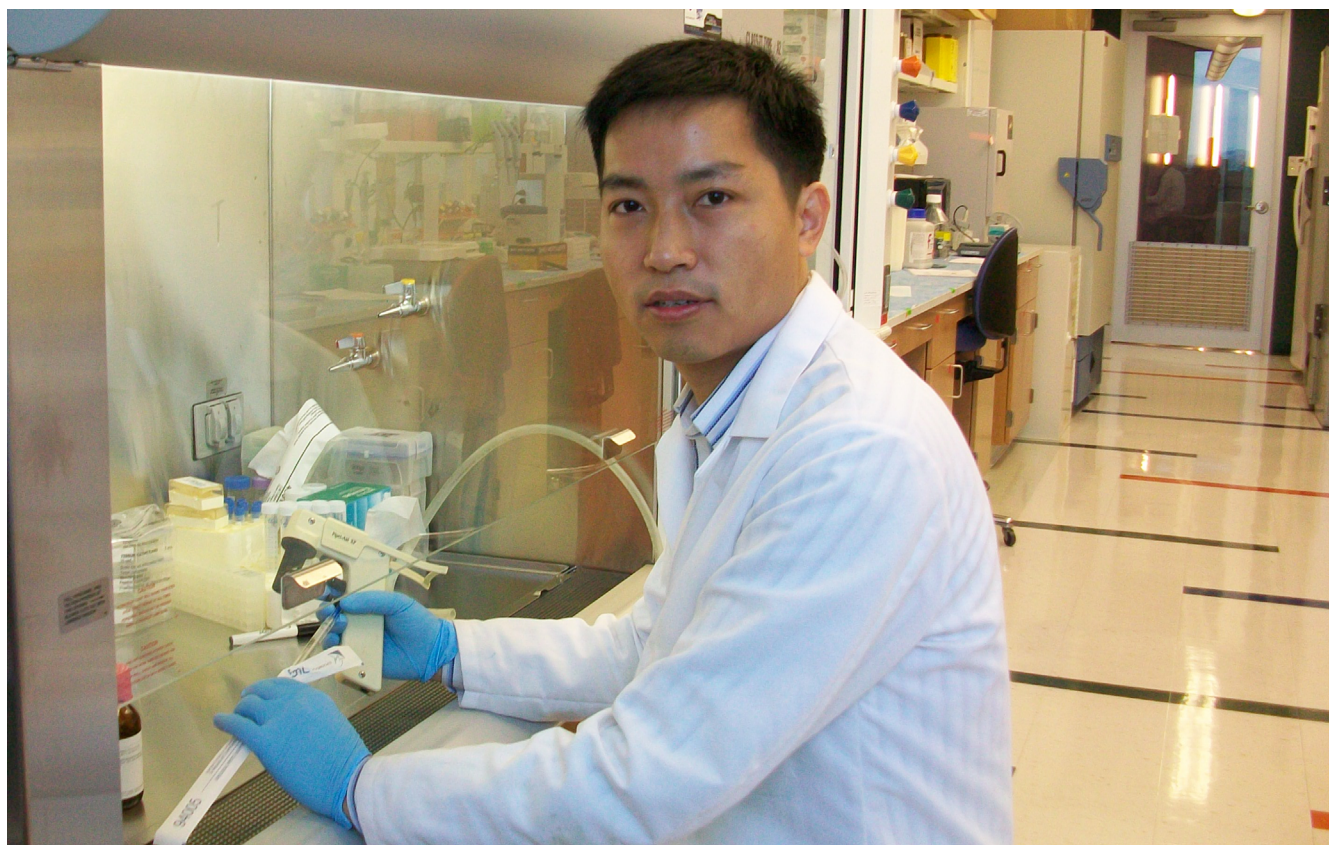


# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2019 年 12 月 28 日      第 27 卷      第 24 期      (Volume 27 Number 24)**



**24/2019**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.



目次

2019年12月28日 第27卷 第24期 (总第644期)

述评

1465 肠道病毒71型感染手足口病发病机制的研究

王春荣

基础研究

1473 麦冬皂苷D通过调控miR-519d-3p/EIF4E表达对肝癌细胞增殖、迁移、侵袭的实验研究

申鹏, 汪正飞

临床研究

1483 GPX3在胃癌中的表达及临床意义

张海平, 李蜀豫

1490 CCNA2基因在肝细胞癌中的表达、信号通路和预后关系生物信息分析及验证

杨结, 刘树业, 刘运德

文献综述

1502 肝硬化患者自发性脾肾分流的研究进展

易芳芳, 白朝辉, 许向波, 祁兴顺

临床实践

1509 声触诊组织量化技术评估经颈静脉肝内门-腔分流术后疗效的应用价值

张丹, 王一鸣, 李浩

会议纪要

1513 第二届胶囊内镜全球高峰论坛纪要

江学良, 王金山, 何健华

## 消 息

- 1472 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标  
1489 《世界华人消化杂志》栏目设置  
1501 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费  
1508 《世界华人消化杂志》正文要求

## 封面故事

王来友, 2006年于中山大学临床药理所毕业, 获医学博士学位. 2016年获药理学专业教授资格. 现为广东药科大学硕士研究生导师. 曾分别先后在法国弗朗什-孔泰大学、美国堪萨斯大学医学中心和澳大利亚格里菲斯大学从事研究工作, 目前主要研究方向为基于临床真实世界的循证药学与临床毒理学研究及新药研发. 兼任中国药学会循证药学专业委员会委员、农工党广东省十三届医药卫生工作委员会委员等职. 并在*Drug metabolism and Disposition*、*Pharmacogenomics*、*Marine Drugs*、*RSC advances*、*Nature Medicine*等国内外主流药学类专业期刊发表学术论文60余篇; 获新药发现与创制相关授权专利三项; 作为参与者获广东省科学技术奖一等奖两项; 承担药学人才培养教学改革类项目2项; 发表药学教育类研究论文3篇; 作为特聘编委, 参与高等教育出版社《循证药学》以及《药物毒理学》、《药理学》等教材的编写.

## 本期责任人

编务 王栋梅; 送审编辑 王禹乔; 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 吴云晓健; 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 2019-12-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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](mailto: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](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

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

特别声明

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

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 27 Number 24 Dec 28, 2019

## EDITORIAL

1465 Pathogenesis of hand-foot-mouth disease caused by enterovirus 71

*Wang CR*

## BASIC RESEARCH

1473 Ophiopogonin D inhibits proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma cells by regulating miR-519d-3p/EIF4E expression

*Shen P, Wang ZF*

## CLINICAL RESEARCH

1483 Clinical significance of expression of glutathione peroxidase 3 in gastric cancer

*Zhang HP, Li SY*

1490 Integrated bioinformatics analysis of expression, related signaling pathways, and prognostic significance of CCNA2 in hepatocellular carcinoma

*Yang J, Liu SY, Liu YD*

## REVIEW

1502 Advances in research of spontaneous splenorenal shunt in patients with liver cirrhosis

*Yi FF, Bai ZH, Xu XB, Qi XS*

## CLINICAL PRACTICE

1509 Value of virtual touch tissue quantification in evaluating therapeutic effects of transjugular intrahepatic portosystemic stent shunt

*Zhang D, Wang YM, Li H*

## CONFERENCE SUMMARY

1513 Summary of the Second Capsule Endoscopy Global Summit

*Jiang XL, Wang JS, He JH*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 27 Number 24 Dec 28, 2019

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Wang Lai-You, Professor, Department of Clinical Pharmacy and Pharmacy Administration, School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

### Indexed/Abstracted by

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

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Dong-Mei Wang* Review Editor: *Yu-Qiao Wang* Electronic Editor: *Ji-Hong Liu*  
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Proof Editor: *Yun-Xiaojuan Wu* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** December 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](mailto: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](mailto: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.

## 肠道病毒71型感染手足口病发病机制的研究

王春荣

王春荣, 济南市疾病预防控制中心病毒性疾病预防所 山东省济南市 250021

王春荣, 副主任技师, 主要从事肠道病毒及相关疾病的研究。

基金项目: 山东省医药卫生科技发展计划项目, No. 2017WS529.

作者贡献分布: 研究设计与论文写作由王春荣完成。

通讯作者: 王春荣, 副主任技师, 250021, 山东省济南市槐荫区纬六路2号, 济南市疾病预防控制中心病毒性疾病预防所. jncdwcw@jn.shandong.cn  
电话: 0531-81278960

收稿日期: 2019-04-26

修回日期: 2019-06-21

接受日期: 2019-08-19

在线出版日期: 2019-12-28

### Pathogenesis of hand-foot-mouth disease caused by enterovirus 71

Chun-Rong Wang

Chun-Rong Wang, Institute for Viral Disease Detection, Jinan Center for Disease Control and Prevention, Jinan 250021, Shandong Province, China

Supported by: Medical Science Research Development Plan of Shandong Province, No. 2017WS529.

Corresponding author: Chun-Rong Wang, Associate Chief Technician, Institute for Viral Disease Detection, Jinan Center for Disease Control and Prevention, 2 Weiliu Road, Huaiyin District, Jinan 250021, Shandong Province, China. jncdwcw@jn.shandong.cn

Received: 2019-04-26

Revised: 2019-06-21

Accepted: 2019-08-19

Published online: 2019-12-28

### Abstract

Hand-foot-mouth disease (HFMD) is a global infectious disease. The infected population is mainly infants and young children. Enterovirus 71 (EV71) is the

main pathogen. In addition to HFMD, EV71 infection can also affect the nervous system and other organs, resulting in aseptic meningitis, brainstem encephalitis, and poliomyelitis-like paralysis, causing serious harm to children's health. At present, the pathogenesis of HFMD caused by EV71 is still unclear, and there is no effective treatment. In this paper, we discuss the factors influencing EV71 infection from the aspects of virus gene recombination and spontaneous mutation, host genes, and receptor sites, review the pathogenesis of HFMD caused by EV71 based on the study findings from animal infection models, and explore the main problems in the study of pathogenesis of this condition, in order to provide reference for the prevention and treatment of HFMD and for the development of new drugs or effective vaccines for EV71 infection.

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

Key Words: Enterovirus 71; Hand-foot-mouth disease; Pathogenesis; Infection model

Wang CR. Pathogenesis of hand-foot-mouth disease caused by enterovirus 71. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(24): 1465-1472  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1465.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i24.1465>

### 摘要

手足口病(hand-foot-mouth disease, HFMD)是全球性传染病, 感染人群以婴幼儿为主, 而肠道病毒71型(enterovirus 71, EV71)是主要病原体。感染EV71除表现HFMD外, 还能感染神经系统和其他脏器, 引起无菌性脑膜炎、脑干脑炎和脊髓灰质炎样的麻痹性疾病, 对儿童健康造成严重危害, 已引起高度重视。目前EV71感染HFMD的发病机制仍不清楚, 且无有效治疗方法。本文从病毒基因重组和自发突变、宿主基因及受体位点等方面讨论了EV71感染发病的影响因

素, 并通过动物感染模型的研究对EV71感染HFMD的发病机制进行简要综述; 探讨发病机制研究中面临的主要问题, 为疾病的防控、临床治疗和有效疫苗的研究提供启发。

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

关键词: 肠道病毒71型; 手足口病; 发病机制; 感染模型

**核心提要:** 本文从肠道病毒71型(enterovirus 71, EV71)基因重组和突变、宿主基因及受体位点等方面探讨了EV71感染手足口病(hand-foot-mouth disease, HFMD)的影响因素, 并通过EV71感染模型探究HFMD的发病机制, 阐明EV71疫苗研究中存在的问题, 为疾病的防控、临床治疗和疫苗研究提供参考。

王春荣. 肠道病毒71型感染手足口病发病机制的研究. 世界华人消化杂志 2019; 27(24): 1465-1472

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1465.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i24.1465>

## 0 引言

肠道病毒71型(enterovirus 71, EV71)是引起手足口病(hand-foot-mouth disease, HFMD)的主要病原体之一。EV71感染以5岁以下的婴幼儿为主, 引起的HFMD多为自限性, 但有些感染可引起严重的神经系统疾病, 如无菌性脑膜炎、脑干脑炎和脊髓灰质炎样的麻痹性疾病, 甚至死亡<sup>[1-3]</sup>, 已引起高度关注。目前尚无有效的EV71治疗方法。

EV71属小RNA病毒科肠道病毒属, 基因组为单股正链RNA, 长度约为7.4 kb。基因组两端为5'和3'非编码区(untranslated region, UTR), 中间为连续的开放阅读框, 编码含有约2194个氨基酸的多聚蛋白(图1)<sup>[4]</sup>, 依据VP1核苷酸序列的差异, 可将EV71分为A、B、C 3个基因型<sup>[5]</sup>。目前EV71感染HFMD的发病机制仍未明确, 病毒基因结构与保证其生存、循环和逃避免疫等因素之间的关系尚不清楚。本文就EV71病毒和宿主相互作用机制的影响因素进行概述, 通过EV71感染动物模型的研究探讨HFMD的发病机制, 为HFMD的防控、开发治疗EV71的新型药物或有效疫苗提供参考。

## 1 EV71基因重组与突变

1962年, 有学者在脊髓灰质炎病毒研究中报告了第一例RNA重组, 此后许多研究<sup>[6,7]</sup>表明重组在肠道病毒进化中具有重要意义并经常发生。通过种内和种间50个非翻译区域的重组, 肠道病毒的进化和演变也已被证实<sup>[8]</sup>。以往研究显示, 当从严重HFMD患者分离的EV71亚基

因型C4毒株与从轻度患者分离的毒株进行比较时, 大多数突变位于50-NTR和VP1区域, 有的仅在VP1中观察到10个突变<sup>[9-12]</sup>。然而, 当将2株EV71亚基因型C4a与C4进行比较时, 突变几乎跨越了整个基因组, 从50-NTR到30-NTR<sup>[13,14]</sup>。通过量化每一个突变基因所赋予的毒力程度来研究这些毒株的毒力, 可以更好地了解它们究竟如何发挥作用, 这将是非常有说服力的。

有趣的是, 当对2000年新加坡严重HFMD暴发中分离出的致命EV71株进行分析时, 发现它与非致命株仅在核苷酸5262处有所不同: 致命株在基因组的5262位携带一个苏氨酸, 而非致命株中该位置为丙氨酸<sup>[15]</sup>。为了鉴定这个位置的苏氨酸是否导致了该毒株的致死性, Yee等<sup>[16]</sup>通过核苷酸的定点突变对致命株(C41)和非致命株(C10)的毒力进行了量化; 与致命株相比, 5262位(A5262G)的突变导致非致命株RNA拷贝数减少75%, 斑块形成能力降低90%。

为了进一步评估EV71亚基因型B4株基因组的特异性突变对毒力的影响, Yee等<sup>[16]</sup>在其基因组多位点(158、475、486和487)诱导突变并缺失50-NTR区域475-486核苷酸部位的11个碱基对, 结果显示突变体475(C475T)和缺失体PD(50-NTR中475到486)表现出明显的低细胞病变效应和极低的RNA拷贝数; 然而, 对RNA拷贝数的分析表明, 突变体A486G在RD细胞中仍能产生高水平的RNA, 而突变体G487A在RD细胞中的拷贝数降低。这些数据为EV71亚基因型B4株毒力的影响因素提供了佐证。

以往研究表明, 国内分离的致命和非致命毒株之间存在氨基酸差异<sup>[10,14,17,18]</sup>。这是否意味着某些毒力较高的毒株能够引起大规模的疫情爆发? 然而, EV71病毒每次复制时出现错误的可能性很大, 这也提出了另一个问题, 即单个基因突变是否真是致死的根本原因, 或者更确切地说, 携带多个氨基酸替换的突变群体是否增加了病毒种群的适应性, 从而赋予其更高的致病性? 在正常情况下, 病毒基因组复制并产生数百种子代病毒, 这些子代病毒可能因一个位置的氨基酸替代而有所不同, 在接下来的几轮复制中, 可能产生更复杂的突变体而与原始序列有显著差异, 这些突变体的集合还可能形成一个准物种<sup>[18]</sup>。关于重组和/或自发突变导致的EV71致命毒株是否是HFMD暴发的唯一理由, 或是否可能存在具有不同毒力的不同准种之间的合作, 这些问题都有待证实。

在以小鼠为感染模型的研究中, 发现EV71 VP1的145位氨基酸或VP2的149位氨基酸的点突变是新生小鼠能否成功感染EV71适应株的决定性因素<sup>[20]</sup>。除编码序列外, 非编码区域序列如内部核糖体进入位点



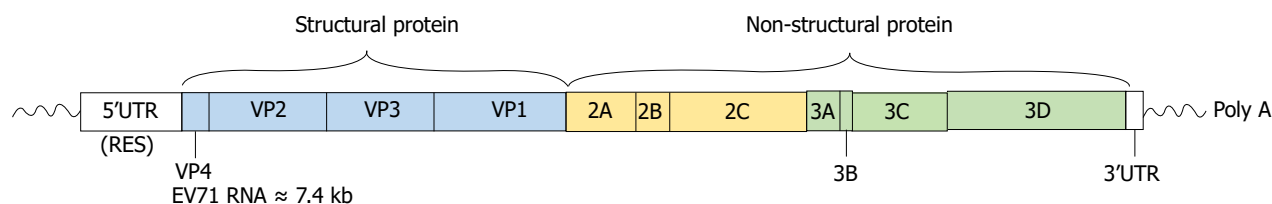


图1 肠道病毒71型基因组结构<sup>[4]</sup>.

(internal ribosome entry site, IRES)的突变也影响EV71对小鼠的感染毒性<sup>[9]</sup>. 而感染组织倾向性也可能与病毒序列变异有关, 从呼吸道、胃肠道、中枢神经系统和血液标本中分离的EV71序列的比较显示, 不同来源的EV71核苷酸存在差异. 进一步的研究表明, EV71 VP1的97位氨基酸与病毒的嗜神经组织特性有关<sup>[21]</sup>. 近期研究显示, EV71 VP1突变体L97R被认为更具毒性, 可能是因为它能更好地与硫酸肝素结合<sup>[22]</sup>, 而硫酸肝素是许多病毒(包括EV71)的常见附着受体<sup>[23]</sup>. 与此相反的是, VP1突变体145G与硫酸肝素的结合比突变体145E更好, 其神经毒力却被认为比后者小<sup>[24]</sup>, 可能是因为硫酸肝素优先吸附在大量非靶细胞上, 导致突变体VP1-145G的捕获衰减. 但EV71 VP1的硫酸肝素结合特性与病毒毒力是否呈正相关或负相关, 目前并没有确切结论.

## 2 宿主基因

同种同亚型的EV71病毒在不同的宿主会产生不同的临床症状, 地区分布不同临床表现也不同<sup>[25]</sup>, 这除了与病毒的毒力差别有关外, 还可能决定于不同的宿主对病毒的反应不同. 人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)基因是一种免疫相关基因, 在亚洲人中多见, 表型频率分布可达17%-35%, 而在白人种中少见(表型频率分布仅0%-1%). 据此, 中国台湾学者通过病例对照研究, 发现HLA-A33基因与病毒的易感性相关, 并发现HLA-A2基因与肺水肿的发生相关<sup>[26]</sup>. 根据该基因在不同人群分布的差异或许可以解释在过去为什么EV71多在中国台湾、马来西亚以及中国内地、日本等亚太地区爆发. 细胞毒性T淋巴细胞抗原4(cytotoxic T lymphocyte antigen 4, CTLA-4)是T细胞毒性和耐受性的重要调节因子, 其多态性与EV71感染儿童脑炎有关<sup>[27]</sup>. 其他遗传多态性, 如肿瘤坏死因子和干扰素受体1<sup>[28,29]</sup>, 在EV71患者中也被发现与疾病严重程度相关.

EV71所致HFMD, 不同个体的临床表型复杂多样, 这除了与病毒因素有关外, 更重要的是由病毒和宿主的相互作用决定的, 尤其是不同个体对病毒发生的免疫反应不同. EV71感染首先通过与宿主细胞表面的特异性受体结合而吸附于宿主细胞表面, 然后进入宿主细胞并将病毒核酸释放入细胞进行繁殖扩增, 属于细胞内感

染. 与体液免疫功能比较, 细胞免疫与非体液免疫功能对EV71感染患儿的影响更大<sup>[30,31]</sup>. 在免疫应答过程中, 众多细胞因子在机体内通过旁分泌、自分泌或内分泌等方式发挥作用, 具有多效性、重叠性、拮抗性、协同性等多种生理特性, 形成了十分复杂的细胞因子调节网络<sup>[3]</sup>, 而宿主的遗传因素通过控制某些细胞因子的产量或反应性调控免疫状态.

## 3 宿主受体位点

宿主细胞表面的受体在病毒感染和侵入机体的过程中发挥关键性作用, 决定了病毒的宿主和组织嗜性. 目前报道的较为明确的EV71受体包括溶酶体整合膜蛋白2(lysosomal integral membrane protein 2, SCARB2)和P选择素糖蛋白配体1(P-selectin glycoprotein ligand 1, PSGL1). SCARB2是一种双链跨膜蛋白, 主要分布于溶酶体及基质, 参与细胞膜运输、内含体和溶酶体的重组等过程. EV71可通过VP1区结合游离的SCARB2受体而进入细胞内, 这个过程能被SCARB2的抗体所抑制<sup>[32]</sup>. 此外, SCARB2受体蛋白的表达能使那些对EV71不易感的细胞变得有利于病毒的繁殖<sup>[33]</sup>. Chen等<sup>[34]</sup>研究证实, EV71通过其五聚体周围的“口袋”区与SCARB2结合使病毒颗粒构象改变, 导致病毒释放基因组RNA完成感染过程. PSGL1主要存在于白细胞表面, 在炎症早期与EV71结合引起炎症因子的释放<sup>[35]</sup>. 也有研究发现, Toll样受体作为重要的病原模式识别受体能够识别EV71, 与宿主抵抗病毒感染和炎症反应等有直接关系, 可能参与介导EV71感染所致混合性拮抗反应综合征<sup>[36]</sup>, 另有研究报告了几种EV71的替代受体<sup>[23,37,38]</sup>.

## 4 EV71感染模型

4.1 体外系统 最常见的EV71感染细胞系是横纹肌肉瘤起源的人恶性胚胎横纹肌瘤细胞(rhabdomyosarcoma, RD)细胞系<sup>[39]</sup>. 这种RD细胞株能产生大量的病毒颗粒, 因此常被用于动物实验<sup>[40]</sup>和病毒结构研究<sup>[41]</sup>中EV71的扩增. 除RD细胞外, 用于脊髓灰质炎病毒感染的各种细胞株, 如HELA和HEK293, 也易受EV71感染和转染<sup>[42,43]</sup>. 这些细胞系常被用作病毒蛋白功能研究的平台. 一些神经细胞系, 包括sk-n-sh、nsc-34和sf268, 已被用



于研究宿主对EV71的反应<sup>[44]</sup>、系统发育分析<sup>[45]</sup>和抗病毒药物鉴定<sup>[46]</sup>。

除RD细胞外,许多细胞系被用于EV71分子病毒学、病毒-宿主相互作用或药物筛选的研究,如THP-1和人PBMC被用于研究EV71感染的先天性免疫<sup>[43]</sup>。到目前为止,RD细胞系似乎是文献中最常用的金标准,部分原因可能是它具有不同EV71基因型的高产率<sup>[47]</sup>。随着越来越多的实验室使用相同的RD细胞系,未来更容易交叉比较来自不同实验室的结果。由于这些细胞系模型在某种程度上与人类自然感染相似,因此还需要另一种方法来验证通过细胞培养系统获得的发现,在这方面,动物模型可以为研究者对EV71体内感染和发病机制的理解提供更加完整和有说服力的证据。

**4.2 体内系统** 从细胞培养系统中获得的实验结果需要在动物模型和人类临床试验中进行验证。目前有四种小鼠感染模型<sup>[48]</sup>,这些模型正被积极地用于抗病毒研究。在这些模型中,有一个共同点就是经常使用肢体瘫痪和死亡率来评估疾病的严重程度。

**4.2.1 依赖于EV71适应性毒株的小鼠模型:**成人通常对EV71感染拥有抵抗力,同样成年小鼠也不容易感染EV71临床分离株。为了解决这个问题,研究人员在ICR小鼠模型中开发出适合小鼠感染的EV71毒株MP4<sup>[49-51]</sup>。将亲本EV71注射到一天龄ICR小鼠体内,从脑组织中分离的适应性EV71毒株被再次用于连续的注射适应循环,第四轮循环得到的EV71被指定为MP4<sup>[50]</sup>。与其亲本EV71株相比,MP4的细胞毒性更强,产生的斑块更大。由于EV71是一种具有准物种性质的RNA病毒,小鼠适应性毒株往往会积累一些突变,而这些适应性突变在人类自然感染过程中不容易被发现。除了MP4,免疫缺陷的nod/scid小鼠模型中也产生了适应性EV71毒株<sup>[52]</sup>。对临床分离株与小鼠适应株的氨基酸序列进行比较,发现两者在VP1、VP3和蛋白酶2A等结构蛋白存在显著差异<sup>[52]</sup>。因此,目前还不能确定用EV71适应株感染小鼠得到的研究结果是否可以扩展到人类对自然毒株感染情况。

**4.2.2 免疫缺陷小鼠模型:**宿主的免疫系统对病毒感染起着至关重要的作用<sup>[53]</sup>。免疫缺陷小鼠,即使没有携带任何人类病毒感染受体,也可以支持EV71临床分离株的感染,而不是依赖于小鼠适应株。

有研究显示宿主体内的干扰素是防止EV71感染和发病的必要条件<sup>[54]</sup>。AG129小鼠,由于缺乏干扰素或干扰素受体,当通过静脉注射或口服途径感染非小鼠适应性EV71时,会出现肢体瘫痪和死亡,在肠道和口腔感染的中枢神经系统中都能检测到病毒蛋白<sup>[55]</sup>。与小鼠AG129相似,小鼠A129(缺乏干扰素受体)也可感染小鼠

非适应株EV71<sup>[56]</sup>。此外,stat-1是干扰素信号传导过程中的关键转录因子,stat-1基因敲除小鼠G129(缺乏干扰素受体)通过粪-口途径可成功感染B型和C型EV71临床分离株,感染的小鼠后肢瘫痪,中枢神经系统中含有丰富的病毒蛋白<sup>[40]</sup>,支持干扰素信号在保护中枢神经系统免受EV71感染机制中的重要作用。

除先天免疫外,体液免疫在EV71感染和发病中也起着重要作用。缺乏T和B淋巴细胞的nod/scid小鼠可以感染小鼠适应性EV71<sup>[52]</sup>。然而,既然小鼠适应EV71也可以感染具有免疫活性的小鼠<sup>[50]</sup>,nod/scid小鼠模型中缺失的T淋巴细胞和B淋巴细胞是否真正对免受小鼠适应EV71感染的保护中起作用?进一步研究显示,nod/scid小鼠接种EV71临床分离株发生了肢体麻痹,上述问题得到解决。尽管肢体瘫痪已被用作小鼠模型中评估EV71发病机制的常见标志,但在人类自然感染中,急性弛缓性麻痹的发生频率不如HFMD。有趣的是,在nod/scid模型中,首次在感染了临床分离株的小鼠模型中观察到一种类似HFMD的皮疹表型。此外,炎症因子IL-23/IL-17轴似乎在感染的nod/scid小鼠模型中被激活。这些有趣的现象是否在nod/scid模型具有特异性,或者可以推广到其他小鼠模型或人类患者,还有待观察。

此外,干扰素- $\gamma$ 诱导蛋白-10(interferon- $\gamma$ -inducible protein-10, IP-10)是EV71患者高表达的趋化因子<sup>[57]</sup>。与野生型对照小鼠相比,IP-10敲除小鼠感染小鼠适应性EV71后的死亡率更高,表明IP-10在EV71感染和发病机制中的保护作用<sup>[58]</sup>。

**4.2.3 转基因小鼠模型:**近年来,许多EV71感染过程中的细胞受体<sup>[33,35,37,59]</sup>被提出,这些受体促进了非敏感细胞系如小鼠成纤维细胞L929对EV71的感染。然而,表达人PSGL-1的转基因小鼠不能支持EV71临床分离株的感染<sup>[60]</sup>。在这些报道的细胞受体中,迄今为止只有人scarb2(hscarb2)被证明支持体内EV71感染。

以往报道有两种不同的hscarb2-tg小鼠模型。在ef-1a-hscarb2模型<sup>[61]</sup>中,ef-1a启动子被用来驱动C57b/6小鼠背景中hscarb2的表达;在sc2-hscarb2模型<sup>[62]</sup>中,一个天然的hscarb2启动子在人scarb2-bac克隆中驱动c57b/6小鼠背景中的转基因表达。这两种模型都能感染EV71,发展成肢体瘫痪,并在肌肉和神经组织中检测到病毒蛋白。然而,上述hscarb2Tg小鼠模型还不能有效支持口腔感染<sup>[61,62]</sup>,而这对于儿童是一个重要的传播途径。

**4.2.4 杂交小鼠模型:**如上所述,hscarb2受体和免疫缺陷都有助于EV71感染和发病。因此,将转基因hscarb2和宿主免疫缺陷结合可能会进一步提高感染效率。事实上,通过杂交培育hscarb2-tg和stat-1ko小鼠产生了一个新的杂交小鼠模型。与其亲本小鼠相比,该杂交小鼠模型更

易于应用。例如, 杂交小鼠在2 wk大的时候, 仍然可以感染不同基因型的EV71, 需要的滴度(pfu)比亲本小鼠低1000倍<sup>[63]</sup>。EV71感染的杂交小鼠在中枢神经系统(如中脑和脊髓)中表现出高密度的病毒蛋白。与stat-1ko模型一样, 尽管EV71感染的杂交小鼠出现肢体瘫痪, 但在肌肉组织中没有检测到病毒RNA和蛋白。这表明, 瘫痪完全源于中枢神经系统损伤, 而不是肌肉破坏。这种新的混合(hscarb2-tg/stat-1-ko)模型可以作为一个评估药物或疫苗疗效的平台<sup>[63]</sup>。

尽管这种杂交小鼠模型对研究EV71相关的神经病变和抗病毒治疗是一个更为敏感的系统, 但由于缺乏干扰素信号, 不能成为研究免疫调节剂治疗的良好模型。

## 5 EV71疫苗

EV71一般通过密切的人与人接触传播, 因此, 疫苗接种可能是控制EV71感染的最佳方法。目前研究的EV71疫苗有多种类型, 包括灭活病毒疫苗<sup>[64-66]</sup>、病毒样颗粒疫苗<sup>[67]</sup>、DNA疫苗<sup>[68]</sup>、亚单位疫苗<sup>[69]</sup>和减毒活疫苗<sup>[70]</sup>。

灭活病毒EV71疫苗的开发进展迅速, 是目前EV71疫苗中最先进的候选疫苗<sup>[65,66,71-73]</sup>, 健康儿童接种灭活EV71疫苗5年后的免疫持续性仍然较高<sup>[74]</sup>。2015年12月, 中国食品药品监督管理局批准了两种预防HFMD的灭活EV71疫苗<sup>[75]</sup>。由于灭活的EV71疫苗不能复制, 因此出于安全考虑, 它们比减毒活疫苗更受欢迎。然而, 灭活疫苗的生产成本和潜在的供应问题使其在实际应用中受到了限制<sup>[76]</sup>。

病毒样颗粒(VLPS)疫苗与灭活EV71疫苗不同, VLPS疫苗的优点是能够同时以其天然构象呈现EV71衣壳蛋白的所有表面表位<sup>[75,77]</sup>。尽管VLPS疫苗的效力低于灭活疫苗, 但实验动物模型研究表明, VLP能产生保护性中和抗体, 并对疫苗中不存在的多种亚型产生交叉反应<sup>[77]</sup>。与VLP相关的问题是其稳定性、净化和生产成本。其他类型的EV71疫苗(DNA疫苗、亚单位疫苗和减毒活疫苗)尚处于早期发展阶段, 目前正在对小鼠和非人类灵长类动物进行临床前试验<sup>[75]</sup>。

## 6 结论

EV71感染在亚太地区引起了大规模的HFMD暴发, 已引起社会各界的高度关注。但是, 目前尚无有效的EV71治疗药物, EV71感染发病机制的研究也没有确切结论, 还有很多问题需要解决。EV71疫苗是保护儿童免受感染的有效方法, 然而, 目前没有一种EV71疫苗能提供有效的保护作用来防止其他肠道病毒的感染, 开发能覆盖多种肠道病毒的疫苗仍是一种前瞻性的选择。

在今后的研究中, (1)应建立一个全球性EV71感染监测网络, 持续的监测有助于识别和发现新的EV71变

种; (2)迫切需要有效的抗病毒药物来对抗亚洲和世界各地频繁发生的EV71感染; (3)应深入研究EV71感染模型中病毒种群的行为及其与发病机制的关系, 因为目前还不清楚致命感染是由单一毒株导致, 还是由人群中携带不同突变的病原体的合作引起, 对这个问题的解答可以为设计一种有效的EV71疫苗铺平道路; 最后, 应进一步寻找新的特异性EV71受体, 特别是加强嗜神经性受体的研究, 可为特效的靶向药物的研究提供科学依据。

## 7 参考文献

- Teoh HL, Mohammad SS, Britton PN, Kandula T, Lorentzos MS, Booy R, Jones CA, Rawlinson W, Ramachandran V, Rodriguez ML, Andrews PJ, Dale RC, Farrar MA, Sampaio H. Clinical Characteristics and Functional Motor Outcomes of Enterovirus 71 Neurological Disease in Children. *JAMA Neurol* 2016; 73: 300-307 [PMID: 26785318 DOI: 10.1001/jamaneurol.2015.4388]
- 郑亚明, 常昭瑞, 姜黎黎, 嵇红, 陈国平, 罗平, 潘静静, 田晓灵, 魏雷雷, 霍达, 缪梓萍, 邹晓妮, 陈建华, 廖巧红. 手足口病重症病例分析: 基于全国手足口病监测试点数据. *中华流行病学杂志* 2017; 38: 759-762 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2017.06.014]
- Duan G, Yang H, Shi L, Sun W, Sui M, Zhang R, Wang X, Wang F, Zhang W, Xi Y, Fan Q. Serum inflammatory cytokine levels correlate with hand-foot-mouth disease severity: a nested serial case-control study. *PLoS One* 2014; 9: e112676 [PMID: 25391156 DOI: 10.1371/journal.pone.0112676]
- Shih C, Liao CC, Chang YS, Wu SY, Chang CS, Liou AT. Immunocompetent and Immunodeficient Mouse Models for Enterovirus 71 Pathogenesis and Therapy. *Viruses* 2018; 10: 674 [PMID: 30487421 DOI: 10.3390/v10120674]
- Chan YF, Sam IC, AbuBakar S. Phylogenetic designation of enterovirus 71 genotypes and subgenotypes using complete genome sequences. *Infect Genet Evol* 2010; 10: 404-412 [PMID: 19465162 DOI: 10.1016/j.meegid.2009.05.010]
- Hirst GK. Genetic recombination with Newcastle disease virus, polioviruses, and influenza. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1962; 27: 303-309 [PMID: 13954778]
- Ledinko N. Genetic recombination with poliovirus type 1. Studies of crosses between a normal horse serum-resistant mutant and several guanidine-resistant mutants of the same strain. *Virology* 1963; 20: 107-119 [PMID: 13929034]
- Muslin C, Joffret ML, Pelletier I, Blondel B, Delpeyroux F. Evolution and Emergence of Enteroviruses through Intra- and Inter-species Recombination: Plasticity and Phenotypic Impact of Modular Genetic Exchanges in the 5' Untranslated Region. *PLoS Pathog* 2015; 11: e1005266 [PMID: 26562151 DOI: 10.1371/journal.ppat.1005266]
- Yeh MT, Wang SW, Yu CK, Lin KH, Lei HY, Su IJ, Wang JR. A single nucleotide in stem loop II of 5'-untranslated region contributes to virulence of enterovirus 71 in mice. *PLoS One* 2011; 6: e27082 [PMID: 22069490 DOI: 10.1371/journal.pone.0027082]
- Liu Y, Fu C, Wu S, Chen X, Shi Y, Zhou B, Zhang L, Zhang F, Wang Z, Zhang Y, Fan C, Han S, Yin J, Peng B, Liu W, He X. A novel finding for enterovirus virulence from the capsid protein VP1 of EV71 circulating in mainland China. *Virus Genes* 2014; 48: 260-272 [PMID: 24442718 DOI: 10.1007/s11262-014-1035-2]
- Nishimura Y, Lee H, Hafenstein S, Kataoka C, Wakita T, Bergelson JM, Shimizu H. Enterovirus 71 binding to PSGL-1 on leukocytes: VP1-145 acts as a molecular switch to control

- receptor interaction. *PLoS Pathog* 2013; 9: e1003511 [PMID: 23935488 DOI: 10.1371/journal.ppat.1003511]
- 12 Yuan S, Li G, Wang Y, Gao Q, Wang Y, Cui R, Altmeyer R, Zou G. Identification of Positively Charged Residues in Enterovirus 71 Capsid Protein VP1 Essential for Production of Infectious Particles. *J Virol* 2015; 90: 741-752 [PMID: 26512078 DOI: 10.1128/JVI.02482-15]
- 13 Wen HL, Si LY, Yuan XJ, Hao SB, Gao F, Chu FL, Sun CX, Wang ZY. Complete genome sequencing and analysis of six enterovirus 71 strains with different clinical phenotypes. *Virol J* 2013; 10: 115 [PMID: 23577963 DOI: 10.1186/1743-422X-10-115]
- 14 Li R, Zou Q, Chen L, Zhang H, Wang Y. Molecular analysis of virulent determinants of enterovirus 71. *PLoS One* 2011; 6: e26237 [PMID: 22039449 DOI: 10.1371/journal.pone.0026237]
- 15 Singh S, Poh CL, Chow VT. Complete sequence analyses of enterovirus 71 strains from fatal and non-fatal cases of the hand, foot and mouth disease outbreak in Singapore (2000). *Microbiol Immunol* 2002; 46: 801-808 [PMID: 12516778]
- 16 Yee PT, Tan KO, Othman I, Poh CL. Identification of molecular determinants of cell culture growth characteristics of Enterovirus 71. *Virol J* 2016; 13: 194 [PMID: 27894305 DOI: 10.1186/s12985-016-0645-9]
- 17 Chang SC, Li WC, Chen GW, Tsao KC, Huang CG, Huang YC, Chiu CH, Kuo CY, Tsai KN, Shih SR, Lin TY. Genetic characterization of enterovirus 71 isolated from patients with severe disease by comparative analysis of complete genomes. *J Med Virol* 2012; 84: 931-939 [PMID: 22499017 DOI: 10.1002/jmv.23287]
- 18 Li P, Yue Y, Song N, Li B, Meng H, Yang G, Li Z, An L, Qin L. Genome analysis of enterovirus 71 strains differing in mouse pathogenicity. *Virus Genes* 2016; 52: 161-171 [PMID: 26781949 DOI: 10.1007/s11262-015-1271-0]
- 19 Lauring AS, Andino R. Quasispecies theory and the behavior of RNA viruses. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1001005 [PMID: 20661479 DOI: 10.1371/journal.ppat.1001005]
- 20 Huang SW, Wang YF, Yu CK, Su IJ, Wang JR. Mutations in VP2 and VP1 capsid proteins increase infectivity and mouse lethality of enterovirus 71 by virus binding and RNA accumulation enhancement. *Virology* 2012; 422: 132-143 [PMID: 22078110 DOI: 10.1016/j.virol.2011.10.015]
- 21 Cordey S, Petty TJ, Schibler M, Martinez Y, Gerlach D, van Belle S, Turin L, Zdobnov E, Kaiser L, Tapparel C. Identification of site-specific adaptations conferring increased neural cell tropism during human enterovirus 71 infection. *PLoS Pathog* 2012; 8: e1002826 [PMID: 22910880 DOI: 10.1371/journal.ppat.1002826]
- 22 Tseligka ED, Sobo K, Stoppini L, Cagno V, Abdul F, Piuze I, Meylan P, Huang S, Constant S, Tapparel C. A VP1 mutation acquired during an enterovirus 71 disseminated infection confers heparan sulfate binding ability and modulates ex vivo tropism. *PLoS Pathog* 2018; 14: e1007190 [PMID: 30075025 DOI: 10.1371/journal.ppat.1007190]
- 23 Tan CW, Poh CL, Sam IC, Chan YF. Enterovirus 71 uses cell surface heparan sulfate glycosaminoglycan as an attachment receptor. *J Virol* 2013; 87: 611-620 [PMID: 23097443 DOI: 10.1128/JVI.02226-12]
- 24 Kobayashi K, Sudaka Y, Takashino A, Imura A, Fujii K, Koike S. Amino Acid Variation at VP1-145 of Enterovirus 71 Determines Attachment Receptor Usage and Neurovirulence in Human Scavenger Receptor B2 Transgenic Mice. *J Virol* 2018; 92 [PMID: 29848584 DOI: 10.1128/JVI.00681-18]
- 25 McMinn PC. An overview of the evolution of enterovirus 71 and its clinical and public health significance. *FEMS Microbiol Rev* 2002; 26: 91-107 [PMID: 12007645 DOI: 10.1111/j.1574-6976.2002.tb00601.x]
- 26 Chang LY, Chang IS, Chen WJ, Huang YC, Chen GW, Shih SR, Juang JL, Shih HM, Hsiung CA, Lin TY, Huang LM. HLA-A33 is associated with susceptibility to enterovirus 71 infection. *Pediatrics* 2008; 122: 1271-1276 [PMID: 19047245 DOI: 10.1542/peds.2007-3735]
- 27 Yang KD, Yang MY, Li CC, Lin SF, Chong MC, Wang CL, Chen RF, Lin TY. Altered cellular but not humoral reactions in children with complicated enterovirus 71 infections in Taiwan. *J Infect Dis* 2001; 183: 850-856 [PMID: 11237800 DOI: 10.1086/319255]
- 28 Li JA, Chen ZB, Lv TG, Han ZL, Liu PP. Impact of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism on severity of enterovirus 71-infection in Chinese children. *Clin Biochem* 2013; 46: 1842-1847 [PMID: 24140479 DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2013.10.009]
- 29 Zou R, Zhang G, Li S, Wang W, Yuan J, Li J, Wang Y, Lin Y, Deng Y, Zhou B, Gao GF, Liu Y. A functional polymorphism in IFNAR1 gene is associated with susceptibility and severity of HFMD with EV71 infection. *Sci Rep* 2015; 5: 18541 [PMID: 26679744 DOI: 10.1038/srep18541]
- 30 Chang LY, Hsiung CA, Lu CY, Lin TY, Huang FY, Lai YH, Chiang YP, Chiang BL, Lee CY, Huang LM. Status of cellular rather than humoral immunity is correlated with clinical outcome of enterovirus 71. *Pediatr Res* 2006; 60: 466-471 [PMID: 16940249 DOI: 10.1203/01.pdr.0000238247.86041.19]
- 31 Yee PT, Poh CL. T Cell Immunity To Enterovirus 71 Infection In Humans And Implications For Vaccine Development. *Int J Med Sci* 2018; 15: 1143-1152 [PMID: 30123051 DOI: 10.7150/ijms.26450]
- 32 Patel KP, Bergelson JM. Receptors identified for hand, foot and mouth virus. *Nat Med* 2009; 15: 728-729 [PMID: 19584857 DOI: 10.1038/nm0709-728]
- 33 Yamayoshi S, Yamashita Y, Li J, Hanagata N, Minowa T, Takemura T, Koike S. Scavenger receptor B2 is a cellular receptor for enterovirus 71. *Nat Med* 2009; 15: 798-801 [PMID: 19543282 DOI: 10.1038/nm.1992]
- 34 Chen P, Song Z, Qi Y, Feng X, Xu N, Sun Y, Wu X, Yao X, Mao Q, Li X, Dong W, Wan X, Huang N, Shen X, Liang Z, Li W. Molecular determinants of enterovirus 71 viral entry: cleft around GLN-172 on VP1 protein interacts with variable region on scavenger receptor B 2. *J Biol Chem* 2012; 287: 6406-6420 [PMID: 22219187]
- 35 Nishimura Y, Shimizu H. Identification of P-selectin glycoprotein ligand-1 as one of the cellular receptors for enterovirus 71. *Uirusu* 2009; 59: 195-203 [PMID: 20218328]
- 36 Denizot M, Neal JW, Gasque P. Encephalitis due to emerging viruses: CNS innate immunity and potential therapeutic targets. *J Infect* 2012; 65: 1-16 [PMID: 22484271 DOI: 10.1016/j.jinf.2012.03.019]
- 37 Su PY, Wang YF, Huang SW, Lo YC, Wang YH, Wu SR, Shieh DB, Chen SH, Wang JR, Lai MD, Chang CF. Cell surface nucleolin facilitates enterovirus 71 binding and infection. *J Virol* 2015; 89: 4527-4538 [PMID: 25673703 DOI: 10.1128/JVI.03498-14]
- 38 Ren XX, Ma L, Liu QW, Li C, Huang Z, Wu L, Xiong SD, Wang JH, Wang HB. The molecule of DC-SIGN captures enterovirus 71 and confers dendritic cell-mediated viral trans-infection. *Virol J* 2014; 11: 47 [PMID: 24620896 DOI: 10.1186/1743-422X-11-47]
- 39 Han JF, Cao RY, Tian X, Yu M, Qin ED, Qin CF. Producing infectious enterovirus type 71 in a rapid strategy. *Virol J* 2010; 7: 116 [PMID: 20525351 DOI: 10.1186/1743-422X-7-116]
- 40 Liao CC, Liou AT, Chang YS, Wu SY, Chang CS, Lee CK, Kung JT, Tu PH, Yu YY, Lin CY, Lin JS, Shih C. Immunodeficient mouse models with different disease profiles by in vivo infection with the same clinical isolate of enterovirus 71. *J Virol* 2014; 88: 12485-12499 [PMID: 25142603]



- DOI: 10.1128/JVI.00692-14]
- 41 Lyu K, Wang GC, He YL, Han JF, Ye Q, Qin CF, Chen R. Crystal structures of enterovirus 71 (EV71) recombinant virus particles provide insights into vaccine design. *J Biol Chem* 2015; 290: 3198-3208 [PMID: 25492868 DOI: 10.1074/jbc.M114.624536]
  - 42 Wang B, Xi X, Lei X, Zhang X, Cui S, Wang J, Jin Q, Zhao Z. Enterovirus 71 protease 2Apro targets MAVS to inhibit antiviral type I interferon responses. *PLoS Pathog* 2013; 9: e1003231 [PMID: 23555247 DOI: 10.1371/journal.ppat.1003231]
  - 43 Wang W, Xiao F, Wan P, Pan P, Zhang Y, Liu F, Wu K, Liu Y, Wu J. EV71 3D Protein Binds with NLRP3 and Enhances the Assembly of Inflammasome Complex. *PLoS Pathog* 2017; 13: e1006123 [PMID: 28060938 DOI: 10.1371/journal.ppat.1006123]
  - 44 Too IH, Yeo H, Sessions OM, Yan B, Libau EA, Howe JL, Lim ZQ, Suku-Maran S, Ong WY, Chua KB, Wong BS, Chow VT, Alonso S. Enterovirus 71 infection of motor neuron-like NSC-34 cells undergoes a non-lytic exit pathway. *Sci Rep* 2016; 6: 36983 [PMID: 27849036 DOI: 10.1038/srep36983]
  - 45 Yu P, Bao L, Xu L, Li F, Lv Q, Deng W, Xu Y, Qin C. Neurotropism In Vitro and Mouse Models of Severe and Mild Infection with Clinical Strains of Enterovirus 71. *Viruses* 2017; 9 [PMID: 29156632 DOI: 10.3390/v9110351]
  - 46 Shih SR, Weng KF, Stollar V, Li ML. Viral protein synthesis is required for Enterovirus 71 to induce apoptosis in human glioblastoma cells. *J Neurovirol* 2008; 14: 53-61 [PMID: 18300075 DOI: 10.1080/13550280701798980]
  - 47 Fukuhara M, Iwami S, Sato K, Nishimura Y, Shimizu H, Aihara K, Koyanagi Y. Quantification of the dynamics of enterovirus 71 infection by experimental-mathematical investigation. *J Virol* 2013; 87: 701-705 [PMID: 23097444 DOI: 10.1128/JVI.01453-12]
  - 48 Shih C, Liao CC, Chang YS, Wu SY, Chang CS, Liou AT. Immunocompetent and Immunodeficient Mouse Models for Enterovirus 71 Pathogenesis and Therapy. *Viruses* 2018; 10 [PMID: 30487421 DOI: 10.3390/v10120674]
  - 49 Chen IC, Wang SM, Yu CK, Liu CC. Subneutralizing antibodies to enterovirus 71 induce antibody-dependent enhancement of infection in newborn mice. *Med Microbiol Immunol* 2013; 202: 259-265 [PMID: 23408291 DOI: 10.1007/s00430-013-0289-y]
  - 50 Wang YF, Chou CT, Lei HY, Liu CC, Wang SM, Yan JJ, Su IJ, Wang JR, Yeh TM, Chen SH, Yu CK. A mouse-adapted enterovirus 71 strain causes neurological disease in mice after oral infection. *J Virol* 2004; 78: 7916-7924 [PMID: 15254164 DOI: 10.1128/JVI.78.15.7916-7924.2004]
  - 51 Lin YW, Chang KC, Kao CM, Chang SP, Tung YY, Chen SH. Lymphocyte and antibody responses reduce enterovirus 71 lethality in mice by decreasing tissue viral loads. *J Virol* 2009; 83: 6477-6483 [PMID: 19386699 DOI: 10.1128/JVI.00434-09]
  - 52 Arita M, Ami Y, Wakita T, Shimizu H. Cooperative effect of the attenuation determinants derived from poliovirus sabin 1 strain is essential for attenuation of enterovirus 71 in the NOD/SCID mouse infection model. *J Virol* 2008; 82: 1787-1797 [PMID: 18057246 DOI: 10.1128/JVI.01798-07]
  - 53 Zhang Y, Li J, Li Q. Immune Evasion of Enteroviruses Under Innate Immune Monitoring. *Front Microbiol* 2018; 9: 1866 [PMID: 30154774 DOI: 10.3389/fmicb.2018.01866]
  - 54 Sun J, Ennis J, Turner JD, Chu JJ. Single dose of an adenovirus vectored mouse interferon- $\alpha$  protects mice from lethal EV71 challenge. *Antiviral Res* 2016; 134: 207-215 [PMID: 27623347 DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.09.003]
  - 55 Khong WX, Yan B, Yeo H, Tan EL, Lee JJ, Ng JK, Chow VT, Alonso S. A non-mouse-adapted enterovirus 71 (EV71) strain exhibits neurotropism, causing neurological manifestations in a novel mouse model of EV71 infection. *J Virol* 2012; 86: 2121-2131 [PMID: 22130542 DOI: 10.1128/JVI.06103-11]
  - 56 Caine EA, Partidos CD, Santangelo JD, Osorio JE. Adaptation of enterovirus 71 to adult interferon deficient mice. *PLoS One* 2013; 8: e59501 [PMID: 23527208 DOI: 10.1371/journal.pone.0059501]
  - 57 Wang SM, Lei HY, Yu CK, Wang JR, Su IJ, Liu CC. Acute chemokine response in the blood and cerebrospinal fluid of children with enterovirus 71-associated brainstem encephalitis. *J Infect Dis* 2008; 198: 1002-1006 [PMID: 18710325 DOI: 10.1086/591462]
  - 58 Shen FH, Tsai CC, Wang LC, Chang KC, Tung YY, Su IJ, Chen SH. Enterovirus 71 infection increases expression of interferon-gamma-inducible protein 10 which protects mice by reducing viral burden in multiple tissues. *J Gen Virol* 2013; 94: 1019-1027 [PMID: 23288420 DOI: 10.1099/vir.0.046383-0]
  - 59 Yang SL, Chou YT, Wu CN, Ho MS. Annexin II binds to capsid protein VP1 of enterovirus 71 and enhances viral infectivity. *J Virol* 2011; 85: 11809-11820 [PMID: 21900167 DOI: 10.1128/JVI.00297-11]
  - 60 Liu J, Dong W, Quan X, Ma C, Qin C, Zhang L. Transgenic expression of human P-selectin glycoprotein ligand-1 is not sufficient for enterovirus 71 infection in mice. *Arch Virol* 2012; 157: 539-543 [PMID: 22187102 DOI: 10.1007/s00705-011-1198-2]
  - 61 Lin YW, Yu SL, Shao HY, Lin HY, Liu CC, Hsiao KN, Chitra E, Tsou YL, Chang HW, Sia C, Chong P, Chow YH. Human SCARB2 transgenic mice as an infectious animal model for enterovirus 71. *PLoS One* 2013; 8: e57591 [PMID: 23451246 DOI: 10.1371/journal.pone.0057591]
  - 62 Fujii K, Nagata N, Sato Y, Ong KC, Wong KT, Yamayoshi S, Shimanuki M, Shitara H, Taya C, Koike S. Transgenic mouse model for the study of enterovirus 71 neuropathogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110: 14753-14758 [PMID: 23959904 DOI: 10.1073/pnas.1217563110]
  - 63 Liou AT, Wu SY, Liao CC, Chang YS, Chang CS, Shih C. A new animal model containing human SCARB2 and lacking stat-1 is highly susceptible to EV71. *Sci Rep* 2016; 6: 31151 [PMID: 27499235 DOI: 10.1038/srep31151]
  - 64 Zhu FC, Meng FY, Li JX, Li XL, Mao QY, Tao H, Zhang YT, Yao X, Chu K, Chen QH, Hu YM, Wu X, Liu P, Zhu LY, Gao F, Jin H, Chen YJ, Dong YY, Liang YC, Shi NM, Ge HM, Liu L, Chen SG, Ai X, Zhang ZY, Ji YG, Luo FJ, Chen XQ, Zhang Y, Zhu LW, Liang ZL, Shen XL. Efficacy, safety, and immunology of an inactivated alum-adjunct enterovirus 71 vaccine in children in China: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2013; 381: 2024-2032 [PMID: 23726161 DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61049-1]
  - 65 Zhu F, Xu W, Xia J, Liang Z, Liu Y, Zhang X, Tan X, Wang L, Mao Q, Wu J, Hu Y, Ji T, Song L, Liang Q, Zhang B, Gao Q, Li J, Wang S, Hu Y, Gu S, Zhang J, Yao G, Gu J, Wang X, Zhou Y, Chen C, Zhang M, Cao M, Wang J, Wang H, Wang N. Efficacy, safety, and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine in China. *N Engl J Med* 2014; 370: 818-828 [PMID: 24571754 DOI: 10.1056/NEJMoa1304923]
  - 66 Li R, Liu L, Mo Z, Wang X, Xia J, Liang Z, Zhang Y, Li Y, Mao Q, Wang J, Jiang L, Dong C, Che Y, Huang T, Jiang Z, Xie Z, Wang L, Liao Y, Liang Y, Nong Y, Liu J, Zhao H, Na R, Guo L, Pu J, Yang E, Sun L, Cui P, Shi H, Wang J, Li Q. An inactivated enterovirus 71 vaccine in healthy children. *N Engl J Med* 2014; 370: 829-837 [PMID: 24571755 DOI: 10.1056/NEJMoa1303224]
  - 67 Chung YC, Ho MS, Wu JC, Chen WJ, Huang JH, Chou ST, Hu YC. Immunization with virus-like particles of enterovirus 71 elicits potent immune responses and protects mice against lethal challenge. *Vaccine* 2008; 26: 1855-1862 [PMID: 18329759]



- DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.01.058]
- 68 Tung WS, Bakar SA, Sekawi Z, Rosli R. DNA vaccine constructs against enterovirus 71 elicit immune response in mice. *Genet Vaccines Ther* 2007; 5: 6 [PMID: 17445254 DOI: 10.1186/1479-0556-5-6]
  - 69 Foo DG, Alonso S, Phoon MC, Ramachandran NP, Chow VT, Poh CL. Identification of neutralizing linear epitopes from the VP1 capsid protein of Enterovirus 71 using synthetic peptides. *Virus Res* 2007; 125: 61-68 [PMID: 17222936 DOI: 10.1016/j.virusres.2006.12.005]
  - 70 Xu J, Qian Y, Wang S, Serrano JM, Li W, Huang Z, Lu S. EV71: an emerging infectious disease vaccine target in the Far East? *Vaccine* 2010; 28: 3516-3521 [PMID: 20304038 DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.03.003]
  - 71 Wei M, Meng F, Wang S, Li J, Zhang Y, Mao Q, Hu Y, Liu P, Shi N, Tao H, Chu K, Wang Y, Liang Z, Li X, Zhu F. 2-Year Efficacy, Immunogenicity, and Safety of Vigoo Enterovirus 72 Vaccine in Healthy Chinese Children: A Randomized Open-Label Study. *J Infect Dis* 2017; 215: 56-63 [PMID: 28077584 DOI: 10.1093/infdis/jiw502]
  - 71 Yi EJ, Shin YJ, Kim JH, Kim TG, Chang SY. Enterovirus 71 infection and vaccines. *Clin Exp Vaccine Res* 2017; 6: 4-14 [PMID: 28168168 DOI: 10.7774/cevr.2017.6.1.4]
  - 73 Liu L, Mo Z, Liang Z, Zhang Y, Li R, Ong KC, Wong KT, Yang E, Che Y, Wang J, Dong C, Feng M, Pu J, Wang L, Liao Y, Jiang L, Tan SH, David P, Huang T, Zhou Z, Wang X, Xia J, Guo L, Wang L, Xie Z, Cui W, Mao Q, Liang Y, Zhao H, Na R, Cui P, Shi H, Wang J, Li Q. Immunity and clinical efficacy of an inactivated enterovirus 71 vaccine in healthy Chinese children: a report of further observations. *BMC Med* 2015; 13: 226 [PMID: 26381232 DOI: 10.1186/s12916-015-0448-7]
  - 74 Hu Y, Zeng G, Chu K, Zhang J, Han W, Zhang Y, Li J, Zhu F. Five-year immunity persistence following immunization with inactivated enterovirus 71 type (EV71) vaccine in healthy children: A further observation. *Hum Vaccin Immunother* 2018; 14: 1517-1523 [PMID: 29482422 DOI: 10.1080/21645515.2018.1442997]
  - 75 Reed Z, Cardoso MJ. Status of research and development of vaccines for enterovirus 71. *Vaccine* 2016; 34: 2967-2970 [PMID: 26973065 DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.02.077]
  - 76 Chou AH, Liu CC, Chang JY, Jiang R, Hsieh YC, Tsao A, Wu CL, Huang JL, Fung CP, Hsieh SM, Wang YF, Wang JR, Hu MH, Chiang JR, Su IJ, Chong PC. Formalin-inactivated EV71 vaccine candidate induced cross-neutralizing antibody against subgenotypes B1, B4, B5 and C4A in adult volunteers. *PLoS One* 2013; 8: e79783 [PMID: 24278177 DOI: 10.1371/journal.pone.0079783]
  - 77 Lin YL, Yu CL, Hu YC, Tsai TJ, Kuo YC, Chi WK, Lin AN, Chiang BL. Enterovirus type 71 neutralizing antibodies in the serum of macaque monkeys immunized with EV71 virus-like particles. *Vaccine* 2012; 30: 1305-1312 [PMID: 22214888 DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.12.081]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内31个省、市、自治区、和香港特别行政区和719位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的半月刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括实验背景、实验动机、实验目标、实验方法、实验结果、实验结论、展望前景。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究者提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。

# 麦冬皂苷D通过调控miR-519d-3p/EIF4E表达对肝癌细胞增殖、迁移、侵袭的实验研究

申鹏, 汪正飞

申鹏, 汪正飞, 衢州市人民医院肝胆外科 浙江省衢州市 324000

申鹏, 主治医师, 主要研究方向为肝胆胰疾病的诊治。

作者贡献分布: 此课题由申鹏设计; 研究过程由申鹏与汪正飞操作完成; 数据分析由申鹏与汪正飞完成; 本论文写作由申鹏与汪正飞完成。

通讯作者: 汪正飞, 副主任医师, 324000, 浙江省衢州市柯城区钟楼底2号, 衢州市人民医院肝胆外科. [pazze3@163.com](mailto:pazze3@163.com)

收稿日期: 2019-11-13

修回日期: 2019-12-10

接受日期: 2019-12-20

在线出版日期: 2019-12-28

## Ophiopogonin D inhibits proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma cells by regulating miR-519d-3p/EIF4E expression

Peng Shen, Zheng-Fei Wang

Peng Shen, Zheng-Fei Wang, Department of Hepatobiliary Surgery, Quzhou City People's Hospital, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Zheng-Fei Wang, Deputy Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Quzhou City People's Hospital, No. 2, Zhongludi, Kecheng District, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China. [pazze3@163.com](mailto:pazze3@163.com)

Received: 2019-11-13

Revised: 2019-12-10

Accepted: 2019-12-20

Published online: 2019-12-28

## Abstract

### BACKGROUND

Ophiopogonin D (OPD) is an important monomer

component in Chinese traditional medicine. Ophiopogon extract has anti-cancer effects, but it is unknown whether it has anti-liver cancer effects. We hypothesized that OPD could have anti-liver cancer activity by up-regulating the expression of miR-519d-3p and then down-regulating the expression of eukaryotic translation initiation factor 4E (EIF4E).

### AIM

To investigate the effects of OPD on proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma cells and the possible mechanism involved.

### METHODS

HepG2 and MHCC97 cells were cultured for 48 h after treatment with different concentrations (2.5, 5, and 10  $\mu\text{mol/L}$ ) of OPD. Methylthiazolotetrazolium (MTT) assay was used to detect cell proliferation, Transwell assay was used to detect cell migration and invasion, real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect the levels of miR-519d-3p and EIF4E mRNA in HepG2 cells, and Western blot was used to detect the expression levels of CyclinD1, p21, matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9, and EIF4E proteins. Dual luciferase reporter gene assay was used to validate the relationship between miR-519d-3p and EIF4E. To obtain HepG2 or MHCC97 cells with miR-519d-3p overexpression or EIF4E knockdown, miR-519d-3p mimic or si-EIF4E was transfected into HepG2 or MHCC97 cells. Then, RT-qPCR was used to detect the level of miR-519d-3p expression in HepG2 or MHCC97 cells and Western blot was performed to detect the level of EIF4E protein to verify the transfection efficiency. MTT assay, Transwell assay, and Western blot were used to detect the effects of overexpression of miR-519d-3p or inhibition of EIF4E on cell proliferation, migration, and invasion as well as the expression of CyclinD1, p21, MMP-2, and MMP-9 proteins.

## RESULTS

Compared with control cells, the rates of reduced growth of HepG2 cells in the OPD groups were significantly increased ( $P < 0.05$ ), cell migration and invasion were significantly decreased ( $P < 0.05$ ), the levels of CyclinD1, MMP-2, and MMP-9 proteins were significantly decreased ( $P < 0.05$ ), p21 protein expression was significantly increased ( $P < 0.05$ ), miR-519d-3p expression was significantly increased ( $P < 0.05$ ), and the levels of EIF4E mRNA and protein were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). MiR-519d-3p negatively regulated EIF4E expression in HepG2 cells. Overexpression of miR-519d-3p or inhibition of EIF4E inhibited the proliferation, migration, and invasion of HepG2 cells. Inhibition of miR-519d-3p expression partially reversed the inhibitory effect of OPD on the proliferation, migration, and invasion of HepG2 cells.

## CONCLUSION

OPD inhibits the proliferation, migration, and invasion of hepatoma cells possibly by regulating the expression of miR-519d-3p/EIF4E.

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

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Ophiopogonin D; miR-519d-3p; EIF4E; Cell proliferation; Migration; Invasion

Shen P, Wang ZF. Ophiopogonin D inhibits proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma cells by regulating miR-519d-3p/EIF4E expression. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(24): 1473-1482

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1473.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i24.1473>

## 摘要

### 背景

麦冬皂苷D(ophiopogonin D, OPD)是中药麦冬提取物中重要的单体成分且具有抗癌作用, 但是否具有抗肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)作用还未知。本研究假设OPD能够通过上调miR-519d-3p表达进而下调真核细胞翻译起始因子4E(eukaryotic translation initiation factor 4E, EIF4E)表达发挥抗HCC作用。

### 目的

探讨OPD对HCC细胞增殖、迁移和侵袭的影响及可能的作用机制。

### 方法

培养HCC细胞HepG2和MHCC97, 不同浓度(2.5  $\mu\text{mol/L}$ 、5  $\mu\text{mol/L}$ 、10  $\mu\text{mol/L}$ )的OPD作用48 h后, 四甲基噻唑蓝染色法(methylthiazolotrazolium, MTT)检测细胞增殖, Transwell检测细胞迁移和侵袭, 实时荧光定量PCR(real-time quantitative PCR, RT-qPCR)检测细

胞中miR-519d-3p和EIF4E mRNA表达, Western blot检测细胞周期蛋白D1(CyclinD1)、p21、基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)、MMP-9和EIF4E蛋白表达。双荧光素酶报告基因实验验证miR-519d-3p和EIF4E之间关系。转染miR-519d-3p mimics、si-EIF4E构建miR-519d-3p过表达或EIF4E表达抑制的HepG2和MHCC97细胞, RT-qPCR检测细胞中miR-519d-3p表达或Western blot检测EIF4E蛋白表达验证转染效率。MTT、Transwell、Western blot分别检测过表达miR-519d-3p或抑制EIF4E表达对HepG2和MHCC97细胞增殖、迁移和侵袭, 及CyclinD1、p21、MMP-2和MMP-9蛋白表达的影响。

## 结果

与对照组比, OPD组HepG2细胞抑制率显著升高( $P < 0.05$ ), 迁移和侵袭数显著降低( $P < 0.05$ ), HepG2细胞中CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达显著降低( $P < 0.05$ ), p21蛋白表达显著升高( $P < 0.05$ ), miR-519d-3p表达显著升高( $P < 0.05$ ), EIF4E mRNA和蛋白表达显著降低( $P < 0.05$ ), 且呈浓度依赖性。miR-519d-3p在HepG2细胞中靶向负调控EIF4E表达。miR-519d-3p过表达或抑制EIF4E表达均可抑制HepG2细胞增殖、迁移和侵袭。抑制miR-519d-3p表达部分逆转了OPD对HepG2细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用。

## 结论

OPD可能通过调控miR-519d-3p/EIF4E表达抑制HCC细胞的增殖、迁移和侵袭。

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

关键词: 肝癌; 麦冬皂苷D; miR-519d-3p; EIF4E; 细胞增殖; 迁移; 侵袭

**核心提要:** 麦冬皂苷D可抑制HCC细胞增殖、迁移和侵袭, 其作用机制与调控miR-519d-3p/EIF4E表达有关。

申鹏, 汪正飞. 麦冬皂苷D通过调控miR-519d-3p/EIF4E表达对肝癌细胞增殖、迁移、侵袭的实验研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(24): 1473-1482  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1473.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i24.1473>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC), 是常见的恶性肿瘤之一, 严重威胁人类的生命健康。HCC治疗以常规手术切除为主, 辅助放疗和化疗。但目前, HCC的治疗效果不佳, 患者预后较差, 易发生早期侵袭和转移<sup>[1,2]</sup>。因此, 寻找能够抑制HCC转移和侵袭的药物具有重要意义。麦冬是百合科沿阶草属植物麦冬的肉质块根, 具有保护血管、抗心肌缺血、降血糖等功效, 在中医临床中



广泛使用<sup>[3,4]</sup>. 常用的中药材. 麦冬皂苷D(ophiopogonin D, OPD)是麦冬提取物中重要的单体成分, 同样具有多种生物学效应<sup>[5]</sup>. 研究显示, OPD可能通过受体相互作用蛋白1/混合谱系激酶结构区域样蛋白通路诱导前列腺癌细胞程序性坏死抑制其生长<sup>[6]</sup>. OPD可能通过下调细胞周期相关蛋白B1表达, 阻滞细胞周期进展, 抑制人乳腺癌细胞生长<sup>[7]</sup>. 但目前, OPD影响HCC细胞的生物学行为的相关研究还未见报道. miRNA是一类内源性的小分子非编码RNA, 可在转录后水平调控靶基因的表达, 进而影响肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭等生物学行为, 在肿瘤的发生和发展中发挥重要作用<sup>[8]</sup>. 研究显示, miR-519d-3p在胃癌<sup>[9]</sup>、乳腺癌<sup>[10]</sup>等肿瘤中异常表达, 上调其表达可抑制肿瘤的增殖、迁移和侵袭, 是肿瘤治疗的潜在靶点. 但目前, miR-519d-3p在HCC中的作用还未知. 生物信息学软件预测显示, 真核细胞翻译起始因子4E(eukaryotic translation initiation factor 4E, EIF4E)是miR-519d-3p的靶基因. EIF4E是真核细胞翻译起始因子家族的一员, 也参与多种肿瘤的发生和发展过程. 研究显示, HCC组织中EIF4E表达升高, 其高表达的患者5年生存率降低, 可作为HCC的预后生物标记物<sup>[11]</sup>. Ding等<sup>[12]</sup>研究显示, EIF4E参与HCC细胞的增殖和集落形成. 本研究以HCC细胞HepG2和MHCC97为研究对象, 主要探讨了OPD对HCC细胞增殖、迁移和侵袭的影响, 并以miR-519d-3p/EIF4E轴为切入点, 分析OPD影响HCC细胞增殖、迁移和侵袭的可能机制, 以期HCC治疗药物的研发提供新思路.

## 1 材料和方法

1.1 材料 HCC细胞株HepG2和MHCC97, ATCC细胞库; OPD, 上海一飞生物科技有限公司, 纯度>98%; 胎牛血清, 杭州四季青; DMEM培养基, 北京索莱宝公司; Trizol试剂和Lipofectamine™2000试剂盒, 美国Invitrogen公司; miR-519d-3p mimics、阴性对照等, 上海吉玛制药技术有限公司; 四甲基噻唑蓝(methylthiazolotrazolium, MTT)和二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO), 美国Sigma公司; 逆转录试剂盒, 北京诺博莱德科技有限公司; PCR试剂盒, 日本TOYOBO公司; 引物序列由上海生工生物技术公司提供; 放射免疫沉淀法(radioimmunoprecipitation assay, RIPA)裂解液、二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白测定试剂盒和双荧光素酶活性检测试剂盒, 上海碧云天公司; 鼠抗人单克隆抗体细胞周期蛋白D1(CyclinD1)和p21抗体, 美国Santa Cruz公司; 鼠抗人单克隆抗体基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2, MMP-2)和MMP-9, 福州迈新技术开发有限公司.

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染: HepG2和MHCC97细胞, 均用

含10%胎牛血清的DMEM培养基置于37℃、5%CO<sub>2</sub>、97%湿度的培养箱中培养. 待细胞生长密度达到80%时, 胰酶消化, 传代培养. 分别取对数生长期的HepG2、MHCC97细胞, 接种于6孔板中, 待细胞融合至60%时, 参照Lipofectamine™2000说明书. 分别转染转染miR-519d-3p模拟物(mimics)及阴性对照(miR-NC)、miR-519d-3p抑制剂(anti-miR-519d-3p)及阴性对照(anti-miR-NC)、EIF4E小干扰RNA(si-EIF4E)及乱序无义序列(si-NC). 转染24 h后, 更换新鲜培养基, 继续培养至48 h, 收集各组细胞进行后续实验.

1.2.2 细胞分组处理: 未转染的HepG2、MHCC97细胞均分为对照组: 细胞正常培养, 不做任何处理; OPD组: 含不同浓度<sup>[6]</sup>(2.5 μmol/L、5 μmol/L、10 μmol/L) OPD的培养基作用48 h. 转染miR-519d-3p mimics、miR-NC、si-EIF4E、si-NC的HepG2和MHCC97细胞均培养48 h, 分别记为miR-519d-3p组、miR-NC组、si-EIF4E组和si-NC组. 转染anti-miR-519d-3p、anti-miR-NC的HepG2和MHCC97细胞均用含10 μmol/L OPD的培养基作用48 h, 分别记为OPD+anti-miR-519d-3p组、OPD+anti-miR-NC组.

1.2.3 MTT检测细胞增殖: 未转染或转染后的HepG2、MHCC97细胞, 调整细胞浓度为 $2.5 \times 10^4$ 个/mL, 接种于96孔板中, 每孔200 μL, 置于常规培养箱中培养. 细胞贴壁后按照1.2.2分组处理. 培养结束后, 每孔加入20 μL MTT溶液(5 g/L), 继续培养4 h. 然后吸弃培养基, 加入150 μL DMSO溶液, 反应5 min, 混匀后于全自动酶标仪490 nm处测定吸光度值.

1.2.3 Transwell检测细胞迁移和侵袭: 未转染或转染后的HepG2、MHCC97细胞, 用不含胎牛血清的DMEM培养基重悬, 调整细胞浓度为 $2 \times 10^5$ 个/mL. 细胞迁移实验: 取100 μL细胞悬液加入至Transwell小室的上室, 下室加入500 μL含10%胎牛血清的DMEM培养基, 上室细胞按照1.2.2处理后, 吸弃培养基. 取出小室, PBS清洗细胞, 经甲醛固定、结晶紫染色后, 倒置显微镜下观察、拍照, 计算迁移细胞数目. 细胞侵袭实验: 不含胎牛血清的DMEM培养基稀释Matrigel胶, 加入到Transwell小室的上室. 然后取100 μL细胞悬液加入至铺有Matrigel胶的上室, 剩余操作与细胞迁移实验相同.

1.2.4 实时荧光定量PCR检测miR-519d-3p和EIF4E mRNA: Trizol试剂提取各组处理后细胞中总RNA. 紫外分光光度计检测RNA的纯度和浓度, 选取A260 nm/A280 nm值在1.8-2.0的范围内的RNA, 使用逆转录试剂盒将其逆转录为cDNA, -20℃保存. 然后以cDNA为模板行PCR扩增. PCR反应条件: 95℃ 5 min, 95℃ 10 s, 60℃ 30 s, 72℃ 30 s, 共45个循环. miR-519d-3p以U6为内参, EIF4E以GAPDH为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算miR-



519d-3p和EIF4E mRNA的相对表达水平。

**1.2.5 Western blot蛋白表达:** RIPA裂解液, 提取各组细胞中总蛋白, 于冰上充分裂解30 min, 4 ℃、12000 *g*离心10 min, 收集上清液, BCA法测定蛋白含量。取适量的蛋白, 加入上样缓冲液, 煮沸5 min使蛋白变性。取15 μg变性蛋白上样进行SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳。电泳结束后, 将蛋白转至PVDF膜, 使用5%脱脂牛奶室温条件封闭, 封闭时间2 h。加入一抗, 4 ℃孵育过夜。TBST洗膜3次, 每次5 min。然后加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 室温孵育1 h。TBST洗膜3次, 每次5 min。加入ECL显影液避光条件下进行显影, 凝胶成像系统曝光拍照。

**1.2.6 双荧光素酶报告基因实验:** 生物信息学软件预测显示, EIF4E的3'UTR中存在与miR-519d-3p互补的核苷酸序列。将对数生长的HepG2细胞接种于6孔板中, 细胞融合至60%时, 使用Lipofectamine™2000将pmiRGLO-WT-EIF4E、pmiRGLO-MUT-EIF4E质粒分别与miR-519d-3p mimics和其阴性对照共转染至HepG2、MHCC97细胞。转染后6 h, 更换新鲜的培养基。继续培养至48 h, 收集各组细胞, 参照双荧光素酶活性检测试剂盒说明书操作, 对各组细胞的荧光素酶活性进行测定。

**统计学处理** 利用SPSS 22.0软件分析实验数据。计量资料以(Mean±SD)表示, 两组间比较采用独立样本 $t$ 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 OPD对HCC细胞HepG2和MHCC97增殖、迁移和侵袭的影响** 与对照组比较, OPD组HepG2、MHCC97细胞的抑制率、p21蛋白表达显著升高( $P<0.05$ ), 迁移和侵袭数、CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达显著降低( $P<0.05$ ), 且不同浓度OPD组间比较差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。表明OPD可剂量依赖性抑制HepG2、MHCC97细胞增殖、迁移和侵袭(图1、表1和表2)。

**2.2 OPD对HCC细胞HepG2和MHCC97中miR-519d-3p和EIF4E表达的影响** 与对照组比, OPD组HepG2、MHCC97细胞中miR-519d-3p表达显著升高( $P<0.05$ ), EIF4E mRNA和蛋白表达显著降低( $P<0.05$ ), 且不同浓度OPD组间比较差异具有统计学意义( $P<0.05$ ), 表明OPD可剂量依赖性促进HepG2、MHCC97细胞中miR-519d-3p表达, 抑制EIF4E表达(图2和表3)。

**2.3 miR-519d-3p靶向调控EIF4E的表达** TargetScan等生物信息学软件预测显示, EIF4E的3'UTR中含有与miR-519d-3p互补的核苷酸序列(图3A), 与共转染WT-EIF4E的miR-NC组比较, miR-519d-3p组HepG2、MHCC97细胞荧光素酶活性显著降低( $P<0.05$ ), 而与共转染MUT-EIF4E的miR-NC组比较, miR-519d-3p组

HepG2、MHCC97细胞荧光素酶活性比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表4), 说明miR-519d-3p可与EIF4E的3'UTR序列上的结合位点靶向结合。miR-519d-3p组HepG2、MHCC97细胞中EIF4E蛋白表达显著低于miR-NC( $P<0.05$ ), anti-miR-519d-3p组HepG2、MHCC97细胞中EIF4E蛋白表达显著高于miR-NC( $P<0.05$ )(表5)。表明miR-519d-3p在HepG2、MHCC97细胞中靶向负调控EIF4E表达。

**2.4 miR-519d-3p过表达对HCC细胞HepG2和MHCC97增殖、迁移和侵袭的影响** miR-519d-3p组HepG2、MHCC97细胞中miR-519d-3p表达水平显著高于miR-NC组( $P<0.05$ ), 表明miR-519d-3p mimics转染成功, 细胞中miR-519d-3p过表达。与miR-NC组比较, miR-519d-3p组HepG2、MHCC97细胞抑制率、p21蛋白表达显著升高( $P<0.05$ ), 迁移和侵袭数, 及CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达显著降低( $P<0.05$ ), 表明miR-519d-3p过表达可抑制HepG2、MHCC97细胞增殖、迁移和侵袭(图4、表6和表7)。

**2.5 抑制EIF4E表达对HCC细胞HepG2和MHCC97增殖、迁移和侵袭的影响** si-EIF4E组HepG2、MHCC97细胞中EIF4E蛋白表达显著低于si-NC组( $P<0.05$ ), 表明EIF4E小干扰RNA转染成功, 细胞中EIF4E表达受到抑制。与miR-NC组比较, miR-519d-3p组HepG2、MHCC97细胞抑制率、p21蛋白表达显著升高( $P<0.05$ ), 迁移和侵袭数, 及CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达显著降低( $P<0.05$ ), 表明抑制EIF4E表达可抑制HepG2、MHCC97细胞的增殖、迁移和侵袭(图5、表8和表9)。

**2.6 抑制miR-519d-3p表达逆转了OPD(10 μmol/L)对HCC细胞HepG2和MHCC97增殖、迁移和侵袭的作用** 与OPD+anti-miR-NC组比, OPD+anti-miR-519d-3p组HepG2、MHCC97细胞抑制率、miR-519d-3p、p21蛋白表达均显著降低( $P<0.05$ ), 迁移和侵袭数, 及EIF4E、CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达显著升高( $P<0.05$ ), 表明抑制miR-519d-3p表达部分逆转了OPD对HepG2、MHCC97细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用(图6、表10和表11)。

## 3 讨论

天然产物具有抗肿瘤效果, 多数从植物中提取的天然化合物是抗肿瘤药物的先导化合物<sup>[13]</sup>。OPD是传统中草药麦冬的主要活性单体, 在心血管、心肌损伤等方面发挥保护作用<sup>[14,15]</sup>。研究显示, OPD通过抑制核转录因子kappa B、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B和转录激活蛋白-1途径抑制肺癌细胞增殖, 增强紫杉醇诱导的肺癌死亡<sup>[16]</sup>。OPD可通过抑制p38的磷酸化以及MMP-9的表达抑制黑素瘤MDA-MB-435细胞的增殖和侵袭,

表 1 OPD对HepG2细胞增殖、迁移和侵袭的影响(mean ± SD, n = 12)

分组	抑制率(%)	迁移细胞数(个)	侵袭细胞数(个)	CyclinD1蛋白	p21蛋白	MMP-2蛋白	MMP-9蛋白
对照组	0.00 ± 0.00	126.34 ± 10.48	109.23 ± 9.24	0.73 ± 0.07	0.24 ± 0.03	0.77 ± 0.06	0.75 ± 0.07
OPD 2.5 μmol/L组	17.28 ± 1.75 <sup>a</sup>	92.41 ± 9.14 <sup>a</sup>	81.42 ± 8.01 <sup>a</sup>	0.61 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.39 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.64 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.59 ± 0.05 <sup>a</sup>
OPD 5 μmol/L组	39.46 ± 3.57 <sup>ac</sup>	71.26 ± 7.24 <sup>ac</sup>	59.37 ± 5.44 <sup>ac</sup>	0.48 ± 0.05 <sup>ac</sup>	0.52 ± 0.05 <sup>ac</sup>	0.52 ± 0.04 <sup>ac</sup>	0.48 ± 0.04 <sup>ac</sup>
OPD 10 μmol/L组	61.14 ± 6.28 <sup>ace</sup>	53.41 ± 5.22 <sup>ace</sup>	41.69 ± 4.83 <sup>ace</sup>	0.27 ± 0.03 <sup>ace</sup>	0.68 ± 0.06 <sup>ace</sup>	0.37 ± 0.03 <sup>ace</sup>	0.32 ± 0.03 <sup>ace</sup>
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与对照组比较, <sup>a</sup>*P*<0.05; 与OPD 2.5 μmol/L组比较, <sup>c</sup>*P*<0.05; 与OPD 5 μmol/L组比较, <sup>e</sup>*P*<0.05. OPD: 麦冬皂苷D; CyclinD1: 细胞周期蛋白D1; MMP: 基质金属蛋白酶。

表 2 OPD对MHCC97细胞增殖、迁移侵袭的影响(mean ± SD, n = 12)

分组	抑制率(%)	迁移细胞数(个)	侵袭细胞数(个)	CyclinD1蛋白	p21蛋白	MMP-2蛋白	MMP-9蛋白
对照组	0.00 ± 0.01	105.32 ± 11.22	89.65 ± 8.33	0.68 ± 0.06	0.29 ± 0.03	0.65 ± 0.06	0.78 ± 0.07
OPD 2.5 μmol/L组	19.65 ± 1.84 <sup>a</sup>	81.65 ± 8.43 <sup>a</sup>	71.61 ± 7.42 <sup>a</sup>	0.56 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.44 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.54 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.65 ± 0.05 <sup>a</sup>
OPD 5 μmol/L组	31.26 ± 3.45 <sup>ac</sup>	62.98 ± 6.33 <sup>ac</sup>	56.44 ± 5.31 <sup>ac</sup>	0.44 ± 0.04 <sup>ac</sup>	0.58 ± 0.05 <sup>ac</sup>	0.41 ± 0.04 <sup>ac</sup>	0.53 ± 0.05 <sup>ac</sup>
OPD 10 μmol/L组	48.61 ± 4.33 <sup>ace</sup>	42.87 ± 4.39 <sup>ace</sup>	34.29 ± 4.63 <sup>ace</sup>	0.29 ± 0.03 <sup>ace</sup>	0.73 ± 0.07 <sup>ace</sup>	0.26 ± 0.03 <sup>ace</sup>	0.34 ± 0.03 <sup>ace</sup>
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与对照组比较, <sup>a</sup>*P*<0.05; 与OPD 2.5 μmol/L组比较, <sup>c</sup>*P*<0.05; 与OPD 5 μmol/L组比较, <sup>e</sup>*P*<0.05. OPD: 麦冬皂苷D; CyclinD1: 细胞周期蛋白D1; MMP: 基质金属蛋白酶。

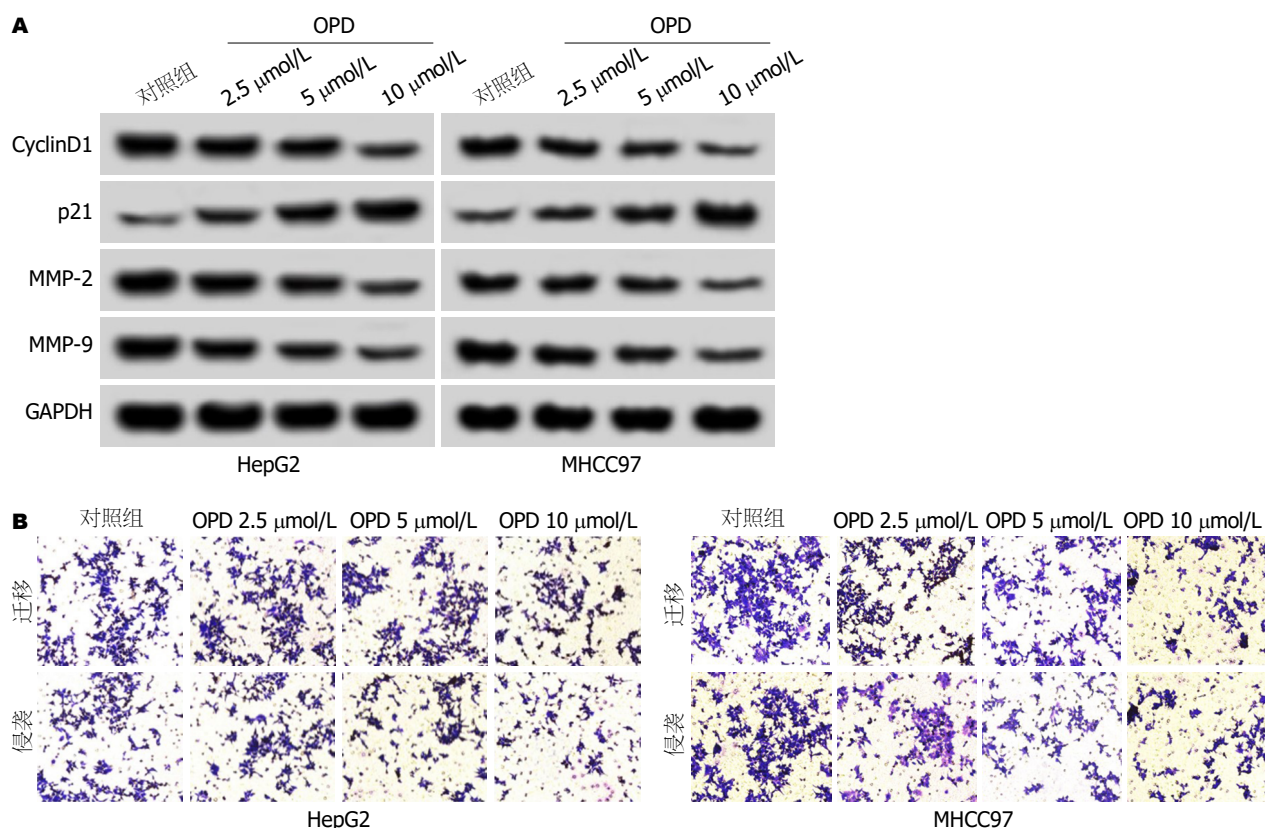


图 1 OPD对HCC HepG2和MHCC97细胞增殖、迁移和侵袭的影响. A: Western blot检测OPD作用HepG2、MHCC97细胞后p21、CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达; B: Transwell检测OPD作用肝癌细胞后迁移和侵袭能力. OPD: 麦冬皂苷D; CyclinD1: 细胞周期蛋白D1; MMP: 基质金属蛋白酶。

表 3 OPD对HCC细胞中miR-519d-3p和EIF4E表达的影响(mean ± SD, n = 12)

分组	HepG2			MHCC97		
	miR-519d-3p	EIF4E mRNA	EIF4E蛋白	miR-519d-3p	EIF4E mRNA	EIF4E蛋白
对照组	1.00 ± 0.09	1.02 ± 0.09	0.62 ± 0.06	1.00 ± 0.08	1.01 ± 0.07	0.57 ± 0.05
OPD 2.5 μmol/L组	2.11 ± 0.21 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.49 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.62 ± 0.16 <sup>a</sup>	0.87 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.46 ± 0.04 <sup>a</sup>
OPD 5 μmol/L组	3.02 ± 0.29 <sup>ac</sup>	0.63 ± 0.06 <sup>ac</sup>	0.33 ± 0.03 <sup>ac</sup>	2.51 ± 0.22 <sup>ac</sup>	0.75 ± 0.06 <sup>ac</sup>	0.35 ± 0.03 <sup>ac</sup>
OPD 10 μmol/L组	4.27 ± 0.38 <sup>ace</sup>	0.42 ± 0.04 <sup>ace</sup>	0.21 ± 0.03 <sup>ace</sup>	3.12 ± 0.31 <sup>ace</sup>	0.57 ± 0.05 <sup>ace</sup>	0.24 ± 0.03 <sup>ace</sup>
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与对照组比较, <sup>a</sup>P<0.05; 与OPD 2.5 μmol/L组比较, <sup>b</sup>P<0.05; 与OPD 5 μmol/L组比较, <sup>c</sup>P<0.05. OPD: 麦冬皂苷D; EIF4E: 真核细胞翻译起始因子4E.

表 4 双荧光素酶报告实验(mean ± SD, n = 6)

分组	HepG2		MHCC97	
	WT-EIF4E	MUT-EIF4E	WT-EIF4E	MUT-EIF4E
miR-NC	1.02 ± 0.09	0.98 ± 0.08	1.00 ± 0.08	1.04 ± 0.09
miR-519d-3p	0.35 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.99 ± 0.09	0.47 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.07
P值	0.000	0.843	0.000	0.677

与miR-NC组比较, <sup>a</sup>P<0.05. WT-EIF4E: 真核细胞翻译起始因子4E野生型荧光素酶载体; MUT-EIF4E: 真核细胞翻译起始因子4E突变型荧光素酶载体.

表 5 miR-519d-3p调控EIF4E蛋白表达(mean ± SD, n = 12)

分组	EIF4E蛋白	
	HepG2	MHCC97
miR-NC	0.63 ± 0.06	0.55 ± 0.05
miR-519d-3p	0.23 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.02 <sup>a</sup>
anti-miR-NC	0.60 ± 0.06	0.53 ± 0.04
anti-miR-519d-3p	0.96 ± 0.09 <sup>c</sup>	0.85 ± 0.07 <sup>c</sup>
P值	0.000	0.000

与miR-NC组比较, <sup>a</sup>P<0.05; 与anti-miR-NC组比较, <sup>c</sup>P<0.05. EIF4E: 真核细胞翻译起始因子4E.

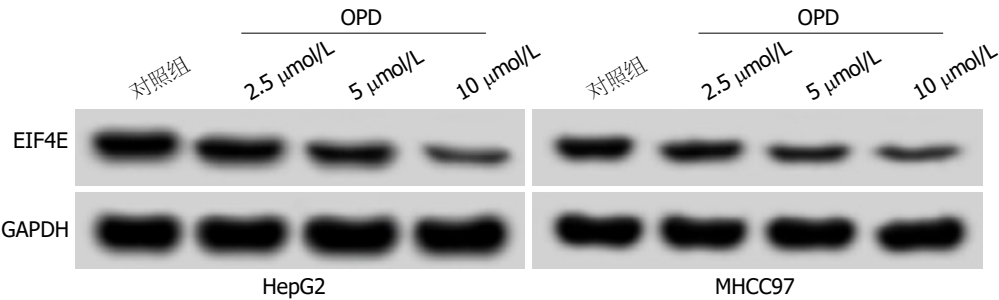


图 2 Western blot检测麦冬皂苷D作用肝癌细胞后EIF4E蛋白表达. EIF4E: 真核细胞翻译起始因子4E.

是黑素瘤治疗的候选药物<sup>[17]</sup>. 目前, OPD对HCC细胞生物学行为的影响还未知. 本研究结果显示, OPD可抑制HCC HepG2细胞的增殖、迁移和侵袭, 下调HepG2细胞中CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达, 上调p21蛋白表达, 提示OPD在一定程度上发挥抗HCC的作用, 是HCC治疗的潜在药物.

miRNA参与肿瘤的发生和发展. miR-519d-3p是近年来新发现的一种miRNA. 有报道称, miR-519d-3p在结直肠癌组织和细胞系中表达下调, 过表达miR-519d-3p通过直接靶向肌钙蛋白相关蛋白表达显著抑制结直肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 并阻滞细胞周期G0/G1期, 诱导结直肠癌细胞凋亡<sup>[18]</sup>. 过表达miR-519d-3p可抑

表 6 miR-519d-3p过表达对HepG2细胞增殖、迁移和侵袭的影响(mean ± SD, n = 6)

分组	miR-519d-3p	抑制率(%)	迁移细胞数(个)	侵袭细胞数(个)	CyclinD1蛋白	p21蛋白	MMP-2蛋白	MMP-9蛋白
miR-NC	1.01 ± 0.09	5.18 ± 0.53	115.69 ± 10.27	98.17 ± 9.36	0.71 ± 0.07	0.22 ± 0.03	0.75 ± 0.07	0.72 ± 0.07
miR-519d-3p	3.92 ± 0.38 <sup>a</sup>	48.32 ± 4.18 <sup>a</sup>	56.98 ± 5.52 <sup>a</sup>	41.28 ± 4.58 <sup>a</sup>	0.34 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.62 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.41 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.39 ± 0.03 <sup>a</sup>
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与miR-NC组比较, <sup>a</sup>P<0.05. CyclinD1: 细胞周期蛋白D1; MMP: 基质金属蛋白酶.

表 7 miR-519d-3p过表达对MHCC97细胞增殖、迁移和侵袭的影响(mean ± SD, n = 6)

分组	miR-519d-3p	抑制率(%)	迁移细胞数(个)	侵袭细胞数(个)	CyclinD1蛋白	p21蛋白	MMP-2蛋白	MMP-9蛋白
miR-NC	1.00 ± 0.08	6.32 ± 0.63	108.32 ± 10.58	86.32 ± 8.41	0.67 ± 0.07	0.28 ± 0.03	0.64 ± 0.07	0.79 ± 0.07
miR-519d-3p	2.86 ± 0.27 <sup>a</sup>	39.54 ± 3.88 <sup>a</sup>	52.63 ± 5.66 <sup>a</sup>	45.18 ± 4.91 <sup>a</sup>	0.34 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.71 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.28 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.36 ± 0.03 <sup>a</sup>
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与miR-NC组比较, <sup>a</sup>P<0.05. CyclinD1: 细胞周期蛋白D1; MMP: 基质金属蛋白酶.

表 8 抑制EIF4E表达对HepG2细胞增殖、迁移和侵袭的影响(mean ± SD, n = 6)

分组	EIFE蛋白	抑制率(%)	迁移细胞数(个)	侵袭细胞数(个)	CyclinD1蛋白	p21蛋白	MMP-2蛋白	MMP-9蛋白
si-NC	0.62 ± 0.06	6.24 ± 0.63	118.65 ± 10.27	101.25 ± 8.64	0.73 ± 0.07	0.25 ± 0.03	0.74 ± 0.06	0.71 ± 0.07
si-EIF4E	0.23 ± 0.03 <sup>a</sup>	46.27 ± 4.21 <sup>a</sup>	59.41 ± 5.25 <sup>a</sup>	48.22 ± 4.58 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.59 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.43 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.04 <sup>a</sup>
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与si-NC组比较, <sup>a</sup>P<0.05. EIF4E: 真核细胞翻译起始因子4E; CyclinD1: 细胞周期蛋白D1; MMP: 基质金属蛋白酶.

表 9 抑制EIF4E表达对MHCC97细胞增殖、迁移和侵袭的影响(mean ± SD, n = 6)

分组	EIFE蛋白	抑制率(%)	迁移细胞数(个)	侵袭细胞数(个)	CyclinD1蛋白	p21蛋白	MMP-2蛋白	MMP-9蛋白
si-NC	0.55 ± 0.05	5.98 ± 0.57	101.58 ± 10.32	88.14 ± 8.81	0.69 ± 0.06	0.27 ± 0.03	0.63 ± 0.06	0.77 ± 0.07
si-EIF4E	0.21 ± 0.02 <sup>a</sup>	32.14 ± 3.58 <sup>a</sup>	56.14 ± 5.31 <sup>a</sup>	49.36 ± 4.27 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.68 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.39 ± 0.04 <sup>a</sup>
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与si-NC组比较, <sup>a</sup>P<0.05. EIF4E: 真核细胞翻译起始因子4E; CyclinD1: 细胞周期蛋白D1; MMP: 基质金属蛋白酶.

**A** WT-EIF4E 3' UTR 5' aggcaguaguucagucACUUUUac 3'  
miR-519d-3p 3' gugagauuuccuccGUGAAAc 5'  
MUT-EIF4E 3' UTR 5' aggcaguaguucagucGCUCGAac 3'

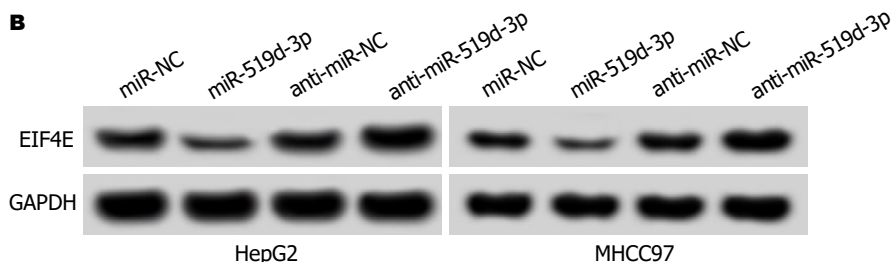


图 3 miR-519d-3p靶向调控EIF4E的表达. A: EIF4E的3' UTR中含有与miR-519d-3p互补的核苷酸序列; B: Western blot检测miR-519d-3p对EIF4E蛋白表达的影响. EIF4E: 真核细胞翻译起始因子4E.



表 10 抑制miR-519d-3p表达逆转了OPD对HCC HepG2细胞增殖、迁移和侵袭的作用(mean ± SD, n = 12)

分组	miR-519d-3p	EIF4E蛋白	抑制率(%)	迁移细胞数(个)	侵袭细胞数(个)	CyclinD1蛋白	p21蛋白	MMP-2蛋白	MMP-9蛋白
对照组	1.00 ± 0.08	0.64 ± 0.06	0.00 ± 0.00	116.37 ± 10.54	103.65 ± 9.14	0.74 ± 0.07	0.23 ± 0.03	0.76 ± 0.06	0.73 ± 0.06
OPD组	4.02 ± 0.39 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.03 <sup>a</sup>	58.14 ± 5.22 <sup>a</sup>	52.41 ± 5.28 <sup>a</sup>	43.66 ± 4.28	0.29 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.66 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.03 <sup>a</sup>
OPD+anti-miR-NC	4.11 ± 0.41	0.22 ± 0.03	60.35 ± 6.17	50.29 ± 5.27	41.58 ± 4.27	0.25 ± 0.03	0.69 ± 0.07	0.33 ± 0.03	0.28 ± 0.03
OPD+anti-miR-519d-3p	1.96 ± 0.19 <sup>c</sup>	0.51 ± 0.05 <sup>c</sup>	19.68 ± 1.92 <sup>c</sup>	82.62 ± 8.04 <sup>c</sup>	71.36 ± 7.24 <sup>c</sup>	0.61 ± 0.06 <sup>c</sup>	0.37 ± 0.04 <sup>c</sup>	0.59 ± 0.05 <sup>c</sup>	0.56 ± 0.05 <sup>c</sup>
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与对照组比较, <sup>a</sup>*P*<0.05; 与OPD+anti-miR-NC组比较, <sup>c</sup>*P*<0.05. OPD: 麦冬皂苷D; EIF4E: 真核细胞翻译起始因子4E; CyclinD1: 细胞周期蛋白D1; MMP: 基质金属蛋白酶.

表 11 抑制miR-519d-3p表达逆转了OPD对HCC MHCC97细胞增殖、迁移侵袭的作用(mean ± SD, n = 12)

分组	miR-519d-3p	EIF4E蛋白	抑制率(%)	迁移细胞数(个)	侵袭细胞数(个)	CyclinD1蛋白	p21蛋白	MMP-2蛋白	MMP-9蛋白
对照组	1.01 ± 0.09	0.57 ± 0.05	0.00 ± 0.01	109.32 ± 9.47	89.32 ± 8.47	0.66 ± 0.06	0.30 ± 0.03	0.64 ± 0.06	0.79 ± 0.07
OPD组	2.79 ± 0.28 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.01 <sup>a</sup>	41.65 ± 4.22 <sup>a</sup>	46.35 ± 4.47 <sup>a</sup>	36.29 ± 3.58	0.27 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.75 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.03 <sup>a</sup>
OPD+anti-miR-NC	2.84 ± 0.27	0.20 ± 0.03	43.18 ± 4.27	44.25 ± 4.42	34.17 ± 3.44	0.26 ± 0.03	0.76 ± 0.07	0.24 ± 0.03	0.33 ± 0.03
OPD+anti-miR-519d-3p	1.53 ± 0.15 <sup>c</sup>	0.46 ± 0.04 <sup>c</sup>	15.98 ± 1.89 <sup>c</sup>	79.28 ± 7.36 <sup>c</sup>	68.21 ± 6.22 <sup>c</sup>	0.54 ± 0.05 <sup>c</sup>	0.39 ± 0.04 <sup>c</sup>	0.52 ± 0.05 <sup>c</sup>	0.68 ± 0.06 <sup>c</sup>
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与对照组比较, <sup>a</sup>*P*<0.05; 与OPD+anti-miR-NC组比较, <sup>b</sup>*P*<0.05. OPD: 麦冬皂苷D; EIF4E: 真核细胞翻译起始因子4E; CyclinD1: 细胞周期蛋白D1; MMP: 基质金属蛋白酶.

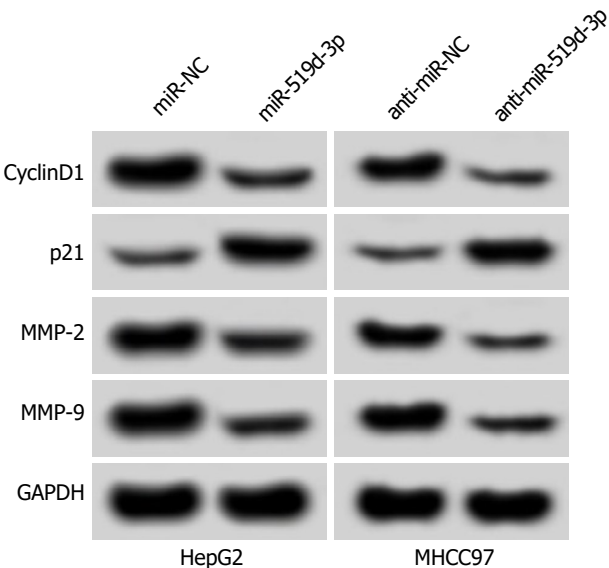


图 4 Western blot检测miR-519d-3p过表达对HCC细胞p21、CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达的影响. CyclinD1: 细胞周期蛋白D1; MMP: 基质金属蛋白酶.

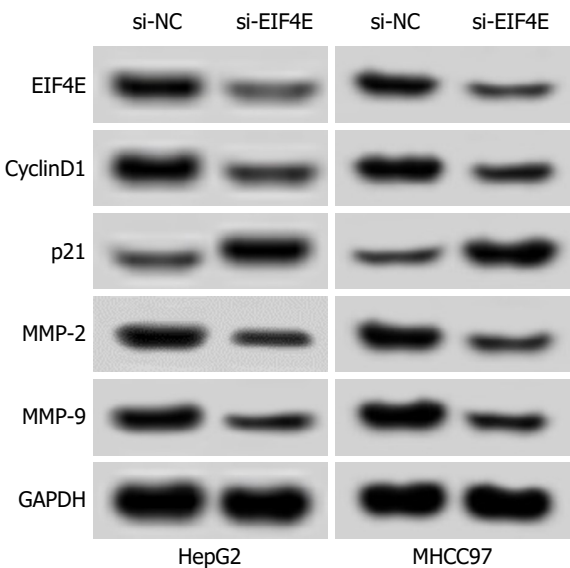


图 5 Western blot检测抑制EIF4E表达对HCC细胞p21、CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达的影响. EIF4E: 真核细胞翻译起始因子4E; CyclinD1: 细胞周期蛋白D1; MMP: 基质金属蛋白酶.

制乳腺癌细胞的增殖和迁移, 是乳腺癌治疗的潜在靶

标<sup>[10]</sup>. 但是, miR-519d-3p对HCC细胞生物学行为的影响

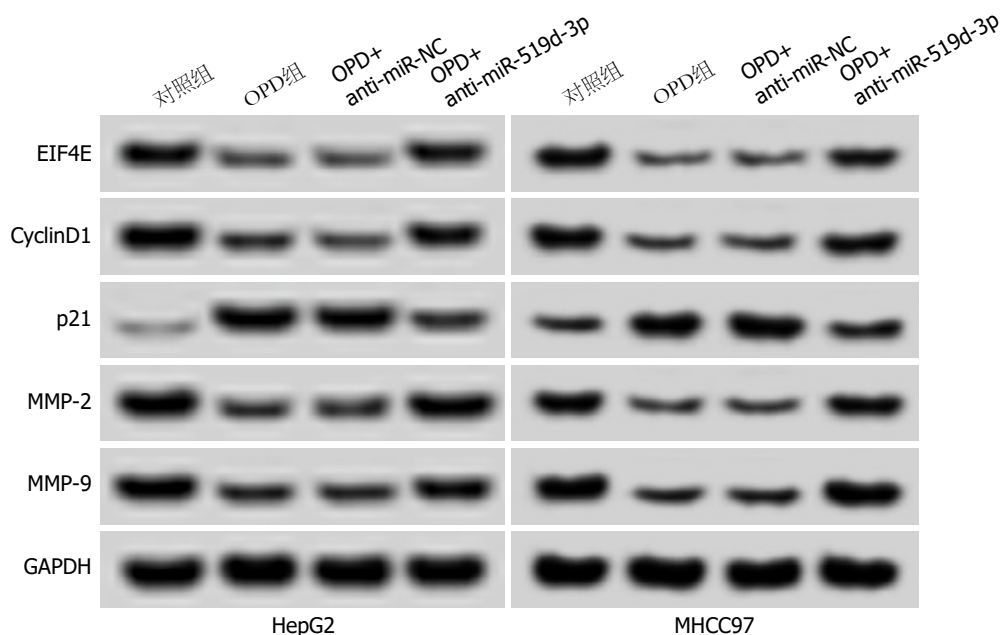


图 6 Western blot检测抑制miR-519d-3p表达对OPD处理的HCC细胞p21、CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达的影响。OPD: 麦冬皂苷D; EIF4E: 真核细胞翻译起始因子4E; CyclinD1: 细胞周期蛋白D1; MMP: 基质金属蛋白酶。

还未知。本研究显示, 过表达miR-519d-3p可抑制HCC细胞增殖、迁移和侵袭, 提示miR-519d-3p可能是HCC细胞治疗的分子靶点。此外, OPD可促进HCC细胞中miR-519d-3p的表达, 而抑制miR-519d-3p表达逆转了OPD对HCC细胞增殖、迁移和侵袭的影响, 提示OPD通过上调细胞中miR-519d-3p表达HCC细胞的增殖、迁移和侵袭。

miRNA通常与靶mRNA的3'端UTR区结合, 抑制mRNA翻译或裂解mRNA, 通过调控基因的表达发挥作用<sup>[19,20]</sup>。本研究首先通过生物信息学软件发现, EIF4E的3'UTR中含有与miR-519d-3p互补的核苷酸序列, 提示miR-519d-3p可能调控EIF4E表达。然后通过双荧光素酶报告基因实验证实了miR-519d-3p在HCC细胞中负调控EIF4E表达。这也与OPD促进HCC细胞miR-519d-3p表达, 而抑制EIF4E表达的结果一致。此外, 抑制EIF4E表达可抑制HCC细胞的增殖、迁移和侵袭, 并下调细胞中CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达, 上调p21蛋白表达进一步提示OPD可能通过上调HCC细胞中miR-519d-3p进而下调EIF4E表达抑制HCC细胞的增殖、迁移和侵袭。

综上所述, OPD可抑制HCC细胞增殖、迁移和侵袭, 其作用机制可能与促进细胞miR-519d-3p表达进而下调EIF4E表达有关, 是潜在的HCC治疗药物。但本研究还存在不足之处, 仅在细胞层面进行了初步探讨, 接下来将通过动物实验进一步验证OPD抑制HCC发生发展的作用及其他可能的作用机制。

## 文章亮点

### 实验背景

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)易复发和转移, 缺乏有效的治疗药物。麦冬皂苷D(ophiopogonin D, OPD)是中药麦冬提取物中重要的单体成分, 在乳腺癌、肺癌、黑素瘤等肿瘤中发挥抗癌作用, 但是对HCC的影响还未知。本研究探讨OPD对HCC细胞增殖、迁移和侵袭的影响及作用机制, 以期HCC治疗药物的研发提供新思路。

### 实验动机

本研究的主题是OPD是否抑制HCC细胞的增殖、迁移和侵袭及其是否通过调控miR-519d-3p/真核细胞翻译起始因子4E(eukaryotic translation initiation factor 4E, EIF4E)轴表达发挥作用, 目的是为了探究OPD是否发挥抗HCC作用及其可能的作用机制。

### 实验目标

本研究的主要目标是探讨OPD是否具有抗HCC作用及作用机制, 通过实验明确了OPD可能通过调控miR-519d-3p/EIF4E抑制HCC细胞的增殖、迁移和侵袭, 接下来进一步通过动物模型实验进一步验证OPD的抗HCC作用, 可能为临床HCC治疗药物的研发提供新途径。

### 实验方法

本研究采用四甲基噻唑蓝染色法检测了细胞增殖,

Transwell检测了细胞迁移和侵袭, 实时荧光定量PCR检测了细胞中miR-519d-3p和EIF4E mRNA表达, Western blot检测了细胞周期蛋白D1、p21、基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)、MMP-9和EIF4E蛋白表达, 双荧光素酶报告基因实验验证了miR-519d-3p与EIF4E的3'端UTR能否靶向结合。

### 实验结果

本研究达到实验目标。实验结果表明OPD可抑制HCC细胞增殖、迁移和侵袭, 在一定程度上发挥抗HCC作用, 同时, OPD通过调控上调miR-519d-3p表达, 进而抑制EIF4E表达来抑制HCC细胞的增殖、迁移和侵袭。

### 实验结论

本研究首次发现OPD可抑制HCC细胞的增殖、迁移和侵袭, 且其作用机制与调控miR-519d-3p/EIF4E轴表达有关。OPD可能具有开发为治疗HCC药物的潜在价值。

### 展望前景

本研究不足之处是还未进行动物相关实验, 仅在细胞层面进行了探讨, 接下来将通过动物实验探讨OPD对HCC小鼠肿瘤生长的影响及其他可能的作用机制。方法是通过二乙基亚硝胺腹腔注射和CCl<sub>4</sub>灌胃方法构建小鼠HCC模型, 灌胃OPD, 探究OPD对肿瘤生长的影响, 以及建立接种miR-519d-3p过表达等HCC细胞建立移植瘤裸鼠, 探讨miR-519d-3p过表达对移植瘤裸鼠肿瘤生长的影响。

## 4 参考文献

- 1 李相成, 王宏伟, 李长贤. 肝癌综合治疗的现状与展望. 中华消化外科杂志 2018; 17: 433-436 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2018.05.004]
- 2 赵立涵, 刘立, 蒋波, 甄根深, 李娜. MicroRNA-144-3p对肝癌细胞增殖、侵袭转移的影响及其机制. 临床和实验医学杂志 2018; 270: 41-44
- 3 李晶, 苏薇薇, 王永刚, 彭维, 吴忠, 李沛波. 麦冬多糖提取工艺的优选及降血糖作用研究. 中医药导报 2017; 24: 52-54 [DOI: 10.3390/j.issn.1672-951X.2017.24.018]
- 4 吴发明, 杨瑞山, 陶玲, 李敏, 高思佳, 包小红, 周娟. 基于药材安全性和有效性的综合评价探讨多效唑在麦冬中的应用. 中国药理学杂志 2017; 1: 24-28
- 5 Tong YN, Yang LY, Yang Y, Song Z, Peng LS, Gao JN, Zeng H, Zou QM, Sun HW, Mao XH. An immunopotentiator, ophiopogonin D, encapsulated in a nanoemulsion as a robust adjuvant to improve vaccine efficacy. *Acta Biomater* 2018; 77: 255-267 [PMID: 30031164 DOI: 10.1016/j.actbio.2018.07.034]
- 6 王佳佳, 卢宗亮, 孔亚, 宋伟, 王贺, 许红霞. 麦冬皂苷D"通过RIP1/MLKL诱导前列腺癌PC3细胞程序性坏死. 第三军医大学

- 学报 2017; 39: 201-207 [DOI: 10.16016/j.1000-5404.201609037]
- 7 Zang QQ, Zhang L, Gao N, Huang C. Ophiopogonin D inhibits cell proliferation, causes cell cycle arrest at G2/M, and induces apoptosis in human breast carcinoma MCF-7 cells. *J Integr Med* 2016; 14: 51-59 [PMID: 26778229 DOI: 10.1016/S2095-4964(16)60238-8]
- 8 王明阳, 王光磊, 陈新亮, 张巍, 龙淼. MicroRNA的生物学功能及其与肿瘤诊断和治疗的研究进展. *动物医学进展* 2018; 39: 95-98 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-5038.2018.01.017]
- 9 Li YY, Shao JP, Zhang SP, Xing GQ, Liu HJ. miR-519d-3p Inhibits Cell Proliferation and Invasion of Gastric Cancer by Downregulating B-Cell Lymphoma 6. *Cytogenet Genome Res* 2018; 154: 12-19 [PMID: 29510377 DOI: 10.1159/000487372]
- 10 Li D, Song H, Wu T, Xie D, Hu J, Zhao J, Shen Q, Fang L. MiR-519d-3p suppresses breast cancer cell growth and motility via targeting LIM domain kinase 1. *Mol Cell Biochem* 2018; 444: 169-178 [PMID: 29188531 DOI: 10.1007/s11010-017-3241-4]
- 11 Jiang XM, Yu XN, Huang RZ, Zhu HR, Chen XP, Xiong J, Chen ZY, Huang XX, Shen XZ, Zhu JM. Prognostic significance of eukaryotic initiation factor 4E in hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2016; 142: 2309-2317 [PMID: 27601163 DOI: 10.1007/s00432-016-2232-2]
- 12 Ding J, Li Y, Fan H, Xu W, Gao R, Bai S, Zhu Z, Yang W, Gong Y, Yang J, Zhou J. Knockdown of PSMC3IP suppresses the proliferation and xenografted tumorigenesis of hepatocellular carcinoma cell. *J Cell Biochem* 2019; 120: 5449-5458 [PMID: 30362169 DOI: 10.1002/jcb.27824]
- 13 晏晨, 张云东, 王星慧, 骆衡. 川黄柏果实中的化学成分及抗肿瘤活性. *天然产物研究与开发* 2017; 2: 1270-1276 [DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.8.002]
- 14 王远, 王宇光, 马增春, 汤响林, 梁乾德, 谭洪玲, 肖成荣, 赵永红, 高月. 麦冬皂苷D通过降低自噬抑制血管紧张素 II 诱导的心肌肥大. *中国药理学通报* 2016; 32: 1370-1376 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2016.10.009]
- 15 任思嘉, 徐焕华, 李明, 郝斐然, 马增春, 汤响林, 梁乾德, 谭洪玲, 肖成荣, 王宇光, 高月. 麦冬皂苷D对大鼠心肌细胞H9c2的细胞毒性. *中国药理学与毒理学杂志* 2017; 31: 325-331 [DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2017.04.005]
- 16 Lee JH, Kim C, Lee SG, Yang WM, Um JY, Sethi G, Ahn KS. Ophiopogonin D modulates multiple oncogenic signaling pathways, leading to suppression of proliferation and chemosensitization of human lung cancer cells. *Phytomedicine* 2018; 40: 165-175 [PMID: 29496169 DOI: 10.1016/j.phymed.2018.01.002]
- 17 Zhang YY, Meng C, Zhang XM, Yuan CH, Wen MD, Chen Z, Dong DC, Gao YH, Liu C, Zhang Z. Ophiopogonin D attenuates doxorubicin-induced autophagic cell death by relieving mitochondrial damage in vitro and in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 2015; 352: 166-174 [PMID: 25378375 DOI: 10.1124/jpet.114.219261]
- 18 Ye X, Lv H. MicroRNA-519d-3p inhibits cell proliferation and migration by targeting TROAP in colorectal cancer. *Biomed Pharmacother* 2018; 105: 879-886 [PMID: 30021381 DOI: 10.1016/j.biopha.2018.04.114]
- 19 朱斌路, 姜红堃. 竞争性内源RNA与心血管疾病发病机制的研究进展. *中华实用儿科临床杂志* 2018; 33: 1033-1036 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2018.13.018]
- 20 孙雪梅, 郑书贤, 王瑞鸽, 王照岩, 李洪利, 尹崇高, 张宝刚. miR-424通过结合ARK5 mRNA 3' -UTR抑制胶质瘤细胞侵袭. *中国生物化学与分子生物学报* 2017; 5: 104-109

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红





## GPX3在胃癌中的表达及临床意义

张海平, 李蜀豫

张海平, 李蜀豫, 湖北省中山医院消化内科 湖北省武汉市 430000

李蜀豫, 教授, 主要从事消化道肿瘤防治。

基金项目: 湖北省卫计委面上项目, Nos. WJ2017M151, WJ2017M152.

作者贡献分布: 张海平与李蜀豫共同参与课题的设计、数据分析; 论文写作由张海平完成。

通讯作者: 李蜀豫, 教授, 430000, 湖北省武汉市硚口区中山大道26号, 湖北省中山医院消化内科. lszsyy@163.com

收稿日期: 2019-04-28

修回日期: 2019-07-02

接受日期: 2019-12-13

在线出版日期: 2019-12-28

### Clinical significance of expression of glutathione peroxidase 3 in gastric cancer

Hai-Ping Zhang, Shu-Yu Li

Hai-Ping Zhang, Shu-Yu Li, Department of Gastroenterology, Zhongshan Hospital of Hubei Province, Wuhan 430000, Hubei Province, China

Supported by: General Project of Hubei Provincial Health and Family Planning Commission.

Corresponding author: Shu-Yu Li, Professor, Department of Gastroenterology, Zhongshan Hospital of Hubei Province, 26 Zhongshan Road, Qiaokou District, Wuhan 430000, Hubei Province, China. lszsyy@163.com

Received: 2019-04-28

Revised: 2019-07-02

Accepted: 2019-12-13

Published online: 2019-12-28

### Abstract

#### BACKGROUND

Glutathione peroxidase 3 (GPX3) expression is down-regulated in gastric cancer (GC), but the relationship

between GPX3 expression and prognosis in this malignancy is yet unknown.

#### AIM

To explore the expression pattern and prognostic value of GPX3 in GC.

#### METHODS

GPX3 expression was analyzed based on the Oncomine database. The prognostic value of GPX3 in GC patients was investigated using the KM Plotter database. To validate the expression pattern and prognostic value of GPX3, TCGA GC dataset was also analyzed. Finally, the expression pattern and prognostic value of GPX3 was evaluated by tissue microarray and immunohistochemistry in 90 GC patients.

#### RESULTS

Oncomine database analysis showed that GPX3 was significantly down-regulated in GC tissues compared with normal tissues ( $P < 0.05$ ). Data from the KM Plotter database showed that GPX3 low expression was significantly related with overall survival ( $P < 0.05$ ). TCGA dataset analysis also showed that GPX3 low expression was an indicator of better prognosis ( $P < 0.05$ ). Tissue microarray and immunohistochemistry showed that GPX3 was significantly down-regulated in GC tissue ( $P = 0.037$ ). GPX3 expression was related with GC patient overall survival (HR = 0.48, 95%CI: 0.28-0.85,  $P = 0.019$ ), rather than age, gender, and tumor clinical stage.

#### CONCLUSION

GPX3 is downregulated in GC, and GPX3 expression can be used to predict GC patients' prognosis.

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

Key Words: Gastric cancer; GPX3; Oncomine database;

KM Plotter database; TCGA database; Prognosis

Zhang HP, Li SY. Clinical significance of expression of glutathione peroxidase 3 in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2019; 27(24): 1483-1489

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1483.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i24.1483>

## 摘要

### 背景

谷胱甘肽过氧化物酶3(glutathione peroxidase 3, GPX3)在胃癌(gastric cancer, GC)中低表达,但其表达与GC患者预后联系尚不明确。

### 目的

分析GPX3基因在GC中的表达模式及预后价值。

### 方法

首选,利用Oncomine数据库分析GPX3基因在GC及正常胃黏膜组织中的表达情况;利用KM Plotter数据库分析GPX3的表达对GC患者的预后进行分析。其次,运用TCGA数据集对GPX3的表达模式和预后价值进行验证。最后,通过免疫组织化学法检测含有90例胃腺癌及其癌旁组织的组织芯片对上述结果进一步验证。

### 结果

利用Oncomine数据库分析,发现GPX3基因在GC组中表达显著低于正常胃黏膜组织( $P < 0.05$ )。利用KM Plotter数据库分析,发现GC组织中GPX3低表达与患者总体生存率显著相关( $P < 0.05$ )。利用TCGA数据集对GPX3的表达模式和预后价值进行验证,提示GPX3低表达与患者GC患者总体生存率显著相关( $P < 0.05$ )。通过对90例GC及其癌旁组织的组织芯片研究分析发现,GPX3在癌组织中显著低表达( $P = 0.037$ ),GPX3低表达与患者的年龄、性别、肿瘤临床分期无关,但与GC患者总体生存率显著相关( $HR = 0.48$ , 95%CI: 0.28-0.85,  $P = 0.019$ )。

### 结论

GPX3在GC中呈低表达,且与预后显著相关。

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

关键词: 胃癌; GPX3; Oncomine数据库; KM Plotter数据库; TCGA数据库; 组织芯片; 预后

**核心提要:** 本文通过组织芯片技术证实谷胱甘肽过氧化物酶3(glutathione peroxidase 3, GPX3)在胃癌(gastric cancer, GC)中的表达及其与GC患者的预后联系,GPX3在GC中呈低表达,表达越低,预后越好。

张海平, 李蜀豫. GPX3在胃癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2019; 27(24): 1483-1489

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1483.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i24.1483>

## 0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是人类常见的恶性肿瘤之一,发病率高、早期诊断率低、预后差<sup>[1]</sup>。据2018年全球癌症统计数据显示,GC死亡率居所有肿瘤中第三位,死亡人数占癌症总死亡人数8.2%<sup>[2]</sup>。GC发病主要集中于亚洲,尤其在部分东南亚国家(如中国、韩国、日本)GC全球发病率最高,在GC的早期筛查及治疗方面,给全球卫生经济带来了沉重的负担。

谷胱甘肽过氧化物酶3(glutathione peroxidase 3, GPX3)是机体抗氧化功能的重要基因,GPX3适度表达对维持机体正常新陈代谢有重要作用。现有证据表明GPX3异常表达与消化道肿瘤的发生关系密切<sup>[3]</sup>。目前关于GPX3基因甲基化导致GPX3表达下降的研究较多<sup>[4]</sup>,但GPX3异常表达与GC患者的临床预后关系尚不明确。目前生物信息学正飞速发展,肿瘤研究处于信息大爆炸时代。国外公共基因芯片和RNA测序数据库(如Oncomine、KM Plotter、TCGA等)收集了大量关于肿瘤基因表达及预后的丰富信息,可供学者挖掘潜在的肿瘤标志物<sup>[5-8]</sup>。本研究中利用国外公共基因芯片和RNA测序数据库分析GPX3在GC中的表达和预后价值,并运用组织芯片技术对上述结果进行证实,为后续GPX3作为GC诊治标志物提供依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 首先,通过Oncomine数据库中的4个数据集(GSE13861、GSE27342、GSE13911和GSE19826)分析GPX3在GC中的表达;利用KM Plotter数据库分析GPX3在GC患者中的预后,共6个数据集(GSE14210, GSE15459, GSE22377, GSE29272, GSE51105和GSE62254)纳入此研究。其次,利用TCGA数据集对GPX3在GC患者中的表达和预后再次进行验证分析。最后通过组织芯片技术对GPX3在GC中的表达及预后价值进行临床阶段的验证分析。

### 1.2 方法

**1.2.1 Oncomine数据库分析:** Oncomine数据库(<http://www.oncomine.org>)是由美国密歇根大学创建的用于分析基因表达、基因共表达、突变、耐药、预后等的重要肿瘤数据库,目前共收集715个数据集和86733样本<sup>[9]</sup>。本研究中利用该数据库分析GPX3基因在GC组织与正常组织中的在mRNA水平上的表达情况,共4个数据集(GSE13861、GSE27342、GSE13911和GSE19826)纳入此次研究。基因表达差异倍数大于2且P值小于0.05视为

差异具有统计学意义。最后, 运用组织芯片技术对GPX3在GC中的表达和预后进行临床验证分析。

**1.2.2 KM Plotter数据库分析:** KM Plotter数据库(<http://kmplot.com/analysis/>)是专门用于分析基因表达与肿瘤预后的重要数据库, 该数据库可分析10461肿瘤样本中的54675种基因在肿瘤患者中的预后价值<sup>[10]</sup>。截止目前为止, 该数据库包含5143个乳腺癌样本, 1618个卵巢癌样本, 2437个肺癌样本和1065个GC样本, 平均随访周期分别为69、40、49、33 mo。本研究中利用KM Plotter数据库分析GPX3在GC患者中的预后, 共6个数据集(GSE14210, GSE15459, GSE22377, GSE29272, GSE51105和GSE62254)纳入此次研究中。根据GPX3表达中位值将GC患者分为低表达组和高表达组, 通过计算Log-rank *P*值和HR及95%CI来估算总体生存期。

**1.2.3 TCGA数据集验证:** 为进一步证实GPX3在GC患者中的表达和预后模式, 我们通过UALCAN网站(<http://ualcan.path.uab.edu>)对TCGA数据库中GPX3在GC患者中的表达和预后再次进行分析。UALCAN网站包含了TCGA数据库中31种肿瘤的RNA测序数据<sup>[11]</sup>。该网站有助于用户寻找一些潜在的肿瘤标志物, 包括诊断标志物、预后标志物和治疗靶点。

**1.2.4 组织芯片技术:** 90对胃腺癌及癌旁组织标本取自上海芯超生物科技有限公司组织库2009-04/2009-11新鲜手术切除标本, 全部病例术前均未作化疗或放疗。其中男性62例, 女性28例, 年龄32-89岁, 平均年龄64岁; AJCC第七版临床分期: I期10例, II期24例, III期54例, IV期2例; 有淋巴结转移69例, 无淋巴结转移21例; 远处转移2例, 无远处转移78例。随访周期3-75 mo。所有患者均知情同意, 本研究经医院伦理委员会审核通过。所有组织标本取出后迅速用10%中性甲醛溶液固定, 常规脱水、石蜡包埋备用。

免疫组化染色剂结果判读, 抗GPX3单克隆抗体购自美国Santa Cruz公司, 二抗由上海芯超生物科技有限公司提供。组织芯片由上海芯超生物科技有限公司制作。将组织芯片放入烘箱中, 温度调至63℃, 烘蜡一小时, 脱蜡处理后柠檬酸进行抗原修复。滴加一抗, 室温孵育, 4℃冰箱过夜, 经PBS冲洗液冲洗; 滴加二抗即用工作液, 室温孵育, 计时30 min。经DAB、苏木紫复染后, Aperio软件进行扫描。免疫组化评分参考表达阳性率和染色强度两个指标: 阳性率≥50%记1分, <50%记0分; 阴性染色记0分, 轻度染色记1分, 中等染色记2, 强染色记3分。两项乘积即为该例组织的免疫组化评分, 0-1分为低表达组, 2-3分为高表达组。免疫组化评分参考文献<sup>[12]</sup>

**统计学处理** 应用SPSS 21.0统计软件进行数据, 计

数资料采用 $t$ 检验, 计量资料采用 $\chi^2$ 检验。GPX3表达与GC预后的关系采用Kaplan-Meier模型分析, 采用Log-rank检验法。以双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 GPX3在GC中的表达模式** 利用Oncomine数据库分析GPX3mRNA的表达, 发现GPX3基因在GC组织中的表达显著低于正常胃黏膜组织( $P = 8.83E-10$ ,  $FC = -2.140$ )(图1A)。对不同类型GC中GPX3mRNA的表达进行分析, 发现GPX3在弥漫型GC( $P = 5.29E-13$ ,  $FC = -3.586$ )、肠型GC( $P = 5.67E-8$ ,  $FC = -3.658$ )的表达均显著低于正常胃黏膜组织(图1B-C)。

**2.2 GPX3低表达在GC的预后价值** 利用KM Plotter数据库分析GPX3的预后价值, 发现GPX3低表达与GC患者的预后呈负相关, GPX3表达越低, GC患者总体生存期越长( $HR = 2.53$ , 95%CI: 2.0-3.2)(图2A)。进一步分析发现, GPX3表达在弥漫型GC患者( $HR = 2.30$ , 95%CI: 1.44-3.68)和肠型GC患者( $HR = 2.85$ , 95%CI: 2.02-4.00)中均有预后价值(图2B-C), GPX3表达越低, 总体生存率越好。此外, GPX3表达在Her2阴性GC患者( $HR = 2.57$ , 95%CI: 1.14-2.17)和Her2阳性GC患者( $HR = 2.24$ , 95%CI: 1.75-2.86)中均有预后价值, GPX3表达越低, 总体生存率越好(图3)。

**2.3 GPX3的表达模式和预后价值在TCGA数据库中的验证** 对TCGA数据库中GC患者GPX3的表达和预后模式进行分析发现, GPX3在GC中呈低表达状态, GPX3的低表达提示GC患者总体生存期更长(图4)。上述结果提示GPX3的低表达可能正常胃上皮黏膜转变为GC的重要分子生物学事件, GPX3或可作为GC诊治的新靶点。

**2.4 GPX3的表达模式和预后价值在组织芯片中的验证** GPX3在GC组织中低表达为55.6%(50/90)、高表达为44.4%(40/90); 癌旁组织中GPX3低表达为40%(36/90)、高表达为60%(54/90); GPX3在GC组织中表达较癌旁组织明显降低, 差异有统计学意义( $P = 0.037$ ), 但与患者的年龄、性别、脉管浸润、肿瘤临床分期无关(表1)。生存分析提示GPX3表达与GC患者预后显著相关( $HR = 0.48$ , 95%CI: 0.28-0.85,  $P = 0.019$ )(图5)。

## 3 讨论

GC作为全球最常见的消化道恶性肿瘤之一, 尽管药物治疗在不断改进, 然而GC总体生存期仍不容乐观。因此寻找GC发生、发展的关键分子或靶点, 有助于GC早期诊断和GC的新靶向治疗方案具有重要的理论和临床意义。

GPX3在人体清除过氧化氢及脂质过氧化物中起重



表 1 GPX3在胃癌中的表达与胃癌患者临床病理联系

	GPX3低表达	GPX3高表达	$\chi^2$ 值	P值
年龄				
≥60岁	33	22	1.131	0.287
<60岁	17	18		
性别				
男	36	26	0.476	0.508
女	14	14		
脉管浸润				
有	11	13	1.253	0.263
无	39	27		
T分期				
T1+T2	11	4	2.304	0.129
T3+T4	39	36		
N分期				
NO	14	6	2.173	0.14
N1+N2+N3	36	34		
M分期				
M0	49	39	0.025	0.873
M1	1	1		
TNM分期				
I + II	21	13	0.853	0.396
III+IV	29	27		

GPX3: 谷胱甘肽过氧化物酶3.

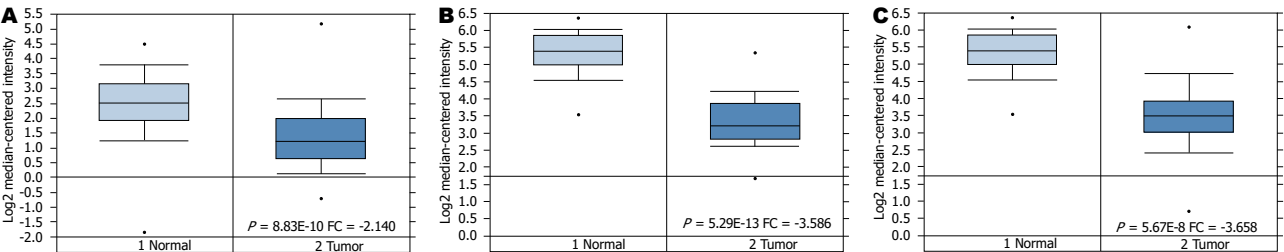


图 1 GPX3在胃癌中的表达. A: GPX3mRNA在胃癌与正常胃黏膜组织中的表达; B: GPX3mRNA在弥漫型胃癌与正常胃黏膜组织中的表达; C: GPX3mRNA在肠型胃癌与正常胃黏膜组织中的表达. FC: 差异表达倍数; GPX3: 谷胱甘肽过氧化物酶3.

要作用, 是人体维持稳态的重要过氧化物分解酶. 越来越多的证据表明GPX3异常表达是多种恶性肿瘤发生发展的重要因素. 现有研究表明, GPX3异常表达与消化道肿瘤<sup>[3]</sup>、前列腺癌<sup>[13]</sup>、卵巢癌<sup>[14]</sup>、子宫内膜癌<sup>[15]</sup>、甲状腺癌<sup>[16]</sup>、乳腺癌<sup>[17]</sup>、肺癌<sup>[18]</sup>密切相关, 且GPX3表达异常与前列腺癌<sup>[19]</sup>、卵巢癌<sup>[14]</sup>、甲状腺癌<sup>[16]</sup>、肺癌<sup>[18]</sup>、膀胱癌<sup>[20]</sup>、口咽癌<sup>[21]</sup>、肝癌<sup>[22]</sup>预后显著相关. 但GPX3的异常表达与GC患者的临床预后关系尚不明确.

本研究为探索GPX3基因作为GC诊治标志物的价值, 利用数据挖掘的方法分析了GPX3在GC患者中的表达模式和预后价值. 我们发现GPX3在GC中呈低表达状态, 且在弥漫型和肠型GC中均呈现出低表达状态. 进一步分析GPX3作为GC预后标志物的价值, 我们发现

GPX3对不同亚型GC患者(Luraen亚型、Her2亚型)的预后均有一定的指导意义. 组织芯片技术是近年来较为成熟技术并广泛运用于肿瘤标志物的研究. 我们通过组织芯片技术证实GPX3低表达与GC患者预后显著相关, 但GPX3与GC患者的年龄、性别、肿瘤分期、淋巴结转移、脉管浸润、远处转移等无明显相关性. 鉴于本研究中样本数量偏小, GPX3表达与GC患者的临床病理预后需进一步去证实.

与抑癌基因的预后模式相略有不同, 本研究提示GPX3表达越低, 预后越好. 关于GPX3参与GC进展的机制尚有待于进一步去挖掘. 部分研究还提示GPX3可通过诱导氧化应激是使癌细胞细胞周期停滞在G2/M期<sup>[23]</sup>. 另有证据提示GPX3可通过FAK/AKT信号通路调控癌

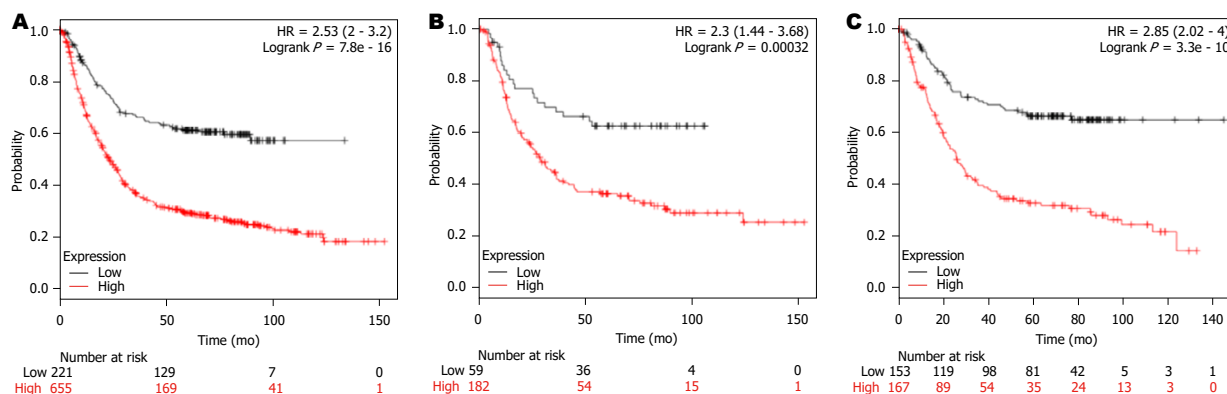


图 2 GPX3在不同组织类型的胃癌患者的预后价值, GPX3表达越低表达越低, 总体生存率越高. A: GPX3低表达在所有胃癌患者中的预后价值; B: GPX3低表达在弥漫型胃癌中的预后价值; C: GPX3低表达在肠型胃癌中的预后价值. GPX3: 谷胱甘肽过氧化物酶3.

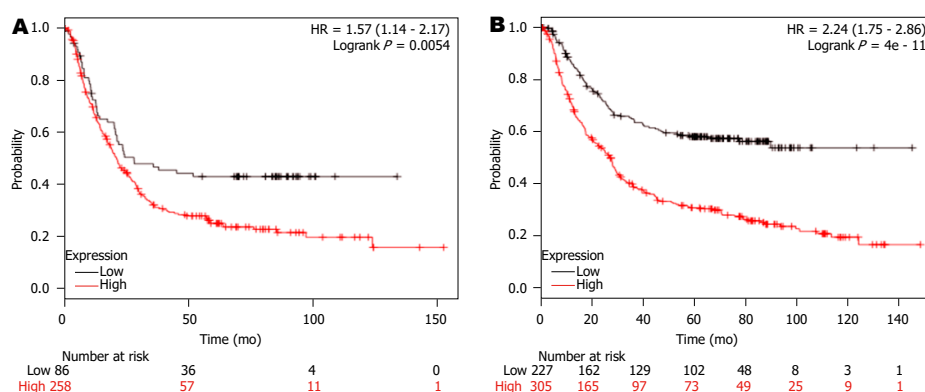


图 3 GPX3在不同Her2状态下的胃癌患者的预后价值, GPX3表达越低表达越低, 总体生存率越高. A: GPX3低表达在Her2阳性胃癌患者中的预后模式; B: GPX3低表达在Her2阴性胃癌中的预后模式. GPX3: 谷胱甘肽过氧化物酶3.

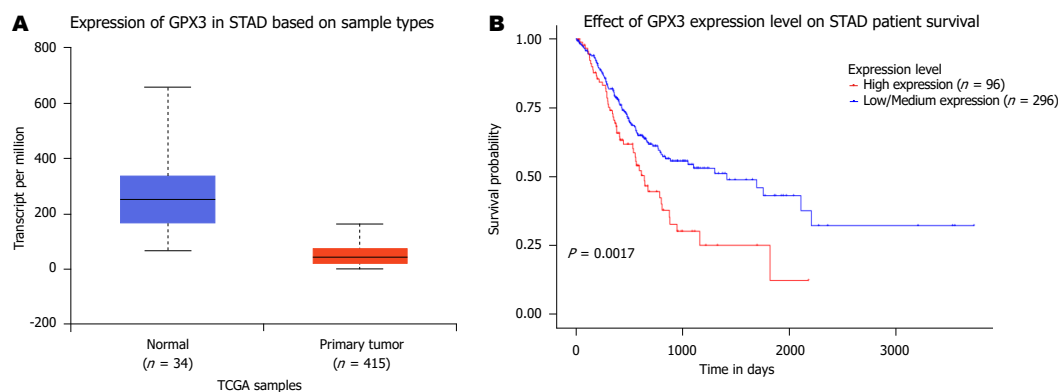


图 4 GPX3的表达和预后模式在TCGA数据库中的验证. A: GPX3在胃癌患者中呈低表达状态; B: GPX3表达越低, 总体生存率越高. GPX3: 谷胱甘肽过氧化物酶3.

细胞的侵袭迁移<sup>[24]</sup>, 并影响顺铂类药物的化疗疗效<sup>[25]</sup>. 上述结果表明GPX3的表达变化可能正常胃上皮黏膜转变为GC的重要分子生物学事件, GPX3或可作为GC诊治的新靶点.

综上所述, GC组织中GPX3低表达与GC患者的预后显著相关. 结合目前已有的研究结果. 我们推测GPX3在GC的发生发展中发挥了重要作用, 有望成为GC诊治

的新靶点. 关于GPX3在GC疾病发展中的具体作用机制, 尚需要更多的实验来探索证明.

## 文章亮点

## 研究背景

目前关于谷胱甘肽过氧化物酶3(glutathione peroxidase

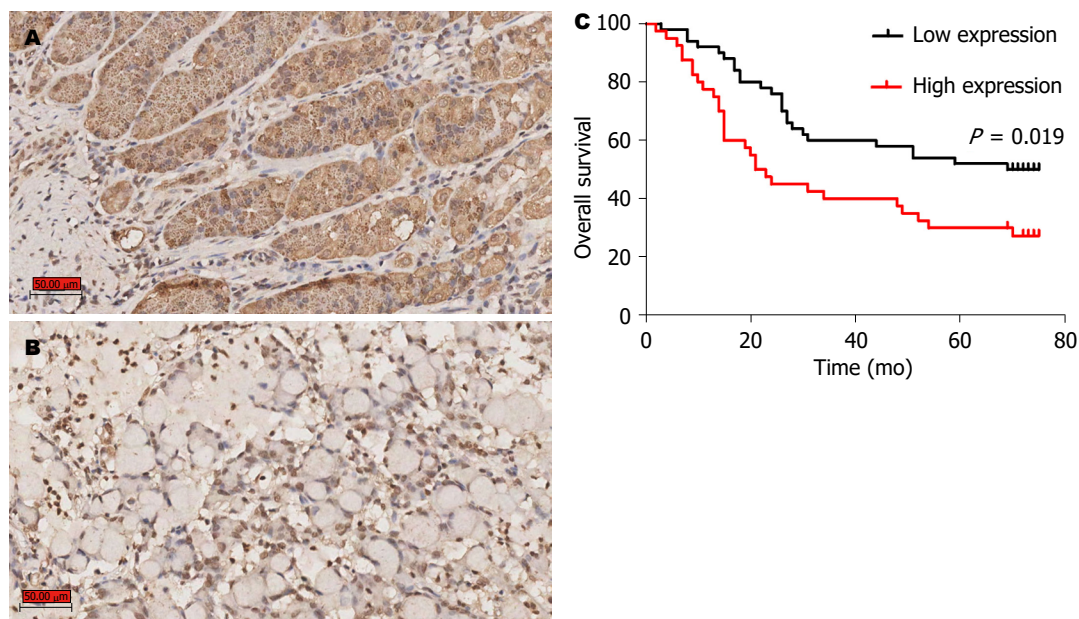


图 5 GPX3 在胃癌中的表达及预后. A: 免疫组化提示GPX3在胃癌旁组织中呈高表达( $\times 200$ ); B: 免疫组化提示GPX3在胃癌组织中呈低表达( $\times 200$ ); C: GPX3表达与胃癌患者预后显著相关, GPX3表达越低, 预后越好. GPX3: 谷胱甘肽过氧化物酶3.

3, GPX3)在胃癌(gastric cancer, GC)中的研究主要集中于GPX3基因甲基化状态, GPX3在GC中程高度甲基化导致GPX3表达下降, 但GPX3表达与GC患者预后的联系尚不明确.

### 研究动机

明确GPX3在GC中的表达及预后模式, 寻找GC早诊早治的新靶点.

### 研究目的

本研究旨在分析GPX3在GC中的表达与GC患者预后的联系, 为GC患者的诊断、预后治疗策略提供证据.

### 研究方法

本研究中运用大量芯片数据从GPX3的表达、预后两方面同时进行科学分析, 并通过组织芯片技术对芯片数据进行验证.

### 研究结果

GPX3在GC组织中表达较癌旁组织明显降低, 但与患者的年龄、性别、脉管浸润、肿瘤临床分期无关, 生存分析提示GPX3表达与GC患者预后显著相关.

### 研究结论

我们分析了GPX3在GC中的表达及预后模式, GC组织中GPX3低表达与GC患者的预后显著相关. GPX3的表达变化可能正常胃上皮黏膜转变为GC的重要分子生物学事件, GPX3或可作为GC诊治的新靶点.

### 研究展望

GPX3在GC的发生发展中发挥了重要作用, 有望成为GC诊治的新靶点. 关于GPX3在GC疾病发展中的具体作用机制, 尚需要更多的实验来探索证明.

### 4 参考文献

- 1 Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115-132 [PMID: 26808342 DOI: 10.3322/caac.21338]
- 2 Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer* 2019; 144: 1941-1953 [PMID: 30350310 DOI: 10.1002/ijc.31937]
- 3 沈磊, 贺远龙, 张巍巍, 耿长新. GPX3表达与消化系统肿瘤关系的研究进展. *临床与实验病理学杂志* 2014; 30: 670-672 [DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2014.06.020]
- 4 范红云, 李超, 褚茜茜, 段志英, 韩双双, 于卫芳. 谷胱甘肽过氧化物酶3甲基化及蛋白表达在胃癌中的临床意义. *中国老年医学杂志* 2016; 36: 5634-5636 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2016.22.064]
- 5 Rudy J, Valafar F. Empirical comparison of cross-platform normalization methods for gene expression data. *BMC Bioinformatics* 2011; 12: 467 [PMID: 22151536 DOI: 10.1186/1471-2105-12-467]
- 6 Grace JO, Malik A, Reichman H, Munitz A, Barski A, Fulkerson PC. Reuse of public, genome-wide, murine eosinophil expression data for hypotheses development. *J Leukoc Biol* 2018; 104: 185-193 [PMID: 29758095 DOI: 10.1002/JLB.1MA1117-444R]
- 7 Nitsche BM, Ram AF, Meyer V. The use of open source bioinformatics tools to dissect transcriptomic data. *Methods Mol Biol* 2012; 835: 311-331 [PMID: 22183662 DOI: 10.1007/978-1-61779-501-5\_19]
- 8 Pepe MS, Feng Z. Improving biomarker identification with better designs and reporting. *Clin Chem* 2011; 57: 1093-1095



- [PMID: 21666069 DOI: 10.1373/clinchem.2011.164657]
- 9 Rhodes DR, Kalyana-Sundaram S, Mahavisno V, Varambally R, Yu J, Briggs BB, Barrette TR, Anstet MJ, Kincaid-Beal C, Kulkarni P, Varambally S, Ghosh D, Chinnaiyan AM. Oncomine 3.0: genes, pathways, and networks in a collection of 18,000 cancer gene expression profiles. *Neoplasia* 2007; 9: 166-180 [PMID: 17356713 DOI: 10.1593/neo.07112]
  - 10 Szász AM, Lánckzy A, Nagy Á, Förster S, Hark K, Green JE, Boussioutas A, Busuttil R, Szabó A, Györfy B. Cross-validation of survival associated biomarkers in gastric cancer using transcriptomic data of 1,065 patients. *Oncotarget* 2016; 7: 49322-49333 [PMID: 27384994 DOI: 10.18632/oncotarget.10337]
  - 11 Chandrashekar DS, Bashel B, Balasubramanya SAH, Creighton CJ, Ponce-Rodriguez I, Chakravarthi BVSK, Varambally S. UALCAN: A Portal for Facilitating Tumor Subgroup Gene Expression and Survival Analyses. *Neoplasia* 2017; 19: 649-658 [PMID: 28732212 DOI: 10.1016/j.neo.2017.05.002]
  - 12 Hu D, Ansari D, Zhou Q, Sasor A, Said Hilmerisson K, Andersson R. Low P4HA2 and high PRTN3 expression predicts poor survival in patients with pancreatic cancer. *Scand J Gastroenterol* 2019; 54: 246-251 [PMID: 30880498 DOI: 10.1080/00365521.2019.1574360]
  - 13 Yu YP, Yu G, Tseng G, Cieply K, Nelson J, Defrances M, Zarnegar R, Michalopoulos G, Luo JH. Glutathione peroxidase 3, deleted or methylated in prostate cancer, suppresses prostate cancer growth and metastasis. *Cancer Res* 2007; 67: 8043-8050 [PMID: 17804715 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-0648]
  - 14 Worley BL, Kim YS, Mardini J, Zaman R, Leon KE, Vallur PG, Nduwumwami A, Warrick JI, Timmins PF, Kesterson JP, Phaëton R, Lee NY, Walter V, Endres L, Myhre K, Aird KM, Hempel N. GPx3 supports ovarian cancer progression by manipulating the extracellular redox environment. *Redox Biol* 2018 [PMID: 30509602 DOI: 10.1016/j.redox.2018.11.009]
  - 15 Falck E, Karlsson S, Carlsson J, Helenius G, Karlsson M, Klinga-Levan K. Loss of glutathione peroxidase 3 expression is correlated with epigenetic mechanisms in endometrial adenocarcinoma. *Cancer Cell Int* 2010; 10: 46 [PMID: 21106063 DOI: 10.1186/1475-2867-10-46]
  - 16 Zhao H, Li J, Li X, Han C, Zhang Y, Zheng L, Guo M. Silencing GPX3 Expression Promotes Tumor Metastasis in Human Thyroid Cancer. *Curr Protein Pept Sci* 2015; 16: 316-321 [PMID: 25929866]
  - 17 Mohamed MM, Sabet S, Peng DF, Nouh MA, El-Shinawi M, El-Rifai W. Promoter hypermethylation and suppression of glutathione peroxidase 3 are associated with inflammatory breast carcinogenesis. *Oxid Med Cell Longev* 2014; 2014: 787195 [PMID: 24790704 DOI: 10.1155/2014/787195]
  - 18 Liu K, Jin M, Xiao L, Liu H, Wei S. Distinct prognostic values of mRNA expression of glutathione peroxidases in non-small cell lung cancer. *Cancer Manag Res* 2018; 10: 2997-3005 [PMID: 30214294 DOI: 10.2147/CMAR.S163432]
  - 19 Gerstenberger JP, Bauer SR, Van Blarigan EL, Sosa E, Song X, Witte JS, Carroll PR, Chan JM. Selenoprotein and antioxidant genes and the risk of high-grade prostate cancer and prostate cancer recurrence. *Prostate* 2015; 75: 60-69 [PMID: 25284284 DOI: 10.1002/pros.22892]
  - 20 Yang ZL, Yang L, Zou Q, Yuan Y, Li J, Liang L, Zeng G, Chen S. Positive ALDH1A3 and negative GPX3 expressions are biomarkers for poor prognosis of gallbladder cancer. *Dis Markers* 2013; 35: 163-172 [PMID: 24167362 DOI: 10.1155/2013/187043]
  - 21 Zhang X, Zheng Z, Yingji S, Kim H, Jin R, Renshu L, Lee DY, Roh MR, Yang S. Downregulation of glutathione peroxidase 3 is associated with lymph node metastasis and prognosis in cervical cancer. *Oncol Rep* 2014; 31: 2587-2592 [PMID: 24788695 DOI: 10.3892/or.2014.3152]
  - 22 Qi X, Ng KT, Lian QZ, Liu XB, Li CX, Geng W, Ling CC, Ma YY, Yeung WH, Tu WW, Fan ST, Lo CM, Man K. Clinical significance and therapeutic value of glutathione peroxidase 3 (GPx3) in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2014; 5: 11103-11120 [PMID: 25333265 DOI: 10.18632/oncotarget.2549]
  - 23 An BC, Choi YD, Oh IJ, Kim JH, Park JI, Lee SW. GPx3-mediated redox signaling arrests the cell cycle and acts as a tumor suppressor in lung cancer cell lines. *PLoS One* 2018; 13: e0204170 [PMID: 30260967 DOI: 10.1371/journal.pone.0204170]
  - 24 朱雄杰. GPX3通过FAK/AKT信号通路调控抑制食管鳞癌细胞的侵袭迁移. *南方医科大学* 2018; 1-72
  - 25 吴文娟, 王琪, 张玮, 李力. 卵巢上皮性癌铂类耐药患者血清中耐药相关的差异表达蛋白质的筛选及其临床价值. *中华妇产科杂志* 2016; 51: 515-523 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2016.07.007]

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.

# CCNA2基因在肝细胞癌中的表达、信号通路和预后关系生物信息分析及验证

杨结, 刘树业, 刘运德

杨结, 刘树业, 天津医科大学三中心临床学院检验科, 天津市肝胆疾病研究所, 天津市人工细胞重点实验室, 卫生部人工细胞工程技术研究中心 天津市 300170

刘运德, 天津医科大学医学检验学院 天津市 300170

杨结, 中级检验技师, 主要从事肝癌临床检验研究.

**作者贡献分布:** 此论文由刘运德与杨结设计; 研究由杨结与刘树业合作完成; 生物信息学数据分析由杨结和刘运德完成; 论文撰写由杨结和刘运德完成.

**通讯作者:** 刘运德, 教授, 主任医师, 300170, 天津市气象台路22号, 天津医科大学医学检验学院. [yundeliu@126.com](mailto:yundeliu@126.com)  
电话: 022-84112153

收稿日期: 2019-10-31  
修回日期: 2019-12-10  
接受日期: 2019-12-20  
在线出版日期: 2019-12-28

## Integrated bioinformatics analysis of expression, related signal pathways, and prognostic significance of CCNA2 in hepatocellular carcinoma

Jie Yang, Shu-Ye Liu, Yun-De Liu

Jie Yang, Shu-Ye Liu, Clinical Laboratory, Tianjin Third Central Hospital Affiliated To Tianjin Medical University, Tianjin Institute of Hepatobiliary Disease, Tianjin Key Laboratory of Artificial Cell, Artificial Cell Engineering Technology Research Center of Public Health Ministry, Tianjin 300170, China

Yun-De Liu, School of Medical Laboratory, Tianjin Medical University, Tianjin 300170, China

**Corresponding author:** Yun-De Liu, Professor, School of Medical Laboratory, Tianjin Medical University, No. 22, Qixiangtai Road, Tianjin 300170, China. [yundeliu@126.com](mailto:yundeliu@126.com)

Received: 2019-10-31

Revised: 2019-12-10

Accepted: 2019-12-20

Published online: 2019-12-28

## Abstract BACKGROUND

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most diagnosed malignant carcinomas of the digestive system with a poor prognosis. In this study, the expression of CCNA2 gene expression in HCC was investigated by bioinformatics analysis and the feasibility of CCNA2 gene as a molecular marker for prognosis in HCC was assessed. The results of bioinformatics analysis were verified by immunohistochemistry assay.

## AIM

To investigate the expression of CCNA2 in HCC, related signal pathways, and its relationship with prognosis.

## METHODS

The expression levels of CCNA2 mRNA in HCC and paracancerous tissues were compared based on the TCCA database. CCNA2 protein interaction network was constructed based on the String database, and the related protein function and KEGG signal pathways were enriched. According to the expression level of CCNA2, the patients were divided into high and low expression groups, and the difference in overall survival (OS) and disease free survival (DFS) was compared between the two groups. The relationship between the expression of CCNA2 protein analyzed by immunohistochemistry and the clinicopathological features of 72 patients with HCC who underwent surgical treatment was analyzed.

## RESULTS

The expression level of CCNA2 mRNA was significantly

higher in HCC than in normal liver tissues. There are ten proteins that have a close interaction with CCNA2 protein, with edge = 50, and the regional clustering index is 0.931. The interaction network of the ten proteins that have a close interaction with CCNA2 protein was significantly enriched ( $P < 0.05$ ). The expression of TOP2 mRNA was positively correlated with CCNA2 expression ( $r = 0.85$ ,  $P < 0.05$ ), while CCL14 expression was negatively correlated with CCNA2 expression ( $r = -0.54$ ,  $P < 0.05$ ). CCNA2 gene related signaling pathways are mainly enriched in cell cycle, viral carcinogenesis, hepatitis B, p53 signaling pathway, and PI3K-Akt signaling pathway. The prognosis analysis indicated that the OS (HR = 1.7,  $P = 0.0037$ ) and DFS rates were significantly lower in the high expression group than in the low expression group (HR = 1.6,  $P = 0.0037$ ). Immunohistochemistry showed that the high expression rate of CCNA2 in HCC was 34.7% (25/72). High expression of CCNA2 protein was significantly associated with tumor diameter ( $P < 0.05$ ), DC infiltration ( $P < 0.05$ ), and recurrence/metastasis 2 years after operation ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

CCNA2 gene is up-regulated in HCC, which can be used as a molecular marker for poor prognosis in HCC.

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

Key Words: Hepatocellular carcinoma; TCGA database; CCNA2 gene; Signal pathway; Prognosis

Yang J, Liu SY, Liu YD. Integrated bioinformatics analysis of expression, related signaling pathways, and prognostic significance of CCNA2 in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(24): 1490-1501  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1490.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i24.1490>

## 摘要

### 背景

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是消化系统常见恶性肿瘤, 预后较差. 本文拟采用生物信息学方法探讨CCNA2基因在HCC中的表达情况, 及其作为HCC患者预后分子标志物的可行性. 同时, 采用免疫组织化学法对CCNA2生物信息分析结果进行验证.

### 目的

探讨CCNA2在HCC中的表达, 相关信号通路及与患者预后关系.

### 方法

应用生物信息分析工具比对TCGA数据库中CCNA2基因mRNA在HCC组织和癌旁组织中表达水平; 在STRING数据库中构建CCNA2蛋白-蛋白相互作用网

络, 并对相关蛋白功能和KEGG信号通路进行富集. 根据CCNA2表达水平分为高低表达组, 比较CCNA2高低组患者总生存(overall survival, OS)和无疾病进展生存(disease free survival, DFS)是否不同. 回顾性分析72例手术治疗的HCC患者, 采用免疫组织化学法检测患者癌组织中CCNA2蛋白表达水平与患者临床病理特征的关系, 对生物信息分析结果进行验证.

## 结果

在HCC中, CCNA2中mRNA表达水平明显高于癌旁正常肝组织; 与CCNA2蛋白相互作用较为紧密的蛋白10个, 蛋白间相互作用关系edge = 50, 区域聚类指数为0.931, 与CCNA2蛋白相互作用较为紧密的10蛋白相互作用网络富集显著( $P < 0.05$ ); TOP2基因mRNA与CCNA2正向相关表达( $r = 0.85$ ,  $P < 0.05$ ), 而CCL14基因与CCNA2负相关表达( $r = -0.54$ ,  $P < 0.05$ ). CCNA2基因相关信号通路主要富集于细胞周期、病毒致癌、乙型肝炎、p53信号通路和PI3K-Akt信号通路等. 预后分析提示CCNA2基因mRNA高表达患者OS(HR = 1.7,  $P = 0.0037$ )和DFS低于低表达组(HR = 1.6,  $P = 0.0037$ ). 免疫组化显示CCNA2蛋白在HCC患者癌组织中的高表达率为34.7%(25/72). CCNA2蛋白高表达与HCC患者肿瘤直径( $P < 0.05$ )、DC浸润( $P < 0.05$ )、术后2年复发/转移( $P < 0.05$ )有关.

## 结论

CCNA2基因在HCC患者癌组织中表达水平上调, 并可作为HCC预后不良的分子标记物.

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

关键词: 肝细胞癌; TCGA数据库; CCNA2基因; 信号通路; 预后

**核心提要:** CCNA2基因在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者癌组织中表达水平显著高于癌旁正常组织, CCNA2蛋白高表达与HCC患者肿瘤直径( $P < 0.05$ )、DC浸润( $P < 0.05$ )、术后2年复发/转移( $P < 0.05$ )和预后不良有关. CCNA2高表达可作为HCC预后不良的分子标志物.

杨结, 刘树业, 刘运德. CCNA2基因在肝细胞癌中的表达、信号通路和预后关系生物信息分析及验证. *世界华人消化杂志* 2019; 27(24): 1490-1501  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1490.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i24.1490>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的原发性肝癌<sup>[1]</sup>. HCC在欧美等发达国家高加索人种中发病



率较低,但在东南亚,尤其是我国发病率较高<sup>[2]</sup>。虽然年轻人甚至儿童肝癌临床中偶尔可见,但HCC主要影响50岁以上的男性。肝也是胆管癌(肝内胆管癌)的主要部位,胆管癌相对少见,占有原发性肝癌的10%-20%。目前HCC的危险因素较为明确,包括:乙肝、丙肝病毒感染,肝硬化、黄曲霉毒素暴露和先天性代谢异常如 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症等<sup>[3-6]</sup>。HCC的一个共同的特点是肝纤维化和炎症的存在,低分化的肿瘤表现出明显的多形性,巨细胞与正常肝细胞几乎没有相似之处。

已有研究显示*CCNA2*基因在多种肿瘤中呈现高表达<sup>[7,8]</sup>,而*CCNA2*在HCC的研究未见报道。本研究首先采用生物信息学分析*CCNA2*在HCC中的表达及相关信号通路。同时,采用免疫组织化学法检测72例HCC患者癌组织中*CCNA2*的表达及其与HCC患者预后的关系对生物信息分析结果进行验证。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 *CCNA2*表达水平分析:检索TCGA数据库,对比各组织及实体肿瘤组织中*CCNA2*基因的表达水平。检索分析条件为“肝细胞癌”,“肝癌”,“*CCNA2*”,物种为人类。同时比较*CCNA2*基因在HCC患者癌组织和癌旁组织中是否存在差异。存在差异表达的条件为*CCNA2*基因mRNA上调或下调表达超过2倍( $|\text{Log}_2\text{FC}| > 1$ ),且 $P < 0.05$ <sup>[9]</sup>。

1.1.2 *CCNA2*蛋白-蛋白相互作用网络:应用STRING数据库构建*CCNA2*蛋白相互作用的蛋白-蛋白网络,*CCNA2*蛋白-蛋白相互作用网络构建条件为置信度大于0.7,相互作用来源为共表达、基因功能和比邻关系<sup>[10]</sup>。

1.1.3 *CCNA2*基因共表达及生存分析:在TCGA数据库中,依据与*CCNA2*基因共表达关系,对与*CCNA2*基因存在相关性的基因进行聚类。同时选取正相关和负相关表达最为明显的2个基因进行分析,计算spearman相关系数;根据*CCNA2*基因mRNA在HCC患者癌组织中表达的中位数,分为高低表达组,绘制生存分析曲线,并进行Log-rank检验比较高低表达组患者总生存(overall survival, OS)和无疾病进展生存(disease free survival, DFS)是否存在差异。

1.2 方法 免疫组化检测*CCNA2*蛋白表达验证生物信息结果:同时回顾性分析我院收治手术之类的HCC患者72例,采用免疫组织化学法检测肿瘤组织中*CCNA2*蛋白表达水平,分析比较*CCNA2*蛋白表达水平与患者临床病理特征的关系。免疫组织化学检测*CCNA2*蛋白表达按试剂盒操作说明进行。*CCNA2*蛋白表达高低表达标注:在显微镜下随机选取3个高倍视野(SP $\times$ 400)下进行

观察。染色强度评分:不着色(0分)、浅黄(1分)、棕黄(2分)、棕褐色(3分);阳性细胞比例评分:阳性<10%(0分);阳性10到25%(1分);阳性26-50%(2分);阳性51-75%(3分)及阳性>75%(4分)。总体评分值=阳性细胞比例评分 $\times$ 染色强度评分;最终评判:<6分为低表达, $\geq 6$ 分为高表达。

**统计学处理** Stata 12.0软件进行分析,计量资料应用Mean $\pm$ SD表示, $t$ 检验;计数资料采用 $n$ 表示, $\chi^2$ 检验,*CCNA2*基因高低表达组生存期采用Log-rank检验, $P < 0.05$ 为存在统计学差异。

## 2 结果

2.1 *CCNA2*基因表达 在正常组织中*CCNA2*中mRNA在食管组织、睾丸组织和脾脏中表达最高,而在肝脏、胰腺和骨骼肌中表达最低(图1A)。在肿瘤组织中,睾丸癌、HCC和宫颈癌中表达水平相对较高,而甲状腺癌、前列腺癌和肾癌表达水平较低(图1B)。在HCC中,*CCNA2*中mRNA表达水平明显高于癌旁正常肝组织(图1C)。

2.2 *CCNA2*蛋白-蛋白相互作用网络 通过STRING数据库,构建*CCNA2*蛋白-蛋白相互作用网,与*CCNA2*蛋白相互作用较为紧密的蛋白10个,蛋白间相互作用关系edge = 50,区域聚类指数为0.931,与*CCNA2*蛋白相互作用较为紧密的10蛋白相互作用网络富集显著( $P < 0.05$ )(图2)。

2.3 *CCNA2*基因共表达分析 对与*CCNA2*基因正负相关表达的基因进行了聚类分析(图3),*TOP2*基因mRNA与*CCNA2*正向相关表达( $r = 0.85, P < 0.05$ )(图4A)。而*CCL14*基因与*CCNA2*负相关表达( $r = -0.54, P < 0.05$ )最为显著<sup>[11]</sup>(图4B)。

2.4 功能富集 *CCNA2*生物学过程主要富集于核分裂、染色体分离、有丝分裂细胞周期过程等(图5);细胞成分主要富集于凝聚染色体、染色体、着丝粒区和微管细胞骨架等(图6)。而分子功能分别主要富集于APT酶活性、DNA拓扑异构酶II型(DNA水解酶)活性和DNA拓扑异构酶活性等(图7)。

2.5 KEGG信号通路 *CCNA2*基因相关信号通路主要富集于细胞周期、病毒致癌、乙型肝炎、p53信号通路和PI3K-Akt信号通路等(图8,表1)。

2.6 生存分析 依据*CCNA2*基因mRNA在HCC患者癌组织中表达的中位数分为高低表达组,预后分析提示*CCNA2*基因mRNA高表达患者OS(HR = 1.7,  $P = 0.0037$ )(图9A)和DFS低于低表达组(HR = 1.6,  $P = 0.0037$ )(图9B)。

2.7 免疫组化*CCNA2*蛋白表达情况与HCC患者临床病理特征关系 免疫组化显示*CCNA2*蛋白主要表达于HCC细胞核,呈现棕褐色颗粒(图10)。*CCNA2*蛋白在HCC患者癌组织中的高表达率为34.7%(25/72)。*CCNA2*蛋白高表达与HCC患者肿瘤直径( $P < 0.05$ )、DC浸润( $P < 0.05$ )和术

表 1 CCNA2及相关基因KEGG信号通路

信号通路	基因数	P值	基因比例
细胞周期	11	4.98E-23	0.089431
病毒致癌	8	2.79E-13	0.043716
乙型肝炎	6	1.23E-09	0.042254
细胞衰老	6	1.60E-09	0.038462
p53信号通路	5	2.79E-09	0.073529
小细胞肺癌	5	9.92E-09	0.054348
人乳头瘤病毒感染	6	5.81E-08	0.018927
库欣综合征	5	8.74E-08	0.03268
EB病毒感染	5	2.47E-07	0.025773
慢性粒细胞白血病	4	4.09E-07	0.052632
HTLV-I感染	5	6.96E-07	0.02
孕酮介导的卵母细胞成熟	4	7.74E-07	0.042553
卵母细胞减数分裂	4	1.62E-06	0.034483
PI3K-Akt信号通路	5	2.56E-06	0.014368

表 2 CCNA2蛋白表达与肝细胞癌患者临床病理特征关系

特征	n = 72	CCNA2蛋白		$\chi^2$	P值
		高表达(n = 25)	低表达(n = 47)		
性别				0.94	0.33
男性	66	24	42		
女性	6	1	5		
年龄(岁)				0.12	0.73
≤60	50	18	32		
>60	22	7	15		
肿瘤大小(cm)				5.18	0.02
≤5	24	4	20		
>5	48	21	27		
分化程度				1.00	0.32
高中分化	54	17	37		
低分化	18	8	10		
DC浸润				4.23	0.03
少量	35	8	27		
大量	37	17	20		
AFP(μg/L)				0.88	0.35
≤400	40	12	28		
>400	32	13	19		
癌栓				1.43	0.23
有	7	1	6		
无	65	24	41		
包膜完整				2.32	0.12
是	29	8	21		
否	43	17	26		
术后2年复发/转移				5.04	0.02
是	25	13	12		
否	47	12	35		

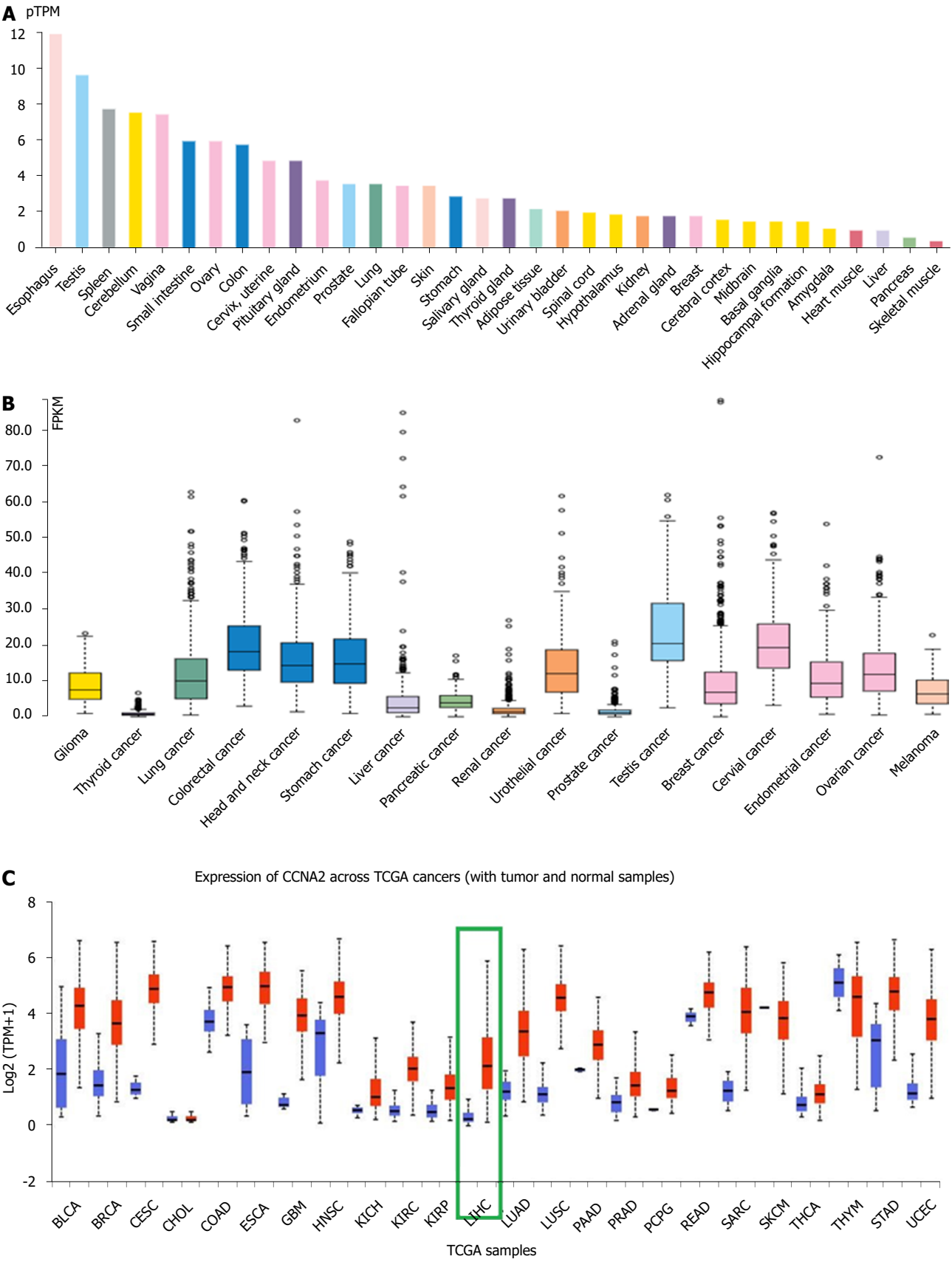


图 1 *CCNA2*基因在正常组织和不同肿瘤组织中的表达. A: *CCNA2*蛋白正常组织中的表达情况; B: *CCNA2*基因mRNA在各种肿瘤组织中的表达情况; C: *CCNA2*基因mRNA在肝细胞癌和正常肝组织中的表达对比.



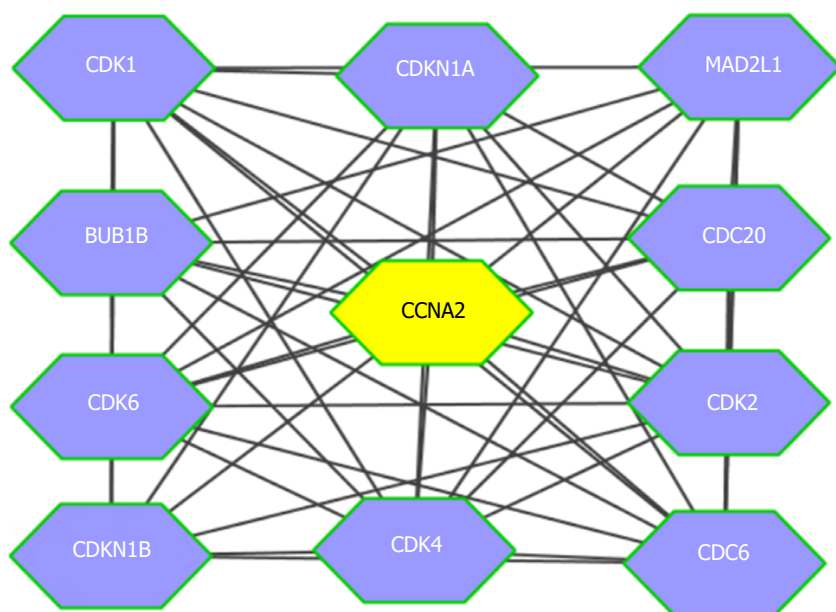
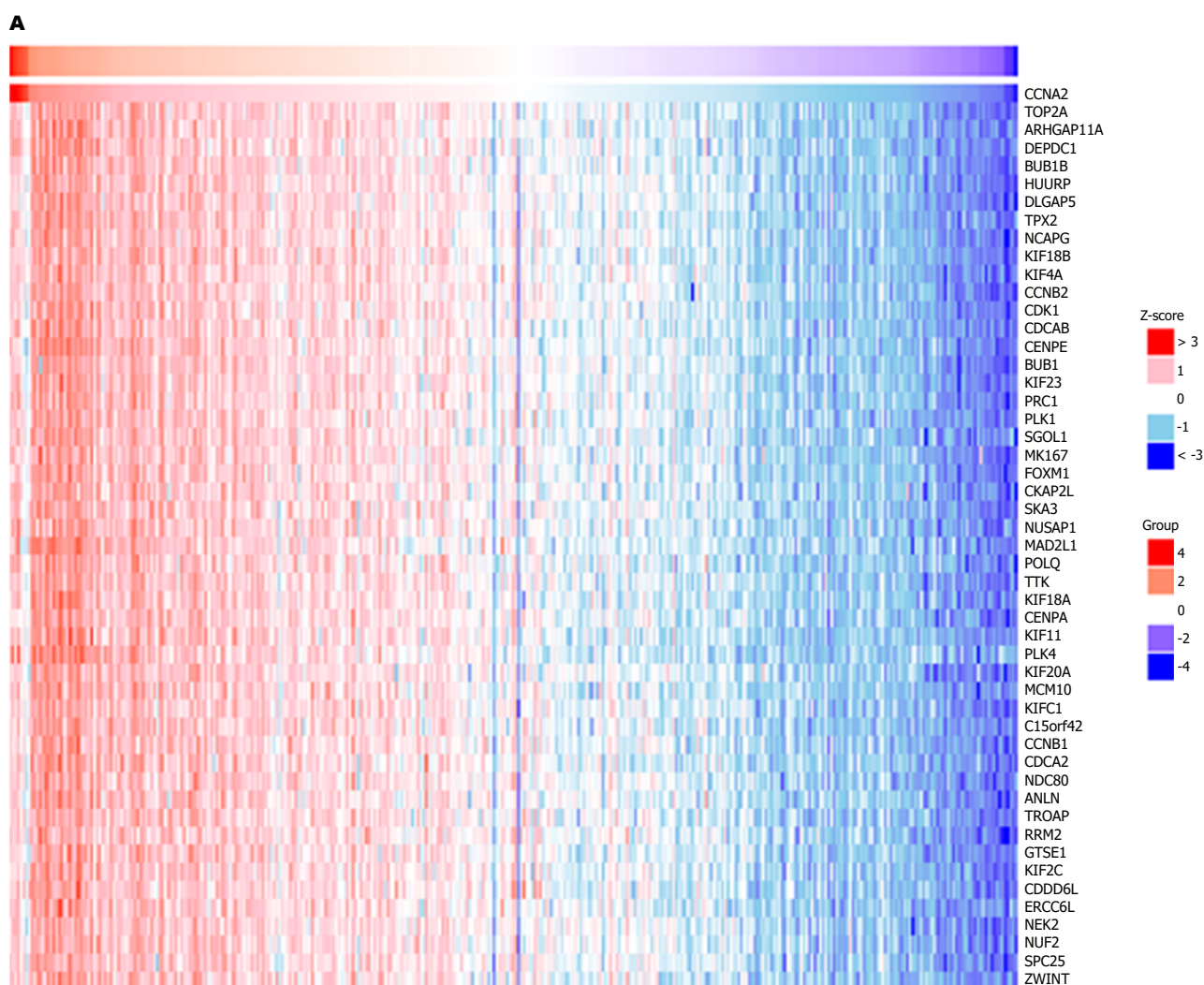


图 2 与CCNA2蛋白相互作用网络信号通路网络.



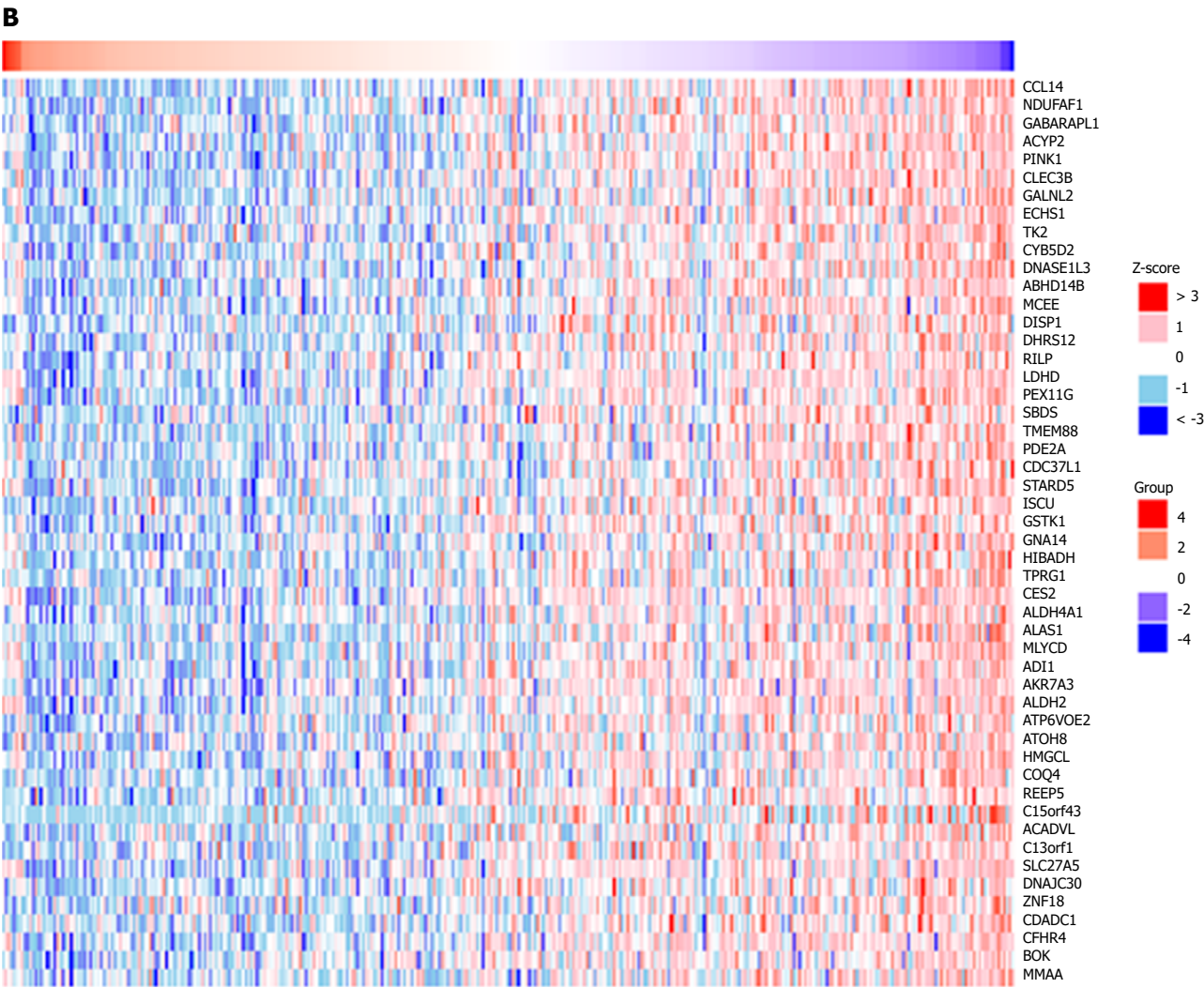


图 3 *CCNA2*基因共表达分析. A: 正相关基因共表达热图; B: *CCNA2*共表达负相关基因热图.

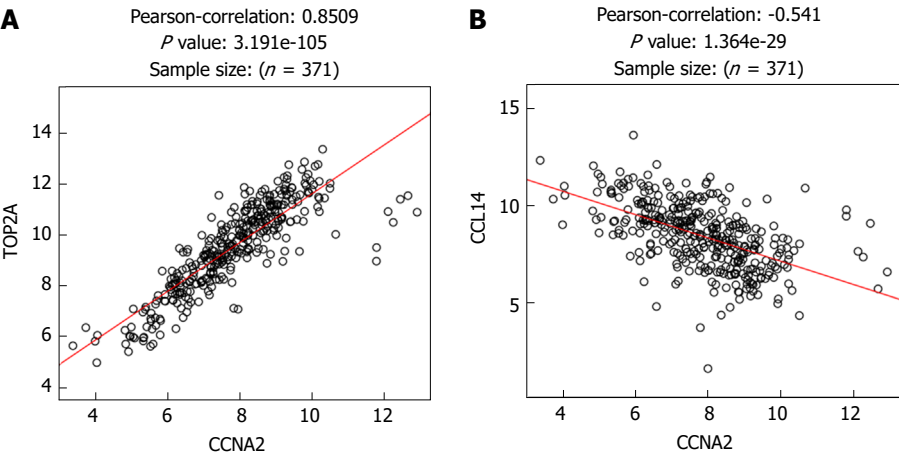


图 4 *CCNA2*共表达正负相关基因散点图. A: *TOP2A*基因与*CCNA2*正相关; B: *CCL14*与*CCNA2*基因负相关.

后2年复发/转移( $P<0.05$ )有关(表2).

### 3 讨论

HCC患者的总中位生存期为4 mo左右, 总5年生存率为

3%. HCC的预后较差, 相关预后因素包括肿瘤大小、是否存在癌栓等<sup>[12]</sup>. 近年来随着分子生物学技术和生物信息学的发展, 越来越多的证据显示, HCC的发生发展是一个多基因多步骤的过程, 由肝纤维化逐渐发展为肝硬

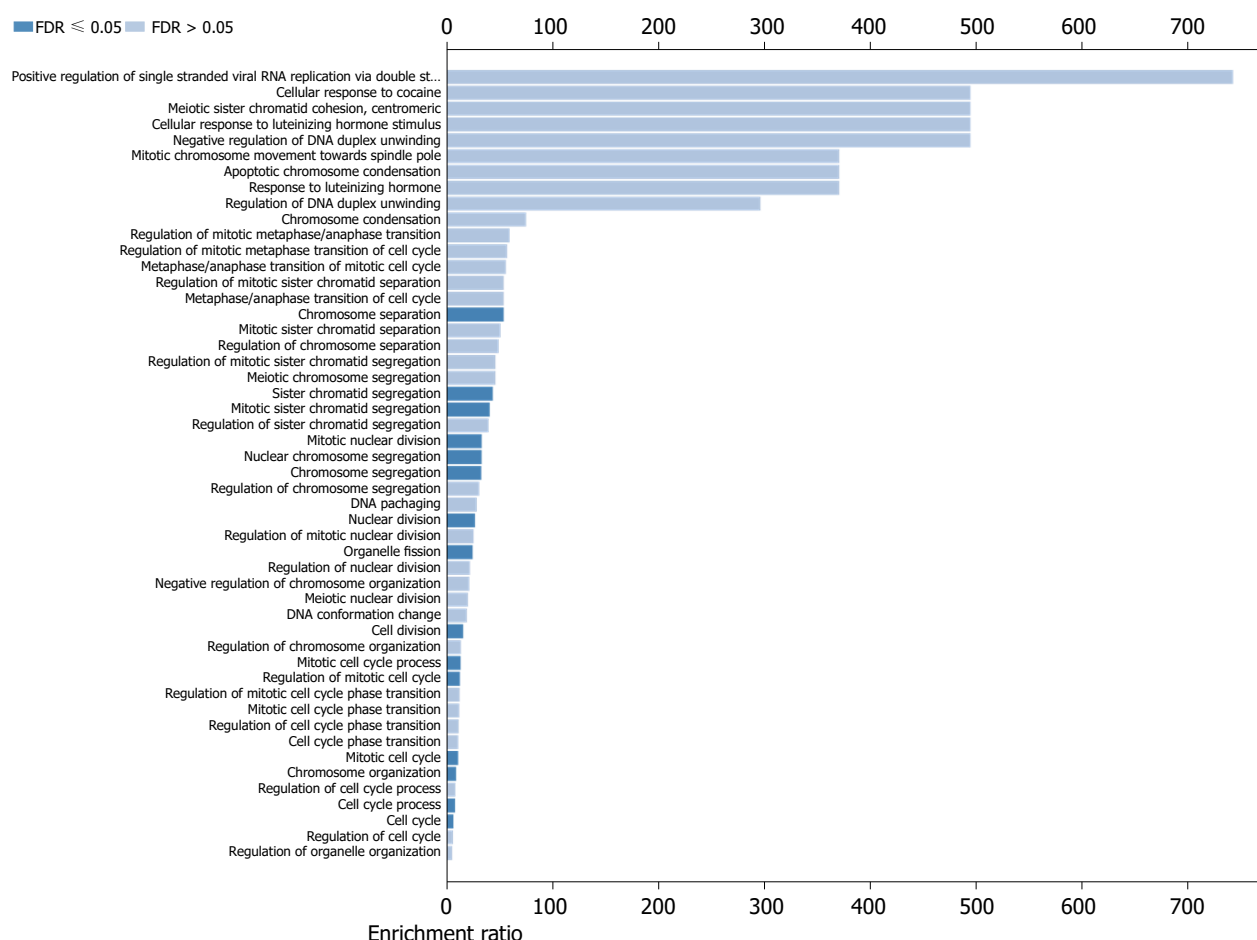


图 5 *CCNA2*和共表达基因生物学过程富集柱状图。

化进而发展为HCC. 同时也有研究显示<sup>[13]</sup>, 从肝纤维化到HCC转化的过程中, 肝组织中的基因表达谱呈现明显的改变, 检测这些基因表达谱的改变, 有助于判断HCC的病理进程, 同时也对HCC的诊断和预后具有一定的预测价值。

已有研究显示<sup>[8]</sup>*CCNA2*基因在多种肿瘤中呈现高表达, 而*CCNA2*在HCC的研究未见报道. *CCNA2*定位于人4号染色体, q27区, 基因全长7489 bp, 该基因编码蛋白属于高度保守的细胞周期蛋白家族, 在人体几乎所有组织中均有表达<sup>[14]</sup>. 它在G1/S期和G2/M期的细胞周期控制中起着关键作用. 同时又研究报道, miR-22在HCC中对其具有调控作用<sup>[15,16]</sup>. 来自人类蛋白质图谱的数据显示<sup>[17]</sup>, *CCNA2*在人体多种恶性肿瘤中呈现过度表达, 表明其在癌症转化和进展中的潜在作用. 也有报道称, *CCNA2*可能参与上皮-间质转化和转移的过程<sup>[18]</sup>. 然而, *CCNA2*在HCC中的研究未见报道, 其在HCC组织和癌旁正常组织中的表达水平、生物学功能及与患者预后的关系并不清楚. 在本研究中, 首先采用生物信息学分析*CCNA2*在HCC中的表达及相关信号通路. 我们发现在HCC中, *CCNA2*中mRNA表达水平明显高于癌旁正常

肝组织, 提示*CCNA2*在HCC的发生发展中可能发挥重要作用, 这与既往*CCNA2*在其他肿瘤中的研究结果基本一致; *CCNA2*基因相关信号通路主要富集于细胞周期、病毒致癌、乙型肝炎、p53信号通路和PI3K-Akt信号通路等, 上述信号通路符合HCC已知在HCC中的作用机制. 共表达分析显示, *TOP2*基因mRNA与*CCNA2*正向相关表达( $r = 0.85, P < 0.05$ ), 而*CCL14*基因与*CCNA2*负相关表达( $r = -0.54, P < 0.05$ )最为显著. 提示*TOP2*基因可能在生物学功能方面与*CCNA2*具有协同效应, 而*CCL14*与*CCNA2*具有拮抗作用. 但上述协同和拮抗作用有待相关实验进一步证实.

预后分析提示*CCNA2*基因mRNA高表达患者OS(HR = 1.7,  $P = 0.0037$ ); 和DFS低于低表达组(HR = 1.6,  $P = 0.0037$ ). 免疫组化显示*CCNA2*蛋白在HCC患者癌组织中的高表达率为34.7%. *CCNA2*蛋白高表达者肿瘤直径较大、DC浸润较为严重及术后复发率较高. 上述因素佐证了*CCNA2*高表达是HCC患者预后不良的危险因素.

*CCNA2*基因在HCC患者癌组织中表达水平上调, 并可作为HCC预后不良的分子标记物. 同时, *CCNA2*也可作为HCC靶向药物开发的潜在靶点, 进一步对其调控



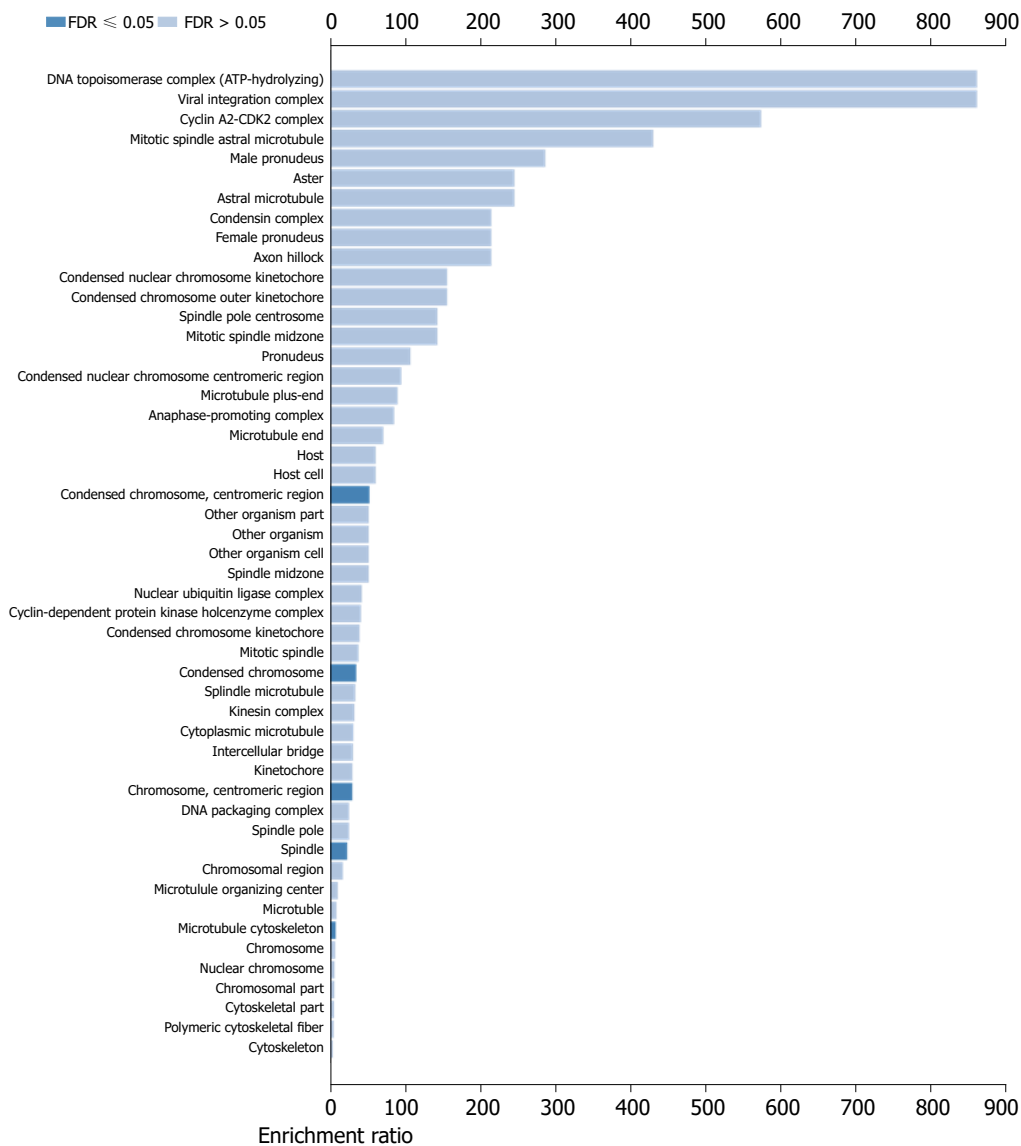


图 6 *CCNA2*和共表达基因细胞成分富集柱状图.

HCC相关分子生物学功能开展相关研究, 有望开发出抑制HCC的靶向药物.

### 文章亮点

#### 实验背景

已有研究显示*CCNA2*基因在多种肿瘤中呈现高表达, 而*CCNA2*在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的研究未见报道, 其生物学功能及其作为HCC预后分子标志物可行性不清.

#### 实验动机

通过生物信息学分析和免疫组织化学实验, 分析*CCNA2*在HCC中的表达情况, 判断其表达与HCC患者

临床病理特征的关系及其作为HCC预后分子标志物的可行性.

#### 实验目标

探讨*CCNA2*在HCC中的表达及其作为HCC预后分子标志物的临床价值.

#### 实验方法

比对TCGA数据库中*CCNA2*基因mRNA在HCC组织和癌旁组织中表达水平; 构建*CCNA2*蛋白-蛋白相互作用网络, 并对相关蛋白功能和KEGG信号通路进行富集. 比较*CCNA2*高低组患者总生存和无疾病进展生存是否不同. 采用免疫组织化学法检测患者癌组织中*CCNA2*蛋白表达水平与患者临床病理特征的关系, 对生物信息

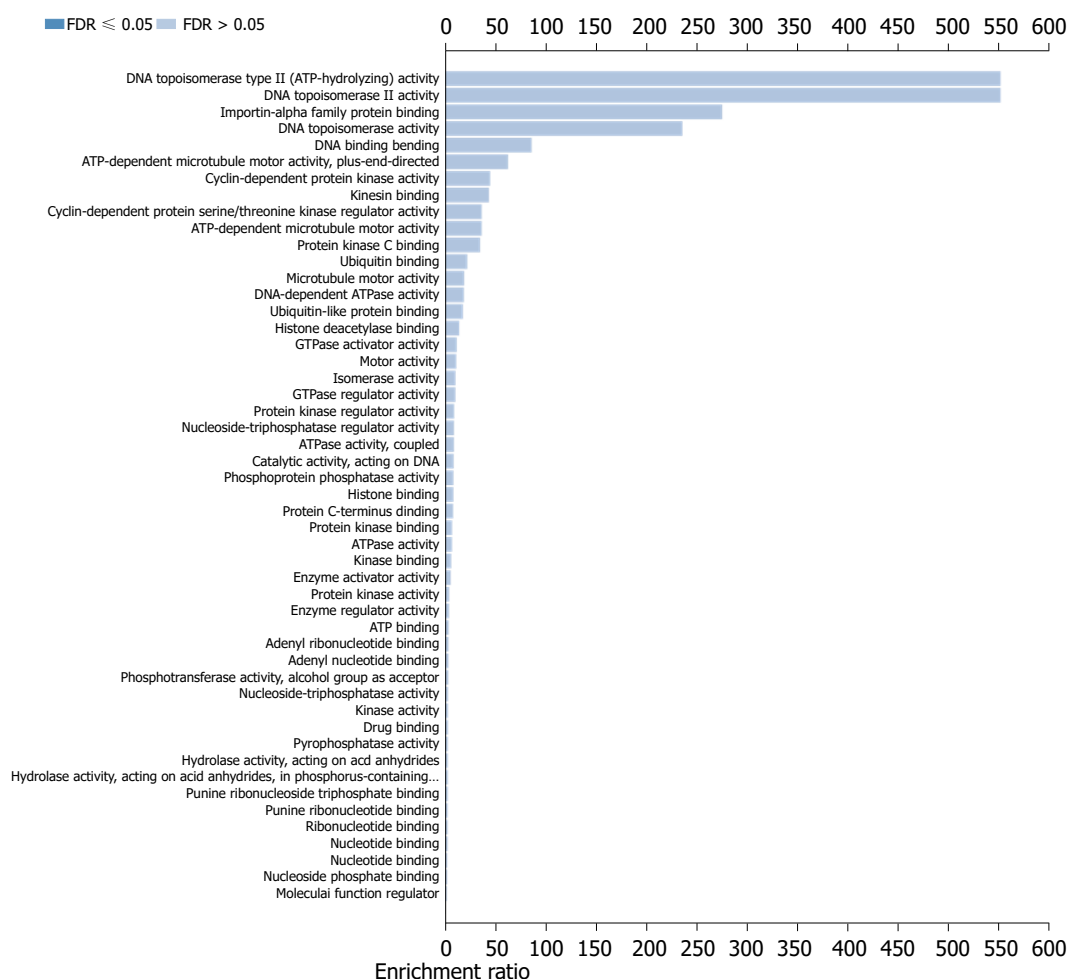


图 7 CCNA2和共表达基因分子功能富集柱状图.

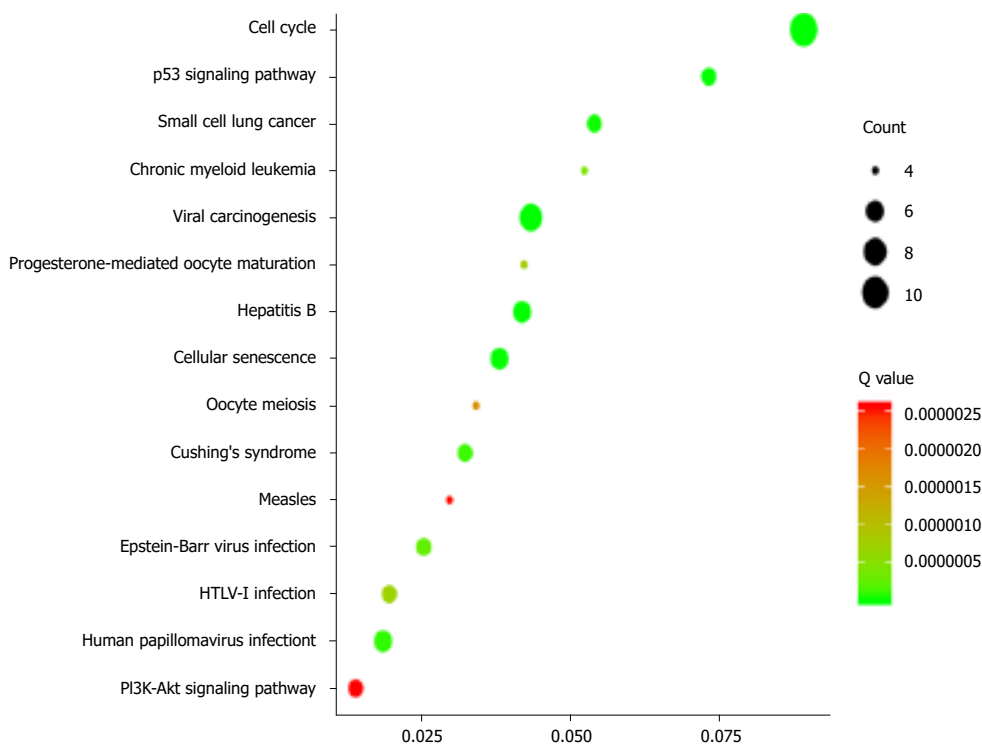


图 8 CCNA2及相关基因KEGG信号通路气泡图.

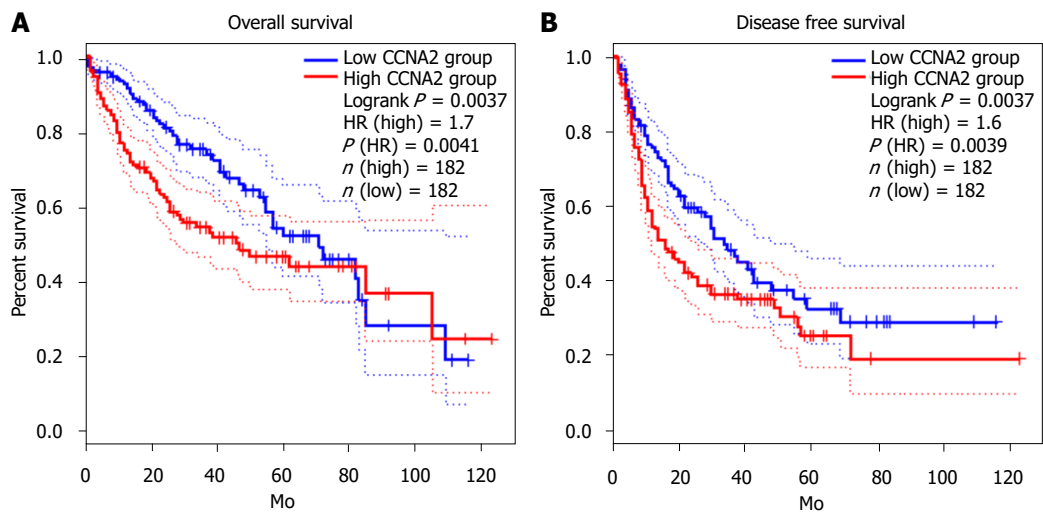


图 9 *CCNA2*基因mRNA表达与肝细胞癌患者总生存和无疾病进展生存的关系. A: *CCNA2*基因mRNA表达与患者总生存; B: *CCNA2*基因mRNA表达与患者无疾病进展生存.

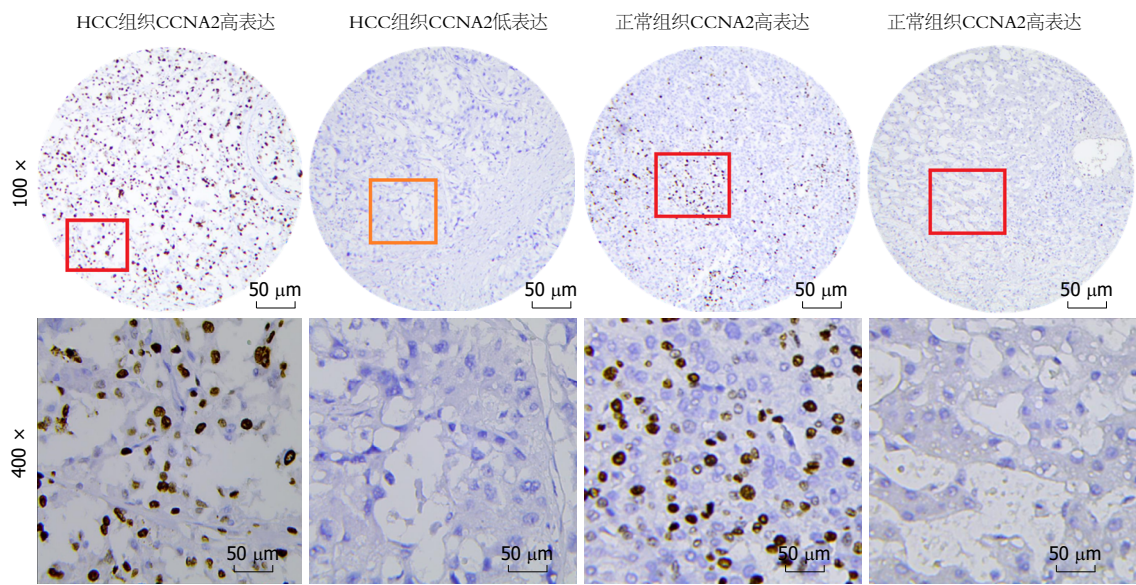


图 10 免疫组化CCNA2蛋白表在肝细胞癌和癌旁正常肝组织中的达情况.

分析结果进行验证.

### 实验结果

*CCNA2*基因在HCC患者癌组织中表达水平显著高于癌旁正常组织, *CCNA2*蛋白高表达与HCC患者肿瘤直径 ( $P<0.05$ )、DC浸润( $P<0.05$ )、术后2年复发/转移( $P<0.05$ )和预后不良有关.

### 实验结论

*CCNA2*基因在HCC患者癌组织中表达水平上调, 并可作为HCC预后不良的分子标记物.

### 展望前景

*CCNA2*在干细胞癌患者癌组织中高表达, 且高表达与

预后不良有关. 研究结果为开发抑制HCC中*CCNA2*表达靶向治疗药物提供了新的潜在靶点.

### 4 参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* 2019; 69: 7-34 [PMID: 30620402 DOI: 10.3322/caac.21551]
- 2 Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115-132 [PMID: 26808342 DOI: 10.3322/caac.21338]
- 3 Serrano PE, Gu CS, Husien M, Jalink D, Ritter A, Martel G, Tsang ME, Law CH, Hallet J, McAlister V, Sela N, Solomon H, Moulton CA, Gallinger S, Levine M. Risk factors for survival following recurrence after first liver resection for colorectal cancer liver metastases. *J Surg Oncol* 2019; 120: 1420-1426 [PMID: 31612509 DOI: 10.1002/jso.25735]
- 4 Smith JW, Kroker-Lobos MF, Lazo M, Rivera-Andrade A, Egner PA, Wedemeyer H, Torres O, Freedman ND, McGlynn



- KA, Guallar E, Groopman JD, Ramirez-Zea M. Aflatoxin and viral hepatitis exposures in Guatemala: Molecular biomarkers reveal a unique profile of risk factors in a region of high liver cancer incidence. *PLoS One* 2017; 12: e0189255 [PMID: 29236788 DOI: 10.1371/journal.pone.0189255]
- 5 Suh JK, Lee J, Lee JH, Shin S, Tchae HJ, Kwon JW. Risk factors for developing liver cancer in people with and without liver disease. *PLoS One* 2018; 13: e0206374 [PMID: 30372481 DOI: 10.1371/journal.pone.0206374]
- 6 VoPham T. Environmental risk factors for liver cancer and nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Epidemiol Rep* 2019; 6: 50-66 [PMID: 31080703 DOI: 10.1007/s40471-019-0183-2]
- 7 Gan Y, Li Y, Li T, Shu G, Yin G. CCNA2 acts as a novel biomarker in regulating the growth and apoptosis of colorectal cancer. *Cancer Manag Res* 2018; 10: 5113-5124 [PMID: 30464611 DOI: 10.2147/CMAR.S176833]
- 8 Gao T, Han Y, Yu L, Ao S, Li Z, Ji J. CCNA2 is a prognostic biomarker for ER+ breast cancer and tamoxifen resistance. *PLoS One* 2014; 9: e91771 [PMID: 24622579 DOI: 10.1371/journal.pone.0091771]
- 9 Wu K, Yin X, Jin Y, Liu F, Gao J. Identification of aberrantly methylated differentially expressed genes in prostate carcinoma using integrated bioinformatics. *Cancer Cell Int* 2019; 19: 51 [PMID: 30872976 DOI: 10.1186/s12935-019-0763-8]
- 10 Hoffmann R, Valencia A. A gene network for navigating the literature. *Nat Genet* 2004; 36: 664 [PMID: 15226743 DOI: 10.1038/ng0704-664]
- 11 Vasaikar SV, Straub P, Wang J, Zhang B. LinkedOmics: analyzing multi-omics data within and across 32 cancer types. *Nucleic Acids Res* 2018; 46: D956-D963 [PMID: 29136207 DOI: 10.1093/nar/gkx1090]
- 12 Hiraoka A, Kumada T, Atsukawa M, Hirooka M, Tsuji K, Ishikawa T, Takaguchi K, Kariyama K, Itobayashi E, Tajiri K, Shimada N, Shibata H, Ochi H, Tada T, Toyoda H, Nouse K, Tsutsui A, Nagano T, Itokawa N, Hayama K, Imai M, Joko K, Koizumi Y, Hiasa Y, Michitaka K, Kudo M; Real-life Practice Experts for HCC (RELPEC) Study Group, HCC 48 Group (hepatocellular carcinoma experts from 48 clinics in Japan). Prognostic factor of lenvatinib for unresectable hepatocellular carcinoma in real-world conditions-Multicenter analysis. *Cancer Med* 2019; 8: 3719-3728 [PMID: 31127698 DOI: 10.1002/cam4.2241]
- 13 Ogawa S, Kumada T, Toyoda H, Ichikawa H, Kawachi T, Otake K, Hibi T, Takeshima K, Kiriya S, Sone Y, Tanikawa M, Hisanaga Y, Yamaguchi A, Isogai M, Kaneoka Y, Washizu J. Evaluation of pathological features of hepatocellular carcinoma by contrast-enhanced ultrasonography: comparison with pathology on resected specimen. *Eur J Radiol* 2006; 59: 74-81 [PMID: 16545532 DOI: 10.1016/j.ejrad.2006.02.003]
- 14 Ko E, Kim Y, Cho EY, Han J, Shim YM, Park J, Kim DH. Synergistic effect of Bcl-2 and cyclin A2 on adverse recurrence-free survival in stage I non-small cell lung cancer. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 1005-1012 [PMID: 23115005 DOI: 10.1245/s10434-012-2727-2]
- 15 Yang F, Hu Y, Liu HX, Wan YJ. MiR-22-silenced cyclin A expression in colon and liver cancer cells is regulated by bile acid receptor. *J Biol Chem* 2015; 290: 6507-6515 [PMID: 25596928 DOI: 10.1074/jbc.M114.620369]
- 16 Yang F, Gong J, Wang G, Chen P, Yang L, Wang Z. Waltonitine inhibits proliferation of hepatoma cells and tumorigenesis via FXR-miR-22-CCNA2 signaling pathway. *Oncotarget* 2016; 7: 75165-75175 [PMID: 27738335 DOI: 10.18632/oncotarget.12614]
- 17 Saviranta P, Kallioniemi O. Human Protein Atlas charts a diverse terrain. *Trends Biotechnol* 2006; 24: 195-197 [PMID: 16545876 DOI: 10.1016/j.tibtech.2006.03.002]
- 18 Bendris N, Arsic N, Lemmers B, Blanchard JM. Cyclin A2, Rho GTPases and EMT. *Small GTPases* 2012; 3: 225-228 [PMID: 22735340 DOI: 10.4161/sgtp.20791]

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》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费。审稿周期及发表周期不变。(《世界华人消化杂志》编辑部)

## 肝硬化患者自发性脾肾分流的研究进展

易芳芳, 白朝辉, 许向波, 祁兴顺

易芳芳, 白朝辉, 许向波, 祁兴顺, 北部战区总医院消化内科 辽宁省沈阳市 110840

易芳芳, 大连医科大学研究生院 辽宁省大连市 116044

易芳芳, 研究方向为消化内科学。

作者贡献分布: 本文由易芳芳查阅文献及撰写; 白朝辉与许向波校正文章书写及格式; 祁兴顺校审。

通讯作者: 祁兴顺, 副主任医师, 110840, 辽宁省沈阳市文化路83号, 北部战区总医院消化内科. xingshunqi@126.com

收稿日期: 2019-11-15

修回日期: 2019-12-05

接受日期: 2019-12-13

在线出版日期: 2019-12-28

### Advances in research of spontaneous splenorenal shunt in patients with liver cirrhosis

Fang-Fang Yi, Zhao-Hui Bai, Xiang-Bo Xu, Xing-Shun Qi

Fang-Fang Yi, Zhao-Hui Bai, Xiang-Bo Xu, Xing-Shun Qi, Department of Gastroenterology, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110840, Liaoning Province, China

Fang-Fang Yi, Graduate School of Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China

Corresponding author: Xing-Shun Qi, MD, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, General Hospital of Northern Theater Command, No. 83, Wenhua Road, Shenyang 110840, Liaoning Province, China. xingshunqi@126.com

Received: 2019-11-15

Revised: 2019-12-05

Accepted: 2019-12-13

Published online: 2019-12-28

### Abstract

Liver cirrhosis is the end stage of various chronic liver diseases. Spontaneous splenorenal shunt (SSRS) refers

to abnormal blood vessels from the splenic vein to the renal vein, which are rich and thickened. SSRS formation may be due to the dilatation of pre-existing venules or neovascularization. SSRS can effectively reduce portal vein pressure, but it can also lead to a decrease of hepatic perfusion, which may be one of the reasons for insufficient hepatic perfusion after liver transplantation. In addition, toxic substances in the blood cannot be fully metabolized by the liver and directly enter the systemic circulation, leading to the development of hepatic encephalopathy. The treatment methods for SSRS include intervention and operation.

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

Key Words: Spontaneous splenorenal shunt; Liver cirrhosis; Portal hypertension; Hepatic encephalopathy

Yi FF, Bai ZH, Xu XB, Qi XS. Advances in research of spontaneous splenorenal shunt in patients with liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(24): 1502-1508

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1502.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i24.1502>

### 摘要

肝硬化是各种慢性肝病的终末阶段, 常伴有门静脉高压。自发性脾肾分流(spontaneous splenorenal shunt, SSRS)指的是从脾静脉到肾静脉之间丰富并增粗的异常血管, 其形成机制可能与先天存在的小血管扩张有关, 也可能与新生血管有关。SSRS可有效降低门静脉压力, 但也会减少入肝血流, 其已被证实是导致肝移植术后肝脏血流灌注不足的重要原因之一; 此外, SSRS导致血液中的有毒物质不能经肝脏充分代谢而直接进入体循环, 进而增加肝性脑病的发生风险。目前, 介入和外科手术是SSRS的主要治疗方法。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing

Group Inc. All rights reserved.

关键词: 自发性脾肾分流; 肝硬化; 门静脉高压; 肝性脑病

**核心提要:** 自发性脾肾分流可降低门静脉压力, 但也可导致肝性脑病。

易芳芳, 白朝辉, 许向波, 祁兴顺. 肝硬化患者自发性脾肾分流的研究进展.

世界华人消化杂志 2019; 27(24): 1502-1508

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1502.htm>DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i24.1502>

## 0 引言

肝硬化常表现为门静脉血流阻力逐渐增加, 导致门静脉高压<sup>[1]</sup>. 肝静脉压力梯度间接代表门静脉压力, 正常值范围是3-5 mmHg; 当肝静脉压力梯度超过10 mmHg, 称为临床显著门静脉高压<sup>[2]</sup>. 除了食管胃底静脉曲张、腹水和脾大, 自发性门体分流也是门静脉高压的表现之一<sup>[3-5]</sup>, 其主要包括脾肾分流、胃肾分流、脐静脉开通; 其中, 脾肾分流是最常见的类型<sup>[6,7]</sup>.

自发性脾肾分流(spontaneous splenorenal shunt, SSRS)指的是从脾静脉到肾静脉之间丰富并增粗的异常血管(图1), SSRS分为两种: 直接SSRS指的是脾静脉和肾静脉之间异常的交通支; 间接SSRS, 也叫胃肾分流, 指的是胃短静脉或胃后静脉与左肾静脉之间异常的交通支<sup>[8]</sup>. SSRS的影像学检查方法包括彩色多普勒超声、增强CT/MRI及血管造影, SSRS在临床中并不少见, 但未引起足够的重视. 近年来有研究报道, SSRS的发生可能与先天小血管的扩张或新生血管的生成有关<sup>[9]</sup>. 一项病例对照研究发现, 与无SSRS组相比, SSRS组肝性脑病的发生率显著增高(0% vs 46%)<sup>[10]</sup>, 其原因可能是SSRS患者血液中的有毒物质未经肝脏代谢直接进入体循环而引起肝性脑病<sup>[11]</sup>. 目前, 临床工作中关于SSRS的治疗方法, 主要包括介入和外科手术, 但目前并无相关指南可以参考. 本文主要回顾肝硬化患者SSRS的患病率、发病机制、影像学特征、临床预后以及治疗策略.

## 1 肝硬化患者中SSRS的患病率

肝硬化患者SSRS的患病率大约是10.5%-21%. 不同研究报道的患病率差异主要与检查方法和患者特征有关. 一项纳入105例肝硬化患者的研究中, 增强CT或MRI检查SSRS的患病率为10.5%<sup>[12]</sup>. 另一项纳入326例肝硬化患者的研究中, 彩色多普勒超声检查SSRS的患病率为13.8%<sup>[13]</sup>. 此外, 一项纳入109例肝硬化患者的研究也通过彩色多普勒超声检查SSRS, 患病率为21%<sup>[14]</sup>.

## 2 SSRS的发病机制

肝门静脉系统包括门静脉、脾静脉、肠系膜静脉、胃左静脉、胃右静脉和脐静脉等<sup>[15]</sup>. 门静脉无静脉瓣膜, 当门静脉高压时, 血液可以通过门静脉属支逆流建立侧支循环<sup>[16]</sup>. 从解剖学角度, SSRS分为三类: 垂直连接膈下静脉、连接性腺静脉和直接连接左肾静脉. 然而, 从脾静脉发出的血管又分为内侧、前外侧和后外侧<sup>[17]</sup>. 内侧沿胰腺后组织横向弯曲, 然后与膈下静脉汇合. 前外侧沿肾旁前间隙向前走行, 侧转后沿降结肠背侧走行, 穿过肾筋膜进入肾周间隙, 继续向内侧走行, 最后与膈下静脉或肾静脉连接; 后外侧沿肾旁前间隙向后行, 并穿过肾周间隙, 然后连接性腺静脉或肾静脉.

有研究者提出<sup>[18-20]</sup>SSRS的形成是先天存在的小血管扩张. 扩张的小血管指的是胰腺背部的脾静脉与肾静脉之间的小静脉开通<sup>[21]</sup>. 当门静脉压力梯度>10 mmHg时, 门静脉的部分血液经过脾静脉与肾静脉之间的小静脉, 最后汇入下腔静脉, 形成SSRS. 扩张的小血管也可能是先天存在的胚胎静脉, 随着门静脉压力升高, 连接脾静脉与左肾静脉<sup>[10]</sup>.

近年来, 有研究发现<sup>[9]</sup>, 侧支血管的形成不仅是门静脉及属支的开放, 而且与新生血管有关. 起初, 血管扩张、血管通透性增加, 通过血管平滑肌细胞脱落, 血管壁失稳以及细胞外基质降解, 导致增生的内皮细胞迁移、聚集并形成管状结构; 最后, 内皮细胞募集周细胞, 完成新生血管的过程<sup>[22]</sup>. 促进血管生成的调节因子包括血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、转化生长因子、肝细胞生长因子、白细胞介素和血管生成素等; 其中, VEGF是最重要的血管生成因子<sup>[16]</sup>. 已有动物实验研究证实<sup>[23]</sup>, 门静脉高压老鼠形成的门体侧支循环与VEGF诱导的新生血管有关. 上述结果为门静脉高压的病理生理学研究提供了新的方向. 然而, 动物实验的局限性在于只模拟了人类肝病门静脉高压某些特定的方面, 并不能准确地反映门静脉高压在人类肝病中的真实状态. 因此, 新生血管与SSRS的关系仍需进一步研究.

## 3 SSRS的影像学特征

SSRS的影像学诊断方法包括彩色多普勒超声、增强CT/MRI和血管造影<sup>[24,25]</sup>. 彩色多普勒超声表现为脾静脉和左肾静脉之间的圆形或椭圆形红蓝相间的团块样血管<sup>[26]</sup>, 具有无创性和简便性, 适用于评估门静脉主干和侧支血管的血流方向<sup>[27]</sup>. 增强CT/MRI能清晰地显示SSRS的图像(图2, 图3), 表现为均匀强化的团块状影, 其密度与脾静脉和肾静脉一致且高于肝、脾及邻近软



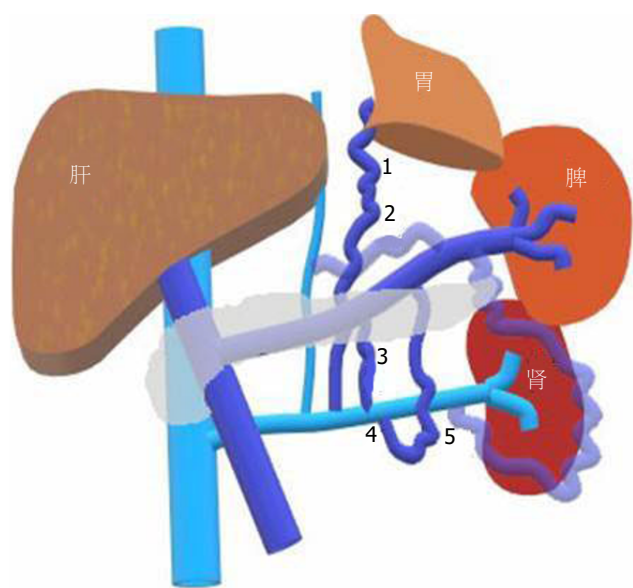


图 1 脾静脉与肾静脉之间的交通支示意图. 1: 间接自发性脾肾分流; 2: 内侧异常交通支; 3: 直接自发性脾肾分流; 4: 前外侧异常交通支; 5: 后外侧异常交通支, (本图为原创图片).

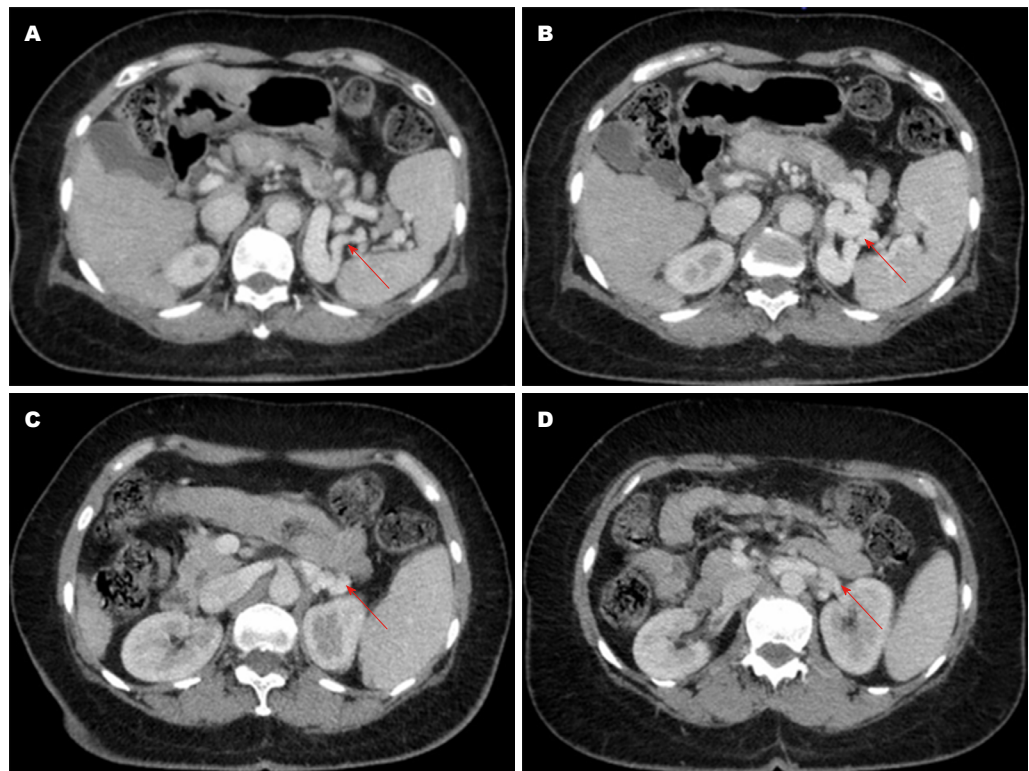


图 2 自发性脾肾分流的增强CT图像(轴位). 红色箭头指的是自发性脾肾分流, 本图来自北部战区总医院消化内科的患者.

组织<sup>[28]</sup>. 多层螺旋CT三维重建技术可更清晰地显影出SSRS的开放和严重程度. 平扫CT也可显示脾脏周围团块样血管, 但不能诊断SSRS; 只有使用造影剂后, 脾静脉和左肾静脉之间的异常血管被强化时, 才可诊断SSRS<sup>[29]</sup>. 血管造影是诊断SSRS的金标准<sup>[30]</sup>, 但具有侵袭性, 价格昂贵, 不适用于严重肝功能障碍的患者<sup>[29,31]</sup>.

#### 4 SSRS对临床预后的影响

SSRS可将血液从高压的门静脉分流至低压的全身血管, 进而降低门静脉压力, 但也带来了新的临床问题<sup>[32]</sup>. 一方面, 血流方向与疾病严重程度相关, SSRS大部分是离肝血流, 导致肝脏血流减少、肝脏缺血、肝功能进一步减退<sup>[33]</sup>. 另一方面, 侧支血管的血流方向是导致肝

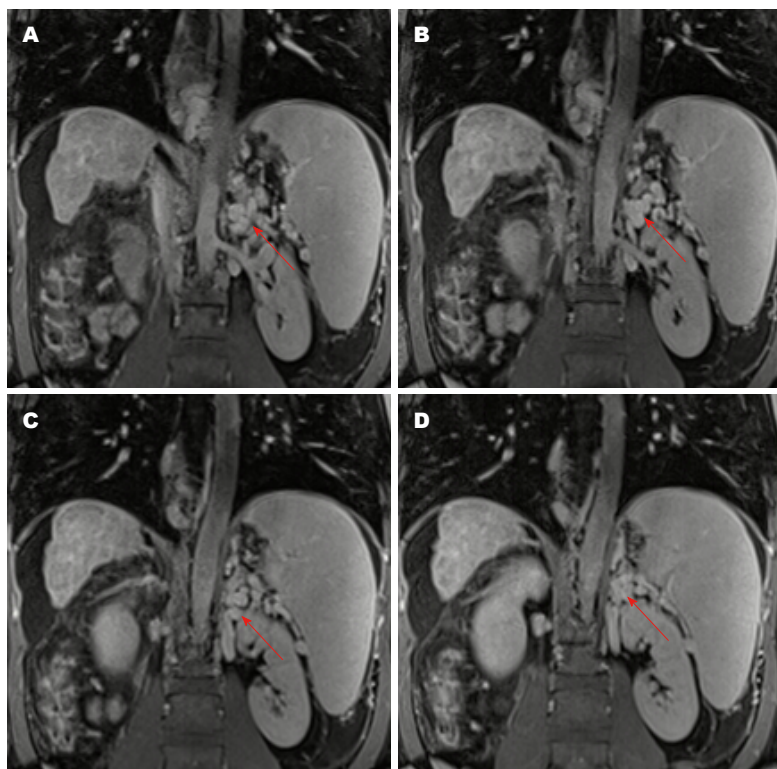


图 3 自发性脾肾分流的增强MRI图像(冠状位). 红色箭头指的是自发性脾肾分流, 本图来自北部战区总医院消化内科的患者.

性脑病的重要因素, 大量的离肝血流未经过肝脏代谢直接进入血液循环, 导致肝性脑病的发病率增加<sup>[34]</sup>. 有研究提示<sup>[11]</sup>, 46%-70%的难治性肝性脑病患者存在粗大的自发性门体分流, 而自发性门体分流最常见的是SSRS. 因此, SSRS在降低门静脉压力的同时, 增加了肝性脑病的风险.

肝移植患者中SSRS的患病率为20%-35%<sup>[35,36]</sup>. SSRS在肝移植术前降低门静脉压力, 进而延长终末期肝病患者等待肝移植时间; 然而, SSRS在肝移植术后可能导致部分肝移植患者出现门静脉血流不足的现象, 进而影响移植物的血流灌注<sup>[37]</sup>. 当SSRS的直径超过10 mm时, 可增加肝移植手术风险<sup>[38]</sup>, 严重者可导致术中凝血功能障碍, 术后门静脉血栓形成, 甚至导致患者死亡. 因此, 门静脉高压的肝移植患者应警惕是否合并SSRS.

## 5 SSRS的治疗

5.1 介入治疗 球囊阻断逆行经静脉栓塞术(balloon-occluded retrograde transvenous obliteration, BRTO)是经颈静脉或股静脉逆行左肾静脉插管, 随后通过球囊栓塞和缓慢注入硬化剂阻断SSRS的一项介入手术<sup>[39,40]</sup>. BRTO最早用于治疗肝硬化门脉高压导致的胃静脉曲张破裂出血<sup>[1]</sup>; 当患者合并SSRS, BRTO与内镜下组织胶/硬化剂治疗胃静脉曲张出血相比, 可以降低异位栓塞的风险<sup>[41]</sup>. BRTO通过阻断SSRS, 进而增加门静脉血

流量, 增强肝脏对神经毒性物质代谢, 从而防治肝性脑病<sup>[42]</sup>. 2014年, Inoue等<sup>[43]</sup>纳入了19例因SSRS导致肝性脑病的患者接受BRTO治疗, 术后肝性脑病的缓解率为100%, 随访期间有6例患者发生死亡, 但均与BRTO手术无关(3例肝衰竭、2例肝癌、1例脑梗死).

门体分流栓塞术适用于门体分流导致的难治性肝性脑病患者<sup>[11,44]</sup>. 栓塞的材料包括线圈、封堵器和弹簧圈<sup>[45,46]</sup>. 栓塞的途径包括经皮、经肝、经颈静脉和股静脉<sup>[46]</sup>. 2016年, Lynn等<sup>[46]</sup>纳入20例患者并回顾性研究了门体分流栓塞术治疗难治性肝性脑病的疗效, 其中SSRS最常见(60%), 栓塞术的材料包括线圈(75%)、封堵器(20%), 线圈与封堵器联合(5%), 途径包括为经肝(25%)、经股静脉(30%)、经颈静脉(25%)、经脐静脉(5%)、经右腋静脉(15%); 结果表明, 门体分流栓塞术后所有患者肝性脑病的症状均缓解, 且术后并发症的发生率为10%, 此外, 门体分流栓塞术还降低了1年内因肝性脑病再入院的风险<sup>[46]</sup>. 因此, 门体分流栓塞术可能是一种安全有效的治疗门体分流性肝性脑病的方法.

经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)及SSRS都可以降低门静脉压力<sup>[47]</sup>, 减少肝脏血流灌注并增加肝性脑病的风险. 2013年, 何创业等<sup>[48]</sup>纳入了9例患者行TIPS联合封堵器治疗肝硬化门脉高压伴自发性脾胃肾分流; 5例患者先行TIPS术, 术后4例发生严重的肝性脑病, 后经封堵治疗肝

性脑病缓解; 其余4例患者直接行TIPS联合封堵治疗, 术后均无肝性脑病发生. 因此, 推荐介入医生在TIPS的同时联合封堵器栓塞自发性门体分流道, 这既能有效降低门静脉压力, 又能减少肝性脑病的发生风险<sup>[48]</sup>.

5.2 外科手术治疗 脾切除是肝移植患者合并SSRS的根治性手术, 适用于SSRS直径>10 mm、无门静脉血栓、伴有脾动脉瘤、严重脾功能亢进和巨脾的患者<sup>[36,49]</sup>. 脾切除可有效减少SSRS的血流量, 快速纠正肝硬化患者的血小板减少症. 然而, 肝移植术中同时施行脾切除对手术技术要求高, 手术难度大, 术后早期感染风险高, 可能出现严重的脓毒血症、门静脉血栓、免疫相关并发症等<sup>[50]</sup>.

左肾静脉结扎术(left renal vein ligation, LRVL)适用于门静脉开通且SSRS直径>10 mm的患者<sup>[51]</sup>. LRVL可通过夹闭和阻断左肾静脉与下腔静脉汇合处, 增加门静脉血流量<sup>[51,52]</sup>. 与脾切除术相比, LRVL是一种相对安全、简便的阻断脾肾分流且增加向肝血流的手术方法<sup>[36,53,54]</sup>, 但术后可能出现暂时性血清肌酐升高, 甚至持续性肾功能损害<sup>[51]</sup>. 2015年, Golse等<sup>[36]</sup>纳入29例接受肝移植的患者, 术前影像学检查SSRS的直径>10 mm; 根据肝移植术中SSRS患者接受的手术方式, 分为脾切除术组(22例)和LRVL组(7例); 结果表明, 两组术后的门静脉血流量均增加, 9例脾切除术组患者和1例LRVL组患者出现了慢性肾功能不全. 随访期间, 两组患者术后并发症的发生率无显著差异, 脾切除术组的5年生存率为100%, 而LRVL组有1例患者在随访的第11个月死于肠缺血, 与LRVL手术无关.

肾静脉-门静脉吻合术(renoportal anastomosis, RPA)适用于SSRS直径>10 mm、门静脉完全血栓、门静脉直径狭窄的患者<sup>[51,55]</sup>. 2005年, Marubashi等<sup>[56]</sup>纳入3例接受肝移植手术前合并SSRS及门静脉血栓的患者, RPA术后所有患者吻合口均开通, 2例患者术后出现肾功能损害, 但当肾脏灌注恢复正常后, 肾功能恢复正常. 因此, 肝移植联合RPA手术也可能是终末期肝病患者合并SSRS及门静脉血栓的治疗方式.

## 6 总结

肝硬化合并SSRS的患病率高. 传统观点认为SSRS是先天小静脉的开放, 最近的研究观点则表明SSRS与新生血管有关. SSRS可降低门静脉压力, 但增加了肝性脑病的风险及肝移植手术并发症的风险. 因此, 临床实践中应依据SSRS患者的具体病情选择个体化的治疗方案.

## 7 参考文献

1 王芳, 刘仕倩, 曾西, 吴楠楠, 张静, 陈明镭. 食管胃底静脉曲张伴自发性分流血管栓塞治疗的研究进展. 胃肠病

学和肝病杂志 2018; 27: 346-350,355 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2018.03.024]

2 党晓卫, 李路豪. 肝静脉压力梯度在门静脉高压症中的应用研究进展. 国际外科学杂志 2014; 41: 584-587 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4203.2014.09.003]

3 Garcia-Tsao G, Groszmann RJ, Fisher RL, Conn HO, Atterbury CE, Glickman M. Portal pressure, presence of gastroesophageal varices and variceal bleeding. *Hepatology* 1985; 5: 419-424 [PMID: 3873388 DOI: 10.1002/hep.1840050313]

4 Bosch J, Abraldes JG, Berzigotti A, García-Pagan JC. The clinical use of HVP measurements in chronic liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 573-582 [PMID: 19724251 DOI: 10.1038/nrgastro.2009.149]

5 Dilawari JB, Chawla YK. Spontaneous (natural) splenoadrenorenal shunts in extrahepatic portal venous obstruction: a series of 20 cases. *Gut* 1987; 28: 1198-1200 [PMID: 3500096 DOI: 10.1136/gut.28.10.1198]

6 Bandali MF, Mirakhor A, Lee EW, Ferris MC, Sadler DJ, Gray RR, Wong JK. Portal hypertension: Imaging of portosystemic collateral pathways and associated image-guided therapy. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 1735-1746 [PMID: 28348478 DOI: 10.3748/wjg.v23.i10.1735]

7 Wu Q, Shen L, Chu J, Ma X, Jin B, Meng F, Chen J, Wang Y, Wu L, Han J, Zhang W, Ma W, Wang H, Li H. Characterization of uncommon portosystemic collateral circulations in patients with hepatic cirrhosis. *Oncol Lett* 2015; 9: 347-350 [PMID: 25435990 DOI: 10.3892/ol.2014.2626]

8 张刚, 周翔平, 陈晓荣, 孙昌进. 自发性脾-肾分流16排螺旋CT门静脉三维成像表现. 临床放射学杂志 2005; 24: 989-992 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-9324.2005.11.012]

9 Thabut D, Shah V. Intrahepatic angiogenesis and sinusoidal remodeling in chronic liver disease: new targets for the treatment of portal hypertension? *J Hepatol* 2010; 53: 976-980 [PMID: 20800926 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.004]

10 Ohnishi K, Sato S, Saito M, Terabayashi H, Nakayama T, Saito M, Chin N, Iida S, Nomura F, Okuda K. Clinical and portal hemodynamic features in cirrhotic patients having a large spontaneous splenorenal and/or gastrosplenic shunt. *Am J Gastroenterol* 1986; 81: 450-455 [PMID: 3518409]

11 Franzoni Lde C, de Carvalho FC, Garzon RG, Yamashiro Fda S, Augusti L, Santos LA, Dorna Mde S, Baima JP, Lima TB, Caramori CA, Silva GF, Romeiro FG. Embolization of splenorenal shunt associated to portal vein thrombosis and hepatic encephalopathy. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 15910-15915 [PMID: 25400477 DOI: 10.3748/wjg.v20.i42.15910]

12 Qi X, Qi X, Zhang Y, Shao X, Wu C, Wang Y, Wang R, Zhang X, Deng H, Hou F, Li J, Guo X. Prevalence and Clinical Characteristics of Spontaneous Splenorenal Shunt in Liver Cirrhosis: A Retrospective Observational Study Based on Contrast-Enhanced Computed Tomography (CT) and Magnetic Resonance Imaging (MRI) Scans. *Med Sci Monit* 2017; 23: 2527-2534 [PMID: 28542116 DOI: 10.12659/msm.901656]

13 Zardi EM, Uwechie V, Caccavo D, Pellegrino NM, Cacciapaglia F, Di Matteo F, Dobrina A, Laghi V, Afeltra A. Portosystemic shunts in a large cohort of patients with liver cirrhosis: detection rate and clinical relevance. *J Gastroenterol* 2009; 44: 76-83 [PMID: 19159076 DOI: 10.1007/s00535-008-2279-1]

14 von Herbay A, Frieling T, Häussinger D. Color Doppler sonographic evaluation of spontaneous portosystemic shunts and inversion of portal venous flow in patients with cirrhosis. *J Clin Ultrasound* 2000; 28: 332-339 [PMID: 10934332 DOI: 10.1002/1097-0096(200009)28:7<332::aid-jcu3>3.0.co;2-9]

15 Papamichail M, Pizaniias M, Heaton N. Congenital portosystemic venous shunt. *Eur J Pediatr* 2018; 177: 285-294 [PMID: 29243189 DOI: 10.1007/s00431-017-3058-x]

16 邓伟哲, 李柏. 门静脉高压侧支循环与血管内皮细胞生长因



- 子. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1621-1626 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2006.16.015]
- 17 Achiwa S, Hirota S, Kako Y, Takaki H, Kobayashi K, Yamakado K. Radiological anatomy of spontaneous splenorenal shunts in patients with chronic liver disease. *Jpn J Radiol* 2017; 35: 206-214 [PMID: 28251498 DOI: 10.1007/s11604-017-0623-1]
- 18 Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet* 2008; 371: 838-851 [PMID: 18328931 DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60383-9]
- 19 Harmanci O, Bayraktar Y. Clinical characteristics of idiopathic portal hypertension. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1906-1911 [PMID: 17461489 DOI: 10.3748/wjg.v13.i13.1906]
- 20 Berzigotti A, Seijo S, Reverter E, Bosch J. Assessing portal hypertension in liver diseases. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 7: 141-155 [PMID: 23363263 DOI: 10.1586/egh.12.83]
- 21 Wind P, Alves A, Chevallier JM, Gillot C, Sales JP, Sauvanet A, Cuénod CA, Vilgrain V, Cugnenc PH, Delmas V. Anatomy of spontaneous splenorenal and gastrosplenic anastomoses. Review of the literature. *Surg Radiol Anat* 1998; 20: 129-134 [PMID: 9658533]
- 22 Distler JH, Hirth A, Kurowska-Stolarska M, Gay RE, Gay S, Distler O. Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis. *Q J Nucl Med* 2003; 47: 149-161 [PMID: 12897707]
- 23 Fernandez M, Vizzutti F, Garcia-Pagan JC, Rodes J, Bosch J. Anti-VEGF receptor-2 monoclonal antibody prevents portal-systemic collateral vessel formation in portal hypertensive mice. *Gastroenterology* 2004; 126: 886-894 [PMID: 14988842 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.12.012]
- 24 张灿环, 刘鸿雁, 张炳, 高健, 王国华, 方明, 王钦义. 多层螺旋CT门静脉成像评价脾肾静脉分流的价值. *中国临床医学影像杂志* 2018; 29: 277-280 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-1062.2018.04.012]
- 25 张放, 杨岳松, 张丕利, 张益军, 彭志海. 磁共振、彩色多普勒及间接门脉数字减影血管造影在门静脉系统显像中的对照研究. *临床外科杂志* 2001; 9: 161-163 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-6483.2001.03.017]
- 26 周平, 李瑞珍, 刘浔阳, 黄飞舟, 刘明辉. 彩色多普勒超声在诊断自发性脾肾分流中的应用. *中国超声医学杂志* 2004; 20: 210-212 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-0101.2004.03.015]
- 27 夏建国, 李凤华, 李红丽, 杜晶, 郭祎芬. 彩色多普勒超声在评价自发性脾肾静脉分流中的价值. *临床超声医学杂志* 2012; 14: 746-748 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-6978.2012.11.013]
- 28 陈卫霞, 周翔平, 闵鹏秋, 宋彬, 黄娟, 许崇永, 易凤琼, 杨敏. 门静脉高压脾静脉与左肾静脉自发交通CT表现. *临床放射学杂志* 1999; 18: 284-285 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-9324.1999.05.008]
- 29 Takayasu K, Moriyama N, Shima Y, Yamada T, Kobayashi C, Musha H, Okuda K. Sonographic detection of large spontaneous spleno-renal shunts and its clinical significance. *Br J Radiol* 1984; 57: 565-570 [PMID: 6539632 DOI: 10.1259/0007-1285-57-679-565]
- 30 Farid N, Balkanci F, Guran S, Senaati S, Besim A. A digital splenoportography: more sensitive method of detecting spontaneous splenorenal shunt. *Angiology* 1991; 42: 754-759 [PMID: 1928817 DOI: 10.1177/000331979104200910]
- 31 Qi X, Ye C, Hou Y, Guo X. A large spontaneous intrahepatic portosystemic shunt in a cirrhotic patient. *Intractable Rare Dis Res* 2016; 5: 58-60 [PMID: 26989653 DOI: 10.5582/iridr.2016.01000]
- 32 李会贤, 孔德润. 胃肾及脾肾分流道对胃底曲张静脉内镜治疗的影响. *世界华人消化杂志* 2017; 25: 1805-1810 [DOI: 10.11569/wcjd.v25.i20.1805]
- 33 易在凤, 吴凡, 郑莉. 肝硬化门静脉高压自发性脾肾分流患者临床特征分析. *中西医结合肝病杂志* 2019; 29:38-43 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-0264.2019.01.013]
- 34 郭晓会, 冯志杰. 尾加压素 II 在肝硬化门脉高压及侧支循环中的作用. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3536-3541 [DOI: 10.11569/wcjd.v20.i35.3536]
- 35 Chikamori F, Nishida S, Selvaggi G, Tryphonopoulos P, Moon JI, Levi DM, Kato T, Island ER, Maki A, Tekin A, Tzakis AG. Effect of liver transplantation on spleen size, collateral veins, and platelet counts. *World J Surg* 2010; 34: 320-326 [PMID: 20012612 DOI: 10.1007/s00268-009-0314-x]
- 36 Golse N, Mohkam K, Rode A, Mezoughi S, Demian H, Ducerf C, Mabrut JY. Surgical Management of Large Spontaneous Portosystemic Splenorenal Shunts During Liver Transplantation: Splenectomy or Left Renal Vein Ligation? *Transplant Proc* 2015; 47: 1866-1876 [PMID: 26293065 DOI: 10.1016/j.transproceed.2015.06.019]
- 37 程道柔, 杨卿, 张英才, 王励, 谌小龙, 李慧, 杨扬, 陈规划, 汪根树. 肝移植术中脾肾分流的个体化处理. *器官移植* 2019; 10: 443-448 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2019.04.016]
- 38 Kim H, Yoon KC, Lee KW, Yi NJ, Lee HW, Choi Y, Oh D, Kim HS, Hong SK, Ahn SW, Suh KS. Tips and pitfalls in direct ligation of large spontaneous splenorenal shunt during liver transplantation. *Liver Transpl* 2017; 23: 899-906 [PMID: 28481004 DOI: 10.1002/lt.24783]
- 39 Garcia-Tsao G, Abraldes JG, Berzigotti A, Bosch J. Portal hypertensive bleeding in cirrhosis: Risk stratification, diagnosis, and management: 2016 practice guidance by the American Association for the study of liver diseases. *Hepatology* 2017; 65: 310-335 [PMID: 27786365 DOI: 10.1002/hep.28906]
- 40 Nakai M, Sato M, Sahara S, Kawai N, Kimura M, Maeda Y, Iyata Y, Higashi K. Transhepatic catheter-directed thrombolysis for portal vein thrombosis after partial splenic embolization in combination with balloon-occluded retrograde transvenous obliteration of splenorenal shunt. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5071-5074 [PMID: 16937510 DOI: 10.3748/wjg.v12.i31.5071]
- 41 金倩雯, 姚群燕, 罗剑钧, 陈世耀, 涂传涛. 球囊导管逆行性静脉栓塞术治疗肝硬化胃底静脉曲张1例报告并文献复习. *中国临床医学* 2018; 25: 835-839 [DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20180232]
- 42 Numata K, Tanaka K, Kiba T, Saito S, Shirato K, Kitamura T, Sekihara H. Use of balloon-occluded retrograde transvenous obliteration with ethanolamine oleate for the treatment of hepatic encephalopathy in a cirrhotic patient with a large spontaneous splenorenal shunt. *J Gastroenterol* 1998; 33: 424-427 [PMID: 9658325 DOI: 10.1007/s005350050107]
- 43 Inoue H, Emori K, Toyonaga A, Oho K, Kumamoto M, Haruta T, Mitsuyama K, Tsuruta O, Sata M. Long term results of balloon-occluded retrograde transvenous obliteration for portosystemic shunt encephalopathy in patients with liver cirrhosis and portal hypertension. *Kurume Med J* 2014; 61: 1-8 [PMID: 25420513 DOI: 10.2739/kurumemedj.MS63014]
- 44 Kessler J, Trerotola SO. Use of the Amplatzer Vascular Plug for embolization of a large retroperitoneal shunt during transjugular intrahepatic portosystemic shunt creation for gastric variceal bleeding. *J Vasc Interv Radiol* 2006; 17: 135-140 [PMID: 16415142 DOI: 10.1097/01.rvi.0000186958.59457.10]
- 45 Laleman W, Simon-Talero M, Maleux G, Perez M, Ameloot K, Soriano G, Villalba J, Garcia-Pagan JC, Barrufet M, Jalan R, Brookes J, Thalassinou E, Burroughs AK, Cordoba J, Nevens F; EASL-CLIF-Consortium. Embolization of large spontaneous portosystemic shunts for refractory hepatic encephalopathy: a multicenter survey on safety and efficacy. *Hepatology* 2013; 57: 2448-2457 [PMID: 23401201 DOI: 10.1002/hep.26314]
- 46 Lynn AM, Singh S, Congly SE, Khemani D, Johnson DH, Wiesner RH, Kamath PS, Andrews JC, Leise MD. Embolization of portosystemic shunts for treatment of medically refractory hepatic encephalopathy. *Liver Transpl* 2016; 22: 723-731 [PMID: 26970243 DOI: 10.1002/lt.24440]
- 47 原姗姗, 韩国宏, 樊代明. TIPS治疗门静脉高压并发症预后评价的现状. *介入放射学杂志* 2011; 20: 245-248 [DOI: 10.3969/



- j.issn.1008-794X.2011.03.018]
- 48 何创业, 祁兴顺, 帖君, 柏明, 白苇, 郭文刚, 牛静, 殷占新, 韩国宏. 经颈内静脉肝内门体分流术联合封堵器封堵治疗肝硬化门脉高压伴自发性脾、胃-肾分流. 介入放射学杂志 2013; 22: 801-805 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2013.10.003]
  - 49 Yu H, Guo S, Wang L, Dong Y, Tian G, Mu S, Zhang H, Li D, Zhao S. Laparoscopic Splenectomy and Esophagogastric Devascularization for Liver Cirrhosis and Portal Hypertension Is a Safe, Effective, and Minimally Invasive Operation. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2016; 26: 524-530 [PMID: 27064936 DOI: 10.1089/lap.2016.0032]
  - 50 Cescon M, Sugawara Y, Kaneko J, Ohtsuka H, Takayama T, Makuuchi M. Restoration of portal vein flow by splenorenal shunt ligation and splenectomy after living-related liver transplantation. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 1453-1454 [PMID: 11677985]
  - 51 Tang R, Han D, Li M, Shen S, Huang X, Zhao W, Dong J. Left renal vein ligation for large splenorenal shunt during liver transplantation. *ANZ J Surg* 2017; 87: 767-772 [PMID: 28851020 DOI: 10.1111/ans.14044]
  - 52 Nguyen MC, Sage Silski L, Alebrahim M, Black S, Elkhammas E, Washburn K, El-Hinnawi A. Left Renal Vein Ligation for Spontaneous Splenorenal Shunts During Deceased-Donor Orthotopic Liver Transplant Is Safe and Can Mitigate Complications from Portal Steal: A Case Series. *Exp Clin Transplant* 2018 [PMID: 30501587 DOI: 10.6002/ect.2018.0096]
  - 53 Slater RR, Jabbour N, Abbass AA, Patil V, Hundley J, Kazimi M, Kim D, Yoshida A, Abouljoud M. Left renal vein ligation: a technique to mitigate low portal flow from splenic vein siphon during liver transplantation. *Am J Transplant* 2011; 11: 1743-1747 [PMID: 21668639 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03578.x]
  - 54 Castillo-Suescun F, Oniscu GC, Hidalgo E. Hemodynamic consequences of spontaneous splenorenal shunts in deceased donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2011; 17: 891-895 [PMID: 21425432 DOI: 10.1002/lt.22304]
  - 55 Miyamoto A, Kato T, Dono K, Umeshita K, Kawabata R, Hayashi S, Kubota M, Kobayashi S, Nagano H, Nakamori S, Sakon M, Monden M. Living-related liver transplantation with renoportal anastomosis for a patient with large spontaneous splenorenal collateral. *Transplantation* 2003; 75: 1596-1598 [PMID: 12792522 DOI: 10.1097/01.tp.0000061769.78127.5d]
  - 56 Marubashi S, Dono K, Nagano H, Gotoh K, Takahashi H, Hashimoto K, Miyamoto A, Takeda Y, Umeshita K, Kato T, Monden M. Living-donor liver transplantation with renoportal anastomosis for patients with large spontaneous splenorenal shunts. *Transplantation* 2005; 80: 1671-1675 [PMID: 16378059 DOI: 10.1097/01.tp.0000185087.93572.1d]

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:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套  $P$  值, 则  $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第 3 套为  $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ .  $P$  值后注明何种检验及其具体数字, 如  $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用  $t/\text{min}$ ,  $\text{c}/(\text{mol/L})$ ,  $\text{p/kPa}$ ,  $\text{V/mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$  表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小  $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴. (5) 致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

# 声触诊组织量化技术评估经颈静脉肝内门-腔分流术术后疗效的应用价值

张丹, 王一鸣, 李浩

张丹, 杭州市下城区中医院B超室, 浙江省杭州市 310004

王一鸣, 李浩, 温岭市中医院超声科 浙江省温岭市 317500

张丹, 主治医师, 主要从事腹部超声诊断研究方向.

**作者贡献分布:** 此课题由张丹设计; 研究过程由张丹, 王一鸣和李浩共同操作完成; 研究用新试剂及分析工具由王一鸣提供; 数据分析及论文写作由张丹完成.

**通讯作者:** 张丹, 主治医师, 310004, 浙江省杭州市下城区绍兴路25号, 杭州市下城区中医院B超室. wang1ming23456@163.com  
电话: 0571-85465827

收稿日期: 2019-11-20

修回日期: 2019-12-19

接受日期: 2019-12-20

在线出版日期: 2019-12-28

## Value of virtual touch tissue quantification in evaluating therapeutic effects of transjugular intrahepatic portosystemic stent shunt

Dan Zhang, Yi-Ming Wang, Hao Li

Dan Zhang, Department of Ultrasonography, Traditional Chinese Medicine Hospital of Xiacheng District, Hangzhou 310004, Zhejiang Province, China

Yi-Ming Wang, Hao Li, Department of Ultrasound, Wenling Traditional Chinese Medicine Hospital, Wenling 317500, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Dan Zhang, Chief Physician, Department of Ultrasonography, Traditional Chinese Medicine Hospital of Xiacheng District, No. 25, Shaoxing Road, Xiacheng District, Hangzhou 310004, Zhejiang Province, China. wang1ming23456@163.com

Received: 2019-11-20

Revised: 2019-12-19

Accepted: 2019-12-20

Published online: 2019-12-28

## Abstract BACKGROUND

Virtual touch tissue quantification (VTQ) is a new ultrasonic technology which can quantitatively analyze the elastic hardness of tissue. It is convenient, noninvasive, and repeatable. In the present study, the changes of tissue hardness of the liver and spleen after transjugular intrahepatic portosystemic stent shunt (TIPSS) were analyzed quantitatively to assess the clinical therapeutic effects, with an aim to provide a valuable imaging method for the evaluation of therapeutic effects of TIPSS.

## AIM

To explore the clinical value of VTQ in evaluating the therapeutic effects of TIPSS.

## METHODS

Fifty-two cirrhotic patients with portal hypertension were selected as subjects. The shear wave velocity (SWV) of the liver and spleen was measured by VTQ one day before operation and one month after operation, and the changes of SWV of the liver and spleen were compared.

## RESULTS

The velocities of the portal vein and splenic vein after TIPSS increased significantly compared with those before TIPSS ( $P < 0.05$ ). The diameter of the portal vein after TIPSS decreased significantly compared with that before TIPSS ( $P < 0.05$ ). The SWV of the liver and spleen after TIPSS decreased significantly compared with those before TIPSS ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

VTQ is a noninvasive method to measure the SWV of the liver and spleen, which can effectively monitor the therapeutic effect of TIPSS.

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

**Key Words:** Virtual touch tissue quantification; Transjugular intrahepatic portosystemic stent shunt; Cirrhotic; Portal hypertension; Curative effect

Zhang D, Wang YM, Li H. Value of virtual touch tissue quantification in evaluating therapeutic effects of transjugular intrahepatic portosystemic stent shunt. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(24): 1509-1512  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1509.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i24.1509>

## 摘要

### 背景

声触诊组织量化(virtual touch tissue quantification, VTQ)技术是一种能定量分析目标组织弹性硬度的超声新技术,具有便捷、无创、可重复等优点.通过定量分析经颈静脉肝内门-腔分流术(transjugular intrahepatic portosystemic stent shunt, TIPSS)后肝脏及脾脏的组织硬度变化,客观反映其临床治疗效果,有望为TIPSS术后疗效评估提供一种有价值的影像学手段.

### 目的

探讨VTQ技术评估TIPSS疗效的临床应用价值.

### 方法

选取在我院拟行TIPSS术的52例肝硬化门静脉高压患者作为研究对象,分别于术前1 d、术后1 mo采用VTQ技术测定肝剪切波速度(shear wave velocity, SWV)值、脾SWV值,并作比较分析.

### 结果

TIPSS术后门静脉、脾静脉流速较术前增快,差异有统计学意义( $P<0.05$ );门静脉内径较术前减少,差异有统计学意义( $P<0.05$ );TIPSS术后肝SWV值及脾SWV值较术前下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

### 结论

VTQ技术可无创性测定肝脾SWV值,能有效监测TIPSS术后疗效,具有一定临床应用价值.

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

**关键词:** 声触诊组织量化技术; 经颈静脉肝内门-腔分流术; 肝硬化; 门脉高压; 疗效

**核心提要:** 运用声触诊组织量化技术定量分析经颈静脉肝内门-腔分流术肝脏以及脾脏的组织硬度变化,以定量评估经颈静脉肝内门-腔分流术术后疗效,探讨其临床应用价值.

张丹, 王一鸣, 李浩. 声触诊组织量化技术评估经颈静脉肝内门-腔分流术术后疗效的应用价值. *世界华人消化杂志* 2019; 27(24): 1509-1512  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1509.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i24.1509>

## 0 引言

肝硬化门静脉高压症(portal hypertension, PHT)时,门静脉系统血液回流受阻,门静脉压力上升,可导致脾充血、肿大、功能亢进等一系列临床综合征<sup>[1,2]</sup>.目前临床治疗PHT的主要手段是经颈静脉肝内门-腔分流术(transjugular intrahepatic portosystemic stent shunt, TIPSS),大量临床实践已证实TIPSS术对PHT疗效显著<sup>[3,4]</sup>.超声检查是临床评估TIPSS术后疗效的常用手段,而声触诊组织量化(virtual touch tissue quantification, VTQ)技术作为一种全新的超声新技术,可通过测定器官组织中剪切波速度(shear wave velocity, SWV)进而定量分析其组织硬度状态<sup>[5,6]</sup>.本研究采用VTQ技术定量评估TIPSS术对PHT患者的疗效,探讨其临床应用价值.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2017-03/2019-07期间,我院拟行TIPSS术的52例PHT患者作为研究对象.其中男38例,女性14例,年龄32-71岁,平均53.61岁±8.55岁.所有患者分别于术前1 d、术后1 mo运用VTQ技术测定肝SWV值和脾脏SWV值.排除合并脾脏恶性肿瘤、血液病、感染性脾肿大及其它引起脾质地改变疾病.本研究获得我院医学伦理委员会批准,患者均知情同意,并签署知情同意书.

采用西门子Acuson S2000彩色多普勒超声诊断仪,配有4C-1探头,探头频率2-4 MHz,并配有VTQ技术软件.  
**1.2 方法** 嘱患者空腹8 h,首先对患者进行常规超声检查,测量并记录门静脉主干内径、门静脉流速、脾静脉主干内径、脾静脉流速.根据需要取左侧卧位清晰显示肝结构,右侧卧位清晰显示脾结构,然后启动VTQ技术,分别固定选取肝右叶S5和脾上极,于肝包膜及脾包膜下2-3 cm处放置取样框,尽可能避开肝脾内大血管.嘱患者屏住呼吸3-5 s,待图像稳定后,测定肝SWV值及脾SWV值.所有数据均测量3次,取平均值.

**统计学处理** 采用SPSS 20.0统计软件处理数据,计量资料以(Mean±SD)表示,术前后数据比较采用配对样本 $t$ 检验.以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

表 1 经颈静脉肝内门-腔分流术前常规超声参数变化

参数	门静脉主干内径(cm)	门静脉流速(cm/s)	脾静脉主干内径(cm)	脾静脉流速(cm/s)
术前	1.63 ± 0.21	11.99 ± 4.65	1.194 ± 0.21	16.20 ± 5.23
术后	1.37 ± 0.20	22.55 ± 4.77	1.135 ± 0.24	26.66 ± 5.43
t值	6.980	-13.392	1.940	-26.222
P值	0.000	0.000	0.058	0.000

表 2 经颈静脉肝内门-腔分流术前声触诊组织量化技术参数变化

参数	肝剪切波速度值(m/s)	脾剪切波速度值(m/s)
治疗前	3.94 ± 0.94	3.65 ± 0.80
治疗后	3.23 ± 0.72	3.02 ± 0.75
t值	4.969	6.559
P值	0.000	0.000

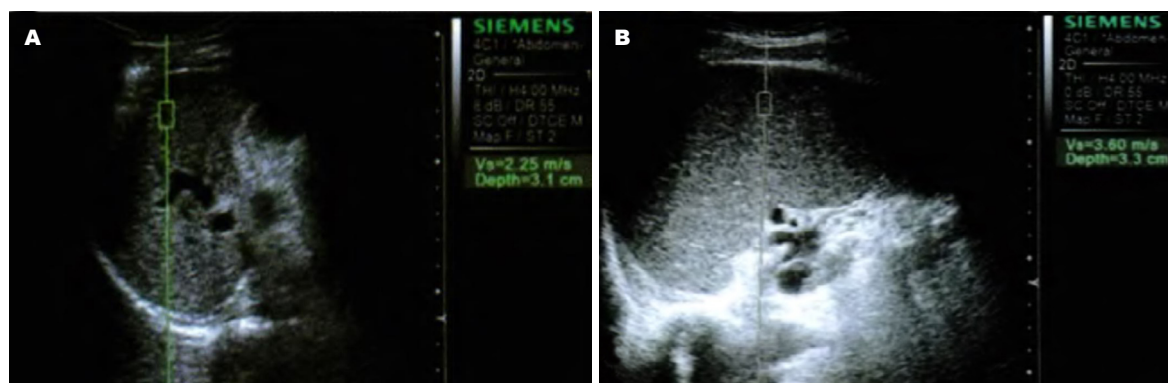


图 1 声触诊组织量化技术测定剪切波速度值. A: 肝; B: 脾.

## 2 结果

**2.1 TIPSS术前常规超声参数变化** TIPSS术后门静脉流速、脾静脉流速较术前增快, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); TIPSS术后门静脉内径较术前减少, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); TIPSS术后脾静脉内径与术前比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表1).

**2.2 TIPSS术前VTQ技术参数变化** TIPSS术后肝SWV值较术前下降, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); TIPSS术后脾SWV值较术前下降, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )(表2).

## 3 讨论

PHT可对患者生活质量以及预后造成严重影响, 而目前TIPSS术是PHT的有效治疗手段之一<sup>[7]</sup>. 如何有效评估TIPSS术后疗效是临床研究的难点及热点. 因此, 寻求一种简便无创的评估方法有着重要临床意义.

超声检查在无创性评估TIPSS术后疗效方面发挥着重要作用, 能提供肝硬化门脉系统的血流动力学变化

信息<sup>[8]</sup>. 本研究结果显示, TIPSS术后门静脉流速、脾静脉流速较术前明显增快( $P<0.05$ ), 而门静脉内径较术前明显减少( $P<0.05$ ). 提示常规超声所获得的门静脉和脾静脉参数能在一定程度上反映门脉高压变化状态, 可作为监测TIPSS术后疗效的有效方法. 这与以往研究结果相一致<sup>[9]</sup>.

VTQ技术作为一种基于声脉冲辐射力成像技术的二维弹性成像技术, 通过结合常规超声图像, 可测定实质性脏器的组织弹性硬度, 并以SWV值定量表示(图1)<sup>[10]</sup>. SWV值越高, 代表特定区域组织的弹性硬度越大, 质地越硬. 本研究结果显示, TIPSS术后肝SWV值以及脾SWV值较术前下降( $P<0.05$ ). 提示运用VTQ技术测定TIPSS术后肝脾SWV值变化, 可为TIPSS术后疗效评估提供可靠的组织硬度变化信息, 从而有效反映TIPSS术后疗效, 为TIPSS术后疗效评估提供一种全新的影像学手段. 与常规超声结合, 能发挥很好的互补作用. TIPSS术后肝脾硬度在一定程度上发生改变, 原因可能是:



TIPSS术后门静脉压力下降,一定程度上改善了肝内血液循环状态,从而改善了肝细胞坏死以及结缔组织增生状态,使其硬度有所下降;而门静脉压力下降,脾静脉血液回流至门静脉的阻力下降,脾淤血缓解,体积减小,其硬度下降。

综上所述,VTQ技术可无创性测定肝脾硬度状态,客观反映门静脉压力情况,从而有效监测TIPSS术后疗效,具有一定临床应用价值。

## 文章亮点

### 实验背景

经颈静脉肝内门-腔分流术(transjugular intrahepatic portosystemic stent shunt, TIPSS)术是目前临床治疗肝硬化门静脉高压症的有效手段之一。准确有效的TIPSS术后疗效评估有助于指导临床治疗,制定有效的治疗方案。

### 实验动机

运用声触诊组织量化(virtual touch tissue quantification, VTQ)技术无创性测定TIPSS术后肝脏及脾脏的组织硬度变化,以期临床评估TIPSS术后疗效提供一种全新的超声手段。

### 实验目标

本篇论文研究的主要目标是运用VTQ技术评估TIPSS术后疗效并探讨其临床价值。结果表明TIPSS术后肝脏及脾脏的组织硬度发生改变,利用VTQ技术可有效监测TIPSS术后疗效,具有一定临床应用价值。

### 实验方法

本篇论文采用VTQ技术评估TIPSS术后疗效。VTQ技术能无创性定量分析TIPSS术后肝脏及脾脏的硬度状态变化。

### 实验结果

本篇论文研究达到了实验目标,研究结果显示TIPSS术后肝SWV值以及脾SWV值较术前下降( $P<0.05$ )。本研究结果说明VTQ技术通过测定TIPSS术后肝脾SWV值变化,可为TIPSS术后疗效评估提供硬度变化信息,从而有效评估TIPSS术后疗效。

### 实验结论

TIPSS术后肝脏及脾脏的硬度状态发生改变,通过VTQ技术能定量分析该硬度状态变化,从而准确评估TIPSS术后疗效,可为临床评估TIPSS术后疗效提供一种无创、有效的超声方法,具有一定临床价值。

### 展望前景

放置取样框时应尽可能避开肝脏及脾脏内的大血管。嘱患者屏住呼吸3-5 s,待图像稳定后再测定肝脾SWV值。TIPSS术后VTQ技术所获得的定量参数与肝功能指标间的相关性。VTQ技术联合超声造影评估TIPSS术后疗效。

## 4 参考文献

- 1 Korda D, Deák PÁ, Kiss G, Gerlei Z, Kóbori L, Görög D, Fehérvári I, Piros L, Máthé Z, Doros A. Management of Portal Hypertension After Liver Transplantation. *Transplant Proc* 2017; 49: 1530-1534 [PMID: 28838434 DOI: 10.1016/j.transproceed.2017.06.015]
- 2 黄智铭. 门静脉高压症的内科治疗. 肝胆胰外科杂志 2019; 3: 467-472 [DOI: 10.11952/j.issn.1007-1954.2019.08.006]
- 3 Spira D, Wiskirchen J, Lauer U, Ketelsen D, Nikolaou K, Wiesinger B. Implantability, Complications, and Follow-Up After Transjugular Intrahepatic Portosystemic Stent-Shunt Creation With the 6F Self-Expanding Sinus-SuperFlex-Visual Stent. *Iran J Radiol* 2016; 13: e28689 [PMID: 27853493 DOI: 10.5812/iranjrad.28689]
- 4 胡朋, 陈斯良, 林志鹏, 赵剑波, 陈勇, 何晓峰, 曾庆乐, 李彦豪. 经颈静脉肝内门腔分流术中覆膜支架两端长度与长期疗效的关系. 南方医科大学学报 2016; 36: 1444-1448 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-4254.2016.10.2]
- 5 Han R, Li F, Wang Y, Ying Z, Zhang Y. Virtual touch tissue quantification (VTQ) in the diagnosis of thyroid nodules with coexistent chronic autoimmune Hashimoto's thyroiditis: a preliminary study. *Eur J Radiol* 2015; 84: 327-331 [PMID: 25481824 DOI: 10.1016/j.ejrad.2014.11.005]
- 6 刘洁, 王荣, 王兴田, 沙雨蒙, 黄瑞, 王玉乔. 声触诊组织成像及声触诊组织成像量化技术在乳腺实性小结节鉴别诊断中的应用. 中国临床医学影像杂志 2019; 8: 463-467 [DOI: 10.12117/jccmi.2019.07.002]
- 7 羊丹, 张国梁, 王凤梅, 边芬, 贾科峰. PTVE与TIPS治疗肝硬化门静脉高压合并食管胃底静脉曲张破裂出血的疗效比较. 现代生物医学进展 2016; 16: 2876-2878 [DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2016.15.018]
- 8 刘健, 李佟, 王文伟. TIPSS术后多普勒超声评价. 中国临床医学影像杂志 2012; 11: 65-67 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-1062.2012.08.023]
- 9 雷震, 杨世梅, 罗燕. 肝硬化门脉高压症超声血流参数对门静脉压力的影响. 海南医学院学报 2011; 17: 833-836
- 10 孙丹丹, 高艺花, 金成子, 朴红心, 侯睿. 脾脏VTQ值与乙型肝炎肝硬化分期. 实用医学杂志 2017; 33: 388-390 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2017.03.014]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



## 第二届胶囊内镜全球高峰论坛纪要

江学良, 王金山, 何健华

江学良, 山东中医药大学第二附属医院消化中心 山东省济南市 250001

王金山, 何健华, 重庆金山科技(集团)有限公司 重庆市 404100

江学良, 教授, 主要研究方向为消化内镜与消化系统疾病.

作者贡献分布: 江学良负责文章设计与修改; 王金山负责文章资料提供; 何健华负责文章资料整理撰写.

通讯作者: 江学良, 博士, 教授, 250001, 山东省济南市经八路1号, 山东中医药大学第二附属医院消化中心. [jiangxueliang678@126.com](mailto:jiangxueliang678@126.com)

收稿日期: 2019-11-22

修回日期: 2019-12-05

接受日期: 2019-12-20

在线出版日期: 2019-12-28

### Summary of the Second Capsule Endoscopy Global Summit

Xue-Liang Jiang, Jin-Shan Wang, Jian-Hua He

Xue-Liang Jiang, Digestive Center of the Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250001, Shandong Province, China

Jin-Shan Wang, Jian-Hua He, Jinshan Science & Technology Limited Company, Chongqing 404100, China

Corresponding author: Xue-Liang Jiang, PhD, Professor, 250001, Digestive Center of the Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, No. 1, Jingba Road, Jinan 250001, Shandong Province, China. [jiangxueliang678@126.com](mailto:jiangxueliang678@126.com)

Received: 2019-11-22

Revised: 2019-12-05

Accepted: 2019-12-20

Published online: 2019-12-28

### Abstract

The objectives of this summit were to focus on the application and development of artificial intelligence and robot technologies in capsule endoscopy, showcase

the latest achievements of capsule endoscopy with regard to clinical application, academic research, early cancer screening, and health management, and strengthen international exchange and cooperation in terms of capsule endoscopy products, services, research and development, talents, and intelligent supporting industries. International and domestic distinguished experts and scholars in the field of digestive diseases were invited to attend the 2<sup>nd</sup> Capsule Endoscopy Global Summit to share their latest achievements in capsule endoscopy in forms of theme reports, academic lectures, roundtable talks, and symposium. Seven major forward-looking application achievements of capsule endoscopy were presented in the fields of artificial intelligence and robot, and 17 distinguished experts delivered speeches on the latest achievements on the clinical application of capsule endoscopy both in China and other countries. New technologies came on stage, such as full-automatically and intelligently navigated capsule robot RC100, high-resolution small bowel capsule SC100, dual-camera colon capsule CC100, and intelligent image reading system from Jinshan Science & Technology. In the Health Management Sub-forum of the summit, China's distinguished health management experts introduced the technological advantages and application experience of China's capsule endoscopy in early cancer screening and health management.

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

Key Words: Capsule endoscopy; Artificial intelligence; Big data; Capsule robot; Clinical application; Early cancer screening; World Endoscopy Organization; Chinese Society of Digestive Endoscopy; Jinshan Science & Technology

Jiang XL, Wang JS, He JH. Summary of the Second Capsule Endoscopy Global Summit. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(24): 1513-1516

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1513.htm>

## 摘要

召开胶囊内镜峰会的目的是关注人工智能与机器人技术在胶囊内镜上的应用和发展, 展现全球胶囊内镜临床应用、学术研究、早癌筛查等方面的最新成果, 加强国际领域在胶囊内镜产品、服务、研发、人才以及智能化产业配套领域的交流与合作. 邀请海内外消化界顶级专家学者出席第二届胶囊内镜全球高峰论坛, 以主题报告、学术演讲、圆桌会谈、经验交流等形式分享胶囊内镜发展的最新成果. 17位来自全球消化医学的顶尖专家现场发表了胶囊内镜在国内外最新临床应用成果的主题演讲; 金山科技的全自动智能导航胶囊机器人RC100、高清小肠胶囊SC100、双头结肠胶囊CC100、智能阅片系统等新技术进行了展示; 国内知名健康管理专家向世界分享中国胶囊内镜在早癌筛查及健康管理方面技术优势和应用经验. 《世界华人消化杂志》及系列期刊应邀参会, 《世界华人消化杂志》主编江学良教授作了胶囊内镜临床应用的报告, 并以“胶囊内镜的未来”为主题与中外专家举行对话会.

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

关键词: 胶囊内镜; 人工智能; 胶囊机器人; 临床应用; 早癌筛查; 世界内镜组织; 中华医学会消化内镜学分会; 金山科技

**核心提要:** 胶囊内镜峰会展现了全球胶囊内镜临床应用、学术研究、早癌筛查等方面的最新成果.

江学良, 王金山, 何健华. 第二届胶囊内镜全球高峰论坛纪要. 世界华人消化杂志 2019; 27(24): 1513–1516

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i24/1513.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i24.1513>

## 0 引言

2019-11-09/2019-11-10, 第二届胶囊内镜全球高峰论坛在中国重庆金山科技国际会议中心盛大举行. 本次峰会由世界内镜组织(world endoscopic organization, WEO)、中华医学会消化内镜学分会、中国国家地方联合工程研究中心、国家胶囊内镜研究中心、金山科技集团联合主办, 全球胶囊内镜联盟协办. 来自欧美、中东、亚太地区的100多个国家和地区, 上千名医学专家、学者、政界领导、业界领袖和精英汇集此次峰会. 《世界华人消化杂志》及系列期刊应邀参会, 《世界华人消化杂志》主编、山东中医药大学第二附属医院消化中心主任江学良教授做了胶囊内镜临床应用的报告, 并以“胶

囊内镜的未来”为主题与中外专家举行对话会(图1).

WEO主席、峰会外方主席Jean-Francois REY, 中华医学会消化内镜学分会前任主委、首都医科大学附属北京友谊医院院长、峰会的中方主席张澍田教授, 国家地方联合工程研究中心理事长、金山科技董事长王金山出席峰会并致辞. 峰会以“胶囊内镜的未来”为主题, 聚焦人工智能和机器人技术在胶囊内镜上的应用和发展, 呈现全球胶囊内镜临床应用、学术研究、早癌筛查及健康管理方面的最新成果, 加强国际领域在胶囊内镜产品、服务、研发、人才、以及智能化产业配套领域的交流与合作. 峰会聚焦人工智能、机器人技术在全球胶囊内镜领域的五大前瞻性应用成果.

## 1 国家消化系统疾病临床医学研究中心: 人工智能在萎缩性胃炎和胃恶性肿瘤的临床诊断成果

北京市协同创新研究院、国家中心协同研究网络10家重点医院、医疗科技公司、人工智能消化系统病变识别中心、中国传媒大学共同发起成立国家消化系统疾病临床医学研究中心协同研究人工智能. 中心建立了系统化、规范化、高质量、点对点、涵盖多种消化道病变的内镜和病例切片图片数据库, 对10064张萎缩性胃炎内镜图片, 3774张胃恶性肿瘤内镜图片, 数据洗脱、筛选、审核、标注. 依托国家消化中心平台, 先后三次开展不同规模的人机对比诊断测试, 人工智能在萎缩性胃炎和胃恶性肿瘤的诊断方面, 以89%和82%的准确率超过内镜医师80%和70%的平均水平.

## 2 关于胶囊内镜大数据平台建设的成果、面临的问题和挑战

2.1 院校和医院支持医疗大数据建设成果 重庆医科大学医疗大数据平台汇集重庆市多家大型三甲医院业务数据, 已成功上线且运行稳定, 基于此数据平台开展了多项数据应用, 医疗大数据平台在促进医院互联互通, 提升医院质量和效率有积极促进作用.

2.2 存在的问题和面临的挑战 原始数据文件较大, 数据保存难; 独立于医院信息系统, 院内外数据共享难; 图片和报告单行业术语标准不统一, 数据提取难; 从病人隐私、采集者资质角度限制, 数据采集难.

## 3 南方医院在胶囊内镜智能化的技术攻关上成果丰硕

3.1 胶囊内镜存在的问题 胶囊内镜检查胃部时, 盲区过多, 且不能对食管及胃部提供全面观察的问题; 图片数量巨大, 阅片工作量巨大, 漏诊率高; 胶囊滞留引发安全隐患.

3.2 遗传算法+数学建模, 减少胃部检查盲区 针对胶囊内镜检查胃部时, 盲区过多, 且不能对食管及胃部提供





图1 江学良教授参会。

全面观察的问题, 南方医院成功地通过数学建模实现了引导胶囊胃镜运行, 通过遗传算法得出体位变换模型, 利用数学模型得出最佳体位变换方式, 最大限度地减少胃部检查盲区, 增大覆盖率。

3.3 联合金山科技开发云阅片系统, 构建起远程诊疗服务帮扶平台。基于疑似病变检索筛选算法设计, 胶囊内镜肿物图像识别流程的研发, 南方医院联合金山科技开发了云阅片系统, 实现医疗信息互通, 数据共享, 通过互联网技术开展异地交互式的读片诊断、指导治疗。远程阅片中心作为云阅片系统的一部分, 搭建了广东省胶囊内镜分会参与医院的登录系统, 直接构建起远程诊疗服务帮扶平台。目前云阅片系统已经通过模拟试验及性能测试阶段。

#### 4 胶囊机器人技术在西方的最新进展

活检的特异性胶囊、胶囊在腔体内悬空航行, 目前欧洲各大医疗工程研发机构的实验室里都不断地尝试着控制方法、新型材料、能量功耗的研究突破。

欧洲研究空间聚焦胶囊机器人的图像、活检、导航、能量、肠道清洁等方面的深度研究; 哈佛大学刘易斯研究所认为3D打印胶囊、微型电池, 可以使微型医疗植入物、小型电子产品、微型机器人等技术在胶囊内镜上成为可能; Edinburgh尖端技术课题正在研制小肠、食道、结肠特异性胶囊、以及远程操作、治疗、电外科胶囊; Innovate UK资助的项目, 通过提高人工智能的准确性, 嵌入新的计算机辅助诊断, 用于提高读图效率。

#### 5 金山科技RC100全自动胶囊机器人领衔的4大新技术亮相峰会

5.1 五大创新技术实现胶囊机器人全自动胃部检查。在胶囊内镜全球高峰论坛上, 金山科技的全自动智能导航胶囊机器人RC100重磅登场, 在20分钟内无人工干预下全面检查胃部6个部位, 该检查的全过程从陆军军医大

学第二附属医院远程直播到本届峰会现场。

全自动智能导航胶囊机器人RC100在胃部行进中扫描生成腔道模拟图, 显示胶囊在腔道中的位置和3D姿态, 根据胃部模型内部的状态, 实时进行胃腔检查路径的智能规划, 控制胶囊在胃腔里的运动轨迹。除了无人干预自主地在胃部检查外, 基于其强大的续航能力, 还能继续进入肠道进行全面检查。

RC100全自动胶囊机器人的整个检查诊断过程涉及到的五大创新技术均全球领先: 胶囊控制技术、胶囊定位技术、人工智能控制算法、医疗大数据技术、并行异常检测算法。

5.2 RC100胶囊机器人临床前研究的有效性、安全性、病变检出率。金山科技RC100全自动智能导航胶囊机器人已经进入临床前研究阶段, 陆军军医大学第二附属医院的杨仕明教授率先用该设备对20名志愿者进行了临床前研究。

RC100胃部检查全自动控制用时为 $17.7 \text{ min} \pm 0.4 \text{ min}$ , 比人为手动控制用时 $26.4 \text{ min} \pm 5.1 \text{ min}$ 更短, 19例胶囊在胃肠消化道的工作时长超过10 h, 20名志愿者全小肠检查率为100%, 初步验证了RC100胶囊机器人全自动控制的有效性。所有志愿者均将RC100全自动智能导航胶囊机器人排出体外, 滞留率为0%, 志愿者无不快感, 安全性可靠。RC100全自动智能导航胶囊机器人的胃内解剖位置检出率为95.8%, 高出人为机械控制 $87\% \pm 13\%$ 的检出率。RC100全小肠检查完成率为100%, 胃肠病变检出率优异。

此外金山科技的高清小肠胶囊SC100、双头结肠胶囊CC100、智能阅片系统等新技术也在峰会上颇令人瞩目。

#### 6 17位全球消化医学的顶尖专家现场分享胶囊内镜最新临床应用成果

6.1 从传统到智能, 内镜创新就在历史与未来之间。中华医学会消化内镜学分会前任主委、首都医科大学附属北京友谊医院张澍田院长全景式地展现了中国消化内镜从传统内镜到舒适化内镜的40年发展历程, 勾勒了当前中国人工智能在消化内镜上应用的研究成果。技术发展史的沉淀, 厚积薄发, 医疗人工智能的光芒在东方闪耀。

与东方交相辉映的是, 西方的人工智能技术在胶囊内镜的应用也方兴未艾。WEO主席Jean-Francois Rey在分享西方的应用经验时, 深入浅出地讲解了为优化智能辅助检查, 胶囊内镜在先进算法和自动检测技术的发展; 阐释了为深化智能诊断, 基于深度学习模型的胶囊内镜在胃肠病鉴定水平的进步。

不止是人工智能, 西方的研究所里围绕胶囊内镜进



行的MEMS工程技术研究也前沿科幻。“活检的特异性胶囊、胶囊在腔体内悬空航行、3D打印胶囊、微型电池”,英国爱丁堡皇家医院的Tassos koulaouzidis教授的演讲将峰会推向了一个小高潮。

经过中外消化、医学工程专家的勾勒,曾经还存在于科幻未来中的胶囊内镜智能化,已经从可能逐渐走向现实。

6.2 细细描摹的胶囊内镜智能图景,未来大有可期 胶囊内镜技术智能化走向现实的每一步,都离不开医学专家们的小心求证。

重庆医科大学附属第二医院副院长梅浙川教授解读了胶囊内镜大数据对缩短读图时间、远程平台和智慧医疗建设的重要作用,阐释了胶囊内镜大数据的形成基础和面临的挑战。

胶囊内镜大数据的建设,需要胶囊内镜结构化术语作为基础。葡萄牙ManopH的Miguel Mascarenhas Saraiva则是结构化术语方面做了学术报告,他在峰会上展示了胶囊内镜检查的报告结构、诊断流程标准化术语的范例,并进行多组实验验证了胶囊内镜结构化术语有助于消化病例大数据的整理和运算。面向未来的内镜技术究竟会怎样?南方医科大学南方医院王馨珂博士向中外嘉宾介绍了南方医院的技术成果:图像智能分析诊断。这将让胶囊内镜诊断更高效,从而建构早癌智能识别系统。

金山科技RC100全自动智能导航胶囊机器人已经进入临床应用研究阶段,陆军军医大学第二附属医院的杨仕明教授率先进行了研究试验,并在峰会的报告中指出,全自动控制的胶囊机器人,对临床试验中胃和肠病变检出率高于以往机器控制的检出率,且检查用时更短。医学专家的临床研究给胶囊内镜的未来发展搭建了理性的基石,注入了活力。

6.3 胶囊内镜临床应用范围不断拓展、成果不断涌现 医学专家们为了减轻患者检查的痛苦,积极探究胶囊内镜技术的临床应用,从胃、小肠到结肠,该技术在消化道疾病临床应用全面铺开,每年都有很多新的研究成果问世。

兰州大学第二医院孔晶教授、南方医科大学南方医院消化科钱凯博士、广东省中医院珠海医院赵小青教授、现场分享了胶囊内镜检查和诊断多种胃炎的临床病例。胶囊内镜在小肠的临床应用也毫不示弱,德国

美因茨大学医学中心的Helmut Neumann、英国爱丁堡皇家医院的John Plevris、山东中医药大学第二附属医院消化中心的江学良教授、阿联酋Asad Dajani专科诊所的Asad Dajani分别在“小肠内镜适应症”、“消化道出血检查”、“炎症性肠病中的应用”、“在非甾体抗炎药所致小肠疾病诊断的应用”,并喷式的研究成果印证了胶囊内镜作为小肠疾病的临床诊断工具的应用正逐渐走向成熟。西班牙Virgen Macarena大学医院的Victoria Alejandra Jimenez Garcia结肠疾病的知名专家,她在峰会上指出,双镜头结肠胶囊内镜无痛、无创,比常规结肠镜检查更彻底,更有助于评估溃疡性结肠炎。

胶囊内镜临床应用范围除了在消化道从上至下的全面展开,还从成人检查拓展到儿童诊断,从疾病临床到健康管理。浙江大学医学院附属儿童医院的赵泓教授和南方医科大学南方医院欧阳平教授分别就“胶囊内镜在儿童小肠疾病诊断中的应用”和“胶囊内镜在健康管理的应用和展望”发表主题演讲,在胶囊内镜拓展应用研究领域颇引人注目。

6.4 从临床应用到质控管理,胶囊内镜实用指南助力技术普及 从磁控胶囊胃镜到胶囊肠镜的临床应用,再到胶囊内镜技术优化的进展,东南大学附属中大医院施瑞华教授向国外专家概括性地呈现了当下中国消化医师对胶囊内镜技术在临床上的基本认知,这为从未见闻胶囊内镜的青年医师提供快速了解这项技术的窗口。

胶囊内镜技术强大的生命力,受到医疗机构追捧,引进胶囊内镜的医院应该如何对该技术设备进行质控和管理?武汉大学中南医院的赵秋教授分享了他在工作总结的经验和标准化管理的流程,其内容的实用性,引发现场中外专家的密切关注和高度评价。

总之,第二届胶囊内镜全球高峰论坛,在国内外参与者相互启发交流的友好氛围中落下了帷幕。各位国际专家、学者理性专业的知识、丰富的临床诊断经验都成为了高峰论坛上璀璨夺目的亮光。一场场破译胶囊内镜未来的对话,让高峰论坛已经成为胶囊内镜行业的品牌峰会、全球盛事。峰会不仅已将顶尖医学专家的高光亮点即时捕捉,还将深入探究各项最新成果所引领的胶囊内镜行业风向,持续关注精彩学术内容的丰富和延展,铺就胶囊内镜未来科技发展的星光大道。

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和消化系统疾病的预防、诊断和治疗水平.

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

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

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

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

<http://www.wjgnet.com>

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

1.10 审稿 同行评议过程需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或手稿修改后再送同行评议.

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

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

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

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

## 2 手稿要求

2.1 总体标准 手稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则以及GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求, 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals), 具体见: Ann Intern Med 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 手稿应标准化, 前后统一. 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准; 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准; 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 通常应小写, 如weixibao nizhuanwan (胃细胞逆转丸), guizhitang (桂枝汤).

2.3 外文字符 手稿应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射应缩写为iv, 肌肉注射为im, 腹腔注射为ip, 皮下注射为sc, 脑室注射为icv, 动脉注射为ia, 口服为po, 灌胃为ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm (应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或PH, *H. pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或T, Vmax不能写成Vmax,  $\mu$ 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),  $\rho$  (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*<sub>max</sub>, *C*<sub>max</sub>, *V*<sub>d</sub>, *T*<sub>1/2</sub> *CI*等; 基因符号, 通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物, 用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 手稿应采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量, 如30 kDa改为*Mr* 30000或30 kDa (*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>* (*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是*u* (小写正体). 计量单位在+、-及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *Mr*明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸应改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸应改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>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 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  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% CO<sub>2</sub>应为50 mL/L CO<sub>2</sub>; 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 =  $45 \times 10^{-6}$ ; 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 $\chi^2$ ; (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<sup>a</sup>*P*<0.05或<sup>b</sup>*P*<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用<sup>c</sup>*P*<0.05和<sup>d</sup>*P*<0.01; 第三套为<sup>e</sup>*P*<0.05和<sup>f</sup>*P*<0.01等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995关于出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字. 如1000-1500 kg. 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多克, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍弃. 末尾数字小于5则舍, 大于5则进, 如过恰好等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 抹尾时只可1次完成, 不得多次完成, 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写, 如1985年4月12日可写

作1985-04-12; 1985年4月写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486 800.47565. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 手稿全文中文格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 应鲜明而有特色, 不宜以阿拉伯数字开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名应按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行, 具体标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2和3, 对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献, 不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称, 空1格后再写省市及邮政编码, 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所



作贡献两均等;此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计;研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成;研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供;数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成;本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成。

3.6 基金资助项目 格式如:国家自然科学基金资助项目, No. 30224801.

3.7 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com 电话: 0351-4078656

传真: 0351-4086337

3.8 中文摘要 举例: 基础和临床研究文章的摘要必须在350字. 摘要包括背景、目的、方法、结果和结论. 背景应简要阐述研究的基本原理和设想. 目的应阐明研究所要达到的预期效果. 方法必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 例如双盲、单盲还是开放性; 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度; 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征; 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现和诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究. 结果应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确和具体, 所列数据经用何种统计学方法处理, 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值(概率写 $P$ 后应写出相应显著性检验值). 结论应给出全文总结、准确无误的观点及价值.

3.9 正文标题层次 举例: 基础和临床研究文章书写格式包括 0 引言; 1 材料和方法 (1.1 材料, 1.2 方法); 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3), 以下逐条陈述.

#### 0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

#### 1 材料和方法

应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

#### 2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

#### 3 讨论

要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选, 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述, 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化.

A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用 $^aP<0.05$ 或 $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则用 $^cP<0.05$ 和 $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ 和 $^fP<0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01, t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 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码号, 如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 研究<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>. 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<sup>[8]</sup>. 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  
Telephone: +1-925-223-8242  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<https://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

