

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9月28日 第27卷 第18期 (Volume 27 Number 18)



18/2019

《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.

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

世界华人消化杂志

<https://www.wjgnet.com>

二零一九年九月二十八日

第二十七卷

第十八期

述评

1107 非编码RNA调节异常在肝细胞癌发生发展中的作用

刘树业

1114 细胆管癌的临床病理特征

杨新伟, 傅晓辉, 张永杰

基础研究

1118 二甲基砒对乙醇诱导的小鼠胃溃疡作用的评价

王婷, 林佳

1125 内脏高敏感小鼠肠道树突状细胞异常活化与PDIA3/STAT3的相关性研究

马陈皋, 毛立祺, 应笑, 王爽爽, 李蒙, 张璐, 王曦, 吕宾

临床研究

1133 前白蛋白/纤维蛋白原比值与胃癌临床病理特征的关系

张俊斌, 王浩浩, 王伟斌, 王海勇, 陆轶民, 俞雄飞, 滕理送

1142 基于高通量测序技术的藏族肝硬化患者肠道菌群多样性研究

宦徽, 胡红, 陈小红, 高薇娜, 李玲丽, 李骥, 邓凯, 刘超

文献综述

1149 胃内微生态与胃部疾病的关系研究进展

刘芳, 梁田, 李岩松, 白骥, 康龙丽

1155 MicroRNA-146a生物学作用的研究进展

吴慧, 范恒, 刘星星

临床实践

1161 经导管肝动脉化疗栓塞术后原发性肝细胞癌残留状态的增强CT与超声造影比较

黄浩峰, 庞强

病例报告

1167 食管颗粒细胞瘤1例并国内文献复习

云晓静, 白玉焕, 敬长春

消 息

- 1124 《世界华人消化杂志》栏目设置
1132 《世界华人消化杂志》正文要求
1141 《世界华人消化杂志》修回稿须知
1166 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

封面故事

黄砚萍, 副主任护师, 硕士生导师, 中国中医科学院西苑医院, 兼任中华护理学会内科专业委员会专家库成员, 北京护理学会内科专业委员会消化病学组秘书, 北京护理学会中医护理专业委员会委员, “冯运华”中医护理传承弟子. 北京中医药大学教师资格, 《世界华人消化杂志》编委及审稿人. 曾获中国中医药学会科学技术三等奖. 带领护理团队创新三项特色服务: 感动服务、陪检服务、握手交接班, 受到患者一致好评, 事迹被登载在《学习强国》App北京平台上. 创新三项特色技术: 耳穴三步曲、砭石熨摩中药透入法, 两项技术被登载在健康时报网络客户端, 在全院形成辐射作用. 引导性音乐想象技术被登载在生命时报中医版上. 获批三项实用新型专利: 防针刺伤指套、耳部砭石刮痧器、控烟艾灸盒, 获批两项著作权: 引导性想象技术-参观苹果园、乡村漫步, 主编专业著作1部, 科普著作4部.

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 2019-09-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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(Abtract 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 18 Sept 28, 2019

EDITORIAL

- 1107 Abnormal regulation of non-coding RNAs plays a role in development and progression of hepatocellular carcinoma
Liu SY
- 1114 Clinical and pathological characteristics of cholangiolocellular carcinoma
Yang XW, Fu XH, Zhang YJ

BASIC RESEARCH

- 1118 Protective effect of methylsulfonylmethane against ethanol-induced gastric ulcer in mice
Wang T, Lin J
- 1125 Correlation between abnormal activation of intestinal dendritic cells and PDIA3/STAT3 in visceral hypersensitivity mice
Ma CG, Mao LQ, Ying X, Wang SS, Li M, Zhang L, Wang X, Lv B

CLINICAL RESEARCH

- 1133 Association of prealbumin/fibrinogen ratio with clinicopathologic characteristics of gastric cancer
Zhang JB, Wang HH, Wang WB, Wang HY, Lu YM, Yu XF, Teng LS
- 1142 Diversity of intestinal microflora in tibetan patients with liver cirrhosis based on high-throughput sequencing
Huan H, Hu H, Chen XH, Gao WN, Li LL, Li J, Deng K, Liu C

REVIEW

- 1149 Gastric microflora and gastric disease
Liu F, Liang T, Li YS, Bai S, Kang LL
- 1155 Biological role of microRNA-146a
Wu H, Fan H, Liu XX

CLINICAL PRACTICE

- 1161 Comparison of contrast-enhanced CT and contrast-enhanced ultrasound for assessing residual status of primary hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization
Huang HF, Pang Q

CASE REPORT

- 1167 Granular cell tumor of the esophagus: Report of one case and review of the Chinese literature
Yun XJ, Bai YH, Jing CC

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Huang Yan-Ping, Associate Chief Nurse, Department of Gastroenterology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Science (CACMS), No.1, Xiyuancaozhang Road, Haidian District, Beijing 100091, 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 September 28, 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.

非编码RNA调节异常在肝细胞癌发生发展中的作用

刘树业

刘树业, 天津市第三中心医院检验科 天津市 300170

刘树业, 主任技师, 研究方向为基于液质联用蛋白质组学方法的肝脏肿瘤诊断新技术, 新型肝病诊断方法、试剂以及肝癌个体化诊疗代谢标志物研究。

作者贡献分布: 本文写作由刘树业独立完成。

通讯作者: 刘树业, 主任技师, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院检验科. lshye@163.com
电话: 022-24384350

收稿日期: 2019-03-18

修回日期: 2019-06-03

接受日期: 2019-06-24

在线出版日期: 2019-09-28

Abnormal regulation of non-coding RNAs plays a role in development and progression of hepatocellular carcinoma

Shu-Ye Liu

Shu-Ye Liu, Clinical Laboratory, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China

Corresponding author: Shu-Ye Liu, Chief Technician, Clinical Laboratory, Tianjin Third Central Hospital, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. lshye@163.com

Received: 2019-03-18

Revised: 2019-06-03

Accepted: 2019-06-24

Published online: 2019-09-28

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is an aggressive tumor with a poor prognosis. Non-coding RNAs (ncRNAs) are RNAs transcribed from the genome but not translated

into protein. In recent years, ncRNAs have been recognized to be key factors in tumorigenesis because of their ability to regulate multiple targets, cell proliferation, differentiation, apoptosis, and development. In this review, we discuss the pathological significance of ncRNAs (microRNAs, long-chain non-coding RNAs, and cyclic RNAs) in the development and progression of HCC. We also discuss the potential role of ncRNAs in the diagnosis and treatment of HCC.

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

Key Words: Hepatocellular carcinoma; MicroRNA; LncRNA

Liu SY. Abnormal regulation of non-coding RNAs plays a role in development and progression of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1107-1113

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1107.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1107>

摘要

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种预后较差、侵袭性较强的肿瘤。非编码RNA(non-coding RNAs, ncRNAs)是从基因组中转录出来但不被翻译成蛋白质的RNA。近年来,因其具有调节多种靶点、调节细胞增殖、分化、凋亡和发育的能力,ncRNAs成为肿瘤发生发展的关键因素。在本文中,我们讨论了ncRNAs(microRNA、长链非编码RNA和环状RNA)及在HCC发生和发展中的病理意义,探讨ncRNA对HCC的诊断和治疗潜力。

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

关键词: 肝细胞癌; microRNA; 长链非编码RNA

核心提要: 研究发现非编码RNA在肿瘤的发生发展与转移中作用重要, 具较强诊断和治疗潜力, 利于精准诊疗. 但这些研究仍处于起步阶段, 进一步研究肝脏ncRNAs与疾病进展的关系将是解决包括肝细胞癌在内的肝脏疾病的关键.

刘树业. 非编码RNA调节异常在肝细胞癌发生发展中的作用. 世界华人消化杂志 2019; 27(18): 1107-1113

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1107.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1107>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是常见恶性肿瘤之一, 恶性程度极高, 侵袭能力强, 易转移, 预后较差, 严重危害人类健康. HCC是多种基因突变包括表观遗传改变、染色体易位、缺失和增加等都存在的复杂疾病, 其产生的确切分子机制尚不完全清楚. HCC细胞极易侵袭门静脉系统形成癌栓, HCC门静脉癌栓的形成是影响HCC预后的重要因素. HCC起病隐匿, 早期缺乏明显的临床症状, 研究发现高效的HCC标志物有助于诊断HCC, 提高疗效, 改善预后. 目前HCC的诊断主要依靠甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)和影像学技术. 然而, AFP敏感性较低, 诊断早期HCC的能力有限^[1]. 近来有证据表明非编码RNA(Non-coding RNAs, ncRNAs)与HCC的发生、发展、诊断、治疗和预后等密切相关, 可作为HCC早期诊断的新型分子标志物和新的有效治疗靶点.

HCC发生过程复杂. 肝脏多次暴露于非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、酗酒和病毒感染等容易引起纤维化和肝硬化的疾病后, 经过一系列不良增生和发育变化, 最终发展成HCC. 从微观角度看, HCC则是癌基因和抑癌基因在细胞增殖、血管生成、凋亡、细胞迁移和转移等过程中的调控紊乱所致. 其中, c-MET信号通路^[2]、磷脂酰肌3-激酶(PI3 K/Akt/mTOR通路)^[3]、Wnt/ β -catenin通路^[4]、TGF- β 信号通路^[5]等是影响细胞增殖、侵袭和转移的关键分子通路.

ncRNAs是由DNA转录但不翻译成蛋白质的功能性RNA. ncRNAs通过与DNA或RNA结合调节基因表达, 导致其基因转录和翻译过程中降解或改变^[5]. ncRNAs作为一类特殊的RNA分子, 包括微小RNA(microRNA, miRNA)、长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)和环状RNA(circle RNA, circRNA), 具有调控基因表达、参与表观遗传修饰、细胞增殖及细胞凋亡等多种生命活动的功能, 参与生长、分化、发育、免疫, 甚至在肿瘤的形成等多种生物学进程.

ncRNAs在HCC中的研究是目前比较前沿的研

究领域, 现就ncRNAs(主要包括miRNA、lncRNA和circRNA)在HCC中的研究进展进行述评.

1 miRNA与HCC

ncRNAs中研究最多的是miRNA, miRNA是一种内源性小ncRNAs分子, 大约由21-25个核苷酸组成, 主要促进靶基因的转录后调控. 原代miRNA通过RNA聚合酶II从miRNA基因转录而来^[6]. 大于60%的蛋白编码基因的翻译由miRNA调控^[7]. miRNA调节细胞增殖、凋亡、分化和发育. 一个miRNA能够抑制多个基因的表达, 多个miRNA也能共同作用一个靶点.

miRNA在肝脏中扮演着维持肝脏稳态的关键角色. miRNA失调与肝脏疾病(如病毒感染、炎症、脂糖代谢等)相关, 并促进HCC进展. miR-122, miR-192, miR-21, miR-223, miR-26a, miR-27a and miR-801等7个miRNA联合诊断早期HCC, 对小于2 cm的HCC诊断准确率接近90%, 效果优于传统检测方法^[8].

1.1 miRNA促进HCC发生和进展 在HCC中, miRNA失调导致靶基因异常表达, 促进异常细胞生长、分化、血管生成导致HCC的发生、进展、侵袭和转移. 肝细胞特异性Dicer-1 KO小鼠自发形成HCC意味着肝脏miRNA在HCC中发挥重要生物学作用^[9]. 此外, Dicer-1 KO小鼠肝脏中4种肝脏特异性miRNA(miR-122、-148a、-192和-194)明显下调.

在肝细胞中, miR-122对维持肝细胞分化和脂质代谢调节等生理功能至关重要^[10]. miR-122 KO小鼠在经历肝炎、脂肪肝、纤维化后, 发展为自发性HCC^[11]. 在NASH啮齿模型中, miR-122水平在HCC发生和进展过程中降低^[12], 其靶基因, 包括ADAM10、血清应答因子、胰岛素类生长因子1受体^[13]和Wnt1^[14], 参与HCC进展. 在HCC患者中, miR-122低表达与不良预后和转移相关^[15], 其缺失促进细胞迁移和侵袭等运动特性. 此外, miR-122和c-Myc之间的负反馈循环促进HCC进展. miR-122通过靶向调节Tfdp2和E2f1来抑制c-Myc的表达, 而c-Myc则通过转录抑制miR-122表达^[16]. miR-122还通过靶向调控Snail1和Snail2以及抑制Wnt/ β -catenin通路, 抑制HCC中的EMT^[17], 过表达miR-122可减弱EMT启动子基因Gal2对c-Met、ERK、STAT3、Akt/mTOR通路的影响, 抑制HCC的增殖和凋亡^[18].

miR-148a抑制与HCC中 α -胎蛋白水平高、TNM分期差、无复发生存率低有关. 门静脉肿瘤血栓患者中miR-148a水平下降^[19]. 研究发现miR-148a在HCC微血管浸润患者中水平也比较低. 小鼠miR-148a缺失促进二乙基亚硝胺诱导HCC形成^[20]. 同样, 肝脏PTEN缺失的小鼠miR-148a过表达抑制肿瘤生长^[21]. 此外, miR-148a失调

与HCC预后不良有关. 在原位肝移植模型中, miR-148a上调通过直接抑制c-Met进而抑制EMT和细胞侵袭, 减少锌指转录因子Snail的核积聚^[15], 抑制细胞向肺部迁移; 其降低导致HPIP/AKT/ERK/FOXO4/ATF5/mTOR通路激活, 促进EMT、侵袭和转移^[14]. 而miR-148a靶点之一的USP4过表达通过激活TGF- β 通路促进HCC进展^[22].

miR-192失调与HCC预后不良相关^[23]. HCC患者miR-192水平降低, 在微血管浸润或肿瘤体积较大的标本中miR-192水平更低^[18]. miR-192通过靶向溶质载体家族39成员6(SLC39A6)抑制HCC细胞转移, 而上调E-cadherin, 下调锌指转录因子Snail表达; 以转录后方式抑制lncRNA HOTTIP表达, 降低HCC细胞生存能力^[24]; 抑制p53介导的ZEB2, 抑制HCC细胞中EMT^[25]. Mir-194监管肝脏Wnt配体的膜受体信号Fzd6. 体外实验显示miR-194在肝上皮细胞中高度表达, 在二乙基亚硝胺诱导的FXR^{-/-} HCC模型中表达水平降低^[26]. 研究发现miR-194抑制多个与EMT和转移相关的基因(如CDH2和RAC1). 另外, HNF1a是肝细胞功能的重要调控因子, 其过表达可重建miR-192、194等肝脏特异性基因的表达, 抑制细胞增殖^[27].

1.2 miRNA在HCC临床应用中的意义 miRNA可作为HCC的重要预后标志物. 比如miR-122水平与HCC的肿瘤大小和转移负相关^[28], miR-148a失调与HCC患者生存率降低有关^[29]. miR-192也是HCC患者预后的独立预测因子^[23]. miR-194的降低与HCC患者肿瘤大小、组织学分级、肝内转移等临床病理参数存在显著相关性^[29]. 此外, miR-199a可作为HCC患者无瘤生存降低的独立预测因子. miR-135a上调在HCC门静脉肿瘤血栓中得到证实^[30].

血清miR-221水平升高与HCC患者肿瘤大小、TNM分期和总生存率相关. 此外, 循环miR-221水平与晚期HCC患者索拉非尼治疗反应相关, 可用于预测治疗反应率^[31]. 在血液标本中, miR-21、miR-148a、miR-192和miR-224对HCC具有显著的预测价值^[32]. HCC患者血清中miR-20a-5p、miR-320a、miR-324-3p和miR-375水平升高, 可诊断早期HCC^[33]. miR-15b和miR-130b水平也升高^[31], 与HCC传统血清标志物相比, 血清miR-16敏感性更高^[34].

随研究进展, 专注于调控miRNA的策略将是治疗HCC的一种新方法. 多种miRNA在不同肝脏疾病中的调控已显示出其在治疗HCC中的潜在有效性. miR-122是一种肝特异性肿瘤抑制因子, 向miR-122 KO小鼠中注射miR-122a表现为HCC癌变和进展受损, 上调miR-122可能是一种成功治疗HCC的策略^[35]. 另一项研究证实, 瘤内注射miR-122能增强异种移植模型中索拉

非尼对HCC的抗肿瘤作用^[36]. 此外, miR-26a在HCC小鼠模型中通过诱导肿瘤特异性细胞周期阻滞和凋亡抑制肿瘤发生. 相反, 通过释放anti-miR-221寡核苷酸抑制致癌基因miR-221可使肿瘤生长显著下降^[37].

2 lncRNA与HCC

lncRNA长度超过200 nt, 转录和处理与蛋白编码基因相同, 是哺乳动物非编码转录组的主要组成部分. 其保守性差, 基因表达调控机制尚不完全清楚^[38]. 近年来大量研究表明lncRNA通过在转录、转录后以及表观遗传水平参与基因的表达调控, 并以此影响肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭及转移等过程, 与HCC发生、发展的病理生理机制及患者预后密切相关. 因此lncRNA有潜力作为疾病诊断的标志物和潜在的药物靶点, 研究成果将有助于开发新型靶向治疗方案, 意义重大.

2.1 lncRNA与HCC发生发展的关系 HULC是高度保守的lncRNA, 也是HCC中上调最多的基因. HULC与HCC患者的PTEN、miR-15a表达负相关, 促进恶性进展^[39]. HULC作为miR-9、miR-107和miR-372等miRNA海绵, 分别诱导PPARA、E2F1和CREB, 从而促进HCC发展^[40]. lncRNA MALAT1在HCC中上调, 通过上调SRSF1和激活mTOR通路发挥致癌基因的作用^[41].

相比之下, 人类母系表达基因3(MEG3)、AOC4P和DREHL ncRNA具有肿瘤抑制作用. MEG3被认为是HCC的独立预后因素, 因为与HCC患者中MEG3的高表达相比, MEG3的低表达与较差的总生存率和无复发生存率相关^[42]. MEG3过表达明显抑制细胞生长, 激活细胞凋亡^[43]. 同样, 在HCC患者中AOC4P表达显著抑制, 与TNM分期、包膜浸润、血管浸润呈负相关^[44].

lncRNA在EMT和转移中也发挥着关键作用. lncRNA-NEF被EMT抑制因子FOXA2转录激活, 显著抑制EMT和细胞迁移^[45]. lncRNA CPS1-IT1通过抑制HIF-1a和抑制EMT发挥抑癌作用^[46]. ZEB1-as1通过上调ZEB1促进EMT和转移^[47], 在HCC样本尤其是转移瘤组织中升高.

HULC还通过与miR-200a竞争, 诱导EMT, 促进肿瘤进展和转移^[48]. Jang等^[48]发现HULC的表达与TNM分期、肝内转移、HCC复发和术后生存相关. lncRNA-ATB在HCC组织中也显著升高, 且与肝内或肝外转移呈正相关. Li等^[49]研究发现, LINC01138高表达的HCC患者肿瘤体积较大, 且高表达与HCC患者的AFP含量以及乙肝表面抗原阳性呈正相关, 而且高表达HCC患者预后较差. 体外与体内功能实验揭示LINC01138可以显著促进HCC细胞的增殖、侵袭与转移能力. Zhang等^[50]在HCC中通过RNA-Seq的方法鉴定到了一种肿瘤特异性

的LIN28B转录本变体LIN28B-TST, 并且发现该转录本的表达受DNA甲基化的调控, 该转录本编码一种具有外加N端氨基酸序列的蛋白异构体, 对于促进肿瘤的增殖生长具有重要作用。

2.2 lncRNA与HCC临床诊治中的潜在应用价值 lncRNA在肝组织中特异性表达。通过meta分析发现AFAP-AS1、HOTTIP、ZEB-1-AS1等27种lncRNA高表达与预后不良密切相关, GAS5、MEG3、XIST等18种lncRNA低表达会加剧恶化^[51]。

HCC患者HULC水平升高, 且与Edmondson组织学分级呈正相关^[52]。UCA1和WRAP53的表达增加也与肿瘤恶性程度相关。此外, 结合lncRNA和血清AFP联合检测可提高HCC诊断的敏感性^[53]。分析血清中uc001ncr和AX800134表达情况发现lncRNA有可能成为诊断HCC的新型标志物, 尤其当早期HCCAFP小于等于400 ng/mL时^[44]。

除此之外, RP11-160H22.5、XLOC_014172和LOC149086等3种潜在的诊断lncRNA也被提出, 其中XLOC_014172和LOC149086在转移性HCC患者中均显著升高^[54]。总结出HCC相关ncRNA, 如HULC, Linc00152, HEIH, HOTTIP, HOTAIR, MALAT1, DILC, ZFAS1, MEG3, PRAL, LALR1, LET, MVIH, PCNA-AS, TUC338, UC001NCR。

MRX34是包裹在脂质体纳米颗粒中的miR-34a合成版本, 在一期临床试验中显示出HCC抗肿瘤活性^[55]。第一种miRNA靶向药物米雷韦森(miravirsen), 一种lncRNA修饰的anti-miR-122 DNA-RNA杂化寡核苷酸, 正在进行慢性丙肝治疗的II期临床试验^[56]。

3 环状RNA与HCC

circRNA是封闭的环状分子, 作为ncRNA家族的一部分, circRNA通常以组织和发育阶段特异性方式表达, 而且表达丰度高。它在疾病的变化发展中先于蛋白类标志物, 在血清中表达很稳定, 因此它作为HCC早期诊断及预后的标志物具有很好的临床应用前景。

3.1 环状RNA在HCC发生、进展中的作用 环状RNA在HCC的发生发展发挥着重要作用。CDRIAs(Hsa_circ_0001946)通过靶向抑制miR-7功能提高HCC细胞的增殖能力^[57]; circMT01(Hsa_circ_0007874)通过充当miR-9的分子海绵进而提高P21表达实现抑癌作用^[58]; circRNA_000839(Hsa_circ_0000497)可能通过与miR-200b和RhoA的相互作用影响HCC发生和发展^[59]; circITC H通过抑制Wnt/p-Catenin pathway信号通路抑制HCC^[60]。Hsa_circ_0001649可通过靶向SHPRH基因来发挥其抑制HCC的作用^[61]CircHIPK3

(Hsa_circ_0000284)可以作为miR-124的分子海绵促进HCC细胞生长^[62]; 与HCC的发生密切相关的circFUT8(Hsa_circ_0003028), circZFR(Hsa_circ_103809)以及circIP011(Hsa_circ_0007915)可靶向多个miRNA发挥作用^[63]; cSMARCAS(Hsa_circ_0001445)通过充当miR-17-3p和miR-181b-5p的分子海绵促进抑癌基因TIMP3的表达, 从而抑制HCC细胞的增殖和转移; CircC3P1通过对miR-4641的海绵作用促进PCK1的表达, 从而发挥其抑制HCC生长及转移的作用^[64]。

3.2 环状RNA在HCC诊断与治疗中的应用 circRNA有望成为理想的HCC分子标志物。Yao等^[65]通过建立受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)评估circZKSCANI(Hsa_circ_0001727)在鉴别HCC组织及邻近正常组织时的价值, 发现其受试者工作特征曲线下面积((area under curve, AUC)为0.834, 灵敏度为82.2%, 特异度为72.4%; Qin等^[66]通过ROC曲线评估Hsa_circ_0001649在鉴别HCC组织及邻近正常组织的AUC为0.63, 灵敏度为0.81, 特异度为0.69。Shang等^[67]发现Hsa_circ_0005075鉴别HCC组织和癌旁正常组织时AUC为0.94, 灵敏度为83.3%, 特异度为90.0%; ROC曲线评估血浆Hsa_circ_0001445诊断HCC患者较AFP具有更高的灵敏度, 在鉴别HCC患者和正常人时其AUC为0.862, 灵敏度为71.2%, 特异度为94.2%。

另外, Hsa_circ_0016788可以通过miR-486/CDK4信号通路促进HCC细胞生长, 表明Hsa_circ_0016788在HCC治疗中具有很大的研究价值^[68]。Hsa_circ_0067934可以通过抑制miR-1324的功能以及激活FZD5/ β -catenin信号通路提高HCC细胞增殖、转移、侵袭的能力, 提示Hsa_circ_0067934/miR-1324/FZD5/ β -catenin信号轴有望成为HCC治疗的新靶标^[69]。

4 结论

ncRNAs的异常表达与人类各种疾病尤其与恶性肿瘤的发生发展密切相关, 相关研究已成为当今HCC研究领域的热点和重要科学问题。近年研究对ncRNAs在人类恶性肿瘤特别是HCC中的作用、分子机制及临床意义进行了深入系统的探索, 取得系列创新性研究成果, 充分揭示ncRNAs不仅在肿瘤的发生发展与转移中发挥重要作用, 而且可作为癌症诊断与分型、转移复发与预后预测分子标志物; 另外, ncRNAs还可以作为癌症治疗靶标及新的治疗手段, 为肿瘤精准诊断与精准治疗带来新的机遇。

然而, ncRNAs数量繁多, 大部分ncRNAs功能及调控机制有待进一步明确。虽然已经发现多种与HCC发生发展及转移密切相关的ncRNAs。而且, 几种基于

ncRNAs的癌症治疗方法已在临床试验中得到检验,但这些研究仍处于起步阶段. 因此,进一步研究肝脏ncRNA与疾病进展的关系将是解决包括HCC在内的肝脏疾病的关键.

5 参考文献

- Chen DS, Sung JL, Sheu JC, Lai MY, How SW, Hsu HC, Lee CS, Wei TC. Serum alpha-fetoprotein in the early stage of human hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1984; 86: 1404-1409 [PMID: 6201411]
- Goyal L, Muzumdar MD, Zhu AX. Targeting the HGF/c-MET pathway in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 2310-2318 [PMID: 23388504 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2791]
- Kirstein MM, Boukouris AE, Pothiraju D, Buitrago-Molina LE, Marhenke S, Schütt J, Orlik J, Kühnel F, Hegermann J, Manns MP, Vogel A. Activity of the mTOR inhibitor RAD001, the dual mTOR and PI3-kinase inhibitor BEZ235 and the PI3-kinase inhibitor BKM120 in hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2013; 33: 780-793 [PMID: 23489999 DOI: 10.1111/liv.12126]
- Tornesello ML, Buonaguro L, Tatangelo F, Botti G, Izzo F, Buonaguro FM. Mutations in TP53, CTNNB1 and PIK3CA genes in hepatocellular carcinoma associated with hepatitis B and hepatitis C virus infections. *Genomics* 2013; 102: 74-83 [PMID: 23583669 DOI: 10.1016/j.ygeno.2013.04.001]
- Geisler S, Collier J. RNA in unexpected places: long non-coding RNA functions in diverse cellular contexts. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14: 699-712 [PMID: 24105322 DOI: 10.1038/nrm3679]
- Lee Y, Jeon K, Lee JT, Kim S, Kim VN. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO J* 2002; 21: 4663-4670 [PMID: 12198168]
- Friedman RC, Farh KK, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res* 2009; 19: 92-105 [PMID: 18955434 DOI: 10.1101/gr.082701.108]
- Zhou J, Yu L, Gao X, Hu J, Wang J, Dai Z, Wang JF, Zhang Z, Lu S, Huang X, Wang Z, Qiu S, Wang X, Yang G, Sun H, Tang Z, Wu Y, Zhu H, Fan J. Plasma microRNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4781-4788 [PMID: 22105822 DOI: 10.1200/JCO.2011.38.2697]
- Sekine S, Ogawa R, Ito R, Hiraoka N, McManus MT, Kanai Y, Hebrok M. Disruption of Dicer1 induces dysregulated fetal gene expression and promotes hepatocarcinogenesis. *Gastroenterology* 2009; 136: 2304-2315.e1-4 [PMID: 19272382 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.02.067]
- Hu J, Xu Y, Hao J, Wang S, Li C, Meng S. MiR-122 in hepatic function and liver diseases. *Protein Cell* 2012; 3: 364-371 [PMID: 22610888 DOI: 10.1007/s13238-012-2036-3]
- Hsu SH, Wang B, Kota J, Yu J, Costinean S, Kutay H, Yu L, Bai S, La Perle K, Chivukula RR, Mao H, Wei M, Clark KR, Mendell JR, Caligiuri MA, Jacob ST, Mendell JT, Ghoshal K. Essential metabolic, anti-inflammatory, and anti-tumorigenic functions of miR-122 in liver. *J Clin Invest* 2012; 122: 2871-2883 [PMID: 22820288 DOI: 10.1172/JCI63539]
- Kutay H, Bai S, Datta J, Motiwala T, Pogribny I, Frankel W, Jacob ST, Ghoshal K. Downregulation of miR-122 in the rodent and human hepatocellular carcinomas. *J Cell Biochem* 2006; 99: 671-678 [PMID: 16924677 DOI: 10.1002/jcb.20982]
- Zeng C, Wang R, Li D, Lin XJ, Wei QK, Yuan Y, Wang Q, Chen W, Zhuang SM. A novel GSK-3 beta-C/EBP alpha-miR-122-insulin-like growth factor 1 receptor regulatory circuitry in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2010; 52: 1702-1712 [PMID: 21038412 DOI: 10.1002/hep.23875]
- Xu J, Zhu X, Wu L, Yang R, Yang Z, Wang Q, Wu F. MicroRNA-122 suppresses cell proliferation and induces cell apoptosis in hepatocellular carcinoma by directly targeting Wnt/ β -catenin pathway. *Liver Int* 2012; 32: 752-760 [PMID: 22276989 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02750.x]
- Coulouarn C, Factor VM, Andersen JB, Durkin ME, Thorgeirsson SS. Loss of miR-122 expression in liver cancer correlates with suppression of the hepatic phenotype and gain of metastatic properties. *Oncogene* 2009; 28: 3526-3536 [PMID: 19617899 DOI: 10.1038/onc.2009.211]
- Wang B, Hsu SH, Wang X, Kutay H, Bid HK, Yu J, Ganju RK, Jacob ST, Yuneva M, Ghoshal K. Reciprocal regulation of microRNA-122 and c-Myc in hepatocellular cancer: role of E2F1 and transcription factor dimerization partner 2. *Hepatology* 2014; 59: 555-566 [PMID: 24038073 DOI: 10.1002/hep.26712]
- Jin Y, Wang J, Han J, Luo D, Sun Z. MiR-122 inhibits epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma by targeting Snail1 and Snail2 and suppressing WNT/ β -cadherin signaling pathway. *Exp Cell Res* 2017; 360: 210-217 [PMID: 28890291 DOI: 10.1016/j.yexcr.2017.09.010]
- Yang YM, Lee CG, Koo JH, Kim TH, Lee JM, An J, Kim KM, Kim SG. G α 12 overexpressed in hepatocellular carcinoma reduces microRNA-122 expression via HNF4 α inactivation, which causes c-Met induction. *Oncotarget* 2015; 6: 19055-19069 [PMID: 25965999 DOI: 10.18632/oncotarget.3957]
- Zhang JP, Zeng C, Xu L, Gong J, Fang JH, Zhuang SM. MicroRNA-148a suppresses the epithelial-mesenchymal transition and metastasis of hepatoma cells by targeting Met/Snail signaling. *Oncogene* 2014; 33: 4069-4076 [PMID: 24013226 DOI: 10.1038/onc.2013.369]
- Cheng L, Zhu Y, Han H, Zhang Q, Cui K, Shen H, Zhang J, Yan J, Prochownik E, Li Y. MicroRNA-148a deficiency promotes hepatic lipid metabolism and hepatocarcinogenesis in mice. *Cell Death Dis* 2017; 8: e2916 [PMID: 28703810 DOI: 10.1038/cddis.2017.309]
- Jung KH, Zhang J, Zhou C, Shen H, Gagea M, Rodriguez-Aguayo C, Lopez-Berestein G, Sood AK, Beretta L. Differentiation therapy for hepatocellular carcinoma: Multifaceted effects of miR-148a on tumor growth and phenotype and liver fibrosis. *Hepatology* 2016; 63: 864-879 [PMID: 26599259 DOI: 10.1002/hep.28367]
- Heo MJ, Kim YM, Koo JH, Yang YM, An J, Lee SK, Lee SJ, Kim KM, Park JW, Kim SG. microRNA-148a dysregulation discriminates poor prognosis of hepatocellular carcinoma in association with USP4 overexpression. *Oncotarget* 2014; 5: 2792-2806 [PMID: 24798342 DOI: 10.18632/oncotarget.1920]
- Lian J, Jing Y, Dong Q, Huan L, Chen D, Bao C, Wang Q, Zhao F, Li J, Yao M, Qin L, Liang L, He X. miR-192, a prognostic indicator, targets the SLC39A6/SNAIL pathway to reduce tumor metastasis in human hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2016; 7: 2672-2683 [PMID: 26684241 DOI: 10.18632/oncotarget.6603]
- Ge Y, Yan X, Jin Y, Yang X, Yu X, Zhou L, Han S, Yuan Q, Yang M. MiRNA-192 [corrected] and miRNA-204 Directly Suppress lncRNA HOTTIP and Interrupt GLS1-Mediated Glutaminolysis in Hepatocellular Carcinoma. *PLoS Genet* 2015; 11: e1005726 [PMID: 26710269 DOI: 10.1371/journal.pgen.1005726]
- Kim T, Veronese A, Pichiorri F, Lee TJ, Jeon YJ, Volinia S, Pineau P, Marchio A, Palatini J, Suh SS, Alder H, Liu CG, Dejean A, Croce CM. p53 regulates epithelial-mesenchymal transition through microRNAs targeting ZEB1 and ZEB2. *J Exp Med* 2011; 208: 875-883 [PMID: 21518799 DOI: 10.1084/jem.20110235]
- Meng Z, Fu X, Chen X, Zeng S, Tian Y, Jove R, Xu R, Huang W. miR-194 is a marker of hepatic epithelial cells and suppresses

- metastasis of liver cancer cells in mice. *Hepatology* 2010; 52: 2148-2157 [PMID: 20979124 DOI: 10.1002/hep.23915]
- 27 Zeng X, Lin Y, Yin C, Zhang X, Ning BF, Zhang Q, Zhang JP, Qiu L, Qin XR, Chen YX, Xie WF. Recombinant adenovirus carrying the hepatocyte nuclear factor-1alpha gene inhibits hepatocellular carcinoma xenograft growth in mice. *Hepatology* 2011; 54: 2036-2047 [PMID: 21898499 DOI: 10.1002/hep.24647]
- 28 Tsai WC, Hsu PW, Lai TC, Chau GY, Lin CW, Chen CM, Lin CD, Liao YL, Wang JL, Chau YP, Hsu MT, Hsiao M, Huang HD, Tsou AP. MicroRNA-122, a tumor suppressor microRNA that regulates intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 1571-1582 [PMID: 19296470 DOI: 10.1002/hep.22806]
- 29 Zhao Y, Li F, Zhang X, Liu A, Qi J, Cui H, Zhao P. MicroRNA-194 acts as a prognostic marker and inhibits proliferation in hepatocellular carcinoma by targeting MAP4K4. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8: 12446-12454 [PMID: 26722431]
- 30 Liu S, Guo W, Shi J, Li N, Yu X, Xue J, Fu X, Chu K, Lu C, Zhao J, Xie D, Wu M, Cheng S, Liu S. MicroRNA-135a contributes to the development of portal vein tumor thrombus by promoting metastasis in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56: 389-396 [PMID: 21888875 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.08.008]
- 31 Fornari F, Pollutri D, Patrizi C, La Bella T, Marinelli S, Casadei Gardini A, Marisi G, Baron Toaldo M, Baglioni M, Salvatore V, Callegari E, Baldassarre M, Galassi M, Giovannini C, Cescon M, Ravaioli M, Negrini M, Bolondi L, Gramantieri L. In Hepatocellular Carcinoma miR-221 Modulates Sorafenib Resistance through Inhibition of Caspase-3-Mediated Apoptosis. *Clin Cancer Res* 2017; 23: 3953-3965 [PMID: 28096271 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1464]
- 32 Zhang Y, Wei C, Guo CC, Bi RX, Xie J, Guan DH, Yang CH, Jiang YH. Prognostic value of microRNAs in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Oncotarget* 2017; 8: 107237-107257 [PMID: 29291025 DOI: 10.18632/oncotarget.20883]
- 33 Wen Y, Han J, Chen J, Dong J, Xia Y, Liu J, Jiang Y, Dai J, Lu J, Jin G, Han J, Wei Q, Shen H, Sun B, Hu Z. Plasma miRNAs as early biomarkers for detecting hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2015; 137: 1679-1690 [PMID: 25845839 DOI: 10.1002/ijc.29544]
- 34 Qu KZ, Zhang K, Li H, Afdhal NH, Albitar M. Circulating microRNAs as biomarkers for hepatocellular carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 355-360 [PMID: 21278583 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181f18ac2]
- 35 Tsai WC, Hsu SD, Hsu CS, Lai TC, Chen SJ, Shen R, Huang Y, Chen HC, Lee CH, Tsai TF, Hsu MT, Wu JC, Huang HD, Shiao MS, Hsiao M, Tsou AP. MicroRNA-122 plays a critical role in liver homeostasis and hepatocarcinogenesis. *J Clin Invest* 2012; 122: 2884-2897 [PMID: 22820290 DOI: 10.1172/JCI63455]
- 36 Lou G, Song X, Yang F, Wu S, Wang J, Chen Z, Liu Y. Exosomes derived from miR-122-modified adipose tissue-derived MSCs increase chemosensitivity of hepatocellular carcinoma. *J Hematol Oncol* 2015; 8: 122 [PMID: 26514126 DOI: 10.1186/s13045-015-0220-7]
- 37 Beg MS, Brenner AJ, Sachdev J, Borad M, Kang YK, Stoudemire J, Smith S, Bader AG, Kim S, Hong DS. Phase I study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, administered twice weekly in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs* 2017; 35: 180-188 [PMID: 27917453 DOI: 10.1007/s10637-016-0407-y]
- 38 Faghihi MA, Wahlestedt C. Regulatory roles of natural antisense transcripts. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10: 637-643 [PMID: 19638999 DOI: 10.1038/nrm2738]
- 39 Xin X, Wu M, Meng Q, Wang C, Lu Y, Yang Y, Li X, Zheng Q, Pu H, Gui X, Li T, Li J, Jia S, Lu D. Long noncoding RNA HULC accelerates liver cancer by inhibiting PTEN via autophagy cooperation to miR15a. *Mol Cancer* . 2018, Xiaoru X , Mengying W , Qiuyu M , et al. Long noncoding RNA HULC accelerates liver cancer by inhibiting PTEN via autophagy cooperation to miR15a[J]. *Molecular Cancer*, 2018,17(1):94-94.[DOI: 10.1186/s12943-018-0843-8]
- 40 Lu Z, Xiao Z, Liu F, Cui M, Li W, Yang Z, Li J, Ye L, Zhang X. Long non-coding RNA HULC promotes tumor angiogenesis in liver cancer by up-regulating sphingosine kinase 1 (SPHK1). *Oncotarget* 2016; 7: 241-254 [PMID: 26540633 DOI: 10.18632/oncotarget.6280]
- 41 Malakar P, Shilo A, Mogilevsky A, Stein I, Pikarsky E, Nevo Y, Benyamini H, Elgavish S, Zong X, Prasanth KV, Karni R. Long Noncoding RNA MALAT1 Promotes Hepatocellular Carcinoma Development by SRSF1 Upregulation and mTOR Activation. *Cancer Res* 2017; 77: 1155-1167 [PMID: 27993818 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1508]
- 42 Zhuo H, Tang J, Lin Z, Jiang R, Zhang X, Ji J, Wang P, Sun B. The aberrant expression of MEG3 regulated by UHRF1 predicts the prognosis of hepatocellular carcinoma. *Mol Carcinog* 2016; 55: 209-219 [PMID: 25641194 DOI: 10.1002/mc.22270]
- 43 He JH, Han ZP, Liu JM, Zhou JB, Zou MX, Lv YB, Li YG, Cao MR. Overexpression of Long Non-Coding RNA MEG3 Inhibits Proliferation of Hepatocellular Carcinoma Huh7 Cells via Negative Modulation of miRNA-664. *J Cell Biochem* 2017; 118: 3713-3721 [PMID: 28374914 DOI: 10.1002/jcb.26018]
- 44 Wang TH, Lin YS, Chen Y, Yeh CT, Huang YL, Hsieh TH, Shieh TM, Hsueh C, Chen TC. Long non-coding RNA AOC4P suppresses hepatocellular carcinoma metastasis by enhancing vimentin degradation and inhibiting epithelial-mesenchymal transition. *Oncotarget* 2015; 6: 23342-23357 [PMID: 26160837 DOI: 10.18632/oncotarget.4344]
- 45 Liang WC, Ren JL, Wong CW, Chan SO, Wayne MM, Fu WM, Zhang JF. LncRNA-NEF antagonized epithelial to mesenchymal transition and cancer metastasis via cis-regulating FOXA2 and inactivating Wnt/ β -catenin signaling. *Oncogene* 2018; 37: 1445-1456 [PMID: 29311643 DOI: 10.1038/s41388-017-0041-y]
- 46 Wang TH, Yu CC, Lin YS, Chen TC, Yeh CT, Liang KH, Shieh TM, Chen CY, Hsueh C. Long noncoding RNA CPS1-IT1 suppresses the metastasis of hepatocellular carcinoma by regulating HIF-1 α activity and inhibiting epithelial-mesenchymal transition. *Oncotarget* 2016; 7: 43588-43603 [PMID: 27248828 DOI: 10.18632/oncotarget.9635]
- 47 Li ZQ, Gu XY, Hu JX, Ping Y, Li H, Yan JY, Li J, Sun R, Yu ZJ, Zhang Y. Hepatitis C virus core protein impairs metabolic disorder of liver cell via HOTAIR-Sirt1 signalling. *Biosci Rep* 2016; 36 [PMID: 27129296 DOI: 10.1042/BSR20160088]
- 48 Jang SY, Kim G, Park SY, Lee YR, Kwon SH, Kim HS, Yoon JS, Lee JS, Kweon YO, Ha HT, Chun JM, Han YS, Lee WK, Chang JY, Park JG, Lee B, Tak WY, Hur K. Clinical significance of lncRNA-ATB expression in human hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2017; 8: 78588-78597 [PMID: 29108251 DOI: 10.18632/oncotarget.21094]
- 49 Li Z, Zhang J, Liu X, Li S, Wang Q, Di Chen, Hu Z, Yu T, Ding J, Li J, Yao M, Fan J, Huang S, Gao Q, Zhao Y, He X. The LINC01138 drives malignancies via activating arginine methyltransferase 5 in hepatocellular carcinoma. *Nat Commun* 2018; 9: 1572 [PMID: 29679004 DOI: 10.1038/s41467-018-04006-0]
- 50 Zhang J, Li Z, Liu L, Wang Q, Li S, Chen D, Hu Z, Yu T, Ding J, Li J, Yao M, Huang S, Zhao Y, He X. Long noncoding RNA TSLNC8 is a tumor suppressor that inactivates the interleukin-6/STAT3 signaling pathway. *Hepatology* 2018; 67: 171-187 [PMID: 28746790 DOI: 10.1002/hep.29405]
- 51 Zheng C, Liu X, Chen L, Xu Z, Shao J. lncRNAs as prognostic molecular biomarkers in hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 2017; 8: 59638-59647 [PMID: 28938667 DOI: 10.18632/oncotarget.19559]
- 52 Xie H, Ma H, Zhou D. Plasma HULC as a promising novel

- biomarker for the detection of hepatocellular carcinoma. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 136106 [PMID: 23762823 DOI: 10.1155/2013/136106]
- 53 Lu J, Xie F, Geng L, Shen W, Sui C, Yang J. Investigation of serum lncRNA-uc003wbd and lncRNA-AF085935 expression profile in patients with hepatocellular carcinoma and HBV. *Tumour Biol* 2015; 36: 3231-3236 [PMID: 25501706 DOI: 10.1007/s13277-014-2951-4]
- 54 Tang J, Jiang R, Deng L, Zhang X, Wang K, Sun B. Circulation long non-coding RNAs act as biomarkers for predicting tumorigenesis and metastasis in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2015; 6: 4505-4515 [PMID: 25714016 DOI: 10.18632/oncotarget.2934]
- 55 Callegari E, Elamin BK, Giannone F, Milazzo M, Altavilla G, Fornari F, Giacomelli L, D'Abundo L, Ferracin M, Bassi C, Zagatti B, Corrà F, Miotto E, Lupini L, Bolondi L, Gramantieri L, Croce CM, Sabbioni S, Negrini M. Liver tumorigenicity promoted by microRNA-221 in a mouse transgenic model. *Hepatology* 2012; 56: 1025-1033 [PMID: 22473819 DOI: 10.1002/hep.25747]
- 56 Gebert LF, Rebhan MA, Crivelli SE, Denzler R, Stoffel M, Hall J. Miravirsen (SPC3649) can inhibit the biogenesis of miR-122. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: 609-621 [PMID: 24068553 DOI: 10.1093/nar/gkt852]
- 57 Yang X, Xiong Q, Wu Y, Li S, Ge F. Quantitative Proteomics Reveals the Regulatory Networks of Circular RNA CDR1as in Hepatocellular Carcinoma Cells. *J Proteome Res* 2017; 16: 3891-3902 [PMID: 28892615 DOI: 10.1021/acs.jproteome.7b00519]
- 58 Han D, Li J, Wang H, Su X, Hou J, Gu Y, Qian C, Lin Y, Liu X, Huang M, Li N, Zhou W, Yu Y, Cao X. Circular RNA circMTO1 acts as the sponge of microRNA-9 to suppress hepatocellular carcinoma progression. *Hepatology* 2017; 66: 1151-1164 [PMID: 28520103 DOI: 10.1002/hep.29270]
- 59 Wang BG, Li JS, Liu YF, Xu Q. MicroRNA-200b suppresses the invasion and migration of hepatocellular carcinoma by downregulating RhoA and circRNA_000839. *Tumour Biol* 2017; 39: 1010428317719577 [PMID: 28695771 DOI: 10.1177/1010428317719577]
- 60 Guo W, Zhang J, Zhang D, Cao S, Li G, Zhang S, Wang Z, Wen P, Yang H, Shi X, Pan J, Ye H. Polymorphisms and expression pattern of circular RNA circ-ITCH contributes to the carcinogenesis of hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2017; 8: 48169-48177 [PMID: 28636993 DOI: 10.18632/oncotarget.18327]
- 61 Hu J, Li P, Song Y, Ge YX, Meng XM, Huang C, Li J, Xu T. Progress and prospects of circular RNAs in Hepatocellular carcinoma: Novel insights into their function. *J Cell Physiol* 2018; 233: 4408-4422 [PMID: 28833094 DOI: 10.1002/jcp.26154]
- 62 Zheng Q, Bao C, Guo W, Li S, Chen J, Chen B, Luo Y, Lyu D, Li Y, Shi G, Liang L, Gu J, He X, Huang S. Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs. *Nat Commun* 2016; 7: 11215 [PMID: 27050392 DOI: 10.1038/ncomms11215]
- 63 Ren S, Xin Z, Xu Y, Xu J, Wang G. Construction and analysis of circular RNA molecular regulatory networks in liver cancer. *Cell Cycle* 2017; 16: 2204-2211 [PMID: 28727484 DOI: 10.1080/15384101.2017.1346754]
- 64 Yu J, Xu QG, Wang ZG, Yang Y, Zhang L, Ma JZ, Sun SH, Yang F, Zhou WP. Circular RNA cSMARCA5 inhibits growth and metastasis in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2018; 68: 1214-1227 [PMID: 29378234 DOI: 10.1016/j.jhep.2018.01.012]
- 65 Yao Z, Luo J, Hu K, Lin J, Huang H, Wang Q, Zhang P, Xiong Z, He C, Huang Z, Liu B, Yang Y. ZKSCAN1 gene and its related circular RNA (circZKSCAN1) both inhibit hepatocellular carcinoma cell growth, migration, and invasion but through different signaling pathways. *Mol Oncol* 2017; 11: 422-437 [PMID: 28212125 DOI: 10.1002/1878-0261.12045]
- 66 Qin M, Liu G, Huo X, Tao X, Sun X, Ge Z, Yang J, Fan J, Liu L, Qin W. Hsa_circ_0001649: A circular RNA and potential novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *Cancer Biomark* 2016; 16: 161-169 [PMID: 26600397 DOI: 10.3233/CBM-150552]
- 67 Shang X, Li G, Liu H, Li T, Liu J, Zhao Q, Wang C. Comprehensive Circular RNA Profiling Reveals That hsa_circ_0005075, a New Circular RNA Biomarker, Is Involved in Hepatocellular Carcinoma Development. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95: e3811 [PMID: 27258521 DOI: 10.1097/MD.0000000000003811]
- 68 Guan Z, Tan J, Gao W, Li X, Yang Y, Li X, Li Y, Wang Q. Circular RNA hsa_circ_0016788 regulates hepatocellular carcinoma tumorigenesis through miR-486/CDK4 pathway. *J Cell Physiol* 2018; 234: 500-508 [PMID: 29923236 DOI: 10.1002/jcp.26612]
- 69 Zhu Q, Lu G, Luo Z, Gui F, Wu J, Zhang D, Ni Y. CircRNA circ_0067934 promotes tumor growth and metastasis in hepatocellular carcinoma through regulation of miR-1324/FZD5/Wnt/ β -catenin axis. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 497: 626-632 [PMID: 29458020 DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.02.119]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



细胆管癌的临床病理特征

杨新伟, 傅晓辉, 张永杰

杨新伟, 傅晓辉, 张永杰, 海军军医大学附属东方肝胆外科医院胆道二科 上海市 200438

杨新伟, 主治医师. 研究方向为肝胆外科基础与临床研究.

基金项目: 上海市卫生和计划生育委员会课题, No. 20164Y0109; 国家自然科学基金, No. 81902940.

作者贡献分布: 杨新伟与傅晓辉对此文所作贡献均等; 此课题由张永杰设计; 研究过程 and 数据分析由杨新伟与傅晓辉完成; 本论文写作由杨新伟、傅晓辉及张永杰完成.

通讯作者: 张永杰, 教授, 主任医师, 200438, 上海市长海路225号, 海军军医大学附属东方肝胆外科医院胆道二科. danlit@sina.com
电话: 021-81875271

收稿日期: 2019-03-20

修回日期: 2019-05-29

接受日期: 2019-06-05

在线出版日期: 2019-09-28

Clinical and pathological characteristics of cholangiolocellular carcinoma

Xin-Wei Yang, Xiao-Hui Fu, Yong-Jie Zhang

Xin-Wei Yang, Xiao-Hui Fu, Yong-Jie Zhang, Second Department of Biliary Tract Diseases, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital Affiliated to Naval Military Medical University, Shanghai 200438, China

Supported by: Shanghai Municipal Health and Family Planning Commission, No. 20164Y0109; National Natural Science Foundation of China, No. 81902940

Corresponding author: Yong-Jie Zhang, Professor, Chief Physician, Second Department of Biliary Tract Diseases, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Affiliated to Naval Military Medical University, No. 225 Changhai Road, Shanghai 200438, China. danlit@sina.com

Received: 2019-03-20

Revised: 2019-05-29

Accepted: 2019-06-05

Published online: 2019-09-28

Abstract

Cholangiolocellular carcinoma (CLC), due to its special cell origin, has dual clinical and radiological features of hepatocellular carcinoma and cholangiocellular carcinoma, and has a relatively good prognosis due to the characteristics of inert growth. Its growth characteristics and clinical characteristics are obviously different from those of traditional intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC). Therefore, CLC is a special type of primary liver malignancy. With regard to cell origin, clinical pathology, growth characteristics, and prognosis, CLC is a distinct disease from traditional hepatic cholangiocarcinoma; however, it is often confused with ICC in the relevant research worldwide. In this paper, we review the clinical and pathological characteristics of CLC to raise the attention to this problem and strengthen the relevant research.

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

Key Words: Cholangiolocellular carcinoma; Biological feature; Prognosis

Yang XW, Fu XH, Zhang YJ. Clinical and pathological characteristics of cholangiolocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1114-1117

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1114.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1114>

摘要

细胆管癌(cholangiolocellular carcinoma, CLC)由于其特殊的细胞起源, 具有肝细胞癌和胆管细胞癌的双重临床病理和影像学特点, 由于惰性生长的特点、预后相对较好, 其生长特点和临床特征明显有别于传统的肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma,

ICC), 是一种特殊类型的原发性肝脏恶性肿瘤。在细胞起源、临床病理特征、生长特点和预后等方面与传统意义的ICC是两种截然不同的疾病, 但国内外有关ICC的研究中往往将两者混为一谈, 没有明确的区分。本文就CLC临床病理特征进行综述, 以期引发大家对这一问题的重视, 并加强相关的研究。

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

关键词: 细胆管癌; 生物学特性; 预后

核心提要: 细胆管癌(cholangiolocellular carcinoma, CLC) 是一种罕见的肝脏恶性肿瘤, CLC起源于肝祖细胞, 与典型的肝内胆管癌相比, 影像学上可以显示出肝细胞癌和胆管癌的双重特征; 临床上呈明显的惰性生长, 预后相对要好很多, 临床上应加强鉴别和区分对待。

杨新伟, 傅晓辉, 张永杰. 细胆管癌的临床病理特征. 世界华人消化杂志 2019; 27(18): 1114-1117

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1114.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1114>

0 引言

首先让我们来看一下细胆管癌的英文翻译, “Cholangiolocellular carcinoma”, 与胆管细胞癌的英文 “cholangiocellular carcinoma” 仅有细微差异, 但两种疾病从起源、临床症状、治疗和预后等各个方面均存明显差异, 甚至可以说细胆管癌(cholangiolocellular carcinoma, CLC)和胆管细胞癌(cholangiocellular carcinoma, CCC)是两种截然不同的疾病, 不应混为一谈。我们曾遇到一些患者, 因肝占位长期随访(1-3年), 后行手术, 病理示肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC), 但其生长缓慢、恶性程度较低的病程特点与传统ICC快速进展的特征明显不符, 术后进一步病理及免疫组化检测, 后证实为CLC。

1 CLC的细胞起源

CLC是一种罕见的肝脏恶性肿瘤, 在最新的世界卫生组织(World Health Organization, WHO)分类中被归类为具有干细胞特征的肝细胞-胆管细胞混合型肝癌^[1]。最近的研究表明: CLC来源于Hering管内的肝祖细胞(hepatic progenitor cell, HPC), HPC具有干细胞特征, 可分化为肝细胞和胆管细胞^[2]。然而, 考虑到CLC形态学和免疫组织化学的研究结果, 一些研究人员提出CLC可能来源于小叶间胆管, 而不是HPC所存在的Hering管或胆小管^[3,4]。前期的研究发现CLC的癌管大小远大于胆小管, 与小叶间胆管的大小相似, CLC胆管、胆小管和小叶间胆管的

平均直径分别为31.8、13.8和26.5 μm ^[3]。此外, 免疫组织化学染色发现HPC标志物阳性的情况不仅见于胆小管, 还见于小叶间胆管。CLC来自Hering管或胆小管, 其特征是在大量纤维基质内出现类似于胆小管和导管反应样的小腺体^[3,4]。因此, CLC的起源仍然存在争议, 需要更详细的分子水平研究来阐明CLC的起源问题。而通常型的ICC, 或者肝内大胆管癌主要起源于较粗的肝内胆管(隔胆管, 区域胆管, 段胆管等)。

2 CLC的病因

尽管CLC的详细发病机制尚不清楚, 但研究发现患者常存在慢性病毒性肝炎、非酒精性脂肪肝和酗酒导致的慢性肝损伤^[1,5]。此外, 前期报道显示HPC可以被慢性肝损伤所激活并造成导管内反应^[6,7]。这些发现提示慢性肝损伤激活HPC是CLC的重要病因之一。很多情况下, CLC患者伴有丙型肝炎病毒或乙型肝炎感染的基础, 血管造影显示血管丰富^[8]。因此, 在临床上CLC也常被误诊为肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)^[9]。肝内大胆管癌则主要与肝内胆管结石, 胆道寄生虫病等有关。

3 CLC的临床分类

Steiner等^[10]首次报道, CLC占有原发性肝脏恶性肿瘤的1%, 而日本报道的发生率为0.57%^[11]。最近随着对HPC的深入研究, 发现HPC存在于Hering管内, 而CLC起源于这些细胞^[12]。因此, 在2010年最新的WHO消化系统肿瘤分类中, 将其归类为具有干细胞特征的混合型肝细胞-CCC^[13], 而在第5版的日本原发性肝脏恶性肿瘤的临床和病理学分类规范中, 提出CLC是独立于ICC的一种疾病^[14]。

4 CLC的影像学特点

CLC的影像学表现多样^[15-17]。在影像学上可以显示出HCC和CCC的双重特征, 例如具有早期强化、延迟消退的特点, 也可以表现为早期边缘增强、延迟向心填充的特点, 与通常类型的肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)相比, 肿瘤近端胆管狭窄和外周胆管扩展的影像学表现非常少见。这些表现取决于纤维基质细胞的数量和分布情况^[15]。此外, CLC被认为由各种组织学特征的区域所组成, 例如各种比例的CLC、HCC和CCC成分组成的不同区域^[1,18]。在MRI的弥散加权图像上可表现为高信号。

有研究报道了两种不同表现的CT增强特点, 分别为早期整体强化且延迟消退和持续边缘增强且向心性延迟充盈^[5]。在CLC患者中很少观察到肿瘤侵入肝内血管的情况^[19], 而在ICC、转移性肝癌和HCC中经常伴有血管侵犯的情况^[20,21]。PET-CT在ICC诊断中的敏感性要

高于肝门部胆管癌和肝外胆管癌^[22,23]. PET-CT在CLC鉴别诊断中的作用仍不明确^[17,24,25].

5 CLC的组织病理学特点

在显微镜下, CLC通常存在3种形态模式: CLC区域, HCC区域和ICC区域^[12,25]. Kozaka等^[26]将“纯CLC”定义为仅由CLC组成而没有任何HCC/CCC组分的肿瘤. 更多的情况下, CLC定义为至少80%^[25]或90%^[12]的肿瘤区域由经典CLC组成.

CLC表现为胆管腔侧EMA免疫组化染色阳性, 且肿瘤细胞内Hep-par 1阴性, CK19和NCAM阳性, 借此可以明确CLC的诊断. 在组织学上, CLC细胞的特点如下: 纤维组织丰富, 内有鹿角样的细腺管结构^[27]. 通过基因谱分析: 与其他HPC衍生的肝脏肿瘤相比, CLC是一类独特的分子实体肿瘤, 表现为TGF- β 信号通路和炎症-免疫应答信号通路的显著性上调, 例如白细胞介素-6、TNF- α 和趋化因子及其受体, 这些都是血管生成和炎症细胞浸润到肿瘤中的重要因子^[28]. 这些发现表明CLC可能与血管生成和炎症密切相关, 但仍需要进一步的研究来阐明这些基因上调的重要性和具体分子机理. 而普通型的ICC, 其组织学表现为腺管直径明显较粗, EMA染色在胞浆阳性.

6 CLC的临床表现

CLC伴有门静脉侵犯的几率较低, 肿瘤组织内残留门静脉管道的数量明显高于ICC组, 通过组织学检查发现CLC主要表现为替代性生长模式, 肿瘤细胞围绕但不破坏肿瘤内残留门静脉血管^[13]. 此外, CLC组肝内转移的发生率明显低于ICC组^[29]. CLC与其他肝脏恶性肿瘤相比, 肿瘤直径较小(平均值3.5 cm)^[16], 计算所得的CLC肿瘤倍增时间(tumor doubling time, TDT)为285 d, 而HCC和CCC的中位TDT分别为85.7 d和70 d^[30]. 这些数据表明缓慢增长是CLC的特征之一.

与CCC相比, CLC行根治性切除的预后较好^[16,31], CLC组5年总生存率和无瘤生存率明显高于ICC组^[16]. 由于肝移植效果不佳, CCC患者并不适合行肝移植治疗^[28], 但CLC患者却可能从肝移植中获益. 因此, 当肝脏肿瘤显示出与CCC相似的影像学表现、且缓慢生长时, 我们必须考虑CLC的可能性, 活检可能有助于制定下一步的治疗策略和治疗建议.

7 结论

CLC的发病原因, 细胞起源, 免疫组化和病理表现都和通常型的ICC不同, 其影像学表现具有一定的特点, 但由于其病理基础的多样性, 这些影像学表现往往缺乏特异性. CLC肿瘤生长缓慢, 预后较好, 治疗原则上应有别

于通常型的ICC. 在临床工作和研究中应区分CLC和通常型的ICC, 加强对CLC的认知和研究.

8 参考文献

- 1 Rhee H, Ko JE, Chung T, Jee BA, Kwon SM, Nahm JH, Seok JY, Yoo JE, Choi JS, Thorgeirsson SS, Andersen JB, Lee HS, Woo HG, Park YN. Transcriptomic and histopathological analysis of cholangiolocellular differentiation trait in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Liver Int* 2018; 38: 113-124 [PMID: 28608943 DOI: 10.1111/liv.13492]
- 2 Van Haele M, Roskams T. Hepatic Progenitor Cells: An Update. *Gastroenterol Clin North Am* 2017; 46: 409-420 [PMID: 28506372 DOI: 10.1016/j.gtc.2017.01.011]
- 3 Maeno S, Kondo F, Sano K, Takada T, Asano T. Morphometric and immunohistochemical study of cholangiolocellular carcinoma: comparison with non-neoplastic cholangiole, interlobular duct and septal duct. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012; 19: 289-296 [PMID: 22179577 DOI: 10.1007/s00534-011-0483-5]
- 4 Kondo F, Fukusato T. Pathogenesis of Cholangiolocellular Carcinoma: Possibility of an Interlobular Duct Origin. *Intern Med* 2015; 54: 1685-1694 [PMID: 26179521 DOI: 10.2169/internalmedicine.54.3540]
- 5 Akabane S, Ban T, Kouriki S, Tanemura H, Nakazaki H, Nakano M, Shinozaki N. Successful surgical resection of ruptured cholangiolocellular carcinoma: A rare case of a primary hepatic tumor. *World J Hepatol* 2017; 9: 752-756 [PMID: 28652894 DOI: 10.4254/wjh.v9.i16.752]
- 6 Williams MJ, Clouston AD, Forbes SJ. Links between hepatic fibrosis, ductular reaction, and progenitor cell expansion. *Gastroenterology* 2014; 146: 349-356 [PMID: 24315991 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.11.034]
- 7 Carpino G, Cardinale V, Folseraas T, Overi D, Floreani A, Franchitto A, Onori P, Cazzagon N, Berloco PB, Karlsten TH, Alvaro D, Gaudio E. Hepatic Stem/Progenitor Cell Activation Differs between Primary Sclerosing and Primary Biliary Cholangitis. *Am J Pathol* 2018; 188: 627-639 [PMID: 29248458 DOI: 10.1016/j.ajpath.2017.11.010]
- 8 Kanamoto M, Yoshizumi T, Ikegami T, Imura S, Morine Y, Ikemoto T, Sano N, Shimada M. Cholangiolocellular carcinoma containing hepatocellular carcinoma and cholangiocellular carcinoma, extremely rare tumor of the liver: a case report. *J Med Invest* 2008; 55: 161-165 [PMID: 18319561]
- 9 Fukukura Y, Hamanoue M, Fujiyoshi F, Sasaki M, Haruta K, Inoue H, Aiko T, Nakajo M. Cholangiolocellular carcinoma of the liver: CT and MR findings. *J Comput Assist Tomogr* 2000; 24: 809-812 [PMID: 11045707]
- 10 Steiner PE, Higginson J. Cholangiolocellular carcinoma of the liver. *Cancer* 1959; 12: 753-759 [PMID: 13663020]
- 11 Shiota K, Taguchi J, Nakashima O, Nakashima M, Kojiro M. Clinicopathologic study on cholangiolocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2001; 8: 263-268 [PMID: 11182037]
- 12 Komuta M, Spee B, Vander Borgh T, De Vos R, Verslype C, Aerts R, Yano H, Suzuki T, Matsuda M, Fujii H, Desmet VJ, Kojiro M, Roskams T. Clinicopathological study on cholangiolocellular carcinoma suggesting hepatic progenitor cell origin. *Hepatology* 2008; 47: 1544-1556 [PMID: 18393293 DOI: 10.1002/hep.22238]
- 13 李增山, 李青. 2010年版消化系统肿瘤WHO分类解读. *中华病理学杂志* 2011; 40: 351-354 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2011.05.019]
- 14 Kudo M, Kitano M, Sakurai T, Nishida N. General Rules for the Clinical and Pathological Study of Primary Liver Cancer, Nationwide Follow-Up Survey and Clinical Practice Guidelines: The Outstanding Achievements of the Liver

- Cancer Study Group of Japan. *Dig Dis* 2015; 33: 765-770 [PMID: 26488173 DOI: 10.1159/000439101]
- 15 Asayama Y, Tajima T, Okamoto D, Nishie A, Ishigami K, Ushijima Y, Kakiyama D, Aishima S, Taketomi A, Honda H. Imaging of cholangiolocellular carcinoma of the liver. *Eur J Radiol* 2010; 75: e120-e125 [PMID: 19781883 DOI: 10.1016/j.ejrad.2009.09.010]
 - 16 Lee SW, Kim HJ, Park JH, Park DI, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI. Clinical usefulness of 18F-FDG PET-CT for patients with gallbladder cancer and cholangiocarcinoma. *J Gastroenterol* 2010; 45: 560-566 [PMID: 20035356 DOI: 10.1007/s00535-009-0188-6]
 - 17 Takahashi Y, Sato S, Ishitobi H, Nagaoka M, Kobayashi Y, Fukuhara H, Yuki M, Komazawa Y, Kuroda H, Shizuku T. Intrahepatic Cholangiolocellular and Cholangiocellular Carcinoma - Differences in the 18 F-FDG PET/CT Findings. *Intern Med* 2017; 56: 3027-3031 [PMID: 28943569 DOI: 10.2169/internalmedicine.8839-17.]
 - 18 Komuta M, Govaere O, Vandecaveye V, Akiba J, Van Steenberghe W, Verslype C, Laleman W, Pirenne J, Aerts R, Yano H, Nevens F, Topal B, Roskams T. Histological diversity in cholangiocellular carcinoma reflects the different cholangiocyte phenotypes. *Hepatology* 2012; 55: 1876-1888 [PMID: 22271564 DOI: 10.1002/hep.25595]
 - 19 Shinohara K, Ebata T, Yokoyama Y, Igami T, Sugawara G, Mizuno T, Yamaguchi J, Shimoyama Y, Shiina S, Tateishi R, Arano T, Nagino M. Successful local treatment for repeated hepatic recurrences of cholangiolocellular carcinoma: a report on a long-term survivor. *Surg Case Rep* 2017; 3: 120 [PMID: 29198012 DOI: 10.1186/s40792-017-0391-2]
 - 20 Seo N, Kim DY, Choi JY. Cross-Sectional Imaging of Intrahepatic Cholangiocarcinoma: Development, Growth, Spread, and Prognosis. *AJR Am J Roentgenol* 2017; 209: W64-W75 [PMID: 28570102 DOI: 10.2214/AJR.16.16923]
 - 21 Roberts LR, Sirlin CB, Zaiem F, Almasri J, Prokop LJ, Heimbach JK, Murad MH, Mohammed K. Imaging for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Hepatology* 2018; 67: 401-421 [PMID: 28859233 DOI: 10.1002/hep.29487]
 - 22 Lee Y, Yoo IR, Boo SH, Kim H, Park HL, Hyun O J. The Role of F-18 FDG PET/CT in Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Nucl Med Mol Imaging* 2017; 51: 69-78 [PMID: 28250860 DOI: 10.1007/s13139-016-0440-y]
 - 23 Mori N, Ichikawa T, Hashimoto J, Yamashita T, Yamada M, Hirabayashi K, Imai Y. Cholangiolocellular Carcinoma of the Liver Exhibiting High F-18 FDG Uptake. *Tokai J Exp Clin Med* 2016; 41: 60-64 [PMID: 27344994]
 - 24 Yamamoto M, Oshita A, Nishisaka T, Nakahara H, Itamoto T. Synchronous double primary hepatic cancer consisting of hepatocellular carcinoma and cholangiolocellular carcinoma: a case report. *J Med Case Rep* 2018; 12: 224 [PMID: 30119698 DOI: 10.1186/s13256-018-1762-4]
 - 25 Liao JY, Tsai JH, Yuan RH, Chang CN, Lee HJ, Jeng YM. Morphological subclassification of intrahepatic cholangiocarcinoma: etiological, clinicopathological, and molecular features. *Mod Pathol* 2014; 27: 1163-1173 [PMID: 24406866 DOI: 10.1038/modpathol.2013.241]
 - 26 Kozaka K, Matsui O, Kobayashi S, Koda W, Minami T, Kitao A, Inoue D, Yoneda N, Yoshida K, Toshima F, Nakanuma Y, Gabata T. Dynamic CT findings of cholangiolocellular carcinoma: correlation with angiography-assisted CT and histopathology. *Abdom Radiol (NY)* 2017; 42: 861-869 [PMID: 27747442 DOI: 10.1007/s00261-016-0944-z]
 - 27 Ishii N, Araki K, Yamanaka T, Handa T, Tsukagoshi M, Igarashi T, Watanabe A, Kubo N, Aishima S, Kuwano H, Shirabe K. Small cholangiolocellular carcinoma that was difficult to distinguish from cholangiocellular carcinoma: a case report. *Surg Case Rep* 2017; 3: 103 [PMID: 28916905 DOI: 10.1186/s40792-017-0377-0]
 - 28 Moeini A, Sia D, Zhang Z, Camprecios G, Stueck A, Dong H, Montal R, Torrens L, Martinez-Quetglas I, Fiel ML, Hao K, Villanueva A, Thung SN, Schwartz ME, Llovet JM. Mixed hepatocellular cholangiocarcinoma tumors: Cholangiolocellular carcinoma is a distinct molecular entity. *J Hepatol* 2017; 66: 952-961 [PMID: 28126467 DOI: 10.1016/j.jhep.2017.01.010]
 - 29 Guglielmi A, Ruzzenente A, Campagnaro T, Pachera S, Valdegamberi A, Nicoli P, Cappellani A, Malfermoni G, Iacono C. Intrahepatic cholangiocarcinoma: prognostic factors after surgical resection. *World J Surg* 2009; 33: 1247-1254 [PMID: 19294467 DOI: 10.1007/s00268-009-9970-0]
 - 30 De Rose AM, Cucchetti A, Clemente G, Ardito F, Giovannini I, Ercolani G, Giulianti F, Pinna AD, Nuzzo G. Prognostic significance of tumor doubling time in mass-forming type cholangiocarcinoma. *J Gastrointest Surg* 2013; 17: 739-747 [PMID: 23292461 DOI: 10.1007/s11605-012-2129-6]
 - 31 Chen J, He J, Deng M, Wu HY, Shi J, Mao L, Sun Q, Tang M, Fan XS, Qiu YD, Huang Q. Clinicopathological, radiologic, and molecular study of 23 combined hepatocellular-cholangiocarcinomas with stem cell features, cholangiolocellular type. *Hum Pathol* 2017; 64: 118-127 [PMID: 28431889 DOI: 10.1016/j.humpath.2017.01.016]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



二甲基砒对乙醇诱导的小鼠胃溃疡作用的评价

王婷, 林佳

王婷, 台州恩泽医疗中心(集团)路桥医院药剂科 浙江省台州市 318050

林佳, 嘉兴学院医学院 浙江省嘉兴市 314001

王婷, 主管药师, 主要从事临床药理学和基础药理方面的研究.

作者贡献分布: 此课题由林佳设计; 研究过程由王婷完成; 研究用试剂及分析工具由王婷与林佳提供; 数据分析由林佳完成; 本论文写作由王婷完成.

通讯作者: 王婷, 主管药师, 318050, 浙江省台州市路桥区下里桥西路, 台州恩泽医疗中心(集团)路桥医院药剂科. wangting564@126.com
电话: 0576-85120120

收稿日期: 2019-04-23

修回日期: 2019-06-25

接受日期: 2019-09-13

在线出版日期: 2019-09-28

Protective effects of methylsulfonylmethane against ethanol-induced gastric ulcer in mice

Ting Wang, Jia Lin

Ting Wang, Department of Pharmacy, Luqiao Hospital, Taizhou Grace Medical Center (Group), Taizhou 318050, Zhejiang Province, China

Jia Lin, School of Medicine, Jiaxing University, Jiaxing 314001, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Ting Wang, Pharmacist-in-Charge, Department of Pharmacy, Luqiao Hospital, Taizhou Grace Medical Center (Group), Xialiqiaoxi Road, Luqiao District, Taizhou 318050, Zhejiang Province, China. wangting564@126.com

Received: 2019-04-23

Revised: 2019-06-25

Accepted: 2019-09-13

Published online: 2019-09-28

Abstract

BACKGROUND

When the gastric mucosa (GM) is damaged by external stimulation, gastric ulcer forms. The pathogenic factors for gastric ulcer are various, including excessive gastric acid secretion, GM damage, *Helicobacter pylori* infection, and other factors. The clinical cure rate for gastric ulcer can reach 85%-95%. However, the recurrence of gastric ulcer is still one of the challenges in clinical treatment.

AIM

To investigate the protective effect of methylsulfonylmethane (MSM) against ethanol-induced gastric ulcer in mice.

METHODS

Mice were randomly divided into a blank control group, a gastric ulcer model group, and low-, medium, and high-dose MSM groups, with 10 rats in each group. GM tissue changes and ulcer index, histopathological changes, serum glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), inflammatory factors [interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α)], and the expression of connective tissue growth factor (CTGF) were observed.

RESULTS

MSM alleviated the pathological changes of ethanol-induced gastric ulcer in mice. MSM reduced the levels of MDA, GSH, and SOD in gastric tissue, decreased the levels of IL-6 and TNF- α in serum of mice with gastric ulcer, and increased the expression of CTGF protein.

CONCLUSION

MSM can alleviate ethanol-induced acute gastric ulcer in mice *via* mechanisms possibly related to scavenging oxygen free radicals, inhibiting lipid peroxidation,

inhibiting the release of inflammatory factors, and increasing the expression of CTGF protein.

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

Key Words: Methylsulfonylmethane; Alcoholic gastric ulcer; Inflammatory factors; Oxygen free radical

Wang T, Lin J. Protective effect of methylsulfonylmethane against ethanol-induced gastric ulcer in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1118-1124
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1118.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1118>

摘要

背景

胃黏膜受到外界刺激出现破损时会形成胃溃疡(gastric mucosa, GM). GM发病因素多样, 包括胃酸分泌合成过多、胃黏膜受损、幽门螺旋杆菌感染等因素. GM临床治愈率可达到85%-95%, 然而GM的复发仍然是临床治疗的挑战之一.

目的

探讨二甲基砒(methylsulfonylmethane, MSM)对乙醇诱导小鼠GM的保护作用.

方法

将小鼠随机分为空白对照组、GM模型组、乙醇联合MSM低、中、高剂量处理组, 每组10只小鼠. 观察各组小鼠胃黏膜组织和溃疡指数、组织病理学改变, 血清中谷胱甘肽(glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、炎症因子白介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)含量及胃组织中结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)蛋白表达.

结果

MSM可有效减轻小鼠乙醇所致GM病理学变化, 能显著降低GM小鼠胃组织中MDA、GSH、SOD及血清中炎症因子IL-6、TNF- α 水平, 增加CTGF蛋白表达水平.

结论

MSM可减轻乙醇所致小鼠急性GM, 对乙醇诱导的急性GM具有保护作用, 其机制可能是通过清除氧自由基, 抑制脂质过氧化, 抑制炎症因子释放, 增加CTGF蛋白的表达, 从而起到对小鼠乙醇型GM的保护作用.

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

关键词: 二甲基砒; 酒精性胃溃疡; 炎症因子; 氧自由基

核心提要: 本研究发现二甲基砒(methylsulfonylmethane, MSM)在乙醇所致急性胃溃疡(gastric mucosa, GM)小鼠模型中, 能显著降低胃组织中谷胱甘肽、超氧化物歧化酶、丙二醛含量及血清中炎症因子白介素-6、肿瘤坏死因子- α 水平, 并降低胃组织中结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)蛋白表达. MSM对乙醇所致小鼠急性GM具有保护作用, 其机制可能是通过清除氧自由基, 抑制脂质过氧化, 抑制炎症因子释放, 增加CTGF蛋白的表达.

王婷, 林桂. 二甲基砒对乙醇诱导的小鼠胃溃疡作用的评价. *世界华人消化杂志* 2019; 27(18): 1118-1124

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1118.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1118>

0 引言

胃溃疡(gastric mucosa, GM)是全球范围内发病率和患病率不断上升的主要胃肠道疾病之一. 过度饮酒、饮食不当、压力、吸烟和长期摄入非甾体抗炎药等外源性损害因素都与GM的形成有关. GM是由侵略性因素和防御性因素失衡引起的, 这些因素反过来又能调节涉及中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和肥大细胞作用的炎症过程. 过量饮酒可导致胃黏膜损伤. 乙醇破坏胃黏膜血管内皮细胞, 损伤微循环, 引起活性氧自由基和炎性细胞因子的增加, 最终加重胃黏膜缺氧. 因此, 有能力有效保护胃黏膜形成GM的药物应具有减少氧化和炎症应激的能力^[1-3].

二甲基砒(methylsulfonylmethane, MSM)是二甲基亚砒(Dimethyl sulfoxide, DMSO)的氧化代谢产物, 也称作二甲砒或者DMSO₂, 它是一种广泛存在于水果、蔬菜、谷物、动物和人体内的硫化合物. 已有试验证明, MSM有抗氧化和抗炎的作用, 对于消除人体内产生的氧自由基有非常重要的作用, 同时也有很好的临床治疗前景^[4-7]. 然而前国内外尚未报道有关MSM用于GM的研究, 故本试验着眼于MSM在GM中的抗炎、抗氧化机制的研究, 为临床治疗提供一条新的线索.

1 材料和方法

1.1 材料 乙醇购自于东莞万信公司; MSM试剂(货号: A506832)、组织蛋白提取试剂盒(货号: C510003)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)ELISA检测试剂盒(货号: ESK5001-96T)和白介素-6(Interleukin-6, IL-6)ELISA检测试剂盒(货号: C507044)购买自上海生工生物有限公司; 丙二醛(malondialdehyde, MDA)

检测试剂盒(货号: SK039)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)检测试剂盒(货号: YT297)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒(货号: YT311)购买自北京百奥莱博科技有限公司; GAPDH抗体、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)抗体(货号: sc-101586)和HRP标记的Ig-G二抗(货号: sc-2789)购买自美国Santa Cruz公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物及分组: 50只ICR雄性小鼠(20-25 g)购买于浙江维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(浙)2019-0001], 饲养于台州市食品药品检验所实验动物房[SXK(浙)2015-0003], 小鼠适应性饲养一周后, 随机分成5组: 空白对照组、GM模型组、乙醇联合MSM低、中、高剂量处理组, 每组10只小鼠。其中空白对照组每只小鼠进行灌胃0.2 ml生理盐水; GM模型组每只小鼠进行灌胃0.2 ml无水乙醇; 乙醇联合MSM低、中、高剂量处理组每只小鼠进行灌胃乙醇前1.5 h分别2 mg/kg、20 mg/kg和100 mg/kg MSM^[6]。乙醇灌胃4 h后, 麻醉后, 通过小鼠尾静脉每只小鼠取0.5 ml血, 然后处死小鼠, 打开腹腔, 摘除整个胃。

1.2.2 观察计算溃疡指数: 沿胃大弯从幽门处剪开, 同时用生理盐水冲洗, 最后展平, 置于手术台上, 观察溃疡。按点状溃疡个数或溃疡面积给予计分: (1)点状溃疡(黏膜缺损最大径小于1 mm或者出血性小点, 称为点状溃疡): 每3个点状溃疡计1分; (2)条状出血: 测量条状溃疡的最大长径以及垂直于其的最大短径, 二者的乘积即为溃疡指数。宽为1 mm者每1 mm计1分; 2 mm宽者每1 mm计2分; 3 mm宽者每1 mm计3分, 若宽度超过4 mm, 则分段记数, 即黏膜损伤长度的总计分作为溃疡指数(若长度非整数, 小数部分按四舍五入的方法取舍)^[8]。

1.2.3 小鼠胃病理学检查: 胃组织以5%的多聚甲醛固定, 然后进行石蜡包埋组织。切成5 μ m厚的石蜡切片。将石蜡切片干燥后, 进行常规脱蜡至水化。此后, 将切片用苏木精染色5 min, 在自来水中洗涤, 在1%酸性醇中分化, 在1%氨水中变蓝, 再用伊红复染1 min。然后将载玻片在流动的自来水中冲洗, 通过浓度逐渐下降的乙醇中脱水, 在二甲苯中处理后, 用中性胶固定。用Olympus BX51光学显微镜观察载玻片并拍照, 以评估小鼠胃黏膜病理改变。

1.2.4 小鼠胃组织中MDA、GSH、SOD检测: 取小鼠胃组织称质量, 按质量(g): 体积(mL) = 1:9加入冰冻生理盐水, 冰水浴下机械匀浆, 2500 r/min, 离心10 min, 取上清液, 制成10%组织匀浆。根据试剂盒说明测定均浆中MDA含量、GSH、SOD活力。通过酶标仪分别测量532 nm、412 nm、560 nm处的吸光度。按照预制的标准曲线计算

MDA含量和GSH、SOD活性。MDA含量表示为nmol/mg, GSH、SOD活性表示为UI/mg。

1.2.5 小鼠血清中IL-6、TNF- α 检测: 通过ELISA试剂盒检测IL-6和TNF- α 水平。取小鼠尾静脉取0.5 ml血, 以2000 rpm离心15 min, 分离血清, 根据制造商的说明, 使用ELISA试剂盒测定血清中IL-6和TNF- α 。每个反应孔中加入抗体缓冲液, 4 $^{\circ}$ C过夜, 次日加入血清样品100 μ L, 37 $^{\circ}$ C孵育1 h。洗涤后加入酶标抗体, 37 $^{\circ}$ C孵育1 h。加入底物溶液, 37 $^{\circ}$ C反应30 min, 最后于加入硫酸终止反应。酶标仪中450 nm检测OD值。按照预制的标准曲线计算IL-6和TNF- α 水平。IL-6和TNF- α 水平表示为pg/ml。

1.2.6 Western blot: 利用组织蛋白提取试剂盒萃取胃组织蛋白, 利用BCA法将各组蛋白样品定量至相同浓度后, 取30 μ g蛋白进行10%的SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳并转移至甲醇预活化的PVDF膜上。然后用5%脱脂奶粉在室温下封闭样品2 h, 并在4 $^{\circ}$ C用CTGF抗体一抗(1:500)孵育过夜。用TBST冲洗膜3次/5 min, 再与辣根过氧化物酶偶联的二抗反应, 增强化学发光法(ECL)发光试剂显影, 以GAPDH为内部参照, 利用灰度成像软件(UVP, UK)测定主带的光密度值以计算CTGF蛋白表达水平。

统计学处理 采用SPSS 13.0统计软件进行数据分析。数据以mean \pm SD表示, 多组间两两比较采用方差分析后LSD- t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MSM对乙醇致胃损伤小鼠胃黏膜形态和溃疡指数的影响 如图1A所示, 空白对照组小鼠的胃黏膜光滑、平整; GM模型组胃黏膜可观察到不同程度的损伤, 黏膜明显出血、水肿, 大面积糜烂, 表面附着大块血痂; 乙醇联合MSM低、中、高剂量处理组仅有轻度胃黏膜水肿, 未见明显出血和糜烂, 其中高剂量组作用最明显。如图1B所示, 与空白对照组比较, GM模型组的小鼠的胃黏膜溃疡指数增加明显($P < 0.001$); 与GM模型组比较, 乙醇联合MSM低、中、高剂量处理组的溃疡指数显著降低($P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.001$), 并且高剂量MSM对乙醇损伤胃黏膜的保护作用最显著($P < 0.001$)。

2.2 MSM对乙醇致胃损伤小鼠胃黏膜组织的病理学变化的影响 HE结果显示, 空白对照组小鼠胃黏膜上皮完整, 连续性好, 腺体排列整齐, 黏膜层组织结构层次清楚; GM模型组的胃组织有很高程度的出血性损伤、水肿、上皮细胞丢失和炎症细胞浸润; 与GM模型组相比, 用低、中、高剂量MSM预处理对胃组织显示出较好的保护作用, 表现为水肿减轻、炎症细胞浸润减少(图2)。

2.3 MSM对小鼠血清中IL-6、TNF- α 含量, 胃组织中CTGF含量的影响 与空白对照组相比, GM模型组血清

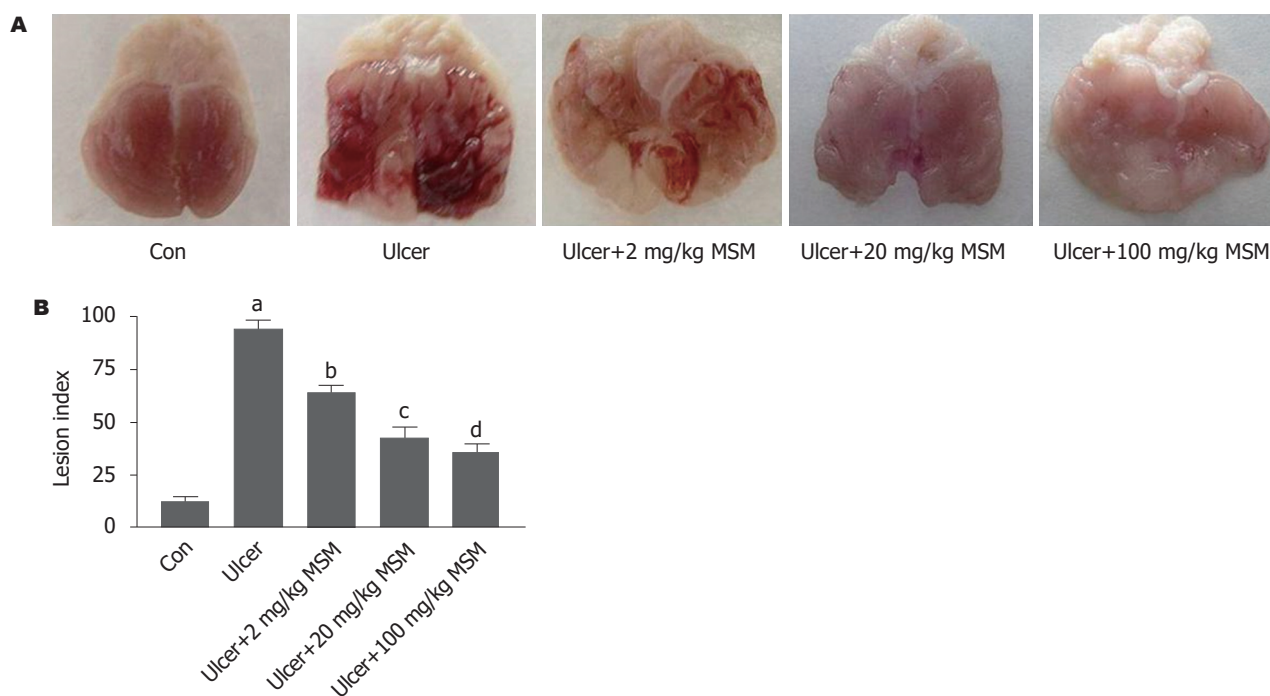


图 1 二甲基砒对小鼠乙醇致胃损伤后胃黏膜形态的影响. A: 5组小鼠胃黏膜形态; B: MSM对小鼠乙醇致胃损伤后溃疡指数的影响. $n = 10$, ^a $P < 0.001$, vs空白对照组; ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$, ^d $P < 0.001$, vs胃溃疡模型组. MSM: 二甲基砒.

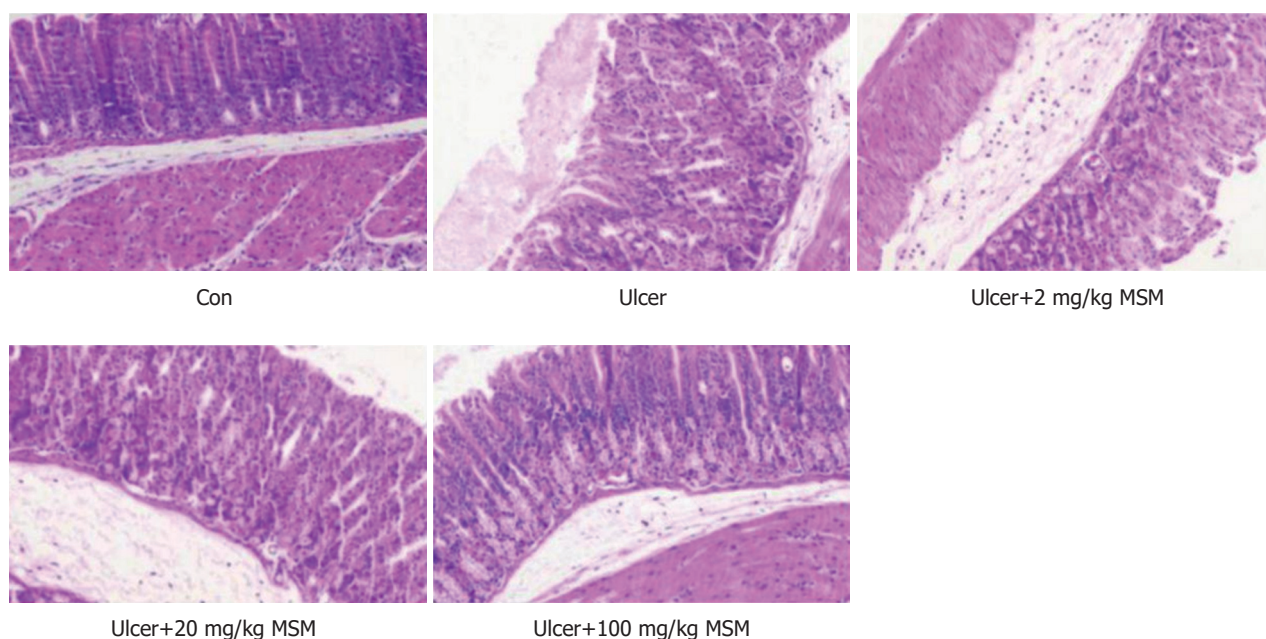


图 2 二甲基砒对乙醇诱导小鼠酒精性胃炎胃组织病变的影响(HE, $\times 200$). MSM: 二甲基砒.

中IL-6和TNF- α 含量显著升高($P < 0.001$). 与GM模型组比较, 乙醇联合低、中、高剂量MSM处理组血清液中IL-6和TNF- α 含量显著降低($P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.001$), 其中乙醇联合高剂量MSM处理组降低最为显著($P < 0.001$), 结果见图3A-B. 如图3C所示, 与空白组相比, GM模型组小鼠胃组织中CTGF蛋白表达水平显著降低($P < 0.001$); 与GM模型组比较, 乙醇联合低、中、高剂量MSM处

理组小鼠胃组织中CTGF表达显著增加($P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.001$).

2.4 MSM对小鼠胃组织中MDA、GSH、SOD含量的影响 如图4所示, 与空白组相比, GM模型组小鼠MDA、GSH、SOD含量较空白组升高($P < 0.001$). 与GM模型组比较, MDA、GSH和SOD在乙醇联合低、中、高剂量MSM处理组显著降低($P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.001$), 其

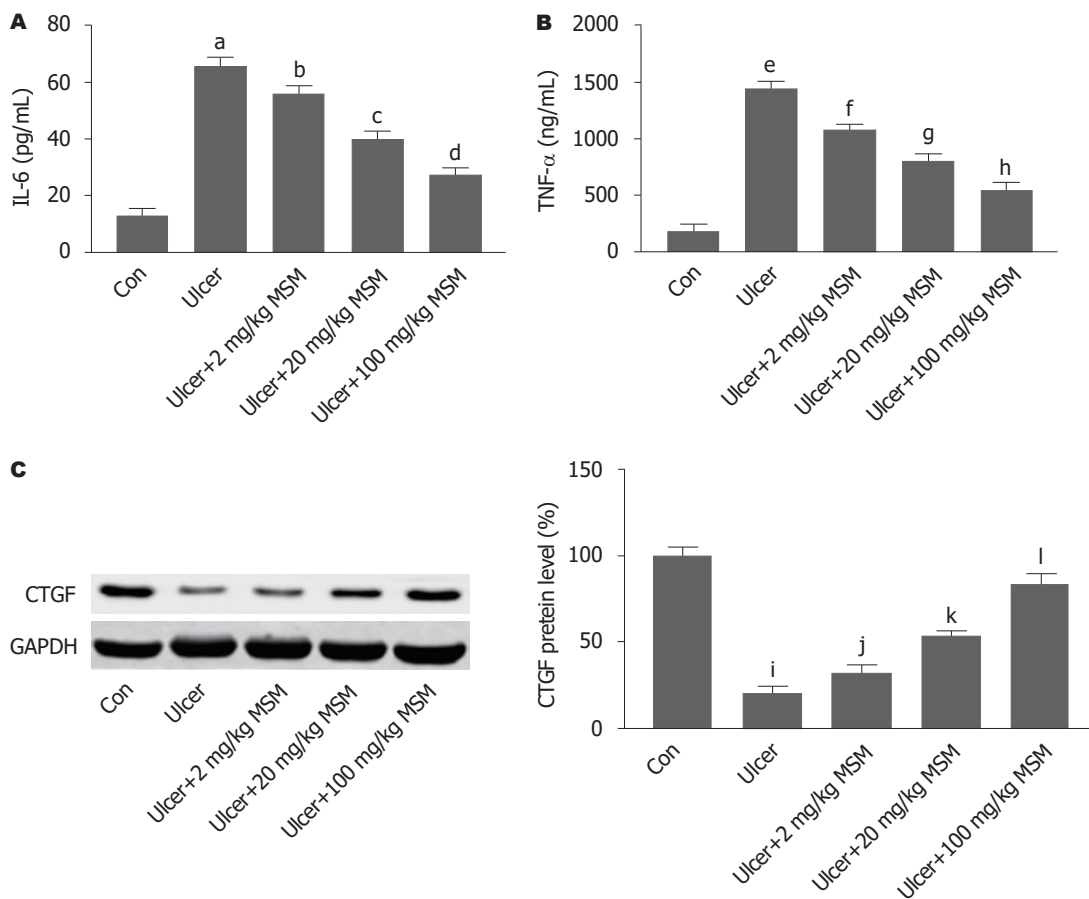


图3 二甲基砷对小鼠血清中IL-6、TNF-α含量, 胃组织中CTGF含量的影响. A: 小鼠血清中IL-6水平变化. $n = 10$, ^a $P < 0.001$, vs空白对照组; ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$, ^d $P < 0.001$, vs胃溃疡模型组; B: 小鼠血清中TNF-α水平变化. $n = 10$, ^e $P < 0.001$, vs空白对照组; ^f $P < 0.05$, ^g $P < 0.01$, ^h $P < 0.001$, vs胃溃疡模型组; C: 小鼠胃组织中CTGF表达水平变化. $n = 10$, ⁱ $P < 0.001$, vs空白对照组; ^j $P < 0.05$, ^k $P < 0.01$, ^l $P < 0.001$, vs胃溃疡模型组. MSM: 二甲基砷.

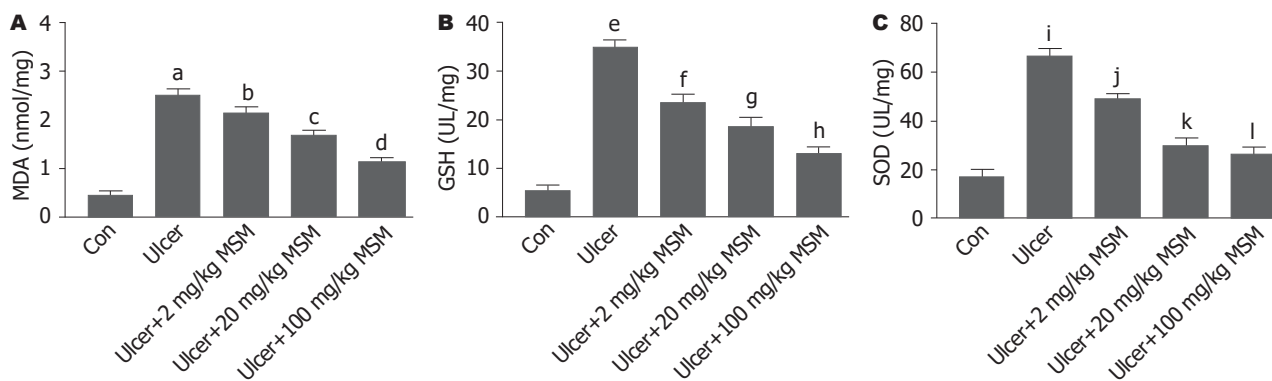


图4 二甲基砷对小鼠胃组织中丙二醛、谷胱甘肽、超氧化物歧化酶含量的影响. A: 小鼠胃组织中MDA含量. $n = 10$, ^a $P < 0.001$ vs空白对照组; ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$, ^d $P < 0.001$ vs胃溃疡模型组; B: 小鼠胃组织中GSH含量. $n = 10$, ^e $P < 0.001$ vs空白对照组; ^f $P < 0.05$, ^g $P < 0.01$, ^h $P < 0.001$ vs胃溃疡模型组; C: 小鼠胃组织中SOD含量. $n = 10$, ⁱ $P < 0.001$ vs空白对照组; ^j $P < 0.05$, ^k $P < 0.01$, ^l $P < 0.001$ vs胃溃疡模型组. MSM: 二甲基砷; MDA: 丙二醛; GSH: 谷胱甘肽.

中高剂量MSM组MDA、GSH、SOD降低最为显著 ($P < 0.001$), 以上结果说明MSM能降低乙醇引起急性GM小鼠胃组织中的MDA、GSH、SOD含量.

3 讨论

GM是一种病因众多的疾病, 病因包括自由基、乙醇、

胃酸等, 其中过度饮酒是GM的重要因素. 乙醇被认为是通过影响胃黏膜的保护因子(包括减少粘液生成和破坏黏膜内血液循环)从而造成胃损伤. 近几年来, 由于H2受体拮抗剂和质子泵抑制剂被广泛应用于临床, GM的近期愈合率得到了明显改善, 但这些药物的副作用以及停药后GM的复发率较高仍是尚未解决的问题. 而传统中

文章亮点

实验背景

胃溃疡(gastric mucosa, GM)是胃内壁黏膜或更深层发生溃疡而引起的疾病, 多发于40-60岁男性患者. GM发病因素多样, 目前临床多主张以联合药物治疗, 例如抑酸治疗、抗幽门螺杆菌治疗和保护胃黏膜治疗. GM临床治愈率可达到85%-95%, 然而GM的复发仍然是临床治疗的挑战之一.

实验动机

研究新型的GM治疗药物, 为临床治疗提供新的思路 and 手段.

实验目标

研究MSM对GM中的治疗作用以及可能的机制.

实验方法

通过乙醇诱导小鼠GM模型, 观察小鼠胃黏膜组织和溃疡指数变化, 通过HE染色研究组织病理学改变, 通过ELISA实验研究了小鼠胃组织中丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)及血清中炎症因子白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的表达水平, 通过蛋白免疫印迹实验研究了结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)的表达变化.

实验结果

MSM可改善乙醇引起的胃损伤, 降低胃黏膜水肿, 小鼠未表现出明显出血和糜烂. MSM能显著降低GM小鼠胃组织中MDA、GSH、SOD及血清中炎症因子IL-6、TNF- α 水平, 增加CTGF蛋白表达水平.

实验结论

MSM可通过清除氧自由基, 抑制脂质过氧化, 抑制炎症因子释放对乙醇诱导小鼠急性GM起到保护作用.

展望前景

该研究提供了MSM治疗GM以及其可能机制的新的见解. 这项研究的结果有助于临床GM治疗提供新的治疗手段, 但是作为未来的临床治疗推广, 其安全性和可靠性仍然需要深入的研究.

4 参考文献

- 1 胡宗苗, 刘景楠, 周园里, 邓颖颖, 刘继平. 灵芝孢子粉对乙醇诱导小鼠胃溃疡的保护作用. 陕西中医 2016; 37: 632-634 [DOI:

药则在减少复发、改善GM愈合情况、增强胃黏膜防御力等方面发挥出了优势^[9]. MSM是一种天然存在的有机硫化物, 在牛奶和肉类中含量较高, 具有广泛的生物效应, 已经成为一种流行的膳食补充剂用于多种用途^[5,10]. MSM对人体的健康发挥重要作用, 为抗氧化剂谷胱甘肽提供硫, 因此对消除人体产生的氧自由基起着十分重要的作用^[11,12]. 本实验结果显示模型组溃疡面积显著高于空白对照组, 表明急性GM模型造模成功. 低、中、高MSM剂量组能显著减少乙醇所致小鼠急性GM的面积, 表明MSM具有一定的胃保护作用.

小鼠通过灌胃无水乙醇来诱发溃疡, 导致其机体的抗氧化能力下降, 形成的自由基增多, 并使生物膜中不饱和脂肪酸过氧化, 而形成了多种脂质过氧化物, 脂质过氧化物破坏溶酶体膜和线粒体, 形成溃疡, 最终造成细胞的死亡^[9,13]. 由于氧自由基的增多, 产生相应的脂质过氧化物MDA, MDA能与核酸、蛋白质等生物大分子结合, 最终造成细胞的损伤. 人体内有完善的自由基清除系统, GSH是体内重要的抗氧化剂和自由基清除剂, 而SOD是机体主要的抗氧化酶, 是清除自由基的多种酶之一, 所以, 这些指标可以反映机体的抗氧化能力和清除自由基的能力^[14,15]. GM模型组小鼠胃组织MDA、GSH、SOD水平明显高于空白对照组, 说明GM小鼠胃组织存在氧化应激损伤. 而乙醇联合MSM处理组GM小鼠胃组织中MDA、GSH、SOD水平有所降低, 说明MSM对降低小鼠胃组织氧化应激水平, 促进对自由基的清除作用, 抑制脂质过氧化产物的形成, 减轻氧自由基对胃组织的损害作用效果明显. 炎症细胞因子IL-6、TNF- α 等的大量合成与释放会造成炎症反应. GM模型组小鼠血清中IL-6、TNF- α 水平明显高于空白对照组, 而乙醇联合MSM处理组GM小鼠血清中IL-6、TNF- α 水平有所降低, 说明MSM可以抑制炎症因子IL-6、TNF- α 等的释放, 进而减轻其对胃黏膜的损伤. CTGF广泛存在于人类多种组织和器官中, 如结缔组织、心脏、脑、肝脏、胰腺和肌肉等, 与细胞增殖、分化、凋亡、伤口愈合等多种生理活动有关. 研究表明, CTGF参与了GM的发生与愈合过程, CTGF可能通过诱导成纤维细胞的增殖和细胞外基质的合成, 参与结缔组织的再生、肉芽组织的形成和机化; 另一方面, CTGF可能通过诱导血管内皮细胞的增殖, 促进微血管的形成, 参与结构重建, 最终有助于GM的愈合^[16,17]. 本实验结果表明, MSM通过增加小鼠胃组织中CTGF蛋白的表达, 起到促进GM的愈合的作用.

综上所述, MSM可能通过清除氧自由基, 抑制脂质过氧化, 抑制炎症因子释放, 上调CTGF蛋白的表达, 起到对小鼠乙醇型GM的保护作用.

10.3969/j.issn.1000-7369.2016.05.049]

- 2 王淑敏, 曹菁, 穆双双, 王方, 祝恩智. 长柄侧耳发酵物对乙醇诱导小鼠胃溃疡的保护作用研究. 吉林中医药 2018; 38: 689-692 [DOI: 10.13463/j.cnki.jlzyy.2018.06.020]
- 3 沈玖君, 邓利玲, 帅天罡, 任旺, 邓利, 钟耕. 魔芋粉对小鼠急性酒精性胃黏膜损伤和慢性酒精性肠损伤的影响. 食品科学 2018; 39: 163-169 [DOI: 10.7506/spkx1002-6630-201809025]
- 4 Amirshahrokhi K, Khalili AR. Methylsulfonylmethane is effective against gastric mucosal injury. *Eur J Pharmacol* 2017; 811: 240-248 [PMID: 28666801 DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.06.034]
- 5 Butawan M, Benjamin RL, Bloomer RJ. Methylsulfonylmethane: Applications and Safety of a Novel Dietary Supplement. *Nutrients* 2017; 9: E290 [PMID: 28300758 DOI: 10.3390/nu9030290]
- 6 Withee ED, Tippens KM, Dehen R, Tibbitts D, Hanes D, Zwickey H. Effects of Methylsulfonylmethane (MSM) on exercise-induced oxidative stress, muscle damage, and pain following a half-marathon: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Int Soc Sports Nutr* 2017; 14: 24 [PMID: 28736511 DOI: 10.1186/s12970-017-0181-z]
- 7 Miller LE. Methylsulfonylmethane decreases inflammatory response to tumor necrosis factor- α in cardiac cells. *Am J Cardiovasc Dis* 2018; 8: 31-38 [PMID: 30038844]
- 8 李硕, 王睿泽, 孙敬昌. 崧对无水乙醇所致胃溃疡的实验研究. 中国疗养医学 2016; 25: 959-961 [DOI: 10.13517/j.cnki.ccm.2016.09.026]
- 9 贲亮, 徐铁, 周微, 付宝慧, 郝乘仪, 李镐. 泽兰提取物对乙醇致小鼠胃溃疡保护作用. 时珍国医国药 2010; 21: 589-590. [DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2010.03.038]
- 10 Coppa M, Martin B, Pradel P, Leotta B, Priolo A, Vasta V. Effect of a hay-based diet or different upland grazing systems on milk volatile compounds. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 4947-4954 [PMID: 21434695 DOI: 10.1021/jf2005782]
- 11 Nakhostin-Roohi B, Barmaki S, Khoshkharesh F, Bohlooli S. Effect of chronic supplementation with methylsulfonylmethane on oxidative stress following acute exercise in untrained healthy men. *J Pharm Pharmacol* 2011; 63: 1290-1294 [PMID: 21899544 DOI: 10.1111/j.2042-7158.2011.01314.x]
- 12 Marañón G, Muñoz-Escassi B, Manley W, García C, Cayado P, de la Muela MS, Olábarri B, León R, Vara E. The effect of methyl sulphonyl methane supplementation on biomarkers of oxidative stress in sport horses following jumping exercise. *Acta Vet Scand* 2008; 50: 45 [PMID: 18992134 DOI: 10.1186/1751-0147-50-45]
- 13 周源, 刘英姿, 李锋, 郭智. 獐芽菜苦苷对乙醇致小鼠胃溃疡的保护作用. 中国新药杂志 2008; 17: 1768-1769 [DOI: 10.3321/j.issn:1003-3734.2008.20.010]
- 14 Chung SS, Kim M, Youn BS, Lee NS, Park JW, Lee IK, Lee YS, Kim JB, Cho YM, Lee HK, Park KS. Glutathione peroxidase 3 mediates the antioxidant effect of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in human skeletal muscle cells. *Mol Cell Biol* 2009; 29: 20-30 [PMID: 18936159 DOI: 10.1128/MCB.00544-08]
- 15 Kono H, Asakawa M, Fujii H, Maki A, Amemiya H, Yamamoto M, Matsuda M, Matsumoto Y. Edaravone, a novel free radical scavenger, prevents liver injury and mortality in rats administered endotoxin. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 307: 74-82 [PMID: 12954792 DOI: 10.1124/jpet.103.053595]
- 16 李菊英, 苟笑丹, 贺菊香, 赵刚. 胃癌组织中CTGF蛋白表达及其临床意义. 山东医药 2010; 50: 21-22 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2010.07.008]
- 17 梁增文, 张法灿, 梁列新. 胃溃疡愈合前后胃黏膜中结缔组织生长因子的表达——附30例检测结果. 新医学 2007; 38: 304-306 [DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2007.05.012]

编辑: 马亚娟 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.

内脏高敏感小鼠肠道树突状细胞异常活化与PDIA3/STAT3的相关性研究

马陈皋, 毛立祺, 应笑, 王爽爽, 李蒙, 张璐, 王曦, 吕宾

马陈皋, 毛立祺, 应笑, 王爽爽, 李蒙, 张璐, 王曦, 吕宾, 浙江中医药大学附属第一医院消化内科, 浙江省消化系统疾病病理生理重点实验室 浙江省杭州市 310006

马陈皋, 主要从事消化系统疾病的研究。

基金项目: 国家自然科学基金, Nos. 81600426, 81770535; 浙江省医药卫生科技计划项目, No. 2019RC229.

作者贡献分布: 此课题由吕宾、张璐、李蒙设计; 实验操作由王曦指导; 研究过程由马陈皋、毛立祺、王爽爽及应笑操作完成; 研究用新试剂及分析工具由吕宾提供; 数据分析由马陈皋与毛立祺完成; 本论文写作由吕宾与马陈皋完成。

通讯作者: 吕宾, 教授, 主任医师, 310053, 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. lvbin@medmail.com.cn
电话: 0571-87068001

收稿日期: 2019-08-02

修回日期: 2019-09-06

接受日期: 2019-09-14

在线出版日期: 2019-09-28

Correlation between abnormal activation of intestinal dendritic cells and PDIA3/STAT3 in visceral hypersensitivity mice

Chen-Gao Ma, Li-Qi Mao, Xiao Ying, Shuang-Shuang Wang, Meng Li, Lu Zhang, Xi Wang, Bin Lv

Chen-Gao Ma, Li-Qi Mao, Xiao Ying, Shuang-Shuang Wang, Meng Li, Lu Zhang, Xi Wang, Bin Lv, Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital, Zhejiang Chinese Medical University, Zhejiang Key Laboratory of Pathophysiology of Digestive System Diseases, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81770535 and No. 81600426; Medical Health Science and Technology Project of Zhejiang Provincial Health Commission, No. 2019RC229.

Corresponding author: Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital, Zhejiang Chinese Medical University, No. 54, Youdian Road, Shangcheng District, Hangzhou

310006, Zhejiang Province, China. lvbin@medmail.com.cn

Received: 2019-08-02

Revised: 2019-09-06

Accepted: 2019-09-14

Published online: 2019-09-28

Abstract BACKGROUND

The occurrence of visceral hypersensitivity is associated with the abnormal activation of mesenteric lymph node dendritic cells (MLNDCs); protein disulfide isomerase A3 (PDIA3) regulates the activity of the signal transduction and activator of transcription 3 (STAT3) pathway. We hypothesized that in MNLDCs, PDIA3 can inhibit the STAT3 pathway, activate MNLDCs, and ultimately cause visceral hypersensitivity.

AIM

To explore the possible role of PDIA3/STAT3 in the abnormal immune activation of intestinal dendritic cells in visceral hypersensitivity mice

METHODS

Forty C57BL/6 mice were randomly divided into a control group (20 mice) and a model group (20 mice). A visceral hypersensitivity model of irritable bowel syndrome was established by restraint stress, and the abdominal withdrawal reflex was used to evaluate the visceral sensitivity of mice. Magnetic label-based technique was used to separate MLNDCs. The purity of MLNDCs and the expression of major histocompatibility complex II (MHC-II) molecules on the surface of MLNDCs were analyzed by flow cytometry. Western blot and immunofluorescence technique were used to compare the expression level of PDIA3 and phosphorylated STAT3 (p-STAT3) between the two groups of MNLDCs. Mixed

lymphocyte reaction was used to compare the ability of dendritic cells (DCs) to activate the initial T lymphocytes.

RESULTS

The colonic expansion volume threshold of the model group was significantly lower than that of the control group [(0.53 mL ± 0.07 mL) vs (0.85 mL ± 0.12 mL), $t = -10.845, P = 0.000$]. The percentage of DC-specific antigen CD11c-positive MNLDCs was 86.61% ± 7.02%, and the expression of MHC-II molecules on the surface of MNLDCs in the model group was significantly higher than that in the control group [(73.08% ± 2.64%) vs (53.20% ± 4.50%), $t = -7.617, P = 0.000$]. Compared with the control group, the expression of PDIA3 in the model group was significantly increased [(0.77 ± 0.04) vs (0.42 ± 0.03), $t = 11.086, P = 0.000$], while p-STAT3 decreased significantly [(0.73 ± 0.03) vs (1.24 ± 0.18), $t = -4.737, P = 0.038$]. And the ability of DCs to stimulate the proliferation of initial T lymphocytes was significantly enhanced in the model group [(34.24% ± 2.95%) vs (17.22% ± 3.47%), $t = 6.472, P = 0.003$].

CONCLUSION

Abnormal immune activation of MLNDCs in visceral hypersensitive mice may be associated with PDIA3/STAT3.

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

Key Words: Irritable bowel syndrome; Protein disulfide isomerase A3; Signal transduction and activator of transcription 3; High intestinal sensitivity

Ma CG, Mao LQ, Ying X, Wang SS, Li M, Zhang L, Wang X, Lv B. Correlation between abnormal activation of intestinal dendritic cells and PDIA3/STAT3 in visceral hypersensitivity mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1125-1132
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1125.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1125>

摘要

背景

内脏高敏感的发生与肠系膜淋巴结树突状细胞(mesenteric lymph node dendritic cells, MLNDC)的异常活化相关; 蛋白质二硫键异构酶A3(protein disulfide isomerase A3, PDIA3)可以调节信号转导与转录激活因子3(signal transduction and activator of transcription 3, STAT3)通路的活性。我们假设, 在MLNDC中, PDIA3可以抑制STAT3通路, 激活MLNDC, 并最终引起内脏高敏感。

目的

初步探讨PDIA3/STAT3在内脏高敏感小鼠肠道树突状细胞异常免疫活化中的可能作用

方法

40只C57BL/6小鼠随机分成对照组(20只)和模型组(20只), 采用束缚应激建立小鼠肠易激综合征内脏高敏感模型, 用腹部撤回反射评估小鼠肠道敏感性, 磁珠分选技术分离两组小鼠MLNDC, 流式检测分选纯度以及比较两组MLNDC表面主要组织相容性复合体II(major histocompatibility complex II, MHC-II)类分子的表达情况, 蛋白印记技术和免疫荧光技术比较两组MLNDC中PDIA3和磷酸化-信号转导与转录激活因子3(phosphorylated signal transduction and activator of transcription 3, P-STAT3)的表达及分布情况, 混合淋巴细胞反应(mixed lymphocyte reaction, MLR)比较两组DC对初始T淋巴细胞的激活能力。

结果

模型组小鼠结肠扩张容量阈值明显低于对照组[(0.53 mL ± 0.07 mL) vs (0.85 mL ± 0.12 mL), $t = -10.845, P = 0.000$]; 流式检测磁珠分选所得的小鼠树突状细胞特异性抗原CD11c阳性MLNDC为86.61% ± 7.02%; 模型组MLNDC表面MHC-II类分子表达显著高于对照组[(73.08% ± 2.64%) vs (53.20% ± 4.50%), $t = -7.617, P = 0.000$]; 与对照组相比, 模型组小鼠MLNDC表达PDIA3明显升高[(0.77 ± 0.04) vs (0.42 ± 0.03), $t = 11.086, P = 0.000$], 同时P-STAT3的表达明显下降[(0.73 ± 0.03) vs (1.24 ± 0.18), $t = -4.737, P = 0.038$], MLR中刺激初始T淋巴细胞增殖的能力明显增强[(34.24% ± 2.95%) vs (17.22% ± 3.47%), $t = 6.472, P = 0.003$].

结论

内脏高敏感小鼠MLNDC的异常免疫活化或许和PDIA3/STAT3有关。

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

关键词: 肠易激综合征; 蛋白质二硫键异构酶A3; 信号转导与转录激活因子3; 肠道高敏感

核心提要: 本研究通过对比模型组和对照组实验动物肠系膜淋巴结树突状细胞(mesenteric lymph node dendritic cells, MLNDC)的活性差异、蛋白质二硫键异构酶A3(protein disulfide isomerase A3, PDIA3)和磷酸化-信号转导与转录激活因子3(signal transduction and activator of transcription 3, STAT3)的表达差异, 提示内脏高敏感的发生或许和PDIA3对STAT3通路的抑制所引起的MLNDC的异常免疫活化有关。

马陈皋, 毛立祺, 应笑, 王爽爽, 李蒙, 张璐, 王曦, 吕宾. 内脏高敏感小鼠肠道树突状细胞异常活化与PDIA3/STAT3的相关性研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(18): 1125-1132
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1125.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1125>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是世界范围内的多发病^[1], 但是其发病机制目前尚不明确. 近年来, 肠道免疫异常在IBS发生过程中的作用受到了越来越多的关注. 我们的前期研究显示, IBS大鼠肠道树突状细胞(dendritic cells, DC)数量增加^[2], 细胞表面主要组织相容性复合体II(major histocompatibility complex II, MHC-II)类分子表达增加, 激活T淋巴细胞的能力显著增强^[3], 说明其可能通过自身的活化, 参与肠道免疫异常的发生, 并最终引起IBS内脏高敏感.

信号转导与转录激活因子3(signal transduction and activator of transcription 3, STAT3)通路在不同的细胞中发挥着多种不同的调节功能. 在DC中, STAT3通路的激活会对DC的活化产生明确的抑制作用^[4]. 蛋白质二硫键异构酶A3(protein disulfide isomerase A3, PDIA3)主要位于内质网中, 以分子伴侣形式参与新生蛋白质的加工处理及质量监控. 多项研究表明PDIA3可以参与STAT3通路的激活调控^[5-9].

本课题组前期研究发现, PDIA3在应激IBS大鼠以及IBS患者肠黏膜病理标本中的表达明显高于对照组^[10]. 结合PDIA3对STAT3通路的调节功能及STAT3通路在DC活化中发挥的关键性作用, 我们假设: IBS模型动物肠道DC的异常免疫活化或许和STAT3通路的抑制以及PDIA3的高表达有关.

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物: C57BL/6小鼠、Balb/c小鼠购自浙江中医药大学动物实验研究中心.

主要试剂: RPMI1640、胎牛血清购自Sigma公司; 2-巯基乙醇(2-ME)、磷酸盐缓冲液(phosphate balanced solution, PBS)购自杭州吉诺生物医药技术有限公司; 组织细胞裂解液、ECL试剂盒购自北京普利莱基因技术有限公司; BCA蛋白定量试剂盒、羧基荧光素二醋酸琥珀酰亚胺酯(carboxyfluorescein succinimidyl amino ester, CFSE)购自美国赛默飞世尔科技公司; 抗PDIA3抗体、抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体购自美国CST公司; 流式抗体: FITC标记的CD11c抗体、APC标记的MHC-II抗体购自美国ebioscience公司; 小鼠初始CD4阳性T淋巴细胞分选试剂盒、小鼠CD11c阳性树突状细胞分选试剂盒购自美天旎生物技术有限公司; 免疫染色固定液、免疫染色强力通透液、免疫染色封闭液、抗荧光淬灭封片剂购自上海碧云天生物技术有限公司. 实验取得动物伦理委员会批准(ZSLL-2018-037).

1.2 方法

1.2.1 内脏高敏感小鼠建模: 参考Williams等^[11]和Zheng等^[12]的方法, 对小鼠造成人为的束缚应激, 使其内脏敏感性增加, 具体如下: 模型组小鼠20只, 雄性, 6-8 wk, 体重21 g±2 g, 造模过程采用束缚器限制小鼠上半身、前肢及前肢的自由活动, 主要限制其前肢对头面部的清理动作, 对其造成慢性应激. 每日08:00-10:00造模, 持续1 h, 连续14 d. 造模结束3 d后小鼠禁食不禁水12 h, 随后对小鼠实行结肠扩张(colorectal distension, CRD)试验, 然后用国际通用的腹部收缩反射评分^[13]评价CRD后小鼠的内脏敏感性, 具体如下: 将石蜡润滑后的CRD装置插入小鼠肛门, 用胶布固定于鼠尾部, 让小鼠适应该装置15 min. 然后对装置中的气囊注水, 使小鼠结肠被动扩张, 观察记录小鼠腹肌收缩、背部拱起时所注入的水量, 为小鼠的扩张容量阈值, 同一小鼠重复3次, 间隔4 min, 取平均值.

1.2.2 小鼠MLNDC的提取: 根据Van den Broeck等^[14]对于小鼠肠系膜淋巴结分布的描述摘取小鼠腹腔肠系膜淋巴结, 具体如下: 将小鼠颈椎脱臼处死, 于75%酒精浸泡10 min, 然后无菌环境下剖开小鼠腹腔, 找到小鼠盲肠, 在升结肠与横结肠交界处的肠系膜根部可以找到空肠淋巴结以及结肠淋巴结共2-4颗. 用无菌玻璃板对所获得的淋巴结进行碾磨, 收集获得的淋巴细胞悬液, 过400目滤网除去纤维组织以及细胞团块. 按美天旎CD11c阳性树突状细胞分选试剂盒里的说明手册进行树突状细胞的分离, 具体如下: 将所获得的淋巴细胞悬液300 r/min离心10 min, 每 1×10^8 个细胞用400 μ L磁珠分选缓冲液重悬, 加入100 μ L CD11c磁珠, 4 $^{\circ}$ C孵育10 min; 加入10 mL预冷的磁珠分选缓冲液, 300 r/min离心10 min去除未结合的磁珠, 1 mL磁珠分选缓冲液重悬, 上磁珠架, 收集CD11c阳性MLNDC备用.

1.2.3 流式细胞术检测细胞表型: 取少量上述MLNDC单细胞悬液于1.5 mL EP管, 300 r/min离心10 min, 去上清, 100 μ L流式上样缓冲液重悬细胞, 加入对应的流式抗体, 室温孵育15 min, 加入1 mL PBS, 300 r/min离心10 min, 去上清, 500 μ L流式上样缓冲液重悬, 上机检测.

1.2.4 蛋白印记实验(western blot, WB): 按照Burnette等^[15]提供的实验步骤进行WB. 具体如下: (1)细胞总蛋白的提取: 300 r/min, 4 $^{\circ}$ C离心10 min收集上述MLNDC单细胞悬液, 预冷PBS洗2次. 加入5倍于细胞沉淀体积的组织细胞裂解液, 冰上裂解15 min, 每隔5 min振荡1 min. 12000 g, 4 $^{\circ}$ C离心10 min, 转移富含蛋白的上清到新EP管. 加入1/2体积的上样缓冲液, 加入1/30体积的二硫苏糖醇, 混匀, 水浴锅99 $^{\circ}$ C加热5 min, 冰上冷却, 获

得蛋白样品, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存. (2)SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳: 安装好电泳装置, 将蛋白样品按预先计算所得的上样量加到凝胶凹槽中, 接通电源, 电泳时, 浓缩胶电压70 V, 分离胶电压120 V. 酚红到达分离胶的底部后停止电泳. (3)转膜: 取出电泳后的凝胶, 切去多余部分, 取预先转移缓冲液湿润3张转印滤纸, 将上述凝胶置于其上, 再将PVDF膜置于凝胶上, 最后将另外3张转印滤纸盖于PVDF膜上, 用夹子夹好后, 置入电转移系统, 接通电源, 300 mA恒定电流转移2 h, 期间保持低温. (4)免疫检测: 用5%的脱脂牛奶常温封闭转膜结束后的PVDF膜2 h, 根据抗体说明书上描述分子量切下对应条带, 置于1:4000稀释后的抗PDIA3抗体、抗磷酸化-信号转导与转录激活因子3(phosphorylated signal transduction and activator of transcription 3, P-STAT3)抗体以及抗GAPDH抗体缓冲液中孵育, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 摇床过夜. TBST洗3次, 5 min/次. 1:4000稀释后的抗兔二抗或抗鼠二抗室温孵育1 h, TBST洗3次. 将ECL发光液均匀覆盖PVDF膜, 上机曝光、显影. 条带结果用Image Lab软件进行分析. PDIA3蛋白表达量用其与GAPDH蛋白对应条带的积分光密度值(integral optical density, IOD)的比值来表示, P-STAT3蛋白表达量用其与非磷酸化的STAT3蛋白对应条带的IOD的比值来表示.

1.2.5 免疫荧光技术: 用免疫荧光技术对PDIA3与P-STAT3进行亚细胞定位, 具体如下: 调整上述获得的MLNDC细胞悬液浓度至 1×10^6 个/mL, 取100 μL 于1.5 mL EP管中, PBS洗2次, 重悬后加入到甩片机中, 3000 r/min, 10 min制成细胞甩片. 免疫染色固定液室温固定10 min, PBS洗3次, 5 min/次, 免疫染色强力通透液室温通透10 min, 免疫染色封闭液室温封闭1 h, 1:200兔来源抗PDIA3抗体、1:200鼠来源抗P-STAT3抗体 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, PBS洗脱3次, FITC标记的山羊抗鼠抗体以及CY3标记的山羊抗兔抗体室温孵育1 h, PBS洗3次, 含4', 6-二苯基-2-苯基吲哚(4', 6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)抗荧光淬灭封片剂封片, 共聚焦显微镜观察、拍照. 荧光图片采用Image J进行分析, 结果以绿色或红色荧光的平均光密度(mean optical density, MOD)来表示.

1.2.6 磁珠分选初始T淋巴细胞: 按照磁珠分选试剂盒说明书进行操作, 具体如下: 提取Balb/c小鼠脾脏细胞, 计数, 每 10^7 个细胞进行如下处理: 加入40 μL 预冷磁珠分选缓冲液, 10 μL 抗体cocktail, 冰上孵育5 min, 加入额外的20 μL 磁珠分选缓冲液, 20 μL 磁珠, 冰上孵育10 min, 加入200 μL 磁珠分选缓冲液, 300 r/min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心10 min去除未结合细胞的抗体和磁珠. 磁珠分选缓冲液重悬, 上分选架.

1.2.7 混合淋巴细胞反应: (1)对上述初始T淋巴细胞进行

细胞内染色标记: 取分选所得初始T淋巴细胞, 用PBS调整细胞浓度为 5×10^6 个/mL, 加入CFSE, 工作浓度为1.5 $\mu\text{mol/L}$, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱孵育15 min, 每5 min振荡1次. 加入预冷的完全培养基终止反应, 300 r/min离心10 min, 去除上清多余染料; (2)调整染色后的初始T淋巴细胞浓度为 10^6 个/mL, 取100 μL 加入弧形底96孔板; (3)将上述获得的模型组及对照组MLNDC密度均调整为 2×10^6 个/mL, 以DC:T比例为1:1加入对应量的MLNDC细胞悬液, 最后加入完全培养液调整每孔终体积至200 μL . 2 d后流式检测初始T淋巴细胞增殖情况.

统计学处理 数据采用SPSS 20.0软件进行统计学分析. 正态分布的计量资料以 $\text{mean}\pm\text{SD}$ 表示, 两组独立样本比较采用 t 检验, $P<0.05$ 被认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 小鼠的一般情况及模型验证 对照组小鼠一般情况良好. 模型组小鼠逐渐出现焦虑、烦躁, 出现重复刻板行为, 体重减轻, 大便偏稀, 肛门口大便污染. 造模结束3 d后, 对小鼠进行模型验证, 以模型组、对照组小鼠的扩张容量阈值作为评价指标. 结果模型组小鼠的内脏敏感性显著高于对照组[(0.53 mL \pm 0.07 mL)*vs*(0.85 mL \pm 0.12 mL), $t = -10.845$, $P = 0.000$].

2.2 流式检测小鼠MLNDC的分离情况 收集磁珠分离得到的MLNDC, 流式鉴定CD11c阳性MLNDC细胞比例为 $86.61\%\pm 7.02\%$, 台盼蓝染色后相差显微镜下观察计数显示所获得的DC活性大于95%.

2.3 流式检测MLNDC表面MHC-II类分子表达情况 如图1, 模型组小鼠MLNDC细胞表面MHC-II类分子表达高于对照组[(73.08% \pm 2.64%)*vs*(53.20% \pm 4.50%), $t = -7.617$, $P = 0.000$].

2.4 WB检测MLNDC中PDIA3、P-STAT3蛋白的表达量 模型组MLNDC中PDIA3表达量明显高于对照组[(0.77 \pm 0.04)*vs*(0.42 \pm 0.03), $t = 11.086$, $P = 0.000$]; P-STAT3表达量显著降低[(0.73 \pm 0.03)*vs*(1.24 \pm 0.18), $t = -4.737$, $P = 0.038$](图2).

2.5 免疫荧光(immunofluorescence, IF)检测PDIA3、P-STAT3蛋白在MLNDC中的定位及含量 小鼠MLNDC中PDIA3和P-STAT3多分布于细胞膜上(图3); 相比较于对照组, 模型组P-STAT3对应的绿色荧光的MOD降低[(0.0358 \pm 0.0036)*vs*(0.0745 \pm 0.0119), $t = -17.782$, $P = 0.000$], 与此同时, 与PDIA3对应的红色荧光的MOD升高[(0.0639 \pm 0.0142)*vs*(0.0567 \pm 0.0003), $t = 8.758$, $P = 0.013$].

2.6 流式检测混合淋巴细胞反应(mixed lymphocyte reaction, MLR)中小鼠CD4阳性T淋巴细胞的增殖情

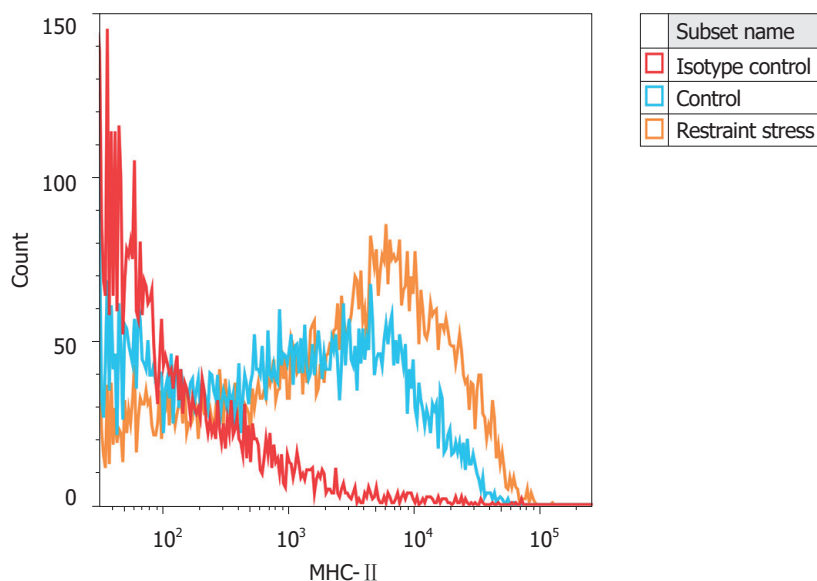


图 1 对照组、模型组小鼠肠MLNDC表面MHC-II类分子表达情况, 模型组小鼠MLNDC表面MHC-II类分子表达高于对照组. MLNDC: 肠系膜淋巴结树突状细胞; MHC-II: 主要组织相容性复合体II; Control: 对照组; Restraint stress: 模型组.

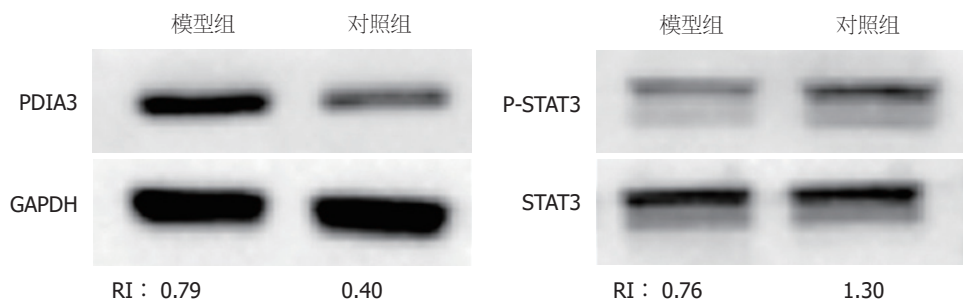


图 2 对照组、模型组小鼠肠系膜淋巴结树突状细胞中PDIA3、P-STAT3蛋白表达情况, 模型组小鼠MLNDC中PDIA3表达升高、P-STAT3表达减少. PDIA3: 蛋白质二硫键异构酶A3; GAPDH: 抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶; P-STAT3: 抗磷酸化-信号转导与转录激活因子3; STAT3: 信号转导与转录激活因子3.

况 如图4, 未加入BMDC的反应孔(BMDC: T = 0:1)初始T淋巴细胞几乎不出现增殖; 加入模型组MLNDC的MLR体系中, 初始T细胞的增殖细胞百分比高于对照组(control), 差异有统计学意义 $[(34.24\% \pm 2.95\%) vs (17.22\% \pm 3.47\%), t = 6.472, P = 0.003]$.

3 讨论

IBS的发病率逐年增高, 近来, 免疫失衡在IBS的发病过程中的作用引起了越来越多的关注, DC作为机体免疫系统的核心, 广泛分布于胃肠道中, 在免疫失衡引起的IBS内脏高敏感中发挥重要作用.

本课题组前期研究发现, IBS模型组MLNDC中MHC-II类分子表达增加, 同时激活T淋巴细胞的能力增强^[3]. 在此基础上, 本研究进一步探索IBS模型组MLNDC异常活化的可能机制.

STAT3是信号转导与转录激活因子家族中重要的成员. STAT3通路是一条由细胞因子激活、众多相关蛋

白调节的信号转导通路, 广泛参与细胞的增殖、分化、凋亡等多种重要的生物学功能. 通路被激活后, STAT3蛋白发生酪氨酸磷酸化, 随后发生二聚化, 二聚体P-STAT3进入细胞核, 结合对应的DNA结合序列, 发挥转录调控的作用. 大量研究表明, STAT3通路的激活, 对DC的活化有明确的抑制作用^[4]. 我们的研究发现, 模型组MLNDC细胞表面MHC-II分子表达增加; 在MLR体系中, 激活初始T细胞的能力增强; 同时其内部P-STAT3的表达减弱. 这提示MLNDC中STAT3通路的抑制, 或许是引起DC免疫异常, 并最终导致IBS内脏高敏感发生的一个可能因素.

PDIA3也被称为Erp57或GRP58, 是蛋白质二硫键异构酶家族的一员, 主要功能是通过催化内质网中蛋白质二硫键的形成, 促进合成后蛋白质的正确折叠. 同时作为STAT3的伴侣蛋白, PDIA3也可以调节STAT3通路的活化^[5-9].

本课题组前期研究发现IBS模型动物以及IBS患者

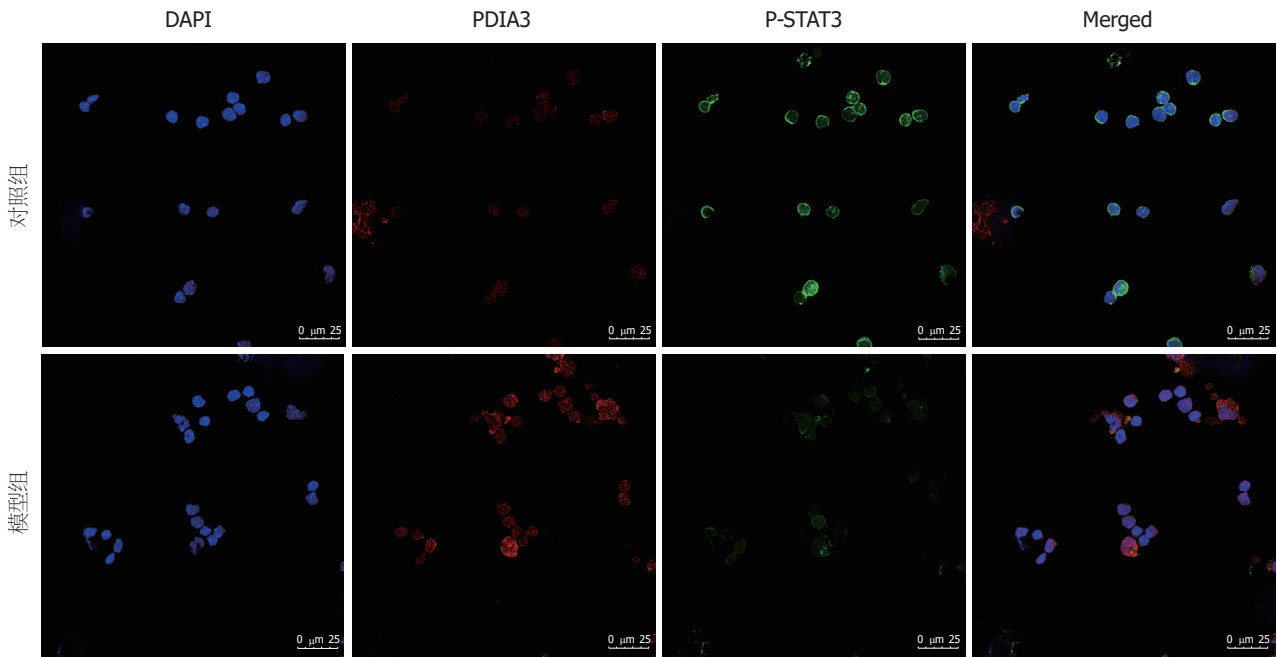


图 3 对照组、模型组小鼠肠系膜淋巴结树突状细胞中PDIA3、P-STAT3蛋白的表达与分布情况, PDIA3、P-STAT3主要分布于MLNDC细胞膜, 模型组P-STAT3对应的绿色荧光的MOD降低, PDIA3对应的红色荧光的MOD升高. DAPI: 4', 6-二脒基-2-苯基吡啶; PDIA3: 蛋白质二硫键异构酶A3; P-STAT3: 抗磷酸化-信号转导与转录激活因子3.

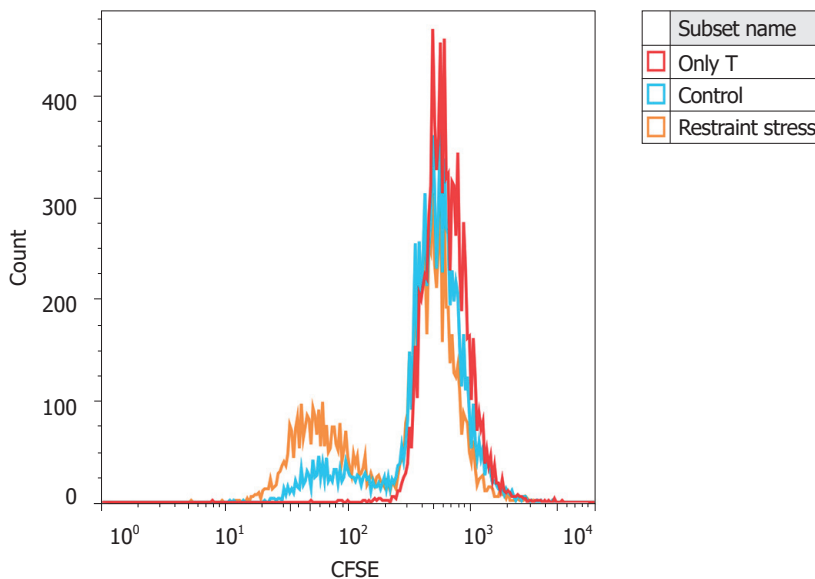


图 4 对照组、模型组小鼠肠系膜淋巴结树突状细胞在混合淋巴细胞反应中刺激初始T淋巴细胞增殖的能力比较, 模型组比对照组表现出更强的刺激能力. Only T: 初始T淋巴细胞; Control: 对照组; Restraint stress: 模型组.

肠系膜病理标本PDIA3表达增加^[10], 并且明确了PDIA3在DC介导的免疫异常所引起的IBS内脏高敏感中的作用^[16]. 在此基础上, 本研究试图探索PDIA3此种作用的发挥与STAT3通路之间的相关性. 我们发现, 模型组MLNDC中P-STAT3表达减弱的同时伴随着PDIA3的表达增高; 在激光共聚焦显微镜下, PDIA3、P-STAT3多分布于细胞膜上, 在空间上存在共定位的可能性, 且模型组PDIA3对应的红色荧光的MOD上升, 而P-STAT3对

应的绿色荧光MOD明显减少. 这一结果和Sehgal等^[7]的研究结果相似, Sehgal等^[7]认为, PDIA3和P-STAT3会共同存在于细胞膜的脂筏结构中, PDIA3的存在会抑制P-STAT3与DNA的结合. 这提示PDIA3作为IBS模型组与对照组的差异蛋白, 或许可以通过抑制STAT3通路, 引起DC免疫异常, 最终导致IBS内脏高敏感的发生.

关于PDIA3对于STAT3通路活化的调节, 现有研究结果尚不一致. Coe等^[6]的研究发现, 在小鼠的胚胎成

纤维干细胞中, PDIA3和STAT3蛋白主要在内质网中发挥相互作用, PDIA3基因的敲除会引起P-STAT3表达增加, 并且重新过表达的PDIA3必须带有内质网定位序列才能逆转这种情况, 提示内质网中的PDIA3才是引起STAT3通路抑制的关键分子. 另一方面, Kondo等^[9]和Chichiarelli等^[5]在M14黑色素瘤细胞以及HepG2肝癌细胞中发现两者的共定位发生于核内, PDIA3的敲低表达显著抑制STAT3通路的活化, 并且抑制了随后的STAT3通路依赖性的C反应蛋白的表达. 在我们的研究中, 小鼠MLNDC中PDIA3和P-STAT3大量共存于细胞膜上, 且PDIA3的表达增加伴随着P-STAT3的表达下降以及DC活性的异常增加.

本研究尚存在一定的局限性. 由于本研究为模型组与对照组的横断面比较研究, 所以并不能充分说明PDIA3高表达与STAT3通路的抑制之间的因果关系. 随后的研究可以从改变MLNDC中PDIA3的表达量, 然后观察STAT3通路的活化情况来入手.

综上, 本实验通过建立内脏高敏感小鼠模型, 对比模型组和对照组小鼠MLNDC的活性以及其PDIA3、P-STAT3蛋白的表达差异, 提示了IBS内脏高敏感小鼠MLNDC的异常免疫活化或许和PDIA3/STAT3有关, 为IBS内脏高敏感的发生机制提供了新的研究思路, 为进一步的治疗提供了一个潜在的靶点.

文章亮点

实验背景

蛋白质二硫键异构酶A3(protein disulfide isomerase A3, PDIA3)/信号转导与转录激活因子3(signal transduction and activator of transcription 3, STAT3)通路在肠系膜淋巴结树突状细胞(mesenteric lymph node dendritic cells, MLNDC)介导的肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)内脏高敏感发生发展中的作用还是一个未知数.

实验动机

探究PDIA3/STAT3通路在IBS内脏高敏感发生发展中的作用.

实验目标

比较模型组和对照组小鼠MLNDC的免疫活性及其PDIA3、P-STAT3的表达和分布情况.

实验方法

束缚应激建立IBS内脏高敏感小鼠模型, 磁珠分选获取MLNDC, 用MLR和细胞表面组织相容性复合体II(major histocompatibility complex II, MHC-II)的含量反

映树突状细胞(dendritic cells, DC)的免疫活性, WB比较组间PDIA3以及P-STAT3的表达差异, 免疫荧光比较两者分布差异.

实验结果

IBS模型组小鼠MLNDC免疫活性增强, PDIA3表达增加, 但是P-STAT3表达下降.

实验结论

PDIA3/STAT3通路或许在MLNDC介导的IBS内脏高敏感的发生发展中起到一定作用.

展望前景

PDIA3/STAT3通路和IBS内脏高敏感发生发展的相关性的确立, 可以为后续IBS内脏高敏感发生机制的研究提供思路, 为临床IBS内脏高敏感症状的治疗提供新的靶点.

4 参考文献

- Cashman MD, Martin DK, Dhillon S, Puli SR. Irritable Bowel Syndrome: A Clinical Review. *Curr Rheumatol Rev* 2016; 12: 13-26 [PMID: 26717952]
- 李蒙, 张璐, 吕宾, 孟立娜, 陈喆, 钼莉. 树突细胞异常免疫应答在大鼠内脏高敏感形成中的作用. *中华医学杂志* 2013; 93: 2904-2908 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2013.36.015]
- 李蒙, 胡玥, 王霄腾, 吕宾, 张梦, 陈超英. ERK1/2通路对内脏高敏感大鼠肠道树突细胞表面MHC-II分子表达的影响. *中华医学杂志* 2015; 95: 3930-3934 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2015.48.013]
- Barton BE. STAT3: a potential therapeutic target in dendritic cells for the induction of transplant tolerance. *Expert Opin Ther Targets* 2006; 10: 459-470 [PMID: 16706685 DOI: 10.1517/14728222.10.3.459]
- Chichiarelli S, Guacci E, Ferraro A, Grillo C, Altieri F, Cocchiola R, Arcangeli V, Turano C, Eufemi M. Role of ERp57 in the signaling and transcriptional activity of STAT3 in a melanoma cell line. *Arch Biochem Biophys* 2010; 494: 178-183 [PMID: 19995546 DOI: 10.1016/j.jabb.2009.12.004]
- Coe H, Jung J, Groenendyk J, Prins D, Michalak M. ERp57 modulates STAT3 signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 2010; 285: 6725-6738 [PMID: 20022947 DOI: 10.1074/jbc.M109.054015]
- Sehgal PB. Plasma membrane rafts and chaperones in cytokine/STAT signaling. *Acta Biochim Pol* 2003; 50: 583-594 [PMID: 14515141]
- Guo GG, Patel K, Kumar V, Shah M, Fried VA, Etlinger JD, Sehgal PB. Association of the chaperone glucose-regulated protein 58 (GRP58/ER-60/ERp57) with Stat3 in cytosol and plasma membrane complexes. *J Interferon Cytokine Res* 2002; 22: 555-563 [PMID: 12060494 DOI: 10.1089/10799900252982034]
- Kondo R, Ishino K, Wada R, Takata H, Peng WX, Kudo M, Kure S, Kaneya Y, Taniai N, Yoshida H, Naito Z. Downregulation of protein disulfide-isomerase A3 expression inhibits cell proliferation and induces apoptosis through STAT3 signaling in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2019; 54: 1409-1421 [PMID: 30720090 DOI: 10.3892/ijo.2019.4710]
- Ding Y, Lu B, Chen D, Meng L, Shen Y, Chen S. Proteomic analysis of colonic mucosa in a rat model of irritable bowel syndrome. *Proteomics* 2010; 10: 2620-2630 [PMID: 20461717 DOI: 10.1002/pmic.200900572]

- 11 Williams CL, Villar RG, Peterson JM, Burks TF. Stress-induced changes in intestinal transit in the rat: a model for irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 1988; 94: 611-621 [PMID: 2828144 DOI: 10.1016/0016-5085(88)90231-4]
- 12 Zheng PY, Feng BS, Oluwole C, Struiksma S, Chen X, Li P, Tang SG, Yang PC. Psychological stress induces eosinophils to produce corticotrophin releasing hormone in the intestine. *Gut* 2009; 58: 1473-1479 [PMID: 19651632 DOI: 10.1136/gut.2009.181701]
- 13 刘雁冰, 袁耀宗, 陶然君, 翟祖康, 陈红专. 大鼠肠道高敏感性模型的建立及其内脏敏感性评估. *中华消化杂志* 2003; 23: 34-37 [DOI: 10.3760/j.issn:0254-1432.2003.01.009]
- 14 Van den Broeck W, Derore A, Simoens P. Anatomy and nomenclature of murine lymph nodes: Descriptive study and nomenclatory standardization in BALB/cAnNCrl mice. *J Immunol Methods* 2006; 312: 12-19 [PMID: 16624319 DOI: 10.1016/j.jim.2006.01.022]
- 15 Burnette WN. "Western blotting": electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate--polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A. *Anal Biochem* 1981; 112: 195-203 [PMID: 6266278 DOI: 10.1016/0003-2697(81)90281-5]
- 16 Zhuang Z, Zhang L, Wang X, Tao L, Lv B. PDIA3 gene induces visceral hypersensitivity in rats with irritable bowel syndrome through the dendritic cell-mediated activation of T cells. *PeerJ* 2016; 4: e2644 [PMID: 27896022 DOI: 10.7717/peerj.2644]

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

前白蛋白/纤维蛋白原比值与胃癌临床病理特征的关系

张俊斌, 王浩浩, 王伟斌, 王海勇, 陆轶民, 俞雄飞, 滕理送

张俊斌, 王浩浩, 王伟斌, 王海勇, 陆轶民, 俞雄飞, 滕理送, 浙江大学医学院附属第一医院肿瘤外科 浙江省杭州市 310003

张俊斌, 住院医师, 主要从事胃癌的基础与临床研究.

作者贡献分布: 实验设计由滕理送与王浩浩完成; 数据获取由王海勇与陆轶民完成; 数据统计由张俊斌与俞雄飞完成; 论文撰写由张俊斌与王伟斌完成; 实验监督由王伟斌完成.

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划省部共建重点项目, No. 2017209495.

通讯作者: 滕理送, 教授, 主任医师, 310003, 浙江省杭州市庆春路79号, 浙江大学医学院附属第一医院肿瘤外科. lsteng@zju.edu.cn
电话: 0571-87236881

收稿日期: 2019-07-02

修回日期: 2019-08-23

接受日期: 2019-09-13

在线出版日期: 2019-09-28

Association of prealbumin/fibrinogen ratio with clinicopathologic characteristics of gastric cancer

Jun-Bin Zhang, Hao-Hao Wang, Wei-Bin Wang, Hai-Yong Wang, Yi-Min Lu, Xiong-Fei Yu, Li-Song Teng

Jun-Bin Zhang, Hao-Hao Wang, Wei-Bin Wang, Hai-Yong Wang, Yi-Min Lu, Xiong-Fei Yu, Li-Song Teng, Department of Surgical Oncology, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, Zhejiang Province, China

Supported by: the Provincial Co-Construction Key Projects of Medical Health Science and Technology Plan in Zhejiang Province, No. 2017209495.

Corresponding author: Li-Song Teng, Professor, Chief Surgeon, Department of Surgical Oncology, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, No. 79, Qingchun Road, Hangzhou 310003, Zhejiang Province, China. lsteng@zju.edu.cn

Received: 2019-07-02

Revised: 2019-08-23

Accepted: 2019-09-13

Published online: 2019-09-28

Abstract

BACKGROUND

Previous studies have shown that prealbumin (PA) and fibrinogen (Fib) can be used to predict the clinicopathological features and prognosis of a variety of malignant tumors. Therefore, we speculated that the prealbumin-to-fibrinogen ratio (PA/F) can predict the clinicopathological features of patients with gastric cancer (GC) and tumor progression preoperatively.

AIM

To explore the relationship between the PA/F ratio and clinicopathological features of patients with GC.

METHODS

The preoperative clinical and pathological data of 210 patients with GC admitted to the First Affiliated Hospital of Zhejiang University from January 2017 to March 2019 were retrospectively analyzed. The patients were divided into either a low PA/F group or high PA/F group. The differences in clinical data and pathological features were compared between the two groups, and the correlation between PA/F values and other prognosis-related immunonutrient indicators was also analyzed.

RESULTS

The PA/F ratio was significantly associated with age, tumor size, degree of differentiation, depth of invasion, lymph node metastasis, TNM stage, and neurovascular invasion ($P < 0.05$). The low PA/F value group showed greater age, larger tumor diameter, lower degree of differentiation, deeper infiltration, advanced TNM stage, and more frequent neurovascular invasion ($P < 0.05$). PA/F values were negatively correlated with multiple immune nutrition indicators, such as neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR), C-reactive protein-to-albumin ratio (CAR), and systemic immune-inflammation index (SII), but positively

correlated with prognostic nutritional index (PNI).

CONCLUSION

The PA/F ratio can be used as a predictor of preclinical clinicopathological features in patients with GC, and patients with a PA/F ratio ≤ 9.07 have a relatively poor prognosis. The PA/F value is associated with NLR, PLR, CAR, SII, and PNI.

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

Key Words: Prealbumin; Fibrinogen; Gastric cancer; Clinicopathologic characteristics

Zhang JB, Wang HH, Wang WB, Wang HY, Lu YM, Yu XF, Teng LS. Association of prealbumin/fibrinogen ratio with clinicopathologic characteristics of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1133-1141

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1133.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1133>

摘要

背景

既往研究表明前白蛋白(prealbumin, PA)与纤维蛋白原(fibrinogen, Fib)可用于判断多种恶性肿瘤的临床病理特征及预后。因此本研究推测前白蛋白/纤维蛋白原比值(prealbumin-to-fibrinogen, PA/F)可预测胃癌(gastric cancer, GC)患者临床病理特征, 术前辅助判断肿瘤进展程度。

目的

探讨术前PA与Fib比值PA/F和GC临床病理特征的关系。

方法

回顾性分析2017-01/2019-03浙江大学附属第一医院肿瘤外科收治的210例GC患者术前临床病理资料并分为低PA/F组和高PA/F组。比较两组临床资料及病理学特征的差异并分析PA/F值与其他预后相关免疫营养指标的相关性。

结果

PA/F值与年龄、肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移、TNM分期和神经血管侵犯相关($P<0.05$)。低PA/F值组表现出患者年龄更大、肿瘤最大径更大、分化程度更差、浸润深度更深、TNM分期更晚和更易神经血管侵犯($P<0.05$)。PA/F值与中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)、血小板与淋巴细胞比值(platelet-to-lymphocyte ratio, PLR)、C反应蛋白与白蛋白比值(C-reactive protein-to-albumin ratio, CAR)和系统性免疫炎症指数(systemic immune-inflammation index, SII)呈负相关性,

与预后营养指数(prognostic nutritional index, PNI)呈正相关性。

结论

PA/F值可作为GC患者术前临床病理特征的判断指标, 其值 ≤ 9.07 提示肿瘤处于进展期, TNM分期相对较差, PA/F值与NLR、PLR、CAR、SII和PNI多种GC预后指数具有相关性。

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

关键词: 前白蛋白; 纤维蛋白原; 胃癌; 临床病理特征

核心提要: 分析胃癌患者外周血前白蛋白与纤维蛋白原比值(prealbumin-to-fibrinogen ratio, PA/F)与临床病理特征的关系, 结果表明PA/F值与肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移和TNM分期等相关, 并且与其他多种免疫预后指标呈负相关性。

张俊斌, 王浩浩, 王伟斌, 王海勇, 陆轶民, 俞雄飞, 滕理送. 前白蛋白/纤维蛋白原比值与胃癌临床病理特征的关系. *世界华人消化杂志* 2019; 27(18): 1133-1141

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1133.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1133>

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是我国常见的消化系统恶性肿瘤, 每年全球GC新增病例中约41%发生在中国, 据最新中国恶性肿瘤流行情况分析表明, GC目前已成为我国发病率第二和死亡率第三的恶性肿瘤^[1]。随着外科的发展及肿瘤化疗、放疗、靶向治疗等多学科诊疗技术的进步、早诊早治率的提高, GC的临床预后较之前已有明显改善。但目前GC患者的分期仍主要依赖于术后病理, 亟需发展一套可术前评估GC患者肿瘤进展程度的体系, 从而指导多学科治疗方案的制定。

恶性肿瘤的发生发展及侵袭转移程度不仅与肿瘤细胞本身特性有关, 而且还受到机体对肿瘤反应的影响, 这其中就包括了宿主本身的营养状况。血清前白蛋白(prealbumin, PA)是由肝脏合成的、能较敏感反映机体蛋白更新程度的一种蛋白质, 能够比白蛋白更好的反应机体的营养状况^[2]。之前研究报道了PA在判断结直肠癌、肝内胆管细胞癌、食管癌、GC等消化系统恶性肿瘤诊断和预后方面具有重要作用^[3-6]。

研究发现肿瘤患者常表现出一项或多项凝血功能指标的异常, 其中也包括血浆纤维蛋白原。纤维蛋白原(fibrinogen, Fib)是由肝脏产生的一类糖蛋白, 在临床上尤其是外科术前常规检测的凝血指标。Fib参与了恶性

肿瘤的发生发展和侵袭转移. 在GC中, 血浆Fib水平与GC进展程度及预后不佳呈正相关^[7].

基于以上研究发现, 我们推测由PA和Fib组合构建的PA与Fib比值(prealbumin-to-fibrinogen ratio, PA/F)能够较好的预测GC患者临床病理特征.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性统计分析2017-01/2019-03浙江大学附属第一医院收治的210例GC患者临床及病理资料, 术后病理分期以美国国立综合癌症网络发表的GC第2018. 2版指南为依据, 术后病理诊断胃腺癌, 根据术后病理确定肿瘤分化程度, 分为高分化组、中分化组、低分化组(未分化癌、粘液腺癌、印戒细胞癌、肝样腺癌).

210例接受手术治疗的GC患者平均年龄为61.2岁±0.71岁, 其中≤60岁者共94例, 占44.8%; >60岁者共116例, 占55.2%. 男性共143例, 占68.1%; 女性共67例, 占31.9%. 根据肿瘤中心所在的部位分类, 绝大部分GC位于远端胃, 高位、中位、低位肿瘤的比例分别为11.4%(24例)、29.5%(62例)和59.1%(124例). 48.6%(102例)的GC最大径≤3 cm, 51.4%(108例)的GC最大径>3 cm. 仅16.7%(35例)的GC病人伴有血清癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)水平增高. 大部分(78.1%, 164例)GC患者的术后病理组织学类型为低分化腺癌, 而高分化和中分化腺癌分别占5.7%(12例)和16.2%(34例). GC累犯神经和脉管的比例基本相同, 分别为24.3%(51例)和23.8%(50例). 根据第八版GC TNM分期, I、II、III、IV期GC患者分别占GC手术患者总数的36.7%(77例)、28.1%(59例)、30.9%(65例)和4.3%(9例). 所有患者中53.8%(113例)的GC病人伴有淋巴结转移(N>0), 4.3%(9例)的GC病人伴有远处转移(M=1)(表1).

1.2 方法

1.2.1 纳入与排除标准: 纳入标准: (1)患者术前经胃镜活检及术后行病理常规检测证实为胃腺癌的手术病人; (2)血液学标本在手术前1 wk内获得. 排除标准: (1)术前进行过放疗或者化疗的患者; (2)合并同时或异时的其他恶性肿瘤的患者; (3)伴随其他可能影响血常规及肝肾功能疾病, 比如自身免疫性疾病、感染性疾病及肝炎肝硬化等; (4)术前出现过严重消化道梗阻、穿孔或大出血等并发症的患者; (5)术前影像学检查已发现肝、肺等远处转移的患者; (6)临床及病理资料缺失或随访失访的患者.

1.2.2 数据计算方式: 术前一周进行血常规、凝血功能及生化检查, 根据结果计算PA/F值、中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)、血小板与淋巴细胞比值(platelet-to-lymphocyte ratio, PLR)、C反

应蛋白与白蛋白比值(C-reactive protein-to-albumin ratio, CAR)、预后营养指数(prognostic nutritional index, PNI), $PNI = \text{血清白蛋白值}(\text{g/L}) + 5 \times \text{外周淋巴细胞总数}(\times 10^9/\text{L})$ 、系统性免疫炎症指数(systemic immune-inflammation index, SII), $SII = \text{外周血小板总数}(\times 10^9/\text{L}) / \text{外周中性粒细胞总数}(\times 10^9/\text{L}) / \text{外周淋巴细胞总数}(\times 10^9/\text{L})$. 与之前研究报道相似^[8], 我们选取PA/F值平均值为截断值, 对全部210例GC患者进行统计分析, 得出PA/F值的均值为9.07, 将PA/F值≥9.07定义为高PA/F值组, 将PA/F值<9.07定义为低PA/F值组. 各比值之间关系(图1).

统计学处理 采用SPSS 16.0统计学软件进行数据的统计分析. 符合正态分布的计量资料以mean±SD表示, 两组之间的均数比较采用独立样本t检验, 多组均数比较采用单因素方差分析; 不符合正态分布的计量资料以中位数和四分位数[M(P25, P75)]表示, 比较采用秩和检验. 计数资料以例数和百分数表示, 计数资料比较采用 χ^2 检验或者Fisher确切概率法分析. 通过计算PA/F值绘制PA/F受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线并测定PA/F值敏感性和特异性. $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 PA/F与各临床病理特征关系 进一步分析显示, 术前PA/F值与年龄、肿瘤部位及术前肿瘤标志物CEA水平无密切关系($P > 0.05$). 但在年龄大于60岁的老年GC患者中PA/F值更低($t = 2.956, P = 0.004$). 此外, PA/F值与肿瘤大小及分化程度密切相关, 肿瘤最大径>3 cm的GC患者PA/F值更低($t = 4.271, P < 0.001$); 低分化GC患者的PA/F值明显低于高分化GC患者, 但高分化GC患者与中分化GC患者, 中分化GC与低分化GC患者PA/F值无统计学差异($F = 2.056, P = 0.003$; 组间比较 $P_{\text{高分化-低分化}} = 0.006$). 肿瘤浸润程度越重, PA/F值越低($F = 19.56, P < 0.001$; 组间比较 $P_{1-3} < 0.001, P_{1-4} < 0.001, P_{2-3} = 0.001, P_{2-4} = 0.003$). 有淋巴结转移组PA/F值明显低于无淋巴结转移组GC患者($F = 8.019, P < 0.001$; 组间比较 $P_{0-3} < 0.001$). 在肿瘤侵犯神经脉管的GC患者中, 其PA/F值低于未侵犯GC患者($t_{\text{神经}} = 2.72, P = 0.007; t_{\text{脉管}} = 3.484, P < 0.001$). 临床TNM分期越晚, PA/F值越低, 呈逐步降低趋势($F = 16.19, P < 0.001$; 组间比较 $P_{1-2} = 0.001, P_{1-3} < 0.001, P_{1-4} < 0.001, P_{2-4} = 0.039$)(表1).

2.2 高PA/F值组和低PA/F值组临床病理特征比较 经计数得出PA/F值的均值为9.07±0.24, 因此, 我们根据此值将GC患者分为高PA/F值组和低PA/F值组. 结果显示, 高PA/F值组共有患者100例, 其中男性69例(69%), 女性31例(31%); 年龄≤60岁者共53例(53%), 年龄>60岁者共47例(47%). 低PA/F值组共有患者110例, 其中男性74例

表 1 210例胃癌患者术前PA/F值与临床病理特征

因素	例数	PA/F值	t值/F值	P值
性别			1.336	0.183
男	143	9.288 ± 0.302		
女	67	8.598 ± 0.387		
年龄(岁)			2.956	0.004
≤60	94	9.842 ± 0.358		
>60	116	8.439 ± 0.314		
肿瘤部位			1.368	0.257
高位	24	7.978 ± 0.643		
中位	62	9.295 ± 0.429		
低位	124	9.171 ± 0.322		
肿瘤大小(cm)			4.271	<0.001
≤3	102	10.09 ± 0.321		
>3	108	8.115 ± 0.332		
分化程度			6.02	0.003
高分化	12	11.85 ± 0.606		
中分化	34	9.897 ± 0.691		
低分化	164	8.693 ± 0.261		
脉管浸润			3.484	<0.001
有	50	7.614 ± 0.511		
无	160	9.528 ± 0.263		
神经侵犯			2.72	0.007
有	51	7.921 ± 0.411		
无	159	9.432 ± 0.283		
浸润深度			19.56	<0.001
TIS, T1	68	11.04 ± 0.371		
T2	31	10.15 ± 0.618		
T3	87	7.647 ± 0.317		
T4	24	7.169 ± 0.658		
淋巴结转移			8.019	<0.001
N0	97	10.11 ± 0.336		
N1	35	9.119 ± 0.614		
N2	34	8.430 ± 0.593		
N3	44	7.250 ± 0.440		
远处转移			3.047	0.003
M0	201	9.223 ± 0.244		
M1	9	5.682 ± 0.722		
TNM分期			16.19	<0.001
0-I期	77	10.88 ± 0.365		
II期	59	8.717 ± 0.444		
III期	65	7.713 ± 0.369		
IV期	9	5.682 ± 0.722		
CEA水平			0.116	0.908
≤5	175	9.083 ± 0.263		
>5	35	9.010 ± 0.597		

PA/F值: 前白蛋白/纤维蛋白原比值; CEA: 癌胚抗原.

(67%), 女性36例(33%); 年龄≤60岁者共41例(37.3%), 年龄>60岁者共69例(63.7%). 此外, 低PA/F值组与高PA/F值组相比, 有更大的肿瘤最大径($\chi^2 = 18.19, P < 0.001$)、

更深的浸润深度($\chi^2 = 24.08, P < 0.001$)、更多的淋巴结转移($\chi^2 = 16.85, P < 0.001$)、更多神经脉管侵犯($\chi^2 = 4.1, P_{神经} = 0.04$ 和 $\chi^2 = 8.17, P_{脉管} = 0.004$)、分化程度更差($\chi^2 = 11, P$

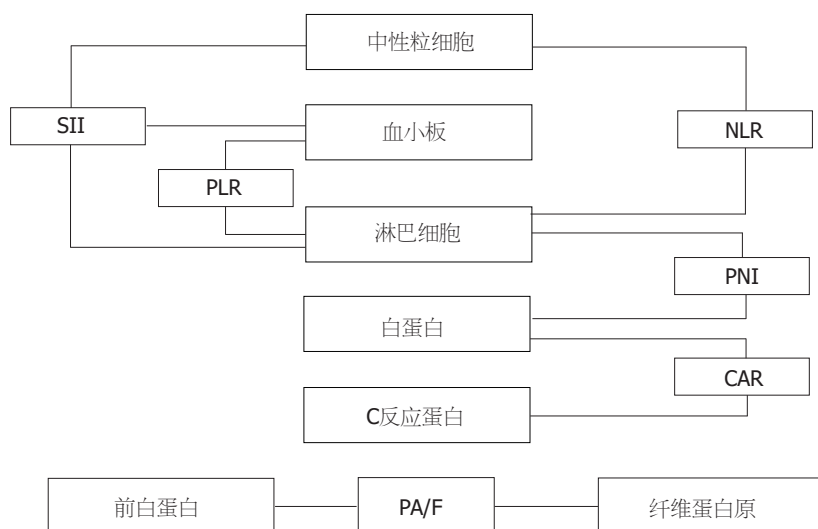


图1 各免疫营养预测指标关系. PA/F: 前白蛋白/纤维蛋白原比值; NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值; PLR: 血小板/淋巴细胞比值; CAR: C反应蛋白/白蛋白比值; PNI: 预后营养指数; SII: 系统性免疫炎症指数.

= 0.004)和较晚的TNM分期($\chi^2 = 36.18, P < 0.001$); 而两组患者性别、肿瘤部位和术前CEA水平的差异均无统计学差异($P > 0.05$)(表2).

进一步分析淋巴结转移率看到, 低PA/F值组的淋巴结转移率(67.3%)明显高于高PA/F值组(39%)($\chi^2 = 21.28, P < 0.001$). 对GC患者的T1/T2期和T3/T4期进行ROC曲线统计分析, 取所有患者PA/F值的平均数9.07作为分界值, 其敏感度为72.9%, 特异度为58.5%, ROC曲线下面积(area under the curve, AUC)值为0.71; 而在判断淋巴结是否转移上, 其敏感度为65.5%, 特异度为62.5%, AUC值为0.67(表3).

2.3 PA/F值与各免疫营养指标相关性 此外, 本研究进一步统计分析PA/F值与其他免疫营养指标的相关性, 发现早期GC的NLR、PLR、CAR和SII明显小于进展期GC, PNI明显大于进展期GC($P < 0.05$)(表4). 经过Pearson相关性分析显示, PA/F值与NLR($r = -0.247, P = 0.001$)、PLR($r = -0.245, P = 0.001$)、CAR($r = -0.517, P < 0.001$)和SII($r = -0.313, P < 0.001$)呈负相关, 与PNI($r = -0.449, P < 0.001$)呈正相关; 其中PA/F值与CAR的相关性最高(图2).

3 讨论

据统计2015年我国GC总发病例数约67.9万, 总死亡例数约49.8万, 总体预后仍然较差^[9]. 虽然对GC的诊断及治疗方法众多, 然而, 由于其症状缺乏特异性和晚期GC患者治疗的有限性, 较难在初诊时对GC进展程度进行快速有效评估. 目前TNM分期仍是判断GC患者预后的主要指标, 但由于其依赖于术后病理, 具有一定的局限性. 因此, 研究GC发生发展及转移相关的预测指标对评估患者病情从而制定治疗方案具有重要意义.

既往研究表明, 肿瘤患者的营养状况与患者的年龄、疾病进展程度和预后相关. PA与白蛋白功能相似, 但半衰期更短, 能够较敏感的评估机体营养状况和免疫功能, 而这与肿瘤的复发和预后密切相关^[10]. 前白蛋白降低会增加GC患者术后并发症的发生率, 包括组织修复功能下降、吻合口瘘、营养支持获益差等. 而且还会促进全身炎症反应, 从而引发促进肿瘤的发展, 导致患者预后较差. 改善患者的营养状况可缩短住院时间、降低术后并发症的发生率, 从而影响患者预后. 纤维蛋白原又称为凝血因子I, 是由肝脏产生的血液中含量最高的凝血因子, 在手术、感染、炎症、外伤及肿瘤等多种病理生理情况下均出现不同程度的升高^[11]. 在恶性肿瘤中往往伴随一项或多项凝血功能的异常, 凝血系统的激活及凝血相关分子的释放在肿瘤进展过程中发挥了重要作用^[12], 其中便包括纤维蛋白原含量的改变. 研究表明, 大约50%未转移和90%已转移的肿瘤患者存在一定的凝血功能异常^[13], 而无明显诱因情况出现血栓性疾病的患者可能存在隐匿性恶性肿瘤^[14]. 越来越多的研究发现Fib与恶性肿瘤之间存在密切关系, 其与多种肿瘤的进展、化疗反应不佳及临床预后不良相关^[15,16]. 其机制可能是纤维蛋白原可在肿瘤细胞外基质中起到骨架作用, 从而促进肿瘤血管的生成, 增强肿瘤细胞的粘附、迁移和侵袭^[17].

综上所述, 我们推测以前白蛋白和纤维蛋白原为基础的指标PA/F值可预测GC患者的临床病理特征. 但对于PA/F值与GC患者TNM分期及预后的关系及其内在机制目前仍不清楚, 仍需进一步基础机制研究加以论证. 本研究回顾性分析了GC患者术前的PA/F值与临床病理特征的关系, 并首次报道了肿瘤直径越大、分化程

表 2 PA/F值分组后210例胃癌患者临床病理特征

因素	低PA/F组(n = 110)	高PA/F组(n = 100)	χ^2 值	P值
性别			0.072	0.789
男	74 (67.27%)	69 (69.00%)		
女	36 (32.73%)	31 (31.00%)		
年龄(岁)			5.24	0.022
≤60	41 (37.27%)	53 (53.00%)		
>60	69 (62.73%)	47 (47.00%)		
肿瘤部位			2.745	0.254
高位	16 (14.55%)	8 (8.00%)		
中位	29 (26.36%)	33 (33.00%)		
低位	65 (59.09%)	59 (59.00%)		
肿瘤大小(cm)			18.19	<0.001
≤3	38 (34.55%)	64 (64.00%)		
>3	72 (65.45%)	36 (36.00%)		
分化程度			11	0.004
高分化	1 (0.90%)	11 (11.00%)		
中分化	16 (14.55%)	18 (18.00%)		
低分化	93 (84.55%)	71 (71.00%)		
脉管浸润			8.167	0.004
有	35 (31.82%)	15 (15.00%)		
无	75 (68.18%)	85 (85.00%)		
神经侵犯			4.102	0.043
有	33 (30.00%)	18 (18.00%)		
无	77 (70.00%)	82 (82.00%)		
浸润深度			24.08	<0.001
早期(TIS, T1)	19 (17.27%)	49 (49.00%)		
进展期(T2-T4)	91 (82.73%)	51 (51.00%)		
淋巴结转移			16.85	<0.001
无(N0)	36 (32.73%)	61 (61.00%)		
有(N1、N2、N3)	74 (67.27%)	39 (39.00%)		
远处转移			8.548	0.004
M0	101 (91.82%)	100 (100.00%)		
M1	9 (8.18%)	0 (0.00%)		
TNM分期			36.18	<0.001
0-I期	21 (19.09%)	56 (56.00%)		
II期	35 (31.82%)	24 (24.00%)		
III期	45 (40.91%)	20 (20.00%)		
IV期	9 (8.18%)	0 (0.00%)		
CEA水平			0.061	0.805
≤5	91 (82.73%)	84 (84.00%)		
>5	19 (17.27%)	16 (16.00%)		

PA/F值: 前白蛋白/纤维蛋白原比值; CEA: 癌胚抗原.

度越差、浸润深度越深、淋巴结转移率越高、TNM分期越晚的GC患者往往伴随较低的PA/F值, 此类患者也更易伴发神经脉管侵犯. 以上都提示了低PA/F值GC患者术后复发率更高、预后更差, 需要较强的术后化疗方案及更频繁的随访周期. 同样临床上可以看到, 肿瘤越大、浸润深度越深、淋巴结转移数目越多的GC患者往

往更容易出现营养消耗、恶病质、体内凝血系统的激活等情况, 这也反应了肿瘤引发的患者免疫、营养状态的下降, 从而引起PA/F值降低.

过去几十年中, 大量的研究发现由血常规结果得出的炎症指数, 比如NLR、PLR和SII可用于判断恶性肿瘤的疾病进展程度和预后^[18]. 与之前研究报道一致, 我

表 3 PA/F值分组后淋巴结转移率

组别	例数	N0	N1	N2	N3	转移率
低PA/F值组	110	36	18	23	33	67.27%
高PA/F值组	100	61	17	11	11	39.00%
合计	210	97	35	34	44	53.81%

PA/F值: 前白蛋白/纤维蛋白原比值.

表 4 不同TNM分期术前NLR、PLR、CAR、PNI和SII参数

变量	0-I期(<i>n</i> = 77)	II-IV期(<i>n</i> = 133)	<i>P</i> 值
NLR	1.865 (1.915-2.423)	2.55 (2.481-2.896)	<0.001
PLR	125.6 (126.3-150.7)	156.3 (155.0-181.9)	0.002
CAR	0.009 (0.013-0.041)	0.029 (0.063-0.128)	<0.001
PNI	54.83 ± 0.533	52.21 ± 0.439	<0.001
SII	414.4 (396.5-511.6)	617.4 (605.8-734.9)	<0.001

NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值; PLR: 血小板/淋巴细胞比值; CAR: C反应蛋白/白蛋白比值; PNI: 预后营养指数; SII: 系统性免疫炎症指数.

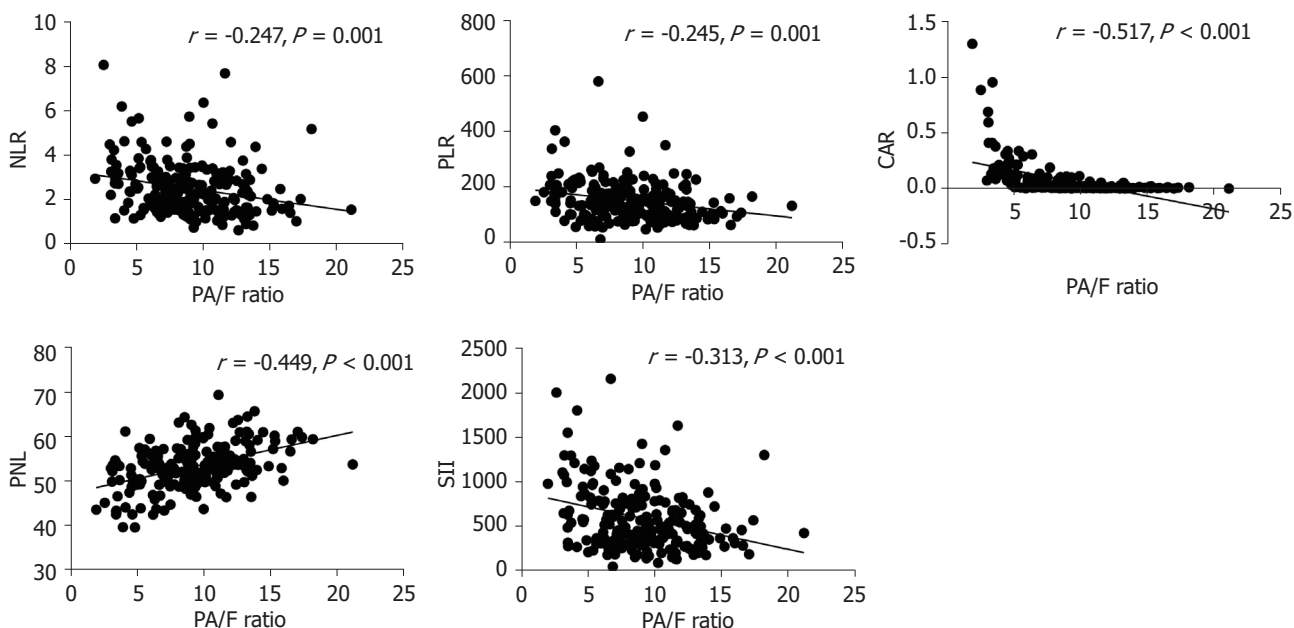


图 2 PA/F值与NLR、PLR、CAR、PNI和SII的相关性. PA/F值: 前白蛋白/纤维蛋白原比值; NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值; PLR: 血小板/淋巴细胞比值; CAR: C反应蛋白/白蛋白比值; PNI: 预后营养指数; SII: 系统性免疫炎症指数.

们同样发现, NLR、PLR、CAR及SII随着TNM分期的进展, 呈上升趋势, 而PNI呈下降趋势, 差异具有统计学意义. 进一步分析发现PA/F值与呈PNI正相关, 与NLR、PLR、CAR及SII呈负相关.

但本研究仍有不足之处, 首先, 本研究术后单中心回顾性研究, 存在选择偏倚, 后期仍需多中心、大样本、前瞻性研究加以证实; 其次, 由于大多医院尚未将前白蛋白列为术前常规检测项目, 浙江大学医学院附属

第一医院近两年才开始对恶性肿瘤病人进行术前检测前白蛋白等营养指标, 因此缺乏随访及预后数据.

综上所述, 低PA/F值组GC患者的肿瘤较大、分化程度更差、浸润深度更深、淋巴结转移更多、更容易侵犯神经脉管, 从而表现出TNM分期更晚, 提示此类患者预后较差, 需加强随访. PA/F值可作为术前评估GC患者TNM分期的重要工具, 据此判断患者术后并发症的发生和预后, 指导临床医生制定更好的治疗方案.

文章亮点

实验背景

胃癌(gastric cancer, GC)是我国常见的消化道恶性肿瘤之一, 具有较高的发病率和死亡率. 因此, 术前对GC患者疾病状态的判断并选择合理的治疗方案有助于改善患者生存时间, 具有重要的临床意义. 既往研究表明前白蛋白(prealbumin, PA)和纤维蛋白原(fibrinogen, Fib)对包括GC在内的多种恶性肿瘤的进展和预后具有判断作用. 然而, 我国尚无PA与Fib比值(prealbumin-to-fibrinogen, PA/F)在GC患者中作用的报道. 本研究旨在探讨PA/F值对GC患者临床病理特征判断作用, 并分析其与多种免疫预后指标的关系.

实验动机

本研究旨在研究PA/F值对GC临床病理特征的预测判断价值, 并进一步探讨其与多种免疫预后指标的相关性, 以期为临床提供更多术前决策手段, 从而提高GC患者的术后生存时间.

实验目标

本研究分析了术前PA/F值与GC各临床病理特征的关系, 进一步比较了PA/F值与多种免疫预后指标的相关性.

实验方法

本研究采用回顾性分析的研究方法, 记录其术前实验室检查数据并计算相应预测指标, 得出PA/F值的平均值为9.07, 根据此将所有GC患者分为高PA/F值组 and 低PA/F值组. 比较两组GC患者临床病理特征差异及分析PA/F值与其他免疫预后指标的相关性.

实验结果

随着GC进展程度的增加, PA/F值逐渐降低. 低PA/F组患者的肿瘤最大径更大、浸润深度更深、淋巴结转移更多、神经管侵犯更多、分化程度更差和TNM分期更晚. 低PA/F值组的淋巴结转移率(67.3%)明显高于高PA/F值组(39%). PA/F值与中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)、血小板与淋巴细胞比值、C反应蛋白与白蛋白比值(C-reactive protein-to-albumin ratio, CAR)和系统性免疫炎症指数呈负相关性, 与预后营养指数呈正相关性, 其中PA/F值与CAR的相关性最大($r = -0.517$).

实验结论

PA/F值与GC患者的临床病理特征密切相关, 低PA/F值患者表现出肿瘤明显进展, 并且PA/F值与NLR等多种免

疫预后指标相关.

展望前景

本研究对PA/F值与GC患者的临床病理特征进行分析研究, 但仍需长期随访明确其在预后判断中的作用, 依据后续依靠大样本多中心随机对照实验予以验证其对GC进展判断的有效性.

4 参考文献

- Zhu Z. [2017 hotspots review and outlook on gastric cancer surgery in China]. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi* 2018; 21: 7-14 [PMID: 29354892]
- Lu J, Xu BB, Zheng ZF, Xie JW, Wang JB, Lin JX, Chen QY, Cao LL, Lin M, Tu RH, Huang ZN, Zheng CH, Huang CM, Li P. CRP/prealbumin, a novel inflammatory index for predicting recurrence after radical resection in gastric cancer patients: post hoc analysis of a randomized phase III trial. *Gastric Cancer* 2019; 22: 536-545 [PMID: 30377862 DOI: 10.1007/s10120-018-0892-0]
- Zhou H, Jiang X, Li Q, Hu J, Zhong Z, Wang H, Wang H, Yang B, Hu H. A simple and effective prognostic staging system based on clinicopathologic features of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Am J Cancer Res* 2015; 5: 1831-1843 [PMID: 26175951]
- Han WX, Chen ZM, Wei ZJ, Xu AM. Preoperative prealbumin predicts prognosis of patients after gastrectomy for adenocarcinoma of esophagogastric junction. *World J Surg Oncol* 2016; 14: 279 [PMID: 27809860 DOI: 10.1186/s12957-016-1035-x]
- Chiang JM, Chang CJ, Jiang SF, Yeh CY, You JF, Hsieh PS, Huang HY. Pre-operative serum albumin level substantially predicts post-operative morbidity and mortality among patients with colorectal cancer who undergo elective colectomy. *Eur J Cancer Care (Engl)* 2017; 26 [PMID: 26526411 DOI: 10.1111/ecc.12403]
- Shen Q, Liu W, Quan H, Pan S, Li S, Zhou T, Ouyang Y, Xiao H. Prealbumin and lymphocyte-based prognostic score, a new tool for predicting long-term survival after curative resection of stage II/III gastric cancer. *Br J Nutr* 2018; 120: 1359-1369 [PMID: 30370885 DOI: 10.1017/S0007114518002854]
- Song S, Cong X, Li F, Xue Y. The Fibrinogen to Mean Platelet Volume Ratio Can Predict Overall Survival of Patients with Non-Metastatic Gastric Cancer. *J Gastric Cancer* 2018; 18: 368-378 [PMID: 30607300 DOI: 10.5230/jgc.2018.18.e36]
- Li S, Xu X, Liang D, Tian G, Song S, He Y. [Prognostic value of blood neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) in patients with gastric cancer]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2014; 36: 910-915 [PMID: 25623765]
- Ni XC, Xu J, Yi Y, Fu YP, Cai XY, Liu G, Huang JL, Gan W, Qiu SJ. Inflammation-nutrition score predicts prognosis of patients with resectable hepatocellular carcinoma. *Int J Clin Oncol* 2019; 24: 825-835 [PMID: 31020447 DOI: 10.1007/s10147-019-01402-4]
- Jia RR, Zhong JH, Huo RR, Su QB, Xiang X, Zhao FL, Qin ZB, Chen JH, Liao YY, Ma L, Xiang BD, Zhang CY, Li LQ. Correlation between serum prealbumin and prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *J Surg Oncol* 2019; 119: 794-800 [PMID: 30648280 DOI: 10.1002/jso.25378]
- Tilley RE, Holscher T, Belani R, Niewa J, Mackman N. Tissue factor activity is increased in a combined platelet and microparticle sample from cancer patients. *Thromb Res* 2008; 122: 604-609 [PMID: 18262600 DOI: 10.1016/j.thromres.2007.12.023]
- Marco P, Marco A. [Biomolecular markers in cancer-associated thromboembolism]. *Med Clin (Barc)* 2015; 144 Suppl 1: 21-25

- [PMID: 25771088 DOI: 10.1016/S0025-7753(15)30014-2]
- 13 Zhang D, Zhou X, Bao W, Chen Y, Cheng L, Qiu G, Sheng L, Ji Y, Du X. Plasma fibrinogen levels are correlated with postoperative distant metastasis and prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 2015; 6: 38410-38420 [PMID: 26334098 DOI: 10.18632/oncotarget.4800]
- 14 Tang L, Liu K, Wang J, Wang C, Zhao P, Liu J. High preoperative plasma fibrinogen levels are associated with distant metastases and impaired prognosis after curative resection in patients with colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2010; 102: 428-432 [PMID: 20672316 DOI: 10.1002/jso.21668]
- 15 Fan N, Chen D, Zheng J, Wen Z, Lin P. A novel preoperative plasma indicator to predict prognoses for patients with esophageal squamous cell carcinoma after radical esophagectomy: fibrinogen-to-lymphocyte ratio. *Cancer Manag Res* 2019; 11: 4719-4728 [PMID: 31213896 DOI: 10.2147/CMAR.S204938]
- 16 Xu H, Ai JZ, Tan P, Lin TH, Jin X, Gong LN, Lei HR, Yang L, Wei Q. Pretreatment elevated fibrinogen level predicts worse oncologic outcomes in upper tract urothelial carcinoma. *Asian J Androl* 2019 [PMID: 31169138 DOI: 10.4103/aja.aja_38_19]
- 17 Zhang Y, Xiao G. Prognostic significance of the ratio of fibrinogen and albumin in human malignancies: a meta-analysis. *Cancer Manag Res* 2019; 11: 3381-3393 [PMID: 31114374 DOI: 10.2147/CMAR.S198419]
- 18 Kumarasamy C, Sabarimurugan S, Madurantakam RM, Lakhotiya K, Samiappan S, Baxi S, Nachimuthu R, Gothandam KM, Jayaraj R. Prognostic significance of blood inflammatory biomarkers NLR, PLR, and LMR in cancer-A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2019; 98: e14834 [PMID: 31192906 DOI: 10.1097/MD.00000000000014834]

编辑: 王禹乔 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, 须经得《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。

基于高通量测序技术的藏族肝硬化患者肠道菌群多样性研究

宦徽, 胡红, 陈小红, 高薇娜, 李玲丽, 李骥, 邓凯, 刘超

宦徽, 胡红, 陈小红, 高薇娜, 李玲丽, 李骥, 刘超, 四川大学华西医院成成分院消化内科 四川省成都市 610041

邓凯, 四川大学华西医院消化内科 四川省成都市 610041

宦徽, 主治医师, 主要从事消化病学研究方向.

基金项目: 西藏自治区自然科学基金, No. XZ2017ZRG-91.

作者贡献分布: 此文由胡红与邓凯协助设计指导; 由陈小红、高薇娜、李玲丽及李骥协助临床支持; 由刘超指导临床及课题设计; 由宦徽全面实施、数据分析及论文写作.

通讯作者: 刘超, 副主任医师, 610041, 四川省成都市武侯区洗面桥横街20号, 四川大学华西医院成成分院消化内科. liuchao-delta@126.com
电话: 028-85599051

收稿日期: 2019-07-24

修回日期: 2019-08-15

接受日期: 2019-09-13

在线出版日期: 2019-09-28

Diversity of intestinal microflora in tibetan patients with liver cirrhosis based on high-throughput sequencing

Hui Huan, Hong Hu, Xiao-Hong Chen, Wei-Na Gao, Ling-Li Li, Ji Li, Kai Deng, Chao Liu

Hui Huan, Hong Hu, Xiao-Hong Chen, Wei-Na Gao, Ling-Li Li, Ji Li, Chao Liu, Department of Gastroenterology, Hospital of Chengdu Office of People's Government of Tibetan Autonomous Region, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Kai Deng, Department of Gastroenterology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: Tibet Autonomous Region Natural Foundation, No. XZ2017ZRG-91.

Corresponding author: Chao Liu, Deputy Chief Physician, Department of Gastroenterology, Hospital of Chengdu Office of

People's Government of Tibetan Autonomous Region, No. 20, Ximianqiao Hengjie, Wuhou District, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. liuchao-delta@126.com

Received: 2019-07-24

Revised: 2019-08-15

Accepted: 2019-09-13

Published online: 2019-09-28

Abstract BACKGROUND

A large number of studies have confirmed that intestinal flora imbalance exists in patients with liver cirrhosis, which provides new clues and ideas for clinical prevention and treatment of liver cirrhosis and its complications. The living environment and dietary habits of Tibetan people are different from those of Han people, so the structure and diversity of intestinal flora in Tibetan patients with liver cirrhosis may also be different.

AIM

To explore the structure, abundance, and diversity of intestinal flora in Tibetan patients with cirrhosis, and to compare the differences and characteristics of intestinal flora between Tibetan and Han patients with cirrhosis.

METHODS

Sixteen Chinese Han patients with liver cirrhosis (control group) and 20 Tibetans with liver cirrhosis (experimental group) were enrolled from October 2017 to October 2018. Basic information, routine blood examination, biochemical information, coagulation function, and imaging information of the patients were detected and collected. DNA was extracted from fecal samples and the V4 variable region of 16S rDNA was amplified. The amplification products were sequenced using the Illumina Miseq platform, and the sequencing results

were subject to cluster analysis of OTUs (operational taxonomic units), species annotation, and alpha diversity analysis.

RESULTS

A total of 15006 and 36872 valid tags were obtained in the control and experimental groups, respectively. Chao1 index of the experimental group decreased significantly when compared to the control group, indicating a lower abundance of gut microbiota in the experimental group. Based on a 97% similarity, species annotation and the comparison of abundance between two groups were carried out. In the experimental group, at the phylum level, the relative abundance level of *Bacteroidetes* was significantly lower ($P < 0.001$), while the relative abundance level of *Firmicutes* and *Actinobacteria* significantly increased ($P < 0.01$ and $P < 0.05$). At the genus level, the relative abundance of *Staphylococcus* and *Actinomycetes* decreased ($P < 0.01$), while the relative abundance of *Lactobacillus* increased ($P < 0.01$).

CONCLUSION

There is a significant difference in the constitution of gut microbiota between Tibetan and Chinese Han patients with liver cirrhosis. This work for the first time reveals the feature of intestinal microbiota in Tibetan patients with liver cirrhosis, which lays a foundation for individual treatment of liver cirrhosis.

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

Key Words: Tibetan; Liver cirrhosis; Gut microbiota; High-throughput sequencing

Huan H, Hu H, Chen XH, Gao WN, Li LL, Li J, Deng K, Liu C. Diversity of intestinal microflora in tibetan patients with liver cirrhosis based on high-throughput sequencing. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1142-1148
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1142.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1142>

摘要

背景

大量研究已证实肝硬化患者存在肠道菌群失调的现象, 这为临床防治肝硬化及并发症提供了新的线索与思路. 藏族人群生活环境和饮食习惯有别于汉族人群, 因而藏族肝硬化患者肠道菌群结构及多样性亦可能存在差异.

目的

探讨藏族肝硬化患者肠道菌群结构、丰度与多样性, 并对比汉族肝硬化患者肠道菌群的差异及特点.

方法

前瞻性纳入2017-10/2018-10四川大学华西医院成办

分院消化内科36例肝硬化患者, 其中20例藏族设为实验组, 16例汉族肝硬化患者设为对照组; 收集患者基本信息、血常规、生化、凝血功能、影像学等, 并采集大便标本, 提取基因组DNA并对细菌16S rRNA基因V4区进行PCR扩增, 应用Illumina Miseq平台进行高通量测序, 测序原始结果进行Reads拼接、操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)聚类、物种注释、Alpha多样性分析等, 最终得到样品的生物信息学结果.

结果

对照组和实验组分别获得15006和36872条有效序列, 在实验组中Chao1指数显著降低($P < 0.01$), 实验组的物种丰富度较对照组显著降低. 基于97%的相似性进行物种注释, 对实验组和对照组进行微生物物种丰度比较. 结果显示, 相较于对照组, 在门水平上, 实验组中拟杆菌门显著减少($P < 0.001$), 厚壁菌门和放线菌门在实验组中增加($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$); 在属水平上, 葡萄球菌属、放线菌属在实验组中显著减少($P < 0.01$), 乳杆菌属显著增加($P < 0.01$).

结论

藏族肝硬化患者的肠道微生物丰度明显低于汉族肝硬化患者, 肠道微生物组成存在着差异. 本研究首次展现了藏族肝硬化患者的肠道微生物组成特点, 为肝硬化的个性化治疗奠定了基础.

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

关键词: 藏族; 肝硬化; 肠道菌群; 高通量测序

核心提要: 通过肠道菌群高通量测序, 探讨藏族肝硬化患者肠道菌群结构、丰度与多样性, 并对比汉族肝硬化患者肠道菌群的差异及特点. **结论:** 藏族肝硬化患者的肠道微生物丰度明显低于汉族肝硬化患者, 肠道微生物组成存在着差异.

宦徽, 胡红, 陈小虹, 高薇娜, 李玲丽, 李骥, 邓凯, 刘超. 基于高通量测序技术的藏族肝硬化患者肠道菌群多样性研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(18): 1142-1148

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1142.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1142>

0 引言

在我国, 肝硬化占有所有疾病的1.39%, 占全部肝病住院病例的51.1%, 是我国最严重的公共卫生问题之一, 而在藏区这一疾病的高发性尤为突出. 大量研究证实在肝硬化患者中明显存在肠道菌群失调的现象. 藏族人群生活环境和饮食习惯有别于汉族人群, 这些差异可能影响肠道菌群, 目前缺乏藏族肝硬化患者肠道菌群的研究, 国内

国外均未见报道, 亟待相关研究填补空白. 本研究对比藏族肝硬化与汉族肝硬化患者肠道菌群差异, 为下一步探索个性化治疗提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 前瞻性纳入2017-10/2018-10四川大学华西医院成办分院消化内科41例肝硬化患者. 纳入标准: (1)肝硬化患者(存在可引起肝硬化的病因; 存在门静脉高压和或肝功能障碍表现; 腹部CT或彩超等影像学证据支持); (2)年龄18-75岁; (3)同意参加本临床研究并签署知情同意书(2017研第10号). 排除标准: (1)有外科分流、肝叶切除、肝移植手术等肝脏手术史者; (2)未控制的感染或败血症; (3)合并恶性肿瘤患者; (4)近2 wk内使用抗生素、类固醇等激素和益生菌制剂; (5)恶病质; (6)妊娠期或哺乳期女性; (7)1 mo内有肠道感染病史者; (8)存在重要器官功能衰竭的患者; (9)藏族患者离开高原环境2 wk以上, 且饮食习惯发生明显改变者.

其中, 1例因存在重要器官功能衰竭; 2例藏族患者因离开高原环境2 wk以上且饮食习惯发生明显改变; 1例合并恶性肿瘤; 1例近2 wk内使用抗生素被排除, 最终36例纳入本研究. 将此中20例藏族肝硬化患者设为实验组; 16例汉族肝硬化患者设为对照组. 收集患者基本信息、血常规、生化、凝血功能、影像学等.

1.2 方法

1.2.1 粪便样本的收集与DNA提取: 采集36例肝硬化患者的大便标本(在清洁环境中采集研究对象的新鲜粪便(不少于6 g), 采集到的粪便样本立即放入-80 °C冰箱进行冻存. 采用DNA提取试剂盒(DNeasy PowerSoil Kit, 天根生化科技有限公司, 中国北京)对粪便样本的总DNA进行提取, 提取方法参考试剂盒操作说明书. 提取得到的总DNA用琼脂糖凝胶电泳检测其完整性, 并用NanoDrop检测DNA的浓度. 检测合格的DNA放入-20 °C冻存待下一步的操作.

1.2.2 16S rRNA基因V4区扩增与测序结果分析: 使用16S rRNA基因通用引物343F(5'-TACGGRAGGCAGCAG-3')和798R(5'-AGGGTATCTAATCCT-3')对V4区可变区进行PCR扩增, 扩增产物应用Illumina Miseq平台进行高通量测序, 由上海欧易生物医学科技有限公司完成(中国上海). 采用QIIME 1.8.0软件对测序原始结果进行过滤, 过滤得到的clean tags按照97%的相似性进行操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)聚类, 对分类的OTUs进行物种注释分析, 并进行Alpha多样性计算, 包括香农(Shannon)指数、辛普森(Simpson)指数和丰富度指数Chao1. 此外, 根据分类学层次门和属分析微生物的群落结构以及物种丰度.

统计学处理 采用SPSS 19.0软件进行统计学分析. 呈正态分布的计量资料以mean±SD表示, 比较采用方差分析; 非正态分布, 资料以中位数及四分位数表示, 比较采用Kruskal-Wallis检验. 计数资料以例数和百分数表示, 比较采用 χ^2 检验. 基于Illumina Miseq测序平台获得关于肠道细菌16S rDNA的测序结果, 并在对原始数据进行质量控制后, 采用相应的生物数据分析方法比较各组肠道菌群情况. $P<0.05$ 认为有统计学差异.

2 结果

2.1 一般资料 两组在性别、年龄、白蛋白、总胆红素、PT、腹水及Child-Pugh评分均无显著差异(表1).

2.2 测序质量统计 收集到的36个样本进行16S rDNA基因序列测序, 利用QIIME软件对原始序列进行过滤, 最终对照组和实验组分别得到平均19963和48338条clean tags, 其中有效tags分别为15006(75.17%)和36872(76.28%), 有效tags平均读长分别为428 bp和431 bp. Shannon指数稀释曲线显示在Shannon指数为4-6时, 绝大多数样本的稀释曲线趋向平坦, 说明测序深度合理(图1).

2.3 Alpha多样性分析 Alpha多样性是对样本中物种多样性的分析, 基于OTU种类和丰度计算Chao1、Shannon指数和Simpson指数. 实验组和对照组的各样本的覆盖度均大于99%, 说明本次测序所检测到的微生物物种能够覆盖样本中大多数的物种, 与Shannon指数稀释曲线的结果一致. Chao1指数反映样本中物种的丰度, 即OTU的数量. Chao1值越大代表物种总数越多, 表明丰富度越高. 如图2A, 实验组的Chao1指数为332.30, 对照组的Chao1指数为493.38, 实验组的物种丰富度较对照组显著降低($P<0.01$), 说明藏、汉肝硬化患者肠道微生物物种丰度有显著差异.

Shannon和Simpson指数用于反映群落的多样性, 包括物种丰度和物种均匀度, Shannon越大和Simpson指数越小, 样品中的物种多样性越高. 结果显示, 实验组的Shannon指数中值为5.15略低于对照组的5.98, 但差异并不显著($P=0.060$). Simpson指数中值实验组与对照组分别为0.936与0.949, 差异无统计学意义($P=0.632$)(图2B、C).

2.4 肠道菌群的结构与优势菌群分析 与Ribosomal Database Project数据库进行相似性比对以及物种注释, 在门和属两个分类层次下对各个样品的物种丰度进行统计. 在门水平下, 两组均以拟杆菌门和厚壁菌门的丰度最高, 其中拟杆菌门对照组与实验组丰度百分比分别占到61.76%和36.86%, 实验组显著减少($P<0.001$); 厚壁菌门分别占到32.95%和48.24%, 实验组显著增加($P<0.01$); 其次, 丰度较高的是放线菌门对照组与实验组分别是2.10%和6.62%, 实验组增加($P<0.05$). 同样丰度较

表 1 一般情况及肝功对比

组别	例数	性别男/女(例)	年龄(岁)	白蛋白(g/L)	总胆红素(mmol/L)	PT (s)	肝性脑病(例)	腹水(例)	Child-Pugh(分)
实验组	20	16/4	51.20 ± 11.18	34.88 ± 6.27	21.68 ± 10.70	14.26 ± 1.87	1	11	6.9
对照组	16	13/3	49.18 ± 10.67	35.40 ± 6.99	19.83 ± 9.82	13.79 ± 1.76	3	9	6.5
P值		0.261	0.583	0.798	0.558	0.410	0.472	0.940	0.473

PT: 凝血酶原时间.

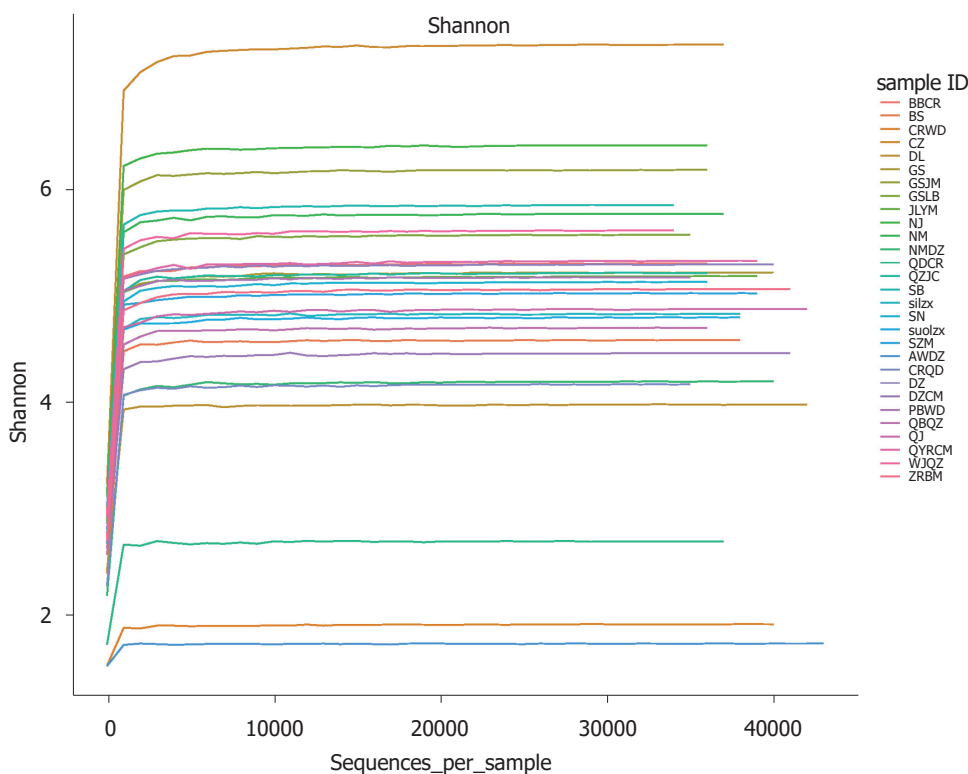


图 1 各样本肠道菌群Shannon指数曲线.

高的变形菌门、梭杆菌门实验组分别占比为3.09%和0.06%, 对照组为8%和0.05%, 但两组比较差异均不显著 ($P>0.05$)(图3).

在属水平上, 对照组和实验组的top15优势菌主要有普氏菌属_9、拟杆菌属、粪杆菌属、普氏菌属_2、双歧杆菌属、乳杆菌属、链球菌属、志贺氏埃希菌属、假丁酸弧菌属、布劳特氏菌属、*Lachnoclostridium*、另枝菌属、*Subdoligranulum*、拟普雷沃菌属、长奈瑟氏菌。如图4, 实验组与对照组的肠道微生物组成由明显差异, 普氏菌属_9为对照组的主要优势菌, 而实验组的菌群组成更加复杂。与对照组相比, 实验组葡萄球菌、放线菌明显减少, 差异显著 ($P<0.01$); 乳杆菌属明显增加, 差异显著 ($P<0.01$).

3 讨论

肝脏与消化道毗邻, 因其特殊的解剖位置, 可形成所谓

的肝-肠轴, 肝脏因此成为抵御抗原、细菌和细菌产物等的第一道防线。大量研究已充分证实肝硬化患者中明显存在肠道菌群失调的现象, 主要表现为固有定植菌的减少, 非固有定植菌的增多, 其中以厌氧菌及革兰氏阴性杆菌增多更为明显^[1-4]。然而, 肠道菌群失调与肝硬化之间是否存在因果关系及其具体病理生理机制目前仍不清楚。有研究推测肠道菌群失调可通过改变胆汁酸生成, 增加肠道黏膜通透性, 引起细菌移位及小肠细菌过度生长等等方式共同参与肝硬化及其并发症的发病过程^[5,6]。如肠道菌群失调参与细菌移位、内毒素血症、甚至肝性脑病、自发性细菌性腹膜炎等的发生。有报道证实肝性脑病患者中肠道微生物平衡失调可导致细菌抗原移位, 从而促进炎症反应的发生, 损伤宿主肠道黏膜屏障的抵御机制, 参与门静脉高压、肝性脑病等的发病机制^[5,7]。还有研究发现随着肝脏疾病恶化, 肝硬化患者的肠道菌群也会随之改变, 其中微生物基因组中

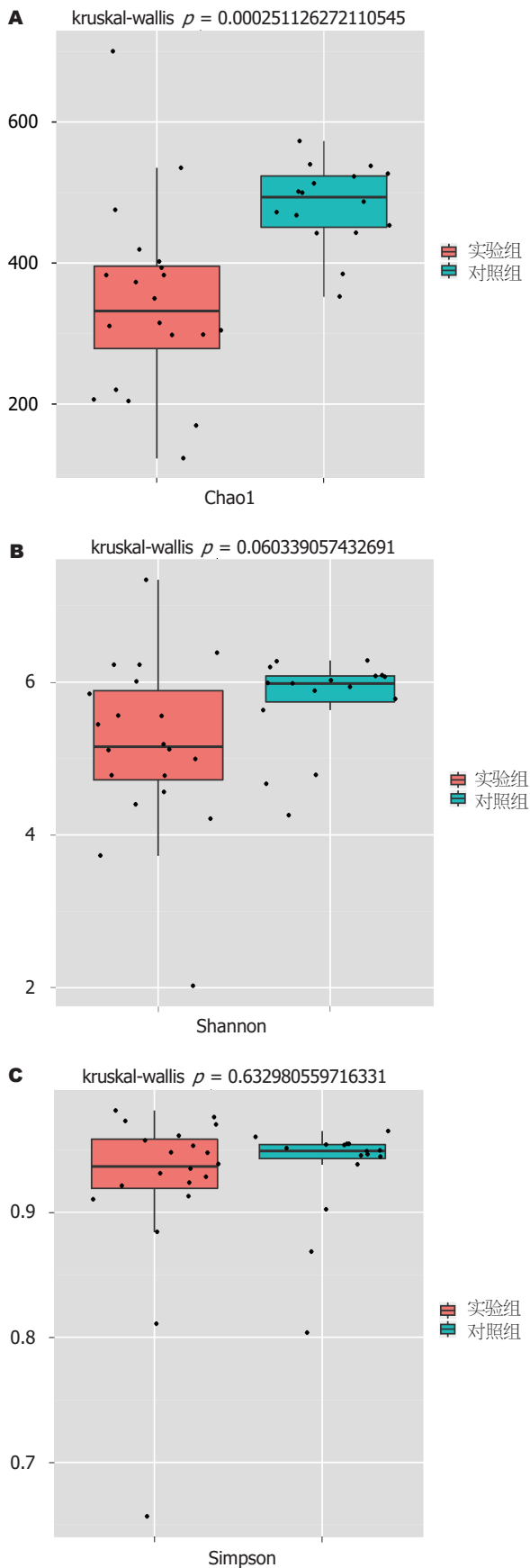


图 2 Alpha多样性分析. A: 两组Chao1指数对比; B: 两组Shannon指数对比; C: 两组Simpson指数对比.

丰度较高的细菌种属与疾病的严重性有明显关系^[8].

高通量Illumina测序可检测不可人工培养的肠道细菌, 测序快速且结果准确度高, 可全面反应复杂样品的微生物群落的组成, 是目前微生物多样性研究的重要技术手段之一^[9]. 本研究采用该技术对16S rDNA的V4可变区进行测序, 首次开展藏族肝硬化人群肠道细菌菌落组成分析. 研究对20例藏族肝硬化患者(实验组)和16例汉族肝硬化患者(对照组)粪便样本中微生物的多样性和群落结构进行了初步分析, Chao1指数在实验组和对照组之间有显著差异($P < 0.05$), 说明种族会对肝硬化患者的微生物丰度产生影响, 藏族肝硬化患者的微生物丰度相较于汉族肝硬化患者降低. 物种丰度统计分析结果显示, 在门水平上, 两组的微生物种类主要有拟杆菌门、厚壁菌门、放线菌门、变形菌门、梭杆菌门, 其中拟杆菌门在实验组中显著减少($P < 0.001$), 而厚壁菌门和放线菌门在实验组中增加($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$); 在属水平上, 两组的前15微生物种类主要有普氏菌属_9、拟杆菌属、粪杆菌属、普氏菌属_2、双歧杆菌属、乳杆菌属、链球菌属、志贺氏埃希菌属、假丁酸弧菌属、布劳特氏菌属、*Lachnoclostridium*、另枝菌属、*Subdoligranulum*、拟普雷沃菌属、长奈瑟氏菌, 其中葡萄球菌属、放线菌属在实验组中显著减少($P < 0.01$), 乳杆菌属显著增加($P < 0.01$).

实验组中拟杆菌门和厚壁菌门丰度百分比的显著改变将会对F/B值(厚壁菌门/拟杆菌门丰度比值)造成较大的影响, F/B是衡量肠道菌群失调的标准之一, F/B值的改变说明在藏族肝硬化患者和汉族肝硬化患者之间存在不同程度的肠道菌群失调, 将会对肝硬化的进一步发展以及并发症的发生造成不同程度的影响^[10]. 藏族人群世居青藏高原, 独特的环境气候也使藏族人群形成了独特的饮食习惯. 在藏族人群的日常饮食中, 肉类(例如牛肉、羊肉等)和发酵类食品(例如酸奶)为主要食材, 而对于碳水化合物、蔬菜和水果的摄入较少^[11]. 此外, 也有报道表明人种所带来的基因上的差异也是造成藏汉肠道微生物组成差异的原因之一^[12]. 由此可见, 了解藏族肝硬化患者的肠道微生物组成将是建立肝硬化个性化治疗方案的重要基础, 有利于藏族肝硬化患者的治疗及预后的改善. 本研究利用16S rDNA测序技术初步探索了藏族肝硬化患者的肠道微生物组成特点, 为进一步了解藏族肝硬化患者的肝硬化的发展进程奠定了基础, 同时为失代偿性肝硬化的个性化治疗及预后的改善提供方向. 但基于本研究病例数较少, 不可避免地存在偏倚, 因此需要更多大样本、多中心、多层次的随机对照研究进一步证实.

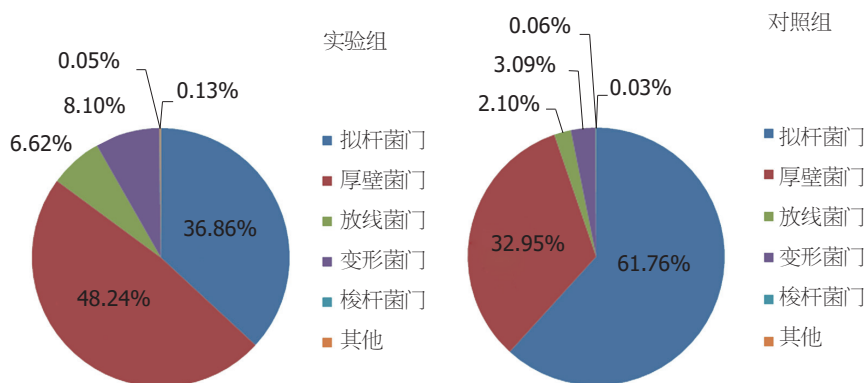


图 3 两组肠道菌群门水平比较.

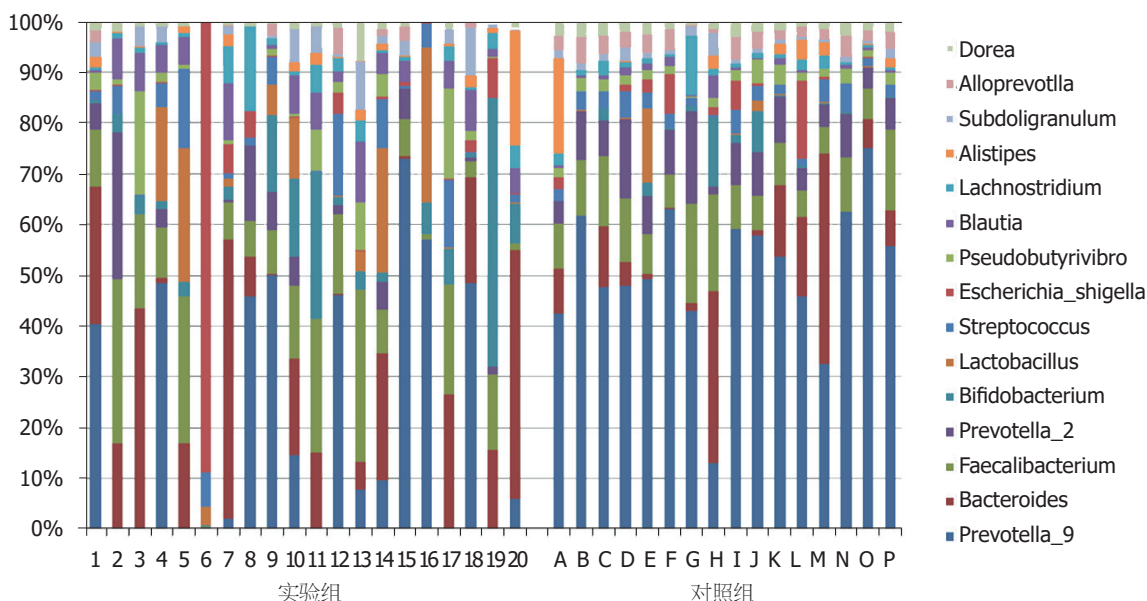


图 4 微生物种水平相对丰度统计分析实验组(1-20)和对照组(A-P). *Prevotella_9*: 普氏菌属_9; *Bacteroides*: 拟杆菌属; *Faecalibacterium*: 粪杆菌属; *Prevotella_2*: 普氏菌属_2; *Bifidobacterium*: 双歧杆菌属; *Lactobacillus*: 乳杆菌属; *Streptococcus*: 链球菌属; *Escherichia_Shigella*: 志贺氏埃希菌属; *Pseudobutyrvibro*: 假丁酸弧菌属; *Blautia*: 布劳氏菌属; *Alistipes*: 另枝菌属; *Alloprevotlla*: 拟普雷沃菌属; *Dorea*: 长奈瑟氏菌.

文章亮点

实验背景

肝硬化是我国最严重的公共卫生问题之一,而在藏区这一疾病的高发性尤为突出.大量研究已充分证实肝硬化患者中明显存在肠道菌群失调的现象,主要表现为固有定植菌的减少,非固有定植菌的增多.这为临床防治肝硬化及并发症提供了新的线索与思路.揭示肝硬化患者肠道菌群的特征,将有助于进一步认识肠道微生态与肝硬化的关系,必将推进肠道微生态在肝硬化综合治疗中的地位.由于藏族人群所生活的环境和饮食习惯及构成均不同于普通人群,这些因素均参与人体肠道微生态的形成,也必将导致藏族人群肠道菌群特征也不同于普通人群,因此很有必要专门针对藏族人群肠道菌群特

征进行针对性研究.然而目前针对藏族人群肠道菌群特征,特别是针对藏族肝硬化患者肠道菌群的研究,国内国外均未见报道,亟待相关研究填补空白.因此本研究拟针对藏族肝硬化肠道微生态进行针对性研究,旨在揭示藏族人群中肠道菌群特征与肝硬化及相关并发症的关系.

实验动机

进一步认识肠道微生态与肝硬化的关系,为临床防治藏族肝硬化及并发症提供新的线索与思路.

实验目标

对比藏、汉族肝硬化患者肠道菌群的差异,探讨可能的内在联系.

实验方法

收集纳入受试者新鲜粪便, 迅速于-80 °C度冰箱保存, 同时收集受试者临床相关资料. 16SRNA测序及数据分析(高通量测序): (1)肠道微生物DNA提取; (2)荧光定量PCR反应; (3)PCR产物凝胶电泳; (4)PCR产物混合及纯化; (5)测序分析: 将纯化的PCR混合产物使用Illumina Miseq测序平台行双端测序, 并根据测序结果行相应的生物数据统计分析. 测序技术可以在不需要培养的条件下进行混合细菌的鉴定, 特别是一些目前还无法培养的细菌可通过测序分析, 极大丰富了肠道微生物的数据库. 特别是高通量是测序技术, 针对大样本的研究, 只要能够提供满足测序要求的DNA, 就可以对样本中可能存在的微生物进行分析.

实验结果

本研究达到了试验目标, 结果显示实验组的Chao1指数为332.30, 对照组的Chao1指数为493.38, 实验组的物种丰富度较对照组显著降低($P<0.01$), 说明藏、汉肝硬化患者肠道微生物物种丰度有显著差异. 在反映群落的多样性的Shannon、Simpson指数上, 两组对比差异无统计学意义. 基于97%的相似性进行物种注释, 对实验组和对照组进行微生物物种丰度及构成比上, 门水平上实验组中拟杆菌门显著减少($P<0.001$), 厚壁菌门和放线菌门在实验组中增加($P<0.01$ 和 $P<0.05$); 在属水平上, 葡萄球菌属、放线菌属在实验组中显著减少($P<0.01$), 乳杆菌属显著增加($P<0.01$). 说明藏、汉族肝硬化患者的肠道微生物肠道微生物构成比存在着差异. 上述发现, 填补了目前有关藏族肝硬化患者肠道菌群特征的空白.

实验结论

本研究发现藏族肝硬化患者的肠道微生物丰度明显低于汉族肝硬化患者, 肠道微生物组成存在着差异. 推测可能与高原环境、饮食习惯及基因差异等有关. 这些差异可能参与了肝硬化疾病的发展, 如果能进一步明确这些有差异的微生物的功能与代谢机制, 阐明微生物与疾病的内在联系, 可为肝硬化的个性化治疗提供可行方案.

展望前景

本研究首次展现了藏族肝硬化患者的肠道微生物组成特点, 下一步可探究微生物的功能与代谢机制, 进一步

探讨微生物与疾病的内在联系, 为肝硬化的个性化治疗, 提供更详实的理论基础及可行方案.

4 参考文献

- 1 Bajaj JS, Hylemon PB, Ridlon JM, Heuman DM, Daita K, White MB, Monteith P, Noble NA, Sikaroodi M, Gillevet PM. Colonic mucosal microbiome differs from stool microbiome in cirrhosis and hepatic encephalopathy and is linked to cognition and inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G675-G685 [PMID: 22821944 DOI: 10.1152/ajpgi.00152.2012]
- 2 Bajaj JS, Ridlon JM, Hylemon PB, Thacker LR, Heuman DM, Smith S, Sikaroodi M, Gillevet PM. Linkage of gut microbiome with cognition in hepatic encephalopathy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G168-G175 [PMID: 21940902 DOI: 10.1152/ajpgi.00190.2011]
- 3 Qin N, Yang F, Li A, Prifti E, Chen Y, Shao L, Guo J, Le Chatelier E, Yao J, Wu L, Zhou J, Ni S, Liu L, Pons N, Batto JM, Kennedy SP, Leonard P, Yuan C, Ding W, Chen Y, Hu X, Zheng B, Qian G, Xu W, Ehrlich SD, Zheng S, Li L. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature* 2014; 513: 59-64 [PMID: 25079328 DOI: 10.1038/nature13568]
- 4 Tuomisto S, Pessi T, Collin P, Vuento R, Aittoniemi J, Karhunen PJ. Changes in gut bacterial populations and their translocation into liver and ascites in alcoholic liver cirrhotics. *BMC Gastroenterol* 2014; 14: 40 [PMID: 24564202 DOI: 10.1186/1471-230X-14-40]
- 5 Macnaughtan J, Jalan R. Clinical and pathophysiological consequences of alterations in the microbiome in cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2015; 110: 1399-410; quiz 1411 [PMID: 26416191 DOI: 10.1038/ajg.2015.313]
- 6 Wiest R, Lawson M, Geuking M. Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis. *J Hepatol* 2014; 60: 197-209 [PMID: 23993913 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.07.044]
- 7 Gómez-Hurtado I, Such J, Francés R. Microbiome and bacterial translocation in cirrhosis. *Gastroenterol Hepatol* 2016; 39: 687-696 [PMID: 26775042 DOI: 10.1016/j.gastrohep.2015.10.013]
- 8 Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, Sanyal AJ, White MB, Monteith P, Noble NA, Unser AB, Daita K, Fisher AR, Sikaroodi M, Gillevet PM. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. *J Hepatol* 2014; 60: 940-947 [PMID: 24374295 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.12.019]
- 9 Woo PC, Lau SK, Teng JL, Tse H, Yuen KY. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 908-934 [PMID: 18828852 DOI: 10.1111/j.1469-0691.2008.02070.x]
- 10 Acharya C, Bajaj JS. Gut Microbiota and Complications of Liver Disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2017; 46: 155-169 [PMID: 28164848 DOI: 10.1016/j.gtc.2016.09.013]
- 11 Li K, Dan Z, Gesang L, Wang H, Zhou Y, Du Y, Ren Y, Shi Y, Nie Y. Comparative Analysis of Gut Microbiota of Native Tibetan and Han Populations Living at Different Altitudes. *PLoS One* 2016; 11: e0155863 [PMID: 27232599 DOI: 10.1371/journal.pone.0155863]
- 12 Li L, Zhao X. Comparative analyses of fecal microbiota in Tibetan and Chinese Han living at low or high altitude by barcoded 454 pyrosequencing. *Sci Rep* 2015; 5: 14682 [PMID: 26443005 DOI: 10.1038/srep14682]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



胃内微生物与胃部疾病关系的研究进展

刘芳, 梁田, 李岩松, 白骥, 康龙丽

刘芳, 梁田, 李岩松, 康龙丽, 西藏民族大学医学院, 西藏高原相关疾病分子遗传机制研究与干预重点实验室, 西藏民族大学环境与疾病相关基因研究高校重点实验室 陕西省咸阳市 712082

白骥, 西藏民族大学附属医院消化内科 陕西省咸阳市 712082

刘芳, 主治医师, 主要从事消化道疾病微生态特征性研究.

基金项目: 国家自然科学基金, No. 31660307; 西藏自治区科技厅项目, No. XZ201801-GB-03; 西藏自治区自然科学基金, No. XZ2018ZR G-75(Z).

作者贡献分布: 本文由刘芳完成; 刘芳和梁田收集资料; 李岩松和白骥整理资料; 康龙丽审核.

通讯作者: 康龙丽, 教授, 712082, 陕西省咸阳市文汇东路6号, 西藏民族大学医学院, 西藏高原相关疾病分子遗传机制研究与干预重点实验室, 西藏民族大学环境与疾病相关基因研究高校重点实验室.
longli_kang@163.com
电话: 029-33755799

收稿日期: 2019-08-13
修回日期: 2019-08-29
接受日期: 2019-09-02
在线出版日期: 2019-09-28

Gastric microflora and gastric disease

Fang Liu, Tian Liang, Yan-Song Li, Su Bai, Long-Li Kang

Fang Liu, Tian Liang, Yan-Song Li, Long-Li Kang, Key Laboratory for Molecular Genetic Mechanisms and Intervention Research on High Altitude Disease of Tibet Autonomous Region, Key Laboratory of High Altitude Environment and Genes Related to Diseases of Tibet Autonomous Region, School of Medicine, Xizang Minzu University, Xianyang 712082, Shaanxi Province, China

Su Bai, Department of Digestive Medicine, Affiliated Hospital of Tibet University for Nationalities, Xianyang 712082, Shaanxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 31660307; the Science and Technology Department Project of Tibet Autonomous Region; No. XZ201801-GB-03; the Natural Science Foundation of Xizang (Tibet) Autonomous Region, No. XZ2018ZR

G-75(Z).

Corresponding author: Long-Li Kang, Professor, School of Medicine, Xizang Minzu University, Key Laboratory for Molecular Genetic Mechanisms and Intervention Research on High Altitude Disease of Tibet Autonomous Region, Key Laboratory of High Altitude Environment and Genes Related to Diseases of Tibet Autonomous Region, No. 6, Wenhui East Road, Xianyang 712082, Shaanxi Province, China. longli_kang@163.com

Received: 2019-08-13

Revised: 2019-08-29

Accepted: 2019-09-02

Published online: 2019-09-28

Abstract

Gastric environment has long been considered sterile, but the discovery of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) changed such concept in 1982. Over the past few decades, modern techniques have provided insight into microbial communities in the stomach and the interactions between communities, ranging from methods that rely on bacterial culture to the application of macrogenomics and high-throughput sequencing techniques. *H. pylori* is an important risk factor for gastric disease, but there may be other bacteria involved in the occurrence of gastric disease. This review summarizes the current progress in the understanding of the relationship between gastric microflora and gastric disease.

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

Key Words: Gastric microbiome; *H. pylori*; Gastric disease; Chronic atrophic gastritis; Peptic ulcer disease; Gastric cancer

Liu F, Liang T, Li YS, Bai S, Kang LL. Gastric microflora and gastric disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1149-1154
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1149.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1149>

摘要

长期以来, 学术界认为胃内是无菌的环境, 但1982年幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的发现改变了这一概念. 在过去的几十年里, 检测方法从传统的细菌培养, 到宏基因组高通量测序技术的应用, 这些现代技术为洞察胃内的微生物群落、分析群落间的相互作用提供了支持. *H. pylori*是胃部疾病重要的危险因素, 但可能还有别的菌群也参与了胃部疾病的发生. 本文就目前有关胃微生物群与胃部疾病的相互关系的研究进展作一综述, 旨从微生态角度对胃部疾病的防治策略提供新的思路.

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

关键词: 胃内微生物群; 幽门螺杆菌; 胃部疾病; 萎缩性胃炎; 消化性溃疡; 胃癌

核心提要: 胃内微生态特别是幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与胃部疾病密切相关, 探究*H. pylori*与胃内其他微生物的相互作用, 及其在胃部疾病中的特征和机制, 有助于对胃部疾病的诊治提供新的策略.

刘芳, 梁田, 李岩松, 白骥, 康龙丽. 胃内微生态与胃部疾病的关系研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(18): 1149-1154

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1149.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1149>

0 引言

由于胃内高酸环境及不断蠕动等特点, 过去一度认为胃是无菌的环境, 直到1982年幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的发现改变了这一观点, 同时也发现这一细菌引起了多种胃部疾病^[1]. 随着研究手段的发展, 从依赖细菌培养的传统检测方法, 到宏基因组学高通量测序技术的应用, 这些现代技术帮助我们对微生物认识的深入, 发现胃内除了*H. pylori*, 还有其他的细菌共同构成了胃内微生态, 也揭示胃微生物群和胃部疾病之间关系. 在不同疾病状态下, 胃内的微生物群落各有特点, 各类群落间又相互作用. 因此, 越来越多的证据表明, *H. pylori* 尽管是多种疾病微生物方面最相关的病因, 但其它细菌的存在可能协同或者拮抗它的作用, 导致胃部疾病的发生. 本文综述了*H. pylori*及胃内其他微生物的最新发现及其在胃病进展中的作用, 旨在为基于微生态的胃部疾病诊治策略提供新的思路.

1 胃内微生态环境

之前的研究认为, 胃内粘液层、胃酸构成了生理屏障, 并提出了“胃是无菌器官”的概念^[2], 而后*H. pylori*的发

现, 推翻了这一说法. 随着检测技术的进一步发展, 宏基因组学高通量测序技术的应用, 人们发现胃内存在独特和复杂的菌群结构. 微生物种属和数量虽然没有下消化道多, 但是胃在消化道中独特的酸性环境, 构成了独特的微生物群. 胃环境中细菌的多样性与口腔和食道中的细菌多样性有显著差异, 说明人类胃部可能是一个独特的微生物群落. 随着检测技术的进步, 还发现一些过路菌如乳酸菌、梭菌等. 虽然它们在胃内停留时间较短, 但是这些暂时性的细菌联合穿过粘液层的能力引起了人们的关注. Delgado等^[3]采用了古典培养和独立培养技术相结合的方法, 发现丰富较高的细菌主要是链球菌、乳酸菌和丙酸杆菌. Bik等^[4]通过使用小亚基16S rRNA基因克隆文库方法, 分析胃活检样本并鉴定出128个种型, 主要分为五种不同的细菌门类: 变形菌门(相对丰度51.9%)、厚壁菌门(25.3%), 拟杆菌门(10.5%), 放线菌门(9.0%)和梭杆菌门(3.1%). 此外, 作者对健康个体胃黏膜中的优势菌种进行了汇总(表1)^[3-6]. 发现不同的研究显示出不一致的结果, 这可能是由于胃内微生态受到了饮食、环境、年龄、益生菌和抗生素使用的影响, 以及不同检测方法导致结果的差异^[7]. 随着基因组测序、荧光原位杂交、代谢组学和细菌转录分析等现代技术的发展, 科学家们可以深入地了解胃生态系统及其在健康和疾病中的分子机制, 鉴定细菌的功能特征和理解微生物与宿主之间复杂的相互关系.

2 胃部微生物及相互影响

2.1 *H. pylori* *H. pylori*是现代公认的慢性胃炎和胃溃疡的重要诱因, 也是导致胃癌(gastric cancer, GC)和胃淋巴瘤的危险因素之一, 是一级致癌物^[8], 它是一种革兰氏阴性杆菌, 螺旋形、微需氧、有鞭毛, 主要分布在胃黏膜组织中. *H. pylori*能产生尿素酶, 创造碱性环境, 这是*H. pylori*在胃黏膜屏障下生存的关键. 它还表达粘附素, 促进细菌附着在胃上皮, 如血型抗原粘附素(blood group antigen binding adhesion, BabA)或炎症蛋白粘附素(outer inflammatory protein A, OipA)^[8]. 这些功能都有助于细菌在这种不利的酸性环境中定殖和存活, 继而产生复杂的炎症反应, 损伤胃黏膜并引起相关消化系统疾病. *H. pylori*的毒力通过各种致病性标志物表达, 如细胞毒素相关基因A(cytotoxin-associated gene A, CagA), BabA粘附素和空泡细胞毒素(vacuolating cytotoxin A, VacA)^[9], 也是目前胃病发展研究的新焦点. 研究表明, VacA和CagA可以相互调节, CagA可以拮抗VacA诱导的细胞凋亡, 并激活MAPK/ERK通路和抗凋亡因子MCL1介导的细胞存活途径, 从而影响宿主反应^[10]. CagA还可激活VacA所拮抗的NFAT和EGFR通路^[10,11]. 此外, VacA通过多种癌症

表 1 胃内优势菌种分析研究汇总

作者	出版年份	研究方法	人数	优势菌种
Bik等 ^[4]	2006	16S rRNA	23	Streptococcus; Prevotella; Rothia; Fusobacterium; Veillonella
Li等 ^[6]	2009	16S rRNA	10	Streptococcus; Prevotella; Neisseriae; Haemophilus; Porphyromonas
Delgado等 ^[3]	2013	细菌培养及16S rDNA	12	Streptococcus; Propionibacterium; Lactobacillus
Parsons等 ^[6]	2017	16S rRNA测序	20	Prevotellaceae; Streptococcaceae; Paraprevotellaceae; Fusobacteriaceae

Streptococcus: 链球菌; Prevotella: 普雷沃氏菌; Fusobacterium: 梭杆菌属; Veillonella: 韦荣球菌; Haemophilus: 嗜血杆菌; Porphyromonas: 单胞菌; Propionibacterium: 丙酸杆菌; Lactobacillus: 乳酸菌。

相关途径参与GC的发生, 如Wnt/b-catenin、PI3K/Akt信号通路^[12-14]和VEGF通路^[15]。CagA、VacA⁺的*H. pylori*可诱导上皮-间质转化, 从而参与肿瘤进展^[16]。有研究表明, 虽然几乎所有*H. pylori*菌株都含有VacA基因, 可编码空泡细胞毒素, 但大约半数的菌株都不表达该毒素, 因此不同基因型的菌株会对宿主产生不同的临床表现。

2.2 *H. pylori*与胃内其它菌群的关系 *H. pylori*与其他胃内菌群间的相互作用似乎比原先想象的要复杂得多。*H. pylori*首先改变自己的微环境, 分解尿素生产氨和碳酸氢盐的产物, 可作为其他微生物群落的底物。此外, 它还使胃酸分泌减少, 从而提高了胃的pH值, 为其他微生物的定植创造了有利的生态环境。另一方面, *H. pylori*能诱导细胞因子和抗菌肽的产生, 从而导致慢性胃炎, 抑制其他局部微生物^[17]。有研究表明, 成人和儿童感染*H. pylori*时, 它在所有胃微生物群落中的相对丰度最高^[4,18]。Khosravi等^[19]研究发现, 131例*H. pylori*阳性者与84例*H. pylori*阴性个体胃微生物组成无显著性差异, *H. pylori*的存在对胃微生物群的多样性无明显影响。但是*H. pylori*感染后胃黏膜中细菌生物多样性的研究尚存在争议。这些研究结果的差异可能是由于不同菌株的*H. pylori*对胃内其它细菌的影响及检测方法敏感度的不同, 对结构的分析造成困难所致。

有研究表明胃内*H. pylori*感染可以影响胃和十二指肠中微生物的种类和数量, 抑制乳酸杆菌的增殖, 而肠球菌、葡萄球菌等几乎不受影响^[20]。Osaki等^[21]还描述了长期*H. pylori*感染可以改变啮齿动物胃中微生物的组成。Okamoto等^[22]研究发现*H. pylori*与人呼吸道的一种共同存在的耐酸金氏菌混合后, *H. pylori*在酸性条件下的存活率比单独培养的*H. pylori*明显增加, 两者的结合似乎保护了细菌体, 使*H. pylori*在酸性条件下存活。其他报道也表明, 某些种类的乳酸菌具有很强的拮抗作用, 并能抑制*H. pylori*的生长^[23]。同样, 链球菌是胃环境中的一种常见细菌, 它很可能抑制*H. pylori*细胞的生长并促使*H. pylori*的形状由螺旋形变为球形^[24]。这些发现都证明了*H. pylori*与胃微生物群落之间存在着密切的联系。

由于胃生态系统的结构受多种因素影响, 因此需要进一步的实验来确定*H. pylori*与其他胃微生物的确切关系, 从而更好地了解*H. pylori*及其他细菌在健康和疾病中的作用。

3 胃内微生物与胃部疾病的关系

3.1 慢性萎缩性胃炎 慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是常见的消化道慢性疾病, 其特征是胃黏膜固有腺体减少, 伴或不伴有肠上皮化生。有研究表明萎缩性胃炎是一种癌前疾病, 特别是伴有腺体不典型增生时癌变率更高, 因此, 早期诊断可以显著降低死亡率^[25]。该病的主要原因是持续的*H. pylori*感染, 可能导致癌症发展^[26]。

*H. pylori*诱导的免疫反应是导致胃黏膜损伤的重要因素。在*H. pylori*感染过程中, 脂多糖和表面蛋白释放并刺激促进细胞和巨噬细胞产生促炎因子, 如白细胞介素(interleukin, IL)-1、IL-8和活性氧^[27]。此外, *H. pylori*本身可以与上皮细胞相互作用产生IL-8、金属蛋白酶-10^[28,29]。这些炎症介质的释放可诱导白细胞中CD11b/CD18和内皮细胞中细胞粘附分子-1的表达, 促进白细胞迁移至炎症部位并最终导致CAG^[30]。

在CAG患者中观察到, 胃酸屏障的减少使胃内有更多的微生物定植, 这在健康胃内较少发生。总体而言, 亚洲患者血清胃蛋白酶原 I /胃蛋白酶原 II 比值与微生物丰度呈正相关^[31]。此外, 与正常胃相比, *H. pylori*诱导的CAG患者胃中的坦纳菌, 密螺旋体和雷沃氏菌的比例显著低于正常胃^[32]。

3.2 自身免疫性胃炎 自身免疫性胃炎(autoimmune gastritis, AIG)是一种自身免疫功能失调所致疾病, 其特征是胃黏膜的慢性进行性炎症, 最终演变为萎缩性胃炎。与CAG不同, AIG并非由*H. pylori*感染所致, 而胃内微生态表现也有所不同。研究表明^[7], AIG患者胃内细菌丰度及多样性高于CAG患者及健康人群, 以链球菌为主。这可能是由于淋巴细胞、浆细胞浸润胃黏膜, 破坏壁细胞及主细胞, 最终导致胃酸分泌减少所致; 其次,

AIG胃内免疫背景的不同, 可能也是胃内细菌丰度及多样性较高的原因^[30]. 现有对AIG胃内微生态特征性研究还较少, 还有待进一步研究加深认识.

3.3 消化性溃疡病 消化性溃疡病(peptic ulcer disease, PUD)是胃及十二指肠黏膜屏障功能减退及胃酸和胃蛋白酶的消化作用增强, 导致黏膜损伤、断裂至黏膜下层. *H. pylori*感染是PUD的微生物方面的重要病因, 然而, 细菌毒力与宿主的相互作用决定病变程度. 有研究表明, CagA及其他细菌毒力因子与宿主组织有很强的相互作用, 并与胃黏膜炎症细胞浸润和胃上皮损伤有关^[23,24,33].

在一项基于细菌培养的研究中发现, 胃溃疡组与非溃疡性消化不良组相比, 非*H. pylori*类细菌的定植率较低^[34]. 此外, 另一项研究采用16 SrRNA进行了测序发现, 链球菌与PUD之间存在显著相关性^[19]. 这项研究虽然可能受地域等因素的影响, 但是也提出了PUD除了*H. pylori*以外的其他微生物病因的可能, 提示*H. pylori*以外的细菌也许通过复杂的机制和相互作用, 促进胃十二指肠疾病的发生.

3.4 GC GC是世界上第四大常见癌症, 是癌症相关性死亡的第二大原因, 发展中国家高发^[35], 在中国, 许多被诊断患有GC的患者通常处于晚期阶段^[36]. *H. pylori*感染是GC的最大危险因素, 是全世界近75%GC的罪魁祸首^[37]. 如前所述, *H. pylori*感染引发胃黏膜炎症, 导致黏膜萎缩, 并可能随后导致癌症发展. 此外, *H. pylori*菌株变异、宿主反应和环境因素也是GC发展的关键因素^[38]. 虽然*H. pylori*是GC发生最相关的微生物危险因素, 但胃内其他菌种无疑与GC的发生有关. 细菌在胃黏膜中的过度生长已经在各种癌前疾病中被发现, 甚至还发现病毒或真菌在胃黏膜的定居^[39]. 其原因可能是由于*H. pylori*感染导致胃酸产生过少, 也可能是由于癌性黏膜有利于细菌增殖. 而有些细菌如韦荣球菌、梭菌、嗜血杆菌和葡萄球菌可增加亚硝酸盐的产生, 长期积累又促进GC的发展. GC患者胃黏膜富集的细菌是乳酸菌、链球菌、普雷沃氏菌、韦荣球菌^[40]. 有研究通过比较CAG与GC患者胃黏膜微生物群落的生物多样性、结构和组成, 发现GC患者的微生物结构更为多样. GC患者黏膜中以变形杆菌、厚壁菌、拟杆菌、梭杆菌和放线菌为主, 这一特征可能与GC的发生发展有关^[36], 该研究还发现β-变形菌纲和γ-变形菌纲在GC患者胃黏膜中富集, 这些发现揭示了非*H. pylori*变形菌可能与GC密切相关. 微生物的多样性、结构和胃微生物群的组成可以影响GC的发展^[41]. Eun等^[42]显示GC、肠化生和慢性胃炎患者的胃微生物群落存在差异, 并表明胃共生菌群可能在*H. pylori*的致癌性中发挥了一定作用. 然而, 另一种可能的解释是, 由于*H. pylori*诱导的组织学变化而导致的胃酸改变使得胃

上皮更容易受到其他微生物影响. 慢性胃炎、肠化生和GC患者胃微生物的多样性和丰富性显示, 与其他组相比, GC中的杆菌种类有所增加^[2], 然而, 最近的一项研究显示, GC患者的微生物群落的特征是生物多样性降低, 螺杆菌丰度降低^[43].

微生物可以通过几种机制来驱动和导致癌症的发生发展, 包括刺激炎症、诱导细胞增殖、破坏干细胞生理调节以及产生不利健康的代谢物^[44]. 因此, 了解*H. pylori*与胃肠微生物组之间的关系, 对更好地理解GC的发生具有重要意义.

4 结论

从依赖培养研究的先驱时代转移到宏基因组学时代, 随着对上消化道微生物群研究的深入, 我们发现, 胃微生物群在胃部疾病的发展和进展中起着至关重要的作用. *H. pylori*是消化性疾病重要的危险因素, 并且根除这种细菌可以提供良好的疾病预后^[45,46]. 然而, 也有证据表明幽门螺旋杆菌感染对炎性肠病的潜在保护作用^[47,48]. *H. pylori*可能是人类的“土著微生物菌群”^[33], 它的丧失可能导致过敏和代谢疾病的增加, 正如“消失的微生物群”假说^[49]所描述的那样.

*H. pylori*只是胃内微生物群中的一小部分, 胃内微生态与胃部疾病和健康状态关系密切, 微生物群和胃黏膜之间相互作用的详细机制仍需要进一步阐明. 最近的科学发现认为肠道微生物群可能作为炎症和肿瘤性胃肠疾病的未来诊断和治疗目标. 我们应该积极探索胃内菌群相互之间的作用、谨慎地干预微生物组的结构, 从全局出发, 为临床消化性疾病的预防和治疗提供指导.

5 参考文献

- 1 Trieu JA, Bilal M, Saraireh H, Wang AY. Update on the Diagnosis and Management of Gastric Intestinal Metaplasia in the USA. *Dig Dis Sci* 2019; 64: 1079-1088 [PMID: 30771043 DOI: 10.1007/s10620-019-05526-5]
- 2 Nardone G, Compare D. The human gastric microbiota: Is it time to rethink the pathogenesis of stomach diseases? *United European Gastroenterol J* 2015; 3: 255-260 [PMID: 26137299 DOI: 10.1177/2050640614566846]
- 3 Delgado S, Cabrera-Rubio R, Mira A, Suárez A, Mayo B. Microbiological survey of the human gastric ecosystem using culturing and pyrosequencing methods. *Microb Ecol* 2013; 65: 763-772 [PMID: 23397369 DOI: 10.1007/s00248-013-0192-5]
- 4 Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F, Perez-Perez G, Blaser MJ, Relman DA. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 732-737 [PMID: 16407106 DOI: 10.1073/pnas.0506655103]
- 5 Li XX, Wong GL, To KF, Wong VW, Lai LH, Chow DK, Lau JY, Sung JJ, Ding C. Bacterial microbiota profiling in gastritis without *Helicobacter pylori* infection or non-steroidal anti-inflammatory drug use. *PLoS One* 2009; 4: e7985 [PMID: 19956741 DOI: 10.1371/journal.pone.0007985]

- 6 Parsons BN, Ijaz UZ, D'Amore R, Burkitt MD, Eccles R, Lenzi L, Duckworth CA, Moore AR, Tizslavicz L, Varro A, Hall N, Pritchard DM. Comparison of the human gastric microbiota in hypochlorhydric states arising as a result of Helicobacter pylori-induced atrophic gastritis, autoimmune atrophic gastritis and proton pump inhibitor use. *PLoS Pathog* 2017; 13: e1006653 [PMID: 29095917 DOI: 10.1371/journal.ppat.1006653]
- 7 Espinoza JL, Matsumoto A, Tanaka H, Matsumura I. Gastric microbiota: An emerging player in Helicobacter pylori-induced gastric malignancies. *Cancer Lett* 2018; 414: 147-152 [PMID: 29138097 DOI: 10.1016/j.canlet.2017.11.009]
- 8 Yao X, Smolka AJ. Gastric Parietal Cell Physiology and Helicobacter pylori-Induced Disease. *Gastroenterology* 2019; 156: 2158-2173 [PMID: 30831083 DOI: 10.1053/j.gastro.2019.02.036]
- 9 Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 449-490 [PMID: 16847081 DOI: 10.1128/CMR.00054-05]
- 10 Backert S, Tegtmeyer N. The versatility of the Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin vacA in signal transduction and molecular crosstalk. *Toxins (Basel)* 2010; 2: 69-92 [PMID: 22069547 DOI: 10.3390/toxins2010069]
- 11 Tegtmeyer N, Neddermann M, Asche CI, Backert S. Subversion of host kinases: a key network in cellular signaling hijacked by Helicobacter pylori CagA. *Mol Microbiol* 2017; 105: 358-372 [PMID: 28508421 DOI: 10.1111/mmi.13707]
- 12 Song X, Xin N, Wang W, Zhao C. Wnt/ β -catenin, an oncogenic pathway targeted by H. pylori in gastric carcinogenesis. *Oncotarget* 2015; 6: 35579-35588 [PMID: 26417932 DOI: 10.18632/oncotarget.5758]
- 13 Liu N, Zhou N, Chai N, Liu X, Jiang H, Wu Q, Li Q. Helicobacter pylori promotes angiogenesis depending on Wnt/ β -catenin-mediated vascular endothelial growth factor via the cyclooxygenase-2 pathway in gastric cancer. *BMC Cancer* 2016; 16: 321 [PMID: 27198692 DOI: 10.1186/s12885-016-2351-9]
- 14 Nakayama M, Hisatsune J, Yamasaki E, Isomoto H, Kurazono H, Hatakeyama M, Azuma T, Yamaoka Y, Yahiro K, Moss J, Hirayama T. Helicobacter pylori VacA-induced inhibition of GSK3 through the PI3K/Akt signaling pathway. *J Biol Chem* 2009; 284: 1612-1619 [PMID: 18996844 DOI: 10.1074/jbc.M806981200]
- 15 Caputo R, Tuccillo C, Manzo BA, Zarrilli R, Tortora G, Blanco Cdel V, Ricci V, Ciardiello F, Romano M. Helicobacter pylori VacA toxin up-regulates vascular endothelial growth factor expression in MKN 28 gastric cells through an epidermal growth factor receptor-, cyclooxygenase-2-dependent mechanism. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2015-2021 [PMID: 12796363]
- 16 Krzysiek-Maczka G, Targosz A, Szczyrk U, Strzałka M, Sliwowski Z, Brzozowski T, Czyz J, Ptak-Belowska A. Role of Helicobacter pylori infection in cancer-associated fibroblast-induced epithelial-mesenchymal transition in vitro. *Helicobacter* 2018; 23: e12538 [PMID: 30246423 DOI: 10.1111/hel.12538]
- 17 Mustapha P, Paris I, Garcia M, Tran CT, Cremniter J, Garnier M, Faure JP, Barthes T, Boneca IG, Morel F, Lecron JC, Burucoa C, Bodet C. Chemokines and antimicrobial peptides have a cag-dependent early response to Helicobacter pylori infection in primary human gastric epithelial cells. *Infect Immun* 2014; 82: 2881-2889 [PMID: 24778119 DOI: 10.1128/IAI.01517-13]
- 18 Llorca L, Pérez-Pérez G, Urruzuno P, Martínez MJ, Izumi T, Gao Z, Sohn J, Chung J, Cox L, Simón-Soro A, Mira A, Alarcón T. Characterization of the Gastric Microbiota in a Pediatric Population According to Helicobacter pylori Status. *Pediatr Infect Dis J* 2017; 36: 173-178 [PMID: 27820723 DOI: 10.1097/INF.0000000000001383]
- 19 Khosravi Y, Dieye Y, Poh BH, Ng CG, Loke MF, Goh KL, Vadivelu J. Culturable bacterial microbiota of the stomach of Helicobacter pylori positive and negative gastric disease patients. *ScientificWorldJournal* 2014; 2014: 610421 [PMID: 25105162 DOI: 10.1155/2014/610421]
- 20 Yin YN, Wang CL, Liu XW, Cui Y, Xie N, Yu QF, Li FJ, Lu FG. Gastric and duodenum microflora analysis after long-term Helicobacter pylori infection in Mongolian Gerbils. *Helicobacter* 2011; 16: 389-397 [PMID: 21923685 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00862.x]
- 21 Osaki T, Matsuki T, Asahara T, Zaman C, Hanawa T, Yonezawa H, Kurata S, Woo TD, Nomoto K, Kamiya S. Comparative analysis of gastric bacterial microbiota in Mongolian gerbils after long-term infection with Helicobacter pylori. *Microb Pathog* 2012; 53: 12-18 [PMID: 22783557]
- 22 Okamoto T, Hayashi Y, Mizuno H, Yanai H, Nishikawa J, Nakazawa T, Iizasa H, Jinushi M, Sakaida I, Yoshiyama H. Colonization of an acid resistant Kingella denitrificans in the stomach may contribute to gastric dysbiosis by Helicobacter pylori. *J Infect Chemother* 2014; 20: 169-174 [PMID: 24462438 DOI: 10.1016/j.jiac.2013.09.007]
- 23 Delgado S, Leite AM, Ruas-Madiedo P, Mayo B. Probiotic and technological properties of Lactobacillus spp. strains from the human stomach in the search for potential candidates against gastric microbial dysbiosis. *Front Microbiol* 2015; 5: 766 [PMID: 25642213 DOI: 10.3389/fmicb.2014.00766]
- 24 Khosravi Y, Dieye Y, Loke MF, Goh KL, Vadivelu J. Streptococcus mitis induces conversion of Helicobacter pylori to coccoid cells during co-culture in vitro. *PLoS One* 2014; 9: e112214 [PMID: 25386948 DOI: 10.1371/journal.pone.0112214]
- 25 Wang X, Ling L, Li S, Qin G, Cui W, Li X, Ni H. The Diagnostic Value of Gastrin-17 Detection in Atrophic Gastritis: A Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95: e3599 [PMID: 27149493 DOI: 10.1097/MD.0000000000003599]
- 26 Salama NR, Hartung ML, Müller A. Life in the human stomach: persistence strategies of the bacterial pathogen Helicobacter pylori. *Nat Rev Microbiol* 2013; 11: 385-399 [PMID: 23652324 DOI: 10.1038/nrmicro3016]
- 27 de Jesus Souza M, de Moraes JA, Da Silva VN, Helal-Neto E, Uberti AF, Scopel-Guerra A, Olivera-Severo D, Carlini CR, Barja-Fidalgo C. Helicobacter pylori urease induces pro-inflammatory effects and differentiation of human endothelial cells: Cellular and molecular mechanism. *Helicobacter* 2019; 24: e12573 [PMID: 30907046 DOI: 10.1111/hel.12573]
- 28 Furuta T, El-Omar EM, Xiao F, Shirai N, Takashima M, Sugimura H. Interleukin 1 β polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan. *Gastroenterology* 2002; 123: 92-105 [PMID: 12105837 DOI: 10.1053/gast.2002.34156]
- 29 Lv YP, Cheng P, Zhang JY, Mao FY, Teng YS, Liu YG, Kong H, Wu XL, Hao CJ, Han B, Ma Q, Yang SM, Chen W, Peng LS, Wang TT, Zou QM, Zhuang Y. Helicobacter pylori-induced matrix metalloproteinase-10 promotes gastric bacterial colonization and gastritis. *Sci Adv* 2019; 5: eaau6547 [PMID: 30949574 DOI: 10.1126/sciadv.aau6547]
- 30 Naito Y, Yoshikawa T. Molecular and cellular mechanisms involved in Helicobacter pylori-induced inflammation and oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 323-336 [PMID: 12126754 DOI: 10.1016/s0891-5849(02)00868-7]
- 31 Yu G, Gail MH, Shi J, Klepac-Ceraj V, Paster BJ, Dye BA, Wang GQ, Wei WQ, Fan JH, Qiao YL, Dawsey SM, Freedman ND, Abnet CC. Association between upper digestive tract microbiota and cancer-predisposing states in the esophagus and stomach. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014; 23: 735-741 [PMID: 24700175 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0855]
- 32 Alarcón T, Llorca L, Perez-Perez G. Impact of the Microbiota and Gastric Disease Development by Helicobacter pylori. *Curr*

- Top Microbiol Immunol* 2017; 400: 253-275 [PMID: 28124157 DOI: 10.1007/978-3-319-50520-6_11]
- 33 Chang WL, Yeh YC, Sheu BS. The impacts of *H. pylori* virulence factors on the development of gastroduodenal diseases. *J Biomed Sci* 2018; 25: 68 [PMID: 30205817 DOI: 10.1186/s12929-018-0466-9]
- 34 Hu Y, He LH, Xiao D, Liu GD, Gu YX, Tao XX, Zhang JZ. Bacterial flora concurrent with *Helicobacter pylori* in the stomach of patients with upper gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1257-1261 [PMID: 22468090 DOI: 10.3748/wjg.v18.i11.1257]
- 35 Zhang XY, Zhang PY, Aboul-Soud MA. From inflammation to gastric cancer: Role of *Helicobacter pylori*. *Oncol Lett* 2017; 13: 543-548 [PMID: 28356927 DOI: 10.3892/ol.2016.5506]
- 36 Hu YL, Pang W, Huang Y, Zhang Y, Zhang CJ. The Gastric Microbiome Is Perturbed in Advanced Gastric Adenocarcinoma Identified Through Shotgun Metagenomics. *Front Cell Infect Microbiol* 2018; 8: 433 [PMID: 30619779 DOI: 10.3389/fcimb.2018.00433]
- 37 von Rosenvinge EC, Song Y, White JR, Maddox C, Blanchard T, Fricke WF. Immune status, antibiotic medication and pH are associated with changes in the stomach fluid microbiota. *ISME J* 2013; 7: 1354-1366 [PMID: 23466701 DOI: 10.1038/ismej.2013.33]
- 38 Amieva M, Peek RM Jr. Pathobiology of *Helicobacter pylori*-Induced Gastric Cancer. *Gastroenterology* 2016; 150: 64-78 [PMID: 26385073 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.09.004]
- 39 Schulz C, Koch N, Schütte K, Pieper DH, Malfertheiner P. *H. pylori* and its modulation of gastrointestinal microbiota. *J Dig Dis* 2015; 16: 109-117 [PMID: 25624012 DOI: 10.1111/1751-2980.12233]
- 40 Dicksved J, Lindberg M, Rosenquist M, Enroth H, Jansson JK, Engstrand L. Molecular characterization of the stomach microbiota in patients with gastric cancer and in controls. *J Med Microbiol* 2009; 58: 509-516 [PMID: 19273648 DOI: 10.1099/jmm.0.007302-0]
- 41 Wang L, Zhou J, Xin Y, Geng C, Tian Z, Yu X, Dong Q. Bacterial overgrowth and diversification of microbiota in gastric cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2016; 28: 261-266 [PMID: 26657453 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000542]
- 42 Eun CS, Kim BK, Han DS, Kim SY, Kim KM, Choi BY, Song KS, Kim YS, Kim JF. Differences in gastric mucosal microbiota profiling in patients with chronic gastritis, intestinal metaplasia, and gastric cancer using pyrosequencing methods. *Helicobacter* 2014; 19: 407-416 [PMID: 25052961 DOI: 10.1111/hel.12145]
- 43 Ferreira RM, Pereira-Marques J, Pinto-Ribeiro I, Costa JL, Carneiro F, Machado JC, Figueiredo C. Gastric microbial community profiling reveals a dysbiotic cancer-associated microbiota. *Gut* 2018; 67: 226-236 [PMID: 29102920 DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314205]
- 44 Abreu MT, Peek RM Jr. Gastrointestinal malignancy and the microbiome. *Gastroenterology* 2014; 146: 1534-1546.e3 [PMID: 24406471 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.01.001]
- 45 Nakamura S, Sugiyama T, Matsumoto T, Iijima K, Ono S, Tajika M, Tari A, Kitadai Y, Matsumoto H, Nagaya T, Kamoshida T, Watanabe N, Chiba T, Origasa H, Asaka M; JAPAN GAST Study Group. Long-term clinical outcome of gastric MALT lymphoma after eradication of *Helicobacter pylori*: a multicentre cohort follow-up study of 420 patients in Japan. *Gut* 2012; 61: 507-513 [PMID: 21890816 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300495]
- 46 Cheung KS, Chan EW, Wong AYS, Chen L, Seto WK, Wong ICK, Leung WK. Aspirin and Risk of Gastric Cancer After *Helicobacter pylori* Eradication: A Territory-Wide Study. *J Natl Cancer Inst* 2018; 110: 743-749 [PMID: 29361002 DOI: 10.1093/jnci/djx267]
- 47 Yu Y, Zhu S, Li P, Min L, Zhang S. *Helicobacter pylori* infection and inflammatory bowel disease: a crosstalk between upper and lower digestive tract. *Cell Death Dis* 2018; 9: 961 [PMID: 30237392 DOI: 10.1038/s41419-018-0982-2]
- 48 Hold GL, Hansen R. Impact of the Gastrointestinal Microbiome in Health and Disease: Co-evolution with the Host Immune System. *Curr Top Microbiol Immunol* 2019; 421: 303-318 [PMID: 31123894 DOI: 10.1007/978-3-030-15138-6_12]
- 49 Blaser MJ. Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. *EMBO Rep* 2006; 7: 956-960 [PMID: 17016449 DOI: 10.1038/sj.embor.7400812]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



MicroRNA-146a生物学作用的研究进展

吴慧, 范恒, 刘星星

吴慧, 华中科技大学同济医学院 湖北省武汉市 430030

范恒, 刘星星, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022

吴慧, 主要从事消化系统疾病研究.

作者贡献分布: 本文综述由吴慧与范恒完成; 刘星星负责校审.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81503416; 国家自然科学基金资助项目, No.81573784.

通讯作者: 刘星星, 讲师, 430022, 湖北省武汉市江汉区解放大道1277号, 华中科技大学附属协和医院中西医结合科. 277258255@qq.com
电话: 027-85726395

收稿日期: 2019-08-07

修回日期: 2019-08-27

接受日期: 2019-09-08

在线出版日期: 2019-09-28

Biological role of microRNA-146a

Hui Wu, Heng Fan, Xing-Xing Liu

Hui Wu, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Heng Fan, Xing-Xing Liu, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81503416 and No. 81573784.

Corresponding author: Xing-Xing Liu, lecturer, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, No. 1277, Jiefang Road, Jiangnan District, Wuhan 430022, Hubei Province, China. 277258255@qq.com

Received: 2019-08-07

Revised: 2019-08-27

Accepted: 2019-09-08

Published online: 2019-09-28

Abstract

MicroRNAs are endogenous single-stranded non-coding small RNAs that specifically bind to target mRNAs to degrade mRNAs or hinder their translation to regulate the expression of target mRNAs at the post-transcriptional level. MicroRNA-146a is involved in a bulk of biological processes and has a variety of biological functions. This article will review several aspects of the role of microRNA-146a, including controlling inflammation, regulating immunity, mediating myeloid cell proliferation, and involvement in tumor occurrence and development.

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

Key Words: MicroRNA-146a; Biological role; Review

Wu H, Fan H, Liu XX. Biological role of microRNA-146a. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1155-1160
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1155.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1155>

摘要

MicroRNA是一种内源性单链非编码小分子RNA, 通过与靶mRNA的特异性结合, 以降解mRNA或阻碍其翻译从而在转录后水平调节靶mRNA的表达. MicroRNA-146a参与机体的多种生物学过程, 具有多种生物学功能. 本文将从其控制炎症反应, 调节免疫, 介导髓样细胞增殖以及肿瘤发生发展等几个方面进行综述.

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

关键词: MicroRNA-146a; 生物学作用; 综述

核心提要: MicroRNA-146a可通过与靶基因mRNA的3'-非翻译区结合, 介导转录抑制和mRNA降解, 在多个信号通路中发挥作用, 与免疫炎症反应、髓性增生、肿瘤、造血等生物过程有着密切联系。

吴慧, 范恒, 刘星星. MicroRNA-146a生物学作用的研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(18): 1155-1160

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1155.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1155>

0 引言

机体的各项生命活动之所以能够正常有序的进行及终止, 这得益于体内各种分子参与其中, 发挥有效的生物学作用. 除蛋白质外, microRNA(miRNA)在生物体维持自身稳态中起着不可或缺的作用, 并逐渐成为研究的热点. 其中, MicroRNA-146a(miR-146a)因为其能够负向调节核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)信号通路, 在控制炎症反应及免疫调节中扮演着重要角色, 而得到众多学者的关注. 通过进一步研究发现, miR-146a同样可以通过不同的分子机制影响骨髓造血稳态的维持及肿瘤形成. 本文将通过参阅文献拟就miR-146a的控制炎症, 调节免疫, 介导髓样细胞增殖及肿瘤的发生发展等几个突出的生物学作用作一综述(图1).

1 miRNAs

miRNAs是一类在进化上保守的内源性非编码小分子RNA, 其大小约19-23核苷酸. 截至目前, 在人体的基因组中已经发现了超过2000种miRNAs^[1]. miRNAs可参与一系列生物过程, 包括细胞分化^[2]、发育^[3]、增殖^[4]、造血^[5]、凋亡^[6]、应激反应^[7]以及免疫功能^[8]的调节. miRNAs的经典合成途径包括两步^[9,10]: 在动物, 首先, miRNA基因的长初级转录物(pri-miRNAs, pri-miR)在胞核中被Drosha加工形成发夹状前体(pre-miRNAs, pre-miR), 然后, Dicer进一步切割被转运至胞质中的pre-miR, 最终形成其成熟形式. 成熟的miRNA参与形成RNA诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)^[11,12], 通过与靶基因mRNA的3'-非翻译区(untranslated region, UTR)结合, 介导转录抑制和mRNA降解^[13]. 目前检测miRNA的方法主要有Northern印迹分析, 微点阵分析和实时定量PCR.

2 miR-146a的生物学作用

miR-146a属于miR-146家族(包括miR-146a和miR-146b). miR-146a和miR-146b分别位于人染色体组的5号和10号染色体上, 二者成熟序列的区别仅表现为在3'端相差2

个核苷酸. miR-146a广泛表达于免疫系统, 并且, 通常在前体细胞其表达量低, 而随着细胞成熟及活化后其表达上调^[14].

2.1 miR-146a与免疫炎症反应 miR-146a前体形成是一个NF- κ B转录活性依赖过程^[15], 而 miR-146a又被证明能反过来影响NF- κ B通路, 从而形成一个环形调节通路. 启动子分析显示miR-146a的启动子区含有两个NF- κ B共有序列, 这两个序列是脂多糖(lipopolysaccharides, LPS), 白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β), 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等炎症刺激诱导下miR-146a基因转录活化中必不可少的. 病毒感染刺激引起的miR-146a诱导表达同样依赖于NF- κ B信号通路^[16].

研究显示, 类风湿性关节炎^[17], 银屑病^[18], 干燥综合征^[19], 以及系统性红斑狼疮^[20]等多种自身免疫性疾病中miR-146a的表达存在异常. Boldin等^[21]证实miR-146a主要表达在免疫组织, 在免疫细胞成熟和/或活化时其表达上调. miR-146a基因敲除小鼠会表现出一些免疫相关的表型, 且该改变与miR-146a的表达位置密切相关. miR-146a基因缺陷的巨噬细胞对细菌LPS刺激有更强的反应性; 在miR-146a基因敲除小鼠表现为内毒素刺激会诱导出较野生型小鼠更为严重的炎症反应. 并且, 过表达miR-146a可逆转这些敲除所引起的异常反应. 随着年龄的增长, miR-146a缺陷小鼠会自发出现自身免疫系统紊乱, 具体表现为脾大、淋巴结肿大及早死^[21,22]. 严重的组织炎症, 细胞因子产量基础水平升高和自身抗体滴度增高也都反映了小鼠由于基因敲除引起的自身免疫性疾病. 巨噬细胞对病原体的高反应性, 外周效应T细胞对自身组织成分的反应性^[21], 以及Tregs细胞功能不良^[23], 等细胞异常导致上述miR-146a缺陷遗传背景下自身免疫性疾病的发生.

无论体内还是体外条件下, miR-146a异常表达或者通过miR-146a模拟物过表达均可降低促炎细胞因子的表达水平, 减轻细菌或病毒刺激引起的炎症反应^[24,25]. 已有的研究表明, miR-146a在内毒素耐受这一过程中起到了重要作用^[26,27]. 1947年已有实验室证明暴露于亚致死剂量LPS会造成细胞暂时性低反应性, 即细胞所产生的炎症介质较未处理细胞更低. 这种对LPS低反应性状态使细胞在紧接着的二次致死剂量的LPS作用下受到一定保护作用. 其原因在于, 一方面miR-146a可促进RelB与促炎因子如TNF启动子的结合以阻碍其表达; 另一方面miR-146a可使RISC募集至TNF的RNA转录物从而促进TNF在转录水平的抑制. 实验证明miR-146a可通过抑制TLR4下游通路中的IRAK1和TRAF6活性来减轻免疫炎症反应所引起的肝移植损伤^[28]. 最新研究报道, miR-146a

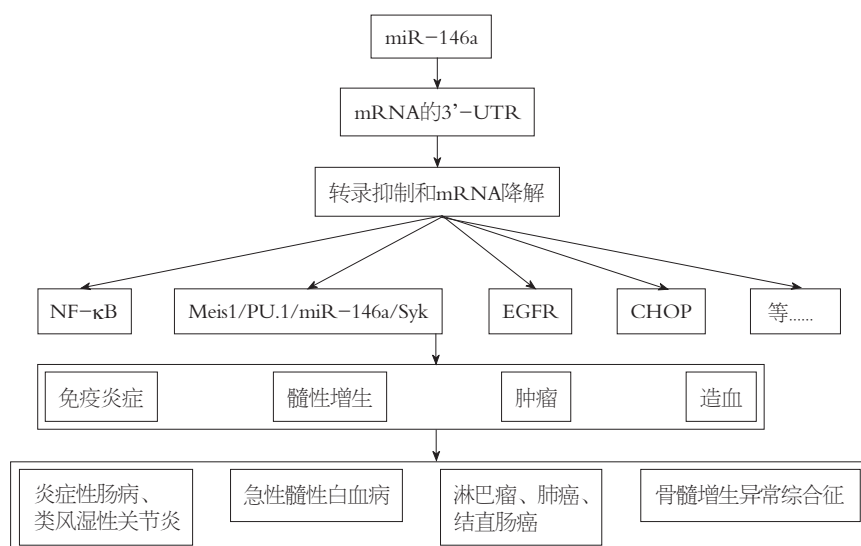


图 1 miR-146a作用机制简略图。

通过负向调节TLR4/NF-κB信号通路来抑制类风湿性关节炎成纤维细胞样滑膜细胞增殖及炎症反应^[29]。

2.2 MiR-146a与髓性增生 在不少研究中观察到, miR-146a缺失会导致进行性髓样增生, 在脾脏以CD11b+GR1+幼稚细胞增生为主, 在骨髓则主要是CD11b+前体细胞, 通过特异性敲除NF-κB的p50亚基可有效抑制上述病理进程, 从侧面证实这种髓样增生与NF-κB通路有着密切关系^[21,30]。进一步的研究则证明, NF-κB信号通路上游的miR-146a-Traf6轴参与了髓细胞的异常增殖改变^[22]。Li等^[31]通过体内体外实验发现, miR-146a在巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, G-CSF)影响下表达上调, 进而抑制其下游分子CXCR4和Smad4, 抑制白血病细胞转移, 促进白血病细胞进入细胞周期, 改善老年急性髓性白血病患者的预后。另一方面, Mohr等^[32]利用多基因改造及多组学技术明确了miR-146a参与Hoxa9和Meis1基因融合背景下, Meis1/PU.1/miR-146a/Syk通路介导的以过度增殖、分化停滞及凋亡异常为特征的急性髓性白血病(acute myeloid leukemia, AML)的发病, 使以Syk为靶点的成药性研究及AML治疗突破成为可能。

2.3 miR-146a与肿瘤 在多种恶性肿瘤中可观察到miR-146a表达异常, 进一步探索发现, miR-146a可能参与抑制肿瘤转移^[33-35]。经分析, 胃癌^[36], 宫颈癌^[37], 及甲状腺癌^[38]均存在miR-146a表达下调。Contreras等^[39]人通过转基因技术及高通量测序等方法发现原癌基因c-Myc过表达同时伴随miR-146a缺陷将导致侵袭性更强的肿瘤形成, 其深层原因在于由于miR-146a被敲除及c-Myc过表达对miR-146a产生的抑制作用而引起miR-146a表达下调, 继而造成miR-146a下游的基因异常表达。靶基因

预测算法和荧光素酶报告实验证明miR-146a可通过抑制垂体瘤转化基因1的表达和活性, 进而抑制膀胱癌的迁移, 侵袭, 转移和生长^[40]。此外, 一项meta分析显示, 高表达miR-146a-5p的实体瘤肿瘤患者往往能有更好的预后, 尤其是生殖和消化系统肿瘤^[41]。

2.3.1 淋巴瘤: NKT细胞淋巴瘤(natural killer/T-cell lymphoma, NKTCL)是一种罕见而侵袭性强的非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma, NHL), 属于的B细胞淋巴瘤一种。NF-κB构成性活化是许多造血系统肿瘤及实体瘤的一个标志性改变^[42,43]。Alizadeh等^[44]亦证实B细胞淋巴瘤与NF-κB构成性活化密切相关。miR-146a作为NF-κB信号通路的负向调节分子, 该小RNA的表达缺失可能是B细胞恶性肿瘤的病理机制之一。NKTCL组织和SNK6、YT肿瘤细胞系中miR-146a异常低表达, miR-146a启动子表现出过度的甲基化, 应用去甲基化制剂可上调miR-146a表达; 过表达miR-146a通过抑制肿瘤坏死因子受体相关因子6(TNF receptor-associated factor 6, TRAF6), 下调NF-κB活性, 也可抑制细胞增殖, 诱导凋亡并增强肿瘤细胞化疗敏感性^[45]。这提示, miR-146a在此型淋巴瘤的发病中有着不可忽视的意义。临床数据表明, miR-146a低表达是预后不良的独立危险因素^[46]。另一种NHL即弥漫性大B细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)中, miR-146a在外泌体中的表达水平要明显高于血浆, 这为外泌体来源的miR-146a作为DLBCL治疗反应性和复发风险的生物学指标提供了可靠依据^[47]。

2.3.2 肺癌: miR-146a表达异常在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中也同样存在。体外实验显示, miR-146a抑制表皮生长因子受体(epidermal growth factor

receptor, EGFR)和NF- κ B信号通路, 抑制肿瘤细胞生长, 诱导凋亡, 降低其迁移能力^[48]. 临床肺肿瘤组织样本检测发现, miR-146a低表达与晚期TNM分期和NSCLC远处转移相关. 而肿瘤组织高表达miR-146a的患者表现出无进展带瘤存活时间更长. miR-146a除了通过调节上述两条通路参与NSCLC发病, 其下游分子肿瘤胶原酶刺激因子(tumor collagenase stimulatory factor, TCSF)亦可通过影响细胞活性、增殖及凋亡介导NSCLC的病理进程^[49]. 另一项研究则证实, 肺癌中miR-146a异常表达对细胞的生长不会产生影响, 但可通过下调DNA损伤诱导转录因子3(DNA damage inducible transcript 3, DDIT3/CHOP)影响自噬及凋亡相关基因, 最终导致肺肿瘤细胞的耐药性增加, 易复发, 提示着较差的预后^[50]. 虽然不同研究结果略显矛盾, 但这也反映miR-146a参与多种生物过程, 在肺癌中发挥着复杂的作用.

2.3.3 结直肠癌: Lu等^[51]发现miR-146a-5p在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中异常高表达, 并促进CRC细胞的转移. 具体机制涉及高表达的miR-146a-5p下调羧肽酶(carboxypeptidase M, CPM), 进而上调Src和FAK表达, 从而促进肿瘤细胞的侵袭和转移. 在基因表达芯片和miRNA分析等技术的辅助下, Bleau等^[52]则证明了miR-146a可阻碍下游原癌基因c-met翻译, 抑制CRC肝转移, 抑制肿瘤发生. 一项大样本病例对照研究显示, miR-146a+60位点处存在的C-G基因多态现象(rs2910164)可能会降低中国人群中不吸烟者及不饮酒者罹患CRC的风险^[53]. 对miR-146a表达量的影响可能是miR-146a基因多态性与CRC关系的主要影响因素. 由此可见, miR-146a基因型及表达量对CRC的发生发展及预后有着深远影响.

2.3.4 miR-146a与造血: 报道显示miR-146a在造血干细胞稳态维持及骨髓生成方面发挥着重要作用^[54]. 随着衰老进程, miR-146a基因敲除小鼠逐渐发展为以全血细胞减少及骨髓纤维化为主要表现的骨髓造血功能衰竭^[50]. 而骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)及急性髓性白血病患者显示也存在miR-146a低表达^[55]. Varney等^[56]同时还发现miR-146a被认为是人类染色体5q上可能的单倍体不足基因, 介导MDS的常见亚型即5q-综合征. MDS及再生障碍性贫血中进展性的全血细胞减少被认为是正常的造血干细胞微环境遭到破坏^[57]. 转导淋巴细胞活化分子系统发现miR-146a基因敲除小鼠骨髓中的长期造血干细胞显著减少, 并进一步证实miR-146a介导的骨髓T细胞来源的IFN- γ 在模型鼠造血微环境破坏中起到了至关重要的作用^[22].

3 结论

miR-146a调控下游基因表达的多样性和复杂性, 反映了

其可参与机体多个生物过程, 发挥着重要的生物学作用. 而miR-146a在不同疾病模型中表达水平各异, 所介导的信号通路和所造成的最终结局也不尽相同. 是疾病或病理过程中确实发生的基因、蛋白等水平差异表达, 而得到相异的结论, 还是在现有的实验条件及实验水平下, 实验设计缺陷等其他干扰因素造成, 目前尚未有一致的定论. 因此, 有必要不断完善研究, 以进一步明确miR-146a生物学作用, 尤其是在各种疾病及病理过程的作用. 随着对其在生物体内功能的进一步探索, 将会为免疫炎症肿瘤等方面疾病的诊断、治疗及预后判断提供新思路.

4 参考文献

- 1 Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: D68-D73 [PMID: 24275495 DOI: 10.1093/nar/gkt1181]
- 2 Liang B, Chen Y, Yuan W, Qin F, Zhang Q, Deng N, Liu X, Ma X, Zhang X, Zhang B, Deng Q, Huang M, Tang H, Liu L, Chen W, Xiao Y. Down-regulation of miRNA-451a and miRNA-486-5p involved in benzene-induced inhibition on erythroid cell differentiation in vitro and in vivo. *Arch Toxicol* 2018; 92: 259-272 [PMID: 28733890 DOI: 10.1007/s00204-017-2033-7]
- 3 Kumar Kingsley SM, Vishnu Bhat B. Role of MicroRNAs in the development and function of innate immune cells. *Int Rev Immunol* 2017; 36: 154-175 [PMID: 28471289 DOI: 10.1080/08830185.2017.1284212]
- 4 Yao C, Sun M, Yuan Q, Niu M, Chen Z, Hou J, Wang H, Wen L, Liu Y, Li Z, He Z. MiRNA-133b promotes the proliferation of human Sertoli cells through targeting GLI3. *Oncotarget* 2016; 7: 2201-2219 [PMID: 26755652 DOI: 10.18632/oncotarget.6876]
- 5 Jia W, Liang D, Li N, Liu M, Dong Z, Li J, Dong X, Yue Y, Hu P, Yao J, Zhao Q. Zebrafish microRNA miR-210-5p inhibits primitive myelopoiesis by silencing *foxj1b* and *slc3a2a* mRNAs downstream of *gata4/5/6* transcription factor genes. *J Biol Chem* 2019; 294: 2732-2743 [PMID: 30593510 DOI: 10.1074/jbc.RA118.005079]
- 6 Ihle MA, Trautmann M, Kuenstlinger H, Huss S, Heydt C, Fassunke J, Wardelmann E, Bauer S, Schildhaus HU, Buettner R, Merkelbach-Bruse S. miRNA-221 and miRNA-222 induce apoptosis via the KIT/AKT signalling pathway in gastrointestinal stromal tumours. *Mol Oncol* 2015; 9: 1421-1433 [PMID: 25898773 DOI: 10.1016/j.molonc.2015.03.013]
- 7 Megha S, Basu U, Kav NNV. Regulation of low temperature stress in plants by microRNAs. *Plant Cell Environ* 2018; 41: 1-15 [PMID: 28346818 DOI: 10.1111/pce.12956]
- 8 Murer A, Rühl J, Zbinden A, Capaul R, Hammerschmidt W, Chijioko O, Münz C. MicroRNAs of Epstein-Barr Virus Attenuate T-Cell-Mediated Immune Control *In Vivo*. *MBio* 2019; 10 [PMID: 30647153 DOI: 10.1128/mBio.01941-18]
- 9 Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet* 2010; 11: 597-610 [PMID: 20661255 DOI: 10.1038/nrg2843]
- 10 Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10: 126-139 [PMID: 19165215 DOI: 10.1038/nrm2632]
- 11 Kawamata T, Tomari Y. Making RISC. *Trends Biochem Sci* 2010; 35: 368-376 [PMID: 20395147 DOI: 10.1016/j.tibs.2010.03.009]
- 12 Ameres SL, Zamore PD. Diversifying microRNA sequence and function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14: 475-488 [PMID: 23441111 DOI: 10.1038/nrm3632]

- 23800994 DOI: 10.1038/nrm3611]
- 13 Iwakawa HO, Tomari Y. The Functions of MicroRNAs: mRNA Decay and Translational Repression. *Trends Cell Biol* 2015; 25: 651-665 [PMID: 26437588 DOI: 10.1016/j.tcb.2015.07.011]
 - 14 Starczynowski DT, Kuchenbauer F, Wegrzyn J, Rouhi A, Petriv O, Hansen CL, Humphries RK, Karsan A. MicroRNA-146a disrupts hematopoietic differentiation and survival. *Exp Hematol* 2011; 39: 167-178.e4 [PMID: 20933052 DOI: 10.1016/j.exphem.2010.09.011]
 - 15 Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 12481-12486 [PMID: 16885212 DOI: 10.1073/pnas.0605298103]
 - 16 Heinz S, Glass CK. Roles of lineage-determining transcription factors in establishing open chromatin: lessons from high-throughput studies. *Curr Top Microbiol Immunol* 2012; 356: 1-15 [PMID: 21744305 DOI: 10.1007/82_2011_142]
 - 17 Singh A, Patro PS, Aggarwal A. MicroRNA-132, miR-146a, and miR-155 as potential biomarkers of methotrexate response in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2019; 38: 877-884 [PMID: 30511295 DOI: 10.1007/s10067-018-4380-z]
 - 18 Mensà E, Recchioni R, Marcheselli F, Giuliodori K, Consales V, Molinelli E, Praticchizzo F, Rippon MR, Campanati A, Procopio AD, Olivieri F, Offidani AM. MiR-146a-5p correlates with clinical efficacy in patients with psoriasis treated with the tumour necrosis factor-alpha inhibitor adalimumab. *Br J Dermatol* 2018; 179: 787-789 [PMID: 29624637 DOI: 10.1111/bjd.16659]
 - 19 Wang-Renault SF, Boudaoud S, Nocturne G, Roche E, Sigrist N, Daviaud C, Bugge Tinggaard A, Renault V, Deleuze JF, Mariette X, Tost J. Deregulation of microRNA expression in purified T and B lymphocytes from patients with primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2018; 77: 133-140 [PMID: 28916716 DOI: 10.1136/annrheumdis-2017-211417]
 - 20 Shumnalieva R, Kachakova D, Shoumnalieva-Ivanova V, Miteva P, Kaneva R, Monov S. Whole peripheral blood miR-146a and miR-155 expression levels in Systemic lupus erythematosus patients. *Acta Reumatol Port* 2018; 43: 217-225 [PMID: 30414370]
 - 21 Boldin MP, Taganov KD, Rao DS, Yang L, Zhao JL, Kalwani M, Garcia-Flores Y, Luong M, Devrekanli A, Xu J, Sun G, Tay J, Linsley PS, Baltimore D. miR-146a is a significant brake on autoimmunity, myeloproliferation, and cancer in mice. *J Exp Med* 2011; 208: 1189-1201 [PMID: 21555486 DOI: 10.1084/jem.20101823]
 - 22 Magilnick N, Reyes EY, Wang WL, Vonderfecht SL, Gohda J, Inoue JJ, Boldin MP. miR-146a-Traf6 regulatory axis controls autoimmunity and myelopoiesis, but is dispensable for hematopoietic stem cell homeostasis and tumor suppression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017; 114: E7140-E7149 [PMID: 28784800 DOI: 10.1073/pnas.1706833114]
 - 23 Lu LF, Boldin MP, Chaudhry A, Lin LL, Taganov KD, Hanada T, Yoshimura A, Baltimore D, Rudensky AY. Function of miR-146a in controlling Treg cell-mediated regulation of Th1 responses. *Cell* 2010; 142: 914-929 [PMID: 20850013 DOI: 10.1016/j.cell.2010.08.012]
 - 24 Hou J, Wang P, Lin L, Liu X, Ma F, An H, Wang Z, Cao X. MicroRNA-146a feedback inhibits RIG-I-dependent Type I IFN production in macrophages by targeting TRAF6, IRAK1, and IRAK2. *J Immunol* 2009; 183: 2150-2158 [PMID: 19596990 DOI: 10.4049/jimmunol.0900707]
 - 25 Bai X, Zhang J, Cao M, Han S, Liu Y, Wang K, Han F, Li X, Jia Y, Wang X, Shi J, Hu D. MicroRNA-146a protects against LPS-induced organ damage by inhibiting Notch1 in macrophage. *Int Immunopharmacol* 2018; 63: 220-226 [PMID: 30103197 DOI: 10.1016/j.intimp.2018.07.040]
 - 26 Dai Y, Jia P, Fang Y, Liu H, Jiao X, He JC, Ding X. miR-146a is essential for lipopolysaccharide (LPS)-induced cross-tolerance against kidney ischemia/reperfusion injury in mice. *Sci Rep* 2016; 6: 27091 [PMID: 27250735 DOI: 10.1038/srep27091]
 - 27 El Gazzar M, Church A, Liu T, McCall CE. MicroRNA-146a regulates both transcription silencing and translation disruption of TNF- α during TLR4-induced gene reprogramming. *J Leukoc Biol* 2011; 90: 509-519 [PMID: 21562054 DOI: 10.1189/jlb.0211074]
 - 28 Jiang W, Ni Q, Tan L, Kong L, Lu Y, Xu X, Kong L. The microRNA-146a/b attenuates acute small-for-size liver graft injury in rats. *Liver Int* 2015; 35: 914-924 [PMID: 25156638 DOI: 10.1111/liv.12674]
 - 29 Liu W, Wu YH, Zhang L, Xue B, Wang Y, Liu B, Liu XY, Zuo F, Yang XY, Chen FY, Duan R, Cai Y, Zhang B, Ji Y. MicroRNA-146a suppresses rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes proliferation and inflammatory responses by inhibiting the TLR4/NF-kB signaling. *Oncotarget* 2018; 9: 23944-23959 [PMID: 29844864 DOI: 10.18632/oncotarget.24050]
 - 30 Zhao JL, Rao DS, Boldin MP, Taganov KD, O'Connell RM, Baltimore D. NF-kappaB dysregulation in microRNA-146a-deficient mice drives the development of myeloid malignancies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 9184-9189 [PMID: 21576471 DOI: 10.1073/pnas.1105398108]
 - 31 Li X, Xu L, Sheng X, Cai J, Liu J, Yin T, Xiao F, Chen F, Zhong H. Upregulated microRNA-146a expression induced by granulocyte colony-stimulating factor enhanced low-dosage chemotherapy response in aged acute myeloid leukemia patients. *Exp Hematol* 2018; 68: 66-79.e3 [PMID: 30208330 DOI: 10.1016/j.exphem.2018.09.002]
 - 32 Mohr S, Doebele C, Comoglio F, Berg T, Beck J, Bohnenberger H, Alexe G, Corso J, Ströbel P, Wachter A, Beissbarth T, Schnütgen F, Cremer A, Haetscher N, Göllner S, Rouhi A, Palmqvist L, Rieger MA, Schroeder T, Bönig H, Müller-Tidow C, Kuchenbauer F, Schütz E, Green AR, Urlaub H, Stegmaier K, Humphries RK, Serve H, Oellerich T. Hoxa9 and Meis1 Cooperatively Induce Addiction to Syk Signaling by Suppressing miR-146a in Acute Myeloid Leukemia. *Cancer Cell* 2017; 31: 549-562.e11 [PMID: 28399410 DOI: 10.1016/j.ccell.2017.03.001]
 - 33 Labbaye C, Testa U. The emerging role of MIR-146A in the control of hematopoiesis, immune function and cancer. *J Hematol Oncol* 2012; 5: 13 [PMID: 22453030 DOI: 10.1186/1756-8722-5-13]
 - 34 Rusca N, Monticelli S. MiR-146a in Immunity and Disease. *Mol Biol Int* 2011; 2011: 437301 [PMID: 22091404 DOI: 10.4061/2011/437301]
 - 35 Yao Q, Cao Z, Tu C, Zhao Y, Liu H, Zhang S. MicroRNA-146a acts as a metastasis suppressor in gastric cancer by targeting WASF2. *Cancer Lett* 2013; 335: 219-224 [PMID: 23435376 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.02.031]
 - 36 Hou Z, Xie L, Yu L, Qian X, Liu B. MicroRNA-146a is down-regulated in gastric cancer and regulates cell proliferation and apoptosis. *Med Oncol* 2012; 29: 886-892 [PMID: 21347720 DOI: 10.1007/s12032-011-9862-7]
 - 37 Yue C, Wang M, Ding B, Wang W, Fu S, Zhou D, Zhang Z, Han S. Polymorphism of the pre-miR-146a is associated with risk of cervical cancer in a Chinese population. *Gynecol Oncol* 2011; 122: 33-37 [PMID: 21529907 DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.03.032]
 - 38 Jazdzewski K, Murray EL, Franssila K, Jarzab B, Schoenberg DR, de la Chapelle A. Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 7269-7274 [PMID: 18474871 DOI: 10.1073/pnas.0802682105]
 - 39 Contreras JR, Palanichamy JK, Tran TM, Fernando TR,

- Rodriguez-Malave NI, Goswami N, Arboleda VA, Casero D, Rao DS. MicroRNA-146a modulates B-cell oncogenesis by regulating Egr1. *Oncotarget* 2015; 6: 11023-11037 [PMID: 25906746 DOI: 10.18632/oncotarget.3433]
- 40 Xiang W, Wu X, Huang C, Wang M, Zhao X, Luo G, Li Y, Jiang G, Xiao X, Zeng F. PTTG1 regulated by miR-146a-3p promotes bladder cancer migration, invasion, metastasis and growth. *Oncotarget* 2017; 8: 664-678 [PMID: 27893422 DOI: 10.18632/oncotarget.13507]
- 41 Li MW, Gao L, Dang YW, Li P, Li ZY, Chen G, Luo DZ. Protective potential of miR-146a-5p and its underlying molecular mechanism in diverse cancers: a comprehensive meta-analysis and bioinformatics analysis. *Cancer Cell Int* 2019; 19: 167 [PMID: 31285693 DOI: 10.1186/s12935-019-0886-y]
- 42 Bosman MC, Schuringa JJ, Vellenga E. Constitutive NF- κ B activation in AML: Causes and treatment strategies. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016; 98: 35-44 [PMID: 26490297 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2015.10.001]
- 43 Pham LV, Tamayo AT, Yoshimura LC, Lin-Lee YC, Ford RJ. Constitutive NF-kappaB and NFAT activation in aggressive B-cell lymphomas synergistically activates the CD154 gene and maintains lymphoma cell survival. *Blood* 2005; 106: 3940-3947 [PMID: 16099873 DOI: 10.1182/blood-2005-03-1167]
- 44 Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, Boldrick JC, Sabet H, Tran T, Yu X, Powell JL, Yang L, Marti GE, Moore T, Hudson J Jr, Lu L, Lewis DB, Tibshirani R, Sherlock G, Chan WC, Greiner TC, Weisenburger DD, Armitage JO, Warnke R, Levy R, Wilson W, Grever MR, Byrd JC, Botstein D, Brown PO, Staudt LM. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; 403: 503-511 [PMID: 10676951 DOI: 10.1038/35000501]
- 45 Paik JH, Jang JY, Jeon YK, Kim WY, Kim TM, Heo DS, Kim CW. MicroRNA-146a downregulates NF κ B activity via targeting TRAF6 and functions as a tumor suppressor having strong prognostic implications in NK/T cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 4761-4771 [PMID: 21610143 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0494]
- 46 Mei M, Zhang M. Non-coding RNAs in Natural Killer/T-Cell Lymphoma. *Front Oncol* 2019; 9: 515 [PMID: 31263681 DOI: 10.3389/fonc.2019.00515]
- 47 Zare N, Eskandari N, Mehrzad V, Javanmard SH. The expression level of hsa-miR-146a-5p in plasma-derived exosomes of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Res Med Sci* 2019; 24: 10 [PMID: 30988678 DOI: 10.4103/jrms.JRMS_507_18]
- 48 Chen G, Umelo IA, Lv S, Teugels E, Fostier K, Kronenberger P, Dewaele A, Sadones J, Geers C, De Grève J. miR-146a inhibits cell growth, cell migration and induces apoptosis in non-small cell lung cancer cells. *PLoS One* 2013; 8: e60317 [PMID: 23555954 DOI: 10.1371/journal.pone.0060317]
- 49 Huang WT, He RQ, Li XJ, Ma J, Peng ZG, Zhong JC, Hu XH, Chen G. miR-146a-5p targets TCSF and influences cell growth and apoptosis to repress NSCLC progression. *Oncol Rep* 2019; 41: 2226-2240 [PMID: 30816543 DOI: 10.3892/or.2019.7030]
- 50 Tan W, Liao Y, Qiu Y, Liu H, Tan D, Wu T, Tang M, Zhang S, Wang H. miRNA 146a promotes chemotherapy resistance in lung cancer cells by targeting DNA damage inducible transcript 3 (CHOP). *Cancer Lett* 2018; 428: 55-68 [PMID: 29702190 DOI: 10.1016/j.canlet.2018.04.028]
- 51 Lu D, Yao Q, Zhan C, Le-Meng Z, Liu H, Cai Y, Tu C, Li X, Zou Y, Zhang S. MicroRNA-146a promote cell migration and invasion in human colorectal cancer via carboxypeptidase M/src-FAK pathway. *Oncotarget* 2017; 8: 22674-22684 [PMID: 28186967 DOI: 10.18632/oncotarget.15158]
- 52 Bleau AM, Redrado M, Nistal-Villan E, Villalba M, Exposito F, Redin E, de Aberasturi AL, Larzabal L, Freire J, Gomez-Roman J, Calvo A. miR-146a targets c-met and abolishes colorectal cancer liver metastasis. *Cancer Lett* 2018; 414: 257-267 [PMID: 29133238 DOI: 10.1016/j.canlet.2017.11.008]
- 53 Ma L, Zhu L, Gu D, Chu H, Tong N, Chen J, Zhang Z, Wang M. A genetic variant in miR-146a modifies colorectal cancer susceptibility in a Chinese population. *Arch Toxicol* 2013; 87: 825-833 [PMID: 23306950 DOI: 10.1007/s00204-012-1004-2]
- 54 Zhao JL, Starczynowski DT. Role of microRNA-146a in normal and malignant hematopoietic stem cell function. *Front Genet* 2014; 5: 219 [PMID: 25071842 DOI: 10.3389/fgene.2014.00219]
- 55 Wang Y, Li Z, He C, Wang D, Yuan X, Chen J, Jin J. MicroRNAs expression signatures are associated with lineage and survival in acute leukemias. *Blood Cells Mol Dis* 2010; 44: 191-197 [PMID: 20110180 DOI: 10.1016/j.bcmd.2009.12.010]
- 56 Varney ME, Niederkorn M, Konno H, Matsumura T, Gohda J, Yoshida N, Akiyama T, Christie S, Fang J, Miller D, Jerez A, Karsan A, Maciejewski JP, Meetei RA, Inoue J, Starczynowski DT. Loss of Tifab, a del(5q) MDS gene, alters hematopoiesis through derepression of Toll-like receptor-TRAF6 signaling. *J Exp Med* 2015; 212: 1967-1985 [PMID: 26458771 DOI: 10.1084/jem.20141898]
- 57 Zhao JL, Rao DS, O'Connell RM, Garcia-Flores Y, Baltimore D. MicroRNA-146a acts as a guardian of the quality and longevity of hematopoietic stem cells in mice. *Elife* 2013; 2: e00537 [PMID: 23705069 DOI: 10.7554/eLife.00537]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



经导管肝动脉化疗栓塞术后原发性肝细胞癌残留状态的增强CT与超声造影比较

黄浩峰, 庞强

黄浩峰, 浙江省嘉善县中医医院放射科 浙江省嘉兴市 314100

庞强, 浙江省肿瘤医院放射科 浙江省杭州市 310022

黄浩峰, 主治医师, 研究方向为放射诊断。

作者贡献分布: 此课题由黄浩峰设计; 研究过程由黄浩峰与庞强共同操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由庞强提供; 数据分析与论文写作由黄浩峰完成。

通讯作者: 黄浩峰, 主治医师, 314100, 浙江省嘉兴市嘉善县魏塘街道顾家埭38号, 浙江省嘉善县中医医院放射科. huanghaofeng201555@163.com
电话: 0573-89106776

收稿日期: 2019-06-06

修回日期: 2019-08-12

接受日期: 2019-09-08

在线出版日期: 2019-09-28

Comparison of contrast-enhanced CT and contrast-enhanced ultrasound for assessing residual status of primary hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization

Hao-Feng Huang, Qiang Pang

Hao-Feng Huang, Department of Radiology, Zhejiang Jiashan Traditional Chinese Medical Hospital, Jiaxing 314100, Zhejiang Province, China

Qiang Pang, Department of Radiology, Zhejiang Tumor Hospital, Hangzhou 310022, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Hao-Feng Huang, Chief Physician, Department of Radiology, Zhejiang Jiashan traditional Chinese Medical Hospital, No. 38, Gujiaduo, Weitang Street, Jiashan County, Jiaxing 314100, Zhejiang Province, China. huanghaofeng201555@163.com

Received: 2019-06-06

Revised: 2019-08-12

Accepted: 2019-09-08

Published online: 2019-09-28

Abstract BACKGROUND

Transcatheter arterial chemoembolization (TACE) can inactivate tumors by embolizing the main blood supply arteries of tumors through selectively inserting microcatheters into the arteries and injecting chemotherapy drugs. Effective TACE treatment will inevitably lead to changes of the microcirculation perfusion state of tumors. Contrast-enhanced ultrasound can accurately reflect the perfusion process of tumors to accurately evaluate the efficacy of TACE.

AIM

To evaluate the clinical value of contrast-enhanced CT (CECT) and contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in determining the residual status of hepatocellular carcinoma (HCC) after TACE.

METHODS

Seventy-one HCC patients with a total of 125 lesions who underwent TACE were selected as study subjects during September 2016 and March 2019. One month after TACE, all patients were examined by CEUS and CECT. The results of digital subtraction angiography (DSA) were used as the "gold standard" to compare the value of CEUS and CECT in evaluating the efficacy of TACE.

RESULTS

DSA found 97 residual lesions and 28 non-residual lesions. The accuracy, sensitivity, and specificity of CEUS in determining residual lesions were 96.00%, 96.91%, and 92.86%, respectively, and the corresponding values for CECT were 88.00%, 87.63%, and 89.29%. The sensitivity

and accuracy of CEUS in determining residual lesions were higher than those of CECT ($P < 0.05$).

CONCLUSION

CEUS can show the blood perfusion status of HCC after TACE, and is superior to CECT in determining residual lesions, thus providing a new and effective method for clinical evaluation of the efficacy of TACE.

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

Key Words: Contrast-enhanced ultrasound; Transcatheter arterial chemoembolization; Hepatocellular carcinoma; Residual

Huang HF, Pang Q. Comparison of contrast-enhanced CT and contrast-enhanced ultrasound for assessing residual status of primary hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1161-1166
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1161.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1161>

摘要 背景

经导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是通过微导管选择性插入至肿瘤主要供血动脉后, 栓塞动脉及注入化疗药物使肿瘤发生缺血坏死, 从而发挥灭活肿瘤作用。有效的TACE治疗势必引起肿瘤微循环血流灌注状态改变, 而超声造影能准确反映肿瘤组织的血流灌注过程, 从而实现TACE疗效的准确评估。

目的

探讨运用增强CT(contrast-enhanced CT, CECT)、超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)判定TACE术后原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)残留状态的临床应用价值。

方法

选取2016-09/2019-03期间, 在浙江省肿瘤医院行TACE术治疗的71例患者作为研究对象, 共125个病灶。所有患者TACE术后1 mo均行CEUS、CECT检查, 以同期数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)检查结果作为“金标准”, 比较CEUS与CECT在评估TACE疗效中的应用价值。

结果

DSA发现病灶残留97个, 无残留28个; CEUS判定病灶残留的准确度、灵敏度、特异度分别为96.00%、96.91%、92.86%; CECT判定病灶残留的准确度、灵敏度、特异度分别88.00%、87.63%、89.29%; CEUS判定病灶残留的准确度、灵敏度均高于CECT, 差异

有统计学意义($P < 0.05$)。

结论

CEUS能显示TACE术后HCC病灶组织的血流灌注状态, 在判定病灶残留方面优于CECT, 可为临床评估TACE术后疗效提供新的有效手段。

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

关键词: 超声造影; 经导管肝动脉化疗栓塞术; 原发性肝癌; 残留

核心提要: 临床常采用影像学方法评估经导管肝动脉化疗栓塞术对肝癌的治疗效果, 而超声造影能实时反映病灶的微循环血流灌注全过程, 对病灶是否存在残留具有较高的甄别能力。

黄浩峰, 庞强. 经导管肝动脉化疗栓塞术后原发性肝癌残留状态的增强CT与超声造影比较. *世界华人消化杂志* 2019; 27(18): 1161-1166
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1161.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1161>

0 引言

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是发生于肝细胞的肝脏恶性肿瘤, 在我国有着较高发病率及病死率, 其恶性程度高、进展速度快、起病隐匿, 导致大部分患者被确诊时已经处于中晚期, 错过手术切除治疗最佳时机, 而只能行非手术治疗^[1]。目前, 经导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是临床非手术治疗HCC的重要方法之一^[2]。准确评估TACE术后病灶是否残留, 对病情判断, 指导临床制定下一步治疗方案具有重要意义。本研究运用超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)判定TACE术后HCC病灶残留状态, 并与增强CT(contrast-enhanced CT, CECT)进行比较, 探讨其临床应用价值(图1)。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2016-09/2019-03期间, 在浙江省肿瘤医院行TACE治疗的71例HCC患者作为研究对象, 其中男53例, 女18例, 年龄32-74岁, 平均51.00岁±8.25岁。共125个病灶(20例3个病灶; 14例2个病灶; 37例单个病灶), 最大直径3.5-10.1 cm, 平均6.35 cm±1.43 cm。纳入标准: (1)均为HCC; (2)Child-Pugh分级为A-B级; (3)患者能配合检查。排除标准: (1)伴有其它恶性肿瘤; (2)严重感染; (3)肝肾功能衰竭; (4)凝血功能障碍。本研究经本院医学伦理委员会同意, 患者均知情同意并签署知情同意书。

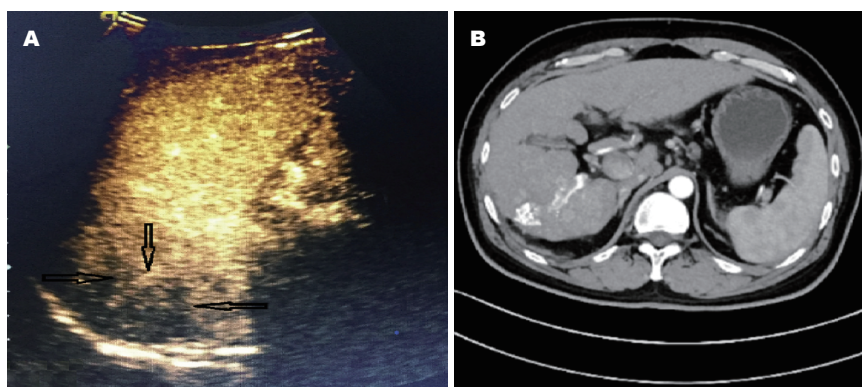


图1 经导管肝动脉化疗栓塞术后病灶残留。A: 超声造影显示病灶局部增强; B: 增强CT显示病灶碘油沉积不均匀并存在强化区。

1.2 方法 TACE术(化疗药物采用5-10 mL 40%超液化碘油、50-100 mg奥沙利铂、1.0-1.5 g氟尿嘧啶、20-40 mg多柔比星)后1 mo行CEUS、CECT以及DSA检查, 时间间隔不超过7 d。

CEUS检查: 采用西门子s2000超声诊断仪, 探头频率3-5 mHz。首先行常规超声检查, 观察病灶位置、大小、回声、边界、血流等情况。然后固定探头于某一体表位置, 可通过侧动探头观察目标病灶整体血流灌注状态。启动CEUS模式。采用声诺维(磷脂微囊六氯化硫)作为造影剂, 经肘部浅静脉团注2.4 mL造影剂, 并同步计时, 储存影像资料作后续分析。观察造影各时相的病灶血流灌注情况: 动脉相(0-30 s)、门脉相(31-120 s)与延迟相(121-300 s)。由一名高年资且经验丰富的超声科医生进行评估。

CECT扫描: 采用GE Discovery750HD CT机进行CECT检查。嘱患者禁食8 h, 检查前15 min口服温开水1-1.5 L。嘱患者取仰卧位, 上举双臂, 首先行常规扫描, 然后采用370 mg/mL的碘帕醇作为造影剂, 经肘静脉以3.0 mL/s流速注射后, 行增强扫描, 管电压: 120 kV, 管电流: 300 mA, 矩阵: 242×242, 螺距: 1.0, 层距: 5 mm, 层厚: 5 mm。注射后20 s, 动脉期扫描; 注射后1 min, 门脉期扫描; 注射后5 min, 延迟期扫描。由一名高年资且经验丰富的放射科医生进行评估。

CEUS评估标准: 病灶于动脉相或门脉相存在造影剂填充, 延迟相造影剂消退, 呈低或等增强, 即病灶残留, 判断为阳性; 病灶于造影全程均无造影剂填充, 边界清晰, 表现为“黑洞征”, 即病灶无残留, 判断为阴性。

CECT评估标准: 病灶区域碘油沉积稀少或斑片状沉积, 于动脉期病灶存在可辨强化区, 即病灶残留, 判断为阳性; 病灶区域碘油沉积均匀分布, 于动脉期病灶无强化, 即病灶无残留, 判断为阴性。

以DSA检查结果作为判定“金标准”, 计算各检查方法的灵敏度 = 真阳性人数/(真阳性人数+假阴性人数)

×100%, 特异度 = 真阴性人数/(真阴性人数+假阳性人数)×100%, 准确度 = (真阳性例数+真阴性例数)/(真阳性例数+假阴性例数+假阳性例数+真阴性例数)×100%。

统计学处理 采用SPSS 20.0统计学软件进行数据处理。计数资料以(%)表示, 组间比较行 χ^2 检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DSA检查结果 71例HCC患者, 共125个病灶, TACE术后1 mo DSA检查发现HCC残留病灶97个, 无残留病灶28个。

2.2 CECT检查结果 TACE术后1 mo CECT判定88个病灶残留, 表现为病灶区域碘油沉积稀少或呈斑片状分布, 动脉期局部存在强化区; CECT判定37个病灶无残留, 彻底灭活, 表现为病灶内碘油沉积均匀分布, 动脉期无强化区。以DSA结果作为“金标准”, CECT判定病灶残留的准确度、灵敏度、特异度分别88.00%、87.63%、89.29%(表1)。

2.3 CEUS检查结果 TACE术后1 mo CEUS判定96个病灶残留, 表现为病灶局部或边缘呈不同程度增强, 其中63个病灶表现为动脉相呈高增强, 门脉相和(或)延迟相呈低增强; 21个病灶表现为动脉相呈等增强, 门脉相和(或)延迟相呈低增强; 12个病灶表现为动脉相呈等增强, 门脉相和(或)延迟相呈等增强; CEUS判定29个病灶无残留, 病灶被彻底灭活, 均表现为三期无造影剂填充, 病灶边界清晰, 呈“黑洞征”。以DSA结果作为“金标准”, CEUS判定病灶残留的准确度、灵敏度、特异度分别为96.00%、96.91%、92.86%(表2)。

2.4 CEUS与CECT应用价值比较 CEUS判定HCC病灶残留的准确度($\chi^2 = 5.435, P = 0.02$)及灵敏度($\chi^2 = 5.853, P = 0.016$)均高于CECT, 差异有统计学意义($P < 0.05$); CEUS判定HCC病灶残留的特异度与CECT比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.220, P = 0.639$)。

表 1 增强CT判定病灶残留情况(例)

CECT	DSA		总计
	残留	无残留	
残留	85	3	88
无残留	12	25	37
总计	97	28	125

CECT: 增强CT; DSA: 数字减影血管造影.

表 2 超声造影判定病灶残留情况(例)

CEUS	DSA		总计
	残留	无残留	
残留	94	2	96
无残留	3	26	29
总计	97	28	125

CEUS: 超声造影; DSA: 数字减影血管造影.

3 讨论

HCC在我国有着较高发病率, 手术切除病灶是治疗HCC的最佳治疗手段, 但由于HCC发病隐匿, 大多数患者被确诊时已为中晚期而错过手术切除治疗最佳时机, 不得不选择非手术治疗^[3]. TACE是HCC非手术治疗的常用治疗手段, 其原理是将微导管经股动脉选择性插入到病灶供血动脉, 然后注入碘化油及化疗药物, 导致肿瘤细胞发生缺血坏死, 从而发挥控制肿瘤生长, 杀灭肿瘤作用^[4]. 由于HCC属于富血供肿瘤, 同时接受肝动脉及门静脉双重血供, 当供血动脉被栓塞后, 可通过建立侧支循环使病灶组织坏死不彻底, 发生残留^[5]. 因此, 准确评估TACE术后病灶残留状态, 有助于临床制定下一步治疗措施.

TACE术后HCC病灶残留状态评估的主要手段包括甲胎蛋白定量、超声、CT、MRI以及DSA等, 而DSA是目前公认的评估TACE疗效“金标准”^[6], 可通过消除病灶碘油沉积影响而清晰显示病灶异常血供, 从而准确评估TACE术后病灶残留与否, 具有较高的诊断准确性^[7]. 但DSA具有创伤性, 其临床应用受到一定限制.

CECT检查是临床评估TACE术后病灶残留的常用方法, 因其后处理技术强大, 扫描速度快, 能清晰显示肿瘤位置、大小、内部碘油沉积、强化区域分布等情况, 有助于临床评估TACE术后病灶残留, 若发现病灶存在强化区域, 即提示病灶残留^[8]. 本研究中, CECT判定病灶残留的准确度、灵敏度、特异度分别88.00%、87.63%、89.29%, 证实了CECT有助于临床判定TACE

术后病灶残留, 可用于评估TACE术后疗效. 虽然CECT在显示碘油沉积分布方面具有一定优势, 但是良好的碘油沉积不能完全代表病灶组织被彻底灭活坏死, 因为高密度的碘油沉积影响下, 可在一定程度上遮挡了肿瘤血管的真实分布状态, 同时治疗后病灶局部及周围发生炎症细胞浸润、纤维组织增生及肉芽组织增生, 均可影响CECT对病灶组织是否存活的判定^[3].

超声造影剂是一种理想的血池显像剂, 造影剂微泡直径远小于病灶组织内微循环血管内径, 可清晰显示造影剂微泡对病灶组织的灌注及退出全程, 从而动态反映病灶组织在各时相的微循环血流灌注特征及血流动力学变化, 有助于临床根据病灶内是否存在血流灌注充填而判断其残留状态^[9]. 本研究结果显示, CEUS判定病灶残留的准确度、灵敏度、特异度分别为96.00%、96.91%、92.86%, 提示CEUS能有效评估TACE术后HCC病灶残留状态, 其在TACE术后疗效评估中具有较高应用价值, 有助于指导临床进一步制定治疗方案. 本研究结果显示, CEUS判定HCC病灶残留的准确度及灵敏度均高于CECT($P<0.05$), 提示在评估TACE术后病灶是否残留方面CEUS可能更优于CECT, 更有助于监测TACE疗效. 原因可能是: (1)CEUS以超声微泡作为血管示踪剂, 可清晰显示病灶微小血管分布及微循环灌注特征, 更有助于微小病变的准确判断^[10]; (2)HCC病灶血供丰富, 含有大量异常新生微小血管, 其在CEUS下呈现出特有的“快进快出”增强模式, 有助于临床直观评估病灶性质^[11]; (3)CEUS为即时性检查手段, 超声医师能实时

动态观察病灶组织造影全过程, 而CECT即不能实时动态观察. 但需要注意的是, 本研究有2例病灶呈假阳性, 分析原因可能是病灶周围发生炎性充血带所致, 而3例病灶呈假阴性, 分析原因可能是病灶位置靠近膈顶或胃肠道, 受气体干扰所致^[12]. 因此, 必要时CEUS应结合其它检查以进一步减少漏诊或误诊.

总之, CEUS能显示TACE术后HCC病灶组织的血流灌注状态, 在判定病灶残留方面优于CECT, 可为临床评估TACE术后疗效提供新的有效手段.

文章亮点

实验背景

经导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)后病灶血流灌注发生改变, 而利用超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)能实时反映微循环血供的特点, 可准确评估TACE治疗效果, 有着重要临床意义.

实验动机

运用CEUS能无创性评估TACE疗效, 可为临床评估TACE疗效提供一种全新影像学方法, 有助于指导临床治疗.

实验目标

本论文主要目标为采用CEUS评估TACE治疗后的原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)残留情况, 结果证实CEUS能有效反映TACE疗效, 可为临床评估TACE疗效提供有效手段.

实验方法

本研究以CEUS评估TACE疗效. CEUS是一种十分灵敏的血流检测技术, 能实时显示肿瘤的微循环血流灌注过程.

实验结果

本研究达到了实验目标, 研究结果提示CEUS能有效甄别TACE后HCC残留状态, 具有较高临床应用价值. 运用CEUS能有效评估TACE疗效, 为TACE疗效评估提供一种可靠的无创性方法.

实验结论

在CEUS下TACE后HCC残留组织呈不同程度增强. TACE疗效可通过CEUS进行有效评估, 为临床评估TACE疗效提供血流动力学信息. CEUS能有效反映肿瘤的血流灌注状态, 能有效监测和无创性评估TACE疗

效, 能准确有效地评估TACE后HCC残留状态, 其诊断能力在一定程度上优于增强CT. CEUS为临床准确评估TACE疗效提供了一种可靠的新方法.

展望前景

肿瘤位置、患者呼吸配合程度、体型等因素可影响CEUS评估TACE疗效的准确性. 未来研究的方向是运用CEUS评估TACE后HCC的血流灌注参数变化. 未来研究的最佳方法是三维超声造影评估TACE后HCC残留情况.

4 参考文献

- Xu L, Zhang M, Zheng X, Yi P, Lan C, Xu M. The circular RNA ciRS-7 (Cdr1as) acts as a risk factor of hepatic microvascular invasion in hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2017; 143: 17-27 [PMID: 27614453 DOI: 10.1007/s00432-016-2256-7]
- Nörthen A, Asendorf T, Shin HO, Hinrichs JB, Werncke T, Vogel A, Kirstein MM, Wacker FK, Rodt T. Parametric response mapping cut-off values that predict survival of hepatocellular carcinoma patients after TACE. *Abdom Radiol (NY)* 2018; 43: 3288-3300 [PMID: 29680967 DOI: 10.1007/s00261-018-1610-4]
- Najmi Varzaneh F, Pandey A, Aliyari Ghasabeh M, Shao N, Khoshpouri P, Pandey P, Zarghampour M, Fouladi D, Liddell R, Anders RA, Kamel IR. Prediction of post-TACE necrosis of hepatocellular carcinoma using volumetric enhancement on MRI and volumetric oil deposition on CT, with pathological correlation. *Eur Radiol* 2018; 28: 3032-3040 [PMID: 29383518 DOI: 10.1007/s00330-017-5198-9]
- Zhao M, Xiang P, Jiang H. TransArterial ChemoEmbolization (TACE) with platinum versus anthracyclines for hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. *Int J Surg* 2018; 53: 151-158 [PMID: 29602011 DOI: 10.1016/j.ijssu.2018.03.049]
- Chintalapati SP, Patel A, Conjeevaram H. Gastric and duodenal ischaemia after transarterial chemoembolisation for hepatocellular carcinoma: an unexpected but significant complication. *BMJ Case Rep* 2018; 2018 [PMID: 29467124 DOI: 10.1136/bcr-2017-223339]
- 朱风叶, 李红, 乔继红, 王金华. CT与MRI在诊断原发性肝癌介入术后病灶残留及复发中的应用价值. *中国CT和MRI杂志* 2018; 16: 76-78 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2018.03.024]
- 杨耀文, 王志涛, 王颖. MR DWI在肝癌TACE术后评估中的应用研究. *实用放射学杂志* 2018; 34: 600-602 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-1671.2018.04.030]
- 龚海峰. CT增强扫描对原发性肝癌TACE术后肿瘤残留及新发病灶的检出效果. *影像研究与医学应用* 2018; 2: 140-141 [DOI: 10.3969/j.issn.2096-3807.2018.19.090]
- Lekht I, Nayyar M, Luu B, Guichet PL, Ho J, Ter-Oganesyan R, Katz M, Gulati M. Intra-arterial contrast-enhanced ultrasound (IA CEUS) for localization of hepatocellular carcinoma (HCC) supply during transarterial chemoembolization (TACE): a case series. *Abdom Radiol (NY)* 2017; 42: 1400-1407 [PMID: 28008454 DOI: 10.1007/s00261-016-1016-0]
- Moudgil S, Kalra N, Prabhakar N, Dhiman RK, Behera A, Chawla YK, Khandelwal N. Comparison of Contrast Enhanced Ultrasound With Contrast Enhanced Computed Tomography for the Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma. *J Clin Exp Hepatol* 2017; 7: 222-229 [PMID: 28970709 DOI: 10.1016/j.jceh.2017.03.003]

- 11 Schellhaas B, Görtz RS, Pfeifer L, Kielisch C, Neurath MF, Strobel D. Diagnostic accuracy of contrast-enhanced ultrasound for the differential diagnosis of hepatocellular carcinoma: ESCULAP versus CEUS-LI-RADS. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2017; 29: 1036-1044 [PMID: 28562394 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000916]
- 12 Fetzer DT, Rafailidis V, Peterson C, Grant EG, Sidhu P, Barr RG. Artifacts in contrast-enhanced ultrasound: a pictorial essay. *Abdom Radiol (NY)* 2018; 43: 977-997 [PMID: 29198008 DOI: 10.1007/s00261-017-1417-8]

编辑: 王禹乔 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*)》.

食管颗粒细胞瘤1例并国内文献复习

云晓静, 白玉焕, 敬长春

云晓静, 白玉焕, 敬长春, 山东省聊城市第二人民医院消化内科 山东省临清市 252600

云晓静, 主治医师, 主要研究胃肠道疾病的诊治.

作者贡献分布: 所有作者贡献均等; 此课题由云晓静与敬长春设计; 研究过程与论文写作由云晓静与白玉焕共同完成; 敬长春审核.

通讯作者: 敬长春, 主任医师, 252600, 山东省临清市健康街306号, 山东省聊城市第二人民医院消化内科. jingcc518@sina.com
电话: 0635-2366082

收稿日期: 2019-07-03

修回日期: 2019-08-11

接受日期: 2019-09-08

在线出版日期: 2019-09-28

Granular cell tumor of the esophagus: Report of one case and review of the Chinese literature

Xiao-Jing Yun, Yu-Huan Bai, Chang-Chun Jing

Xiao-Jing Yun, Yu-Huan Bai, Chang-Chun Jing, Department of Gastroenterology, The Second People's Hospital of Liaocheng, Linqing 252600, Shandong Province, China

Corresponding author: Changchun Jing, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The Second People's Hospital of Liaocheng, No. 306, Jiankang Street, Linqing 252600, Shandong Province, China. jingcc518@sina.com

Received: 2019-07-03

Revised: 2019-08-11

Accepted: 2019-09-08

Published online: 2019-09-28

Abstract

BACKGROUND

Granular cell tumor (GCT) is a rare soft tissue tumor that has malignancy potential. Despite the lack of specific clinical manifestations, GCT has special gastroscopic and

endoscopic ultrasonographic manifestations.

CASE SUMMARY

A male patient was admitted because of epigastric pain for 20 d, and there were no positive signs of abdominal examination. Gastroscopy showed that there was a 0.5 cm × 0.7 cm submucous eminence on the right wall of the esophagus at 39 cm from the incisor, and the tumor had a yellowish and smooth surface, and was hard and movable on touch. Endoscopic ultrasonography showed that the lesion was slightly hyperechoic and originated from the submucosa. After endoscopic submucosal dissection, it was confirmed pathologically to be an esophageal GCT.

CONCLUSION

Esophageal GCT is clinically rare and has specific endoscopic and pathological manifestations. Because of the malignancy potential, active endoscopic treatment is necessary. Surgical treatment is still needed for malignant lesions or lesions invading the muscle layer.

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

Key Words: Granular cell tumor; Esophagus; Diagnosis

Yun XJ, Bai YH, Jing CC. Granular cell tumor of the esophagus: Report of one case and review of the Chinese literature. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1167-1170

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1167.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1167>

摘要

背景

颗粒细胞瘤(granular cell tumor, GCT)是少见的软组织肿瘤, 具有潜在的恶性。虽然临床表现缺乏特异性,

在内镜和超声内镜下有其独特的表现.

病例简介

患者因上腹部疼痛20 d就诊, 腹部查体无阳性体征. 胃镜显示距门齿39 cm食管右侧壁有一0.5 cm×0.7 cm黏膜下隆起, 表面呈淡黄色, 光滑, 活检钳触之质硬, 活动. 超声内镜: 病灶处呈稍高回声改变, 起源于黏膜下层. 行黏膜下肿瘤剥离治疗后标本送检证实为食管颗粒细胞瘤.

结论

食管颗粒细胞瘤临床少见, 但该病在内镜及病理学上有特异性表现. 因食管颗粒细胞瘤有潜在恶性, 应积极进行内镜下切除治疗, 对于恶性病变或侵及肌层、病变范围大者仍需外科治疗.

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

关键词: 颗粒细胞瘤; 食管; 诊断

核心提要: 颗粒细胞瘤是一种少见的软组织肿瘤, 具有潜在恶性. 本文报道了1例经病理证实的食管颗粒细胞瘤患者并复习了1985/2018国内相关文献, 并结合此病例进行综合分析, 以提高临床医师对该病的认识.

云晓静, 白玉焕, 敬长春. 食管颗粒细胞瘤1例并国内文献复习. 世界华人消化杂志 2019; 27(18): 1167-1170

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1167.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1167>

0 引言

颗粒细胞瘤(granular cell tumor, GCT)是一种临床罕见、具有潜在恶性的软组织肿瘤. 可发生于全身各部位, 仅8%左右发生在消化道, 其中约1/3位于食管^[1]. 现将聊城市第二人民医院消化内科收治的1例食管颗粒细胞瘤, 并结合国内文献报道如下.

1 病例简介

患者, 男, 54岁, 因上腹部疼痛20 d就诊, 无进食梗阻感, 无恶心、呕吐, 无烧心、反酸. 腹部查体无阳性体征. 胃镜所见(图1): 距门齿39 cm食管右侧壁有一0.5 cm×0.7 cm黏膜下隆起, 表面呈淡黄色, 光滑, 活检钳触之质硬, 活动. 超声内镜(图2): 病灶处呈稍高回声改变, 起源于黏膜下层.

2 最后诊断

切除组织病理(图3A, 图3B): 食管颗粒细胞瘤, 免疫组化(图3C, 图3D): S100(+), CD34(-), CD117(-), Ki67(+3%).

3 治疗

行内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD): 内镜下抬举注射后应用DU刀沿病变边缘环形切开, 沿黏膜下完整剥离病变, 创面无出血及穿孔, 应用钛夹夹闭创面.

4 结果和随访

患者术后无出血、穿孔、感染等并发症, 术后第3天流质饮食, 逐步过渡为正常饮食. 半年后随访胃镜无复发征象.

5 讨论

国内文献复习: 以“食管颗粒细胞瘤”为主题词进行检索中国知网数据库, 1985-2018年相关文献共64篇, 其中综述2篇. 剔除不完整、重复的数据, 共筛选资料全面的病例62例, 结合本院1例, 对63例患者的一般资料、临床特征、诊断、治疗、预后等进行回顾性分析. 如下: (1)一般临床资料: 63例患者中, 男性40例, 女性23例, 男女比例约2:1. 发病年龄为28-66岁, 平均年龄为45.5岁, 以中年男性多见. (2)临床特征: 上腹部胀满17例, 上腹部不适、隐痛13例, 进食吞咽不畅或进食梗阻感9例, 健康查体6例, 暖气7例, 烧心、反酸5例, 胸痛3例, 咽部不适1例, 纳差1例, 呕血1例(非颗粒细胞瘤部位出血). 腹部查体除部分病例有上腹部轻压痛外, 均未见阳性体征. (3)肿瘤的部位、形态、大小: 位于食管上段9例, 中段15例, 下段39例, 以食管下段多见. 内镜下表现为光滑隆起共56例(其中表面黏膜为淡黄色24例, 白色6例, 无颜色变化以及未提及变化者26例); 息肉样改变共4例; 糜烂、浅溃疡表现3例. 肿瘤最大径为0.4-5.5 cm不等, 但多数在1 cm以内. 共28例患者行超声内镜检查: 18例起源于黏膜下层, 3例起源于黏膜层, 5例起源于黏膜肌层, 2例起源于固有肌层. 3例表现为偏高回声, 其余25例均表现为均匀低回声. (4)治疗及预后: 63例中10手术治疗, 其余为内镜下切除治疗; 术后病理均证实为食管颗粒细胞瘤, 其中1例为恶性颗粒细胞瘤, 其余62例为良性. 5例伴有鳞状上皮瘤样增生, 2例合并食管癌. 58例行免疫组化检查: S-100(+), NES(+), Vimentin(+); 部分病例显示CD68、PAS染色(+). 随访均无肿瘤复发.

食管颗粒细胞瘤是一种罕见的具有恶性潜能的软组织肿瘤. 组织起源尚不明确, 近年来超微结构研究显示, 大多学者认为其起源于施万细胞分化的神经鞘膜细胞或外周神经^[2]. 食管颗粒细胞瘤可发生在任何年龄, 多见于40岁左右的患者, 男性多于女性(约2:1), 与国外报道相一致. 临床表现不特异, 如上腹部胀痛、暖气等, 多在胃镜检查时偶然发现. 少数患者因瘤体较大可表现



图1 胃镜显示下段食管黏膜下隆起, 呈淡黄色, 表面光滑.



图2 超声内镜显示病变处呈稍高回声, 起源于黏膜下层.

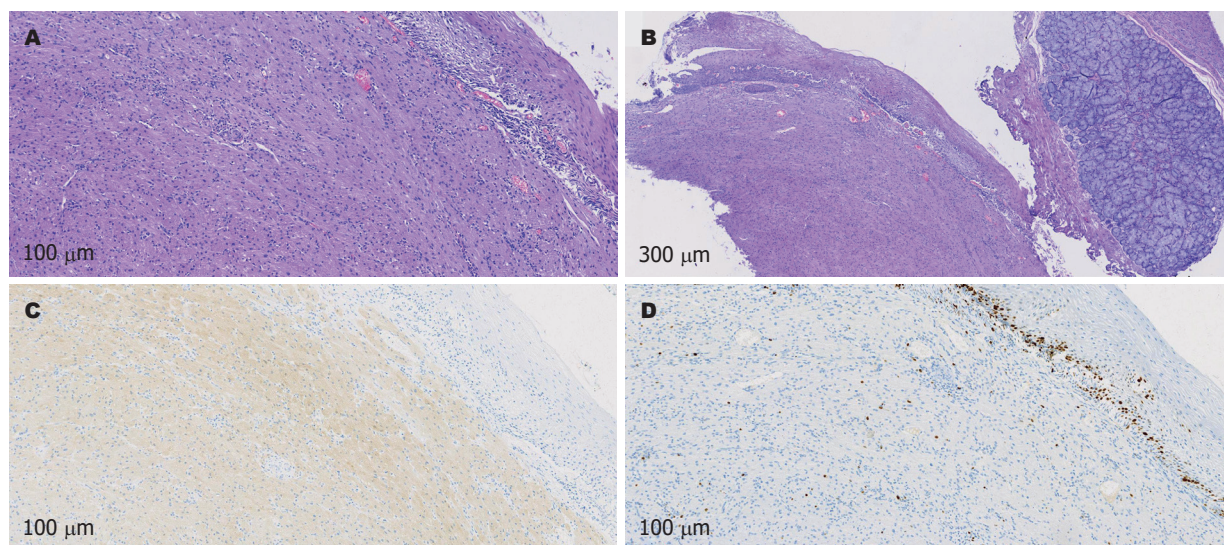


图3 标本病理及免疫组化结果. A: HE × 4; B: HE × 20; C: HE × 10, 免疫组化显示瘤细胞表达S-100蛋白; D: HE × 4, Ki-67增殖指数较低.

为吞咽不畅. 国外报道食管多发的颗粒细胞瘤以及合并有其他器官的颗粒细胞瘤的发生率约10%^[3], 国内仅赵志峰等^[4]报道有1例合并皮肤颗粒细胞瘤病史.

食管颗粒细胞瘤的内镜、超声内镜表现有一定特异性: (1)食管颗粒细胞瘤在内镜下多表现为淡黄色或灰白色黏膜下隆起, 表面光滑, 边界清晰; (2)触之质硬, 可滑动; (3)超声内镜检查主要表现为低回声团块, 内部回声均匀, 多起源于黏膜下层, 边界清晰, 与间质瘤、神经内分泌肿瘤鉴别困难, 超声引导下穿刺可明确诊断, 但因为肿瘤的表面性质、体积大小和细胞学诊断困难等因素, 导致EUS引导的组织获取成功率较低^[5].

在组织形态上, 食管颗粒细胞瘤多位于黏膜下层, 瘤细胞呈条索或巢状排列, 可伴有鳞状上皮瘤样增生, 应警惕有被覆浸润性鳞状细胞癌的可能^[6]. 胞质丰富且含有大量的红色嗜酸性颗粒, 大小、分布均匀; 细胞核小, 居中深染, 无明显核分裂像^[7]. 免疫组化显示S-100、

NES、Vimentin阳性, 本研究病例中S-100均表达强阳性, 部分病例PAS染色、CD68阳性. 有研究发现瘤细胞中虽然CD34呈阴性表达, 但在肿瘤细胞周围的间质却呈强阳性表达, 有鉴别诊断意义^[8]. 恶性颗粒细胞瘤所占比例不到2%^[9], 位于食管者更为罕见. 恶性食管颗粒细胞瘤在病理学上和良性者高度相似, 不易鉴别, 目前临床上多以是否转移、浸润及核分裂的多少作为判定良恶性的标准^[2]. 本研究中唯一的1例恶性食管颗粒细胞瘤的病理为恶性, 但术中证实肿瘤已侵及气管, 符合恶性的判定标准^[10].

因食管颗粒细胞瘤有潜在恶性, 需要积极治疗. 对于直径<2 cm的病变首选内镜下黏膜切除术或ESD等治疗; 对于2-3 cm的病变, 有学者提出可应用黏膜下隧道内镜切除术^[11]; 恶性食管颗粒细胞瘤或侵及肌层、病变范围较大者仍需外科手术治疗. 放化疗对于恶性颗粒细胞瘤的疗效目前仍有争议^[12,13].

6 结论

本组病例总结: (1)食管颗粒细胞瘤临床少见, 恶性者更为罕见, 临床表现不典型; (2)该病在内镜及病理学上有特异性表现, 故诊断及鉴别诊断不难; (3)因食管颗粒细胞瘤有潜在恶性, 应积极进行内镜下切除治疗, 对于恶性病变或侵及肌层、病变范围大者仍需外科治疗。

7 参考文献

- 1 王志强, 杨云生. 消化道颗粒细胞瘤. 中华消化内镜杂志 2002; 19: 57-58 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2002.01.046]
- 2 张芳, 徐永红, 闫领, 张子璐. 食管颗粒细胞瘤的研究进展. 世界华人消化杂志 2016; 17: 2647-2653 [DOI: 10.11569/wcjd.v24.i17.2647]
- 3 John BK, Dang NC, Hussain SA, Yang GC, Cham MD, Yantiss R, Joseph AS, Giashuddin SM, Lee PC, Fleming R, Somnay K. Multifocal granular cell tumor presenting as an esophageal stricture. *J Gastrointest Cancer* 2008; 39: 107-113 [PMID: 19340612 DOI: 10.1007/s12029-009-9056-0]
- 4 赵志峰, 匡丽, 张宁, 麻树人, 张馨予. 内镜治疗食管颗粒细胞瘤6例及文献复习. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 469-470 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2011.08.017]
- 5 Zhong N, Katzka DA, Smyrk TC, Wang KK, Topazian M. Endoscopic diagnosis and resection of esophageal granular cell tumors. *Dis Esophagus* 2011; 24: 538-543 [PMID: 21539675 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01197.x]
- 6 Saito K, Kato H, Fukai Y, Kimura H, Miyazaki T, Kashiwabara K, Nakajima T, Kuwano H. Esophageal granular cell tumor

covered by intramucosal squamous cell carcinoma: report of a case. *Surg Today* 2008; 38: 651-655 [PMID: 18612793 DOI: 10.1007/s00595-007-3694-2]

- 7 Terada T. A clinicopathologic study of esophageal 860 benign and malignant lesions in 910 cases of consecutive esophageal biopsies. *Int J Clin Exp Pathol* 2013; 6: 191-198 [PMID: 23330004 DOI: 10.2147/OTT.S28155]
- 8 樊祥山, 张明, 吴鸿雁, 黄勤. 上消化道颗粒细胞肿瘤10例临床病理学分析. 临床与实验病理学杂志 2010; 26: 158-162 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-7399.2010.02.009]
- 9 王坚, 朱雄增, 张仁元. 恶性颗粒细胞瘤10例临床病理学观察及文献复习. 中华病理学杂志 2004; 33: 497-502 [DOI: 10.3760/j.issn.0529-5807.2004.06.001]
- 10 王健, 史国振, 高鹏飞, 王红敏, 蒋国军, 李明娜. 食管恶性颗粒细胞瘤误诊为食管平滑肌瘤一例分析. 现代医学 2017; 45: 583-586 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-7562.2017.04.029]
- 11 Chen WS, Zheng XL, Jin L, Pan XJ, Ye MF. Novel diagnosis and treatment of esophageal granular cell tumor: report of 14 cases and review of the literature. *Ann Thorac Surg* 2014; 97: 296-302 [PMID: 24140217 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2013.08.042]
- 12 Maekawa H, Maekawa T, Yabuki K, Sato K, Tamazaki Y, Kudo K, Wada R, Matsumoto M. Multiple esophagogastric granular cell tumors. *J Gastroenterol* 2003; 38: 776-780 [PMID: 14505133 DOI: 10.1007/s00535-002-1145-9]
- 13 Di Tommaso L, Magrini E, Consales A, Poppi M, Pasquinelli G, Dorji T, Benedetti G, Baccarini P. Malignant granular cell tumor of the lateral femoral cutaneous nerve: report of a case with cytogenetic analysis. *Hum Pathol* 2002; 33: 1237-1240 [PMID: 12514794 DOI: 10.1053/hupa.2002.129207]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



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性文章, 促进胃肠病学和肝病事业的发展, 提高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《超星期刊域出版平台(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t1/2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*M*_r 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. *M*_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸应改为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志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名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 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则用 $P<0.05$ 和 $P<0.01$; 第3套为 $P<0.05$ 和 $P<0.01$. 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: +1-925-223-8242
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<https://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

