

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

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2019 年 7 月 8 日 第 27 卷 第 13 期 (Volume 27 Number 13)



13/2019

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。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。

目次

2019年7月8日 第27卷 第13期 (总第633期)

述评

- 791 肛周脓肿三间隙引流术的理论基础及临床应用进展
张心怡, 金黑鹰

基础研究

- 798 miR-183调控Wnt/ β -catenin信号通路影响胃癌SGC-7901细胞生物学特性的研究
张希成, 沈金根, 贾正我, 钱丽芬, 孙元龙
- 807 表达持续活化型ALK3抑制大鼠肝星状细胞活化
石慧, 柳长柏, 肖和杰
- 814 长链非编码RNA MALAT1在大肠癌中的表达及其临床意义: 基于多基因表达数据库分析
倪雅懿, 薛丽华, 张培, 朱广博

临床研究

- 822 异丙酚和依托咪酯复合瑞芬太尼对老年食管白斑胃镜下治疗患者呼吸功能及应激的影响分析
李新鹏, 王世民

文献综述

- 828 嗜酸性粒细胞性食管炎诊疗进展
郑璞, 谭煌英
- 835 基于膳食结构的非酒精性脂肪性肝病动物模型
曾庆敏, 李嘉
- 842 他克莫司治疗炎症性肠病的最新进展
王静静, 范一宏

消 息

- 797 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
806 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事
813 《世界华人消化杂志》修回稿须知
834 《世界华人消化杂志》正文要求
850 《世界华人消化杂志》栏目设置

封面故事

卡世全, 主任医师, 教授, 兰州市第一人民医院消化科主任医师, 西北民族大学医学院兼职教授, 甘肃省消化协会HP学组成员, 全国疑难及重症肝病攻关协作组成员, 全国疑难及重症肝病攻关协作组第三届全国委员, 全国肝胆病咨询专家, 《中国医学创新》杂志编委、审稿人, 《世界消化病杂志》编委、审稿人. 发表学术论文50篇, 发表出版专著2部, 发明国家专利2项, 主持参与省级科研攻关项目5项, 曾获甘肃省医学科技二等奖一项, 兰州市人民政府科技进步二等奖及三等奖各一项. 从事消化专业的卡世全主任医师, 35年来坚守临床一线, 重视学术思想, 视病人为亲人, 在消化及肝病治疗上做出较大的贡献. 经过多年大量临床观察及探索研究, 有他牵头与兰州燕滨扶正有限责任公司共同研制的调节免疫治疗乙肝肝硬化新药——燕滨扶正胶囊, 已获得国家卫生部门批准文号, 进入临床观察使用.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 崔丽君; 组版编辑 刘继红; 英文编辑 王天奇; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-07-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://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. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 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136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 27 Number 13 Jul 8, 2019

EDITORIAL

- 791 Three-cavity clearance for perianal abscess: Theoretical basis and progress in clinical application

Zhang XY, Jin HY

BASIC RESEARCH

- 798 MiR-183 affects biological behaviors of gastric cancer SGC-7901 cells by regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway

Zhang XC, Shen JG, Jia ZW, Qian LF, Sun YL

- 807 Stable expression of constitutively activated ALK3 suppresses rat hepatic stellate cell activation

Shi H, Liu CB, Xiao HJ

- 814 MALAT1 gene expression in colorectal cancer and its clinical significance: Data mining based on multiple gene expression databases

Ni YY, Xue LH, Zhang P, Zhu GB

CLINICAL RESEARCH

- 822 Effect of anesthesia with propofol plus remi-fentanil vs etomidate plus remifentanil on respiratory function and stress in elderly patients with esophageal leukoplakia treated by gastroscopy

Li XP, Wang SM

REVIEW

- 828 New developments in diagnosis and treatment of eosinophilic esophagitis

Zheng P, Tan HY

- 835 Diet-induced animal models of nonalcoholic fatty liver disease

Zeng QM, Li J

- 842 Advances in research of tacrolimus for treatment of inflammatory bowel disease

Wang JJ, Fan YH

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 27 Number 13 Jul 8, 2019

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Ka shi-quan, Chief physician, professor, First People's Hospital of Lanzhou, No. 1th, Wu Homeland, Qilihe District, Lanzhou 730050, Gansu Province, China

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Li-Jun Cui* Electronic Editor: *Ji-Hong Liu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Proof Editor: *Ya-Juan Ma* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date July 8, 2019

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 BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://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 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2019 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 <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

肛周脓肿三间隙引流术的理论基础及临床应用进展

张心怡, 金黑鹰

张心怡, 南京中医药大学研究生院 江苏省南京市 210023

金黑鹰, 南京中医药大学第二附属医院肛肠中心 江苏省南京市 210017

张心怡, 硕士研究生, 主要从事中医肛肠疾病的临床研究.

作者贡献分布: 本论文写作由张心怡及金黑鹰完成.

通讯作者: 金黑鹰, 教授, 主任医师, 210017, 江苏省南京市建邺区南湖路23号, 南京中医药大学第二附属医院肛肠中心. jinhuiying@hotmail.com
电话: 025-83291219

收稿日期: 2019-03-26

修回日期: 2019-04-12

接受日期: 2019-05-15

在线出版日期: 2019-07-08

Three-cavity clearance for perianal abscess: Theoretical basis and progress in clinical application

Xin-Yi Zhang, Hei-Ying Jin

Xin-Yi Zhang, Graduate School of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China

Hei-Ying Jin, Department of Colorectal Surgery, Second Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210017, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Hei-Ying Jin, Professor, Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, Second Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, 23 Nanhu Road, Jianye District, Nanjing 210017, Jiangsu Province, China. jinhuiying@hotmail.com

Received: 2019-03-26

Revised: 2019-04-12

Accepted: 2019-05-15

Published online: 2019-07-08

Abstract

Three-cavity clearance (TCC) is an innovative technique

that completely preserves anal sphincter, which can effectively reduce the probability of postoperative anal fistula formation and the recurrence of abscess, has small trauma and a low risk, and deserves further promotion and study clinically. In this paper, we discuss the theoretical basis, clinical application, and related problems of TCC for perianal abscess.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Perianal abscess; Three-cavity clearance; Theoretical basis; Progress in clinical application

Zhang XY, Jin HY. Three-cavity clearance for perianal abscess: Theoretical basis and progress in clinical application. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 791-797

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/791.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i13.791>

摘要

肛周脓肿三间隙引流术(three-cavity clearance, TCC)是一种完全保留肛门括约肌的创新术式,能有效降低术后肛瘘形成的概率,减少脓肿的复发,创伤小,风险低,值得在临床进一步推广和研究. 本文就肛周脓肿TCC的理论基础、临床应用及相关问题予以探讨.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肛周脓肿; 三间隙引流术; 理论基础; 临床应用进展

核心提要: 肛周脓肿的三间隙引流术,是根据肛周脓肿发生的生理病理环节设计提出,理论上对于肛周脓肿的手术是一种创新术式,契合肛周手术的微创理念,符合清除感染源、彻底引流、保护肛门功能的基本治疗原则,在保证疗效的同时,减轻患者痛苦,保护肛门括约肌功能,提高患者满意度,值得进一步推广及研究.

张心怡, 金黑鹰. 肛周脓肿三间隙引流术的理论基础及临床应用进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(13): 791-797

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/791.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i13.791>

0 引言

肛周脓肿是一种常见的肛周感染性疾病, 祖国医学称之为“肛痈”, 每年约有2-10万的新发病例, 以30-50岁年轻男性多见, 小儿发病率也相对较高^[1,2]. 现代医学对于肛周脓肿的发病病因有多种讨论, 认为90%由腺源性感染引起^[3], 还有一些如合并糖尿病、白血病、克罗恩病、艾滋病或有肥胖及肛门直肠外伤病史的患者, 更容易诱发肛周脓肿^[4,5]. 临床多根据脓肿发生的部位分为: 肛周皮下脓肿、括约肌间脓肿、坐骨直肠间隙脓肿、骨盆直肠间隙脓肿及直肠后间隙脓肿^[6]. 本病起病急骤, 一旦形成应及时给予手术治疗^[7], 常规行单纯切开引流术, 但术后约有7%-66%的肛瘘形成率及4%-31%复发率^[8,9], 部分学者采用根治性脓肿切开术, 即在单纯切开引流基础上同时切开可疑瘘管或采用切开挂线治疗, 虽减少了术后肛瘘的形成, 但却增加了术后肛门缺损及肛门失禁的风险^[10-12]. 鉴于此, 我们根据肛周脓肿发病的生理病理机制设计出一种新的手术方式——三间隙引流术(three-cavity clearance, TCC), 现就TCC的理论基础、临床应用及相关问题展开论述.

1 TCC提出的理论基础

研究发现在黏膜下和内括约肌之间存在肛腺, 并且认为肛周脓肿的发病可能是由于肛腺感染引起^[13]. 1956年Eisenhammer^[14]根据肛腺解剖学特点正式提出“隐窝腺感染学说”, 并由Parks^[15]于1961年提供组织学证据证明, 1978年Eisenhammer^[16]将肛周脓肿分为“腺源性脓肿”和“非腺源性脓肿”两大类, 目前这一学说得到了广泛认可.

人类的肛腺呈烧瓶状, 包括腺体、导管和开口三部分(如图1^[17]), 数目为6-10个^[18]. 研究检测到肛腺可分泌中性和酸性黏蛋白, 主要成分为多糖体和IgA, 具有免疫和润滑作用^[19,20]. 肛腺开口于肛隐窝处, 有多个肛腺同时开口于同一个肛隐窝的情况, 2/3的肛腺通过肛腺导管向下向外伸展到括约肌间^[21], 当肛腺导管由于粪渣等堵塞时, 肛腺分泌液无法排出, 导致导管内积液, 进而引起括约肌间的肛腺感染, 若此感染灶向肛管波及穿透内括约肌, 形成黏膜下感染, 即为“内口”^[22], 同时其感染还可以向3个方向蔓延^[23]: 第一是向下蔓延形成括约肌间脓肿或肛周皮下脓肿, 第二是向后侧方蔓延, 形成外

括约肌外脓肿(坐骨直肠脓肿、直肠后间隙脓肿), 第三是向上蔓延, 在肛提肌以上间隙形成盆腔脓肿或高位肛间脓肿, 这种情况较少见, 主要取决于感染的肛腺和纵行肌之间的关系(如图2和3^[18,24]).

临床上对于肛周脓肿的术式选择, 是应该进行单纯切开引流、还是为降低术后肛瘘形成率和复发率进行脓肿根治性手术, 是一个具有广泛争议的问题. 研究发现, 34%-50%的肛周脓肿单纯切开引流后并不会形成肛瘘, 也就是说这一部分人通过单纯切开引流完全可以治愈, 而不必要承担损伤括约肌的风险^[12]. 我们分析单纯切开引流术后高复发率及高肛瘘形成可能的原因是^[18]: (1)切口引流部位不通畅; (2)“内口”并非肛腺开口处, 其本质是黏膜下感染, 这导致临床中有近一半的脓肿没有正确找到“内口”并给予处理; (3)没有处理括约肌间的感染源. 因此, 如何在不损害肛门括约肌的前提下, 清除感染源, 彻底引流以减少瘘管的形成及脓肿的复发是我们治疗肛周脓肿应遵循的原则.

肛周脓肿TCC即是根据肛周脓肿发生的生理病理环节提出, 根据脓肿形成的过程, 我们将肛管直肠周围分为三个间隙(如图4), 即黏膜和内括约肌之间的黏膜下间隙、内外括约肌间的括约肌间隙和外括约肌以外间隙(包括坐骨直肠间隙、直肠后间隙和骨盆直肠间隙). 当一个人发生肛周脓肿时, 这三个间隙都可能会有脓肿, 若不能全部打开引流, 残余的脓腔就会导致重复感染并形成肛瘘.

为了能够证实三间隙手术能彻底引流感染腔, 保护肛门功能, 在临床病例研究收集数据分析的同时, 我们还使用了肛管直肠周围三维超声作术前术后评估, 使之在图像上有个直观的反映. 如图5所示: A和B指的是患者在术前的三维超声下, 表现为坐骨直肠间隙脓肿; C和D则是术后的三维超声下所见, 内外括约肌均保留完好, 且未见残余脓腔. 进一步证实三间隙引流理论的可行.

2 TCC的操作要点

于脓肿波动最明显处为中心, 作放射状切口(图6A), 切开皮肤后充分引流外括约肌外间隙(图6B); 沿括约肌间沟分离至正常组织, 充分排脓后, 分离括约肌间脓腔间隔(图6C); 最后切开黏膜下间隙(图6D), 沿内括约肌表面切除该间隙周围的黏膜及黏膜下组织, 适当扩大切口, 必要时结扎感染区痔核, 修剪创缘, 彻底止血后填入灭菌凡士林纱布, 肛内可酌情置一排气筒, 外敷无菌纱布加压包扎. 术中同时打开三个潜在感染间隙, 充分引流, 并行全括约肌保留, 从而降低术后肛瘘形成率, 实现疾病治愈且不损伤肛门功能的初衷, 提高患者的生活

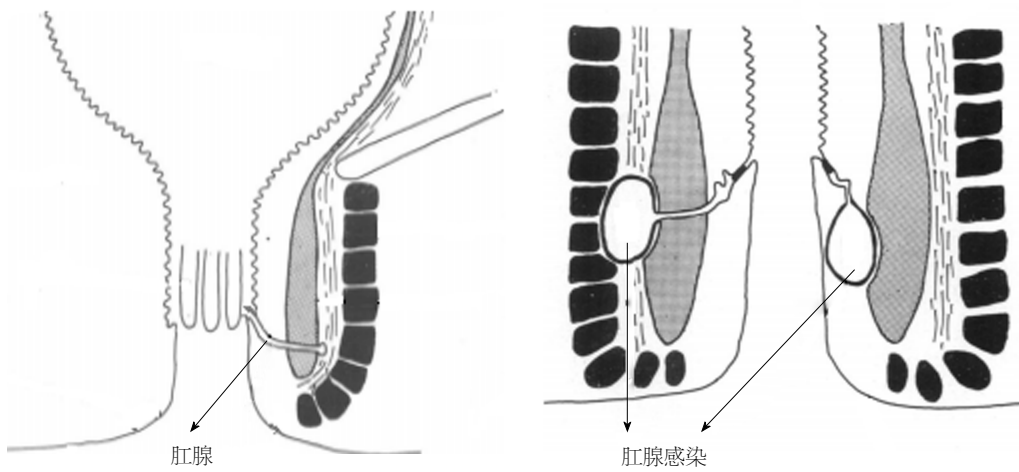


图 1 肛腺位置.

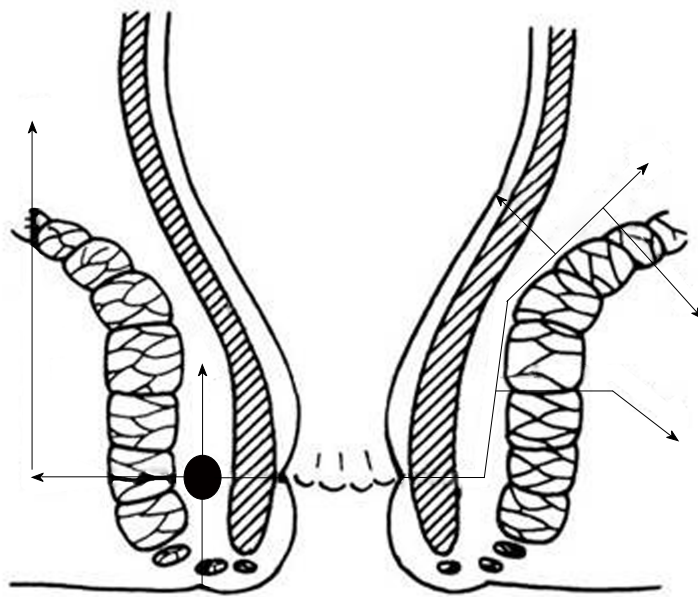


图 2 肛周脓肿扩散方向.

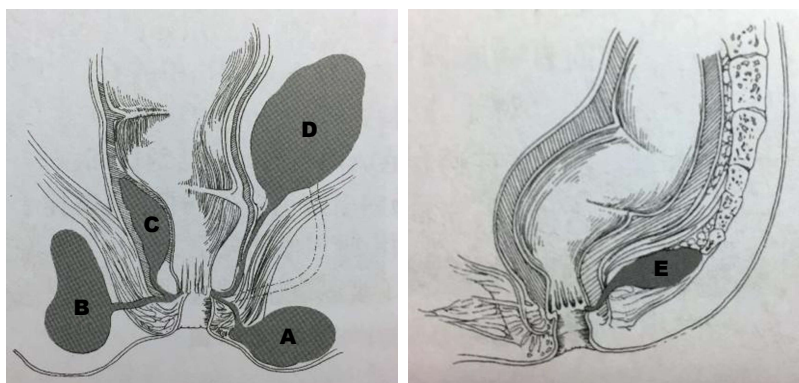


图 3 肛周脓肿分类. A: 肛周皮下脓肿; B: 括约肌间脓肿; C: 坐骨直肠间隙脓肿; D: 骨盆直肠间隙脓肿; E: 直肠后间隙脓肿.

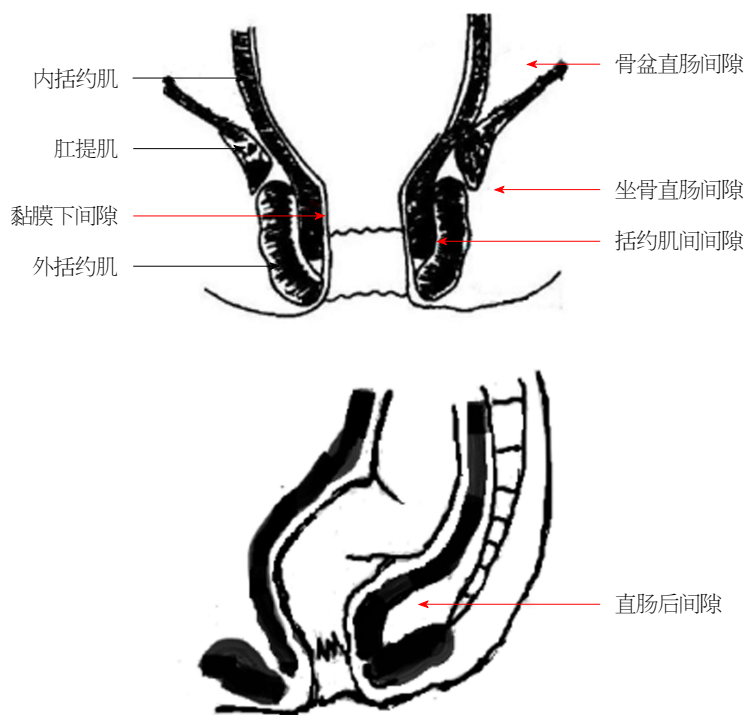


图 4 三间隙位置示意图.

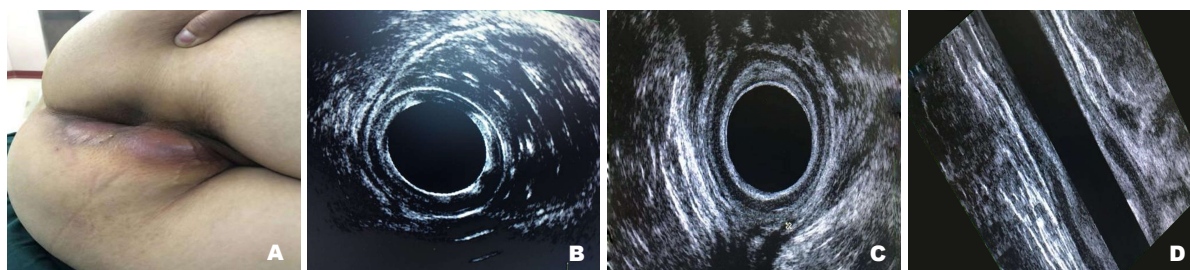


图 5 肛管直肠周围三维超声. A和B: 术所见; C和D: 术后所见.

质量^[24].

3 TCC的临床应用

在我们进行的一项纳入64例患者的前瞻性队列研究中, 以肛周脓肿TCC的患者作为研究对象, 建立队列; 对照组选取同期行肛周脓肿单纯切开引流术的患者, 以年龄差距5岁以内、性别相同且脓肿部位相同与实验组进行1:1配对, 进行15.3 mo±6.7 mo的随访发现, 三间隙引流组的肛瘘形成率为6%, 明显低于单纯切开引流组(34.0%, $P<0.01$); 三间隙引流组与单纯切开引流组均未出现肛门失禁的情况; 两组的住院时间、创面愈合时间没有统计学差异($P>0.05$). 提示肛周脓肿TCC是一种安全的术式, 能有效降低术后肛瘘形成率.

研究^[25]对三间隙引流、单纯切开引流和切开挂线三组75例患者的回顾性随机对照研究发现, 单纯切开引流组的肛瘘形成率为48%, 明显高于三间隙引流组12%

和切开挂线组12%($P<0.01$). 在术后肛门功能方面, 三间隙引流组和单纯切开引流组均无肛门失禁病例, 而切开挂线组有2例出现肛门功能障碍. 从术后疼痛方面看, 术后首次排便时, 三组均无明显差异, 但在术后1 wk紧线时, 切开挂线组VAS: 6.5 ± 1.3 分明显高于三间隙引流组: 1.3 ± 0.5 分和单纯切开引流组: 1.2 ± 0.4 分($P<0.01$). 许勇辉等^[26]纳入84例患者的进行了三间隙引流和对照研究, 三组术后1 wk VAS评分组间差异有统计学意义($P<0.05$), 其中三间隙引流组最低, 切开挂线组最高; 三组伤口愈合时间及肛瘘形成率组间差异有统计学意义($P<0.05$); 在术后并发症(术后感染及肛门功能障碍)出现情况上, 三间隙引流组术后感染7.14%, 肛门失禁10.71%, 与单纯切开引流组11.11%、11.11%和切开挂线组6.90%、17.24%比较差异无统计学意义($P>0.05$). 认识到TCC治疗肛周脓肿是可行的, 降低术后肛瘘形成率, 具有术后疼痛轻和保护肛门功能的优点.

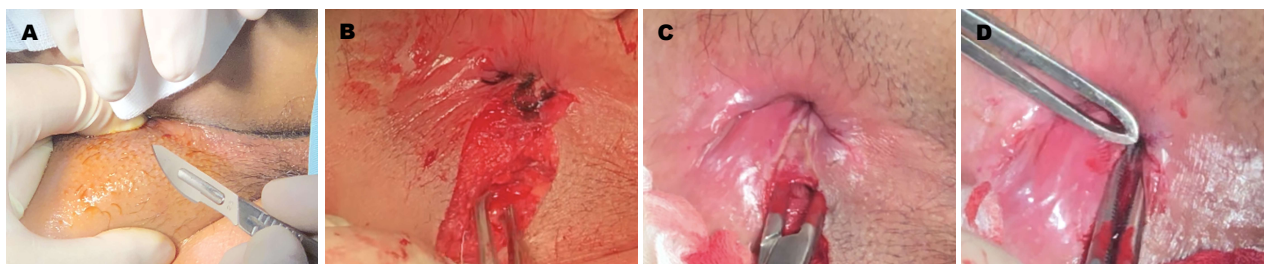


图6 三间隙引流手术过程. A:于脓肿波动最明显处作放射状切口; B:引流外括约肌外间隙; C:引流括约肌间间隙; D:引流黏膜下间隙.

另一篇由Jin教授等^[24]发表在Gastroenterology Report一项长达3年对138例患者的回顾性病例对照研究分析,三间隙引流组肛瘘形成率为13.0%,明显低于单纯切开引流组39.1%($P<0.01$),与根治性脓肿手术8.7%相似($P>0.05$).三间隙引流组和单纯切开引流组均无肛门失禁,根治性脓肿手术组有2例肛门失禁的病例,他们的Wexner评分分别为6分和3分.证实了TCC可以达到和根治性脓肿手术相同的效果,且不会对肛门括约肌造成损伤.

许跃文等^[27]对三间隙引流和切开挂线的随机对照研究,纳入病例74例,结果显示,除了跟上述研究结论能降低术后肛瘘形成率,减轻术后疼痛,保护肛门功能基本一致外,三间隙引流组创面愈合时间和住院时间均短于切开挂线,且术后随访中,三间隙引流组无复发病例,而切开挂线组的复发率为2.70%,得出三间隙引流还具有术后恢复快、减少复发率等优点.

洪文等^[28]对94例肛周脓肿患者进行研究分析TCC的临床疗效,三间隙引流组和切开挂线组术后首次排便时VAS评分、肛瘘形成率比较差异均无统计学意义,但三间隙引流组术后1 wk VAS评分、肛门功能障碍率明显低于切开挂线组($P<0.05$),患者满意度也显著高于切开挂线组.认为TCC可作为肛周脓肿的理想术式.

刘涛等^[29]选取各44例患者对TCC及切开挂线术比较发现,三间隙引流组术后1 wk VAS评分: 1.21 ± 0.54 分,明显较切开挂线组: 5.42 ± 1.37 低($P<0.05$);术后并发症(肛门功能障碍及肛瘘)发生率三间隙引流组低于切开挂线组(4.55% vs 11.3%, $P>0.05$).结论三间隙引流可获得与切开挂线相近的疗效,但三间隙引流有利于缓解患者术后排便疼痛并具有保护肛门功能的作用.

王华等^[30]的病例对照研究中,收集了80例患者作为研究对象,研究显示,三间隙引流组除了住院时间、愈合时间、术后1 wk疼痛程度及术后各时点Wexner肛门功能评分均明显低于切开挂线组外,三间隙引流组的术中出血量 $15.67 \text{ mL} \pm 4.53 \text{ mL}$ 也低于切开挂线组 $23.34 \text{ mL} \pm 6.28 \text{ mL}$,差异均有统计学意义($P<0.05$).得出TCC在肛

周脓肿手术治疗中具有一定的优势.

在以上研究结果中,肛周脓肿TCC均取得了令人满意的疗效,不仅保护肛门功能,在一定程度上降低术后并发症发生率,还具有创伤小、疼痛轻、恢复快的优点(表1).

4 TCC的问题及展望

在我们的前瞻性队列研究中两组的瘘管形成率均低于两项回顾性研究中TCC组的12%和13%及切开引流组的48%和39.1%^[12,25],分析其原因,回顾性研究中有几例术后形成肛瘘的患者,其主要为合并克罗恩病或长期服用免疫抑制剂而导致的盆腔脓肿,这类脓肿的治疗目标应为控制感染、防止再次发作,最好选用切开引流同时给予引流挂线^[22,31,32];而TCC的理论根基于肛腺感染学说,提示三间隙引流对于腺源性肛周脓肿更加适用,并且切开引流对于非腺源性肛周脓肿成功率也并不高.但是现有的研究中病例数较少,随访时间较短,且国外目前未见相关报道研究,缺少了大样本临床研究证实这一理论的可行性及有效性,也不能明确这一术式对于哪种类型的肛周脓肿更为有效来证明我们的判断.

其次,少数报道中也并未指明术前是否运用盆底磁共振成像和肛门直肠周围EUS对脓肿部位进行评估.研究发现^[33]不同部位的脓肿在手术引流后有不同的肛瘘形成率.这造成了不同研究结果之间的数据不具可比性.

因此,我们的三间隙引流手术需要进一步规范适应症及大样本的随机对照研究,并进行广泛培训指导,使用盆底磁共振成像和肛门直肠周围EUS对肛周脓肿术前精准评估及术后分析也是十分必要的.

5 结论

肛周脓肿的TCC,是根据肛周脓肿发生的生理病理环节设计提出的,理论上对于肛周脓肿是一种创新术式,契合肛周手术的微创理念,符合清除感染源、彻底引流、保护肛门功能的基本治疗原则,并在初步的研究中取得了满意的疗效,后期需要更大样本,更加规范的进一步推广和研究.

表 1 三间隙引流术的临床应用

研究	分组	总数/n	肛瘘形成率(%)			肛门功能障碍(%)			术后1 wk疼痛评分/分			愈合时间/d		
			I组	II组	III组	I组	II组	III组	I组	II组	III组	I组	II组	III组
陈滢 ^[18]	I组II组 III组	75	48	12	12	0	8	0	1.2 ± 0.4	6.5 ± 1.3	1.3 ± 0.5	49.2 ± 23.1	53.5 ± 24.1	45.8 ± 19.9
Jin等 ^[19]	I组II组 III组	138	39	8.7	13	0	4.3	0	—	—	—	55.008 ± 33.82	53.93 ± 23.73	42.46 ± 21.87
许勇辉 ^[26]	I组II组 III组	84	48.2	20.7	10.7	11.1	17.2	10.7	3.27 ± 0.86	7.24 ± 1.06	2.56 ± 0.47	51.07 ± 8.23	55.19 ± 8.94	40.62 ± 7.81
许跃文 ^[27]	II组III组	74	—	13.5	10.8	—	2.7	0	—	4.43 ± 1.24	2.78 ± 1.06	—	40.15 ± 13.19	34.17 ± 11.03
洪文等 ^[28]	II组III组	94	—	4.4	4.1	—	6.7	0	—	6.6 ± 1.2	2.3 ± 0.24	—	—	—
刘涛 ^[29]	II组III组	88	—	4.5	4.5	—	6.8	0	—	5.42 ± 1.37	1.21 ± 0.54	—	—	—
王华 ^[30]	II组III组	80	—	10	5	—	2.5	0	—	—	—	—	26.82 ± 4.58	22.35 ± 2.16

I组: 单纯切开引流组; II组: 切开挂线组; III组: 三间隙引流组。

6 参考文献

1 Zanutti C, Martinez-Puente C, Pascual I, Pascual M, Herreros D, Garcia-Olmo D. An assessment of the incidence of fistula-in-ano in four countries of the European Union. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 1459-1462 [PMID: 17554546 DOI: 10.1007/s00384-007-0334-7]

2 Sainio P. Fistula-in-ano in a defined population. Incidence and epidemiological aspects. *Ann Chir Gynaecol* 1984; 73: 219-224 [PMID: 6508203]

3 Ommer A, Herold A, Berg E, Furst A, Sailer M, Schiedeck T. German S3 guideline: anal abscess. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 831-837 [PMID: 22362468 DOI: 10.1007/s00384-012-1430-x]

4 黄李, 常忠生. 肛周脓肿的病因、分类及临床诊断. *中国肛肠病杂志* 2018; 38: 63-65 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-1174.2018.01.1031]

5 Adamo K, Sandblom G, Brannstrom F, Strigard K. Prevalence and recurrence rate of perianal abscess—a population-based study, Sweden 1997-2009. *Int J Colorectal Dis* 2016; 31: 669-673 [PMID: 26768004 DOI: 10.1007/s00384-015-2500-7]

6 金黑鹰. 实用肛肠病学. 上海: 上海科学技术出版社 2014; 157

7 Marvin L. CORMAN结直肠外科学. 上海: 上海科学技术出版社 2016; 243

8 Ommer A, Herold A, Berg E, Furst A, Sailer M, Schiedeck T; German Society for General and Visceral Surgery. Cryptoglandular anal fistulas. *Dtsch Arztebl Int* 2011; 108: 707-713 [PMID: 22114639 DOI: 10.3238/arztebl.2011.0707]

9 Ommer A, Herold A, Berg E, Fürst A, Post S, Ruppert R, Schiedeck T, Schwandner O, Strittmatter B. German S3 guidelines: anal abscess and fistula (second revised version). *Langenbecks Arch Surg* 2017; 402: 191-201 [PMID: 28251361 DOI: 10.1007/s00423-017-1563-z]

10 Knoefel WT, Hosch SB, Hoyer B, Izbicki JR. The initial approach to anorectal abscesses: fistulotomy is safe and reduces the chance of recurrences. *Dig Surg* 2000; 17: 274-278 [PMID: 10867462 DOI: 10.1159/00018847]

11 King SK. Should we seek a fistula-in-ano when draining a perianal abscess? *J Paediatr Child Health* 2010; 46: 273-274 [PMID: 20602669 DOI: 10.1111/j.1440-1754.2009.01694.x]

12 Rosen SA, Colquhoun P, Efron J, Vernava AM 3rd, Nogueras JJ, Wexner SD, Weiss EG. Horseshoe abscesses and fistulas: how are we doing? *Surg Innov* 2006; 13: 17-21 [PMID: 16708151 DOI: 10.1177/155335060601300104]

13 毛红. 肛周脓肿发病的中西医认识. *中国中医药现代远程教育* 2013; 11: 138-140 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2779.2013.14.091]

14 Eisenhammer S. The internal anal sphincter and the anorectal abscess. *Surg Gynecol Obstet* 1956; 103: 501-506 [PMID: 13360660]

15 PARKS AG. Pathogenesis and treatment of fistula-in-ano. *Br Med J* 1961; 1: 463-469 [PMID: 13732880]

16 Eisenhammer S. The final evaluation and classification of the surgical treatment of the primary anorectal cryptoglandular intermuscular (intersphincteric) fistulous abscess and fistula. *Dis Colon Rectum* 1978; 21: 237-254 [PMID: 657933]

17 McColl I. The comparative anatomy and pathology of anal glands. Arris and Gale lecture delivered at the Royal College of Surgeons of England on 25th February 1965. *Ann R Coll Surg Engl* 1967; 40: 36-67 [PMID: 6016560]

18 陈滢. 三间隙引流术治疗肛周脓肿的应用研究. 南京: 南京中医药大学 2017; 22-24

19 Seow-Choen F, Ho JM. Histoanatomy of anal glands. *Dis Colon Rectum* 1994; 37: 1215-1218 [PMID: 7995146]

20 Kuroda N, Tanida N, Ohara M, Hirouchi T, Mizuno K, Kubo A, Lee GH. Anal canal adenocarcinoma with MUC5AC expression suggestive of anal gland origin. *Med Mol Morphol* 2007; 40: 50-53 [PMID: 17384991 DOI: 10.1007/s00795-006-0344-5]

21 姜朋朋, 周东风. 肛周脓肿的病因学浅析. *临床普外科电子杂志* 2017; 5: 4 0-46 [DOI: 10.3969/j.issn.2095-5308.2017.03.011]

22 梅世文, 金黑鹰. 肛旁脓肿的术式选择. *中华结直肠疾病电子杂志* 2016; 5: 376-379 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-3224.2016.05.002]

23 Beck DE, Roberts PL, Saclarides TJ, Senagore AJ, Stamos MJ, Wexner SD. The ASCRS Textbook of Colon and Rectal Surgery. New York: Springer 2011; 221

24 Jin H, Chen Y, Zhang B. Three-cavity clearance (TCC) can decrease the fistula rate after drainage of a perianal abscess: a case-control study. *Gastroenterol Rep (Oxf)* 2018; 6: 221-224 [PMID: 30151207 DOI: 10.1093/gastro/gox044]

25 Chen Y, Wang X, Jin H, Zhang B, Yao H, Wu K, Wang S. [Feasibility investigation of three cavity clearance in treatment of perianal abscess]. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi* 2016; 19: 442-445 [PMID: 27112481]

26 许勇辉. 三间隙引流术在肛周脓肿治疗中的应用效果观察. *贵州医药* 2018; 42: 725-727 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-

- 744X.2018.06.037]
- 27 许跃文. 肛周脓肿三间隙引流术的临床应用效果. 现代医药卫生 2018; 34: 2550-2552 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2018.16.039]
 - 28 洪文, 刘扬, 杨博, 张忠伟, 路明. 三间隙引流术治疗肛周脓肿临床疗效观察. 中国现代手术学杂志 2017; 21: 265-267 [DOI: 10.16260/j.cnki.1009-2188.2017.04.006]
 - 29 刘涛. 三间隙引流术对肛周脓肿患者术后排便及肛门功能障碍的影响. 内蒙古医学杂志 2018; 50: 1095-1096 [DOI: 10.16096/J.cnki.nmgxzz.2018.50.09.043]
 - 30 王华. 三间隙引流术及传统切开挂线术治疗肛周脓肿的疗效对比. 结直肠肛门外科 2017; 23: 497-500
 - 31 Nasser Y, Cassella L, Berns M, Zaghiyan K, Cohen J. The anal fistula plug in Crohn's disease patients with fistula-in-ano: a systematic review. *Colorectal Dis* 2016; 18: 351-356 [PMID: 26749385 DOI: 10.1111/codi.13268]
 - 32 Schwartz DA, Loftus EV Jr, Tremaine WJ, Panaccione R, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. The natural history of fistulizing Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology* 2002; 122: 875-880 [PMID: 11910338]
 - 33 Keighley MRB, Williams NS. *Surgery of the anus, rectum and colon*. 北京: 科学出版社 2003; 478

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 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、和香港特别行政区和719位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的半月刊杂志, 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, 包括实验背景、实验动机、实验目标、实验方法、实验结果、实验结论、展望前景。

《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。

miR-183调控Wnt/ β -catenin信号通路影响胃癌SGC-7901细胞生物学特性的研究

张希成, 沈金根, 贾正我, 钱丽芬, 孙元龙

张希成, 沈金根, 贾正我, 钱丽芬, 孙元龙, 浙江省桐乡市第一人民医院消化内科 浙江省桐乡市 314500

张希成, 主治医师, 主要从事消化内科疾病的研究.

作者贡献分布: 由张希成与孙元龙设计; 研究过程由张希成、沈金根及贾正我操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由钱丽芬提供; 数据分析由张希成、沈金根及孙元龙完成; 本论文写作由张希成、沈金根、贾正我及钱丽芬完成.

通讯作者: 孙元龙, 副主任医师, 314500, 浙江省桐乡市校场东路1918号, 浙江省桐乡市第一人民医院消化内科. 108444989@qq.com
电话: 0573-88021111

收稿日期: 2019-03-27

修回日期: 2019-04-30

接受日期: 2019-06-17

在线出版日期: 2019-07-08

MiR-183 affects biological behaviors of gastric cancer SGC-7901 cells by regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway

Xi-Cheng Zhang, Jin-Gen Shen, Zheng-Wo Jia, Li-Fen Qian, Yuan-Long Sun

Xi-Cheng Zhang, Jin-Gen Shen, Zheng-Wo Jia, Li-Fen Qian, Yuan-Long Sun, Department of Gastroenterology, The First People's Hospital of Tongxiang City, Tongxiang 314500, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Yuan-Long Sun, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First People's Hospital of Tongxiang City, 1918 East Campus Road, Tongxiang 314500, Zhejiang Province, China. 108444989@qq.com

Received: 2019-03-27

Revised: 2019-04-30

Accepted: 2019-06-17

Published online: 2019-07-08

Abstract BACKGROUND

MiR-183 is lowly expressed in various tumor tissues such as gastric cancer, breast cancer, and bladder cancer, and plays a role as a tumor suppressor gene. However, its mechanism of action in gastric cancer is still not fully understood. Studies have shown that miR-183 can inhibit the growth, migration, and invasion of osteosarcoma cells by regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway, and the high activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway is closely related to the occurrence and metastasis of gastric cancer. However, it is still unclear whether miR-183 affects the biological behaviors of gastric cancer cells by regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway.

AIM

To investigate the effect of miR-183 on the biological behaviors of gastric cancer cells and the possible mechanism involved.

METHODS

qRT-PCR was used to detect the expression of miR-183 in different gastric cancer cell lines. After gastric cancer SGC-7901 cells were transfected with miR-183 mimic or miR-NC, the transfection efficiency was detected by qRT-PCR, the proliferation of SGC-7901 cells was detected by MTT proliferation assay, the apoptosis of SGC-7901 cells was detected by flow cytometry, and the invasion and migration of SGC-7901 cells were detected by Transwell assay. Western blot was used to detect the expression of apoptosis-related and Wnt/ β -catenin signaling pathway-related proteins. The SGC-7901 cells overexpressing miR-183 were treated with Wnt/ β -catenin signaling pathway agonist lithium chloride to observe the changes

in biological behaviors of SGC-7901 cells.

RESULTS

Compared with normal gastric mucosal epithelial GES-1 cells, the expression of miR-183 was significantly decreased in the four gastric cancer cell lines ($P < 0.05$). The expression level of miR-183 was significantly increased in SGC-7901 cells transfected with miR-183 mimic ($P < 0.05$). After overexpression of miR-183, the proliferation of SGC-7901 cells decreased ($P < 0.05$), the apoptosis rate and the protein expression of Bax and cleaved Caspase-3 increased ($P < 0.05$), and cell migration and invasion decreased ($P < 0.05$). The expression levels of β -catenin, p-GSK-3 β , and cyclin D1 proteins were down-regulated ($P < 0.05$), and the expression level of GSK-3 β protein was up-regulated ($P < 0.05$). Activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway partially reversed the inhibitory effect of miR-183 overexpression on the proliferation, invasion, and migration of SGC-7901 cells and the promotive effect on cell apoptosis ($P < 0.05$).

CONCLUSION

MiR-183 inhibits the proliferation, invasion, and migration of human gastric cancer SGC-7901 cells and promotes cell apoptosis possibly by inhibiting the Wnt/ β -catenin signaling pathway.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: MiR-183; Wnt/ β -catenin signaling pathway; Gastric cancer cells; Proliferation; Apoptosis; Invasion and migration

Zhang XC, Shen JG, Jia ZW, Qian LF, Sun YL. MiR-183 affects biological behaviors of gastric cancer SGC-7901 cells by regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 798-806
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/798.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.798>

摘要

背景

miR-183在胃癌、乳腺癌、膀胱癌等多种肿瘤组织中低表达,发挥抑癌基因的作用,但其在胃癌中作用机制目前尚不十分清楚。研究表明,miR-183可以通过调节Wnt/ β -catenin信号通路抑制骨肉瘤细胞的生长、迁移和侵袭,而Wnt/ β -catenin信号通路在胃癌中高度激活与胃癌的发生和转移密切相关。但miR-183是否调节Wnt/ β -catenin信号通路影响胃癌细胞生物学特性尚不清楚。

目的

探讨miR-183调控Wnt/ β -catenin信号通路对胃癌细胞

生物学特性的影响。

方法

采用qRT-PCR检测miR-183在不同胃癌细胞株中的表达情况,在胃癌细胞SGC-7901中转染miR-183 mimics或mimics对照,分别设为miR-183组和miR-NC组,qRT-PCR检测转染效率,噻唑蓝增殖实验检测SGC-7901细胞增殖变化,流式细胞仪检测SGC-7901细胞凋亡情况,Transwell实验检测SGC-7901细胞侵袭和迁移能力,Western blot法检测凋亡相关及Wnt/ β -catenin信号通路相关蛋白表达水平。使用Wnt/ β -catenin信号通路激动剂氯化锂处理过表达miR-183的SGC-7901细胞,观察SGC-7901细胞生物学特性的变化。

结果

与正常胃黏膜上皮GES-1细胞相比,4株胃癌细胞中miR-183的表达水平明显降低($P < 0.05$)。转染miR-183 mimics后SGC-7901细胞中miR-183的表达水平显著升高($P < 0.05$)。过表达miR-183后SGC-7901细胞OD值降低($P < 0.05$),凋亡率、Bax和Cleaved Caspase-3蛋白表达水平升高($P < 0.05$),侵袭和迁移细胞数减少($P < 0.05$), β -catenin、p-GSK-3 β 和Cyclin D1蛋白表达水平下调($P < 0.05$),GSK-3 β 蛋白表达水平上调($P < 0.05$)。激活Wnt/ β -catenin信号通路部分逆转了过表达miR-183对SGC-7901细胞增殖、侵袭和迁移的抑制作用及凋亡促进作用($P < 0.05$)。

结论

miR-183可能通过抑制Wnt/ β -catenin信号通路阻碍人胃癌SGC-7901细胞增殖、侵袭和迁移能力,促进细胞凋亡。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: miR-183; Wnt/ β -catenin信号通路; 胃癌细胞; 增殖; 凋亡; 迁移和侵袭

核心提要: miR-183可能通过抑制Wnt/ β -catenin信号通路阻碍人胃癌SGC-7901细胞增殖、侵袭和迁移能力,促进细胞凋亡。

张希成, 沈金根, 贾正我, 钱丽芬, 孙元龙. miR-183调控Wnt/ β -catenin信号通路影响胃癌SGC-7901细胞生物学特性的研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(13): 798-806
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/798.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.798>

0 引言

胃癌是全球第四大常见癌症,也是全球癌症死亡的第

三大原因. 在中国, 统计数据表明, 就发病率(每10万人中有679.1人)和死亡率(每10万人中有498.0人)而言, 胃癌是第二大常见癌症^[1]. 近年来, 随着胃镜检查 and 手术技术的发展, 早期胃癌的5年死亡率显著降低, 然而, 对于晚期胃癌, 5年死亡率仍为30%-50%^[2]. 晚期胃癌死亡率与腹膜播散, 血行播散和淋巴结转移有关. 因此, 有必要探讨胃癌进展的机制, 如增殖, 生长, 凋亡, 迁移和侵袭. 大量研究表明, 微小RNA(microRNA, miRNA)在胃癌进展中起重要作用^[3-5]. miRNA是高度保守的非编码序列, 其长度通常为18至24个核苷酸, 通过与靶基因mRNA的3'UTR结合, 以抑制靶基因翻译或诱导其降解. 迄今为止, 已经鉴定了超过2500种miRNA(miRbase数据库), 并且它们的异位表达与肿瘤生长, 侵袭, 转移, 肿瘤细胞增殖和凋亡相关^[6]. miR-183是一种在不同物种中高度保守的miRNA, 最近的证据表明, 其在乳腺癌、膀胱癌和子宫内膜癌等多种肿瘤中异常表达, 参与肿瘤的形成和进展^[7-9]. 已有报道表明miR-183在胃癌组织中表达水平降低, 发挥抑癌基因的作用, 但其作用机制目前尚不完全清楚^[10]. Wnt/ β -catenin信号通路普遍存在于动物体, 在调控机体生长发育、细胞增殖分化、肿瘤发生等多种生理病理中扮演重要角色^[11,12]. 目前研究显示, Wnt/ β -catenin信号通路在胃癌中高度激活, 且与胃癌的发生和转移密切相关^[13]. 目前关于miR-183是否通过调控Wnt/ β -catenin信号通路影响胃癌细胞生物学特性的研究尚无报道, 因此本实验以胃癌SGC-7901细胞为研究对象, 探究miR-183影响胃癌细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移可能的机制.

1 材料和方法

1.1 材料 人正常胃黏膜上皮GES-1细胞及4株胃癌SGC-7901、NCI-N87、MKN-28和MKN-45细胞购自美国ATCC细胞库; 胎牛血清、胰蛋白酶购自美国HyClone公司; 青霉素、链霉素购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司; PRIM-1640培养基购自美国Gibco公司; miR-183 mimics及mimics Control购自广州市锐博生物科技有限公司; Lipofectamine 2000转染试剂购自美国Invitrogen公司; MTT试剂购自美国Sigma公司; Annexin V-FITC/PI细胞凋亡测定试剂盒购自日本TaKaRa公司; TRIzol试剂、逆转录试剂盒、荧光定量PCR测定试剂盒购自北京康为世纪生物科技有限公司; BCA蛋白浓度测定试剂盒、ECL化学发光试剂购自碧云天生物科技公司; 兔抗Bax一抗和兔抗Cleaved Caspase-3一抗和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG购自美国Abcam公司; 兔抗 β -catenin、GSK-3 β 、p-GSK-3 β 和Cyclin D1抗

体购自美国CST公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染: 人正常胃黏膜上皮GES-1细胞及胃癌SGC-7901、NCI-N87、MKN-28和MKN-45细胞培养于含10%胎牛血清、 1×10^5 U/L青霉素、100 mg/L链霉素的PRIM-1640培养基中, 置于5%CO₂、相对湿度95%、37 °C培养箱内培养, 及时观察细胞生长状态并更换新鲜培养液, 待细胞生长汇合率在80%以上时, 使用0.25%的胰蛋白酶消化细胞, 进行传代培养.

选择SGC-7901细胞为转染对象, 转染前1 d, 将处于对数生长期的SGC-7901细胞种植到6孔板中, 置37 °C培养箱过夜培养, 采用Lipofectamine 2000分别将miR-183 mimics和对照mimics Control转染至SGC-7901细胞, 分别记为miR-183组和miR-NC组, 同时设置空白对照, 即未转染的SGC-7901细胞记为Blank组. 具体操作步骤参考Lipofectamine 2000试剂说明书, 转染后6 h更换为完全培养液.

1.2.2 qRT-PCR检测各细胞中miR-183的表达水平: 分别收集对数生长期的GES-1、SGC-7901、NCI-N87、MKN-28、MKN-45及转染48 h后各组SGC-7901细胞, 使用TRIzol试剂提取细胞总RNA, 使用逆转录试剂盒以总RNA为模板合成cDNA, 测定cDNA浓度, 以cDNA为模板使用荧光定量PCR试剂盒扩增目的产物, 扩增条件设置为: 94 °C预变性3 min, 94 °C变性20 s, 60 °C退火20 s, 72 °C延伸10 s, 共设40个循环. 以U6为内参, 使用2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算各细胞系及各组SGC-7901细胞中miR-183相对表达水平.

1.2.3 MTT法检测SGC-7901细胞增殖能力: 收集转染48 h后各组SGC-7901细胞接种于96孔板中, 每孔 5×10^3 个, 待细胞贴壁后按照方法1.2进行转染和分组, 分别在转染12、24、48、72 h时, 向每孔细胞中加入10 μ L浓度为5 mg/mL的MTT, 于37 °C下孵育4 h, 弃上清后每孔细胞中加入150 μ L二甲亚砜, 避光反应10 min, 使用酶标仪测定各孔细胞在490 nm处OD值, 每组细胞每个时间点设置3个复孔, 实验重复3次.

1.2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡情况: 收集转染48 h后各组SGC-7901细胞, 用预冷PBS洗涤2次, 收集约 1×10^6 个细胞, 加入100 μ L结合缓冲液重悬细胞, 再向细胞中分别加入5 μ L FITC-Annexin V和5 μ L PI染液, 轻轻混匀, 避光孵育30 min, 立即上流式细胞仪检测细胞凋亡情况, 实验重复3次.

1.2.5 Transwell实验检测细胞侵袭和迁移能力: 使用RPMI-1640培养液稀释Matrigel基质胶, 稀释的Matrigel胶包被Transwell小室的上室面, 风干待用. 分别收集转

染24 h各组SGC-7901细胞, 以无血清培养液重悬细胞, 制成 2×10^5 个/mL的细胞悬液, 取200 μ L细胞悬液加入到Transwell小室的上室(Transwell迁移实验上室不以Matrigel胶包被), 在下室中加入500 μ L含10%胎牛血清的RPMI-1640培养液, 置培养箱中常规培养24 h. 取出小室, 用棉签擦去上室细胞, PBS洗涤小室3次, 以多聚甲醛固定20 min, 结晶紫染色20 min, PBS洗涤数次, 风干后在倒置显微镜下随机选取5个视野, 观察并记录穿膜细胞数, 实验重复3次.

1.2.6 Western blot检测各组SGC-7901细胞中蛋白表达水平: 转染48 h后, 收集各组SGC-7901细胞, 加入细胞裂解液在冰上提取总蛋白. BCA蛋白浓度测定试剂盒检测总蛋白浓度, 取30 μ g蛋白样品经10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白, 将凝胶上的蛋白电转至PVDF膜上, 将膜置5%脱脂奶粉中封闭1 h, 分别加入一抗4 $^{\circ}$ C过夜孵育, Bax一抗(1:1000), Cleaved Caspase-3一抗(1:1000), β -catenin一抗(1:1000), GSK-3 β 一抗(1:1000), p-GSK-3 β 一抗(1:1000), Cyclin D1一抗(1:1000). PBST洗涤3次, 每次10 min, 加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:3000), 室温孵育2 h. PBST洗涤3次, 每次10 min, 加入ECL化学发光试剂显影, 以GAPDH为内参, 使用Image J软件分析各条带灰度值, 计算各组SGC-7901细胞中目的蛋白相对表达水平.

1.2.7 激活Wnt/ β -catenin信号通路对SGC-7901细胞的影响: 为进一步探究miR-183通过调控Wnt/ β -catenin信号通路影响胃癌细胞增殖、凋亡侵袭和迁移的生物学特性, 本实验在过表达miR-183的SGC-7901细胞添加20 mmol/L的Wnt/ β -catenin信号通路激动剂LiCl, 分别采用MTT、流式细胞仪、Transwell实验检测细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移能力的变化.

统计学处理 使用SPSS 21.0软件分析数据, 所得数据均以mean \pm SD表示, 两组间差异比较采用 t 检验, 多组间差异比较采用单因素方差分析, 两两组间差异比较采用SNK- q 检验分析, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 miR-183在胃癌细胞中呈低表达 qRT-PCR检测结果表明, 与人正常胃黏膜上皮GES-1细胞相比, 4株胃癌SGC-7901、NCI-N87、MKN-28和MKN-45细胞中miR-183的表达水平明显降低($P < 0.05$). 见图1. 提示miR-183在胃癌细胞中呈低表达, 尤其在SGC-7901细胞中表达水平最低, 后续选取SGC-7901细胞株进行miR-183过表达的功能研究.

2.2 SGC-7901细胞中miR-183 mimics转染效率检测 qRT-PCR检测结果显示, 与Blank组和miR-NC组比, miR-183组SGC-7901细胞中miR-183表达水平明显升高($P < 0.05$). Blank组与miR-NC组比, SGC-7901细胞中miR-183表达水平差异无明显变化($P > 0.05$). 见图2. 结果表明miR-183 mimis转染胃癌SGC-7901细胞能够上调miR-183的表达, 可满足后续miR-183过表达的功能研究.

2.3 过表达miR-183抑制SGC-7901细胞增殖能力 MTT实验检测结果表明, 与Blank组和miR-NC组比, miR-183组SGC-7901细胞增殖能力明显降低($P < 0.05$). Blank组与miR-NC组比, SGC-7901细胞增殖能力无明显改变($P > 0.05$). 见图3. 说明过表达miR-183能够抑制SGC-7901细胞体外增殖能力.

2.4 过表达miR-183促进SGC-7901细胞凋亡 流式细胞仪和Western blot检测结果显示, 与Blank组和miR-NC组比, miR-183组SGC-7901细胞凋亡率、Bax和Cleaved Caspase-3蛋白表达水平平均明显升高($P < 0.05$). Blank组与miR-NC组比, SGC-7901细胞凋亡率、Bax和Cleaved Caspase-3蛋白表达水平平均无明显改变($P > 0.05$). 见图4. 提示过表达miR-183能够促进SGC-7901细胞凋亡.

2.5 过表达miR-183抑制SGC-7901细胞侵袭和迁移能力 Transwell实验结果显示, 与Blank组和miR-NC组比, miR-183组侵袭和迁移细胞数均明显减少($P < 0.05$). Blank组与miR-NC组比, 侵袭和迁移细胞数均无明显改变($P > 0.05$). 见图5. 提示过表达miR-183能够抑制SGC-7901细胞侵袭和迁移能力.

2.6 过表达miR-183抑制Wnt/ β -catenin信号通路的激活 Western blot检测结果显示, 与Blank组和miR-NC组比, miR-183组SGC-7901细胞中 β -catenin、p-GSK-3 β 和Cyclin D1蛋白表达水平下调($P < 0.05$), GSK-3 β 蛋白表达水平上调($P < 0.05$). Blank组与miR-NC组比, β -catenin、GSK-3 β 、p-GSK-3 β 和Cyclin D1表达水平无明显变化($P > 0.05$). 见图6. 提示过表达miR-183能够抑制Wnt/ β -catenin信号通路的激活.

2.7 LiCl激活Wnt/ β -catenin信号通路对SGC-7901细胞的影响 使用Wnt/ β -catenin信号通路激动剂激活Wnt/ β -catenin信号通路后, MTT实验、流式细胞仪以及Transwell实验结果发现, 与miR-183组比, miR-183+LiCl组SGC-7901细胞增殖能力升高($t = 6.832, P < 0.05$), 凋亡率下降($t = 5.24, P < 0.05$), 侵袭和迁移细胞数增多[t (侵袭) = 7.281, t (迁移) = 7.564, $P < 0.05$]. 见图7. 表明miR-183介导Wnt/ β -catenin信号通路影响SGC-7901细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移.

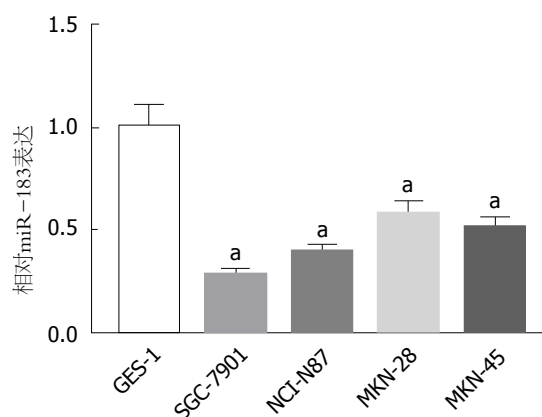


图1 qRT-PCR检测不同细胞株中miR-183的表达水平。^a $P<0.05$, 与GES-1细胞比。

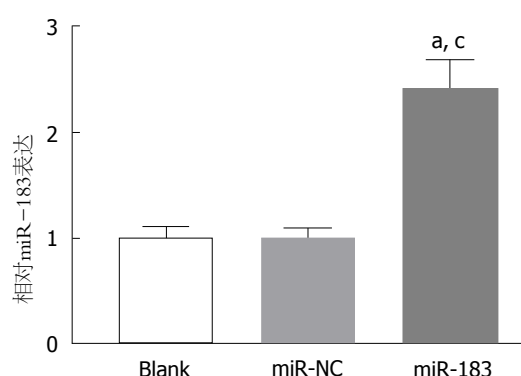


图2 转染miR-183 mimics对SGC-7901细胞中miR-183表达的影响。^a $P<0.05$, 与Blank组比; ^c $P<0.05$, 与miR-NC组比。

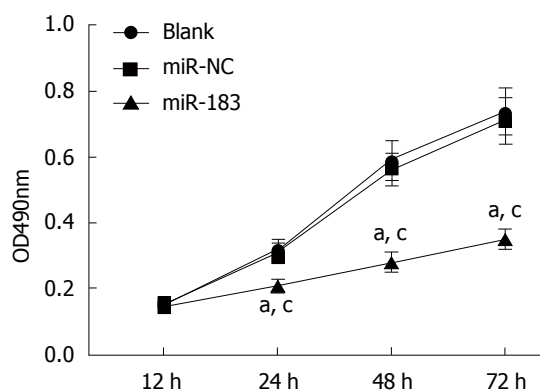


图3 过表达miR-183对SGC-7901细胞增殖能力的影响。^a $P<0.05$, 与Blank组比; ^c $P<0.05$, 与miR-NC组比。

3 讨论

目前研究已经证明miRNA是致癌过程中的关键调节剂, 例如肿瘤细胞增殖, 分化, 侵袭和转移, 起到肿瘤抑制剂或癌基因的作用^[14,15]。因此, 阐明miRNA在肿瘤发展中的潜在机制可为恶性肿瘤提供有价值的诊断和治疗策略。本实验探究了miR-183在不同胃癌细胞株及正常胃

黏膜上皮细胞中的表达, 结果发现miR-183在4种胃癌细胞株中的表达均显著低于正常胃黏膜上皮细胞, 其中miR-183在胃癌SGC-7901细胞中表明量降低最为明显。Cao等^[16]研究发现, 胃癌组织中miR-183的表达明显低于其邻近正常组织, miR-183的下调与淋巴结转移和病理TNM分期密切相关, 体外细胞实验发现miR-183通过调节Ezrin在胃癌中起到肿瘤抑制剂的作用。而Li等^[17]实验表明, miR-183可能通过调节胃癌细胞增殖, 凋亡和转移而作为致癌基因起作用, 并且miR-183的致癌作用可能与直接靶向PDCD4有关。提示miR-183在胃癌中的作用可能与肿瘤微环境下调控的不同靶基因有关。本实验构建过表达miR-183的SGC-7901细胞, 结果发现过表达miR-183可抑制SGC-7901细胞体外增殖、侵袭和迁移能力, 且能够诱导细胞凋亡, 表明miR-183在胃癌SGC-7901细胞中发挥抑癌基因的作用。

Wnt/ β -catenin信号通路在进化上高度保守, 在细胞增殖、分化及黏附等多种细胞生物学行为中发挥重要作用^[18]。多项研究表明, Wnt/ β -catenin信号通路在肝癌、乳腺癌、肺癌等多种恶性肿瘤的发生和发展中起关键作用^[19-21]。目前研究已发现胃癌中Wnt/ β -catenin信号通路异常激活, 且在胃癌发生和进展中发挥重要作用^[22]。 β -catenin是Wnt/ β -catenin信号通路的关键效应因子, 被认为是肿瘤进展中有效的致癌基因。Wnt蛋白作为一种细胞生长信号因子, 诱导细胞内信号转导导致GSK-3 β 蛋白发生磷酸化, 进而阻碍 β -catenin降解, 导致 β -catenin累积。当 β -catenin转位至细胞核中, 将激活下游分子Cyclin D1等的转录, 调节细胞增殖、迁移等相应细胞学行为^[23]。Leung等^[24]研究发现, Wnt/ β -catenin信号通路激活可促进高侵袭性肝细胞癌中miR-183/96/182的表达。最近Yang等^[25]研究发现miR-183通过调节Wnt/ β -catenin信号通路抑制骨肉瘤细胞的生长、迁移和侵袭。本研究中, 过表达miR-183后通过Western blot检测SGC-7901细胞中Wnt/ β -catenin信号通路相关分子, 结果发现 β -catenin、p-GSK-3 β 和Cyclin D1蛋白表达水平均明显下调, 而GSK-3 β 蛋白表达水平上调, 表明过表达miR-183能够抑制Wnt/ β -catenin信号通路的激活, 提示miR-183对胃癌SGC-7901细胞生物学特性的影响可能与调控Wnt/ β -catenin信号通路的激活有关。为进一步探究miR-183通过调控Wnt/ β -catenin信号通路发挥作用, 本实验在过表达miR-183的SGC-7901细胞中添加Wnt/ β -catenin信号通路特异性激动剂LiCl激活Wnt/ β -catenin信号通路, 结果显示, LiCl激活Wnt/ β -catenin信号通路可部分逆转过表达miR-183导致的对SGC-7901细胞增殖、侵袭和迁移能力的抑制作用以及对细胞

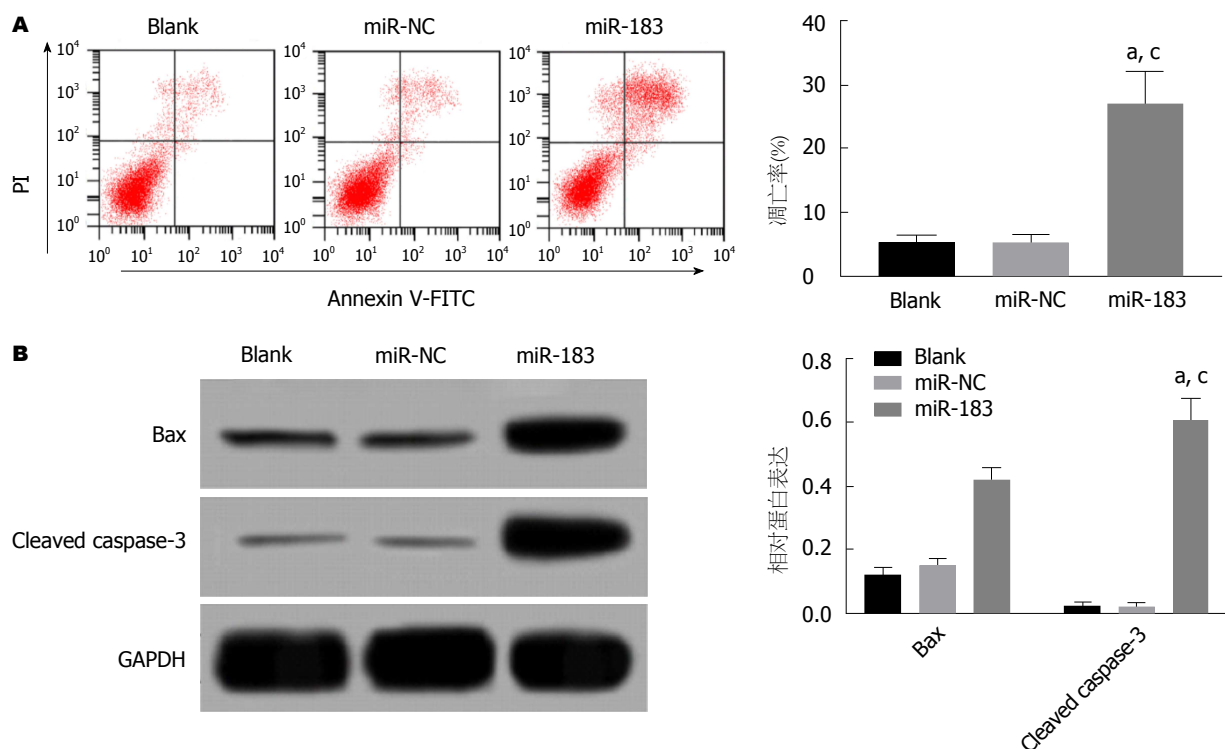


图 4 过表达miR-183对SGC-7901细胞凋亡的影响. A: 流式细胞仪检测各组SGC-7901细胞凋亡率; B: Western blot检测各组SGC-7901细胞中Bax和Cleaved Caspase-3蛋白表达水平. ^a $P < 0.05$, 与Blank组比; ^c $P < 0.05$, 与miR-NC组比.

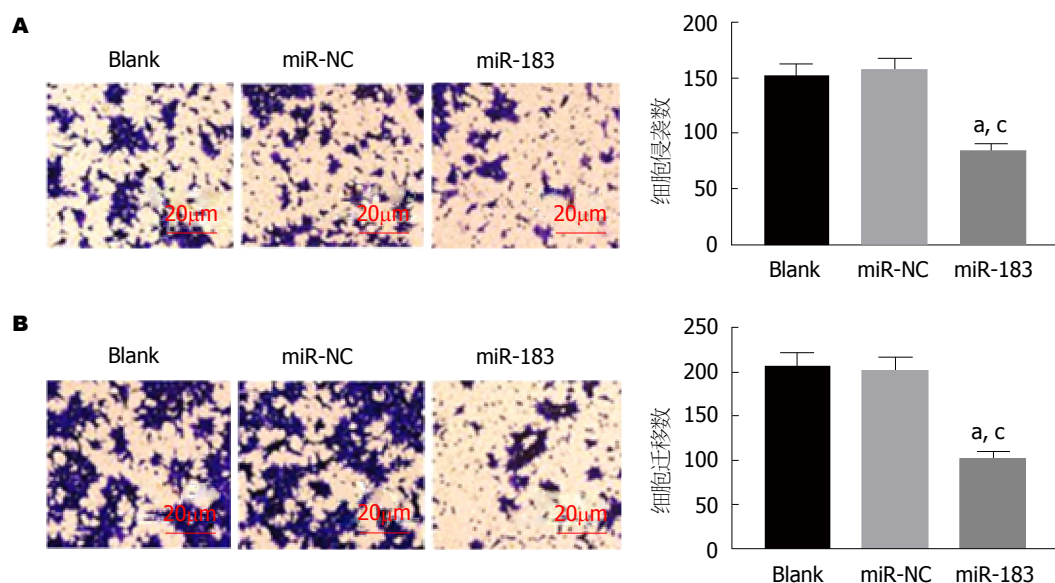


图 5 过表达miR-183对SGC-7901细胞侵袭和迁移能力的影响. A: Transwell实验检测SGC-7901细胞侵袭能力; B: Transwell实验检测SGC-7901细胞迁移能力. ^a $P < 0.05$, 与Blank组比; ^c $P < 0.05$, 与miR-NC组比.

凋亡诱导作用. 以上实验结果表明miR-183通过抑制Wnt/ β -catenin信号通路的激活抑制胃癌SGC-7901细胞增殖、侵袭和迁移, 促进细胞凋亡.

总之, 本研究表明miR-183可抑制胃癌SGC-7901细胞增殖、侵袭和迁移, 促进细胞凋亡, 该过程与抑制Wnt/ β -catenin信号通路的激活有关. 了解miR-183在胃癌发病机制和Wnt/ β -catenin信号通路中的确切作用有

望增加我们对癌症发展的生物学基础的掌握, 且还可促进针对胃癌的新治疗策略的开发.

文章亮点

实验背景

miR-183在胃癌、乳腺癌、膀胱癌等多种肿瘤组织中

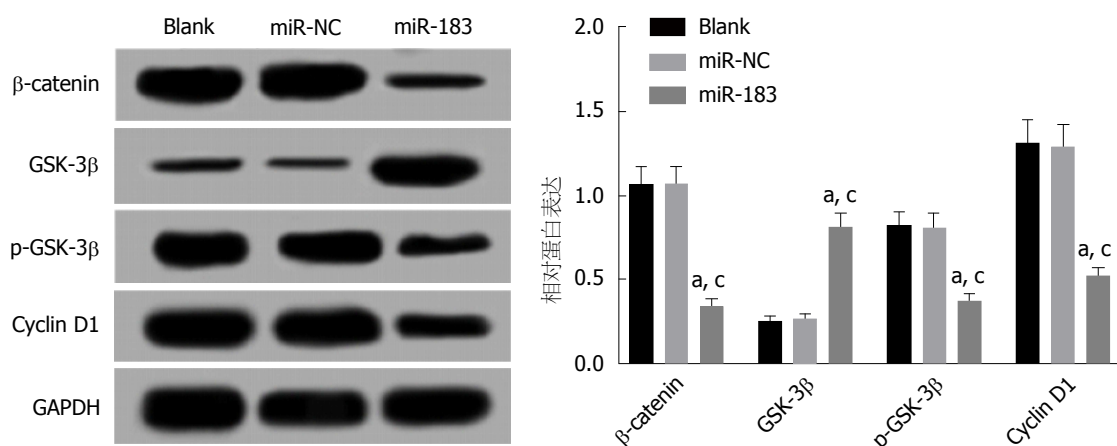


图 6 SGC-7901细胞中 β -catenin、GSK-3 β 、p-GSK-3 β 和Cyclin D1蛋白检测。^a $P < 0.05$, 与Blank组比; ^c $P < 0.05$, 与miR-NC组比。

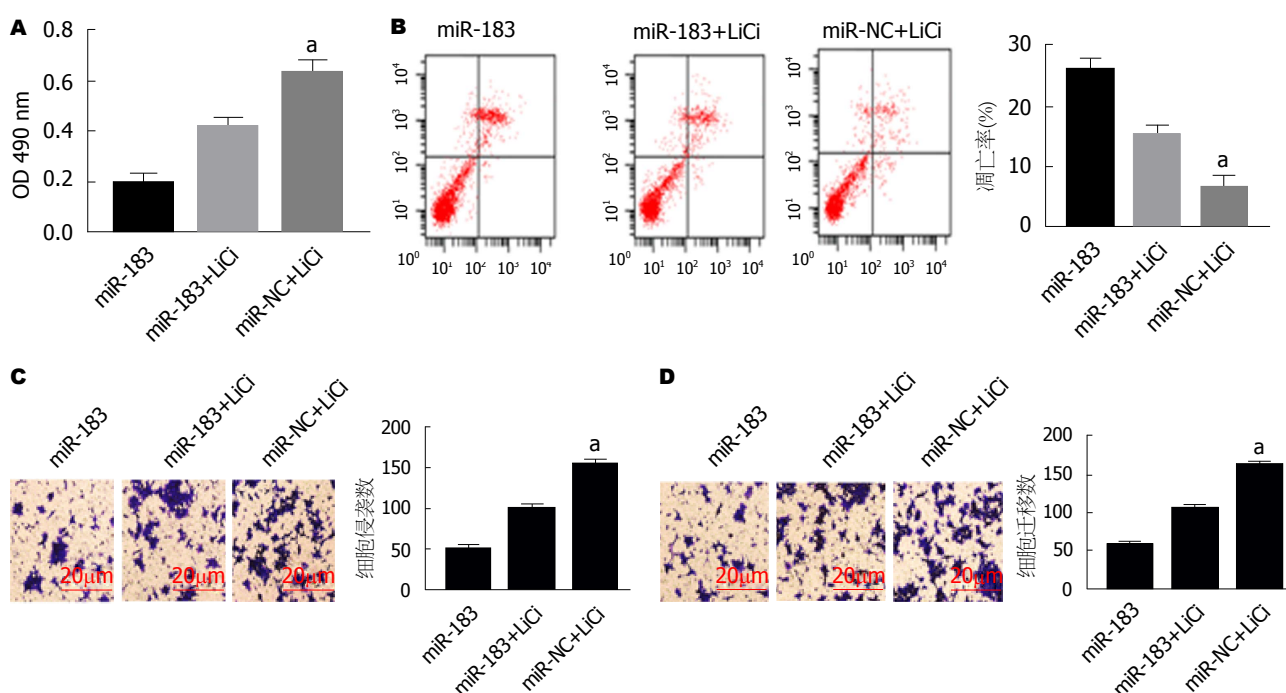


图 7 激活Wnt/ β -catenin信号通路对过表达miR-183的SGC-7901细胞的影响。A: MTT法检测SGC-7901细胞增殖活力; B: 流式细胞仪检测细胞凋亡率; C: Transwell实验检测细胞侵袭能力; D: Transwell实验检测细胞迁移能力。^a $P < 0.05$, 与miR-183组比。

低表达, 发挥抑癌基因的作用, 但其在胃癌中作用机制目前尚不十分清楚。研究表明, miR-183可以通过调节Wnt/ β -catenin信号通路抑制骨肉瘤细胞的生长、迁移和侵袭, 而Wnt/ β -catenin信号通路在胃癌中高度激活与胃癌的发生和转移密切相关。但miR-183是否调节Wnt/ β -catenin信号通路影响胃癌细胞生物学特性尚不清楚。

实验动机

本研究探讨miR-183是否通过调控Wnt/ β -catenin信号通路影响胃癌细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移, 旨在阐明miR-183在胃癌中的抗癌机制。

实验目标

本研究探讨miR-183是否通过调控Wnt/ β -catenin信号通路影响胃癌细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移, 旨在阐明miR-183在胃癌中的抗癌机制。

实验方法

体外培养人正常胃黏膜细胞和4中胃癌细胞系, RT-qPCR检测miR-183在各细胞中的表达情况。以胃癌SGC-7901细胞为研究对象, 构建过表达miR-183的胃癌细胞, MTT法、流式细胞术和Transwell实验分别检测过表达miR-183对胃癌细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响,

Western blot实验检测过表达miR-183对胃癌细胞中Wnt/ β -catenin通路相关蛋白表达的影响. 使用Wnt/ β -catenin信号通路激动剂激活过表达miR-183的胃癌细胞中Wnt/ β -catenin信号通路, 观察细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭能力变化.

实验结果

miR-183在4中胃癌细胞株中均表达下调. 过表达miR-183抑制胃癌SGC-7901细胞增殖、迁移和侵袭并诱导细胞凋亡, 抑制胃癌细胞中Wnt/ β -catenin信号通路相关蛋白表达. Wnt/ β -catenin信号通路激动剂处理过表达miR-183的胃癌细胞后, miR-183对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用减弱, 对胃癌细胞凋亡的促进作用也减弱.

实验结论

过表达miR-183可能通过抑制Wnt/ β -catenin信号通路, 抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭并诱导细胞凋亡.

展望前景

本研究仅初步证实miR-183在胃癌中的抑癌作用可能与调控Wnt/ β -catenin信号通路有关, 后期将继续深入探讨miR-183具体与哪个分子靶向结合而调控Wnt/ β -catenin通路, 在胃癌中发挥抗癌作用.

4 参考文献

- Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115-132 [PMID: 26808342 DOI: 10.3322/caac.21338.]
- Ciesielski M, Kruszkowski WJ, Walczak J, Szajewski M, Szefer J, Wydra J, Buczek T, Czerepko M. Analysis of postoperative morbidity and mortality following surgery for gastric cancer. Surgeon volume as the most significant prognostic factor. *Prz Gastroenterol* 2017; 12: 215-221 [PMID: 29123584 DOI: 10.5114/pg.2017.70475]
- Alessandrini L, Manchi M, De Re V, Dolcetti R, Canzonieri V. Proposed Molecular and miRNA Classification of Gastric Cancer. *Int J Mol Sci* 2018; 19 [PMID: 29882766 DOI: 10.3390/ijms19061683]
- Hao NB, He YF, Li XQ, Wang K, Wang RL. The role of miRNA and lncRNA in gastric cancer. *Oncotarget* 2017; 8: 81572-81582 [PMID: 29113415 DOI: 10.18632/oncotarget.19197]
- Liao Y, Liao Y, Li J, Liu L, Li J, Wan Y, Peng L. Genetic variants in miRNA machinery genes associated with clinicopathological characteristics and outcomes of gastric cancer patients. *Int J Biol Markers* 2018; 33: 301-307 [PMID: 29683064 DOI: 10.1177/1724600818754752]
- Franke KR, Schmidt SA, Park S, Jeong DH, Accerbi M, Green PJ. Analysis of Brachypodium miRNA targets: evidence for diverse control during stress and conservation in bioenergy crops. *BMC Genomics* 2018; 19: 547 [PMID: 30029591 DOI: 10.1186/s12864-018-4911-7]
- Macedo T, Silva-Oliveira RJ, Silva VAO, Vidal DO, Evangelista AF, Marques MMC. Overexpression of mir-183 and mir-494 promotes proliferation and migration in human breast cancer cell lines. *Oncol Lett* 2017; 14: 1054-1060 [PMID: 28693273 DOI: 10.3892/ol.2017.6265]

- Gao JM, Huang LZ, Huang ZG, He RQ. Clinical value and potential pathways of miR-183-5p in bladder cancer: A study based on miRNA-seq data and bioinformatics analysis. *Oncol Lett* 2018; 15: 5056-5070 [PMID: 29616090 DOI: 10.3892/ol.2018.7967]
- Ruan H, Liang X, Zhao W, Ma L, Zhao Y. The effects of microRNA-183 promotes cell proliferation and invasion by targeting MMP-9 in endometrial cancer. *Biomed Pharmacother* 2017; 89: 812-818 [PMID: 28273643 DOI: 10.1016/j.biopha.2017.02.091]
- 俞进友, 仇建玲, 朱正峰, 田翠芳. 胃癌组织中miR-98和miR-183表达及临床意义. *临床肿瘤学杂志* 2018; 23: 408-412 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-0460.2018.05.005]
- Nusse R, Clevers H. Wnt/ β -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities. *Cell* 2017; 169: 985-999 [PMID: 28575679 DOI: 10.1016/j.cell.2017.05.016]
- Janda CY, Dang LT, You C, Chang J, de Lau W, Zhong ZA, Yan KS, Marecic O, Siepe D, Li X, Moody JD, Williams BO, Clevers H, Piehler J, Baker D, Kuo CJ, Garcia KC. Surrogate Wnt agonists that phenocopy canonical Wnt and β -catenin signalling. *Nature* 2017; 545: 234-237 [PMID: 28467818 DOI: 10.1038/nature22306]
- Dai H, Deng HB, Wang YH, Guo JJ. Resveratrol inhibits the growth of gastric cancer via the Wnt/ β -catenin pathway. *Oncol Lett* 2018; 16: 1579-1583 [PMID: 30008840 DOI: 10.3892/ol.2018.8772]
- Xu J, Xiao X, Yang D. In Vitro Methods for Analyzing miRNA Roles in Cancer Cell Proliferation, Invasion, and Metastasis. *Methods Mol Biol* 2018; 1733: 159-171 [PMID: 29435931 DOI: 10.1007/978-1-4939-7601-0_13]
- Ganju A, Khan S, Hafeez BB, Behrman SW, Yallapu MM, Chauhan SC, Jaggi M. miRNA nanotherapeutics for cancer. *Drug Discov Today* 2017; 22:424-432 [PMID: 27815139 DOI: 10.1016/j.drudis.2016.10.014]
- Cao LL, Xie JW, Lin Y, Zheng CH, Li P, Wang JB, Lin JX, Lu J, Chen QY, Huang CM. miR-183 inhibits invasion of gastric cancer by targeting Ezrin. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 5582-5594 [PMID: 25337200]
- Li C, Deng L, Zhi Q, Meng Q, Qian A, Sang H, Li X, Xia J. MicroRNA-183 Functions As an Oncogene by Regulating PDCD4 in Gastric Cancer. *Anticancer Agents Med Chem* 2016; 16: 447-455 [PMID: 26961483]
- Liu X, Gao Q, Zhao N, Zhang X, Cui W, Sun J, Fu J, Hao J. Sohlh1 suppresses glioblastoma cell proliferation, migration, and invasion by inhibition of Wnt/ β -catenin signaling. *Mol Carcinog* 2018; 57: 494-502 [PMID: 29240260 DOI: 10.1002/mc.22774]
- Debebe A, Medina V, Chen CY, Mahajan IM, Jia C, Fu D, He L, Zeng N, Stiles BW, Chen CL, Wang M, Aggarwal KR, Peng Z, Huang J, Chen J, Li M, Dong T, Atkins S, Borok Z, Yuan W, Machida K, Ju C, Kahn M, Johnson D, Stiles BL. Wnt/ β -catenin activation and macrophage induction during liver cancer development following steatosis. *Oncogene* 2017; 36: 6020-6029 [PMID: 28671671 DOI: 10.1038/ncr.2017.207]
- Xiao X, Ao M, Xu F, Li X, Hu JL, Wang Y, Li DX, Zhu XQ, Xin CL, Shi WD. Effect of matrine against breast cancer by downregulating the vascular endothelial growth factor via the Wnt/ β -catenin pathway. *Oncol Lett* 2018; 15: 1691-1697 [PMID: 29434864 DOI: 10.3892/ol.2017.7519]
- Zhang Q, Zhang B, Sun L, Yan Q, Zhang Y, Zhang Z, Su Y, Wang C. MicroRNA-130b targets PTEN to induce resistance to cisplatin in lung cancer cells by activating Wnt/ β -catenin pathway. *Cell Biochem Funct* 2018; 36: 194-202 [PMID: 29653464 DOI: 10.1002/cbf.3331]

- 22 Li G, Su Q, Liu H, Wang D, Zhang W, Lu Z, Chen Y, Huang X, Li W, Zhang C, He Y, Fu L, Bi J. Frizzled7 Promotes Epithelial-to-mesenchymal Transition and Stemness Via Activating Canonical Wnt/ β -catenin Pathway in Gastric Cancer. *Int J Biol Sci* 2018; 14: 280-293 [PMID: 29559846 DOI: 10.7150/ijbs.23756]
- 23 Zheng W, Lin P, Ma Y, Shao X, Chen H, Chen D, Liu X, Li X, Ye H. Psoralen promotes the expression of cyclin D1 in chondrocytes via the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Int J Mol Med* 2017; 40: 1377-1384 [PMID: 28949389 DOI: 10.3892/ijmm.2017.3148]
- 24 Leung WK, He M, Chan AW, Law PT, Wong N. Wnt/ β -Catenin activates MiR-183/96/182 expression in hepatocellular carcinoma that promotes cell invasion. *Cancer Lett* 2015; 362: 97-105 [PMID: 25813403 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.03.023]
- 25 Yang X, Wang L, Wang Q, Li L, Fu Y, Sun J. MiR-183 inhibits osteosarcoma cell growth and invasion by regulating LRP6-Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 496: 1197-1203 [PMID: 29402412 DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.01.170]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 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: <https://www.baishideng.com>

《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《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《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)》.

表达持续活化型ALK3抑制大鼠肝星状细胞活化

石 慧, 柳长柏, 肖和杰

石慧, 海南医学院第一附属医院消化内科 海南省海口市 570000

石慧, 柳长柏, 三峡大学肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室
湖北省宜昌市 443000

石慧, 柳长柏, 肖和杰, 三峡大学肝病研究所 湖北省宜昌市 443000

石慧, 主治医师, 讲师, 主要从事消化系统疾病尤其是肝病临床及基础研究.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81070348.

作者贡献分布: 主要实验、数据分析及文章起草由石慧完成; 课题设计、
文章修改与审阅由柳长柏与肖和杰完成.

通讯作者: 柳长柏, 教授, 443000, 湖北省宜昌市大学路8号, 三峡大学肿瘤
微环境与免疫治疗湖北省重点实验室. 295489660@qq.com

收稿日期: 2019-03-20

修回日期: 2019-06-19

接受日期: 2019-06-25

在线出版日期: 2019-07-08

Stable expression of constitutively activated ALK3 suppresses rat hepatic stellate cell activation

Hui Shi, Chang-Bai Liu, He-Jie Xiao

Hui Shi, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570000, Hainan Province, China

Hui Shi, Chang-Bai Liu, Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy of Hubei Province, Three Gorges University, Yichang 443000, Hubei Province, China

Hui Shi, Chang-Bai Liu, He-Jie Xiao, Institute of Liver Diseases, China Three Gorges University, Yichang 443000, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070348.

Corresponding author: Chang-Bai Liu, Professor, Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy of Hubei Province,

Three Gorges University, No. 8 University Road, Yichang 443000, Hubei Province, China. 295489660@qq.com

Received: 2019-03-20

Revised: 2019-06-19

Accepted: 2019-06-25

Published online: 2019-07-08

Abstract

BACKGROUND

Hepatic fibrosis is related to activation of hepatic stellate cells (HSCs) and epithelial mesenchymal transformation (EMT), in which transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) plays a pivotal role, but bone morphogenetic protein-7 (BMP7) can antagonize TGF- β 1. Currently, the TGF- β /BMPs-Smad signaling pathway is a hot topic of research in this field. ALK3 belongs to the constitutively activated type I receptor of BMPs, and its role in the molecular mechanism of hepatic fibrosis is rarely studied.

AIM

To detect the expression of Samd1, P-Smad1, and fibrosis-related genes E-cadherin, α -SMA, and col1A2 in cultured rat HSCs (HSC-T6) to investigate how BMP-7 antagonizes TGF- β 1 in the development of liver fibrosis and its anti-hepatic fibrosis mechanisms.

METHODS

After HSCs-T6 were transfected with constitutively active cDNA construct expressing ALK3, RT-PCR method was used to screen the cell line with stable ALK3 expression and detect the mRNA level of col1A2. MTT assay was used to examine the proliferation of HSC-T6 cells with high expression

of ALK3. Western blot method was used to detect the expression of Smad1, P-Smad1, E-cadherin, α -SMA, and col1A2. Optic microscopy was used to detect the morphological changes of HSC-T6 cells with high expression of ALK3.

RESULTS

Compared with control cells, ALK3 high expression restrained the growth of HSC-T6 cells, suppressed the expression of α -SMA and col1A2, promoted the expression of P-Smad1 and E-cadherin, but had no significant effect on Samd1.

CONCLUSION

BMP-7 competitively antagonizes TGF- β 1 induced fibrosis by enhancing the phosphorylation of Samd1.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Bone morphogenetic protein 7; Smad1; P-Smad1; Hepatic stellate cells

Shi H, Liu CB, Xiao HJ. Stable expression of constitutively activated ALK3 suppresses rat hepatic stellate cell activation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 807-813

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/807.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.807>

摘要

背景

肝纤维化与肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)上皮细胞间充质转化(epithelial mesenchymal transformation, EMT)相关, TGF- β 1在其中起着重要的作用, 而BMP7能够拮抗TGF- β 1, 目前主要研究的是TGF- β /BMPs-Smad信号通路, ALK3属于BMPs的持续活化 I 型受体, 在肝纤维化分子研究机制中较少运用。

目的

观察大鼠HSCs中稳定表达持续活化型ALK3时 Smad1磷酸化及纤维化相关基因E-cadherin、 α -SMA、col1A2等表达情况, 探讨BMP-7信号转导在肝纤维化发生发展过程中拮抗TGF- β 1信号及其抗肝纤维化机制。

方法

建立体外培养大鼠HSCs (HSC-T6)持续活化型ALK3的稳定表达细胞株, MTT检测细胞的增殖; RT-PCR检测col1A2等相关分子mRNA水平; Western blotting检测Samd1、E-cadherin、 α -SMA、col1A2蛋白表达和Smad1磷酸化; 显微镜下观察细胞形态。

结果

稳定表达持续活化型ALK3的HSC-T6细胞增殖受到抑制, Smad1磷酸化显著升高, α -SMA, col1A2表达下调, E-cadherin表达上调。

结论

BMP-7信号转导通过增强Samd1的磷酸化而拮抗TGF- β 1致纤维化作用, 抑制大鼠HSCs的活化。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 骨形成蛋白7; Smad1; 磷酸化Smad1; 肝星状细胞

核心提要: 利用BMP-7 I 型受体的持续性活化突变基因真核表达载体, 建立稳定高表达持续活化型BMP-7 I 型受体ALK3细胞株。无需BMP-7刺激, 持续活化型ALK3即可激活下游信号通路, 证实BMP-7信号转导通过增强Samd1的磷酸化而拮抗TGF- β 1致纤维化作用, 抑制大鼠肝星状细胞的活化, 从而逆转肝纤维化, 解决临床上肝硬化难以逆转的问题, 挽救早期肝硬化患者。

石慧, 柳长柏, 肖和杰. 表达持续活化型ALK3抑制大鼠肝星状细胞活化. *世界华人消化杂志* 2019; 27(13): 807-813

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/807.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.807>

0 引言

在肝纤维化发生发展过程中由于慢性炎症刺激肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)被活化, 由静止的储脂细胞转变成肌成纤维细胞(myofibroblast, MFB)并合成分泌大量纤维化相关因子和胶原蛋白^[1]。TGF- β 1在肝纤维化病理发展过程中发挥着极其重要的作用, BMP-7是TGF- β 超家族成员之一, 许多研究表明BMP-7能够拮抗TGF- β 的促纤维化作用, 在肝纤维化进展过程中, BMP-7表达水平被逐渐下调^[2]。

ALK3属于BMPs的持续活化 I 型受体, 无需BMP-7与BMP-7 II 受体结合, 磷酸化细胞内相关信号蛋白Smad1/5/8, 磷酸化Smad1/5/8进而结合Smad4转移至细胞核并诱导下游靶基因表达。本实验利用BMP-7 I 型受体的持续性活化突变基因真核表达载体pcDNA3-HASL-ALK3(QD)转染大鼠HSCs株(HSC-T6), 建立稳定高表达持续活化型BMP-7 I 型受体ALK3细胞株。无需BMP-7刺激, 持续活化型ALK3即可激活下游信号通路, 探讨持续活化型ALK3对HSC-T6的影响, 探讨活化BMP-7信号通路抗肝纤维化分子机制。

1 材料和方法

1.1 材料 大鼠HSCs、DH5 α 大肠杆菌为三峡大学肝病研究所保存; 真核表达载体pcDNA3-HASL-ALK3(QD)质粒由日本东京大学宫园浩平教授惠赠; 限制性核酸内切酶、Taq DNA聚合酶、dNTP、RevertAidTM M-MuLV逆转录试剂盒购自美国Fermentas公司; DNA纯化试剂盒为QIAGEN公司产品; LipofectamineTM 2000和Trizol试剂为美国Invitrogen公司产品; 小鼠Samd1单克隆抗体、兔抗山羊P-Smad1多克隆抗体、山羊抗兔E-cadherin多克隆抗体、兔抗山羊col1A2多克隆抗体均为Santa Cruz Biotechnology公司产品; 小鼠 α -SMA单克隆抗体为Sigma公司产品; 辣根过氧化物酶标记兔抗山羊、山羊抗兔、羊抗小鼠IgG购自北京中杉金桥公司; ECL化学发光检测试剂为GE Healthcare公司产品, MTT及培养基DMEM购自美国Sigma公司; 寡聚核苷酸引物由上海生工技术服务有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及传代: 本实验所用的细胞株大鼠HSCsHSC-T6置于含10%小牛血清及1%青霉素/链霉素的培养液DMEM, 37 °C 5% CO₂培养箱中培养。细胞传代方法: 弃去旧的培养液, 用3 mL PBS洗2次后, 每瓶500 μ L 1%胰蛋白酶消化细胞1 min; 用3 mL细胞完全培养液终止消化并将细胞悬液转入15 mL离心管中, 800 rpm离心3 min, 弃上清液; 细胞用培养液重悬后, 以1:3的比例传代。

1.2.2 重组质粒鉴定: 用重组质粒pcDNA3-HASL-ALK3转化E.coli DH5 α 感受态细胞, 用含0.1 g/L氨苄青霉素的琼脂糖培养平板进行筛选, 挑取阳性单克隆菌落扩增培养, 提取质粒并用EcoRI/XhoI进行双酶切鉴定。酶切鉴定正确的质粒纯化后送上海生工生物工程有限公司测序。测序结果用DNAMAN与GenBank序列比对无误。

1.2.3 建立稳定高表达持续活化型ALK3受体的HSC-T6细胞株: 大鼠HSC-T6在转染前1 d传代, 长至细胞融合约80%, 转染前1 h换为无血清无双抗的DMEM培养液孵育。应用LipofectamineTM 2000试剂法用纯化的重组质粒pcDNA3-HASL-ALK3转染HSC-T6细胞, 同时转染空载质粒pcDNA3.1作为对照。37 °C 5% CO₂培养箱孵育4-6 h后更换为DMEM完全培养液培养, 培养24 h后换为浓度800 μ g/mL Neomycin的完全培养液进行筛选, 2-3 d更换一次培养液, 待细胞克隆形成后, 挑取单克隆细胞进行扩大培养。

1.2.4 RT-PCR法筛选稳定表达持续活化型ALK3的HSC-T6细胞株: 分别收集稳定转染重组质粒pcDNA3-HASL-ALK3及空载质粒pcDNA3.1的HSC-T6细胞, 提取

细胞总RNA, 经DU730紫外分光光度仪检测在260 nm处的吸光度值, A260nm/A280nm比值均介于1.8-2.0之间, RNA琼脂糖凝胶电泳28 S、18 S和5 S条带清晰可见, 表明抽提的RNA较完整, 未见明显降解。提取的总RNA经逆转录合成cDNA第一链, 并以合成的cDNA为模板进行PCR反应。col1A2上游引物: 5'-TGGTCTTACTGGGA ACTTTG-3', 下游引物: 5'-CCGTTTGTCCGGGCTCAC CA-3'; col3A1上游引物: 5'-GTTCTGTAATATGGAAAC CGGAG-3', 下游引物: 5'-CAAGGACATCTTCAGGAA GATC-3'; col4A2上游引物: 5'-CTGGACCCAAAGGAC AACC-3', 下游引物: 5'-ACGGGTCCAGGGTCTCCT-3'; E-cadherin上游引物: 5'-CTCGTGGCTTTGTCAGCA-3', 下游引物: 5'-GACCCAGTCTCGTTTCTG-3', α -SMA上游引物: 5'-GTGTGAAGAGGAAGACAG-3'下游引物: 5'-TTGGCCTTAGGGTTCAGC-3', 以GAPDH为内参照, 上游引物: 5'-TGGCACCCAGCACAATGAA-3', 下游引物: 5'-CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA-3', PCR循环条件: 94 °C 5 min, 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30个循环后, 72 °C 5 min结束扩增。PCR产物于1%琼脂糖凝胶电泳鉴定并在凝胶扫描仪下观察记录结果。获得稳定高表达持续活化型ALK3的细胞株命名为CA-ALK3-T6, 稳定转染空载体质粒细胞株命名为Vector-T6。

1.2.5 Western blotting法检测稳定表达持续活化型ALK3对HSC-T6细胞的影响: 收集并裂解细胞提取总蛋白, 用BCA试剂盒蛋白定量后进行SDS-PAGE分离蛋白, 采用湿转法将蛋白质转移至PVDF膜上, 1%脱脂奶粉封闭过夜后, 分别用小鼠Samd1单克隆抗体(1:800稀释)、兔抗山羊P-Smad1多克隆抗体(1:800稀释)、山羊抗兔E-cadherin多克隆抗体(1:1000稀释)、兔抗山羊col1A2多克隆抗体(1:800稀释); 小鼠 α -SMA单克隆抗体(1:1000稀释)和小鼠抗大鼠 β -actin单克隆抗体(1:4000稀释)孵育2 h, TBST洗膜10 min/次3次, 再分别用辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔IgG(1:4000稀释), 兔抗山羊IgG(1:8000稀释)和羊抗小鼠IgG(1:5000稀释)孵育1 h, TBST洗膜3次(10 min/次), 采用ECL增强化学发光法检测结果。

1.2.6 MTT法检测稳定表达持续活化型ALK3对HSC-T6细胞株增殖的影响: 以 2×10^4 个/ml的细胞密度, 接种于96孔板中, 100 μ L/孔; 待细胞完全贴壁后, 加入MTT(200 μ g/mL, 无血清DMEM培养基配制), 37 °C继续孵育4 h, 去除培养基后每孔加入150 μ L的DMSO, 室温摇床振荡充分溶解结晶, 全自动酶标仪570 nm波长测定各孔吸光度(OD)值, 并以此检测时间点为0 h。用同样的方法测定细胞培养24、48、72 h各时间点的OD值, 以各时间点的

OD值与0 h OD值的比值反映细胞增殖的速度。

统计学处理 应用SPSS 13.0进行分析, 数据以mean \pm SD表示, 样本均数比较采用 t 检验, 同一药物不同浓度组间采用单因素方差分析进行比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 稳定表达持续活化型ALK3受体对HSC-T6细胞形态的影响 倒置相差显微镜下, 对照组Vector-T6细胞呈单层生长, 细胞间连接疏松, 细胞伪足多呈星形, 胞质薄而透明, 核椭圆; 而CA-ALK3-T6细胞连接紧密, 细胞成多角形或蝌蚪形, 胞质饱满, 核圆大(图1)。

2.2 稳定表达持续活化型ALK3受体对HSC-T6细胞生长增殖的影响 为观察稳定表达持续活化型ALK3受体后对HSC-T6细胞生长增殖的影响, 我们采用MTT法检测了稳定表达持续活化型ALK3对HSC-T6细胞增殖的影响(图2)。与0 h相比, 当培养24 h CA-ALK3-T6细胞和Vector-T6细胞增殖倍数分别为1.5和2.6倍; 当培养48 h, 对Vector-T6细胞增殖倍数为4.3倍, 而CA-ALK3-T6细胞为1.7倍($P < 0.05$); 随着时间的延长, CA-ALK3-T6细胞增殖速度较对照细胞要慢($P < 0.05$)。因此稳定表达持续活化型ALK3受体后可抑制HSC-T6细胞的活化增殖, 并且具有时间依赖性。

2.3 半定量RT-PCR检测稳定表达持续活化型ALK3受体HSC-T6细胞 α -SMA、col1A2等基因表达水平 分别收集CA-ALK3-T6细胞和Vector-T6细胞, 提取总RNA, 经逆转录合成cDNA, 并以其作为模板进行RT-PCR反应。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳后在凝胶成像仪下观察记录结果(图3)。电泳结果显示, 与阴性对照组Vector-T6细胞相比, CA-ALK3-T6细胞株 α -SMA、col1A2、col3A1、col4A2 mRNA表达水平明显下调, 而E-cadherin水平上调。

2.4 Western blotting检测稳定表达持续活化型ALK3受体HSC-T6细胞BMP信号转导相关蛋白 我们进一步检测了稳定表达持续活化型ALK3受体HSC-T6细胞BMP信号转导及纤维化相关蛋白表达, 培养CA-ALK3-T6细胞和Vector-T6细胞, 分别收集细胞并提取细胞总蛋白, 进行Western blotting分析。与阴性对照细胞株Vector-T6相比, CA-ALK3-T6细胞P-Smad1磷酸化水平明显上升、E-cadherin表达水平上调, α -SMA, col1A2蛋白表达下降, Smad1蛋白水平未见明显改变。以 β -actin作为内参照, 凝胶成像系统成像(图4)。

3 讨论

肝纤维化是各种慢性肝病发展至肝硬化的必经阶段,

是由各种致病因子引起肝脏损伤和炎症, 产生多种细胞因子刺激多种细胞发生上皮-间充质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT), 产生大量细胞外基质(extracellular matrix, ECM)并在肝脏沉积, 近年来, EMT参与肝纤维化被日渐提出, 但肝脏中EMT的发生机制尚不完全明确。肝纤维化过程中发生EMT的最主要细胞为HSCs, HSCs活化增殖是肝纤维化发生发展的中心环节^[3]。Yu等^[4]也提出HSCs的激活是肝纤维化的一个关键事件, 被认为是EMT过程。EMT主要表现为细胞间粘附削弱, E-cadherin等上皮细胞分子标记表达下调, 间质细胞标志分子如 α -SMA表达上调, 典型的细胞外基质成份如I、III、VI型胶原蛋白分泌增加^[5]。因此如何抑制上皮间质转化是治疗肝纤维化重要策略之一。

TGF- β 参与HSCs发生EMT, 直接或间接引起肝肌成纤维细胞的增加^[6]。BMP-7是一分子大小35KD的分泌性同源二聚体蛋白, 属于TGF- β 超家族成员之一^[7]。BMP-7受体是一种跨膜丝/苏氨酸激酶受体, BMP-7首先与II型受体结合, II型受体的蛋白激酶被激活, 再与I型受体结合, 形成异源二聚体, 催化I型受体GS区的丝氨酸和苏氨酸残基磷酸化。I型受体被激活后, 作用于Smad1、Smad5或Smad8的C端SSXS模体, 使其磷酸化, 再与Smad4形成复合物, 进入核内与多种转录因子相互作用发挥基因调控作用^[8]。BMP-7基因表达不足也是纤维化进展的重要原因之一^[9]。Zeisberg等^[7]在慢性肾纤维化小鼠模型中高表达BMP-7能有效拮抗TGF- β 1诱导的上皮间质转化。研究还显示, BMP-7通过影响TGF- β 1信号通路的下游蛋白—Smads蛋白来阻断其信号转导^[10]。

本文运用真核表达载体pcDNA3-HASL-ALK3(QD)建立稳定表达持续活化型ALK3受体的大鼠HSCs株(CA-ALK3-T6)。实验结果显示, 持续活化型ALK3高表达可使大鼠HSCs形态趋向静止化, 抑制大鼠HSCs活化增殖, 进一步观察发现, BMP7信号通路下游信号分子Smad1磷酸化增加、上皮细胞标志分子E-Cadherin表达水平上调; 同时, 间质细胞标志物 α -SMA以及I型胶原mRNA及蛋白表达水平下降, III、IV型胶原蛋白的mRNA水平下降。说明在大鼠HSCs中BMP-7信号通路的持续活化可逆转HSCs活化, 抑制TGF- β 1诱导的上皮间质转化和肌成纤维细胞增殖; 减少ECM的分泌, 从而改善肝纤维化。Yu等^[4]研究发现, 在肝纤维化过程中, MEG3在体内和体外均有降低, MEG3过表达导致肝纤维化的抑制, 减少 α -SMA和I型胶原蛋白。MEG3过表达通过EMT抑制HSC激活, 与上皮标记物增加和间充质标记物减少有关。由此可见EMT是HSC激活致肝纤维化过程的关键环节。王丽惠等^[11]研究发现TGF- β 1刺激HSC-T6后细胞形态发生变化, 伪足增多呈星形, 细胞

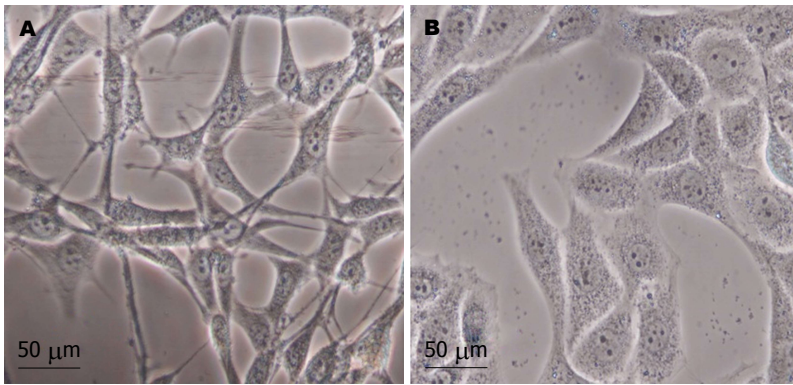


图 1 倒置相差显微镜下观察细胞形态. A: Vector-T6细胞; B: CA-ALK3-T6细胞($\times 400$).

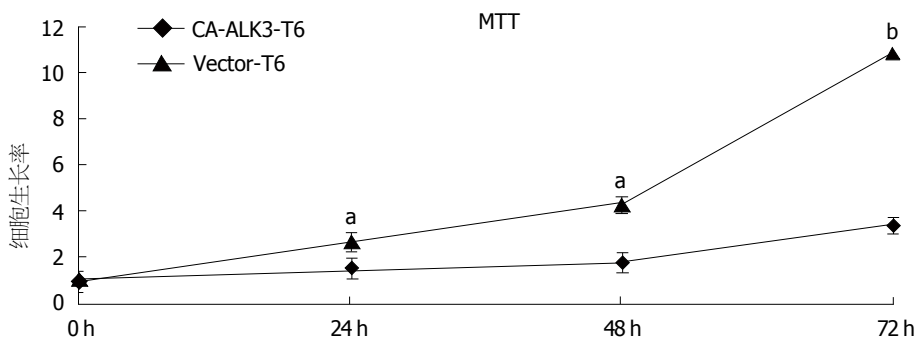


图 2 MTT法检测稳定表达持续活化型ALK3受体对HSC-T6细胞增殖的影响(mean \pm SD, $n = 3$). ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.001$, 与CA-ALK3-T6对比.

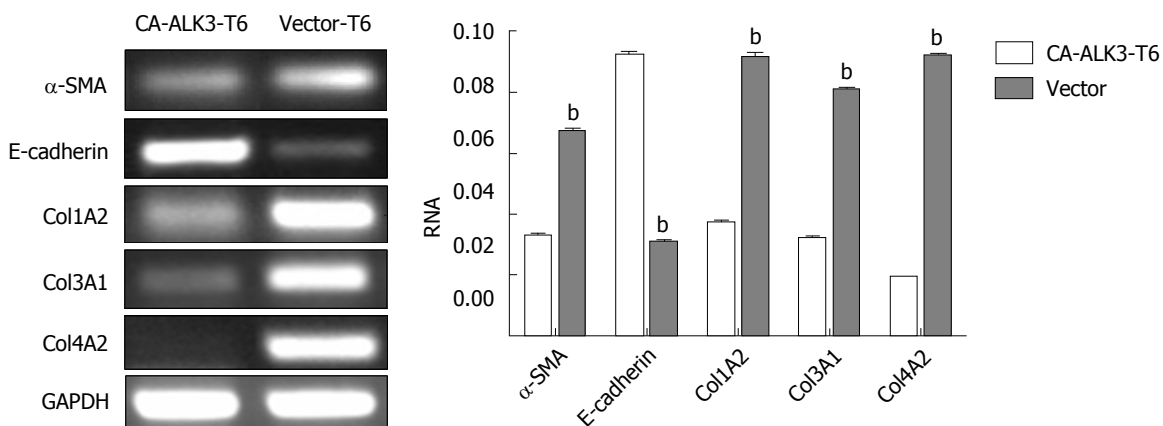


图 3 RT-PCR检测稳定表达持续活化型ALK3受体HSC-T6细胞相关基因表达. CA-ALK3-T6: 稳定表达持续活化型ALK3受体HSC-T6细胞株; Vector-T6: 转染pcDNA3.1空质粒HSC-T6细胞株. ^b $P < 0.001$, 与CA-ALK3-T6比较.

间连接呈疏松状态, 呈现活化生物学特征. 本实验研究通过倒置显微镜观察发现, BMP-7信号通路持续活化导致大鼠HSCs的形态学失去活化形态特征而趋向静止化变化.

肝纤维化传统上被认为是一个不可逆转的过程, 但以上本研究显示了BMP-7信号转导可抑制TGF- β 1信号通路的致纤维化效应, 为BMP-7成为治疗肝纤维化的关键靶点奠定基础. 有望以激活BMP-7信号转导为靶点来探索、开发抗肝纤维化药物并应用到临床.

文章亮点

实验背景

虽然随着人们生活水平的提高及乙肝疫苗接种, 我国乙型肝炎发病率逐年降低, 但是酒精性及丙型肝炎引起的肝硬化却并不少见, 研究数据显示, 感染人员就诊者不足1/3, 简直是冰山一角, 长期不管理的结果便是肝硬化甚至迅速进展至肝癌, 肝硬化是各种慢性肝病的晚期阶段, 治疗效果差, 且耗费大量资源, 慢性乙型病毒性肝炎

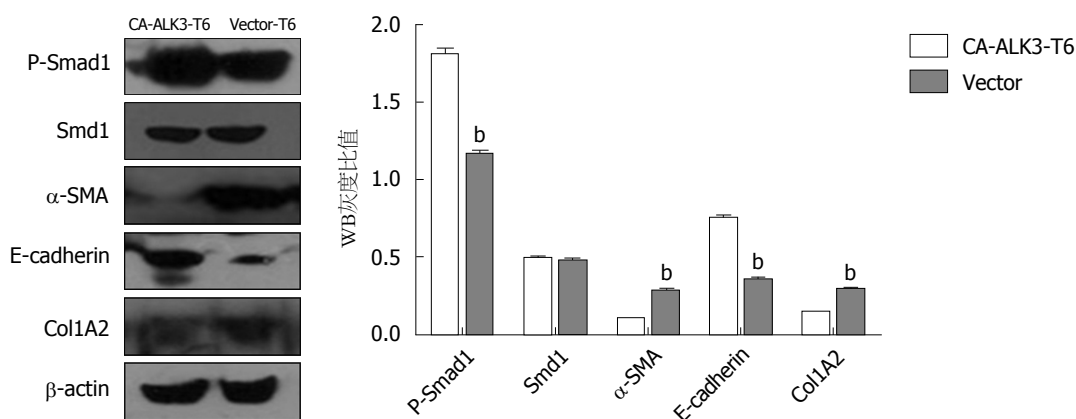


图 4 Western blotting方法检测相关蛋白水平表达。CA-ALK3-T6: HSC-T6转染重组质粒pcDNA3-HSAL-ALK3稳定表达细胞; Vector-T6: HSC-T6转染空载质粒对照细胞株。^b $P < 0.001$, 与CA-ALK3-T6比较。

临床治愈(珠峰)工程项目、国家“十二五”传染病重大专项等课题对于肝硬化的研究及治疗有巨大的贡献,但目前仍未研究出并适用临床的有效逆转肝硬化方法。

实验动机

拟通过探讨肝硬化分子发生机制找到逆转的肝硬化关键靶点。

实验目标

本实验观察到通过研究BMP7及下游信号通路抑制肝纤维化与肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)能逆转肝硬化核心细胞HSCs。

实验方法

倒置相差显微镜、MTT、半定量PCR、western-blotting。

实验结果

本文实验研究达到我们预期的结果,印证了肝纤维化分子发生发展机制,我们观察到持续活化的HSCs增殖受到抑制,并且向未活化方向逆转,探索了其中的分子机制,磷酸化的smad1水平显著升高,α-SMA和I型胶原蛋白表达下调,而E-cadherin表达上调。本研究提示BMP7有望成为肝纤维化的分子治疗靶点。

实验结论

本研究采用持续活化型ALK3的新方法,进一步探索了肝纤维化分子发病机制,观察到肝纤维化关键细胞HSCs活化有逆转,进一步印证BMP7有望成为肝纤维化分子治疗靶点,为将来肝纤维化的治疗提供新的契机。

展望前景

本实验采取成熟的实验方法,提出了我们的观点,但通过评审专家的意见确实有些忽略之处,会吸取经验教训,使实验更加严谨,本研究未来研究方向是动物模型的研究,未来研究方法的最佳方法仍主要以分子生物学研究方法为主。

4 参考文献

- Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247-2250 [PMID: 10644669 DOI: 10.1074/jbc.275.4.2247]
- Yue HY, Yin C, Hou JL, Zeng X, Chen YX, Zhong W, Hu PF, Deng X, Tan YX, Zhang JP, Ning BF, Shi J, Zhang X, Wang HY, Lin Y, Xie WF. Hepatocyte nuclear factor 4alpha attenuates hepatic fibrosis in rats. *Gut* 2010; 59: 236-246 [PMID: 19671543 DOI: 10.1136/gut.2008.174904]
- Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 76-99 [PMID: 16563223 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2006.tb00292.x]
- Yu F, Geng W, Dong P, Huang Z, Zheng J. LncRNA-MEG3 inhibits activation of hepatic stellate cells through SMO protein and miR-212. *Cell Death Dis* 2018; 9: 1014 [PMID: 30282972 DOI: 10.1038/s41419-018-1068-x]
- Weiskirchen R, Meurer SK, Gressner OA, Herrmann J, Borkham-Kamphorst E, Gressner AM. BMP-7 as antagonist of organ fibrosis. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2009; 14: 4992-5012 [PMID: 19482601 DOI: 10.2741/3583]
- Fabregat I, Caballero-Díaz D. Transforming Growth Factor-β-Induced Cell Plasticity in Liver Fibrosis and Hepatocarcinogenesis. *Front Oncol* 2018; 8: 357 [PMID: 30250825 DOI: 10.3389/fonc.2018.00357]
- Zeisberg M, Hanai J, Sugimoto H, Mammoto T, Charytan D, Strutz F, Kalluri R. BMP-7 counteracts TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury. *Nat Med* 2003; 9: 964-968 [PMID: 12808448 DOI: 10.1038/nm888]
- Wrana JL, Attisano L, Wieser R, Ventura F, Massagué J.

- Mechanism of activation of the TGF- β receptor. *Nature* 1994; 37: 341-347 [PMID: 8047140 DOI: 10.1038/370341a0]
- 9 Zeisberg M. Bone morphogenic protein-7 and the kidney: current concepts and open questions. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 568-573 [PMID: 16373388 DOI: 10.1093/ndt/gfk010]
- 10 Wang S, Hirschberg R. Bone morphogenetic protein-7 signals opposing transforming growth factor beta in mesangial cells. *J Biol Chem* 2004; 279: 23200-23206 [PMID: 15047707 DOI: 10.1074/jbc.M311998200]
- 11 王丽惠, 程变巧, 朱琪, 林伟国. TGF- β 1诱导大鼠肝星状细胞系HSC-T6活化及上皮间质转换. *基础医学与临床* 2017; 37: 1257-1262 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-6325.2017.09.12]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 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版权转让给本刊编辑部.

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期发回的, 作重新投稿处理.

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有. 编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、荷兰《医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》等国外相关文摘与检索系统收录.

长链非编码RNA MALAT1在大肠癌中的表达及其临床意义: 基于多基因表达数据库分析

倪雅懿, 薛丽华, 张培, 朱广博

倪雅懿, 薛丽华, 张培, 朱广博, 天津市人民医院检验科 天津市 300121

倪雅懿, 主管技师, 主要从事结直肠癌临床检验工作与研究。

作者贡献分布: 此课题由倪雅懿与朱广博设计; 研究过程由倪雅懿、薛丽华及张培操作完成; 数据分析由倪雅懿与薛丽华完成; 本论文写作由倪雅懿及广博完成。

通讯作者: 朱广博, 主任技师, 300121, 天津市红桥区芥园道190号, 天津市人民医院检验科. 3529769795@qq.com
电话: 022-27557516

收稿日期: 2019-04-03

修回日期: 2019-06-05

接受日期: 2019-06-25

在线出版日期: 2019-07-08

MALAT1 gene expression in colorectal cancer and its clinical significance: Data mining based on multiple gene expression databases

Ya-Yi Ni, Li-Hua Xue, Pei Zhang, Guang-Bo Zhu

Ya-Yi Ni, Li-Hua Xue, Pei Zhang, Guang-Bo Zhu, Clinical Laboratory, Tianjin People's Hospital, Tianjin 300121, China

Corresponding author: Guang-Bo Zhu, Chief Technician, Clinical Laboratory, Tianjin People's Hospital, 190 Jieyuan Road, Hongqiao District, Tianjin 300121, China. 3529769795@qq.com

Received: 2019-04-03

Revised: 2019-06-05

Accepted: 2019-06-25

Published online: 2019-07-08

Abstract

BACKGROUND

Colorectal cancer (CRC) is the most common malignant tumor of the digestive system. Long-chain non-

coding RNAs (lncRNAs) play an important role in the occurrence, development, invasion and metastasis of CRC. MALAT1 is a newly discovered lncRNA, and its role in CRC and its relationship with prognosis are not completely clear.

AIM

To explore the differential expression of the lncRNA MALAT1 in CRC and its clinical significance by using bioinformatics data mining technology.

METHODS

BioGPS database was used to analyze the expression of MALAT1 in normal intestinal epithelium. Oncomine was used to meta-analyze the differential expression of MALAT1 in CRC tissue and normal intestinal epithelium tissue, and to analyze the difference of survival time between patients with high and low expression of MALAT1. Protein interaction network analysis was performed based on the STRING database to analyze the proteins that potential interact with MALAT1.

RESULTS

The relative expression of MALAT1 in normal colorectal tissues was low. In Oncomine database, there were eight studies on differential expression of CRC, six of which suggested high expression of MALAT1 in CRC and two suggested low expression. The microarray data of 18 CRC and matched normal tissues were compared. The expression of MALAT1 in CRC tissues was significantly higher than that in normal tissues ($P = 0.027$). There was no significant difference in MALAT1 expression between colon cancer and normal tissues ($P = 0.149$), but the expression of MALAT1 in rectal cancer was significantly higher than that in normal tissues ($P = 1.04 \times 10^{-5}$). Kaplan-Meier Plotter analysis demonstrated that the overall survival time of the high and low MALAT1 expression

groups was 41.93 months and 52.2 months, respectively, with no significant difference ($HR = 0.64$, $95\%CI: 0.29-1.39$, $P = 0.25$). The possible interaction proteins of MALAT1 were analyzed based on the String database. The results showed that MALAT1 interacts with TP53, SUZ12, CDK4, KDMA, etc. Co-expression analysis showed that MALAT1 protein was co-expressed with EZH2, TP53, SRSF1, and other genes, suggesting that these genes may have similar functions.

CONCLUSION

The expression level of MALAT1 gene in CRC tissues is significantly up-regulated, but there is no correlation between MALAT1 expression and the prognosis of patients. MALAT1 interacts with TP53, SUZ12, CDK4, and KDMA proteins. These interacting proteins include Polycomb-group proteins, cyclin-dependent protein kinase and so on, which are related to gene expression control, transcriptional regulation, and cell division.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Breast cancer; MALAT1 gene expression; Data mining; Bioinformatics

Ni YY, Xue LH, Zhang P, Zhu GB. MALAT1 gene expression in colorectal cancer and its clinical significance: Data mining based on multiple gene expression databases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 814-821

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/814.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.814>

摘要

背景

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是临床中最为常见的消化系统恶性肿瘤,近年来长链非编码RNA(long-chain non-coding RNA, lncRNA)在CRC发生、发展及侵袭转移中发挥重要作用。MALAT1为新近发现的lncRNA,其在CRC中的作用及与患者预后的关系并不十分清楚。

目的

应用生物信息数据挖掘技术探讨lncRNA MALAT1在大肠癌中的差异表达及其临床意义。

方法

应用BioGPS数据库分析正常肠上皮中MALAT1的表达情况。在肿瘤芯片表达数据库Oncomine中荟萃分析大肠癌组织与正常肠上皮组织MALAT1的差异表达并分析MALAT1高、低表达与患者生存期是否存在相关性。在STRING数据库中应用蛋白相互作用网络分析与MALAT1相互作用及共表达的相关蛋白。

结果

MALAT1在正常大肠癌组织中的相对表达量较低。Oncomine数据库中,大肠癌差异表达的研究8项,其中6项在大肠癌中高表达,2项低表达。比较大肠癌与对应正常组织的相关芯片数据为18个。大肠癌组织中MALAT1表达水平显著高于正常组织($P = 0.027$)。按结肠癌与直肠癌进亚组分析,结肠癌组织与正常组织MALAT1表达水平无统计学差异($P = 0.149$),而直肠癌组织中MALAT1表达水平明显高于对应正常组织($P = 1.04 \times 10^{-5}$)。在Kaplan-Meier Plotter数据平台中分析MALAT1高、低表达组总生存期分别为41.93 mo和52.2 mo,差异无统计学意义($HR = 0.64$, $95\%CI: 0.29-1.39$, $P = 0.25$)。String数据库中分析与MALAT1可能相互作用的蛋白,结果显示MALAT1与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA,等具有相互作用关系。共表达分析显示MALAT1与EZH2, TP53, SRSF1等基因具有共表达关系,提示这些基因在功能上可能具有相似性。

结论

大肠癌组织中MALAT1基因表达水平明显上调,但MALAT1表达水平与患者预后并无相关性。MALAT1与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA蛋白相互作用,上述相互作用蛋白包括多梳蛋白家族,周期蛋白依赖性蛋白激酶等,与肿瘤的基因表达、转录调控及细胞分裂有关。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 大肠癌; MALAT1基因; 差异表达; 预后; 生物信息; 数据挖掘

核心提要: 本文通过生物信息学数据深入挖掘,初步探讨并明确了长链非编码RNA MALAT1在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中表达水平、相关信号通路及其与患者预后的关系。研究认为, MALAT1在CRC患者癌组织中的表达水平明显高于癌旁正常组织。MALAT1与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA等具有相互作用关系且MALAT1与EZH2, TP53, SRSF1等基因具有共表达关系,提示这些基因在功能上可能具有相似性。但由于样本量、检测方法等原因,研究结果并未发现MALAT1表达水平与CRC患者预后有关。因此, MALAT1表达水平与CRC患者预后的关系有待进一步研究。

倪雅懿, 薛丽华, 张培, 朱广博. 长链非编码RNA MALAT1在大肠癌中的表达及其临床意义: 基于多基因表达数据库分析. *世界华人消化杂志* 2019; 27(13): 814-821

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/814.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.814>

0 引言

大肠癌是全世界范围内最为常见的消化系统恶性肿瘤之一,也是肿瘤相关死亡的重要原因。2015年我国常见肿瘤的流行病学调查显示,当年我国大肠癌新发病例为376300例,因大肠癌死亡的人数为19100例,大肠癌已成为我国居民死亡的重要原因之一^[1]。随着环境和饮食习惯的改变,我国结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的发病率和死亡率分布具有以下特点:男性高于女性,城市高于农村,发病率和死亡率均随年龄增长而上升。大肠癌患者早期行根治术,预后较好,5年生存率较高,而晚期已发生转移的患者预后较差。因此,探寻CRC侵袭、转移的分子机制及预后预测指标成为研究热点。

近年来大量文献报道,长链非编码RNA(long-chain non-coding RNA, lncRNA)在剂量补偿效应、表观遗传调控、细胞周期调控、细胞分化、细胞凋亡衰老及肿瘤发生、发展调控方面发挥重要作用^[2,3]。lncRNA MALAT1(metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1)是近年来研究的较多的肿瘤转移相关因子。其在肺腺癌中高表达并与肺腺癌细胞侵袭转移能力有关。而MALAT1在大肠癌中的表达情况及其临床意义鲜有报道。

1 材料和方法

1.1 材料 MALAT1为近年来发现的lncRNA,既往研究认为其与肿瘤的转移有关。我们首先在BioGPS(<http://biogps.org/#goto=welcome>)数据库中分析人类正常肠上皮组织中MALAT1的表达情况;然后在肿瘤基因表达芯片数据库Oncomine(<https://www.oncomine.org/>)中分析大肠癌组织与正常肠上皮是否存在MALAT1的差异表达(荟萃分析多个基因芯片数据);同时根据高、低表达分为2组,并计算MALAT1高表达与低表达组有无生存期差异,数据来源与Kaplan-Meier Plotter(<http://kmplot.com/analysis/>);最后应用蛋白相互作用数据库STRING(<https://string-db.org/cgi/input.pl>)预测MALAT1可能相互作用的蛋白及共表达情况。

1.2 方法

1.2.1 BioGPS数据库:在BioGPS数据库中输入MALAT1,检索出人体大部分组织中MALAT1的相对表达量。

1.2.2 Oncomine数据库:Oncomie数据库检索MALAT1基因,分析MALAT1基因在人体肿瘤与对应的正常组织中的相对表达情况。设置条件为:(1)大肠癌(colorectal carcinoma/colon cancer/rectal cancer);(2)标本来源为手术切除标本;(3)组织对比为大肠癌组织与正常肠上皮组织;(4)数据类型为mRNA;(5)显著性 P 值 <0.0001 ;(6)表达差异为基因上调或下调大于2倍;(7)基因排序为前

10%。

1.2.2 Kaplan-Meier Plotter数据库:在该数据总根据MALAT1在癌及正常组织中的总体中位表达水平分为高、低表达组。应用生存曲线,分析两组的总生存有无差异。

1.2.3 String 数据库蛋白相互作用分析:在该数据库中,对MALAT1蛋白相关的蛋白网络进行分析,筛选条件为相关性大于0.9。同时进行共表达分析,绘制共表达和相关网络图。

统计学处理 数据分析采用STATA 10.0软件完成,计量资料应用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,应用 t 检验;计数采用率表示,应用chi-square检验;生存分析首先绘制生存曲线,并采用log-rank检验, $P < 0.05$ 为存在统计学差异。

2 结果

2.1 MALAT1基因mRNA在肿瘤与正常组织差异表达 BioGPS数据库分析正常结直肠组织中MALAT1的相对表达情况。MALAT1在正常结直肠组织中的相对表达量较低(图1)。Oncomine数据库中, lncRNA MALAT1基因mRNA肿瘤:正常组织表达研究220项,其中高表达13项,低表达13项。大肠癌中差异表达的研究8项,其中6项在肠癌中高表达,2项低表达(图2A和表1)。比较大肠癌与对应正常组织的相关芯片数据为18个(来自9项研究^[4-12]),整体分析显示,大肠癌组织中MALAT1表达水平显著高于正常组织($P = 0.027$)(图2B)。按结肠癌与直肠癌进展亚组分析,结肠癌组织与正常组织MALAT1表达水平无统计学差异($P = 0.149$)(图2C)。而直肠癌组织中MALAT1表达水平明显高于对应正常组织($P = 1.04 \text{ E-}5$)(图2D)。

2.2 MALAT1 mRNA表达与患者预后关系 在Kaplan-Meier Plotter数据平台中分析大肠癌患者MALAT1高低表达与患者生存期的关系, MALAT1高、低表达组总生存期分别为41.93 mo和52.2 mo,差异无统计学意义($\text{HR} = 0.64$, 95%CI: 0.29-1.39, $P = 0.25$)(图3)。

2.3 MALAT1可能相互作用蛋白网络 在String数据库中分析与MALAT1可能相互作用的蛋白,结果显示MALAT1与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA, 等具有相互作用关系(图4)。上述相互作用蛋白包括多梳蛋白家族,周期蛋白依赖性蛋白激酶等,与肿瘤的基因表达控制、转录调控及细胞分裂有关。共表达分析显示MALAT1蛋白与EZH2, TP53, SRSF1等基因具有共表达关系(图5),提示这些基因在功能上可能具有相似性。

3 讨论

lncRNA是一类长度大于200nt的非编码RNA转录本,曾

表 1 MALAT1基因mRNA在大肠癌组织与正常组织差异表达

分组	研究数(n)	高表达数(n)	Median Rank	P值
结直肠肿瘤	18	5	6460.0	0.027
结肠肿瘤	12	1	8049.0	0.149
直肠肿瘤	6	4	563.0	1.04 E-5

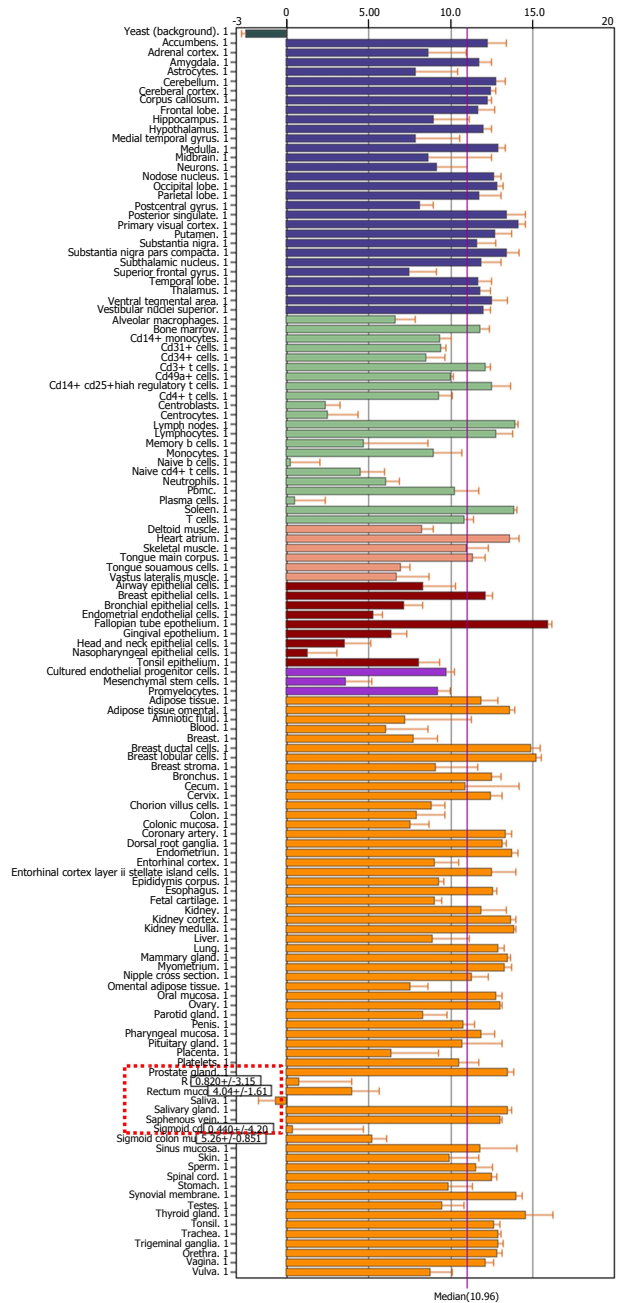


图 1 BioGPS数据库分析正常结直肠组织中MALAT1的相对表达情况.

被认为是转录“噪音”. 最初被认为由于其不具备开放阅读框ORF无法被进一步翻译成蛋白质而无生物学功

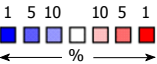
能, 是转录过程中的副产品. 然而随着研究的深入, 越来越多的报道认为lncRNA可参与调控许多重要的生物学过程, 包括细胞分化、增殖、凋亡、多能干细胞重编程等^[13]. 目前认为lncRNA的作用机制主要有: 转录并招募相关因子干扰蛋白质编码基因的表达; 通过组蛋白修饰等介导染色质重构, 从而影响下游基因的表达; 通过与mRNA形成互补双链对转录后的mRNA进行选择性的剪接; 作为内源性siRNA发挥作用; 通过与相关蛋白相互作用, 调节其定位和/或其分子结构从而影响其活性^[14-17].

MALAT1是较早发现的一类与转录本加工有关的lncRNA. 2003年Ji等^[18]在对非小细胞肺癌患者的组织标本进行研究时发现, 在转移患者的组织中MALAT1表达水平明显高于非转移组织. 此后的功能学研究显示, MALAT1由DNA转录后的3'端加工而来, 其主要位于剪切斑点附近^[19]. MALAT1可与丝氨酸/精氨酸(Ser/Arg)剪接因子间存在相互作用, 并还通过调控剪接因子在剪接斑点中的分布和磷酸化水平, 使mRNA前体的选择性剪接模式发生改变从而达到调控转录本剪接模式的分子生物学功能. MALAT1被认为是与肺癌转移相关的重要lncRNA. 在肺癌转移病灶中, MALAT1的表达水平显著增高, 因而推测其与肺癌的发生转移有关.

MALAT1在肺癌中的研究较多, 且大多数研究认为MALAT1高表达与肺癌的恶性生物学行为及预后不良有关^[20-22]. 但MALAT1在肠癌中的表达情况及其与患者的预后关系报道并不多见, 且各研究的结论也并不完全一致. 杨孜欢等^[23]人分析了LncRNA MALAT1表达与CRC侵袭和转移的关系, 结果认为MALAT1低表达与CRC侵袭和转移密切相关, 并且这一相关性是通过调控Rac1b的表达实现的. 而姚坤厚等^[24]人的研究认为CRC中异常高表达的MALAT1可促进细胞迁移侵袭, 该功能可能是通过调节上皮-间充质转化实现的. 上述两个研究在MALAT1在肠癌中的表达水平方面得出了相反的结论. 因此, 在本研究中, 我们对多个数据库中关于MALAT1在肠癌中的表达情况及临床意义进行了深入挖掘, 以期明确MALAT1在肠癌中的真实表达情况. 研究结果认为, 大肠癌组织中MALAT1基因表达水平明显上调, 但MALAT1表达水平与患者预后并无相关性. MALAT1蛋白与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA蛋白相互作用, 上述相互作用蛋白包括多梳蛋白家族, 周期蛋白依赖性蛋白激酶等, 与肿瘤的基因表达控制、转录调控及细胞分裂有关. 本研究为进一步分析MALAT1在肠癌中的表达、生物学功能及与其他基因相互作用的信号通路提供了依据. 同时也在一定程度上证实MALAT1作

Disease summary for MALAT1

Analysis type by cancer	Cancer vs. Normal
Bladder cancer	
Brain and CNS cancer	
Breast cancer	
Cervical cancer	
Colorectal cancer	
Esophageal cancer	
Gastric cancer	
Head and neck cancer	
Kidney cancer	
Leukemia	
Liver cancer	
Lung cancer	
Lymphoma	
Melanoma	
Myeloma	
Other cancer	
Ovarian cancer	
Pancreatic cancer	
Prostate cancer	
Sarcoma	
Significant unique analyses	13 13
Total unique analyses	220



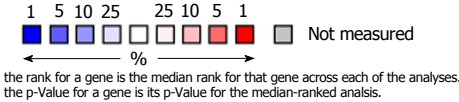
A

Comparison of MALAT1 across 18 analyses
Over-expression

Median rank	P-Value	Gene
6460.0	0.027	MALAT1

Legend

1. Rectal adenocarcinoma vs. Normal
Gaedcke colorectal, Genes Chromosomes Cancer, 2010
2. Colorectal adenoma epithelia vs. Normal
Gaspar colon, Am J Pathol, 2008
3. Colorectal carcinoma vs. Normal
Gaudens colon, Genome Biol, 2006
4. Colorectal carcinoma vs. Normal
Hong colorectal, Clin Exp Metastasis, 2010
5. Colon adenocarcinoma vs. Normal
Kaiser colon, Genome Biol, 2007
6. Rectal adenocarcinoma vs. Normal
Kaiser colon, Genome Biol, 2007
7. Rectal mucinous adenocarcinoma vs. Normal
Kaiser colon, Genome Biol, 2007
8. Rectosigmoid adenocarcinoma vs. Normal
Kaiser colon, Genome Biol, 2007
9. Colon adenoma vs. Normal
Sabates-bellver colon, Mol Cancer Res, 2007
10. Rectal adenoma vs. Normal
Sabates-bellver colon, Mol Cancer Res, 2007
11. Colorectal carcinoma vs. Normal
Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010
12. Colorectal carcinoma vs. Normal
Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010
13. Colon adenoma epithelia vs. Normal
Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010
14. Colon adenoma vs. Normal
Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010
15. Colon carcinoma epithelia vs. Normal
Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010
16. Colon carcinoma vs. Normal
Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010
17. Rectosigmoid adenocarcinoma vs. Normal
TCGA colorectal, No Associated Paper, 2011
18. Colon carcinoma vs. Normal
Zou colon, Oncogene, 2002



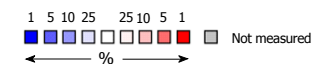
B

Comparison of MALAT1 across 12 analyses
Over-expression

Median rank	P-Value	Gene
8049.0	0.149	MALAT1

Legend

1. Colorectal adenoma epithelia vs. Normal
Gaspar colon, Am J Pathol, 2008
2. Colorectal carcinoma vs. Normal
Gaudens colon, Genome Biol, 2006
3. Colorectal carcinoma vs. Normal
Hong colorectal, Clin Exp Metastasis, 2010
4. Colon adenocarcinoma vs. Normal
Kaiser colon, Genome Biol, 2007
5. Colon adenoma vs. Normal
Sabates-bellver colon, Mol Cancer Res, 2007
6. Colorectal adenocarcinoma vs. Normal
Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010
7. Colorectal carcinoma vs. Normal
Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010
8. Colon adenoma epithelia vs. Normal
Skrzypczak Colorectal 2, PLoS One, 2010
9. Colon adenoma vs. Normal
Skrzypczak Colorectal 2, PLoS One, 2010
10. Colon carcinoma epithelia vs. Normal
Skrzypczak Colorectal 2, PLoS One, 2010
11. Colon carcinoma vs. Normal
Skrzypczak Colorectal 2, PLoS One, 2010
12. Colon carcinoma vs. Normal
Zou colon, Oncogene, 2002



the rank for a gene is the median rank for that gene across each of the analyses.
the p-Value for a gene is its p-Value for the median-ranked analysis.

C

Comparison of MALAT1 across 6 analyses
Over-expression

Median rank	P-Value	Gene
563.0	1.04E-5	MALAT1

Legend

1. Rectal adenocarcinoma vs. Normal
Gaedcke colorectal, Genes Chromosomes Cancer, 2010
2. Rectal adenocarcinoma vs. Normal
Kaiser colon, Genome Biol, 2007
3. Rectal mucinous adenocarcinoma vs. Normal
Kaiser colon, Genome Biol, 2007
4. Rectosigmoid adenocarcinoma vs. Normal
Kaiser colon, Genome Biol, 2007
5. Rectal adenoma vs. Normal
Sabates-bellver colon, Mol Cancer Res, 2007
6. Rectosigmoid adenocarcinoma vs. Normal
TCGA colorectal, No Associated Paper, 2011



the rank for a gene is the median rank for that gene across each of the analyses.
the p-Value for a gene is its p-Value for the median-ranked analysis.

D

图 2 MALAT1 mRNA在大肠癌与正组织中的差异表达荟萃分析. A: MALAT1 mRNA常见肿瘤组织与对应正常组织中的表达; B: 大肠癌组织与对应正常组织MALAT1 mRNA表达比较; C: 结肠癌组织与对应正常组织MALAT1 mRNA表达比较; D: 直肠癌组织与对应正常组织MALAT1 mRNA表达比较.

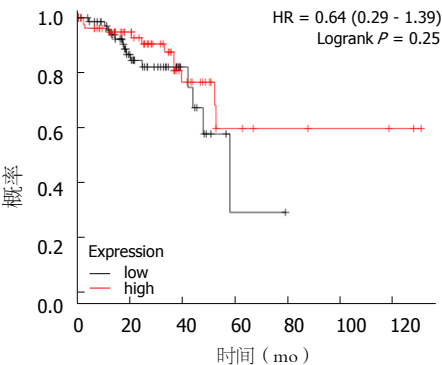


图 3 MALAT1基因表达水平与大肠癌患者预后的生存曲线.

为大肠癌预后分子标志物的可行性不强.

文章亮点

实验背景

长链非编码RNA(Long-chain non-coding RNA, LncRNA)在肿瘤中的作用为近年研究热点, MALAT1在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中的表达及其相关分子生物学功能不清. 其与患者预后关系仍存在争议. 因此, 我们采用生物信息学方法, 探讨MALAT1在CRC患者癌组织和癌旁组织中的差异表达、相关信号通路及与患者的关系.

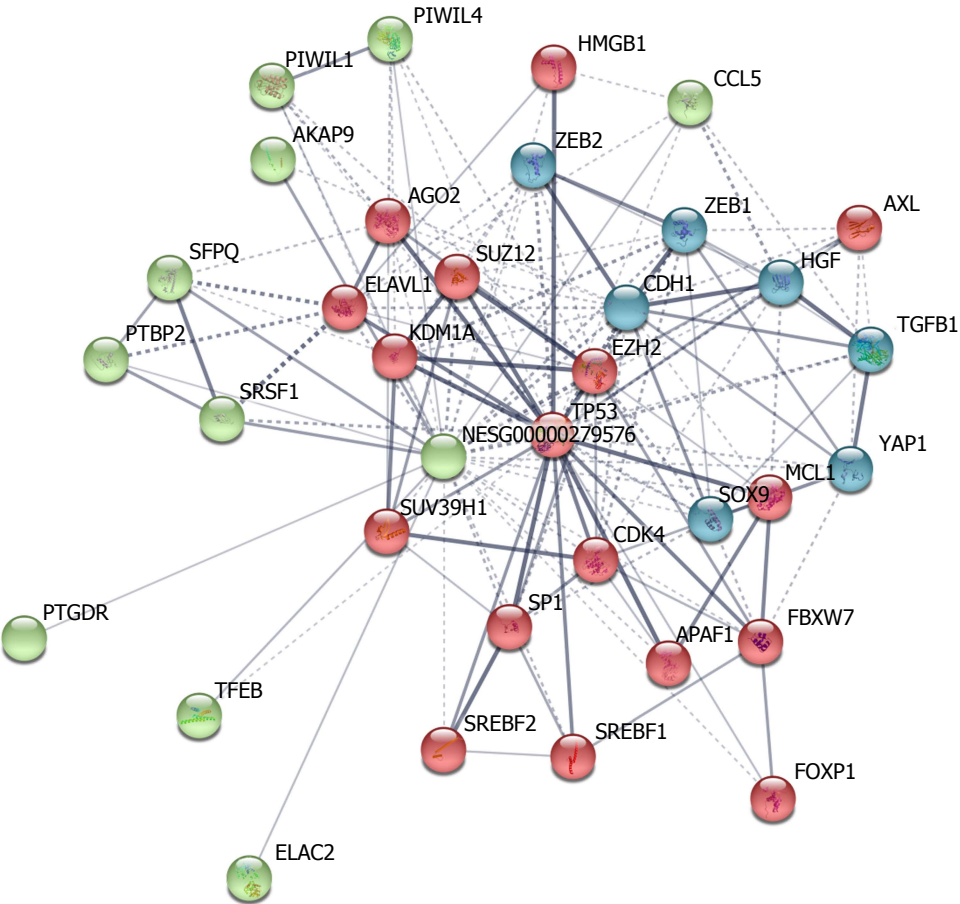


图 4 MALAT1与-蛋白相互作用网络图.

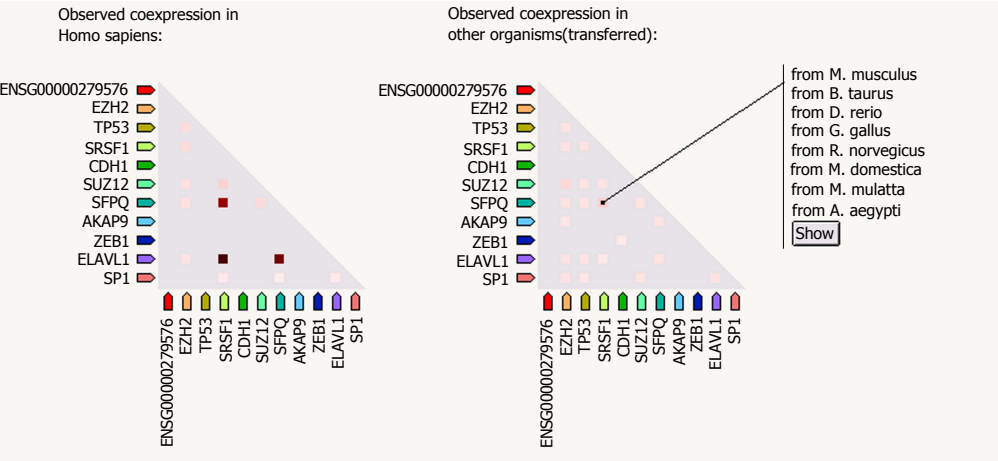


图 5 MALAT1基因共表达情况.

实验动机

本文通过分析基因芯片表达数据库中关于MALAT1表达与CRC的关系, 明确其在CRC患者组织中的表达、相关信号通路及与预后的相关性。

实验目标

明确LncRNA在肠癌中的差异表达, MALAT1在肠癌发生中的信号通路相关蛋白及其在患者预后评价中的作用。

实验方法

BioGPS数据库分析正常肠上皮中MALAT1的表达情况。然后再Oncomine数据库中综合分析大肠癌组织与正常肠上皮组织MALAT1的差异表达, 并分析MALAT1高、低表达与患者生存期是否存在相关性。应用STRING数据库中蛋白相互作用网络分析与MALAT1相互作用及共表达的相关信号通路蛋白。

实验结果

大肠癌组织中MALAT1表达水平显著高于正常组织。MALAT1高、低表达组总生存期无统计学差异。MALAT1与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA, 等具有相互作用关系而与EZH2, TP53, SRSF1等基因具有共表达关系。

实验结论

CRC患者癌组织中MALAT1基因表达水平明显上调, 但与患者预后并无明显相关性。MALAT1与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA蛋白相互作用并与细胞的转录调控及分裂有关。

展望前景

MALAT1高低表达是否有肠癌患者预后相关仍存有争议, 需要高质量前瞻性研究进行证实。MALAT1具体调控肠癌细胞发生、发展和侵袭转移的分子机制有待相关分子生物学研究进一步验证。

4 参考文献

- 1 Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115-132 [PMID: 26808342 DOI: 10.3322/caac.21338]
- 2 Deniz E, Erman B. Long noncoding RNA (lincRNA), a new paradigm in gene expression control. *Funct Integr Genomics* 2017; 17: 135-143 [PMID: 27681237 DOI: 10.1007/s10142-016-0524-x]
- 3 Bink DI, Lozano-Vidal N, Boon RA. Long Non-Coding RNA in Vascular Disease and Aging. *Noncoding RNA* 2019; 5 [PMID: 30893946 DOI: 10.3390/ncrna5010026]
- 4 Kaiser S, Park YK, Franklin JL, Halberg RB, Yu M, Jessen WJ, Freudenberg J, Chen X, Haigis K, Jegga AG, Kong S, Sakthivel B, Xu H, Reichling T, Azhar M, Boivin GP, Roberts RB, Bissahoyo AC, Gonzales F, Bloom GC, Eschrich S, Carter SL, Aronow JE, Kleimayer J, Kleimayer M, Ramaswamy V,

- Settle SH, Boone B, Levy S, Graff JM, Doetschman T, Groden J, Dove WF, Threadgill DW, Yeatman TJ, Coffey RJ Jr, Aronow BJ. Transcriptional recapitulation and subversion of embryonic colon development by mouse colon tumor models and human colon cancer. *Genome Biol* 2007; 8: R131 [PMID: 17615082 DOI: 10.1186/gb-2007-8-7-r131]
- 5 National Cancer Institute. The Cancer Genome Atlas - Colon and Rectum Adenocarcinoma Gene Expression Data. Available from: <http://tcga-data.nci.nih.gov/tcga/>
- 6 Zou TT, Selaru FM, Xu Y, Shustova V, Yin J, Mori Y, Shibata D, Sato F, Wang S, Olaru A, Deacu E, Liu TC, Abraham JM, Meltzer SJ. Application of cDNA microarrays to generate a molecular taxonomy capable of distinguishing between colon cancer and normal colon. *Oncogene* 2002; 21: 4855-4862 [PMID: 12101425 DOI: 10.1038/sj.onc.1205613]
- 7 Gaspar C, Cardoso J, Franken P, Molenaar L, Morreau H, Möslin G, Sampson J, Boer JM, de Menezes RX, Fodde R. Cross-species comparison of human and mouse intestinal polyps reveals conserved mechanisms in adenomatous polyposis coli (APC)-driven tumorigenesis. *Am J Pathol* 2008; 172: 1363-1380 [PMID: 18403596 DOI: 10.2353/ajpath.2008.070851]
- 8 Graudens E, Boulanger V, Mollard C, Mariage-Samson R, Barlet X, Grémy G, Couillault C, Lajémi M, Piatier-Tonneau D, Zaborski P, Eveno E, Auffray C, Imbeaud S. Deciphering cellular states of innate tumor drug responses. *Genome Biol* 2006; 7: R19 [PMID: 16542501 DOI: 10.1186/gb-2006-7-3-r19]
- 9 Hong Y, Downey T, Eu KW, Koh PK, Cheah PY. A 'metastasis-prone' signature for early-stage mismatch-repair proficient sporadic colorectal cancer patients and its implications for possible therapeutics. *Clin Exp Metastasis* 2010; 27: 83-90 [PMID: 20143136 DOI: 10.1007/s10585-010-9305-4]
- 10 Sabates-Bellver J, Van der Flier LG, de Palo M, Cattaneo E, Maake C, Rehauer H, Laczko E, Kurowski MA, Bujnicki JM, Menigatti M, Luz J, Ranalli TV, Gomes V, Pastorelli A, Faggiani R, Anti M, Jiricny J, Clevers H, Marra G. Transcriptome profile of human colorectal adenomas. *Mol Cancer Res* 2007; 5: 1263-1275 [PMID: 18171984 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-07-0267]
- 11 Gaedcke J, Grade M, Jung K, Camps J, Jo P, Emons G, Gehoff A, Sax U, Schirmer M, Becker H, Beissbarth T, Ried T, Ghadimi BM. Mutated KRAS results in overexpression of DUSP4, a MAP-kinase phosphatase, and SMYD3, a histone methyltransferase, in rectal carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer* 2010; 49: 1024-1034 [PMID: 20725992 DOI: 10.1002/gcc.20811]
- 12 Skrzypczak M, Goryca K, Rubel T, Paziewska A, Mikula M, Jarosz D, Pachlewski J, Oledzki J, Ostrowski J. Modeling oncogenic signaling in colon tumors by multidirectional analyses of microarray data directed for maximization of analytical reliability. *PLoS One* 2010; 5 [PMID: 20957034 DOI: 10.1371/journal.pone.0013091]
- 13 Pan Y, Li C, Chen J, Zhang K, Chu X, Wang R, Chen L. The Emerging Roles of Long Noncoding RNA ROR (lincRNA-ROR) and its Possible Mechanisms in Human Cancers. *Cell Physiol Biochem* 2016; 40: 219-229 [PMID: 27855392 DOI: 10.1159/000452539]
- 14 Lu S, Su Z, Fu W, Cui Z, Jiang X, Tai S. Altered expression of long non-coding RNA GAS5 in digestive tumors. *Biosci Rep* 2019; 39 [PMID: 30606744 DOI: 10.1042/BSR20180789]
- 15 D'Angelo E, Agostini M. Long non-coding RNA and extracellular matrix: the hidden players in cancer-stroma cross-talk. *Noncoding RNA Res* 2018; 3: 174-177 [PMID: 30533566 DOI: 10.1016/j.ncrna.2018.08.002]
- 16 Li L, Wang Y, Zhang X, Huang Q, Diao Y, Yin H, Liu H. Long non-coding RNA HOXD-AS1 in cancer. *Clin Chim Acta* 2018;

- 487: 197-201 [PMID: 30290157 DOI: 10.1016/j.cca.2018.10.002]
- 17 Li S, Li J, Chen C, Zhang R, Wang K. Pan-cancer analysis of long non-coding RNA NEAT1 in various cancers. *Genes Dis* 2017; 5: 27-35 [PMID: 30258932 DOI: 10.1016/j.gendis.2017.11.003]
 - 18 Ji P, Diederichs S, Wang W, Böing S, Metzger R, Schneider PM, Tidow N, Brandt B, Buerger H, Bulk E, Thomas M, Berdel WE, Serve H, Müller-Tidow C. MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene* 2003; 22: 8031-8041 [PMID: 12970751 DOI: 10.1038/sj.onc.1206928]
 - 19 Wang J, Su L, Chen X, Li P, Cai Q, Yu B, Liu B, Wu W, Zhu Z. MALAT1 promotes cell proliferation in gastric cancer by recruiting SF2/ASF. *Biomed Pharmacother* 2014; 68: 557-564 [PMID: 24857172 DOI: 10.1016/j.biopha.2014.04.007]
 - 20 Guo F, Jiao F, Song Z, Li S, Liu B, Yang H, Zhou Q, Li Z. Regulation of MALAT1 expression by TDP43 controls the migration and invasion of non-small cell lung cancer cells in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 465: 293-298 [PMID: 26265046 DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.08.027]
 - 21 Guo F, Yu F, Wang J, Li Y, Li Y, Li Z, Zhou Q. Expression of MALAT1 in the peripheral whole blood of patients with lung cancer. *Biomed Rep* 2015; 3: 309-312 [PMID: 26137228 DOI: 10.3892/br.2015.422]
 - 22 Shen L, Chen L, Wang Y, Jiang X, Xia H, Zhuang Z. Long noncoding RNA MALAT1 promotes brain metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition in lung cancer. *J Neurooncol* 2015; 121: 101-108 [PMID: 25217850 DOI: 10.1007/s11060-014-1613-0]
 - 23 杨孜欢, 冯杏芝, 方乐莹, 黄丹丹, 汪建平. 长链非编码RNA MALAT1调控Rac1 b表达与结直肠癌侵袭和转移的关系. *中国病理生理杂志* 2015; 1417-1421 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2015.08.012]
 - 24 姚坤厚, 魏伦收, 马万里, 胡军红, 孟继明. 肺腺癌转移相关转录本1调控结直肠癌细胞迁移侵袭的机制. *中华实验外科杂志* 2016; 33: 1646-1648 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2016.06.065]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



异丙酚和依托咪酯复合瑞芬太尼对老年食管白斑胃镜下治疗患者呼吸功能及应激的影响分析

李新鹏, 王世民

李新鹏, 王世民, 天津市宁河区医院麻醉科 天津市 301500

李新鹏, 主治医师, 研究方向为临床麻醉研究工作(胃、肠镜等).

作者贡献分布: 此课题设计、研究过程及研究所用新试剂与分析均由李新鹏与王世民完成; 本论文写作由李新鹏完成.

通讯作者: 李新鹏, 主治医师, 301500, 天津市宁河区芦台镇沿河路23号, 天津市宁河区医院麻醉科. fhihf06@163.com

收稿日期: 2019-04-01

修回日期: 2019-05-27

接受日期: 2019-06-17

在线出版日期: 2019-07-08

Effect of anesthesia with propofol plus remifentanyl vs etomidate plus remifentanyl on respiratory function and stress in elderly patients with esophageal leukoplakia treated by gastroscopy

Xin-Peng Li, Shi-Min Wang

Xin-Peng Li, Shi-Min Wang, Department of Anesthesiology, Ninghe District Hospital, Tianjin 30150, China

Corresponding author: Xin-Peng Li, Attending Physician, Department of Anesthesiology, Ninghe District Hospital, 23 Yanhe Road, Lutai Town, Ninghe District, Tianjin 30150, China. fhihf06@163.com

Received: 2019-04-01

Revised: 2019-05-27

Accepted: 2019-06-17

Published online: 2019-07-08

Abstract

BACKGROUND

With the development of society and the advancement

of science and technology, the patient's requirements for comfort during gastroscopy are constantly increasing, and more attention has been paid to the possible adverse reactions. More and more patients choose to undergo painless gastroscopy. Elderly patients have vascular tolerance, significant organ function decline, and higher requirements for anesthetic drugs due to age and degenerative changes. Therefore, it is important to choose the correct anesthetic drugs during gastroscopy in elderly patients.

AIM

To compare the effects of anesthesia with propofol plus remifentanyl and etomidate plus remifentanyl on respiratory function and stress in elderly patients with esophageal leukoplakia.

METHODS

A total of 200 elderly patients (aged 62-73 years) with esophageal leukoplakia who underwent painless gastroscopy at the Endoscopy Center of our hospital from April 2018 to October 2018 were enrolled. The patients were randomly divided into either a control group or a study group, with 100 patients in each group. The control group was anesthetized with propofol and remifentanyl, and the study group was anesthetized with etomidate and remifentanyl. Serum oxygen saturation (SPO₂) and stress hormones (adrenocorticotrophic hormone, glucocorticoid, and angiotensin) before and at the end of treatment were compared between the two groups. Hemodynamics during treatment, adverse reactions during treatment, and the difference in time to recovery of spontaneous breathing time were also compared.

RESULTS

Serum levels of stress hormones in the two groups were comparable before treatment. At the end of treatment,

serum levels of stress hormones (adrenocorticotrophic hormone, glucocorticoid, and angiotensin) in the study group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). Hemodynamics was more stable in the study group ($P < 0.05$). SPO_2 was significantly higher in the study group than in the control group ($P < 0.05$). The rate of adverse reactions was significantly reduced in the study group ($P < 0.05$). However, the time to recovery of spontaneous breathing was significantly shorter in the control group than in the study group ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Compared with anesthesia with propofol plus remifentanyl, etomidate plus remifentanyl in elderly patients with esophageal leukoplakia can reduce inflammatory factors and stress hormones more significantly, maintain hemodynamics and intraoperative blood oxygenation saturation more stably, and have fewer adverse reactions, but is associated with longer time to recovery of spontaneous breathing.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Propofol; Etomidate; Remifentanyl; Old age; Esophageal leukoplakia; Gastroscopy; Respiratory function

Li XP, Wang SM. Effect of anesthesia with propofol plus remifentanyl vs etomidate plus remifentanyl on respiratory function and stress in elderly patients with esophageal leukoplakia treated by gastroscopy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 822-827 URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/822.htm> DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.822>

摘要

背景

随着社会发展和科技进步, 患者对胃镜的舒适度要求不断提高, 且更加关注其可能造成的不良反应, 越来越多的患者要求行无痛胃镜的检查和治疗。老年患者由于年龄增长及机体退行性改变, 出现血管耐受性、重要脏器功能下降, 对麻醉药物的要求更高, 因此选择正确的麻醉药物十分重要。

目的

对比观察异丙酚和依托咪酯复合瑞芬太尼对老年食管白斑内镜下治疗患者呼吸功能及应激的影响。

方法

选取2018-04/2018-10间在天津市宁河区医院内镜中心行无痛胃镜下治疗的200例老年食管白斑患者, 年龄为62-73岁, 采用随机数表法分为对照组和研究组, 每组100例患者, 对照组采用异丙酚复合瑞芬太尼麻醉, 研究组采用依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉。对比两组患者治疗前、治疗结束时血清中血氧饱和度

(oxygen saturation, SPO_2)、应激激素(促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素), 治疗时血流动力学, 治疗时不良反应及停止麻醉后恢复自主呼吸时间的差异。

结果

治疗前两组血清中应激激素水平基本一致, 治疗结束时研究组患者血清中应激激素(促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素)的水平明显低于对照组($P < 0.05$); 研究组术中血流动力学更加稳定($P < 0.05$); 研究组术中 SPO_2 也明显高于对照组($P < 0.05$); 出现不良反应的次数也明显减少($P < 0.05$); 但对照组恢复自主呼吸时间明显短于研究组($P < 0.05$)。

结论

依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉较异丙酚复合瑞芬太尼麻醉在老年食管白斑患者行胃镜治疗中炎症因子、应激激素减少, 血流动力学更加稳定, 且术中 SPO_2 维持好, 不良反应发生少, 可以在老年食管白斑患者行胃镜治疗中推荐使用, 但异丙酚复合瑞芬太尼麻醉术后恢复自主呼吸较快。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 异丙酚; 依托咪酯; 瑞芬太尼; 老年; 食管白斑; 胃镜; 呼吸功能

核心提要: 异丙酚或依托咪酯复合瑞芬太尼为目前常用无痛胃镜麻醉方式, 本研究发现在老年食管白斑无痛胃镜治疗中, 依托咪酯复合瑞芬太尼组患者, 应激激素水平较低、血流动力学更稳定、术中血氧饱和度维持较好且不良反应发生少; 异丙酚复合瑞芬太尼组术后恢复自主呼吸较快。

李新鹏, 王世民. 异丙酚和依托咪酯复合瑞芬太尼对老年食管白斑内镜下治疗患者呼吸功能及应激的影响分析. *世界华人消化杂志* 2019; 27(13): 822-827 URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/822.htm> DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.822>

0 引言

食管白斑多见于老年男性患者, 其主要临床表现为食管黏膜上出现白色斑块, 多为长期持续性刺激因素(如烈性烟酒、辛辣食物、过热饮食等)黏膜角化过度引起的^[1]。对病变面积扩大或经久不愈的患者采用胃镜治疗。胃镜是目前重要的消化系统疾病诊断和治疗方法, 在其检查和治疗过程中会对机体产生较大刺激, 引起患者不适感受或不良影响, 甚至诱发严重心脑血管及呼

吸系统疾病^[2,3]。随着社会发展和科技进步, 患者对胃镜的舒适度要求不断提高, 且更加关注其可能造成的不良反应, 越来越多的患者要求行无痛胃镜的检查和治疗^[4]。老年患者由于年龄增长及机体退行性改变, 出现血管耐受性、重要脏器功能下降, 对麻醉药物的要求更高, 因此选择正确的麻醉药物十分重要^[5,6]。本研究对两组患者分别采用异丙酚或依托咪酯复合瑞芬太尼两种麻醉方式, 对比观察内镜下治疗患者血清中炎症因子、血氧饱和度(oxygen saturation, SPO_2)、应激激素、血流动力学、术中不良反应, 及停止麻醉后恢复自主呼吸时间的差异, 以期寻找适当的麻醉药物组合指导临床应用。现将报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2018-04/2018-10天津市宁河区医院内镜中心行无痛胃镜治疗的200例老年食管白斑患者, 年龄62-73岁, 采用随机数表法分为两组, 所有患者均已知情两种不同的麻醉方式及风险, 且均自愿参与本研究。对照组年龄59-73岁, 平均年龄62.5岁 \pm 6.8岁; 研究组年龄61-69岁, 平均年龄63.8岁 \pm 5.2岁。纳入标准: (1)患者符合无痛胃镜下治疗的标准; (2)年龄60-80岁; (3)患者治疗前3 mo未进行胃镜检查; (4)患者治疗前6 mo未进行全身静脉麻醉。排除标准: (1)对异丙酚、依托咪酯和瑞芬太尼过敏; (2)合并严重器质性病变者; 合并全身感染性疾病; (3)有精神、心理障碍病史; (4)术前美国麻醉协会分级大于3级; (5)近期使用过激素、抗焦虑、抗抑郁及镇静催眠药物。

1.2 方法 所有患者检查前均禁食6 h、禁水4 h, 进入内镜室后连续监测无创血压、心电、 SPO_2 。取左侧卧位、开放左上肢静脉通路, 并在医生指导下调整体位。两组患者均先静脉注射瑞芬太尼(批号6170312, 宜昌人福药业)0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 随后缓慢静脉滴注异丙酚1.0-2.0 mg/kg (对照组)或依托咪酯0.15-0.3 mg/kg (研究组), 待麻醉平稳后, 开始行内镜下白斑治疗。治疗过程中密切监测患者生命体征, 若出现干呕、身体活动时, 对照组追加异丙酚15 mg , 研究组追加依托咪酯7.5 mg ; 若血压下降至基础血压70%以下时, 根据情况给予10 mg 麻黄碱升高血压; 心率下降至50次/分以下时, 根据情况给予0.5 mg 阿托品提升心率; SPO_2 长时间下降至90%以下时给予手动氧气面罩正压给氧。所有患者在治疗前、治疗结束时分别留取静脉血检测血清中应激激素(促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素)水平并记录; 同时记录治疗时血流动力学情况(血压、心率、呼吸频率)、 SPO_2 、不良反应(心律异常、血压过低、干呕、体动、 SPO_2 过低)出现次数及停止麻醉后恢复自主呼吸时间,

所有患者的基本资料见表1。

比较两组治疗前、治疗结束时血清中应激激素(促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素)水平; 比较两组治疗时血压、心电和 SPO_2 ; 对比两组患者不良反应出现次数及停止麻醉后恢复自主呼吸时间。

统计学处理 采用SPSS 21.0软件对获得的数据进行处理分析, 其中计数资料采用 χ^2 检验, 以%表示, 计量资料采用 t 检验, 以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 检验水准设定为 $\alpha = 0.05$, 当 $P < 0.05$ 时, 差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清应激激素水平的比较 两组患者在接受治疗前的血清中应激激素(促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素)水平基本一致, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组患者治疗结束时血清中应激激素水平较治疗前均大幅度提高, 且研究组患者治疗结束时应激激素水平较对照组明显偏低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表2。

2.2 治疗时血流动力学和 SPO_2 的比较 治疗前两组患者在血流动力学情况(血压、心率、呼吸频率)基本相同, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。在治疗时对照组患者收缩压、舒张压均大幅度低于研究组患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 同时对照组患者治疗时 SPO_2 也明显较研究组患者偏低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 但两组患者治疗时呼吸频率、心率基本一致, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表3。

2.3 两组不良反应发生率 两组患者均有不良反应的发生, 其中研究组患者治疗时明显患者较对照组平稳, 不良反应发生的次数明显少于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表4。

2.4 停止麻醉后恢复自主呼吸时间 对照组患者停止麻醉后恢复自主呼吸明显较快, 时间上大幅度低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表5。

3 讨论

近年来, 胃镜检查对临床医生的诊断帮助越来越大, 但有些患者因不能忍受检查时的不适及不良反应而拒绝, 导致病情的拖延^[7,8]。胃镜技术发展迅速, 无痛胃镜逐渐被更多人接受, 不再局限于上消化道系统疾病的检查和诊断, 内镜治疗越来越受到关注且拥有广阔的发展空间^[9], 本文旨在研究在胃镜下治疗老年食管白斑时适合老年患者的最佳麻醉方式。

瑞芬太尼是新研发出的阿片 μ 受体激动剂, 经静脉注射入人体后可在60 s左右血液浓度达到峰值, 极快的被机体水解吸收, 因此见效快、易被机体清除、无残留、对肝肾功能要求较低、麻醉苏醒时间短等特点^[10,11]。异

表 1 患者的基本资料 ($n = 100$, mean \pm SD)

分组	对照组	研究组
平均年龄(岁)	62.5 \pm 6.8	63.8 \pm 5.2
平均病程(年)	3.74 \pm 1.02	3.63 \pm 1.35
平均体质量(kg)	78.26 \pm 7.91	77.64 \pm 9.04
ASA分级	1.89 \pm 0.21	1.95 \pm 0.19
治疗前		
促肾上腺皮质激素(pg/mL)	11.28 \pm 1.78	11.25 \pm 1.65
糖皮质激素(pg/mL)	7.40 \pm 0.84	7.43 \pm 0.79
血管紧张素(pg/mL)	11.03 \pm 1.66	10.98 \pm 1.79

表 2 血清应激激素水平的比较 ($n=100$, mean \pm SD)

分组	对照组	研究组	t 值	P 值
促肾上腺皮质激素(pg/mL)	31.46 \pm 3.01	22.44 \pm 2.36	23.58	0.00
糖皮质激素(pg/mL)	16.92 \pm 2.15	12.83 \pm 1.94	14.12	0.00
血管紧张素(pg/mL)	24.57 \pm 2.71	18.23 \pm 1.89	19.19	0.00

表 3 治疗时血流动力学和血氧饱和度的比较 (mean \pm SD)

分组	n	SpO ₂ (%)	心率 (次/min)	收缩压 (mmHg)	舒张压 (mmHg)	呼吸频率 (次/min)
对照组	100	95.12 \pm 4.62	75.43 \pm 10.96	89.51 \pm 15.99	58.26 \pm 14.52	16.12 \pm 9.89
研究组	100	97.29 \pm 2.42	76.21 \pm 13.25	99.23 \pm 23.02	67.95 \pm 16.02	15.82 \pm 3.67
t 值		3.2985	0.4536	3.4679	4.4817	0.2844
P 值		0.0012	0.6506	0.0006	0.0000	0.7764

表 4 两组不良反应发生率, n (%)

分组	例数	合计	心律失常	血压过低	干呕	体动	血氧饱和度过低
对照组	100	75 (75.00)	8 (10.67)	2 (2.67)	1 (1.33)	43 (57.33)	21 (28.00)
研究组	100	50 (50.00)	5 (10.00)	1 (2.00)	1 (2.00)	31 (62.00)	12 (24.00)
χ^2		3.2523					
P 值		0.0023					

表 5 停止麻醉后恢复自主呼吸时间 (min)

分组	对照组	研究组	t 值	P 值
n	100	100		
恢复自主呼吸时间	10.05 \pm 4.54	19.86 \pm 6.13	12.8603	0.0000

丙酚是一种快速强效的静脉全身麻醉药, 主要依靠肝脏迅速代谢清除, 其临床特点是起效快, 持续时间短, 苏醒快且完全, 可引起收缩压、舒张压下降, 并明显抑制呼吸^[12]. 依托咪酯系一种的催眠性静脉全麻药, 不影响机体的压力感受器功能、外周血管舒缩功能和心肌收缩

力, 具有稳定的血清动力学; 且对呼吸系统影响较小, 可以较好的保持机体的自主呼吸^[13,14]. 异丙酚复合瑞芬太尼和依托咪酯复合瑞芬太尼是目前最主要的两种无痛内镜麻醉方式^[6].

胃镜对消化道黏膜的刺激使机体产生应激反应, 引

发机体应激反应系统分泌大量应激激素入血^[15]。促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素是目前发现的典型应激反应激素^[16]。在机体受到感染、创伤、手术等应激源刺激时, 这类应激激素水平迅速上升, 能够激发机体免疫力、减少不必要炎症反应, 通过改变心率、血压、每搏心输出量、呼吸频率等提高机体对应激源的能力。但在无痛胃镜治疗中, 胃镜的侵入性操作成为应激源, 刺激机体做出应激反应, 造成了麻醉过程中出现血流动力学不稳定、炎症因子大量表达, 影响麻醉深度及效果, 增加患者不适感。在依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉组中, 治疗后应激激素水平增加幅度较低, 说明该法能有效抑制胃镜检查过程中的全身应激反应。与张华等^[17]研究结果一致。

在无痛胃镜麻醉过程中麻醉药物对呼吸及循环系统的抑制作用是对老年患者另一个重要的危险因素。临床一线希望获得一种麻醉深度合适且可控、不影响呼吸机循环系统、苏醒快的麻醉方式, 复合麻醉应运而生。本研究中依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉组, 患者血压水平稳定且维持在相对较高水平, 有利于组织灌注。在不良反应发生方面, 依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉组心律失常、血压过低、干呕、体动、 SPO_2 过低等不良反应的发生次数明显较少, 说明依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉对循环系统抑制作用明显要优于异丙酚复合瑞芬太尼的麻醉方式。与郭波^[18]等研究结果一致。而在呼吸系统抑制方面, 本研究发现异丙酚复合瑞芬太尼组的自主呼吸恢复时间明显较短, 对呼吸系统抑制作用较小。

总之, 依托咪酯复合瑞芬太尼对老年食管白斑患者胃镜下治疗时更适合, 患者情况更加平稳, 能有效减少对患者呼吸功能和应激系统的不良影响, 使患者治疗时不良反应的发生次数减少, 更利于患者的预后。但也有所不足, 可以通过改进麻醉剂量、药物维持剂量等^[19]。通过这次研究, 认为依托咪酯复合瑞芬太尼较异丙酚复合瑞芬太尼更具有优势, 可以在临床上推广使用。

文章亮点

实验背景

异丙酚或依托咪酯复合瑞芬太尼为目前常用无痛胃镜麻醉方式。老年患者无痛胃镜治疗风险较高且缺乏临床实验数据,

实验动机

实际临床应用中, 因老年患者无痛胃镜麻醉风险较高, 对普通胃镜耐受程度较低, 给一线临床工作带来了两难的问题, 本文拟比较老年食管白斑患者无痛胃镜常用麻

醉方式, 以期能为临床老年患者无痛胃镜麻醉选择提供依据。

实验目标

比较异丙酚、依托咪酯复合瑞芬太尼对老年食管白斑胃镜下治疗患者血流动力学、呼吸功能及应激激素水平的影响。以期能为临床老年患者无痛胃镜麻醉选择提供依据。

实验方法

所有入选患者根据随机数字表法分为两组, 分别应用异丙酚复合瑞芬太尼和依托咪酯复合瑞芬太尼两种方式进行麻醉, 在术前及术后留取患者血液标本检测当时应激激素水平(包括: 促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素); 记录术中血流动力学指标(血压、心率等)级血氧饱和度(oxygen saturation, SPO_2); 记录术中及术后不良反应(如: 心律失常、血压过低、干呕、体动、 SPO_2 过低等)发生情况; 记录术后患者恢复自主呼吸时间。

实验结果

依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉在无痛胃镜治疗时, 患者血流动力学更加平稳、应激激素水平更低、 SPO_2 更稳定、不良反应发生更少, 但其术后自主呼吸恢复时间较长。异丙酚复合瑞芬太尼仅在自主呼吸恢复时间上有优势。

实验结论

依托咪酯复合瑞芬太尼在对老年患者血流动力学、应激激素水平、 SPO_2 影响较少, 不良反应发生少, 较异丙酚符合瑞芬太尼更具有优势值得推广使用。

展望前景

本研究样本量较小, 高龄老年患者比例较少, 需要进一步扩大研究人群以便得到更普适的结论。

4 参考文献

- 曹玲. 丙泊酚联合瑞芬太尼静脉麻醉在骨科老年患者手术中的应用效果分析. 基层医学论坛 2019; 23: 1549-1550 [DOI: 10.19435/j.1672-1721.2019.11.048]
- Kessler U, Bjorke-Bertheussen J, Soreide E, Hunderi PA, Bache-Mathiesen L, Oedegaard KJ, Sartorius A, Schoeyen H. Remifentanyl as an adjunct to anaesthesia for electroconvulsive therapy fails to confer long-term benefits. *Br J Anaesth* 2018; 121: 1282-1289 [PMID: 30442255 DOI: 10.1016/j.bja.2018.07.011]
- 陈其虎, 吴晋, 房栩丞. 瑞芬太尼复合丙泊酚在无痛胃镜检查中的临床应用. 中国社区医师 2019; 35:137-138 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-614x.2019.04.090]
- 张丽, 王敏, 董鹏, 田鸣. 依托咪酯复合麻醉用于老年患者无痛膀胱镜检查的临床效果比较. 临床和实验医学杂志 2018; 17: 1897-1900 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2018.17.031]
- Darracq M, Sleight J, Banks MI, Sanders RD. Characterising

- the effect of propofol on complexity and stability in the EEG power spectrum. *Br J Anaesth* 2018; 121: 1368-1369 [PMID: 30442267 DOI: 10.1016/j.bja.2018.09.006]
- 6 Suhitharan T, Subramani S, Win MTM, Sulaiman WB, Johar NB, Chi OB. Effect of remifentanyl on the recovery profile after head and neck surgeries: A prospective study. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2018; 34: 307-313 [PMID: 30386011 DOI: 10.4103/joacp.JOACP_337_16]
- 7 韦家新. 依托咪酯用于老年患者无痛胃镜检查的有效剂量. *医药报* 2018; 37: 712-714 [DOI: 10.3870/j.issn.1004-0781.2018.06.014]
- 8 Hulsman N, Hollmann MW, Preckel B. Newer propofol, ketamine, and etomidate derivatives and delivery systems relevant to anesthesia practice. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2018; 32: 213-221 [PMID: 30322461 DOI: 10.1016/j.bpa.2018.08.002]
- 9 严明, 周薇, 李祖阁, 李清. 七氟烷复合瑞芬太尼对腹腔镜胆囊切除术患者应激、血流动力学和认知功能影响. *陕西医学杂志* 2018; 47: 1181-1184 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-7377.2018.09.025]
- 10 张伟, 田明静, 高成杰. BIS靶控输注丙泊酚或依托咪酯复合瑞芬太尼对子宫切除术麻醉效果的分析. *中国妇幼健康研究* 2017; 28: 932-934 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-5293.2017.08.014]
- 11 Sang HM, Cao JL, Soyfoo MD, Zhang WM, Jiang JX, Xu SF. Endoscopic and Histopathology Characteristics in Patients with Esophageal High-Grade Intraepithelial Neoplasia. *Dig Surg* 2018; 1-10 [PMID: 29945127 DOI: 10.1159/000490112]
- 12 Sindwani G, Suri A, Shamim R. Oral gastroscope-guided bougie insertion and endotracheal intubation. *Indian J Anaesth* 2018; 62: 478-479 [PMID: 29962535 DOI: 10.4103/ija.IJA_64_18]
- 13 杨卫玉, 武瑞涛, 贾丽. 瑞芬太尼用于老年患者无痛胃镜检查的安全有效剂量研究. *山西医药杂志* 2018; 47: 2039-2041 [DOI: 10.3969/j.issn.0253-9926.2018.17.017]
- 14 Sanri E, Karacabey S, Akoglu H, Kaya B, Guneyse O. Comparison of ketamine/propofol (ketofol) and etomidate/fentanyl (etofen) combinations for procedural sedation and analgesia in the emergency department: An observational study. *Turk J Emerg Med* 2017; 17: 89-94 [PMID: 28971155 DOI: 10.1016/j.tjem.2017.01.003]
- 15 Ryu KH, Kim JA, Ko DC, Lee SH, Choi WJ. Desflurane reduces intraoperative remifentanyl requirements more than sevoflurane: comparison using surgical pleth index-guided analgesia. *Br J Anaesth* 2018; 121: 1115-1122 [PMID: 30336856 DOI: 10.1016/j.bja.2018.05.064]
- 16 Saliminia A, Azimaraghi O, Javadi A, Abdoulahpoor M, Movafegh A. Comparison of granisetron and lidocaine on reducing injection pain of etomidate: a controlled randomized study. *Rev Bras Anesthesiol* 2017; 67: 615-618 [PMID: 28826968 DOI: 10.1016/j.bjan.2017.04.027]
- 17 张华, 张联. 瑞芬太尼联合异丙酚或依托咪酯用于无痛胃镜检查对炎症应激反应的影响. *海南医学院学报* 2018; 24: 2086-2089 [DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20181010.001]
- 18 郭波, 汤伟. 异丙酚和依托咪酯复合瑞芬太尼对老年无痛胃镜患者的呼吸循环系统影响的比较. *重庆医学* 2017; 46: 628-631 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2017.05.017]
- 19 夏勇军, 郑凌, 白永峰. 丙泊酚复合依托咪酯辅助表面麻醉在老年高血压患者无痛胃镜检查中的临床观察. *武警医学* 2011; 22: 1087-1089 [DOI: 10.3969/j.issn.1004-3594.2011.12.028]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



嗜酸性粒细胞性食管炎诊疗进展

郑璞, 谭煌英

郑璞, 北京医院急诊科 北京市 100005

谭煌英, 中日友好医院中西医结合肿瘤内科 北京市 100029

郑璞, 住院医师, 医学硕士, 主要从事消化及急诊内科的临床研究.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目, No. 81673763.

作者贡献分布: 本文综述由郑璞完成; 谭煌英审校.

通讯作者: 谭煌英, 教授, 主任医师, 100029, 北京市朝阳区樱花东路2号, 中日友好医院中西医结合肿瘤内科. tanhuangying@263.net
电话: 010-53236555

收稿日期: 2019-05-06

修回日期: 2019-06-08

接受日期: 2019-07-03

在线出版日期: 2019-07-08

New developments in diagnosis and treatment of eosinophilic esophagitis

Pu Zheng, Huang-Ying Tan

Pu Zheng, Department of Emergency Medicine, Beijing Hospital, Beijing 100005, China

Huang-Ying Tan, Department of Integrative Oncology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81673763.

Corresponding author: Huang-Ying Tan, Professor, Chief Physician, Department of Integrative Oncology, China-Japan Friendship Hospital, 2 Yinghuadong Street, Chaoyang District, Beijing 100029, China. tanhuangying@263.net

Received: 2019-05-06

Revised: 2019-06-08

Accepted: 2019-07-03

Published online: 2019-07-08

Abstract

Eosinophilic esophagitis (EoE) is a chronic, allergen-driven, immune mediated disease of the esophagus that progresses to esophageal fibrostenosis if not well treated. The aim of this review is to provide an update on recent clinical advances in the development of diagnostic and therapeutic approaches for EoE. At present, the diagnosis and disease monitoring for EoE rely on repetitive endoscopic evaluations and esophageal tissue acquisition for histopathologic analysis. Recent advancements in EoE diagnosis include transnasal endoscopy, endoscopic functional lumen imaging probe, and the emergence of non-invasive diagnostic tools including cytosponge, esophageal string test, and mucosal impedance probe. Biomarkers for EoE have not yet proven their clinical utility. The current treatment modalities for EoE are topical corticosteroid, proton-pump inhibitors, elimination diet, and dilation. Promising results from clinical trials are emerging for biologic agents that target the interleukin (IL)-13 and the IL-4/IL-13 receptor, specifically, RPC4046 and dupilumab. Especially, dupilumab is promising to become the orphan drug of EoE.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Eosinophilic esophagitis; Allergy; Endoscopy

Zheng P, Tan HY. New developments in diagnosis and treatment of eosinophilic esophagitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 828-834

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/828.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i13.828>

摘要

嗜酸性粒细胞性食管炎(eosinophilic esophagitis, EoE)

是一种慢性的、由过敏原驱动的、免疫介导的相对少见食道疾病, 如果未经有效的治疗, 会发展为严重食道纤维狭窄。本综述的目的是提供对该疾病研究的一些最新进展, 包括临床诊断和治疗方法。当前对疾病的诊断和疾病监测方案过度依赖于反复的内镜评价和食管活检进行组织病理学分析。最新的EoE诊断进展包括内镜下管腔功能成像探头、经鼻内镜, 以及非侵入性诊断工具的出现, 包括细胞海绵、食管管柱测试和黏膜阻抗探针, 目前, EoE的生物标志物尚未证明其临床应用价值。主要的治疗方式为局部皮质类固醇、质子泵抑制剂、饮食剔除治疗和内镜下食管扩张等。针对白细胞介素(interleukin, IL)-13受体的RPC4046和IL-4/IL-13受体的Dupilumab, 这些生物制剂RPC4046和Dupilumab的临床试验取得了一些有意义的结果, 尤其是Dupilumab可能成为该疾病的所谓孤儿药物。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 嗜酸性粒细胞性食管炎; 过敏; 内镜

核心提要: 嗜酸性粒细胞性食管炎(eosinophilic esophagitis, EoE)是一种相对少见的食管疾病, 本文详述了该病的诊疗及其进展以提高认识。除了局部皮质类固醇、质子泵抑制剂、饮食剔除疗法和内镜下食管扩张等治疗, 针对白细胞介素(interleukin, IL)-4/IL-13受体的新药Dupilumab, 取得了令人振奋的研究结果, 有望成为该疾病的所谓孤儿药物。

郑璞, 谭煌英. 嗜酸性粒细胞性食管炎诊疗进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(13): 828-834

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/828.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.828>

0 引言

嗜酸性粒细胞性食管炎(eosinophilic esophagitis, EoE)是一种慢性的、由过敏原驱动的、免疫介导的食道疾病^[1,2]。在欧美国家男性: 女性患病率之比约为3:1, 总患病率在10-57例/10万人之间, 在有相关症状的患者中更高^[3,4]。国内尚未见到该病在中国病流行病学的相关报导。其基本发病机制是: 持续未被控制的食管慢性炎症逐渐引发食管运动障碍、组织顺应性降低及纤维狭窄, 从而引起吞咽困难及食物嵌塞的临床表现^[5,6]。儿童主要表现为固态食物吞咽困难、食物嵌塞及因上述原因继发的发育不良^[5]。成年人多表现为进食困难、胸痛、食物反流、食物嵌塞^[7]。尽管我们对EoE的理解和认识在逐步改善, 但从症状出现到明确诊断仍有明显延迟^[8]。诊断的延迟会

给患者带来不良后果, 因为食管狭窄形成的风险随着诊断的延迟每年都在增加^[5]。这篇综述的目的是提供一些关于EoE的诊断及治疗的新进展, 以助于我们对EoE有一个更好的认识。

1 诊断

根据美国胃肠病学院EoE临床指南2013版诊断标准: EoE是一种临床-病理疾病, 诊断时必须同时考虑临床和病理信息, 二者不可分割。EoE的诊断标准: (1)食管功能紊乱相关的症状; (2)食管活检显示以嗜酸性粒细胞为主的炎症, 其特征是嗜酸性粒细胞 $\geq 15/\text{HPF}$; (3)黏膜嗜酸性粒细胞增多局限于食管, 质子泵抑制剂(proton-pump inhibitors, PPI)试验治疗后持续存在; (4)除外食管嗜酸性粒细胞增多的继发原因; (5)治疗(饮食剔除、局部皮质激素)有效支持诊断, 但非必需^[9]。

1.1 可视化检查

1.1.1 普通内镜: 通过内镜直接观察食管管腔和黏膜不仅提供有用的诊断信息, 而且使医生能够获得食管活检, 以便明确诊断和疾病分层, 确诊后以EoE内镜镜参考评分来量化疾病分层。其主要评估指标是: 食管的水肿程度、渗出物多少、环状裂隙及纵行裂隙数量、食管狭窄程度^[10-12]。目前的研究表明有42%的食管活检中没有足够的固有层, 导致明确是否存在上皮下纤维化困难, 因此, 建议最少取七块中远段食管片段以明确是否存在食管上皮下纤维化。

1.1.2 经鼻内镜(transnasal endoscopy, TNE): TNE是一种最新的诊断工具, 由于其安全性、成本效益、可行性和患者的偏好, 临床医师可能会倾向于广泛采用它^[13]。TNE在只使用表面麻醉的情况下可取得近端食道的活检组织。在对中老年患者进行的研究中表明, 与使用标准内镜钳进行内镜检查的同一受试者相比, 黏膜活检的总表面积没有显著差异^[13]。超过一半的患者更喜欢这种方法, 但对诊断的准确率上是否与普通内镜镜相似, 需要在更大的队列中进行进一步的验证。

1.1.3 食道造影: 可以通过吞咽造影剂及X线检查检测EoE中的纤维狭窄变化^[14]。然而, 因该病相对少见, 需要寻找对该病熟悉的影像医生对图像进行解读, 这可能存在一定困难。

1.1.4 内镜下管腔功能成像探针(endoscopic functional lumen imaging probe, FLIP): 评价EoE患者食管口径和扩张性的一种新的、被广泛接受的内镜方法。FLIP使用高分辨率阻抗平面测量法来确定沿轴向食管横截面的压力和几何变化^[15,16]。食管扩张性降低也是小儿EoE病变的特征^[6], 其对早期诊断EoE并及时治疗以防止病理性

的组织重塑有积极意义, 因此FLIP确立了其在EoE严重程度评估、疾病分层和治疗反应评估中的重要性。

1.2 侵入性较小的检查 由于反复内镜取活检具有侵入性, 因此国外发明了一些诊断EoE和评估疾病活动的微创方法。

1.2.1 细胞海绵(Cytosponge): 是一种被压缩在可溶解的明胶胶囊中的绳球形网状海绵, 患者吞下后, 再通过绳子从口中取出。该方法制备的食管组织标本安全、耐受性好, 可用于组织病理学分析。细胞反应性和组织学活性的敏感性和特异性分别为75%和86%^[17,18]。

1.2.2 食管管柱试验: 类似于Cytosponge的操作方法, 可捕获粘附的管腔分泌物, 但主要分析其中含有的嗜酸性粒细胞衍生的蛋白质, 可反映EoE中的黏膜炎症^[19]。

1.2.3 食道刷洗: 包括内镜下食道刷洗和经鼻胃管盲性食道刷洗^[20,21], 检测刷洗液中嗜酸性粒细胞衍生神经毒素(esophageal levels of eosinophil-derived neurotoxin EDN)的水平, 对该病病情检测同样有一定意义。

1.2.4 食管黏膜电阻抗: 测量食管黏膜表面的电阻抗是评估EoE疾病活动的另一种新方法^[22,23]。黏膜阻抗探针检测阻抗变化, 被认为与食管屏障功能缺陷有关。黏膜阻抗与食管嗜酸性粒细胞计数和EoE的严重程度成反比, 从而能够快速确定和监测EoE的活动^[24]。

1.3 潜在的生物标志物 血清EoE相关细胞因子、趋化因子和血清蛋白等尚未证明其作为EoE的血清学生物标志物的临床实用性^[25-27]。研究发现EoE患者的外周血绝对嗜酸性粒细胞计数(AEC)升高, 而血清嗜酸粒细胞过氧化物酶水平、血清嗜酸粒细胞过氧化物酶水平与AEC的比值较低, 与食管嗜酸性粒细胞密度呈负相关, 因此被认为是潜在的生物标志物^[28]。多个食物特异性血清IgE抗体相关物与非特异性胃肠道症状的EoE儿童相关, 可能有希望用于EoE患者的分层^[29]。血清食管上皮特异性自身抗体, 包括抗桥粒芯糖蛋白3(desmoglein, DSG3)IgG4和抗胶原XVII(anti-collagen XVII, NC16A)IgG4, 在EoE患者明显升高, 其中抗NC16A IgG4, 在接受局部皮质类固醇治疗后较前降低^[30]。这些新兴的生物标记物虽然有希望成为诊断的重要标记物, 但还需要更加详实的证据进行验证。

2 治疗

目前还没有被美国食品药品监督管理局批准专门针对EoE治疗的药物。当前EoE的治疗主要是综合性的治疗包括: 长期皮质类固醇治疗、PPI、饮食剔除治疗、生活方式改变以及定期复查的内镜诊断和疗效评估, 必要时可通过内镜扩张改善症状^[31,32]。还有一些生物制剂正在进行临床研究, 包括dupilumab, 一种针对白细胞介素

(interleukin, IL)-13和IL-4受体 α 链的单克隆抗体^[33]。

2.1 皮质激素 口服局部皮质类固醇控制炎症是EoE治疗的主要方法之一^[31]。在美国, 氟替卡松作为雾化吸入制剂和口服布地奈德粘性制剂是两种最常用的治疗EoE的局部皮质类固醇^[34]。大量研究证明, 局部应用皮质类固醇可抑制食管上皮性炎症, 改善黏膜屏障完整性和组织学重塑, 从而改善食管直径、扩张性和食物嵌塞率^[35,36]。口服粘性布地奈德治疗在儿童和青少年EoE中比丙酸氟替卡松有更好的内镜和组织学改善; 这可能是由于口服粘性皮质类固醇制剂有更好的食管黏膜沉积^[37]。在患有EoE的儿童中, 长期维持剂量的雾化和吞咽氟替卡松被发现是安全的, 并在组织炎症、固有层纤维化、内镜特征和临床症状方面取得了改善^[36]。最近, 关于治疗EoE的一项诱导-维持性皮质类固醇方案被提出^[38]。在本方案中, 对于成人EoE患者, 1 d两次给予1 mg布地奈德诱导治疗2-4 wk, 达到临床疗效后, 予以1 d两次0.25 mg的维持治疗, 如果患者持续6 mo以上深度缓解, 包括临床症状改善、内镜下炎症缓解(完全没有白色渗出物和水肿)、组织学炎症缓解(嗜酸性粒细胞计数峰值小于5个嗜酸性粒细胞每高倍视野), 则可停止使用皮质类固醇, 使用该方案, 只有9.4%的成年EoE患者在89 wk时获得了深度缓解, 同时有81.8%的患者在中位22.4 wk后出现EoE临床反复。在另一项研究中, 成人EoE患者每隔1 d一次布地奈德0.25 mg维持剂量是无效^[39]。这些研究表明, EoE可能需要更高的皮质类固醇维持治疗剂量。在药物不良反应方面: 在接受局部吞咽皮质类固醇治疗的患者中, 约20%(0%-26%)出现无症状的食管念珠菌病^[40]; 还有研究表明, 大剂量吞咽局部丙酸氟替卡松或口服粘性布地奈德的儿童会出现肾上腺功能不全^[41,42], 所以定期监测患者的肾上腺功能是有必要的。

2.2 PPI PPI是目前广泛认可的EoE一线治疗药物, PPI治疗除了抑制酸性环境外, 还能调节食管炎症^[43]。最近一项33项研究的荟萃分析, 包括619名有症状的EoE患者, 证明PPI治疗使60.8%患者获得临床症状的缓解, 50.5%的患者获得组织学的缓解^[44]。一项包括57名患儿的研究提示, 初始接受1 mg/kg(最多40 mg)剂量1 d两次, 持续8 wk, 之后每天1 mg/kg(最多40 mg)剂量1 d一次维持一年后, 其中86%和70.1%的儿童分别获得了临床缓解和组织学缓解, 且具有足够的安全性^[45]。同一亚组中的12名儿童中的11名(91.6%)在第二个12 mo期间埃索美拉唑维持剂量进一步降低至0.5 mg/kg每日一次的治疗, 其组织学缓解持续2年。虽然PPI存在一些副作用, 包括腹泻、腹痛、头痛和荨麻疹, 但也是相对轻微和罕见的^[45], 目前认为在初始治疗时可能需要大剂量的诱导治疗, 以达到炎症调节和黏膜屏障恢复的治疗效果, 之后将维持剂量

减至最低有效剂量, 尽量减少药物不良反应。

2.3 饮食剔除治疗 剔除食物源性抗原刺激对于实现EoE患者的组织学和临床缓解是非常有效的^[46], 但患者的治疗依从性是一个重大的挑战。有研究表明, 要素饮食(包括人体所需易于消化的营养要素的化学精制食品)4 wk改善了88%的临床症状, 71%的患者获得了组织学变化, 黏膜屏障完整性得到改善, 关键细胞因子如IL-13、IL-5和胸腺基质淋巴生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)的基因表达显著降低^[47,48]。还有研究表明, 通过要素饮食疗法, 88%的EoE患者的食管炎症得到改善; 通过六种饮食剔除(six-food elimination diets, SFED), (不包括牛奶、小麦、鸡蛋、大豆、坚果和海鲜), 74%的食管炎症得到改善; 通过四种饮食剔除(four-food elimination diets, FFED), (不包括牛奶、小麦、鸡蛋和大豆)策略, 64%的食管炎症得到改善^[49,50]。一项包括1128名儿童和189名成年EoE患者进行的33项研究的荟萃分析表明, 要素饮食对90.8%的病例有效, SFED为72.1%, 过敏试验指导下的饮食对45.5%的病例有效^[46]。通过皮刺试验和变应原贴片试验进行的过敏试验指导的选择性饮食在成人EoE中的疗效并不理想, 因此通常并不推荐^[51]。虽然要素饮食, SFED或FFED被证明是有效的, 但可能导致不必要的饮食限制, 所以近期提出了一种新的饮食剔除策略。在一项多中心前瞻性临床试验中, EoE患者实施2-4-6逐步饮食剔除策略, 尽早确定了EoE的食物触发因素, 从而避免了不必要的饮食限制^[52]。简单地说, 患者首先开始两种食物剔除饮食(two-food elimination diets, TFED)排除了牛奶和含谷物的麸质。无应答者按顺序增加到FEED, 额外排除了鸡蛋和豆类, 最终进入SFED, 排除了坚果、鱼类。每次饮食剔除治疗持续6 wk, 有43%的TFED组、60%同时接受TFED和FFED患者以及79%的接受三级饮食剔除治疗的患者最终实现了EoE缓解^[53]。但也有人认为, 在6 wk试验后宣布饮食剔除治疗失败过早, 当饮食剔除治疗延长到平均10 wk时, 组织学上最终可以观察到饮食剔除治疗的食管良性变化^[53]。

2.4 相关生物疗法 QAX576, 一种抗IL-13单克隆抗体, 降低了食管嗜酸性粒细胞和EoE相关基因的表达, 但没有显著改善临床症状^[31]。RPC4046, 同样是抗IL-13的单克隆抗体, 降低了食管嗜酸细胞计数, 同时改善了EoE患者的内镜特征和吞咽困难, 特别是类固醇难治性EoE患者^[31]。Dupilumab, 一种针对IL-13和IL-4受体 α 链的抗体, 最有可能成为EoE的所谓的孤儿药物, 在一项为期12周的II期随机双盲安慰剂对照临床试验中, 对47例中度至重度EoE的成人患者进行了600 mg皮下注射负荷剂量的Dupilumab, 随后每周300 mg皮下注射, 治疗第10 wk时, Straumann吞咽困难评分降低了3点(45%改善率), 安

慰剂组的降低了1.3点(19%改善率), 治疗组的组织学缓解(总的上皮内嗜酸细胞峰值计数ORE)较治疗前降低了93%, 而安慰剂组的ORE增加了14%, 且治疗组较安慰剂组食管扩张性明显改善^[33]。

2.5 内镜下扩张治疗 如出现纤维狭窄、有吞咽困难症状的EoE可以通过缓慢、渐进的内镜下扩张治疗来缓解, 且患者耐受性良好^[54]。在对845名接受了1820次扩张的EoE患儿和成人进行的荟萃分析中, 临床有效率为95%, 并发症发生率非常低(穿孔0.38%, 出血0.05%, 住院0.67%)^[55]。重复多次扩张的预测因素是一个较小的食道直径基线值, 这些患者通常会在一年内进行第二次扩张治疗^[54]。

3 结论

EoE的最新研究进展正在不断改善我们的诊断和治疗方法。目前的诊断仍然依赖于内镜下食管活检的组织采集和组织病理学分析。建议内镜活检需要更加深取一些, 尽量包括固有层, 才能更准确地描述EoE严重程度。当然目前也在研究一些相对无创性的诊断方法。目前被业界认可的治疗策略, 包括利用饮食剔除以排除抗原刺激、皮质类固醇以及PPI的治疗, 以控制组织炎症和病理组织重塑, 根据病情轻重可选择单一或联合治疗, 建议由饮食剔除治疗开始逐步联合PPI和/或激素治疗。对于存在食管纤维狭窄的病人, 内镜下扩张治疗可以有不错的疗效及安全性, 但通过合适的药物和去敏饮食疗法是可以避免进展到这一步的。Dupilumab是一种新兴的治疗EoE的药物, 有望获得孤儿药物地位。鉴于EoE患者治疗方案的复杂性且需要频繁的随访, 我们需要一种多模式、多学科合作的管理方法来为患者提供更好的服务。

4 参考文献

- 1 Dellon ES, Hirano I. Epidemiology and Natural History of Eosinophilic Esophagitis. *Gastroenterology* 2018; 154: 319-332.e3 [PMID: 28774845 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.06.067]
- 2 O'Shea KM, Aceves SS, Dellon ES, Gupta SK, Spergel JM, Furuta GT, Rothenberg ME. Pathophysiology of Eosinophilic Esophagitis. *Gastroenterology* 2018; 154: 333-345 [PMID: 28757265 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.06.065]
- 3 Moawad FJ. Eosinophilic Esophagitis: Incidence and Prevalence. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2018; 28: 15-25 [PMID: 29129296 DOI: 10.1016/j.giec.2017.07.001]
- 4 Shaheen NJ, Mukkada V, Eichinger CS, Schofield H, Todorova L, Falk GW. Natural history of eosinophilic esophagitis: a systematic review of epidemiology and disease course. *Dis Esophagus* 2018; 31 [PMID: 29617744 DOI: 10.1093/dote/doy015]
- 5 Warners MJ, Oude Nijhuis RAB, de Wijkerslooth LRH, Smout AJPM, Bredenoord AJ. The natural course of eosinophilic esophagitis and long-term consequences of undiagnosed disease in a large cohort. *Am J Gastroenterol* 2018; 113: 836-844 [PMID: 29700481 DOI: 10.1038/s41395-018-0052-5]

- 6 Menard-Katcher C, Benitez AJ, Pan Z, Ahmed FN, Wilkins BJ, Capocelli KE, Liacouras CA, Verma R, Spergel JM, Furuta GT, Muir AB. Influence of Age and Eosinophilic Esophagitis on Esophageal Distensibility in a Pediatric Cohort. *Am J Gastroenterol* 2017; 112: 1466-1473 [PMID: 28508868 DOI: 10.1038/ajg.2017.131]
- 7 Falk GW. Clinical presentation of eosinophilic esophagitis in adults. *Gastroenterol Clin North Am* 2014; 43: 231-242 [PMID: 24813512 DOI: 10.1016/j.gtc.2014.02.009]
- 8 Reed CC, Koutlas NT, Robey BS, Hansen J, Dellon ES. Prolonged Time to Diagnosis of Eosinophilic Esophagitis Despite Increasing Knowledge of the Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2018; 16: 1667-1669 [PMID: 29374615 DOI: 10.1016/j.cgh.2018.01.028]
- 9 Dellon ES, Gonsalves N, Hirano I, Furuta GT, Liacouras CA, Katzka DA; American College of Gastroenterology. ACG clinical guideline: Evidence-based approach to the diagnosis and management of esophageal eosinophilia and eosinophilic esophagitis (EoE). *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 679-692; quiz 693 [PMID: 23567357 DOI: 10.1038/ajg.2013.71]
- 10 Hirano I, Moy N, Heckman MG, Thomas CS, Gonsalves N, Achem SR. Endoscopic assessment of the esophageal features of eosinophilic esophagitis: validation of a novel classification and grading system. *Gut* 2013; 62: 489-495 [PMID: 22619364 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301817]
- 11 Dellon ES, Cotton CC, Gebhart JH, Higgins LL, Beitia R, Woosley JT, Shaheen NJ. Accuracy of the Eosinophilic Esophagitis Endoscopic Reference Score in Diagnosis and Determining Response to Treatment. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016; 14: 31-39 [PMID: 26404868 DOI: 10.1016/j.cgh.2015.08.040]
- 12 Wechsler JB, Bolton SM, Amsden K, Wershil BK, Hirano I, Kagalwalla AF. Eosinophilic esophagitis reference score accurately identifies disease activity and treatment effects in children. *Neurol Neurocir Psiquiatr* 1977; 18: 1-608 [PMID: 29248 DOI: 10.116/j.cqh.2017.12.019]
- 13 Hameed I, Hussain F. Proximate and elemental analysis of five selected medicinal plants of family Solanaceae. *Pak J Pharm Sci* 2015; 28: 1203-1215 [PMID: 26142511 DOI: 10.1016/j.gie.2015.05.044]
- 14 Nelson MJ, Miller FH, Moy N, Zalewski A, Gonsalves N, Gregory DL, Hirano I. Comparison of endoscopy and radiographic imaging for detection of esophageal inflammation and remodeling in adults with eosinophilic esophagitis. *Gastrointest Endosc* 2018; 87: 962-968 [PMID: 28989006 DOI: 10.1016/j.gie.2017.09.037]
- 15 Hirano I, Pandolfino JE, Boeckstaens GE. Functional Lumen Imaging Probe for the Management of Esophageal Disorders: Expert Review From the Clinical Practice Updates Committee of the AGA Institute. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2017; 15: 325-334 [PMID: 28212976 DOI: 10.1016/j.cgh.2016.10.022]
- 16 Ahuja NK, Clarke JO. The Role of Impedance Planimetry in the Evaluation of Esophageal Disorders. *Curr Gastroenterol Rep* 2017; 19: 7 [PMID: 28220362 DOI: 10.1007/s11894-017-0544-2]
- 17 Katzka DA, Smyrk TC, Alexander JA, Geno DM, Beitia RA, Chang AO, Shaheen NJ, Fitzgerald RC, Dellon ES. Accuracy and Safety of the Cytosponge for Assessing Histologic Activity in Eosinophilic Esophagitis: A Two-Center Study. *Am J Gastroenterol* 2017; 112: 1538-1544 [PMID: 28809387 DOI: 10.1038/ajg.2017.244]
- 18 Katzka DA, Geno DM, Ravi A, Smyrk TC, Lao-Sirieix P, Miremadi A, DeBiram I, O'Donovan M, Kita H, Kephart GM, Kryzer LA, Camilleri M, Alexander JA, Fitzgerald RC. Accuracy, safety, and tolerability of tissue collection by Cytosponge vs endoscopy for evaluation of eosinophilic esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015; 13: 77-83.e2 [PMID: 24997328 DOI: 10.1016/j.cgh.2014.06.026]
- 19 Furuta GT, Kagalwalla AF, Lee JJ, Alumkal P, Maybruck BT, Fillon S, Masterson JC, Ochkur S, Protheroe C, Moore W, Pan Z, Amsden K, Robinson Z, Capocelli K, Mukkada V, Atkins D, Fleischer D, Hosford L, Kwatia MA, Schroeder S, Kelly C, Lovell M, Melin-Aldana H, Ackerman SJ. The esophageal string test: a novel, minimally invasive method measures mucosal inflammation in eosinophilic esophagitis. *Gut* 2013; 62: 1395-1405 [PMID: 22895393 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303171]
- 20 Kern E, Lin D, Larson A, Yang GY, Taft T, Zalewski A, Gonsalves N, Hirano I. Prospective assessment of the diagnostic utility of esophageal brushings in adults with eosinophilic esophagitis. *Dis Esophagus* 2016; 29: 48-53 [PMID: 25515533 DOI: 10.1111/dote.12304]
- 21 Smadi Y, Deb C, Bornstein J, Safder S, Horvath K, Mehta D. Blind esophageal brushing offers a safe and accurate method to monitor inflammation in children and young adults with eosinophilic esophagitis. *Dis Esophagus* 2018; 31 [PMID: 29905784 DOI: 10.1093/dote/doy056]
- 22 Patel DA, Vaezi MF. Utility of esophageal mucosal impedance as a diagnostic test for esophageal disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2017; 33: 277-284 [PMID: 28437259 DOI: 10.1097/MOG.0000000000000367]
- 23 Choksi Y, Lal P, Slaughter JC, Sharda R, Parnell J, Higginbotham T, Vaezi MF. Esophageal Mucosal Impedance Patterns Discriminate Patients With Eosinophilic Esophagitis From Patients With GERD. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2018; 16: 664-671.e1 [PMID: 29248733 DOI: 10.1016/j.cgh.2017.12.020]
- 24 Lowry MA, Vaezi MF, Correa H, Higginbotham T, Slaughter JC, Acra S. Mucosal Impedance Measurements Differentiate Pediatric Patients With Active Versus Inactive Eosinophilic Esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018; 67: 198-203 [PMID: 29543695 DOI: 10.1097/MPG.]
- 25 Ishihara S, Shoda T, Ishimura N, Ohta S, Ono J, Azuma Y, Okimoto E, Izuhara K, Nomura I, Matsumoto K, Kinoshita Y. Serum Biomarkers for the Diagnosis of Eosinophilic Esophagitis and Eosinophilic Gastroenteritis. *Intern Med* 2017; 56: 2819-2825 [PMID: 28943560 DOI: 10.2169/internalmedicine.8763-16]
- 26 Dellon ES, Rusin S, Gebhart JH, Covey S, Higgins LL, Beitia R, Speck O, Woodward K, Woosley JT, Shaheen NJ. Utility of a Noninvasive Serum Biomarker Panel for Diagnosis and Monitoring of Eosinophilic Esophagitis: A Prospective Study. *Am J Gastroenterol* 2015; 110: 821-827 [PMID: 25781367 DOI: 10.1038/ajg.2015.57]
- 27 Dellon ES, Higgins LL, Beitia R, Rusin S, Woosley JT, Veerappan R, Selitsky SR, Parker JS, Genta RM, Lash RH, Aranda R, Peach RJ, Grimm M. Prospective assessment of serum periostin as a biomarker for diagnosis and monitoring of eosinophilic esophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2016; 44: 189-197 [PMID: 27193351 DOI: 10.1111/apt.13672]
- 28 Wright BL, Ochkur SI, Olson NS, Shim KP, Jacobsen EA, Rank MA, Dellon ES, Lee JJ. Normalized serum eosinophil peroxidase levels are inversely correlated with esophageal eosinophilia in eosinophilic esophagitis. *Dis Esophagus* 2018; 31 [PMID: 29228243 DOI: 10.1093/dote/dox139]
- 29 Erwin EA, Rhoda DA, Redmond M, Ly JB, Russo JM, Hill ID, Platts-Mills TAE. Using Serum IgE Antibodies to Predict Esophageal Eosinophilia in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017; 65: 520-525 [PMID: 28981449 DOI: 10.1097/MPG.0000000000001553]
- 30 Dellon ES, Lin L, Beitia R, Moran TP, Qian Y. Serum autoantibodies against epithelial cell adhesion molecules as

- disease biomarkers of eosinophilic esophagitis. *Clin Exp Allergy* 2018; 48: 343-346 [PMID: 29193433 DOI: 10.1111/cea.13070]
- 31 Straumann A, Katzka DA. Diagnosis and Treatment of Eosinophilic Esophagitis. *Gastroenterology* 2018; 154: 346-359 [PMID: 28756235 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.05.066]
 - 32 Nhu QM, Aceves SS. Medical and dietary management of eosinophilic esophagitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2018; 121: 156-161 [PMID: 29753831 DOI: 10.1016/j.anaai.2018.05.006]
 - 33 Sastre J, Dávila I. Dupilumab: A New Paradigm for the Treatment of Allergic Diseases. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2018; 28: 139-150 [PMID: 29939132 DOI: 10.18176/jiaci.0254]
 - 34 Butz BK, Wen T, Gleich GJ, Furuta GT, Spergel J, King E, Kramer RE, Collins MH, Stucke E, Mangeot C, Jackson WD, O'Gorman M, Abonia JP, Penttiuk S, Putnam PE, Rothenberg ME. Efficacy, dose reduction, and resistance to high-dose fluticasone in patients with eosinophilic esophagitis. *Gastroenterology* 2014; 147: 324-333.e5 [PMID: 24768678 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.04.019]
 - 35 Simon D, Page B, Vogel M, Bussmann C, Blanchard C, Straumann A, Simon HU. Evidence of an abnormal epithelial barrier in active, untreated and corticosteroid-treated eosinophilic esophagitis. *Allergy* 2018; 73: 239-247 [PMID: 28712126 DOI: 10.1111/all.13244]
 - 36 Andrae DA, Hanna MG, Magid MS, Malerba S, Andrae MH, Bagiella E, Chehade M. Swallowed Fluticasone Propionate Is an Effective Long-Term Maintenance Therapy for Children With Eosinophilic Esophagitis. *Am J Gastroenterol* 2016; 111: 1187-1197 [PMID: 27325220 DOI: 10.1038/ajg.2016.238]
 - 37 Fable JM, Fernandez M, Goodine S, Lerer T, Sayej WN. Retrospective Comparison of Fluticasone Propionate and Oral Viscous Budesonide in Children With Eosinophilic Esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018; 66: 26-32 [PMID: 28489670 DOI: 10.1097/MPG.0000000000001626]
 - 38 Greuter T, Bussmann C, Safroneeva E, Schoepfer AM, Biedermann L, Vavricka SR, Straumann A. Long-Term Treatment of Eosinophilic Esophagitis With Swallowed Topical Corticosteroids: Development and Evaluation of a Therapeutic Concept. *Am J Gastroenterol* 2017; 112: 1527-1535 [PMID: 28719593 DOI: 10.1038/ajg.2017.202]
 - 39 Alexander JA. Steroid treatment of eosinophilic esophagitis in adults. *Gastroenterol Clin North Am* 2014; 43: 357-373 [PMID: 24813521 DOI: 10.1016/j.gtc.2014.02.001]
 - 40 Hsu S, Wood C, Pan Z, Rahat H, Zeitler P, Fleischer D, Menard-Katcher C, Furuta GT, Atkins D. Adrenal Insufficiency in Pediatric Eosinophilic Esophagitis Patients Treated with Swallowed Topical Steroids. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol* 2017; 30: 135-140 [PMID: 29062584 DOI: 10.1089/ped.2017.0779]
 - 41 Philpott H, Dougherty MK, Reed CC, Caldwell M, Kirk D, Torpy DJ, Dellon ES. Systematic review: adrenal insufficiency secondary to swallowed topical corticosteroids in eosinophilic oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2018; 47: 1071-1078 [PMID: 29508432 DOI: 10.1111/apt.14573]
 - 42 Cheng E, Zhang X, Huo X, Yu C, Zhang Q, Wang DH, Spechler SJ, Souza RF. Omeprazole blocks eotaxin-3 expression by oesophageal squamous cells from patients with eosinophilic oesophagitis and GORD. *Gut* 2013; 62: 824-832 [PMID: 22580413 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302250]
 - 43 Lucendo AJ, Arias Á, Molina-Infante J. Efficacy of Proton Pump Inhibitor Drugs for Inducing Clinical and Histologic Remission in Patients With Symptomatic Esophageal Eosinophilia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016; 14: 13-22.e1 [PMID: 26247167 DOI: 10.1016/j.cgh.2015.07.041]
 - 44 Gutiérrez-Junquera C, Fernández-Fernández S, Cilleruelo ML, Rayo A, Echeverría L, Borrell B, Román E. Long-term Treatment With Proton Pump Inhibitors Is Effective in Children With Eosinophilic Esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018; 67: 210-216 [PMID: 29509636 DOI: 10.1097/MPG.0000000000001952]
 - 45 Arias A, González-Cervera J, Tenias JM, Lucendo AJ. Efficacy of dietary interventions for inducing histologic remission in patients with eosinophilic esophagitis: a systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology* 2014; 146: 1639-1648 [PMID: 24534634 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.02.006]
 - 46 Warners MJ, Vlieg-Boerstra BJ, Verheij J, van Hamersveld PHP, van Rhijn BD, Van Ampting MTJ, Harthoorn LF, de Jonge WJ, Smout AJPM, Bredenoord AJ. Esophageal and Small Intestinal Mucosal Integrity in Eosinophilic Esophagitis and Response to an Elemental Diet. *Am J Gastroenterol* 2017; 112: 1061-1071 [PMID: 28417991 DOI: 10.1038/ajg.2017.107]
 - 47 Warners MJ, Vlieg-Boerstra BJ, Verheij J, van Rhijn BD, Van Ampting MT, Harthoorn LF, de Jonge WJ, Smout AJ, Bredenoord AJ. Elemental diet decreases inflammation and improves symptoms in adult eosinophilic oesophagitis patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2017; 45: 777-787 [PMID: 28112427 DOI: 10.1111/apt.13953]
 - 48 Kagalwalla AF, Wechsler JB, Amsden K, Schwartz S, Makhija M, Olive A, Davis CM, Manuel-Rubio M, Marcus S, Shaykin R, Sulkowski M, Johnson K, Ross JN, Riffle ME, Groetch M, Melin-Aldana H, Schady D, Palac H, Kim KA, Wershil BK, Collins MH, Chehade M. Efficacy of a 4-Food Elimination Diet for Children With Eosinophilic Esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2017; 15: 1698-1707.e7 [PMID: 28603055 DOI: 10.1016/j.cgh.2017.05.048]
 - 49 Kagalwalla AF, Sentongo TA, Ritz S, Hess T, Nelson SP, Emerick KM, Melin-Aldana H, Li BU. Effect of six-food elimination diet on clinical and histologic outcomes in eosinophilic esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 1097-1102 [PMID: 16860614 DOI: 10.1016/j.cgh.2006.05.026]
 - 50 Molina-Infante J, Martin-Noguerol E, AlvaradoArenas M, Porcel-Carreño SL, Jimenez-Timon S, Hernandez-Arbeiza FJ. Selective elimination diet based on skin testing has suboptimal efficacy for adult eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 1200-1202 [PMID: 22867695 DOI: 10.1016/j.jaci.2012.06.027]
 - 51 Molina-Infante J, Martin-Noguerol E, Alvarado-Arenas M, Porcel-Carreño SL, Jimenez-Timon S, Hernandez-Arbeiza FJ. Selective elimination diet based on skin testing has suboptimal efficacy for adult eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 1200-1202 [PMID: 22867695 DOI: 10.1016/j.jaci.2012.06.027]
 - 52 Molina-Infante J, Arias Á, Alcedo J, Garcia-Romero R, Casabona-Frances S, Prieto-Garcia A, Modolell I, Gonzalez-Cordero PL, Perez-Martinez I, Martin-Lorente JL, Guarner-Argente C, Masiques ML, Vila-Miravet V, Garcia-Puig R, Savarino E, Sanchez-Vegazo CT, Santander C, Lucendo AJ. Step-up empiric elimination diet for pediatric and adult eosinophilic esophagitis: The 2-4-6 study. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 141: 1365-1372 [PMID: 29074457 DOI: 10.1016/j.jaci.2017.08.038]
 - 53 Philpott H, Dellon E. Histologic improvement after 6 weeks of dietary elimination for eosinophilic esophagitis may be insufficient to determine efficacy. *Asia Pac Allergy* 2018; 8: e20 [PMID: 29732296 DOI: 10.5415/apallergy.2018.8.e20]
 - 54 Runge TM, Eluri S, Cotton CC, Burk CM, Woosley JT, Shaheen NJ, Dellon ES. Outcomes of Esophageal Dilation in Eosinophilic Esophagitis: Safety, Efficacy, and Persistence

of the Fibrostenotic Phenotype. *Am J Gastroenterol* 2016; 111: 206-213 [PMID: 26753894 DOI: 10.1038/ajg.2015.399]
55 Moawad FJ, Molina-Infante J, Lucendo AJ, Cantrell SE, Tmanova L, Douglas KM. Systematic review with meta-

analysis: endoscopic dilation is highly effective and safe in children and adults with eosinophilic oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2017; 46: 96-105 [PMID: 28513085 DOI: 10.1111/apt.14123]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 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: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第 3 套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 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.

基于膳食结构的非酒精性脂肪性肝病动物模型

曾庆敏, 李嘉

曾庆敏, 天津医科大学研究生院 天津市肝病医学研究所 天津市 300070

曾庆敏, 李嘉, 天津市第二人民医院肝病科 天津市肝病医学研究所 天津市 300192

曾庆敏, 硕士研究生, 主要从事肝病的临床与研究.

作者贡献分布: 查阅文献与撰写文章由曾庆敏完成; 审阅与修改文章由李嘉完成.

通讯作者: 李嘉, 教授, 主任医师, 300192, 天津市南开区苏堤南路7号, 天津市第二人民医院肝病科, 天津市肝病医学研究所. 18622663700@163.com 电话: 022-27468230

收稿日期: 2019-04-26

修回日期: 2019-06-05

接受日期: 2019-07-02

在线出版日期: 2019-07-08

Diet-induced animal models of nonalcoholic fatty liver disease

Qing-Min Zeng, Jia Li

Qing-Min Zeng, Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin Institute of Hepatology, Tianjin 300070, China

Qing-Min Zeng, Jia Li, Department of Hepatology, Tianjin Second People's Hospital, Tianjin Institute of Hepatology, Tianjin 300192, China

Corresponding author: Jia Li, Professor, Chief Physician, Department of Hepatology, Tianjin Second People's Hospital, Tianjin Institute of Hepatology, 7 Sudi South Road, Nankai District, Tianjin 300192, China. 18622663700@163.com

Received: 2019-04-26

Revised: 2019-06-05

Accepted: 2019-07-02

Published online: 2019-07-08

Abstract

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), mainly characterized by excessive lipid accumulation in hepatocytes, is a metabolically-stressed liver injury that is closely related to insulin resistance and genetic

susceptibility. The spectrum of NAFLD includes non-alcoholic simple hepatic steatosis, non-alcoholic steatohepatitis (NASH), cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. With changes in lifestyle and dietary patterns, the prevalence of NAFLD has increased significantly, paralleling the prevalence of obesity, type 2 diabetes, and metabolic syndrome. To date, no specific drugs have been recommended for routine treatment of NASH. Therefore, it is of great significance to establish high-quality animal models that simulate the histopathology and pathophysiology of various stages of human NAFLD for exploring the pathogenesis of NAFLD and guiding drug intervention. Considering that high-calorie dietary patterns and sedentary lifestyle are the main risk factors for NAFLD, this review summarizes diet-induced NAFLD models.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Non-alcoholic fatty liver disease; Animal model; Pathogenesis; Diet

Zeng QM, Li J. Diet-induced animal models of nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 835-841
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/835.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i13.835>

摘要

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种与胰岛素抵抗和遗传易感密切相关的代谢应激性肝损伤,以肝细胞内脂质大量累积为主要特征,疾病谱包括非酒精性单纯性肝脂肪变、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)、肝硬化和肝细胞癌。随着生活方式及膳食结构的改变,NAFLD患病率显著升高,与肥胖症、2型糖尿病和代谢综合征流行趋势平行。至今尚缺乏特异性的药物推荐用于NASH的常

规治疗。因此, 建立高质量的模拟人类NAFLD各阶段组织病理学和病理生理学的动物模型, 对于探讨NAFLD的发病机制及指导药物干预研究具有重大意义。基于高热量膳食结构与久坐少动的生活方式是NAFLD的主要危险因素, 本文将主要对饮食诱导的NAFLD动物模型作一综述。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 动物模型; 发病机制; 饮食

核心提要: 本文主要总结饮食诱导的非酒精性脂肪性肝病动物模型, 基于膳食结构的改变在脂肪肝发生发展过程中扮演重要角色。本文主要从各饮食模型可能涉及的机制、饮食构成谱、病理改变、模型复制时间、优缺点、适用方向、影响因素等方面进行阐述。

曾庆敏, 李嘉. 基于膳食结构的非酒精性脂肪性肝病动物模型. 世界华人消化杂志 2019; 27(13): 835-841

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/835.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.835>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是全球最常见的慢性肝病^[1]。目前NAFLD的确切发病机制尚未阐明, 除Day等^[2]的“二次打击”理论外, 认为其可能还与肠道菌群失调^[3]、固有免疫调节紊乱^[4]、自噬^[5]及表观遗传学^[6]等有关。改善饮食结构、减轻体重是预防和治疗NAFLD及其并发症最为重要的治疗措施^[7]。临床上尚缺乏针对NAFLD的特异性治疗方案, 当前主要集中在二甲双胍、维生素E、他汀类药物等胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、抗氧化应激及降脂治疗^[8]。因此针对发病机制和相关治疗药物的研究是目前NAFLD急需攻破的难题。

针对NAFLD疾病谱的不同阶段, 可建立相应的动物模型以模拟其病理生理变化及发病机制。迄今为止, 已成功构建的NAFLD动物模型包括鼠、兔、鹌鹑、斑马鱼等^[9], 综合经济效益、可操作性等因素, 鼠模型使用最多, C57BL/6小鼠、Wistar大鼠、Sprague Dawley大鼠这三种株系运用最为广泛。由于膳食结构及生活方式的改变对NAFLD的发生发展有深远影响, 本文拟对不同饮食结构建立的NAFLD动物模型作一综述。

1 高脂饮食诱导的NAFLD模型

膳食脂肪摄入过多, 致循环游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)含量增加, 当肝脏摄取脂肪酸比例超过其分解及输出时, 肝内甘油三酯(triglycerides, TG)堆积, 从而导致肝脏脂肪变性。NAFLD患者较健康人群显示明显升

高的循环FFA及肝内脂质沉积^[10]。微粒体甘油三酯转运蛋白(microsomal triglyceride transfer protein, MTP), 存在于肝细胞、肠上皮细胞内质网及微粒体内的脂质转运蛋白^[11], 参与甘油三酯的转运及极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)的装配与分泌^[12]。研究发现高脂饮食(high fat diet, HFD)喂养的NAFLD大鼠肝脏中MTP表达减少, 导致肝内TG转运通路障碍, VLDL分泌减少, 促进肝脏内TG沉积, 从而导致肝细胞脂肪变性^[13]。HFD可通过ATP合成减少与线粒体DNA氧化损伤介导的氧化磷酸化缺陷^[14]和肠道菌群改变与肠黏膜屏障功能障碍介导的全身慢性低度炎症反应^[15]诱导NAFLD。同时, 对NAFLD小鼠肝脏蛋白组学分析发现与脂肪酸 β -氧化、脂肪酸转运及碳水化合物合成相关的蛋白表达增加, 而与胆固醇合成及尿素循环相关的蛋白表达下调^[16]。基于以上原理构建HFD模型, 即饮食配方中脂肪含量占比高(约占膳食总能量的30%-71%)。经典HFD饮食由脂肪(71%), 碳水化合物(11%)和蛋白质(18%)组成^[17]。Lau等^[17]予C57BL/6小鼠HFD(45%)12 wk即出现肝脏脂质沉积和肝细胞脂肪变性等脂肪肝表现。而Eccleston等^[18]予C57BL/6小鼠经典HFD(71%)16 wk, 即出现IR、肥胖、脂变、气球样变、Mallory小体形成等非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)病理改变。Ichimura等^[19]予SD大鼠9 wk HFD(30%)诱导轻度脂肪肝出现, 18 wk时可见轻度炎症, 无纤维化^[20]; 而Lieber等^[21]予SD大鼠经典HFD饮食3 wk即可表现脂变及小叶内炎症。因此, 大鼠较小鼠能更快诱导NAFLD形成; 同时, 脂肪构成及比例不同, 造模表现也有差异。反式脂肪酸较猪油诱导更严重的NAFLD病生及病理表现^[22,23]。饲喂HFD可观察到明显的肥胖和IR, 模拟人类NAFLD的组织病理学和发病机制; 但造模时间过长, 肝组织炎症较轻, 纤维化不易形成。Tian等^[24]发现HFD饮食饲养的C57BL/6J小鼠在30℃热中性环境较22℃正常环境, 能加速脂肪组织炎症的发展^[25]。Zarrinpar等^[26]发现限制进食时间(夜间进食)可通过改善肠道菌群的周期性波动防止代谢性疾病的进展。因此, 饲养环境、喂养方式等也会影响造模结果, 实验期间应注意保证以上干扰因素的均衡一致性。

2 高胆固醇饮食诱导的NAFLD模型

大量研究表明, 体内胆固醇代谢紊乱与NAFLD的发生发展有关。胆固醇在肝内转化为胆汁酸是胆固醇体内代谢的主要途径, 当膳食胆固醇摄入增加或代谢减少时, 肝内胆固醇堆积。过载的胆固醇可通过破坏线粒体谷胱甘肽的完整性和改变内质网膜胆固醇-磷脂的比率来触发氧化应激与脂质过氧化^[27]。Qian等^[28]予Wistar大鼠

高胆固醇饮食(high cholesterol diet, HCD)(2%)6 wk即可诱导肝细胞脂肪变性. Matsuzawa等^[29]予C57BL/6小鼠HCD(1.25%)12 wk可见肝细胞气球样变. Savard等^[30]予C57BL/6小鼠HCD(1%)30 wk, 表现出轻至中度大泡性脂变及轻度炎症, 无纤维化形成, 而体重质量较对照组无明显变化.高胆盐(0.5%)的补充加重脂变及炎症的进展. 综上, 尽管高胆固醇模型能诱导肝脂变及炎症出现, 但对体重质量影响不显著, 不能形成明显的肥胖及IR, 用于模拟人类NAFLD病理生理变化存在一定局限性.

3 高脂高胆固醇饮食诱导的NAFLD模型

临床与动物实验关于高胆固醇饮食与动脉粥样硬化性心血管疾病关系的研究较为广泛, 最近几项研究提出膳食胆固醇在人类与动物NAFLD中促进肝脏炎症和NASH进展^[30-32]. Serviddio等^[33]予Wistar大鼠高脂(60%)高胆固醇(1.25%)饮食(high fat, high cholesterol diet, HFHC)6 wk即表现出肝内脂质沉积、肝指数及肝酶水平增加, 同时伴大泡性脂变、重度肝细胞气球样变及弥漫性炎症浸润. Matsuzawa等^[29]予C57BL/6小鼠高脂(60%)高胆固醇(1.25%)饮食24 wk可见肝细胞气球样变、炎症及纤维化. Savard等^[30]发现HFHC饮食较HFD或HCD, 表现出更高的体重质量增加与肝脂质堆积、更明显的ALT升高和脂联素减少, 脂肪组织与肝脏炎症更严重, 同时出现一定程度窦周纤维化, 与Matsuzawa等^[29]观点一致. Savard等^[30]认为膳食高胆固醇的补充通过减少胆汁酸的合成、VLDL的分泌及脂肪酸的 β 氧化从而促进肝内脂质超载. 有学者提出胆固醇能通过Toll样受体(toll-like receptor, TLR)-4依赖性途径激活肝星状细胞引发纤维化^[27]. HFHC饮食模型, 结合高脂与高胆固醇的优劣, 既诱导肥胖与IR, 又表现出脂变、炎症、纤维化等病理变化, 同时与我们人类饮食习惯较为一致, 较拟合人类NAFLD的疾病谱, 在动物实验研究中应用最为广泛.

4 高果糖饮食诱导的NAFLD模型

既往流行病学及临床研究提示, NAFLD患者果糖摄入量高于健康对照组, 且增加的果糖摄入量与肝细胞气球样变加重、肝脏炎症及纤维化形成相关^[34]. 果糖的两个主要来源是蔗糖(由50%果糖和50%葡萄糖组成的二糖)和具有不同果糖含量的高果糖玉米糖浆^[35]. Bergheim等^[36]予30%葡萄糖、果糖、蔗糖等不同糖水喂养C57BL/6小鼠, 体重质量仅在葡萄糖与蔗糖组明显增加, 果糖组增加不明显, 而表现出更多的肝内脂质沉积、更显著的脂质过氧化及更严重的炎症. 同时只有果糖组显示门静脉内毒素水平高, 他们认为果糖可通过增加细菌内毒素的肠易位促进4-羟基壬烯醛、 $\text{I}\kappa\text{B}$ 及 $\text{TNF}\alpha$ 等细胞因子的表达. Schultz等^[37]分析单纯高脂或高果糖以

及两混合饮食对肝脏的影响, 发现果糖在未导致肥胖的情况下仍能诱导血脂异常、IR、坏死性炎症等NASH表现. Nigro等^[38]比较饱和脂肪和果糖对肝脏促炎及抗氧化反应的影响, 发现果糖较饱和脂肪更快加速NAFL向NASH进展. 以上研究提示高果糖摄入能促进NAFLD向NASH发展, 同时诱导纤维化形成, 需要注意该模型不能诱导明显肥胖出现, 使其在肥胖型NAFLD动物模型中的运用受到限制.

5 高脂高果糖饮食诱导的NAFLD模型

膳食高脂与高果糖在NAFLD发生发展中的协同促进作用已得到广泛证实. 果糖主要由果糖激酶代谢, 果糖激酶存在两种亚型: 果糖激酶C和果糖激酶A. 果糖激酶C主要存在于肝脏中, 是一种快速磷酸化剂, 迅速消耗ATP^[39], 与果糖激酶A相比, 与肝脂变关系更为密切^[34]. Ishimoto等^[39]予野生及己酮糖激酶(KHK-A/C)敲除C57BL/6小鼠分别饲喂低脂(11%)、高脂(36%)、高脂高蔗糖(36%/30%)饮食15 wk, 发现高糖的补充能加重高脂诱导的肝细胞脂肪变性, 同时加速其向NASH及纤维化发展, 并指出果糖主要依赖于果糖激酶而发挥以上作用. Kohli等^[40]予C57BL/6小鼠HFD或高脂高果糖饮食(high fat, high fructose diet, HFHF)饮食, 发现果糖消耗是肝脂质沉积向肝纤维化进展的必需环节, 尽管体重质量增加、IR与肝脂变程度在两组相似, 但HFHF组小鼠表现出肝脏氧化应激增强、 $\text{TGF-}\beta$ 与肝 $\text{CD11b}^+\text{F4/80}^+\text{Gr1}^+$ 巨噬细胞数增加以及胶原沉积增多. 同时还指出不同剂型果糖与不同类别脂肪酸的组合将产生不同的肝损结果. Tsuchiya等^[41]予C57BL/6小鼠HFHF饮食2 wk时即发现肝脏铁含量及氧化应激的增加, 早于4 wk时出现的肝内脂质沉积与肝脂变, 认为HFHF饮食导致的肝铁离子超载可能与肝脂肪变性和IR相关. 以上研究提示HFHF协同促进NAFLD的发生发展, 且较高脂模型能更快诱导肝纤维化出现且纤维化程度更重, 表明果糖是促进纤维化形成的启动因子. Liu等^[42]发现喂食野生型TLR4(C3H/HeN WT)小鼠HFHF饮食4 wk、8 wk和16 wk依次出现单纯脂肪变性、脂肪性肝炎和肝纤维化. 因此运用该模型时需密切关注造模时间, 准确把握药物干预时机, 避免造模时间过长导致肝损程度过重从而影响早期干预效果.

6 高脂高胆固醇高果糖饮食诱导的NAFLD模型

西方饮食或快餐饮食, 由脂肪、胆固醇及果糖组成, 被认为是导致肥胖的危险因素. Kanuri等^[43]以高脂(25%)高胆固醇(0.2%)高果糖(50%)饮食喂养C57BL/6小鼠6 wk即出现肝细胞脂肪变性、内毒素水平增加及明显炎症反应. Charlton等^[44]予C57BL/6小鼠快餐饮食(40%脂肪+2%胆固醇+果糖)6 mo, 表现出肥胖、IR、内质网氧化

表 1 非酒精性脂肪性肝病饮食动物模型

模型	饮食构成	机制	IR	肥胖	脂变	炎症	纤维化
高脂饮食	脂肪占总能量的30%–71%	FFA增多及肠道菌群改变等	明显	明显	明显	明显	不易
高胆固醇饮食	胆固醇占总能量的1%–2%, 伴或不伴0.5%胆盐	线粒体和内质网氧化应激	不明显	不明显	明显	明显	不易
高脂高胆固醇饮食	脂肪占总能量15%–60%, 伴1.25%胆固醇	肝星状细胞激活及细胞因子表达增加	明显	明显	明显	明显	造模时间较长
高果糖饮食	果糖占总能量30%–50%	内毒素水平增加、Kupffer细胞激活	不明显	不明显	明显	明显	较易
高脂高果糖饮食	–	氧化应激、TGF- β 1增加及胶原沉积	明显	明显	明显	明显	易
高脂高胆固醇高果糖饮食	–	氧化应激、脂质过氧化、内毒素增加	明显	明显	明显	明显, 较快出现	易, 较高脂高果糖饮食时间更短
蛋氨酸-胆碱缺乏饮食	饮食含10%脂肪和40%蔗糖, 缺乏胆碱和蛋氨酸	VLDL合成与分泌减少、脂质过氧化、氧化应激	无	体重下降	明显	明显, 短时间出现且严重	易, 较短时间
胆碱缺乏性左旋氨基酸饮食	胆碱缺乏饮食中蛋白质被L-氨基酸混合物取代	与MCD相似	无	体重减轻	明显	明显, 较MCD稍长	易, 较MCD稍长

IR: 胰岛素抵抗; FFA: 游离脂肪酸; VLDL: 极低密度脂蛋白; MCD: 蛋氨酸-胆碱缺乏饮食。

应激、明显气球样变与炎症以及进展性纤维化。高脂高胆固醇高果糖饮食, 现代都市人群喜食膨化食品和喜饮碳酸饮料的体现, 模拟西方饮食结构, 诱导肥胖与IR出现的同时, 较前几种模型诱导炎症与纤维化出现的时间更短、更迅速, 范围更广、更严重。运用该模型探索NAFLD的发病机制显示出较好的优势, 但用于寻找药物治疗靶点时应严格把握饲喂时间, 避免造模时间过长导致的不可逆性肝损害。

7 蛋氨酸-胆碱缺乏饮食诱导的NAFLD模型

基于“二次打击”学说, 蛋氨酸-胆碱缺乏饮食(methionine and choline deficient diet, MCD)模型已被广泛用于NASH与纤维化等NAFLD严重表型的研究。MCD饮食包含蔗糖(40%)与脂肪(10%), 但缺乏蛋氨酸与胆碱。蛋氨酸与胆碱是磷脂酰胆碱的前体^[12], 作为合成VLDL的原料, 饮食蛋氨酸与胆碱的缺乏将影响VLDL的合成与分泌, 从而导致肝内脂质堆积、脂质过氧化、肝脂肪变性、氧化应激损伤、坏死性炎症等。Sahai等^[45]以MCD喂养A/J小鼠, 1 wk即出现肝脂变, 2 wk即可见炎症, 8 wk时纤维化已形成。Weltman等^[46]以MCD喂养Wistar大鼠, 4 wk即出现大泡性脂变与炎症浸润。与其他饮食模型相比, 在相同喂养时间内, MCD喂养SD大鼠^[47]、Wistar大鼠^[48]或C57BL/6小鼠^[49]表现出更高水平的ALT与细胞因子数, 更严重的脂变、气球样变、炎症坏死及

纤维化, 更活跃的内质网及线粒体氧化应激。且不同物种、种系^[43]及性别^[50]对MCD的反应也不同。MCD模型诱导NAFLD演变进展较高脂或其它模型更快更严重, 且更能模仿人类严重的NASH的病理学改变^[17]。然而, MCD模型虽在短时间内即可诱导NASH等严重表型的出现, 但尚未表现外周IR及肥胖^[51], 反而出现严重体质量下降、恶病质及低血清胰岛素、瘦素和甘油三酯水平, 与人类NAFLD代谢谱明显不同, 因此该模型的应用存在一定程度局限性, 当前主要用于NASH炎症与纤维化形成机制的探讨与治疗药物的筛选研究。

8 胆碱缺乏性左旋氨基酸饮食诱导的NAFLD模型

胆碱缺乏性左旋氨基酸(choline-Deficient l-Amino-Defined Diet, CDAA)饮食与MCD饮食相似, 均缺乏胆碱; 与胆碱缺乏饮食除蛋白质被等量L-氨基酸混合物取代外, 其余总体组成相同^[52]。CDAA饮食可诱导小鼠形成肝细胞脂变、炎症及纤维化, 所需时间较MCD饮食稍长^[53]。与MCD饮食相似, CDAA饮食喂养的小鼠不能出现IR与肥胖^[54], 因此, 用于研究代谢性特征尚存在缺陷。遂有学者提出CDAA饮食与HFD饮食结合的高脂型CDAA饮食, 然而, HFD的添加仍未诱导C57BL/6J和A/J两种小鼠出现代谢相关特征, 但发现6 wk即可诱导C57BL/6J纤维化形成^[55]。此外, 长时间的CDAA饮食可用于构建肝脏恶性肿瘤模型^[56](表1)。

9 结论

基于膳食结构对NAFLD的影响, 本文主要探讨饮食诱导的NAFLD模型, 包括高脂、高胆固醇、高果糖以及MCD. 构建单纯脂肪肝模型, 高脂或高胆固醇饮食尚可, 而NASH及肝纤维化等模型的建立, 尚需考虑胆固醇、果糖和胆碱或MCD. 上述饮食动物模型尚不能单独用于模拟完整的NAFLD疾病发展谱, 因在不同生理或病理方面各模型间各有优势, 优势互补, 对探索NAFLD的发病机制及寻找药物治疗靶点仍具有重要指导意义. 同时, 尚需关注造模时间、动物种系等因素的影响. 不同实验设计方案下针对性地选择最合适的动物模型用于NAFLD发病机制与药物靶点的研究至关重要.

10 参考文献

- Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* 2016; 64: 73-84 [PMID: 26707365 DOI: 10.1002/hep.28431]
- Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845 [PMID: 9547102]
- Leung C, Rivera L, Furness JB, Angus PW. The role of the gut microbiota in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016; 13: 412-425 [PMID: 27273168 DOI: 10.1038/nrgastro.2016.8]
- Tosello-Trampont AC, Krueger P, Narayanan S, Landes SG, Leitinger N, Hahn YS. NKp46(+) natural killer cells attenuate metabolism-induced hepatic fibrosis by regulating macrophage activation in mice. *Hepatology* 2016; 63: 799-812 [PMID: 26662852 DOI: 10.1002/hep.28389]
- Ueno T, Komatsu M. Autophagy in the liver: functions in health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 14: 170-184 [PMID: 28053338 DOI: 10.1038/nrgastro.2016.185]
- Lee J, Kim Y, Friso S, Choi SW. Epigenetics in non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Aspects Med* 2017; 54: 78-88 [PMID: 27889327 DOI: 10.1016/j.mam.2016.11.008]
- Romero-Gómez M, Zelber-Sagi S, Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *J Hepatol* 2017; 67: 829-846 [PMID: 28545937 DOI: 10.1016/j.jhep.2017.05.016]
- Rinella ME, Sanyal AJ. Management of NAFLD: a stage-based approach. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016; 13: 196-205 [PMID: 26907882 DOI: 10.1038/nrgastro.2016.3]
- Willebrords J, Pereira IV, Maes M, Crespo Yanguas S, Colle I, Van Den Bossche B, Da Silva TC, de Oliveira CP, Andraus W, Alves VA, Cogliati B, Vinken M. Strategies, models and biomarkers in experimental non-alcoholic fatty liver disease research. *Prog Lipid Res* 2015; 59: 106-125 [PMID: 26073454 DOI: 10.1016/j.plipres.2015.05.002]
- Maximos M, Bril F, Portillo Sanchez P, Lomonaco R, Orsak B, Biernacki D, Suman A, Weber M, Cusi K. The role of liver fat and insulin resistance as determinants of plasma aminotransferase elevation in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2015; 61: 153-160 [PMID: 25145475 DOI: 10.1002/hep.27395]
- 张林彬, 高鑫. 微粒体甘油三酯转运蛋白与非酒精性脂肪性肝病的研究进展. *中华内分泌代谢杂志* 2014; 1: 76-78 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2014.01.020]
- Imajo K, Yoneda M, Kessoku T, Ogawa Y, Maeda S, Sumida Y, Hyogo H, Eguchi Y, Wada K, Nakajima A. Rodent models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 21833-21857 [PMID: 24192824 DOI: 10.3390/ijms141121833]
- Nozaki Y, Fujita K, Yoneda M, Wada K, Shinohara Y, Takahashi H, Kirikoshi H, Inamori M, Kubota K, Saito S, Mizoue T, Masaki N, Nagashima Y, Terauchi Y, Nakajima A. Long-term combination therapy of ezetimibe and acarbose for non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2009; 51: 548-556 [PMID: 19596472 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.05.017]
- García-Ruiz I, Solís-Muñoz P, Fernández-Moreira D, Grau M, Colina F, Muñoz-Yagüe T, Solís-Herruzo JA. High-fat diet decreases activity of the oxidative phosphorylation complexes and causes nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Dis Model Mech* 2014; 7: 1287-1296 [PMID: 25261569 DOI: 10.1242/dmm.016766]
- Duan Y, Zeng L, Zheng C, Song B, Li F, Kong X, Xu K. Inflammatory Links Between High Fat Diets and Diseases. *Front Immunol* 2018; 9: 2649 [PMID: 30483273 DOI: 10.3389/fimmu.2018.02649]
- Soltis AR, Kennedy NJ, Xin X, Zhou F, Ficarro SB, Yap YS, Matthews BJ, Lauffenburger DA, White FM, Marto JA, Davis RJ, Fraenkel E. Hepatic Dysfunction Caused by Consumption of a High-Fat Diet. *Cell Rep* 2017; 21: 3317-3328 [PMID: 29241556 DOI: 10.1016/j.celrep.2017.11.059]
- Lau JK, Zhang X, Yu J. Animal models of non-alcoholic fatty liver disease: current perspectives and recent advances. *J Pathol* 2017; 241: 36-44 [PMID: 27757953 DOI: 10.1002/path.4829]
- Eccleston HB, Andringa KK, Betancourt AM, King AL, Mantena SK, Swain TM, Tinsley HN, Nolte RN, Nagy TR, Abrams GA, Bailey SM. Chronic exposure to a high-fat diet induces hepatic steatosis, impairs nitric oxide bioavailability, and modifies the mitochondrial proteome in mice. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15: 447-459 [PMID: 20919931 DOI: 10.1089/ars.2010.3395]
- Ichimura M, Kawase M, Masuzumi M, Sakaki M, Nagata Y, Tanaka K, Suruga K, Tamaru S, Kato S, Tsuneyama K, Omagari K. High-fat and high-cholesterol diet rapidly induces non-alcoholic steatohepatitis with advanced fibrosis in Sprague-Dawley rats. *Hepatol Res* 2015; 45: 458-469 [PMID: 24827559 DOI: 10.1111/hepr.12358]
- Ichimura M, Masuzumi M, Kawase M, Sakaki M, Tamaru S, Nagata Y, Tanaka K, Suruga K, Tsuneyama K, Matsuda S, Omagari K. A diet-induced Sprague-Dawley rat model of nonalcoholic steatohepatitis-related cirrhosis. *J Nutr Biochem* 2017; 40: 62-69 [PMID: 27863346 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2016.10.007]
- Lieber CS, Leo MA, Mak KM, Xu Y, Cao Q, Ren C, Ponomarenko A, DeCarli LM. Model of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 502-509 [PMID: 14985228 DOI: 10.1093/ajcn/79.3.502]
- Longhi R, Almeida RF, Machado L, Duarte MM, Souza DG, Machado P, de Assis AM, Quincozes-Santos A, Souza DO. Effect of a trans fatty acid-enriched diet on biochemical and inflammatory parameters in Wistar rats. *Eur J Nutr* 2017; 56: 1003-1016 [PMID: 26754301 DOI: 10.1007/s00394-015-1148-y]
- Zhao X, Shen C, Zhu H, Wang C, Liu X, Sun X, Han S, Wang P, Dong Z, Ma X, Hu K, Sun A, Ge J. Trans-Fatty Acids Aggravate Obesity, Insulin Resistance and Hepatic Steatosis in C57BL/6 Mice, Possibly by Suppressing the IRS1 Dependent Pathway. *Molecules* 2016; 21 [PMID: 27248994 DOI: 10.3390/molecules21060705]
- Tian XY, Ganeshan K, Hong C, Nguyen KD, Qiu Y, Kim J, Tangirala RK, Tontonoz P, Chawla A. Thermoneutral Housing Accelerates Metabolic Inflammation to Potentiate Atherosclerosis but Not Insulin Resistance. *Cell Metab* 2016; 23: 165-178 [PMID: 26549485 DOI: 10.1016/j.cmet.2015.10.003]
- Maher JJ. Modeling fatty liver disease in animals: Is there an

- optimal approach, and is the effort worthwhile? *Hepatology* 2016; 64: 1398-1400 [PMID: 27639263 DOI: 10.1002/hep.28823]
- 26 Zarrinpar A, Chaix A, Yooshep S, Panda S. Diet and feeding pattern affect the diurnal dynamics of the gut microbiome. *Cell Metab* 2014; 20: 1006-1017 [PMID: 25470548 DOI: 10.1016/j.cmet.2014.11.008]
- 27 Musso G, Gambino R, Cassader M. Cholesterol metabolism and the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Prog Lipid Res* 2013; 52: 175-191 [PMID: 23206728 DOI: 10.1016/j.plipres.2012.11.002]
- 28 Qian W, Hasegawa J, Cai X, Yang J, Ishihara Y, Ping B, Tsuno S, Endo Y, Matsuda A, Miura N. Components of Boiogito Suppress the Progression of Hypercholesterolemia and Fatty Liver Induced by High-Cholesterol Diet in Rats. *Yonago Acta Med* 2016; 59: 67-80 [PMID: 27046953]
- 29 Matsuzawa N, Takamura T, Kurita S, Misu H, Ota T, Ando H, Yokoyama M, Honda M, Zen Y, Nakanuma Y, Miyamoto K, Kaneko S. Lipid-induced oxidative stress causes steatohepatitis in mice fed an atherogenic diet. *Hepatology* 2007; 46: 1392-1403 [PMID: 17929294 DOI: 10.1002/hep.21874]
- 30 Savard C, Tartaglione EV, Kuver R, Haigh WG, Farrell GC, Subramanian S, Chait A, Yeh MM, Quinn LS, Ioannou GN. Synergistic interaction of dietary cholesterol and dietary fat in inducing experimental steatohepatitis. *Hepatology* 2013; 57: 81-92 [PMID: 22508243 DOI: 10.1002/hep.25789]
- 31 Ray K. Liver: Dietary cholesterol and fat synergistically fuel the development of NASH in experimental models. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 303 [PMID: 22565096 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.90]
- 32 Tomita K, Teratani T, Suzuki T, Shimizu M, Sato H, Narimatsu K, Okada Y, Kurihara C, Irie R, Yokoyama H, Shimamura K, Usui S, Ebinuma H, Saito H, Watanabe C, Komoto S, Kawaguchi A, Nagao S, Sugiyama K, Hokari R, Kanai T, Miura S, Hibi T. Free cholesterol accumulation in hepatic stellate cells: mechanism of liver fibrosis aggravation in nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Hepatology* 2014; 59: 154-169 [PMID: 23832448 DOI: 10.1002/hep.26604]
- 33 Serviddio G, Bellanti F, Villani R, Tamborra R, Zerbinati C, Blonda M, Ciacciarelli M, Poli G, Vendemiale G, Iuliano L. Effects of dietary fatty acids and cholesterol excess on liver injury: A lipidomic approach. *Redox Biol* 2016; 9: 296-305 [PMID: 27639112 DOI: 10.1016/j.redox.2016.09.002]
- 34 Jensen T, Abdelmalek MF, Sullivan S, Nadeau KJ, Green M, Roncal C, Nakagawa T, Kuwabara M, Sato Y, Kang DH, Tolan DR, Sanchez-Lozada LG, Rosen HR, Lanasma MA, Diehl AM, Johnson RJ. Fructose and sugar: A major mediator of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2018; 68: 1063-1075 [PMID: 29408694 DOI: 10.1016/j.jhep.2018.01.019]
- 35 Ventura EE, Davis JN, Goran MI. Sugar content of popular sweetened beverages based on objective laboratory analysis: focus on fructose content. *Obesity (Silver Spring)* 2011; 19: 868-874 [PMID: 20948525 DOI: 10.1038/oby.2010.255]
- 36 Bergheim I, Weber S, Vos M, Krämer S, Volynets V, Kaserouni S, McClain CJ, Bischoff SC. Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. *J Hepatol* 2008; 48: 983-992 [PMID: 18395289 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.035]
- 37 Schultz A, Neil D, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Hepatic adverse effects of fructose consumption independent of overweight/obesity. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 21873-21886 [PMID: 24196354 DOI: 10.3390/ijms141121873]
- 38 Nigro D, Menotti F, Cento AS, Serpe L, Chiazza F, Dal Bello F, Romaniello F, Medana C, Collino M, Aragno M, Mastrocola R. Chronic administration of saturated fats and fructose differently affect SREBP activity resulting in different modulation of Nrf2 and Nlrp3 inflammasome pathways in mice liver. *J Nutr Biochem* 2017; 42: 160-171 [PMID: 28189916 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2017.01.010]
- 39 Ishimoto T, Lanasma MA, Rivard CJ, Roncal-Jimenez CA, Orlicky DJ, Cicerchi C, McMahan RH, Abdelmalek MF, Rosen HR, Jackman MR, MacLean PS, Diggle CP, Asipu A, Inaba S, Kosugi T, Sato W, Maruyama S, Sánchez-Lozada LG, Sautin YY, Hill JO, Bonthron DT, Johnson RJ. High-fat and high-sucrose (western) diet induces steatohepatitis that is dependent on fructokinase. *Hepatology* 2013; 58: 1632-1643 [PMID: 23813872 DOI: 10.1002/hep.26594]
- 40 Kohli R, Kirby M, Xanthakos SA, Softic S, Feldstein AE, Saxena V, Tang PH, Miles L, Miles MV, Balistreri WF, Woods SC, Seeley RJ. High-fructose, medium chain trans fat diet induces liver fibrosis and elevates plasma coenzyme Q9 in a novel murine model of obesity and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2010; 52: 934-944 [PMID: 20607689 DOI: 10.1002/hep.23797]
- 41 Tsuchiya H, Ebata Y, Sakabe T, Hama S, Kogure K, Shiota G. High-fat, high-fructose diet induces hepatic iron overload via a hepcidin-independent mechanism prior to the onset of liver steatosis and insulin resistance in mice. *Metabolism* 2013; 62: 62-69 [PMID: 22854109 DOI: 10.1016/j.metabol.2012.06.008]
- 42 Liu J, Zhuang ZJ, Bian DX, Ma XJ, Xun YH, Yang WJ, Luo Y, Liu YL, Jia L, Wang Y, Zhu ML, Ye DW, Zhou G, Lou GQ, Shi JP. Toll-like receptor-4 signalling in the progression of non-alcoholic fatty liver disease induced by high-fat and high-fructose diet in mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2014; 41: 482-488 [PMID: 24739055 DOI: 10.1111/1440-1681.12241]
- 43 Kanuri G, Bergheim I. In vitro and in vivo models of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Int J Mol Sci* 2013; 14: 11963-11980 [PMID: 23739675 DOI: 10.3390/ijms140611963]
- 44 Charlton M, Krishnan A, Viker K, Sanderson S, Cazanave S, McConico A, Masuoko H, Gores G. Fast food diet mouse: novel small animal model of NASH with ballooning, progressive fibrosis, and high physiological fidelity to the human condition. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 301: G825-G834 [PMID: 21836057 DOI: 10.1152/ajpgi.00145.2011]
- 45 Sahai A, Malladi P, Melin-Aldana H, Green RM, Whittington PF. Upregulation of osteopontin expression is involved in the development of nonalcoholic steatohepatitis in a dietary murine model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G264-G273 [PMID: 15044174 DOI: 10.1152/ajpgi.00002.2004]
- 46 Weltman MD, Farrell GC, Liddle C. Increased hepatocyte CYP2E1 expression in a rat nutritional model of hepatic steatosis with inflammation. *Gastroenterology* 1996; 111: 1645-1653 [PMID: 8942745]
- 47 Chen J, Fan X, Zhou L, Gao X. Treatment with geraniol ameliorates methionine-choline-deficient diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 2016; 31: 1357-1365 [PMID: 26695085 DOI: 10.1111/jgh.13272]
- 48 Mu YP, Ogawa T, Kawada N. Reversibility of fibrosis, inflammation, and endoplasmic reticulum stress in the liver of rats fed a methionine-choline-deficient diet. *Lab Invest* 2010; 90: 245-256 [PMID: 19949375 DOI: 10.1038/labinvest.2009.123]
- 49 Chen R, Wang Q, Song S, Liu F, He B, Gao X. Protective role of autophagy in methionine-choline deficient diet-induced advanced nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Eur J Pharmacol* 2016; 770: 126-133 [PMID: 26593434 DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.11.012]
- 50 Lee YH, Kim SH, Kim SN, Kwon HJ, Kim JD, Oh JY, Jung YS. Sex-specific metabolic interactions between liver and adipose tissue in MCD diet-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Oncotarget* 2016; 7: 46959-46971 [PMID: 27409675 DOI: 10.18632/oncotarget.10506]
- 51 Rinella ME, Green RM. The methionine-choline deficient dietary model of steatohepatitis does not exhibit insulin

- resistance. *J Hepatol* 2004; 40: 47-51 [PMID: 14672613]
- 52 Van Herck MA, Vonghia L, Francque SM. Animal Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease-A Starter's Guide. *Nutrients* 2017; 9 [PMID: 28953222 DOI: 10.3390/nu9101072]
- 53 Miura K, Kodama Y, Inokuchi S, Schnabl B, Aoyama T, Ohnishi H, Olefsky JM, Brenner DA, Seki E. Toll-like receptor 9 promotes steatohepatitis by induction of interleukin-1beta in mice. *Gastroenterology* 2010; 139: 323-34.e7 [PMID: 20347818 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.03.052]
- 54 Ibrahim SH, Hirsova P, Malhi H, Gores GJ. Animal Models of Nonalcoholic Steatohepatitis: Eat, Delete, and Inflammation. *Dig Dis Sci* 2016; 61: 1325-1336 [PMID: 26626909 DOI: 10.1007/s10620-015-3977-1]
- 55 Matsumoto M, Hada N, Sakamaki Y, Uno A, Shiga T, Tanaka C, Ito T, Katsume A, Sudoh M. An improved mouse model that rapidly develops fibrosis in non-alcoholic steatohepatitis. *Int J Exp Pathol* 2013; 94: 93-103 [PMID: 23305254 DOI: 10.1111/iep.12008]
- 56 Denda A, Kitayama W, Kishida H, Murata N, Tamura K, Kusuoka O, Tsutsumi M, Nishikawa F, Kita E, Nakae D, Konishi Y, Kuniyasu H. Expression of inducible nitric oxide (NO) synthase but not prevention by its gene ablation of hepatocarcinogenesis with fibrosis caused by a choline-deficient, L-amino acid-defined diet in rats and mice. *Nitric Oxide* 2007; 16: 164-176 [PMID: 16931074 DOI: 10.1016/j.niox.2006.07.002]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



他克莫司治疗炎症性肠病的最新进展

王静静, 范一宏

王静静, 范一宏, 浙江中医药大学附属第一医院消化内科 浙江省杭州市 310006

范一宏, 主任医师, 主要从事炎症性肠病和消化系统心身疾病的临床及研究工作.

作者贡献分布: 本文综述由王静静完成; 范一宏审校.

基金项目: 国家自然科学基金, No. 81473506; 浙江省自然科学基金, No. LY17H290009; 浙江省中医药科技计划项目, Nos. 2018ZB046, 2019ZA056.

通讯作者: 范一宏, 教授, 主任医师, 310006, 浙江省杭州市上城区邮电路54号, 浙江中医药大学附属第一医院消化内科. yhfansjr@163.com

收稿日期: 2019-03-26

修回日期: 2019-05-23

接受日期: 2019-06-17

在线出版日期: 2019-07-08

Advances in research of tacrolimus for treatment of inflammatory bowel disease

Jing-Jing Wang, Yi-Hong Fan

Jing-Jing Wang, Yi-Hong Fan, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81473506; Natural Science Foundation of Zhejiang Province, No. LY17H290009; Zhejiang TCM Science and Technology Project, No. 2018ZB046 and No. 2019ZA056.

Corresponding author: Yi-Hong Fan, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, 54 Youdian Road, Shangcheng District, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China. yhfansjr@163.com

Received: 2019-03-26

Revised: 2019-05-23

Accepted: 2019-06-17

Published online: 2019-07-08

Abstract

Traditional drugs for inflammatory bowel disease (IBD) include aminosalicic acid preparations, glucocorticoids, and immunosuppressive agents such as thiopurine and cyclosporine. In recent ten years, the application of anti-tumor necrosis factor (anti-TNF) drugs has greatly improved the clinical remission of patients with IBD, but there are still some problems, such as no response, intolerance, and recurrence after withdrawal. In recent years, tacrolimus, as a new powerful immunosuppressive agent, has been used as a second-line therapeutic drug for IBD. At present, the tacrolimus induced short-term remission effect in IBD is relatively obvious, and it has been gradually used for treatment of IBD refractory to traditional drugs or anti-TNF drugs. A few studies have found that tacrolimus can be used safely for a long time under proper monitoring. However, there is little evidence of long-term efficacy and safety. In this paper, we review the latest advances in the treatment of IBD with tacrolimus and make a comparison with anti-TNF drugs.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Tacrolimus; Ulcerative colitis; Crohn's disease; Anti-tumor necrosis factor agents

Wang JJ, Fan YH. Advances in research of tacrolimus for treatment of inflammatory bowel disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2019; 27(13): 842-850

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/842.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i13.842>

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的传统用药包括氨基水杨酸制剂、糖皮质激素、免疫抑制

剂如硫嘌呤类、环孢素等药物。近十多年来, 抗肿瘤坏死因子药物(anti-tumor necrosis factor, anti-TNF)的应用使IBD患者的临床缓解方面取得了显著进展, 但其仍然存在无反应、无法耐受和停用后复发等问题。近些年来发现, 他克莫司, 一种新型强效免疫抑制剂, 作为治疗IBD的二线治疗药物被使用。目前, 他克莫司的短期诱导缓解作用相对明显, 被逐渐应用在传统药物难治或者anti-TNF难治的IBD中。少数研究发现, 在适当的监测下, 他克莫司可以长期安全地使用。但其长期疗效和长期使用安全性的证据还比较少。本文就他克莫司在IBD中的治疗最新进展及其与anti-TNF的比较作一综述。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 他克莫司; 溃疡性结肠炎; 克罗恩病; 抗肿瘤坏死因子

核心提要: 本文是一篇关于他克莫司在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)中的最新治疗进展的文献综述, 总结了目前他克莫司在溃疡性结肠炎和克罗恩病中的治疗效果、与抗肿瘤因子药物疗效的比较以及对他克莫司的安全性评价, 有助于了解他克莫司这一新型免疫抑制剂的应用, 增加了临床上IBD患者的药物选择。

王静静, 范一宏. 他克莫司治疗炎症性肠病的最新进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(13): 842-850

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/842.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.842>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种以复发和缓解为病程特点的肠道慢性免疫失调性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(crohn's disease, CD)。IBD目前的用药有氨基水杨酸制剂、糖皮质激素、硫嘌呤类药物、抗肿瘤坏死因子药物(anti-tumor necrosis factor, anti-TNF)如英夫利西单抗(infliximab, IFX)、阿达木单抗(adalimumab, ADA)和维多利单抗(vedolizumab, VED)、钙调磷酸酶抑制剂等^[1-4]。近年来研究发现相当一部分患者是激素抵抗或者激素依赖性IBD, anti-TNF药物显著增加了这类难治性IBD患者治疗的选择^[5,6]。60%-80%的IBD患者对其显示出良好的初始反应。然而, 三分之一的缓解期患者在停用anti-TNF治疗后1年左右复发^[7]。同时, 据报道, 长期anti-TNF治疗中有增加淋巴瘤和机会性感染包括肺结核等严重不良反应的风险^[1,8]。钙调磷酸酶抑制剂, 包括环孢素和

他克莫司(tacrolimus, TAC), 已被用作激素难治性IBD的二线治疗药物^[3,5], 环孢素可以有效诱导缓解, 但由于其不良反应和长期治疗的失败率, 它的长期使用是受限的^[9,10]。同时环孢素在肠道吸收少且不稳定, 因此, 口服环孢素很难达到最佳血清谷浓度^[3,11]。TAC为大环内酯类免疫抑制剂, 可通过抑制T细胞激活和增殖以及抑制炎症因子反应起免疫抑制作用, 控制肠道炎症反应。虽然其免疫调节作用与环孢素相似, 但其体内免疫抑制活性为环孢素的10-20倍, 且肠道炎症对其口服吸收影响较小。鉴于TAC的这些特点, 在激素难治性IBD中, TAC的使用可能比环孢素更安全^[12,13]。本文拟从TAC在IBD中的治疗最新进展进行作一综述。

1 在UC治疗中的应用

1.1 短期疗效 Ogata等^[14]的双盲安慰剂对照研究表明, 口服TAC治疗2 wk时, 高谷浓度值组(10-15 ng/mL)、低谷浓度值组(5-10 ng/mL)和安慰剂组的临床反应率分别为68.4%、38.1%和10.0%, TAC诱导缓解治疗难治性UC是有效的且呈剂量依赖性, 研究还显示他克莫司的最佳谷浓度范围为10-15 ng/mL, 两周治疗效果较好。Ogata等^[15]在一项包括激素耐药性UC患者的随机对照试验中进一步探究了口服TAC的疗效, 结果表明, 在2 wk时, TAC组的临床反应率为50.0%, 安慰剂组为13.3%。黏膜愈合率TAC组为43.8%, 安慰剂组为13.3%。这些结果表明, 口服TAC治疗激素耐药性UC患者, 可以缩短急性期, 并有助于黏膜愈合。已知在治疗UC中TAC的靶谷浓度建议在最初2 wk为10-15 ng/mL, 后期为5-10 ng/mL, 在最近的一项观察性研究中^[16], 激素耐药性UC患者接受了口服TAC治疗, 初始剂量为0.1 mg/kg/d。剂量调整以维持较高的血清谷浓度(10-15 ng/mL)。结果表明, 前7 d时, 93.5%的患者维持10-15 ng/mL的谷浓度值。2 wk时临床反应率为73.1%, 临床缓解率为31.4%, 4 wk时临床缓解率为75.6%。这说明口服TAC的快速诱导治疗缩短了达到合适谷浓度值的时间, 是治疗难治性UC的有效方法。Yamada等^[17]的前瞻性队列研究中评估了快速达到TAC靶谷浓度对UC的临床疗效和安全性的影响, TAC的初始负荷剂量从0.05 mg/kg/d增加到0.1-0.2 mg/kg/d, 通过与实测血药浓度的比例计算确定维持剂量为12.5 ng/mL, 以达到靶谷浓度。结果显示, 与剂量调整前相比, 剂量调整后的初始剂量明显增加($P < 0.001$)。通过剂量调整, 达到10 ng/mL以上的目标谷浓度所需的时间明显缩短($P = 0.048$)。表明增加初始负荷剂量可使达到目标谷浓度时间缩短。此外, 剂量调整前和剂量调整后的临床缓解率分别为16.6%(2/12)和50.0%(7/14)($P = 0.114$)。在不影响

不良事件发生率的情况下, 剂量调整后大便频率评分显著提高. 研究表明, 快速达到TAC目标谷浓度对于改善UC患者的临床症状是有效的且相对安全. TAC在UC中的短期疗效研究情况见表1.

这些结果表明TAC短期诱导缓解治疗难治性UC, 可以缩短急性期, 有助于黏膜愈合, 且疗效呈剂量依赖性. 对于短期诱导难治性UC患者的缓解, TAC的最佳血谷浓度范围为10-15 ng/mL. 还发现TAC的快速诱导治疗可以缩短达到合适谷浓度值的时间, 对于改善难治性UC患者的临床症状是有效的且相对安全.

1.2 长期疗效 一般而言, 在UC中, 超过3 mo的他克莫司治疗视为长期. 钙调磷酸酶抑制剂在难治性UC中通常作为硫嘌呤类药物长期维持治疗的桥梁药物^[18,19]. 然而, 一些患者因为不能耐受硫嘌呤类药物必须停药. 在这种情况下, 我们必须考虑硫嘌呤类药物的替代药物^[20]. TAC长期治疗已被广泛应用于器官移植患者. 因此, TAC理论上可用于UC的维持治疗^[11].

已有研究证明TAC治疗难治性UC是有益的. 如果进行适当的监测, 可以长期安全地继续治疗^[21,22]. Ikeya等^[23]对TAC在难治性UC的中远期疗效进行了评估, 结果显示, 在临床缓解的患者中, 黏膜愈合率为60.9%. 结果表明, 黏膜愈合与较好的缓解维持时间有关. 结果还显示, 12 mo和24 mo无复发生存率分别为56%和50%, 而治疗4 mo以上者无复发生存率较高, 说明中、长期TAC治疗难治性UC是有益的. Landy等^[9]评价TAC维持治疗在难治性UC的疗效. TAC治疗的平均时间为9 mo. 结果显示, 6 mo时临床反应率为52%, 缓解率为44%. 平均MTW评分明显下降. 24 mo时无结肠切除的累积生存率为80%. 这些结果表明, TAC的长期维持缓解治疗是有效的, 并有较高的一年内无结肠切除术的生存率. 此外, Mayo内镜评分明显降低, 提示长期使用TAC可促进黏膜愈合. Olmedo等^[22]的研究表明, 在平均随访54 mo时, 无结肠切除术的比率为75%. 53%的患者出现不良反应, 无一例停药. 研究表明, TAC长期维持治疗是有效和相对安全的. 此外, 对于预后, Nishida等^[24]评价了接受TAC治疗的UC患者的预处理中性粒细胞与淋巴细胞比(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)作为预后因素的临床意义. 结果显示, 多变量Cox回归分析提示预处理NLR是TAC治疗UC患者的独立预后因素.

以上研究显示, TAC维持缓解治疗在难治性UC是有益的, 且TAC可以改善黏膜愈合, 降低结肠切除率. 在适当的监测下, TAC治疗可以长期安全使用. 还发现, 预处理NLR是TAC治疗UC患者的独立预后因素. 目前尚缺乏长期维持治疗的随机对照试验, 且不清楚TAC的最

佳治疗时间和维持治疗的最佳TAC浓度.

1.3 TAC与anti-TNF药物的比较、转换和联合治疗 对于短期疗效的比较, 荟萃分析^[6]发现IFX是治疗难治性UC最有效的药物, 其次是TAC和安慰剂. 而IFX和TAC之间的差异很小, 表明两种药物的疗效相当. 另一荟萃分析^[25]中对TAC和IFX作为中重度和激素难治性UC患者的抢救药物进行了比较, 共纳入了6项研究. 分析显示, TAC组的短期临床有效率、临床缓解率和3 mo结肠切除率分别为72.1%、52.4%和10.1%, IFX组分别为76.9%、48.8%和12.4%. 都没有显著差异. 但在TAC组中不良事件发生率更高. 提示TAC和IFX作为抢救治疗药物对中重度活动性UC和激素难治性UC的是有效. 另一研究^[18]中得到了相似的结论. 在10 wk时, TAC组与IFX组临床缓解率分别为67%与86%, 临床反应率分别为76%与92%. 均无严重的不良反应发生, TAC组不良反应发生率更高. 提示TAC和IFX对中重度UC患者的短期诱导缓解疗效是相同有效且相对安全的. Yamamoto等^[26]回顾性研究发现结果提示在中重度活动性UC的治疗中TAC和anti-TNF都是有效且安全的, 且TAC倾向于治疗重度活动性UC患者.

对于长期疗效的差异, Matsumoto等^[27]回顾性研究中纳入了激素难治性活动期UC患者. 结果显示, 在一月、六月和十二月累计的无事件发生率(复发、住院和手术)在TAC组分别为65.5%、39.4%和39.4%, 在anti-TNF组分别为95.7%、77.2%和71.7% ($P = 0.0037$), 提示当转为维持治疗时, anti-TNF组疗效更好. Otsuka等^[28]的回顾性观察研究中比较了IFX与TAC治疗中重度UC的远期疗效. 结果显示, 在52 wk时, IFX组患者临床疗效和临床缓解率分别达到76.5%和70.6%. TAC组临床有效率和临床缓解率为50.0%. Kaplan-Meier曲线分析发现IFX组的无复发和无结肠切除生存率明显优于TAC组 ($P < 0.05$). 表明, 与TAC相比, IFX产生更好的长期结果, 尤其是在避免结肠切除术的情况下. 另有研究显示^[13]在118 mo(从2-118 mo)时TAC组免除结肠切除率为77.3%, 在79 mo(从0.5-79 mo)时IFX组免除结肠切除率为85.7%, 提示, TAC和IFX的长期治疗效果相似.

对于TAC与IFX的转换治疗, Endo等^[19]评估了转换治疗的疗效. 结果显示, TAC治疗失败的患者转为IFX治疗是有意义的, 但是IFX治疗失败的患者转为TAC没有得到很好的治疗效果. Takeuchi等^[29]总结了5篇比较TAC和IFX的研究, 提出IFX作为TAC治疗失败后的二线挽救治疗药物是有利的, 相反, TAC作为IFX治疗失败的药物治疗是有问题的. Minami等^[13]回顾性研究探究了TAC或IFX治疗重度UC的疗效, 29例患者中13例(TAC组10例,

表 1 他克莫司在溃疡性结肠炎中的短期疗效

作者	年份	文章类型	UC严重程度	病例数	给药及起始剂量	疗程	临床反应/临床缓解率	目标谷浓度
Ogata等 ^[14]	2006	RCT	难治性UC	高剂量组19, 低剂量组21, 安慰剂组20	口服, 0.05 mg/kg, 2 wk 每天2次		临床反应率: 高剂量组68.4%; 低剂量组38.1%; 安慰剂组10.0%	高剂量组10–15 ng/mL, 低剂量组5–10 ng/mL
Ogata等 ^[15]	2012	RCT	激素耐药性UC	TAC组32, 安慰剂组30	口服, 2–5 mg/d	2 wk	临床反应率: TAC组50%; 安慰剂组13.3%	10–15 ng/mL
Kawakami等 ^[16]	2015	前瞻性观察队列研究	激素耐药性UC	49	口服, 0.1 mg/kg/d	4 wk	临床缓解率: 75.6%	10–15 ng/mL, 5–10 ng/mL
Yamada等 ^[17]	2019	前瞻性队列研究	轻中重度UC	剂量调整前组12, 剂量调整后组14	口服, 剂量调整前组0.05 mg/kg/d; 剂量调整后组0.1–0.2 mg/kg/d	2 wk	临床缓解率: 剂量调整前组16.6%; 剂量调整后组50.0%	10–15 ng/mL

UC: 溃疡性结肠炎; TAC: 他克莫司。

IFX组3例)在临床治疗中接受了转换治疗(TAC→IFX/IFX→TAC), 其中TAC组中6例以及IFX组中的3例通过转换治疗实现和维持缓解, 该研究提示在UC患者中, 初始TAC或者IFX治疗失败时, 转换治疗可以考虑实施。

事实上, 联合钙调磷酸酶抑制剂和anti-TNF疗法是相对禁忌的, 有严重感染的风险, 甚至死亡。然而, VED对免疫反应、最小副作用和感染风险的主要肠道选择性作用与其作为单一疗法的使用有关, 这意味着添加一种广泛免疫抑制作用的系统作用制剂可能不会产生比个别药物更大的感染和其他并发症。基于此, Christensen等^[8]研究了钙调磷酸酶抑制剂和VED联合治疗难治性IBD的安全性和有效性, 纳入了9例CD和11例UC患者, 患者前12 mo接受钙调磷酸酶抑制剂(TAC和环孢菌素)和VED的联合治疗, 结果显示在14 wk时, 44%的CD患者和55%的UC患者实现了免除激素的临床缓解; 52 wk时, 33%的CD患者和45%的UC患者实现了免除激素的临床缓解。提示VED与环孢菌素或TAC的联合治疗诱导和维持IBD患者临床缓解是有效的。结果还显示开始对VED单独作用没有反应的患者, 在短疗程运用钙调磷酸酶抑制剂后有效。提示, 环孢菌素和TAC成功而迅速地诱导IBD的应答和缓解, 这一策略可以作为VED治疗的桥梁, 用于VED的起始治疗或在对VED有初始无反应的情况下。这种联合治疗的方案, 适用于中到重度IBD患者, 对于激素耐药或anti-TNF治疗失败的患者可能有效。

以上研究表明TAC与IFX在中重度UC的短期诱导疗效是相似的, 且TAC可能更倾向于重度活动性UC的治疗。与TAC相比, IFX可能产生更好的长期维持疗效。

但它们长期疗效的比较研究还很少。此外, TAC与IFX的转换治疗还存在争议, TAC与VED的联合治疗也还需要更多的研究来探讨。

1.4 个体化基因多态性优化TAC在UC中的治疗 与TAC代谢有关的细胞色素CYP3A5(P-450 3A5)和ABCB1(ATP binding cassette subfamily B member) (1)有几种基因多态性。Onodera等^[30]研究了在严格剂量调整下, ABCB1和CYP3A5的基因多态性对TAC治疗UC疗效的影响。结果显示, ABCB1多态性对早期诱导阶段的药物动力学没有影响, 但ABCB1 1236 C>T显著影响12 wk时TAC治疗难治性UC的治疗结果, 并且多元逻辑回归分析显示它是与缓解有关的一个独立因素。结果还显示, CYP3A5基因型与治疗效果没有联系, 但CYP3A5多态性与TAC的药物动力学之间有强烈的联系。与不表达者相比, CYP3A5表达者需要更高的剂量达到足够的TAC血浓度。与表达者相比, CYP3A5不表达者在4 wk时临床病情活动度(p-DAI评分)显著降低, 提示为了实现快速诱导缓解, 使用CYP3A5基因型信息调整最初的TAC剂量优化治疗是可行的。Onodera等^[31]在此基础上研究了预测CYP3A5多态性的因素。结果显示TAC治疗24 h后的谷浓度可以预测CYP3A5多态性。当24 h谷浓度≤2.6 ng/mL时, 患者为CYP3A5表达者。提示通过使用24 h谷浓度这种方便的参数, CYP3A5多态性可以特异性地被预测, 而不需要检测其基因分型, 并且在预测CYP3A5多态性基础上执行剂量的优化可以实现更早更安全的缓解诱导。最近一项研究中, Okabayashi等^[32]探讨了在UC患者中应用CYP3A5多态性和TAC短期个体化治疗以达到目

标血谷浓度水平的可行性, 这是应用遗传药理学方法治疗UC的第一篇报道. 该研究对21例患者进行前瞻性治疗, 根据其CYP3A5状态调整初始剂量(CYP3A5*3/*3、CYP3A5*1/*3和CYP3A5*1/*1分别为0.1、0.15和0.2 mg/kg/d). 将其临床结果与固定剂量(0.1 mg/kg/d)治疗的患者进行比较. 结果显示, 在个体化剂量组中, CYP3A5表达者、CYP3A5*1/*3或CYP3A5*1/*1的第一个血清谷浓度和一周内达到目标血清谷浓度水平的总比率明显高于固定剂量组(5.15 ± 2.33 ng/mL vs 9.63 ± 0.79 ng/mL, $P = 0.035$ and 12.5% vs 66.7% , $P = 0.01$). 结果提示, 个体化剂量治疗不仅增加了加速TAC疗效的可能性, 而且通过个体化初始剂量可以减少剂量调整次数, 提高TAC治疗UC的可行性, 特别是对于CYP3A5表达的患者. 结果还显示通过个体化的初始TAC剂量, CYP3A5表达者在2 wk时的临床缓解率与非表达者相当, 这支持了个体化治疗的应用. 该试验还发现在进行剂量调整后, 没有观察到CYP3A5多态性与肾功能不全的发生率有直接关系. 所有发生肾功能不全的患者在减少剂量或停药后均恢复到基线状态, 这表明个体化治疗并未增加副作用的风险.

2 在CD治疗中的应用

2.1 肛周CD 肛周疾病是一种常见的CD的表现形式, 通常表现为肛门直肠的脓肿、瘘管或裂隙^[33]. 随着anti-TNF疗法的使用, CD的疗效有很大的提高, 降低了手术和住院的频率, 有助于黏膜愈合, 并且提高患者的生活质量^[34]. 然而, 每年有10%到20%的患者失去对其的反应, 长期治疗中有些患者因为不耐受而停药. 因此, 当anti-TNF治疗失败, 我们要考虑其他药物治疗^[35,36]. 有研究表明TAC可作为anti-TNF治疗无效时的替代用药, 尤其对肛周病变^[33,37].

Sandborn等^[38]在随机对照试验中探讨了TAC在肛周CD治疗的疗效, 48例患者随机分为口服TAC 0.2 mg/kg/d或安慰剂10 wk. 结果显示TAC组与安慰剂组瘘管改善率分别为43%和8% ($P = 0.004$), 瘘管缓解率分别为10%和8% ($P = 0.86$), 提示在启动肛周瘘管的改善口服TAC是有效的, 但在实现瘘管缓解没有显著疗效. Hart等^[39]随机对照试验中探讨了局部使用TAC在肛周克罗恩病中12 wk的疗效, 纳入了19例肛周CD的患者, 其中溃疡7例, 瘘管12例. 予以TAC 1 mg/g(1 g软膏, 2次/d)局部治疗或者安慰剂治疗. 结果显示, TAC组中, 4例溃疡患者3例得到了改善; 安慰剂组中, 3例溃疡患者均无改善. 而在肛周瘘管CD中, 局部使用TAC治疗不起作用. 提示局部TAC治疗在肛周或者肛门附近的溃疡CD中是有

效安全的, 但在肛周瘘管CD中的治疗并不理想. 前瞻性随机试验^[40]纳入了20例肛周CD患者, 结果表明外用0.1%TAC软膏或抗菌栓剂联合激素软膏治疗肛周CD的患者都是有效的, 而且0.1%TAC软膏治疗可使PCDAI降低. McSharry等^[41]总结了TAC治疗在CD中的疗效. 结果显示在口服或者静脉注射TAC治疗的肛周CD中, 28.6%(0%-64%)的患者实现缓解, 38.8%(0%-57%)的患者为部分反应. 两项局部使用TAC治疗肛周CD的研究中, 35.7%的患者实现了缓解, 28.6%的患者部分反应. 提示, 现在的研究证据支持了TAC在肛周CD中的应用.

这些研究表明, TAC治疗肛周CD是有益的. 口服或者静脉注射TAC在肛周瘘管的改善是有效的. 局部TAC治疗在肛周溃疡CD中是有效安全的, 但在肛周瘘管CD治疗中不是有利的, 可能的原因是瘘管的解剖形态和渗出物的流出导致的吸收障碍^[42].

2.2 难治性CD 在儿科难治性CD中, 研究表明, TAC被建议作为其他药物的替代药物或在等待其他药物发挥作用时作为短期过渡药物, 但在治疗过程中需要监测相关的副作用^[43,44]. Gerich等^[45]对anti-TNF难治的重度CD患者进行了口服TAC的回顾性研究. 24例患者接受TAC治疗, 平均治疗时间为4 mo. 结果表明, 临床反应率为67%, 缓解率为21%. 此外, 当仅分析TAC谷浓度值为10-15 ng/mL的患者时, 结果显示, 临床有效率和缓解率分别为86%和57%, 与其他患者相比, 该组患者可延迟手术时间. 这些结果表明, 口服TAC治疗anti-TNF难治的重度CD是有效的, 尤其是在谷浓度为10-15 ng/mL的情况下. Tamaki等^[46]研究了TAC在常规药物难治性CD的疗效, 包括强的松龙、硫唑嘌呤和IFX. 结果表明, 所有患者在治疗40 d后均有明显改善或缓解. 4 mo时, 64%的患者获得缓解, 14%的患者有明显改善. 这些结果表明TAC治疗对常规治疗无效的CD患者是有效的. 试验结果还表明TAC具有节省类固醇的作用. 特别的是TAC在治疗肛周瘘管、内瘘、肠管狭窄和脓肿等并发症方面也有一定的作用. Ierardi等^[47]在一项早期前瞻性研究中报告了口服TAC对激素难治性CD的长期疗效. 13例患者接受了平均27.3 mo的治疗. 结果显示, 13例患者中有11例在6 mo时CDAI评分明显下降, 13例患者中有9例在一年内明显下降. 这项研究表明长期TAC治疗激素难治性CD是有效的.

以上研究表明, 小儿难治性CD可考虑口服TAC, 但一般作为短期过渡药物, 在治疗过程中需严格监测相关副作用. TAC疗法在传统药物(包括anti-TNF)治疗成人难治性CD方面是有效的, 特别是在10-15 ng/mL的谷浓度下. 此外, 长期TAC治疗激素难治性CD是有效的, 但是

TAC治疗难治性CD的远期疗效和安全性还有待进一步研究。

2.3 皮肤CD 皮肤CD是相对常见的, 发生率在11%和44%之间, 该病严重影响生活质量。常见的类型有肛周疾病, 典型的脓皮病坏疽等, 不常见的有转移性的CD(MCD)^[42]。研究表明当局部使用TAC时可以抑制T细胞的激活和增殖, 改善皮肤炎症。TAC可通过表皮屏障很好地吸收, 而且即使药物应用于皮肤或黏膜, 血清水平仍然很低或检测不到。与局部皮质激素治疗相比, TAC并不影响胶原蛋白合成, 因此不引起皮肤萎缩^[48]。Shah等^[48]报道了一例面部皮肤损伤的22岁CD患者, 予以1 d两次0.1%的TAC软膏治疗后, 病灶减小, 超过12 mo的TAC治疗进一步改善了皮肤损伤, 口腔内的特征消失, 全沟深度重新建立, 说明了局部使用TAC治疗CD皮肤表现是有效的。有研究发现1例术后复发的阴茎MCD患者, 在ADA治疗效果不佳时, 外用TAC治疗有助于病灶的治愈。提示MCD患者经历生物制剂治疗效果不佳时, 外用TAC可以是一个选择^[49]。Satake等^[50]发现1例UC行直肠结肠切除术后顽固性坏疽性脓皮病的患者经口服TAC治疗后所有皮肤溃疡都成了疤痕, 回肠袋内多处溃疡也得到改善, 提示口服TAC治疗对于患有难治性坏疽性脓皮病和袋腺炎的UC患者是一个有价值的治疗选择。Rice等^[42]探讨了局部使用0.1%的TAC软膏在侵犯皮肤的CD中的作用, 纳入了20例多种表现形式的皮肤CD患者, 予以1 d一次0.1%的TAC软膏治疗12 wk。结果显示17例患者完成了12 wk的治疗。在12 wk时15例得到临床改善, 尤其是会阴疾病和脓皮病坏疽, 其中1例实现了治愈, 4例显示明显的改善(51%-75%), 10例表现出轻度(1%-25%)或中度改善(25%-50%)。12 mo时, 有11例患者仍在治疗中, 9例得到改善, 1例治愈, 1例则没有改变, 该研究表明在治疗皮肤CD时0.1%的TAC软膏是有效的, 尤其是会阴疾病和脓皮病坏疽, 但它很少治愈损伤。整个研究中TAC血清水平无法检测到, 提示0.1%的TAC长期应用于破损的皮肤和黏膜是安全的。

这些研究表明TAC治疗皮肤CD是有效且安全的, 尤其是会阴疾病和脓皮病坏疽。但还需要更多的试验来研究TAC治疗皮肤CD的复发情况。

3 安全性评价

一项系统回顾和荟萃分析^[51]评估了TAC作为活动期UC的一种补救疗法的安全性。在随机对照试验的研究中, 结果显示, 与安慰剂治疗相比, TAC的总体不良事件发生率更高, 但TAC不会增加严重不良事件的风险。此外, 在14项观察性研究中, 结果表明, TAC治疗不良事件发

生率低, 其中治疗持续时间为3.75-11 mo。这些发现支持了它的长期安全性。在所有观察到的研究中, 随着TAC剂量的降低或停药, 严重不良事件有所改善。这些发现表明TAC治疗UC是相对安全的。此外, 一项系统性回顾^[41]研究了TAC治疗CD的安全性, 结果表明, 主要的不良反应是轻微的, 包括震颤、感觉异常、头痛、腹泻和钾代谢紊乱等。未观察到严重或者危及生命的不良反应。值得注意的是, 16%的患者出现了可逆性肾毒性, 没有报道长期肾损伤的病例, 检测血清肌酐和调整TAC的使用是重要的措施。这项研究表明, 在治疗过程中仔细监测的情况下, 服用TAC的不良反应是可以控制的。局部TAC治疗中最常见的不良事件是局部烧灼感或瘙痒, 两者均以轻至中度强度出现, 并可瞬间消失。此外, 局部治疗TAC的不良事件通常发生在开始的几天内, 并可随着时间的推移而减少^[48]。

研究发现, 与TAC相关的肾功能障碍可以通过减少TAC的剂量来减轻。但所有研究中没有患者接受过肾活检评估, 也没有说明何时观察到肾功能障碍^[12]。已知TAC可引起急、慢性肾毒性。急性肾毒性被认为是由于血管收缩传入的小动脉, 似乎是可逆的。但慢性肾毒性的组织学改变被认为是不可逆的^[52]。最近, Hosoi等^[43]回顾性研究了儿童肾损害的临床和组织学特征, 发现在较高的谷浓度水平进行长期TAC治疗与肾毒性有关。研究表明, 仔细监测肾小球滤过率, 并在某些情况下, 肾活检, 在长期TAC治疗时是重要的。

这些研究表明, 尽管TAC药物不良事件多, 但大多数较轻微, 而且可随剂量的减少而恢复。但是长期使用可能会造成不可逆的肾损伤, 使用过程中需监控肾小球滤过率。关于TAC长期使用的安全性, 还需要进一步的研究。

4 结论

在UC方面, TAC用于短期诱导缓解治疗难治性UC, TAC的最佳血谷浓度范围为10-15 ng/mL, 且其快速诱导治疗对于改善难治性UC患者的临床症状是有效的; TAC维持缓解治疗在难治性UC是有益的, 在适当的监测下, TAC治疗可以长期安全使用; TAC在中重度UC的短期诱导疗效与IFX是相似的; 还发现在特异性预测CYP3A5多态性基础上执行TAC的个体化剂量优化可以使UC患者达到更早更安全的缓解诱导。在CD方面, 口服或静脉注射TAC可用于治疗肛周瘘管CD。外用TAC治疗肛周溃疡CD是安全有效的, 但对肛周瘘管CD疗效不佳; 对于难治性CD, TAC疗法是有效的, 特别是在10-15 ng/mL的谷浓度下。长期TAC治疗激素难治性CD

可能是有效的; TAC治疗皮肤CD是有效且安全的, 尤其是会阴疾病和脓皮病坏疽. 尽管TAC药物不良事件多, 但大多数较轻微, 而且可随剂量的减少而消失或减轻.

总之, TAC在IBD中的治疗中发挥着越来越重要的作用, 但还需要更多的研究来探讨TAC在IBD中的长期疗效和安全性, 而且, 尚不清楚TAC最优的长期治疗疗程以及作为长期维持治疗最佳的浓度. TAC与IFX的转换治疗, TAC与VED的联合治疗还需要更多的研究证明其有效性和安全性. 基于基因多态性的个体化治疗也需要进一步的临床研究. 从目前取得的成效来看, 其优越性较为显著, 存在广阔的应用前景, 有望可以在临床上掀起新潮流.

5 参考文献

- Osada T, Watanabe S. Current Treatment Options for Inflammatory Bowel Diseases and Future Perspectives. *Juntendo Med J* 2015; 61: 588-596 [DOI: 10.14789/jmj.61.588]
- Tanida S, Mizoshita T, Ozeki K, Katano T, Kataoka H, Kamiya T, Joh T. Advances in refractory ulcerative colitis treatment: A new therapeutic target, Annexin A2. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 8776-8786 [PMID: 26269667 DOI: 10.3748/wjg.v21.i29.8776]
- Ahmad H, Kumar VL. Pharmacotherapy of ulcerative colitis - current status and emerging trends. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2018; 29: 581-592 [PMID: 30089097 DOI: 10.1515/jbcpp-2016-0014]
- Damiao AOMC, de Azevedo MFC, Carlos AS, Wada MY, Silva TVM, Feitosa FC. Conventional therapy for moderate to severe inflammatory bowel disease: A systematic literature review. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 1142-1157 [PMID: 30863001 DOI: 10.3748/wjg.v25.i9.1142]
- Renna S, Cottone M, Orlando A. Optimization of the treatment with immunosuppressants and biologics in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 9675-9690 [PMID: 25110407 DOI: 10.3748/wjg.v20.i29.9675]
- Komaki Y, Komaki F, Micic D, Yamada A, Suzuki Y, Sakuraba A. Pharmacologic therapies for severe steroid refractory hospitalized ulcerative colitis: A network meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2017; 32: 1143-1151 [PMID: 27957761 DOI: 10.1111/jgh.13674]
- Gisbert JP, Marin AC, Chaparro M. The Risk of Relapse after Anti-TNF Discontinuation in Inflammatory Bowel Disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Gastroenterol* 2016; 111: 632-647 [PMID: 27002797 DOI: 10.1038/ajg.2016.54]
- Christensen B, Gibson PR, Micic D, Colman RJ, Goeppinger SR, Kassim O, Yarur A, Weber CR, Cohen RD, Rubin DT. Safety and Efficacy of Combination Treatment With Calcineurin Inhibitors and Vedolizumab in Patients With Refractory Inflammatory Bowel Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019; 17: 486-493 [PMID: 29751166 DOI: 10.1016/j.cgh.2018.04.060]
- Landy J, Wahed M, Peake ST, Hussein M, Ng SC, Lindsay JO, Hart AL. Oral tacrolimus as maintenance therapy for refractory ulcerative colitis--an analysis of outcomes in two London tertiary centres. *J Crohns Colitis* 2013; 7: e516-e521 [PMID: 23623737 DOI: 10.1016/j.crohns.2013.03.008]
- Boschetti G, Nancey S, Moussata D, Stefanescu C, Roblin X, Chauvenet M, Stroeymeyt K, Bouhnik Y, Flourie B. Tacrolimus induction followed by maintenance monotherapy is useful in selected patients with moderate-to-severe ulcerative colitis refractory to prior treatment. *Dig Liver Dis* 2014; 46: 875-880 [PMID: 25023007 DOI: 10.1016/j.dld.2014.06.005]
- Nakase H, Yoshino T, Matsuura M. Role in calcineurin inhibitors for inflammatory bowel disease in the biologics era: when and how to use. *Inflamm Bowel Dis* 2014; 20: 2151-2156 [PMID: 25029618 DOI: 10.1097/MIB.0000000000000130]
- Matsuoka K, Saito E, Fujii T, Takenaka K, Kimura M, Nagahori M, Ohtsuka K, Watanabe M. Tacrolimus for the Treatment of Ulcerative Colitis. *Intest Res* 2015; 13: 219-226 [PMID: 26130996 DOI: 10.5217/ir.2015.13.3.219]
- Minami N, Yoshino T, Matsuura M, Koshikawa Y, Yamada S, Toyonaga T, Madian A, Honzawa Y, Nakase H. Tacrolimus or infliximab for severe ulcerative colitis: short-term and long-term data from a retrospective observational study. *BMJ Open Gastroenterol* 2015; 2: e000021 [PMID: 26462273 DOI: 10.1136/bmjgast-2014-000021]
- Ogata H, Matsui T, Nakamura M, Iida M, Takazoe M, Suzuki Y, Hibi T. A randomised dose finding study of oral tacrolimus (FK506) therapy in refractory ulcerative colitis. *Gut* 2006; 55: 1255-1262 [PMID: 16484504 DOI: 10.1136/gut.2005.081794]
- Ogata H, Kato J, Hirai F, Hida N, Matsui T, Matsumoto T, Koyanagi K, Hibi T. Double-blind, placebo-controlled trial of oral tacrolimus (FK506) in the management of hospitalized patients with steroid-refractory ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 803-808 [PMID: 21887732 DOI: 10.1002/ibd.21853]
- Kawakami K, Inoue T, Murano M, Narabayashi K, Nouda S, Ishida K, Abe Y, Nogami K, Hida N, Yamagami H, Watanabe K, Umegaki E, Nakamura S, Arakawa T, Higuchi K. Effects of oral tacrolimus as a rapid induction therapy in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 1880-1886 [PMID: 25684955 DOI: 10.3748/wjg.v21.i6.1880]
- Yamada Y, Ohno Y, Niwa T, Kato-Hayashi H, Hayashi H, Ibuka T, Araki H, Sugiyama T, Shimizu M, Suzuki A. Rapid attainment of target trough concentrations of tacrolimus for early improvement of clinical symptoms in patients with ulcerative colitis. *J Clin Pharm Ther* 2019; 44: 409-414 [PMID: 30604428 DOI: 10.1111/jcpt.12800]
- Nuki Y, Esaki M, Asano K, Maehata Y, Umeno J, Moriyama T, Nakamura S, Matsumoto T, Kitazono T. Comparison of the therapeutic efficacy and safety between tacrolimus and infliximab for moderate-to-severe ulcerative colitis: a single center experience. *Scand J Gastroenterol* 2016; 51: 700-705 [PMID: 26818468 DOI: 10.3109/00365521.2016.1138239]
- Endo K, Onodera M, Shiga H, Kuroha M, Kimura T, Hiramoto K, Kakuta Y, Kinouchi Y, Shimosegawa T. A Comparison of Short- and Long-Term Therapeutic Outcomes of Infliximab-versus Tacrolimus-Based Strategies for Steroid-Refractory Ulcerative Colitis. *Gastroenterol Res Pract* 2016; 2016: 3162595 [PMID: 26904108 DOI: 10.1155/2016/3162595]
- Godat S, Fournier N, Safroneeva E, Juillerat P, Nydegger A, Straumann A, Vavricka S, Biedermann L, Greuter T, Fraga M, Abdelrahman K, Hahnloser D, Sauter B, Rogler G, Michetti P, Schoepfer AM; Swiss IBD Cohort Study Group. Frequency and type of drug-related side effects necessitating treatment discontinuation in the Swiss Inflammatory Bowel Disease Cohort. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2018; 30: 612-620 [PMID: 29384798 DOI: 10.1097/MEG.0000000000001078]
- Saifuddin A, Harris A. Tacrolimus therapy in moderate to subacute ulcerative proctocolitis: a large single-centre cohort study. *Frontline Gastroenterol* 2018; 9: 148-153 [PMID: 29588844 DOI: 10.1136/flgastro-2017-100888]
- Olmedo Martin RV, Amo Trillo V, González Grande R, Jimenez Perez M. Medium to long-term efficacy and safety of oral tacrolimus in moderate to severe steroid refractory ulcerative colitis. *Rev Esp Enferm Dig* 2017; 109: 559-565 [PMID: 28617029 DOI: 10.17235/reed.2017.4899/2017]
- Ikeya K, Sugimoto K, Kawasaki S, Iida T, Maruyama Y, Watanabe F, Hanai H. Tacrolimus for remission induction in

- ulcerative colitis: Mayo endoscopic subscore 0 and 1 predict long-term prognosis. *Dig Liver Dis* 2015; 47: 365-371 [PMID: 25682993 DOI: 10.1016/j.dld.2015.01.149]
- 24 Nishida Y, Hosomi S, Yamagami H, Sugita N, Itani S, Yukawa T, Otani K, Nagami Y, Tanaka F, Taira K, Kamata N, Tanigawa T, Watanabe T, Fujiwara Y. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts clinical relapse of ulcerative colitis after tacrolimus induction. *PLoS One* 2019; 14: e0213505 [PMID: 30845259 DOI: 10.1371/journal.pone.0213505]
 - 25 Liu YJ, Fan H, Zhen WW, Yu X, Chen JT, Wang CD. Pooled analysis of the comparative efficacy between tacrolimus and infliximab for ulcerative colitis. *Medicine* (Baltimore) 2018; 97: e11440 [PMID: 30095612 DOI: 10.1097/MD.00000000000011440]
 - 26 Yamamoto T, Shimoyama T, Umegae S, Matsumoto K. Tacrolimus vs. anti-tumour necrosis factor agents for moderately to severely active ulcerative colitis: a retrospective observational study. *Aliment Pharmacol Ther* 2016; 43: 705-716 [PMID: 26762838 DOI: 10.1111/apt.13531]
 - 27 Matsumoto S, Kawamura H, Nishikawa T, Sagihara N, Miyatani H, Mashima H. Tacrolimus versus anti-tumor necrosis factor agents for steroid-refractory active ulcerative colitis based on the severity of endoscopic findings: a single-center, open-label cohort study. *Clin Exp Gastroenterol* 2017; 10: 249-258 [PMID: 29026326 DOI: 10.2147/CEG.S143224]
 - 28 Otsuka T, Ooi M, Tobimatsu K, Wakahara C, Watanabe D, Adachi S, Yasutomi E, Yamairi H, Ku Y, Yoshida M, Hoshi N, Kodama Y. Short-Term and Long-Term Outcomes of Infliximab and Tacrolimus Treatment for Moderate to Severe Ulcerative Colitis: Retrospective Observational Study. *Kobe J Med Sci* 2018; 64: E140-E148 [PMID: 30728340]
 - 29 Takeuchi K, Shimoyama T, Yamamoto T. Comparison of Safety and Efficacy of Tacrolimus versus Infliximab for Active Ulcerative Colitis. *Dig Dis* 2018; 36: 106-112 [PMID: 29050007 DOI: 10.1159/000481815]
 - 30 Onodera M, Endo K, Kakuta Y, Kuroha M, Kimura T, Hiramoto K, Kanazawa Y, Negoro K, Shiga H, Kinouchi Y, Shimosegawa T. ATP-binding cassette subfamily B member 1 1236C/T polymorphism significantly affects the therapeutic outcome of tacrolimus in patients with refractory ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2017; 32: 1562-1569 [PMID: 28135009 DOI: 10.1111/jgh.13753]
 - 31 Onodera M, Endo K, Naito T, Moroi R, Kuroha M, Kanazawa Y, Kimura T, Shiga H, Kakuta Y, Negoro K, Kinouchi Y, Shimosegawa T. Tacrolimus Dose Optimization Strategy for Refractory Ulcerative Colitis Based on the Cytochrome P450 3A5 Polymorphism Prediction Using Trough Concentration after 24 Hours. *Digestion* 2018; 97: 90-96 [PMID: 29393157 DOI: 10.1159/000484227]
 - 32 Okabayashi S, Kobayashi T, Saito E, Toyonaga T, Ozaki R, Sagami S, Nakano M, Tanaka J, Yagisawa K, Kuronuma S, Takeuchi O, Hibi T. Individualized treatment based on CYP3A5 single-nucleotide polymorphisms with tacrolimus in ulcerative colitis. *Intest Res* 2019; 17: 218-226 [PMID: 30704156 DOI: 10.5217/ir.2018.00117]
 - 33 Ghazi LJ, Schwartz DA. Perianal Disease. *John Wiley Sons* 2016 [DOI: 10.1002/9781119127437.ch41]
 - 34 Renna S, Orlando A, Cottone M. Randomized controlled trials in perianal Crohn's disease. *Rev Recent Clin Trials* 2012; 7: 297-302 [PMID: 23092233 DOI: 10.2174/1574887111207040297]
 - 35 Allen PB, Peyrin-Biroulet L. Immunomodulators for the treatment of Crohn's disease in adults: optimal use and prospects for future drug treatments. *Expert Rev Clin Immunol* 2016; 12: 741-749 [PMID: 26900725 DOI: 10.1586/1744666X.2016.1154789]
 - 36 Lawrance IC. What is left when anti-tumour necrosis factor therapy in inflammatory bowel diseases fails? *World J Gastroenterol* 2014; 20: 1248-1258 [PMID: 24574799 DOI: 10.3748/wjg.v20.i5.1248]
 - 37 Schwartz DA, Ghazi LJ, Regueiro M, Fichera A, Zoccali M, Ong EM, Morte KJ; Crohn's & Colitis Foundation of America, Inc. Guidelines for the multidisciplinary management of Crohn's perianal fistulas: summary statement. *Inflamm Bowel Dis* 2015; 21: 723-730 [PMID: 25751066 DOI: 10.1097/MIB.0000000000000315]
 - 38 Sandborn WJ, Present DH, Isaacs KL, Wolf DC, Greenberg E, Hanauer SB, Feagan BG, Mayer L, Johnson T, Galanko J, Martin C, Sandler RS. Tacrolimus for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease: a randomized, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2003; 125: 380-388 [PMID: 12891539 DOI: 10.1016/S0016-5085(03)00877-1]
 - 39 Hart AL, Plamondon S, Kamm MA. Topical tacrolimus in the treatment of perianal Crohn's disease: exploratory randomized controlled trial. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 245-253 [PMID: 17206671 DOI: 10.1002/ibd.20073]
 - 40 Nanaeva BA, Vardanyan AV, Khalif IL. Efficiency of tacrolimus therapy for perianal Crohn's disease. *Ter Arkh* 2015; 87: 83-87 [PMID: 26281201 DOI: 10.17116/terarkh201587683-87]
 - 41 McSharry K, Dalzell AM, Leiper K, El-Matary W. Systematic review: the role of tacrolimus in the management of Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1282-1294 [PMID: 21999607 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04873.x]
 - 42 Rice SA, Woo PN, El-Omar E, Keenan RA, Ormerod AD. Topical tacrolimus 0.1% ointment for treatment of cutaneous Crohn's Disease. *BMC Res Notes* 2013; 6: 19 [PMID: 23331739 DOI: 10.1186/1756-0500-6-19]
 - 43 Hosoi K, Arai K, Matsuoka K, Shimizu H, Kamei K, Nakazawa A, Shimizu T, Tang J, Ito S. Prolonged tacrolimus for pediatric gastrointestinal disorder: Double-edged sword? *Pediatr Int* 2017; 59: 588-592 [PMID: 27935231 DOI: 10.1111/ped.13211]
 - 44 Truffinet O, Martinez-Vinson C, Guerriero E, Hugot JP, Viala J. Tacrolimus Exerts Only a Transient Effectiveness in Refractory Pediatric Crohn Disease: A Case Series. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017; 64: 721-725 [PMID: 27429426 DOI: 10.1097/MPG.0000000000001338]
 - 45 Gerich ME, Pardi DS, Bruining DH, Kammer PP, Becker BD, Tremaine WT. Tacrolimus salvage in anti-tumor necrosis factor antibody treatment-refractory Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1107-1111 [PMID: 23518805 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318280b154]
 - 46 Tamaki H, Nakase H, Matsuura M, Inoue S, Mikami S, Ueno S, Uza N, Kitamura H, Kasahara K, Chiba T. The effect of tacrolimus (FK-506) on Japanese patients with refractory Crohn's disease. *J Gastroenterol* 2008; 43: 774-779 [PMID: 18958546 DOI: 10.1007/s00535-008-2229-y]
 - 47 Ierardi E, Principi M, Francavilla R, Pisani A, Rendina M, Ingrosso M, Guglielmi FW, Panella C, Francavilla A. Oral tacrolimus long-term therapy in patients with Crohn's disease and steroid resistance. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 371-377 [PMID: 11207512 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2001.00938.x]
 - 48 Shah NP, Goel RM, Escudier M. Treatment of a Crohn's disease-related cutaneous facial lesion with topical tacrolimus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2014; 118: e71-e73 [PMID: 25151593 DOI: 10.1016/j.oooo.2014.05.018]
 - 49 Sanchez L, Cabanillas M, Alvarez JC, Echarri A. Topical tacrolimus for recurrent penile Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 2014; 8: 1145-1146 [PMID: 24815787 DOI: 10.1016/j.crohns.2014.04.006]
 - 50 Satake M, Sakuraba H, Hiraga H, Tarakita N, Akemoto

- Y, Ota S, Hasui K, Nishiya D, Hayamizu S, Kikuchi H, Sawaya M, Chinda D, Mikami T, Shimoyama T, Fukuda S. Successful treatment with tacrolimus of refractory pyoderma gangrenosum with pouchitis after restorative proctocolectomy for ulcerative colitis. *Immunol Med* 2018; 41: 142-146 [PMID: 30618342 DOI: 10.1080/25785826.2018.1531194]
- 51 Komaki Y, Komaki F, Ido A, Sakuraba A. Efficacy and Safety of Tacrolimus Therapy for Active Ulcerative Colitis; A Systematic Review and Meta-analysis. *J Crohns Colitis* 2016; 10: 484-494 [PMID: 26645641 DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjv221]
- 52 Issa N, Kukla A, Ibrahim HN. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity: a review and perspective of the evidence. *Am J Nephrol* 2013; 37: 602-612 [PMID: 23796509 DOI: 10.1159/000351648]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 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, 文献综述, 研究快报, 临床实践, 病例报告, 会议跟踪. 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.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, WCJD, print ISSN 1009-3079, online ISSN 2219-2859, DOI: 10.11569)是一份国际性同行评议和开放获取(Open Access, OA)的学术出版物. 本刊创刊于1993年1月15日, 半月刊, 每月8和28号在线出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会由719位专家组成, 来自中国31个省、市、自治区以及香港特别行政区.

1.2 目的 《世界华人消化杂志》的目的是发表高质量的胃肠病学和肝病领域多学科的前沿进展和原创文章, 促进胃肠病学和肝病事业的发展和消化系统疾病的预防、诊断和治疗水平.

1.3 范围 《世界华人消化杂志》的范围涵盖消化内科学、消化外科学、消化感染病学、消化中医药学、消化肿瘤学、消化影像学、消化内镜及介入治疗学、消化中西医结合学、消化基础研究、消化病理学和消化护理学.

1.4 栏目 《世界华人消化杂志》的栏目包括述评、基础研究、临床研究、文献综述、研究快报、临床实践和病例报告. 手稿应具有科学性、先进性、可读性和实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范且表达准确.

1.5 收录 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录. 《世界华人消化杂志》在Scopus数据库的2017年期刊评价指标包括: CiteScore: 0.04; SJR: 0.109; SNIP: 0.020. 本刊是由美国百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份中文印刷版、电子版和网络版的国际核心学术刊物.

1.6 出版 《世界华人消化杂志》由Baishideng Publishing Group (BPG)编辑和出版. BPG联系地址如下:

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA
E-mail: wcjd@wjgnet.com

Help Desk: <https://www.baishideng.com/helpdesk>

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-223-8242

Fax: +1-925-223-8243

1.7 生产 《世界华人消化杂志》由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作. 公司联系地址如下:

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

Help Desk: <https://www.baishideng.com/helpdesk>

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任马亚娟, 联系地址如下:

《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: yj.ma@wjgnet.com

Help Desk: <https://www.baishideng.com/helpdesk>

<http://www.wjgnet.com>

1.9 编委 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员具体名单见: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>.

1.10 审稿 同行评议过程需要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, 否则将退稿或手稿修改后再送同行评议.

1.11 投稿 《世界华人消化杂志》在线投稿网址见: <https://www.baishideng.com/>.

1.12 主页 《世界华人消化杂志》主页网站见: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/index.htm>.

1.13 稿酬 文章在《世界华人消化杂志》出版后, 作者可获得高质量的PDF和样刊两份作为稿酬. PDF包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底.

1.14 版权 著作权归作者所有. 出版版权归Baishideng Publishing Group Inc所有.

2 手稿要求

2.1 总体标准 手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以及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), 具体见: Ann Intern Med 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 手稿应标准化, 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, 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, 通常应小写, 如weixibao nizhuanwan (胃细胞逆转丸), guizhitang (桂枝汤).

2.3 外文字符 手稿应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射应缩写为iv, 肌肉注射为im, 腹腔注射为ip, 皮下注射为sc, 脑室注射为icv, 动脉注射为ia, 口服为po, 灌胃为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PH, *H. pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或T, Vmax不能写成Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示, 包括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, 概率*P*和相关系数*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*), 例如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), *n*-butyl acetate (醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide (N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol (邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline (3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine (右旋苯丙胺), *l*-dopa (左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid (对氨基水杨酸); 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*, *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m* (质量), *V* (体积), *F* (力), *p* (压力), *W* (功), *v* (速度), *Q* (热量), *E* (电场强度), *S* (面积), *t* (时间), *z* (酶活性, kat), *t* (摄氏温度, °C), *D* (吸收剂量, Gy), *A* (放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c* (浓度, mol/L), *j* (体积分数, mL/L), *w* (质量分数, mg/g), *b* (质量摩尔浓度, mol/g), *l* (长度), *b* (宽度), *h* (高度), *d* (厚度), *R* (半径), *D* (直径), *T*_{max}, *C*_{max}, *V*_d, *T*_{1/2} *CI*等; 基因符号, 通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物, 用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 手稿应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 kDa改为*Mr* 30000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 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *Mr*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硫酸应改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸应改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物用mmol/L; 胆红素、蛋白结合碘、肌酐、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、尿酸用μmol/L; 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. 国际代号应规范标识, 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. 半个月应为15 d; 15克应为15 g; 10%福尔马林应为40 g/L甲醛; 95%酒精应为950 mL/L乙醇; 5% CO₂应为50 mL/L CO₂; 1:1000肾上腺素应为1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg应改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖应改为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)应用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 统计学符号包括: (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*v*; (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^a*P*<0.05或^b*P*<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用^c*P*<0.05和^d*P*<0.01; 第三套为^e*P*<0.05和^f*P*<0.01等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995关于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1000-1500 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6347意指6000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3614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多克, 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, 应该舍弃. 末尾数字小于5则舍, 大于5则进, 如过恰好等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 抹尾时只可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≤1000, 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1486 800.47565. 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 手稿全文中文格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 应鲜明而有特色, 不宜以阿拉伯数字开头, 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 论文作者的署名应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, 具体标准为: (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和3, 对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献, 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 基金资助项目 格式如:国家自然科学基金资助项目, No. 30224801.

3.7 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

3.8 中文摘要 举例: 基础和临床研究文章的摘要必须在350字. 摘要包括背景、目的、方法、结果和结论. 背景应简要阐述研究的基本原理和设想. 目的应阐明研究所要达到的预期效果. 方法必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 例如双盲、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, 应阐明其临床表现和诊断标准, 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、准确和具体, 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). 结论应给出全文总结、准确无误的观点及价值.

3.9 正文标题层次 举例: 基础和临床研究文章书写格式包括 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 $P<0.05$ 或^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则用^c $P<0.05$ 和^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$ 和^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 , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达.

志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献

本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注角码号, 如马连生[1]报告……, 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. 期刊引用格式为: 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; 书籍引用格式为: 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.

4 手稿英文摘要书写要求

4.1 题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

4.2 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”。

4.3 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

4.4 基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30224801.

4.5 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

4.6 摘要 英文摘要包括背景、目的、方法、结果和结论, 书写要求与中文摘要一致。

5 手稿写作格式实例

5.1 病例报告写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/224>

5.2 基础研究写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/225>

5.3 临床实践写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/227>

5.4 临床研究写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/228>

5.5 述评写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/229>

5.6 文献综述写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/230>

5.7 研究快报写作格式实例: 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/231>



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<https://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

