31条(图1B), 包括FcγR-介导吞噬作用、癌症途径、长时程增强、心脏相关疾病、朊病毒疾病、ABC转运、补体和凝血级联、转化生长因子β信号通路、霍乱弧菌感染、幽门螺杆菌感染上皮细胞信号转导、胰岛素信号通路、肌动蛋白骨架调节、溶酶体、紧密连接、神经营养因子信号通路、T细胞受体信号途径、细胞外基质受体相互作用、Wnt信号通路、MAPK信号通路、轴突导向、胞吞作用、B细胞受体信号通路、T细胞受体信号通路等.

3 讨论

本研究借助Agilent Human miRNA 8×60k微

应用要点

本文从miRNA调控角度研究慢性HBV感染的机制, 有望更新目前HBV致病机制, 对今后抗HBV新药研发也有重要的价值.

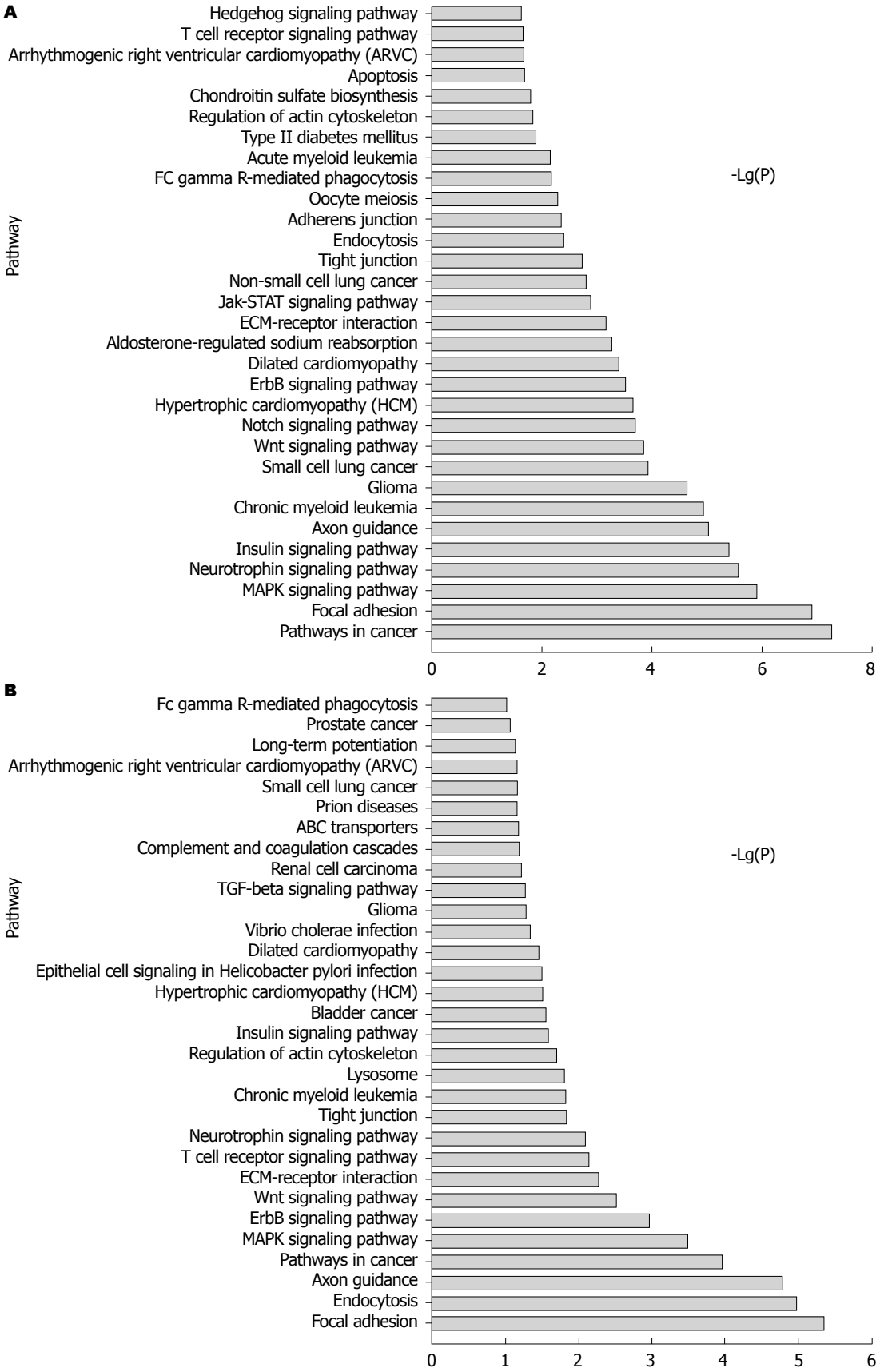


图 1 慢性HBV感染组/正常组miroRNAs的靶基因Pathway分析. A: 上调差异; B: 下调差异. HBV: 乙型肝炎病毒.

阵列芯片技术, 从miRNAs角度慢性HBV感染组/正常组差异miRNAs谱, 其中显著性(2倍以上)差异表达31条, 8条上调, 23条下调. 借助生物信息学分析软件DAVID对差异miRNAs预

测靶基因进行GO富集分析发现其功能主要涉及生物黏附、氮化合物的代谢过程的正/负调控、生物合成过程的正/负调控、蛋白氨基酸的磷酸化、基因表达的正/负调控、Wnt信号通路、钙离子转运等生命过程. KEGG分析提示主要涉及Wnt信号通路、MAPK信号通路、胰岛素信号通路、Notch信号途径、B细胞受体信号通路、T细胞受体信号通路、p53的信号通路、JAK-STAT信号通路等.

目前认为机体免疫状态异常是HBV感染慢性化最重要机制, 其中B细胞和T细胞功能异常发挥关键作用[18]. miRNA在人体免疫系统的发展中充当重要角色, 如miR-155与T、B细胞的分化以及B细胞抗体类别转换密切相关[19-21]. HBV在与机体相互作用的过程中导致了多种miRNA分子异常表达, 这些差异miRNA可能参与调控HBV感染后机体抗HBV免疫应答过程[22,23]. 慢性HBV感染免疫耐受期及免疫清除期肝组织中miRNA表达谱存在明显差异, 差异的miRNA有可能与机体免疫功能恢复、HBV免疫清除有关[24]. 阻断Notch信号通路可减少CHB患者外周单个核细胞Foxp3 mRNA的表达, Notch信号通路可能是HBV持续感染的一个因素[25].

TH17作为一种新发现的Th, 参与乙型肝炎疾病的病程发展和转归, HBV可能通过PI3K/AKt/mTOR信号通路激活Th17, 进而高表达白介素-17[26], 推测差异miRNAs调控了B/T细胞受体信号通路而影响机体免疫状态与HBV慢性感染有关. 本研究发现差异miRNAs调控了JAK/STAT信号通路, 而有证据证实乙型肝炎病毒e抗原具有抑制干扰素α、λ激活JAK/STAT信号通路的功能[27]. 肝纤维化中MAPK信号通路能够对肝星状细胞活性产生影响[28]. 差异表达的miRNAs可能与HBV慢性感染相关疾病如肝癌等密切相关, 如miR-26a通过在PIK3C2α/AKT/VEGF通路调节血管生成抑制肝癌的进展[29]. hsa-miR-26a-5p被认为可作为诊断乙型肝炎感染后肝癌的潜在生物标志物[30]. 但仍需我们进一步的验证研究.

总之, 本研究初步揭示慢性HBV感染引起的机体出现差异特异表达的miRNAs谱, 并发现一些重要的miRNAs调控了机体的众多生命过程及信号转导通路, 这对今后开展HBV致病机制研究及抗HBV新药研发具有重要的启发意义. 但是本课题未对筛选到的差异miRNAs及其靶基因进行验证, 且样本数量有限, 需借助更先进技术开展大样本量的系统研究.

4 参考文献

1 Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine* 2012; 30: 2212-2219 [PMID: 22273662 DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.12.116]

2 Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, Abraham J, Adair T, Aggarwal R, Ahn SY, Alvarado M, Anderson HR, Anderson LM, Andrews KG, Atkinson C, Baddour LM, Barker-Collo S, Bartels DH, Bell ML, Benjamin EJ, Bennett D, Bhalla K, Bikbov B, Bin Abdulhak A, Birbeck G, Blyth F, Bolliger I, Boufous S, Bucello C, Burch M, Burney P, Carapetis J, Chen H, Chou D, Chugh SS, Coffeng LE, Colan SD, Colquhoun S, Colson KE, Condon J, Connor MD, Cooper LT, Corriere M, Cortinovis M, de Vaccaro KC, Couser W, Cowie BC, Criqui MH, Cross M, Dabhadkar KC, Dahodwala N, De Leo D, Degenhardt L, Delossantos A, Denenberg J, Des Jarlais DC, Dharmaratne SD, Dorsey ER, Driscoll T, Duber H, Ebel B, Erwin PJ, Espindola P, Ezzati M, Feigin V, Flaxman AD, Forouzanfar MH, Fowkes FG, Franklin R, Fransen M, Freeman MK, Gabriel SE, Gakidou E, Gaspari F, Gillum RF, Gonzalez-Medina D, Halasa YA, Haring D, Harrison JE, Havmoeller R, Hay RJ, Hoen B, Hotez PJ, Hoy D, Jacobsen KH, James SL, Jasrasaria R, Jayaraman S, Johns N, Karthikeyan G, Kassebaum N, Keren A, Khoo JP, Knowlton LM, Kobusingye O, Koranteng A, Krishnamurthi R, Lipnick M, Lipshultz SE, Ohno SL, Mabweijano J, MacIntyre MF, Mallinger L, March L, Marks GB, Marks R, Matsumori A, Matzopoulos R, Mayosi BM, McAnulty JH, McDermott MM, McGrath J, Mensah GA, Merriman TR, Michaud C, Miller M, Miller TR, Mock C, Mocumbi AO, Mokdad AA, Moran A, Mulholland K, Nair MN, Naldi L, Narayan KM, Nasseri K, Norman P, O'Donnell M, Omer SB, Ortblad K, Osborne R, Ozgediz D, Pahari B, Pandian JD, Rivero AP, Padilla RP, Perez-Ruiz F, Perico N, Phillips D, Pierce K, Pope CA, Porrini E, Pourmalek F, Raju M, Ranganathan D, Rehm JT, Rein DB, Remuzzi G, Rivara FP, Roberts T, De León FR, Rosenfeld LC, Rushton L, Sacco RL, Salomon JA, Sampson U, Sanman E, Schwebel DC, Segui-Gomez M, Shepard DS, Singh D, Singleton J, Sliwa K, Smith E, Steer A, Taylor JA, Thomas B, Tleyjeh IM, Towbin JA, Truelsen T, Undurraga EA, Venketasubramanian N, Vijayakumar L, Vos T, Wagner GR, Wang M, Wang W, Watt K, Weinstock MA, Weintraub R, Wilkinson JD, Woolf AD, Wulf S, Yeh PH, Yip P, Zabetian A, Zheng ZJ, Lopez AD, Murray CJ, AlMazroa MA, Memish ZA. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*

名词解释

MicroRNA: 是一种大小约21-23个碱基的小分子RNA, 是由具有发夹结构的约70-90个碱基大小的单链RNA前体经过Dicer酶加工后生成, miRNA调节着人类三分之一的基因, 每个miRNA可以有多个靶基因, 而几个miRNA也可以调节同一个基因.

同行评价

miRNAs调控也是近关注较多的领域, 本文具备一定的学术及技术水平, 对于更新目前HBV发病机制及今后抗HBV新药研发具有较高价值.

2012; 380: 2095-2128 [PMID: 23245604]

3 Zou L, Zhang W, Ruan S. Modeling the transmission dynamics and control of hepatitis B virus in China. *J Theor Biol* 2010; 262: 330-338 [PMID: 19822154 DOI: 10.1016/j.jtbi.2009.09.035]

4 Wang FS, Fan JG, Zhang Z, Gao B, Wang HY. The global burden of liver disease: the major impact of China. *Hepatology* 2014; 60: 2099-2108 [PMID: 25164003 DOI: 10.1002/hep.27406]

5 秦景桃, 陆建春, 柳龙根, 薛源. 恩替卡韦抗病毒治疗4周HBV DNA载量可预测48周病毒学应答. 肝脏 2014; 19: 591-592

6 胡倩倩, 时丽丽, 谭初兵, 张洁, 潘晓菲, 徐为人. 核苷类似物线粒体毒性机制及临床表现. 中国药理学与毒理学杂志 2013; 27: 885-886

7 巫协宁. 抗乙型肝炎病毒核苷类似物的不良反应及其发生机制与防治. 胃肠病和肝病学杂志 2011; 20: 477-499

8 吴红章, 戴晨阳, 李顺天, 梁树人, 陈文治. 慢乙型肝炎患者HBV P区基因变异与病情的相关性及阿德福韦酯治疗效果观察. 山东医药 2010; 50: 58-59

9 Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, Wienholds E, Plasterk RH, Cuppen E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. *Cell* 2005; 120: 21-24 [PMID: 15652478]

10 邢同京, 徐洪涛, 王变, 张晶. 慢性乙型肝炎免疫清除相关微RNA分子的筛选及其生物信息学分析. 中华临床感染病杂志 2014; 7: 441-446

11 冯洪玲, 李谦. 血清miRNA在乙型肝炎诊断和预后中的研究进展. 胃肠病学和肝病学杂志 2014; 23: 1124-1126

12 鱼康康, 施光峰, 李宁. miRNA在乙型肝炎病毒感染相关肝病中的研究进展. 中国病毒病杂志 2014; 4: 150-154

13 Waidmann O, Bihrer V, Pleli T, Farnik H, Berger A, Zeuzem S, Kronenberger B, Piiper A. Serum microRNA-122 levels in different groups of patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat* 2012; 19: e58-e65 [PMID: 22239527 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01536.x]

14 Manikandan J, Aarthi JJ, Kumar SD, Pushparaj PN. Oncomirs: the potential role of non-coding microRNAs in understanding cancer. *Bioinformation* 2008; 2: 330-334 [PMID: 18685719]

15 李白雪, 张技, 吴疆, 张传涛. MicroRNA在慢性乙型肝炎中医证候研究中的应用前景. 中华中医药杂志 2014; 29: 3499-3501

16 张磊, 王健, 潘玲, 曹春辉, 冯广帅, 莘蒙蒙, 王恩成, 冯全生. microRNA与慢性乙型肝炎中医证候的研究. 时珍国医国药 2014; 25: 2483-2485

17 中华医学会肝病学分会、感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 883

18 杨炼, 管小琴, 肖明. HBV感染对人T细胞免疫及细胞因子TNF-α、GF-β的影响. 世界华人消化杂 2005; 13: 729-733

19 Thai TH, Calado DP, Casola S, Ansel KM, Xiao C, Xue Y, Murphy A, Frendewey D, Valenzuela D, Kutok JL, Schmidt-Supprian M, Rajewsky N, Yancopoulos G, Rao A, Rajewsky K. Regulation of the germinal center response by microRNA-155. *Science* 2007; 316: 604-608 [PMID: 17463289]

20 Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, Warren MV, Couttet P, Soond DR, van Dongen S, Grocock RJ, Das PP, Miska EA, Vetrie D, Okkenhaug K, Enright AJ, Dougan G, Turner M, Bradley A. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science* 2007; 316: 608-611 [PMID: 17463290]

21 Vigorito E, Perks KL, Abreu-Goodger C, Bunting S, Xiang Z, Kohlhaas S, Das PP, Miska EA, Rodriguez A, Bradley A, Smith KG, Rada C, Enright AJ, Toellner KM, Maclennan IC, Turner M. microRNA-155 regulates the generation of immunoglobulin class-switched plasma cells. *Immunity* 2007; 27: 847-859 [PMID: 18055230]

22 Xing TJ, Xu HT, Yu WQ, Wang B, Zhang J. MiRNA-548ah, a potential molecule associated with transition from immune tolerance to immune activation of chronic hepatitis B. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 14411-14426 [PMID: 25196343]

23 Brunetto MR, Cavallone D, Oliveri F, Moriconi F, Colombatto P, Coco B, Ciccorossi P, Rastelli C, Romagnoli V, Cherubini B, Teilum MW, Blondal T, Bonino F. A serum microRNA signature is associated with the immune control of chronic hepatitis B virus infection. *PLoS One* 2014; 9: e110782 [PMID: 25350115 DOI: 10.1371/journal.pone.0110782]

24 李强, 张小楠, 卓其斌, 黄玉仙, 陈良. 慢性HBV感染免疫耐受期与免疫清除期肝组织微小RNA表达谱差异分析. 肝脏 2015; 20: 443-446

25 李小亮, 裴金仙, 奚敏, 汤正好, 臧国庆, 余永胜. 阻断Notch1信号通路对慢性乙型肝炎患者外周血Foxp3 mRNA表达的影响. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 67-70

26 汪蕾华, 钟政荣, 吴华, 冯振中, 沈继龙. 慢性乙型肝炎患者肝组织内激活白细胞介素-17的机制. 中华传染病杂志 2015; 33: 403-405

27 余奕. 乙型肝炎病毒调控炎症因子网络及干扰素信号通路的研究. 武汉: 武汉大学, 2012

28 张琴, 黄涛, 卓强, 郑人源. 肝纤维化中MAPK信号转导通路对肝星状细胞活性的影响. 成都医学院学报 2014; 9: 493-496

29 Chai ZT, Kong J, Zhu XD, Zhang YY, Lu L, Zhou JM, Wang LR, Zhang KZ, Zhang QB, Ao JY, Wang M, Wu WZ, Wang L, Tang ZY, Sun HC. MicroRNA-26a inhibits angiogenesis by down-regulating VEGFA through the PIK3C2α/Akt/HIF-1α pathway in hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2013; 8: e77957 [PMID: 24194905 DOI: 10.1371/journal.pone.0077957]

30 Tan Y, Ge G, Pan T, Wen D, Chen L, Yu X, Zhou X, Gan J. A serum microRNA panel as potential biomarkers for hepatocellular carcinoma related with hepatitis B virus. *PLoS One* 2014; 9: e107986 [PMID: 25238238 DOI: 10.1371/journal.pone.0107986]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1191

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1191-1197
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

文献综述 REVIEW

肝脏缺血再灌注损伤与脂质过氧化反应的关系

郭建荣, 王继亮

郭建荣, 王继亮, 华中科技大学同济医学院附属协和医院胃肠外科 湖北省武汉市 430022

国家自然科学基金资助项目, No. 81570568

作者贡献分布: 本文综述由郭建荣完成; 王继亮审校.

通讯作者: 王继亮, 教授, 副主任医师, 430022, 湖北省武汉市沌口开发区神龙大道58号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院胃肠外科. wang_jiliang@126.com

收稿日期: 2016-01-10
修回日期: 2016-01-28
接受日期: 2016-02-02
在线出版日期: 2016-03-18

Relationship between hepatic ischemia-reperfusion injury and lipid peroxidation

Jian-Rong Guo, Ji-Liang Wang

Jian-Rong Guo, Ji-Liang Wang, Department of Gastrointestinal Surgery, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81570568

Correspondence to: Ji-Liang Wang, Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 58 Shenlong Avenue, Zhuankou Development Zone, Wuhan 430022, Hubei Province, China. wang_jiliang@126.com

Received: 2016-01-10
Revised: 2016-01-28
Accepted: 2016-02-02
Published online: 2016-03-18

Abstract

Hepatic ischemia-reperfusion injury results in a mixture of apotosis or necrosis which are caused by various mechanisms such as mitochondrial injury, endoplasmic reticulum stress, burst of reactive oxygen species, calcium overload, and release of various cytokines that induce the change of intracellular or extracellular signal transduction pathways. Lipid peroxidation can be described generally as a process in which oxidants such as free radicals attack lipids containing carbon-carbon double bond(s), especially polyunsaturated fatty acids (PUFAs) which manily form the plasma membrane system. Lipid peroxidation occurring throughout the entire biological reaction process during HIRI, especially the mitochondrial lipid peroxidation, may be the central molecular event that is worthy of further exploration and research.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatic ischemia-reperfusion injury; Lipid peroxidation; Mitochondria; Reactive oxygen species; Lipid homeostasis

Guo JR, Wang JL. Relationship between hepatic ischemia-reperfusion injury and lipid peroxidation. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1191-1197
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1191.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1191

摘要

肝脏缺血再灌注损伤(hepatic ischemia-reperfusion injury, HIRI)是由多种因素如: 线粒体损伤、内质网应激、活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)大量生成、钙超载、各种细胞因子释放等引起胞内或胞外信号转导途径改变共同造成的细胞凋

背景资料

多种原因如肝癌, 肝胆管结石等导致的肝切除以及针对终末期肝病的肝脏移植手术, 常会导致肝脏的缺血再灌注损伤(hepatic ischemia-reperfusion injury, HIRI)甚至肝移植物的功能衰竭或无能. 如何减轻HIRI, 是当前肝脏外科面临的重要问题. HIRI涉及诸多机制, 脂质损伤是其核心环节. 脂质过氧化反应(lipid peroxidation, LP)及代谢异常几乎贯穿HIRI的全部生物学反应过程. 研究脂质损伤与HIRI的关系, 从中发现预防HIRI的对策、方法, 对促进肝脏移植术的发展和患者的健康恢复有着重要的意义.

同行评议者

孙星, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院普外科

研发前沿

近年来, 随着肝脏移植的应用日益增多, HIRI造成的移植后肝功能不良一直是制约着肝移植术成功率的一个重要因素. 如何减轻HIRI, 是当前肝脏外科面临的重要问题. 在过去40年里, 有关脂质损伤的研究热度与日俱增, 如何预防脂质损伤一直是细胞生理学、病理学乃至医学界的研究热点.

亡或细胞坏死的病理现象. 脂质过氧化反应(lipid peroxidation, LP)可以笼统的描述为脂质尤其是质膜系统的主要组成成分-多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)中的碳碳双键被氧化物如ROS攻击的生物学反应. 在HIRI中, LP贯穿整个生物学反应过程, 尤其是线粒体的脂质过氧化(mitochondrial lipid peroxidation, MLP), 可能是HIRI的中心分子事件, 值得进一步的探索与研究.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝脏缺血再灌注损伤; 脂质过氧化; 线粒体; 活性氧自由基; 脂稳态

核心提示: 肝脏缺血再灌注损伤(hepatic ischemia-reperfusion injury, HIRI)作用机制复杂多样, 而脂质过氧化反应(lipid peroxidation, LP)尤其是线粒体的脂质过氧化几乎贯穿其全部过程. 有效预防HIRI, 减少或者防止LP, 维持线粒体或者细胞膜的脂稳态可能成为新的靶点.

郭建荣, 王继亮. 肝脏缺血再灌注损伤与脂质过氧化反应的关系. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1191-1197 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1191.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1191

0 引言

多种原因如肝癌、肝胆管结石等导致的肝切除以及针对终末期肝病的肝脏移植手术, 常会导致肝脏的缺血再灌注损伤(hepatic ischemia-reperfusion injury, HIRI)甚至肝移植物的功能衰竭或无能[1]. 如何减轻HIRI, 是当前肝脏外科面临的重要问题. HIRI涉及诸多机制, 脂质损伤是其核心环节. 脂质过氧化及代谢异常几乎贯穿HIRI的全部生物学反应过程. 研究脂质损伤与HIRI的关系, 从中发现预防HIRI的对策、方法, 对促进肝脏移植术的发展和患者的健康恢复有着重要的意义.

1 缺血再灌注损伤现象

近年来, 随着休克治疗的进步及溶栓治疗、心脏外科体外循环、心肺脑复苏、断指再植、器官移植的建立和应用, 使组织器官的血液循环重建, 功能得到恢复. 由于受损组织结构的恢复, 患者的病情得到好转和恢复; 但有时缺血后得到灌注, 不仅不能使组织、器官功能恢复, 反而加重组织器官的功能障碍和结构损伤. 这种在缺血基础上恢复血流灌注后组织损伤反而加重, 甚至发生不可逆性损伤的现象称缺血-再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI)[2].

2 IRI目前所涉及的学说

研究表明, 细胞凋亡与细胞坏死是HIRI的重要机制之一. 其中涉及各种活性氧生成、线粒体通透性增加、细胞因子因素、钙超载等多种机制[3], 本文从不同水平阐述.

2.1 细胞水平 现已证明, 心、脑、肝、肺、肾、胃肠道、肢体及皮肤等多种组织器官都存在缺血-再灌注损伤现象. 本文则重点讨论肝脏的HIRI. 肝脏是一个高度需氧的器官, 肝细胞从门静脉和肝动脉混合的肝窦血摄取氧, 排出代谢物质, 构成汇管区和中央区这些物质的梯度变化. 肝脏缺血后, 氧浓度急剧下降, 无氧酵解替代了有氧代谢提供能量. 当三磷腺苷(adenosine triphosphate, ATP)只有正常的15%-20%时, 细胞仍可以避免坏死, 葡萄糖可以防止肝窦内皮细胞死亡, 但肝细胞仍然会发生缺氧性损伤[4].

2.2 亚细胞(细胞器)水平

2.2.1 线粒体损伤: Honda等[5]认为作为细胞能量代谢工厂及细胞程序性死亡调节因子的线粒体对细胞的存活至关重要. 线粒体损伤是缺血再灌注损伤中细胞死亡或凋亡的重要因素[6]. 线粒体含有大量可使氧分子转化为过氧化物或过氧化物衍生物的酶类. 线粒体内膜上的氧化呼吸链是机体正常细胞内活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)的主要来源[7]. Turrens[8]估计正常细胞中约95%左右的来源于electron leak的ROS都是由线粒体内膜上的氧化呼吸链酶复合物产生的. 当肝脏缺血缺氧时, 线粒体内膜通透性发生改变, 其跨膜电位下降, 线粒体肿胀、变形、破裂, 并释放细胞色素c, 凋亡诱导因子等. 至于细胞是走向凋亡还是坏死则取决于细胞内ATP水平, 若缺血缺氧状态下仍能通过无氧酵解提供ATP, 则细胞走向凋亡, 否则细胞坏死[9].

线粒体损伤与缺血再灌注损伤中的各个环节息息相关. 线粒体是细胞内ROS产生的主要来源, 越来越多证据表明, HIRI缺血期, 线粒体功能障碍, ATP生成减少, 细胞膜上质子泵功能受阻, Ca^{2+}及Na^{+}, H^{+}潴留于细胞内, 同时无氧酵解增强, Ca^{2+}超载及酸中毒引发肝细胞坏死

及凋亡[10]. 同时, 钙超载还能破坏线粒体结构和功能, 引起能量代谢受阻, 促进氧自由基的产生, 进一步加重缺血再灌注损伤[10].

再灌注期, 当氧分子重新进入缺血组织, 在NADPH氧化酶、黄嘌呤氧化酶、氧化呼吸链功能紊乱、NOS解偶联、单胺氧化酶的作用下, ROS爆发生成. 在过量的ROS刺激下, 内皮细胞与白细胞表达黏附分子, 释放炎性介质, 并激活基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)和其他蛋白酶使其与相应蛋白质或者受体结合而破坏其功能. 这些ROS依赖的分子事件都是在线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, MPTPs)打开后发生的, 并导致了细胞肿胀、溶解.

再灌注后期, 组织修复开始激活与氧化物的产生同时存在. 然而, 此时的ROS产生处于一个低水平状态, 此时的氧化物是作为信号分子参与激活生长因子的转录, 促进细胞增殖、分化和迁移. 这个阶段的净效应是组织修复和血管生成[10].

2.2.2 内质网应激: 内质网是细胞质膜系统, 外与细胞膜相连, 内与细胞核膜相通, 其具有折叠合成好的蛋白质、参与蛋白质运输及摄取和释放Ca^{2+}功能[11]. 王阳阳等[4]认为内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)是内质网在应激条件下为维持内环境稳定与细胞存活而启动的自我保护机制. 其主要表现为未折叠或错误折叠的蛋白质聚集在内质网腔及Ca^{2+}释放紊乱等. 实验证明, 在缺血再灌注损伤中, 由于ATP产生的减少导致细胞膜系统受到损伤, 内质网同样不能幸免, 导致合成好的蛋白质不折叠或错误折叠, 引发ERS. 同时肌浆网对Ca^{2+}的摄取和释放也会受到ATP生成减少的影响, 诱发ERS. 过强或过久的ERS会引发细胞凋亡, 其过程与Caspase有密切的关系[12].

2.3 分子水平 缺血再灌注损伤中涉及各种各样生物学分子, 包括ROS、Ca^{2+}、各种细胞因子如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白介素(interleukin, IL)-6、IL-8、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)等, 下面介绍充当缺血再灌注损伤中“导火线”角色的ROS、Ca^{2+}以及诱导细胞凋亡的细胞因子之一: TNF.

2.3.1 活性氧自由基: ROS可以与线粒体以及细胞内的其他细胞器发生反应造成损伤, 并引起凋亡, 包括各种脂质、蛋白质和DNA. ROS可以与细胞膜磷脂发生反应, 反应产物可以进一步损伤细胞膜, 影响线粒体内膜的通透性, 引发凋亡; 这样同时增加了电子传递链的损伤, 产生更多H_2O_2[13]. 另外, 嘧啶核苷酸的氧化改变细胞膜的通透性, 使氧化磷酸化解偶联, 不能产生ATP, 导致许多蛋白质的功能无法正常发挥, 引发凋亡; ROS可以直接造成DNA的断裂[9].

2.3.2 钙超载: 在缺血再灌注初期, 由于缺氧导致细胞内ATP生成减少, 细胞膜表面的质子泵功能紊乱, Ca^{2+}入细胞而K^+出细胞, 同时Na^+-K^+-ATP酶及Ca^{2+}-ATP酶失活, 导致Ca^{2+}及Na^+潴留于细胞内. 马毅等[9]认为潴留于细胞内的Ca^{2+}既是损伤因子, 又能充当第二信使. 一方面激活钙离子依赖性的核酸内切酶, 从而使双链DNA在核小体之间的连接区裂解, 形成DNA断片. 另一方面, 钙超载时可活化蛋白酶c, 令其转移至细胞膜, 使G蛋白磷酸化, G蛋白减少, 胞内cAMP浓度减低, 导致细胞凋亡. 此外, 钙超载还能破坏线粒体结构和功能, 引起能量代谢受阻, 促进氧自由基的产生, 进一步加重缺血再灌注损伤[14].

2.3.3 Kuffer细胞产生的肿瘤坏死因子: 目前研究表明, 在肝脏缺血再灌注期间, Kupffer细胞产生大量细胞因子, 如TNF、IL-6、IL-8、TGF等, 这些细胞因子可引起肝损害[9]. TNF-α既可以引起细胞坏死又可以引发细胞凋亡. 不仅如此, TNF-α还可以介导肝窦内皮细胞发生凋亡[15]. HIRI中TNF的产生机制尚不明确, 但是有证据表明在肝脏缺血再灌注过程中是Kupffer细胞产生或者说“泄露”出这种细胞因子到循环系统中[16]. 尽管大部分细胞在合适的刺激下都能产生TNF, 但是Kupffer细胞才是此过程中TNF的主要来源[17].

2.4 信号通路水平 在缺血再灌注损伤的发生涉及众多复杂的信号通路传导改变, 目前仍未研究透彻, 目前比较清楚的参与其中调节的信号途径有Fas信号、Caspase家族以及B淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)家族等. IRI过程中无论发生何种变化, 最后导致细胞死亡无非通过细胞坏死或者细胞凋亡. 细胞凋亡主要是由两种类型信号途径介导: 一种是受体介导(胞外), 一种是线粒体相关途径(胞内)[18].

2.4.1 受体介导的信号转导途径: 受体介导的

相关报道

调节脂稳态如特异性抑制mTORC2可能具有治疗肥胖和非酒精性脂肪肝等疾病的潜能, 但mTORC2下游调节脂代谢的根本机制尚未研究透彻. 通过调节脂稳态来预防HIRI的报道更是少见.

创新盘点
从不同水平由外到内分层次总结HIRI的可能机制, 再引出LP在HIRI中的重要地位以及脂稳态尤其是线粒体的脂稳态可能成为有效防止HIRI的突破点.

信号转导途径始发与死亡配体(*e.g.*, CD95/Fas ligand, TNF-α)与细胞表面表达的死亡受体(*e.g.*, CD95/Fas, TNF-receptor)的结合[19]. 死亡适配分子如Fas相关死亡结构域蛋白(Fas-associated death domain, FADD)和TNF受体相关死亡结构域蛋白(TNF receptor-associated death domain, TRADD)形成同型三聚体并被募集到死亡受体/配体结合处胞质尾部[20], Procaspase8募集到复合体附近导致邻近性处理. 形成Caspase8并激活下游效应Caspases如Caspase3导致细胞凋亡[21].

2.4.2 线粒体相关途径: 在病理条件下(过强的氧化应激和/或钙超载), 传递给线粒体的死亡信号引起线粒体间膜内的前凋亡蛋白(如: 细胞色素c)释放到细胞液中[22]. 释放入胞质中的细胞色素c与凋亡蛋白酶激活因子1(apoptotic protease activating factor 1, Apaf 1)结合, 在dATP的存在下, Procaspase9募集到复合体附近被激活. 激活的Caspase9可以激活下游Capases导致细胞凋亡[6,23].

3 脂质过氧化反应在HIRI中的地位与研究现状

Wilhelm[24]认为脂质过氧化反应(lipid peroxidation, LP)是自由基引发的不饱和脂肪酸链式氧化反应. 由于细胞膜普遍是由不饱和脂肪酸构成, 这种过氧化反应就很有可能影响许多细胞功能. 脂质过氧化的引发包括多种生理及病理学机制, 包括饮食、电离辐射、体力劳动、节食与禁食、各种药物等. 目前研究最多的当属炎症、缺血再灌注损伤、动脉粥样硬化以及肿瘤.

过去的40年间, 大量关于脂质损伤文献的涌现显示了其在细胞生物学与人类健康上的重要意义. 70年代早期出版的关于脂质代谢的文献为98篇(1970-1974年), 而2010-2013年则上升至13165篇[25]. 关于脂质损伤的细胞生理学、病理学以及如何控制脂质损伤的研究与日俱增.

3.1 LP类型、机制以及在HIRI现象中的普遍性 LP包括三类: 自由基依赖性氧化反应、非自由基依赖, 无酶参与型氧化反应以及酶参与型氧化反应[26]. 多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)以及胆固醇均参与其中. 尤其是作为质膜系统的重要组成成分-PUFAs, 其对氧自由基更为敏感, 其碳中心不饱和双键易受到ROS及活性氮(reactive nitrogen species, RNS)攻击, 引发一系列反应[27]. 过渡金属及高浓度膜相关PUFAs在氧化应激条件下扮演着LP导火索角色[28].

在生物膜氧化反应中, 花生四烯酸途径被激活, 产生多种高度活性物质如: 白三烯、前列腺素等, 并且产生了ROS, 这些代谢产物又参与进LP, 形成恶性循环, 进一步加重脂质损害[28]. 在HIRI现象中普遍存在脂质损伤, 在有关肝脏IRI的各种机制中, 脂质损伤及代谢异常几乎贯穿其中的全部生物学反应过程[29].

3.2 LP与线粒体损伤 LP可以发生在任何生物膜, 包括细胞膜、线粒体膜、内质网系统、过氧化物酶体甚至核膜, 其中亚细胞质膜系统对LP更为敏感. 线粒体功能障碍与脂质代谢的改变有着密不可分的关系[30]. 以下介绍线粒体与LP之间的关系.

研究[31]表明线粒体是体内ROS产生的主要来源, 线粒体产生及其他来源的ROS又能反过来诱发线粒体膜发生LP, 破坏其结构. 大量证据显示HIRI过程中线粒体的脂质层存在明显的破坏, 通透性增加, 脂质氧化快速上升, 大量ROS产生, 进一步加剧了脂质氧化过程, 致使脂质层严重损伤. 肝细胞出现凋亡、坏死、自噬等[10,32].

脂质损伤引发线粒体功能障碍的机制包括ROS介导的LP及线粒体内膜流动性改变. Simonson等[33]认为早期线粒体氧供和氧耗的改变时肝脏线粒体代谢功能障碍的原因. 在HIRI过程中产生的ROS可以与细胞膜磷脂发生反应, 反应产物可以进一步损伤细胞膜, 影响线粒体内膜的通透性. 在凋亡、坏死过程中, 线粒体通透性转变(mitochondrial permeability transition, mPT)被认为是中心环节[34]. 他直接导致了线粒体膜破裂及功能障碍. Kim等[35]在用培育的大鼠肝细胞制造IR模型, 然后加入糖酵解底物果糖和具有细胞保护作用的氨基乙酸. 观察组发现阻止了细胞坏死, 但12 h内观察到了细胞凋亡: 细胞核固缩、TUNEL法染色阳性细胞和Caspase3的激活. 实验证明, 在IR中增加糖分解产物ATP可以降低细胞坏死, 但同时可引起mPT, mPT可引发细胞凋亡, 此方法引起的细胞凋亡可以被环孢菌素A(mPT抑制剂)抑制. mPT是IR的共同通路之一.

Slater等[36]研究表明线粒体膜流动性与其呼吸链电子传递过程及氧化磷酸化藕联过程密切相关. 膜流动性越大, 呼吸链电子传递越

快. 在HIRI中, 由多种机制导致的线粒体内膜脂质成分的改变, 降低了膜流动性而从而线粒体功能障碍, 进而造成线粒体损伤.

4 治疗前景

近年来, 随着肝脏移植的应用日益增多, 为各种晚期肝功能障碍的患者带来了生机. HIRI造成的移植后肝功能不良一直是制约着肝移植术成功率的一个重要因素[37]. 如何减轻HIRI, 是当前肝脏外科面临的重要问题. 随着生活水平的提高, 非酒精性脂肪性肝病患者的数量也逐年提升[38]. Ibrahim等[39]通过研究发现脂肪肝对缺血再灌注损伤具有更高的敏感性, 如何改善脂肪肝的缺血再灌注损伤显得日益紧迫.

已有学者尝试利用抗氧化剂药物对抗各种缺血再灌注损伤中的脂质过氧化以减少缺血再灌注损伤, 并取得了比较好的效果. 我们推断, 如何更有效的防范肝脏的脂质损伤, 可能成为减轻HIRI的关键事件. Moreno等[40]在研究卡维地洛在心肌缺血再灌注抗氧化性实验中证明了长时间的缺血会导致心肌线粒体功能损伤, 卡维地洛通过对抗氧化应激在心肌缺血过程中能起到保护心肌的作用. 研究结果显示卡维地洛通过防止氧化应激阻断了MPTP的打开并抑制了mPT. 但是该实验只显示了抗氧化剂治疗仅对缺血再灌注损伤中的缺血期具有保护作用, 然而抗氧化剂疗法对缺血后期的组织损伤往往无能为力. 为何抗氧化剂药物未能达到人们期待的治疗效果一直是生物医学研究的热点. 我们认为原因有二: (1)线粒体是体内ROS产生的主要来源, 参与蛋白质组装合成的质膜系统如: 内质网、高尔基体、细胞膜甚至核膜对ROS相关的氧化还原反应极其敏感, 溶酶体与过氧化物酶体参与的降解途径亦是如此. 所以ROS不能单纯的看作细胞代谢改变的产物或外界因子的有害产物[41]; (2)再灌注后期, ROS产生处于一个低水平状态, 此时的氧化物是作为信号分子参与激活生长因子的转录, 促进细胞增殖、分化和迁移. 这个阶段的净效应是组织修复和血管生成[10].

如果在缺血再灌注损伤缺血期及再灌注期均可以阻断线粒体内膜的脂质过氧化损伤, 进而稳定线粒体内膜, 防止其mPT, 减少细胞内ROS的产生, 是否就能最终达到减少HIRI引起的细胞和组织损伤及功能障碍? 如果线粒体膜及细胞膜始终能处于一种稳定的状态, 理论上是可以降低甚至预防缺血再灌注损伤. 我们推论, 也许脂稳态对于HIRI具有特别的重要意义. 脂稳态作为一类新的关注点, 涉及HIRI的多方面, 可能成为新的靶点.

5 结论

在HIRI中, LP以及脂质代谢紊乱导致线粒体损伤并释放死亡信号等一系列分子事件与HIRI密切相关, 拮抗脂质过氧化损伤, 维持线粒体脂稳态在HIRI甚至其他器官缺血再灌注损伤中存在着良好的治疗前景[30].

脂质稳态即细胞内脂肪含量的动态平衡, 是脂质摄取与流出的平衡[42]. 主要包括脂肪降解、脂肪生成以及脂肪细胞生成[43]. 二十一世纪以来, 脂质的作用已经远不止人们之前认为的单纯作为一种细胞膜的结构成分[44], 脂质的生物学作用吸引着各个领域的关注, 研究脂稳态的维持机制拥有很好的前景[45]. 目前有关脂稳态研究主要集中在胰岛素反应的调节、肥胖症、动脉粥样硬化等心血管疾病、阿尔兹海默症以及脂质代谢的信号通路调节等方面[46-50], 然而目前国内外在关于脂稳态尤其是线粒体的脂稳态在HIRI方面的研究却并不多见, 有待于更多研究人员的探索与研究.

■应用要点

HIRI一直是制约着肝移植术后成功率的一个重要因素, 而脂肪肝对缺血再灌注尤其敏感. 如果能在缺血再灌注过程中维持肝细胞及其线粒体的脂稳态, 将有可能极大程度减轻HIRI, 提高肝移植或其他肝脏手术成功率, 改善此类患者病情.

6 参考文献

1 Lemasters JJ, Thurman RG. Reperfusion injury after liver preservation for transplantation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997; 37: 327-338 [PMID: 9131256 DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.37.1.327]

2 金惠铭, 王建枝. 缺血-再灌注损伤. 病理生理学(第七版). 北京: 人民卫生出版社, 2008: 141

3 Gracia-Sancho J, Casillas-Ramírez A, Peralta C. Molecular pathways in protecting the liver from ischaemia/reperfusion injury: a 2015 update. *Clin Sci* (Lond) 2015; 129: 345-362 [PMID: 26014222 DOI: 10.1042/cs20150223]

4 王阳阳, 冯志杰, 郝晓. 肝脏缺血再灌注损伤与细胞凋亡. 中国全科医学 2007; 10: 1660-1663

5 Honda HM, Korge P, Weiss JN. Mitochondria and ischemia/reperfusion injury. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1047: 248-258 [PMID: 16093501 DOI: 10.1196/annals.1341.022]

6 Bernardi P, Scorrano L, Colonna R, Petronilli V, Di Lisa F. Mitochondria and cell death. Mechanistic aspects and methodological issues. *Eur J Biochem* 1999; 264: 687-701 [PMID: 10491114 DOI: 10.1046/j.1432-1327.1999.00725.x]

7 Lee HL, Chen CL, Yeh ST, Zweier JL, Chen YR. Biphasic modulation of the mitochondrial electron

名词解释
脂稳态: 细胞内脂肪含量的动态平衡, 是脂质摄取与流出的平衡.

transport chain in myocardial ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012; 302: H1410-H1422 [PMID: 22268109 DOI: 10.1152/ajpheart.00731.2011]

8 Turrens JF. Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Biosci Rep* 1997; 17: 3-8 [PMID: 9171915]

9 马毅, 何晓顺. 肝脏缺血再灌注损伤与细胞凋亡. 中国病理生理杂志 2003; 19: 1005-1008

10 Kalogeris T, Bao Y, Korthuis RJ. Mitochondrial reactive oxygen species: a double edged sword in ischemia/reperfusion vs preconditioning. *Redox Biol* 2014; 2: 702-714 [PMID: 24944913 DOI: 10.1016/j.redox.2014.05.006]

11 Fu S, Watkins SM, Hotamisligil GS. The role of endoplasmic reticulum in hepatic lipid homeostasis and stress signaling. *Cell Metab* 2012; 15: 623-634 [PMID: 22560215 DOI: 10.1016/j.cmet.2012.03.007]

12 Iurlaro R, Muñoz-Pinedo C. Cell death induced by endoplasmic reticulum stress. *FEBS J* 2015 Nov 20. *[Epub ahead of print]* [PMID: 26587781 DOI: 10.1111/febs.13598]

13 Nohl H, Gille L, Staniek K. The mystery of reactive oxygen species derived from cell respiration. *Acta Biochim Pol* 2004; 51: 223-229 [PMID: 15094844]

14 Peng TI, Jou MJ. Oxidative stress caused by mitochondrial calcium overload. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1201: 183-188 [PMID: 20649555 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05634.x]

15 Tsukidate K, Yamamoto K, Snyder JW, Farber JL. Microtubule antagonists activate programmed cell death (apoptosis) in cultured rat hepatocytes. *Am J Pathol* 1993; 143: 918-925 [PMID: 8362985]

16 Jang MK, Kim HS, Chung YH. Clinical aspects of tumor necrosis factor-α signaling in hepatocellular carcinoma. *Curr Pharm Des* 2014; 20: 2799-2808 [PMID: 23944370]

17 Colletti LM, Remick DG, Burtch GD, Kunkel SL, Strieter RM, Campbell DA. Role of tumor necrosis factor-alpha in the pathophysiologic alterations after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat. *J Clin Invest* 1990; 85: 1936-1943 [PMID: 2161433 DOI: 10.1172/jci114656]

18 Hamacher-Brady A, Brady NR, Gottlieb RA. The interplay between pro-death and pro-survival signaling pathways in myocardial ischemia/reperfusion injury: apoptosis meets autophagy. *Cardiovasc Drugs Ther* 2006; 20: 445-462 [PMID: 17149555 DOI: 10.1007/s10557-006-0583-7]

19 Schmitz I, Kirchhoff S, Krammer PH. Regulation of death receptor-mediated apoptosis pathways. *Int J Biochem Cell Biol* 2000; 32: 1123-1136 [PMID: 11137452 DOI: 10.1016/s1357-2725(00)00048-0]

20 Muzio M, Stockwell BR, Stennicke HR, Salvesen GS, Dixit VM. An induced proximity model for caspase-8 activation. *J Biol Chem* 1998; 273: 2926-2930 [PMID: 9446604 DOI: 10.1074/jbc.273.5.2926]

21 Stennicke HR, Salvesen GS. Caspases - controlling intracellular signals by protease zymogen activation. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1477: 299-306 [PMID: 10708865 DOI: 10.1016/s0167-4838(99)00281-2]

22 Green DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis. *Science* 1998; 281: 1309-1312 [PMID: 9721092 DOI: 10.1126/science.281.5381.1309]

23 Lim ML, Lum MG, Hansen TM, Roucou X, Nagley P. On the release of cytochrome c from mitochondria during cell death signaling. *J Biomed Sci* 2002; 9: 488-506 [PMID: 12372987 DOI: 10.1159/000064722]

24 Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr* 1990; 137: 1-53 [PMID: 1966309]

25 Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 2014; 2014: 360438 [PMID: 24999379 DOI: 10.1155/2014/360438]

26 Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338: 668-676 [PMID: 16126168 DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.08.072]

27 Bastone P, Bravo IG, Löchelt M. Feline foamy virus-mediated marker gene transfer: identification of essential genetic elements and influence of truncated and chimeric proteins. *Virology* 2006; 348: 190-199 [PMID: 16443252 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.08.044]

28 Bhattacharjee S. Membrane lipid peroxidation and its conflict of interest: the two faces of oxidative stress. *Current Science* 2014; 107: 1811-1823

29 Papadopoulos D, Siempis T, Theodorakou E, Tsoulfas G. Hepatic ischemia and reperfusion injury and trauma: current concepts. *Arch Trauma Res* 2013; 2: 63-70 [PMID: 24396796 DOI: 10.5812/atr.12501]

30 Vamecq J, Dessein AF, Fontaine M, Briand G, Porchet N, Latruffe N, Andreolotti P, Cherkaoui-Malki M. Mitochondrial dysfunction and lipid homeostasis. *Curr Drug Metab* 2012; 13: 1388-1400 [PMID: 22978394]

31 Anderson EJ, Katunga LA, Willis MS. Mitochondria as a source and target of lipid peroxidation products in healthy and diseased heart. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2012; 39: 179-193 [PMID: 22066679 DOI: 10.1111/j.1440-1681.2011.05641.x]

32 Christian P, Sacco J, Adeli K. Autophagy: Emerging roles in lipid homeostasis and metabolic control. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1831: 819-824 [PMID: 23274236 DOI: 10.1016/j.bbalip.2012.12.009]

33 Simonson SG, Welty-Wolf K, Huang YT, Griebel JA, Caplan MS, Fracica PJ, Piantadosi CA. Altered mitochondrial redox responses in gram negative septic shock in primates. *Circ Shock* 1994; 43: 34-43 [PMID: 7982271]

34 Nakagawa T, Shimizu S, Watanabe T, Yamaguchi O, Otsu K, Yamagata H, Inohara H, Kubo T, Tsujimoto Y. Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition regulates some necrotic but not apoptotic cell death. *Nature* 2005; 434: 652-658 [PMID: 15800626 DOI: 10.1038/nature03317]

35 Kim JS, Qian T, Lemasters JJ. Mitochondrial permeability transition in the switch from necrotic to apoptotic cell death in ischemic rat hepatocytes. *Gastroenterology* 2003; 124: 494-503 [PMID: 12557154 DOI: 10.1053/gast.2003.50059]

36 Slater EC, Berden JA, Herweijer MA. A

hypothesis for the mechanism of respiratory-chain phosphorylation not involving the electrochemical gradient of protons as obligatory intermediate. *Biochim Biophys Acta* 1985; 811: 217-231 [PMID: 2861851 DOI: 10.1016/0304-4173(85)90012-6]
37 Clavien PA, Harvey PR, Strasberg SM. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. *Transplantation* 1992; 53: 957-978 [PMID: 1585489 DOI: 10.1097/00007890-199205000-00001]
38 Oliveira CP, de Lima Sanches P, de Abreu-Silva EO, Marcadenti A. Nutrition and Physical Activity in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Diabetes Res* 2016; 2016: 4597246 [PMID: 26770987 DOI: 10.1155/2016/4597246]
39 Ibrahim MA, Kelleni M, Geddawy A. Nonalcoholic fatty liver disease: current and potential therapies. *Life Sci* 2013; 92: 114-118 [PMID: 23159641 DOI: 10.1016/j.lfs.2012.11.004]
40 Moreno AJ, Santos DJ, Palmeira CM. Ischemic heart disease: the role of mitochondria--carvedilol prevents lipid peroxidation of mitochondrial membranes. *Rev Port Cardiol* 1998; 17 Suppl 2: II63-II77 [PMID: 9835783]
41 Moldovan L, Moldovan NI. Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochem Cell Biol* 2004; 122: 395-412 [PMID: 15452718 DOI: 10.1007/s00418-004-0676-y]
42 张倩, 张晾, 潘杰. 细胞因子与巨噬细胞脂质稳态. 现代生物医学进展 2009; 9: 3986-3987
43 Lamming DW, Sabatini DM. A Central role for mTOR in lipid homeostasis. *Cell Metab* 2013; 18: 465-469 [PMID: 23973332 DOI: 10.1016/j.cmet.2013.08.002]
44 Hannich JT, Umebayashi K, Riezman H. Distribution and functions of sterols and sphingolipids. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011; 3: pii a004762 [PMID: 21454248 DOI: 10.1101/cshperspect.a004762]
45 Nielsen J. Systems biology of lipid metabolism: from yeast to human. *FEBS Lett* 2009; 583: 3905-3913 [PMID: 19854183 DOI: 10.1016/j.febslet.2009.10.054]
46 Buckley ML, Ramji DP. The influence of dysfunctional signaling and lipid homeostasis in mediating the inflammatory responses during atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1852: 1498-1510 [PMID: 25887161 DOI: 10.1016/j.bbadis.2015.04.011]
47 Holland WL, Summers SA. Sphingolipids, insulin resistance, and metabolic disease: new insights from in vivo manipulation of sphingolipid metabolism. *Endocr Rev* 2008; 29: 381-402 [PMID: 18451260 DOI: 10.1210/er.2007-0025]
48 Poirier J, Miron J, Picard C, Gormley P, Théroux L, Breitner J, Dea D. Apolipoprotein E and lipid homeostasis in the etiology and treatment of sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2014; 35 Suppl 2: S3-S10 [PMID: 24973118 DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.03.037]
49 Tao C, Sifuentes A, Holland WL. Regulation of glucose and lipid homeostasis by adiponectin: effects on hepatocytes, pancreatic β cells and adipocytes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2014; 28: 43-58 [PMID: 24417945 DOI: 10.1016/j.beem.2013.11.003]
50 Warnakula S, Hsieh J, Adeli K, Hussain MM, Tso P, Proctor SD. New insights into how the intestine can regulate lipid homeostasis and impact vascular disease: frontiers for new pharmaceutical therapies to lower cardiovascular disease risk. *Can J Cardiol* 2011; 27: 183-191 [PMID: 21459267 DOI: 10.1016/j.cjca.2010.12.020]

同行评价

本文逻辑较为清晰, 从分析HIRI可能机制, 再引出脂质过氧化反应对于HIRI的作用. 从细胞水平分析到信号通路水平, 论述条理较清晰. 脂稳态的提出使读者对现阶段HIRI研究进展有更为准确的了解.

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1198

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1198-1205
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

文献综述 REVIEW

肝癌干细胞的调控机制及靶向治疗的研究进展

佴启元, 魏梦雪, 许 伟

佴启元, 许伟, 徐州医学院附属医院介入放射科 江苏省徐州市 221006

魏梦雪, 徐州医学院研究生学院临床医学系 江苏省徐州市 221004

作者贡献分布: 本文由佴启元与魏梦雪综述完成; 许伟审校.

通讯作者: 许伟, 主任医师, 221006, 江苏省徐州市淮海西路, 徐州医学院附属医院介入放射科. xuwei0202@qq.com
电话: 0516-85802078

收稿日期: 2016-01-07
修回日期: 2016-01-22
接受日期: 2016-01-31
在线出版日期: 2016-03-18

背景资料
目前肝癌的发病率在上升, 死亡率更是跃居癌症死亡排行榜第3位, 而传统的治疗方法仅是治标不治本, 因此提出并探索肝癌干细胞, 以期根治肝癌, 降低转移率与复发率.

Regulatory mechanisms and therapeutic targeting of liver cancer stem cells

Qi-Yuan Nai, Meng-Xue Wei, Wei Xu

Qi-Yuan Nai, Wei Xu, Department of Interventional Radiology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221006, Jiangsu Province, China

Meng-Xue Wei, Department of Clinical Medicine, Graduate School of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Wei Xu, Chief Physician, Department of Interventional Radiology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Huaihai West Road, Xuzhou 221006, Jiangsu Province, China. xuwei0202@qq.com

Received: 2016-01-07
Revised: 2016-01-22
Accepted: 2016-01-31
Published online: 2016-03-18

同行评议者
杨长青, 教授, 主任医师, 博士生导师, 同济大学附属同济医院大内科

Abstract

As cancer stem cells have been confirmed in many human solid tumors, hepatocellular carcinoma has been considered a stem cell disease. The existence of liver cancer stem cells in liver cancer has been a research hotspot recently. Cancer stem cell theory believes that tumorigenesis, development, metastasis, recurrence and drug resistance are closely associated with cancer stem cells. Therefore, the isolation and identification of liver cancer stem cells play a very important role in early prevention, early diagnosis, effective therapy and improving prognosis of liver cancer. This paper summarizes the origin, surface molecular markers, signal transduction and regulation of liver cancer stem cells, and discusses the therapies targeting liver cancer stem cells.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver cancer stem cells; Molecular markers; Side population cells; Regulatory mechanism; Targeted therapy

Nai QY, Wei MX, Xu W. Regulatory mechanisms and therapeutic targeting of liver cancer stem cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1198-1205 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1198.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1198

摘要

随着肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)在人类许多实体肿瘤中得到证实, 肝癌被认为很可能也是一种干细胞疾病. 肝癌中是否存在肝癌干细胞(liver cancer stem cells, LCSCs)一直是近来研究热点. CSCs学说认为, 肿瘤的发生、发展、转移、复发与耐药均与CSCs有密切关系. 因此, 确认并分离鉴定LCSCs对于早期预防及早期诊断、有效治疗及改善预

后有着极为重要的作用. 本文就LCSCs的来源、表面标志、信号转导与调控、治疗策略等方面的相关研究作一综述.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝癌干细胞; 分子标志物; 侧群细胞; 调控机制; 靶向治疗

核心提示: 本文主要阐述肝癌干细胞(liver cancer stem cells, LCSCs)调控机制及靶向治疗的最新研究进展, 其中提到的表观遗传学调控、靶向治疗的位点叙述都是新颖的观点, 可使读者在短时间内了解LCSCs的研究概况, 激发阅读兴趣.

佴启元, 魏梦雪, 许伟. 肝癌干细胞的调控机制及靶向治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1198-1205
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1198.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1198

0 引言

肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界上最具侵犯性的恶性肿瘤之一, 在肿瘤相关致死原因中居第3位[1], 死亡率仅次于肺癌和结肠癌. 尽管目前关于肝癌的治疗手段多样, 但复发与转移问题始终难以得到解决. 随着肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)学说的提出[2], 并已在肺癌、前列腺癌、脑胶质瘤中得以证实[3-5], 这提示着肝癌中可能存在着肝癌干细胞(liver cancer stem cells, LCSCs). 据报道, Haraguchi等[6]首先在肝脏中发现了LCSCs. 随后, Lingala等[7]通过免疫组织化学法证实了肝癌组织中LCSCs的存在.

1 LCSCs来源

目前关于LCSCs来源仍不明确, 主要有两种观点: (1)LCSCs来源于成熟肝细胞的去分化; (2)LCSCs来源于肝干细胞的“成熟受阻”. 关于前者, 卵圆细胞是公认的肝干细胞, 特异性表面标志物主要有: OV-6、OV-1、细胞角质素CK7、CK19、甲胎蛋白(α-fetoprotein, AFP)、c-kit和Thy-1. 关于后者, 骨髓干细胞分化为肝干细胞已得到证实[8,9], 只是相关研究发现来源于骨髓干细胞的肝干细胞所致肝癌的恶性程度并不高. 现在越来越多的观点支持后者.

2 LCSC表面标志物

随着实体肿瘤中CSCs表面分子标志物的明确及成功分离, 不少专家学者对LCSCs展开了深入的研究, 希望通过表面标志物将其从肝癌组织中成功分离, 并有望作为分子治疗靶点杀灭LCSCs克服癌症复发的难题. 然而存在于CSCs的表面标志并非为LCSCs所特异拥有[10], 目前已鉴定出LCSCs的多种分子表面标志物主要有细胞表面抗原决定簇CD分子(CD133、CD90、CD13、CD34)、OV6、EpCAM、类肝癌细胞特异性表面标志物(AFP、细胞角质素)以及自身特异性表面标志物[11].

3 侧群细胞与LCSC

侧群细胞(side population, SP)是指一类能将进入细胞核的荧光染料Hoechst33342通过膜转运蛋白ABCG2排除细胞外的一类细胞. 因细胞核不着色或着色程度低, 且在流式二维分析点阵图上呈彗星状分布在细胞主群的一侧而得名. 近来研究发现SP细胞的分化与肿瘤的发生密切相关. Haraguchi等[6]研究发现从肝癌细胞系(Huh7、Hep3B和HepG2)中分离SP细胞结果显示SP细胞在Huh7和Hep3B中分别占0.9%和1.8%, 而在HepG2中未发现SP细胞. 在某些其他肝癌细胞系(如Huh6)中亦未能检测到SP细胞的存在. 就非SP细胞而言, 分离的SP细胞表现出更强的增殖能力、抗凋亡能力及成瘤能力. 虽然SP细胞显示了干细胞特性, 但只能认为是部分代表, 而不能认为其就是LCSCs.

虽然已经研究了众多干细胞表面标志物, 但仍不能独立应用一种分子标志物分离得到LCSCs, 因而寻找独立的干细胞表面标志物仍会继续研究下去. 而利用联合标志物分选干细胞的方法已有许多学者研究报道. 目前比较常用的分选方法主要有SP细胞分选法、流式细胞仪细胞分选术(fluorescence activated cell sorting, FACS)或磁珠活化细胞分选术(magnetic activated cell sorting, MACS)、球培养法[12]及无血清培养法富集干细胞.

4 LCSC相关的主要信号转导通路及调控

4.1 LCSC相关的主要信号转导通路

4.1.1 Wnt/β-catenin信号通路: Wnt/β-catenin通路作为进化上高度保守的信号转导通路, 对细胞的生长、发育、存活、再生、代谢及自我更新起到了至关重要的作用. 激活Wnt/β-catenin信号通路时干细胞会发生衰老变化, 抑制Wnt/β-catenin信号通路时, 会导致

研发前沿
肝癌干细胞的表面标志物、调控机制和靶向治疗是近年来研究的热点, 但独立应用特异的表面标志物进行干细胞分离培养还有待进一步探索, 且相关研究基于体外实验者居多, 能否有效应用于人体仍未可知.

相关报道
2014年发表于《中华肝胆外科杂志》的《肝癌干细胞调控机制的研究进展》一文比较详细地阐述了干细胞相关的调控机制, 其中涉及到的表观遗传学调控是一亮点, 读者可在阅读该文的基础上理解本文以全面掌握相关信息.

一系列疾病的发生, 包括各种癌症, 尤其是结肠癌和肝癌. Wnt/β-catenin信号通路主要分为两个途径, β-catenin依赖型(经典型)和β-catenin非依赖型(非经典型)途径. Wnt/β-catenin信号通路通过Wnt家族蛋白与细胞膜表面受体Frd、LRP-5/6结合并作用于胞质内的效应蛋白Dsh, 从而抑制多蛋白降解复合物(axin, APC和GSK-3β)的活性, 进而阻断该通路下游调控因子β-catenin的降解, 致使其积累并转入细胞核, 与转录因子CF/LEF形成复合体, 启动包括*c-yc*、*cy-linD1*、*CD44*等一系列靶基因的转录[13]. 作为关键调控因子的β-catenin和此信号通路下游转录因子*Tcf-4*基因表达程度与肝癌转移关系密切. Yamashita等[14]发现LCSC表面标志*EpCAM*为Wnt/β-catenin的靶基因, 激活此通路可促进EpCAM表达, 反之可抑制其表达. 应用RNA干扰技术阻断Wnt/β-catenin通路后, 可减弱癌细胞活化, 降低其转移侵袭能力. Lei等[15]发现视网膜蛋白UNC119在HCC中高表达, 通过激活Wnt/β-catenin通路促进细胞增殖, 影响肝癌患者预后. 因此研究Wnt/β-catenin信号通路可以了解并掌控肝癌转移及侵袭的分子学机制, 为进一步探讨治疗方针提供重要参考依据.

4.1.2 转化生长因子β信号通路: 转化生长因子β(transforming growth factor-β, TGF-β)是一组参与调节细胞生长、分化和免疫功能的TGF-β超家族, 包括TGF-β1、TGF-β2、TGF-β3, 其中TGF-β1是肝脏中含量最高、具有生物学活性的细胞因子. TGF-β通过与细胞膜表面受体TGF-βR(Ⅰ型、Ⅱ型)结合组成二聚体使下游多种Smad蛋白磷酸化, 将信号转导入核, 调控相关靶基因的转录, 阻滞细胞于G_1期, 使细胞停止增殖. 有研究[16]发现TGF-β/Smad信号通路在干细胞的自我更新和分化过程中起到十分突出的作用, 特别是Smad3/4接头蛋白β-膜收缩蛋白为关键的调控因子, 具有抑制肿瘤形成作用. 敲除Smad4会显著降低HCC细胞系克隆形成及迁移能力[17], 恢复Smad4表达后, TGF-β重新介导抑制肿瘤的增殖、迁移与侵袭[18]. Jiang等[19]在HCC细胞系(HepG2、Huh-7和MHCC97H)中发现GLA通过MiR-148a介导抑制TGF-β/Smad2信号通路可以减弱CSCs样特性, 这可能成为潜在的治疗靶点. 此外, TGF-β也可以通过non-Smad通路如PI3K/AKT/mTOR、p38及JNK/MAPK途径转导信号[20].

4.1.3 Notch信号通路: Notch通路在进化上高度保守, 通过相邻细胞之间相互作用, 调控细胞的增殖、分化和凋亡. Notch信号通路由Notch受体、Notch配体(DSL蛋白)、CSL(CBF-1, Suppressor of hairless, Lag的合称)DNA结合蛋白、其他的效应物和Notch调节分子等组成. 哺乳动物体内有4种Notch受体(Notch1-4)和5种Notch配体(Delta-like 1, 3, 4, Jagged1和Jagged2). 相邻细胞的Notch配体与受体相互作用, 激活Notch信号通路, 释放Notch受体活化形式(NICD/ICN)并转运至核内与转录因子CSL结合, 形成NICD/CSL转录激活复合体, 从而调控HES、HEY、HERP等转录抑制因子家族的靶基因的转录. Jagged1/FC蛋白激活Notch信号通路能促进表皮干细胞增殖及维持低分化状态, 抑制Notch通路后可促进表皮干细胞分化为表皮细胞[21]. 在HCC细胞系中转录调节子yes相关蛋白可以上调Jagged1激活Notch通路促进细胞增殖[22]. 此外, 应用Notch1激活剂Jagged1后, $CD133^+$细胞中Hes-1表达程度增强, 细胞增殖减弱, 而应用Notch1抑制剂DAPT后Hes-1表达减弱, 细胞增殖增强, 说明Notch1信号通路对$CD133^+$干细胞的增殖和凋亡具有重要作用[23].

4.1.4 Hedgehog信号通路: Hedgehog(Hh)通路是一个经典的控制胚胎发育的信号转导通路, 对细胞的生长和分化有重要作用. 众所周知, 肿瘤的发生是细胞增殖失控所致, 而Hh通路就上演着调控细胞的生长与繁殖的角色. 目前已有大量的研究表明, Hh信号通路的异常激活与肿瘤发生有关. Hh信号传递受靶细胞膜上两种受体Patched(Ptc)和Smoothened(Smo)的控制, 在正常情况下, 起负调控作用的Ptc抑制Smo蛋白活性, 阻止下游通路Gli蛋白被截断并转导入核, 抑制下游靶基因的转录. 而分泌型糖蛋白Hh竞争性结合Ptc而释放Smo, 激活Hh信号通路, 促使Gli蛋白与PKA及一些未知因子与微管形成大分子复合物, 使得全长Gli蛋白进入核内激活tchl、Glil、Wnt等下游靶基因转录. Hh信号通路可以维持人脑胶质瘤干细胞的自我更新能力, 能够增强胶质瘤干细胞的照射敏感性[24]. Hh信号通路在HCC中呈激活状态[25], 下调Gli会降低基质金属蛋白酶MMP-2、MMP-9的表达及活性, 抑制上皮间质转化(epithelial-

to-mesenchymal transition, EMT), 从而抑制肝癌的侵袭与转移能力[26]. 应用Gli抑制剂抑制Hh通路后可引起肝癌细胞系CD133$^+$细胞比例下降[27], 这一系列研究说明Hh信号通路对肝癌的进展有重要影响.

4.1.5 BMI-1信号通路: B细胞特异性马罗尼白血病病毒插入位点1(B cell specific Maloney leukemia virus insert site 1, *Bmi-1*)基因属于Polycomb家族成员的原癌基因, 调控相关基因活性, 参与干细胞的增殖、分化与衰老. 研究发现Bmi-1是神经系统和造血系统干细胞更新的关键调节因子, 通过抑制Ink4α与Arf, 调节干细胞的自我更新与神经发育. 另外, *Bmi-1*基因在恶性肿瘤的发生发展中也起了关键作用. 已有研究证实人类的白血病、淋巴瘤、乳腺、肺癌及结肠癌等多种肿瘤的发生发展均与*Bmi-1*基因表达异常有关. 白血病干祖细胞在缺乏Bmi-1时增殖能力受限并可被Bmi-1完全逆转[28]. Li等[29]发现在肝癌组织中Bmi-1表达上调, 抑制Bmi-1的表达可降低肝细胞的侵袭性.

4.2 LCSCs的表观遗传学调控 表观遗传是指表型状态发生改变而基因型不变, 是一种具有可逆潜能, 于细胞分化期间保持稳定的可遗传的基因表达模式, 主要包括DNA甲基化和组蛋白修饰[30].

4.2.1 LCSC相关的DNA甲基化: 基因组DNA的高度甲基化是转录抑制的显著特征, 肿瘤表观遗传学异常以DNA甲基化模式的改变为主, 包括整体基因组的低甲基化和启动子的高甲基化. 与肿瘤异常甲基化相关的DNA甲基化转移酶DNMTs在启动子区域CpG岛的胞嘧啶上结合一个甲基基团, 应用5氮杂胞苷(5-aza-deoxycytidine)(胞嘧啶类似物)抑制DNMT的活性后, 可使小鼠肺癌模型中的癌性增生得以延缓[31]. Wang等[32]发现在CD133$^+$的LCSCs中存在*Nanog*启动子的去甲基化, Nanog过表达会增加CD133$^+$LCSCs比例. 此外, 通过启动子甲基化的编码重排, Oct4和Nanog之间相互调控, 促进维持LCSCs特性.

4.2.2 LCSC相关的组蛋白修饰: 组蛋白是核小体的重要组成部分, 核小体中的组蛋白、DNA碱基位置及组蛋白的修饰对维持基因的表达模式和染色体的正常结构及功能有重要作用, 并以此调控正常的表观遗传. 而当这些处于稳定状态的组分发生极其微小的改变时, 就会对细胞表型和转录模式产生巨大影响[30]. SIRT1是哺乳类动物的去乙酰化酶家族最具特征性的一员, 兼具调节组蛋白和非组蛋白乙酰化水平的活性, 对细胞的凋亡与存活发挥着举足轻重的作用. Hao等[33]发现SIRT1在HCC中过表达, 通过诱导上皮间充质转化促进HCC的转移侵袭能力. SIRT1通过调控DNMT3A的乙酰化, 影响*SOX2*启动子区域DNA甲基化, 上调SOX2, 进一步激活Nanog, 组成“干性调控网络”, 维持LCSCs自我更新和高致瘤性[34]. 有数据表明组蛋白去乙酰化酶抑制剂可以抑制LCSCs自我更新并诱导其分化[35]. 由此可见, 组蛋白修饰对LCSCs干性有重要影响.

4.2.3 LCSC相关的MiroRNAs调控: 越来越多证据显示在表观遗传学改变与微小RNA(miroRNAs, miRNAs)的表达变化之间存在着直接和相互依存的关系. MircoRNA是一类长度约21 nt的非编码小RNA, 成熟的miRNA与RNA诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)结合, 通过与靶mRNA特定序列结合, 诱导靶mRNA剪切或阻止其翻译. miRNA主要调节与个体生长、发育、疾病相关过程基因的表达, miRNA还可作为编码基因或抑癌基因在肿瘤中发挥作用[36]. 有研究表明, 具有肝特异性的miR-122的表达明显受到DNA甲基化的调控, 可能参与了肝癌的发生、发展过程. 利用基因芯片技术筛查肝癌细胞和LCSCs的miRNA表达谱, 结果显示相较于肝癌部分miRNA在LCSCs中表达上调, 部分miRNA在LCSCs中表达下调[37]. miR-148a可直接抑制骨形成蛋白BMP信号通路中的关键受体ACVR1, 调控干细胞特性[38]. 过表达miR-150会下调c-myb蛋白水平, 也显著降低CD133$^+$细胞, 同时明显抑制细胞增殖与肿瘤成球. 提示miR-150通过下调靶基因*c-myb*参与LCSC的自我更新与CD133$^+$干细胞表型的维持[39]. 应用实时定量PCR发现在富集细胞球中MiR-155的表达与CD90、CD133、Oct4的水平呈正相关, 上调MiR-155可增加肝CSCS数量、增强成球能力, 促进EMT及干细胞表型获得[40].

5 治疗策略

肝癌进展快, 对化、放疗具有抵抗性, 且易复

创新盘点

本文在写作上对报道较多的部分简略如干细胞表面标志物, 对现阶段研究热点如机制及治疗上详细介绍最新研究进展, 并提出表观遗传学上组蛋白修饰及靶向清除癌前细胞的论点, 选材新颖, 论点独特.

应用要点
根据当今肝癌发展的现状, 从肝癌干细胞着手是降低肝癌复发与转移的有效手段, 将弥补传统治疗的不足, 改善肝癌患者预后, 延长生存期, 甚至使肝癌得以根治.

发, 使得传统治疗大打折扣, 对此, 若以LCSCs作为突破口, 有可能在肝癌的治疗和预后上开启一页新的篇章. LCSC的干性维持有赖于众多信号转导通路的完整性[41], 干性表达又可通过特定的分子表面标记而体现, 因而干预任一环节, 均可能降低LCSCs的特性, 减少肝癌的复发与转移.

5.1 靶向阻断信号转导通路 近来研究表明, 长非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNAs)在肿瘤中发挥着重要的作用. 大基因间区非编码RNA-p21(lncRNA-p21)是CSCs的潜在抑制物, 构建表达lncRNA-p21的腺病毒载体并携带miR-451的miR反应原件, 即Ad-lnc-p21-MRE, 能够抑制β-catenin通路, 显著降低CSCs的自我更新及成瘤能力, 重要的是, 携带miR-451 MREs可以保护正常的干细胞免受lncRNA-p21脱靶表达的损伤[42]. Zhu等[43]体外实验发现全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)可通过抑制β-catenin功能促进肝脏CSCs(hepatic cancer stem cells, hCSCs)分化, 且ATRA联合β-catenin功能缺陷能够增强hCSC对多西他赛的治疗敏感性. Ma等[44]研究表明体外应用阿霉素联合氟尿嘧啶可以显著富集CD133$^+$细胞亚群. 优先激活Akt/PKB和Bcl-2信号通路表达相关存活蛋白, 是CD133$^+$促进耐药性的主要机制, 应用AKT1抑制剂靶向阻断Akt/PKB途径后相关存活蛋白表达明显下降, 从而降低CD133$^+$细胞耐药性. Zhao等[45]研究发现TARAP(total alkaloids of Rubus alceifolius Poir)通过抑制Hh通路降低肝癌细胞的侵袭与转移能力, 将有望成为新型抗肿瘤转移的药物.

5.2 靶向阻滞细胞表面特定分子标志物 CD90作为LCSCs的表面标志物, 可上调分子标记CD133的表达, 其异常表达还可促进肿瘤的进展, CD90-integrin-mTOR/AMPK-CD133信号轴在肿瘤形成中发挥着重要作用, 使用能量限制模拟剂OSU-CG5抑制该信号轴可以减少新鲜肝癌标本中CD90的比例并抑制肿瘤的生长[46]. 利用^{131}I标记CD133单链抗体(single chain rariable fragment, ScFv)对人肝癌CD133$^+$ HepG2干细胞进行治疗, 体外实验显示其抑制率高且具有时间依赖性, 得出结论成功制备的^{131}I-CD133 SeFv在体外能有效抑制人肝癌CD133$^+$ HepG2干细胞的生长[47]. 最新研究表明CD133$^+$ LCSCs对γ-干扰素诱导的细胞自噬具有抵抗性[48]. 因此靶向分子标记的研究意义重大.

5.3 靶向抑制侧群细胞 利用流式细胞术分选含荧光素DNA结合染料赫斯特3342的HCCLM3细胞株, 得到SP细胞的比例为2.79%±0.19%. miR-192-5p为SP细胞的一个上调因子, 可以靶向结合肿瘤形成抑制因子SEMA3A, 上调SP细胞数量, 促进肿瘤进展. 据此, 可以将miR-192-5p作为靶向治疗的靶点及肿瘤生物学行为和预后的标志[49]. 分子药物索拉非尼可通过靶向cJNK途径发挥抑制SP细胞作用, 从而减少CSC数量, 降低细胞生长率[50].

5.4 靶向清除癌前细胞 癌前细胞被认为是CSCs的前体细胞, 在长期持续的癌变前环境下可进一发展成肿瘤, 清除癌前细胞可阻止其恶性转化, 达到治疗和预防肿瘤的目的. 研究发现在大鼠肝脏致瘤模型中存在癌前细胞亚群, 可以富集CD133$^+$CD44$^+$CD45$^-$HIS49$^-$, 形成肝脏卵圆细胞的一小部分. 利用流式鉴定阳性分选的癌前细胞的干性特性如无性繁殖系地扩增及分化为双谱系细胞的能力. 近来研究报报道一个无环类维生素A可以提高肝癌切除术后总体生存率, 体外直接抑制分离到的癌前细胞无性繁殖系扩增, 体内能降低癌前细胞及后代形成. 长期随访研究证实减少癌前细胞变化, 最终能抑制肝癌的发展. 这些发现连同近期显示能够显著降低肝癌肝内复发的临床试验, 表明无环类维生素A通过抑制癌前细胞而直接阻止HCC的再发. 虽然目前肝癌的诊断和检测技术先进, 但靶向治疗癌前细胞对癌症的预防仍有巨大的影响[51].

6 结论

基于肝癌对放、化疗不敏感, 目前肝癌的治疗基本上分为手术治疗、介入治疗(包括肝动脉化疗栓塞治疗、微波消融治疗、粒子置入术治疗)、生物治疗(主要包括免疫治疗及基因治疗), 即使采用手术为主的综合治疗, 也难以防止肝癌的复发与转移. 分子靶向药物索拉非尼单独或联合应用, 虽可抑制肝癌的进展, 但易耐药, 不能减少CD90$^+$细胞的数量, 即CSCs仍然存在, 因而, 若要获得根治性的治疗还需从干细胞入手. 尽管已经鉴定出多种LCSC表面标志物, 但尚不能独立应用一种分子标志物将LCSC高纯度分离出来, 而且干细胞的许多调

控机制仍不清楚, 关于LCSCs的研究结果也大都基于体外实验而获得, 缺乏体内的微环境, 直接将研究成果应用于人体是否同样有效就不得而知, 这预示着肝癌的治疗仍需经历一段漫长的探索路程.

7 参考文献

1 Lin S, Hoffmann K, Schemmer P. Treatment of hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Liver Cancer* 2012; 1: 144-158 [PMID: 24159579 DOI: 10.1159/000343828]

2 Chiba T, Kamiya A, Yokosuka O, Iwama A. Cancer stem cells in hepatocellular carcinoma: Recent progress and perspective. *Cancer Lett* 2009; 286: 145-153 [PMID: 19464789 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.04.027]

3 Kim CF, Jackson EL, Woolfenden AE, Lawrence S, Babar I, Vogel S, Crowley D, Bronson RT, Jacks T. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell* 2005; 121: 823-835 [PMID: 15960971]

4 Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, Maitland NJ. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res* 2005; 65: 10946-10951 [PMID: 16322242]

5 Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J, Dirks PB. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res* 2003; 63: 5821-5828 [PMID: 14522905]

6 Haraguchi N, Utsunomiya T, Inoue H, Tanaka F, Mimori K, Barnard GF, Mori M. Characterization of a side population of cancer cells from human gastrointestinal system. *Stem Cells* 2006; 24: 506-513 [PMID: 16239320]

7 Lingala S, Cui YY, Chen X, Ruebner BH, Qian XF, Zern MA, Wu J. Immunohistochemical staining of cancer stem cell markers in hepatocellular carcinoma. *Exp Mol Pathol* 2010; 89: 27-35 [PMID: 20511115 DOI: 10.1016/j.yexmp.2010.05.005]

8 Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS, Goff JP. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284: 1168-1170 [PMID: 10325227]

9 蔡云峰, 陈积圣, 闵军, 魏菁, 何劲松, 莫隽全. 骨髓源性肝干细胞定向分化及脾内移植研究. 中华实验外科杂志 2004; 21: 551-553

10 Wilson GS, Hu Z, Duan W, Tian A, Wang XM, McLeod D, Lam V, George J, Qiao L. Efficacy of using cancer stem cell markers in isolating and characterizing liver cancer stem cells. *Stem Cells Dev* 2013; 22: 2655-2664 [PMID: 23638793 DOI: 10.1089/scd.2012.0703]

11 宋凯, 杨硕菲, 吴俊华, 江春平. 肝癌干细胞的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3704-3710

12 Shen W, Chen D, Fu H, Liu S, Sun K, Sun X. S100A4 protects gastric cancer cells from anoikis through regulation of αv and α5 integrin. *Cancer Sci* 2011; 102: 1014-1018 [PMID: 21352421 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.01915.x]

13 Kestler HA, Kühl M. From individual Wnt pathways towards a Wnt signalling network. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2008; 363: 1333-1347 [PMID: 18192173 DOI: 10.1098/rstb.2007.2251]

14 Yamashita T, Budhu A, Forgues M, Wang XW. Activation of hepatic stem cell marker EpCAM by Wnt-beta-catenin signaling in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2007; 67: 10831-10839 [PMID: 18006828]

15 Lei B, Chai W, Wang Z, Liu R. Highly expressed UNC119 promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation through Wnt/β-catenin signaling and predicts a poor prognosis. *Am J Cancer Res* 2015; 5: 3123-3134 [PMID: 26693064]

16 Eguchi S, Kanematsu T, Arii S, Omata M, Kudo M, Sakamoto M, Takayasu K, Makuuchi M, Matsuyama Y, Monden M. Recurrence-free survival more than 10 years after liver resection for hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 2011; 98: 552-557 [PMID: 21267990 DOI: 10.1002/bjs.7393]

17 Hernanda PY, Chen K, Das AM, Sideras K, Wang W, Li J, Cao W, Bots SJ, Kodach LL, de Man RA, Ijzermans JN, Janssen HL, Stubbs AP, Sprengers D, Bruno MJ, Metselaar HJ, ten Hagen TL, Kwekkeboom J, Peppelenbosch MP, Pan Q. SMAD4 exerts a tumor-promoting role in hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2015; 34: 5055-5068 [PMID: 25531314 DOI: 10.1038/onc.2014.425]

18 Zhang B, Halder SK, Kashikar ND, Cho YJ, Datta A, Gorden DL, Datta PK. Antimetastatic role of Smad4 signaling in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010; 138: 969-980.e1-e3 [PMID: 19909744 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.11.004]

19 Jiang F, Mu J, Wang X, Ye X, Si L, Ning S, Li Z, Li Y. The repressive effect of miR-148a on TGF beta-SMADs signal pathway is involved in the glabridin-induced inhibition of the cancer stem cells-like properties in hepatocellular carcinoma cells. *PLoS One* 2014; 9: e96698 [PMID: 24806207 DOI: 10.1371/journal.pone.0096698]

20 Mu Y, Gudey SK, Landström M. Non-Smad signaling pathways. *Cell Tissue Res* 2012; 347: 11-20 [PMID: 21701805 DOI: 10.1007/s00441-011-1201-y]

21 杨荣华, 谢举临, 舒斌, 张利军, 施彦, 祁少海. Notch信号通路激活/抑制对表皮干细胞增殖和分化的影响. 中华实验外科杂志 2013; 30: 694-696

22 Tschaharganeh DF, Chen X, Latzko P, Malz M, Gaida MM, Felix K, Ladu S, Singer S, Pinna F, Gretz N, Sticht C, Tomasi ML, Delogu S, Evert M, Fan B, Ribback S, Jiang L, Brozzetti S, Bergmann F, Dombrowski F, Schirmacher P, Calvisi DF, Breuhahn K. Yes-associated protein up-regulates Jagged-1 and activates the Notch pathway in human hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2013; 144: 1530-1542.e12 [PMID: 23419361 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.02.009]

23 吴乐乐, 俞广进, 陈双升, 熊奇如. Notch 1信号通路对人肝癌SMMC 7721细胞中CD133-细胞增殖和凋亡的影响. 安徽医科大学学报 2014; 49: 1701-1705

24 Morgenroth A, Vogg AT, Ermert K, Zlatopolskiy B, Mottaghy FM. Hedgehog signaling sensitizes glioma stem cells to endogenous nano-irradiation. *Oncotarget* 2014; 5: 5483-5493 [PMID: 24978848]

25 Huang S, He J, Zhang X, Bian Y, Yang L, Xie G, Zhang K, Tang W, Stelter AA, Wang Q, Zhang H, Xie J. Activation of the hedgehog pathway in human hepatocellular carcinomas. *Carcinogenesis*

名词解释

侧群细胞: 指可外排荧光染料、流式分析时位于细胞主群一侧的一类细胞, 具干细胞特性;

表观遗传学: 指基因的核苷酸序列不发生改变, 而基因表达出现可遗传的变化.

同行评价

肝癌干细胞在肝癌发生、发展中的重要性日益得到临床医学和基础研究的重视. 本文选题具有一定的可读性. 文章理应做到详略有序、突出重点、概念讲清、机制讲深, 提高学术价值.

2006; 27: 1334-1340 [PMID: 16501253]

26 Chen JS, Li HS, Huang JQ, Zhang LJ, Chen XL, Wang Q, Lei J, Feng JT, Liu Q, Huang XH. Down-regulation of Gli-1 inhibits hepatocellular carcinoma cell migration and invasion. *Mol Cell Biochem* 2014; 393: 283-291 [PMID: 24792036 DOI: 10.1007/s11010-014-2071-x]

27 Xu Y, Chenna V, Hu C, Sun HX, Khan M, Bai H, Yang XR, Zhu QF, Sun YF, Maitra A, Fan J, Anders RA. Polymeric nanoparticle-encapsulated hedgehog pathway inhibitor HPI-1 (NanoHHI) inhibits systemic metastases in an orthotopic model of human hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 1291-1302 [PMID: 21868763 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0950]

28 Lessard J, Sauvageau G. Bmi-1 determines the proliferative capacity of normal and leukaemic stem cells. *Nature* 2003; 423: 255-260 [PMID: 12714970]

29 Li X, Yang Z, Song W, Zhou L, Li Q, Tao K, Zhou J, Wang X, Zheng Z, You N, Dou K, Li H. Overexpression of Bmi-1 contributes to the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma by increasing the expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9 and vascular endothelial growth factor via the PTEN/PI3K/Akt pathway. *Int J Oncol* 2013; 43: 793-802 [PMID: 23807724 DOI: 10.3892/ijo.2013.1992]

30 郑丹, 刘彬彬, 刘银坤. 肿瘤表观遗传学研究进展. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2631-2637

31 Belinsky SA, Nikula KJ, Baylin SB, Issa JP. Increased cytosine DNA-methyltransferase activity is target-cell-specific and an early event in lung cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 4045-4050 [PMID: 8633014]

32 Wang XQ, Ng RK, Ming X, Zhang W, Chen L, Chu AC, Pang R, Lo CM, Tsao SW, Liu X, Poon RT, Fan ST. Epigenetic regulation of pluripotent genes mediates stem cell features in human hepatocellular carcinoma and cancer cell lines. *PLoS One* 2013; 8: e72435 [PMID: 24023739 DOI: 10.1371/journal.pone.0072435]

33 Hao C, Zhu PX, Yang X, Han ZP, Jiang JH, Zong C, Zhang XG, Liu WT, Zhao QD, Fan TT, Zhang L, Wei LX. Overexpression of SIRT1 promotes metastasis through epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer* 2014; 14: 978 [PMID: 25522783 DOI: 10.1186/1471-2407-14-978]

34 刘丽梅. 去乙酰化酶SIRT1在肝癌干细胞自我更新中的作用及其机制研究. 重庆: 第三军医大学, 2013

35 Liu C, Liu L, Shan J, Shen J, Xu Y, Zhang Q, Yang Z, Wu L, Xia F, Bie P, Cui Y, Zhang X, Bian X, Qian C. Histone deacetylase 3 participates in self-renewal of liver cancer stem cells through histone modification. *Cancer Lett* 2013; 339: 60-69 [PMID: 23879963 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.07.022]

36 Hung CH, Chiu YC, Chen CH, Hu TH. MicroRNAs in hepatocellular carcinoma: carcinogenesis, progression, and therapeutic target. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 486407 [PMID: 24800233 DOI: 10.1155/2014/486407]

37 漆仲春. MiRNA在肝癌干细胞和肝癌细胞中差异表达谱的研究. 泸州: 泸州医学院, 2013

38 Shore EM, Xu M, Feldman GJ, Fenstermacher DA, Cho TJ, Choi IH, Connor JM, Delai P, Glaser DL, LeMerrer M, Morhart R, Rogers JG, Smith R, Triffitt JT, Urtizberea JA, Zasloff M, Brown MA, Kaplan FS. A recurrent mutation in the BMP type I receptor ACVR1 causes inherited and sporadic fibrodysplasia ossificans progressiva. *Nat Genet* 2006; 38: 525-527 [PMID: 16642017]

39 Zhang J, Luo N, Luo Y, Peng Z, Zhang T, Li S. microRNA-150 inhibits human CD133-positive liver cancer stem cells through negative regulation of the transcription factor c-Myb. *Int J Oncol* 2012; 40: 747-756 [PMID: 22025269 DOI: 10.3892/ijo.2011.1242]

40 Liu F, Kong X, Lv L, Gao J. TGF-β1 acts through miR-155 to down-regulate TP53INP1 in promoting epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotypes. *Cancer Lett* 2015; 359: 288-298 [PMID: 25633840 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.01.030]

41 Oishi N, Yamashita T, Kaneko S. Molecular biology of liver cancer stem cells. *Liver Cancer* 2014; 3: 71-84 [PMID: 24944998 DOI: 10.1159/000343863]

42 Wang J, Lei ZJ, Guo Y, Wang T, Qin ZY, Xiao HL, Fan LL, Chen DF, Bian XW, Liu J, Wang B. miRNA-regulated delivery of lincRNA-p21 suppresses β-catenin signaling and tumorigenicity of colorectal cancer stem cells. *Oncotarget* 2015; 6: 37852-37870 [PMID: 26497997 DOI: 10.18632/oncotarget.5635]

43 Zhu X, Wang W, Zhang X, Bai J, Chen G, Li L, Li M. All-Trans Retinoic Acid-Induced Deficiency of the Wnt/β-Catenin Pathway Enhances Hepatic Carcinoma Stem Cell Differentiation. *PLoS One* 2015; 10: e0143255 [PMID: 26571119 DOI: 10.1371/journal.pone.0143255]

44 Ma S, Lee TK, Zheng BJ, Chan KW, Guan XY. CD133+ HCC cancer stem cells confer chemoresistance by preferential expression of the Akt/PKB survival pathway. *Oncogene* 2008; 27: 1749-1758 [PMID: 17891174]

45 Zhao J, Liu L, Wan Y, Zhang Y, Zhuang Q, Zhong X, Hong Z, Peng J. Inhibition of Hepatocellular Carcinoma by Total Alkaloids of Rubus alceifolius Poir Involves Suppression of Hedgehog Signaling. *Integr Cancer Ther* 2015; 14: 394-401 [PMID: 25917815 DOI: 10.1177/1534735415583553]

46 Chen WC, Chang YS, Hsu HP, Yen MC, Huang HL, Cho CY, Wang CY, Weng TY, Lai PT, Chen CS, Lin YJ, Lai MD. Therapeutics targeting CD90-integrin-AMPK-CD133 signal axis in liver cancer. *Oncotarget* 2015; 6: 42923-42937 [PMID: 26556861 DOI: 10.18632/oncotarget.5976]

47 Hou YL, Chen XY, Duan LQ, Tang M, Kang QQ, Shu J, Li SL. Inhibitory effect of ~(131)I-labeled anti-CD133 ScFv on CD133~ human hepatocellular carcinoma cells. *Chin J Cancer Biother* 2014; 21: 7-13

48 Li J, Chen JN, Zeng TT, He F, Chen SP, Ma S, Bi J, Zhu XF, Guan XY. CD133+ liver cancer stem cells resist interferon-gamma-induced autophagy. *BMC Cancer* 2016; 16: 15 [PMID: 26758620 DOI: 10.1186/s12885-016-2050-6]

49 Yan-Chun L, Hong-Mei Y, Zhi-Hong C, Qing H, Yan-Hong Z, Ji-Fang W. MicroRNA-192-5p Promote the Proliferation and Metastasis of Hepatocellular Carcinoma Cell by Targeting SEMA3A. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2015 Nov 17. *[Epub ahead of print]* [PMID: 26580097]

50 Kim JB, Lee M, Park SY, Lee S, Kim HR, Lee HS, Yoon JH, Kim YJ. Sorafenib inhibits cancer side population cells by targeting c-Jun N-terminal kinase signaling. *Mol Med Rep* 2015; 12: 8247-8252 [PMID: 26460271 DOI: 10.3892/mmr.2015.4422]
51 Zheng YW, Tsuchida T, Shimao T, Li B, Takebe T, Zhang RR, Sakurai Y, Ueno Y, Sekine K, Ishibashi N, Imajima M, Tanaka T, Taniguchi H. The CD133+CD44+ precancerous subpopulation of oval cells is a therapeutic target for hepatocellular carcinoma. *Stem Cells Dev* 2014; 23: 2237-2249 [PMID: 24804872 DOI: 10.1089/scd.2013.0577]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服*po*, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或$T_{\frac{1}{2}}$, *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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1206

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1206-1212
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

文献综述 REVIEW

胰腺导管腺癌的治疗进展

段睿男, 钟翔宇, 崔云甫

背景资料
胰腺导管腺癌是一种恶性程度极高的消化系恶性肿瘤. 其发病隐匿, 进展迅速, 治疗效果及预后极差, 被称为"癌中之王". 外科手术切除是目前唯一有效的治疗方法, 但效果仍不甚理想. 因此选择合理的综合治疗手段以改善其预后成为胰腺外科医生共同追求的目标.

段睿男, 钟翔宇, 崔云甫, 哈尔滨医科大学附属第二医院胆胰外科 黑龙江省哈尔滨市 150086

段睿男, 主要从事胰腺癌的临床和基础研究.

黑龙江省科技攻关基金资助项目, No. GC12C304-1

作者贡献分布: 本文综述由段睿男完成; 钟翔宇负责收集文献; 崔云甫审校.

通讯作者: 崔云甫, 教授, 主任医师, 博士生导师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨市医科大学附属第二医院胆胰外科. yfcui777@hotmail.com
电话: 0451-86605113

收稿日期: 2016-01-07
修回日期: 2016-01-26
接受日期: 2016-02-02
在线出版日期: 2016-03-18

Progress in treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma

Rui-Nan Duan, Xiang-Yu Zhong, Yun-Fu Cui

Rui-Nan Duan, Xiang-Yu Zhong, Yun-Fu Cui, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Major Scientific and Technological Project of Heilongjiang Province, No. GC12C304-1

Correspondence to: Yun-Fu Cui, Professor, Chief Physician, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. yfcui777@hotmail.com

Received: 2016-01-07
Revised: 2016-01-26
Accepted: 2016-02-02
Published online: 2016-03-18

同行评议者
郭林泉, 教授, 主任医师, 南昌大学第二附属医院肝胆外科

Abstract

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is a malignant tumor of the digestive system with a high degree of malignancy, accounting for about 90% of cases of pancreatic cancer. It has an occult onset and progresses rapidly, with a poor treatment effect and prognosis. It is one of malignant tumors with the worst prognosis. Surgical resection, as the only effective treatment, can be performed in only 20%-30% of patients, and the average period of survival after surgery is still less than 2 years. The main treatment strategy for PDAC are surgery-based individualized treatment modalities under comprehensive multidisciplinary collaboration. Currently, the therapeutic effect on pancreatic cancer is still not satisfactory. In recent years, various treatments for PDAC is becoming a hot spot of research. This article reviews the progress in the treatment of PDAC in terms of radical surgery, palliative surgery, adjuvant therapy, and other treatment opinions.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pancreas; Pancreatic ductal adenocarcinoma; Treatment

Duan RN, Zhong XY, Cui YF. Progress in treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1206-1212 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1206.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1206

摘要

胰腺导管腺癌是一种恶性程度极高的消化

系恶性肿瘤, 约占胰腺癌发病率的90%. 其发病隐匿, 进展迅速, 治疗效果及预后极差, 是预后最差的恶性肿瘤之一. 外科手术切除, 是目前唯一有效的治疗方法, 但遗憾的是, 很多患者发现时已是晚期, 仅有20%-30%的患者有手术切除的机会, 且手术后的平均存活期仍不足2年. 目前针对胰腺癌的各种治疗手段仍不甚理想. 对于胰腺导管腺癌的总体治疗策略应是以手术为核心、多学科综合协作下的、个体化治疗模式. 近年来胰腺导管腺癌的各种治疗手段成为研究的热点, 本文就其根治性手术、姑息性手术、介入治疗、辅助治疗等治疗方案的进展作一综述.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胰腺; 胰腺导管腺癌; 治疗

核心提示: 胰腺导管腺癌发病隐匿, 预后差, 死亡率高, 以手术为中心的多学科综合的个体化治疗是其主要的治疗方法, 本文归纳了其手术治疗、介入治疗、姑息治疗等方面最新进展及临床探索结果, 对于临床和研究有重要价值.

段睿男, 钟翔宇, 崔云甫. 胰腺导管腺癌的治疗进展. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1206-1212 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1206.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1206

0 引言

在胰腺恶性肿瘤中, 胰腺导管腺癌占90%以上. 而其恶性程度远高于其他10%如黏液性囊腺癌和腺泡细胞癌. 胰腺导管腺癌的致死率在男性居于第8位, 在女性居于第9位, 其5年生存率不足5%, 是预后最差的恶性肿瘤之一, 被称为医学的最顽固堡垒之一[1,2]. 胰腺癌就部位上可分为胰头癌、胰体尾部癌, 也有全胰癌, 约70%-80%的癌肿出现在胰头部. 由于胰腺导管腺癌早期缺乏特异性症状, 常见的首发症状为上腹部的疼痛不适, 少数患者可无明显症状. 且胰腺导管腺癌恶性程度很高, 常见淋巴结转移及癌浸润, 导致很多患者就诊时多已为胰腺癌晚期, 错过了手术时机. 有日本文献报道, 即使肿瘤能够彻底切除, 5年生存率也仅有10%-20%[3]. 近年来, 随着影像学诊断技术、手术技术的不断发展, 如何早期诊断胰腺导管腺癌, 提高手术切除率, 进而改善患者的生存时间及生存质量, 成为临床胰腺外科医生不断挑战的难题. 作为临床治疗难度最大的肿瘤, 单一学科治疗无法满足胰腺癌患者整个治疗阶段的需求, 而多学科综合治疗协作组(Multi-disciplinary Team, MDT)[4]则可通过多学科的会诊, 制定最合理的个体化治疗方案解决这一问题. 本文就胰腺导管腺癌根治性手术, 姑息性手术, 介入治疗, 其他辅助治疗等治疗方案的进展作一综述.

1 根治性手术治疗

根据癌肿在胰腺生长部位的不同, 将胰腺癌手术方式分为: Whipple手术、胰体尾部切除术、全胰切除术. 如何制定最佳的手术计划是外科医生需要仔细斟酌的问题, 而根治性切除(R_0)则是外科医生追寻的永恒目标.

1.1 胰十二指肠切除术 1935年, Whipple等[5]描述的胰十二指肠切除术(pancreaticoduodenectomy, PD)目前仍然是胰头癌的标准术式. 随着近80年技术的创新, 围手术期死亡率及术后并发症已显著下降. 但其术后远期生存率仍不能让人满意. 近年来PD改进的方向主要在于手术入路的改良、对于动静脉受侵的研究、淋巴结清扫范围的不同以及胰腺全系膜切除.

1.1.1 手术入路的改良: 动脉优先入路: 由于胰头癌肿瘤位置深在, 能否实现肿瘤的R_0切除主要取决于癌肿与重要血管之间的关系. 根据NCCN《2014胰腺癌诊疗指南》所示, 胰头癌累及肠系膜上静脉并非手术禁忌, 而肠系膜上动脉受侵则是无法行根治术的指征. 采用动脉优先入路的方法可以在手术进入不可逆转步骤之前判断肿瘤是否可切除, 以便及时终止手术, 避免不必要的R_2切除, 同时早期辨识是否存在变异肝动脉, 避免其损伤. 因此"动脉优先入路"成为PD的重要理念[6,7]. 目前主要的PD动脉优先入路包括: (1)上方入路; (2)右后入路; (3)钩突入路; (4)肠系膜入路[8,9]; (5)左后方入路; (6)前方入路. 各入路的目的均为先行显露SMA、腹腔干及其分支, 判断其是否受累, 但没有一种入路适用于所有情况, 因而需要依照不同情况选择入路, 或者多入路联合应用, 这样才能体现出动脉优先入路的优势.

1.1.2 对于动静脉受侵的相关研究: 自1951年, Moore等[10]率先报道了联合静脉血管重建的胰十二指肠切除术, 大大提高了胰腺癌的手术切除率. 有众多报道[11-14]证实联合门静脉、肠系

研发前沿

目前临床上对胰腺导管腺癌的治疗效果仍不满意, 研究目前主要围绕着胰十二指肠切除术(pancreaticoduodenectomy, PD)以及胰腺体尾部切除术的改进以尽可能实现R_0切除, 达到最佳的根治效果和预后; 新辅助治疗的实施也为R_0切除的实现提供了新的助力, 具有广阔的研究价值; 化疗、免疫治疗、中医药、疼痛治疗等相结合的综合治疗也是现阶段研究的热点问题.

相关报道
国内外研究结果显示: 胰腺导管腺癌恶性程度极高, 术后易发生原位复发及远处转移, 达到R_0切除后5年生存率仅为10%-20%, 值得鼓舞的是随着手术技术的改良, 各类辅助治疗的不断发展, 有很多的患者从不可切除的胰腺癌中分离出来, 获得手术治疗.

膜上静脉切除重建的胰十二指肠切除术能够让患者获得更大的生存收益, 同时并发症发生率和死亡率没有提高. 因此有观点认为仅静脉受侵, 可以作为胰腺癌患者行PD的适应证. 对于动脉受侵则被认为仍是PD的禁忌证, 而随着手术技术的提高, 近期有国际胰腺外科研究学组研究提示行联合动静脉切除的PD术, 术后并发症平均发生率达53.6%, 平均死亡率达1.8%, 并且与仅联合静脉切除的患者对比, 并未获得生存收益[15]. 然而对比未行手术治疗的患者, 行联合动脉切除的PD的患者获得约1年的生存收益. 因此对于影像学发现动脉受侵的患者, 术中应行相应探查, 具体评估是否可行联合动脉切除的PD. 有观点认为对于一些肿瘤分化较好, 肿瘤仅局限于局部浸润, 在能保证手术安全的前提下, 可以考虑联合SMA切除, 不应轻易放弃手术治疗[16].

1.1.3 根据淋巴结清扫范围的不同: 胰腺癌术后高复发率提示原发灶周围有癌组织残留, 而扩大PD淋巴结清扫范围理论上有助于清除可能受侵的淋巴结、神经和软组织, 从而尽可能达到R_0切除的目的. 然而目前源于欧洲、美国及日本的临床随机对照研究普遍提示扩大PD淋巴结清扫范围并未改善患者预后[17,18]. Pedrazzoli等[19]于1999年规范了胰头癌的3种术式, 分别称为: 标准胰十二指肠切除术(standard pancreatoduodenectomy, SPD), 根治性胰十二指肠切除术(radical pancreatoduodenectomy, RPD)以及扩大根治性胰十二指肠切除术(extended radical pancreatoduodenectomy, ERPD). SPD一般清除胰头十二指肠区的相关各组淋巴结; RPD需清除12、8、9、14、13、17、16a2、16b1组淋巴结以及胰头后方Gerota筋膜; ERPD则是在RPD基础上清扫整个第16组淋巴结. 随着手术技巧以及围手术期处理的日益完善, RPD并发症发生率和死亡率已大大降低, 有研究[20]认为对于可切除和可能切除的胰腺癌患者, 在全身状况耐受的基础上, 应积极开展RPD. 吴向嵩等[21]认为清扫淋巴结得到的病理结果有助于更加准确的判断患者预后, 为进一步后续治疗提供依据, 但对于其能否改善预后, 仍需要进一步验证. 对于ERPD, 多数学者认为16组淋巴结转移可视为远处转移, 已无手术指征. 但亦有报道[22]称仅16b1淋巴结转移者, 清扫后可获得生存获益. 目前对于胰腺癌PD术淋巴结清扫范围仍无统一定论, 目前共识多以日本胰腺协会(JPS)2003年版的淋巴结分组为依据, 建议清扫至第2站淋巴结, 包括肝十二指肠韧带、腹腔干右侧及肝动脉周围、肠系膜上动脉右侧及胰十二指肠前、后淋巴结.

1.1.4 胰腺全系膜切除(total mesopancreas excision, TMpE): 胰腺系膜是指由胰腺头颈及钩突延伸至主动脉-腔静脉沟的后腹膜疏松结缔组织. Adham等[23]首先报道了标准化的TMpE, 并提出了“胰腺系膜三角”(mesopancreas triangle)的概念以界定TMpE的切除范围. “胰腺系膜三角”是以SMV、门静脉后方为底, 顶边位于CT、SMA起始部之间的腹主动脉前方的倒三角锥区域. 随着术式的改进, 国内学者将胰腺系膜以胰头及钩突为界分为前部和后部. 其中涉及后腹膜切缘的胰腺系膜后部范围, 以肠系膜下动脉起始水平为胰腺系膜后部下界, CT起始处上方2 cm为上界, 左侧生殖静脉作为左侧后界, 肠系膜下静脉作为左侧前界. 以此为标准的胰头癌全系膜切除术R_0切除率为70.7%[24]. 因此TMpE的实施以尽可能减少镜下残留为理念, 以期为胰头癌患者带来潜在的生存期获益[25,26]. 虽然由于该术式安全性、有效性报道较少, 缺乏长期生存分析, 但其地位和价值仍需进一步研究.

1.2 胰腺体尾部切除术 胰体尾部癌临床表现较胰头癌隐蔽, 多数患者诊断时已是晚期, 其根治切除率较胰头癌更低. 传统手术方式采用的是自左向右, 先游离脾脏, 再游离胰腺尾部, 最后切断胰腺, 达到病变切除的目的, 然而其并不符合肿瘤的“No Touch”根治性切除原则. 2003年Strasberg等[27]提出的根治性顺行整体胰腺体尾脾切除术(radical antegrade modular pancreatosplanectomy, RAMPS)有望成为胰腺体尾部癌标准术式[28]. RAMPS手术采用自右至左的方法, 首先切断胰腺颈部, 根部结扎切断脾动静脉, 清除腹腔干(N_9)和肠系膜上动脉左侧淋巴结(N_{14}), 然后沿左肾静脉表面向左完整切除包含胰腺体尾部、脾脏和左侧肾前筋膜在内的整块组织. RAMPS手术其目的在于按照肿瘤根治切除的原则, 力求切缘阴性并清除所有N_1淋巴结, 从而改善患者预后. Strasberg等[29]近期报道了1999/2008年47例RAMPS患者, R_0切除率达81%, 中位生存时间为26 mo, 5年生存率达35.5%.

1.3 全胰切除 由于过去PD围手术期死亡率高, 全胰切除一度成为胰腺癌首选术式. 相比PD, 全胰切除避免了胰肠吻合造成的并发症, 同时也算是更彻底的根治手术. 但全胰切除最大的缺陷是代谢情况的恶化, 糖类、脂类代谢严重紊乱, 从而导致患者生活质量的下降, 这也是其最终未能成为胰腺癌标准术式的主要原因. 然而最新的研究表明[30], 随着围手术期管理水平的增强, 全胰切除术后内外分泌功能不足问题逐渐被克服. 相比保留部分胰腺的手术, 没有术后胰瘘、吻合口出血等风险, 安全性更高; 同时手术的难易程度大大降低, 可以在更多的医疗机构内完成.

2 姑息性手术

姑息性手术的目的在于解除晚期癌肿造成的胆道梗阻和消化道梗阻, 尽可能延长患者生存时间, 提高生活质量. 目前通过手术手段解除胆道梗阻的术式包括胆管十二指肠吻合术、胆囊空肠吻合术、胆管空肠吻合术. 因前二者术后效果差, 并发症多, 目前主要术式为胆管空肠Roux-en-Y吻合术. 消化道梗阻多见于胰头癌终末期患者, 癌肿不仅压迫胆道, 而且侵犯胃远端及十二指肠, 造成上消化道梗阻, 营养不足. 目前解除消化道梗阻的主要手术方式为胃空肠吻合术. 有观点认为即便患者尚不存在消化道梗阻症状, 在行胆肠吻合术时, 可考虑外加预防性胃空肠吻合术[31].

3 介入治疗

主要适用于全身状况差, 无法行姑息性手术的晚期胰腺癌患者.

3.1 胆道梗阻 当胰头癌无法手术切除时, 患者更倾向于通过非手术治疗梗阻性黄疸. 在B超、CT或MR引导下行经皮肝胆道外引流术(percutaneous transhepatic biliary drainage, PTBD), 能使肝内淤积胆汁通过引流管引出体外, 其优势在于操作简单、费用低廉、患者打击小, 但机体大量丢失胆汁可引起电解质紊乱, 消化功能不良. 而内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)胆道支架内引流术可使胆汁引入肠道, 避免丢失. 最早运用的塑料支架成本较低, 但其易发生胆管梗阻及支架脱失. 随着技术的发展, 自扩张金属支架(self-expandable metal stent, SEMS)已逐渐取代其地位[32]. 其优势在于本身网状结构, 可延长胆管再梗阻时间. 缺点在于由于自扩张结构, 支架难以取出, 成本较高. ^{125}I粒子能够持续发出低能量短距离γ射线对肿瘤组织起到杀伤作用, 已有文献报道[33,34]应用^{125}I植入的放射性支架对于胰头癌治疗有明显改善, 但其确切疗效还需进一步研究证实.

3.2 消化道梗阻 对于胰腺癌合并重度消化道梗阻的患者, 除手术治疗外, 内镜下放置胃肠道SEMS成为较理想的微创治疗手段[35]. 相比手术治疗, 恢复进食时间、住院时间均明显缩短. 然而支架术后风险, 如支架脱位, 消化道出血、穿孔等仍是该技术亟待解决的问题.

4 辅助治疗

胰腺癌的自然病程较短, 为了延长患者生存时间, 提高生活质量, 使之对于治疗建立信心, 辅助治疗起着不可忽视的作用.

4.1 术后辅助治疗 目前国内外学者均建议对于胰腺癌切除术后应行辅助治疗[36,37]. 有文献报道[38]选择性消耗细胞基质同时联合纳米药物传输可能成为胰腺导管腺癌化疗的新方向, 其具体疗效还有待进一步研究. 而对于术后联合放化疗, 目前存在争议, NCCN《2015胰腺癌诊疗指南》建议, 给予局部放疗; 并建议持续应用5-氟尿嘧啶作为放射增敏剂; 放疗结束后予以足够疗程的规范化疗.

4.2 不可切除的胰腺癌辅助治疗 对于不可切除胰腺癌, 各国学者已达成共识[39], 认为化疗能减轻患者的症状、延长生存时间、提高生存质量, 主要的一线化疗药物多为吉西他滨、氟尿嘧啶类单药, 或者联合应用. 第十四届胃肠道肿瘤大会提出了Folfirinox化疗方案(5-氟尿嘧啶、亚叶酸钙、伊立替康和奥沙利铂)在改善生存时间及总体生存率上优于吉西他滨, 但由于其不良反应同样较吉西他滨更强, 只适用于身体状态较好的患者[40]. 对于不可切除的胰腺癌患者同步放化疗, 有研究报道认为同步放化疗或诱导化疗有效后再行放疗可改善患者症状, 并延长生存时间[41].

4.3 新辅助治疗(neoadjuvant therapy, NT) 对于可能切除的胰腺癌患者, 直接行手术治疗, R_1或R_2切除风险较高. 因此国内外大多开始推荐行新辅助治疗, 即通过术前全身化疗和或局部

创新盘点

本文对胰腺导管腺癌的治疗进展进行了综述, 其中PD术中动脉优先入路理念、胰腺全系膜切除理念是近年热议的话题, 如何提高R_0切除率成为研究的热点. 对于临界可切除肿瘤, 新辅助治疗为医疗工作者提供了新的探索方向, 其他辅助治疗对于胰腺导管腺癌患者延长生存期、提高生存质量的作用也不可忽视.

应用要点
通过整理近年来胰腺导管腺癌的治疗方法, 为提高临床对于胰腺导管腺癌的治疗水平提供了一定的理论指导, 重点讨论了手术治疗的几个焦点问题以及新辅助治疗对于胰腺导管腺癌的作用, 方便一线医务工作者全面了解胰腺癌治疗方面的进展.

放疗, 以减小肿瘤负荷实现降期治疗, 从而提高R_0切除率, 延长生存时间[42-45]. 新辅助治疗的优势[46]在于: (1)减小瘤体或使肿瘤降期, 增加阴性切缘概率; (2)新辅助治疗期间评估肿瘤的生物学行为, 如出现远处转移或肿瘤局部进展, 则不选择手术治疗, 此部分患者即使直接手术, 因生物学行为恶劣, 亦难以获益; (3)术后患者如有手术并发症, 相当长时间内不能实施化疗, 而术前患者多有较好的药物耐受性; (4)手术可使术野内解剖结构改变, 破坏血管供应, 局部氧浓度下降, 影响到术后放化疗的敏感性, 使效力下降, 而术前进行可避免上述不足; (5)及早控制潜在的微转移灶. 目前新辅助化疗主要包括吉西他滨和叶酸钙为基础的两种化疗方案. Nitsche等[47]报道了14例应用FOLFIRINOX化疗方案的不可切除的局部进展期胰腺癌患者, 在平均7个周期的化疗过程中, 有4例患者达到了能够手术切除的标准. 虽然有研究认为新辅助放化疗存在诸多问题, 并且缺乏高等级的循证医学证据, 但对于可能切除的胰腺癌仍推荐先行新辅助治疗为宜, 其发展前景十分可观.

4.4 *免疫治疗* 随着近年来生物治疗的逐渐发展, 对于胰腺癌的免疫治疗也逐步发展起来. 近期Seicean等[48]报道了一种被动免疫疗法, 通过单克隆抗体与肿瘤相关目标蛋白结合, 激活人体自身防御机制, 攻击并消灭被标记的B细胞. 除此之外免疫治疗还包括主动免疫治疗(全细胞疫苗、多肽疫苗、DNA疫苗、DC疫苗、重组疫苗等)、细胞因子、免疫调节剂等, 但目前尚缺乏有效评价肿瘤免疫治疗效果的机制. 树突状细胞(dendritic cells, DC)是目前发现的功能最强的专职抗原递呈细胞, 能有效将肿瘤抗原递呈给T细胞, 起到清除肿瘤的目的. 有实验研究报道[49]: DC瘤苗联合吉西他滨治疗晚期胰腺癌, 能有效预防肿瘤局部复发及转移.

4.5 *中医治疗* 中药具有悠久的历史, 由于其具有整体调节、审证论治、标本兼顾、因势利导等特点, 可从多方面、多环节、多靶点综合调整人体阴阳平衡、驱邪补正, 从而达到治疗效果. 针对胰腺癌中医的辩证施治能使部分患者病情缓解、生活质量提高. 有报道称以健脾为基础的中医药治疗可提高中晚期胰腺癌患者总生存期, 甚至亦可用于肝肾功能不全, 骨髓抑制的患者[50].

4.6 *疼痛治疗* 尽管黄疸、消化道梗阻和体质量减轻都是众多文献中描述的胰腺癌症状, 但是胰腺癌最常见的症状还是疼痛. 对于不可切除的胰腺癌患者, 疼痛会导致患者持续的消极情绪, 甚至抑郁, 从而放弃与疾病的抗争, 因此疼痛的治疗是十分必要的. 其治疗方式有两种, 一是药物镇痛, 采用WHO 1982年制定的三阶梯镇痛方案, 即第一步妥善的营养支持, 必要时应用对乙酰氨基酚; 第二步用于对乙酰氨基酚不足以消除疼痛时, 应联合应用NSAID类药物, 必要时还可以选用可待因和其他非阿片类药物; 第三步则是阿片类药物, 如吗啡等的使用. 另一种是神经损毁术, 已由传统开腹腹腔神经丛损毁术, 发展到目前的超生内镜引导下腹腔神经神损毁术(EUS-CPN), 对于晚期胰腺癌的疼痛疗效显著[51].

5 结论

胰腺导管腺癌对于患者乃至整个家庭都是一个巨大的打击. 对于胰腺癌的总体治疗策略应是以手术为核心、多学科综合协作下的、个体化治疗模式. 对于可行根治性手术的患者如何提高R_0切除率, 同时对于不可切除的患者, 如何选择合理的治疗方式, 使其拥有更好的姿态对抗病魔的打击, 是我们需要认真思考和努力研究的方向.

6 参考文献

1 张太平, 王天笑, 赵玉沛. 胰腺癌诊断和治疗的瓶颈与对策. 中华消化外科杂志 2012; 11: 41-44
2 赵玉沛. 再谈胰腺癌诊治的现状与未来. 中华外科杂志 2014; 52: 641-643
3 Yokoyama Y, Nimura Y, Nagino M. Advances in the treatment of pancreatic cancer: limitations of surgery and evaluation of new therapeutic strategies. *Surg Today* 2009; 39: 466-475 [PMID: 19468801 DOI: 10.1007/s00595-008-3904-6]
4 中华医学会肿瘤学分会胰腺癌学组(筹). 胰腺癌多学科综合治疗协作组专家共识. 中华肿瘤杂志 2013; 35: 398-400
5 Whipple AO, Parsons WB, Mullins CR. Treatment of carcinoma of the ampulla of vater. *Ann Surg* 1935; 102: 763-779 [PMID: 17856666]
6 Pessaux P, Varma D, Arnaud JP. Pancreatico-duodenectomy: superior mesenteric artery first approach. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 607-611 [PMID: 16627229 DOI: 10.1016/j.gassur.2005.05.001]
7 Sanjay P, Takaori K, Govil S, Shrikhande SV, Windsor JA. 'Artery-first' approaches to pancreatoduodenectomy. *Br J Surg* 2012; 99: 1027-1035 [PMID: 22569924 DOI: 10.1002/bjs.8763]
8 崔云甫, 王志东, 钟翔宇, 康鹏程. 经肠系膜入路的胰十二指肠根治性切除术. 中华消化外科杂志 2013;

12: 608-611
9 李春龙, 王志东, 崔云甫, 徐艺, 万明. 经肠系膜入路治疗十二指肠间质瘤. 中华消化外科杂志 2015; 14: 238-241
10 Moore GE, Sako Y, Thomas LB. Radical pancreatoduodenectomy with resection and reanastomosis of the superior mesenteric vein. *Surgery* 1951; 30: 550-553 [PMID: 14866700]
11 Murakami Y, Satoi S, Motoi F, Sho M, Kawai M, Matsumoto I, Honda G. Portal or superior mesenteric vein resection in pancreatoduodenectomy for pancreatic head carcinoma. *Br J Surg* 2015; 102: 837-846 [PMID: 25877050 DOI: 10.1002/bjs.9799]
12 陈耿, 王槐志, 别平. 联合门静脉和肠系膜上静脉切除重建的胰十二指肠切除术. 中华消化外科杂志 2012; 11: 351-354
13 Poon RT, Fan ST, Lo CM, Liu CL, Lam CM, Yuen WK, Yeung C, Wong J. Pancreaticoduodenectomy with en bloc portal vein resection for pancreatic carcinoma with suspected portal vein involvement. *World J Surg* 2004; 28: 602-608 [PMID: 15366753 DOI: 10.1007/s00268-004-7250-6]
14 Chua TC, Saxena A. Extended pancreaticoduodenectomy with vascular resection for pancreatic cancer: a systematic review. *J Gastrointest Surg* 2010; 14: 1442-1452 [PMID: 20379794 DOI: 10.1007/s11605-009-1129-7]
15 Bockhorn M, Uzunoglu FG, Adham M, Imrie C, Milicevic M, Sandberg AA, Asbun HJ, Bassi C, Büchler M, Charnley RM, Conlon K, Cruz LF, Dervenis C, Fingerhutt A, Friess H, Gouma DJ, Hartwig W, Lillemoe KD, Montorsi M, Neoptolemos JP, Shrikhande SV, Takaori K, Traverso W, Vashist YK, Vollmer C, Yeo CJ, Izbicki JR. Borderline resectable pancreatic cancer: a consensus statement by the International Study Group of Pancreatic Surgery (ISGPS). *Surgery* 2014; 155: 977-988 [PMID: 24856119 DOI: 10.1016/j.surg.2014.02.001]
16 Martin RC, Scoggins CR, Egnatashvili V, Staley CA, McMasters KM, Kooby DA. Arterial and venous resection for pancreatic adenocarcinoma: operative and long-term outcomes. *Arch Surg* 2009; 144: 154-159 [PMID: 19221327 DOI: 10.1001/archsurg.2008.547]
17 Farnell MB, Aranha GV, Nimura Y, Michelassi F. The role of extended lymphadenectomy for adenocarcinoma of the head of the pancreas: strength of the evidence. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 651-656 [PMID: 18085343 DOI: 10.1007/s11605-007-0451-1]
18 Nimura Y, Nagino M, Takao S, Takada T, Miyazaki K, Kawarada Y, Miyagawa S, Yamaguchi A, Ishiyama S, Takeda Y, Sakoda K, Kinoshita T, Yasui K, Shimada H, Katoh H. Standard versus extended lymphadenectomy in radical pancreatoduodenectomy for ductal adenocarcinoma of the head of the pancreas: long-term results of a Japanese multicenter randomized controlled trial. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012; 19: 230-241 [PMID: 22038501 DOI: 10.1007/s00534-011-0466-6]
19 Pedrazzoli S, Beger HG, Obertop H, Andrén-Sandberg A, Fernández-Cruz L, Henne-Bruns D, Lüttges J, Neoptolemos JP. A surgical and pathological based classification of resective treatment of pancreatic cancer. Summary of an international workshop on surgical procedures in pancreatic cancer. *Dig Surg* 1999; 16: 337-345 [PMID: 10449979 DOI: 10.1159/000018744]
20 朱峰, 秦仁义. 胰头癌行根治性胰十二指肠切除结清扫的范围和技巧. 外科理论与实践 2011; 16: 444-447
21 吴向嵩, 刘颖斌. 胰头癌区域淋巴结清扫的范围与理念. 中华消化外科杂志 2014; 13: 909-912
22 杨尹默. 胰腺癌外科治疗新进展. 中华消化外科杂志 2013; 12: 16-20
23 Adham M, Singhirunnusorn J. Surgical technique and results of total mesopancreas excision (TMpE) in pancreatic tumors. *Eur J Surg Oncol* 2012; 38: 340-345 [PMID: 22264964 DOI: 10.1016/j.ejso.2011.12.015]
24 蒋奎荣, 蔡宝宝, 苗毅. 胰腺全系膜切除在胰头癌行胰十二指肠切除术中的应用及意义. 肝胆外科杂志 2014; 22: 12-14
25 Chowdappa R, Challa VR. Mesopancreas in pancreatic cancer: where do we stand - review of literature. *Indian J Surg Oncol* 2015; 6: 69-74 [PMID: 25937767 DOI: 10.1007/s13193-014-0294-7]
26 Peparini N, Chirletti P. Mesopancreas: a boundless structure, namely R1 risk in pancreaticoduodenectomy for pancreatic head carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2013; 39: 1303-1308 [PMID: 24188796 DOI: 10.1016/j.ejso.2013.10.012]
27 Strasberg SM, Drebin JA, Linehan D. Radical antegrade modular pancreatosplenectomy. *Surgery* 2003; 133: 521-527 [PMID: 12773980 DOI: 10.1067/msy.2003.146]
28 王志东, 崔云甫. 胰腺体尾部癌外科治疗的几个焦点问题. 世界华人消化杂志 2015; 23: 2515-2522
29 Strasberg SM, Fields R. Left-sided pancreatic cancer: distal pancreatectomy and its variants: radical antegrade modular pancreatosplenectomy and distal pancreatectomy with celiac axis resection. *Cancer J* 2012; 18: 562-570 [PMID: 23187843 DOI: 10.1097/PPO.0b013e31827596c5]
30 Hartwig W, Gluth A, Hinz U, Bergmann F, Spronk PE, Hackert T, Werner J, Büchler MW. Total pancreatectomy for primary pancreatic neoplasms: renaissance of an unpopular operation. *Ann Surg* 2015; 261: 537-546 [PMID: 24979606 DOI: 10.1097/SLA.0000000000000791]
31 Stark A, Hines OJ. Endoscopic and operative palliation strategies for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Semin Oncol* 2015; 42: 163-176 [PMID: 25726060 DOI: 10.1053/j.seminoncol.2014.12.014]
32 van Delden OM, Laméris JS. Percutaneous drainage and stenting for palliation of malignant bile duct obstruction. *Eur Radiol* 2008; 18: 448-456 [PMID: 17960388 DOI: 10.1007/s00330-007-0796-6]
33 黄兢姚, 杨维竹, 江娜, 郑曲彬, 黄宁, 申权, 池桢. 经皮胆道支架联合支架内外粒子植入治疗胰头癌伴胆道梗阻. 临床放射学杂志 2015; 34: 629-633
34 Shinohara ET, Guo M, Mitra N, Metz JM. Brachytherapy in the treatment of cholangiocarcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 78: 722-728 [PMID: 20207503 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2009.08.070]
35 Sasaki T, Isayama H, Maetani I, Nakai Y, Kogure H, Kawakubo K, Mizuno S, Yagioka H, Matsubara S, Ito Y, Yamamoto N, Sasahira N, Hirano K, Tsujino T, Toda N, Tada M, Koike K. Japanese multicenter estimation of WallFlex duodenal stent for

名词解释

动脉优先入路：是指在PD手术早期阶段为了判断肿瘤能否切除和提高R_0切除率而采用的优先控制胰腺周围动脉的手术方法或理念；新辅助治疗：又称术前辅助治疗，包括新辅助放疗、新辅助化疗、新辅助放化疗等，其主要目的是通过新辅助治疗将原本不能切除的肿瘤降期缩小后进行切除，提高手术切除率.

同行评价

本文是一篇关于胰腺导管腺癌的治疗进展的综述, 全面的复习了近年大量文献并有条理地、有重点地阐述了该领域的新进展, 对临床医师全面了解这方面的进展具有积极作用.

unresectable malignant gastric outlet obstruction. *Dig Endosc* 2013; 25: 1-6 [PMID: 23286249 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2012.01319.x]

36 张太平, 曹喆, 赵玉沛. 胰腺癌的化疗与放疗. 中华消化外科杂志 2015; 14: 619-622

37 Moody JS, Sawrie SM, Kozak KR, Plastaras JP, Howard G, Bonner JA. Adjuvant radiotherapy for pancreatic cancer is associated with a survival benefit primarily in stage IIB patients. *J Gastroenterol* 2009; 44: 84-91 [PMID: 19159077 DOI: 10.1007/s00535-008-2280-8]

38 Bhaw-Luximon A, Jhurry D. New avenues for improving pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) treatment: Selective stroma depletion combined with nano drug delivery. *Cancer Lett* 2015; 369: 266-273 [PMID: 26415628 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.09.007]

39 Imaoka H, Kou T, Tanaka M, Egawa S, Mizuno N, Hijioka S, Hara K, Yazumi S, Shimizu Y, Yamao K. Clinical outcome of elderly patients with unresectable pancreatic cancer treated with gemcitabine plus S-1, S-1 alone, or gemcitabine alone: Subgroup analysis of a randomised phase III trial, GEST study. *Eur J Cancer* 2016; 54: 96-103 [PMID: 26741729 DOI: 10.1016/j.ejca.2015.11.002]

40 Rahma OE, Duffy A, Liewehr DJ, Steinberg SM, Greten TF. Second-line treatment in advanced pancreatic cancer: a comprehensive analysis of published clinical trials. *Ann Oncol* 2013; 24: 1972-1979 [PMID: 23670093 DOI: 10.1093/annonc/mdt166]

41 Hudson E, Hurt C, Mort D, Brewster AE, Iqbal N, Joseph G, Crosby TD, Mukherjee S. Induction chemotherapy followed by chemoradiation in locally advanced pancreatic cancer: an effective and well-tolerated treatment. *Clin Oncol* (R Coll Radiol) 2010; 22: 27-35 [PMID: 19896352 DOI: 10.1016/j.clon.2009.09.024]

42 曲凤智, 王刚, 孙备, 姜洪池. 临界可切除胰腺癌新辅助治疗的研究进展. 中华肝胆外科杂志 2015; 21: 206-209

43 Stokes JB, Nolan NJ, Stelow EB, Walters DM, Weiss GR, de Lange EE, Rich TA, Adams RB, Bauer TW. Preoperative capecitabine and concurrent radiation for borderline resectable pancreatic cancer. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 619-627 [PMID: 21213060 DOI: 10.1245/s10434-010-1456-7]

44 Patel M, Hoffe S, Malafa M, Hodul P, Klapman J, Centeno B, Kim J, Helm J, Valone T, Springett G. Neoadjuvant GTX chemotherapy and IMRT-based chemoradiation for borderline resectable pancreatic cancer. *J Surg Oncol* 2011; 104: 155-161 [PMID: 21520097 DOI: 10.1002/jso.21954]

45 Tang K, Lu W, Qin W, Wu Y. Neoadjuvant therapy for patients with borderline resectable pancreatic cancer: A systematic review and meta-analysis of response and resection percentages. *Pancreatology* 2016; 16: 28-37 [PMID: 26687001 DOI: 10.1016/j.pan.2015.11.007]

46 Goodman KA, Hajj C. Role of radiation therapy in the management of pancreatic cancer. *J Surg Oncol* 2013; 107: 86-96 [PMID: 22532174 DOI: 10.1002/jso.23137]

47 Nitsche U, Wenzel P, Siveke JT, Braren R, Holzapfel K, Schlitter AM, Stöß C, Kong B, Esposito I, Erkan M, Michalski CW, Friess H, Kleeff J. Resectability After First-Line FOLFIRINOX in Initially Unresectable Locally Advanced Pancreatic Cancer: A Single-Center Experience. *Ann Surg Oncol* 2015; 22 Suppl 3: 1212-1220 [PMID: 26350368 DOI: 10.1245/s10434-015-4851-2]

48 Seicean A, Petrusel L, Seicean R. New targeted therapies in pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 6127-6145 [PMID: 26034349 DOI: 10.3748/wjg.v21.i20.6127]

49 汪治宇, 王聪敏, 王娟. 树突状细胞瘤苗预防接种联合吉西他滨治疗可提高胰腺癌小鼠模型的生存率. 药品评价 2012; 9: 26-34

50 韩冰, 赵爱光, 赵刚, 杨金坤, 杨金祖, 高峰, 顾缨, 徐燕, 孙姗姗,吕仙梅. 健脾为基础中医药治疗对中晚期胰腺癌生存期影响的研究. 中国肿瘤 2011; 20: 213-218

51 徐蔚佳, 郝思介, 钟良. 腹腔神经丛毁损术用于胰腺癌镇痛的研究进展. 国际消化病杂志 2014; 34: 93-95

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1213

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1213-1219
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

文献综述 REVIEW

5–羟甲基胞嘧啶: 早期检测消化系肿瘤的新标志物?

张 荣, 林 辉

张荣, 林辉, 同济大学附属第十人民医院消化内科 上海市 200072

张荣, 主要从事消化系疾病的临床诊治.

上海市卫生和计划生育委员会科研基金资助项目, No. 201440477

作者贡献分布: 本文由张荣完成; 林辉负责审校.

通讯作者: 林辉, 副主任医师, 医学博士, 硕士生导师, 200072, 上海市闸北区延长中路301号, 同济大学附属第十人民医院消化内科. niliuh@163.com
电话: 021–36050414

收稿日期: 2015–12–20
修回日期: 2016–01–30
接受日期: 2016–02–18
在线出版日期: 2016–03–18

5-hydroxymethylcytosine: A new marker for early detection of digestive system tumors?

Rong Zhang, Hui Lin

Rong Zhang, Hui Lin, Department of Gastroenterology, the Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China

Supported by: Shanghai Health and Family Planning Commission Research Fund, No. 201440477

Correspondence to: Hui Lin, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, 301 Yanchang Middle Road, Zhabei District, Shanghai 200072, China. niliuh@163.com

Received: 2015-12-20
Revised: 2016-01-30
Accepted: 2016-02-18
Published online: 2016-03-18

Abstract

5-methylcytosine (5-mc) has been recognized as an important epigenetic modification in mammalian genomic DNA. Studies have revealed that TET (ten-eleven translocation) protein family could catalyze the conversion of 5-mc into 5-hydroxyme-thylcytosine (5-hmc), which is now widely recognized as the sixth base in the genome. Recent reports showed that the level of 5-hmc was decreased in digestive system tumors, indicating that 5-hmc may be a useful epigenetic biomarker for the early diagnosis of gastrointestinal tumors. To better understand the roles of TET and 5-hmc, this article will elucidate the function of TET protein and the connections between 5-hmc and digestive system tumors.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: 5-hydroxymethylcytosine; Ten-Eleven-Translocation protein; Digestive system tumors; Epigenetics

Zhang R, Lin H. 5-hydroxymethylcytosine: A new marker for early detection of digestive system tumors? Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1213-1219
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1213.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1213

摘要

哺乳动物基因组DNA上5-甲基胞嘧(5-methylcytosine, 5-mc)中是一种常见的表观遗传修饰. 随后的研究发现10-11易位蛋白(Ten-Eleven-Translocation protein, TET蛋白)家族可将5-mc氧化成5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5-hmc), 即基因组的第六碱基. 最近研究发现在消化系肿瘤中可发现5-hmc水平的降低, 提示5-hmc可能是一个早期检测消化系肿瘤的表观遗传标志

背景资料

世界卫生组织(World Health Organization, WHO)发布的《全球癌症报告2014》显示, 中国癌症的新增病例和死亡人数的绝对值依然位居世界首位, 其中以胃癌、大肠癌为代表的消化系肿瘤威胁最为显著. 近年来, 许多研究发现5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5-hmc)参与基因表达调控, 对早期预测消化系肿瘤具有重要意义, 因此探讨5-hmc与消化系肿瘤之间的关系显得尤为重要.

同行评议者

聂飚, 副主任医师, 北京清华长庚医院消化科; 董卫国, 教授, 武汉大学人民医院消化内科

研发前沿

近年来, 有许多研究提出了5-hmc与消化系肿瘤的发生有一定相关性, 但其具体机制未明. 因此需要不断地深入探讨5-hmc及其产物、TET蛋白与肿瘤之间的关系. 此外, 由于5-hmc在组织中的含量很低, 需要寻求更高效地检测5-hmc的检测方法.

物. 为了更好地了解5-hmc和TET的作用, 本文对TET蛋白的功能和5-hmc与消化系肿瘤的关系进行了如下阐述.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 5-羟甲基胞嘧啶; TET蛋白; 消化系肿瘤; 表观遗传

核心提示: 检测5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5-hmc)可了解致癌基因组去甲基化模式, 这可能有助于结直肠癌的早期诊断和预后判断. 因而5-hmc有望成为结直肠癌诊断和预后的重要标志物. 但结直肠癌组织中有无特异的低甲基化位点、去甲基化与转录表达的确切机制及对判断预后的机制还不清楚, 需要进一步的研究和探讨.

张荣, 林辉. 5-羟甲基胞嘧啶: 早期检测消化系肿瘤的新标志物? 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1213-1219 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1213.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1213

0 引言

近些年来, 癌症成为威胁人类健康的重要危险因素. 世界卫生组织(World Health Organization, WHO)发布的《全球癌症报告2014》[1]显示, 中国癌症的新增病例和死亡人数的绝对值依然位居世界首位. 其中以胃癌、大肠癌为代表的消化系肿瘤威胁最为显著, 因此早期高效地检测消化系肿瘤对患者的治疗和预后有至关重要的作用. 近年来有许多研究[2-4]表明, 5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5-hmc)可能是早期检测消化系肿瘤的重要表观遗传标志物.

1 5-hmc的发现

5-甲基胞嘧(5-methylcytosine, 5-mc)由DNA甲基转移酶(DNA methytransferase, DNMT)催化, 在基因组DNA序列CpG二核苷酸(CpG dinucleotides)的胞嘧啶5'碳位共价键结合一个甲基基团(methylgroup, -CH3)而形成, 被称为DNA的第5种碱基, 能调节基因活性. 5-甲基胞嘧啶与染色体构象不稳定、基因组印记、转座子激活、原癌基因激活和抑癌基因失活有关[5]. 随后, 研究者又在哺乳动物中发现了被称之为DNA第6种碱基的一种表观遗传学新修饰, 即5-hmc. 5-hmc是5-mc的羟基化形式, 于1952年在噬菌体DNA中被发现[6]. 同位素标记结果表明体内5-hmc的稳定性与细胞的增殖有关[7], 提示其具有潜在的参与基因表达调控的调节功能[8-10]. 同时, 研究[11-13]表明, 5-hmc水平的降低与肿瘤的发生有关, 故其可能成为早期预测肿瘤的重要表观遗传标志物. 近年来对5-hmc的研究逐渐增多, 也使得5-hmc成为表观遗传学领域的研究热点之一[14]. 5-hmc水平与相关基因转录活性及肿瘤发生的相关性还有待于进一步的研究与证实.

2 TET蛋白的功能及去甲基化机制

TET蛋白最初是由Tahiliani等[15]发现的. TET蛋白具有加氧酶结构域, 包括TET1、TET2和TET3家族成员, 三种蛋白都能催化5-mc羟基成5-hmc, 且TET1和TET2可调节大鼠胚胎干细胞中5-hmc的水平[16]. 近年来, 多项研究表明双加氧酶TET蛋白家族分布有明显的组织特异性: TET1蛋白主要存在于胚胎组织和脑部细胞内; TET2蛋白主要存在于造血干细胞; 而TET3主要分布在肌肉组织里. 目前认为, TET1和TET2对维持干细胞多能性具有重要作用, 而TET3更多与分化过程有关[17]. 有研究[18]发现, TET家族可以促进基因甲基化, 同时也防止基因的过度甲基化, 其功能的表达主要与染色质的环境有关. 许多研究表明[19-21]TET蛋白的去甲基化功能在调控哺乳动物原始生殖细胞的形成、胚胎发育、干细胞多能性及肿瘤的形成和发展过程中发挥了重要作用.

近来Guo等[22]研究发现, 5-hmc在活化诱导脱氨酶(activation-induced deamin-ase, AID)/载脂蛋白基因编辑酶复合物(apolipoprotein B mRNA-editing enzyme complex, APOBEC)作用下脱氨基, 形成5-羟甲基尿嘧啶(5-hydroxymethyluracil, 5-hmU). 而后, 5-hmc脱氨基产物可经碱基切除修复(base-excision repair, BER)途径实现DNA主动去甲基化. He等[23]发现DNA中5-mc和5-hmc都可以被氧化为5-甲酰基胞嘧啶(5-formylcytosine, 5-fC)和5-羧基胞嘧啶(5-carboxylcytosine, 5-caC), 而5-caC又进一步被胸腺嘧啶DNA糖基化酶(thymine-DNA glycosylase, TDG)识别并切除. 切除后的5-caC形成无甲基化修饰的胞嘧啶, 进而通过DNA剪切修复途径替换为没有修饰的胞嘧啶(C), 从而初步阐明了一条DNA主动去甲基化修复途径(5-mc→5-hmc→5-caC→ C)(图1).

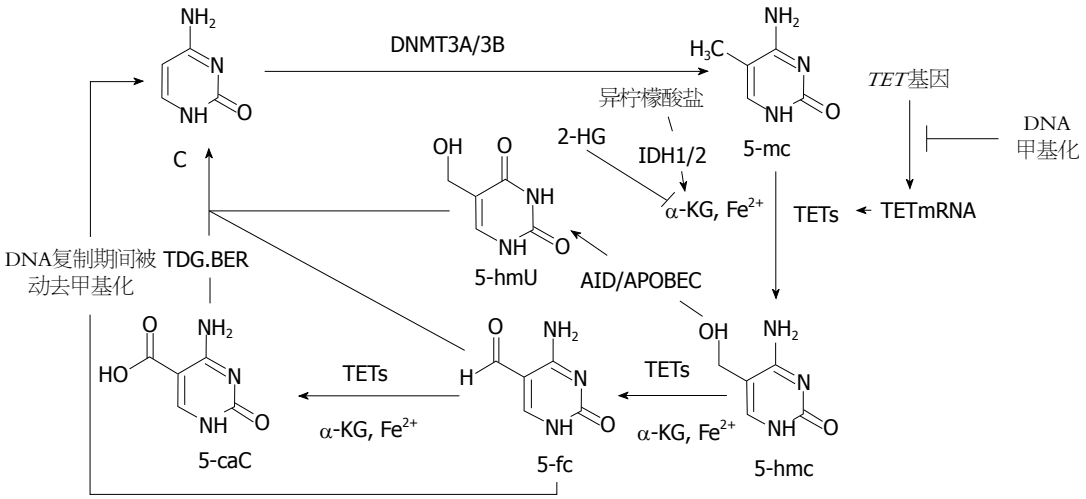


图 1 DNA主动去甲基化修复途径. C: 胞嘧啶; 5-hmc: 5-羟甲基胞嘧啶; 5-fC: 5-甲酰基胞嘧啶; 5-caC: 5-羧基胞嘧啶; 5-hmU: 5-羟甲基尿嘧啶; TETs: 10-11易位蛋白; AID: 活化诱导脱氨酶; APOBEC: 载脂蛋白基因编辑酶复合物; DNMT: DNA甲基转移酶; TDG: 胸腺嘧啶DNA糖基化酶; α-KG: α-酮戊二酸; 2-HG: 2-羟戊二酸; IDH1/2: 异柠檬酸脱氢酶1/2.

■相关报道

Vasanthakumar等详述了5-hmc与血液系统和实体肿瘤之间的相关性以及肿瘤的诊断、预后及治疗新靶点.

3 肿瘤组织中5-hmc水平下降的机制及TET、5-hmc与肿瘤关系

2009年, Tahiliani等[15]发现TET蛋白酶可以通过α-酮戊二酸(α-ketoglutarate, α-KG)和Fe^{2+}将5-mc催化成为5-hmc. Xu等[24]研究发现2-羟戊二酸(2-hydroxyglutarate, 2-HG)在结构上类似于α-KG, 并能竞争性拮抗α-KG, 抑制多种α-KG依赖性的双加氧酶, 包括组蛋白羟化酶和TET家族DNA羟化酶, 进而降低5-hmc水平. 此外, α-KG也是三羧酸循环(tricarboxylicacidcycle, TCA)中异柠檬酸的代谢物, 异柠檬酸在产生α-KG的过程中需要异柠檬酸脱氢酶1(isocitrate dehydrogenases1, IDH1)及异柠檬酸脱氢酶2(isocitrate dehydrogenases 2, IDH2)的催化. 肿瘤组织中常伴有IDH1/2的突变进一步导致α-KG代谢途径受损, 因而TET酶不能很好地发挥其羟化酶活性, 进而使5-mc向5-hmc的转化受影响[25]. 此外, 细胞的过度增殖也可以引起5-hmc含量的下降, 这是因为5-mc向5-hmc的氧化形成半羟甲基化的CpG岛, 在DNA复制期间, DNMT1不能识别半羟甲基化的CpG岛, 因而在细胞分裂中不能维持DNA的羟甲基化, 随着细胞的分裂, 其中5-hmc的含量逐渐下降[26](图1).

TET1表达的下降可导致实体肿瘤的发生,也可能与混合细胞性白血(mixed lineage leukemia, MLL)有关[27]. TET2在生存率和造血干细胞稳态中有至关重要作用, 且TET2表达的下降导致低水平的5-hmc则与骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPNs)、急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia, AML)及骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)的发生有关[28,29], 且基因组5-hmc水平的变化与MDS患者预后相关联[30]. 迄今为止, 还没有发现TET3的突变/调节异常与恶性肿瘤有关.

5-hmc不仅是DNA脱甲基化过程中短暂的中间产物, 而且也可能是一个独立的表观遗传学标志物[8,31]. 迄今为止, 几乎所有的肿瘤细胞株中, 都会出现由于5-mc的羟化异常而出现5-hmc含量的降低[32-38], 且许多肿瘤中都伴随着TET表达水平的改变[32-34]. 然而5-hmc水平的变化是肿瘤形成的原因还是结果目前还不清楚, 其可能与肿瘤的类型和分期有关. 5-hmc除了是去甲基化的中间产物, 还具有基因调节作用. 基因调节能灭活或者损害DNA甲基化(如DNMT3A突变)或者DNA去甲基化(如TET2或IDH突变), 进而打破基因组甲基化和去甲基化的平衡, 进而使抑癌基因失活或者激活原癌基因, 最终导致肿瘤的发生[2,39,40]. 此外, 肿瘤细胞中5-hmc水平的降低可能是糖类代谢过程的中心环节, 故5-hmc可通过调节糖类代谢来调控肿瘤的生长[4]. 因此, 5-hmc可能在癌症早期诊断中颇具价值.

4 5-hmc、TET与消化系肿瘤

近来有研究发现, 在早期消化系肿瘤中也存

创新盘点

本文分别从5-hmc的发现、TET蛋白及去甲基化机制、肿瘤组织中5-hmc下降的机制、TET蛋白和5-hmc与肿瘤之间尤其是消化系肿瘤之间的关系等方面进行全面阐述.

在5-hmc水平的降低[3,41,42], 同时伴随着TET1 mRNA、TET2 mRNA或者TET3 mRNA水平的下调[19]. 此外, 5-hmc含量的下降也与消化系肿瘤类型和临床病理特征相关[3,42], 例如肿瘤大小、病理分型、肿瘤侵袭程度、TNM分期、淋巴结转移数量等.

Murata等[43]发现在食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)细胞中, 5-hmc水平显著低于周围正常组织, 同时伴有TET水平的降低. 流行病学研究[19,40]发现, 在肝癌患者中, *TET1*、*TET2*、*TET3*基因突变率很少, 但伴有TET1 mRNA、TET2 mRNA、TET3 mRNA、5-hmc水平的降低. 5-hmc的水平不仅与肝癌大小有关[44], 还与患者生存率有关. Chen等[45]对肝癌组织和癌旁组织中的5-mc和5-hmc定量分析, 结果表明肝癌组织中5-hmc含量低于癌旁组织, 且5-hmc的含量与肿瘤分期高度相关. Liu等[46]发现5-hmc和IDH2水平的降低与肝癌的恶性转化、低生存率和高复发率相关. 此外, 5-hmc的水平降低也对预测胃肠道间质瘤的发生有重要作用[47]. 研究还发现, 大约2%的胰腺癌患者伴有IDH1/2的突变[48], 然而并没有研究显示其伴有*TET*基因的突变. 在胆道肉瘤中也约有10-20%患者存在IDH1/2的突变[49], 由于IDH1/2的突变可通过调节TET功能来控制5-hmc水平, 因而通过检测5-hmc水平, 可对这些消化系肿瘤进行早期诊断和判断预后.

在胃癌中, *TET1*基因突变率约4%, *TET2*基因突变率没有报道, *TET3*基因突变率则很少, 同时伴随TET1 mRNA和TET1蛋白水平、5-hmc水平的降低, 但未发现他们与患者生存率之间的关系[19,40]. 研究者[50]通过实验推测基因组中Cag毒力岛(cagpathogenecity island, *cagPAI*)基因编码的CagA蛋白刺激形成的细胞炎症环境下, TET蛋白会受到一些炎性细胞因子的刺激而出现异常表达, 使5-hmc累积水平出现改变, 进而引起细胞内核苷酸甲基化和去甲基化失衡, 激活或抑制了某些信号通道, 从而引起更多的蛋白表达异常, 增加了组织病变甚至癌变的可能性. 同时, DNA去甲基化与甲基化平衡被打破, 使肿瘤细胞逃避了凋亡机制. 以上两种机制共同作用促进了胃癌的发生. 因此, 5-hmc水平的改变可能对早期检测胃癌的发生有一定的指导意义.

结直肠癌是对DNA甲基化调节异常最敏感的肿瘤, 在正常的结肠上皮细胞中存在5-hmc的修饰, 且5-hmc在基因启动子和基因体部的含量和分布与肠道上皮组织功能和分化活性有关.而在结肠癌细胞中, 5-hmc水平也显著降低[32,35,36,51]. 在结直肠癌患者中, *TET1*基因突变率约为7%, *TET2*基因突变率约为4%, 而*TET3*基因突变率约为5%, 同时伴有TET1 mRNA、TET2 mRNA、TET3 mRNA、5-hmc水平的下降, 且TET2 mRNA水平的下降与生存率降低有关[19,40]. Neri等[51]也发现在结直肠肿瘤中, TET1 mRNA(不是TET2/TET3 mRNA)从肿瘤Ⅰ期开始就明显下降. TET1的下调会导致Wnt途径抑制剂基因*DKKs*和*SFRPs*表达的下调, 同时, DKKs和SFRPs也可被DNA甲基化灭活, 从而导致肿瘤生长. 此外, TET1可能是通过去甲基化来促进金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitors of metalloproteinase, TIMP)家族蛋白TIMP2及TIMP3的表达, 故其抑制肿瘤细胞的侵袭能力降低, 导致癌细胞的侵袭[26]. 黑色素瘤抗原(melanoma antigen, *MAGE*)基因编码的抗原肽能够被自体细胞毒T淋巴细胞识别并杀灭, 从而达到消除肿瘤细胞的目的. *MAGE-1*、*MAGE-3*基因是具有共同特性的肿瘤特异性抗原, 其表达与结直肠癌的发生、转移及恶化相关[52]. 研究[53]发现, 结直肠癌组织中*MAGE-1*、*MAGE-3*基因启动子去甲基化可能会激活基因重新表达, 这是结直肠癌发生的一个早期、频发的事件[54]. 由于5-hmc可能是去甲基化过程的中间产物, 故通过检测5-hmc可了解致癌基因组去甲基化模式, 这可能有助于结直肠癌的早期诊断和预后判断. 因而5-hmc有望成为结直肠癌诊断和预后的重要标志物. 但结直肠癌组织中有无特异的低甲基化位点、去甲基化与转录表达的确切机制及对判断预后的机制还不清楚, 需要进一步的研究和探讨.

5 结论

5-hmc作为一种新的表遗传学修饰, 其水平的降低往往伴随着血液系统肿瘤和实体肿瘤的发生发展. 尽管5-hmc与消化系肿瘤相关性的研究尚处于初步探索阶段, 但他对我们认识表观遗传调控在人体疾病如肿瘤的作用中提供了一个新的思路. 大量的研究已经证实5-hmc

和TET的变化与消化系肿瘤的发生和进展有密切关系, 这种紧密的相关性提示5-hmc可能成为一个有价值的消化系肿瘤早期诊断标志物. 因此, 研究5-hmc及TET蛋白在消化系肿瘤发生中的作用未来会有很重要的意义.

6 参考文献

1 世界卫生组织发布《2014年世界癌症报告》. 中国卫生政策研究 2014; 7: 16

2 Kroeze LI, van der Reijden BA, Jansen JH. 5-Hydroxymethylcytosine: An epigenetic mark frequently deregulated in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1855: 144-154 [PMID: 25579174 DOI: 10.1016/j.bbcan.2015.01.001]

3 Yang Q, Wu K, Ji M, Jin W, He N, Shi B, Hou P. Decreased 5-hydroxymethylcytosine (5-hmC) is an independent poor prognostic factor in gastric cancer patients. *J Biomed Nanotechnol* 2013; 9: 1607-1616 [PMID: 23980508]

4 Vasanthakumar A, Godley LA. 5-hydroxymethylcytosine in cancer: significance in diagnosis and therapy. *Cancer Genet* 2015; 208: 167-177 [PMID: 25892122 DOI: 10.1016/j.cancergen.2015.02.009]

5 Luczak MW, Jagodziński PP. The role of DNA methylation in cancer development. *Folia Histochem Cytobiol* 2006; 44: 143-154 [PMID: 16977793]

6 WYATT GR, COHEN SS. A new pyrimidine base from bacteriophage nucleic acids. *Nature* 1952; 170: 1072-1073 [PMID: 13013321]

7 Bachman M, Uribe-Lewis S, Yang X, Williams M, Murrell A, Balasubramanian S. 5-Hydroxymethylcytosine is a predominantly stable DNA modification. *Nat Chem* 2014; 6: 1049-1055 [PMID: 25411882 DOI: 10.1038/nchem.2064]

8 Valinluck V, Tsai HH, Rogstad DK, Burdzy A, Bird A, Sowers LC. Oxidative damage to methyl-CpG sequences inhibits the binding of the methyl-CpG binding domain (MBD) of methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2). *Nucleic Acids Res* 2004; 32: 4100-4108 [PMID: 15302911 DOI: 10.1093/nar/gkh739]

9 Chapman CG, Mariani CJ, Wu F, Meckel K, Butun F, Chuang A, Madzo J, Bissonette MB, Kwon JH, Godley LA. TET-catalyzed 5-hydroxymethylcytosine regulates gene expression in differentiating colonocytes and colon cancer. *Sci Rep* 2015; 5: 17568 [PMID: 26631571 DOI: 10.1038/srep17568]

10 Hahn MA, Szabó PE, Pfeifer GP. 5-Hydroxymethylcytosine: a stable or transient DNA modification? *Genomics* 2014; 104: 314-323 [PMID: 25181633 DOI: 10.1016/j.ygeno.2014.08.015]

11 Laird A, Thomson JP, Harrison DJ, Meehan RR. 5-hydroxymethylcytosine profiling as an indicator of cellular state. *Epigenomics* 2013; 5: 655-669 [PMID: 24283880 DOI: 10.2217/epi.13.69]

12 Dong ZR, Zhang C, Cai JB, Zhang PF, Shi GM, Gao DM, Sun HC, Qiu SJ, Zhou J, Ke AW, Fan J. Role of 5-hydroxymethylcytosine level in diagnosis and prognosis prediction of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Tumour Biol* 2015; 36: 2763-2771 [PMID: 25480415 DOI: 10.1007/s13277-014-2900-2]

13 Rodger EJ, Chatterjee A, Morison IM. 5-hydroxymethylcytosine: a potential therapeutic target in cancer. *Epigenomics* 2014; 6: 503-514 [PMID: 25431943 DOI: 10.2217/epi.14.39]

14 Matarese F, Carrillo-de Santa Pau E, Stunnenberg HG. 5-Hydroxymethylcytosine: a new kid on the epigenetic block? *Mol Syst Biol* 2011; 7: 562 [PMID: 22186736 DOI: 10.1038/msb.2011.95]

15 Tahiliani M, Koh KP, Shen Y, Pastor WA, Bandukwala H, Brudno Y, Agarwal S, Iyer LM, Liu DR, Aravind L, Rao A. Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. *Science* 2009; 324: 930-935 [PMID: 19372391 DOI: 10.1126/science.1170116]

16 Koh KP, Yabuuchi A, Rao S, Huang Y, Cunniff K, Nardone J, Laiho A, Tahiliani M, Sommer CA, Mostoslavsky G, Lahesmaa R, Orkin SH, Rodig SJ, Daley GQ, Rao A. Tet1 and Tet2 regulate 5-hydroxymethylcytosine production and cell lineage specification in mouse embryonic stem cells. *Cell Stem Cell* 2011; 8: 200-213 [PMID: 21295276 DOI: 10.1016/j.stem.2011.01.008]

17 邢天禹, 丁卫. DNA表观遗传修饰的研究进展-基因组的第六碱基. 生理科学进展 2012; 43: 164-170

18 Putiri EL, Tiedemann RL, Thompson JJ, Liu C, Ho T, Choi JH, Robertson KD. Distinct and overlapping control of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine by the TET proteins in human cancer cells. *Genome Biol* 2014; 15: R81 [PMID: 24958354 DOI: 10.1186/gb-2014-15-6-r81]

19 Rawłuszko-Wieczorek AA, Siera A, Jagodziński PP. TET proteins in cancer: Current 'state of the art'. *Crit Rev Oncol Hematol* 2015; 96: 425-436 [PMID: 26276226 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2015.07.008]

20 Huang Y, Rao A. Connections between TET proteins and aberrant DNA modification in cancer. *Trends Genet* 2014; 30: 464-474 [PMID: 25132561 DOI: 10.1016/j.tig.2014.07.005]

21 Wu YC, Ling ZQ. The role of TET family proteins and 5-hydroxymethylcytosine in human tumors. *Histol Histopathol* 2014; 29: 991-997 [PMID: 24585390]

22 Guo JU, Su Y, Zhong C, Ming GL, Song H. Hydroxylation of 5-methylcytosine by TET1 promotes active DNA demethylation in the adult brain. *Cell* 2011; 145: 423-434 [PMID: 21496894 DOI: 10.1016/j.cell.2011.03.022]

23 He YF, Li BZ, Li Z, Liu P, Wang Y, Tang Q, Ding J, Jia Y, Chen Z, Li L, Sun Y, Li X, Dai Q, Song CX, Zhang K, He C, Xu GL. Tet-mediated formation of 5-carboxylcytosine and its excision by TDG in mammalian DNA. *Science* 2011; 333: 1303-1307 [PMID: 21817016 DOI: 10.1126/science.1210944]

24 Xu W, Yang H, Liu Y, Yang Y, Wang P, Kim SH, Ito S, Yang C, Wang P, Xiao MT, Liu LX, Jiang WQ, Liu J, Zhang JY, Wang B, Frye S, Zhang Y, Xu YH, Lei QY, Guan KL, Zhao SM, Xiong Y. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α-ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell* 2011; 19: 17-30 [PMID: 21251613 DOI: 10.1016/j.ccr.2010.12.014]

25 Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C, Ward PS, Patel J, Shih A, Li Y, Bhagwat N, Vasanthakumar A, Fernandez HF, Tallman MS, Sun Z, Wolniak K, Peeters JK, Liu W, Choe SE, Fantin VR, Paietta E, Löwenberg B, Licht JD, Godley LA, Delwel

应用要点

阐述5-hmc与消化系肿瘤之间的关系对于消化系肿瘤的早期预测和判断预后具有重要指导作用, 并以此为基础, 寻找肿瘤治疗新靶点.

名词解释

Wnt途径: Wnt信号通路广泛存在于无脊椎动物和脊椎动物中, 是一类在物种进化过程中高度保守的信号通路. Wnt信号在动物胚胎的早期发育、器官形成、组织再生和其他生理过程中, 具有至关重要的作用. 如果这条信号通路中的关键蛋白发生突变, 导致信号异常活化, 就可能诱导癌症的发生.

R, Valk PJ, Thompson CB, Levine RL, Melnick A. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer Cell* 2010; 18: 553-567 [PMID: 21130701 DOI: 10.1016/j.ccr.2010.11.015]

26 葛苗苗, 蔡春. 表观遗传新标志物5hmC的研究进展. 生物化学与生物物理进展 2014; 41: 839-850

27 Ficz G, Gribben JG. Loss of 5-hydroxymethylcytosine in cancer: cause or consequence? *Genomics* 2014; 104: 352-357 [PMID: 25179374 DOI: 10.1016/j.ygeno.2014.08.017]

28 Ko M, Huang Y, Jankowska AM, Pape UJ, Tahiliani M, Bandukwala HS, An J, Lamperti ED, Koh KP, Ganetzky R, Liu XS, Aravind L, Agarwal S, Maciejewski JP, Rao A. Impaired hydroxylation of 5-methylcytosine in myeloid cancers with mutant TET2. *Nature* 2010; 468: 839-843 [PMID: 21057493 DOI: 10.1038/nature09586]

29 Solary E, Bernard OA, Tefferi A, Fuks F, Vainchenker W. The Ten-Eleven Translocation-2 (TET2) gene in hematopoiesis and hematopoietic diseases. *Leukemia* 2014; 28: 485-496 [PMID: 24220273 DOI: 10.1038/leu.2013.337]

30 Calvo X, Nomdedeu M, Navarro A, Tejero R, Costa D, Muñoz C, Pereira A, Peña O, Risueño RM, Monzó M, Esteve J, Nomdedeu B. High levels of global DNA methylation are an independent adverse prognostic factor in a series of 90 patients with de novo myelodysplastic syndrome. *Leuk Res* 2014; 38: 874-881 [PMID: 24880536 DOI: 10.1016/j.leukres.2014.04.015]

31 Wang J, Tang J, Lai M, Zhang H. 5-Hydroxymethylcytosine and disease. *Mutat Res Rev Mutat Res* 2014; 762: 167-175 [PMID: 25475423 DOI: 10.1016/j.mrrev.2014.09.003]

32 Yang H, Liu Y, Bai F, Zhang JY, Ma SH, Liu J, Xu ZD, Zhu HG, Ling ZQ, Ye D, Guan KL, Xiong Y. Tumor development is associated with decrease of TET gene expression and 5-methylcytosine hydroxylation. *Oncogene* 2013; 32: 663-669 [PMID: 22391558 DOI: 10.1038/onc.2012.67]

33 Liu C, Liu L, Chen X, Shen J, Shan J, Xu Y, Yang Z, Wu L, Xia F, Bie P, Cui Y, Bian XW, Qian C. Decrease of 5-hydroxymethylcytosine is associated with progression of hepatocellular carcinoma through downregulation of TET1. *PLoS One* 2013; 8: e62828 [PMID: 23671639 DOI: 10.1371/journal.pone.0062828]

34 Gambichler T, Sand M, Skrygan M. Loss of 5-hydroxymethylcytosine and ten-eleven translocation 2 protein expression in malignant melanoma. *Melanoma Res* 2013; 23: 218-220 [PMID: 23458759 DOI: 10.1097/CMR.0b013e32835f9bd4]

35 Haffner MC, Chaux A, Meeker AK, Esopi DM, Gerber J, Pellakuru LG, Toubaji A, Argani P, Iacobuzio-Donahue C, Nelson WG, Netto GJ, De Marzo AM, Yegnasubramanian S. Global 5-hydroxymethylcytosine content is significantly reduced in tissue stem/progenitor cell compartments and in human cancers. *Oncotarget* 2011; 2: 627-637 [PMID: 21896958]

36 Uribe-Lewis S, Stark R, Carroll T, Dunning MJ, Bachman M, Ito Y, Stojic L, Halim S, Vowler SL, Lynch AG, Delatte B, de Bony EJ, Colin L, Defrance M, Krueger F, Silva AL, Ten Hoopen R, Ibrahim AE, Fuks F, Murrell A. 5-hydroxymethylcytosine marks promoters in colon that resist DNA hypermethylation in cancer. *Genome Biol* 2015; 16: 69 [PMID: 25853800 DOI: 10.1186/s13059-015-0605-5]

37 Kraus TF, Globisch D, Wagner M, Eigenbrod S, Widmann D, Münzel M, Müller M, Pfaffeneder T, Hackner B, Feiden W, Schüller U, Carell T, Kretzschmar HA. Low values of 5-hydroxymethylcytosine (5hmC), the "sixth base," are associated with anaplasia in human brain tumors. *Int J Cancer* 2012; 131: 1577-1590 [PMID: 22234893 DOI: 10.1002/ijc.27429]

38 Lian CG, Xu Y, Ceol C, Wu F, Larson A, Dresser K, Xu W, Tan L, Hu Y, Zhan Q, Lee CW, Hu D, Lian BQ, Kleffel S, Yang Y, Neiswender J, Khorasani AJ, Fang R, Lezcano C, Duncan LM, Scolyer RA, Thompson JF, Kakavand H, Houvras Y, Zon LI, Mihm MC, Kaiser UB, Schatton T, Woda BA, Murphy GF, Shi YG. Loss of 5-hydroxymethylcytosine is an epigenetic hallmark of melanoma. *Cell* 2012; 150: 1135-1146 [PMID: 22980977 DOI: 10.1016/j.cell.2012.07.033]

39 余昆, 李云峰, 杨之斌, 程先硕, 黄云超. GATA4基因甲基化在早期结直肠癌 诊断中的作用. 肿瘤学杂志 2015; 21: 30-33

40 Scourzic L, Mouly E, Bernard OA. TET proteins and the control of cytosine demethylation in cancer. *Genome Med* 2015; 7: 9 [PMID: 25632305 DOI: 10.1186/s13073-015-0134-6]

41 Zhang LT, Zhang LJ, Zhang JJ, Ye XX, Xie AM, Chen LY, Kang JX, Cai C. Quantification of the sixth DNA base 5-hydroxymethylcytosine in colorectal cancer tissue and C-26 cell line. *Bioanalysis* 2013; 5: 839-845 [PMID: 23534428 DOI: 10.4155/bio.13.28]

42 Frycz BA, Murawa D, Borejsza-Wysocki M, Marciniak R, Murawa P, Drews M, Kołodziejczak A, Tomela K, Jagodziński PP. Decreased expression of ten-eleven translocation 1 protein is associated with some clinicopathological features in gastric cancer. *Biomed Pharmacother* 2014; 68: 209-212 [PMID: 24507562 DOI: 10.1016/j.biopha.2013.12.011]

43 Murata A, Baba Y, Ishimoto T, Miyake K, Kosumi K, Harada K, Kurashige J, Iwagami S, Sakamoto Y, Miyamoto Y, Yoshida N, Yamamoto M, Oda S, Watanabe M, Nakao M, Baba H. TET family proteins and 5-hydroxymethylcytosine in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 2015; 6: 23372-23382 [PMID: 26093090]

44 Shen F, Huang W, Qi JH, Yuan BF, Huang JT, Zhou X, Feng YQ, Liu YJ, Liu SM. Association of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine with mitochondrial DNA content and clinical and biochemical parameters in hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2013; 8: e76967 [PMID: 24143196 DOI: 10.1371/journal.pone.0076967]

45 Chen ML, Shen F, Huang W, Qi JH, Wang Y, Feng YQ, Liu SM, Yuan BF. Quantification of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine in genomic DNA from hepatocellular carcinoma tissues by capillary hydrophilic-interaction liquid chromatography/quadrupole TOF mass spectrometry. *Clin Chem* 2013; 59: 824-832 [PMID: 23344498 DOI: 10.1373/clinchem.2012.193938]

46 Liu WR, Tian MX, Jin L, Yang LX, Ding ZB, Shen YH, Peng YF, Zhou J, Qiu SJ, Dai Z, Fan J, Shi YH. High expression of 5-hydroxymethylcytosine and isocitrate dehydrogenase 2 is associated with favorable prognosis after curative resection of hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2014; 33: 32 [PMID: 24716838 DOI: 10.1186/1756-9966-33-32]

47 Mason EF, Hornick JL. Succinate dehydrogenase deficiency is associated with decreased 5-hydroxymethylcytosine production in gastrointestinal stromal tumors: implications for mechanisms of tumorigenesis. *Mod Pathol* 2013; 26: 1492-1497 [PMID: 23743927 DOI: 10.1038/modpathol.2013.86]

48 Ghiam AF, Cairns RA, Thoms J, Dal Pra A, Ahmed O, Meng A, Mak TW, Bristow RG. IDH mutation status in prostate cancer. *Oncogene* 2012; 31: 3826 [PMID: 22120718 DOI: 10.1038/onc.2011.546]

49 Borger DR, Tanabe KK, Fan KC, Lopez HU, Fantin VR, Straley KS, Schenkein DP, Hezel AF, Ancukiewicz M, Liebman HM, Kwak EL, Clark JW, Ryan DP, Deshpande V, Dias-Santagata D, Ellisen LW, Zhu AX, Iafrate AJ. Frequent mutation of isocitrate dehydrogenase (IDH)1 and IDH2 in cholangiocarcinoma identified through broad-based tumor genotyping. *Oncologist* 2012; 17: 72-79 [PMID: 22180306 DOI: 10.1634/theoncologist.2011-0386]

50 张昕. Tet蛋白的表达与CagA诱导胃癌相关性的研究. 上海: 上海交通大学, 2013

51 Neri F, Dettori D, Incarnato D, Krepelova A, Rapelli S, Maldotti M, Parlato C, Paliogiannis P, Oliviero S. TET1 is a tumour suppressor that inhibits colon cancer growth by derepressing inhibitors of the WNT pathway. *Oncogene* 2015; 34: 4168-4176 [PMID: 25362856 DOI: 10.1038/onc.2014.356]

52 Li M, Yuan YH, Han Y, Liu YX, Yan L, Wang Y, Gu J. Expression profile of cancer-testis genes in 121 human colorectal cancer tissue and adjacent normal tissue. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 1809-1814 [PMID: 15756003 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-1365]

53 Kim R, Kulkarni P, Hannenhalli S. Derepression of Cancer/testis antigens in cancer is associated with distinct patterns of DNA hypomethylation. *BMC Cancer* 2013; 13: 144 [PMID: 23522060 DOI: 10.1186/1471-2407-13-144]

54 严茂军, 周怀愉, 夏辉. 结直肠癌组织中MAGE基因启动子去甲基化状态与其mRNA表达的关系. 山东医药 2014; 54: 13-15

同行评价

本文分别对5-hmc的发现、TET蛋白的功能及其参与5-hmc去甲基化机制, 5-hmc与TET蛋白表达下降在肿瘤发生发展中的关系及其机制, 5-hmc与TET蛋白在消化系肿瘤中的关系进行了综述, 内容及题材较新颖, 收集的文献具有代表性, 逻辑清晰, 具有新颖性和可读性.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1220

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1220-1226
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

文献综述 REVIEW

幽门螺杆菌感染与糖尿病

宋淑然, 赵丽梅, 赵宝华

宋淑然, 河北医科大学第二医院检验科 河北省石家庄市 050000

赵丽梅, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000

赵宝华, 河北师范大学生命科学学院 河北省石家庄市 050024

宋淑然, 副主任检验师, 主要从事医用微生物学与自身免疫性疾病的研究.

作者贡献分布: 宋淑然负责撰写文章; 赵丽梅修改; 赵宝华审校.

通讯作者: 宋淑然, 副主任检验师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院检验科.
songshuran2015@163.com
电话: 0311-66002319

收稿日期: 2016-01-10
修回日期: 2016-01-27
接受日期: 2016-01-31
在线出版日期: 2016-03-18

背景资料
幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是消化性溃疡和胃癌等胃部疾病的重要致病因子, 研究显示*H. pylori*感染还与一些胃外疾病的发生有关, 尽管糖尿病的发病机制尚不明确, *H. pylori*感染可能是一个重要因素.

Helicobacter pylori infection and diabetes mellitus

Shu-Ran Song, Li-Mei Zhao, Bao-Hua Zhao

Shu-Ran Song, Clinical Laboratory, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Li-Mei Zhao, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Bao-Hua Zhao, College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, Hebei Province, China

Correspondence to: Shu-Ran Song, Deputy Director Inspector, Clinical Laboratory, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. songshuran2015@163.com

Received: 2016-01-10
Revised: 2016-01-27
Accepted: 2016-01-31
Published online: 2016-03-18

同行评议者
王兵, 主任医师, 上海交通大学附属第六人民医院中医科; 褚传莲, 副教授, 副主任医师, 山东大学附属济南市中心医院消化内科

Abstract

The rate of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection increases significantly in patients with diabetes mellitus. *H. pylori* infection as an independent factor can promote insulin resistance. *H. pylori* eradication rate is much lower in diabetic patients than in normal controls. Blood glucose levels tend to fluctuate more widely, and is not easy to be controlled in diabetic patients with *H. pylori* infection. Eradication of *H. pylori* can help to improve diabetic progression. *H. pylori* infection is related to the occurrence of diabetic complications, such as diabetic nephropathy, atherosclerosis, and gastroparesis. The mechanism of *H. pylori* infection affecting diabetes mellitus may be related to systemic inflammatory response, vascular endothelial damage and changes of hormone levels such as leptin and ghrelin.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Diabetes mellitus; Hyperglycemia; Insulin resistance

Song SR, Zhao LM, Zhao BH. *Helicobacter pylori* infection and diabetes mellitus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1220-1226 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1220.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1220

摘要

糖尿病患者幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*,

H. pylori)感染率明显增加, *H. pylori*感染作为一个独立因素可促使胰岛素抵抗. 糖尿病患者中的*H. pylori*根除率较正常人为低, 合并*H. pylori*感染的糖尿病患者血糖波动范围增大, 血糖不易被控制, 治疗效果不佳, 而根除*H. pylori*后有助于改善糖尿病的进展. *H. pylori*感染与糖尿病并发症(如糖尿病肾病、动脉粥样硬化、胃轻瘫等)的发生也有一定关系. *H. pylori*感染影响糖尿病的机制可能与系统性炎症反应、血管内皮损伤和激素水平改变(如瘦素和胃饥饿素)等因素有关.

© 2016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; 糖尿病; 高血糖; 胰岛素抵抗

核心提示: 糖尿病患者幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染率明显增加, *H. pylori*感染与糖尿病的一些并发症的发生相关, 根除*H. pylori*有助于改善糖尿病的进展. *H. pylori*感染影响糖尿病的机制可能与系统性炎症反应、血管内皮损伤和激素水平改变等因素有关.

宋淑然, 赵丽梅, 赵宝华. 幽门螺杆菌感染与糖尿病. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1220-1226 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1220.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1220

0 引言

糖尿病(diabetes mellitus)患者常常存在胃功能异常, 而幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是引起的消化系炎症的重要因素, 是慢性胃炎、消化性溃疡和胃癌的主要致病因子[1-3]. 糖尿病和*H. pylori*感染两者之间是否存在关系, 1996年Oldenburg等[4]首先报告了在糖尿病患者*H. pylori*感染率增加. 自此以后有大量的相关研究, 证实了糖尿病发病率与*H. pylori*感染之间存在明显关系, *H. pylori*感染是胰岛素抵抗的发病机制之一[5,6], 但也存在与之相矛盾的观点[7]. 因此, 进一步了解*H. pylori*感染在糖尿病中作用, 对早期发现葡萄糖调节异常以及在高危人群中预防糖尿病非常重要[8].

1 糖尿病患者*H. pylori*感染率

近年来有大量糖尿病患者与*H. pylori*感染关系的研究, 认为糖尿病患者*H. pylori*感染率明显增加, 而在前驱糖尿病患者中变化不大[9]. Bajaj等[10]报告了80例2型糖尿病患者, 有62例(77.5%)被检测出*H. pylori*感染, 而在对照组中仅有35例(58.3%), 两组间存在明显差别. *H. pylori*感染和未感染的糖尿病患者, 糖化血红蛋白(hemoglobin A1c, HbA1c)水平的平均值分别为8.19%±1.16%、6.9%±0.84%, 认为糖尿病患者*H. pylori*感染增加, *H. pylori*感染与HbA1c的水平显著相关. 近来有关*H. pylori*感染与糖尿病关系的Meta分析显示, 糖尿病患者*H. pylori*感染率增加, 尤其是2型糖尿病患者[11]. Jeon等[12]发现糖尿病患者*H. pylori*阳性的例数是*H. pylori*阴性组2.7倍. 另一组研究[13]表明, 与对照组相比, 在伴有和不伴有消化不良症状的糖尿病患者, *H. pylori*感染率分别为77%和61%. 我国的研究情况也类似, Hsieh等[14]研究认为在中国, 长期*H. pylori*感染与高HbA1c水平、胰岛素分泌减少呈显著相关, 正确的*H. pylori*筛查结合血糖和HbA1c水平定期监测可能对血糖失调的早期检测和2型糖尿病预防有效.

Toporowska-Kowalska等[15]报道, 在儿童1型糖尿病患者*H. pylori*感染率为24.3%, 在*H. pylori*感染者血清HbA1c浓度明显高于未感染者(7.87%±1.51% *vs* 7.17%±1.46%; $P<0.05$). Chobot等[16,17]应用^{13}C尿素呼气试验测定波兰1型糖尿病儿童和青少年*H. pylori*感染情况, 显示儿童中*H. pylori*感染率为10%-33%, 儿童1型糖尿病患者和健康儿童的*H. pylori*感染率相似, 且与血糖控制无关.

尽管多数研究认为糖尿病患者*H. pylori*感染率增加, 但也有研究提出不同观点. Ciortescu等[18]认为, 糖尿病患者与非糖尿病患者之间的*H. pylori*感染率并无明显差异(分别为7.31%、7.47%).

2 *H. pylori*与胰岛素抵抗

胰岛素抵抗是指组织细胞对胰岛素介导的葡萄糖利用的反应性降低, 产生胰岛素抵抗的主要部位在肝脏、肌肉和脂肪组织, 是代谢综合征的重要组分, 也是糖尿病的重要病理生理特征, 除了遗传因素之外, 许多环境因素也参与或导致胰岛素抵抗, 近来研究*H. pylori*感染是引起胰岛素抵抗的因素之一. Gunji等[19]通过内稳态模型评估(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)分数定量评估胰岛素抵抗, 用多元回归模型分析血清*H. pylori*

研发前沿
糖尿病的发病机制复杂, 影响因素很多, 本文综述表明*H. pylori*感染在糖尿病的发生发展中可能发挥一定作用, 但也有不同的观点, 需要今后做进一步深入研究.

相关报道
关于*H. pylori*感染在糖尿病发病中的作用, 本文通过综述国内外文献中大量的随机对照研究、流行病学调查、Meta分析等论述了两者之间的相关性, 但是其确切性和关键机制尚不明确.

和HOMA-IR评分之间的关系, 结果显示, 99例胰岛素抵抗患者*H. pylori*血清阳性率明显高于1008例没有胰岛素抵抗患者(39.4% *vs* 28.7%, P = 0.027). 通过多元线性回归分析, 血清*H. pylori*和HOMA-IR评分有显著关联(r = 0.152, P = 0.001). 认为在大多数无症状人群中, *H. pylori*感染可作为一个独立因素对促进胰岛素抵抗有显著作用. Vafaeimanesh等[20,21]研究显示*H. pylori*感染的糖尿病患者其胰岛素抵抗程度远高于*H. pylori*阴性组, 相对于*H. pylori*阴性的患者来说, *H. pylori*阳性的患者需要更高水平的血清胰岛素来达到血糖控制程度.

Dogan等[22]观察了根除*H. pylori*治疗对胰岛素抵抗的影响, 通过前瞻性研究显示, 治疗后HOMA-IR明显降低(P<0.01), 在体质量指数≥25 kg/m^{2}的患者中这种作用更加明显, 认为根除*H. pylori*治疗对胰岛素抵抗是有益的.

3 糖尿病对根除*H. pylori*的影响

根除*H. pylori*的疗效受多种因素的影响, 糖尿病是否会影响*H. pylori*的根除呢? 一些研究表明, 在糖尿病患者中的*H. pylori*的根除率较正常人为低. Ataseven等[23]进行的一项前瞻性、非盲、单中心队列研究, 对2型糖尿病患者进行为期14 d的*H. pylori*一线根治疗法, 糖尿病组根治率为59.5%, 远低于非糖尿病组的80.0%. Horikawa等[24]一项Meta分析显示, 在8项合格的研究中总共有693名参与者, 其中包括273例糖尿病患者, 糖尿病患者*H. pylori*根除失败的风险比非糖尿病患者更高(RR = 2.31, 95%CI: 1.72-3.11), 建议在糖尿病患者中, 通过延长疗程或开发新的疗法来根除*H. pylori*.

Ojetti等[25]在对接受*H. pylori*根除治疗的糖尿病患者的随访中发现, 糖尿病患者的*H. pylori*根除治疗后复发率显著高于非糖尿病患者. Candelli等[26]进行了一项*H. pylori*根除治疗后为期3年的随访研究, 结果显示, 与对照组相比, 糖尿病患者*H. pylori*再感染率更高. 然而, Naja等[27]研究表明, 在黎巴嫩, 根除*H. pylori*感染与胰岛素抵抗及与代谢综合征之间无关联.

4 *H. pylori*对糖尿病治疗效果的影响

糖尿病患者血糖波动受多种因素的影响, 感染可能是一个重要的原因. 早期的一些研究表明, 合并*H. pylori*感染的糖尿病患者血糖波动范围增大, 血糖不易被控制, 治疗效果不佳, 而根除*H. pylori*后有助于改善2型糖尿病患者的预后[15,28]. 有人采用平均血糖水平的标准差(standard deviation of blood glucose, SDBG)、平均血糖波动幅度(mean amplitude of glycemic excursion, MAGE)、最大血糖波动幅度(largest amplitude of glycemic excursions, LAGE)、低血糖例数作为血糖波动评估参数, 研究*H. pylori*感染对2型糖尿病患者血糖波动的影响, 结果显示2型糖尿病*H. pylori*阳性组的平均血糖、SDBG、MAGE、LAGE均高于糖尿病*H. pylori*阴性组(P<0.05), 认为*H. pylori*感染对于2型糖尿病患者血糖波动有明显影响, 根除*H. pylori*有益于控制血糖水平、保持血糖平稳和减少低血糖事件[29].

但两个最新的研究报告, 并不支持上述观点. Wada等[30]对2型糖尿病患者的研究显示, 根除*H. pylori*并不影响患者血糖控制. Horikawa等[31]一项包含13个研究的荟萃分析显示, 与*H. pylori*阴性糖尿病患者相比, *H. pylori*阳性糖尿病患者HbA1c水平无明显升高(P = 0.16), 认为没有足够的证据表明*H. pylori*感染对糖尿病患者血糖控制的不利影响.

5 *H. pylori*与糖尿病并发症

糖尿病是一种以慢性高血糖为特征的代谢性疾病, 高血糖本身不一定造成危害, 但长期血糖增高, 会引起大血管、微血管受损, 并危及肾、心、脑、周围神经、眼睛、足等重要脏器损伤, 这些并发症严重影响患者的生活质量, 也是死亡的主要原因. 研究[32-34]显示, *H. pylori*感染与糖尿病并发症的发生发展有一定关系.

糖尿病肾病是糖尿病患者最重要的合并症之一, 存在复杂的代谢紊乱. 近年研究认为*H. pylori*感染是一个重要的危险因素, 研究显示*H. pylori*阳性的糖尿病患者的尿微量白蛋白水平高于*H. pylori*阴性者, 表明*H. pylori*感染和糖尿病患者尿微量白蛋白水平相关. Tanriverdı等[35]研究了93例糖尿病患者, *H. pylori*感染率为56.98%, 糖尿病*H. pylori*阳性组微量蛋白尿水平(186.7 mg/24 h±24.2 mg/24 h)显著高于糖尿病*H. pylori*阴性组(131.2 mg/24 h±11.6 mg/24 h, P = 0.012). *H. pylori*感染CagA阳性菌株的糖尿病患者发生尿微蛋白症的概率显著高于CagA阴性菌株对照组, *CagA*基因型可能与*H. pylori*引起糖尿病肾损伤有关. Yanik等[36]

研究显示, 应用三联疗法根除*H. pylori*治疗后, 患者微量蛋白尿和空腹血糖水平均明显下降(P<0.05), 表明根除*H. pylori*对减少2型糖尿病患者微量蛋白尿具有一定效果. 最近Wang等[37]对涉及20000多名参与者的39项研究进行Meta分析, 研究*H. pylori*感染与糖尿病和糖尿病肾病的关系, 结果显示, *H. pylori*感染和患糖尿病肾病风险之间存在相关性(OR = 1.60, 95%CI: 1.10-2.33), 同时还表明这种作用在2型糖尿病患者较1型糖尿病患者更明显.

动脉粥样硬化是糖尿病血管病变的基础, 是心脑血管并发症发生发展的重要病理生理基础. 近来研究显示, *H. pylori*感染参与了动脉硬化的形成. 脉搏波速度(pulse wave velocity, PWV)是一项目前公认的评估动脉硬化的简易指标, Ohnishi等[38]通过测定PWV来探讨糖尿病患者*H. pylori*感染和动脉硬化的关系, 结果显示*H. pylori*感染的糖尿病患者PWV值较非*H. pylori*感染者明显增加(1877 cm/s±550 cm/s *vs* 1585 cm/s±331 cm/s, P = 0.0005), *H. pylori*感染是PWV独立的决定因素(β = 0.169, P = 0.022). 我国学者周怡等[39]也得到类似的研究结果. 2型糖尿病合并*H. pylori*感染者的冠心病、脑血管疾病、外周血管病变及周围神经病变患病率明显升高, 且易发生内膜中层厚度(intima-media thickness, IMT)增厚及颈动脉粥样斑块形成. Hamed等[28]研究表明, 在*H. pylori*感染的68例糖尿病患者中有18例(26.5%)检出颈总动脉斑块, 36例发生卒中(52.9%), 而*H. pylori*阴性的12例糖尿病患者均未发现颈总动脉斑块, 仅有2例发生卒中(16.7%), 与*H. pylori*阳性的非糖尿病患者相比, *H. pylori*阳性的糖尿病患者平均颈总动脉IMT明显增高(0.84 mm ±0.17 mm *vs* 0.62 mm±0.08 mm, P<0.001). Longo-Mbenza等[40]研究表明*H. pylori*感染是发生颈动脉斑块的唯一的独立预测危险因素(OR = 2.3, 95%CI: 1.2-7.2, P<0.0001). 这些研究结果均支持*H. pylori*感染在糖尿病动脉粥样硬化中的作用.

糖尿病性胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)是糖尿病常见的消化系慢性并发症, 指胃动力障碍, 排空延迟, 但不伴有机械性梗阻的一组综合征. 为了解*H. pylori*与胃轻瘫的关系, 吴丽萍等[41]发现在2型糖尿病伴胃轻瘫组患者*H. pylori*感染率87.5%, 而不伴胃轻瘫组*H. pylori*感染率40.0%(P<0.005), 表明糖尿病伴胃轻瘫者*H. pylori*感染率明显高于不伴胃轻瘫者. 姚林华等[42]应用以埃索美拉唑加上抗生素组合的三联疗法10 d根治治疗, 结果显示, 尽管在糖尿病患者中疗效相对较差, 但根除*H. pylori*可以明显改善糖尿病胃轻瘫症状.

对于*H. pylori*感染和糖尿病并发症的关系, Wang等[43]对1998-2012年发表的相关文献进行了Meta分析, 涉及缺血性心脏病、视网膜病变、神经病变以及肾脏病变等8项研究, 表明糖尿病肾病和神经病变的发病风险与*H. pylori*感染可能存在一定关系. 另外, 在东亚人群和2型糖尿病患者中, *H. pylori*与糖尿病肾病的发生风险具有相关性. 通过积极开展*H. pylori*根除治疗以辅助达到降低糖尿病并发症发生率目的, 具有较好的应用前景.

6 *H. pylori*与糖尿病发病机制的研究

*H. pylori*感染对糖尿病发生发展影响的机制尚不明确, 也是目前研究的热点之一. 糖尿病患者高*H. pylori*感染率, 可能与糖尿病本身的免疫功能紊乱、胃肠功能紊乱(胃排空减慢、十二指肠运动弛缓等)以及胃黏膜非酶糖基化(non-enzymatic glycosylation)所致的胃黏膜病理和化学成分改变, 使*H. pylori*易于植入胃黏膜, 增加了2型糖尿病患者的*H. pylori*感染率[33,44]. 糖尿病患者*H. pylori*根除率低的原因, 可能与抗生素耐药性增加、抗生素生物利用度下降有关. 克拉霉素抵抗的原因是位于23S rRNA基因位点的肽酰转移酶1区域发生点突变, 该突变可导致克拉霉素无法与23S rRNA核糖体结合, 使其不能干扰细菌蛋白质的合成[45].

*H. pylori*感染对糖尿病血管病变有影响, *H. pylori*感染可能会导致系统性炎症和血管内皮损伤, 在*H. pylori*阳性的糖尿病患者炎症标志物水平显著高于*H. pylori*阴性患者(P<0.05)[35]. *H. pylori*感染可促使患者血液中IL-6、TNF-α水平等升高, 这些细胞因子可以直接导致血管内皮炎症, 激发脂质链的过氧化反应和LDL-C的氧化反应, 使过氧化物产生增多, 参与动脉粥样硬化形成[29].

近年来, 对于激素水平调节在*H. pylori*感染与糖尿病的关系也进行了一些探索, 瘦素(leptin)是一种使食欲减退的激素[46]. 胃饥饿素(Ghrelin)是胃底黏膜腺体分泌的一种28氨基酸

创新盘点

本文全面系统综述了*H. pylori*感染与糖尿病的关系, 包括糖尿病患者*H. pylori*感染率、糖尿病对根除*H. pylori*的影响、*H. pylori*对糖尿病治疗效果的影响、*H. pylori*与糖尿病并发症等, 并探讨了*H. pylori*与糖尿病发病机制的研究.

应用要点

糖尿病发病机制不明, *H. pylori*感染可能是重要因素之一, 根除*H. pylori*感染对稳定血糖, 减少并发症具有一定临床意义.

多肽, 增加食欲, 促进脂肪的储存, 调制能量体内平衡, 两者具有相反的作用. 一项在男性成年人的研究显示[47], 与非*H. pylori*感染者相比, 在胃*H. pylori*感染者, 血清瘦素浓度降低, 而胃饥饿素浓度未见明显差异. Pacifico等[48]研究也显示, *H. pylori*感染者, 在基础状态下, 血清瘦素浓度降低, 胃饥饿素浓度无差异. 然而, 血清胃饥饿素浓度与*H. pylori*相关胃炎的严重程度呈负相关. 在根除*H. pylori*感染后, 经过6-12 mo随访, 瘦素浓度明显增加和胃饥饿素浓度逐渐减低. 研究[49,50]还显示瘦素和胃饥饿素的变化可能与胰岛素抵抗有关, 这些激素水平变化, 可改变脂质代谢和胰岛素敏感性, 因此瘦素和胃饥饿素可能与糖尿病的发生发展有一定关系, 但也有研究[51]并未显示他们之间的相关性, 因此在发病机制上还需要做进一步的研究.

7 结论

*H. pylori*感染是消化性溃疡、胃癌等胃部疾病的重要致病因子, 研究发现*H. pylori*感染还与一些胃外疾病的发生有关. 糖尿病患者*H. pylori*感染率增加, *H. pylori*感染与糖尿病并发症的发生相关, 根除*H. pylori*对稳定血糖, 减少并发症和改善糖尿病的进展具有一定的临床意义. 由于糖尿病的发病机制尚不明确, 影响因素较多, 文献研究中也存在一些争议, 所以*H. pylori*感染可能是糖尿病发生发展中影响因素之一, 还需要今后做出更为深入的研究.

8 参考文献

1 Malnick SD, Melzer E, Attali M, Duek G, Yahav J. Helicobacter pylori: friend or foe? *World J Gastroenterol* 2014; 20: 8979-8985 [PMID: 25083071 DOI: 10.3748/wjg.v20.i27.8979]

2 Gunji T, Matsuhashi N, Sato H, Fujibayashi K, Okumura M, Sasabe N, Urabe A. Helicobacter pylori infection is significantly associated with metabolic syndrome in the Japanese population. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 3005-3010 [PMID: 19086952 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.02151.x]

3 Plummer M, Franceschi S, Vignat J, Forman D, de Martel C. Global burden of gastric cancer attributable to Helicobacter pylori. *Int J Cancer* 2015; 136: 487-490 [PMID: 24889903 DOI: 10.1002/ijc.28999]

4 Oldenburg B, Diepersloot RJ, Hoekstra JB. High seroprevalence of Helicobacter pylori in diabetes mellitus patients. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 458-461 [PMID: 8617115]

5 Kayar Y, Pamukçu Ö, Eroğlu H, Kalkan Erol K, Ilhan A, Kocaman O. Relationship between Helicobacter pylori Infections in Diabetic Patients and Inflammations, Metabolic Syndrome, and Complications. *Int J Chronic Dis* 2015; 2015: 290128 [PMID: 26464868 DOI: 10.1155/2015/290128]

6 Han X, Li Y, Wang J, Liu B, Hu H, Li X, Yang K, Yuan J, Yao P, Wei S, Wang Y, Liang Y, Miao X, Zhang X, Guo H, Yang H, Wu T, He M. Helicobacter pylori infection is associated with type 2 diabetes among a middle- and old-age Chinese population. *Diabetes Metab Res Rev* 2016; 32: 95-101 [PMID: 26172433 DOI: 10.1002/dmrr.2677]

7 Tamura T, Morita E, Kawai S, Sasakabe T, Sugimoto Y, Fukuda N, Suma S, Nakagawa H, Okada R, Hishida A, Naito M, Hamajima N, Wakai K. No association between Helicobacter pylori infection and diabetes mellitus among a general Japanese population: a cross-sectional study. *Springerplus* 2015; 4: 602 [PMID: 26543737 DOI: 10.1186/s40064-015-1371-2]

8 He C, Yang Z, Lu NH. Helicobacter pylori infection and diabetes: is it a myth or fact? *World J Gastroenterol* 2014; 20: 4607-4617 [PMID: 24782613 DOI: 10.3748/wjg.v20.i16.4607]

9 Yang GH, Wu JS, Yang YC, Huang YH, Lu FH, Chang CJ. Gastric Helicobacter pylori infection associated with risk of diabetes mellitus, but not prediabetes. *J Gastroenterol Hepatol* 2014; 29: 1794-1799 [PMID: 24731067 DOI: 10.1111/jgh.12617]

10 Bajaj S, Rekwal L, Misra SP, Misra V, Yadav RK, Srivastava A. Association of helicobacter pylori infection with type 2 diabetes. *Indian J Endocrinol Metab* 2014; 18: 694-699 [PMID: 25285288 DOI: 10.4103/2230-8210.139235]

11 Zhou X, Zhang C, Wu J, Zhang G. Association between Helicobacter pylori infection and diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies. *Diabetes Res Clin Pract* 2013; 99: 200-208 [PMID: 23395214 DOI: 10.1016/j.diabres.2012.11.012]

12 Jeon CY, Haan MN, Cheng C, Clayton ER, Mayeda ER, Miller JW, Aiello AE. Helicobacter pylori infection is associated with an increased rate of diabetes. *Diabetes Care* 2012; 35: 520-525 [PMID: 22279028 DOI: 10.2337/dc11-1043]

13 Marietti M, Gasbarrini A, Saracco G, Pellicano R. Helicobacter pylori infection and diabetes mellitus: the 2013 state of art. *Panminerva Med* 2013; 55: 277-281 [PMID: 24088801]

14 Hsieh MC, Wang SS, Hsieh YT, Kuo FC, Soon MS, Wu DC. Helicobacter pylori infection associated with high HbA1c and type 2 diabetes. *Eur J Clin Invest* 2013; 43: 949-956 [PMID: 23879740 DOI: 10.1111/eci.12124]

15 Toporowska-Kowalska E, Wasowska-Królikowska K, Szadkowska A, Bodalski J. [Helicobacter pylori infection and its metabolic consequences in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus]. *Med Wieku Rozwoj* 2007; 11: 103-108 [PMID: 17625277]

16 Chobot A, Bak-Drabik K, Skała-Zamorowska E, Krzywicka A, Kwiecień J, Polańska J. Helicobacter pylori infection in type 1 diabetes children and adolescents using 13C urea breath test. *Pol J Microbiol* 2014; 63: 63-67 [PMID: 25033664]

17 Chobot A, Wenzlau J, Bak-Drabik K, Kwiecien J, Polanska J, Rewers M. ATP4A autoimmunity and Helicobacter pylori infection in children with type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol* 2014; 177: 598-602

[PMID: 24773566 DOI: 10.1111/cei.12363]
18 Ciortescu I, Sfarti C, Stan M, Graur M, Stanciu C. [Prevalence of Helicobacter pylori infection in patients with diabetes mellitus]. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2009; 113: 1048-1055 [PMID: 20191872]
19 Gunji T, Matsuhashi N, Sato H, Fujibayashi K, Okumura M, Sasabe N, Urabe A. Helicobacter pylori infection significantly increases insulin resistance in the asymptomatic Japanese population. *Helicobacter* 2009; 14: 144-150 [PMID: 19751440 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2009.00705.x]
20 Vafaeimanesh J, Parham M, Seyyedmajidi M, Bagherzadeh M. Helicobacter pylori infection and insulin resistance in diabetic and nondiabetic population. *ScientificWorldJournal* 2014; 2014: 391250 [PMID: 25405220 DOI: 10.1155/2014/391250]
21 Vafaeimanesh J, Bagherzadeh M, Heidari A, Motii F, Parham M. Diabetic patients infected with helicobacter pylori have a higher Insulin Resistance Degree. *Caspian J Intern Med* 2014; 5: 137-142 [PMID: 25202440]
22 Dogan Z, Sarikaya M, Ergul B, Filik L. The effect of Helicobacter pylori eradication on insulin resistance and HbA1c level in people with normal glucose levels: a prospective study. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2015; 159: 242-245 [PMID: 24993741 DOI: 10.5507/bp.2014.036]
23 Ataseven H, Demir M, Gen R. Effect of sequential treatment as a first-line therapy for Helicobacter pylori eradication in patients with diabetes mellitus. *South Med J* 2010; 103: 988-992 [PMID: 20818305 DOI: 10.1097/SMJ.0b013e3181eea6cc]
24 Horikawa C, Kodama S, Fujihara K, Hirasawa R, Yachi Y, Suzuki A, Hanyu O, Shimano H, Sone H. High risk of failing eradication of Helicobacter pylori in patients with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract* 2014; 106: 81-87 [PMID: 25110103 DOI: 10.1016/j.diabres.2014.07.009]
25 Ojetti V, Pellicano R, Fagoonee S, Migneco A, Berrutti M, Gasbarrini A. Helicobacter pylori infection and diabetes. *Minerva Med* 2010; 101: 115-119 [PMID: 20467410]
26 Candelli M, Rigante D, Schiavino A, Gabrielli M, Crea F, Minguell Del Lungo L, Pignataro G, Sacco E, Monaco S, Gentiloni Silveri N, Gasbarrini A. High reinfection rate of Helicobacter pylori in young type 1 diabetic patients: a three-year follow-up study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012; 16: 1468-1472 [PMID: 23111958]
27 Naja F, Nasreddine L, Hwalla N, Moghames P, Shoaib H, Fatfat M, Sibai A, Gali-Muhtasib H. Association of H. pylori infection with insulin resistance and metabolic syndrome among Lebanese adults. *Helicobacter* 2012; 17: 444-451 [PMID: 23066847 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2012.00970.x]
28 Hamed SA, Amine NF, Galal GM, Helal SR, Tag El-Din LM, Shawky OA, Ahmed EA, Abdel Rahman MS. Vascular risks and complications in diabetes mellitus: the role of helicobacter pylori infection. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2008; 17: 86-94 [PMID: 18346651 DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2007.10.006]
29 王少真, 史亚男, 赵静, 王志达. 幽门螺杆菌对2型糖尿病患者血糖波动的影响. 中华医学杂志 2009; 89: 958-961
30 Wada Y, Hamamoto Y, Kawasaki Y, Honjo S, Fujimoto K, Tatsuoka H, Matsuoka A, Ikeda H, Fujikawa J, Koshiyama H. The Eradication of Helicobacter pylori does not Affect Glycemic Control in Japanese Subjects with Type 2 Diabetes. *Jpn Clin Med* 2013; 4: 41-43 [PMID: 23966817 DOI: 10.4137/JCM.S10828]
31 Horikawa C, Kodama S, Fujihara K, Yachi Y, Tanaka S, Suzuki A, Hanyu O, Shimano H, Sone H. Association of Helicobacter pylori infection with glycemic control in patients with diabetes: a meta-analysis. *J Diabetes Res* 2014; 2014: 250620 [PMID: 24901007 DOI: 10.1155/2014/250620]
32 彭卫平, 吴春松, 叶晓莲, 唐素琼, 黄登鹏. 幽门螺杆菌感染与2型糖尿病并发症关系的临床研究. 中国医师进修杂志 2013; 36: 26-28
33 范国洽, 周亚茹. 2型糖尿病与幽门螺杆菌感染. 中华糖尿病杂志 2013; 5: 702-704
34 Zhou F, Zhong X, Chen J, Li C, Shang M, Jiang C, Yang H, Zhao W, Liu L. Helicobacter pylori infection associated with type 2 diabetic nephropathy in patients with dyspeptic symptoms. *Diabetes Res Clin Pract* 2015; 110: 328-334 [PMID: 26547504 DOI: 10.1016/j.diabres.2015.09.008]
35 Tanriverdı O. Association of Helicobacter pylori infection with microalbuminuria in type 2 diabetic patients. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22: 569-574 [PMID: 22287400]
36 Yanik S, Doğan Z, Sarikaya M, Ergul B, Filik L. Helicobacter pylori eradication reduces microalbuminuria in type-2 diabetic patients: a prospective study. *Acta Gastroenterol Belg* 2014; 77: 235-239 [PMID: 25090822]
37 Wang F, Liu J, Lv Z. Association of Helicobacter pylori infection with diabetes mellitus and diabetic nephropathy: a meta-analysis of 39 studies involving more than 20,000 participants. *Scand J Infect Dis* 2013; 45: 930-938 [PMID: 24143873 DOI: 10.3109/00365548.2013.844351]
38 Ohnishi M, Fukui M, Ishikawa T, Ohnishi N, Ishigami N, Yoshioka K, Hasegawa G, Yoshikawa T, Nakamura N. Helicobacter pylori infection and arterial stiffness in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2008; 57: 1760-1764 [PMID: 19013302 DOI: 10.1016/j.metabol.2008.08.001]
39 周怡, 孟宪梅, 党形, 王国君, 丁燕程. 幽门螺杆菌感染与糖尿病大动脉弹性PWV的相关性研究. 中国医刊 2011; 46: 60-61
40 Longo-Mbenza B, Nsenga JN, Mokondjimobe E, Gombet T, Assori IN, Ibara JR, Ellenga-Mbolla B, Vangu DN, Fuele SM. Helicobacter pylori infection is identified as a cardiovascular risk factor in Central Africans. *Vasc Health Risk Manag* 2012; 6: 455-461 [PMID: 22923995 DOI: 10.2147/VHRM.S28680]
41 吴丽萍, 谢宝强, 洪水翔, 肖芸珠, 陈鸿恩. 幽门螺旋杆菌感染与2型糖尿病胃轻瘫发病的相关性研究. 赣南医学院学报 2014; 34: 99-100
42 姚林华, 胡奕, 张玲, 张国新. 根除幽门螺杆菌对糖尿病胃轻瘫的影响. 中国现代医生 2014; 52: 151-153
43 Wang F, Fu Y, Lv Z. Association of Helicobacter pylori infection with diabetic complications: a meta-analysis. *Endocr Res* 2014; 39: 7-12 [PMID:

名词解释

胰岛素抵抗: 各种原因使胰岛素促进葡萄糖摄取和利用效率下降, 机体代偿性的分泌过多胰岛素产生高胰岛素血症, 以维持血糖的稳定.

同行评价

本文较好地反映了*H. pylori*感染在糖尿病发病中的作用，比较有特色、具有新颖性，手稿的科学性、创新性和可读性较强，具有一定的临床应用价值.

23879556 DOI: 10.3109/07435800.2013.794426]

44 Perdichizzi G, Bottari M, Pallio S, Fera MT, Carbone M, Barresi G. Gastric infection by Helicobacter pylori and antral gastritis in hyperglycemic obese and in diabetic subjects. *New Microbiol* 1996; 19: 149-154 [PMID: 8722311]

45 Demir M, Gokturk HS, Ozturk NA, Arslan H, Serin E, Yilmaz U. Clarithromycin resistance and efficacy of clarithromycin-containing triple eradication therapy for Helicobacter pylori infection in type 2 diabetes mellitus patients. *South Med J* 2009; 102: 1116-1120 [PMID: 19864973 DOI: 10.1097/SMJ.0b013e3181bca538]

46 Franceschi F, Annalisa T, Teresa DR, Giovanna D, Ianiro G, Franco S, Viviana G, Valentina T, Riccardo LL, Antonio G. Role of Helicobacter pylori infection on nutrition and metabolism. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 12809-12817 [PMID: 25278679 DOI: 10.3748/wjg.v20.i36.12809]

47 Roper J, Francois F, Shue PL, Mourad MS, Pei Z, Olivares de Perez AZ, Perez-Perez GI, Tseng CH, Blaser MJ. Leptin and ghrelin in relation to Helicobacter pylori status in adult males. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 2350-2357 [PMID: 18397989 DOI: 10.1210/jc.2007-2057]

48 Pacifico L, Anania C, Osborn JF, Ferrara E, Schiavo E, Bonamico M, Chiesa C. Long-term effects of Helicobacter pylori eradication on circulating ghrelin and leptin concentrations and body composition in prepubertal children. *Eur J Endocrinol* 2008; 158: 323-332 [PMID: 18299465 DOI: 10.1530/EJE-07-0438]

49 Ozkan Y, Aydin S, Donder E, Koca SS, Aydin S, Ozkan B, Sahin I. Effect of orlistat on the total ghrelin and leptin levels in obese patients. *J Physiol Biochem* 2009; 65: 215-223 [PMID: 20119816 DOI: 10.1007/BF03180574]

50 Sharifi F, Yamini M, Esmaeilzadeh A, Mousavinasab N, Shajari Z. Acylated ghrelin and leptin concentrations in patients with type 2 diabetes mellitus, people with prediabetes and first degree relatives of patients with diabetes, a comparative study. *J Diabetes Metab Disord* 2013; 12: 51 [PMID: 24354802 DOI: 10.1186/2251-6581-12-51]

51 Kim KJ, Kim BY, Mok JO, Kim CH, Kang SK, Jung CH. Serum Concentrations of Ghrelin and Leptin according to Thyroid Hormone Condition, and Their Correlations with Insulin Resistance. *Endocrinol Metab* (Seoul) 2015; 30: 318-325 [PMID: 26435134 DOI: 10.3803/EnM.2015.30.3.318]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1227

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1227-1232
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

研究快报 RAPID COMMUNICATION

X射线对食管鳞癌细胞HOTAIR, Snail及E-cadherin表达水平影响

达春丽, 谭 遥, 展翼翼, 李亚伟, 刘 凯, 王若峥

达春丽, 新疆医科大学附属肿瘤医院重症医学科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

谭遥, 李亚伟, 刘凯, 新疆医科大学附属肿瘤医院头颈放疗科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

展翼翼, 新疆医科大学附属肿瘤医院肺内科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

王若峥, 新疆医科大学附属肿瘤医院放疗中心 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

达春丽, 医师, 主要从事食管癌放化疗基础与应用研究.

新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目, No. 2015211C115

作者贡献分布: 课题设计由达春丽与王若峥完成; 研究所用试剂及设备由王若峥提供; 整个实验操作由达春丽、谭遥、展翼翼、李亚伟及刘凯完成; 数据分析由达春丽与谭遥完成; 论文写作由达春丽完成; 王若峥修改.

通讯作者: 王若峥, 教授, 主任医师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市新市区苏州路789号, 新疆医科大学附属肿瘤医院放疗中心. wrz8526@163.com
电话: 0991-7819236

收稿日期: 2015-12-31
修回日期: 2016-01-26
接受日期: 2016-02-02
在线出版日期: 2016-03-18

Radiation-induced expression of HOTAIR, Snail and E-cadherin in esophageal squamous cell carcinoma cells

Chun-Li Da, Yao Tan, Yi-Yi Zhan, Ya-Wei Li, Kai Liu, Ruo-Zheng Wang

Chun-Li Da, Department of Intensive Care Unit, Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Yao Tan, Ya-Wei Li, Kai Liu, Department of Radiotherapy for Head and Neck, Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Yi-Yi Zhan, Department of Lung Cancer Chemotherapy, Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Ruo-Zheng Wang, Department of Radiotherapy, Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 2015211C115

Correspondence to: Ruo-Zheng Wang, Professor, Chief Physician, Department of Radiotherapy, Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, 789 Suzhou Road, Xinshi District, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. wrz8526@163.com

Received: 2015-12-31
Revised: 2016-01-26
Accepted: 2016-02-02
Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of X-ray radiation on the expression of HOTAIR and epithelial-mesenchymal transition (EMT) related factors in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC).

METHODS: Eca109 cells were irradiated with 0, 2, 4, 6, or 8 Gy of X-rays. After 0, 2, 4, 8, 16, or 24 h of radiation, the expression of HOTAIR, Snail and E-cadherin was detected by qRT-PCR and Western blot.

RESULTS: In Eca109 cells irradiated for 24 h, X-ray dose-dependently increased HOTAIR

背景资料
长链非编码RNA(long non-coding RNAs, lncRNAs)在多种恶性肿瘤中异常表达, HOX转录反义RNA(HOX transcript antisense RNA, HOTAIR)是目前研究的较为透彻的lncRNA, 现在发现其通过调控上皮间质化相关因子(epithelial mesenchymal transition, EMT)的表达参与肿瘤发生, 转移及化疗抵抗, 随着人们对其的深入研究, 人们开始关注其在放疗抵抗中的所扮演的角色, 并有望为肿瘤放疗联合靶向治疗提供潜在分子靶点.

同行评议者
周福有, 教授, 主任医师, 安阳市肿瘤医院胸外科; 王雅棣, 教授, 主任医师, 北京军区总医院放疗科

研发前沿
食管癌总体预后不佳, 临床研究发现, 近70%的患者在病情不同阶段需要放射治疗. 然而, 由于肿瘤细胞放射抵抗性的存在限制了放疗效果. 近年来对lncRNA HOTAIR及EMT相关因子关系的研究结果提示其具有广阔应用前景, 有望在食管癌的早期诊断, 靶向治疗, 预后分析中发挥重要作用.

相关报道
Xu等也通过RNAi技术抑制胃癌AGS细胞系中HOTAIR表达后发现, AGS细胞出现了明显的间质上皮化改变, Western blot研究发现, 细胞间质化表型标志如Vimentin, N-cadherin及Snail, slug, twist表达明显下调, 并以Snail下降最明显, 而上皮化表型标志E-cadherin和ZO-1表达上调.

and Snail expression levels but decreased E-cadherin mRNA and protein expression. The mRNA expression levels of HOTAIR and Snail in the 6 Gy and 8 Gy groups were significantly higher than those in the 0 Gy group. Of note, Snail protein level dramatically increased in the 4 Gy group. The expression of E-cadherin mRNA and protein was statistically lower in the 6 Gy and 8 Gy groups compared with the 0 Gy group ($P < 0.01$). In Eca109 cells irradiated with 8 Gy X-ray, X-ray time-dependently increased the expression of HOTAIR and Snail but decreased E-cadherin mRNA and protein expression. HOTAIR and Snail mRNA and protein expression was significantly higher in the 8 and 16 h groups than in the 0 h group, while the expression of E-cadherin mRNA and protein was gradually decreased in the 8 h group compared with the 0 h group.

CONCLUSION: X-ray induces abnormal expression of HOTAIR, Snail and E-cadherin time- and dose-dependently, which may result in the occurrence of cellular radioresistance.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: X-ray; Esophageal squamous cell carcinoma; Eca109; HOTAIR; Snail; E-cadherin

Da CL, Tan Y, Zhan YY, Li YW, Liu K, Wang RZ. Radiation-induced expression of HOTAIR, Snail and E-cadherin in esophageal squamous cell carcinoma cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1227-1232 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1227.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1227

摘要

目的: 探索X线诱导食管鳞癌细胞内HOX转录反义RNA(HOX transcript antisense RNA, HOTAIR)及上皮间质化相关因子Snail, E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达的时间剂量效应.

方法: 0、2、4、6、8 Gy X射线分别照射食管鳞癌Eca109细胞后, 分别于0、2、4、8、16、24 h提取细胞内总RNA及蛋白, 实时定量PCR检测(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)及Western blot检测相应指标mRNA及蛋白的表达水平.

结果: Eca109细胞接受X线照射后继续培养24 h后发现, 随X线照射剂量渐增大(0→2→4→6→8 Gy), HOTAIR与Snail表达水平逐渐升高: HOTAIR mRNA, Snail mRNA在6 Gy与8 Gy照射组表达水平显著高于0 Gy组, Snail蛋白在4 Gy照射组即有显著升高; 而E-cadherin mRNA与其蛋白表达水平逐渐降低, 6 Gy与8 Gy照射组显著低于0 Gy组, 均$P<0.01$. 细胞接受8 Gy X线照射后, 伴随照射后培养时间延长(0→2→4→8→16→24 h)细胞内HOTAIR, Snail表达水平逐渐升高: 与0 Gy组相比, 细胞培养至第8小时HOTAIR mRNA表达水平显著升高, 培养至第16小时Snail mRNA与其蛋白表达水平显著升高; 而E-cadherin mRNA与其蛋白伴随照射后培养时间延长表达水平逐渐降低, 培养至第8小时E-cadherin与其蛋白表达水平即显著低于0 Gy组(均$P<0.01$).

结论: X射线诱导HOTAIR, Snail及E-cadherin的异常表达呈时间和剂量依赖性, 三者可能共同参与肿瘤细胞放疗抵抗形成.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: X射线; 食管鳞癌; Eca109; HOTAIR; Snail; E-cadherin

核心提示: 本文以食管鳞癌细胞Eca109为研究对象, 探索X线诱导食管鳞癌内HOX转录反义RNA(HOX transcript antisense RNA, HOTAIR)及上皮间质化相关因子Snail, E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达的时间剂量效应. 结果显示X射线诱导上述因子的表达呈时间和剂量依赖性, 三者可能共同参与肿瘤细胞放疗抵抗形成.

达春丽, 谭遥, 展翼翼, 李亚伟, 刘凯, 王若峥. X射线对食管鳞癌细胞HOTAIR, Snail及E-cadherin表达水平影响. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1227-1232 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1227.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1227

0 引言

食管癌是人类8种最常见恶性肿瘤之一, 全世界新增病例约30万/年, 其中约70%发生在我国. 病理类型中食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)占90%以上[1]. ESCC总体预后不佳, 放化疗仍是目前失去手术机会及手术前后的食管癌患者主要的治疗手段. 临床研究发现, 有近70%的肿瘤患者在病情不同阶段需要放射治疗. 然而, 由于肿瘤细胞放射抵抗性的存在限制了放疗杀死肿瘤细胞的能力[2].

长链非编码RNA(long non-coding RNAs, lncRNAs)是一类长度>200 nt且不表现任何蛋

白编码潜能的lncRNAs, 目前已成为继miRNAs之后的又一研究热点, 其本身并不编码蛋白, 而是以RNA的形式在多种层面(表观遗传学、转录水平、转录后水平)调控基因表达, 在个体发育、肿瘤发生、侵袭转移过程中发挥重要作用[3,4]. 上皮间质化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指细胞由上皮表型向间质表型转变的过程, 其重要特征就是上皮标志物丢失, 而间质标志物表达水平升高, 是导致肿瘤发生侵袭转移及放化疗抵抗的重要原因之一[5,6]. lncRNA在肿瘤发生、转移及化疗抵抗中作用的研究使人们开始关注其在放疗抵抗中的作用及其与EMT间的相关性. 本研究对ESCC细胞分别进行不同剂量X线照射, 旨在观察不同剂量X射线照射食管鳞癌细胞Eca109后经不同时间, 细胞内lncRNA HOTAIR及EMT相关因子的时间及剂量效应, 为食管鳞癌的放疗联合靶向治疗提供潜在分子靶点.

1 材料和方法

1.1 材料 ESCC Eca109细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心; 顺铂注射液购自江苏豪森药业股份有限公司; 胎牛血清购自四季青生物制品有限公司; 细胞培养基RPMI 1640购自美国Thermo; 胰蛋白酶购自北京鼎国生物技术有限公司; TaKaRa PrimeScript RT Reagent Kit试剂盒购自大连宝生物有限公司; RNA酶为美国Sigma公司生产; 分光光度计购自美国Thermo; 恒温CO_2培养仪购自美国Thermo Fisher; 逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)仪及实时定量PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)仪均购自美国BIORAD; 蛋白提取试剂盒及蛋白定量试剂盒购自Pierce; PVDF膜为millipore; 兔抗人多克隆Snail抗体, 兔抗人多克隆E-cadherin抗体及内参鼠抗人单克隆β-actin抗体均购自美国Santa Cruze公司.

1.2 方法

1.2.1 X射线的照射条件: 将浓度为1×10^6/mL的细胞以2 mL/孔接种于6孔板, 按照实验设计方案进行分组, 每组设3个复孔, 另设对照孔及调零孔. 将接种好细胞的培养皿放置在培养箱中静置24 h, 待细胞充分贴壁; 细胞贴壁后, 将培养皿置于X线治疗机下进行照射, 分别接受0、2、4、6、8 Gy单次吸收剂量, 剂量率为2 Gy/min, 源皮距为100 cm.

1.2.2 qRT-PCR: 采用TRIzol Reagent法提取细胞内总RNA, 按照TaKaRa PrimeScript RT Reagent Kit试剂盒说明书进行逆转录得到cDNA, 然后进行qRT-PCR过程.

1.2.3 Western blot: 消化并收集细胞, 按照Pierce蛋白提取试剂盒说明书提取细胞总蛋白, BCA法测定蛋白浓度, 经蛋白上样缓冲液变性后, 取20 μL上样, 8%-10%的聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳, 后将蛋白条带转至PVDF膜, 分别用兔抗人多克隆抗体Snail(1∶5000), 兔抗人多克隆抗体E-cadherin(1∶2000)抗体及内参鼠抗人单克隆抗体β-actin(1∶5000)检测上述蛋白的表达水平.

统计学处理 用SPSS17.0统计软件对数据进行统计学分析. 所有数据以mean±SD表示, 数据统计分析采用*t*检验或单因素方差分析. 细胞抑制率% = (OD对照组-OD实验组-OD空白组)/(OD对照组-OD空白组)×100%. 以细胞抑制率为纵坐标, 放疗剂量为横坐标, 做出抑制率曲线. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同剂量照射Eca109细胞后24 h, 细胞内HOTAIR及EMT相关因子的表达情况 Eca109细胞接受X线照射后继续培养24 h, 随着X线照射剂量逐渐增大(0→2→4→6→8 Gy), Eca109细胞内HOTAIR mRNA表达水平逐渐增高: 6 Gy与8 Gy照射组HOTAIR表达水平显著高于0 Gy组; 8 Gy照射组HOTAIR表达水平还显著高于2 Gy照射组与4 Gy照射组, 各组间差异有统计学意义(表1, 均$P<0.01$).

Snail也随X射线照射剂量逐渐增大表达水平逐渐升高: Snail mRNA表达水平在6 Gy与8 Gy照射组细胞内显著高于0 Gy及2 Gy照射组; 8 Gy照射组显著高于4 Gy照射组. Snail蛋白表达水平在4 Gy、6 Gy及8 Gy照射组显著高于0 Gy与2 Gy照射组, 各组间差异有统计学意义(均$P<0.01$)(图1).

E-cadherin随X射线照射剂量逐渐增大表达水平呈下降趋势: E-cadherin mRNA表达水平在6 Gy与8 Gy组显著低于0 Gy、2 Gy及4 Gy照射组; 8 Gy组表达水平还显著低于6 Gy组. E-cadherin蛋白表达水平在6 Gy、8 Gy照射组显著低于0 Gy与2 Gy照射组; 8 Gy照射组也显

创新盘点
本文研究结果显示, X射线通过诱导HOTAIR及EMT相关因子异常表达, 参与肿瘤细胞放疗抵抗过程, 该过程呈现时间及剂量依赖性.

应用要点

随着今后对lncRNA HOTAIR与EMT之间调控机制的不断深入研究, 有望为食管癌早诊、治疗及预后分析提供新的思路和研究方向.

表 1 不同剂量X射线照射Eca109后24 h, 细胞HOTAIR及EMT相关因子的表达

剂量(Gy)	mRNA的表达			蛋白的表达	
	HOTAIR	Snail	E-cadherin	Snail	E-cadherin
0	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	0.027 ± 0.01	0.009 ± 0.00
2	1.17 ± 0.41	1.51 ± 0.60	1.07 ± 0.07	0.054 ± 0.01	0.007 ± 0.00
4	1.49 ± 0.47	1.85 ± 0.36	0.86 ± 0.09^{c}	0.093 ± 0.009^{bc}	0.006 ± 0.00
6	1.68 ± 0.26^{a}	3.63 ± 1.11^{bc}	0.50 ± 0.12^{bdf}	0.102 ± 0.02^{bd}	0.004 ± 0.00^{bc}
8	2.61 ± 0.38^{bde}	5.02 ± 0.78^{bdf}	0.26 ± 0.05^{bdfg}	0.105 ± 0.012^{bd}	0.001 ± 0.00^{bdfg}
*P*值	0.0018	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

^{a}P<0.05, ^{b}P<0.01 *vs* 0 Gy; ^{c}P<0.05, ^{d}P<0.01 *vs* 2 Gy; ^{e}P<0.05, ^{f}P<0.01 *vs* 4 Gy; ^{g}P<0.05 *vs* 6 Gy. HOTAIR: HOX转录反义RNA; EMT: 上皮间质化.

表 2 8 Gy X射线照射Eca109细胞后不同时间点细胞HOTAIR及EMT相关因子的表达

时间(h)	mRNA的表达			蛋白的表达	
	HOTAIR	Snail	E-cadherin	Snail	E-cadherin
0	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	0.28 ± 0.02	0.04 ± 0.006
2	1.19 ± 0.32	1.51 ± 0.60	1.00 ± 0.15	0.26 ± 0.01	0.04 ± 0.004
4	1.52 ± 0.15	1.85 ± 0.36	0.88 ± 0.23	0.36 ± 0.07	0.03 ± 0.004
8	1.58 ± 0.20	3.74 ± 0.93^{bc}	0.52 ± 0.12^{ac}	0.43 ± 0.06^{ac}	0.02 ± 0.003^{bd}
16	2.06 ± 0.25^{bd}	4.92 ± 0.86^{bdf}	0.28 ± 0.16^{bdf}	0.58 ± 0.06^{bdf}	0.01 ± 0.002^{bde}
24	2.94 ± 0.30b^{dfhj}	6.02 ± 1.04^{bdfg}	0.13 ± 0.07^{bdfg}	0.62 ± 0.07^{bdfg}	0.01 ± 0.007^{bdf}
*P*值	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

^{a}P<0.05, ^{b}P<0.01 *vs* 0 h; ^{c}P<0.05, ^{d}P<0.01 *vs* 2 h; ^{e}P<0.05, ^{f}P<0.01 *vs* 4 h; ^{g}P<0.05, ^{h}P<0.01 *vs* 8 h; ^{i}P<0.01 *vs* 16 h. HOTAIR: HOX转录反义RNA; EMT: 上皮间质化.

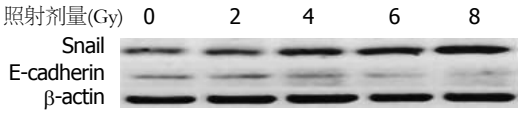


图 1 不同剂量X线照射Eca109细胞后24 h, 细胞内EMT相关蛋白表达情况. EMT: 上皮间质化.

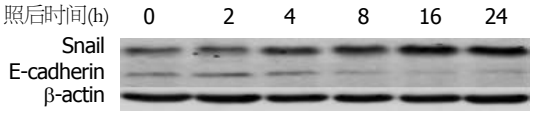


图 2 8 Gy X射线照射Eca109细胞后不同时间点细胞内EMT相关蛋白表达情况. EMT: 上皮间质化.

著低于4 Gy与6 Gy照射组组, 各组间差异有统计学意义(均*P*<0.01).

2.2 8 Gy X射线照射Eca109细胞后经过不同时间点细胞内HOTAIR及EMT相关因子的表达情况 细胞在接受8 GyX射线照射后, 伴随培养时间延长细胞内HOTAIR mRNA表达水平逐渐增高: 培养至16 h, 细胞内HOTAIR表达水平显著高于0 Gy与照射后2 h组; 培养至24 h, HOTAIR表达水平进一步增高, 并显著高于0 Gy、照射后2、4、8及16 h组, 各组间差异有统计学意义(均*P*<0.01).

Snail mRNA及其蛋白伴随培养时间延长表达水平逐渐升高: 培养至8 h, Snail mRNA与其蛋白表达水平显著高于0 Gy组和照射后2 h组; 培养至16 h和24 h其表达水平进一步升高, 各组间差异有统计学意义(均*P*<0.01).

而E-cadherin mRNA及其蛋白表达水平随照射后培养时间延长逐渐降低: 培养至8 h表达水平显著低于0 Gy组和照射后2 h组; 培养至16 h, 24 h其表达水平进一步降低, 并显著低于0 Gy、照射后2 h和4 h组; 另外, 照射后24 h组E-cadherin mRNA表达水平还显著高于8 h培养组(均*P*<0.01)(表2, 图2).

3 讨论

在恶性肿瘤细胞中, 某些特定的lncRNA的表达水平会发生明显改变, 在肿瘤发生、发展中可能发挥着复杂而广泛的调控作用, 并最

终导致肿瘤细胞的恶性增殖, 影响肿瘤患者的病情及后期放化疗效果[4,7-11]. HOTAIR是第一个被发现的通过反式转录调控方式对靶基因进行调控的lncRNA, 其在包括乳腺癌[12]、结直肠癌[13]、肺癌[14]等多种恶性肿瘤中高表达, 并参与肿瘤复发、转移及放化疗抵抗过程[11,15,16]. 另外, 大量的研究已证实, 细胞在由上皮表型向间质表型转变过程中通过诱导上皮标志物E-cadherin、ZO-1等的丢失, 间质标志物Snail、Vimentin表达水平升高促进肿瘤细胞侵袭、转移及放化疗抵抗[5,6]. 高表达的Snail继而通过Wnt/β-catenin[17]、TGF-β1/Snail[18]、Notch/Snail[19]等途径来调节EMT信号转导通路, 在EMT过程中扮演着重要角色.

近年的研究[12,20]发现, 高表达的HOTAIR通过重排基因表达模式, 在表观遗传水平引起EMT进程中关键因子Snail的高表达, 继而参与诱导乳腺及胰腺上皮细胞向胚胎成纤维细胞转化. Xu等[21]通过RNAi技术抑制胃癌AGS细胞系中HOTAIR表达后发现, AGS细胞出现了明显的间质上皮化改变(MET, 即逆转EMT), Western blot研究发现, 细胞间质化表型标志如Vimentin、N-cadherin及Snail、slug、twist表达明显下调, 并以Snail下降最明显, 而上皮化表型标志E-cadherin和ZO-1表达上调. Jiang等[16]体外研究发现, 高表达HOTAIR通过调控Wnt通路抑制因子(wnt inhibitory factor 1, WIF-1)的表达参与胰腺癌细胞(Panc-1, Capan-2)放疗抵抗形成, 后者是Wnt/β-catenin信号转导通路中关键性抑制因子, 通过与Wnt的胞外配体结合阻止该通路下游受体与配体的结合, 保证细胞内β-catenin在较低水平. 另外还发现, 不同剂量X射线(0、2、4、6、8 Gy)照射胰腺癌细胞24 h后qRT-PCR发现, 伴随培养时间延长及照射剂量增加, 细胞内HOTAIR表达水平逐渐升高, 而WIF-1表达水平逐渐降低. 本研究通过不同剂量X线照射Eca109细胞后继续培养24 h后发现, 伴随照射剂量逐渐增高, Eca109细胞内Snail mRNA、Snail蛋白及HOTAIR mRNA表达水平逐渐升高, 而E-cadherin mRNA及相应蛋白表达水平逐渐降低. 另外还发现, 细胞接受8 GyX线照射后伴随培养时间延长, 细胞内HOTAIR mRNA, Snail mRNA与相应蛋白表达水平逐渐升高, 而E-cadherin mRNA及相应蛋白表达水平逐渐降低. 这与Jiang等[16]的研究结果一致. 但Chen等[22]体内研究发现, X射线能抑制HOTAIR及Wnt通路中的β-catenin的核内转移过程, 改善肿瘤细胞的放射敏感性, 出现实验结果相反的原因可能与体内肿瘤细胞在接受放疗后细胞状态不稳定, 而检测HOTAIR过程重复性低有关.

总之, 结合既往文献及本研究结果我们推测, 而X射线呈剂量及时间依赖性诱导Eca109细胞内HOTAIR的高表达, 该诱导作用可能正是肿瘤细胞内EMT相关因子表达异常的原因之一, 最终导致肿瘤细胞放化疗抵抗的产生, 并可能会成为未来预防和治疗恶性肿瘤有效的靶标及患者预后分析的有效指标. 然而, X射线对ESCC细胞内HOTAIR及EMT相关因子影响的具体机制目前仍不清楚, 仍待进一步的体内外研究证实.

名词解释

长链非编码RNA(lncRNAs): 是一类长度大于200 nt且不表现任何蛋白编码潜能的ncRNAs, 起初被认为是RNA聚合酶Ⅱ转录的副产物, 被看为转录的"噪音", 现在发现其以RNA的形式在多种层面调控基因(*Snail*, *E-cadherin*等)表达, 在个体发育、肿瘤发生、侵袭转移过程中发挥重要作用.

4 参考文献

1 Enzinger PC, Mayer RJ. Esophageal cancer. *N Engl J Med* 2003; 349: 2241-2252 [PMID: 14657432 DOI: 10.1056/NEJMra035010]

2 Dungey FA, Caldecott KW, Chalmers AJ. Enhanced radiosensitization of human glioma cells by combining inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase with inhibition of heat shock protein 90. *Mol Cancer Ther* 2009; 8: 2243-2254 [PMID: 19671736 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0201]

3 Caley DP, Pink RC, Trujillano D, Carter DR. Long noncoding RNAs, chromatin, and development. *ScientificWorldJournal* 2010; 10: 90-102 [PMID: 20062956 DOI: 10.1100/tsw.2010.7]

4 Saxena A, Carninci P. Long non-coding RNA modifies chromatin: epigenetic silencing by long non-coding RNAs. *Bioessays* 2011; 33: 830-839 [PMID: 21915889 DOI: 10.1002/bies.201100084]

5 Kaufhold S, Bonavida B. Central role of Snail1 in the regulation of EMT and resistance in cancer: a target for therapeutic intervention. *J Exp Clin Cancer Res* 2014; 33: 62 [PMID: 25084828 DOI: 10.1186/s13046-014-0062-0]

6 李金鹏, 刘昊, 于皆平, 于红刚. 结肠癌阿霉素不敏感与上皮细胞间质细胞样转化的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22: 93-97

7 Yarmishyn AA, Kurochkin IV. Long noncoding RNAs: a potential novel class of cancer biomarkers. *Front Genet* 2015; 6: 145 [PMID: 25954300 DOI: 10.3389/fgene.2015.00145]

8 林梦洁, 陈志强, 尹凌帝, 孙倩, 刘博巽, 孙明, 德伟, 刘志军. 长链非编码RNA HOTAIR对非小细胞肺癌迁移和侵袭能力的影响. 临床肿瘤学杂志 2014; 19: 684-689

9 Xu N, Chen F, Wang F, Lu X, Wang X, Lv M, Lu C. Clinical significance of high expression of circulating serum lncRNA RP11-445H22.4 in breast cancer patients: a Chinese population-based study. *Tumour Biol* 2015; 36: 7659-7665 [PMID: 25929808 DOI: 10.1007/s13277-015-3469-0]

10 徐小雯, 袁捷, 左志贵, 于志奇, 刘永明, 傅传刚. 与

同行评价

本文通过X线照射食管鳞癌细胞Eca109, 通过体外实验研究X射线对食管鳞癌细胞系内HOTAIR及EMT相关因子的影响, 具有一定的理论意义和潜在的临床价值.

放疗抵抗相关的长链非编码RNA在不同放疗敏感性结直肠癌细胞株中的表达. 中华胃肠外科杂志 2014; 17: 1096-1100

11 Yang Z, Zhou L, Wu LM, Lai MC, Xie HY, Zhang F, Zheng SS. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1243-1250 [PMID: 21327457 DOI: 10.1245/s10434-011-1581-y]

12 Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, Tsai MC, Hung T, Argani P, Rinn JL, Wang Y, Brzoska P, Kong B, Li R, West RB, van de Vijver MJ, Sukumar S, Chang HY. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 2010; 464: 1071-1076 [PMID: 20393566 DOI: 10.1038/nature08975]

13 Kogo R, Shimamura T, Mimori K, Kawahara K, Imoto S, Sudo T, Tanaka F, Shibata K, Suzuki A, Komune S, Miyano S, Mori M. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer Res* 2011; 71: 6320-6326 [PMID: 21862635 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1021]

14 Liu XH, Liu ZL, Sun M, Liu J, Wang ZX, De W. The long non-coding RNA HOTAIR indicates a poor prognosis and promotes metastasis in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer* 2013; 13: 464 [PMID: 24103700 DOI: 10.1186/1471-2407-13-464]

15 Liu Z, Sun M, Lu K, Liu J, Zhang M, Wu W, De W, Wang Z, Wang R. The long noncoding RNA HOTAIR contributes to cisplatin resistance of human lung adenocarcinoma cells via downregualtion of p21(WAF1/CIP1) expression. *PLoS One* 2013; 8: e77293 [PMID: 24155936 DOI: 10.1371/journal.pone.0077293]

16 Jiang Y, Li Z, Zheng S, Chen H, Zhao X, Gao W, Bi Z, You K, Wang Y, Li W, Li L, Liu Y, Chen R. The long non-coding RNA HOTAIR affects the radiosensitivity of pancreatic ductal adenocarcinoma by regulating the expression of Wnt inhibitory factor 1. *Tumour Biol* 2015 Oct 19. *[Epub ahead of print]* [PMID: 26482614]

17 Shan S, Lv Q, Zhao Y, Liu C, Sun Y, Xi K, Xiao J, Li C. Wnt/β-catenin pathway is required for epithelial to mesenchymal transition in CXCL12 over expressed breast cancer cells. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8: 12357-12367 [PMID: 26722422]

18 Sato Y, Harada K, Itatsu K, Ikeda H, Kakuda Y, Shimomura S, Shan Ren X, Yoneda N, Sasaki M, Nakanuma Y. Epithelial-mesenchymal transition induced by transforming growth factor-{beta}1/Snail activation aggravates invasive growth of cholangiocarcinoma. *Am J Pathol* 2010; 177: 141-152 [PMID: 20489148 DOI: 10.2353/ajpath.2010.090747]

19 Zhang QD, Xu MY, Cai XB, Qu Y, Li ZH, Lu LG. Myofibroblastic transformation of rat hepatic stellate cells: the role of Notch signaling and epithelial-mesenchymal transition regulation. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19: 4130-4138 [PMID: 26592839]

20 Kim K, Jutooru I, Chadalapaka G, Johnson G, Frank J, Burghardt R, Kim S, Safe S. HOTAIR is a negative prognostic factor and exhibits pro-oncogenic activity in pancreatic cancer. *Oncogene* 2013; 32: 1616-1625 [PMID: 22614017 DOI: 10.1038/onc.2012.193]

21 Xu ZY, Yu QM, Du YA, Yang LT, Dong RZ, Huang L, Yu PF, Cheng XD. Knockdown of long non-coding RNA HOTAIR suppresses tumor invasion and reverses epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer. *Int J Biol Sci* 2013; 9: 587-597 [PMID: 23847441 DOI: 10.7150/ijbs.6339]

22 Chen J, Shen Z, Zheng Y, Wang S, Mao W. Radiotherapy induced Lewis lung cancer cell apoptosis via inactivating β-catenin mediated by upregulated HOTAIR. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8: 7878-7886 [PMID: 26339352]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1233

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1233-1240
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

研究快报 RAPID COMMUNICATION

过表达CXCR4的间充质干细胞缓解实验性结肠炎

刘星星, 范 恒, 唐 庆, 寿折星, 陶 玲, 张丽娟, 左冬梅

刘星星, 范恒, 唐庆, 寿折星, 陶玲, 张丽娟, 左冬梅, 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

刘星星, 主治医师, 医学博士, 主要从事消化系统疾病的研究.

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81273906, 81503416

作者贡献分布: 此课题由范恒设计; 实验过程由刘星星、唐庆、寿折星、陶玲、张丽娟及左冬梅操作完成; 范恒与唐庆指导; 数据分析由刘星星与左冬梅完成; 本论文写作由刘星星与范恒完成.

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: 2015-11-04
修回日期: 2016-01-14
接受日期: 2016-02-02
在线出版日期: 2016-03-18

Intravenous administration of mesenchymal stem cells overexpressing CXCR4 protects against experimental colitis in rats

Xing-Xing Liu, Heng Fan, Qing Tang, Zhe-Xing Shou, Ling Tao, Li-Juan Zhang, Dong-Mei Zuo

Xing-Xing Liu, Heng Fan, Qing Tang, Zhe-Xing Shou, Ling Tao, Li-Juan Zhang, Dong-Mei Zuo, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81273906 and 81503416

Correspondence to: Heng Fan, Professor, Chief Physician, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Avenue, Wuhan 430022, Hubei Province, China. fanheng009@aliyun.com

Received: 2015-11-04
Revised: 2016-01-14
Accepted: 2016-02-02
Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To investigate the role of SDF-1α/CXCR4 axis in the therapeutic effects of lentivirus-preconditioned bone mesenchymal stem cells (BMSCs) for 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)- induced colitis in rats.

METHODS: BMSCs were isolated from Sprague-Dawley (SD) rats and identified by flow cytometry. Lentivirus transfection was applied to over-express CXCR4/GFP (Ad-CXCR4-BMSCs) or null/GFP (Ad-GFP-BMSCs) in BMSCs. Thirty-two SD rats were randomly divided into four groups (n = 8): a control group, a model group, an Ad-GFP-BMSCs group and an Ad-CXCR4-BMSCs group. The rats were grouped to receive various treatments by tail vein injections. On day 1, colitis was induced by the TNBS administration. On day 12, animals were anesthetized and submitted to a laparotomy under sterile conditions. The distal colon was then opened longitudinally, slightly cleaned in physiological saline for faecal residue removal, and tissue samples were harvested and analyzed for various studies.

RESULTS: One week after intravenous administration, Ad-GFP-BMSCs failed to colonize in the inflamed colon and had no

背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)被世界卫生组织列为难治性疾病之一. 间充质干细胞(marrow-derived mesenchymal stem cells, MSCs)以其独特的性质及广泛的应用前景成为了当前IBD治疗研究的热点. 前期研究证实SDF-1α/CXCR4轴能够有效的促进BMSCs归巢于受损结肠部位, 本研究通过对结肠部位炎症因子及转录激活子(signal transducer and activator of transcription, STAT)3表达的检测, 探讨骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)在IBD实验模型的抗炎和免疫调节机制.

同行评议者

陈凤媛, 副教授, 复旦大学附属上海市第五人民医院消化科; 张涛, 副主任医师, 广西中医药大学附属瑞康医院消化内科

研发前沿
虽然已证实系统注射的Ad-CXCR4-BMSCs能够有效到达受损的结肠部位，但其潜在的治疗机制尚不清楚，本研究从抗炎和免疫调节角度探讨BMSCs的治疗机制.

beneficial effect in TNBS-induced colitis. Instead, Ad-CXCR4-BMSCs signally ameliorated both clinical and microanatomical severity of colitis. Immunofluorescence and Western blot showed that Ad-CXCR4-BMSCs migrated toward inflamed colon was more efficient than Ad-GFP-BMSCs. The therapeutic effect of Ad-CXCR4-BMSCs was mediated by the suppression of pro-inflammatory cytokines and STAT3 phosphorylation in injured colon.

CONCLUSION: Our data indicate that over-expression of CXCR4 promotes the *in vivo* mobilization and engraftment of BMSCs into inflamed colon where these cells can function as an anti-inflammatory and immunomodulatory component of the immune system in TNBS-induced colitis.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Mesenchymal stem cells; STAT-3; Immunoregulation; Homing

Liu XX, Fan H, Tang Q, Shou ZX, Tao L, Zhang LJ, Zuo DM. Intravenous administration of mesenchymal stem cells overexpressing CXCR4 protects against experimental colitis in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1233-1240 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1233.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1233

摘要

目的: 观察过表达CXCR4的骨髓间充质干细胞治疗2,4,6-三硝基苯磺酸诱导的实验性结肠炎的效果及其潜在的免疫作用机制.

方法: 从♀SD大鼠骨髓中分离骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)并使用流式细胞术鉴定. 通过慢病毒技术使BMSCs表达GFP(green fluorescent protein-GFP, Ad-GFP-BMSCs)或共表达CXCR4和GFP(Ad-CXCR4-BMSCs), 32只大鼠被随机分成4组(n = 8): 空白组、模型组、Ad-GFP-BMSCs组、Ad-CXCR4-BMSCs组. 采用TNBS诱导实验性结肠炎, 尾静脉注射Ad-CXCR4-BMSCs或Ad-GFP-BMSCs. 治疗1 wk, 收集结肠组织进行HE染色和病理学分析. PCR检测结肠部位干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α)、白介素(interleukin, IL)-6和IL-10的mRNA表达, Western blot检测信号传导子及转录激活子(signal transducer and activator of transcription, STAT)-3和磷酸化STAT-3蛋白表达, 免疫组织化学检测磷酸化STAT3蛋白表达.

结果: 相对于空白组, 模型组结肠部位的IFN-γ、TNF-α、IL-6和IL-10的mRNA表达显著上升, STAT-3及磷酸化STAT-3的蛋白表达明显上升(P<0.05). 系统治疗1 wk后, 相对于模型组, Ad-GFP-BMSCs组大鼠的临床症状及结肠病理损害并没有得到有效的缓解. 相对于Ad-GFP-BMSCs组, Ad-CXCR4-BMSCs组大鼠结肠组织的IFN-γ、TNF-α、IL-6的mRNA表达显著下降, IL-10的mRNA表达显著上升(P<0.05); STAT3及磷酸化STAT-3的蛋白表达显著下降(P<0.05).

结论: 过表达CXCR4的BMSCs可能通过抗炎及免疫调节机制来缓解实验性结肠炎, 这可能为BMSC缓解IBD提供可靠的理论依据.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 炎症性肠病; 骨髓间充质干细胞; STAT–3; 免疫调节; 归巢

核心提示: 前期研究虽已证实SDF-1α/CXCR4轴能够有效的促进骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)归巢于受损结肠部位, 但其具体的治疗机制尚不清楚. 本研究探讨过表达CXCR4的BMSCs可能通过抗炎及免疫调节机制来缓解实验性结肠炎, 这可能为BMSC缓解炎症性肠病提供可靠的理论依据.

刘星星, 范恒, 唐庆, 寿折星, 陶玲, 张丽娟, 左冬梅. 过表达CXCR4的间充质干细胞缓解实验性结肠炎. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1233–1240 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1233.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1233

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD), 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 是一种治疗手段比较有限且易复发的消化系统疾病, 临床表现以腹痛、腹泻、黏液血便为主, 他被世界卫生组织列为难治性疾病之一. 流行

病学资料显示IBD影响了超过250万的欧洲人种, 在其他人群中患病率也在逐年上升[1]. 最新研究表明异常的免疫和炎症应答是IBD发病的关键机制[2,3]. 慢性炎症破坏了肠道上皮层并形成了黏膜溃疡, 抑制炎症的过程伴随着肠道组织重塑[4]. 炎症和免疫系统是由多种细胞因子调控的, 比如干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α)、白介素(interleukin, IL)-2、IL-6、IL-17、IL-4、IL-10、HLA-g和转化生长因子β(transforming growth factor-β, TGF-β)[5-8]. 这些细胞因子通过JAK激酶和信号传导子及转录激活子(signal transducer and activator of transcription, STAT)来发挥其生物学功能. STAT3在天然和获得性免疫应答中都起重要的作用[9], 最近有许多的研究[10,11]在探讨STAT在IBD中扮演的作用, 在人类IBD患者和实验性结肠炎中, STAT3都出现强烈的磷酸化[12]. 这些研究都表明STAT3在IBD的病理过程中扮演着至关重要的作用. 在前期研究[13]中, 我们证实了SDF-1/CXCR4轴能够有效的促进过表达CXCR4的骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)归巢于三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)诱导的结肠炎受损结肠部位的效率. 接下来我们将通过观察IBD结肠部位细胞因子表达, 重点讨论系统性注射BMSCs在治疗实验性结肠炎中潜在的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 8-10周龄大鼠32只♀SPF级SD大鼠, 体质量250 g±30 g, 购自湖北省疾病预防控制中心[许可证号: SCXK(鄂)2010-0057], $Lentivirus^{Null/CXCR4}$和$Lentivirus^{GFP/CXCR4}$(上海吉凯基因, GOSL29538); TRIzol裂解液(上海碧云天生物技术公司); 兔抗大鼠STAT3多克隆抗体(Abcam); 兔抗大鼠磷酸化STAT3(Abcam); 羊抗兔IgG二抗(Beyotime); Goldview核酸染料(北京百泰克生物公司); 即用型免疫组织化学试剂盒(上海迈新生物科技有限公司); 苏木精和曙红(hematoxylin and eosin, HE)染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司); 荧光显微镜(Nikon).

1.2 方法

1.2.1 实验分组及治疗: 在1 wk的驯化期后, 32只♀SD大鼠被随机分成4组(n = 8): 空白组、模型组、Ad-GFP-BMSCs组和Ad-CXCR4-BMSCs组. 在整个实验过程中, 每天记录大鼠的DAI, 每组大鼠都通过尾静脉注射治疗. 第1天, 除空白组外, 其余3组均给予TNBS诱导结肠炎. 第4天, 结肠炎组大鼠分别接受PBS、Ad-GFP-BMSCs(2×10^6/mL)或Ad-CXCR4-BMSCs(2×10^6/mL)各1 mL. 第11天, 大鼠禁食24 h后行麻醉剖腹手术. 迅速取下完整结肠并测量其长度, 然后末端结肠被纵向打开, 用生理盐水轻微冲洗结肠, 收集结肠并用于多种研究. 其中一部分4%多聚甲醛固定, 石蜡包埋切片并HE染色, 镜下观察标本病理学改变; 另一部分标本组织液氮冰冻保存备用.

1.2.2 Western blot检测: 将结肠标本与液氮充分混合研磨, 利用RIPA裂解液充分裂解收集的研磨组织, 组织裂解液13000 r/min, 4 ℃离心10 min, 取上清获得结肠总蛋白萃取物. 取各样品蛋白萃取物上样行SDS-PAGE电泳, 设定电压为100 V, 进入分离胶后, 设定电压为150 V, 当样品缓冲液中的溴酚蓝指示剂到达凝胶底部时, 终止电泳. 根据Marker切下目的条带, 转移缓冲液平衡30 min, 剪和凝胶同样大小的PVDF膜和滤纸, PVDF膜浸在甲醇中2 s后, 和滤纸一起浸泡于印迹缓冲液中10 min, 然后按红色电极(+)-白色板-海绵-3层滤纸-PVDF膜-凝胶-3层滤纸-海绵-黑色板-黑色电极(-)顺序安置, 将槽中加入印迹缓冲液, 按上冰盒, 75 V, 1 h. 用含5%脱脂牛奶的TBST封闭液室温摇床封闭PVDF膜2 h, 先后加入抗-STAT3抗体和抗-磷酸化STAT3, 4 ℃过夜, 然后分别加入酶标羊抗兔Ig-G2抗并进行化学发光分析.

1.2.3 RT-PCR检测: 设计引物序列如表1. 抽提结肠标本的总RNA, 总RNA的抽提根据美国英杰公司的试剂盒操作说明书进行. 并用分光光度计测量RNA的浓度, RNA逆转录体系: 2 μL Total RNA、1 μL Oligo dT(5 μg/μL) 1 μL、ddH_2O 6 μL混匀后离心, 70 ℃温浴5 min, 立即插入到0 ℃冰水浴中1 min, 离心后每个反应管中加入11 μL的RT反应液: 5×RT Buffer 4 μL、RNase 0.5 μL、M-MLV 1 μL、dNTP(2.5 mmol/L)2 μL, ddH_2O 3.5 μL. 逆转录条件: 42 ℃ 1 h, 70 ℃ 10 min, 得到cDNA.

相关报道

大量研究证实干扰素-γ(Interferon-γ, IFN-γ)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α)、白介素(interleukin, IL)-6、IL-10等炎症因子在IBD的发病机制中扮演着重要的作用, 而这些细胞因子通过STAT来发挥其生物学功能.

创新盘点
BMSCs治疗IBD的作用机制尚不清楚, 已知炎症因子及STAT在IBD的发病过程中发挥了重要作用, 本文首次通过检测受损结肠部位炎症因子及STAT变化来探讨BMSCs潜在的作用机制.

表 1 相关基因PCR引物的序列信息

基因	上游引物	下游引物
IL-6	GTCTCGAGCCCACCAGGAACG	AGGGAAGGCAGTGGCTGTCAAC
TNF-α	TGGGTCCAACTCCGGGCTCA	TGGAATCCTTGCCGGTGGCG
IFN-γ	ACAACCCACAGATCCAGCAC	CCAGAATCAGCACCGACTCC
IL-10	TTGAACCACCCGGCATCTAC	CCAAGGAGTTGCTCCCGTTA
GAPDH	GGGGCTCTCTGCTC CTCCCTG	CGGCCAAATCCGTTCACACCG

IL: 白介素; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IFN-γ: 干扰素-γ.

RT-PCR反应体系: SYBR premix ex taq 10 μL, 上下游引物(5 μmol/μL) 1 μL, cDNA 1 μL, ddH_2O 7.5 μL; 反应条件: 预变性95 ℃ 15 s, 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 30 s, 共40个循环. 以GAPDH为内参, 对IL-6、TNF-α、INF-γ、IL-10的产物相对定量, 读取Ct值, 使用$2^{-\triangle\triangle Ct}$方法进行相对定量分析.

1.2.4 免疫组织化学检测: 采用免疫组织化学染色(SP法): 常规石蜡包埋, 切片, 二甲苯脱蜡, 乙醇水化, 微波炉高压修复抗原, 冷却, 3%H_2O_2灭活内源性过氧化物酶, PBS洗涤, 组织画圈, 圈内滴加5%正常山羊血清封闭液, 清除封闭液后再滴加兔抗鼠磷酸化STAT3多克隆抗体, 4 ℃湿盒内过夜, PBS洗涤, 滴加二抗, 室温静置, PBS洗涤, DAB显色, 光镜下显色, 待颜色满意后, 蒸馏水冲洗终止显色, 苏木精复染, 乙醇分化, 氨水返蓝15 s; 乙醇脱水干燥, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 显微镜下观察免疫组织化学结果, 用图像分析软件Image-Pro Plus 6.0进行图像分析, 以黄色或棕黄色染色为阳性表达.

统计学处理 实验计量数据以mean±SE表示, 两组间差异采用*t*检验, 多组间均数差异采用单因素方差分析, 采用SPSS18.0统计软件进行分析, 以$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Ad-CXCR4-BMSCs降低TNBS诱导的结肠炎的炎症应答 通过RT-PCR检测发现, 在第11天, 结肠炎组大鼠受损结肠部位的促炎因子如IFN-γ、TNF-α和IL-6显著增加, 通过系统注射Ad-CXCR4-BMSCs治疗后则显著的下降了IFN-γ(2.37±1.85 *vs* 5.01±2.23, P = 0.49, 图1A)、TNF-α(1.74±0.84 *vs* 3.93±1.92, P = 0.03, 图1B)和IL-6(3.71±2.63 *vs* 6.78±1.64, P = 0.03, 图1C)的mRNA表达. 同时, 相对于模型组, 抗炎因子IL-10的mRNA表达则明显上调(图1D). 但是值得注意的是, Ad-CXCR4-BMSCs治疗后, IL-10的mRNA表达差异并无统计学意义(1.42±0.60 *vs* 1.27±0.45, P = 0.64).

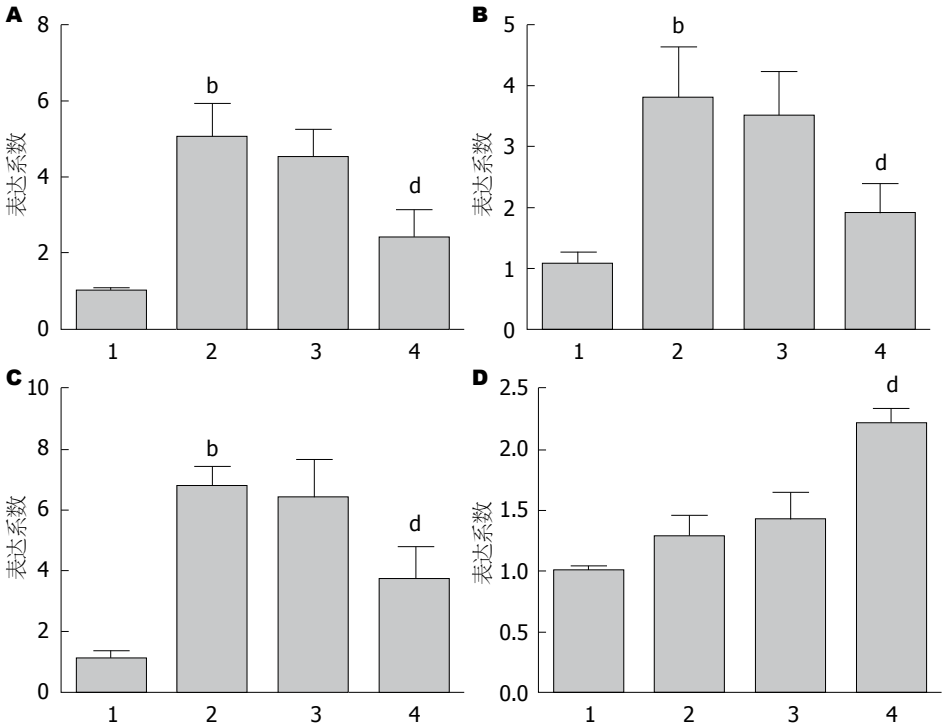
2.2 Western blot表达 Western blot结果表明, 在第11天, 空白组大鼠结肠部位几乎观察不到STAT3和磷酸化STAT3蛋白表达, 而结肠炎大鼠受损结肠部位STAT3和磷酸化STAT3蛋白都是强烈表达的. 系统注射Ad-CXCR4-BMSCs, 而非Ad-GFP-BMSCs, 能显著的下调STAT3和磷酸化STAT3蛋白表达(图2).

2.3 免疫组织化学表达 免疫组织化学分析表明, 在空白组结肠部位仅能发现少量甚至无法察觉到磷酸化STAT3蛋白着色. 相反的是, 在模型组中能够观察到大量的磷酸化STAT3蛋白表达, 并且主要集中于黏膜上皮层和固有层. 通过Ad-CXCE4-BMSCs治疗, 磷酸化STAT3蛋白表达则明显降低(图3). 这些数据证明STAT3活化可能参与了TNBS诱导的结肠炎病理过程.

3 讨论

目前普遍认为IBD的发生是遗传易感个体, 在环境因素及肠道菌丛的参与下, 启动肠道黏膜免疫及非免疫系统, 在抗原的持续刺激和免疫调节紊乱持续存在的情况下, 导致炎症级联的放大和局部炎症介质对组织的损伤. 其中, 黏膜免疫功能的失调是IBD发生并呈慢性持续状态的中心环节[14]. IBD发病时会产生大量的炎症细胞因子及介质的产生, 所产生的炎症分子进一步损伤肠道黏膜屏障功能, 加重黏膜的异常免疫反应, 如此形成恶性循环[4].

MSCs具有多向分化潜能, 在体内能参与



应用要点
通过检测受损结肠部位炎症因子及STAT变化, 有助于更深入理解BMSCs在IBD体内的治疗机制.

B:

图 1 炎症因子的mRNA表达率. A: INF-γ; B: TNF-α; C: IL-6; D: IL-10. 1: 正常组; 2: 模型组; 3: Ad-GFP-BMSCs组; 4: Ad-CXCR4-BMSCs组. $^{b}P<0.01$ *vs* 空白组; $^{d}P<0.01$ *vs* Ad-GFP-BMSCs组. GFP: 绿色荧光蛋白; CXCR4: 趋化因子受体4; BMSCs: 骨髓间充质干细胞; IFN-γ: 干扰素; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IL: 白介素.

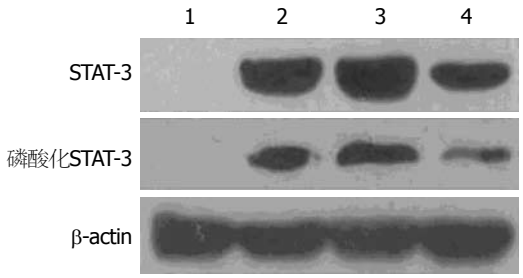


图 2 STAT3和磷酸化STAT3蛋白表达. 1: 正常组; 2: 模型组; 3: Ad-GFP-BMSCs组; 4: Ad-CXCR4-BMSCs组.

损伤组织的修复[15], 同体或同种异体的MSCs在体内能归巢到炎症/损伤部位, 发挥抗炎作用[16], 并能通过直接细胞接触, 或分泌可溶性的免疫调节介质对多种适应性或固有免疫细胞(如T/B淋巴细胞、DC细胞、NK细胞等)均发挥调节作用[17,18]. 有研究[19,20]表明MSCs向炎症组织的归巢能力是决定MSCs疗效的关键, 我们前期的实验[13]证实: 与Ad-GFP-BMSCs组比较, 系统注射的Ad-CXCR4-BMSCs能够更有效的归巢于炎症结肠部位并显著地改善结肠炎大鼠的临床症状, 表明SDF-1α/CXCR4轴在BMSCs归巢于受损的结肠部位中发挥重要的作用. 在本研究中, 我们进一步研究了Ad-CXCR4-BMSCs治疗实验性结肠炎潜在的机制. IBD的致病机制之一是黏膜上皮细胞或巨噬细胞产生大量的炎症细胞因子损害了肠道功能. BMSCs是多功能细胞, 能够促进受损的组织再生, 包括IBD[21,22]. 有证据显示BMSCs能够聚集至炎症结肠, 分化成基质细胞或上皮细胞, 从而促进结肠黏膜修复[23]. 另外也有报道[24]指出BMSCs能够通过发挥免疫调节功能来治疗实验性结肠炎. 研究[25,26]证实多种促炎介质和高度活跃的炎症细胞(如中性粒细胞、树突状细胞和巨噬细胞)参与了IBD和TNBS诱导的结肠炎的病理过程. IL-6被发现大量存在于炎症结肠的固有层并可以抑制T细胞凋亡[27]. 在人类和动物实验模型中, IL-10都能够通过抑制T细胞、巨噬细胞和树突状细胞活化来发挥抗炎作用[24]. Ad-CXCR4-BMSCs能显著的下调促炎细胞因子和上调抗炎细胞因子表明BMSCs在TNBs诱导的结肠炎中具有明显的抗炎效果.

STAT3在多种生物学进程(如抗/促凋亡、细胞运动、调节细胞因子产物和抗菌)中发挥着关键作用[28,29]. STAT3活化是以其磷酸化并转移至细胞核为特征的, 该过程受多种细胞和生长因子(如IL-22、IL-6、

同行评价
本文从结肠黏膜免疫失衡角度, 讨论骨髓间充质干细胞治疗溃疡性结肠炎的研究, 研究路线清晰, 研究方法可靠.

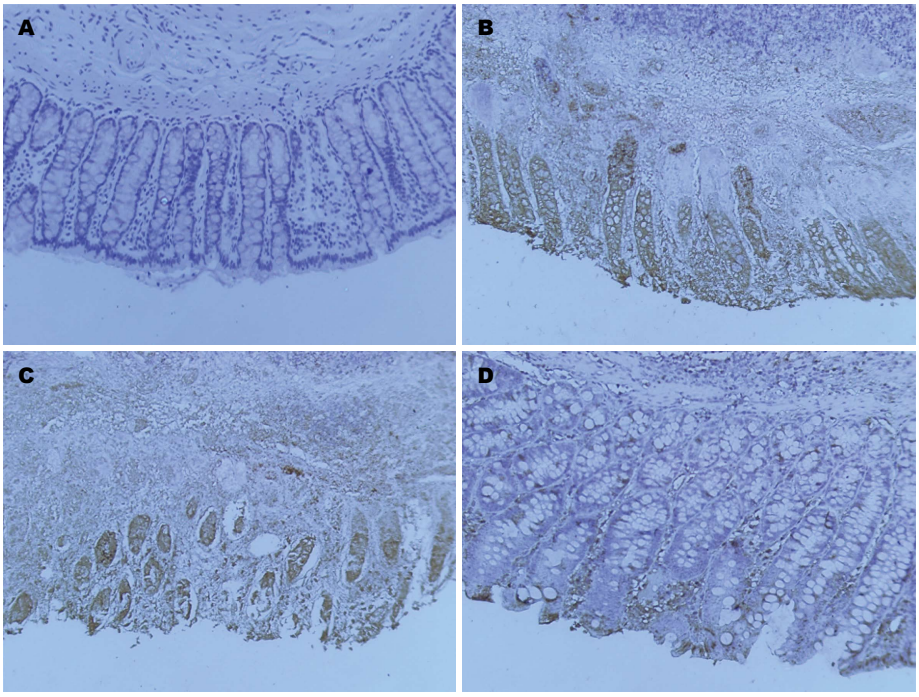


图 3 各组结肠组织磷酸化STAT3蛋白表达(×200). A: 正常组; B: 模型组; C: Ad-GFP-BMSCs组; D: Ad-CXCR4-BMSCs组.

IL-7、IL-11和INF家族)诱导[26]. 本研究[30]中, Western blot表明: STAT3在TNBS诱导的结肠炎中明显活化, 同样的结论出现在DSS诱导的结肠炎[11]和IBD患者中. STAT3活化是于IBD病理过程息息相关的. 一些研究[12,26]表明STAT3能够通过IL-6、IL-22和IL-24诱导活化来发挥功能. 阻断这些信号通路可能成为IBD治疗的靶点[11,31]. 本研究中我们进一步调查了磷酸化STAT3的分布区域, 并在结肠黏膜层, 特别是上皮层和固有层, 观察到了大量的免疫着色. 更有趣的是, 通过尾静脉注射Ad-CXCR4-BMSCs、STAT3和磷酸化STAT3表达显著降低. 这些结论表明Ad-CXCR4-BMSCs可能通归巢于受损结肠, 分化为上皮层或固有层细胞, 并最终通过抑制细胞因子和STAT3活化来治疗结肠炎.

总之, 我们的实验阐明了相对于正常BMSCs, 静脉注射Ad-CXCR4-BMSCs能够更有效的迁移至受损的结肠, 减轻和修复结肠损伤, 改善TNBS诱导的结肠炎症状. 另外, Ad-CXCR4-BMSCs可能通过发挥抗炎和免疫调节功能来治疗实验性结肠炎. 这些结论可能给SDF-1α/CXCR4轴在BMSCs的IBD治疗提供新的思路和理论依据.

4 参考文献

1 Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142: 46-54.e42; quiz e30 [PMID: 22001864]

2 Strober W, Fuss IJ. Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1756-1767 [PMID: 21530742 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.02.016]

3 Castelo-Branco MT, Soares ID, Lopes DV, Buongusto F, Martinusso CA, do Rosario A, Souza SA, Gutfilen B, Fonseca LM, Elia C, Madi K, Schanaider A, Rossi MI, Souza HS. Intraperitoneal but not intravenous cryopreserved mesenchymal stromal cells home to the inflamed colon and ameliorate experimental colitis. *PLoS One* 2012; 7: e33360 [PMID: 22432015 DOI: 10.1371/journal.pone.0033360]

4 Andoh A, Bamba S, Fujiyama Y, Brittan M, Wright NA. Colonic subepithelial myofibroblasts in mucosal inflammation and repair: contribution of bone marrow-derived stem cells to the gut regenerative response. *J Gastroenterol* 2005; 40: 1089-1099 [PMID: 16378172 DOI: 10.1007/s00535-005-1727-4]

5 Chen QQ, Yan L, Wang CZ, Wang WH, Shi H, Su BB, Zeng QH, Du HT, Wan J. Mesenchymal stem cells alleviate TNBS-induced colitis by modulating inflammatory and autoimmune responses. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4702-4717 [PMID: 23922467 DOI: 10.3748/wjg.v19.i29.4702]

6 Nasef A, Mathieu N, Chapel A, Frick J, François S, Mazurier C, Boutarfa A, Bouchet S, Gorin NC, Thierry D, Fouillard L. Immunosuppressive effects of mesenchymal stem cells: involvement of HLA-G. *Transplantation* 2007; 84: 231-237 [PMID: 17667815 DOI: 10.1097/01.tp.0000267918.07906.08]

7 Voswinkel J, Francois S, Simon JM, Benderitter M, Gorin NC, Mohty M, Fouillard L, Chapel A. Use of mesenchymal stem cells (MSC) in chronic inflammatory fistulizing and fibrotic diseases: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol* 2013; 45: 180-192 [PMID: 23296948 DOI: 10.1007/s12016-012-8347-6]

8 Paiotti AP, Ribeiro DA, Silva RM, Marchi P, Oshima CT, Neto RA, Miszputen SJ, Franco M. Effect of COX-2 inhibitor lumiracoxib and the TNF-α antagonist etanercept on TNBS-induced colitis in Wistar rats. *J Mol Histol* 2012; 43: 307-317 [PMID: 22426941 DOI: 10.1007/s10735-012-9400-8]

9 Sugimoto K. Role of STAT3 in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5110-5114 [PMID: 18777586 DOI: 10.3748/wjg.14.5110]

10 Polgar N, Csongei V, Szabo M, Zambo V, Melegh BI, Sumegi K, Nagy G, Tulassay Z, Melegh B. Investigation of JAK2, STAT3 and CCR6 polymorphisms and their gene-gene interactions in inflammatory bowel disease. *Int J Immunogenet* 2012; 39: 247-252 [PMID: 22269120 DOI: 10.1111/j.1744-313X.2012.01084.x]

11 Lee MJ, Lee JK, Choi JW, Lee CS, Sim JH, Cho CH, Lee KH, Cho IH, Chung MH, Kim HR, Ye SK. Interleukin-6 induces S100A9 expression in colonic epithelial cells through STAT3 activation in experimental ulcerative colitis. *PLoS One* 2012; 7: e38801 [PMID: 22962574 DOI: 10.1371/journal.pone.0038801]

12 Mitsuyama K, Matsumoto S, Rose-John S, Suzuki A, Hara T, Tomiyasu N, Handa K, Tsuruta O, Funabashi H, Scheller J, Toyonaga A, Sata M. STAT3 activation via interleukin 6 trans-signalling contributes to ileitis in SAMP1/Yit mice. *Gut* 2006; 55: 1263-1269 [PMID: 16682432 DOI: 10.1136/gut.2005.079343]

13 刘星星, 范恒, 段雪云, 唐庆, 寿折星, 左冬梅, 张丽娟, 曹丹, 邹舟. SDF-1α/CXCR4轴促进间充质干细胞归巢于实验性结肠炎受损结肠. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3623-3630

14 Cho JH. The genetics and immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 458-466 [PMID: 18500230 DOI: 10.1038/nri2340]

15 Shi Y, Hu G, Su J, Li W, Chen Q, Shou P, Xu C, Chen X, Huang Y, Zhu Z, Huang X, Han X, Xie N, Ren G. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression and tissue repair. *Cell Res* 2010; 20: 510-518 [PMID: 20368733 DOI: 10.1038/cr.2010.44]

16 Prockop DJ, Oh JY. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation. *Mol Ther* 2012; 20: 14-20 [PMID: 22008910 DOI: 10.1038/mt.2011.211]

17 Vasandan AB, Shankar SR, Prasad P, Sowmya Jahnavi V, Bhonde RR, Jyothi Prasanna S. Functional differences in mesenchymal stromal cells from human dental pulp and periodontal ligament. *J Cell Mol Med* 2014; 18: 344-354 [PMID: 24393246 DOI: 10.1111/jcmm.12192]

18 Jones BJ, McTaggart SJ. Immunosuppression by mesenchymal stromal cells: from culture to clinic. *Exp Hematol* 2008; 36: 733-741 [PMID: 18474304 DOI: 10.1016/j.exphem.2008.03.006]

19 Karp JM, Leng Teo GS. Mesenchymal stem cell homing: the devil is in the details. *Cell Stem Cell* 2009; 4: 206-216 [PMID: 19265660 DOI: 10.1016/j.stem.2009.02.001]

20 Ko IK, Kim BG, Awadallah A, Mikulan J, Lin P, Letterio JJ, Dennis JE. Targeting improves MSC treatment of inflammatory bowel disease. *Mol Ther* 2010; 18: 1365-1372 [PMID: 20389289 DOI: 10.1038/mt.2010.54]

21 Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. Subcutaneous adipose tissue-derived stem cells facilitate colonic mucosal recovery from 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis in rats. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 826-838 [PMID: 18253953 DOI: 10.1002/ibd.20382]

22 Andoh A, Shioya M, Nishida A, Bamba S, Tsujikawa T, Kim-Mitsuyama S, Fujiyama Y. Expression of IL-24, an activator of the JAK1/STAT3/SOCS3 cascade, is enhanced in inflammatory bowel disease. *J Immunol* 2009; 183: 687-695 [PMID: 19535621 DOI: 10.4049/jimmunol.0804169]

23 Valcz G, Krenács T, Sipos F, Leiszter K, Tóth K, Balogh Z, Csizmadia A, Muzes G, Molnár B, Tulassay Z. The role of the bone marrow derived mesenchymal stem cells in colonic epithelial regeneration. *Pathol Oncol Res* 2011; 17: 11-16 [PMID: 20405350 DOI: 10.1007/s12253-010-9262-x]

24 Parekkadan B, Upadhyay R, Dunham J, Iwamoto Y, Mizoguchi E, Mizoguchi A, Weissleder R, Yarmush ML. Bone marrow stromal cell transplants prevent experimental enterocolitis and require host CD11b+ splenocytes. *Gastroenterology* 2011; 140: 966-975 [PMID: 20955701 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.10.013]

25 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434 [PMID: 17653185 DOI: 10.1038/nature06005]

26 de Faria FM, Luiz-Ferreira A, Socca EA, de Almeida AC, Dunder RJ, Manzo LP, da Silva MA, Vilegas W, Rozza AL, Pellizzon CH, Dos Santos LC, Souza Brito AR. Effects of Rhizophora mangle on Experimental Colitis Induced by TNBS in Rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012; 2012: 753971 [PMID: 23056142 DOI: 10.1155/2012/753971]

27 Neurath MF, Finotto S, Fuss I, Boirivant M, Galle PR, Strober W. Regulation of T-cell apoptosis in inflammatory bowel disease: to die or not to die, that is the mucosal question. *Trends Immunol* 2001; 22: 21-26 [PMID: 11286687 DOI: 10.1016/S1471-4906(00)01798-1]

28 Sugimoto K, Ogawa A, Mizoguchi E, Shimomura Y, Andoh A, Bhan AK, Blumberg RS, Xavier RJ, Mizoguchi A. IL-22 ameliorates intestinal

inflammation in a mouse model of ulcerative colitis. *J Clin Invest* 2008; 118: 534-544 [PMID: 18172556 DOI: 10.1172/jci33194]

29 Nguyen PM, Putoczki TL, Ernst M. STAT3-Activating Cytokines: A Therapeutic Opportunity for Inflammatory Bowel Disease? *J Interferon Cytokine Res* 2015; 35: 340-350 [PMID: 25760898 DOI: 10.1089/jir.2014.0225]

30 Neufert C, Pickert G, Zheng Y, Wittkopf N, Warntjen M, Nikolaev A, Ouyang W, Neurath MF, Becker C. Activation of epithelial STAT3 regulates intestinal homeostasis. *Cell Cycle* 2010; 9: 652-655 [PMID: 20160497 DOI: 10.4161/cc.9.4.10615]

31 Garbers C, Aparicio-Siegmund S, Rose-John S. The IL-6/gp130/STAT3 signaling axis: recent advances towards specific inhibition. *Curr Opin Immunol* 2015; 34: 75-82 [PMID: 25749511 DOI: 10.1016/j.coi.2015.02.008]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1241

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1241-1246
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

研究快报 RAPID COMMUNICATION

幽门螺杆菌不同运送条件及培养基分离效果的比较

王 琼, 杨 杰, 潘 科, 黄亚琴, 陈峥宏, 王 菲, 綦廷娜

王琼, 黄亚琴, 陈峥宏, 王菲, 綦廷娜, 贵州医科大学基础医学院微生物学教研室 贵州省贵阳市 550025

杨杰, 贵州医科大学附属医院消化内科 贵州省贵阳市 550025

潘科, 黔南州人民医院消化内科 贵州省都匀市 558000

王琼, 在读硕士, 从事幽门螺杆菌耐药相关研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81460314
贵州省科技厅-贵阳医学院联合基金资助项目, No. 黔科合LH字[2014]7075

作者贡献分布: 此课题由陈峥宏设计; 研究过程由王琼与黄亚琴操作完成; 研究所用临床标本由杨杰与潘科提供; 部分临床菌株由王菲与綦廷娜提供; 本论文由陈峥宏指导; 王琼写作完成.

通讯作者: 陈峥宏, 教授, 550025, 贵州省贵阳市贵安新区大学城, 贵州医科大学基础医学院微生物学教研室.
chenzhenghong@hotmail.com
电话: 0851-88174025

收稿日期: 2016-01-04
修回日期: 2016-01-15
接受日期: 2016-01-31
在线出版日期: 2016-03-18

Effect of different transport conditions and media on *Helicobacter pylori* isolation

Qiong Wang, Jie Yang, Ke Pan, Ya-Qin Huang, Zheng-Hong Chen, Fei Wang, Ting-Na Qi

Qiong Wang, Ya-Qin Huang, Zheng-Hong Chen, Fei Wang, Ting-Na Qi, Department of Microbiology, School of Basic Medical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou Province, China

Jie Yang, Department of Gastrointestinal Medicine, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou Province, China

Ke Pan, Department of Gastrointestinal Medicine, the People's Hospital of Qiannan Autonomous Prefecture, Duyun 558000, Guizhou Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81460314; the United Foundation of Guiyang Medical University-Science and Technology Department of Guizhou Province, No. LH[2014]7075

Correspondence to: Zheng-Hong Chen, Professor, Department of Microbiology, School of Basic Medical Sciences, Guizhou Medical University, University Town, Guian District, Guiyang 550025, Guizhou Province, China. chenzhenghong@hotmail.com

Received: 2016-01-04
Revised: 2016-01-15
Accepted: 2016-01-31
Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To optimize transport conditions and medium for *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) isolation and culture.

METHODS: Live *H. pylori* bacteria were added into Broth medium with sucrose (1 g/mL) and 50% (mL/mL) calf serum and skim milk quantitatively. The bacteria in transport media were placed at different temperatures in different atmospheres for 6 hours, and then inoculated onto Columbia agar medium supplemented with 10% defibrinated sheep blood and cultured at 37 ℃ micro-aerobically for 5 d. *H. pylori* colonies were counted and compared. Twenty gastric mucosa specimens from patients diagnosed with gastritis or gastric ulcer were inoculated into Columbia agar and hydrolyzed casein agar supplemented with 10% defibrinated sheep blood and selective antibiotics, then incubated for 5 d at 37 ℃ micro-aerobically. Growth of *H. pylori* was observed and compared.

背景资料
诊断幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的金标准是病原学检测, 但由于该菌对外界因素敏感且培养条件苛刻, 所以阳性率往往不高.因此本实验对标本运送中温度、气体和营养对*H. pylori*存活的影响, 以及哥伦比亚血琼脂培养基和MH血琼脂培养基分离培养的效果进行了实验对比.

同行评议者
陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科; 刘纯杰, 研究员, 军事医学科学院生物工程研究所

研发前沿

*H. pylori*的耐药及其快速诊断以及提高根除效果的措施是目前该领域研究热点，充分了解该菌的耐药特征以及研发耐药诊断分子试剂均离不开分离培养，最大限度地降低甚至排除培养假阴性，并且缩短培养所需时间也是有意义的研究工作.

RESULTS: The number of live bacteria in calf serum medium was higher than that in skim milk. The number of live bacteria in micro-aerobic and candle jar was higher than that in air and transporting media covered with paraffin oil. The number of bacteria in calf serum media placed micro-aerobically at 37 ℃ (or 26 ℃) was higher than that at 6 °C (P < 0.05). There was no significant difference in the number of live bacteria when placed micro-aerobically or in candle jar (P > 0.05). The positive rate (75%) of 20 samples isolated with hydrolyzed casein blood agar was higher than that isolated with Columbia blood agar (45%) (χ^2 = 4.401, P < 0.05).

CONCLUSION: *H. pylori* clinical samples can be placed in calf serum medium in micro-aerobic conditions and transported to the laboratory for isolation. Hydrolyzed casein agar supplemented with 10% defibrinated sheep blood is better than Columbia agar medium supplemented with 10% defibrinated sheep blood for *H. pylori* isolation.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Medium; Micro-aerobic; Transportation

Wang Q, Yang J, Pan K, Huang YQ, Chen ZH, Wang F, Qi TN. Effect of different transport conditions and media on *Helicobacter pylori* isolation. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1241-1246 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1241.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1241

摘要

目的: 探索幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的适宜运送条件及培养基.

方法: 将*H. pylori*实验菌株新鲜菌液分别定量加入含1 g/mL蔗糖和50%(mL/mL)小牛血清布氏肉汤以及脱脂乳运送液, 分别置不同温度及气体环境6 h后接种于哥伦比亚血琼脂培养基微需氧培养5 d, 计数并比较培养基上菌落数; 将20例临床标本分别接种于MH血琼脂培养基和哥伦比亚血琼脂培养基37 ℃微需氧培养5 d, 观察培养基上*H. pylori*生长情况, 比较分离效果.

结果: 小牛血清运送液中活菌数多于脱脂乳中活菌数; 微需氧和烛缸运送下活菌数多于置空气下和有石蜡油覆盖的运送液中活菌数; 置微需氧37 ℃(或26 ℃)的小牛血清运送液中活菌数多于6 ℃下的活菌数(P<0.05); 置微需氧和烛缸的运送液中活菌数无明显差异(P>0.05). 20例胃镜确诊为胃炎、胃溃疡且组织尿素酶阳性的临床标本经MH血琼脂培养阳性率(75%)高于哥伦比亚血琼脂阳性率(45%)(χ^2 = 4.401, P<0.05).

结论: 胃黏膜标本可置于小牛血清运送液于微需氧条件(或烛缸)下运至实验室培养; 从临床胃黏膜标本中进行*H. pylori*的分离培养时, MH血琼脂培养基分离效果优于哥伦比亚血琼脂培养基.

© 2016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; 培养基; 微需氧; 运送

核心提示: 将感染的胃黏膜标本置于小牛血清运送液, 于微需氧罐或烛缸内, 是较好的运送条件. MH血琼脂分离 培养*H. pylori*阳性率高于哥伦比亚血琼脂, 且同一标本在MH血平板上生长的菌落较哥伦比亚血平板上多. 因此推荐用含抗生素添加剂和10%动物血液的MH琼脂培养基分离胃黏膜中*H. pylori*.

王琼, 杨杰, 潘科, 黄亚琴, 陈峥宏, 王菲, 綦廷娜. 幽门螺杆菌不同运送条件及培养基分离效果的比较. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1241-1246 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1241.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1241

相关报道

*H. pylori*在体外环境中培养时，对营养要求较高，运送液的成分也是*H. pylori*分离培养成功不可忽视的重要条件之一，全血与血清均能提供多种促进其生长的生物活性物质，如齐程怡等报道动物血清能促进*H. pylori*的生长.

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是微需氧、革兰阴性螺旋杆菌, 是慢性活动性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关组织淋巴瘤的主要病因, 与胃癌的发生亦有密切联系, 被称为I类致癌因子[1,2]. 近年来有研究证实*H. pylori*感染与2型糖尿病、慢性阻塞性肺疾病、干燥综合征、慢性荨麻疹、口腔疾病的发生也有关系[3-7]. *H. pylori*属于苛养菌, 因此临床一般不进行该菌的分离培养, 通常依靠^{14}C呼气试验快速诊断其感染, 但该试验有可能出现假阳性结果. 因此从活检胃黏膜组织中分离培养出*H. pylori*仍然是诊断该菌感染的金标准, 并且在目前*H. pylori*耐药性严重的情况下, 对于按照诊疗指南初治失败的患者则需要根据药敏结果选择敏感抗生素进行治疗, 在此情况下则需进行*H. pylori*的分离培养. 为了提高*H. pylori*

临床菌株的分离成功率, 本实验采用不同的运送条件运送模拟的菌株, 以探讨*H. pylori*的适宜运送条件. 并且对20例临床标本分别以哥伦比亚血琼脂培养基和水解酪蛋白(mueller-hinton, MH)血琼脂培养基进行分离培养, 探讨该菌初次分离培养的适宜培养基.

1 材料和方法

1.1 材料 质控菌株SS1获赠于中国疾病预防控制中心传染病预防控制所, 临床菌株B7和E24分离自贵阳市儿童医院及贵阳市白云区人民医院就诊的胃溃疡患者的胃黏膜组织. 主要仪器是数显隔水式培养箱(武汉, 303A13-4型)、密封罐(日本, MGC Anaero Pack)、尿素酶试纸(珠海市克迪科学技术开发公司)、净化工作台(江苏, SW-CJ-1F型). 小牛血清(Solarbio), 进口脱脂牛奶, *H. pylori*添加剂(英国, OXOID公司, SRE0147), 微需氧产气袋(日本, MGC Anaero Pack), 新鲜脱纤维羊血, 哥伦比亚琼脂培养基(上海博微生物科技有限公司), MH琼脂培养基(杭州天和微生物试剂有限公司), 布氏肉汤(北京奥博星生物技术有限责任公司), 液体石蜡油, 蔗糖.

1.2 方法

1.2.1 培养基的制备: 哥伦比亚血琼脂培养基和MH血琼脂培养基, 分别于100 mL融化并冷却至60 ℃左右的哥伦比亚琼脂和MH琼脂中加入10 mL脱纤维绵羊血和400 μL *H. pylori*添加剂(万古霉素、多粘菌素、两性霉素), 使培养基含0.4%的混合抗生素.

1.2.2 运送液的配置: 无菌操作配制小牛血清和脱脂乳运送液. 在100 mL含2 g/mL蔗糖的布氏肉汤中加入100 mL小牛血清, 混匀后分装于1.5 mL螺旋口冻存管中, 每管0.5 mL. 经105 ℃高压蒸汽灭菌的脱脂乳分装于1.5 mL螺旋口冻存管中, 每管0.5 mL.

1.2.3菌液样本的制备: 将2株已经分纯的临床*H. pylori*和质控菌株SS1接种于10%绵羊血哥伦比亚琼脂培养基, 37 ℃微需氧培养5 d. 将生长良好的细菌新鲜培养物用灭菌生理盐水收集与洗涤后, 配制为OD_{600}为0.166, 做10倍连续稀释4次, 各菌液分别涂布3个平板, 每个平板涂布接种50 μL, 测量初始菌液浓度.

1.2.4 不同运送条件下细菌存活数的检测: 分别取3株菌50 μL菌液各置于12管小牛血清运送液和12管脱脂乳运送液中混匀, 共计36管含菌小牛血清运送液和36管含菌脱脂乳运送液又分别分为放置6 ℃、37 ℃和26 ℃ 3个温度组, 每组24管. 每种温度条件下又分为置于4种气体环境组, 每组3管, 分别为置于空气环境, 运送液表面滴加灭菌石蜡油覆盖, 置于放微需氧产气袋的厌氧罐内以及置于烛缸内. 放置6 h后, 从各管运送液中分别取150 μL接种于3个哥伦比亚血琼脂平板, 每个平板涂布接种50 μL. 各平板置微需氧培养5 d, 观察并计生长菌落数.

1.2.5 两种培养基分离培养效果的比较: 将胃镜下采集的20例组织尿素酶阳性、胃镜检查为胃炎、胃溃疡患者的胃黏膜标本置300 μL小牛血清运送液内放于厌氧罐内(内置微需氧产气袋)运送至实验室, 用眼科剪将胃黏膜组织充分剪碎至无肉眼可见组织块的组织悬液, 充分混匀并立即取100 μL悬液分别接种于哥伦比亚血琼脂培养基和MH血琼脂培养基, 接种后置37 ℃微需氧培养5 d. 5 d后观察培养基上细菌分离情况并计数*H. pylori*菌落数.

统计学处理 用SPSS18.0统计软件对培养结果在不同条件间进行配对t检验; 对两种培养基培养结果的阳性率进行χ^2分析. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 运送条件实验结果

2.1.1 运送液中细菌数量检查: 50 μL菌液样本接种于MH血琼脂平板, 37 ℃微需氧培养5 d后平板上菌落数均介于400-500个.

2.1.2 6 ℃下两种运送液于不同气体环境的运送效果: 6 ℃分别于空气、石蜡油覆盖、微需氧和烛缸4种气体环境下放置6 h后, 含菌脱脂乳运送液和小牛血清运送液中活菌数如表1, 在小牛血清运送液中, 置微需氧和置空气相比, 前者活菌数高于后者($t = 38.754$, $P<0.05$); 微需氧与覆盖石蜡油条件相比, 前者活菌数高于后者($t = 36.095$, $P<0.05$); 置烛缸与微需氧罐相比, 活菌数无差异($t = 2.079$, $P>0.05$); 无论是置微需氧罐还是置烛缸内, 小牛血清运送液中活菌数均较脱脂乳运送液中活菌数高(t值分别为13.387和17.866, $P<0.05$).

2.1.3 37 ℃下两种运送液于不同气体环境的运送效果: 37 ℃分别于空气、石蜡油覆盖、微

创新盘点

*H. pylori*临床标本的运送宜置于含蔗糖和小牛血清的运送液, 并且置微需氧罐或烛缸内运送至实验室; 用MH血琼脂培养基分离*H. pylori*可获得较好的培养效果.

应用要点
本文的结果为*H. pylori*临床样本运送条件和分离培养基的选择提供了实验依据.

表 1 菌液样本不同温度放置6 h后活菌数 (CFU/50 μL)

温度	脱脂乳运送液				小牛血清运送液			
	空气	烛缸	微需氧	滴石蜡油	空气	烛缸	微需氧	滴石蜡油
6 ℃	10.3	156.7	158.7	34.3	27.7	398.0	422.7	75
37 ℃	12.3	184.0	187.3	38.0	40.0	453.3	458.7	99
26 ℃	10.6	178.3	181.7	34.0	37.0	447.0	455.3	91

表中数值为3株菌液每种条件重复3次, 每次接种3个平板所得平均菌落数.

需氧和烛缸4种气体环境下放置6 h后, 含菌脱脂乳运送液和小牛血清运送液中活菌数如表1, 在小牛血清运送液中, 置微需氧和置空气相比, 前者活菌数高于后者(t = 69.351, P<0.05); 微需氧与覆盖石蜡油条件相比, 前者活菌数高于后者(t = 58.517, P<0.05); 置烛缸与微需氧罐相比, 活菌数无差异(t = 0.763, P>0.05); 无论是置微需氧罐还是置烛缸内, 小牛血清运送液中活菌数均较脱脂乳运送液中活菌数高(t值分别为24.57和32.715, P<0.05).

2.1.4 26 ℃下两种运送液于不同气体环境的运送效果: 26 ℃分别于空气、石蜡油覆盖、微需氧和烛缸4种气体环境下放置6 h后, 含菌脱脂乳运送液和小牛血清运送液中活菌数如表1. 在小牛血清运送液中, 置微需氧和置空气相比, 前者活菌数高于后者(t = 81.503, P<0.05); 微需氧与覆盖石蜡油条件相比, 前者活菌数高于后者(t = 75.786, P<0.05); 置烛缸与微需氧罐相比, 活菌数无差异(t = 1.40, P>0.05); 无论是置微需氧罐还是置烛缸内, 小牛血清运送液中活菌数均较脱脂乳运送液中活菌数高(t值分别为26.679和40.761, P<0.05).

2.1.5 3种温度下运送效果的比较: 小牛血清运送液于微需氧放置于37 ℃与26 ℃, 运送液中活菌数无差异(t = -0.460, P>0.05); 放置于37 ℃与6 ℃比较, 前者运送液中活菌数大于后者(t = -3.434, P<0.05); 放置于26 ℃与6 ℃比较, 前者运送液中活菌数大于后者(t = 5.456, P<0.05).

2.2 临床标本在两种培养基上的分离情况 20例临床标本分别在哥伦比亚血琼脂培养基和MH血琼脂培养基上的分离培养情况如表2, MH血琼脂培养基上细菌生长较哥伦比亚血琼脂培养基上细菌生长良好, 20例标本经MH血琼脂培养, 有15例阳性, 5例阴性, 阳性率为75%; 经哥伦比亚血琼脂培养, 有9例阳性, 11例阴性, 阳性率45%. MH血琼脂培养基培养阳性率高于哥伦比亚血琼脂, 经χ^2检验, χ^2 = 4.401, P<0.05.

表 2 2种培养基分离培养生长情况

标本编号	10%绵羊血哥伦比亚琼脂培养基	10%绵羊血MH琼脂培养基
1	++	+++
2	+	+++
3	–	–
4	+	++
5	–	+++
6	–	–
7	–	++
8	+	++
9	–	–
10	–	–
11	+	++
12	++	+++
13	–	–
14	–	+
15	++	+++
16	–	+
17	–	++
18	+	++
19	–	+
20	+	+++

+++: 平板上*H. pylori*菌落数≥20个; ++: 10≤平板上*H. pylori*菌落数<20; +: 1≤平板上*H. pylori*菌落数<10; –: 平板上无菌生长.

3 讨论

*H. pylori*的诊断方法众多, 其诊断价值各说不一. 有文献报道一些侵入性和非侵入性方法诊断*H. pylori*, 但都未成为诊断的金标准[8,9]. 从传染病学角度来看, 诊断的金标准应是病原学检测. 但由于*H. pylori*是一种生存、生长条件都非常苛刻的细菌, 对培养基及培养条件要求很高, 较一般细菌难培养. 该菌对氧极其敏感, 离开机体后易死亡, 空气中放置2-3 h后再传代常

不成功[10]. 因此难以在临床常规开展*H. pylori*的培养. 而*H. pylori*分离培养在一些情况下又是必须的, 例如对于抗生素初治失败患者, 是否为耐药菌感染, 则需要通过分离培养细菌并进一步进行药敏试验才能为下一步抗生素的选择提供临床依据.

本实验室在以往研究中, 临床标本采集后置小牛血清运送液于1.5 mL离心管中置于放冰袋的泡沫盒内运送至实验室, 从标本采集到实验室分离所经时间一般在3-6 h, 阳性率较低, 不高于30%. 多种因素影响标本中*H. pylori*的存活. 包括患者用药(PPI和抗生素)、标本运送条件(温度条件、气体环境、营养)、培养条件等. 1997年徐顺福等报道了将临床胃黏膜标本于4 ℃、15 ℃、30 ℃三个不同的温度下运送, 发现标本放置4 h内, 15 ℃、30 ℃对*H. pylori*活性没有影响这提示如标本能在4 h内接种培养, 可以在常温下放置而不影响*H. pylori*活性[11]. 这与我们的研究结果也一致. *H. pylori*对氧敏感, 标本运送过程中接触氧时间越长, 分离效果越差, 因此需尽量置于微需氧环境下运送标本, 常常需要特殊的设备以提供8%H_2、5%O_2、7%CO_2、80%N_2混合气体. 烛缸法是一种古老的制备缺氧或微需氧的方法, 通过蜡烛燃烧消耗氧气, 产生二氧化碳来达到缺氧或微需氧的气体环境, 产生的混合气体成分虽不如厌氧罐抽气-换气方法[12]或厌氧袋化学产气那么准确, 但烛缸法设备要求低, 且经济实惠, 易于普及推广[13,14]. 齐程怡等[15]报道动物血清能促进*H. pylori*的生长, 本实验中使用含小牛血清运送液与脱脂乳运送液分别运送标本, 结果显示, 将细菌或标本置于螺旋帽离心管里的小牛血清运送液中, 于微需氧或烛缸条件下常温运送至实验室, 是较好的运送条件.

目前分离培养*H. pylori*多采用哥伦比亚血琼脂培养基, 但我们之前采用该培养基对近500例胃镜检查诊断为胃炎、胃溃疡患者胃黏膜中*H. pylori*分离培养的阳性率较低, 约为30%. 本实验选择MH血琼脂培养基与哥伦比亚血琼脂培养基进行*H. pylori*分离培养的比较. 通过对20例临床标本分离培养的比较, MH血琼脂培养基获得较高阳性率, 经卡方检验, 差异显著. 而且从培养基上细菌生长情况看, 同一临床标本在MH血琼脂培养基上生长的菌落较哥伦比亚血琼脂培养基上多. 本实验室对于胃黏膜样本接种前的处理是采用眼科剪充分剪碎组织制备悬液, 较研磨器研磨相比, 不如研磨器研磨均匀, 在取样接种时可能存在误差, 但由于胃黏膜样本较小, 一般为2-3 mm^2大小, 为保证较高的细菌浓度, 运送液体积也不宜过多, 因此不宜再转移至研磨器内研磨. 我们曾使用研磨棒直接在运送管内研磨, 效果和用眼科剪剪碎至悬液相似, 所以本实验仍然采用简便易行的眼科剪剪碎的方法处理样本, 在接种前充分混匀悬液, 尽量减小误差. MH琼脂培养基为水解酪蛋白(Mueller-Hinton)培养基, pH 7.2-7.4, 主要成分是酸水解酪蛋白、可溶性淀粉、牛肉浸出粉、琼脂, 是NCCLS美国国家临床实验室标准委员会采用的需氧菌及兼性厌氧菌药敏试验标准培养基, 营养较为丰富, 适宜于进行胃黏膜中*H. pylori*的初次分离培养.

名词解释

微需氧菌: 在低氧浓度(5%-6%)环境中生长最好, 氧浓度超过10%则对其生长有抑制作用的细菌, 如*H. pylori*、空肠弯曲菌.

4 参考文献

1 Axon AT. Relationship between Helicobacter pylori gastritis, gastric cancer and gastric acid secretion. *Adv Med Sci* 2007; 52: 55-60 [PMID: 18217390]

2 Makola D, Peura DA, Crowe SE. Helicobacter pylori infection and related gastrointestinal diseases. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41: 548-558 [PMID: 17577110]

3 Eshraghian A, Eshraghian H, Ranjbar Omrani G. Insulin resistance and metabolic syndrome: is Helicobacter pylori criminal? *Minerva Gastroenterol Dietol* 2011; 57: 379-385 [PMID: 22105726]

4 王静, 王江滨, 李立. 慢性阻塞性肺病患者幽门螺杆菌感染状况及其致病危险性分析. 中国老年病学杂志 2010; 30: 607-608

5 Hasni S, Ippolito A, Illei GG. Helicobacter pylori and autoimmune diseases. *Oral Dis* 2011; 17: 621-627 [PMID: 21902767 DOI: 10.1111/j.1601-0825.2011.01796.x]

6 Magen E, Mishal J. Possible benefit from treatment of Helicobacter pylori in antihistamine-resistant chronic urticaria. *Clin Exp Dermatol* 2013; 38: 7-12 [PMID: 23083221 DOI: 10.1111/j.1365-2230.2012.04467.x]

7 金早蓉, 宋斌, 张国志, 邹韵秋. 幽门螺杆菌与口腔疾病研究新进展. 中国热带医学 2010; 10: 1024-1026

8 Koletzko S, Jones NL, Goodman KJ, Gold B, Rowland M, Cadranel S, Chong S, Colletti RB, Casswall T, Elitsur Y, Guarner J, Kalach N, Madrazo A, Megraud F, Oderda G. Evidence-based guidelines from ESPGHAN and NASPGHAN for Helicobacter pylori infection in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 53: 230-243 [PMID: 21558964 DOI: 10.1097/MPG.0b013e3182227e90]

9 Allahverdiyev AM, Bagirova M, Caliskan R, Tokman HB, Aliyeva H, Unal G, Oztel ON,

同行评价

本文对*H. pylori*适宜运送条件及培养基的初步研究，为临床如何进行该菌的分离和检测进行了初步研究，有一定的临床价值.

Abamor ES, Toptas H, Yuksel P, Kalayci F, Aslan M, Erzin Y, Bal K, Kocazeybek BS. Isolation and diagnosis of Helicobacter pylori by a new method: microcapillary culture. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 2622-2628 [PMID: 25759529 DOI: 10.3748/wjg.v21.i9.2622]

10 刘生杰, 梁浩. 幽门螺杆菌实验室培养方法的探讨. 中国病原生物学杂志 2007; 2: 432-447

11 徐顺福, 袁建平, 张红杰, 赵志泉. 幽门螺杆菌的培养研究. 南京医科大学学报 1997; 17: 281-283

12 周华, 徐帆, 李平, 楚更五, 王根春. 自创微需氧罐优选幽门螺杆菌培养与保存条件. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1855-1858

13 郭春亮, 李素芝, 孙红武, 廖亚玲, 任莉, 陈友伟, 卢永周, 邹全明, 郭刚. 高原地区幽门螺杆菌的分离培养方法. 临床检验杂志 2011; 29: 84-86

14 万学勤, 周鹏志, 马峰, 李万可兰, 谭淑仪, 邝佳. 烛缸法分离培养及冷冻法保存幽门螺杆菌. 佛山科学技术学院学报 2011; 29: 82-85

15 齐程怡, 沈月芳, 周明明, 郭雅君, 李建平, 曹禾谦. 幽门螺杆菌常规条件分离培养系统的建立及临床应用. 医学信息 2013; 26: 226-227

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1247

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1247-1251
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

胃食管反流病患者甘丙肽、5-羟色胺的表达及其与精神心理因素的相关性

袁 媛, 刘恒旸, 陈 阳, 肖茹萍, 卜 平

袁媛, 刘恒旸, 陈阳, 肖茹萍, 卜平, 扬州大学医学院中西医结合系 江苏省扬州市 225001

袁媛, 在读硕士, 主要从事消化系统胃食管反流病的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81173392

作者贡献分布: 课题设计、研究过程、数据分析、论文写作均由袁媛、刘恒旸、陈阳、肖茹萍及卜平共同完成.

通讯作者: 卜平, 教授, 主任医师, 225001, 江苏省扬州市淮海路11号, 扬州大学医学院中西医结合系. boping@yzu.edu.cn
电话: 0514-7978801

收稿日期: 2015-12-29
修回日期: 2016-01-18
接受日期: 2016-01-23
在线出版日期: 2016-03-18

Correlation between plasma galanin and 5-hydroxytryptamine and psychological status in patients with gastroesophageal reflux disease

Yuan Yuan, Heng-Yang Liu, Yang Chen, Ru-Ping Xiao, Ping Bu

Yuan Yuan, Heng-Yang Liu, Yang Chen, Ru-Ping Xiao, Ping Bu, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173392

Correspondence to: Ping Bu, Professor, Chief Physician, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Medical College of Yangzhou University, 11 Huaihai Road, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China. boping@yzu.edu.cn

Received: 2015-12-29
Revised: 2016-01-18
Accepted: 2016-01-23
Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To investigate the difference in plasma galanin (GAL) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) in patients with different subtypes of gastroesophageal reflux disease (GERD) and their relationship with patients' anxiety and depression.

METHODS: The Self-rating Anxiety Scale (SAS) and Self-rating Depression Scale (SDS) were used to assess anxiety and depression in GERD patients and healthy controls. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to analyze the contents of 5-HT and GAL in plasma of GERD patients and healthy controls.

RESULTS: Compared with the healthy control group, GERD patients without anxiety or depression had increased 5-HT and decreased GAL (t = 1.97, P < 0.05). Compared with reflux esophagitis (RE) patients, non-erosive reflux disease (NERD) patients had more serious anxiety and depression (F = 55.92, 36.51, P < 0.05). Compared with the control group, 5-HT decreased and GAL increased in NERD patients (F = 54.53, 8.00, P < 0.05). 5-HT had a negative correlation with SAS and SDS scores (r = -0.789, -0.787, P < 0.05), but GAL had a positive correlation with SAS and SDS scores (r = 0.688, 0.705, P < 0.05). 5-HT was negatively

背景资料
胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)通常被分为三种类型: 非糜烂性反流病、反流性食管炎和Barrett食管. 目前5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)在GERD发病机制中的作用及甘丙肽对消化系的作用均有报道, 但不同类型GERD患者5-HT、甘丙肽水平与焦虑、抑郁的相关性未见报道.

同行评议者
克力木·阿不都热依木, 教授, 主任医师, 新疆维吾尔自治区人民医院微创外科; 施诚仁, 教授, 上海交通大学医学院附属新华医院小儿外科

研发前沿
GERD与心理疾病之间的关系日益受到各界重视, 两者之间的生理关系值得进一步研究, 对甘丙肽(galanin, GAL)及其受体的研究, 可能是未来抗焦虑、抑郁药物的研究发展方向, 对治疗GERD也起着至关重要的作用.

correlated with GAL (r = -0.744, P < 0.05).

CONCLUSION: In GERD patients without anxiety or depression, 5-HT increases and GAL decreases. NERD patients have more serious anxiety and depression problems than RE patients, and 5-HT decreases and GAL increases. The more serious anxiety and depression problems, the lower 5-HT and the higher GAL.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastroesophageal reflux disease; Galanin; 5-hydroxytryptamine; Psychological factors

Yuan Y, Liu HY, Chen Y, Xiao RP, Bu P. Correlation between plasma galanin and 5-hydroxytryptamine and psychological status in patients with gastroesophageal reflux disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1247-1251 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1247.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1247

摘要

目的: 探讨甘丙肽(galanin, GAL)及5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)在不同亚型的胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)患者血浆中表达水平的差异及其与焦虑、抑郁的关系.

方法: 采用焦虑自评量表(Self-rating Anxiety Scale, SAS)和抑郁自评量表(Self-rating Depression Scale, SDS)对GERD患者和健康对照组进行测试, 评定心理状况; 采用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)分析GERD患者和健康对照组血浆中5-HT、GAL的含量.

结果: 无合并焦虑、抑郁的GERD患者与健康对照组比较, 5-HT升高, GAL下降(t = 1.97, P<0.05); 非糜烂性反流病(non-erosive reflux disease, NERD)患者与反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)患者比较, 焦虑、抑郁问题更严重(F分别为55.92、36.51, 均P<0.05), 且与健康对照组相比, 5-HT下降, GAL升高(F分别为54.53、8.00, 均P<0.05); 5-HT与SAS、SDS评分呈负相关(r分别为-0.789、-0.787, 均P<0.05), GAL与SAS、SDS评分呈正相关(r分别为0.688、0.705, 均P<0.05), 5-HT与GAL呈负相关(r = -0.744, P<0.05).

结论: 无合并焦虑、抑郁的GERD患者, 5-HT升高, GAL下降; NERD患者比RE患者焦虑、抑郁问题更严重, 5-HT下降, GAL升高; 焦虑、抑郁问题越严重, 5-HT越低, GAL越高.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃食管反流病; 甘丙肽; 5-羟色胺; 精神心理因素

核心提示: 本文对胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease)患者血浆中甘丙肽(galanin, GAL)及5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)的表达水平, 发现反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)患者5-HT升高, GAL下降, 非糜烂性反流病(non-erosive reflux disease, NERD)患者5-HT下降, GAL升高; 5-HT与焦虑自评量表(Self-rating Anxiety Scale, SAS)、抑郁自评量表(Self-rating Depression Scale, SDS)评分呈负相关, GAL与SAS、SDS评分呈正相关, 5-HT与GAL呈负相关.

袁媛, 刘恒旸, 陈阳, 肖茹萍, 卜平. 胃食管反流病患者甘丙肽、5-羟色胺的表达及其与精神心理因素的相关性. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1247-1251 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1247.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1247

0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是指胃内容物反流引起不适症状和/或并发症的一种疾病[1]. 他通常被分为三种类型: 非糜烂性反流病(non-erosive reflux disease, NERD)、反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)和Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)[2]. 其临床症状多样, 可引起患者焦虑、抑郁、睡眠障碍, 影响患者的生活质量[3]. 目前神经递质5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)在GERD发病机制中的作用及神经肽甘丙肽(galanin, GAL)对消化系的作用均有报道[4,5], 但本病GAL与焦虑、抑郁的相关性未见报道, 本研究探讨GERD患者5-HT、GAL与焦虑、抑郁的相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 采用反流性疾病问卷(Reflux Disease Questionnaire, RDQ)进行问诊采集, 选择2014-08/2015-09在苏北人民医院就诊的238例GERD患者为研究组, 入组的GERD患者皆行胃镜检查, 根据内镜下表现, 分为NERD组、

相关报道
Werner等学者研究发现, 精神心理异常如抑郁症的发病机制可能与GAL对NE、5-HT等的调节有关.

表 1 NERD、RE患者及健康对照组SAS、SDS评分及5-HT、GAL水平比较

指标	NERD组	RE组	对照组	*t*值	*P*值
SAS(分)	51.95 ± 13.38	45.27 ± 13.62	30.82 ± 7.50	55.92	<0.05
SDS(分)	52.12 ± 13.87	47.85 ± 13.89	34.45 ± 9.29	36.51	<0.05
5-HT(ng/mL)	130.33 ± 48.61	195.95 ± 52.51	173.71 ± 40.99	54.34	<0.05
GAL(pg/mL)	25.58 ± 8.93	23.44 ± 8.79	24.00 ± 9.87	8.00	<0.05

NERD: 非糜烂性反流病; RE: 反流性食管炎; 5-HT: 5-羟色胺; GAL: 甘丙肽; SAS: 焦虑自评量表; SDS: 抑郁自评量表.

创新盘点
GERD与心理疾病之间的关系日益受到各界重视, 但两者之间的生理关系研究较少, 其中5-HT已有一些报道, 但本病GAL水平与焦虑、抑郁的相关性未见报道.

表 2 SAS、SDS评分与5-HT、GAL的相关性及5-HT与GAL两者的相关性

指标	SAS		SDS		5-HT	
	*r*值	*P*值	*r*值	*P*值	*r*值	*P*值
5-HT	−0.789	<0.05	−0.787	<0.05	1.000	<0.05
GAL	0.688	<0.05	0.705	<0.05	−0.744	<0.05

5-HT: 5-羟色胺; GAL: 甘丙肽; SAS: 焦虑自评量表; SDS: 抑郁自评量表.

RE组. 对照组来自同期苏北人民医院健康体检者60例. 血浆采用ELISA法检测, 5-HT、GAL试剂盒均购自碧云天生物科技公司, 酶标仪为美国伯乐公司bio-680型.

1.2 方法 研究组为RDQ≥12分的GERD患者238例, 其中RE患者124例、NERD患者114例, 健康体检者60例, 采用焦虑自评量表(Self-rating Anxiety Scale, SAS)[6]和抑郁自评量表(Self-rating Depression Scale, SDS)[7]评定GERD患者和健康对照组心理状况; 采集患者空腹静脉血5 mL, 置于乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2)抗凝管中, 3000 r/min离心15 min, 离心半径为11 cm, 收集上清液分装后于-80 ℃冻存待测. 采用酶联免疫吸附法(ELISA)分析GERD患者和健康对照组血浆中5-HT、GAL的含量, 操作步骤均按说明书要求严格操作, 外周血标本均经知情同意后取得.

统计学处理 使用SPSS19.0统计软件对资料进行统计分析, 以mean±SD表示, 计量资料之间的比较采用*t*检验, 3组之间采用单因素方差分析, 相关性分析采用Pearson相关分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般人口学特征 114例NERD患者中, 男性55例, 女性59例, 男女比例为1∶1.1, 平均年龄49.73岁±12.02岁; 124例RE患者中, 男性66例, 女性58例, 男女比例1.1∶1, 平均年龄49.58岁±14.62岁; 60例健康对照组中, 男性30例, 女性30例, 男女比例1∶1, 平均年龄48.45岁±13.22岁.

2.2 NERD、RE患者及健康对照组SAS、SDS评分及5-HT、GAL水平及焦虑、抑郁程度比较 若GERD患者未合并焦虑、抑郁, 则5-HT升高(t = 1.97, $P<0.05$)、GAL降低(t = 1.97, $P<0.05$). NERD、RE患者SAS、SDS评分均高于健康对照组, 且NERD患者SAS、SDS评分高于RE组, 差异具有统计学意义; NERD患者5-HT低于健康对照组, GAL高于健康对照组; RE患者5-HT高于健康对照组, GAL低于健康对照组, 差异具有统计学意义(表1).

焦虑、抑郁程度越重, 5-HT越低, GAL越高; 5-HT与GAL之间存在负相关, 5-HT越高, GAL越低(表2).

3 讨论

3.1 5-HT、GAL对消化系的作用 国内外学者研究发现, 5-HT、GAL在消化系疾病的发病机制中有着重要的作用[8,9]. 5-HT与消化系动力和感觉息息相关, 有学者[10]认为, 5-HT_4受体存在于人及动物的食管中, 当5-HT含量增加时, 食管的动力发生障碍, 胃酸停留时间变长, 且5-HT可通过神经调节使食管处于高敏状态, 导致GERD的发生. GAL可增高下食管括约肌静息张力, 引起下食管括约肌的收缩, 对食管的病理生理起着重要作用. 本研究中, 非合并焦虑、抑郁的GERD患者相对于健康对照组,

应用要点
5-HT和GAL可能成为未来治疗GERD新的靶点.

名词解释

甘丙肽(GAL): 甘丙肽于1983年由Tatemoto在猪小肠中发现, 由29个氨基酸残基组成, 因其N和C端分别为甘氨酸和丙氨酸残基, 命名为甘丙肽, 广泛分布于中枢和外周神经系统. 近年来, GAL对消化系的作用越来越受到人们的重视, 具有较高的临床应用价值, 其应用前景十分广阔.

5-HT含量显著增高, GAL含量显著下降, 考虑外周5-HT水平上升、GAL水平下降与GERD的发生发展可能密切相关.

3.2 5-HT、GAL对精神心理的影响 目前已证实, 5-HT、GAL与多种精神疾患的发病有关[11,12]. 临床上多应用选择性5-HT重摄取抑制剂(selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs)治疗抑郁等精神疾患, 表明5-HT是精神疾患发病机制中重要的神经递质[13]. 目前, 5-HT对精神心理异常的作用研究主要集中在5-HT合成不足、5-HT运输障碍等方面[14]. GAL在外周和中枢神经系统均有广泛的分布, 有学者提出GAL及其受体对抑郁症的发生发展有着重要作用[15]. 本研究发现NERD患者5-HT低于健康对照组, GAL高于健康对照组. 考虑精神心理异常与NERD之间存在一定的关系. 有学者研究发现, NERD、RE患者均存在一定的精神心理异常, 但NERD的严重程度高于RE患者[2,16]. 本研究中, NERD、RE患者的SDS、SAS得分均高于健康对照组, 且NERD患者SDS、SAS得分高于RE患者, 表明NERD患者合并焦虑、抑郁的问题比RE患者严重.

3.3 5-HT与GAL的相关性 GAL是一种抑制性调质, 通过超极化作用调节去甲肾上腺素(NE)和5-HT的释放[17]. 关于GAL与这些经典神经递质之间的关系, 国内的研究和报道较少, 国外的研究结果并不十分一致. 5-HT含量或活性的异常可能与多种精神疾患的发病有关, Albert等[11]学者研究表明, 5-HT活性的降低会引起焦虑、抑郁症状. 近年来, 越来越多的学者提出GAL及其受体对抑郁症的发生、发展有着重要作用[15]. Werner等[18]学者研究发现, 精神心理异常如抑郁症的发病机制可能与GAL对NE、5-HT、多巴胺能神经元的调节有关. 本研究发现, GAL与5-HT存在负相关, 焦虑、抑郁症状越严重, 5-HT越低, GAL越高.

总之, 本研究发现, 5-HT、GAL对GERD的发生发展有着重要的作用, 无合并焦虑、抑郁的GERD患者, 5-HT升高, GAL下降. 在NERD的发生发展过程中, 精神心理异常的影响较大, 焦虑、抑郁症状更严重, 5-HT下降, GAL升高. 在选择经典的治疗GERD药物的同时, 可以合并使用抗焦虑、抑郁的药物, SSRIs对精神心理异常的疗效在临床上已得以证实, 对GAL及其受体的研究, 可能是未来抗焦虑、抑郁药物的研究发展方向, 对治疗GERD也起着至关重要的作用.

4 参考文献

1 Yan C, Liang WT, Wang ZG, Hu ZW, Wu JM, Zhang C, Chen MP. Comparison of Stretta procedure and toupet fundoplication for gastroesophageal reflux disease-related extra-esophageal symptoms. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 12882-12887 [PMID: 26668513 DOI: 10.3748/wjg.v21.i45.12882]

2 Yang XJ, Jiang HM, Hou XH, Song J. Anxiety and depression in patients with gastroesophageal reflux disease and their effect on quality of life. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 4302-4309 [PMID: 25892882 DOI: 10.3748/wjg.v21.i14.4302]

3 Kim JY, Kim N, Seo PJ, Lee JW, Kim MS, Kim SE, Jo SY, Lee DH, Jung HC. Association of sleep dysfunction and emotional status with gastroesophageal reflux disease in Korea. *J Neurogastroenterol Motil* 2013; 19: 344-354 [PMID: 23875102 DOI: 10.5056/jnm.2013.19.3.344]

4 Saegusa Y, Takeda H, Muto S, Oridate N, Nakagawa K, Sadakane C, Nahata M, Harada Y, Iizuka M, Hattori T, Asaka M. Decreased motility of the lower esophageal sphincter in a rat model of gastroesophageal reflux disease may be mediated by reductions of serotonin and acetylcholine signaling. *Biol Pharm Bull* 2011; 34: 704-711 [PMID: 21532161]

5 He B, Shi M, Zhang L, Li G, Zhang L, Shao H, Li J, Fang P, Ma Y, Shi Q, Sui Y. Beneficial effect of galanin on insulin sensitivity in muscle of type 2 diabetic rats. *Physiol Behav* 2011; 103: 284-289 [PMID: 21352839 DOI: 10.1016/j.physbeh.2011.02.023]

6 Zung WW. A rating instrument for anxiety disorders. *Psychosomatics* 1971; 12: 371-379 [PMID: 5172928]

7 Zung WW. A self-rating depression scale. *Arch Gen Psychiatry* 1965; 12: 63-70 [PMID: 14221692]

8 Liu HN, Ohya S, Nishizawa Y, Sawamura K, Iino S, Syed MM, Goto K, Imaizumi Y, Nakayama S. Serotonin augments gut pacemaker activity via 5-HT3 receptors. *PLoS One* 2011; 6: e24928 [PMID: 21949791 DOI: 10.1371/journal.pone.0024928]

9 Zhang Z, Sheng S, Guo L, Li G, Zhang L, Zhang L, Shi M, Bo P, Zhu Y. Intracerebroventricular administration of galanin antagonist sustains insulin resistance in adipocytes of type 2 diabetic trained rats. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 361: 213-218 [PMID: 22564511 DOI: 10.1016/j.mce.2012.04.012]

10 Zhuang ZH, Zou FM, Tang DP, Zhuang JY, Wei JJ, Yang LY. The 5-HT4 receptor agonist mosapride attenuates inflammation of reflux esophagitis. *Hepatogastroenterology* 2014; 61: 115-119 [PMID: 24895805]

11 Albert PR, Vahid-Ansari F, Luckhart C. Serotonin-prefrontal cortical circuitry in anxiety and depression phenotypes: pivotal role of pre- and post-synaptic 5-HT1A receptor expression. *Front Behav Neurosci* 2014; 8: 199 [PMID: 24936175 DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00199]

12 Borroto-Escuela DO, Narvaez M, Di Palma M,

Calvo F, Rodriguez D, Millon C, Carlsson J, Agnati LF, Garriga P, Díaz-Cabiale Z, Fuxe K. Preferential activation by galanin 1-15 fragment of the GalR1 protomer of a GalR1-GalR2 heteroreceptor complex. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 452: 347-353 [PMID: 25152404 DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.08.061]

13 Albert PR, Fiori LM. Transcriptional dysregulation in anxiety and major depression: 5-HT1A gene promoter architecture as a therapeutic opportunity. *Curr Pharm Des* 2014; 20: 3738-3750 [PMID: 24180393]

14 Jacobsen JP, Medvedev IO, Caron MG. The 5-HT deficiency theory of depression: perspectives from a naturalistic 5-HT deficiency model, the tryptophan hydroxylase 2Arg439His knockin mouse. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2012; 367: 2444-2459 [PMID: 22826344 DOI: 10.1098/rstb.2012.0109]

15 Saar I, Lahe J, Langel K, Runesson J, Webling K, Järv J, Rytkönen J, Närvänen A, Bartfai T, Kurrikoff K, Langel Ü. Novel systemically active galanin receptor 2 ligands in depression-like behavior. *J Neurochem* 2013; 127: 114-123 [PMID: 23600864 DOI: 10.1111/jnc.12274]

16 Chen CL, Hsu PI. Current advances in the diagnosis and treatment of nonerosive reflux disease. *Gastroenterol Res Pract* 2013; 2013: 653989 [PMID: 23935610 DOI: 10.1155/2013/653989]

17 Rovin ML, Boss-Williams KA, Alisch RS, Ritchie JC, Weinshenker D, West CH, Weiss JM. Influence of chronic administration of antidepressant drugs on mRNA for galanin, galanin receptors, and tyrosine hydroxylase in catecholaminergic and serotonergic cell-body regions in rat brain. *Neuropeptides* 2012; 46: 81-91 [PMID: 22317959 DOI: 10.1016/j.npep.2012.01.001]

18 Werner FM, Coveñas R. Classical neurotransmitters and neuropeptides involved in major depression in a multi-neurotransmitter system: a focus on antidepressant drugs. *Curr Med Chem* 2013; 20: 4853-4858 [PMID: 24083608]

同行评价

本文选题及设计合理，具有一定创新性. GERD与心理疾病之间关系日益受到各界重视，该文在初步探讨了两者之间的生理关系，值得进一步研究. 具有较高的引用价值.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1252

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1252-1256
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

腹腔镜下根治性全胃切除术中两种食管空肠吻合方式与并发症关系

王超珺, 张思宇, 黄小蓉

背景资料
腹腔镜下胃癌根治术的手术效果及预后已经得到越来越广泛的肯定, 已经有逐步取代传统手术的趋势, 而消化系重建是胃癌根治手术的重点之一, 以往的手术中更注重手术安全、解剖学重建, 但随着手术技巧的发展和对患者生存质量的关注进一步加强, 目前重建中更加注重功能重建.

王超珺, 张思宇, 黄小蓉, 厦门大学附属第一医院普外科 福建省厦门市 361003

王超珺, 主治医师, 主要从事普外科方向尤其是胃肠外科方向的临床工作及研究.

作者贡献分布: 王超珺完成课题设计、数据分析、写作等工作; 黄小蓉完成资料采集、病例整理及查阅资料; 张思宇指导课题方向、推荐相关文献资料、指导病例资料的分析及写作工作.

通讯作者: 张思宇, 主任医师, 361003, 福建省厦门市镇海路55号, 厦门大学附属第一医院普外科. zsyuas086@163.com

收稿日期: 2016-01-17
修回日期: 2016-01-26
接受日期: 2016-01-31
在线出版日期: 2016-03-18

Relationship between mode of esophagojejunostomy in laparoscopic radical total gastrectomy and complications

Chao-Jun Wang, Si-Yu Zhang, Xiao-Rong Huang

Chao-Jun Wang, Si-Yu Zhang, Xiao-Rong Huang, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, Fujian Province, China

Correspondence to: Si-Yu Zhang, Chief Physician, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, 55 Zhenhai Road, Xiamen 361003, Fujian Province, China. zsyuas086@163.com

Received: 2016-01-17
Revised: 2016-01-26
Accepted: 2016-01-31
Published online: 2016-03-18

同行评议者
陈大伟, 主任医师, 上海交通大学医学院附属新华医院崇明分院普外科

Abstract

AIM: To analyze the relationship between mode of esophagojejunostomy in laparoscopic radical total gastrectomy and complications.

METHODS: The clinical data for 89 patients who underwent Roux-en-Y anastomosis and 81 patients who underwent Lahey-Braun anastomosis in laparoscopic radical total gastrectomy at our hospital from January 2011 to January 2014 were analyzed retrospectively. Total operative time, blood loss, time to postoperative anal exhaust, time to recovery of food intake, overall complication rate, and rates of reflux esophagitis, anastomotic bleeding and anastomotic fistula were compared between the Roux-en-Y group and the Lahey-Braun group.

RESULTS: Laparoscopic radical total gastrectomy was successful in all the 170 patients. Blood loss was significantly less in the Roux-en-Y group than in the Lahey-Braun group (120.8 mL ± 21.3 mL *vs* 131.1 mL ± 16.4 mL, $P < 0.05$). Time to postoperative anal exhaust was statistically shorter in the Roux-en-Y group than in the Lahey-Braun group (2.1 d ± 1.3 d *vs* 2.6 d ± 1.4 d, $P < 0.05$). Total complication rate was statistically lower in the Roux-en-Y group than in the Lahey-Braun group (34.6% *vs* 59.6%, $P < 0.01$). Incidence of reflux esophagitis was statistically lower in the Roux-en-Y group than in the Lahey-Braun group (22.2% *vs* 52.8%, $P < 0.01$). There were no significant differences in other indicators between the two groups.

CONCLUSION: The efficacy and safety of

Lahey-Braun anastomosis and Roux-en-Y anastomosis in laparoscopic radical total gastrectomy are basically same. However, the incidence of reflux esophagitis in Roux-en-Y anastomosis is significantly lower than that in Lahey-Braun anastomosis.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic radical gastrectomy; Roux-en-Y anastomosis; Lahey-Braun anastomosis; Complication

Wang CJ, Zhang SY, Huang XR. Relationship between mode of esophagojejunostomy in laparoscopic radical total gastrectomy and complications. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1252-1256 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1252.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1252

摘要

目的: 探讨在腹腔镜下采用Roux-en-Y式食管空肠吻合与Lahey-Braun式食管空肠吻合对根治性全胃切除术术中情况及术后并发症的影响.

方法: 回顾性分析厦门大学附属第一医院普外科自2011-01/2014-01收治的行腹腔镜下根治性全胃切除术且食管空肠吻合采用Roux-en-Y式吻合的患者81例和采用Lahey-Braun式吻合的患者89例的临床资料, 评价并比较Roux-en-Y组和Lahey-Braun组患者的总手术时间、术中出血量、术后肛门恢复排气时间和恢复进食时间, 术后随访总并发症发生率、反流性食管炎发生率、吻合口出血率、吻合口瘘发生率.

结果: 170例患者均成功施行腹腔镜下根治性全胃切除术, Roux-en-Y组患者术中出血量低于Lahey-Braun组术中出血量(120.8 mL ± 21.3 mL *vs* 131.1 mL± 16.4 mL, $P<0.05$), Roux-en-Y组患者术后肛门恢复排气时间短于Lahey-Braun组术中(2.1 d±1.3 d *vs* 2.6 d ±1.4 d, $P<0.05$); Roux-en-Y组患者并发症总发生率低于Lahey-Braun组并发症总发生率(34.6% *vs* 59.6%, $P<0.01$); Roux-en-Y组患者反流性食管炎发生率低于Lahey-Braun组并发症总发生率(22.2% *vs* 52.8%, $P<0.01$); 其他指标组间比较, 差异无显著统计学意义.

结论: 腹腔镜下根治性全胃切除术中食管空肠吻合采取Roux-en-Y吻合及Lahey-Braun吻合, 两种吻合方式在安全性及术后恢复中效果基本相同, 但术后Roux-en-Y吻合反流性食管炎的发生率明显低于Lahey-Braun吻合.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腹腔镜下根治性全胃切除术; Roux-en-Y吻合; Lahey-Braun吻合; 并发症

核心提示: 腹腔镜下根治性全胃切除术中食管空肠吻合采取Roux-en-Y吻合与Lahey-Braun吻合相比, 安全性及术后恢复中效果上相似, 但Roux-en-Y吻合术后反流性食管炎的发生率更低, 可让老年患者受益更多.

王超珺, 张思宇, 黄小蓉. 腹腔镜下根治性全胃切除术中两种食管空肠吻合方式与并发症关系. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1252-1256 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1252.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1252

相关报道
胃癌根治术后消化系重建方式已经达到70余种, 而国内外报道较多的吻合方式即Roux-en-Y吻合及Lahey-Braun吻合.

0 引言

腹腔镜下根治性全胃切除术经过近30年的发展, 取得了令人瞩目的进展, 不仅可以达到传统手术所要求的切除范围, 而且在解剖的精细程度上更是有传统手术不能比拟的优势, 逐渐形成了规范和固定的胃癌根治及淋巴结清扫术操作程序[1-3]. 但是在肿瘤移除后所行的食管空肠吻合方式有很多种, 各种方式各有优势及不足[4], 其中国内外报道较多的吻合方式即Roux-en-Y吻合及Lahey-Braun吻合. 2011-01/2014-01厦门大学附属第一医院普外科共实施170例腹腔镜下根治性全胃切除术, 分别采取的即是Roux-en-Y吻合及Lahey-Braun吻合[3,5,6]. 现将临床手术资料中不同吻合方式所影响的术后疗效及预后的差异分析如下.

1 材料和方法

1.1 材料 筛选厦门大学附属第一医院普外科2011-01/2014-01收治的行腹腔镜下根治性全胃切除术+食管空肠吻合术的临床信息较为完整的胃癌患者资料并进行回顾性分析, 筛选标准: (1)术前病理明确诊断为胃癌; (2)术前诊断排除腹腔淋巴结转移或远处器官转移; (3)术前无其他胃癌并发症或需急诊手术情况, 均按照择期手术准备完善; (4)均在腹腔镜下行完整的根治性全胃切除术, 术后病理证实为R_0

应用要点
腹腔镜下根治性全胃切除术操作难度较传统开腹手术大, 技术要求高, 应根据患者具体情况选择合理的消化系重建方式, 以规避风险并获得较好的治疗效果及远期生活质量.

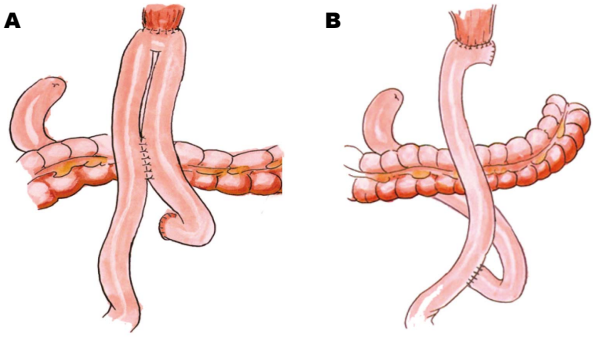


图 1 两种食道空肠吻合方式示意图. A: Lahey-Braun式; B: Roux-en-Y式.

切除. 根据上述标准共随机筛选胃癌患者170例, 其中采取Roux-en-Y吻合的患者81例, 采取Lahey-Braun吻合的患者89例. 其中男性133例, 女性45例; 年龄38-74岁, 平均年龄54.3岁±7.1岁. 根据食管空肠吻合方式分组, 170例患者中, 病理确诊为未分化癌占18例(10.59%), 中低分化胃腺癌的患者占141例(82.94%), 其中乳头状腺癌58例(34.12%)、管状腺癌43例(25.29%)、黏液腺癌40例(23.53%), 其他平滑肌肉瘤、淋巴瘤等占11例(6.47%). 两组患者年龄、性别比例、肿瘤位置及TNM分期构成比组间比较差异无统计学意义(P>0.05).

1.2 方法

1.2.1 手术方式: 所有患者均需在静脉全身麻醉状态下配合气管内插管进行, 腹腔镜下根治性全胃切除术基本要点即在腹腔镜下辅助下完成全胃的游离, 结扎血管及淋巴结的清扫, 通过中上腹的小切口完成标本切除和消化系的重建[7]. 而消化系的重建即食管空肠吻合即为本研究的重点. 食道空肠吻合方式一, Roux-en-Y式: 移除标本, 加固缝合十二指肠残端, 于屈氏韧带以下15 cm处切断空肠. 远端空肠置入28 mm吻合器, 与食管吻合, 吻合口周缘平整, 吻合满意, 吻合口无张力. 单纯缝合封闭空肠断端. 于食道空肠吻合口下方40 cm处作近端空肠与远端空肠端侧吻合. 食道空肠吻合方式二, Lahey-Braun式: 移除标本, 加固缝合十二指肠残端, 距离屈氏韧带50 cm处空肠从结肠前提起, 与食管残端做端侧吻合, 在距离吻合口约40 cm处空肠输入段与输出段之间做侧吻合, 详如图1. 两种吻合方式完成后均检查各吻合口情况, 保证无张力, 血供良好, 并将胃管送入空肠输入段.

1.2.2 评价指标: 评价并比较Roux-en-Y组和Lahey-Braun组患者的总手术时间、术中出血量、术后肛门恢复排气时间和恢复进食时间, 术后随访总并发症发生率、反流性食管炎发生率、吻合口出血率、吻合口瘘发生率. 对两组患者进行电话或门诊随访2年.

统计学处理 使用SPSS17.0统计软件进行数据分析, Roux-en-Y吻合及Lahey-Braun吻合两组术中和术后数据以mean±SD表示, 鉴于样本量>50, 采用t检验; 并发症发生率组间比较采用χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 术中指标及术后恢复情况 170例患者均成功施行腹腔镜下根治性全胃切除术, 两种不同吻合方式在总手术时间和术后恢复进食时间两组差异无显著统计学意义(P>0.05), 但Roux-en-Y组患者术中出血量低于Lahey-Braun组(120.8 mL±21.3 mL *vs* 131.1 mL±16.4 mL), 差异有显著统计学意义, 术后, Roux-en-Y组患者术后肛门恢复排气时间短于Lahey-Braun组术中(2.1 d±1.3 d *vs* 2.6 d±1.4 d), 差异有显著统计学意义(表1).

2.2 术后并发症 术后最远随访时间为术后24 mo, 失访4例, 随访率97.81%. Roux-en-Y组患者并发症总发生率为34.6%(28/81)低于Lahey-Braun组并发症总发生率59.6%(53/89); Roux-en-Y组患者反流性食管炎发生率为22.2%(18/81)低于Lahey-Braun组并发症总发生率52.8%(47/89); 两组的吻合口瘘, 吻合口出血等并发症的发生率比较, 差异无显著统计学意义(表2).

3 讨论

近年来, 随着手术技术的不断进步, 手术技巧的不断精进和提高, 腹腔镜下胃癌根治术的手术效果及预后已经得到越来越广泛的肯定, 已经有逐步取代传统手术的趋势[8]. 而消化系重建是胃癌根治手术的重点之一, 以往的手术中

表 1　两组患者术中及术后恢复指标对比情况

分组	*n*	总手术时间 (min)	术中出血量 (mL)	肛门恢复排气时间 (d)	术后恢复进食时间 (d)
Roux-en-Y组	81	250.1 ± 76.3	120.8 ± 21.3	2.1 ± 1.3	6.5 ± 1.5
Lahey-Braun组	89	245.6 ± 57.3	131.1 ± 16.4	2.6 ± 1.4	6.3 ± 2.1
*t*值		0.87	2.885	2.157	1.30
*P*值		0.39	0.037	0.045	0.26

表 2　两组患者术后并发症对比情况 *n*(%)

分组	*n*	总并发症发生率	反流性食管炎	吻合口出血	吻合口瘘	其他[1]
Roux-en-Y组	81	28(34.6)	18(22.2)	3(3.7)	3(3.7)	4(4.9)
Lahey-Braun组	89	53(59.6)	47(52.8)	2(2.2)	1(2.2)	3(3.4)
χ^2值		30.74	36.02	3.27	2.01	3.03
*P*值		<0.01	<0.01	0.31	0.29	0.28

[1]其他并发症包含倾倒综合征、输入袢梗阻、滞留综合征、吻合口溃疡等.

同行评价

本文比较两种术式在胃癌根治中消化系重建的方式及并发症, 对临床有一定的指导价值.

更注重手术安全、解剖学重建, 但随着手术技巧的发展和对患者生存质量的关注进一步加强, 目前重建中更加注重功能重建, 即在保证手术安全及治疗效果的前提下尽量模拟正常消化系的解剖, 维持基本的消化生理功能, 从而使患者术后得到尽可能好的治疗效果和生活质量[9,10].

至今为止, 胃癌根治术后消化系重建方式已经达到70余种, 理想的重建方式应满足下列条件: (1)具有良好的食物贮存和消化吸收功能; (2)并发症少, 有良好的生活质量; (3)操作简单易于推广. 而国内外报道较多的吻合方式即Roux-en-Y吻合及Lahey-Braun吻合[11,12]. 根据我们研究数据, Roux-en-Y吻合及Lahey-Braun吻合两种方式均简便易行, 两者手术时间和恢复进食时间上无显著性差异, 但在术中出血量及肛门恢复排气时间上有显著性差异, 具有统计学意义, 说明Roux-en-Y吻合相较于Lahey-Braun吻合安全性更高[13]. 同时在比较这两种手术方式的优劣时, 还需要注意到术后并发症的发生率差异. 两组病例在腹腔内出血, 吻合口瘘等并发症的发生率差异无统计学意义, 但是却在反流性食管炎的发生率上存在显著性差异, 行Lahey-Braun吻合的病例中有将近1/2的患者出现了不同程度的反流性食管炎的症状, 反流的胃液尚可侵袭咽部、声带和气管而引起慢性咽炎、慢性声带炎和气管炎, 临床上称之Delahunty综合征. 胃液反流与部分反复发作的哮喘、咳嗽、夜间呼吸暂停、心绞痛样胸痛有关, 若吸入呼吸道尚可致吸入性肺炎. 食管炎的胸骨后疼痛与心绞痛可单独存在, 有时同时存在, 均可用硝酸甘油等缓解, 鉴别很困难. 我们认为原因在于行Roux-en-Y吻合后输入襻与食管之间构成了一个锐角, 且食管空肠吻合口距离空肠-空肠吻合口较远, 不容易出现胆汁、胰液等消化液的反流. 而Lahey-Braun吻合输入襻和输出襻之间的吻合口与食管空肠吻合口距离较近, 故容易发生碱性反流性食管炎[14,15].

腹腔镜下根治性全胃切除术操作难度较传统开腹手术大, 技术要求高, 应根据患者具体情况选择合理的消化系重建方式, 以规避风险并获得较好的治疗效果及远期生活质量, 本研究表明在全胃切除术后, 行Roux-en-Y吻合较简单, 风险小, 比较符合原解剖结构从而满足生理需求, 更有利于患者减少术后并发症, 获得较好的生活质量.

4　参考文献

1　Jeong GA, Cho GS, Kim HH, Lee HJ, Ryu SW, Song KY. Laparoscopy-assisted total gastrectomy for gastric cancer: a multicenter retrospective analysis. *Surgery* 2009; 146: 469-474 [PMID: 19715803 DOI: 10.1016/j.surg.2009.03.023]

2　石磊, 陈平, 赵伟, 朱群山, 宗亮. 全胃切除术后非离断式Roux-en-Y消化道重建术的临床应用. 中国现代普通外科进展 2009; 12: 850-852

3　Kono K, Iizuka H, Sekikawa T, Sugai H, Takahashi

A, Fujii H, Matsumoto Y. Improved quality of life with jejunal pouch reconstruction after total gastrectomy. *Am J Surg* 2003; 185: 150-154 [PMID: 12559446 DOI: 10.1016/S0002-9610(02)01211-4]
4 Hoksch B, Ablassmaier B, Zieren J, Müller JM. Quality of life after gastrectomy: Longmire's reconstruction alone compared with additional pouch reconstruction. *World J Surg* 2002; 26: 335-341 [PMID: 11865371 DOI: 10.1007/s00268-001-0229-7]
5 Okabe H, Satoh S, Inoue H, Kondo M, Kawamura J, Nomura A, Nagayama S, Hasegawa S, Itami A, Watanabe G, Sakai Y. Esophagojejunostomy through minilaparotomy after laparoscopic total gastrectomy. *Gastric Cancer* 2007; 10: 176-180 [PMID: 17922096 DOI: 10.1007/s10120-007-0432-9]
6 常帅, 刘俊松, 陈锐, 贺仕才, 谯瞧, 樊林, 车向明. 全胃切除术后消化道重建方式的系统评价和Meta分析. 中国普通外科杂志 2014; 23: 1222-1231
7 中华医学会外科分会腹腔镜与内镜外科学组. 腹腔镜胃癌手术操作指南(2007版). 中华消化外科杂志 2007; 6: 476-480
8 Liakakos T, Patapis P, Misiakos E, Macheras A. Expectations and challenges of laparoscopic total gastrectomy. *Surg Endosc* 2009; 23: 1927-1929 [PMID: 19449074 DOI: 10.1007/s00464-009-0505-4]
9 Rosa F, Alfieri S, Tortorelli AP, Fiorillo C, Costamagna G, Doglietto GB. Trends in clinical features, postoperative outcomes, and long-term survival for gastric cancer: a Western experience with 1,278 patients over 30 years. *World J Surg Oncol* 2014; 12: 217 [PMID: 25030691 DOI: 10.1186/1477-7819-12-217]
10 Ishigami S, Natsugoe S, Hokita S, Aoki T, Kashiwagi H, Hirakawa K, Sawada T, Yamamura Y, Itoh S, Hirata K, Ohta K, Mafune K, Nakane Y, Kanda T, Furukawa H, Sasaki I, Kubota T, Kitajima M, Aikou T. Postoperative long-term evaluation of interposition reconstruction compared with Roux-en-Y after total gastrectomy in gastric cancer: prospective randomized controlled trial. *Am J Surg* 2011; 202: 247-253 [PMID: 21871978 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2011.04.004]
11 Ikeda M, Ueda T, Shiba T. Reconstruction after total gastrectomy by the interposition of a double jejunal pouch using a double stapling technique. *Br J Surg* 1998; 85: 398-402 [PMID: 9529503 DOI: 10.1046/j.1365-2168.1998.00624]
12 Chen W, Zheng R, Zhang S, Zhao P, Zeng H, Zou X, He J. Annual report on status of cancer in China, 2010. *Chin J Cancer Res* 2014; 26: 48-58 [PMID: 24653626 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2014.01.08]
13 汪卫平. 连续性空肠间置在全胃切除术中的应用. 实用医学杂志 2011; 27: 158-159
14 周逢强, 齐艳美, 李乐平, 郭辉光, 徐宏. 改良Braun吻合在全胃切除手术中的应用. 中国实用医刊 2012; 39: 42-43
15 Espat NJ, Karpeh M. Reconstruction following total gastrectomy: a review and summary of the randomized prospective clinical trials. *Surg Oncol* 1998; 7: 65-69 [PMID: 10421508 DOI: 10.1016/S0960-7404(98)00027-9]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1257

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1257-1263
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

药物性肝损伤临床特征及预后多学科专家共识

任张青, 王进海, 李 浩, 白玉茹, 杨龙宝

任张青, 王进海, 白玉茹, 杨龙宝, 西安交通大学医学部第二附属医院消化内科 陕西省西安市 710004

任张青, 王进海, 白玉茹, 杨龙宝, 陕西省胃肠疾病临床医学研究中心 陕西省西安市 710004

李浩, 西安市疾病预防控制中心 陕西省西安市 710004

任张青, 主要从事药物性肝损伤机制及预后因素分析研究.

作者贡献分布: 课题设计由王进海完成; 研究过程数据收集及论文书写由任张青完成; 李浩负责数据分析; 数据收集由白玉茹与杨龙宝完成.

通讯作者: 王进海, 教授, 710004, 陕西省西安市西五路157号, 西安交通大学医学部第二附属医院消化内科.
jinhaiwang@hotmail.com

收稿日期: 2016-01-10
修回日期: 2016-01-21
接受日期: 2016-02-02
在线出版日期: 2016-03-18

Multidisciplinary expert consensus on clinical features and prognosis of drug-induced liver injury

Zhang-Qing Ren, Jin-Hai Wang, Hao Li, Yu-Ru Bai, Long-Bao Yang

Zhang-Qing Ren, Jin-Hai Wang, Yu-Ru Bai, Long-Bao Yang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Zhang-Qing Ren, Jin-Hai Wang, Yu-Ru Bai, Long-Bao Yang, Clinical Medical Research Center for Gastrointestinal Diseases in Shaanxi Province, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Hao Li, the Center for Disease Control and Prevention in Xi'an, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Jin-Hai Wang, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, 157 Xiwu Road, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China. jinhaiwang@hotmail.com

Received: 2016-01-10
Revised: 2016-01-21
Accepted: 2016-02-02
Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To analyze the clinical features of drug-induced liver injury (DILI), and discuss the risk factors affecting its prognosis.

METHODS: Clinical data for 572 patients with DILI hospitalized at the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University and Xijing Hospital from 2010 to 2014 were retrospectively analyzed. Gender, age, underlying disease, medication time, clinical manifestation, clinical classification, type of drugs, laboratory tests, ways of medication, treatments and prognosis were analyzed to explore the risk factors affecting the prognosis.

RESULTS: A total of 572 patients were involved, including 280 (48.95%) males and 292 (51.05%) females, and their average age was 45.56 ± 15.11 years. Most cases of DILI occurred in less than 8 weeks of medication. Main clinical manifestations were jaundice (59.44%), fatigue (57.52%), and poor appetite (55.54%). Four hundred and two (70.28%) cases were classified as hepatocellular type, 62 (10.84%) cases as cholestasis type and 53 (9.27%) as mixed type. The top three most common types of drugs that induced DILI were Chinese herbs, antituberculotics and antimicrobials.

背景资料
随着临床用药不断增多, 约有1000多种的药物可以造成肝损害, 而肝脏损伤是导致药物退市的最常见原因. 在美国药物性肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)占急性肝功能衰竭病因的13%, 25%的暴发性肝损害由药物引起. 据国内流行病学调查示DILI发病数逐年递增, 需引起全社会及临床医师的关注.

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; 张西波, 副教授, 副主任医师, 天津市南开医院肝胆胰外科

研发前沿

我国DILI在肝病中的构成比低于国外, 约0.46%-1.08%, 但在整个药物不良反应中占10%-15%. DILI的全球确切发病率尚不清楚, 加上无特异性的临床特征, 知之甚少的发病机制, 可能造成致命性的后果, 足以将其放在医学前沿问题中认真研究.

As for the prognosis, 194 cases were cured, 323 cases improved well, 39 cases showed no significant improvement, and 16 cases died. Factors influencing prognosis of DILI were medication time, clinical classification, type of drugs and index of total bilirubin, with total bilirubin being an independent risk factor for DILI.

CONCLUSION: Clinical manifestations of drug-induced liver injury are non-specific. The most common cause is Chinese medicine. There are many factors influencing DILI, with total bilirubin being the independent risk factor.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Drug-induced liver injury; Clinical features; Prognostic analysis; Risk factors

Ren ZQ, Wang JH, Li H, Bai YR, Yang LB. Multidisciplinary expert consensus on clinical features and prognosis of drug-induced liver injury. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1257-1263 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1257.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1257

摘要

目的: 分析药物性肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)的临床特征, 探讨影响其预后的危险因素.

方法: 回顾性总结西安交通大学第一附属医院、西安交通大学第二附属医院、西京医院西安三所医院近5年的572例药物性肝损伤患者的临床资料, 分析其性别、年龄、既往史、用药时间、临床表现、临床分型、用药史、生化指标、用药方式、治疗方法等临床特征, 及其对预后的影响.

结果: (1)纳入本研究的DILI患者共572例, 男性280例(48.95%), 女性292例(51.05%), 平均年龄45.56岁±15.11岁; (2)既往有吸烟史的226例, 有饮酒史的205例, 有过敏史的115例, 有基础肝病史的155例; 肝损伤发生时间绝大多数<8 wk, 为490例; 临床表现主要为皮肤巩膜黄染或尿色加深占59.44%, 乏力占57.52%, 纳差占55.42%; 临床分型肝细胞型为402例, 胆汁淤积型为62例, 混合型为53例; 导致DILI的前3类药物依次为中药299例、抗结核药71例、抗微生物用药48例; 用药方式为口服用药533例, 静脉注射20例, 外用给药14例; 预后情况治愈194例, 好转323例, 未愈39例, 死亡16例; (3)影响药物性肝损伤预后的因素有用药时间、临床分型、用药种类、用药方式及总胆红素指标. 其中总胆红素为DILI的独立危险因素.

结论: 药物性肝损伤的临床表现缺乏特异性, 致病药物种类较多, 中药为最常见的原因, 影响DILI预后的因素较多, 总胆红素为独立危险因素.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 药物性肝损伤; 临床特点; 预后分析; 危险因素

核心提示: 药物性肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)的临床表现多种多样, 导致DILI的前3类药物依次为中药、抗结核药、抗微生物用药. 影响药物性肝损伤预后的因素有用药时间、临床分型、用药种类、用药方式及总胆红素指标. 其中总胆红素为DILI的独立危险因素.

任张青, 王进海, 李浩, 白玉苑, 杨龙宝. 药物性肝损伤临床特征及预后多学科专家共识. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1257-1263 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1257.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1257

0 引言

药物性肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)亦称药物性肝病, 是指在使用药物过程中, 由于药物本身或其代谢产物或由于特殊体质对药物的超敏感性或耐受性降低所引起的不同程度的肝损害. 临床上可表现为急性肝损害, 也可表现为慢性肝损害, 甚至肝硬化和肝衰竭. 目前, 人们日常生活中接触的药物及保健品已超过30000种, 明确可以引起DILI的药物超过1000种, 其中包括中草药、抗结核药、保健品及食物补充剂[1]. 根据国外流行病学资料, DILI的总体发病率为每年0.01%-0.15%[2], 也是药物研发被迫中断和上市药物撤市的重要原因之一. 药物性肝损伤临床表现无特异性, 易误诊及漏诊. 本研究采用回顾性研究的方法对西安三家医院近5年来收治住院的572例DILI患者的病例资料进行归纳、整理, 分析总结DILI的临床特征及影响预后的危险因素, 对临床合理用药提供帮助, 同时做到早发现, 及时停药, 及时治疗.

1 材料和方法

1.1 材料 收集西安交通大学第一附属医院、西安交通大学第二附属医院、西京医院在内的西安三所医院自2010-01-01/2014-12-31, 5年间收治的诊断为DILI的住院患者. 根据我国目前常用的诊断标准[3], 将收集诊断为“药物性肝炎”、“药物性肝损害”、“肝功能异常”、“药物性肝硬化”、“药物性肝衰竭”的住院患者的病例, 逐一进行筛选和录入, 排除肝功能异常但未达到肝损伤的诊断标准或资料不全, 无明显用药史的病例, 2次及以上均以主诊断为DILI的住院患者, 记录首次病例资料.

1.2 方法

1.2.1 研究: 采用回顾性研究方法, 查阅病历, 分别记录住院日期、病案号、姓名、年龄、性别、烟酒史、基础肝病史、过敏体质、全身身体状况、从用药到临床症状出现的时间、临床症状和体征、临床分型、用药史、具体用药情况, 入院时总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)、丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST)、总蛋白(total protein, TP)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、谷酰转肽酶(glutamyl transpeptidase, GGT)、凝血酶原(prothrombin time, PT)、凝血酶原活动度PT%, 出院时DBIL、ALT、AST、PT, 用药方式、治疗方法及预后情况.

1.2.2 临床分型: 按照医学科学国际组织委员会(CLOMS)将药物性肝损伤的分为3型[4]: (1)肝细胞型: ALT>2倍正常值上限, R≥5(R = ALT超过正常值上限的倍数与ALP超过正常值上限的倍数的比值); (2)胆汁淤积型: ALP>2倍正常值上限, R≤2; (3)混合型: ALT、ALP>2倍正常值上限和2<R<5. 慢性DILI诊断标准: 确诊DILI 6 mo后, 仍持续存在不能用其他原因解释的生化、影像或组织学异常.

1.2.3 预后标准: 判断标准: (1)治愈: 临床症状、体征完全消失或明显改善, 胆红素、丙氨酸氨基转移酶、γ-谷氨酰转移酶、碱性磷酸酶等肝功能指标降至正常范围; (2)好转: 临床症状好转, 肝功能指标较前下降, 并低于正常上限的2倍以下; (3)未愈: 症状体征无改善, 肝功能指标改善不明显或病情加重, 其中自动出院病例判断为无效; (4)死亡: 住院期间死亡.

统计学处理 数据收集整理采用Excel表格, 采用SPSS20.0软件进行统计学处理. 先分析变量是否为正态分布, 符合正态分布的计量资料用mean±SD表示, 使用t检验, 不符合正态分布的计量资料应用非参数秩和检验; 计数资料用例数和百分比表示, 运用单因素χ^2检验或Fisher精确概率法, 以P<0.05差异具有统计学意义. 将有意义的相关因素进行多元Logistic回归分析. 采用单因素分析及Logistic回归分析方法对性别、年龄、既往史、烟酒史、肝损伤发生时间、临床分型、用药史、实验室检查结果、用药方法等进行统计学分析.

2 结果

2.1 一般资料 排除26例2次均以主诊断为DILI入院的病例及2例无明显用药史的病例, 收集到西安交通大学第一附属医院病例161例, 西安交通大学第二附属医院病例116例, 西京医院病例295例, 共572例患者资料. 其中男性280例(48.95%), 女性292例(51.05%), 男女比例为1∶1.04. 发病年龄最小10岁, 最大85岁, 平均年龄45.56岁±15.11岁. 发生DILI患者的年龄分布: 20岁以下所占比例最少占4.02%, 为23例; 20-39岁的186例, 占32.52%; 40-59岁所占比例最大占43.88%, 共251例; 60岁以上的为112例, 占19.58%.

2.2 既往史 既往有吸烟史的226例(39.51%); 有饮酒史的205例(35.84%); 有过敏史的115例(20.10%), 致敏物质主要是抗生素(青霉素、磺胺、克拉霉素、头孢、利福平等)、油漆、金属; 有基础肝病史(包括乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎、肝硬化及脂肪肝等)的155例(27.10%); 原患基础疾病主要有感染性疾病、肿瘤、脱发、冠心病、高血压、糖尿病、银屑病、甲状腺功能亢进等.

2.3 肝损伤发生时间 肝损伤发生时间绝大多数<8 wk, 符合诊断标准中药物性肝损伤常见的发生时间. 发生DILI的时间主要集中在服药后4-8 wk, 共253例, 占44.23%; 其次为<4 wk, 共237例, 占41.43%; >8 wk的有66例, 占11.54%; 剩余的16例(2.80%)病例资料中未给出明确的发病时间.

相关报道

有研究报道患者年龄46岁以上、肥胖、吸烟、饮酒、既往肝病史、乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)阳性、糖尿病以及原发疾病合并心血管疾病是DILI的相关因素, 其中肥胖、吸烟、饮酒、有既往肝病史、HBsAg阳性、糖尿病以及原发疾病合并心血管疾病是引起DILD发生的危险因素, 而年龄46岁以上为保护因素.

创新盘点
本文收集了西安3家大型医院近5年来收治入院诊断为DILI的病例, 样本量较大, 数据资料收集较全面, 并一一对相关因素均进行了单因素分析, 同时进一步对影响因素进行了多因素分析.

表 1 引起DILI的主要药物种类

药物种类	*n*	构成比(%)	主要相关肝损伤药物
中药	299	52.27	何首乌、克银丸、治脱发、雷公藤、青黛丸、银屑灵、生精胶囊、乌灵胶囊、六味地黄丸、斑蝥、银翘片、类风湿等
抗结核药	71	12.41	利福平、异烟肼、比嗪酰胺、乙胺丁醇
抗微生物药	48	8.39	头孢类、大环内酯类、喹诺酮类、阿莫西林、克林霉素、四环素、甲硝唑、酮康唑、伊曲康唑等
解热镇痛药	39	6.82	阿莫西林、安痛定、布洛芬、消炎痛、对乙酰氨基酚
抗肿瘤药	7	1.22	环孢素、顺铂、环磷酰胺、紫杉醇等
其他	115	20.10	甲强龙、优甲乐、他巴唑、奥美拉唑、氨氯地平、洛伐他汀、地西泮、二甲双胍、胺碘酮、硝苯地平、卡马西平、保健品、减肥药、甲氨蝶呤、帕罗西汀等
联合用药	7		降压药+降糖药、中药治贫血+降压药、抗生素+奥美拉唑、头孢类+喹诺酮类、中药+解热镇痛药

DILI: 药物性肝损伤.

2.4 临床表现 本研究中DILI患者发病时临床表现主要为皮肤巩膜黄染或尿色加深340例(59.44%)、乏力329例(57.52%)、纳差317例(55.42%), 一部分患者同时出现上腹部不适209例(36.54%)、恶心158例(27.62%)、发热99例(17.31%)、呕吐74例(12.94%)、瘙痒71例(12.41%)、皮疹59例(10.31%)等非特异性临床表现. 其中106例(18.53%)未出现任何临床表现, 以体检发现肝功能异常起病.

2.5 临床分型 572例患者中, 402例(70.28%)为肝细胞型, 62例(10.84%)为胆汁淤积型, 53例(9.27%)为混合型, 11例(1.92%)为慢性DILI, 44例(7.69%)未达到分型标准.

2.6 用药史 根据《新编药物学》(第17版)的分类标准[5], 将抗菌素、抗真菌药、抗病毒药、抗寄生虫药均归为抗微生物用药, 由于抗结核药因在临床有较强的专科特点且本身病例数多, 故单列一组. 中药包括中草药和中成药. 多种药物均可引起DILI(表1). 根据本次统计, 导致DILI的前5类药物依次为中药、抗结核药、抗微生物用药、解热镇痛药及抗肿瘤药. 其中7例DILI患者由两种或多种药物引起.

2.7 用药方式 口服用药533例(93.18%), 静脉注射20例(3.50%), 外用给药14例(2.45%), 肌肉注射2例(0.35%), 介入术给药1例(0.17%), 2例口服+静脉给药.

2.8 实验室检查 患者入院时肝功能: TBIL: 234.66 μmol/L±136.15 μmol/L, DBIL: 113 μmol/L±85.7 3 μmol/L, ALT: 634.91 U/L±193.74 U/L, AST: 506.85 U/L±325.99 U/L, ALP: 212.23 U/L±179.58 U/L, GGT: 139.56 U/L±82.25 U/L, TP: 66.35 g/L±8.51 g/L, PT异常为122例(21.29%), 最高达40.4 s, PT%异常为83例(14.46%), 最低达20.4%. 患者出院时肝功能: TBIL: 60.23 μmol/L±97.90 μmol/L, ALT: 108.32 U/L±107.27 U/L, AST: 70.52 U/L±70.80 U/L, ALP: 212.23 U/L±179.58 U/L, PT异常为9例(1.57%).

2.9 肝穿病理检查 572例患者中, 81例(14.16%)行肝脏穿刺组织病理学检查. 肝组织病理表现包括: 点灶状坏死(89.9%)、大量炎细胞浸润(87.8%)、纤维组织增生(76.1%)、轻或中度界面炎(72.9%)、肝细胞水样变性(69.12%)、纤维间隔形成(50.9%)、大量嗜酸性粒细胞浸润(43.8%)、气球样变(31.3%)、脂肪变性(31.3%)、融合坏死(20.7%)、肝细胞及毛细胆管内淤胆(16.1%)、肝细胞玫瑰花结样排列(2.1%).

2.10 预后 本研究中治愈194例(33.88%), 好转323例(56.48%), 未愈39例(6.81%), 死亡16例(2.83%). 将治愈及好转分为A组, 代表预后较好一组, 未愈及死亡分为B组, 代表预后不良一组. 在纳入的17个因素中, 与DILI的预后有关系的是患者用药时间、临床分型、用药种类、用药方式及总胆红素指标, 在发生DILI的概率上有统计学差异(P<0.05)(表2, 3). 将这些因素做多因素Logistic回归分析, 其中用药时间未进入模型(表4), 结果显示总胆红素为DILI的独立危险因素(P<0.05), 总胆红素越高, 预后越差.

表 2　发生DILI的单因素分析

影响因素	治愈或好转	未愈或死亡	χ^2值	*P*值
性别			0.762	0.383
男	250	30		
女	267	25		
年龄(岁)			/	0.092
<20	21	2		
20–39	172	14		
40–59	230	21		
≥60	94	18		
用药时间(wk)			/	0.027
<4	219[a]	18		
4–8	221[a]	32		
>8	64[a]	2		
过敏体质			0.068	0.795
无	414	43		
有	103	12		
基础肝病			1.466	0.226
无	381	36		
有	136	19		
吸烟			0.900	0.342
无	316	30		
有	201	25		
喝酒			0.145	0.703
无	333	34		
有	184	21		
临床分型			18.235	0.000
肝细胞型	367[a]	35		
胆汁淤积型	48[a]	14		
混合型	53[a]	0		
用药种类			/	0.001
中药	271[a]	28		
抗结核药	64[a]	7		
抗菌药	48[a]	0		
解热镇痛	34[a]	5		
抗肿瘤药	3[a]	4		
用药方式			/	0.000
口服	487[a]	46		
静脉	11[a]	9		
肌肉注射	2[a]	0		
外用药物	14[a]	0		
介入术	1[a]	0		

[a]*P*<0.05 *vs* 未愈或死亡组. DILI: 药物性肝损伤.

3 讨论

大多数DILI患者预后较好, 但仍存在少部分(特别是特异体质患者)亦可能发生肝衰竭及死亡. 早期诊断及治疗可以在一定程度上避免DILI导致的肝功能衰竭及降低该病的死亡率. DILI治疗的关键是停用和避免再次服用肝损伤的药物. 另外对于病情较重的患者应该及时给予保肝等对症支持治疗, 改善预后. 还原性谷胱甘肽、多烯磷脂酰胆碱、丁二磺酸腺苷蛋氨酸、甘草酸苷类及熊去氧胆酸均可对修复细胞、促进胆汁排泄等有较好的作用, 有利于该病的好转. 目前无证据显示2种或以上抗炎保肝药物对DILI有更好的疗效, 因此尚不推荐2种或以上抗炎保肝药物联用[6]. 在抗结核治疗等DILI发生风险相对高的治疗中, 目前也无确切证据表明预防性应用抗炎保肝药物可减少DILI的发生[7], 但应在用药期间, 特别是用药的前3 mo加强生化检测, 及时发现肝损伤并给予合理的治疗.

此外对于有免疫高敏感性证据者可选择使用糖皮质激素; 而对于病情较重, 特别是高胆红素血症的患者, 适时使用人工肝治疗能降低患者在等待移植过程和移植后危险期的死亡率, 或为肝细胞再生赢得时间. DILI导致肝功能衰竭、重度胆汁淤积和慢性肝损伤进展到肝硬化时, 可考虑做肝移植[8].

目前大约有1000多种药物可能导致肝脏损伤[1]. 但国内、国外导致DILI的药物构成有所不同, 国外报道以抗菌药为主[9], 而国内有报道以中药导致的DILI居各种药物之首[10]. 据统计, 约有100多种中草药和30余种中成药可引起肝损伤[11]. 这可能与我国国情有关. 本研究中导致DILI前3类药物分别是中草药、抗结核药、抗微生物药, 其中中草药占52.27%. 而且根据单因素分析, 用药种类可影响DILI的预后, 临床医护工作者应严格掌握药物的适应证和禁忌证, 避免滥用或长期大量用药, 尽量少用或者不用具有肝毒性的药物.

DILI的临床分型也会对预后产生影响. 急性DILI的临床表现类似于急性黄疸性肝炎或胆汁淤积性肝病: (1)肝细胞损伤型最常见, 多表现为发热、乏力、纳差和转氨酶升高至正常上限2倍以上; (2)胆汁淤积型的损伤可能与免疫介导门静脉炎或单独归因于转运系统的抑制, 但预后较好, 不常危及生命, 表现为黄疸、瘙痒、ALT中度增加[12]; (3)混合型: 兼具肝细胞性肝炎和胆汁淤积性肝炎的特点, ALT和ALP中等至显著增加, 类似于非典型肝炎或颗粒区肝炎[13]. 此外, 也可出现急性肝坏死.

急性DILI患者, 肝脏超声多无明显改变或仅有轻度肿大. 药物性ALF患者可出现肝脏体

应用要点

临床医护工作者应提高对DILI的认识, 严格掌握药物的适应证和禁忌证, 避免滥用或长期大量用药, 尽量少用或者不用具有肝毒性的药物. 对公众进行教育, 改变中药无毒的认识偏见, 同时提醒患者不要擅自服用各种中药方剂、药酒药膳及保健药物.

名词解释

药物性肝损伤(DILI): 亦称药物性肝病, 是指在使用药物过程中, 由于药物本身或其代谢产物或由于特殊体质对药物的超敏感性或耐受性降低所引起的不同程度的肝损害. 临床上可表现为急性肝损害, 也可表现为慢性肝损害, 甚至肝硬化和肝衰竭.

表 3 治愈好转组与未愈或死亡组血清生化指标的比较 (mean ± SD)

影响因素	治愈好转组(n = 516)	未愈或死亡组(n = 56)	P值
TBIL(μmol/L)	119.88 ± 125.75[a]	242.45 ± 171.72	0.001
ALT(IU/L)	646.20 ± 767.01	529.94 ± 593.87	0.328
AST(IU/L)	521.39 ± 753.62	371.70 ± 356.32	0.334
TP(g/L)	66.71 ± 7.93	63.46 ± 10.87	0.086
ALP(IU/L)	203.93 ± 166.25	270.59 ± 257.73	0.122
PT(s)	13.28 ± 3.38	14.94 ± 5.94	0.533
PT(%)	76.21 ± 8.86	72.57 ± 13.71	0.319

[a]P<0.05 *vs* 未愈或死亡组. TBIL: 胆红素; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天冬氨酸氨基转移酶; TP: 总蛋白; ALP: 碱性磷酸酶; PT: 凝血酶原.

表 4 多因素Logistic回归分析

因素	B	SE	Wald	df	Sig.
总胆红素	0.005	0.001	22.151	1	0.000
临床分型			7.556	3	0.056
肝细胞型	18.771	5620.651	0.000	1	0.997
胆汁淤积型	18.560	5620.651	0.000	1	0.997
混合型	19.738	5620.651	0.000	1	0.997
用药种类			1.868	5	0.867
中药	−0.070	0.519	0.018	1	0.892
抗结核药	0.684	0.528	1.676	1	0.196
抗菌药	−51.035	8246.576	0.000	1	0.995
解热镇痛药	0.155	0.637	0.059	1	0.807
抗肿瘤药	−14.205	4625.701	0.000	1	0.998
用药方式			0.000	4	1.000
口服	34.543	29700.565	0.000	1	0.999
静脉	−0.475	28971.182	0.000	1	1.000
肌肉注射	−18.406	40584.071	0.000	1	1.000
外用药物	−19.324	31016.517	0.000	1	1.000

积缩小. 少数慢性DILI患者可有肝硬化、脾脏肿大和门静脉内径扩大等影像学表现, 肝内外胆道通常无明显扩张[6]. 超声、CT或MRI等常规影像学检查和必要的逆行胰胆管造影对鉴别胆汁淤积型DILI与胆道病变或胰胆管恶性肿瘤等有重要价值.

肝穿病理检查在DILI诊断中为非强制性, 在美国DILIN研究300例注册患者中, <50%行肝穿病理检查[14]. 肝组织病理表现可以辅助DILI诊断, 一项DILIN前瞻性大样本的研究提供了确诊DILI的肝组织病理学特点[15]. 然而肝组织病理表现只是诊断依据的一部分, 帮助排除肝损伤其他原因, 但不能作为DILI诊断的金标准. 根据病理表现, DILI分为: (1)肝细胞型肝损伤: 肝细胞呈灶性或块状坏死, 网状支架塌陷, 汇管区和小叶内炎性反应细胞(淋巴细胞、中性粒细胞、嗜酸粒细胞)浸润, 肝细胞内大量脂肪沉积, 以小叶中心最为显著, 同时伴胆汁淤积; (2)胆汁淤积型肝损伤: 肝小叶中心胆汁淤积、毛细胆管内有胆栓, 肝细胞和星状细胞内胆色素沉积, 无炎性反应细胞浸润; (3)混合型肝损伤: 毛细胆管、肝细胞内胆汁淤积, 肝细胞呈灶状坏死版气球样变[16].

本研究指出TBIL为影响DILI的独立危险因素. 高胆红素血症是慢性肝炎进展为肝衰竭的重要决定因素[17]. 胆汁淤积患者可以出现难以缓解的全身瘙痒, 引起肺、肾毛细血管损伤, 并导致血流动力学改变[18]. TBIL水平越高, 则肝细胞、胆管损伤及肝内胆汁淤积严重, DILI预后自然差.

DILD在临床表现上可以与诸多形式的急性和慢性肝脏疾病相类似, 对于不可避免地发生DILD的患者应加强监管和控制病情的加重, 而预防是避免药源性疾病的关键[19]. 致病药物种类繁多, 中药为最常见的原因. 影响DILI预后的因素有用药时间、临床分型、用药种类、用药方式及总胆红素指标. 其中总胆红素为其独立危险因素.

4 参考文献

1 David S, Hamilton JP. Drug-induced Liver Injury. *US Gastroenterol Hepatol Rev* 2010; 6: 73-80 [PMID: 21874146]

2 Rangnekar AS, Fontana RJ. An update on drug induced liver injury. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2011; 57: 213-229 [PMID: 21587150]

3 中华医学会消化病学分会肝胆疾病协作组. 急性药物性肝损伤诊治建议(草案). 中华消化杂志 2007; 27: 765-767

4 厉有名. 药物性肝损害的临床类型及诊断策略. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 445-446

5 陈新谦, 金有豫, 汤光. 新编药物学(第17版). 北京: 人民卫生出版社, 2011: 48-125

6 于乐成, 茅益民, 陈成伟. 药物性肝损伤诊治指南. 临床肝胆病杂志 2015; 31: 1752-1769

7 Wu S, Xia Y, Lv X, Tang S, Yang Z, Zhang Y, Wang X, Hu D, Liu F, Yuan Y, Tu D, Sun F, Zhou L, Zhan S. Preventive use of hepatoprotectors yields limited efficacy on the liver toxicity of anti-tuberculosis agents in a large cohort of Chinese patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2015; 30: 540-545 [PMID: 25160904 DOI: 10.1111/jgh.12717]

8 邱玲. 药物性肝损伤临床特点及其预后影响因素的研究. 长春: 吉林大学, 2012

9 Zyoud SH, Awang R, Sulaiman SA. Reliability of the reported ingested dose of acetaminophen for predicting the risk of toxicity in acetaminophen overdose patients. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2012; 21: 207-213 [PMID: 21812068 DOI: 10.1002/pds.2218]

10 姚飞, 汪燕燕. 综合分析药物性肝损伤9355例. 安徽医药 2011; 15: 1312-1314

11 华碧春, 卢榜华. 中草药的药物性肝损害. 福建中医药大学学报 2000; 20: 30-32

12 Lammert F, Matern S. [Hepatic diseases caused by drugs]. *Praxis* (Bern 1994) 1997; 86: 1167-1171 [PMID: 9333916]

13 Kaplowitz N. Drug-induced liver disorders: Introduction and overview. Drug-induced liver disease. Elsevier Inc, 2013: 3-14 [DOI: 10.1016/B978-0-12-387817.5.00001-7]

14 Chalasani N, Fontana RJ, Bonkovsky HL, Watkins PB, Davern T, Serrano J, Yang H, Rochon J. Causes, clinical features, and outcomes from a prospective study of drug-induced liver injury in the United States. *Gastroenterology* 2008; 135: 1924-1934, 1934. e1-e4 [PMID: 18955056 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.09.011]

15 Kleiner DE, Chalasani NP, Lee WM, Fontana RJ, Bonkovsky HL, Watkins PB, Hayashi PH, Davern TJ, Navarro V, Reddy R, Talwalkar JA, Stolz A, Gu J, Barnhart H, Hoofnagle JH. Hepatic histological findings in suspected drug-induced liver injury: systematic evaluation and clinical associations. *Hepatology* 2014; 59: 661-670 [PMID: 24037963 DOI: 10.1002/hep.26709]

16 王淑珍, 刘晖, 郑俊福, 张鑫, 李冰, 李磊, 丁惠国. 儿童与成年患者药物性肝损伤临床特征比较. 药物不良反应杂志 2014; 16: 269-273

17 Mori N, Suzuki F, Kawamura Y, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Saito S, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H. Determinants of the clinical outcome of patients with severe acute exacerbation of chronic hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol* 2012; 47: 1022-1029 [PMID: 22370817 DOI: 10.1007/s00535-012-0561-8]

18 陈楠, 滕杰, 王介非. 人工肝治疗慢加急性肝功能衰竭. 肝脏 2012; 17: 205-208

19 吕剑敏, 程锐, 吴伟东. 导致药物性肝损害的相关因素分析及针对性干预措施. 世界华人消化杂志 2014; 22: 409-414

同行评价

本文数据全面, 结果明确, 讨论丰富, 临床指导性强.

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1264

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1264-1268
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

腹腔镜联合纤维胆道镜与常规开腹术式治疗胆囊并胆总管结石的临床对比

程利民, 刘 洋, 孙志德, 刘淑敏, 张学军

背景资料
流行病学研究显示, 我国正常人群胆囊结石是发病率约为7%-8%; 而其中超过10%患者合并胆总管结石. 以往胆囊结石并胆总管结石治疗常规行开腹术式, 结石清除效果满意, 但手术创伤较大, 术后恢复慢且并发症较多, 严重影响患者治疗依从性和满意度.

程利民, 孙志德, 刘淑敏, 张学军, 承德医学院附属医院肝胆外科 河北省承德市 067000

刘洋, 承德医学院附属医院老年病科 河北省承德市 067000

程利民, 主治医师, 主要从事肝胆外科临床研究.

2014年承德市科学技术研究与发展计划基金资助项目, No. 201422011

作者贡献分布: 本研究由程利民设计; 刘洋、孙志德、刘淑敏及张学军共同参与完成.

通讯作者: 程利民, 主治医师, 067000, 河北省承德市南营子大街36号, 承德医学院附属医院肝胆外科.
chenglimin1972@163.com

收稿日期: 2015-12-27
修回日期: 2016-01-19
接受日期: 2016-01-25
在线出版日期: 2016-03-18

Comparative study of laparoscopy combined with fiberoptic choledochoscopy and conventional open surgery in treatment of gallbladder stones with common bile duct stones

Li-Min Cheng, Yang Liu, Zhi-De Sun, Shu-Min Liu, Xue-Jun Zhang

同行评议者
朱小朝, 副主任医师, 宿迁市第一人民医院普外科; 王卫东, 主任医师, 佛山市顺德区第一人民医院普外二区

Li-Ming Cheng, Zhi-De Sun, Shu-Min Liu, Xue-Jun Zhang, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Yang Liu, Department of Geratology, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Supported by: 2014 Chengde Science and Technology Research and Development Projects, No. 201422011

Correspondence to: Li-Min Cheng, Attending Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, 36 Nanyingzi Street, Chengde 067000, Hebei Province, China. chenglimin1972@163.com

Received: 2015-12-27
Revised: 2016-01-19
Accepted: 2016-01-25
Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To compare the efficacy and safety of laparoscopy combined with fiberoptic choledochoscopy and conventional open surgery in the treatment of gallbladder stones with common bile duct stones.

METHODS: The clinical data of 140 patients who were treated at our hospital for gallbladder stones and common bile duct stones from May 2014 to May 2015 were retrospectively analyzed. They were divided into a control group (72 patients; undergoing conventional open surgery) and a treatment group (68 patients; undergoing laparoscopy combined with fiberoptic choledochoscopy). The stone removal rate, operation time, bleeding volume, time to first exhaust, hospital stay, rate of postoperative analgesic usage, and incidence of postoperative complications were compared between the two groups.

RESULTS: There was no significant difference in stone removal rate between the two groups

(P > 0.05). The operation time, bleeding volume, time to first exhaust and hospital stay in the treatment group were significantly better than those of the control group (P < 0.05). The rate of postoperative analgesic usage in the treatment group was significantly lower than that of the control group (P < 0.05). The incidence of postoperative complications in the treatment group was significantly lower than that of the control group (P < 0.05).

CONCLUSION: Compared with conventional open surgery, laparoscopy combined with fiberoptic choledochoscopy in the treatment of gallbladder stones with common bile duct stones possesses the advantages of minimal invasiveness, simple operation and rapid recovery, and can efficiently relieve the postoperative pain and reduce the risk of postoperative complications.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopy; Fiberoptic choledochoscopy; Open surgery; Gallbladder stones; Common bile duct stones

Cheng LM, Liu Y, Sun ZD, Liu SM, Zhang XJ. Comparative study of laparoscopy combined with fiberoptic choledochoscopy and conventional open surgery in treatment of gallbladder stones with common bile duct stones. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1264-1268 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1264.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1264

摘要

目的: 探讨腹腔镜联合纤维胆道镜与常规开腹术式治疗胆囊并胆总管结石临床效果及安全性差异.

方法: 回顾性分析承德医学院附属医院普外科2014-05/2015-05收治胆囊并胆总管结石患者共140例临床资料, 其中行常规开腹术式治疗72例设为对照组, 行腹腔镜联合纤维胆道镜术式治疗68例设为试验组; 比较两组患者结石清除率, 手术时间, 术中出血量、术后首次排气时间、住院时间, 镇痛药物使用率及术后并发症发生率等.

结果: 两组患者结石清除率比较差异无显著性意义(P>0.05); 试验组患者手术时间、术中出血量、术后首次排气时间及住院时间均显著优于对照组, 差异有显著性意义(P<0.05), 试验组患者术后镇痛药物使用率和患者术后并发症发生率显著低于对照组, 差异有显著性意义(P<0.05).

结论: 相较于常规开腹术式, 腹腔镜联合纤维胆道镜术式治疗胆囊并胆总管结石具有微创、操作简便及术后恢复快等优势, 有助于缓解术后疼痛和降低术后并发症发生风险.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腹腔镜; 纤维胆道镜; 开腹; 胆囊结石; 胆总管结石

核心提示: 本次研究以承德医学院附属医院普外科近年来收治胆囊并胆总管结石患者共140例作为研究对象, 分别采用常规开腹术式和腹腔镜联合纤维胆道镜术式治疗, 比较两组患者结石清除率, 手术时间, 术中出血量、术后首次排气时间、住院时间, 镇痛药物使用率及术后并发症发生率等, 探讨两种术式治疗胆囊并胆总管结石临床效果及安全性差异.

程利民, 刘洋, 孙志德, 刘淑敏, 张学军. 腹腔镜联合纤维胆道镜与常规开腹术式治疗胆囊并胆总管结石的临床对比. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1264-1268 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1264.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1264

研发前沿

近年来以腹腔镜联合纤维胆道镜为代表微创术式开始被广泛用于该病治疗, 但国内外尚仍缺乏其与开腹术式疗效及安全性比较相关临床研究.

0 引言

胆囊结石是普外科常见疾病类型之一, 流行病学研究显示, 我国正常人群发病率约为7%-8%; 而其中超过10%患者合并胆总管结石[1,2]. 以往胆囊结石并胆总管结石治疗常规行开腹术式, 结石清除效果满意, 但手术创伤较大, 术后恢复慢且并发症较多, 严重影响患者治疗依从性和满意度[3]. 近年来以腹腔镜联合纤维胆道镜为代表微创术式开始被广泛用于该病治疗, 但国内外尚仍缺乏其与开腹术式疗效及安全性比较相关临床研究. 本次研究以承德医学院附属医院普外科近年来收治胆囊并胆总管结石患者共140例作为研究对象, 分别采用常规开腹术式和腹腔镜联合纤维胆道镜术式治疗. 比较两组患者结石清除率, 手术时间, 术中出血量、术后首次排气时间、住院时间, 镇痛药物使用率及术后并发症发生率等, 探讨两种术式治疗胆囊并胆总管结石临床效果及安全性差异.

同行评价
本文选题实用, 结果可靠, 讨论丰富, 有一定的参考价值.

表 1 两组患者围手术期临床指标比较

分组	*n*	手术时间 (min)	术中出血量 (mL)	术后首次排气时间 (d)	住院时间 (d)
对照组	72	135.73 ± 26.20	85.33 ± 9.31	3.41 ± 1.15	14.37 ± 3.87
试验组	68	112.57 ± 20.87[a]	34.60 ± 3.79[a]	1.67 ± 0.52[a]	6.70 ± 1.80[a]

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组.

1 材料和方法

1.1 材料 研究对象选取承德医学院附属医院普外科2014-05/2015-05收治胆囊并胆总管结石患者共140例, 其中行常规开腹术式治疗患者72例设为对照组, 行腹腔镜联合纤维胆道镜术式治疗患者68例设为试验组; 对照组患者中男性29例, 女性43例, 年龄27-59岁, 平均年龄为39.85岁±5.56岁, 病程2-10年, 平均病程为4.33年±1.07年; 平均胆总管直径1.33 cm ±0.54 cm; 其中单发结石10例, 多发结石58例, 复发胆管结石16例, 合并肝内胆管结石10例; 试验组患者中男性24例, 女性44例, 年龄28-59岁, 平均年龄为39.94岁±5.60岁, 病程2-9年, 平均病程为4.50年±1.11年, 平均胆总管直径1.29 cm±0.50 cm; 其中单发结石12例, 多发结石56例, 复发胆管结石19例, 合并肝内胆管结石11例; 两组患者一般资料比较差异无显著性意义(*P*>0.05). 纳入标准: (1)术前影像学检查及术后病理活检确诊胆囊并胆总管结石; (2)美国麻醉医师协会(American Society of Anesthesiologist, ASA)分级为Ⅰ-Ⅱ级; (3)研究方案经医院伦理委员会批准; (4)患者或家属签署知情同意书, 自愿加入研究. 排除标准: (1)既往腹部手术史; (2)出血性疾病; (3)麻醉禁忌证; (4)严重脏器功能障碍; (5)妊娠哺乳期女性; (6)临床资料不全.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组患者采用常规开腹术式治疗, 即全身麻醉后于患者腹部常规切开, 探查腹腔后依次切除胆囊, 切开胆总管放置纤维胆道镜探查并取出结石, 同时放置引流T管. 试验组患者则采用腹腔镜联合纤维胆道镜术式治疗, 即全身麻醉后首先以剑突右下方2-3 cm处进行穿刺, 其他操作孔位置同常规腹腔镜三孔手术操作法, CO_2气腹压力为13-14 mmHg. 于胆囊三角区有效分离胆囊管与胆囊动脉, 对胆囊动脉进行离断, 并夹闭胆囊管. 待确定肝总管和胆囊管交界无血管区后, 纵行切开胆总管前壁, 切口长度约1 cm. 继而于剑突下穿刺孔放置纤维胆道镜, 以取石网篮取尽胆总管内结石, 并进行彻底冲洗. 取石完成后再行纤维胆道镜探查, 确认无结石后放置引流T管, 最后行胆囊切除. 两组患者术后3-4 wk T管造影检查如未发现胆总管下端结石残留即可拔除.

1.2.2 观察指标: (1)录患者结石清除例数, 计算结石清除率; 结石清除判定标准为术后T型管造影提示未见结石残留[4]; (2)记录患者手术时间、术中出血量、术后首次排气时间及住院时间, 计算平均值; 其中术中出血量计算方法为: 腔镜术中出血量 = 吸引瓶内液体总量-冲洗液量; 开腹术中出血量 = 吸引瓶内液体总量+纱布垫吸血量(每块纱布吸血量按30 mL计算); (3)记录患者术后镇痛药物使用例数, 计算镇痛药物使用率; (4)记录患者术后并发症发生例数, 包括切口感染、呼吸道感染及胆漏等, 计算发生率.

统计学处理 本次研究数据、录入及逻辑纠错选择Epidata3.10软件, 数据分析选择SPSS16.0软件; 其中计量资料采用*t*检验, 以mean±SD表示; 计数资料采用χ^2检验, 以百分比(%)表示; 检验水准为$\alpha = 0.05$, *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者结石清除率比较 对照组和试验组患者结石清除率分别为100.00%(72/72), 98.53%(67/68); 两组患者结石清除率比较差异无显著性意义(*P*>0.05).

2.2 两组患者围手术期临床指标比较 试验组患者手术时间、术中出血量、术后首次排气时间及住院时间均显著优于对照组, 差异有显著性意义(*P*<0.05)(表1).

2.3 两组患者术后镇痛药物使用率比较 对照组和试验组患者数轴镇痛药物使用率分别为73.61%(53/72)、13.24%(9/68); 试验组患者术后镇痛药物使用率显著低于对照组, 差异有显著性意义(P<0.05).

2.4 两组患者术后并发症发生率比较 试验组患者术后并发症发生率显著低于对照组, 差异有显著性意义(2.94% *vs* 15.28%, P<0.05).

3 讨论

胆囊并胆总管结石属于普外科常见病与多发病之一, 患者人数约占胆石病总例数5%-21%[5,6]. 已有研究[7]显示, 胆囊结石患者病程迁延时间越长, 并发胆总管结石几率则越高. 胆囊并胆总管结石临床治疗传统采用开腹胆囊切除、胆总管切开取石术及T管引流术, 结石清除效果尚可, 但术中创伤较大, 术后恢复时间明显延长, 部分高龄或合并其他基础疾病患者无法耐受[8]. 近年来临床报道[9,10]显示, 开腹术式治疗胆囊并胆总管结石术后T管引流相关并发症发生风险较高, 无法满足临床需要. 近年来随着内镜技术不断发展和术者操作水平提高, 以腹腔镜技术为基础微创术式已成为胆囊并胆总管结石临床治疗首选, 其中腹腔镜联合纤维胆道镜方案是其中应用最为广泛的一种.

相较于传统开腹术式, 腹腔镜联合纤维胆道镜术式治疗胆囊并胆总管结石术中创伤更小, 全程均在腔镜下完成, 操作视野更为清晰, 结石清除率高达96%-100%[11]; 术中于剑突右下方2-3 cm处建立穿刺孔, 可有效缩短穿刺孔与胆总管间距离, 并能够保证穿刺纤维胆道镜仅穿刺孔进入后可与胆总管垂直, 有助于提高结石清除效率, 缩短手术用时[12]; 胆囊动脉离断后夹闭胆总管可通过牵拉胆总管而降低胆囊内小结石进入胆总管风险, 避免术后结石残留; 而手术操作过程中对于Oddi括约肌损伤极小亦可有效预防术后并发症发生几率[13].

本次研究结果中, 两组患者结石清除率比较差异无显著性意义(P>0.05), 提示两种手术用于胆囊并胆总管结石患者治疗结石清除效果接近, 符合临床治疗需要; 试验组患者手术时间、术中出血量、术后首次排气时间、住院时间及术后镇痛药物使用率均显著优于对照组, 差异有显著性意义(P<0.05), 说明腹腔镜联合纤维胆道镜术式治疗胆囊并胆总管结石可有效缩短手术用时, 减少术中创伤, 并能够在缓解术后疼痛的同时加快康复进程; 而试验组患者术后并发症发生率显著低于对照组, 差异有显著性意义(P<0.05), 则证实胆囊并胆总管结石行腹腔镜联合纤维胆道镜术式治疗在降低术后并发症发生几率, 提高治疗安全性方面优势明显, 与以往研究[14,15]结果相一致.

总之, 相较于常规开腹术式, 腹腔镜联合纤维胆道镜术式治疗胆囊并胆总管结石具有微创、操作简便及术后恢复快等优势, 有助于缓解术后疼痛和降低术后并发症发生风险.

4 参考文献

1 侯宝华, 崔鹏, 陈盛, 区应亮, 李少杰, 简志祥. 不同微创方法治疗胆囊结石合并胆总管结石的疗效比较. 实用医学杂志 2013; 29: 3887-3889

2 王珏儒, 曲林林, 张炳远, 卢云. 腹腔镜联合十二指肠镜治疗胆囊结石并胆总管结石. 腹腔镜外科杂志 2012; 17: 59-62

3 于江涛, 黄强, 王军. 腹腔镜胆道探查术与传统开腹手术治疗胆囊结石合并胆总管结石的临床价值比较. 安徽医科大学学报 2012; 47: 615-616

4 Ding G, Cai W, Qin M. Single-stage vs. two-stage management for concomitant gallstones and common bile duct stones: a prospective randomized trial with long-term follow-up. *J Gastrointest Surg* 2014; 18: 947-951 [PMID: 24493296 DOI: 10.1007/s11605-014-2467-7]

5 张岚. 腹腔镜下治疗胆囊结石合并胆总管结石的疗效影响因素分析. 腹腔镜外科杂志 2014; 19: 332-335

6 朱杰高, 韩威, 张忠涛, 李建设. 胆囊结石合并胆总管结石的治疗新进展. 中国全科医学 2013; 16: 1702-1704

7 谭永法, 阚和平, 田玉伟, 周杰. 胆囊结石合并胆总管结石的微创治疗. 现代消化及介入诊疗 2011; 16: 149-151

8 罗淑荣, 梁振茹, 石岩, 崔洪海. 超声诊断胃结石. 中国实用医药 2009; 4: 192-193

9 Ramírez García J. [Factors related to therapeutic failure in the extraction of bile duct stones for endoscopic retrograde colangiopancreatography ERCP]. *Rev Gastroenterol Peru* 2011; 31: 330-334 [PMID: 22476121]

10 崔鸿斌, 李培武, 王秉钧, 魏丽娜. 内镜与腹腔镜联合治疗胆囊结石合并胆总管结石的疗效. 中国老年学杂志 2012; 32: 721-722

11 林美举, 杨玉龙, 张洪威, 史力军, 梁爽, 于强, 范明慧. 胆囊结石合并胆总管结石微创治疗的探讨. 中国内镜杂志 2011; 17: 775-778

12 吴健, 丁岩冰, 邓彬, 鞠泽生, 李强, 孙建宏, 马建明, 王远志. 同步或序贯腹腔镜内镜联合手术治疗胆囊合并胆总管结石的对比研究. 中国微创外科杂志 2012; 12: 996-999

13 葛长青, 李全福, 刘建辉. 腹腔镜辅助胆道镜保胆取石术与腹腔镜胆囊切除术的比较. 中国内镜杂志 2012; 18: 199-202
14 鲁家贤, 孙伟军, 孙玲国, 周亚萍, 杜萍, 胡德扬. 内镜微创保胆取石术后胆囊功能的中长期随访报告. 中国微创外科杂志 2014; 14: 799-801
15 张俊杰, 赵海松, 张应选. 保胆取石术117例临床分析. 临床医学 2013; 33: 27-28

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016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》等国外相关文摘与检索系统收录.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1269

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1269-1276
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

胰腺实性假乳头状瘤的超声特征及鉴别诊断

祁晓英, 马 琳, 卢 强, 杨蕗璐, 李加伍, 凌文武, 罗 燕

祁晓英, 马琳, 卢强, 杨蕗璐, 李加伍, 凌文武, 罗燕, 四川大学华西医院超声科 四川省成都市 610041

祁晓英, 在读硕士, 主要从事腹部超声检查与诊断的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81371556

作者贡献分布: 祁晓英与罗燕对此文所作贡献均等; 此课题由祁晓英、罗燕及马琳设计; 研究过程由祁晓英、卢强及杨蕗璐操作完成; 数据分析由李加伍与凌文武完成; 本论文写作由祁晓英与罗燕完成.

通讯作者: 罗燕, 教授, 610041, 四川省成都市国学巷37号, 四川大学华西医院超声科. luoyand@hotmail.com
电话: 028-85423192
传真: 028-85422192

收稿日期: 2016-01-16
修回日期: 2016-01-28
接受日期: 2016-01-31
在线出版日期: 2016-03-18

Ultrasonographic features and differential diagnosis of solid pseudopapillary tumors of the pancreas

Xiao-Ying Qi, Lin Ma, Qiang Lu, Lu-Lu Yang, Jia-Wu Li, Wen-Wu Ling, Yan Luo

Xiao-Ying Qi, Lin Ma, Qiang Lu, Lu-Lu Yang, Jia-Wu Li, Wen-Wu Ling, Yan Luo, Department of Ultrasound, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81371556

Correspondence to: Yan Luo, Professor, Department of Ultrasound, West China Hospital of Sichuan University, 37 Guoxuexiang, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. luoyand@hotmail.com

Received: 2016-01-16
Revised: 2016-01-28
Accepted: 2016-01-31

Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To explore the ultrasonographic features of solid pseudopapillary tumors of the pancreas (SPTP) and their differential diagnosis from pancreatic neuroendocrine tumors (PNET) and pancreatic cancer (PC).

METHODS: Clinical data including conventional ultrasonographic characteristics for 52 patients with pathologically confirmed SPTP, 63 patients with PNET, and 68 patients with PC and the patterns of contrast enhanced ultrasonography (CEUS) in 6 cases of SPTP, 10 cases of PNET and 21 cases of PC were retrospectively analyzed.

RESULTS: There were significant differences between the SPTP group and the PNET group in age, sex, jaundice, tumor size, shape, calcification, liquefaction, separation, blood flow, arterial phase and late phase enhancement mode and non-enhancement area in the lesions ($P < 0.05$), while presence of abdominal pain, elevated CA-199, number of tumors, location, expansion of the main pancreatic duct and recurrence or metastasis had no statistical significance ($P > 0.05$). There were significant differences between the SPTP group and the PC group in age, sex, abdominal pain, jaundice, elevated CA-199, tumor size, location, shape, calcification, liquefaction, expansion of the main pancreatic duct, recurrence or metastasis, arterial phase enhancement mode and non-enhancement area in the lesions ($P < 0.05$), while number of tumors, separation, blood flow and late

背景资料
胰腺实性-假乳头状肿瘤(solid-pseudopapillary-tumor pancreas, SPTP)是一种少见的胰腺肿瘤, 临床表现缺乏特异性, 术前定性诊断困难, 易误诊为胰腺其他实性肿瘤, 如胰腺神经内分泌肿瘤(pancreatic neuroendocrine tumor, PNET)、胰腺癌(pancreatic cancer, PC)等.

同行评议者
杨薇, 副教授, 副主任医师, 北京大学肿瘤医院超声科

研发前沿
探讨SPTP超声及超声造影(contrast enhanced-ultrasonography, CEUS)表现的多样性, 提高超声医师对SPTP诊断及鉴别诊断的水平是临床亟待解决的问题.

phase enhancement mode had no statistical significance ($P > 0.05$).

CONCLUSION: A solid or cystic-solid pancreatic tumor which shows peripheral ring enhancement in the arterial phase, hypo-enhancement in the late phase and central non-enhancement area could be considered as an SPTP in young female patients without jaundice, elevated CA-199 or main pancreatic duct dilation. It should be differentiated from PNET and PC.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pancreas; Solid pseudopapillary tumors; Ultrasound; Contrast-enhanced ultrasonography

Qi XY, Ma L, Lu Q, Yang LL, Li JW, Ling WW, Luo Y. Ultrasonographic features and differential diagnosis of solid pseudopapillary tumors of the pancreas. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1269-1276 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1269.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1269

摘要

目的: 探讨胰腺实性-假乳头状肿瘤(solid-pseudopapillary-tumor pancreas, SPTP)超声声像图特征及与胰腺神经内分泌肿瘤(pancreatic neuroendocrine tumor, PNET)、胰腺癌(pancreatic cancer, PC)的鉴别诊断.

方法: 选取2007-06/2015-12四川大学华西医院经手术切除和病理确诊的52例SPTP为病例组, 随机选择同期经病理证实的63例PNET及68例PC作为对照组, 回顾性分析所有病例的临床资料、常规超声声像图特征及SPTP组6例、PNET组10例、PC组21例超声造影(contrast enhanced-ultrasonography, CEUS)病灶增强特征.

结果: SPTP组与PNET组在发病年龄、性别、出现黄疸、肿块大小、形态、钙化、液化、内部分隔、血流信号、动脉期与实质期增强方式及病灶不增强区方面, 差异有统计学意义($P<0.05$), 在出现腹痛、CA-199升高、肿块数目、位置、主胰管扩张、复发或转移方面, 差异无统计学意义($P>0.05$); SPTP组与PC组在发病年龄、性别、出现腹痛、黄疸、CA-199升高、肿块大小、位置、形态、钙化、液化、主胰管扩张、复发或转移、动脉期增强方式及病灶内不增强区方面, 差异有统计学意义($P<0.05$), 在肿块数目、内部分隔、血流信号及实质期增强方式方面, 差异无统计学意义($P>0.05$).

结论: 青年女性胰腺内发现实性或囊实性肿块, 无黄疸、CA-199升高及主胰管扩张, CEUS示肿块动脉期呈环状高增强, 实质期呈低增强, 部分内见不增强区应考虑SPTP可能. 诊断时需注意与PNET及PC鉴别.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胰腺; 实性假乳头状肿瘤; 超声; 超声造影

核心提示: 胰腺实性-假乳头状肿瘤(solid-pseudopapillary-tumor pancreas, SPTP) 是胰腺实性肿瘤的一种, 与胰腺其他常见实性肿瘤如胰腺神经内分泌肿瘤(pancreatic neuroendocrine tumor)、胰腺癌(pancreatic cancer)在临床特点、常规超声及超声造影(contrast enhanced-ultrasonography)表现方面存在一定的鉴别要点, 这些鉴别要点为超声诊断SPTP提供重要线索, 对提高超声对该病的诊断水平有一定帮助.

祁晓英, 马琳, 卢强, 杨蕗璐, 李加伍, 凌文武, 罗燕. 胰腺实性假乳头状瘤的超声特征及鉴别诊断. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1269-1276 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1269.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1269

0 引言

胰腺实性假乳头状瘤(solid-pseudopapillarry-tumor pancreas, SPTP)是一种具有低度恶性潜能及独特病理学特点的胰腺肿瘤, 临床上较少见, 约占胰腺所有肿瘤的1%-2%[1]. SPTP不引起胰腺内分泌功能障碍, 也无特殊的肿瘤标志物, 临床表现缺乏特异性, 术前定性诊断困难, 易误诊为胰腺其他实性肿瘤, 如胰腺神经内分泌肿瘤(pancreatic neuroendocrine tumor, PNET)、胰腺癌(pancreatic cancer, PC)等. 多数肿瘤生长缓慢, 部分呈侵袭性生长, 若未及时治疗, 可发展为明显恶性, 向周围浸润性生长并转移, 因此及时做出正确诊断对患者临床治疗及预后非常重要. 关于SPTP的超声表现已有较多报道, 但在超声鉴别诊断方面的报道较少[2-5]. 本研究通过对SPTP与PNET及PC的超声声像图特征的对比分析, 旨在探讨SPTP超声声像图特征及与PNET、PC的鉴别诊断.

表 1 SPTP组与PNET、PC组临床特点比较

项目	SPTP组	PNET组	PC组
n	52	63	68
性别[*n*(%)]			
男	8(15.4)[ac]	33(52.4)	46(67.6)
女	44(84.6)[ac]	30(47.6)	22(32.4)
年龄(岁)	31.73±10.90[ac]	48.52±13.35	59.00±10.97
腹痛[*n*(%)]	18(34.6)[c]	25(39.7)	50(73.5)
黄疸[*n*(%)]	1(1.9)[ac]	8(12.7)	26(38.2)
CA-199升高[*n*(%)]	2(3.8)[c]	3(4.8)	43(63.2)

[a]$P<0.05$ *vs* PNET组; [c]$P<0.05$ *vs* PC组. SPTP: 胰腺实性假乳头状瘤; PNET: 胰腺神经内分泌肿瘤; PC: 胰腺癌.

相关报道

Choi等对SPTP典型及不典型的影像学表现进行归纳, 其中一些不典型表现与胰腺其他肿瘤类似, 为提高SPTP影像表现多样性的认识有一定意义.

1 材料和方法

1.1 *材料* 回顾性分析2007-06/2015-12四川大学华西医院经手术切除和病理确诊52例SPTP作为病例组, 随机选择同期经病理证实的63例PNET及68例PC作为对照组. 采用Philips iU22、HD 11 XE型彩色超声诊断仪, 探头频率1.0-5.0 MHz.

1.2 *方法* 回顾性分析胰腺肿块大小、位置、数目、形态、有无液化、钙化、分隔、内部或周边血流信号、主胰管扩张、肝脏及其他脏器有无转移灶.

CEUS组病例应用Philips iU22型彩色超声诊断仪超声造影模式, 造影剂采用意大利Bracco公司生产的SonoVue, 生理盐水稀释至5.0 mL, 充分震荡后经肘静脉团注法快速推注2.4 mL, 再用5.0 mL生理盐水冲注. 注射造影剂的同时开启计时器, 监测病灶及周围正常胰腺组织的动态灌注过程2 min, 注入造影剂后1-30 s为动脉期, 31-120 s为实质期; 通过病灶与周围胰腺实质回声高低比较来判断造影后增强水平, 分为高增强、等增强、低增强和无增强4个级别, 高于周围胰腺组织回声者为高增强, 与周围胰腺组织回声一致者为等增强, 低于周围胰腺组织者为低增强, 病灶无造影剂充填为无增强.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行分析, 计量资料比较采用*t*检验, 计数资料比较采用χ^2检验, 有单元数据<5时采用Fisher精确概率法. 当$P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 *临床特点* SPTP组女44例, 男8例, 平均年龄31.73岁±10.9岁; 18例因腹部胀痛不适就诊, 26例因体检时偶然发现或扪及腹部包块就诊; 1例CA-199升高; 1例术后复发出现黄疸. SPTP组与PNET组在发病年龄、性别、出现黄疸方面, 差异有统计学意义($P<0.05$); 在出现腹痛及CA-199升高方面, 差异无统计学意义($P>0.05$). SPTP组与PC组在发病年龄、性别、出现腹痛、黄疸、CA-199升高方面, 差异有统计学意义($P<0.05$)(表1).

2.2 *超声结果*

2.2.1 *常规超声*: SPTP组肿块平均大小5.53 cm±3.53 cm, 96.2%为单发病灶, 3.8%为多发病灶; 40.4%的病灶位于胰头, 59.6%的病灶位于胰体尾; 86.5%的病灶形态规则; 57.7%的病灶内部发生液化; 19.2%的病灶伴有钙化; 11.5%的病灶囊性成分内可见分隔; 30.8%肿块实性成分内可见点线状血流信号; 11.5%的病灶伴有主胰管扩张(图1).

SPTP组与PNET组在肿块大小(2.93 cm±2.04 cm)、形态、钙化、液化、内部分隔、血流信号方面, 差异有统计学意义($P<0.05$), 在肿块数目、位置、主胰管扩张、复发或转移方面, 差异无统计学意义($P>0.05$); SPTP组与PC组在肿块大小(3.51 cm±0.93 cm)、位置、形态、钙化、液化、主胰管扩张、复发或转移方面, 差异有统计学意义($P<0.05$), 在肿块数目、内部分隔、血流信号方面, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表2).

2.2.2 *超声造影*: SPTP组6例中, 5例动脉期周边呈环状高增强, 内部实性成分呈稍高增强, 4例内部可见片状不增强区; 1例动脉期呈整体轻度高增强. 实质期6例内部及周边增强成分均

创新盘点

本文收集了较大样本量的SPTP病例, 以鉴别诊断为目的, 统计和分析了SPTP与PNET、PC在临床特点、超声及CEUS表现方面的不同, 进行比较并总结, 对提高该病定性诊断及鉴别诊断有一定的帮助.

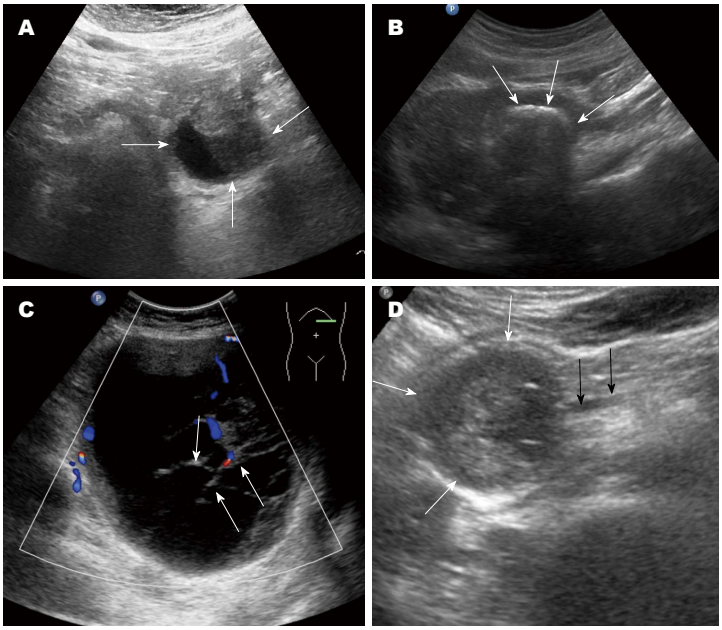


图 1 SPTP常规超声表现. A: 胰尾占位, 内可见液化; B: 胰腺肿块内可见弧形钙化灶(白色箭头); C: 胰腺囊性肿块内可见分隔(白色箭头); D: 胰头弱回声团(白色箭头), 伴有主胰管扩张(黑色箭头).

表 2 SPTP组与PNET、PC组常规超声特点比较 *n*(%)

超声特征	SPTP组	PNET组	PC组
数目			
单发	50(96.2)	56(88.9)	67(98.5)
多发	2(3.8)	7(11.1)	1(1.5)
位置			
胰头	21(40.4)[c]	29(46.0)	40(58.8)
胰体尾	31(59.6)[c]	34(66.0)	28(41.2)
形态			
规则	45(86.5)[ac]	42(66.7)	22(32.4)
不规则	7(13.5)[ac]	21(33.3)	46(67.6)
钙化	10(19.2)[ac]	0(0.0)	2(3.3)
液化	30(57.7)[ac]	5(7.9)	4(5.9)
分隔	6(11.5)[a]	1(1.6)	2(2.9)
内部/周边有血流信号	16(30.8)[a]	32(50.8)	13(19.1)
主胰管扩张	6(11.5)[c]	11(17.5)	45(66.2)
复发/转移	4(7.7)[c]	12(19.0)	18(26.5)

[a]$P<0.05$ *vs* PNET组; [c]$P<0.05$ *vs* PC组. SPTP: 胰腺实性假乳头状瘤; PNET: 胰腺神经内分泌肿瘤; PC: 胰腺癌.

逐步廓清, 呈低增强(图2, 3).

PNET组10例中, 8例动脉期呈高增强(1例内部出现小片状无增强区), 7例实质期呈稍高增强, 1例实质期呈低增强; 2例动脉期及实质期均呈低增强.

PC组21例中, 16例动脉期呈低增强(1例出现片状无增强区), 3例动脉期呈等增强(2例出现片状无增强区), 2例周边呈等增强; 21例实质期均呈低增强.

SPTP组与PNET组在动脉期与实质期增强方式及病灶内不增强区方面, 差异有统计学意义($P<0.05$); SPTP组与PC组在动脉期增强方式及病灶内不增强区方面, 差异有统计学意义($P<0.05$), 在实质期增强方式方面, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表3).

3 讨论

3.1 SPTP概况及临床特征 世界上第1例SPTP由Franz[6]于1959年报道, 其发病具有性别及年龄优势, 好发于30岁左右的年轻女性, 因此也被

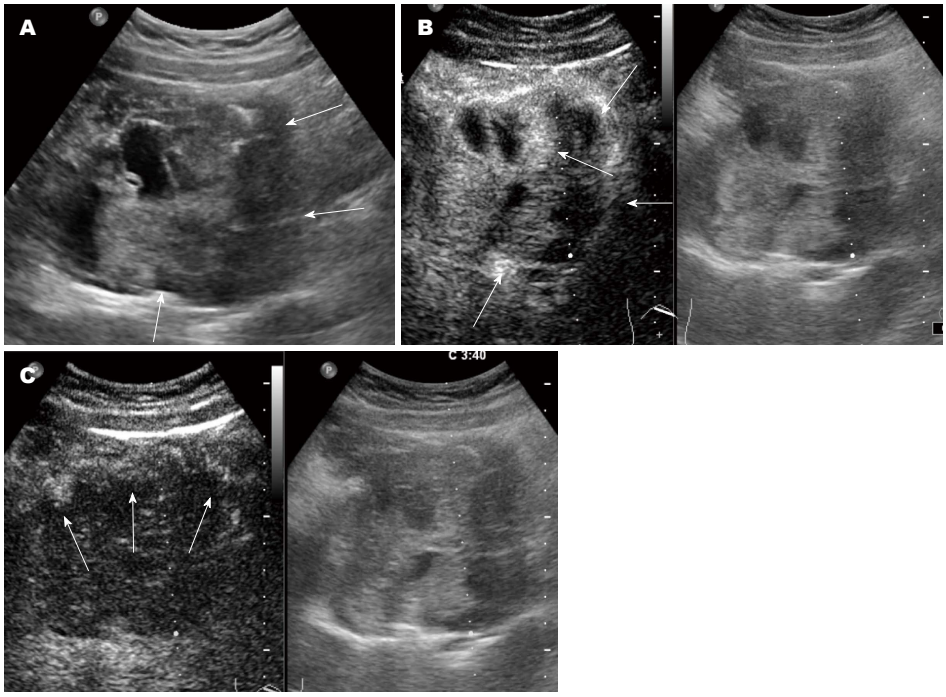


图 2　病例1, 女, 34岁, 胰头及胰体占位. A: 常规超声示胰头及胰体囊实混合回声团(白色箭头); B: CEUS示动脉期团块周边及内部实性成分呈高增强(白色箭头), 内见多数不增强区; C: 实质期内部增强成分廓清明显呈低增强, 周边廓清较晚(白色箭头).

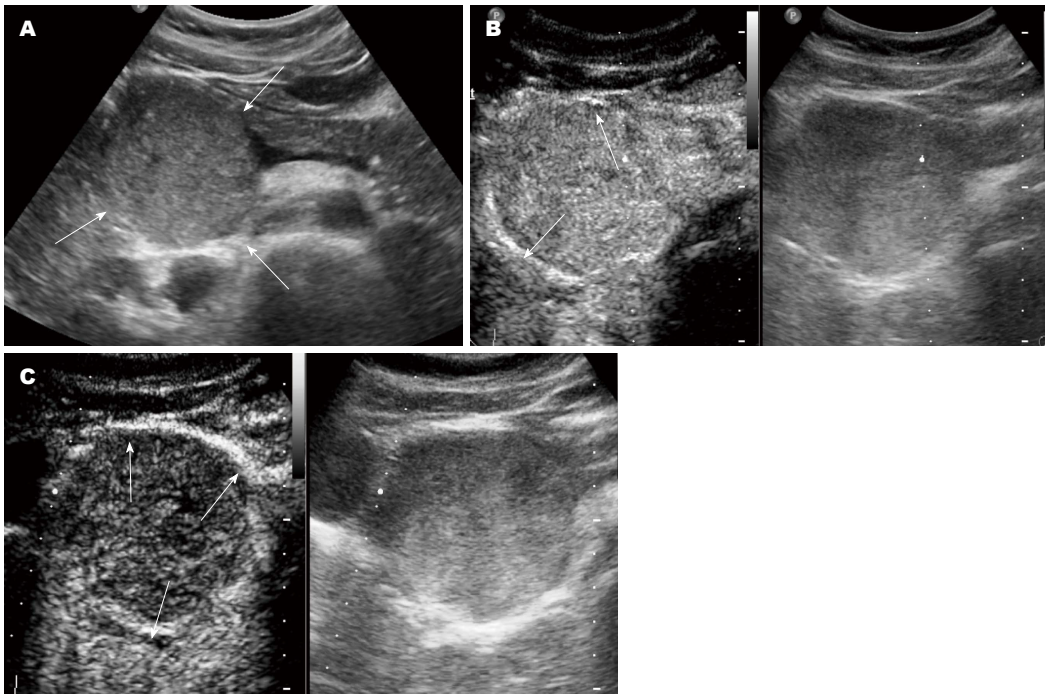


图 3　病例2, 女, 25岁, 胰头占位. A: 常规超声示胰头实性占位(白色箭头); B: CEUS示动脉期团块周边呈环状高增强(白色箭头), 内部呈稍高增强; C: 实质期内部廓清较周边廓清更为明显.

称为daughter lesion[7], 本研究中SPTP组平均年龄为31.73岁±10.09岁, 男∶女约为1∶5.5, 与上述文献报道相符. SPTP不引起胰腺内分泌功能障碍, 大部分患者无症状, 少数可因肿块较大压迫胃肠道或破裂引起症状, 实验室检查如血常规、肝肾功、空腹血糖、血淀粉酶及肿瘤标志物CA-199大多在正常范围内.

PNET好发于30岁以上成年人, 男性略多

■应用要点

本文提出SPTP与PNET、PC在临床特点、超声及CEUS表现方面的鉴别要点, 对SPTP的超声诊断及鉴别诊断具有重要参考价值.

同行评价
关于SPTP超声表现研究报道较多, 但是没有专门以鉴别诊断为目的提出并总结, 该文章对SPTP和PNET及PC在超声及CEUS表现方面的不同进行了比较系统全面的统计及分析, 具有一定的临床价值.

表 3 SPTP组与PNET、PC组CEUS结果比较

CEUS情况	SPTP组	PNET组	PC组
n	6	10	21
动脉期			
整体等高增强	1(16.7)[ac]	6(100.0)	3(20.0)
整体低增强	0[ac]	2(20.0)	16(66.7)
周边等高增强	5(83.3)[ac]	0	2(13.3)
实质期			
稍高增强	0[a]	7(70.0)	0
低增强	6(100.0)[a]	3(30.0)	21(100.0)
病灶内不增强区	4(66.7)[ac]	1(10.0)	3(14.3)

[a]$P<0.05$ *vs* PNET组; [c]$P<0.05$ *vs* PC组. SPTP: 胰腺实性假乳头状瘤; PNET: 胰腺神经内分泌肿瘤; PC: 胰腺癌; CEUS: 超声造影.

于女性. 根据肿瘤细胞的分化程度可分为神经内分泌瘤、神经内分泌癌和混合性腺神经内分泌癌, 根据是否有临床症状分为功能性与无功能性PNET[8]. PC则好发于老年男性, 首发症状以黄疸、腹痛多见, CA-199诊断PC敏感度及特异度较高[9]. 本研究结果显示, 发病年龄、性别、黄疸对SPTP与PNET、SPTP与PC均有鉴别诊断意义, 出现腹痛及CA-199升高对SPTP与PC有鉴别诊断意义.

3.2 SPTP超声声像图特征及鉴别 SPTP常规超声及超声造影特征: SPTP因肿瘤间质含有大量壁薄、脆弱血管而易出血[10], 常见肉眼表现为出血囊性变. 超声图像则表现为胰腺内弱回声或囊实混合回声肿块, 亦可表现为无回声或者等回声肿块. 肿块多单发, 多发少见, 仅有少量研究报道[11,12]. 本组SPTP中, 单发病灶占95.2%(40/42), 多发病灶占4.8%(2/42), 与文献报道相符. SPTP也可出现钙化, 多位于肿瘤周边, 可呈斑点状、细条状、斑块状及蛋壳样[13-15]. 肿块大部分向胰腺外腹腔及腹膜后空虚处生长, 可对邻近胰腺实质挤压形成包膜, 但很少压迫胰管和胆管开口引起其扩张[2]. 本组病例中3例可见主胰管扩张, 其中2例肿块位于胰头(最大径均>4 cm), 1例位于胰尾(最大径约3 cm). 但有学者[3,16]认为, 主胰管与胆管扩张与肿瘤位置及大小均无关, 可能与肿瘤生长方式及出血坏死有关. SPTP为乏血供肿瘤, 但肿瘤周边包膜血供较丰富[17,18]. 本研究6例CEUS病例, 5例动脉期周边可见环状高增强, 内部实性成分及分隔呈稍高增强, 实质期内部增强成分先廓清呈低增强, 周边包膜廓清较晚, 与既往研究相似[4,5]. 不论肿瘤大小, 多数肿瘤内部会发生出血、坏死或囊性变[19], CEUS能很好显示组织微血管灌注, 因此能更清楚的显示肿块内坏死液化情况. 周边环状增强及内部不增强区可看做SPTP特征性增强模式.

SPTP与PNET声像图特征比较: PNET表现为胰腺内低回声肿块, 多为单发, 可发生于胰头及胰体尾部; 功能性PNET就诊时肿瘤多小于3 cm[20], 非功能性PNET因早期无特异症状, 发现时肿瘤多较大, 内部常发生坏死及囊性变; CDFI显示肿块血供丰富. CEUS通常表现为快速均匀高增强, 实质晚期可廓清; 肿瘤级别越高, 强化越不明显[21-24]. 本组多数病例呈高增强, 仅有2例动脉期及实质期均呈低增强, 术后病理证实为高级别PNET. 本研究显示, 肿块大小、形态、钙化、液化、内部分隔、血流信号、动脉期与实质期增强方式及病灶内不增强区, 对SPTP与PNET有鉴别诊断意义, 肿块数目、位置、主胰管扩张、复发或转移在两组间不具有鉴别诊断意义.

SPTP与PC声像图特征比较: PC好发于胰头, 常表现为胰腺内低回声或囊实混合回声肿块, 肿瘤呈侵袭性生长, 形态多不规则, 常伴主胰管及肝内外胆管扩张. 由于PC为乏血供肿瘤, 加之恶性肿瘤内血管紊乱, 易形成动静脉短路[25,26], CEUS多表现为低增强, 即使强化, 也快速廓清. 少数可表现为等增强, 可能与肿瘤分化程度、血管密度、纤维组织含量有关[27,28]. 本研究显示, 肿块大小、位置、形态、钙化、液化、主胰管扩张、复发或转移、动脉期增强方式及病灶内不增强区, 对SPTP与PC有鉴

别诊断意义, 肿块数目、内部分隔、血流信号及实质期增强方式, 在两组间不具有鉴别诊断意义.

总之, 青年女性胰腺内发现实性或囊实性肿块, 无黄疸、CA-199升高及主胰管扩张, CEUS显示肿块动脉期周边环状高增强, 实质期呈低增强, 部分内见不增强区, 应考虑SPTP可能. 相比PNET, 青年女性、肿块较大、形态规则、液化、钙化及分隔在SPTP常见, 青中年男性、出现黄疸、CEUS呈高增强在PNET多见; 相比PC, 肿块出现液化及钙化在SPTP多见, PC则好发于中老年男性且多有腹痛、黄疸及CA-199升高, 肿块较小多位于胰头、形态不规则, 主胰管扩张、复发或转移多见, CEUS呈低增强.

4 参考文献

1 Martin RC, Klimstra DS, Brennan MF, Conlon KC. Solid-pseudopapillary tumor of the pancreas: a surgical enigma? *Ann Surg Oncol* 2002; 9: 35-40 [PMID: 11833495 DOI: 10.1245/aso.2002.9.1.35]

2 万霞, 毕纯龙, 张蔚, 杨立国. 胰腺实性-假乳头状瘤的超声和CT诊断. 现代肿瘤学 2008; 16: 231-234

3 唐少珊, 王丹, 高金梅, 富崴, 刘守君. 胰腺实性假乳头状瘤的超声及超声造影表现. 中国医学影像技术 2009; 25: 1635-1637

4 蔡迪明, 李永忠, 马步云, 凌文武, 姜勇, 张凌燕, 钟晓绯, 张静漪, 宋彬. 超声检查对于胰腺实性假乳头状瘤诊断的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1803-1810

5 Jiang L, Cui L, Wang J, Chen W, Miao L, Jia J. Solid pseudopapillary tumors of the pancreas: Findings from routine screening sonographic examination and the value of contrast-enhanced ultrasound. *J Clin Ultrasound* 2015; 43: 277-282 [PMID: 25502923 DOI: 10.1002/jcu.22259]

6 Frantz VE. Anonymous atlas of tumor pathology: tumors of the pancreas. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1959: 32-33

7 Dewhurst CE, Mortele KJ. Cystic tumors of the pancreas: imaging and management. *Radiol Clin North Am* 2012; 50: 467-486 [PMID: 22560692 DOI: 10.1016/j.rcl.2012.03.001]

8 Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumors of the degestive system. Lyon: IARC Press, 2010: 13-14

9 王平, 黄镇, 崔彦. 胰腺癌的早期诊断. 肿瘤学杂志 2015; 21: 795-798

10 彭建春, 李毓红, 方向军, 郭阳, 唐智明. 胰腺实性假乳头状瘤的多层螺旋CT表现. 中南医学科学杂志 2015; 43: 316-318

11 Orlando CA, Bowman RL, Loose JH. Multicentric papillary-cystic neoplasm of the pancreas. *Arch Pathol Lab Med* 1991; 115: 958-960 [PMID: 1718242]

12 Kobayashi T, Kimura T, Takabayashi N, Sugimura H. Two synchronous solid and cystic tumors of the pancreas. *J Gastroenterol* 1998; 33: 439-442 [PMID: 9658328 DOI: 10.1007/s005350050110]

13 王田力. 胰腺囊实性上皮瘤自发性破裂出血1例. 中华放射学杂志 2000; 34: 737

14 Buetow PC, Buck JL, Pantongrag-Brown L, Beck KG, Ros PR, Adair CF. Solid and papillary epithelial neoplasm of the pancreas: imaging-pathologic correlation on 56 cases. *Radiology* 1996; 199: 707-711 [PMID: 8637992 DOI: 10.1148/radiology.199.3.8637992]

15 Choi JY, Kim MJ, Kim JH, Kim SH, Lim JS, Oh YT, Chung JJ, Yoo HS, Lee JT, Kim KW. Solid pseudopapillary tumor of the pancreas: typical and atypical manifestations. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 187: W178-W186 [PMID: 16861508 DOI: 10.2214/AJR.05.0569]

16 缪飞, 展颖, 王晓颖, 汪登斌, 陈克敏, 江浩. 胰腺实性-假乳头状瘤的CT诊断和鉴别诊断. 中华放射学杂志 2003; 37: 417-421

17 赵玉沛, 胡亚, 廖泉, 戴梦华, 吴巍巍, 蔡力行, 朱预. 胰腺实性假乳头状瘤的诊断和治疗. 中华外科杂志 2005; 43: 53 -55

18 陈润浩, 傅德良, 杨峰, 龙江, 李骥, 狄扬, 金忱, 倪泉兴. 胰腺巨大囊性实质性肿瘤的诊断和治疗. 中国实用外科杂志 2006; 26: 681-683

19 Coleman KM, Doherty MC, Bigler SA. Solid-pseudopapillary tumor of the pancreas. *Radiographics* 2003; 23: 1644-1648 [PMID: 14615569 DOI: 10.1148/rg.236035006]

20 Buetow PC, Parrino TV, Buck JL, Pantongrag-Brown L, Ros PR, Dachman AH, Cruess DF. Islet cell tumors of the pancreas: pathologic-imaging correlation among size, necrosis and cysts, calcification, malignant behavior, and functional status. *AJR Am J Roentgenol* 1995; 165: 1175-1179 [PMID: 7572498 DOI: 10.2214/ajr.165.5.7572498]

21 Milan SA, Yeo CJ. Neuroendocrine tumors of the pancreas. *Curr Opin Oncol* 2012; 24: 46-55 [PMID: 22080942 DOI: 10.1097/CCO.0b013e32834c]

22 Wang SE, Su CH, Kuo YJ, Shyr YM, Li AF, Chen TH, Wu CW, Lee CH. Comparison of functional and nonfunctional neuroendocrine tumors in the pancreas and peripancreatic region. *Pancreas* 2011; 40: 253-259 [PMID: 20966805 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181f94cc4]

23 D'Onofrio M, Mansueto G, Falconi M, Procacci C. Neuroendocrine pancreatic tumor: value of contrast enhanced ultrasonography. *Abdom Imaging* 2004; 29: 246-258 [PMID: 15290954 DOI: 10.1007/s00261-003-0097-8]

24 周延, 刘剑羽, 朱翔. 胰腺神经内分泌肿瘤多层螺旋CT双期增强扫描特征. 中华放射学杂志 2013; 47: 225-230

25 王延杰, 严昆, 范智慧, 孙宇, 闫晓峦, 杨薇. 超声造影定量分析鉴别胰腺神经内分泌肿瘤与胰腺癌. 中国医学影像技术 2015; 31: 67-71

26 Numata K, Ozawa Y, Kobayashi N, Kubota T, Shimada H, Nozawa A, Nakatani Y, Sugimori K, Matsuo K, Imada T, Tanaka K. Contrast-enhanced sonography of pancreatic carcinoma: correlations with pathological findings. *J Gastroenterol* 2005; 40: 631-640 [PMID: 16007398 DOI: 10.1007/s00535-005-1598-8]

27 Sofuni A, Iijima H, Moriyasu F, Nakayama D, Shimizu M, Nakamura K, Itokawa F, Itoi T.

Differential diagnosis of pancreatic tumors using ultrasound contrast imaging. *J Gastroenterol* 2005; 40: 518-525 [PMID: 15942718 DOI: 10.1007/s00535-005-1578-z]

28 Faccioli N, Crippa S, Bassi C, D'Onofrio M. Contrast-enhanced ultrasonography of the pancreas. *Pancreatology* 2009; 9: 560-566 [PMID: 19657211 DOI: 10.1159/000225960]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016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》消化护理学领域征稿启事

本刊讯 为了促进消化护理学领域的事业发展, 《世界华人消化杂志》已成立消化护理学编辑委员会. 将主要报道消化护理学的基础研究, 临床研究, 临床护理实践和护理管理等原始和综述性文章.

《世界华人消化杂志》成立消化护理学编辑委员会, 由周谊霞副教授(http://www.wjgnet.com/1009-3079/edboard_706.htm)等77位专家组成, 分布在24个省市. 其中上海市11位, 陕西省8位, 山东省7位, 黑龙江省7位, 辽宁省6位, 北京市5位, 广东省5位, 河北省3位, 贵州省3位, 湖北省2位, 浙江省2位, 四川省2位, 福建省2位, 江苏省2位, 云南省2位, 新疆维吾尔自治区2位, 甘肃省1位, 海南省1位, 江西省1位, 山西省1位, 天津市1位, 安徽省1位, 河南省1位和吉林省1位. 均来自高等院校和附属医院, 其中主任护师16位, 教授1位, 副主任护师49位, 副教授4位, 主管护师7位.

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的一份学术刊物. 我们真心欢迎消化内科, 消化外科等领域从事护理学工作者积极宣传和踊跃投稿至《世界华人消化杂志》. 请在线投稿, 网址见：http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx

《世界华人消化杂志》2014年收到自由投稿和约稿2192篇. 出版手稿937篇(42.7%), 退稿1220篇(55.7%). 邀请476位编委参与同行评议.

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)编辑和出版. BPG主要从事43种国际性生物医学刊物的编辑和出版工作, 包括旗舰刊物《世界胃肠病学杂志(*World Journal of Gastroenterology*, *WJG*)》. (郭鹏)

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1277

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1277-1281
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

内镜护士参与观察对结肠镜下息肉检出率的影响

任科雨, 勇春明, 崔铭娟, 王艳婷, 魏良洲, 曹 彬

任科雨, 勇春明, 崔铭娟, 王艳婷, 魏良洲, 曹彬, 青岛大学附属医院消化内科 山东省青岛市 266555

任科雨, 主治医师, 医学博士, 主要从事胃肠道疾病的研究.

作者贡献分布: 此课题由任科雨与曹彬设计; 资料收集由崔铭娟及王艳婷完成; 魏良洲负责课题指导; 本论文写作由任科雨与勇春明完成.

通讯作者: 曹彬, 副主任医师, 266555, 山东省青岛市黄岛区五台山路1677号, 青岛大学附属医院消化内科.
qycaobin@126.com
电话: 0532-82919631
传真: 0532-82919900

收稿日期: 2016-01-11
修回日期: 2016-01-26
接受日期: 2016-01-31
在线出版日期: 2016-03-18

Impact of endoscopy nurse involvement on polyp detection rates during colonoscopy

Ke-Yu Ren, Chun-Ming Yong, Ming-Juan Cui, Yan-Ting Wang, Liang-Zhou Wei, Bin Cao

Ke-Yu Ren, Chun-Ming Yong, Ming-Juan Cui, Yan-Ting Wang, Liang-Zhou Wei, Bin Cao, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266555, Shandong Province, China

Correspondence to: Bin Cao, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, 1677 Wutaishan Road, Huangdao District, Qingdao 266555, Shandong Province, China. qycaobin@126.com

Received: 2016-01-11
Revised: 2016-01-26
Accepted: 2016-01-31
Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To investigate the impact of endoscopy nurse involvement during colonoscopy on the polyp detection rate (PDR) and adenoma detection rate (ADR).

METHODS: This was a single-center, prospective study. Patients involved were prospectively randomized to a routine colonoscopy group or an endoscopy nurse involvement group. The association of nurse involvement with PDR and ADR was evaluated.

RESULTS: A total of 1192 patients were included in the study. The PDR was significantly higher (33.19% *vs* 27.81%, P = 0.000) among colonoscopies that included an endoscopy nurse compared with those performed by only a physician, as was the left-sided and the right-sided adenomas detected (P = 0.017). There was no difference in ADR between the two groups (20.88% *vs* 20.55%, P = 0.889). Nurse participation was associated with a higher detection rate of small (<5 mm) polyps (P = 0.006).

CONCLUSION: Endoscopy nurse involvement in colonoscopies significantly improves the overall PDR. Involvement of a well-trained nurse in screening colonoscopies may be an effective strategy to increase access.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Adenoma detection rate; Polyp detection rate; Endoscopy nurse; Colonoscopy

背景资料
随着医院就医人数的增加, 结肠镜工作量剧增, 如何保证内镜质量提高内镜下病变检出率成为目前研究关注的热点. 而护士在内镜检查中发挥的作用越来越受重视, 除外常规工作, 护士更多参与到内镜的观察诊断甚至操作中.

同行评议者
马久红, 副主任护师, 南昌大学第一附属医院消化内镜中心

研发前沿
提高内镜下病变检出率具有重要现实意义. 本研究对护士参与观察能否影响息肉及腺瘤检出率情况进行比较并进行分析研究, 为护士更进一步深入参与内镜检查过程提供依据, 值得临床借鉴.

Ren KY, Yong CM, Cui MJ, Wang YT, Wei LZ, Cao B. Impact of endoscopy nurse involvement on polyp detection rates during colonoscopy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1277-1281 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1277.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1277

摘要

目的: 探讨结肠镜检查过程中内镜护士辅助观察对内镜下息肉检出率的影响.

方法: 本研究为前瞻性研究, 总结2014-01/06于青岛大学附属医院内镜室行肠镜检查病例, 随机分为2组, 1组由单独内镜医师观察, 另外1组增加1名内镜护士共同观察屏幕寻找病变, 分析内镜下息肉及腺瘤检出率, 并进行比较.

结果: 共1192例患者完成结肠镜检查, 协作组息肉检出率明显提高(33.19% *vs* 27.81%, P = 0.000), 两组的腺瘤检出率无明显差异(20.88% *vs* 20.55%, P = 0.889). 协作组的小息肉检出率明显高于医师组(P = 0.006), 左半结肠及右半结肠的息肉检出率均高于医师组, 两组间有明显差异(P = 0.017).

结论: 训练有素的内镜护士作为一个额外的观察者参与观察是一个提高结肠镜下息肉检出率的有效的策略.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 息肉检出率; 腺瘤检出率; 内镜护士; 结肠镜

核心提示: 影响结肠镜下病变检查率的因素众多, 如患者的性别、年龄、退镜时间、肠道准备质量、内镜设备等, 国外研究表明护士参与对内镜下病变检出率也有一定影响. 本研究对护士辅助观察对内镜下病变检出率的影响进行分析, 着重关注息肉检出率和腺瘤检出率这两个质控指标, 比较结肠镜检查质量, 为进一步研究提供参考.

任科雨, 勇春明, 崔铭娟, 王艳婷, 魏良洲, 曹彬. 内镜护士参与观察对结肠镜下息肉检出率的影响. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1277-1281 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1277.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1277

相关报道
国外文献报道护士广泛参与内镜检查各个过程, 从观察病变、阅读内镜图片至执行胃镜、结肠镜等检查, 其准确性、安全性和患者满意度不低于单独的内镜医师. 使用训练有素的内镜护士可以是一个筛查病变的有效策略.

0 引言

随着结直肠肿瘤发病率的提高, 作为结直肠肿瘤筛查和预防标准工具的结肠镜日益受到重视, 也越来越为大众所接受, 因此结肠镜检查的数量迅速增长. 但内镜医师的成长需要长时间的培训, 这种供需的脱节造成患者等候检查时间延长, 诊断延迟以及医疗成本增加和患者的满意度下降. 鉴于这种供需不匹配, 国外研究发现非医师如内镜助手、护士等参与各种内镜诊断程序, 其病变的检出率及患者舒适度并不低于单独的内镜医师[1]. 虽然相关研究已经评估了护士及其临床操作特点是如何怎样影响结肠腺瘤检出率的[2], 但目前国内尚无相关研究, 且我国内镜工作以医师操作为主, 护士主要从事辅助性工作, 提供预约检查, 消毒内镜, 协助切息肉等操作. 为进一步提高工作效率, 本研究选取青岛大学附属医院内镜室行肠镜检查患者为研究对象, 以息肉检出率(polyp detection rate, PDR)和腺瘤检出率(adenomas detection rate, ADR)作为衡量结肠镜质量的指标, 研究护士作为第二个观察者参与内镜检查过程中对病变检出率的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究为一项前瞻性、随机、对照研究. 研究纳入的患者为2014-01/06于青岛大学附属医院内镜中心接受结肠镜检查的门诊及住院患者. 同意并有能力签署知情同意书. 排除标准: 体弱、高龄病例以及有严重的心脑血管疾病, 对检查不能耐受者, 未完成全结肠镜检查者, 炎症性肠病, 结肠息肉病, 全结肠散在多发息肉无法计数, 明显进展期癌的患者.

1.2 方法

1.2.1 研究方法: 符合条件的患者被随机分配到单独的医师或一个医师加一个内镜护士作为额外观察者的一组. 标准单人结肠镜进镜. 共有3个内镜护士参与研究, 工作经验为2-5年, 并未被指定与特定的内镜医师搭配. 记录内镜下观察到肠道准备情况及息肉、腺瘤等病变的位置、形状、大小并取组织送病理检查. 息肉大小以观察者肉眼评估, 以活检钳开口大小7 mm进行评估. 所使用的肠道准备药物为聚乙二醇电解质散和磷酸钠盐, 聚乙二醇电解质散的使用较多. 根据波士顿肠道准备量表(the Boston bowel preparation scale, BBPS)评估肠道准备的质量, 参照该标准评分结果≥5分为合格, <5分为不合格[3].

表 1　两组患者的基本资料 (mean ± SD)

项目	医师组	协作组	*P*值
年龄(岁)	51.98 ± 0.98	52.16 ± 1.38	0.612
性别(男/女)	351/228	368/245	0.835
进镜时间(min)	13.96 ± 2.58	15.40 ± 4.66	0.075
退镜时间(min)	7.92 ± 2.49	9.17 ± 3.62	0.063
BBPS评分(分)	7.18 ± 0.93	7.11 ± 1.08	0.872

表 2　患者的临床特征

内镜检查原因	医师组	协作组	*P*值
消化道出血	36	40	0.828
中下腹痛	386	407	0.921
体质量减轻	39	48	0.468
大便性状改变	100	95	0.408
体检	18	23	0.542

表 3　两组息肉检出率的比较 *n*(%)

病变类型	医师组	协作组	χ^2值	*P*值
腺瘤性息肉	119(20.55)	128(20.88)	0.002	0.889
增生性息肉	32(5.53)	40(6.53)	0.523	0.470
炎性息肉	48(8.29)	124(20.23)	34.369	0.000
癌变	5(0.86)	7(1.14)	0.232	0.630

创新盘点
本研究将患者分为单独的医师观察组及医师护士协作组，比较两组息肉及腺瘤检出率，并对检出息肉临床特点进行分析，结果显示护士辅助观察能明显提高内镜下息肉检出率.

1.2.2 定义及说明: (1)结肠息肉病理诊断按照维也纳标准[4]: 腺瘤性息肉、错构瘤性息肉、炎性息肉、增生性息肉等; (2)PDR(或ADR): 有息肉(或腺瘤)检出者占全部结肠镜受检者的比例; (3)重复检查: 在研究时间段内若出现同一患者的多次肠镜检查记录则取首次肠镜情况; (4)左半结肠包括直肠、乙状结肠、降结肠、脾曲. 右半结肠包括回盲部、升结肠、肝曲、横结肠; (5)体检者符合平均风险人群定义[5]: 指无结直肠癌相关症状或预警症状, 无结直肠癌和结直肠腺瘤性息肉病史及家族史, 无遗传性结直肠癌和炎症性肠病病史的人群.

统计学处理 使用SPSS16.0进行数据统计分析. 计量资料用mean±SD表示, 连续变量资料的统计方法为*t*检验, 计数资料组间比较采用χ^2检验, 以$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 基本资料 共有1192例患者完成检查, 其中医师组579例, 对照组613例. 两组患者的性别、年龄、插镜时间、退镜时间、肠道准备等基本资料无明显差异(表1). 肠道准备药物为聚乙二醇电解质散803例和磷酸钠盐389例. 两组内镜检查原因均以大便性状改变及腹痛为主(表2).

2.2 息肉及腺瘤检出率 医师组共161例患者检出息肉424枚, 其中腺瘤296枚; 协作组共203例患者检出息肉736枚, 其中腺瘤448枚. 医师组和协作组息肉的总体检出率有非常显著的差异, 分别是27.81%和33.19%(P = 0.000). 腺瘤性息肉的检出率差异不大, 两组分别是20.55%和20.88%(P = 0.889). 增生性息肉的检出率分别是5.53%和6.53%(P = 0.470), 无明显差异. 炎性息肉的检出率分别为8.29%和20.23%(P = 0.000), 有明显差异; 癌变的检出率分别为0.86%和1.14%(P = 0.630), 无明显差异(表3). 协作组<5 mm的息肉检出率明显高于医师组, 有明显差异(P = 0.006), 在息肉位置方面, 协作组在左右半结肠息肉检出率均高于医师组, 有明显差异(P = 0.017)(表4).

应用要点
本研究结果显示护士辅助观察可以明显提高内镜下息肉检出率，在国内相关报道不多，对内镜护士开展工作有较好的指导作用.

名词解释

波士顿量表(BBPS量表): 该量表采取分段评分法, 分数越高代表肠道准备质量越好. 只用于评价退镜时的肠道清洁程度, 在观察者内部和观察者之间具有良好的稳定性, 与临床结局亦有较好的相关性.

表 4 两组患者检出息肉的特征对比 n(%)

特征	医师组	协作组	χ^2值	P值
直径(mm)				
<5	260(61.32)	487(66.16)	0.186	0.006
5–9	96(22.64)	148(20.11)	2.125	0.145
≥10	68(16.04)	101(13.73)	1.158	0.282
息肉位置				
左半结肠	232(54.72)	349(47.42)	5.732	0.017
右半结肠	192(45.28)	387(52.58)	5.732	0.017

3 讨论

每一个腺瘤都有转化为癌的可能性, 这就要求我们尽可能检出更多的腺瘤, 为大肠癌的预防提供机会. 影响腺瘤检出率的因素众多, 如患者的年龄、性别、肠道准备质量、操作者的经验、退镜时间、内镜设备情况等[6], 除此之外, 护士发挥的作用也越来越受到重视. 国外研究提出可通过护士参与执行以前医生执行的任务和程序, 如护士在内镜检查过程中参与观察病变, 阅读胶囊内镜图片, 甚至执行乙状结肠镜、胃镜甚至全结肠镜检查等操作来提高内镜下病变检出率[7]. 但国内尚无此方面研究. 本研究分析内镜检查过程中护士参与观察和息肉检出率的关系, 旨在为护士更深入参与内镜检查过程, 增加工作效率提高病变检出率提供临床依据.

本研究结果显示, 医护协作组的息肉检出率高于单独医师组, 两组的腺瘤检出率无明显差异. Aslanian等[8]的研究表明在结肠镜检查过程中护士作为第二个观察者可以提高每个患者发现的息肉及腺瘤的数目, 进而提高ADR及PDR. 而Lee等[9]的报告称内镜护士辅助观察增加PDR及ADR与护士的工作经验有关, 有2年及以上工作经验的护士参与观察才能有效增加检出率. 本研究结果与文献报告相符, 分析其原因可能是在肠镜检查过程中两个人可以提供更有效的视觉扫描和识别, 而且本研究中参与观察的护士工作经验均为2年以上, 有丰富的内镜经验来识别病变, 医师护士经验相互补充因而能显著增加内镜下息肉的检出率. 另外研究表明随着医师工作量增加工作时间延长, 医师的疲劳也影响内镜筛查中病变的检出率[10], 护士的参与可以弥补内镜医师的遗漏. 除此之外, 在肠镜检查过程中护士安抚患者, 协助体位变化、按压腹部等也增加患者的舒适度及耐受性, 也有助于提高PDR.

本研究中两组腺瘤及癌变检出率无明显差异, 而炎性息肉的检出率两组间存在明显差异, 表明总体息肉检出率的增加, 归因于炎性息肉检出率增加而非腺瘤性病变. 两组腺瘤性病变的检出率均在20%左右, 低于文献报道平均ADR 33.6%-42.1%的水平[11], 尽管ADR是一个容易受多种因素干扰的指标且目前尚无本地区ADR的相关报道, 但本研究结果提示我们的ADR仍有很大提升空间, 应该控制各方面因素, 发现更多的息肉及腺瘤.

从检出息肉特征方面比较, 两组主要检出的息肉均为<5 mm的小息肉, 协作组小息肉的检出率明显高于医师组. 医师组左半结肠的检出率高于右半结肠, 而协作组右半结肠的检出率有所提高. 文献报道[12]息肉较小是结肠镜检查中息肉漏诊的独立危险因素,尽量发现小息肉可以显著降低息肉漏诊率. 尽管多数可识别但是被错过的息肉是小的, 平坦的, 但是多项研究表明小息肉中可含进展组织腺瘤及黏膜下浸润癌[13-15], 提示我们即使检出率极低但微小息肉仍有癌变风险, 无论息肉大小, 均应切除. 文献报道右半结肠间歇期肿瘤发生率明显高于左半结肠[16], 这与左半结肠的息肉检出率要高于右半结肠有明显的相关性[17]. 本研究发现左半结肠的息肉检出率要高于右半结肠, 与文献报道一致, 协作组提高右半结肠息肉的检出率, 这也预示着在一定程度上减低了右半结肠间歇期肿瘤的发病率.

总之, 内镜护士作为一个额外的观察者参与筛查结肠镜增加了PDR, 减少结直肠病变的漏检率, 但无法提供ADR统计上的显著改善. 护士参与增加PDR可以归因于增加炎性病变的检测,而非腺瘤病变.

4 参考文献

1 Dokoutsidou H, Karagiannis S, Giannakoulopoulou E, Galanis P, Kyriakos N, Liatsos C, Faiss S, Mavrogiannis C. A study comparing an endoscopy nurse and an endoscopy physician in capsule endoscopy interpretation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23: 166-170 [PMID: 21287720]

2 Day LW, Siao D, Inadomi JM, Somsouk M. Non-physician performance of lower and upper endoscopy: a systematic review and meta-analysis. *Endoscopy* 2014; 46: 401-410 [PMID: 24627086 DOI: 10.1055/s-0034-1365310]

3 Chan WK, Saravanan A, Manikam J, Goh KL, Mahadeva S. Appointment waiting times and education level influence the quality of bowel preparation in adult patients undergoing colonoscopy. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 86 [PMID: 21798022 DOI: 10.1186/1471-230X-11-86]

4 Schlemper RJ, Riddell RH, Kato Y, Borchard F, Cooper HS, Dawsey SM, Dixon MF, Fenoglio-Preiser CM, Fléjou JF, Geboes K, Hattori T, Hirota T, Itabashi M, Iwafuchi M, Iwashita A, Kim YI, Kirchner T, Klimpfinger M, Koike M, Lauwers GY, Lewin KJ, Oberhuber G, Offner F, Price AB, Rubio CA, Shimizu M, Shimoda T, Sipponen P, Solcia E, Stolte M, Watanabe H, Yamabe H. The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. *Gut* 2000; 47: 251-255 [PMID: 10896917]

5 Davila RE, Rajan E, Baron TH, Adler DG, Egan JV, Faigel DO, Gan SI, Hirota WK, Leighton JA, Lichtenstein D, Qureshi WA, Shen B, Zuckerman MJ, VanGuilder T, Fanelli RD. ASGE guideline: colorectal cancer screening and surveillance. *Gastrointest Endosc* 2006; 63: 546-557 [PMID: 16564851]

6 Adler A, Wegscheider K, Lieberman D, Aminalai A, Aschenbeck J, Drossel R, Mayr M, Mroß M, Scheel M, Schröder A, Gerber K, Stange G, Roll S, Gauger U, Wiedenmann B, Altenhofen L, Rosch T. Factors determining the quality of screening colonoscopy: a prospective study on adenoma detection rates, from 12,134 examinations (Berlin colonoscopy project 3, BECOP-3). *Gut* 2013; 62: 236-241 [PMID: 22442161 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300167]

7 Verschuur EM, Kuipers EJ, Siersema PD. Nurses working in GI and endoscopic practice: a review. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 469-479 [PMID: 17321249]

8 Aslanian HR, Shieh FK, Chan FW, Ciarleglio MM, Deng Y, Rogart JN, Jamidar PA, Siddiqui UD. Nurse observation during colonoscopy increases polyp detection: a randomized prospective study. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 166-172 [PMID: 23381064]

9 Lee CK, Park DI, Lee SH, Hwangbo Y, Eun CS, Han DS, Cha JM, Lee BI, Shin JE. Participation by experienced endoscopy nurses increases the detection rate of colon polyps during a screening colonoscopy: a multicenter, prospective, randomized study. *Gastrointest Endosc* 2011; 74: 1094-1102 [PMID: 21889137 DOI: 10.1016/j.gie.2011.06.033]

10 Lee CK, Cha JM, Kim WJ. Endoscopist Fatigue May Contribute to a Decline in the Effectiveness of Screening Colonoscopy. *J Clin Gastroenterol* 2015; 49: e51-e56 [PMID: 25110871 DOI: 10.1097/MCG.0000000000000175]

11 Marcondes FO, Dean KM, Schoen RE, Leffler DA, Rose S, Morris M, Mehrotra A. The impact of exclusion criteria on a physician's adenoma detection rate. *Gastrointest Endosc* 2015; 82: 668-675 [PMID: 26385275 DOI: 10.1016/j.gie.2014.12.056]

12 陈俊, 姚定康. 如何提高结肠镜对结直肠肿瘤的检出率. 国际消化病杂志 2015; 35: 49-51

13 康海锋, 李海燕, 朱凌音, 张晶晶, 李晓波. 含进展组织腺瘤在结直肠微小息肉中的检出率. 胃肠病学 2014; 19: 389-393

14 Gupta N, Bansal A, Rao D, Early DS, Jonnalagadda S, Wani SB, Edmundowicz SA, Sharma P, Rastogi A. Prevalence of advanced histological features in diminutive and small colon polyps. *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 1022-1030 [PMID: 22405698 DOI: 10.1016/j.gie.2012.01.020]

15 Rex DK, Overhiser AJ, Chen SC, Cummings OW, Ulbright TM. Estimation of impact of American College of Radiology recommendations on CT colonography reporting for resection of high-risk adenoma findings. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 149-153 [PMID: 19098863 DOI: 10.1038/ajg.2008.35]

16 陶文武, 高峰. 无症状体检者结直肠息肉分布特征1990例. 世界华人消化杂志 2014; 22: 1037-1041

17 Fayad NF, Kahi CJ. Colonoscopy quality assessment. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2015; 25: 373-386 [PMID: 25839691 DOI: 10.1016/j.giec.2014.11.008]

同行评价

本文为临床内镜护士参与结肠镜检查，提高镜下息肉检查率提供了理论依据，对进一步强调护士参与内镜诊疗过程，发挥内镜专科护士的作用具有重要意义.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1282

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1282-1288
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

腹腔镜手术及医生专业化程度对直肠癌治疗的临床效果

丁芝金, 刘志远, 葛 洋, 曹献馗, 李树强, 孙 威, 刘宝林

背景资料
直肠癌是常见的消化系恶性肿瘤, 外科手术切除肿瘤仍是治疗直肠癌的主要手段. 盆腔解剖空间相对狭小, 传统开腹直肠手术术区视野暴露困难, 术者操作难度大. 近年来腹腔镜手术治疗直肠癌在临床上得到了广泛应用, 国内外多家临床医学中心针对其可行性和有效性进行了大量研究, 并得到了初步的结果.

丁芝金, 刘志远, 葛洋, 曹献馗, 李树强, 孙威, 刘宝林, 中国医科大学附属盛京医院普外科 辽宁省沈阳市 110004

丁芝金, 主要从事普外科相关疾病研究.

作者贡献分布: 此课题由丁芝金与刘宝林设计; 刘志远、葛洋、曹献馗、李树强及孙威参与研究过程; 丁芝金负责分析数据、撰写草稿; 刘宝林审校稿件.

通讯作者: 刘宝林, 教授, 主任医师, 博士生导师, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院普外科. liubl@sj-hospital.org
电话: 024-96615-31611

收稿日期: 2016-01-01
修回日期: 2016-01-27
接受日期: 2016-02-02
在线出版日期: 2016-03-18

Efficacy of laparoscopic surgery for rectal cancer and impact of surgeon's degree of specialization: A single center clinical study

Zhi-Jin Ding, Zhi-Yuan Liu, Yang Ge, Xian-Kui Cao, Shu-Qiang Li, Wei Sun, Bao-Lin Liu

Zhi-Jin Ding, Zhi-Yuan Liu, Yang Ge, Xian-Kui Cao, Shu-Qiang Li, Wei Sun, Bao-Lin Liu, Department of General Surgery, Shengjing Hospital Affiliated to China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Correspondence to: Bao-Lin Liu, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, Shengjing Hospital Affiliated to China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. liubl@sj-hospital.org

Received: 2016-01-01
Revised: 2016-01-27
Accepted: 2016-02-02
Published online: 2016-03-18

同行评议者
刘刚, 主任医师, 天津医科大学总医院普通外科; 贾云鹤, 教授, 主任医师, 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院结直肠外科

Abstract

AIM: To evaluate the clinical effects of laparoscopic surgery for rectal cancer and the impact of surgeon's degree of specialization.

METHODS: Clinical data for 210 patients who underwent treatment for rectal cancer at Shengjing Hospital Affiliated to China Medical University from January 2010 to march 2012 were reviewed. The patients were divided into a laparoscopic surgery group and an open surgery group, and surgical outcome and postoperative outcome were compared between the two groups. According to the doctor's professional degree, the patients were divided into a professional laparoscopic surgery group and a non-professional laparoscopic surgery group, a professional open surgery group and a non-professional open surgery group. Surgical outcome and postoperative outcome were compared between these groups.

RESULTS: The laparoscopic surgery group had less intraoperative blood loss, shorter time to first postoperative exhaust, shorter time to intake of liquid diets, and shorter hospital stay than the open surgery group ($P < 0.01$). In addition, the laparoscopic surgery group had a higher number of resected lymph nodes, earlier ambulation, shorter time to urethral catheter removal, and lower incision infection rate than the open surgery group ($P < 0.05$). The operation time were longer, resected specimen length was shorter, and the total cost was higher in the laparoscopic surgery group than in the open surgery group ($P < 0.01$). Time to intake of liquid diets was significantly

shorter in the two professional groups than the two non-professional groups ($P < 0.01$). The professional open surgery group had a significantly lower incidence of intestinal fistula than the non-professional open surgery group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Laparoscopic surgery for rectal cancer has the advantages of less intraoperative bleeding, resecting more lymph nodes, faster postoperative recovery, shorter hospitalization time, and lower postoperative incision infection rate. The degree of doctor's degree of specialization has an impact on postoperative recovery of patients undergoing radical rectal operation.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Rectal cancer; Laparoscopy; Open surgery; Specialization

Ding ZJ, Liu ZY, Ge Y, Cao XK, Li SQ, Sun W, Liu BL. Efficacy of laparoscopic surgery for rectal cancer and impact of surgeon's degree of specialization: A single center clinical study. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1282-1288 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1282.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1282

摘要

目的: 探讨腹腔镜手术及医生专业化程度对直肠癌治疗的临床效果.

方法: 纳入中国医科大学附属盛京医院2010-01/2012-03, 210例直肠癌手术患者, 分为腹腔镜组和开腹组, 比较两组患者手术、术后情况及临床结局差异. 同时, 根据医生的专业化程度进一步亚分组为腹腔镜专业组和腹腔镜非专业组、开腹专业组和开腹非专业组, 对照腹腔镜专业组和腹腔镜非专业组、开腹专业组和开腹非专业组, 比较手术、术后情况及临床结局的差异.

结果: 腹腔镜组与开腹组比较, 腹腔镜组术中出血量少、首次排气时间早、进流食时间早、术后住院时间缩短(P<0.01), 清扫淋巴结数量多、下地活动时间早、留置导尿管时间短、切口感染率低(P<0.05); 但腹腔镜组手术时间长、切除标本长度短、住院总费用高(P<0.01), 差异均有统计学意义. 腹腔镜专业组与腹腔镜非专业组比较, 腹腔镜专业组进流食时间早(P<0.01). 开腹专业组与开腹非专业组比较, 开腹专业组进流食时间早(P<0.01)、肠瘘发生率低(P<0.05).

结论: 腹腔镜直肠癌手术术中出血少、清扫淋巴结数量多、术后恢复快、住院时间短、切口感染率低, 医生的专业化程度对直肠癌根治手术患者术后恢复有一定影响.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 直肠癌; 腹腔镜; 开腹; 专业化

核心提示: 腹腔镜手术治疗直肠癌能减少术中出血、加快术后恢复、缩短术后住院时间、降低切口感染发生率. 医生的高专业化程度能促进直肠癌患者术后胃肠功能恢复, 减少肠漏的发生.

丁芝金, 刘志远, 葛洋, 曹献馗, 李树强, 孙威, 刘宝林. 腹腔镜手术及医生专业化程度对直肠癌治疗的临床效果. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1282-1288 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1282.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1282

相关报道
相关研究显示腹腔镜组相对开腹组手术时间长、住院总费用高(P<0.01), 给患者增加了手术期间麻醉管理等风险、加重了经济上负担, 这些因素需要外科医生在临床诊治的过程中综合考虑.

0 引言

直肠癌是常见的消化系恶性肿瘤, 发病率和死亡率总体仍呈上升趋势, 严重危害人类健康[1-3]. 近年来腹腔镜手术治疗直肠癌在临床上得到了广泛应用, 国内外多家临床医学中心针对其可行性和有效性进行了大量研究, 并得到了初步的结果[4-12]. 同时, 许多大型综合医院各学科科室进行亚专业细分, 医生的专业化程度越来越高[13,14]. 本文旨在探讨腹腔镜技术及医生的专业化治疗对直肠癌治疗的临床效果.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性纳入中国医科大学附属盛京医院普通外科210例直肠癌手术患者. 其中, 男性119例, 女性91例; 年龄33-82岁, 平均61.0岁±10.7岁; 按手术方式不同分为腔镜组(133例)与开腹组(77例); 中国医科大学附属盛京医院普外科亚专业细分为多个病房, 两个结直肠专科病房的各个治疗组对直肠癌的诊疗具备较高的专业化素养, 按治疗医生专业化程度不同, 进一步将腹腔镜组亚分为: 腹腔镜专业组(117例)、腹腔镜非专业组(16例), 将开腹组亚分为: 开腹专业组(67例)、开腹非专业组(10例). 入组病例中腹腔镜专业组有1例中转开腹手术, 开腹专

同行评价
本文对比了腹腔镜与开腹手术对直肠癌的临床效果, 同时也对比了结直肠专业医生与非专业医生手术治疗效果的对比. 文章立意尚可.

业组有1例因术后并发症死亡, 术后接受辅助治疗患者133例. 各组患者比较年龄、TNM分期、肿瘤浸润深度、淋巴结转移、肿瘤最大径、肿瘤大体类型、肿瘤分化类型、肿瘤组织学类型、术前CEA水平、术后辅助治疗这些影响直肠癌预后的因素[15,16], 在构成比上差异均无统计学意义.

1.2 方法

1.2.1 手术方式: 手术方式包括直肠癌前切除术(Dixon手术), 腹会阴联合直肠癌根治术(Miles手术), 直肠癌根治、近端造口、远端封闭术(Hartmann手术). 各组手术原则相同, 严格遵循无瘤操作原则, 遵循全直肠系膜切除(total mesorectal excision, TME)原则. 手术在全麻下进行, 手术体位为截石位. 腹腔镜直肠癌前切除术(Dixon手术), 沿脐窝上部作长约1 cm切口, 建立气腹, 维持腹内压在13-15 mmHg, 于脐部切口行12 mm套管针穿刺, 成功后放入腹腔镜探查腹腔. 在腹腔镜监视下分别于脐旁左、右腹直肌外缘及麦氏点、反麦氏点行5 mm、5 mm和12 mm、5 mm套管针穿刺. 用超声刀游离乙状结肠右侧系膜, 分离出肠系膜下血管, 清扫肠系膜下动脉根部淋巴结, 离断肠系膜下动静脉根部. 在乙状结肠系膜右侧沿Toldt's间隙游离起乙状结肠系膜, 按TME原则游离直肠后方(沿骶前间隙游离, 保留盆腔神经丛), 在直肠后方向两侧游离直肠侧方(直肠两侧侧腹膜打开到腹膜返折处汇合, 沿直肠与侧盆壁间隙游离), 游离直肠前方间隙. 在肿瘤下缘2-5 cm处裸化肠壁, 用切割闭合器切断肠管. 经左侧腹直肌外缘戳口做长约5 cm切口入腹, 牵出近端肠管, 在距肿瘤近端10 cm处切断乙状结肠, 移除标本. 置入吻合器抵钉座后用烟包器行烟包缝. 将肠管放回腹腔, 重建气腹, 经肛门导入吻合器行端端吻合. 盆腔留置引流管2枚. 腹腔镜直肠癌根治Miles手术、Hartmann手术及开腹直肠癌根治术手术方法不再赘述.

1.2.2 观察指标: 记录各组患者的手术资料: 包括手术时间、术中出血量、清扫淋巴结数、切除标本长度、下切缘与肿瘤距离、CRM阳性; 术后指标: 包括下地活动时间、首次排气时间、进流食时间、留置导尿管时间、术后住院时间、住院总费用; 并发症: 包括输尿管损伤、肠梗阻、术后出血(吻合口、腹腔、切口)、切口感染、呼吸道感染、泌尿系感染、肠瘘(吻合口、直肠阴道)、乳糜漏、疝(切口、造瘘口)、腹泻. 术后采用电话联系的方式进行随访, 全部患者随访至患者死亡或截止至2015-03, 记录各组患者术后肿瘤复发转移、1年生存率和3年生存率情况.

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行统计分析. 计量资料比较采用mean±SD表示, 计量资料比较采用F检验、t检验, 计数资料比较采用χ^2检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 腹腔镜组与开腹组比较结果 腹腔镜组比开腹组术中出血量少($P<0.01$)、首次排气时间早($P<0.01$)、进流食时间早($P<0.01$)、留置导尿管时间短($P<0.05$)、下地活动时间早($P<0.05$)、术后住院时间短($P<0.01$); 腹腔镜组的手术时间明显长于开腹组($P<0.01$)、切除的标本长度相对较短($P<0.01$), 但清扫的淋巴结数量更多($P<0.05$), 两组在下切缘与肿瘤距离、CRM阳性率等方面差异均无统计学差. 在术后并发症方面腹腔镜组切口感染率明显低于开腹组($P<0.05$), 其他手术并发症发生率包括输尿管损伤、肠梗阻、术后出血、呼吸道感染、泌尿系感染、肠瘘、乳糜漏、疝、腹泻, 两组组间差异均无统计学意义. 另外, 腹腔镜组住院总费用要高于开腹组($P<0.01$). 两组在肿瘤复发转移发生率、1年生存率、3年生存率等指标上差异均无统计学意义(表1).

2.2 专业组与非专业组比较结果 腹腔镜专业组进流食时间早于腹腔镜非专业组($P<0.01$). 两组患者在其他临床参数上比较均无统计学差异. 开腹专业组进流食时间早于开腹非专业($P<0.01$), 另外开腹专业组肠瘘(包括肠吻合口瘘、直肠阴道瘘)的发生率要低于开腹非专业组($P<0.05$). 两组患者在其他临床参数上比较均无统计学差异(表2).

3 讨论

现阶段恶性肿瘤的治疗仍是世界性难题, 直肠癌也不例外, 外科手术切除肿瘤仍是治疗直肠癌的主要手段. 盆腔解剖空间相对狭小, 传统开腹直肠手术术区视野暴露困难, 术者操作难度大, 尤其是男性患者. 近年来, 腹腔镜技术在普通外科得到了广泛应用, 且具有较高安全性, 并得到外科领域多数医生的认可和关注. 腹腔镜手术治疗直肠癌已有20余年历史, 腹腔

表 1　腔镜组与开腹组手术及术后情况比较结果

指标	腔镜组	开腹组	t/χ^2值	P值
手术资料				
手术时间(min)	210.3 ± 49.5[b]	190.0 ± 35.6	t = 3.167	0.002
术中出血量(mL)	190.9 ± 157.2[b]	344.3 ± 246.5	t = 4.888	0.000
清扫淋巴结数(枚)	6.7 ± 4.6[a]	5.2 ± 3.5	t = 2.619	0.010
切除标本长度(cm)	15.8 ± 5.9[b]	18.8 ± 5.9	t = 3.886	0.000
下切缘与肿瘤距离(cm)	3.3 ± 1.5	2.9 ± 2.0	t = 1.632	0.104
CRM阳性率(%)	0/133	1/77	χ^2 = 1.736	0.367
术后指标				
下地活动时间(d)	2.8 ± 1.0[a]	3.3 ± 1.5	t = 2.318	0.022
首次排气时间(d)	3.4 ± 1.3[b]	4.0 ± 1.3	t = 2.955	0.003
进流食时间(d)	3.9 ± 2.0[b]	4.8 ± 2.2	t = 3.021	0.003
留置导尿管时间(d)	6.3 ± 5.0[b]	8.0 ± 6.2	t = 2.178	0.031
术后住院时间(d)	12.7 ± 6.6[b]	16.8 ± 8.6	t = 3.865	0.000
住院总费用(元)	49735.3 ± 11612.5[b]	40064.8 ± 18185.8	t = 4.700	0.000
并发症(n)				
输尿管损伤	0	0	χ^2 = 0.000	1.000
肠梗阻	7	5	χ^2 = 0.137	0.762
术后出血	1	0	χ^2 = 0.582	1.000
切口感染	3[a]	8	χ^2 = 6.500	0.020
呼吸道感染	4	4	χ^2 = 0.637	0.468
泌尿系感染	3	2	χ^2 = 0.025	1.000
肠瘘	1	3	χ^2 = 2.580	0.141
乳糜漏	1	0	χ^2 = 0.582	1.000
疝	0	1	χ^2 = 1.736	0.367
腹泻	3	1	χ^2 = 0.239	1.000
预后(%)				
复发转移率	6.0	10.4	χ^2 = 1.326	0.250
1年生存率	94.7	94.8	χ^2 = 0.000	1.000
3年生存率	88.7	83.1	χ^2 = 1.953	0.162

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 开腹组.

镜可通过调节操作手柄全方位多角度地观察手术视野, 放大的视野对盆腔解剖辨别更为精细, 使术中操作更精确[4,17-20].

许多研究[8,11,12]均表明腹腔镜直肠癌手术对淋巴结清扫数量、CRM阳性率、远端切缘长度等直肠癌根治指标与传统开腹手术无明显差异. 本研究显示腹腔镜组清扫淋巴结数量比开腹组更多(P<0.05), 清扫淋巴结数目未达到指南标准与部分肿瘤分期较早病例淋巴结挑选难度大(容易将脂肪颗粒误当淋巴结)有一定关系; 在下切缘与肿瘤距离、CRM阳性率等方面, 两组比较均无统计学差异, 证实腹腔镜直肠癌手术在遵循无瘤操作和全直肠系膜切除手术原则的条件下同样能达到恶性肿瘤根治效果. 同时, 腹腔镜组比开腹组具有术中出血少、术后恢复快、术后住院时间短、切口感染率低等优势(P<0.05), 与大量相关研究[6-9]结果基本一致, 手术“微创”效果明显; 腹腔镜组相对开腹组手术时间长、住院总费用高(P<0.01), 给患者增加了手术期间麻醉管理等风险、加重了经济上负担, 这些因素需要外科医生在临床诊治的过程中综合考虑. 对于腹腔镜手术治疗直肠癌能否改善患者远期预后, 国内外进行的大量相关研究[9-12,21]或多或少存在一定缺陷, 目前暂无统一明确定论. 本研究腹腔镜组与开腹组在肿瘤复发转移、1年生存率、3年生存率等远期效果方面比较, 差异无统计学意义.

医院通过亚专业细分提高医生的专业化程度, 实现对患者的专业化管理, 从而提高医

表 2　专业亚分组后手术及术后情况比较结果

指标	腹腔镜		$t(\chi^2)$值	P值	开腹		$t(\chi^2)$值	P值
	专业组	非专业组			专业组	非专业组		
手术资料								
手术时间(min)	209.6 ± 51.1	215.4 ± 36.3	t = 0.439	0.661	188.0 ± 35.2	203.0 ± 37.4	t = 1.246	0.217
术中出血量(mL)	190.5 ± 165.9	193.8 ± 68.0	t = 0.141	0.888	333.6 ± 238.9	415.0 ± 37.4	t = 0.972	0.334
清扫淋巴结数(枚)	6.8 ± 4.7	5.8 ± 3.1	t = 0.885	0.378	5.0 ± 3.5	6.1 ± 3.8	t = 0.402	0.843
切除标本长度(cm)	15.7 ± 4.4	16.7 ± 6.2	t = 0.835	0.405	19.2 ± 6.1	16.5 ± 3.5	t = 1.361	0.178
下切缘与肿瘤距离(cm)	3.3 ± 1.6	3.7 ± 1.5	t = 0.954	0.342	3.0 ± 2.0	2.3 ± 1.5	t = 1.041	0.301
CRM阳性率(%)	0/117	0/16	χ^2 = 0.000	1.000	1/67	0/10	χ^2 = 0.151	1.000
术后指标								
下地活动时间(d)	2.9 ± 1.1	2.1 ± 0.6	t = 1.364	0.175	3.3 ± 1.3	3.2 ± 2.4	t = 0.163	0.871
首次排气时间(d)	3.5 ± 1.2	3.4 ± 1.7	t = 0.238	0.812	4.0 ± 1.4	3.3 ± 0.7	t = 1.599	0.114
进流食时间(d)	3.7 ± 2.0[b]	5.6 ± 1.3	t = 3.584	0.000	4.4 ± 2.0[d]	7.6 ± 1.0	t = 5.039	0.000
留置导尿管时间(d)	6.5 ± 5.0	4.9 ± 4.7	t = 1.199	0.233	7.8 ± 4.5	7.1 ± 6.1	t = 0.429	0.678
术后住院时间(d)	12.5 ± 5.5	13.8 ± 12.8	t = 0.442	0.678	15.8 ± 5.6	23.1 ± 18.3	t = 1.252	0.241
住院总费用(元)	49567.2 ± 11726.8	50964.6 ± 11017.4	t = 0.472	0.642	37726.6 ± 8765.0	55730.8 ± 43772.2	t = 1.297	0.227
并发症(n)								
输尿管损伤	0	0	χ^2 = 0.000	1.000	0	0	χ^2 = 0.000	1.000
肠梗阻	5	2	χ^2 = 1.910	0.199	5	0	χ^2 = 0.798	1.000
术后出血	1	0	χ^2 = 0.138	1.000	0	0	χ^2 = 0.000	1.000
切口感染	3	0	χ^2 = 0.420	1.000	7	1	χ^2 = 0.002	1.000
呼吸道感染	3	1	χ^2 = 0.656	0.405	4	0	χ^2 = 0.630	1.000
泌尿系感染	3	0	χ^2 = 0.420	1.000	1	1	χ^2 = 2.489	0.244
肠瘘	1	0	χ^2 = 0.138	1.000	1[c]	2	χ^2 = 7.960	0.043
乳糜漏	1	0	χ^2 = 0.138	1.000	0	0	χ^2 = 0.000	1.000
疝	0	0	χ^2 = 0.000	1.000	0	1	χ^2 = 6.788	0.130
腹泻	3	0	χ^2 = 0.420	1.000	1	0	χ^2 = 0.151	1.000
预后(%)								
复发转移率	5.1	12.5	χ^2 = 1.353	0.247	10.4	10.0	χ^2 = 0.020	1.000
1年生存率	94.0	100.0	χ^2 = 1.010	0.598	94.4	100.0	χ^2 = 0.593	1.000
3年生存率	89.7	81.2	χ^2 = 1.015	0.391	80.6	90.0	χ^2 = 0.517	0.679

[b]P<0.01 *vs* 腹腔镜非专业组; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 开腹非专业组.

院的医疗水平和服务质量. 医生的专业化程度在某些复杂、难度较大的手术中, 是影响手术预后的一个独立因素, 比如胰腺切除术、肺切除术、肝脏切除术等[22,23]. 研究[23-25]表明与非专业结直肠外科医生相比, 专业化程度高的医生行结直肠癌手术的经验更丰富, 医生的专业化程度对直肠癌根治术患者的治疗有显著影响, 专业化程度高的直肠癌外科医生可为患者带来更好的治疗效果. 本研究通过专业化与非专业化分组比较结果显示: 腹腔镜专业组比腹腔镜非专业组进流食时间早(P<0.01); 开腹专业组比开腹非专业组进流食时间早(P<0.01), 而在肠瘘发生率方面开腹专业组比开腹非专业组低(P<0.05). 同时, 不管是腹腔镜专业组

对比腹腔镜非专业组, 还是开腹专业组对比开腹非专业组, 在直肠癌患者术后的肿瘤复发转移、1年生存率及3年生存率等远期预后指标方面, 差异均无统计学意义. 由此可见, 专业化的外科治疗能加快直肠癌根治术患者术后胃肠功能恢复, 减少肠瘘发生率, 对患者术后恢复有一定优势. 当然, 非专业组与专业组的病例数差异相对偏大使得两组比较存在偏倚, 更大型更先进的临床研究可能会得到更精确的论证.

总之, 腹腔镜手术治疗直肠癌能减少术中出血、加快术后恢复、缩短术后住院时间、降低切口感染发生率. 医生的高专业化程度能促进直肠癌患者术后胃肠功能恢复, 减少肠漏的发生. 腹腔镜手术对直肠癌远期治疗效果的影响以及医生的专业化程度对直肠癌根治术患者疗效的影响还需要更多的大型多中心前瞻性临床研究提供更高级别证据.

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 Stein KB, Snyder CF, Barone BB, Yeh HC, Peairs KS, Derr RL, Wolff AC, Brancati FL. Colorectal cancer outcomes, recurrence, and complications in persons with and without diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1839-1851 [PMID: 19731028 DOI: 10.1007/s10620-009-0944-8]

3 李道娟, 李倩, 贺宇彤. 结直肠癌流行病学趋势. 肿瘤防治研究 2015; 42: 305-310

4 柳舟, 董卫国, 张吉翔, 刘玉兰, 伍丹丹. 腹腔镜下全系膜切除术与开腹根除术治疗直肠癌的Meta分析. 中国循证医学杂志 2014; 14: 1112-1118

5 Kang SB, Park JW, Jeong SY, Nam BH, Choi HS, Kim DW, Lim SB, Lee TG, Kim DY, Kim JS, Chang HJ, Lee HS, Kim SY, Jung KH, Hong YS, Kim JH, Sohn DK, Kim DH, Oh JH. Open versus laparoscopic surgery for mid or low rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy (COREAN trial): short-term outcomes of an open-label randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2010; 11: 637-645 [PMID: 20610322 DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70131-5]

6 Gong J, Shi DB, Li XX, Cai SJ, Guan ZQ, Xu Y. Short-term outcomes of laparoscopic total mesorectal excision compared to open surgery. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7308-7313 [PMID: 23326138 DOI: 10.3748/wjg.v18.i48.7308]

7 van der Pas MH, Haglind E, Cuesta MA, Fürst A, Lacy AM, Hop WC, Bonjer HJ. Laparoscopic versus open surgery for rectal cancer (COLOR II): short-term outcomes of a randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14: 210-218 [PMID: 23395398 DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70016-0]

8 邱枫, 王今. 腹腔镜与开腹直肠癌手术近期疗效对比. 首都医科大学学报 2013; 34: 689-692

9 Green BL, Marshall HC, Collinson F, Quirke P, Guillou P, Jayne DG, Brown JM. Long-term follow-up of the Medical Research Council CLASICC trial of conventional versus laparoscopically assisted resection in colorectal cancer. *Br J Surg* 2013; 100: 75-82 [PMID: 23132548 DOI: 10.1002/bjs.8945]

10 Lujan J, Valero G, Biondo S, Espin E, Parrilla P, Ortiz H. Laparoscopic versus open surgery for rectal cancer: results of a prospective multicentre analysis of 4,970 patients. *Surg Endosc* 2013; 27: 295-302 [PMID: 22736289 DOI: 10.1007/s00464-012-2444-8]

11 Huang MJ, Liang JL, Wang H, Kang L, Deng YH, Wang JP. Laparoscopic-assisted versus open surgery for rectal cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials on oncologic adequacy of resection and long-term oncologic outcomes. *Int J Colorectal Dis* 2011; 26: 415-421 [PMID: 21174107 DOI: 10.1007/s00384-010-1091-6]

12 赵军抗, 孙学军, 郑见宝, 贺赛. 腹腔镜对比传统开放手术治疗直肠癌临床效果的Meta分析. 中国普通外科杂志 2013; 22: 1307-1311

13 曹向阳, 杜天信. 调整组织结构促进医院发展. 中医药管理杂志 2009; 17: 58-61

14 胡雪娇, 马琛, 罗翼, 汪晓东, 李立. 专业化和手术负荷对结直肠癌手术治疗的影响. 华西医学 2011; 26: 1259-1263

15 Szynglarewicz B, Matkowski R, Halon A, Lacko A, Stepien M, Forgacz J, Pudelko M, Kornafel J. Association between histological type of tumour growth and patient survival in t2-t3 lymph node-negative rectal cancer treated with sphincter-preserving total mesorectal excision. *Pathol Oncol Res* 2010; 16: 201-206 [PMID: 19757194 DOI: 10.1007/s12253-009-9207-4]

16 郭小泉, 刘佳, 杨勇. 结直肠癌预后影响因素的COX回归分析. 中国肿瘤外科杂志 2012; 4: 262-264

17 Chand M, Bhoday J, Brown G, Moran B, Parvaiz A. Laparoscopic surgery for rectal cancer. *J R Soc Med* 2012; 105: 429-435 [PMID: 23104946 DOI: 10.1258/jrsm.2012.120070]

18 郑民华. 腹腔镜技术的现状与展望. 中国实用外科杂志 2010; 30: 164-166

19 Kvarnström A, Sokolov A, Swartling T, Kurlberg G, Mollnes TE, Bengtsson A. Alternative pathway activation of complement in laparoscopic and open rectal surgery. *Scand J Immunol* 2012; 76: 49-53 [PMID: 22486843 DOI: 10.1111/j.1365-3083.2012.02702.x]

20 Xiong B, Ma L, Zhang C. Laparoscopic versus open total mesorectal excision for middle and low rectal cancer: a meta-analysis of results of randomized controlled trials. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2012; 22: 674-684 [PMID: 22881123 DOI: 10.1089/lap.2012.0143]

21 郭兢津, 梁伟雄, 张彤. 腹腔镜与开腹手术治疗结肠癌、直肠癌的远期疗效观察. 实用临床医药杂志 2010; 14: 104-119

22 Chowdhury MM, Dagash H, Pierro A. A systematic review of the impact of volume of surgery and specialization on patient outcome. *Br J Surg* 2007; 94: 145-161 [PMID: 17256810 DOI: 10.1002/bjs.5714]

23 罗翼, 刘畅, 甘志明, 贾留群, 汪晓东, 李立. 医生的专业化程度对直肠癌根治性切除术近期影响的研究. 华西医学 2013; 28: 1017-1020
24 Anwar S, Fraser S, Hill J. Surgical specialization and training - its relation to clinical outcome for colorectal cancer surgery. *J Eval Clin Pract* 2012; 18: 5-11 [PMID: 20704632 DOI: 0.1111/j.1365-2753.2010.01525.x]
25 Hall BL, Hsiao EY, Majercik S, Hirbe M, Hamilton BH. The impact of surgeon specialization on patient mortality: examination of a continuous Herfindahl-Hirschman index. *Ann Surg* 2009; 249: 708-716 [PMID: 19387335 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181a335f8]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1289

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1289-1292
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

中医情志护理干预缓解恶性肿瘤患者化疗消化系反应的效果

马晓庆, 余爱萍, 钟静静

马晓庆, 余爱萍, 钟静静, 宁波市第一医院消化内科 浙江省宁波市 315010

马晓庆, 主管护师, 主要从事消化内科的研究.

作者贡献分布: 此课题由马晓庆设计; 研究过程及数据分析由马晓庆、余爱萍及钟静静共同实施完成; 本论文写作由马晓庆完成.

通讯作者: 马晓庆, 主管护师, 315010, 浙江省宁波市柳汀街59号, 宁波市第一医院消化内科. 2136457025@qq.com
电话: 0574-87089848

收稿日期: 2016-01-08
修回日期: 2016-02-03
接受日期: 2016-02-18
在线出版日期: 2016-03-18

Traditional Chinese medicine emotional care for alleviation of gastrointestinal reactions to chemotherapy in patients with gastrointestinal cancer

Xiao-Qing Ma, Ai-Ping Yu, Jing-Jing Zhong

Xiao-Qing Ma, Ai-Ping Yu, Jing-Jing Zhong, Department of Gastroenterology, Ningbo First Hospital, Ningbo 315010, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Xiao-Qing Ma, Nurse-in-Charge, Department of Gastroenterology, Ningbo First Hospital, 59 Liuting Street, Ningbo 315010, Zhejiang Province, China. 2136457025@qq.com

Received: 2016-01-08
Revised: 2016-02-03
Accepted: 2016-02-18
Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of traditional Chinese medicine (TCM) emotional care in alleviating gastrointestinal reactions to chemotherapy in patients with gastrointestinal cancer.

METHODS: One hundred and twenty patients with gastrointestinal cancer who underwent chemotherapy at our hospital from January 2012 to December 2014 were randomly divided into a study group and a control group, with 60 cases in each group. The control group received routine care, and the study group was given TCM emotional care on the basis of routine nursing. Nursing effects were compared between the two groups.

RESULTS: The incidence rate of gastrointestinal reactions in the study group was significantly lower than that in the control group (21.7% *vs* 61.7%, $P < 0.05$). The SAS and SDS scores in the study group were significantly lower than those of the control group after the intervention (29.8 ± 2.7 *vs* 37.6 ± 3.3, 27.9 ± 2.7 *vs* 38.6 ± 3.5, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The clinical administration of TCM emotional care in cancer patients treated with chemotherapy can alleviate gastrointestinal reactions and improve anxiety and depression.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cancer; Chemotherapy; Gastrointestinal reactions; Traditional Chinese medicine emotional care; Effect

Ma XQ, Yu AP, Zhong JJ. Traditional Chinese medicine

背景资料
化疗消化系反应是恶性肿瘤化疗常见并发症, 对患者的生活质量具有重要的影响, 从而影响化疗治疗的临床效果. 临床中常见的护理对改善化疗消化系反应的作用并不明显, 如何缓解恶性肿瘤化疗中消化系反应是医护人员关注的重点.

同行评议者
靳雁, 副主任护师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院消化一科; 江萍, 主任护师, 上海市浦东新区人民医院护理部

研发前沿
恶性肿瘤化疗中如何降低消化系反应在临床中受到极大的关注, 尤其针对性的护理在临床中具有重要的作用. 中医情志护理是护理中的一种新型方法, 主要强调的是情志辨证施护, 从而改善患者的情绪, 最终达到护理的效果.

emotional care for alleviation of gastrointestinal reactions to chemotherapy in patients with gastrointestinal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1289-1292 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1289.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1289

摘要

目的: 探讨中医情志护理在缓解恶性肿瘤患者化疗消化系反应中的应用效果, 为临床护理提供参考依据.

方法: 选取宁波市第一医院2012-01/2014-12恶性肿瘤化疗患者120例作为研究对象, 将其按照随着数字表法分为研究组与对照组, 各60例. 对照组给予常规护理, 研究组在常规护理基础上给予中医情志护理, 对两组的临床护理效果进行观察, 并观察消化系反应情况.

结果: 研究组消化系反应发生率较对照组降低, 有统计学意义(21.7% *vs* 61.7%, $P<0.05$); 干预后研究组SAS、SDS较对照组降低, 有统计学意义(29.8分±2.7分 *vs* 37.6分±3.3分、27.9分±2.7分 *vs* 38.6分±3.5分, $P<0.05$).

结论: 临床中对于恶性肿瘤化疗患者给予中医情志护理可以缓解消化系反应, 并改善其焦虑、抑郁状态, 值得广泛应用.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 恶性肿瘤; 化疗; 消化系反应; 中医情志护理; 效果

核心提示: 中医情志护理是一种新型的护理方式, 对改善恶性肿瘤患者化疗消化系反应具有重要的作用, 极大的改善患者的焦虑与抑郁情绪, 降低消化系反应, 提高化疗整体效果.

马晓庆, 余爱萍, 钟静静. 中医情志护理干预缓解恶性肿瘤患者化疗消化系反应的效果. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1289–1292 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1289.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1289

相关报道
恶性肿瘤化疗的护理方法在临床中有较多的报道, 认为针对性的护理在改善化疗中的不良反应具有较好的作用. 其中, 中医情志护理在肿瘤护理中也有相关的报道, 对改善患者不良情绪具有重要作用.

0 引言

恶性肿瘤是临床中危害较大的疾病之一, 在临床中具有较高的发病率, 对患者的生活质量具有重要的影响. 化疗是治疗恶性肿瘤的一种重要方法, 在临床中具有广泛的应用效果[1]. 但是, 化疗治疗中会引起各种不良反应, 如神经性反应和消化系反应等, 多数的患者由于不能够忍受不良反应而放弃或终止化疗治疗, 如何更好的改善或降低化疗患者的消化系反应在临床中具有重要的意义[2]. 因此, 本次研究重点分析中医情志护理在缓解恶性肿瘤患者化疗中消化系反应的作用, 具体的分析如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取宁波市第一医院2012-01/2014-12恶性肿瘤化疗患者120例, 且经过B超和CT检查、病理学等检查确诊为恶性肿瘤, 并接受化疗方案治疗. 化疗前并未见有出现呕吐症状, 自愿参加此次研究. 排除颅内压异常患者、消化道梗阻患者、因其他的疾病引起的顽固性呕吐患者. 将120例患者按照随机数字表法分为研究组与对照组, 各60例. 研究组男性32例, 女性28例, 年龄区间44-78岁, 平均56.3岁±6.2岁. 肿瘤类型: 胃癌21例, 肺癌13例, 鼻咽癌10例, 乳腺癌10例, 宫颈癌6例. 文化程度: 高中及以下37例, 高中以上23例. 对照组男性33例, 女性27例, 年龄区间42-79岁, 平均57.5岁±5.7岁. 肿瘤类型: 胃癌20例, 肺癌12例, 鼻咽癌12例, 乳腺癌9例, 宫颈癌7例. 文化程度: 高中及以下35例, 高中以上25例. 研究组与对照组患者在基础资料方面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 护理: 对照组给予常规护理, 包括健康知识宣教、疼痛护理和心理护理以及饮食与并发症等护理, 研究组在常规护理基础上以中医情志五声疏泄法进行干预, 具体的方法如下[3]: 情志辨证: 入院之后应收集患者的资料, 了解患者病情状况和治疗方案等情况, 通过向患者本人和家属进行了解其患者状况. 通过分析将患者情志分为易怒、惊恐和忧悲以及思虑4个类型; 病位在肝, 对应五行为木, 属于易怒; 病位在脾, 对应五行为土, 属于思虑; 病位在肺, 对应五行为金, 属于忧悲; 病位在肾, 对应五行为水, 属于惊恐. 具体措施: 护理人员应全面的向不同情志类型的患者介绍化疗的相关知识和可能出现的不良反应及具体的应对措施, 从而减轻患者心理负担. 依据患者的洗好进行给予播放音乐、看电视和看报纸等活动安排, 从而分散患者的注意力, 减轻呕吐和恶心状况. 护理中全面的了解患者心理状况, 并给予干预, 纠正其错误的认识, 使其能够正确的面对化疗中的不良反应, 减轻其不良的心理情绪. 护理人员应向患者及其家属进行讲解良好心理状

表 1　研究组与对照组干预后消化系反应情况观察 (n = 60)

分组	无反应	轻度	中度	重度	发生率n(%)
研究组	47	5	5	3	13(21.7)
对照组	23	11	16	10	37(61.7)
χ^2值					8.426
P值					<0.05

表 2　两组干预前后SAS和SDS评分对比 (n = 60, mean ± SD, 分)

分组	干预前		干预后	
	SAS	SDS	SAS	SDS
研究组	57.8 ± 4.6	58.4 ± 4.8	29.8 ± 2.7	27.9 ± 2.7
对照组	56.9 ± 5.1	57.8 ± 4.2	37.6 ± 3.3	38.6 ± 3.5
t值	0.315	0.237	6.415	4.293
P值	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

SAS: 焦虑自评量表; SDS: 抑郁自评量表.

态对病情转归有重要的作用, 尽可能的满足患者及家属的要求, 提高临床护理配合度. 惊恐患者应多安抚其心理, 并叮嘱患者治疗期间应少喝茶水和咖啡等刺激性的饮品, 叮嘱患者晚上休息前温水泡脚, 并按摩其脚心, 饮食方面多以开胃的食物摄入. 易怒患者应重视心理辅导, 沟通时应有耐心, 情绪发作时应让其彻底的宣泄, 待情绪稳定之后进行引导, 减轻其压力, 可播放轻松音乐, 饮食以健脾开胃食物为主. 忧悲患者应多予以沟通, 讲解一些趣事, 为其传递正能量, 构建良好的住院环境. 同时, 可以为患者提供影视资料和内容愉快的书籍, 饮食以健脾、醒胃的食物为主. 思虑患者应采取移情法治疗, 让患者将兴趣转移感兴趣的事情上, 适当的进行兴趣活动, 多以开胃食物.

1.2.2 观察指标及评定标准: 干预后消化系反应情况[化疗消化系反应分为4个等级[4]: (1)重度: 干预后每日呕吐、恶心次数>3次; (2)中度: 干预后每日呕吐、恶心次数>2次; (3)轻度: 干预后出现轻度的呕吐、恶心症状, 并检查无胃纳呆滞的情况; (4)无反应: 干预后无呕吐、恶心临床症状, 且无胃纳呆滞的情况]. 干预前后不良情绪变化[包括焦虑、抑郁两个方面[5], 采取焦虑自评量表(Self-rating Anxiety Scale, SAS)和抑郁自评量表(Self-rating Depression Scale, SDS)进行评估, SAS临界值为50分, SDS临界值为53分, 分值越高则表示程度越重].

统计学处理　本次研究的数据资料均采取SPSS19.0统计学软件进行数据分析与处理, 计量资料采取mean±SD进行表示, 独立样本采取t进行检验, 计数资料采取χ^2进行检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组干预后消化系反应情况观察　研究组消化系反应发生率21.7%, 明显低于对照组的61.7%, 数据差异有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.2 两组患者干预前后不良情绪变化观察　干预前研究组与对照组SAS和SDS评分比较无统计学意义(P>0.05); 干预后两组患者SAS和SDS评分均较干预前有明显的降低, 研究组降低程度优于对照组, 组间差异有统计学意义(P<0.05)(表2).

3 讨论

化疗是治疗恶性消化系肿瘤的常见方法, 在临床中具有较好的应用效果. 但是, 化疗治疗的过程很容易引起呕吐、恶心等不良反应, 严重的影响患者的生活质量. 其中, 消化系反应是化疗治疗中常见的不良反应, 改善恶性肿瘤化疗中消化系反应具有重要的意义[6]. 常规的护理已经越来越满足不了患者的临床需求, 对改善化疗消化系反应作用并不明显. 因此, 如何更好地对恶性肿瘤化疗患者进行护理, 对改善消化系反应具有重要的作用.

肿瘤患者化疗后出现的消化系反应在中

创新盘点
本文重点阐述了中医情志护理的应用优越性, 从缓解恶性肿瘤化疗中消化系反应的角度进行分析, 并通过临床针对性指标的观察, 了解中医情志护理的作用.

应用要点
本研究在实际中具有较好的应用价值, 对恶性肿瘤化疗护理具有较好的指导作用, 并为临床中推广中医情志护理提供可靠的参考依据, 中医情志护理在未来的应用前景也比较广泛.

名词解释
情志护理: 通过语言、表情、姿势、态度、行为及气质等来影响和改善患者的情绪, 解除其顾虑和烦恼, 提高抗病信心的方法.

医中属于“药毒”和“药邪”的范畴, 中医辨证认为该症状会引起胃气不畅和脾气亏虚的症状[7]. 例如, 呕吐、恶心会影响其体内的水分吸收, 恶性肿瘤属于消耗性疾病, 加重病情. 中医情志护理是临床中一种新型护理方式, 主要是对患者的情志不畅进行辨证分析, 从而采取情志疏导的方法进行护理, 改善患者的心理状态, 最终缓解其临床症状[8,9]. 资料显示, 中医护理模式对减轻患者化疗中的不良反应具有重要的作用[10]. 经过此次的临床研究分析, 临床中对于恶性肿瘤患者化疗中给予中医情志护理干预是可行的, 能够较大程度的缓解化疗中消化系反应, 并改善患者的不良情绪. 此次的数据显示, 研究组患者干预后的消化系反应发生率明显的低于对照组, 且干预后不良情绪的评分改善程度优于对照组, 差异有统计学意义. 中医情志护理首先可以对患者的情志进行辨证分型, 了解患者所属的情志特征, 从而对不同的情志类型患者进行施护, 极大程度的改善了患者的不良情绪[11,12]. 情志护理中依据病位进行指导, 使得患者以呼吸或者发声的方法进行情绪疏泄, 达到放松的状况, 最终促使气血通畅、气机调畅和脏腑安和, 改善消化系反应症状[13]. 相关研究[14]也显示, 中医情志护理在恶性肿瘤化疗中具有较好的应用效果, 对改善患者的焦虑症状具有重要作用. 故此说明, 中医情志护理在恶性肿瘤化疗的过程中可以改善患者的不良情绪, 并经过调解其不良情绪使得患者可以积极的配合临床治疗与护理, 从而改善消化系反应症状. 此次研究应用的中医情志护理以中医护理作为基础, 在情志护理上并辅以膳食的指导, 极大程度的改善消化系反应程度, 使得消化系反应发生率大大降低, 最终提高整体化疗效果[15].

同行评价
本文题目简洁, 文章思路清晰, 观点鲜明, 可读性强. 文章的方法具有针对性, 对推广中医情志护理有较好的作用.

总之, 恶性肿瘤化疗患者给予中医情志护理具有较好的临床效果, 改善患者的焦虑和抑郁状况, 并降低化疗中消化系反应. 中医情志护理效果显著, 值得临床中广泛的应用推广.

4 参考文献

1 陈志玲, 曾珊, 方桂香, 陆静佳, 黄带仙. 中医护理干预对改善肿瘤化疗患者胃肠道反应的临床影响分析. 中医临床研究 2015; 12: 132-135
2 章鲁冰, 俞鹏飞. 中医情志护理对消化道恶性肿瘤患者疼痛及焦虑的干预效果. 中国现代医生 2015; 53: 140-143
3 吴玉兰. 中医情志护理对消化道恶性肿瘤患者疼痛的干预效果. 中国医药指南 2015; 13: 9-10
4 段小平, 卢红, 胡艳荣, 丁楠, 樊嘉丽. 中药香袋联合情志护理用于妇科腹腔镜恶性肿瘤根治术100例. 中国药业 2015; 24: 118-119
5 Leung CY, Leung GM, Schooling CM. Informal child care and adolescent psychological well-being: Hong Kong's "Children of 1997" birth cohort. *PLoS One* 2015; 10: e0120116 [PMID: 25781484 DOI: 10.1371/journal.pone.0120116]
6 侯黎莉, 袁雪萍, 郁秋华, 徐蕾, 孙文琦. 中医情志护理对消化道恶性肿瘤患者疼痛的干预效果. 解放军护理杂志 2012; 29: 4-6
7 李燕. 中医情志护理对乳腺癌手术患者术中安全性的影响. 河北中医 2015; 37: 1252-1254
8 孟宪春. 中医情志护理对乳腺癌患者围手术期自我效能的影响. 河北中医 2015; 37: 283-284
9 陈彩云, 张继东. 中医情志理论在肿瘤护理中的应用. 中医临床研究 2014; 6: 138-139
10 McLeod TC. Addressing psychological concerns to practice whole-person health care. *J Athl Train* 2015; 50: 229-230 [PMID: 25775085 DOI: 10.4085/1062-6050-50.3.04]
11 袁梁. 中医情志护理在乳腺癌围术期的应用效果. 中国中医药现代远程教育 2014; 12: 118-119
12 刘晶晶. 中医情志及饮食护理对胃癌术后的效果观察. 云南中医中药杂志 2014; 35: 95
13 潘小利. 中医情志护理在颌面部手术患者心理护理中的应用. 中国实用护理杂志 2014; 30: 162
14 孙秀茹. 情志护理对胃癌手术患者术前自我效能的影响. 河北中医 2014; 36: 926-927
15 孙贺, 景雪霏, 杨艳. 中医情志护理体会. 中国社区医师(医学专业) 2013; 15: 310

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1293

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1293-1297
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

超声刀加皮桥横向转移治疗环状混合痔的临床疗效

付欢欢, 余苏萍

付欢欢, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029

余苏萍, 南京市中医院肛肠科 江苏省南京市 210001

付欢欢, 在读硕士, 主要从事肛肠病的临床与基础的研究.

作者贡献分布: 付欢欢与余苏萍对此文所作贡献均等; 此课题由余苏萍与付欢欢共同设计; 研究过程由付欢欢与余苏萍共同操作完成; 研究过程未用新试剂, 研究所用分析工具由付欢欢提供; 数据分析由付欢欢与余苏萍共同完成; 本论文写作由付欢欢完成.

通讯作者: 余苏萍, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 210001, 江苏省南京市金陵路1号, 南京市中医院肛肠科.
gckfhh@163.com
电话: 025-52276737

收稿日期: 2016-01-06
修回日期: 2016-01-20
接受日期: 2016-01-31
在线出版日期: 2016-03-18

Ultrasonic knife combined with peel bridge lateral transfer for treatment of circumferential mixed hemorrhoids

Huan-Huan Fu, Su-Ping Yu

Huan-Huan Fu, the First Clinical Medical College of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Su-Ping Yu, Department of Anorectal Medicine, Nanjing Hospital of Chinese Medicine, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Su-Ping Yu, Professor, Chief Physician, Department of Anorectal Medicine, Nanjing Hospital of Chinese Medicine, 1 Jinlin Road, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China. gckfhh@163.com

Received: 2016-01-06
Revised: 2016-01-20
Accepted: 2016-01-31
Published online: 2016-03-18

Abstract

AIM: To evaluate the curative effect of ultrasonic knife and peel bridge lateral transfer for the treatment of circumferential mixed hemorrhoids.

METHODS: Seventy patients with circumferential mixed hemorrhoids were randomly divided into two groups, with 35 cases in each group. The treatment group was treated by ultrasonic knife combined with peel bridge lateral transfer, and the control group underwent traditional external dissection and internal ligation. Intraoperative blood loss, operative time, healing time, anal edge edema, anal pain, skin tags, anal stenosis were compared between the two groups.

RESULTS: Intraoperative bleeding, healing time, anal edge edema and skin tags differed significantly between the treatment group and control group (bleeding: 9.5 mL ± 1.8 mL *vs* 44.0 mL ± 8.0 mL, $P < 0.01$; healing time: 12.6 d ± 3.2 d *vs* 20.0 d ± 4.1 d, $P < 0.01$; margin of anal edema: I edema: 3 cases *vs* 13 cases, $P < 0.05$, II edema: 2 cases *vs* 10 cases, $P < 0.05$; skin tags: 3 cases *vs* 13 cases, $P < 0.05$). Operative time and postoperative pain were comparable between the two groups ($P > 0.05$). No anal stenosis occurred in either group.

CONCLUSION: Ultrasonic knife combined with peel bridge lateral transfer for treatment of circular mixed hemorrhoids has less intraoperative bleeding and postoperative

背景资料
环状混合痔手术过程复杂繁琐, 对临床医生的手术技巧和手术经验要求较高, 存在术中出血多, 手术时间长, 术后肛缘水肿明显, 痔组织切除不彻底, 残留皮赘多等诸多难题, 为国家中医药管理局公布的难治疾病之一.

同行评议者
孟庆成, 副教授, 主任医师, 北京大学医学部, 航天中心医院普通外科; 吴学东, 教授, 大理大学附属医院小儿外科

研发前沿
针对环状混合痔的术式改进研究颇多, 减少术中出血、减少术后肛门水肿的发生, 尽可能的切除痔组织而不会造成肛门狭窄, 有效对皮桥进行处理减少外痔皮赘是临床医者的不懈追求.

edema, significantly reduces skin tags, and significantly shortens the healing time.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ultrasonic knife; Peel bridge; Lateral transfer; Circumferential mixed hemorrhoid; Postoperative edema

Fu HH, Yu SP. Ultrasonic knife combined with peel bridge lateral transfer for treatment of circumferential mixed hemorrhoids. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1293-1297 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1293.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1293

摘要

目的: 探讨超声刀加皮桥横向转移治疗环状混合痔的临床疗效.

方法: 将70例环状混合痔患者随机分成两组, 每组35例. 治疗组采用超声刀加皮桥横向转移治疗; 对照组采用传统的外剥内扎术. 对两组的术中出血量、手术时间、愈合时间、肛缘水肿、肛门疼痛、外痔皮赘、肛门狭窄情况进行对比.

结果: 治疗组在术中出血、愈合时间、肛缘水肿、外痔皮赘方面与对照组相比,均有统计学意义(出血9.5 mL±1.8 mL *vs* 44.0 mL±8.0 mL, $P<0.01$; 愈合时间12.6 d±3.2 d *vs* 20.0 d±4.1 d, $P<0.01$; 肛缘水肿Ⅰ水肿: 治疗组3例, 对照组13例, $P<0.05$, Ⅱ水肿: 治疗组2例, 对照组10例, $P<0.05$; 外痔皮赘: 治疗组3例, 对照组13例, $P<0.05$); 在手术时间、术后疼痛方面治疗组与对照组相比, 无统计学意义($P>0.05$); 两组均无肛门狭窄患者发生.

结论: 超声刀加皮桥横向转移治疗环状混合痔具有术中出血少、术后水肿、皮赘残留明显减少, 愈合时间明显缩短的优点.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 超声刀; 皮桥; 横向转移; 环状混合痔; 术后水肿

相关报道
环状混合痔传统的术式包括痔环切术、外剥内扎术等. 近年来为了更好地保留皮桥, 减少皮桥水肿和外痔皮赘, 临床医者不断探寻多种皮桥整形技术, 或较多的采用PPH、TST术. 不同术式都存在着不同的优缺点.

核心提示: 超声刀加皮桥横向转移治疗环状混合痔, 将超声刀的优点与皮桥转移整形技术融为一体, 不仅能够更为彻底剥除痔组织, 还能够更多的保留肛管的皮肤和黏膜, 与传统术式对比, 能够明显减少术中出血, 术后水肿、皮赘残留, 明显缩短愈合时间.

付欢欢, 余苏萍. 超声刀加皮桥横向转移治疗环状混合痔的临床疗效. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1293-1297 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1293.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1293

0 引言

环状混合痔是肛肠科手术技巧要求较高的难治疾病, 临床存在多种治疗方法, 效果不一. 环状混合痔的手术之所以是肛肠科的治疗难点是因为切除过多易导致肛管皮肤缺损、肛管狭窄等后遗症, 切除过少又不能很好解决患者痔疮症状, 经常有皮赘残留, 治疗不彻底. 且术后容易出现疼痛、出血等并发症[1]. 为提高环状混合痔的临床效果及减少术后并发症, 南京市中医院肛肠科于2014-08/2015-06采用超声刀加皮桥横向转移治疗环状混合痔35例, 临床疗效满意, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 依据2000年中华医学会外科学分会肛肠外科学组制定的《痔诊断暂行标准》[2], 回顾性选取南京市中医院肛肠科2014-08/2015-06的70例环状混合痔患者, 男33例, 女37例, 排除: 妊娠或哺乳期妇女; 肠镜检查时合并息肉、肿瘤或肠道感染性疾病者; 合并有心脑血管、肝肾功能或造血系统等严重疾病者; 精神障碍者. 采用完全随机对照方法分为2组: 治疗组35例, 男16例, 女19例; 年龄26-67岁, 平均年龄46.73岁±9.93岁; 病程3-25年. 对照组35例, 男17例, 女18例; 年龄20-70岁, 平均年龄44.40岁±10.70岁; 病程2.5-30年. 两组患者在性别、年龄、病程长短方面无明显差异($P>0.05$), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 术前1 d嘱患者半流质饮食, 手术当日磷酸钠溶液灌肠.

1.2.2 手术: 鞍麻后, 取截石位, 常规消毒, 铺无菌手术巾, 扩肛, 充分暴露痔核. 向外适度牵拉痔核, 明确各痔核间的自然分界线. 在设计需要切除的痔核和需要保留的皮桥、黏膜桥时尽量以痔核间的自然间沟为界, 分3-5段为佳. 在准备切除的内痔相对应的外痔底端用超声

表 1 两组术后并发症对比 (n = 35)

分组	肛缘水肿		肛门疼痛			外痔皮赘
	I	II	I	II	III	
治疗组	3	2	5	18	2	3
对照组	13	10	6	17	3	14
P值	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

刀向齿状线方向做“V”形切口, 超声刀充分分离剥除外痔下及内痔下曲张痔核及静脉丛, 至内痔顶端后将剥离的内外痔用超声刀凝切. 至肛管时适当内缩切口以减少肛管皮肤和黏膜损伤, 使创面呈“八”字型. 同法处理其他痔核, 对融合在一起的较大痔核, 可以将其分为2个痔核分别处理. 各切口间黏膜桥不小于0.5 cm, 皮桥0.8-1.0 cm. 对于肛门括约肌紧张者, 可以在截石位5-7点部分切断内括约肌, 预防狭窄及减少术后水肿. 然后对保留下来的皮桥进行横向的转移: 横向拉平皮桥, 覆盖皮桥间剥离外痔后的创面, 使冗长的皮桥拉平、相邻皮桥对合整齐, 皮桥张力应适中, 对合平整后, 剪除对合平整后仍旧冗余皮肤, 然后以3-0薇乔线将对合平整的皮桥缝合. 对于切除较多切口较大的位置, 可以不将相邻皮桥对合在一起, 可将皮桥拉平后与皮桥下组织全层缝合固定, 以防创面较大的位置强行对合皮桥时张力过高, 皮桥之间开放引流. 术毕, 再次消毒肛管及缝合切口, 放置凡士林纱条引流, 外面用纱布塔形加压固定保护切口. 对照组: 应用传统的外剥内扎术, 行“V”形切口, 用电刀向上剥离至齿线上, 尽量切除外痔组织, 并剥离曲张静脉, 血管钳钳夹剥离的外痔静脉丛及对应的内痔, 7号丝线结扎, 结扎点应高低错落呈锯齿状, 修剪创面, 使之平整, 开放引流, 余处理同治疗组.

1.2.3 *术后处理*: 两组术后采用相同的方法处理, 均流质饮食, 控制在2-3 d后排便. 口服本院自制制剂“抗炎合剂、痔血合剂”预防感染、出血, 第1次排便可予以润肠通便药物辅助, 排便后改为普食. 每日用南京市中医院自制“消肿洗剂”中药熏洗后换药, 外敷自制“消炎膏、清凉膏”预防术后水肿, 治疗组7-10 d后拆线.

1.2.4 *术后主要并发症观察指标*: 参照1975全国肛肠学术会制定的《痔的诊断及疗效标准》[2]. (1)水肿. I: 局部轻度水肿不影响活动; II: 局部有明显水肿, 活动受限; (2)疼痛. I: 肛门轻度疼痛, 不必处理; II: 肛门疼痛, 无明显痛苦表情, 服一般止痛药物可缓解; III: 肛门疼痛较重, 有痛苦表情, 需用度冷丁类药物方能止痛; (3)皮赘残留. 指术后尚有外痔皮赘残留; (4)肛门狭窄: 指术后不能顺利通过食指, 大便成细条.

统计学处理 采用SPSS18.0进行统计分析. 计量资料采用mean±SD描述, t检验比较; 计数资料进行χ^2检验. P<0.05差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 *术中对比* 治疗组术中出血少于对照组(9.5 mL±1.8 mL *vs* 44.0 mL±8.0 mL, P<0.01); 手术时间上治疗组为32.2 min±2.4 min, 对照组为35.1 min±2.8 min, 两组相比无统计学差异(P>0.05).

2.2 *术后主要并发症及术后愈合时间情况* 治疗组术后肛缘水肿少于对照组, 有统计学意义(I水肿: 3例 *vs* 13例, P<0.05, II水肿: 2例 *vs* 10例, P<0.05); 治疗组外痔皮赘3例, 对照组为13例, 组间相比差异有统计学意义(P<0.05); 在术后疼痛方面, 治疗组I疼痛5例, II疼痛18例, III疼痛2例, 对照组I疼痛6例, II疼痛17例, III疼痛3例, 两组相比无统计学意义; 两组术后均无发生肛门狭窄患者(表1). 治疗组愈合时间明显短于对照组, 差异有统计学意义(12.6 d±3.2 d *vs* 20 d±4.1 d, P<0.01).

3 讨论

痔是临床常见病, 其发病率占肛门直肠疾病的87.25%[3]. 现代医学认为痔是肛垫病理性肥大、移位及肛周皮下血管丛血流淤滞形成的团块, 其发病是在支持组织的变性和动静脉吻合功能异常的基础上由多种因素诱发的[4,5]. 环状混合痔是肛肠科较为复杂的一种痔病, 手术过程复杂繁琐, 对临床医生的手术技巧和手术经验要求较高, 存在术中出血多, 手术时间长, 术后肛缘水肿明显, 痔组织切除不彻底, 残留

创新盘点
超声刀具有术中出血少, 术野清楚, 组织热损伤小等优势. 皮桥横向转移, 较常见的皮桥断桥缝合可缩短愈合时间, 减少皮赘. 超声刀加皮桥横向转移治疗环状混合痔, 将超声刀与皮桥转移整形技术融为一体, 各取其长.

应用要点
超声刀加皮桥横向转移治疗环状混合痔, 在彻底剥除痔组织及多余外痔皮赘的同时, 又能够更多的保留肛管的皮肤和黏膜, 与传统术式对比, 能够明显减少术中出血, 有效预防术后水肿、皮赘残留, 明显缩短愈合时间.

名词解释

皮桥横向转移: 横向拉平皮桥, 覆盖皮桥间剥离外痔后的创面, 使冗长的皮桥拉平、保留下的皮桥相邻对合整齐, 剪除对合平整后仍旧冗余皮肤, 将对合平整的皮桥缝合. 对于切除较多切口较大的位置, 可以不将相邻皮桥对合在一起, 而将皮桥拉平后与皮桥下组织全层缝合固定.

皮赘多等诸多难题, 为国家中医药管理局公布的难治疾病之一.

针对环状混合痔的术式改进研究颇多.传统的术式包括痔环切术、外剥内扎术[6]等. 近年来为了更好地保留皮桥, 减少皮桥水肿和外痔皮赘, 余智涛等[7]、代述东[8]、王小峰等[9]众多临床医者不断探寻多种皮桥保留整形技术, 或较多的采用PPH[10,11]、TST[12,13]术. 不同术式都存在着不同的优缺点: (1)痔环切术式可以较彻底的切除痔组织, 术后效果较好, 但存在术中出血多, 手术时间长等诸多缺点, 环状切除极易造成肛门狭窄, 常伴有黏膜外翻、肛门潮湿等严重并发症, 所以现阶段该术式临床已较少使用; (2)传统的外剥内扎术经济适用广泛, 但术中出血多, 切除过多易引起肛管皮肤缺损, 易肛门狭窄, 术后肛缘水肿导致疼痛明显, 愈合慢, 时间长, 根治不彻底; (3)PPH及TST术适用于内痔明显的患者, 可减少患者术后疼痛, 但不适宜应用于外痔较多的环状混合痔, 对混合痔只能起到上提和悬吊作用, PPH切除的是正常的直肠黏膜, 通过悬吊和向肛内隐藏了病变的痔组织而没有从根本上切除肛垫内曲张的痔组织, 痔组织仍会再次脱出, 故术后复发率高, 远期效果差, 且存在吻合口狭窄、感染, 术后肛门坠胀明显等不足.

在临床工作中采用超声刀加皮桥横向转移治疗环状混合痔取得了比较满意的临床效果. 超声刀将电能转化为机械能, 经高频超声震荡, 使组织细胞内水汽化, 蛋白氢键断裂, 组织被凝固后切开, 血管闭合[14]. 通过对比观察发现, 与电刀相比, 超声刀在环状混合痔的治疗中具有多方面优势: (1)术中出血少. 治疗组术中出血少于对照组, 两组相比有统计学意义(P<0.05). 与李毅等[15]所做的研究结果相似. 超声刀凝闭血管效果明显, 适用于痔核内丰富的曲张静脉丛; (2)术野清楚. 首先术中出血少, 而且相对电刀不产生烟雾和组织焦痂, 对手术视野影响很小; (3)减轻肛缘组织水肿. 超声刀相比电刀对周围组织造成损伤小, 能够有效的预防肛缘水肿, 治疗组Ⅰ水肿3例, 对照组为13例(P<0.05), Ⅱ水肿治疗组为2例, 对照组为10例(P<0.05).

另外本项研究对皮桥的处理方法采用皮桥横向转移, 较常见的皮桥断桥缝合术存在以下优势: (1)缩短愈合时间. 外痔剥除的创面被皮桥横向转移覆盖, 创面明显缩小, 愈合时间缩短[治疗组相比对照组愈合时间缩短(12.6 d±3.2d *vs* 20 d±4.1 d, P<0.05)]; (2)可将保留下来的冗长皮桥自然平展, 更好的解决了冗余皮赘(3例 *vs* 13例, P<0.05); (3)采用皮桥横断、断端缝合时, 皮桥断端水肿缝线张力增高再外加排便时肛管扩张易致缝线切割、皮桥断开, 引起断端皮桥外翻不能对合, 皮桥横向转移能很好解决这一问题. 超声刀加皮桥横向转移治疗环状混合痔, 将超声刀与皮桥转移整形技术融为一体, 取其长处, 在彻底剥除痔组织及多余外痔皮赘的同时, 又能够更多的保留肛管的皮肤和黏膜, 与传统术式对比, 能够明显减少术中出血, 有效预防术后水肿、皮赘残留, 明显缩短愈合时间.

应用超声刀加皮桥横向转移时应注意以下问题: (1)剥离至肛管及齿线时适当收缩切口以减少肛管上皮及齿线附近区域的损伤, 保护齿线附近的正常排便反射以及避免造成狭窄; (2)在切除外痔时应采用多个较小切口. 可以尽可能多的保留肛管皮肤; 多个较小切口也可以减少每个切口的愈合时间而明显缩短整个伤口的愈合时间; 可避免切口过少, 每个剥离的外痔切口过大缺损过多, 皮桥横向转移时张力过大, 甚至缝线撕裂; (3)在手术中彻底剥除外痔及皮桥下的曲张静脉和增生的结缔组织也可减少患者术后肛门及皮桥水肿; (4)游离的皮桥横向转移缝合时要与皮桥下组织进行固定以促进皮桥与周围组织及早愈合固定, 缩短愈合时间; (5)皮桥的缝线打结时不可过紧, 以免皮桥术后肿胀时缝线的切割撕开.

4 参考文献

1 李冰, 王建中, 李景龙, 朱月明, 马会娜, 赵江涛. 内痔注射横扎并整形小切口外痔切除术治疗环状混合痔98例疗效观察. 河北中医 2014; 36: 1587

2 王净净, 龙俊杰. 中医临床病证诊断疗效标准. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1993: 361-362

3 莫日根, 戴光辉, 史圣华, 马富明, 高原. 外剥内注皮桥整形术治疗环状混合痔的临床观察. 现代中西医结合杂志 2013; 22: 2766-2767

4 宣恩胜, 江洪亮. 选择性痔上黏膜切除钉合术(TST)治疗痔病的临床研究. 中国医药指南 2014; 12: 78-90

5 夏柱斌, 曾晓梅. 外剥内扎加部分环切皮桥整形缝合术治疗环状混合痔53例. 世界最新医学信息文摘 2013; 13: 81

6 孙彦辉, 曹永清, 黄鸿翔, 郭修田. 齿形结扎皮桥整形术治疗环状混合痔临床观察. 现代中西医结合杂志 2007; 16: 3129-3130

7 余智涛, 王悦辉, 李绮瀚, 李学化. 超声刀加"8"字缝

扎治疗重度脱垂性混合痔的临床研究. 中国实用医药 2011; 6: 71-72
8 代述东. 保留皮桥分段剥扎加内括约肌松解术治疗环状嵌顿混合痔的临床观察. 结直肠肛门外科 2010; 16: 178-179
9 王小峰, 吴崑岚. 分段齿形外剥内扎加断桥缝合术治疗环状混合痔50例临床效分析. 结直肠肛门外科 2010; 16: 374-375
10 李晓华, 吴晓琴. 两种术式治疗环状混合痔的疗效评价. 中国医刊 2010; 45: 62-64
11 万廷军. PPH在重度痔疮患者中的疗效分析. 中国医学创新 2013; 10: 58-59
12 王永强, 李丽梅. 选择性痔上黏膜切除钉合术治疗脱垂性痔病的临床研究. 实用临床医药杂志 2012; 16: 84-86
13 马翔, 陈小岚, 盛光. 开环式微创肛肠吻合器痔切闭术治疗脱垂性痔病的临床研究. 现代临床外科 2011; 11: 436-437
14 李红梅, 柴福录, 范瑞芳, 雍召生, 万维喜, 李荣梓. 超声刀在外科手术中的应用与配合. 西北国防医学杂志 2008; 29: 310-311
15 李毅, 吴坚, 李文忠, 陈浩林. 超声刀加皮桥缝合治疗重度脱垂性混合痔疗效观察. 实用医院临床杂志 2014; 11: 127-128

同行评价

超声刀加皮桥横向转移治疗环状混合痔, 具有术中出血少、术后水肿、皮赘残留明显减少, 愈合时间明显缩短等优点. 本文内容较新颖, 具有可重复性, 有可读性. 对临床上处理环状混合痔具有较好的指导作用.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1298

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1298-1301
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

病例报告 CASE REPORT

华法林过量致小肠黏膜下出血1例

梁灿灿, 纪文静, 丁永年, 柯 月, 彭媛媛

梁灿灿, 纪文静, 丁永年, 柯月, 彭媛媛, 新疆医科大学第二附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

梁灿灿, 主治医师, 主要从事非酒精性脂肪性肝病的研究.

作者贡献分布: 此课题由丁永年设计; 研究过程由丁永年、梁灿灿、纪文静、柯月及彭媛媛操作完成; 本论文写作由梁灿灿完成; 论文修改由丁永年完成.

通讯作者: 丁永年, 副教授, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市南湖东路北二巷38号, 新疆医科大学第二附属医院消化内科. houzihetangseng@163.com

收稿日期: 2016-01-10
修回日期: 2016-01-27
接受日期: 2016-02-02
在线出版日期: 2016-03-18

背景资料
华法林被广泛用于心律失常(房颤)、肺静脉栓塞、心脏瓣膜置换术后、深静脉血栓. 华法林过量可以致各种出血, 出血可发生在任何部位, 消化系如自发性小肠壁内血肿, 从而导致亚急性肠梗阻.

One case of small intestinal submucosal hemorrhage caused by warfarin overdose

Can-Can Liang, Wen-Jing Ji, Yong-Nian Ding, Yue Ke, Yuan-Yuan Peng

Can-Can Liang, Wen-Jing Ji, Yong-Nian Ding, Yue Ke, Yuan-Yuan Peng, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Yong-Nian Ding, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 38 Nanhu East Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. houzihetangseng@163.com

Received: 2016-01-10
Revised: 2016-01-27
Accepted: 2016-02-02
Published online: 2016-03-18

同行评议者
毛华, 教授, 主任医师, 南方医科大学(原第一军医大学)珠江医院消化内科; 范辉, 副教授, 副主任医师, 江苏省南通市第二人民医院消化科

Abstract
Warfarin overdose induced spontaneous intestinal intramural hematoma is a rare complication of anticoagulant treatment, which can cause subacute intestinal obstruction. Patients may present with symptoms of abdominal pain and significant coagulopathy, accompanied by nausea, vomiting, and anemia, and they are often misdiagnosed with mesenteric thrombosis or acute abdominal disease and given thrombolysis or surgical treatment.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Warfarin; Small intestinal submucosal hemorrhage; Case report

Liang CC, Ji WJ, Ding YN, Ke Y, Peng YY. One case of small intestinal submucosal hemorrhage caused by warfarin overdose. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1298-1301 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1298.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1298

摘要
华法林过量引起自发性小肠壁内血肿是抗凝过程中较为少见的并发症之一, 其导致亚急性肠梗阻. 患者可表现为腹痛、凝血功能明显异常, 可同时伴随恶心、呕吐、贫血, 在临床工作中易被误认为肠系膜血栓形成或外科急腹症而给以溶栓或外科手术治疗.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 华法林, 小肠黏膜下出血; 病例报告

核心提示: 对于临床表现为急性腹痛伴凝血功能极度异常, 可伴随贫血、CT表现为肠壁增

厚、渗出, 可伴有肠梗阻, 则高度提示小肠黏膜下出血的可能.

梁灿灿, 纪文静, 丁永年, 柯月, 彭媛媛. 华法林过量致小肠黏膜下出血1例. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1298-1301
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1298.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1298

0 引言

随着我国老龄化的加剧, 华法林被广泛用于心律失常(房颤)、肺静脉栓塞、心脏瓣膜置换术后、深静脉血栓. 华法林过量致各种出血, 早期表现有淤斑、紫癜、牙龈出血、鼻出血、伤口出血经久不愈和月经量过多等. 出血可发生在任何部位, 特别是泌尿道和消化道, 如自发性小肠壁内血肿[1], 从而导致亚急性肠梗阻. 患者可表现为腹痛、凝血功能明显异常, 可同时伴随恶心、呕吐、贫血, 从而在临床工作中易被误认为肠系膜血栓形成或外科急腹症而给以溶栓或外科手术治疗. 因此需提高内科医师对此类疾病的认识和警惕, 在2015年的住院患者中发生由华法林过量导致小肠黏膜下出血个案1例, 现报道如下.

1 病例报告

男, 83岁, 汉族, 以“腹痛伴恶心、呕吐4 d”入院, 患者自诉于4 d前无明显诱因感腹痛, 表现为脐周针刺样疼痛, 以脐周左侧较明显、疼痛持续数小时至10余小时, 疼痛与进食及体位无明显联系. 同时伴恶心、呕吐, 进食约5-10 min后自诉即出现呕吐, 呕吐物为咖啡色、量少. 患者既往有痛风、肾功能不全、房颤、高血压病史; 该患者隐瞒服用“华法林”病史, 经多次追问后告知于入院前1 mo口服“华法林5 mg 1次/d”至今. 入院查体: 体温: 36.7 ℃, 呼吸: 19次/min, 血压: 138/76 mmHg, 脉搏: 75次/min, 意识清, 皮肤黏膜无出血、紫癜, 两肺呼吸音清, 未及干湿罗音. 心前区无异常隆起, 心率: 86次/min, 心律绝对不齐, 第一心音强弱不等, 心音可, 未及额外心音, 各瓣膜区未及病理性杂音, 未及心包摩擦音. 腹膨隆, 脐周压痛, 以脐周左侧压痛明显, 无反跳痛及肌卫, 肝脾肋下未及, 移动性浊音(-), 肠鸣音减弱, 3次/min, 双下肢无浮肿. 入院前辅助检查: 血常规: 白细胞: 15.3×10^9/L↑, N%: 84.4%↑, 血红蛋白(hemoglobin, Hb): 108 g/L↓, C反应蛋白(C-reactive protein, CRP): 60 mg/L↑. 腹部平片: 左侧膈下少许气体密度影, 胃泡影可能. 右中上腹高密度结节影. 胃镜: 反流性食管炎(LA-A), 糜烂性全胃炎, 胃潴留, 十二指肠静脉曲张可能(图1A, B). 入院诊断: 肠系膜血栓形成?(但肾功能差, 请肾病科会诊后告知如行造影检查, 有行透析风险, 故未行上述检查); 反流性食管炎(LA-A), 糜烂性全胃炎, 胃潴留, 十二指肠静脉曲张可能(原因待查), 高血压病, 心律失常(房颤), 肾功能不全, 痛风, 轻度贫血. 入院第1日急诊辅助检查: 肝功能: 肌红蛋白: 1269.90 ng/mL↑, 肌钙蛋白: 0.110 ng/mL↑, 钾: 5.10 mmol/L↑, 肌酐: 358.0 μmol/L↑, 尿素氮: 20.7 mmol/L↑, 葡萄糖: 9.5 mmol/L↑, 尿酸: 879.10 μmol/L↑. 凝血功能(表1): 国际标准化比值(international normalized ratio, INR): 9.36↑, 凝血酶原时间: 101.10 s↑, D-D二聚体: 0.36 mg/L(正常), 纤维蛋白(原)降解产物: 2.1 mg/L, 纤维蛋白原: 2.4 g/L. (急诊)白细胞15.3×10^9/L↑, N%: 84.4%↑, Hb: 108 g/L↓, CRP: 60 mg/L↑. (急诊)腹部CT平扫: 左侧膈下少许气体密度影, 胃泡影可能. 右中上腹高密度结节影胆囊结石, 十二指肠肠壁增厚伴周围渗出, 左侧肾上腺结节, 双肾萎缩伴多发小结石, 肝脏、双肾多发小低密度灶(图1C). 入院第1日立即给以禁食水、胃肠减压、停用华法林、抗感染(左氧氟沙星针0.5 g, 静滴, *qd*+甲硝唑氯化钠针0.5 g, 静滴, *bid*)、抑酸(兰索拉唑). 纠正凝血功能障碍(维生素K1注射液30 mg+5%葡萄糖针250 mL, 静滴; 蛇毒血凝酶针2 U, 静推, *bid*; 输注新鲜血浆200 mL). 入院第2日: 查体: 患者精神欠佳, 腹膨隆较昨日加重, 脐周可及压痛, 无反跳痛及肌卫, 脐周左侧叩诊为鼓音, 脐周右侧叩诊为浊音, 肝脾肋下未及, 移动性浊音(-), 肠鸣音较昨日明显减弱, 1-2次/min, 双下肢无浮肿. 辅助检查: 肌钙蛋白: 0.070 ng/mL↑. 钠钾氯+心肌酶: 乳酸脱氢酶: 251 U/L↑, 钠: 137.0 mmol/L, 钾: 4.40 mmol/L, 氯: 99.0 mmol/L, 谷草转氨酶: 19 U/L. 血五分类+CRP: 血红蛋白: 88 g/L↓, 白细胞计数: 14.50×10^9/L↑, 红细胞计数: 3.29×10^{12}/L↓, 血小板计数: 219.00×10^9/L, CRP: 62 mg/L, 中性粒细胞(%): 77.6%↑. 网织红细胞计数: 3.07%↑. 肿瘤系列正常. 凝血功能: INR: 1.36↑, D-D二聚体: 0.90 mg/L↑, 纤维蛋白(原)降解产物: 8.32 mg/L↑,

研发前沿
临床中对于年龄大且基础疾病较多、未提供华法林药物服用史, 依据其腹痛、肠鸣音减弱、凝血功能异常等误诊为“肠系膜血栓形成”而误诊.

相关报道
华法林的治疗窗口小且个体差异较大, 其过量引起自发性小肠壁内血肿是抗凝过程中较为少见的并发症之一, Abbas等报道了接受华法林治疗后导致出血的概率为1/2500.

同行评价

本文作为少见病病例分析, 对临床工作者在急腹症诊疗过程中具有一定借鉴作用, 可帮助临床医生拓宽思路、积累间接经验, 具有一定参考价值, 可读性较好.

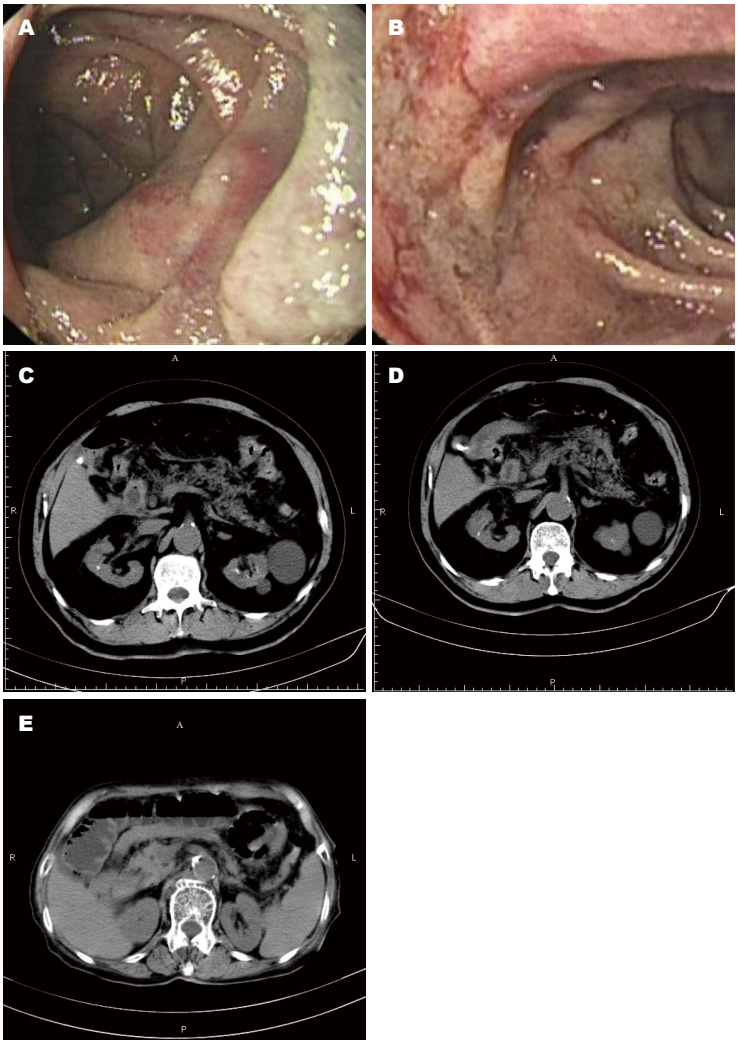


图 1 病例检查图片. A, B: 十二指肠球部静脉曲张; C: 入院第1日腹部CT; D: 入院第2日腹部CT; E: 出院后1 mo腹部CT. CT: 计算机断层扫描.

表 1 凝血功能检查结果

项目	入院第1日	入院第2日	入院第3日
INR	9.36	1.36	1.03
凝血酶原时间(s)	101.1	15.1	11.3
D-D二聚体(mg/L)	0.36	0.9	1.3
纤维蛋白(原)降解产物(mg/L)	2.1	8.32	36.3
纤维蛋白原(g/L)	2.4	2.6	4.21

INR: 国际标准化比值.

纤维蛋白原: 2.6 g/L. 复查上腹部CT: 十二指肠及空肠近段肠壁明显增厚伴腹腔渗出灶, 少量腹水, 与前日大致相仿; 胆囊结石, 左侧肾上腺结节, 双肾萎缩伴多发小结石, 肝脏、双肾多发小低密度灶, 前列腺增大(图1D). 治疗上维持原治疗方案, 另增加"凝血酶原复合物300 iu, 静滴, 1次/d; 5%葡萄糖针250 mL+维生素K1注射液30 mg, 静滴, 1次/d". 入院第3日: 查体: 患者精神及腹痛症状较前明显好转, 脐周可及轻压痛, 无反跳痛及肌卫, 脐周叩诊为鼓音, 肝脾肋下未及, 移动性浊音(-), 肠鸣音正常, 4-5次/min, 双下肢无浮肿. 肾功能+钠钾氯+肝功: 前白蛋白: 169.0 mg/L↓, 尿素氮: 24.22 mmol/L↑, 肌酐: 294 μmol/L↑, 尿酸: 564 μmol/L

↑, 余阴性. 血五分类+CRP: 血红蛋白: 88 g/L ↓, 白细胞计数: 10.80×10^9/L ↑, 血小板计数: 218.00×10^9/L, CRP: 91mg/L ↑, 中性粒细胞(%): 69.5%. 凝血功能: INR: 1.03, D-D二聚体: 1.30 mg/L ↑, 纤维蛋白(原)降解产物: 36.30 mg/L ↑, 纤维蛋白原: 4.21 g/L ↑, 凝血酶原时间: 11.30 s. 华法林血药浓度: 1.04 μg/mL ↑. 给以维生素K1注射液10 mg, 肌注, 1次/d(因凝血酶原时间已达正常, 为避免再次形成血栓故使用10 mg); 此后未使用维生素K1. 出院后1 mo复查腹部CT: 十二指肠肠壁增厚, 较老片比较有好转; 胆囊炎, 胆囊结石; 两肾多发囊肿, 两肾多发小结石可能, 肝内小囊肿可能; 十二指肠憩室形成, 左肾上腺小结节(图1E). 出院诊断: 小肠黏膜下出血, 亚急性肠梗阻、反流性食管炎(LA-A), 糜烂性全胃炎, 胃潴留, 高血压病, 心律失常(房颤), 肾功能不全, 痛风, 轻度贫血, 慢性心功能不全.

2 讨论

华法林的治疗窗口小且个体差异较大, 其过量引起自发性小肠壁内血肿是抗凝过程中较为少见的并发症之一, Abbas等[2]报道了接受华法林治疗后导致出血的概率为1/2500, 其发病率男性高于女性, 症状表现为腹痛、恶心、呕吐, 继而发展为肠梗阻所致的急腹痛. 本组病例初步诊断考虑为肠系膜血栓形成, 但确诊后立即给以维生素K1、蛇毒血凝酶、新鲜病冻血浆等对症支持治疗后, 于入院第3日腹痛较前明显好转, 肠鸣音恢复正常; 出院1 mo后复查CT好转.

小肠壁内血肿常常累及空肠、十二指肠[3], 起源于小血管产生的缓慢出血常发生于黏膜下层. 临床中我们发现单一的十二指肠静脉曲张不常见, 而在病例中行胃镜提示“十二指肠静脉曲张”, 考虑因其肠壁内血肿导致亚急性肠梗阻所致.

小肠壁内血肿所致的CT表现为肠壁均匀环形改变、弥漫性增厚、肠壁密度增高、肠系膜积血、肠腔狭窄、肠梗阻, 和Altikaya等[3]报道一致.

该患者入院时考虑因其年龄大且基础疾病较多、未提供华法林药物服用史, 依据其腹痛、肠鸣音减弱、凝血功能异常等误诊为“肠系膜血栓形成”; 对于此类患者因详细追问其病史, 对于临床表现为急性腹痛伴凝血功能极度异常, 可伴随贫血、CT表现为肠壁增厚、渗出, 可伴有肠梗阻, 则高度提示本病的可能. 早期给以积极的对症治疗、其预后较好, 对于此类患者需严密监测血药浓度, 如有腹痛等消化系症状需立即就医.

3 参考文献

1 Abdel Samie A, Sun R, Huber A, Höpfner W, Theilmann L. Spontaneous intramural small-bowel hematoma secondary to anticoagulant therapy: a case series. *Med Klin Intensivmed Notfmed* 2013; 108: 144-148 [PMID: 23135686 DOI: 10.1007/s00063-012-0184-0]

2 Abbas MA, Collins JM, Olden KW. Spontaneous intramural small-bowel hematoma: imaging findings and outcome. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 179: 1389-1394 [PMID: 12438021 DOI: 10.2214/ajr.179.6.1791389]

3 Altikaya N, Parlakgümüş A, Demır Ş, Alkan Ö, Yildirim T. Small bowel obstruction caused by intramural hematoma secondary to warfarin therapy: a report of two cases. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22: 199-202 [PMID: 21796559]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v24.i8.1302

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): 1302-1306
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

病例报告 CASE REPORT

英夫利昔单抗治疗肠白塞病1例并文献复习

王一娜, 李 瑭, 古洁若

背景资料
白塞病(Behcet's disease, BD)可累及多个系统, 其中肠白塞可伴发溃疡出血、肠穿孔、瘘管形成、食道狭窄等并发症, 重者导致死亡. 该病的发病率有逐年升高趋势, 但目前尚无根治方法. 常用药物有柳氮磺胺吡啶、糖皮质激素、免疫抑制剂.

王一娜, 李瑭, 中山大学附属第三医院特诊医疗中心 广东省广州市 510630

古洁若, 中山大学附属第三医院风湿免疫科 广东省广州市 510630

王一娜, 主治医师, 主要从事风湿免疫领域方面的研究.

作者贡献分布: 本文临床资料收集、资料分析和论文撰写由王一娜完成; 文献检索由王一娜与李瑭完成; 审校由古洁若完成.

通讯作者: 古洁若, 教授, 510630, 广东省广州市天河路600号, 中山大学附属第三医院风湿免疫科. gujieruo@163.com

收稿日期: 2016-01-11
修回日期: 2016-02-04
接受日期: 2016-02-22
在线出版日期: 2016-03-18

Treatment of intestinal Behcet's disease with infliximab: A case report and literature review

Yi-Na Wang, Tang Li, Jie-Ruo Gu

Yi-Na Wang, Tang Li, VIP Medical Center, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China

Jie-Ruo Gu, Department of Rheumatology, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China

Correspondence to: Jie-Ruo Gu, Professor, Department of Rheumatology, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, 600 Tianhe Road, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China. gujieruo@163.com

Received: 2016-01-11
Revised: 2016-02-04
Accepted: 2016-02-22
Published online: 2016-03-18

同行评议者
黄志刚, 副教授, 主任医师, 上海同济大学附属东方医院消化科

Abstract

Behcet's disease (BD) is a kind of systemic chronic vascular inflammatory disease. BD often affects the stomach and intestinal tract, resulting in gastrointestinal bleeding, perforation and ulcers. Tumor necrosis factor α (TNF-α) antagonists can relieve the symptoms of refractory BD patients, and infliximab as a TNF-α antagonist in the treatment of intestinal Behcet's disease is rarely reported. Here we report the diagnosis and treatment of a patient with intestinal Behcet's disease, and the efficacy and safety of infliximab in the treatment of intestinal Behcet's disease are analyzed.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Behcet syndrome; Intestinal BD; Infliximab

Wang YN, Li T, Gu JR. Treatment of intestinal Behcet's disease with infliximab: A case report and literature review. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(8): 1302-1306 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1302.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1302

摘要

白塞病(Behcet's disease, BD)是一种全身性、慢性、血管炎性疾病. BD累及胃肠道伴有胃肠道出血、穿孔、溃疡等称为肠BD. 有研究认为, 肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α)抑制剂可以缓解难治性BD患者的病情, 但英夫利昔单抗作为TNF-α抑制剂治疗肠BD少有报道. 本文结合1例肠BD患者的诊治过程, 分析英夫利昔

单抗治疗肠BD的疗效及安全性.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 贝赫切特综合征; 肠白塞病; 英夫利昔单抗

核心提示: 白塞病(Behcet's disease, BD)属于临床少见病, 肠BD的临床表现复杂多样, 易误诊为其他消化系疾病. 目前该病尚无一致公认的根治方法, 且复发率高. 本文结合1例英夫利昔单抗治疗的肠BD患者, 观察疗效, 探讨肠BD的有效治疗方法.

王一娜, 李璐, 古洁若. 英夫利昔单抗治疗肠白塞病1例并文献复习. 世界华人消化杂志 2016; 24(8): 1302-1306 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1302.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i8.1302

0 引言

白塞病又称贝赫切特病(Behcet's disease, BD), 于1937年由土耳其医生Behcet首次报告, 是一种以口腔溃疡、外阴溃疡、皮肤损害及眼炎为临床特征的慢性疾病, 可累及多个系统, 病情呈反复发作和缓解交替过程. 根据其内脏的系统损害不同BD可分为胃肠型、神经型、血管型. 其中胃肠型是指有胃肠道溃疡、出血、穿孔等. 胃肠型出现在10%-15%的患者, 其发病呈显著的地区性差异[1]. 病变可累及全消化系的任何部位, 回盲部最为常见, 其次为升结肠、降结肠、胃、食道等. 重者可伴发溃疡出血、肠穿孔、腹膜炎及瘘管形成、食道狭窄等并发症, 甚至导致死亡. 关于肠BD的报道逐年增多, 并有研究[2]显示: BD的发病率也较以往有明显升高. 目前该病仍无根治方法, 本文结合1例肠BD患者的诊治过程, 复习英夫利昔单抗(infliximab, IFX)治疗肠BD的文献报道, 探讨肠BD的有效治疗方法.

1 病例报告

女, 52岁, 因“反复口腔溃疡10年, 右下腹痛、腹泻5 mo”于2014-09-15入住中山大学附属第三医院. 10年前患者无明显诱因反复出现口腔溃疡, 起初平均每年出现口腔溃疡2-3次, 每次2-3个, 大小1 cm的浅溃疡, 3 d内可愈合, 随着病情进展, 溃疡数量逐渐增加, 溃疡1 mo方能愈合. 患者5 mo前出现右下腹痛、呈阵发性绞痛, 伴腹胀、腹泻, 为黄色稀便, 3-4次/d. 在珠江医院就诊, 因出现“肠梗阻”于2014-06-13行“部分小肠切除术”, 切除小肠约90 cm, 术后病理示: 小肠多发性溃疡伴穿孔、急性化脓性炎(图1), 诊断“肠白塞病”, 术后给予甲强龙冲击治疗、血浆置换400 mL/d, 7 d, 6 wk后改用“美卓乐”40 mg *qd*、联合硫唑嘌呤、柳氮磺胺吡啶. 随后患者就诊于“北京协和医院”, 诊断同前, 治疗方案调整为美卓乐、反应停、环磷酰胺、柳氮磺胺吡啶联合治疗, 患者病情仍有反复, 为进一步治疗于2014-09-15住入中山大学附属第三医院.

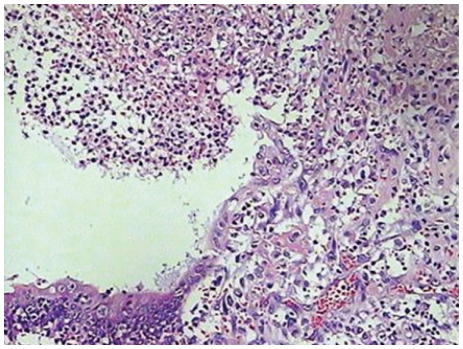


图 1 HE染色检测(×200). 溃疡病变, 黏膜充血水肿脱落, 表面覆盖炎性渗出物, 血管和淋巴管扩张, 溃疡边缘局部见静脉性血管炎改变.

体格检查: 体温: 36.8 ℃, 脉搏: 70 次/min, 呼吸: 18 次/min, 血压: 127/81 mmHg. 一般情况尚可, 心肺查体未见异常, 腹部平坦, 触诊全腹软, 右下腹压痛(+)、无反跳痛, 肝、脾肋下未触及, 肠鸣音5 次/min.

辅助检查: 白细胞计数3.64×10^9/L, 血红蛋白120 g/L, 血小板计数130×10^9/L, C反应蛋白: 66.3 mg/L, 血沉: 52 mm/h, 抗核酸抗原抗体、类风湿因子、ENA抗体多肽谱、均为阴性. ANCA-PR3 8 AU/mL, ANCA-MPO 35 AU/mL, 免疫球蛋白正常. 腹部彩超未见异常. 肠镜示: 结肠散在多个大小不等类圆形溃疡, 表面被白苔(图2). 诊断: 肠BD.

治疗: 入院后予美卓乐38 mg/d, 环磷酰胺0.1 *qod*, 反应停0.1 *qd*, 柳氮磺胺吡啶0.5 *tid*, 排除了肝炎、结合等感染性疾病后于2014-09-22予类克200 mg静脉滴注, 患者病情明显好转, 无腹痛、腹泻, 无发热, 无口腔溃疡, 随后出院, 定期门诊随诊. 自2014-09-22/2015-09-01已予类

研发前沿

肠BD无有效的根治方法, 易复发, 治疗难度大, 目前研究的热点及重点在于探索寻求更有效的治疗方法及解决易复发的难题.

相关报道

目前有研究证实活跃的BD患者外周血中肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α)量明显增加, 有研究发现, 英夫利昔单抗能快速治疗难治性肠道BD, 且未出现明显的不良反应, 证实了英夫利昔单抗的有效性与安全性.

创新盘点
英夫利昔单抗主要用于类风湿关节炎、强直性脊柱炎、克罗恩病的治疗, 本文中用来治疗肠BD并取得确切疗效是创新之处, 可为今后在肠白塞治疗方面提供更多的借鉴.

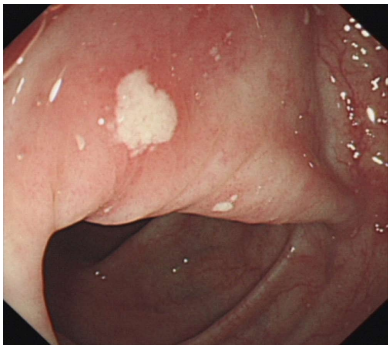


图 2　结肠散在多个大小不等类圆形溃疡, 表面被白苔.

克200 mg/次, 共8次, 美卓乐已减量至4 mg *qd*, 目前患者病情稳定, 无口腔溃疡、无外阴溃疡, 无腹痛、腹泻, 无发热、无关节肿痛, 实验室检查指标均正常.

2 讨论

BD病因至今不明, 现有资料认为与遗传、环境、免疫紊乱、感染、血管内皮细胞功能异常等因素有关, 而链球菌、病毒、及结核感染可能是其诱因[3]. 肠白塞最常见的症状包括腹痛、恶心、呕吐、腹泻和消化道出血. 肠BD的症状多不典型, 临床表现复杂多样, 同时又缺乏特异性实验室检查, 易误诊为其他消化系疾病. 目前肠BD诊断仍无统一的标准, 诊断方面除需具备BD诊断标准外, 同时还应具备内镜下的改变: 小肠及结直肠的炎性反应、溃疡性病灶; 回肠末端有典型的椭圆形溃疡, 并排除其他消化系疾病. BD累及肠道有两种形式的病变: 中性粒细胞性静脉炎导致黏膜炎症和溃疡形成; 大血管病变(如肠系膜动脉), 可导致肠缺血和梗死. 目前该病尚无一致公认的根治方法, 且复发率高, 治疗的目标是维持患者临床缓解、减少复发、尽量降低手术干预几率. 因本病临床表现多样, 治疗方案主张个体化. 一般治疗: 在活动期, 应予流质饮食、充分休息、限制活动, 待病情稳定后改为富营养的少渣饮食. 急性期伴有剧烈腹痛、便血者要禁食, 给予肠外中心静脉营养或肠内营养. 注意维持水、电解质、酸碱平衡, 加强支持治疗[4]. 药物治疗: 肠BD经治疗复发率仍较高, 有研究指出肠BD经治疗缓解后2年累积复发率为25%[5]、5年复发率高达43%-49%[6]. 柳氮磺胺吡啶是治疗本病的常用药物. 糖皮质激素在炎症明显时或氨基水杨酸制剂疗效不佳时使用. 免疫抑制药用于糖皮质激素治疗效果不佳或者对糖皮质激素产生依赖的慢性活动性病例. 其他治疗药物还有: 秋水仙碱、沙利度胺、苄星青霉素G、干扰素-α、甲氨蝶呤、巯嘌呤类药物. 当发生肠穿孔或有瘘管形成、肠梗阻则需手术治疗. 由于术后复发率高, 因而应该慎重掌握手术的适应证.

应用要点
本文中肠BD患者用传统的治疗方法无效, 病情反复, 给予英夫利昔单抗能获得良好的疗效, 并且耐受性好, 维持缓解时间长. 提示英夫利昔单抗在治疗肠BD方面是非常有前途的一种药物.

目前已经有研究证实活跃的BD患者外周血中肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α)量明显增加[7]. 另有研究[8]指出BD患者胃肠道的病变部位有TNF-α mRNA表达, 并且能通过治疗来调节. 2006-05召开的一个专家会议[9]在TNF-α单抗治疗BD方面达成了共识. 英夫利昔单抗, 人鼠嵌合单克隆抗体, 通过与可溶性膜结合型TNF-α的前体相结合从而中和TNF-α的生物活性, 有研究[10,11]认为, 英夫利昔单抗能快速治疗难治性肠道BD, 并能维持肠道BD患者长期缓解且耐受性良好. 该患者接受英夫利昔单抗治疗后病情迅速好转, 且未出现明显的不良反应, 证实了英夫利昔单抗的疗效及其良好的耐受性. 英夫利昔单抗治疗肠道BD目前尚无标准剂量, 常用剂量为3 mg/kg, 1次/8 wk, 疾病反复时剂量可增加至200 mg或治疗间期可从8 wk缩短至6 wk. 在使用英夫利昔单抗之前应注意排除充血性心力衰竭、感染(肺结核等)、恶性肿瘤及其他免疫异常性疾病(如脱髓鞘性疾病)等.

Vallet等[12]对124例难治性BD(其中包括肠BD)患者进行了一项多中心的研究, 结果显示: TNF-α单抗治疗肠BD效果好, TNF-α单抗单药治疗与联合免疫抑制剂治疗, 在疗效方面无显著差异. TNF-α单抗治疗后复发率显著降低并且激素用量明显减少, 从而减少了长期应用大剂量激素所带来的不良反应. 结合本例患者, 使用英夫利昔单抗后患者美卓乐用量明显减少, 目前维持在4mg *qd*, 病情控制良好. Naganuma等[11]报道, 英夫利昔单抗治疗6例暴发性肠BD患者, 他们都是激素依赖性与难治性的. 应用英夫利昔单抗治疗后均能获得缓解, 其中有1例维持缓解达3年, 提示对于重症肠道BD, 英夫利昔单抗能达到诱导和维持缓解的效果.

本文1例患者同样表明, 对于传统的治疗

无效的难治性肠BD患者, 英夫利昔单抗能获得良好的疗效, 并且耐受性好, 维持缓解时间长.

韩国Lee等[13]开展了一项多中心的回顾性研究, 收集了28例分别来自8家3级医院的患者资料, 每例患者至少用过1次英夫利昔单抗, 分别在2、4、30、54 wk进行病情评估, 结果发现, 有效率分别为75%、64.3%、50%和39.1%, 缓解率分别为32.1%、28.6%、46.2%和39.1%. 经过进一步的多因素分析发现, 诊断时的年龄(≥40岁), 女性, 病程较长(≥5年), 免疫抑制剂合用, 在4 wk内缓解是持续应答的5个预测因素. 在该研究中有1例严重的感染, 但没有恶性肿瘤或死亡. 由此可见英夫利昔单抗的耐受性良好, 此外, 与持续应答有关的5个预测因素可能有助于选择适合应用英利昔单抗治疗的患者. 本文此例患者系女性, 年龄>40岁, 病程>5年, 合用免疫抑制剂, 使用英夫利昔单抗4 wk内缓解, 完全符合5个预测因素, 因而应用英夫利昔单抗是最佳选择. 目前该患者已经随诊50 wk, 病情稳定, 无复发.

复习了迄今最新的关于肠BD治疗方面的文献, 我们发现抗TNF-α单克隆抗体是一种非常有前途的治疗肠白塞的药物. 但是, 仍有几个问题有待解决. 肠BD患者基因组的分析, 以及确定抗TNF-α单克隆抗体的作用机制, 有利于深入了解本病的发病机制. 临床上, 有必要制定全球统一的诊断标准和疾病的活动指数. 抗TNF-α单克隆抗体可能会改变疾病的预后, 尽管并不是所有的肠BD患者都要用, 最重要的是要识别高危患者并监测疾病活动程度. 目前英夫利昔单抗治疗肠白塞仍缺乏大型的前瞻性临床研究证据, 需要包括风湿科、消化科、胃肠外科、放射科等多学科的共同努力才能制定出适合肠道BD患者的治疗方案.

3 参考文献

1 Bayraktar Y, Ozaslan E, Van Thiel DH. Gastrointestinal manifestations of Behcet's disease. *J Clin Gastroenterol* 2000; 30: 144-154 [PMID: 10730919 DOI: 10.1097/00004836-200003000-00006]

2 Calamia KT, Wilson FC, Icen M, Crowson CS, Gabriel SE, Kremers HM. Epidemiology and clinical characteristics of Behçet's disease in the US: a population-based study. *Arthritis Rheum* 2009; 61: 600-604 [PMID: 19405011 DOI: 10.1002/art.24423]

3 Hirohata S, Kikuchi H. Behçet's disease. *Arthritis Res Ther* 2003; 5: 139-146 [PMID: 12723980]

4 Hur H. Min BS, Kim JS, Soh MB, Kim JS, Lee KY, Yoon-Ah P, Baik SH, Sohn SK, Chang HC, Kim JH, Kim WH, Kim NK. Patterns of recurrence and prognosis in patients with intestinal Behcet's disease who underwent a bowel resection. *J Korean Soc Coloproctol* 2008; 24: 166-174 [DOI: 10.3393/jksc.2008.24.3.166]

5 Chung MJ, Cheon JH, Kim SU, Park JJ, Kim TI, Kim NK, Kim WH. Response rates to medical treatments and long-term clinical outcomes of nonsurgical patients with intestinal Behçet disease. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: e116-e122 [PMID: 20054283 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181c8a50f]

6 Choi IJ, Kim JS, Cha SD, Jung HC, Park JG, Song IS, Kim CY. Long-term clinical course and prognostic factors in intestinal Behçet's disease. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 692-700 [PMID: 10826433 DOI: 10.1007/BF02235590]

7 Akman A, Sallakci N, Coskun M, Bacanli A, Yavuzer U, Alpsoy E, Yegin O. TNF-alpha gene 1031 T/C polymorphism in Turkish patients with Behçet's disease. *Br J Dermatol* 2006; 155: 350-356 [PMID: 16882174 DOI: 10.1111/j.1365-2133.2006.07348.x]

8 Kappen JH, Dik WA, Dingjan GM, van Daele PL, Hooijkaas H, van Hagen PM, van Laar JA. Cytokines in the colon of a patient with Behçet's disease. *Arthritis Res Ther* 2009; 11: 412 [PMID: 19735581 DOI: 10.1186/ar2784]

9 Kobayashi K, Ueno F, Bito S, Iwao Y, Fukushima T, Hiwatashi N, Igarashi M, Iizuka BE, Matsuda T, Matsui T, Matsumoto T, Sugita A, Takeno M, Hibi T. Development of consensus statements for the diagnosis and management of intestinal Behçet's disease using a modified Delphi approach. *J Gastroenterol* 2007; 42: 737-745 [PMID: 17876543 DOI: 10.1007/s00535-007-2090-4]

10 Iwata S, Saito K, Yamaoka K, Tsujimura S, Nawata M, Hanami K, Tanaka Y. Efficacy of combination therapy of anti-TNF-α antibody infliximab and methotrexate in refractory entero-Behçet's disease. *Mod Rheumatol* 2011; 21: 184-191 [PMID: 21052764 DOI: 10.1007/s10165-010-0370-y]

11 Naganuma M, Sakuraba A, Hisamatsu T, Ochiai H, Hasegawa H, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. Efficacy of infliximab for induction and maintenance of remission in intestinal Behçet's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1259-1264 [PMID: 18393375 DOI: 10.1002/ibd.20457]

12 Vallet H, Riviere S, Sanna A, Deroux A, Moulis G, Addimanda O, Salvarani C, Lambert M, Bielefeld P, Seve P, Sibilia J, Pasquali J, Fraison J, Marie I, Perard L, Bouillet L, Cohen F, Sene D, Schoindre Y, Lidove O, Le Hoang P, Hachulla E, Fain O, Mariette X, Papo T, Wechsler B, Bodaghi B, Rigon MR, Cacoub P, Saadoun D. Efficacy of anti-TNF alpha in severe and/or refractory Behçet's disease: Multicenter study of 124 patients. *J Autoimmun* 2015; 62: 67-74 [PMID: 26162757 DOI: 10.1016/j.jaut.2015.06.005]

13 Lee JH, Cheon JH, Jeon SW, Ye BD, Yang SK,

名词解释

肠白塞病(肠BD): 是一种全身性、慢性、血管炎性疾病. BD累及胃肠道伴有胃肠道出血、穿孔、溃疡等称为肠BD, 为BD的特殊类型.

同行评价

肠BD症状不典型, 临床表现复杂多样, 同时又缺乏特异性实验室检查, 易误诊为其他消化系疾病, 治疗上有一定难度, 容易反复, 本文中临床病案报道打破了传统的治疗方法, 应用英夫利昔单抗治疗肠BD并取得良好疗效是创新之处, 并针对文献复习进行了详尽讨论, 对临床诊治该病起到良好的借鉴作用.

Kim YH, Lee KM, Im JP, Kim JS, Lee CK, Kim HJ, Kim EY, Kim KO, Jang BI, Kim WH. Efficacy of infliximab in intestinal Behçet's disease: a Korean multicenter retrospective study. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1833-1838 [PMID: 23702810 DOI: 10.1097/MIB.0b013e31828f19c9]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016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……, 研究[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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): I-V
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

《世界华人消化杂志》投稿须知

■《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.

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1040位专家组成, 分布在中国31个省市、自治区及特别行政区和美国.

《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》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA,

■《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议，开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》，美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》，荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

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, $T_{1/2}$ *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.

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

■《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.

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.

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: "马连生"的汉语拼写法为"Lian-Sheng Ma".

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……, 研究[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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

2016年国内国际会议预告

2016-01-21/23
2016年胃肠道癌症研讨会(GCS)
会议地点: 美国
联系方式: http://gicasym.org/

2016-02-20/24
第25届亚太肝病研究协会肝病大会(APASL)
会议地点: 日本
联系方式: http://www.apasl2016.org/

2016-03-04/05
第16届肠胃病学教育年会(AEMG)
会议地点: 美国
联系方式: http://aemg.unige.ch/

2016-03-09/11
2016年欧洲神经内分泌肿瘤学会第13届年度会议(ENETS)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.aihcc.com/

2016-03-10/12
2016年第3届圣加伦EORTC胃肠癌会议(SG-GICC)
会议地点: 瑞士
联系方式: http://www.ncgicc.com/

2016-03-16/19
2016年美国消化内镜外科医师协会年会(SAGES)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.sages.org/

2016-04-13/17
第51届欧洲肝病学会年会(EASL)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.easl.eu/

2016-04-16/20
2016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.com.cn/

2016-04-30/05-04
2016年美国结直肠外科医师协会年会(ASCRS)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ascrs.org/

2016-05-21/24
2016年美国消化疾病周(DDW)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ddw.org/

2016-05-25/28
第49届欧洲儿科胃肠病, 肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)
会议地点: 希腊
联系方式: http://www.espghancongress.org/

2016-06-03/07
2016年美国临床肿瘤学会年会(ASCO)
会议地点: 美国
联系方式: http://am.asco.org/

2016-06-09/12
2016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/

2016-06-14/17
2016年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)
会议地点: 捷克
联系方式: http://www.esgar.org/

2016-06-15/18
2016年欧洲内境外科学学会国际会议(EAES)
会议地点: 荷兰
联系方式: http://eaes.info/

2016-09-14/17
2016年加拿大放射肿瘤协会大会(CARO-ACRO)
会议地点: 加拿大
联系方式: http://www.caro-acro.ca/

2016-09-23/25
2016年国际结肠和直肠外科大学学会会议(ISUCRS)
会议地点: 印度
联系方式: http://www.isucrs.org/

2016-10-05/08
2016年第5届世界小儿胃肠病学、肝病学与营养学大会(WCPGHAN)
会议地点: 加拿大
联系方式: http://www.aihcc.com

2016-10-07/11
2016年欧洲肿瘤内科会议(ESMO)
会议地点: 丹麦
联系方式: http://www.esmo.org/

2016-10-15/19
2016年欧洲联合胃肠病学周(UEG)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.ueg.eu/

2016-11-02/05
2016年亚太消化病周(APDW)
会议地点: 日本
联系方式: http://www.apdw2016.org/

2016-11-14/16
2016年第25届美国癌症研究所年会(AICR)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.aicr-congress.com/

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2016年3月18日; 24(8): I-II
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

志谢

白日星 主任医师
首都医科大学附属北京天坛医院普通外科

曹巍 教授
郑州大学附属郑州中心医院转化医学中心

陈大伟 主任医师
上海交通大学医学院附属新华医院崇明分院普外科

陈光 教授
吉林大学第一医院

陈绍勤 副教授
福建医科大学附属第一医院胃肠外科二病区

陈思曾 教授
福建医科大学附属第一医院胃肠外科

陈鑫 副主任医师
天津医科大学总医院消化科

陈源 副教授
河北医科大学第二医院儿科

高道键 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内镜科

高峰 主任医师
新疆维吾尔自治区人民医院消化科

龚作炯 教授
武汉大学人民医院感染科

管小青 教授
南京鼓楼医院集团宿迁市人民医院(徐州医科大学附属宿迁医院)普通外科

郭卉 主任医师
天津中医药大学第一附属医院肝胆科

郭巧珍 主管护师
华中科技大学同济医学院附属同济医院

贾国葆 副教授
温州医科大学附属第一医院消化内科

靖大道 教授
上海交通大学附属第一人民医院消化科

孔德玲 副主任护师
西安交通大学医学院第二附属医院

刘德良 教授
中南大学湘雅二医院消化内科

刘树业 主任技师
天津市第三中心医院医学检验中心

芦永福 副教授
青海大学附属医院消化科

陆斌 副教授
中国人民解放军第二军医大学

倪俊 副主任医师
浙江省湖州市中心医院普通外科

牛春燕 教授
西安医学院第一附属医院

朴龙镇 副教授
延边大学附属医院肿瘤科

秦阳华 主治医师
上海长海医院试验诊断科

沈卫东 副主任医师
东南大学医学院附属江阴医院消化内科

沈志勇 主任医师
上海交通大学医学院附属仁济医院普通外科

宋京海 主任医师
北京医院普通外科

宋景春 副主任医师
中国解放军第九四医院重症医学科

孙星 副主任医师
上海交通大学附属第一人民医院

唐勇 研究员
成都中医药大学针灸与时间生物学四川省重点实验室

田华 副研究员
上海交通大学医学院附属仁济医院上海市肿瘤研究所

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

文彬 研究员
广州中医药大学脾胃研究所

徐阿曼 教授
安徽医科大学第一附属医院胃肠外科

徐辉 主任医师
成都军区总医院消化内科

许钟 副主任医师
贵州省人民医院消化内科

闫峰 副教授
厦门大学附属中山医院胃肠外科

杨江华 副教授
安徽省芜湖市皖南医学院弋矶山医院感染科

杨薇 副教授
北京大学肿瘤医院

袁红霞 教授
天津中医药大学

张德奎 主任医师
兰州大学第二医院

张连阳 教授
中国人民解放军第三军医大学大坪医院创伤外科

张婷 副主任医师
上海市儿童医院消化感染科

张炜 副教授
江苏大学附属医院消化科

张燕 主任医师
四川大学华西医院消化内科

张志宏 副主任医师
四川省人民医院消化内科

周建奖 教授
贵阳医学院分子生物学重点实验室

朱小三 主治医师
厦门大学附属成功医院消化内科

朱元民 主任医师
北京大学人民医院消化内科

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

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.