

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

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2021 年 6 月 8 日 第 29 卷 第 11 期 (Volume 29 Number 11)



11 / 2021

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

2021年6月8日 第29卷 第11期 (总第679期)

述评

- 563 肝脏肿瘤体外培养模型的应用与研究进展
邢家利, 王禹歆, 杜顺达
- 571 腹泻与肠道乳糖酶活性的关系研究进展
吴仪, 谭周进

基础研究

- 577 *TACC3*基因在肝癌中的表达及其与患者的预后关系
邢国强, 运涛, 赵国刚
- 585 电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠的有益作用
王立明, 尚惺杰, 朱雅碧, 叶淑芳, 刘央央, 陈勇

临床研究

- 592 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌患者的临床效果及安全性分析
张炼, 钟津津, 许远, 张腮莉, 王磊, 徐晓翌
- 601 胶体金法检测粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin在大肠癌患者中的表达变化及临床意义分析
楼何飞, 马春梅, 傅英芝, 张术

文献综述

- 609 SAP早期预防性使用抗生素治疗的研究进展
何林, 孙昀
- 615 基于肠道微生态探源《黄帝内经》泄泻五脏论
李玉丽, 谭周进

消 息

- 570 《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
- 584 《世界华人消化杂志》正文要求
- 600 《世界华人消化杂志》栏目设置
- 608 《世界华人消化杂志》修回稿须知
- 614 《世界华人消化杂志》参考文献要求

封面故事

袁建业, 中医学博士, 研究员, 博士研究生导师, 美国纽约州立大学水牛城分校访问学者, 现任职于上海中医药大学附属龙华医院/上海中医药研究院脾胃病研究所, 兼任中国民族医药学会脾胃病分会常务理事, 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会慢性便秘专家委员会常务委员, 《世界华人消化杂志》、*World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*和*Frontiers in Pharmacology*编委等学术任职。主要从事中医药防治脾胃(消化)疾病的临床和基础研究, 先后主持国家自然科学基金项目3项, 上海市科委和上海市教委课题各1项; 以第一或通讯作者发表学术论文18篇, 其中SCI收录8篇, 参与完成的科研成果曾荣获上海市科技进步二等奖等奖励。

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 李香; 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 2021-06-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室
电话: +86-10-85381892

《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

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 29 Number 11 June 8, 2021

EDITORIAL

- 563 Application and research progress of *in vitro* liver cancer cell culture models
Xing JL, Wang YX, Du SD
- 571 Relationship between diarrhea and intestinal lactase activity
Wu Y, Tan ZJ

BASIC RESEARCH

- 577 Relationship of TACC3 gene expression with prognosis in hepatocellular carcinoma
Xing GQ, Yun T, Zhao GG
- 585 Electroacupuncture combined with Liumotang has beneficial effects on slow transit constipation in rats
Wang LM, Shang XJ, Zhu YB, Ye SF, Liu YY, Chen Y

CLINICAL RESEARCH

- 592 Clinical efficacy and safety of self-made Jiedu Kangai decoction combined with chemotherapy in treatment of patients with advanced colon cancer
Zhang L, Zhong JJ, Xu Y, Zhang SL, Wang L, Xu XY
- 601 Detection of TU M2PK, COX-2, and Vimentin expression in stool by colloidal gold method in patients with colorectal cancer and its clinical significance
Lou HF, Ma CM, Fu YZ, Zhang S

REVIEW

- 609 Advances in research of early use of prophylactic antibiotics in severe acute pancreatitis
He L, Sun Y
- 615 Discussion on the theory of treating diarrhea from five viscera in Huangdi Neijing based on intestinal microecology
Li YL, Tan ZJ

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 29 Number 11 June 8, 2021

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Jian-Ye Yuan, MD, Researcher, Institute of Digestive Diseases, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, No. 725 South Wanping Road, Xuhui District, Shanghai 200032, China. yuanjianye@hotmail.com

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang* Review Editor: *Yan-Liang Zhang*
Production Editor: *Yan-Liang Zhang* English Language Editor: *Tian-Qi Wang*
Proof Editor: *Xiang Li* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date June 8, 2021

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

Jin-Lei Wang, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2021 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.

肝脏肿瘤体外培养模型的应用与研究进展

邢家利, 王禹歆, 杜顺达

邢家利, 王禹歆, 杜顺达, 中国医学科学院北京协和医院肝脏外科 北京市 100730

邢家利, 硕士, 主要从事肝脏外科临床及基础方面的研究.

基金项目: 国家自然科学基金, No. 81972698; 湖北陈孝平科技发展基金会肝胆胰恶性肿瘤研究基金, No. CXPJJH11900001-2019215.

作者贡献分布: 本论文写作由邢家利和王禹歆完成, 杜顺达负责指导、审核.

通讯作者: 杜顺达, 教授, 主任医师, 100730, 北京市东城区帅府园1号, 中国医学科学院北京协和医院肝脏外科. shundadu@sina.com

收稿日期: 2021-03-03

修回日期: 2021-03-30

接受日期: 2021-04-22

在线出版日期: 2021-06-08

Application and research progress of *in vitro* liver cancer cell culture models

Jia-Li Xing, Yu-Xin Wang, Shun-Da Du

Jia-Li Xing, Yu-Xin Wang, Shun-Da Du, Department of Liver Surgery, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No.81972698; Hubei Chen Xiaoping Science and Technology Development Foundation Research Fund for Hepatobiliary and Pancreatic Malignant Tumors, No. CXPJJH11900001-2019215.

Corresponding author: Shun-Da Du, Professor, Chief Physician, Department of Liver Surgery, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, No. 1 Shuaifuyuan, Dongcheng District, Beijing 100730, China. shundadu@sina.com

Received: 2021-03-03

Revised: 2021-03-30

Accepted: 2021-04-22

Published online: 2021-06-08

Abstract

Liver cancer is gradually becoming an important burden

on public health around the world, and many drugs are currently available for the treatment of liver cancer, so the correct choice of drugs will significantly improve the prognosis of patients. *In vitro* liver cancer cell culture model is an important way to study the pathogenesis of liver cancer and drug screening. Long-term practice has proved that the traditional two-dimensional (2D) drug screening method cannot truly reproduce the complex drug resistance mechanism of tumor. The emergence of *in vitro* three-dimensional (3D) hepatocellular carcinoma cell model enriches the selection of methods for hepatoma experiments *in vitro*. The experimental sensitivity of hepatoma drugs *in vitro* and the study of pathology and physiology of hepatoma cells *in vitro* have also been greatly improved. In this paper, we review the main types of liver cancer cells cultured *in vitro* and discuss their advantages and disadvantages, in order to clarify the development and research direction of *in vitro* liver cancer culture models.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Source of liver cancer cells; 2D liver cancer cell culture; Organoid; Human tumor xenotransplantation model; 3D liver cancer cell culture; 3D bioprinting

Citation: Xing JL, Wang YX, Du SD. Application and research progress of *in vitro* liver cancer cell culture models. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(11): 563-570

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/563.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.563>

摘要

肝癌正逐渐成为世界各国公众健康的重要负担, 而各种抗癌药物在肝癌的治疗中扮演着重要的作用, 正确的选择药物, 将显著改善患者预后. 体外肝癌细胞培养模型是研究肝癌发病机制以及药物筛选的重要途径. 长期的实践证明传统的二维药物筛选方法

无法真实的再现肿瘤复杂的耐药机制, 三维体外肝癌细胞模型的出现丰富了肝癌体外实验的方法选择的同时, 在体外肝癌药物实验敏感性及肝癌细胞病理、生理学体外研究方面也带了较大提高. 本文回顾了现有不同类型的肝癌细胞体外培养的主要类型、讨论其各自存在的优势及缺陷, 以明确肝癌体外培养模型的发展和研究方向.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝癌细胞来源; 二维肝癌细胞培养; 类器官; 人源肿瘤异种移植模型; 三维肝癌细胞培养; 三维生物打印

核心提要: 肝癌细胞体外模型的应用与进展有助于更好探究肝癌的发生发展机制, 3D生物打印技术的出现为肝脏肿瘤的精准治疗和预后预测提供新方向和可能.

文献来源: 邢家利, 王禹韵, 杜顺达. 肝脏肿瘤体外培养模型的应用与研究进展. 世界华人消化杂志2021; 29(11): 563–570

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/563.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i11.563>

0 引言

肝癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 包括肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)、肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)以及混合型^[1]. 索拉非尼作为一线晚期肝癌治疗药物2007年上市, 随后仑伐替尼和二线瑞戈非尼也获得了批准, 给肝癌的药物治疗带来了希望. 然而, 临床实践显示它们的药物应答率较低, 仑伐替尼的客观应答率(objective response rate, ORR)为24%, 瑞戈非尼的ORR为11%, 索拉非尼的ORR仅为3%^[2-4]. 近年来, 免疫药物的出现, 再次给肝癌的治疗带来了曙光, 尤其是靶向药物和免疫药物的联合应用, 但有效性仍然有限^[5], 肝癌患者的5年生存率低于20%^[6]. 肝癌细胞耐药性的出现以及肿瘤微环境的复杂机制给肝癌的传统治疗带来了巨大挑战.

肿瘤细胞的耐药性机制十分复杂, 如肿瘤细胞可以通过上调细胞表面的药物转运体来增强自身的耐药性, 多药耐药(multi-drug resistance, MDR)基因可以编码多种多药耐药蛋白(MDR protein, MRP), 将不同种类的药物排出细胞^[7]. 此外, 肿瘤细胞还可以通过细胞周期机制^[8]、染色质修饰^[9]、表观遗传学改变^[10]、以及肿瘤干细胞^[11]等复杂机制产生耐药性. 同时, 肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中存在多种间质细胞及细胞因子成分, 机制复杂, 在肿瘤的生长、进展和耐药性方面扮演着重要的角色.

因此, 通过系统研究肝癌细胞微环境, 分析肝癌细

胞对不同抗癌药物反应, 以及寻找分子标志物, 发现新的治疗靶点等方法实现对肝癌患者的精准治疗是一项十分迫切的任务^[12]. 在研究肝癌发病机制和药物筛选时, 利用体外肝癌细胞模型系统对肝癌进行适当的建模是一种重要方式. 目前体外肝癌细胞培养模型构建主要采用包括2D细胞培养、类器官、人源肿瘤异种移植模型、三维细胞培养模型及3D生物打印模型等方法. 本文总结讨论了目前不同类型肝癌细胞体外培养模型的优势和局限性, 重点对3D细胞培养技术和3D生物打印技术进行了探讨, 以期明确肝癌体外培养模型的应用、将来的发展和研究方向.

1 体外培养肝癌细胞来源

1.1 细胞系源肝癌细胞 人肝癌细胞株是通过克隆培养法或通过筛选培养法从肝癌病理组织中分离出单细胞后, 由单个细胞不断分裂增殖形成的细胞群, 具有与原代组织极为相似的特性和人体完整的遗传基因, 并能稳定传代. 相较于人原代肝癌细胞, 具有来源方便、操作简单、条件可控和可重复等优点. 根据Cellosaurus数据库(2017-05-22; <http://web.Expasy.org/cellosaurus/>), 目前已有百余种肝癌细胞系; 但可用细胞系的数量受到肿瘤分离后细胞体外生长效率的限制, 目前已经发表的肝癌细胞系只有31种, 如HepG2、HepaRG等^[13]. 同时细胞系的使用可能受到细胞培养物与不同细胞系的其他细胞的污染的限制, 在Cellosaurus数据库中已经列出了几个受污染的或被错误识别的细胞系, 如BEL7402、SMMC7721和SKHEP1等^[14].

HepG2由Knowles等建系于1979年, 是一种肝母细胞瘤, 取自于一名高加索白人男性肝癌标本^[15]. HepG2细胞呈上皮样形态, 典型染色体数目为55个, 贴壁抱团生长, 生长较快, 传代周期为1-2 d^[16]. HepG2细胞具有低转移、裸鼠中成瘤率较差、AFP阳性等特点. 目前通过实验已证实, 该细胞系分化程度较高, 细胞里代谢酶的生物转化特性较完整, 不需加入外源性活化系统^[17], 常被用于体外肝细胞代谢或遗传毒性试验方面^[18]. 同HepG2细胞相比, HepaRG与人源原代肝细胞具有更多相似之处^[19]. 在体外细胞实验的培养皿中, HepaRG细胞较人源原代肝细胞具有更稳定的细胞表型^[20], 被视为人源原代肝细胞的最佳替代品^[21].

1.2 人源原代肝癌细胞 在体外细胞学实验中, HepG2及HepaRG等肝癌细胞系已得到了广泛的应用, 但细胞系细胞的表型与人源原代肝癌细胞之间存在有较多不同之处^[22]. 原代肝癌细胞取自肝癌患者手术切除病灶, 在体外消化离心后进行多维培养, 被视为体外肝癌细胞实验中金标准, 但在2D培养模式下, 肝癌细胞会较快发生去分化最终导致肝细胞功能缺失^[23]. 研究证明人源原

表 1 肝脏肿瘤体外培养模型

肝癌模型	细胞来源	方式	优点	局限性
2D细胞培养 ^[26,27]	细胞系	细胞培养皿	操作简单可行; 实时评估细胞存活和增殖情况	基因谱发生改变; 无法构建肿瘤微环境
类器官 ^[28,29]	细胞系/原代细胞	温敏性基底膜提取物、水溶胶	探究原肿瘤的组织学和生物学特征; 自发生长, 长期生长传代; 模拟复杂肿瘤微环境TME; 可开展个性化药物筛查	依赖于原始肿瘤的固有增殖能力; 细胞数量、大小和分布不均匀, 无法控制生长
异种移植 ^[30,31]	原代细胞/细胞系	移植	研究体内肿瘤生物学相互作用; 模拟肿瘤微环境; 长期培养; 个性化药筛, 直观展现抗肿瘤作用	动物自身免疫系统的干扰; 构建时间长, 存在随机性; 设施成本高和长期技能训练; 伦理学争议
3D细胞培养 ^[32,33]	原代细胞/细胞系	聚球体模型 ^[34]	较高组织化程度; 体外药物肝毒性测试	聚球体内肝癌细胞氧气或营养物质缺乏
		生物反应器 ^[35]	动态细胞培养微环境, 并可调控培养参数	需要生物反应器
		微流控芯片 ^[36]	流动状态三维培养建立细胞之间的联系, 并且形成外界化学刺激信号在三维结构细胞团内的梯度浓度分布	需要微流控设备; 难以长期保存培养基, 污染风险
3D生物打印 ^[37-39]	原代细胞/细胞系	生物墨水、3D打印机	保留原肿瘤的生物学和遗传学特征; 操作简单方便; 细胞密度和分布均匀; 能够长期生存传代; 能够个性化药筛, 直观显示抗肿瘤作用	器械昂贵; 打印过程机械剪切力造成细胞损伤

代肝癌细胞在3D细胞模型长期培养过程中具有稳定性, 能够稳定分泌如白蛋白、激素等重要分子物质^[24,25]。

2 二维肝癌细胞培养

二维肿瘤模型的研究已经为肿瘤细胞的增殖和其他致瘤表型提供了一些启示, 但二维模型早已被证明具有局限性(表1), 特别是在癌症机制的研究和抗癌药物的开发方面^[40,41]。首先, 在二维培养条件下, 肿瘤组织中细胞与细胞、细胞与细胞外基质(ECM)的相互作用以及局部缺氧微环境的特征难以模拟。其次, 传统的二维培养肝癌模型主要基于各种肝癌细胞系, 研究证明这些肝癌细胞系的基因表达模式发生了不可逆转的变化, 无法提供原始肿瘤的关键生物学特征^[26,42]。在药物筛选方面, 基于细胞系的二维体外肝癌模型已被广泛开展于肝癌药物的临床实验, 但细胞系由于存在基因漂变、部分细胞建系困难等因素影响而造成其实验结果在后续的动物实验中并不一定有效^[43]。虽然基于二维培养的体外药物筛选具备可进行高通量筛选、便捷的巨大优势, 但极低的有效率却增加了药物筛选成本, 使其逐渐被人源肿瘤异种移植模型所替代。

3 人源肝癌异种移植模型

移植性肝癌小鼠模型是指将肝癌细胞株或人源肝癌组织块移植到小鼠体内形成的动物模型, 主要分为两种, 一种是将肝癌细胞系(HepG2、HuH7等)接种到免疫缺陷小鼠体内, 称为CDX模型(cell-line-derived xenograft), 另一种是将来源于患者的肝癌组织块接种到免疫缺陷

小鼠体内, 称为PDX模型(patient-derived xenograft)。相较于直接将细胞系移植到裸鼠体内的CDX技术, PDX模型由于直接来源于患者, 不会如细胞系一般丧失异质性和产生遗传漂变, 故能够更好的保持原有的肿瘤形态、转移特点、突变谱及药物反应^[44]。肝癌的PDX模型已应用于药物筛选、药效评价、肝癌的发生发展等多个方面^[45]。Jiang等人^[46]利用肝癌PDX模型发现GPC3-CART细胞能有效清除PDX中的肿瘤, GPC3-CART细胞有望成为肝癌的候选治疗方式。Wang等人^[47]在PDX肝癌模型的基础上, 利用纳米载体将siRNA转移到肝癌细胞中, 与肿瘤特异性结合, 显著抑制Luc基因的表达, 为肝癌的治疗提供了新的方向。

但PDX模型也有其固有的缺陷: 一是其作为动物模型, 将人源肿瘤接种到小鼠上培养会受到宿主动物的一定干扰, 导致药物反应性最终出现差异^[48]; 二是将人源原代肿瘤组织培养至可进行体外实验的数量需要耗费数月的时间且代价高昂^[49,50]。近年来, 具有人类免疫系统的人源化PDX小鼠模型正在开发和应用^[51]。未来如何提高皮下移植瘤的微环境相似性, 提高肝内移植的成功率, 将是建立肝癌PDX模型的重要研究方向。

4 肝癌类器官构建

类器官技术是一种基于基质胶的体外三维培养技术, 最初被应用于体外干细胞诱导分化为组织器官的研究, 近年来被广泛应用于构建肿瘤类器官。肿瘤类器官能够很好保留亲代肿瘤的组织学特性、突变谱以及药物反应特点^[52], 同PDX模型相比, 构建时间也更短。肝癌类器官

已广泛应用于肿瘤发生发展机制、肿瘤干细胞和个体化药物筛选等方面。Broutier等人^[28]在培养肝癌类器官时发现低分化肝癌的器官培养成功率接近100%, 但所有高分化肝癌均未成功培养成功, 肿瘤类器官的培养则取决于肿瘤干细胞的干性。Zheng等人^[53]通过对肝癌不同细胞亚群的单细胞基因组测序发现, 肿瘤干细胞的异质性会导致肿瘤的异质性, 因此类肿瘤器官是研究肝癌干性的有力工具。寻找肝癌干细胞的靶点开发靶向药物有望成为肝癌治疗的有效手段。

但肿瘤类器官技术在应用上仍有诸多局限性: 一是需要加入大量成分复杂、昂贵的细胞因子用以维持类器官自身的肿瘤微环境; 二是体外肿瘤类器官的构建成功率取决于肿瘤自身的增殖能力, 如肝细胞肝癌等增殖率较低的肿瘤在体外构建类器官的成功率很低^[28], 这使得肿瘤类器官技术的应用面不如PDX模型广泛^[54]。近年来基于同样取材方案的肿瘤类器官技术通过三维培养基质作为载体, 供给复杂的生长因子用以模拟微环境, 成功的构建出体外肿瘤模型, 具备相当高的肿瘤同源性和药物反应相似度^[52]。在未来的研究中, 类器官若能与液态活检相结合, 可能有助于更全面、更准确地探讨肝癌的异质性, 分析不同肝癌细胞亚群协同作用导致肿瘤耐药的分子机制。同时, 利用类肿瘤器官寻找肿瘤特异性抗原, 探索突破肿瘤免疫抑制微环境, 或利用类器官作为预测疗效的工具, 在免疫治疗方面具有很好的应用前景。

5 三维肝癌细胞培养

随着类器官技术在多种肿瘤模型构建中得到成功应用, 研究者已经普遍认为三维体系下的细胞培养能够更好的反映肿瘤异质性、突变谱和药物反应性^[52]。三维培养下的细胞能够在空间中立体分布, 这为细胞因子、趋化因子的不同分布提供了前提条件^[55]。相关研究已经证实肿瘤细胞在三维培养环境下能够通过上调多重耐药基因来增强自身的药物抵抗性^[56]。

目前多种三维培养技术已被用于三维体外肝癌模型的构建, 如聚球体模型、生物反应器、微制造技术相关3D肝癌细胞模型等。肝癌细胞聚球体培养模型是由肝癌细胞在一定的微环境中自组装而成, 聚集体模型中肝癌细胞存活时间明显延长^[57]。Jung等人^[34]使用Huh7肝癌细胞系设计了一种肝癌细胞球体方案, 在球体内加入人脐静脉内皮细胞(HUVECs)进行共培养, 与单层细胞相比, 含有HUVECs的Huh7细胞球体在更高浓度的抗癌药物(阿霉素和索拉非尼)中存活。和聚球体模型相比, 生物反应器可以为培养的细胞提供三维动态细胞培养微环境, 有效改善长期培养中的细胞间的物质交换^[58,59]。

Štampar等人^[35]建立了一种利用动态回转器生物反应器系统对人肝癌细胞(HepG2/C3A)球体进行遗传毒性测试的方法, 将间接作用的遗传毒性化合物和杂环芳胺以非细胞毒性浓度暴露于球体, 测定DNA链断裂水平和DNA损伤反应基因的mRNA水平。与单层培养相比, 在生物反应器条件下生长的HepG2/C3A球体的模型表现出更高的代谢酶编码基因的基础表达^[35]。微流控芯片主要基于微流体控制技术构建, 相较生物反应器而言, 微流控芯片能够实现简便高效的三维培养, 建立细胞之间的联系, 并且形成外界化学刺激信号在三维结构细胞团内的梯度浓度分布^[60,61]。Zhang等人^[36]基于肝癌细胞膜上表达的去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)与其配体的相互作用, 开发一种微流控装置芯片捕获循环肿瘤细胞(CTCs), 获利于微流体通道的小尺寸和微流体通道与细胞外延伸之间增强的局部地形相互作用, CTC血样的捕获率可达85%以上, 并且可以有效地测试释放的CTCs对化疗药物(索拉非尼或奥沙利铂)的敏感性。随着不同类型三维肝癌细胞模型的出现, 它将更多地应用于药物敏感性和药物代谢分析、肝毒性预测、肝癌干细胞研究等领域。

6 三维肝癌细胞生物打印

近些年, 随着3D打印技术的使用范围从无机材料向生命体扩大的同时, 一种全新优化的体外肝癌细胞3D培养方式也随之而来。3D生物打印是一项新兴的技术, 它使细胞和ECM材料能够直接组装成具有预先设计的几何和结构的复杂组织状结构^[62,63]。目前已经实现体外打印肺泡^[64]、心脏^[65]和血管^[66]等复杂结构。三维生物打印体借助精密工程学仪器的帮助, 控制各个细胞成分的三维位置, 从而还原组织中不同细胞具备不同分布的特点, 达到模拟体内微环境的目的。

为了建立有效的3D生物打印模型, 需要解决两个关键问题, 即生物墨水和细胞。生物墨水是提供样品可打印性的重要组成部分^[67], 同时也提供了基于生物材料使用的模拟活体微环境。除了细胞和信号分子外, 肿瘤微环境主要由细胞外基质物质组成, 包括多糖、蛋白质和蛋白多糖。这些物质构成了一个复杂的网络结构, 支持和连接肿瘤组织结构, 并调节肿瘤的发生和生理活动^[68]。

近来, 已有研究者利用3D生物打印技术来更长时间的保持细胞活性及功能^[69]。Nakao等人利用生物打印机制造出与肝索结构相似的名“Canaliculi”的结构, 并将原代肝细胞及“Canaliculi”结构在胶原蛋白基质下培养, 在后期的检测过程中, 他们发现肝细胞的功能可维持长达4周时间。Chang等人^[70]已经成功尝试利用多层组织模型应用在3D肝脏模型中, 这种多层次组织中

包含了鼠和人的肝脏细胞, 并且可以利用这种结构进行药物毒理实验以及其他医学和生物学研究。Yang等人^[37]利用HepaRG细胞和生物墨水构建3D生物打印肝器官, 将其移植到肝衰竭小鼠体内, 3D生物打印模型具有体内肝功能并显著提高了小鼠的存活率。Xie等人^[38]采取6例肝癌患者原代肝癌细胞与明胶、海藻酸钠混合制成生物墨水进行打印, 成功构建三维生物肝癌模型。此模型保留了亲本肝癌的特征, 包括生物标记物的稳定表达, 基因改变和表达谱的稳定维持, 并且能够直观、定量地显示抗癌药物筛选结果。

三维生物打印相对于三维培养也有其固有的劣势。不论是常见机械挤出式打印机, 还是光固化等多种新形式的打印机, 应用打印技术将细胞构建成特定模型是一个需要大量前期工作, 且实际操作时耗时也较长的过程, 而细胞长期处于离开培养基的生物墨水中也会影响其功能。此外, 挤出式打印机的机械压迫也会造成细胞损伤。这使得部分脆弱的原代细胞在打印后短时间就会死亡, 无法成功构建模型。这有赖于生物材料和机械工程技术的进一步发展。3D生物打印目前仍处于初步发展阶段, 随着打印程序、生物墨水配置、打印模型的不断优化, 由肝癌细胞和间质细胞, 如内皮细胞、免疫细胞和成纤维细胞等其他细胞成分, 组成的多细胞打印模型有助于探索肝癌的微环境与异质性, 以及扩大不同抗肝癌药物敏感实验的筛选范围。目前我们主要通过评估肝癌细胞功能基因表达来比较3D打印模型生物学特性, 未来可借助分析模型中肝癌细胞侵袭和转移等生物学表型来重建肿瘤转移环境。

7 结论

近些年, 随着人们对于体外培养肝癌细胞的微环境、细胞-细胞和细胞-细胞外基质之间作用和体外肝癌细胞培养灌流的深入研究, 越来越多的肝癌细胞体外实验模型得到逐步应用。体外培养模型的最终目标, 是可以广泛应用于肝脏疾病的研究, 包括药物代谢及分子学领域, 并且性能稳定。2D细胞培养、类器官、异种移植、微流体芯片等模型在肝癌个性化治疗研究方面取得了较多进展, 和其他技术的应用, 将会扩大其应用前景; 但高度依赖肿瘤细胞增殖能力、基因表达在培养过程中的改变、操作耗时长等因素在一定程度上限制了其转化应用于大规模研究的可能。就目前而言, 随着3D体外培养技术的成熟和发展, 其将会在体外实验领域会更加深入, 在器官移植、终末期肝病和肝脏肿瘤精准个体化治疗等临床应用方面也将会起到不可替代的作用。

8 参考文献

1 Villanueva A. Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med* 2019;

- 2 Bruix J, Qin S, Merle P, Granito A, Huang YH, Bodoky G, Pracht M, Yokosuka O, Rosmorduc O, Breder V, Gerolami R, Masi G, Ross PJ, Song T, Bronowicki JP, Ollivier-Hourmand I, Kudo M, Cheng AL, Llovet JM, Finn RS, LeBerre MA, Baumhauer A, Meinhardt G, Han G; RESORCE Investigators. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2017; 389: 56-66 [PMID: 27932229 DOI: 10.1016/s0140-6736(16)32453-9]
- 3 Kudo M, Finn RS, Qin S, Han KH, Ikeda K, Piscaglia F, Baron A, Park JW, Han G, Jassem J, Blanc JF, Vogel A, Komov D, Evans TRJ, Lopez C, Dutcus C, Guo M, Saito K, Kraljevic S, Tamai T, Ren M, Cheng AL. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2018; 391: 1163-1173 [PMID: 29433850 DOI: 10.1016/s0140-6736(18)30207-1]
- 4 Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, de Oliveira AC, Santoro A, Raoul JL, Forner A, Schwartz M, Porta C, Zeuzem S, Bolondi L, Greten TF, Galle PR, Seitz JF, Borbath I, Häussinger D, Giannaris T, Shan M, Moscovici M, Voliotis D, Bruix J; SHARP Investigators Study Group. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008; 359: 378-390 [PMID: 18650514 DOI: 10.1056/NEJMoa0708857]
- 5 Anwanwan D, Singh SK, Singh S, Saikam V, Singh R. Challenges in liver cancer and possible treatment approaches. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2020; 1873: 188314 [PMID: 31682895 DOI: 10.1016/j.bbcan.2019.188314]
- 6 Zeng H, Chen W, Zheng R, Zhang S, Ji JS, Zou X, Xia C, Sun K, Yang Z, Li H, Wang N, Han R, Liu S, Li H, Mu H, He Y, Xu Y, Fu Z, Zhou Y, Jiang J, Yang Y, Chen J, Wei K, Fan D, Wang J, Fu F, Zhao D, Song G, Chen J, Jiang C, Zhou X, Gu X, Jin F, Li Q, Li Y, Wu T, Yan C, Dong J, Hua Z, Baade P, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Changing cancer survival in China during 2003-15: a pooled analysis of 17 population-based cancer registries. *Lancet Glob Health* 2018; 6: e555-e567 [PMID: 29653628 DOI: 10.1016/s2214-109x(18)30127-x]
- 7 Pajic M, Iyer JK, Kersbergen A, van der Burg E, Nygren AO, Jonkers J, Borst P, Rottenberg S. Moderate increase in Mdr1a/1b expression causes in vivo resistance to doxorubicin in a mouse model for hereditary breast cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 6396-6404 [PMID: 19654309 DOI: 10.1158/0008-5472.can-09-0041]
- 8 Stewart DJ, Chiritescu G, Dahrouge S, Banerjee S, Tomiak EM. Chemotherapy dose-response relationships in non-small cell lung cancer and implied resistance mechanisms. *Cancer Treat Rev* 2007; 33: 101-137 [PMID: 17276603 DOI: 10.1016/j.ctrv.2006.12.002]
- 9 Sharma SV, Lee DY, Li B, Quinlan MP, Takahashi F, Maheswaran S, McDermott U, Azizian N, Zou L, Fischbach MA, Wong KK, Brandstetter K, Wittner B, Ramaswamy S, Classon M, Settleman J. A chromatin-mediated reversible drug-tolerant state in cancer cell subpopulations. *Cell* 2010; 141: 69-80 [PMID: 20371346 DOI: 10.1016/j.cell.2010.02.027]
- 10 Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med* 2008; 358: 1148-1159 [PMID: 18337604 DOI: 10.1056/NEJMra072067]
- 11 Clevers H. The cancer stem cell: premises, promises and challenges. *Nat Med* 2011; 17: 313-319 [PMID: 21386835 DOI: 10.1038/nm.2304]
- 12 Zucman-Rossi J, Villanueva A, Nault JC, Llovet JM. Genetic Landscape and Biomarkers of Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology* 2015; 149: 1226-1239.e4 [PMID: 26099527 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.05.061]
- 13 Qiu Z, Li H, Zhang Z, Zhu Z, He S, Wang X, Wang P, Qin J, Zhuang L, Wang W, Xie F, Gu Y, Zou K, Li C, Li C, Wang C, Cen J, Chen X, Shu Y, Zhang Z, Sun L, Min L, Fu Y, Huang

- X, Lv H, Zhou H, Ji Y, Zhang Z, Meng Z, Shi X, Zhang H, Li Y, Hui L. A Pharmacogenomic Landscape in Human Liver Cancers. *Cancer Cell* 2019; 36: 179-193.e11 [PMID: 31378681 DOI: 10.1016/j.ccell.2019.07.001]
- 14 Rebouissou S, Zucman-Rossi J, Moreau R, Qiu Z, Hui L. Note of caution: Contaminations of hepatocellular cell lines. *J Hepatol* 2017; 67: 896-897 [PMID: 28807831 DOI: 10.1016/j.jhep.2017.08.002]
- 15 Hewitt NJ, Hewitt P. Phase I and II enzyme characterization of two sources of HepG2 cell lines. *Xenobiotica* 2004; 34: 243-256 [PMID: 15204697 DOI: 10.1080/00498250310001657568]
- 16 Westerink WM, Schoonen WG. Phase II enzyme levels in HepG2 cells and cryopreserved primary human hepatocytes and their induction in HepG2 cells. *Toxicol In vitro* 2007; 21: 1592-1602 [PMID: 17716855 DOI: 10.1016/j.tiv.2007.06.017]
- 17 Westerink WM, Schoonen WG. Cytochrome P450 enzyme levels in HepG2 cells and cryopreserved primary human hepatocytes and their induction in HepG2 cells. *Toxicol In vitro* 2007; 21: 1581-1591 [PMID: 17637504 DOI: 10.1016/j.tiv.2007.05.014]
- 18 Yokoyama Y, Sasaki Y, Terasaki N, Kawataki T, Takekawa K, Iwase Y, Shimizu T, Sanoh S, Ohta S. Comparison of Drug Metabolism and Its Related Hepatotoxic Effects in HepaRG, Cryopreserved Human Hepatocytes, and HepG2 Cell Cultures. *Biol Pharm Bull* 2018; 41: 722-732 [PMID: 29445054 DOI: 10.1248/bpb.b17-00913]
- 19 Aninat C, Piton A, Glaise D, Le Charpentier T, Langouët S, Morel F, Guguen-Guillouzo C, Guillouzo A. Expression of cytochromes P450, conjugating enzymes and nuclear receptors in human hepatoma HepaRG cells. *Drug Metab Dispos* 2006; 34: 75-83 [PMID: 16204462 DOI: 10.1124/dmd.105.006759]
- 20 Lübberstedt M, Müller-Vieira U, Mayer M, Biemel KM, Knöspel F, Knobloch D, Nüssler AK, Gerlach JC, Zeilinger K. HepaRG human hepatic cell line utility as a surrogate for primary human hepatocytes in drug metabolism assessment in vitro. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2011; 63: 59-68 [PMID: 20460162 DOI: 10.1016/j.vascn.2010.04.013]
- 21 Andersson TB, Kanebratt KP, Kenna JG. The HepaRG cell line: a unique in vitro tool for understanding drug metabolism and toxicology in human. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2012; 8: 909-920 [PMID: 22568886 DOI: 10.1517/17425255.2012.685159]
- 22 Rodríguez-Antona C, Donato MT, Boobis A, Edwards RJ, Watts PS, Castell JV, Gómez-Lechón MJ. Cytochrome P450 expression in human hepatocytes and hepatoma cell lines: molecular mechanisms that determine lower expression in cultured cells. *Xenobiotica* 2002; 32: 505-520 [PMID: 12160483 DOI: 10.1080/00498250210128675]
- 23 Rowe C, Gerrard DT, Jenkins R, Berry A, Durkin K, Sundstrom L, Goldring CE, Park BK, Kitteringham NR, Hanley KP, Hanley NA. Proteome-wide analyses of human hepatocytes during differentiation and dedifferentiation. *Hepatology* 2013; 58: 799-809 [PMID: 23526496 DOI: 10.1002/hep.26414]
- 24 Tostões RM, Leite SB, Serra M, Jensen J, Björquist P, Carrondo MJ, Brito C, Alves PM. Human liver cell spheroids in extended perfusion bioreactor culture for repeated-dose drug testing. *Hepatology* 2012; 55: 1227-1236 [PMID: 22031499 DOI: 10.1002/hep.24760]
- 25 Ohkura T, Ohta K, Nagao T, Kusumoto K, Koeda A, Ueda T, Jomura T, Ikei Y, Ozeki E, Wada K, Naitoh K, Inoue Y, Takahashi N, Iwai H, Arakawa H, Ogihara T. Evaluation of human hepatocytes cultured by three-dimensional spheroid systems for drug metabolism. *Drug Metab Pharmacokinet* 2014; 29: 373-378 [PMID: 24695277 DOI: 10.2133/dmpk.dmpk-13-rg-105]
- 26 Wang W, Iyer NG, Tay HT, Wu Y, Lim TK, Zheng L, Song IC, Kwok CK, Huynh H, Tan PO, Chow PK. Microarray profiling shows distinct differences between primary tumors and commonly used preclinical models in hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer* 2015; 15: 828 [PMID: 26520397 DOI: 10.1186/s12885-015-1814-8]
- 27 Gao Q, Wang ZC, Duan M, Lin YH, Zhou XY, Worthley DL, Wang XY, Niu G, Xia Y, Deng M, Liu LZ, Shi JY, Yang LX, Zhang S, Ding ZB, Zhou J, Liang CM, Cao Y, Xiong L, Xi R, Shi YY, Fan J. Cell Culture System for Analysis of Genetic Heterogeneity Within Hepatocellular Carcinomas and Response to Pharmacologic Agents. *Gastroenterology* 2017; 152: 232-242.e4 [PMID: 27639803 DOI: 10.1053/j.gastro.2016.09.008]
- 28 Broutier L, Mastrogiovanni G, Versteegen MM, Francies HE, Gavarró LM, Bradshaw CR, Allen GE, Arnes-Benito R, Sidorova O, Gaspersz MP, Georgakopoulos N, Koo BK, Dietmann S, Davies SE, Praseedom RK, Lieshout R, IJzermans JNM, Wigmore SJ, Saeb-Parsy K, Garnett MJ, van der Laan LJ, Huch M. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening. *Nat Med* 2017; 23: 1424-1435 [PMID: 29131160 DOI: 10.1038/nm.4438]
- 29 Nuciforo S, Fofana I, Matter MS, Blumer T, Calabrese D, Boldanova T, Piscuoglio S, Wieland S, Ringnald F, Schwank G, Terracciano LM, Ng CKY, Heim MH. Organoid Models of Human Liver Cancers Derived from Tumor Needle Biopsies. *Cell Rep* 2018; 24: 1363-1376 [PMID: 30067989 DOI: 10.1016/j.celrep.2018.07.001]
- 30 Nazzari M, Sur S, Steele R, Khatun M, Patra T, Phillips N, Long J, Ray R, Ray RB. Establishment of a Patient-Derived Xenograft Tumor From Hepatitis C-Associated Liver Cancer and Evaluation of Imatinib Treatment Efficacy. *Hepatology* 2020; 72: 379-388 [PMID: 32356575 DOI: 10.1002/hep.31298]
- 31 Wu Y, Wang J, Zheng X, Chen Y, Huang M, Huang Q, Xiao W, Wei H, Tian Z, Sun R, Sun C. Establishment and Preclinical Therapy of Patient-derived Hepatocellular Carcinoma Xenograft Model. *Immunol Lett* 2020; 223: 33-43 [PMID: 32335145 DOI: 10.1016/j.imlet.2020.04.009]
- 32 Aref AR, Campisi M, Ivanova E, Portell A, Larios D, Piel BP, Mathur N, Zhou C, Coakley RV, Bartels A, Bowden M, Herbert Z, Hill S, Gilhooley S, Carter J, Cañadas I, Thai TC, Kitajima S, Chiono V, Paweletz CP, Barbie DA, Kamm RD, Jenkins RW. 3D microfluidic ex vivo culture of organotypic tumor spheroids to model immune checkpoint blockade. *Lab Chip* 2018; 18: 3129-3143 [PMID: 30183789 DOI: 10.1039/c8lc00322j]
- 33 Carvalho MR, Lima D, Reis RL, Correlo VM, Oliveira JM. Evaluating Biomaterial- and Microfluidic-Based 3D Tumor Models. *Trends Biotechnol* 2015; 33: 667-678 [PMID: 26603572 DOI: 10.1016/j.tibtech.2015.09.009]
- 34 Jung HR, Kang HM, Ryu JW, Kim DS, Noh KH, Kim ES, Lee HJ, Chung KS, Cho HS, Kim NS, Im DS, Lim JH, Jung CR. Cell Spheroids with Enhanced Aggressiveness to Mimic Human Liver Cancer In vitro and In Vivo. *Sci Rep* 2017; 7: 10499 [PMID: 28874716 DOI: 10.1038/s41598-017-10828-7]
- 35 Štampar M, Sedighi Frandsen H, Rogowska-Wrzesinska A, Wrzesinski K, Filipič M, Žegura B. Hepatocellular carcinoma (HepG2/C3A) cell-based 3D model for genotoxicity testing of chemicals. *Sci Total Environ* 2021; 755: 143255 [PMID: 33187710 DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.143255]
- 36 Zhang Y, Zhang X, Zhang J, Sun B, Zheng L, Li J, Liu S, Sui G, Yin Z. Microfluidic chip for isolation of viable circulating tumor cells of hepatocellular carcinoma for their culture and drug sensitivity assay. *Cancer Biol Ther* 2016; 17: 1177-1187 [PMID: 27662377 DOI: 10.1080/15384047.2016.1235665]
- 37 Yang H, Sun L, Pang Y, Hu D, Xu H, Mao S, Peng W, Wang Y, Xu Y, Zheng YC, Du S, Zhao H, Chi T, Lu X, Sang X, Zhong S, Wang X, Zhang H, Huang P, Sun W, Mao Y. Three-dimensional bioprinted hepatorganoids prolong survival of mice with liver failure. *Gut* 2021; 70: 567-574 [PMID: 32434830]

- DOI: 10.1136/gutjnl-2019-319960]
- 38 Xie F, Sun L, Pang Y, Xu G, Jin B, Xu H, Lu X, Xu Y, Du S, Wang Y, Feng S, Sang X, Zhong S, Wang X, Sun W, Zhao H, Zhang H, Yang H, Huang P, Mao Y. Three-dimensional bio-printing of primary human hepatocellular carcinoma for personalized medicine. *Biomaterials* 2021; 265: 120416 [PMID: 33007612 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2020.120416]
 - 39 Mao S, He J, Zhao Y, Liu T, Xie F, Yang H, Mao Y, Pang Y, Sun W. Bioprinting of patient-derived in vitro intrahepatic cholangiocarcinoma tumor model: establishment, evaluation and anti-cancer drug testing. *Biofabrication* 2020; 12: 045014 [PMID: 32599574 DOI: 10.1088/1758-5090/aba0c3]
 - 40 Imamura Y, Mukohara T, Shimono Y, Funakoshi Y, Chayahara N, Toyoda M, Kiyota N, Takao S, Kono S, Nakatsura T, Minami H. Comparison of 2D- and 3D-culture models as drug-testing platforms in breast cancer. *Oncol Rep* 2015; 33: 1837-1843 [PMID: 25634491 DOI: 10.3892/or.2015.3767]
 - 41 Peng W, Datta P, Ayan B, Ozbolat V, Sosnoski D, Ozbolat IT. 3D bioprinting for drug discovery and development in pharmaceuticals. *Acta Biomater* 2017; 57: 26-46 [PMID: 28501712 DOI: 10.1016/j.actbio.2017.05.025]
 - 42 Ledford H. US cancer institute to overhaul tumour cell lines. *Nature* 2016; 530: 391 [PMID: 26911756 DOI: 10.1038/nature.2016.19364]
 - 43 Masters JR. Human cancer cell lines: fact and fantasy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000; 1: 233-236 [PMID: 11252900 DOI: 10.1038/35043102]
 - 44 Stewart E, Federico SM, Chen X, Shelat AA, Bradley C, Gordon B, Karlstrom A, Twarog NR, Clay MR, Bahrami A, Freeman BB 3rd, Xu B, Zhou X, Wu J, Honnell V, Ocarz M, Blankenship K, Dapper J, Mardis ER, Wilson RK, Downing J, Zhang J, Easton J, Pappo A, Dyer MA. Orthotopic patient-derived xenografts of paediatric solid tumours. *Nature* 2017; 549: 96-100 [PMID: 28854174 DOI: 10.1038/nature23647]
 - 45 Huynh H, Soo KC, Chow PK, Panasci L, Tran E. Xenografts of human hepatocellular carcinoma: a useful model for testing drugs. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 4306-4314 [PMID: 16857806 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-05-2568]
 - 46 Jiang Z, Jiang X, Chen S, Lai Y, Wei X, Li B, Lin S, Wang S, Wu Q, Liang Q, Liu Q, Peng M, Yu F, Weng J, Du X, Pei D, Liu P, Yao Y, Xue P, Li P. Anti-GPC3-CAR T Cells Suppress the Growth of Tumor Cells in Patient-Derived Xenografts of Hepatocellular Carcinoma. *Front Immunol* 2016; 7: 690 [PMID: 28123387 DOI: 10.3389/fimmu.2016.00690]
 - 47 Wang K, Kievit FM, Sham JG, Jeon M, Stephen ZR, Bakthavatsalam A, Park JO, Zhang M. Iron-Oxide-Based Nanovector for Tumor Targeted siRNA Delivery in an Orthotopic Hepatocellular Carcinoma Xenograft Mouse Model. *Small* 2016; 12: 477-487 [PMID: 26641029 DOI: 10.1002/smll.201501985]
 - 48 Tentler JJ, Tan AC, Weekes CD, Jimeno A, Leong S, Pitts TM, Arcaroli JJ, Messersmith WA, Eckhardt SG. Patient-derived tumour xenografts as models for oncology drug development. *Nat Rev Clin Oncol* 2012; 9: 338-350 [PMID: 22508028 DOI: 10.1038/nrclinonc.2012.61]
 - 49 Mak IW, Evaniew N, Ghert M. Lost in translation: animal models and clinical trials in cancer treatment. *Am J Transl Res* 2014; 6: 114-118 [PMID: 24489990]
 - 50 McGonigle P, Ruggeri B. Animal models of human disease: challenges in enabling translation. *Biochem Pharmacol* 2014; 87: 162-171 [PMID: 23954708 DOI: 10.1016/j.bcp.2013.08.006]
 - 51 Khalil DN, Smith EL, Brentjens RJ, Wolchok JD. The future of cancer treatment: immunomodulation, CARs and combination immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol* 2016; 13: 273-290 [PMID: 26977780 DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.25]
 - 52 Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, Jamin Y, Fernández-Mateos J, Khan K, Lampis A, Eason K, Huntingford I, Burke R, Rata M, Koh DM, Tunariu N, Collins D, Hulkki-Wilson S, Ragulan C, Spiteri I, Moorcraft SY, Chau I, Rao S, Watkins D, Fotiadis N, Bali M, Darvish-Damavandi M, Lote H, Eltahir Z, Smyth EC, Begum R, Clarke PA, Hahne JC, Dowsett M, de Bono J, Workman P, Sadanandam A, Fissan M, Sansom OJ, Eccles S, Starling N, Braconi C, Sottoriva A, Robinson SP, Cunningham D, Valeri N. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science* 2018; 359: 920-926 [PMID: 29472484 DOI: 10.1126/science.aao2774]
 - 53 Zheng H, Pomyen Y, Hernandez MO, Li C, Livak F, Tang W, Dang H, Greten TF, Davis JL, Zhao Y, Mehta M, Levin Y, Shetty J, Tran B, Budhu A, Wang XW. Single-cell analysis reveals cancer stem cell heterogeneity in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2018; 68: 127-140 [PMID: 29315726 DOI: 10.1002/hep.29778]
 - 54 Weeber F, Ooft SN, Dijkstra KK, Voest EE. Tumor Organoids as a Pre-clinical Cancer Model for Drug Discovery. *Cell Chem Biol* 2017; 24: 1092-1100 [PMID: 28757181 DOI: 10.1016/j.chembiol.2017.06.012]
 - 55 Wyckoff J, Wang W, Lin EY, Wang Y, Pixley F, Stanley ER, Graf T, Pollard JW, Segall J, Condeelis J. A paracrine loop between tumor cells and macrophages is required for tumor cell migration in mammary tumors. *Cancer Res* 2004; 64: 7022-7029 [PMID: 15466195 DOI: 10.1158/0008-5472.can-04-1449]
 - 56 Xu X, Farach-Carson MC, Jia X. Three-dimensional in vitro tumor models for cancer research and drug evaluation. *Biotechnol Adv* 2014; 32: 1256-1268 [PMID: 25116894 DOI: 10.1016/j.biotechadv.2014.07.009]
 - 57 Wu FJ, Friend JR, Rimmel RP, Cerra FB, Hu WS. Enhanced cytochrome P450 1A1 activity of self-assembled rat hepatocyte spheroids. *Cell Transplant* 1999; 8: 233-246 [PMID: 10442736 DOI: 10.1177/096368979900800304]
 - 58 Martin Y, Vermette P. Bioreactors for tissue mass culture: design, characterization, and recent advances. *Biomaterials* 2005; 26: 7481-7503 [PMID: 16023202 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2005.05.057]
 - 59 Freed LE, Guilak F, Guo XE, Gray ML, Tranquillo R, Holmes JW, Radisic M, Sefton MV, Kaplan D, Vunjak-Novakovic G. Advanced tools for tissue engineering: scaffolds, bioreactors, and signaling. *Tissue Eng* 2006; 12: 3285-3305 [PMID: 17518670 DOI: 10.1089/ten.2006.12.3285]
 - 60 Nevill JT, Cooper R, Dueck M, Breslauer DN, Lee LP. Integrated microfluidic cell culture and lysis on a chip. *Lab Chip* 2007; 7: 1689-1695 [PMID: 18030388 DOI: 10.1039/b711874k]
 - 61 Srinivasan V, Pamula VK, Fair RB. An integrated digital microfluidic lab-on-a-chip for clinical diagnostics on human physiological fluids. *Lab Chip* 2004; 4: 310-315 [PMID: 15269796 DOI: 10.1039/b403341h]
 - 62 Ouyang L, Yao R, Mao S, Chen X, Na J, Sun W. Three-dimensional bioprinting of embryonic stem cells directs highly uniform embryoid body formation. *Biofabrication* 2015; 7: 044101 [PMID: 26531008 DOI: 10.1088/1758-5090/7/4/044101]
 - 63 Wüst S, Müller R, Hofmann S. Controlled Positioning of Cells in Biomaterials-Approaches Towards 3D Tissue Printing. *J Funct Biomater* 2011; 2: 119-154 [PMID: 24956301 DOI: 10.3390/jfb2030119]
 - 64 Grigoryan B, Paulsen SJ, Corbett DC, Sazer DW, Fortin CL, Zaita AJ, Greenfield PT, Calafat NJ, Gounley JP, Ta AH, Johansson F, Randles A, Rosenkrantz JE, Louis-Rosenberg JD, Galie PA, Stevens KR, Miller JS. Multivascular networks and functional intravascular topologies within biocompatible hydrogels. *Science* 2019; 364: 458-464 [PMID: 31048486 DOI: 10.1126/science.aav9750]
 - 65 Lee A, Hudson AR, Shiowski DJ, Tashman JW, Hinton TJ, Yerneni S, Bliley JM, Campbell PG, Feinberg AW. 3D bioprinting of collagen to rebuild components of the human

- heart. *Science* 2019; 365: 482-487 [PMID: 31371612 DOI: 10.1126/science.aav9051]
- 66 Skylar-Scott MA, Uzel SGM, Nam LL, Ahrens JH, Truby RL, Damaraju S, Lewis JA. Biomanufacturing of organ-specific tissues with high cellular density and embedded vascular channels. *Sci Adv* 2019; 5: eaaw2459 [PMID: 31523707 DOI: 10.1126/sciadv.aaw2459]
- 67 Ouyang L, Highley CB, Sun W, Burdick JA. A Generalizable Strategy for the 3D Bioprinting of Hydrogels from Nonviscous Photo-crosslinkable Inks. *Adv Mater* 2017; 29 [PMID: 27982464 DOI: 10.1002/adma.201604983]
- 68 Peela N, Truong D, Saini H, Chu H, Mashaghi S, Ham SL, Singh S, Tavana H, Mosadegh B, Nikkhah M. Advanced biomaterials and microengineering technologies to recapitulate the stepwise process of cancer metastasis. *Biomaterials* 2017; 133: 176-207 [PMID: 28437628 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.04.017]
- 69 Schütte J, Hagmeyer B, Holzner F, Kubon M, Werner S, Freudigmann C, Benz K, Böttger J, Gebhardt R, Becker H, Stelzle M. "Artificial micro organs"--a microfluidic device for dielectrophoretic assembly of liver sinusoids. *Biomed Microdevices* 2011; 13: 493-501 [PMID: 21347825 DOI: 10.1007/s10544-011-9517-7]
- 70 Chang R, Emami K, Wu H, Sun W. Biofabrication of a three-dimensional liver micro-organ as an in vitro drug metabolism model. *Biofabrication* 2010; 2: 045004 [PMID: 21079286 DOI: 10.1088/1758-5082/2/4/045004]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

书 讯

本刊讯 由池肇春教授主编的《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》已由人民卫生出版社出版发行。

腹痛是消化系统最常见的症状之一,可引起腹痛的疾病很多,容易发生误诊或漏诊,以致患者得不到及时的诊治。本书由全国著名消化内科及相关学科专业学者共同执笔,为近年在腹痛诊疗方面的最新代表作。精装,图文并茂,内容新颖实用,全书2014千字,分上下两篇,上篇为总论,包括腹痛的病理生理学、腹痛的病因与发病机制、腹痛的临床诊断、腹痛的内镜与影像诊断与鉴别诊断、腹痛的实验室诊断、腹痛的治疗等11章。下篇为各论,分别介绍腹痛疾病的鉴别诊断与治疗。从第12章至第15章分别介绍腹腔脏器炎症、阻塞、扭转、穿孔、破裂、血管疾病、心肺疾病、妇科疾病、急性中毒等引起急性腹痛的鉴别诊断与治疗。从第17章至第29章分别介绍胃肠、胰、肾、感染、肿瘤引起的慢性腹痛鉴别诊断与治疗。从第30章至第36章分别介绍肝胆系统疾病和系统疾病引起腹痛的鉴别诊断与治疗。最后一章为经典案例53例,分别介绍了不同案例的诊治体会、经验与教训。

全书以症状鉴别诊断为中心,与治疗并重,均作了全面与详尽的阐述,是一部有关腹痛诊治的新作,有较高的学术水平和参考价值,可为消化内科、普外科、小儿科、感染科、肿瘤科、影像科和妇产科等学科医师学习与参考。每册定价188元,购书热线 010-59787592, 010-59787584, 010-65264830, 人卫智慧服务商城(人卫社官方购书网站)、当当、京东、天猫等网店均可搜索购书,欢迎选购。

腹泻与肠道乳糖酶活性的关系研究进展

吴 仪, 谭周进

吴仪, 谭周进, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410208

吴仪, 湖南中医药大学2019级方剂学硕士研究生, 主要从事中医药-微生物研究.

基金项目: 国家自然科学基金, No.81874460.

作者贡献分布: 本文由吴仪完成, 谭周进审校.

通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市含浦科教园区学士路300号, 湖南中医药大学, tanzhijin@sohu.com

收稿日期: 2021-02-05

修回日期: 2021-03-08

接受日期: 2021-04-02

在线出版日期: 2021-06-08

Relationship between diarrhea and intestinal lactase activity

Yi Wu, Zhou-Jin Tan

Yi Wu, Zhou-Jin Tan, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81874460.

Corresponding author: Zhou-Jin Tan, Professor, Hunan University of Chinese Medicine, No. 300 Xueshi Road, Hanpu Science and Education Park, Changsha 410208, Hunan Province, China. tanzhijin@sohu.com

Received: 2021-02-05

Revised: 2021-03-08

Accepted: 2021-04-02

Published online: 2021-06-08

Abstract

Lactase is one of the most important functional enzymes in the intestine, and it is closely related to diarrhea. Traditional Chinese medicine (TCM) has unique advantages in the treatment of diarrhea, but its curative effect mechanism

on diarrhea is still unclear. In this paper, we discuss the relationship between diarrhea caused by different factors and intestinal lactase activity, and the relationship between diarrhea treatment by TCM and intestinal lactase activity. The activity of lactase in the intestinal tract can be increased by TCM, because TCM is helpful to repair the intestinal mucosa and regulate intestinal microbiota. TCM may improve the activity of intestinal lactase by regulating bacterial gene expression of lactase, and its specific mechanism is worthy of further study.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Lactase; Diarrhea; Intestinal mucosa; Microbiota; TCM

Citation: Wu Y, Tan ZJ. Relationship between diarrhea and intestinal lactase activity. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(11): 571-576
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/571.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.571>

摘要

乳糖酶作为肠道重要的功能酶之一, 其活性的表达与腹泻密切相关. 中药治疗腹泻性疾病具有独特优势, 中药治疗腹泻的疗效机制至今尚不明确. 本文探究不同因素诱导下的腹泻与肠道乳糖酶活性的关系, 中药治疗腹泻与肠道乳糖酶活性的关系, 发现不同因素诱导的腹泻会降低肠道乳糖酶活性, 中药治疗后提高肠道乳糖酶活性水平. 肠道乳糖酶活性的提高与中药作用于肠道黏膜与肠道菌群, 帮助修复肠道黏膜、调整肠道菌群有关, 中药或许能调控乳糖酶细菌基因的表达提高肠道乳糖酶活性, 具体机制值得进一步研究.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 乳糖酶; 腹泻; 肠黏膜; 肠道菌群; 中医药

核心提要: 本文通过综述腹泻与乳糖酶活性变化的关系, 以及中药疗效发挥与乳糖酶活性表达的关系. 发现不同因素诱导的腹泻存在不同程度的肠道黏膜损伤与肠道菌群紊乱, 与乳糖酶活性的差异表达有关, 而中医中药治疗能恢复或提高肠道乳糖酶的表达, 这或许与中药与肠道黏膜、肠道菌群相互作用相关; 此外发现对细菌乳糖酶基因的研究值得进一步深入.

文献来源: 吴仪, 谭周进. 腹泻与肠道乳糖酶活性的关系研究进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(11): 571-576

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/571.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i11.571>

0 引言

乳糖酶, 又称 β -半乳糖苷酶, 是肠道重要的功能酶之一, 能分解乳糖成单糖为机体供能, 也可将乳糖催化成低聚半乳糖, 促进肠道益生菌增殖, 对维持肠道健康有重要意义. 乳糖酶主要由小肠绒毛刷状缘及肠道细菌分泌, 与腹泻密切相关. 研究表明, 机体缺乏乳糖酶时会出现乳糖不耐受的症状, 如严重的腹泻、腹胀、排气增多等, 或伴有呕吐、乳酸尿症, 严重者可出现脱水、酸中毒、营养不良及生长障碍等. 中医中药治疗腹泻效果明显, 本课题组发现对使用抗生素后的慢性腹泻, 中药治疗有较大的优势. 中药可能通过改善肠道黏膜屏障、调节肠道菌群, 提高肠道乳糖酶活性, 中药对腹泻疗效与乳糖酶基因的关系值得进一步探究. 故本文论述不同原因导致的腹泻与肠道乳糖酶活性表达的关系, 以及中药治疗腹泻的疗效与肠道乳糖酶活性表达之间的关系.

1 肠道乳糖酶与腹泻的相关性

1.1 肠道乳糖酶的构成与来源 乳糖是人乳中存在的唯一双糖, 由半乳糖和葡萄糖通过1,4-糖苷键的表达更科学连接而成, 是绒毛刷状缘表达的乳糖酶-根皮苷水解酶(lactase-phlorizinhydrolase, LPH)的主要底物, 在肠黏膜呈灶块状分布, 在空肠中部表达最高. 乳糖酶又称 β -半乳糖苷酶、乳糖酶-根皮苷水解酶, 由两条相同的胞外160 kDa多肽链和一个短的胞质内部分组成. 乳糖酶的 α -葡萄糖苷酶活性将乳糖分解成单糖葡萄糖和半乳糖, 然后由钠(+)/葡萄糖(半乳糖)共转运蛋白(Na⁺/glucose cotransporter, SGLT1)主动转运到上皮细胞(肠细胞)中^[1], 此外乳糖酶具有转糖基活性, 可将乳糖催化形成低聚半乳糖^[2].

人体肠道乳糖酶主要来源于以下3个途径: (1)主要

由宿主乳糖酶基因合成, 分布在小肠绒毛刷状缘的黏膜表面; (2)肠道菌群能少量合成乳糖酶, 如双歧杆菌、乳杆菌、大肠杆菌、酵母菌和霉菌; (3)服用外源乳糖酶补充^[3,4]. 因此, 乳糖酶以人体胃肠黏膜(gastrointestinal mucosa, GIT)分泌为主, 同时也由肠道微生物所分泌. 乳糖酶宿主基因与微生物的互作经历了长久的过程. 首先在宿主基因不断地选择压力下, 由乳糖不持久性(lactase non persistence, LNP)变为乳糖持久性(lactase persistence, LP), 同时宿主基因会优先与有益的微生物合作. 最初的自然条件下, 人乳是乳糖唯一的来源, 乳糖酶基因会在断乳后逐渐关闭^[5], 但畜牧业发展以来人类能更普遍的摄入含乳糖制品, 掀起了肠道内部一场巨变. 在没有LP等位基因的情况下, 代谢乳糖的细菌发挥了分解乳糖的巨大作用^[6], 后来有益的宿主等位基因才出现并取代了微生物群功能, 并在部分人体内稳定下来^[7,8]. 但这种分布具有种族与地域差异, 西欧及高加索地区的人更多的携带了乳糖酶基因, 而亚洲人则普遍缺乏. 另一方面, 肠道内微生物仍在发挥着乳糖代谢的作用, 双歧杆菌^[9,10]、乳杆菌、大肠杆菌、酵母菌和霉菌是主要产乳糖酶的菌种. 虽然微生物代谢乳糖产能较少, 且乳糖酶在GIT分泌为主, 宿主与微生物间存在乳糖酶位点竞争关系, 但微生物产乳糖酶可以减少乳糖酶基因型之间的适应性差异, 减轻LP等位基因的选择压力, 从而保持人群中乳糖酶基因的多样性. 综上所述, 乳糖酶活性表达与机体肠道黏膜完整情况及细菌多样性相关.

1.2 腹泻与肠道乳糖酶活性的关系 乳糖酶作为重要的肠道功能酶之一, 与腹泻密切相关. 腹泻过程中普遍存在肠道黏膜破坏、菌群失调、胃肠动力障碍等肠道失调机制. 肠道黏膜受损, 刷状缘表达的乳糖酶水平降低, 或正常肠道菌群构成的破坏, 产肠道乳糖酶菌株受到抑制, 都会降低乳糖酶活性. 此外破坏或抑制乳糖酶基因的表达也会降低肠道乳糖酶活性. 经过课题组的研究, 发现不同干预因素(包括药物、饮食、温度湿度等)诱导的腹泻乳糖酶的表达有差异.

1.2.1 药物诱导的腹泻与肠道乳糖酶活性: 抗生素抗生素相关性腹泻(antibiotic-associated diarrhea, AAD)是临床使用抗生素治疗最容易发生的不良反应之一, AAD主要与黏膜的破坏和肠道微生物组成及功能失调有关. 如表1^[11-16]中所示, 我们的前期研究证明使用混合抗生素溶液灌胃后小鼠肠道内容物及黏膜乳糖酶活性自第一天开始下降, 直至第5天差异达到极致^[11]. 杨春富等^[16]发现婴幼儿肺炎用药后尿半乳糖含量或活性下降, 乳糖不耐受阳性率达81.8%. 进一步对AAD小鼠肠道内容物及肠道黏膜细菌进行16Sr RNA测序, 结果表明抗生

表 1 腹泻与肠道乳糖酶活性的相关性

疾病	影响因素	肠道乳糖酶活性变化
AAD ^[11]	混合抗生素	小肠黏膜及内容物乳糖酶活性↓
肠道湿热泄泻 ^[12]	高糖高脂+高温高湿+白酒+冰水	小肠内容物乳糖酶活性↓
肝郁脾虚 ^[13]	番泻叶灌胃	小肠黏膜乳糖酶活性↓
感染性腹泻 ^[14]	大肠杆菌O ₁₀₁ 诱导	小肠黏膜乳糖酶活性↓
脾虚 ^[15]	番泻叶灌胃	小肠内容物乳糖酶活性↓
婴幼儿腹泻 ^[16]	肺炎用抗生素	乳糖酶含量或活性↓

AAD: 抗生素失调性腹泻.

表 2 中药对腹泻疗效与肠道乳糖酶活性的相关性

分组疾病	影响因素	中药治疗后乳糖酶活性变化	中医方剂
AAD ^[31]	混合抗生素	肠道黏膜及内容物乳糖酶活性↑	七味白术散
肝气乘脾泄泻 ^[32]	番泻叶+情志刺激	肠道黏膜及内容物乳糖酶活性↑	痛泻要方
肠道湿热泄泻 ^[12]	高糖高脂+高温高湿+白酒+冰水	肠道黏膜及内容物乳糖酶活性↑	葛根芩连汤
肝郁脾虚 ^[13]	番泻叶灌胃	肠道黏膜乳糖酶活性↑	加味二术散
感染性腹泻 ^[14]	大肠杆菌O ₁₀₁ 诱导	肠道黏膜乳糖酶活性↑	白头翁复方

AAD: 抗生素失调性腹泻.

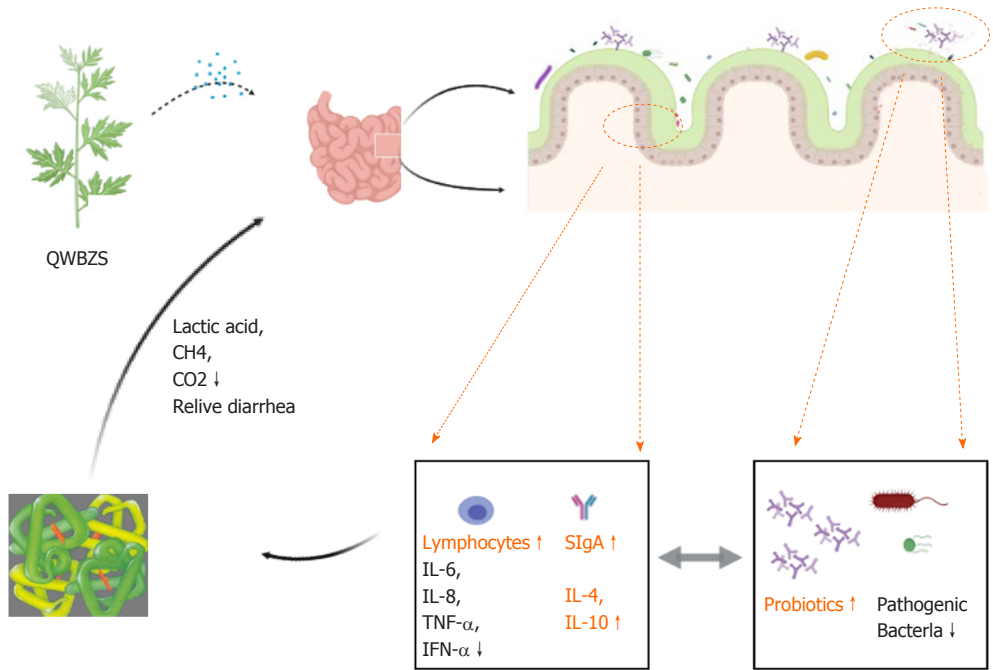


图 1 七味白术散治疗AAD腹泻的疗效机理. QWBZS: 七味白术散; IL-6: 白细胞介素6; IL-8: 白细胞介素8; IL-4: 白细胞介素4; IL-10: 白细胞介素10; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; SIgA: 分泌型免疫球蛋白A; CH4: 甲烷; CO2: 二氧化碳.

素降低了肠道细菌多样性, 尽管抗生素处理后杀死一些致病菌, 如支原体和幽门螺旋杆菌, 但更为严重的是抗生素导致了变形菌门的扩张^[17,18]. 据报道^[19], 变形菌门近来被证明可作为肠道上皮功能障碍的诊断特征, 肠道炎

症或抗生素处理可增加结肠上皮的氧化作用, 从而破坏厌氧环境, 驱动兼性厌氧的变形菌门的扩张. 过量混合抗生素的使用降低了肠道乳酸杆菌的丰度, 减弱了肠道黏膜的定植抗力, 增加其他机会致病菌对肠道黏膜的破

坏作用(如肠球菌属及梭菌属), 降低肠道黏膜乳糖酶活性。另一方面, 混合抗生素导致了肠道内容物菌群失调^[17], 降低了肠道内容物乳酸菌丰度、减少了肠道乳酸杆菌数量^[20], 并通过抑制乳糖酶产生菌而降低乳糖酶活性。

课题组对细菌乳糖酶基因的研究发现了抗生素可能通过破坏或抑制肠道内容物乳糖酶基因的形成与表达, 降低细菌乳糖酶基因的多样性^[21]; 黏膜细菌乳糖酶基因多样性增加, 可能与黏膜结构被破坏, 肠道定植抗力减弱, 大量菌群迁移至黏膜层有关^[22]。我们的研究证明抗生素的使用并未影响小鼠细菌乳糖酶基因13910位点多态性^[23]。

总之, 过量混合抗生素的使用破坏了肠道黏膜屏障, 改变了菌群在黏膜与内容物中的构成, 增加了细菌的多样性, 但减少了产乳糖酶关键菌群的菌群。乳糖酶以黏膜分泌为主, 故肠道黏膜的破坏是抗生素导致乳糖酶活性下降的主要原因。抗生素的使用会影响细菌乳糖酶基因多样性, 但具体机制需进一步研究。

番泻叶诱导腹泻的肠道机理主要是减少对水、电解质的吸收造成肠道非推进性收缩增强, 以及改变肠道微生物菌群与代谢^[24]。本课题发现番泻叶能明显抑制肠道内容物乳糖酶活性, 而对肠道黏膜乳糖酶活性没有影响, 这可能是因为番泻叶致泻并非明显的损伤了肠道黏膜, 所以对肠道黏膜乳糖酶并无影响^[15]。

1.2.2 环境因素诱导的腹泻与肠道乳糖酶活性水平相关性: 多项研究证明, 环境因素与物种基因是影响肠道菌群的重要因素, 在同一物种中环境因素对肠道菌群的影响, 甚至比宿主自身因素(年龄/性别)更显著。这种环境因素包括季节气候、居住条件、地域、食物构成等^[25,26]。中医泄泻是以排便次数增多, 粪质溏薄或完谷不化, 甚至泻出如水样为主症的病证。从病因学角度, 中医认为外感寒湿或湿热之邪, 饮食不当, 脾虚体质, 情志变化等都是引起泄泻的重要因素。从微生物学角度来看, 这些因素都能对肠道菌群产生影响。

温度、湿度、饮食都是影响机体肠道菌群的重要因素, 温热环境增强了菌群的多胺生物合成, 使乙酰亚精胺和腐胺等多胺水平升高^[27]。短暂的高糖饮食虽然不会促进小鼠肠炎的形成, 但会改变肠道菌群的构成, 增加黏液降解细菌, 削弱肠道黏液屏障^[28]。Tian等人^[29]发现高温环境下的绍兴鸭肠道内乳酸杆菌为优势菌属; 惠华英等^[12]通过“高糖高脂+高温高湿+白酒+冰水”的复合因素模拟中医肠道湿热证泄泻, 发现高脂高糖饮食损伤肠道黏膜, 降低了肠道黏膜酶活性(表1), 同时多种复合因素下改变了肠道菌群的构成, 提高了肠道微生物产乳糖酶的能力, 促细菌产乳糖酶的主要影响因素为高脂高糖饮食。

由上可知, 腹泻与肠道乳糖酶活性具有相关性, 且

与乳糖酶活性下降成呈正相关。AAD对肠道黏膜及肠道菌群的损伤最严重, 降低了小肠黏膜与内容物的乳糖酶活性; 环境与饮食诱导的腹泻与乳糖酶关系密切, 主要降低了肠道内容物乳糖酶活性; 番泻叶诱导的腹泻主要降低了肠道黏膜乳糖酶活性。这提示我们不同因素诱导的腹泻与乳糖酶活性降低相关, 且具体因素影响下的活性变化有区别。

2 中药治疗腹泻与乳糖酶活性的相关性及其疗效机制

中医药对腹泻具有明显的治疗优势, 但其疗效机制尚不明确, 尤其中医学认为腹泻具有不同的方证, 这使研究变得更加复杂。贺璐等^[30]认为中草药对肠道消化酶水平具有调控作用, 主要是通过修复肠道黏膜损伤、改善肠道环境及调整肠道微生物调节肠道消化酶活性水平。表2^[12-14, 31-32]说明了中药对肠道乳糖酶具有调控作用, 中医药治疗腹泻后肠道乳糖酶活性会明显提高。从消化酶活性水平着手, 探究中药对泄泻的肠道疗效机制及微生态调节机制具有创新性, 根据课题组实验结果表明, 中药提高腹泻下肠道乳糖酶的活性可能通过以下两个主要途径: 肠道黏膜修复与肠道菌群调整(图1)。

2.1 中药通过修复肠道黏膜提高乳糖酶活性治疗腹泻
肠道黏膜是饮食消化吸收的重要场所, 同时也是肠道免疫的重要防线。一旦肠黏膜屏障受损, 肠上皮细胞间的完整连接结构受损, 肠上皮通透性增加。宿主乳糖酶主要由肠黏膜上皮细胞分泌, 因此黏膜乳糖酶的活性高低与肠道黏膜的损伤状态密切相关。惠华英等^[31]证明七味白术散能恢复且提高AAD小鼠肠道黏膜乳糖酶活性, 吴仪等^[32]使用痛泻要方治疗肝气乘脾泄泻小鼠, 发现中药组小鼠肠黏膜乳糖酶、蔗糖酶等二糖酶活性明显提高, 对治疗腹泻具有一定作用。肠黏膜上肥大细胞活化分数反映肠道黏膜炎症, 研究证明痛泻要方能降低肥大细胞活化分数, 帮助修复肠黏膜^[33]。蛋白激酶受体2是一种丝氨酸蛋白酶受体, 广泛分布于肠上皮细胞上。肠道PAR-2受体信号与肠上皮细胞屏障损伤密切相关。谭许鹏等发现痛泻要方及防风能改善肠上皮Caco-2细胞屏障, 这与方中有效活性成分如槲皮素等密切相关。惠华英等^[12]实验证明, 葛根芩连汤明显提高了肠道湿热证泄泻小鼠肠道黏膜乳糖酶活性, 能促进肠道黏膜分泌乳糖酶, 这与葛根芩连汤参与修复肠黏膜屏障有关。张宁等^[34]实验证明加味葛根芩连汤明显降低黏膜低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、二胺氧化酶(DAO)、D-乳酸(D-LA), 对重度湿热型溃疡性结肠炎具有黏膜修复的作用。

2.2 中药通过调控“肠道菌群-代谢产物”提高肠道乳糖酶活性 中药所含成分非常复杂, 除含有大量的活性

成分外, 还有多糖、蛋白质、脂类等大分子物质及微生物、微量元素等. 中药成分进入肠道后, 某些机体无法消化的物质需要肠道内庞大的微生物参与, 这些成分会直接刺激对应菌群的增长, 从而改变肠道菌群的构成, 调整肠道菌群的平衡. 厚壁菌门是产乳糖酶的主要菌门^[35], *Akkermansia muciniphila* (Akk菌)、肠道乳酸杆菌及肠道共生的多形拟杆菌(*Bacteroides thetaiotaomicron*, BT)也被证实能产生 β -半乳糖苷酶^[36,37]. 研究证明^[20], QWBZS能增加AAD小鼠黏膜乳酸菌和拟杆菌S24-7的丰度, 抑制内容物中拟杆菌和*Ochrobactrum*的增长, 增加*Osillospir*, *Dorea*, *Coprococcus* and *Blautia*丰度, 调整肠道菌群的结构分布及多样性; 葛根苓连汤通过增加乳酸菌的数量, 缓解AAD; 痛泻要方能促进益生菌的增长和抑制病原菌、条件致病菌(普雷沃氏菌和理研菌、肠杆菌等)^[38]; 四君子汤能增加小鼠肠道内乳酸杆菌和双歧杆菌的数量^[39]. FDA法测定肠道总微生物活性简便快捷, 能迅速地反应肠道内微生物的活跃程度, 实验证明痛泻要方能提高肝气乘脾泄泻小鼠的肠道微生物活性, 说明中药能整体提高肠道内酶活性水平^[40].

2.3 中药调控肠道乳糖酶活性与肠道细菌乳糖酶基因的关系 β -半乳糖苷酶基因编码是由4个亚基组成的四聚体. 从不同物种提取的 β -半乳糖苷酶的蛋白质序列有着较高的同源性和相似性. 人体胃肠道微生物组蕴含着丰富的微生物酶类基因资源, 共有基因支持着微生物日常生存的基本功能, 如酶的消耗和分解, 能量转换和代谢^[41]. 乳糖酶基因的多样性可为物种进化提供材料, 从而提高乳糖酶的催化效率. 中药能调控乳糖酶活性治疗腹泻, 在酶量及酶基因表达水平都有可能发挥作用. 从乳糖酶基因的表达水平有助于深入认识中药的疗效机制^[31].

哺乳动物乳糖酶基因存在多个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点, 其基因多态性与乳糖酶活性存在显著相关性. 课题组研究证明与QWBZS对AAD疗效的发挥与乳糖酶基因13910位点多态性没有相关性, 可能存在其他多态性位点或其他方面的调控机制^[23]. 此外, 我们的研究表明QWBZS能促进肠道黏膜乳糖酶基因的多样性恢复至正常水平, 同时QWBZS能调节肠道黏膜细菌的构成, 说明QWBZS主要通过改变细菌的结构, 帮助修复肠屏障黏膜, 调节乳糖酶活性治疗腹泻^[42]. QWBZS处理没有增加细菌乳糖酶基因的多样性, 其对腹泻的疗效可能与其促进新的或一些关键的产乳糖酶菌株的生长有关^[43].

3 结论

不同的干预因素及中药治疗改变了肠道菌群的组成与

特定肠道菌群, 尤其影响了产乳糖酶细菌. 不同的干预因素不同程度的降低了肠道内容物或黏膜的乳糖酶活性, 与肠道黏膜状态及肠道菌群的变化差异有关. 中药调控肠道黏膜以及肠道菌群, 提高肠道乳糖酶活性, 与腹泻的疗效成正相关. 乳糖酶基因表达水平及酶基因编码功能的研究需要进一步深入. 未来应该继续研究中药对腹泻疗效的物质基础, 重点是寻找不同干预因素下的与乳糖酶活性密切相关的肠道产乳糖酶细菌, 对细菌乳糖酶基因的研究值得进一步深入.

4 参考文献

- Chen L, Tuo B, Dong H. Regulation of Intestinal Glucose Absorption by Ion Channels and Transporters. *Nutrients* 2016; 8 [PMID: 26784222 DOI: 10.3390/nu8010043]
- 张莉, 李庆章, 田雷. β -半乳糖苷酶研究进展. 东北农业大学学报 2009; 40: 128-131 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9369.2009.07.027]
- Leis R, de Castro MJ, de Lamas C, Picáns R, Couce ML. Effects of Prebiotic and Probiotic Supplementation on Lactase Deficiency and Lactose Intolerance: A Systematic Review of Controlled Trials. *Nutrients* 2020; 12 [PMID: 32443748 DOI: 10.3390/nu12051487]
- Oak SJ, Jha R. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2019; 59: 1675-1683 [PMID: 29425071 DOI: 10.1080/10408398.2018.1425977]
- 邓艳玲, 舒兰, 刘又嘉, 谭周进. 肠道乳糖酶在小儿腹泻诊疗中的意义. 世界华人消化杂志 2016; 24: 664-669
- Ségurel L, Bon C. On the Evolution of Lactase Persistence in Humans. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2017; 18: 297-319 [PMID: 28426286 DOI: 10.1146/annurev-genom-091416-035340]
- Itan Y, Jones BL, Ingram CJ, Swallow DM, Thomas MG. A worldwide correlation of lactase persistence phenotype and genotypes. *BMC Evol Biol* 2010; 10: 36 [PMID: 20144208 DOI: 10.1186/1471-2148-10-36]
- Sturm RA, Duffy DL. Human pigmentation genes under environmental selection. *Genome Biol* 2012; 13: 248 [PMID: 23110848 DOI: 10.1186/gb-2012-13-9-248]
- Hove H, Nørgaard H, Mortensen PB. Lactic acid bacteria and the human gastrointestinal tract. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 339-350 [PMID: 10369488 DOI: 10.1038/sj.ejcn.1600773]
- Szilagy A. Adaptation to Lactose in Lactase Non Persistent People: Effects on Intolerance and the Relationship between Dairy Food Consumption and Evaluation of Diseases. *Nutrients* 2015; 7: 6751-6779 [PMID: 26287234 DOI: 10.3390/nu7085309]
- 惠华英, 贺璐, 彭昕欣, 邓艳玲, 舒兰, 谭周进, 彭买姣. 抗生素所致菌群失调腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的研究. 中国预防兽医学报 2017; 761-763 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-0425.2017.09.16]
- 惠华英, 何云山, 罗成宇, 谭周进. 葛根苓连汤对肠道湿热证泻泄小鼠肠道微生物活度和酶活性的影响. 应用与环境生物学报 2020; 1-8 [PMID: 26287234 DOI: 10.19675/j.cnki.1006-687x.2020.02032]
- 姚璐. 加味二术颗粒剂对肝郁脾虚证小鼠止泻机制的影响研究. 四川畜牧兽医 2017; 44: 25-28+31
- 张晓利, 王迎春, 徐倩倩, 王丽叶, 霍晓青, 曹玲芝, 张永辉, 董世山. 白头翁复方对腹泻小鼠肠道黏膜乳糖酶活性的影响. 河北农业大学学报 2010; 33: 99-102 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-1573.2010.02.022]
- 徐琦, 刘又嘉, 邓艳玲, 肖新云, 谭周进, 舒兰. 番泻叶对腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的影响. 湖南中医杂志 2016; 32: 189-191 [DOI: 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2016.08.089]
- 杨春富, 李文红, 于志丹, 王文华, 陈雯微. 婴幼儿肺炎用药后导致腹泻与乳糖酶的相关性分析. 医学信息(中旬刊) 2011; 24: 89

- [DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2011.01.091]
- 17 Xie G, Tan K, Peng M, Long C, Li D, Tan Z. Bacterial diversity in intestinal mucosa of antibiotic-associated diarrhea mice. *3 Biotech* 2019; 9: 444 [PMID: 31763122 DOI: 10.1007/s13205-019-1967-2.]
 - 18 Shao H, Zhang C, Xiao N, Tan Z. Gut microbiota characteristics in mice with antibiotic-associated diarrhea. *BMC Microbiol* 2020; 20: 313 [PMID: 33059603 DOI: 10.1186/s12866-020-01999-x]
 - 19 Litvak Y, Byndloss MX, Tsois RM, Bäuml AJ. Dysbiotic Proteobacteria expansion: a microbial signature of epithelial dysfunction. *Curr Opin Microbiol* 2017; 39: 1-6 [PMID: 28783509 DOI: 10.1016/j.mib.2017.07.003]
 - 20 刘茜明, 杨光勇, 何光志, 田维毅, 蔡琨, 王平, 黄高, 梁建东, 王文佳. 葛根苓连汤对抗生素相关腹泻肠道乳酸杆菌属的影响研究. *家畜生态学报* 2016; 37: 74-78
 - 21 Long CX, He L, Guo YF, Liu YW, Xiao NQ, Tan ZJ. Diversity of bacterial lactase genes in intestinal contents of mice with antibiotics-induced diarrhea. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 7584-7593 [PMID: 29204058 DOI: 10.3748/wjg.v23.i42.7584]
 - 22 Long C, Liu Y, He L, Tan Q, Yu Z, Xiao N, Tan Z. Bacterial lactase genes diversity in intestinal mucosa of mice with dysbacterial diarrhea induced by antibiotics. *3 Biotech* 2018; 8: 176 [PMID: 29556430 DOI: 10.1007/s13205-018-1191-5]
 - 23 龙承星, 贺璐, 刘又嘉, 郭艳芳, 于子真, 任婷, 谭周进. 菌群失调腹泻造模及七味白术散治疗对小鼠乳糖酶基因13910多态性的影响. *中国微生态学杂志* 2017; 29: 766-770 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201707006]
 - 24 孙森凤, 张颖颖. 番泻叶成分及药理作用研究进展. *山东化工* 2017; 46: 44-45
 - 25 Ren T, Boutin S, Humphries MM, Dantzer B, Gorrell JC, Colman DW, McAdam AG, Wu M. Seasonal, spatial, and maternal effects on gut microbiome in wild red squirrels. *Microbiome* 2017; 5: 163 [PMID: 29268780 DOI: 10.1186/s40168-017-0382-3]
 - 26 Kers JG, Velkers FC, Fischer EAJ, Hermes GDA, Stegeman JA, Smidt H. Host and Environmental Factors Affecting the Intestinal Microbiota in Chickens. *Front Microbiol* 2018; 9: 235 [PMID: 29503637 DOI: 10.3389/fmicb.2018.00235]
 - 27 Chevalier C, Kieser S, Çolakoglu M, Hadadi N, Brun J, Rigo D, Suárez-Zamorano N, Spiljar M, Fabbiano S, Busse B, Ivanišević J, Macpherson A, Bonnet N, Trajkovski M. Warmth Prevents Bone Loss Through the Gut Microbiota. *Cell Metab* 2020; 32: 575-590.e7 [PMID: 32916104 DOI: 10.1016/j.cmet.2020.08.012]
 - 28 Khan S, Waliullah S, Godfrey V, Khan MAW, Ramachandran RA, Cantarel BL, Behrendt C, Peng L, Hooper LV, Zaki H. Dietary simple sugars alter microbial ecology in the gut and promote colitis in mice. *Sci Transl Med* 2020; 12 [PMID: 33115951 DOI: 10.1126/scitranslmed.aay6218]
 - 29 Tian Y, Li G, Chen L, Bu X, Shen J, Tao Z, Zeng T, Du X, Lu L. High-temperature exposure alters the community structure and functional features of the intestinal microbiota in Shaoxing ducks (*Anas platyrhynchos*). *Poult Sci* 2020; 99: 2662-2674 [PMID: 32359603 DOI: 10.1016/j.psj.2019.12.046]
 - 30 贺璐, 龙承星, 刘又嘉, 肖嫩群, 谭周进. 中药对肠道消化酶活性的调节作用. *中药材* 2017; 40: 1983-1986 [DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2017.08.055]
 - 31 惠华英, 申可佳, 李丹丹, 谭周进. 七味白术散对抗生素所致腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的影响. *中国微生态学杂志* 2018; 30: 1126-1129
 - 32 吴仪, 唐圆, 刘娅薇, 惠华英, 谭周进. 腹泻要方对“肝气乘脾”泄泻小鼠肠黏膜及肠内容物消化酶活性的影响. *中国微生态学杂志* 2020; 32: 745-749 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202007001]
 - 33 毛丽娟, 韩树堂. 腹泻要方对腹泻型IBS患者肠黏膜肥大细胞活化的影响. *北方药学* 2011; 08: 55-57
 - 34 张宁, 周晓丽, 刘帅. 加味葛根苓连汤联合常规治疗对重度湿热型溃疡性结肠炎患者的临床疗效. *中成药* 2020; 42: 351-355
 - 35 Wang W, Hu H, Zijlstra RT, Zheng J, Gänzle MG. Metagenomic reconstructions of gut microbial metabolism in weanling pigs. *Microbiome* 2019; 7: 48 [PMID: 30914068 DOI: 10.1186/s40168-019-0662-1]
 - 36 Kostopoulos I, Elzinga J, Ottman N, Klievink JT, Blijenberg B, Aalvink S, Boeren S, Mank M, Knol J, de Vos WM, Belzer C. Akkermansia muciniphila uses human milk oligosaccharides to thrive in the early life conditions in vitro. *Sci Rep* 2020; 10: 14330 [PMID: 32868839 DOI: 10.1038/s41598-020-71113-8]
 - 37 Gil-Cruz C, Perez-Shibayama C, De Martin A, Ronchi F, van der Borgh K, Niederer R, Onder L, Lütge M, Novkovic M, Nindl V, Ramos G, Arnoldini M, Slack EMC, Boivin-Jahns V, Jahns R, Wyss M, Mooser C, Lambrecht BN, Maeder MT, Rickli H, Flatz L, Eriksson U, Geuking MB, McCoy KD, Ludewig B. Microbiota-derived peptide mimics drive lethal inflammatory cardiomyopathy. *Science* 2019; 366: 881-886 [PMID: 31727837 DOI: 10.1126/science.aav3487]
 - 38 袁榛, 舒兰, 彭昕欣, 谭周进. 腹泻要方对肠道微生态影响的研究进展. *世界华人消化杂志* 2020; 28: 357-361
 - 39 黄文武, 彭颖, 王梦月, 彭崇胜, 李晓波. 四君子汤及其单味药水煎液对脾虚大鼠肠道菌群的调节作用. *中国实验方剂学杂志* 2019; 25: 8-15 [DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20190847]
 - 40 唐圆, 吴仪, 惠华英, 谭周进. 腹泻要方对肝气乘脾泄泻小鼠肠道微生物活度的影响. *中国微生态学杂志* 2020; 32: 17-20 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202001004]
 - 41 Tierney BT, Yang Z, Luber JM, Beaudin M, Wibowo MC, Baek C, Mehlenbacher E, Patel CJ, Kostic AD. The Landscape of Genetic Content in the Gut and Oral Human Microbiome. *Cell Host Microbe* 2019; 26: 283-295.e8 [PMID: 31415755 DOI: 10.1016/j.chom.2019.07.008]
 - 42 He L, Liu Y, Guo Y, Shen K, Hui H, Tan Z. Diversity of intestinal bacterial lactase gene in antibiotics-induced diarrhea mice treated with Chinese herbs compound Qi Wei Bai Zhu San. *3 Biotech* 2018; 8: 4 [PMID: 29242764 DOI: 10.1007/s13205-017-1024-y]
 - 43 Long C, Liu Y, He L, Yu R, Li D, Tan Z, Hui H. Bacterial lactase genes diversity in intestinal mucosa of dysbacterial diarrhea mice treated with Qiweibaizhu powder. *3 Biotech* 2018; 8: 423 [PMID: 30280074 DOI: 10.1007/s13205-018-1460-3]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



TACC3基因在肝癌中的表达及其与患者的预后关系

邢国强, 运涛, 赵国刚

邢国强, 运涛, 赵国刚, 天津市第五中心医院普外科 天津市 300450

邢国强, 住院医师, 研究方向为普通外科.

作者贡献分布: 此课题由邢国强设计, 数据统计和文章撰写, 研究过程和统计数据统计由运涛共同完成; 赵国刚负责最终的审校.

通讯作者: 赵国刚, 副主任医师, 300450, 天津市滨海新区浙江路41号, 天津市第五中心医院普外科. tjsdwzxyyzzg@163.com

收稿日期: 2021-02-22

修回日期: 2021-04-05

接受日期: 2021-05-11

在线出版日期: 2021-06-08

Relationship of TACC3 gene expression with prognosis in hepatocellular carcinoma

Guo-Qiang Xing, Tao Yun, Guo-Gang Zhao

Guo-Qiang Xing, Tao Yun, Guo-Gang Zhao, Department of General Surgery, The Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450, China

Corresponding author: Guo-Gang Zhao, Deputy Chief Physician, Department of General Surgery, The Fifth Central Hospital of Tianjin, No. 41 Zhejiang Road, Binhai New Area, Tianjin 300450, China. tjsdwzxyyzzg@163.com

Received: 2021-02-22

Revised: 2021-04-05

Accepted: 2021-05-11

Published online: 2021-06-08

Abstract

BACKGROUND

Transforming acidic coiled coil protein 3 (TACC3) is an important member of the TACC family. Studies have shown that TACC3 gene is highly expressed in breast cancer, non-small cell lung cancer, and gastric cancer, and is associated with poor prognosis. However, its expression in liver cancer and its relationship with prognosis are

rarely reported.

AIM

To explore the clinical significance of TACC3 gene expression in liver cancer.

METHODS

The expression of TACC3 gene in normal human tissues, liver cancer tissues, and liver cancer cell lines was mined by searching databases including BioGPS, Oncomine, and Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE), respectively. Kaplan-Meier plotter and GEPIA were used to analyze the effect of TACC3 gene expression on the prognosis of liver cancer patients.

RESULTS

BioGPS database analysis showed that TACC3 gene was expressed in all normal tissues and TACC3 gene expression in the liver was slightly higher than that in other normal tissues (median expression value, 8.95 vs 7.1). A total of 290 studies on TACC3 gene were retrieved from Oncomine database, showing four studies with high expression and one with low expression of TACC3 gene in liver cancer tissues. Meta-analysis showed that TACC3 gene was highly expressed in liver cancer tissues compared with normal liver tissues (Median rank = 442.5, $P < 0.05$). CCLE database analysis showed that TACC3 mRNA was highly expressed in liver cancer cell lines. The survival analysis results by Kaplan-Meier plotter based on the GEPIA database showed that the overall survival time (OS) and progression-free survival time (PFS) of liver cancer patients in the TACC3 high expression group were worse than those of the low expression group ($P < 0.05$).

CONCLUSION

TACC3 gene is highly expressed in liver cancer tissues. And the high expression of TACC3 gene is associated with poor survival prognosis in liver cancer patients.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver hepatocellular carcinoma; Bioinformatics; *TACC3* gene

Citation: Xing GQ, Yun T, Zhao GG. Relationship of *TACC3* gene expression with prognosis in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(11): 577-584

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/577.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i11.577>

摘要

背景

转录相关酸性卷曲蛋白3 (transforming acidic coiled coil protein 3, *TACC3*)是TACC家族的重要成员, 研究表明, *TACC3*基因在乳腺癌, 非小细胞肺癌, 胃癌中高表达, 并与预后较差有关。但是其在肝癌中的表达情况及与患者预后的关系鲜见报道。

目的

通过生物信息学手段探讨*TACC3*基因在肝癌中的表达及其与患者的预后关系。

方法

分别检索BioGPS、Oncomine、癌症细胞系百科全书 (cancer cell line encyclopedia, CCLE)数据库, 挖掘分析*TACC3*基因在正常人体组织、肝癌组织及肝癌细胞系中的表达情况, 应用Kaplan-Meier Plotter、GEPIA等数据库分析*TACC3*基因对肝癌患者预后的影响。

结果

BioGPS数据库分析结果显示*TACC3*基因在人体各组织中均有表达, 肝脏组织中的表达值中位数略高于其他正常组织(8.95 vs 7.1)。从Oncomine数据库检索出*TACC3*基因相关研究290项, 显示肝癌组织中*TACC3*基因高表达4项, 低表达1项, Meta分析显示与正常肝组织相比*TACC3*基因在肝癌组织中呈高表达状态 [中位秩(Median Rank) = 442.5, $P < 0.05$]。CCLE数据库分析显示, 在肝癌细胞系中*TACC3* mRNA高表达。Kaplan-Meier Plotter及GEPIA数据库生存分析结果显示, *TACC3*基因高表达组的肝癌患者总体生存时间(OS)和无进展生存时间(PFS)等生存预后指标均较低表达组差($P < 0.05$)。

结论

*TACC3*基因在肝癌组织中呈高表达, 且*TACC3*基因高表达与肝癌患者生存预后差有关。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝癌; 生物信息学; *TACC3*基因

核心提要: 转录相关酸性卷曲蛋白3 (transforming acidic coiled coil protein 3, *TACC3*)是TACC家族的重要成员, 本研究通过生物信息学手段证实*TACC3*基因在肝癌中呈高表达, 并且其高表达与肝癌患者生存预后差有关。

文献来源: 邢国强, 运涛, 赵国刚. *TACC3*基因在肝癌中的表达及其与患者的预后关系. *世界华人消化杂志* 2021; 29(11): 577-584

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/577.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i11.577>

0 引言

在全球范围内, 肝癌是恶性肿瘤相关死亡的第四大常见原因, 在发病率方面排名第六位^[1]。我国癌症统计报告显示2015年我国居民癌症粗死亡率为169.41/10万, 标化死亡率为159.01/10万, 其中肝癌死亡率居于第2位(仅次于肺癌)^[2]。随着手术、化疗、靶向及免疫治疗方式的进步以及多学科综合治疗方案的普及, 肝癌患者生存期虽然有所延长, 但防控形势依旧严峻。因此, 寻找新的肝癌标志物和潜在治疗靶点, 研究其在肝癌发病过程中的分子机制对于肝癌防控具有重要意义。

转录相关酸性卷曲蛋白3(transforming acidic coiled coil protein 3, *TACC3*)是TACC家族的重要成员, *TACC3*受到Aurora-A激酶的调节, 靶向中心体, 在有丝分裂期间对微管生长至关重要^[3]。有研究表明, *TACC3*基因在乳腺癌^[4]、非小细胞肺癌^[5]、胃癌^[6]中高表达, 并与预后较差有关。目前关于*TACC3*基因在肝癌中的表达情况及其与患者预后的关系鲜见报道。本研究旨在通过生物信息学探讨*TACC3*基因在肝癌中的表达水平及其与患者预后的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 检索BioGPS^[7]、Oncomine^[8]、癌症细胞系百科全书(cancer cell line encyclopedia, CCLE)等数据库, 获取*TACC3*基因在肝癌中的表达数据。应用Kaplan-Meier Plotter^[9]、GEPIA^[10]数据库分析*TACC3*基因对肝癌患者预后生存的影响。

1.2 方法

1.2.1 利用BioGPS数据库分析: *TACC3*基因在人体正常组织中的表达情况, 在BioGPS数据库检索框中输入“*TACC3*”进行检索, 物种选择Human。

1.2.2 在Oncomine数据库主界面设定检索条件: (1) Cancer Type: Liver Cancer; (2) Gene: *TACC3*; (3) Data Type: mRNA; (4) Analysis Type: Cancer vs Normal analysis; (5) 临界值限定: $P < 0.05$, Fold Change = all, Gene Rank = all DNA type = mRNA。

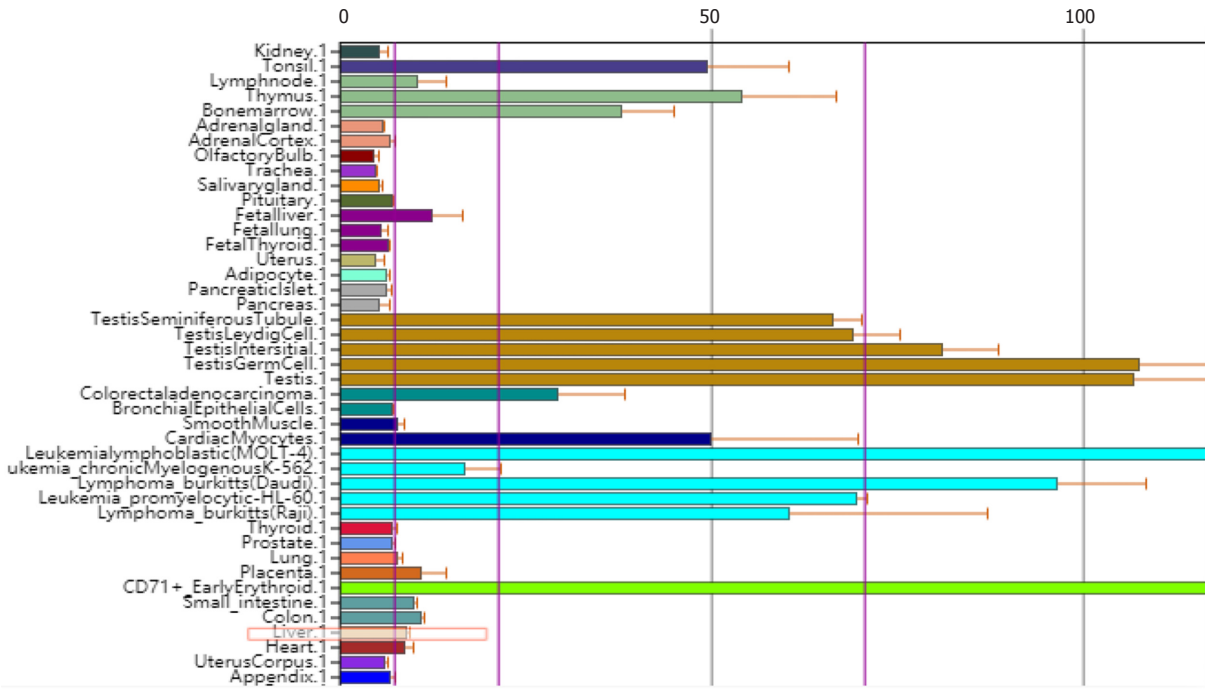


图 1 BioGPS数据库中*TACC3*基因在人体正常组织表达情况。

1.2.3 在CCLE数据库检索框中输入“*TACC3*”进行检索: 对*TACC3*基因在各细胞系中的表达进行分析。

1.2.4 利用Kaplan-Meier Plotter(<http://kmplot.com/analysis/>)的肝癌数据集进行在线生存分析: 设定检索条件, (1)Cancer Type: Liver Cancer; (2)Gene: *TACC3*; (3)Survival: 总体生存时间(OS)/无复发生存时间(RFS)/无进展生存时间(PFS)/疾病特异性存活率(DSS)。

1.2.5 利用GEPIA数据库的肝癌数据集进行在线生存分析: 设定检索条件, (1)Gene: *TACC3*; (2)Methods: OS/RFS; (3)Cancer name: LIHC。

统计学处理 采用*t*检验评估*TACC3*基因在不同组中的表达差异。通过Kaplan-Meier方法绘制生存曲线, 采用对数秩检验(Log-rank test)分析。在Oncomine数据库中对各项研究中肝脏正常组织及肝癌组织中*TACC3*表达差异进行统计对比并生成Meta分析结果。 $P < 0.05$ 为有显著差异。

2 结果

2.1 *TACC3*基因在人体正常组织中的表达情况 通过BioGPS数据库在线分析表明*TACC3*基因在人体大部分正常组织中均存在表达, 而在肝脏组织中表达水平略高于平均值, 表达的中位值分别为8.95和7.1, 见图1。

2.2 *TACC3*基因在不同肿瘤中的表达情况 Oncomine数据库中检索结果显示, *TACC3*基因在各种肿瘤中表达的相关研究290项, 显示正常组织和肿瘤组织*TACC3*表达具有显著差异的研究197项, 其中高表达169项, 低表达28

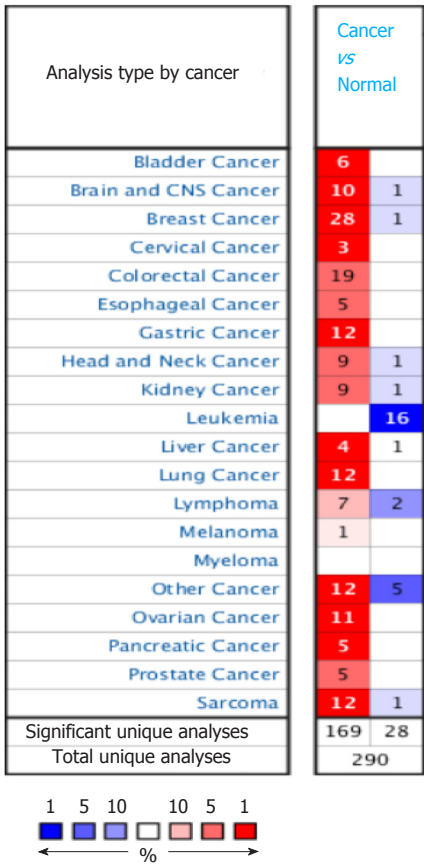


图 2 Oncomine数据库中*TACC3*基因在不同类型肿瘤中的表达情况。

项。 *TACC3*基因在乳腺癌、胃癌、肺癌等组织中呈现高表达。肝癌相关研究5项, 其中4项为高表达, 1项为低表

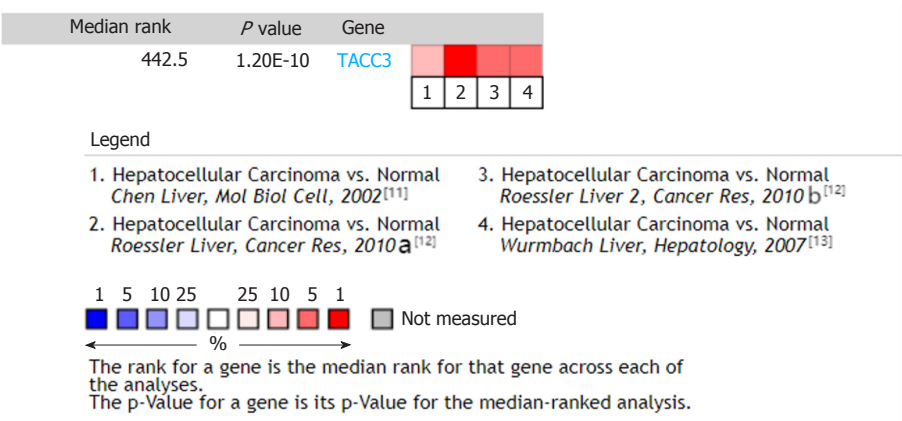


图 3 Oncomine数据库中*TACC3*基因在肝癌中表达的Meta分析结果.

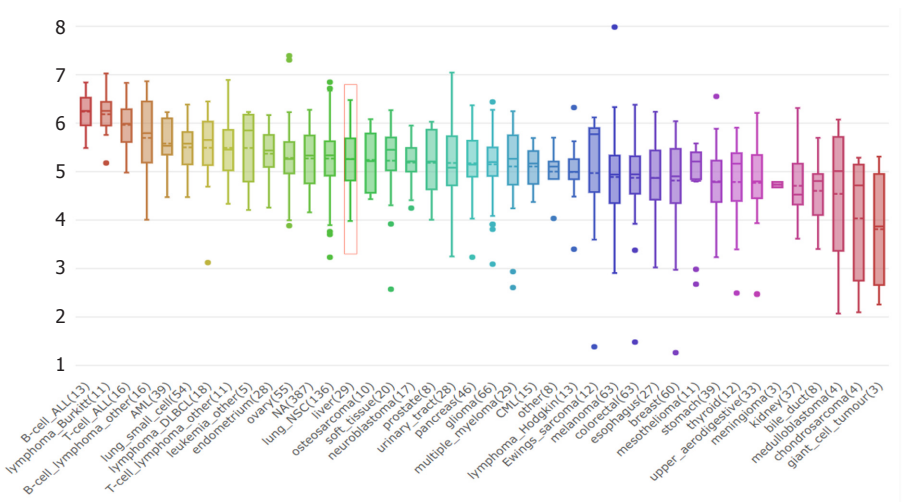


图 4 *TACC3*基因在各癌症细胞系的分布分析.

达(为肝硬化病变研究), 见图2. 剔除1项肝硬化病变的研究, 对符合条件的4项肝癌研究^[11-13]中760个样本进行Meta分析, 结果显示*TACC3*基因在肝癌组织中呈现高表达状态[中位秩(Median Rank) = 442.5, $P < 0.05$], 见图3.

2.3 *TACC3*基因在各细胞系的表达情况 CCLE数据库分析结果显示, *TACC3*在40种细胞系中高表达, 排在前三位的分别为B细胞、Burkitt淋巴瘤细胞、T细胞(表达中位值分别为6.23、6.18、5.96); 在肝癌细胞系中高表达(表达值为5.25), 并且在40种癌细胞系中排名第14位, 见图4.

2.4 预后生存分析

2.4.1 在Kaplan-Meier Plotter数据库中检索到: 具有完整OS数据的肝癌患者364例(高表达组129例, 低表达组235例), 具有完整RFS数据的肝癌患者316例(高表达组187例, 低表达组129例), 具有完整PFS数据的肝癌患者370例(高表达组178例, 低表达组192例), 具有完整DSS数据的肝癌患者362例(高表达组94例, 低表达组268例), 生存分析结果显示, *TACC3*基因表达水平对肝

癌患者的OS、RFS、PFS及DSS均有显著影响, *TACC3*基因高表达组的OS、RFS、PFS、DSS等生存预后指标均较低表达组差($P < 0.05$), 图5.

进一步在Kaplan-Meier Plotter数据库中检索到具有完整OS数据的索拉非尼治疗肝癌患者29例(高表达组10例, 低表达组19例), 具有完整RFS数据的索拉非尼治疗肝癌患者22例(高表达组17例, 低表达组5例), 具有完整PFS数据的索拉非尼治疗肝癌患者30例(高表达组23例, 低表达组7例), 具有完整DSS数据的索拉非尼治疗肝癌患者30例(高表达组10例, 低表达组20例), 生存分析结果显示, *TACC3*基因表达水平对索拉非尼治疗肝癌患者的OS、RFS、PFS及DSS均有显著影响, *TACC3*基因高表达组的OS、RFS、PFS、DSS等生存预后指标同样均较低表达组差($P < 0.05$), 图6.

2.4.2 在GEPIA数据库中检索: 共检索到364例肝癌患者(高表达组182例, 低表达组182例), 生存分析结果显示*TACC3*基因表达水平对肝癌患者的OS、PFS均有显著影响, *TACC3*基因高表达组的OS、PFS均较低表达

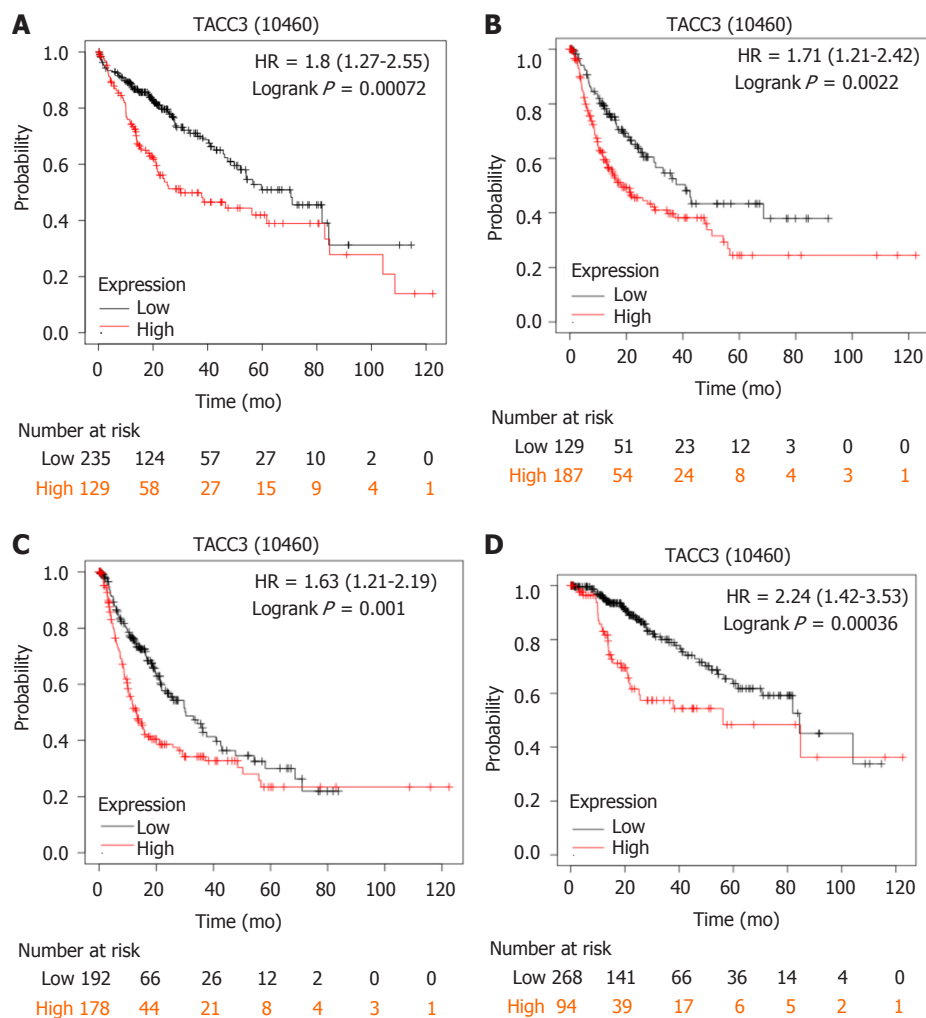


图 5 Kaplan-Meier Plotter数据库中*TACC3*基因表达水平与肝癌患者预后生存的关系。A: 总生存时间; B: 无复发生存时间; C: 无进展生存时间; D: 疾病特异存活率。

组差($P < 0.05$), 见图7。

3 讨论

TACC蛋白家族的成员是组成中心体的主要蛋白。它们因具有较强的酸性, 且于羧基末端包含一卷曲螺旋区域(现被称为TACC结构域), 同时具有促进细胞转化的活性, 因此被命名为酸性卷曲转化相关蛋白(transforming acidic coiled-coil proteins, TACC)。与非洲爪蟾和其他脊椎动物一样, 人类细胞中共有3种TACC蛋白: TACC1、TACC2、TACC3^[14,15]。TACC3基因定位于染色体4p16.3, 含有高度保守的C-末端卷曲螺旋结构域, 其主要功能是在细胞有丝分裂时保持中心体微管成核稳定和中心体完整性^[3,16-18]。同时TACC3在细胞增殖、分化和基因调控中也起着重要的作用^[19,20]。

大量研究表明, TACC3在乳腺癌^[4]、非小细胞肺癌^[5]、胃癌^[6]、前列腺癌^[21]、骨肉瘤^[22]等患者中高表达, 且其高表达状态与患者生存预后差紧密相关。Qie等^[21]研究发现

TACC3在前列腺癌中显著上调, 并且通过体外和体内实验, 证实TACC3的敲除抑制肿瘤发生和肿瘤生长, 其机制可能与TACC3水平的升高破坏了filamin A与meckelin之间的相互作用, 从而抑制前列腺癌细胞中初级纤毛的形成相关。Zhao等^[22]研究发现骨肉瘤组织和细胞系中TACC3表达显著增加, 并且TACC3敲除后能够抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移和侵袭, 考虑与NF- κ B信号通路相关。本研究采用生物信息学分析方法探讨了TACC3基因在肝癌中的表达情况, 同时分析了其与患者预后的相关性。研究结果认为肝癌组织中的表达水平明显高于正常肝脏组织, 提示TACC3在肝癌的发生发展中可能发挥重要作用。生存分析显示TACC3高表达与肝癌的较短生存期有关。本研究与既往Zhou等^[23]的研究报道结果相一致, 其研究证实肝癌组织标本中TACC3蛋白和mRNA水平均升高。此外, TACC3高表达与总生存率和无病生存率呈正相关, 同时基础实验中TACC3基因敲除或潜在的TACC3抑制剂能够抑制肝癌细胞的增殖、克隆形

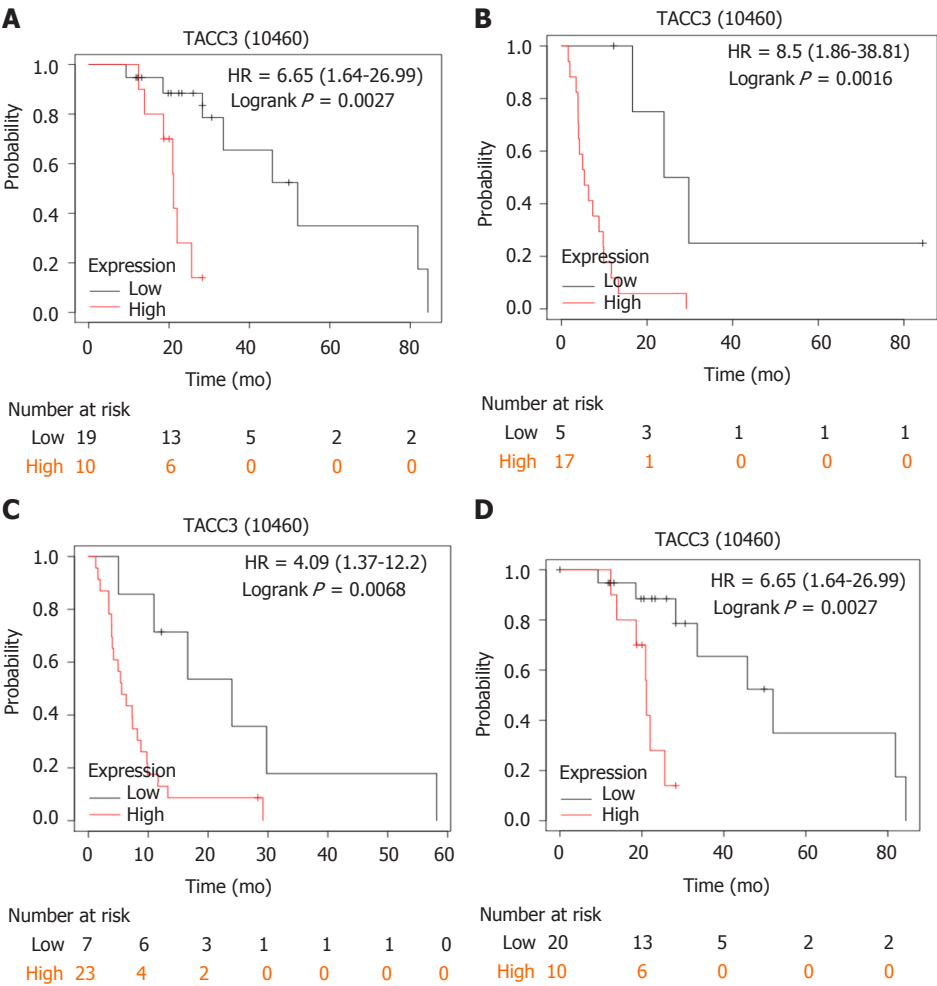


图 6 Kaplan-Meier Plotter数据库中*TACC3*基因表达水平与索拉非尼治疗肝癌患者预后生存的关系。A: 总生存时间; B: 无复发生存时间; C: 无进展生存时间; D: 疾病特异存活率。

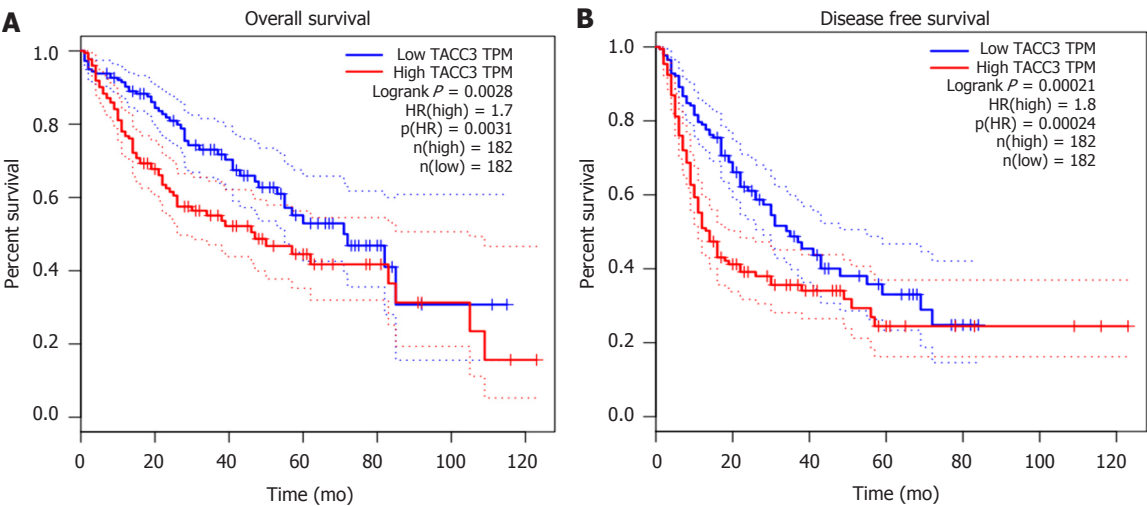


图 7 GEPIA数据库中*TACC3*基因表达与肝癌患者预后生存的关系。A: 总生存时间; B: 无进展生存时间。

成。因此, 阻断*TACC3*有望成为治疗肝癌的新靶点。

4 结论

本研究通过数据挖掘全面分析了*TACC3*基因在肝癌中

的表达及与患者预后的相关性, 对靶向*TACC3*治疗肝癌提供理论依据。但本研究结果均为各数据库挖掘分析数据, 具有一定的局限性, 关于*TACC3*基因是如何调控并促进肝癌的发生、发展及其与各相关信号通路之间的

关系仍不甚明确, 尚需大量基础实验及临床试验进一步探讨。

文章亮点

实验背景

肝癌是恶性肿瘤相关死亡的第四大常见原因, 在发病率方面排名第六位。随着手术、化疗、靶向及免疫治疗方式的进步以及多学科综合治疗方案的普及, 肝癌患者生存期虽然有所延长, 但防控形势依旧严峻。因此, 寻找新的肝癌标志物和潜在治疗靶点, 研究其在肝癌发病过程中的分子机制对于肝癌防控具有重要意义。

实验动机

转录相关酸性卷曲蛋白3(transforming acidic coiled coil protein 3, TACC3)是TACC家族的重要成员, 其受到Aurora-A激酶的调节, 靶向中心体, 在有丝分裂期间对微管生长至关重要。研究表明, *TACC3*基因在乳腺癌, 非小细胞肺癌, 胃癌中高表达, 并与预后较差有关。但是其在肝癌组织中的表达及其与患者预后关系不明。

实验目标

本研究通过生物信息学方法探讨TACC3在肝癌组织的表达情况, 及其与患者的预后关系。

实验方法

检索BioGPS、Oncomine、癌症细胞系百科全书(cancer cell line encyclopedia, CCLE)等数据库, 获取*TACC3*基因在肝癌中的表达数据。应用Kaplan-Meier Plotter、GEPIA数据库分析*TACC3*基因对肝癌患者预后生存的影响。

实验结果

BioGPS数据库分析结果显示*TACC3*基因在人体各组织中均有表达, 肝脏组织中的表达值中位数略高于其他正常组织(8.95 vs 7.1)。从Oncomine数据库检索显示肝癌组织中*TACC3*基因高表达4项, 低表达1项, Meta分析显示与正常肝组织相比*TACC3*基因在肝癌组织中呈高表达状态中位秩(Median Rank) = 442.5, $P < 0.05$ 。CCLE数据库分析显示, 在肝癌细胞系中TACC3 mRNA高表达。Kaplan-Meier Plotter及GEPIA数据库生存分析结果显示, TACC3基因高表达组的肝癌患者总体生存时间(OS)和无进展生存时间(PFS)等生存预后指标均较低表达组差($P < 0.05$)。

实验结论

*TACC3*基因在肝癌组织中呈高表达, 且*TACC3*基因高

表达与肝癌患者生存预后差有关。

展望前景

*TACC3*基因有望成为肝癌靶向治疗或预测预后的潜在分子标志物。

参考文献

- Villanueva A. Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med* 2019; 380: 1450-1462 [PMID: 30970190 DOI: 10.1056/NEJMr1713263]
- 兰蓝, 赵飞, 蔡玥, 武瑞仙, 孟群. 中国居民2015年恶性肿瘤死亡率流行病学特征分析. *中华流行病学杂志* 2018; 39: 32-34 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.01.006]
- Ding ZM, Huang CJ, Jiao XF, Wu D, Huo LJ. The role of TACC3 in mitotic spindle organization. *Cytoskeleton (Hoboken)* 2017; 74: 369-378 [PMID: 28745816 DOI: 10.1002/cm.21388]
- Song H, Liu C, Shen N, Yi P, Dong F, Li X, Zhang N, Huang T. Overexpression of TACC3 in Breast Cancer Associates With Poor Prognosis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2018; 26: 113-119 [PMID: 27258563 DOI: 10.1097/PAL.0000000000000392]
- Jung CK, Jung JH, Park GS, Lee A, Kang CS, Lee KY. Expression of transforming acidic coiled-coil containing protein 3 is a novel independent prognostic marker in non-small cell lung cancer. *Pathol Int* 2006; 56: 503-509 [PMID: 16930330 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2006.01998.x]
- Yun M, Rong J, Lin ZR, He YL, Zhang JX, Peng ZW, Tang LQ, Zeng MS, Zhong Q, Ye S. High expression of transforming acidic coiled coil-containing protein 3 strongly correlates with aggressive characteristics and poor prognosis of gastric cancer. *Oncol Rep* 2015; 34: 1397-1405 [PMID: 26133271 DOI: 10.3892/or.2015.4093]
- Wu C, Orozco C, Boyer J, Leglise M, Goodale J, Batalov S, Hodge CL, Haase J, Janes J, Huss JW 3rd, Su AI. BioGPS: an extensible and customizable portal for querying and organizing gene annotation resources. *Genome Biol* 2009; 10: R130 [PMID: 19919682 DOI: 10.1186/gb-2009-10-11-r130]
- Rhodes DR, Kalyana-Sundaram S, Mahavisno V, Varambally R, Yu J, Briggs BB, Barrette TR, Anstet MJ, Kincead-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]
- Nagy Á, Lánckzy A, Menyhart O, Györfy B. Validation of miRNA prognostic power in hepatocellular carcinoma using expression data of independent datasets. *Sci Rep* 2018; 8: 9227 [PMID: 29907753 DOI: 10.1038/s41598-018-27521-y]
- Tang Z, Li C, Kang B, Gao G, Li C, Zhang Z. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. *Nucleic Acids Res* 2017; 45: W98-W102 [PMID: 28407145 DOI: 10.1093/nar/gkx247]
- Chen X, Cheung ST, So S, Fan ST, Barry C, Higgins J, Lai KM, Ji J, Dudoit S, Ng IO, Van De Rijn M, Botstein D, Brown PO. Gene expression patterns in human liver cancers. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 1929-1939 [PMID: 12058060 DOI: 10.1091/mbc.02-02-0023]
- Roessler S, Jia HL, Budhu A, Forgues M, Ye QH, Lee JS, Thorgerirsson SS, Sun Z, Tang ZY, Qin LX, Wang XW. A unique metastasis gene signature enables prediction of tumor relapse in early-stage hepatocellular carcinoma patients. *Cancer Res* 2010; 70: 10202-10212 [PMID: 21159642 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2607]
- Wurmbach E, Chen YB, Khitrov G, Zhang W, Roayaie S, Schwartz M, Fiel I, Thung S, Mazzaferro V, Bruix J, Bottinger E, Friedman S, Waxman S, Llovet JM. Genome-wide molecular profiles of HCV-induced dysplasia and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2007; 45: 938-947 [PMID: 17393520 DOI: 10.1002/hep.21622]

- 14 Nigg EA, Raff JW. Centrioles, centrosomes, and cilia in health and disease. *Cell* 2009; 139: 663-678 [PMID: 19914163 DOI: 10.1016/j.cell.2009.10.036]
- 15 Peset I, Vernos I. The TACC proteins: TACC-ling microtubule dynamics and centrosome function. *Trends Cell Biol* 2008; 18: 379-388 [PMID: 18656360 DOI: 10.1016/j.tcb.2008.06.005]
- 16 Lappin TR, Mullan RN, Stewart JP, Morgan NA, Thompson A, Maxwell AP. AINT/ERIC/TACC: an expanding family of proteins with C-terminal coiled coil domains. *Leuk Lymphoma* 2002; 43: 1455-1459 [PMID: 12389629 DOI: 10.1080/1042819022386644]
- 17 Thakur HC, Singh M, Nagel-Steger L, Kremer J, Prumbaum D, Fansa EK, Ezzahoini H, Nouri K, Gremer L, Abts A, Schmitt L, Raunser S, Ahmadian MR, Piekorz RP. The centrosomal adaptor TACC3 and the microtubule polymerase chTOG interact via defined C-terminal subdomains in an Aurora-A kinase-independent manner. *J Biol Chem* 2014; 289: 74-88 [PMID: 24273164 DOI: 10.1074/jbc.M113.532333]
- 18 Still IH, Vince P, Cowell JK. The third member of the transforming acidic coiled coil-containing gene family, TACC3, maps in 4p16, close to translocation breakpoints in multiple myeloma, and is upregulated in various cancer cell lines. *Genomics* 1999; 58: 165-170 [PMID: 10366448 DOI: 10.1006/geno.1999.5829]
- 19 Barr AR, Gergely F. Aurora-A: the maker and breaker of spindle poles. *J Cell Sci* 2007; 120: 2987-2996 [PMID: 17715155 DOI: 10.1242/jcs.013136]
- 20 Gangisetty O, Lauffart B, Sondarva GV, Chelsea DM, Still IH. The transforming acidic coiled coil proteins interact with nuclear histone acetyltransferases. *Oncogene* 2004; 23: 2559-2563 [PMID: 14767476 DOI: 10.1038/sj.onc.1207424]
- 21 Qie Y, Wang L, Du E, Chen S, Lu C, Ding N, Yang K, Xu Y. TACC3 promotes prostate cancer cell proliferation and restrains primary cilium formation. *Exp Cell Res* 2020; 390: 111952 [PMID: 32156598 DOI: 10.1016/j.yexcr.2020.111952]
- 22 Zhao C, He X, Li H, Zhou J, Han X, Wang D, Tian G, Sui F. Downregulation of TACC3 inhibits tumor growth and migration in osteosarcoma cells through regulation of the NF- κ B signaling pathway. *Oncol Lett* 2018; 15: 6881-6886 [PMID: 29725420 DOI: 10.3892/ol.2018.8262]
- 23 Zhou DS, Wang HB, Zhou ZG, Zhang YJ, Zhong Q, Xu L, Huang YH, Yeung SC, Chen MS, Zeng MS. TACC3 promotes stemness and is a potential therapeutic target in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2015; 6: 24163-24177 [PMID: 26219398 DOI: 10.18632/oncotarget.4643]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文。以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。(2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。(3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。(4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第 3 套为 ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴。(5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠的有益作用

王立明, 尚惺杰, 朱雅碧, 叶淑芳, 刘央央, 陈勇

王立明, 尚惺杰, 朱雅碧, 叶淑芳, 刘央央, 丽水市人民医院消化内科
浙江省丽水市 323000

陈勇, 丽水市莲都区人民医院普外科 浙江省丽水市 323000

王立明, 本科, 副主任医师, 主要从事炎症性肠病、功能性胃肠疾病和胃肠动力障碍性疾病的临床和基础研究方面的工作。

基金项目: 丽水市公益性技术基金项目, No. 2019SJZC52.

作者贡献分布: 课题由王立明、尚惺杰与朱雅碧设计; 研究过程由王立明和叶淑芳操作完成; 研究所用试剂由王立明提供; 数据分析由王立明、刘央央和陈勇完成; 本论文写作由王立明、尚惺杰和叶淑芳完成。

通讯作者: 王立明, 本科, 副主任医师, 浙江省丽水市莲都区碧湖镇大众街16号, 丽水市人民医院消化内科. wangliming5244@yeah.net

收稿日期: 2021-03-20

修回日期: 2021-04-19

接受日期: 2021-05-11

在线出版日期: 2021-06-08

Electroacupuncture combined with Liumotang has beneficial effects on slow transit constipation in rats

Li-Ming Wang, Xing-Jie Shang, Ya-Bi Zhu, Shu-Fang Ye, Yang-Yang Liu, Yong Chen

Li-Ming Wang, Xing-Jie Shang, Ya-Bi Zhu, Shu-Fang Ye, Yang-Yang Liu, Department of Gastroenterology, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Yong Chen, Department of General Surgery, Lishui Liandu District People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Supported by: Lishui City Public Welfare Technology Fund Project, No. 2019SJZC52.

Corresponding author: Li-Ming Wang, Bachelor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Lishui People's Hospital, No. 16 Dazhong Street, Bihu Town, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. wangliming5244@yeah.net

Received: 2021-03-20

Revised: 2021-04-19

Accepted: 2021-05-11

Published online: 2021-06-08

Abstract BACKGROUND

The morbidity of slow transit constipation (STC) has been increasing year by year, but the efficacy of commonly used clinical treatments is not completely satisfactory. Studies have shown that traditional Chinese medicine, acupuncture, moxibustion, massage, and Chinese medicine application have achieved certain curative effects in the treatment of STC.

AIM

To investigate the therapeutic effects and mechanisms of electroacupuncture combined with Liumotang on STC in rats.

METHODS

An STC rat model was established by feeding rats diphenoxylate, and then rats were treated with electroacupuncture, Liumotang, or electroacupuncture combined with Liumotang. After treatment, the general condition of rats was observed and the number of fecal pellets, fecal water content, and carbon propulsion rate were recorded. ELISA was used to assess the levels of serum nitric oxide (NO) and endothelial nitric oxide synthase (eNOS). The expression of aquaporin 3,8,9 (AQP3,8,9), c-kit, and stem cell factor (SCF) and the activity of PI3K/AKT pathway were evaluated by Western blot assay.

RESULTS

Compared with the electroacupuncture group or Liumotang group, the treatment of electroacupuncture combined with Liumotang could significantly increase the number of fecal pellets in 24 h, fecal water content, and carbon propulsion

rate. Meanwhile, the combined treatment significantly decreased serum NO and eNOS levels in STC rats. Western blot results showed that the treatment of electroacupuncture combined with Liumotang could up-regulate the protein expression of c-kit and SCF, while down-regulate the protein expression of AQP3, AQP8, and AQP9 in the colon tissue of STC rats. Furthermore, the phosphorylation of PI3K and AKT was promoted in the colon tissue of STC rats after the combined treatment.

CONCLUSION

Electroacupuncture combined with Liumotang could relieve the symptoms of STC rats. And this therapeutic effect involves many targets, which is mainly related to regulating water and fluid metabolism, increasing gastrointestinal motility, and promoting gastrointestinal peristaltic.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Electroacupuncture; Liumotang; Slow transit constipation

Citation: Wang LM, Shang XJ, Zhu YB, Ye SF, Liu YY, Chen Y. Electroacupuncture combined with Liumotang has beneficial effects on slow transit constipation in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(11): 585-591

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/585.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i11.585>

摘要

背景

慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)的发病率呈现逐年上升趋势,但目前临床常用的治疗手段的疗效并不完全令人满意。研究显示,中医药、针灸、艾灸、按摩以及中药贴敷等手段对STC的治疗取得了一定的疗效。

目的

研究电针联合六磨汤对STC大鼠的治疗作用和作用机制。

方法

通过饲喂复方苯乙哌啶构建STC大鼠模型,并分别给予电针、六磨汤或电针联合六磨汤进行治疗。治疗结束后,观察大鼠的一般状况,并统计大鼠24 h内排便粒数、粪便含水量和小肠碳末推进率;ELISA检测血清一氧化氮(nitric oxide, NO)和内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)含量。Western blot检测水通道蛋白3、8、9(aquaporin 3,8,9, AQP3,8,9)、c-kit和c-kit配体干细胞因子(stem cell factor, SCF)的表达水平以及PI3K/AKT信号通路的活性。

结果

相较于电针或六磨汤单一治疗组,电针联合六磨汤治疗可显著增加便秘大鼠24 h内的排便粒数和粪便含水量,同时加快碳末推进率。同时,电针联合六磨汤治疗可显著降低便秘大鼠血清中NO和eNOS水平。Western blot的结果显示,电针联合六磨汤治疗可显著上调便秘大鼠结肠组织中c-kit和SCF的蛋白表达水平,下调AQP3、AQP8和AQP9的蛋白表达水平;此外,还可显著促进大鼠结肠组织中PI3K和AKT的磷酸化。

结论

电针联合六磨汤治疗可改善STC大鼠的症状,这种作用涉及多个靶点,主要与调节水液代谢、增加胃肠动力以及促进胃肠蠕动等相关。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 电针; 六磨汤; 慢传输型便秘

核心提要: 电针联合六磨汤可显著改善慢传输型便秘大鼠的症状。且,这种治疗作用主要体现在:促进小肠推进,调节便秘大鼠的小肠传输功能;上调SCF/c-kit信号通路促进Cajal间质细胞数量,影响结肠的慢波电位,增加肠道动力;通过PI3K/AKT信号通路抑制eNOS合成NO,促进胃肠蠕动;抑制水通道蛋白的表达,调节水液代谢,增加粪便的含水量。

文献来源: 王立明, 尚惺杰, 朱雅碧, 叶淑芳, 刘央央, 陈勇. 电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠的有益作用. *世界华人消化杂志* 2021; 29(11): 585-591

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/585.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i11.585>

0 引言

慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)是常见的便秘类型,主要表现为结肠蠕动动力降低而致使结肠通过时间的延长并导致粪便滞留于结肠部^[1]。STC患者除自感腹胀腹痛外,还可出现恶心、头晕等症状,严重者甚至可致肠梗阻、肠穿孔等危及事件^[1,2]。流行病学调查研究显示,随着人口老龄化的出现以及饮食结构的改变,各类型慢性便秘的发病率呈现逐年上升趋势。STC不仅影响患者的生活质量,甚至导致一系列精神心理问题和不良心血管事件^[3]。目前,STC的治疗手段主要是手术或西药(西沙比利等),但这些治疗手段往往存在术后并发症或不良反应,进一步增加患者的痛苦^[2,4]。而STC的病因复杂,发病过程中不仅有多种激素和神经递质的

参与, 还会同时出现多种胃肠微结构的异常, 这导致了药物的治疗难度^[5-6]. 近年来大量研究显示, 中医药、针灸、艾灸、按摩以及中药贴敷等手段对STC的治疗取得了一定的疗效^[7-9]. 故本研究拟通过STC大鼠模型, 结合中医对本病的认知及已有的研究成果, 探讨电针疗法联合传统方剂六磨汤在STC中的治疗作用, 并从结肠动力学和水液代谢等方面分析其可能的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试剂: 血清NO及eNOS检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所; p-PI3K和PI3K抗体购自上海泊湾生物科技有限公司; p-AKT和AKT抗体购自美国Affinity Biosciences公司; AQP3、AQP8和AQP9抗体购自美国Santa Cruz公司; c-kit、SCF、 β -actin和GAPDH抗体购自美国Abcam公司; 复方苯乙哌啶片剂购自于常州康普药业有限公司. 六磨汤方剂出自《世医得效方》, 由我院中药房提供并制备水煎剂(2 g/mL).

1.1.2 实验动物: 50只SPF级雄性SD大鼠(200 ± 20 g)购自浙江维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(浙)2019-0001], 实验动物均饲养在条件可控(室温维持在 22 ± 2 °C、湿度维持在50%-70%)的动物房.

1.2 方法

1.2.1 模型构建和分组处理: 大鼠应用普通饲料适应性饲养一周后完全随机分为两组: 对照组(Con)10只, 给予普通饲料正常喂养; 剩余40只给予含复方苯乙哌啶的饲料(8 mg/kg·d, 连续饲养120 d)建立STC模型. 随后将造模成功的40只大鼠随机分为模型组(STC, 10只), 电针治疗组(EA, 10只), 六磨汤治疗组(LMT, 10只)以及电针和六磨汤联合治疗组(EA+LMT, 10只). 电针治疗组大鼠选取支沟、足三里和上巨虚进行电针治疗(2 Hz/100 Hz疏密波, 留针15 min, 共15 d), 六磨汤治疗组每天灌胃六磨汤(10 ml/kg·d, 共15 d), 联合治疗组同时接受电针治疗和六磨汤灌胃. STC组大鼠每天给予等体积生理盐水灌胃.

1.2.2 大鼠一般行为观察与检测: 每日按照肉眼主观观察大鼠的皮毛色泽、精神状态(反应和动作是否灵敏)、食纳(摄食状态)和大便形态, 并记录大鼠体重. 在实验结束时, 按照客观指标统计上述情况, 客观实验描述如下:

皮毛状态按照皮毛泽度和浓密程度评估, 浓密光亮记2分, 浓密无光泽记1分, 稀疏枯黄记0分; 精神状态按照旷场实验中大鼠活动度评估. 首先将大鼠在安静、无人的行为实验室适应20 min. 然后将大鼠均放入旷场箱(100 cm×100 cm×50 cm; 长×宽×高; 箱底

均分25个20 cm×20 cm的方格)的中间方格, 用视频记录仪录像9 min, 并通过回放记录大鼠中间3 min内穿越的方格数. 大鼠活动度以3 min内穿越的总方格数表示.

摄食和排便情况检测: 将大鼠转移至代谢笼(每笼1只大鼠)中, 允许大鼠自由活动. 早上8:00放入50 g饲料, 次日8:00收集称量剩余饲料, 并计算大鼠24 h摄食量(投放饲料量-剩余饲料量), 大鼠食纳欲望按照大鼠24 h摄食量(g)/体重(g)来评估. 收集24 h内的排便并计数排便粒数. 称量粪便重量(记为湿重); 随后60 °C烘箱内烘干24 h, 再次称重(记为干重). 粪便含水量(%)=(湿重-干重)/干重×100%.

1.2.3 小肠推进检测: 实验结束时, 大鼠禁食12 h, 然后对大鼠灌胃10%活性炭混悬液, 每只灌胃2 mL. 30 min后, 麻醉处死大鼠并暴露腹腔, 将幽门至回盲部的小肠管取出并轻柔拉直, 测量炭末推进长度(cm)和小肠管的总长度(cm). 炭末推进率(%) = 炭末推进长度/小肠管总长度×100%.

1.2.4 ELISA: 麻醉后提取腹主动脉血液, 室温条件下, 静置30 min, 随后经冷冻离心机以3000 rpm离心10 min收集血清. 依据试剂盒操作说明书步骤, 用ELISA法检测血清中NO和eNOS的含量.

1.2.5 Western Blot: 取各组大鼠结肠组织进行匀浆处理, 并利用RIPA裂解液提取组织总蛋白. 之后依据BCA蛋白定量试剂盒测定所提蛋白的浓度并定量. 每个样品取70 μ g蛋白并加入4倍体积的蛋白上样缓冲液, 煮沸变性, 经小型垂直电泳装置行10% SDS-PAGE电泳. 随后将凝胶上的蛋白转移至PVDF膜. 取出PVDF膜置于5%脱脂乳中室温封闭60 min. 按抗体说明书推荐的浓度加入相应的一抗, 置于4 °C冰箱中振摇孵育过夜. 次日复温并用TBST缓冲液漂洗, 随后加入相对应的HRP标记二抗, 室温条件下振摇孵育90 min. 再次用TBST缓冲液漂洗, 并转移至暗室中洒上ECL化学发光液显影, 利用胶片曝光目的条带. 冲洗后, 采用Image J软件对蛋白的表达进行半定量分析.

统计学处理 所得结果表示为均数±标准差(mean±SD), 并利用Graphpad Prism 8统计学软件进行统计分析. 多组数据之间的比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 多组数据间均数的两两比较选用Bonferroni法. $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 电针联合六磨汤对STC大鼠一般资料和排便情况的影响 一般行为资料观察结果(表1)显示, 对照组大鼠精神状态佳、皮毛柔软光亮、食纳佳; 与对照组比较, STC模型组大鼠体型消瘦(体重显著减轻)、皮毛枯黄稀

表 1 各组大鼠的一般行为资料结果比较

Group	Body weight (g)	Hair score	Food intake desire ($\times 10^{-3}$)	Locomotor activity (<i>n</i>)
Con	384.25 \pm 26.13	1.89 \pm 0.12	73.63 \pm 11.78	73.26 \pm 18.64
STC	177.38 \pm 14.34 ^a	0.54 \pm 0.23 ^a	40.23 \pm 6.24 ^a	25.78 \pm 8.71 ^a
EA	215.43 \pm 20.82 ^{bc}	1.14 \pm 0.32 ^{bc}	58.32 \pm 9.72 ^{bc}	49.56 \pm 9.28 ^{bc}
LMT	236.89 \pm 21.25 ^{bc}	1.23 \pm 0.35 ^{bc}	60.62 \pm 8.75 ^{bc}	52.69 \pm 14.25 ^{bc}
EA+LMT	268.39 \pm 18.26 ^b	1.31 \pm 0.38 ^b	64.75 \pm 14.54 ^b	56.84 \pm 15.48 ^b

n = 10. mean \pm SD, ^a*P* < 0.05 vs Con组; ^b*P* < 0.05 vs STC组; ^c*P* < 0.05 vs EA+LMT组.

表 2 电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠排便情况的影响

Group	Number of fecal pellets	Fecal water content (%)	Carbon propulsion rate (%)
Con	50.37 \pm 3.48	47.63 \pm 4.02	69.74 \pm 4.82
STC	17.56 \pm 1.52 ^a	20.18 \pm 2.57 ^a	30.55 \pm 2.16 ^a
EA	31.09 \pm 1.08 ^{bc}	30.14 \pm 1.06 ^{bc}	42.39 \pm 3.47 ^{bc}
LMT	26.89 \pm 2.31 ^{bc}	34.59 \pm 1.65 ^{bc}	45.58 \pm 2.96 ^{bc}
EA+LMT	48.16 \pm 1.33 ^b	45.74 \pm 2.1 ^b	62.87 \pm 3.59 ^b

n = 10. mean \pm SD, ^a*P* < 0.05 vs Con组; ^b*P* < 0.05 vs STC组; ^c*P* < 0.05 vs EA+LMT组.

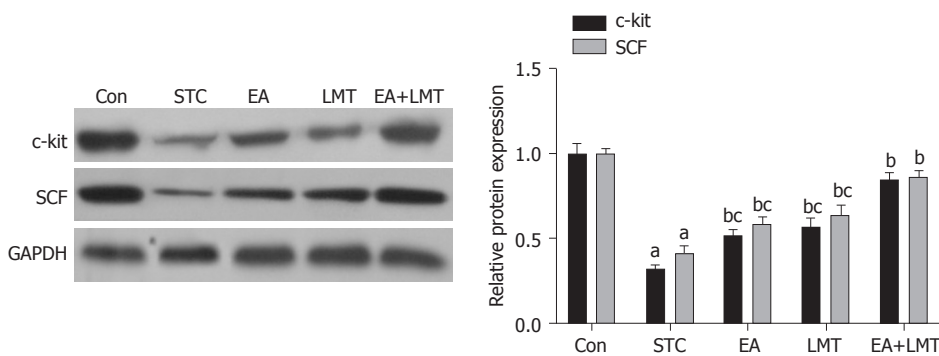


图 1 电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠结肠组织中c-kit 和 SCF表达的影响. *n* = 10. mean \pm SD, ^a*P* < 0.05 vs Con组; ^b*P* < 0.05 vs STC组; ^c*P* < 0.05 vs EA+LMT组.

疏(皮毛积分显著降低)、食纳不佳、精神萎靡(旷场试验中大鼠跨越方格数显著降低)、与STC模型组比较, 电针治疗组、六磨汤治疗组以及联合治疗组大鼠体重明显增加、皮毛积分升高、食纳欲增加、精神状态转好.

大鼠排便情况的统计学结果显示(表2), 与Con组比较, STC组大鼠24 h排便粒数和粪便含水率均显著降低; 此外, 小肠碳末推进率显著减慢. 与STC组相比, 电针治疗、六磨汤治疗以及联合治疗均可显著增加大鼠24 h排便粒数和粪便含水率; 同时加快小肠碳末推进率. 此外, 相较于电针或六磨汤单一治疗, 联合治疗的效果更为显著.

2.2 电针联合六磨汤对STC大鼠结肠组织中c-kit和SCF表达的影响 Western blot实验结果显示, 与Con组相比, STC组大鼠结肠组织中c-kit及其配体SCF的蛋白表达水

平显著降低; 与STC组比较, 电针治疗、六磨汤治疗以及联合治疗均可显著上调大鼠结肠组织中c-kit及其配体SCF的蛋白表达水平. 相较于EA和LMT组, EA + LMT组大鼠结肠组织中c-kit和SCF的蛋白表达水平显著升高(图1).

2.3 电针联合六磨汤对STC大鼠血清NO和eNOS含量的影响 ELISA检测结果(图2)显示, 与Con组相比, STC组大鼠血清中NO和eNOS的含量显著增加(*P* < 0.01); 与STC组比较, EA和LMT组大鼠血清中NO和eNOS水平未出现显著变化, 而EA + LMT组大鼠血清中NO和eNOS水平显著降低.

2.4 电针联合六磨汤对STC大鼠结肠组织PI3K/AKT信号通路的影响 Western blot实验结果显示, 与Con组相比, STC组大鼠结肠组织中p-PI3K/PI3K和p-AKT/AKT的表

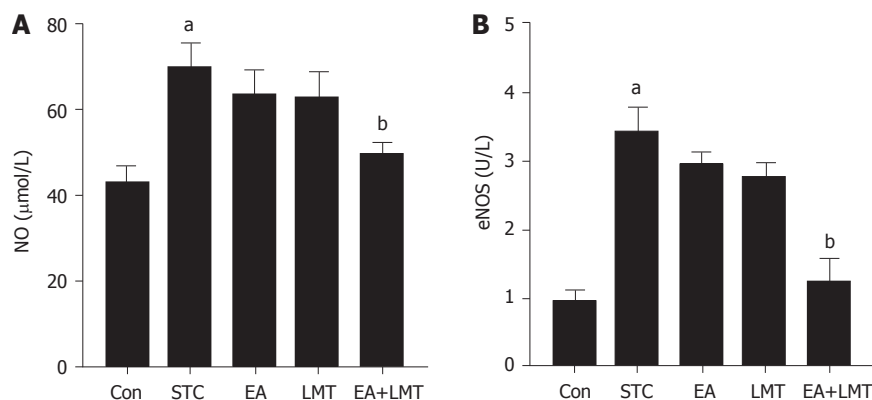


图2 电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠血清中NO和eNOS水平的影响. A: NO; B: eNOS. $n = 10$. mean \pm SD, ^a $P < 0.05$ vs Con组; ^b $P < 0.05$ vs STC组.

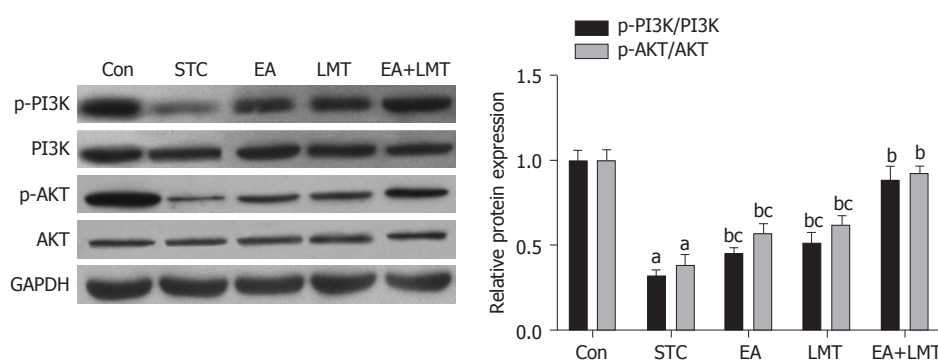


图3 电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠结肠组织PI3K/AKT信号通路的影响. $n = 10$. mean \pm SD, ^a $P < 0.05$ vs Con组; ^b $P < 0.05$ vs STC组; ^c $P < 0.05$ vs EA+LMT组.

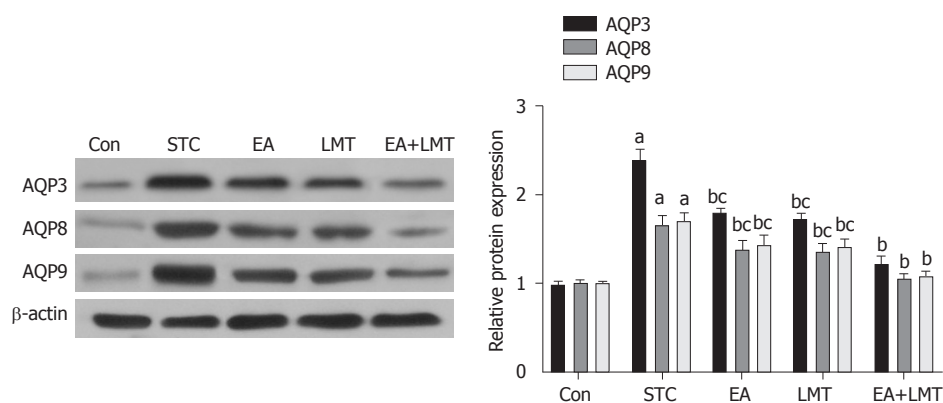


图4 电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠结肠组织中AQP3、AQP8和AQP9表达的影响. $n = 10$. mean \pm SD, ^a $P < 0.05$ vs Con组; ^b $P < 0.05$ vs STC组; ^c $P < 0.05$ vs EA+LMT组.

达水平显著降低;与STC组比较,电针治疗、六磨汤治疗以及联合治疗均可显著促进大鼠结肠组织中PI3K和AKT的磷酸化.相较于EA和LMT组,EA+LMT组大鼠结肠组织中p-PI3K/PI3K和p-AKT/AKT的表达水平显著升高(图3).

2.5 电针联合六磨汤对STC大鼠结肠组织中AQP3、AQP8和AQP9表达的影响 Western blot实验结果显示,与Con组相比,STC组大鼠结肠组织中AQP3、AQP8和

AQP9的蛋白表达水平显著升高;与STC组比较,电针治疗、六磨汤治疗以及联合治疗均可显著下调大鼠结肠组织中AQP3、AQP8和AQP9的蛋白表达水平.相较于EA和LMT组,EA+LMT组大鼠结肠组织中AQP3、AQP8和AQP9的蛋白表达水平显著降低(图4).

3 讨论

传统中医药在治疗便秘中有着独特的优势和较好的治

疗效果, 且近年来, 中医药和针灸疗法在人群中逐渐推广开来, 给STC这种慢性复杂性疾病的治疗提供了更多的治疗手段. 本研究依据前期的实验结果制定了电针取穴联合传统方剂六磨汤的综合调理方案. 根据“和治内腑”的理论, 选取支沟(便秘要穴)、足三里(胃的下合穴)和上巨虚(大肠的下合穴)进行电针治疗. 六磨汤则是出自《世医得效方》治疗便秘的传统方剂, 主要由大黄、木香、乌药、沉香、枳壳和槟榔组方, 起到理气导滞的功效. 研究结果发现, 电针、六磨汤以及电针联合六磨汤治疗均可以改善STC大鼠的精神状态, 还可增加其24 h排便粒数和粪便含水量, 同时加快小肠碳末推进率. 相较于电针或六磨汤单一治疗组, 电针联合六磨汤治疗对于改善大鼠排便情况具有更好的效果. 这一结果提示, 电针与六磨汤可缓解STC, 且两者具有协同作用.

STC的病因复杂, 目前对其发病机制的研究主要集中在肠道神经系统(enteric nervous system, ENS)及神经递质异常、胃肠运动的起搏细胞Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)数量和结构的改变、胃肠激素水平异常、肠道菌群失调以及精神心理因素等^[4,10-12]. 其中, ICC是位于胃肠道环形肌层和纵行肌层之间的一群间质细胞, 可调节胃肠道平滑肌的运动^[4]. Wang等^[13]的研究表明, STC便秘患者的结肠ICC密度显著降低, 且基膜消融, 突起间连接杂乱, 不能形成完整的网络. C-kit则是ICC膜上特异性表达的一种酪氨酸激酶受体; 可通过与配体SCF的结合进一步启动下游信号通路, 调控ICC的生长发育并维持其表型^[14]. 本研究发现, 电针及六磨汤治疗可显著上调STC大鼠结肠组织中c-kit及其配体SCF的蛋白表达水平, 且两者对于c-kit和SCF表达的调控具有协同作用. 结果表明, 电针联合六磨汤缓解STC可能与调控ICC的生长发育相关.

此外, STC与ENS和神经递质的失调具有密切的关系. NO是ENS中一种主要的抑制性递质, 可通过减少肠道平滑肌细胞内的Ca²⁺浓度抑制细胞收缩, 减弱肠道蠕动^[15]. 而eNOS则是合成内源性NO的主要限速酶, 研究表明, 通过下调NOS抑制NO的产生是缓解便秘的可行途径之一^[16]. 本研究发现, 电针联合六磨汤治疗可显著降低STC大鼠血清中NO和eNOS水平. 但电针或六磨汤单一治疗对STC大鼠血清中的NO和eNOS水平影响并不显著, 可能是由于样本量小的缘故. 在调控eNOS合成的上游酶系中, PI3K/AKT信号通路是机体中研究较多, 作用较明确的信号通路之一, 它可广泛参与调控细胞的增殖、凋亡、代谢以及分化等病理生理过程^[17,18]. 故而本研究进一步检测了电针联合六磨汤治疗对PI3K/AKT信号通路的影响, 结果显示, 电针及六磨汤可协同促进STC大鼠结肠组织中PI3K和AKT的磷酸化.

众所周知, 结肠中水液代谢异常也可导致粪便干结, 排出困难. 水通道蛋白(AQPs)是细胞膜上的一种跨膜转运蛋白, 主要负责介导水分子的跨膜转运, 其中在哺乳动物的消化系统中存在AQP1、AQP3、AQP4、AQP8、AQP9、AQP10等9种AQPs的表达^[19]. 越来越多的研究也证实结肠中AQPs的异常表达与STC的发生密切相关^[20,21]. 本研究发现, 电针及六磨汤可协同降低STC大鼠结肠组织中AQP3、AQP8和AQP9的蛋白表达水平. 结果提示, 该电针联合六磨汤治疗方案可能通过减少水通道蛋白的表达, 抑制结肠中水分的重吸收, 增加粪便含水量, 从而改善便秘症状.

4 结论

综上, 电针联合六磨汤可显著改善STC大鼠的症状. 且, 这种治疗作用主要体现在: 促进小肠推进, 调节便秘大鼠的小肠传输功能; 上调SCF/c-kit信号通路促进ICC数量, 影响结肠的慢波电位, 增加肠道动力; 通过PI3K/AKT信号通路抑制NOS合成NO, 促进胃肠蠕动; 抑制水通道蛋白的表达, 调节水液代谢, 增加粪便的含水量.

文章亮点

实验背景

随着人口老龄化进程的加快以及饮食结构的改变, 慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)的发病率也呈增加趋势. 但, 目前常用的STC治疗策略的疗效差强人意, 且存在明显的不良反应.

实验动机

中医综合疗法对STC的治疗取得了一定的疗效, 但尚未形成系统治疗方案.

实验目标

通过建立STC大鼠模型, 探讨电针联合六磨汤对STC的疗效和机制.

实验方法

将大鼠分为对照组, 模型组, 电针治疗组, 六磨汤治疗组和电针+六磨汤联合治疗组. 观察大鼠的一般行为和排便情况. 收集大鼠的血液样本和结肠组织, 用于后续的ELISA检测和Western blot分析.

实验结果

电针和六磨汤在改善STC大鼠的症状方面具有协同治疗作用. 机制研究显示, 电针和六磨汤能协同上调结肠组织中SCF、c-kit、p-PI3K和p-AKT的蛋白表达, 下调

AQP3、AQP8和AQP9的蛋白表达。

实验结论

电针联合六磨汤联合治疗方案可通过调节水液代谢、增加胃肠动力以及促进胃肠蠕动来改善STC大鼠的症状。

展望前景

电针联合六磨汤联合治疗方案是潜在的且有前景的用于STC治疗的方案。

5 参考文献

- Sailer M. [Slow Transit Constipation]. *Zentralbl Chir* 2019; 144: 179-189 [PMID: 30978764 DOI: 10.1055/a-0860-5960]
- Camilleri M, Ford AC, Mawe GM, Dinning PG, Rao SS, Chey WD, Simrén M, Lembo A, Young-Fadok TM, Chang L. Chronic constipation. *Nat Rev Dis Primers* 2017; 3: 17095 [PMID: 29239347 DOI: 10.1038/nrdp.2017.95]
- Jani B, Marsicano E. Constipation: Evaluation and Management. *Mo Med* 2018; 115: 236-240 [PMID: 30228729]
- Sharma A, Rao S. Constipation: Pathophysiology and Current Therapeutic Approaches. *Handb Exp Pharmacol* 2017; 239: 59-74 [PMID: 28185025 DOI: 10.1007/164_2016_111]
- 朱国栋, 朱安龙. 慢传输型便秘病因机制研究进展. *医学综述* 2020; 26: 4623-4628 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2020.23.009]
- 张东旭, 朱安龙. 慢传输型便秘的发病机制与诊治. *中华胃肠外科杂志* 2016; 19: 1447-1450 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2016.12.034]
- 黄业保, 肖倩, 刘春强. 中医药治疗慢传输型便秘的临床研究进展. *中医临床杂志* 2020; 32: 1579-1582 [DOI: 10.16448/j.cjtc.2020.0847]
- 王波, 陈艳萍, 陈苏宁. 针灸联合胃痛消痞方加减治疗慢传输型便秘临床观察. *中国针灸* 2017; 37: 130-134 [DOI: 10.13703/j.0255-2930.2017.02.006]
- Sun Y, Yan C, Jin S, Shi C, Zhao J, Li G. Curative Effect and Mechanism of Guiren Runchang Granules on Morphine-Induced Slow Transit Constipation in Mice. *Evid Based Complement Alternat Med* 2020; 2020: 5493192 [PMID: 33029167 DOI: 10.1155/2020/5493192]
- Frieling T, Kreysel C, Blank M, Müller D, Melchior I, Euler P, Kuhlbusch-Zicklam R, Haarmeier T, Schemann M. Autoimmune encephalitis and gastrointestinal dysmotility: achalasia, gastroparesis, and slow transit constipation. *Z Gastroenterol* 2020; 58: 975-981 [PMID: 33036051 DOI: 10.1055/a-1233-2190]
- Knowles CH, Farrugia G. Gastrointestinal neuromuscular pathology in chronic constipation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 43-57 [PMID: 21382578 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.12.001]
- Yılmaz TU, Taş Hİ, Uçar E, Cerit C, Çelebi A, Güler SA, Utkan Z. Relationship between functional constipation and anal-retentive behavior features. *Turk J Surg* 2019; 35: 165-170 [PMID: 32550323 DOI: 10.5578/turksurg.4035]
- Wang YB, Ling J, Zhang WZ, Li G, Qiu W, Zheng JH, Zhao XH. Effect of bisacodyl on rats with slow transit constipation. *Braz J Med Biol Res* 2018; 51: e7372 [PMID: 29846410 DOI: 10.1590/1414-431x20187372]
- Jiang F, Zhou JY, Wu J, Tian F, Zhu XX, Zhu CL, Yang BL, Chen YG. Yangyin Runchang Decoction Improves Intestinal Motility in Mice with Atropine/Diphenoxylate-Induced Slow-Transit Constipation. *Evid Based Complement Alternat Med* 2017; 2017: 4249016 [PMID: 29403536 DOI: 10.1155/2017/4249016]
- Groneberg D, Voussen B, Friebe A. Integrative Control of Gastrointestinal Motility by Nitric Oxide. *Curr Med Chem* 2016; 23: 2715-2735 [PMID: 27528058 DOI: 10.2174/0929867323666160812150907]
- Zhu F, Xu S, Zhang Y, Chen F, Ji J, Xie G. Total Glucosides of Paeony Promote Intestinal Motility in Slow Transit Constipation Rats through Amelioration of Interstitial Cells of Cajal. *PLoS One* 2016; 11: e0160398 [PMID: 27478893 DOI: 10.1371/journal.pone.0160398]
- Villegas SN, Gombos R, García-López L, Gutiérrez-Pérez I, García-Castillo J, Vallejo DM, Da Ros VG, Ballesta-Illán E, Mihály J, Dominguez M. PI3K/Akt Cooperates with Oncogenic Notch by Inducing Nitric Oxide-Dependent Inflammation. *Cell Rep* 2018; 22: 2541-2549 [PMID: 29514083 DOI: 10.1016/j.celrep.2018.02.049]
- Gong AG, Lau KM, Zhang LM, Lin HQ, Dong TT, Tsim KW. Danggui Buxue Tang, Chinese Herbal Decoction Containing Astragali Radix and Angelicae Sinensis Radix, Induces Production of Nitric Oxide in Endothelial Cells: Signaling Mediated by Phosphorylation of Endothelial Nitric Oxide Synthase. *Planta Med* 2016; 82: 418-423 [PMID: 26824621 DOI: 10.1055/s-0035-1558332]
- Li C, Wang W. Molecular Biology of Aquaporins. *Adv Exp Med Biol* 2017; 969: 1-34 [PMID: 28258563 DOI: 10.1007/978-94-024-1057-0_1]
- Zhan Y, Tang X, Xu H, Tang S. Maren Pills Improve Constipation via Regulating AQP3 and NF-κB Signaling Pathway in Slow Transit Constipation In Vitro and In Vivo. *Evid Based Complement Alternat Med* 2020; 2020: 9837384 [PMID: 32774435 DOI: 10.1155/2020/9837384]
- Sun LL, Jiang HB, Liu BY, Li WD, Du AL, Luo XQ, Li XQ. Effects of rhein on intestinal transmission, colonic electromyography and expression of aquaporin-3 by colonic epithelium cells in constipated mice. *Int J Clin Exp Pathol* 2018; 11: 614-623 [PMID: 31938147]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌患者的临床效果及安全性分析

张炼, 钟津津, 许远, 张腮莉, 王磊, 徐晓翌

张炼, 钟津津, 许远, 王磊, 徐晓翌, 浙江省衢州市中医院肿瘤科 浙江省衢州市 324002

张腮莉, 浙江衢化医院肿瘤科 浙江省衢州市 324004

张炼, 大学本科, 主治医师, 主要从事消化道肿瘤的中西医结合治疗。

作者贡献分布: 本文文献搜集、数据、论文撰写由张炼、钟津津、许远、张腮莉及王磊共同完成; 徐晓翌对研究设计、文章的框架构思与写作进行指导及修改。

通讯作者: 徐晓翌, 主任医师, 肿瘤科主任, 324002, 浙江省衢州市柯城区衢化路117号, 浙江省衢州市中医院肿瘤科. 2510244063@qq.com

收稿日期: 2020-12-15

修回日期: 2021-03-17

接受日期: 2021-05-11

在线出版日期: 2021-06-08

Clinical efficacy and safety of self-made Jiedu Kangai decoction combined with chemotherapy in treatment of patients with advanced colon cancer

Lian Zhang, Jin-Jin Zhong, Yuan Xu, Sai-Li Zhang, Lei Wang, Xiao-Yi Xu

Lian Zhang, Jin-Jin Zhong, Yuan Xu, Lei Wang, Xiao-Yi Xu, Department of Oncology, Quzhou Municipal Hospital of TCM, Quzhou 324002, Zhejiang Province, China

Sai-Li Zhang, Department of Oncology, Zhejiang Quhua Hospital, Quzhou 324004, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Xiao-Yi Xu, Chief Physician, Head of Department, Department of Oncology, Quzhou Municipal Hospital of TCM, No. 117 Quhua Road, Quzhou 324002, Zhejiang Province, China. 2510244063@qq.com

Received: 2020-12-15

Revised: 2021-03-17

Accepted: 2021-05-11

Published online: 2021-06-08

Abstract BACKGROUND

Colon cancer is the fifth most frequently diagnosed cancer and the fifth leading cause of cancer death in China. Systematic therapy with chemicals and targeted agents have established their status as palliative treatment; however, they always resulted in limited efficacy and obvious toxicities.

AIM

To evaluate the efficacy and safety profile of self-made Jiedu Kangai decoction in combination with chemotherapy in patients with advanced colon cancer.

METHODS

A total of 104 patients with advanced colon cancer who were admitted to our hospital from January 2017 to January 2019 were selected and divided into either a control group or an observation group (52 cases in each) using the random number table method. Both groups were given XELOX regimen chemotherapy, and the observation group was additionally given self-made Jiedu Kangai decoction. Outcomes including objective response rate (ORR), as well as changes in parameters including CA19-9, TGF- β , TNF- α , IL-17, ALT, AST, Cr, BUN, T cells, KPS, and VAS, were evaluated.

RESULTS

After two cycles of treatment in both groups, ORR was significantly higher in the observation group compared to the control group (67.31% vs 44.23%, $P < 0.05$). Serum levels of CEA, TK1, CA19-9, TGF- β , TNF- α , and IL-17, as well as CD8⁺ T cells were significantly lower in the observation group ($P < 0.05$). However, CD3⁺ and CD4⁺

T cells were significantly higher in the observation group ($P < 0.05$). There was no statistical differences observed for serum levels of ALT, AST, Cr, and BUN between the groups. KPS status and VAS scores were significantly better in the observation group ($P < 0.05$). The incidences of adverse events including leucopenia (23.08% vs 57.69%), neurotoxicity (19.23% vs 40.38%), and gastrointestinal toxicities (40.38% vs 71.15%) were significant lower in the observation group ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Combination therapy with self-made Jiedu Kangai decoction and chemotherapy has better efficacy, can better relieve pain, improve life quality, enhance T cell-mediated immunity, and suppress inflammation, and is association with lower incidence rates of adverse events compared to chemotherapy alone.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Self-made Jiedu Kangai decoction; Chemotherapy; Advanced colon cancer; Carcinoembryonic antigen; Thymidine kinase 1; Carbohydrate antigen 199

Citation: Zhang L, Zhong JJ, Xu Y, Zhang SL, Wang L, Xu XY. Clinical efficacy and safety of self-made Jiedu Kangai decoction combined with chemotherapy in treatment of patients with advanced colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(11): 592-600

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/592.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i11.592>

摘要

背景

结肠癌是我国最常见的癌症, 发病率、死亡率在全部恶性肿瘤中均位居第5位。化疗成为其主要治疗手段之一, 但毒副作用明显, 影响患者治疗依从性。

目的

探究自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌患者的临床效果及安全性。

方法

选取我院2017-01/2019-01收治的晚期结肠癌患者104例作为研究对象, 按照随机数字表法分组, 各52例。对照组给予XELOX方案化疗, 观察组在对照组基础上给予自拟解毒抗癌汤剂。比较两组总有效率、治疗前后血清肿瘤标志物[癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、胸苷激酶1 (thymidine kinase 1, TK1)、糖类抗原199 (carbohydrate antigen 199, CA199)]水平、T淋巴细胞亚群($CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$)、炎症因子[转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、

白介素-17 (interleukin-17, IL-17)]、视觉模拟评分法 (visual analogue scoring, VAS)、Karnofsky功能状态 (karnofsky functional status, KPS)评分、肝肾功能指标[丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、肌酐(creatinine, Cr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)]水平及不良反应。

结果

观察组总有效率(67.31%)高于对照组(44.23%) ($P < 0.05$); 观察组治疗2个疗程后血清CEA、TK1、CA199低于对照组($P < 0.05$); 观察组治疗2个疗程后 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 高于对照组, $CD8^+$ 低于对照组($P < 0.05$); 观察组治疗2个疗程后血清TGF- β 、TNF- α 、IL-17低于对照组($P < 0.05$); 观察组治疗2个疗程后VAS评分低于对照组, KPS评分高于对照组($P < 0.05$); 观察组治疗2个疗程后ALT、AST、Cr、BUN水平与对照组差异无学意义($P > 0.05$); 观察组白细胞下降、神经毒性、胃肠不适发生率(23.08%、19.23%、40.38%)低于对照组(57.69%、40.38%、71.15%) ($P < 0.05$)。

结论

自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌, 具有良好的抗癌作用, 并能减轻患者疼痛, 提高患者生活质量, 改善患者T细胞免疫功能, 抑制机体炎症反应, 降低不良反应发生率。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 自拟解毒抗癌汤剂; 化疗; 晚期结肠癌; CEA; TK1; CA199

核心提要: 结肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一, 发病率及死亡率高, 早期不易发现, 在就诊时多数已属于晚期, 严重威胁着国人的身体健康。化学药物和靶向药物的系统治疗已经确立了姑息治疗的地位, 但全身化疗往往疗效不尽如人意, 且伴随着较为明显的毒副反应。本研究从临床效果、免疫功能、血清肿瘤标志物等观察, 探讨自拟解毒抗癌汤剂联合化疗的应用价值及安全性。

文献来源: 张炼, 钟津津, 许远, 张慧利, 王磊, 徐晓翌. 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌患者的临床效果及安全性分析. *世界华人消化杂志* 2021; 29(11): 592-600

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/592.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i11.592>

0 引言

2015中国癌症统计数据显示, 我国结直肠癌发病率、死亡率在全部恶性肿瘤中均位居第5位, 其中新发病例37.6

表 1 两组临床资料对比

资料	观察组(<i>n</i> = 52)	对照组(<i>n</i> = 52)	<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)	63.25 ± 7.26	63.19 ± 7.33	0.042	0.967
体质量指数(kg/m ²)	22.51 ± 1.26	22.46 ± 1.19	0.208	0.836
性别(女/男)	22/30	27/25	0.965	0.326
T分期				
T3	21 (40.38)	24 (46.15)	0.353	0.553
T4	31 (59.62)	28 (53.85)		
N分期				
N1	25 (48.08)	20 (38.46)	0.154	0.695
N2	27 (51.92)	32 (61.54)		
M分期				
M0	2 (3.85)	5 (9.62)	0.613	0.434
M1	50 (96.15)	47 (90.38)		
分化程度				
低分化	12 (23.08)	10 (19.23)	0.736	0.692
中分化	15 (28.85)	19 (36.54)		
高分化	25 (48.08)	23 (44.23)		
合并疾病				
高脂血症	9 (17.31)	11 (21.15)	0.248	0.619
糖尿病	6 (11.54)	8 (15.38)	0.330	0.566
心脏病	4 (7.69)	2 (3.85)	0.177	0.674
高血压	5 (9.62)	3 (5.77)	0.135	0.713

表 2 两组治疗效果比较 n (%)

组别	例数	CR	PR	SD	PD	总有效率
观察组	52	0 (0)	20 (38.46)	15 (28.85)	17 (32.69)	35 (67.31)
对照组	52	0 (0)	15 (28.85)	8 (15.38)	29 (55.77)	23 (44.23)
χ^2						5.613
<i>P</i>						0.018

表 3 两组血清肿瘤标志物水平比较(mean ± SD)

时间	组别	例数	CEA (μg/mL)	TK1 (pmol/L)	CA199 (U/L)
治疗前	观察组	52	18.55 ± 2.49	4.62 ± 1.06	77.04 ± 8.13
	对照组	52	18.43 ± 2.71	4.58 ± 1.02	76.95 ± 7.90
	<i>t</i>		0.235	0.196	0.057
	<i>P</i>		0.815	0.845	0.956
治疗2个疗程后	观察组	52	11.26 ± 1.80 ^a	2.70 ± 0.57 ^a	50.41 ± 5.29 ^a
	对照组	52	14.31 ± 2.05 ^a	3.43 ± 0.64 ^a	62.27 ± 7.18 ^a
	<i>t</i>		8.062	6.142	9.590
	<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

与同组治疗前相比, ^a*P*<0.05. CEA: 癌胚抗原; TK1: 胸苷激酶1; CA199: 糖类抗原199.

万, 死亡病例19.1万, 且发病率、死亡率仍保持上升趋势, 极大危害患者生命健康^[1]. 目前对早期结肠癌患者首选根治性手术切除治疗, 而对丧失手术机会的晚期结肠癌患者, 化疗成为其主要治疗手段之一. XELOX方案即

奥沙利铂+卡培他滨, 是临床常用的一种化疗方案, 大量报道显示, 其治疗消化道肿瘤具有一定的效果, 但可能诱发胃肠系统、骨髓等毒副反应, 影响患者治疗依从性^[2,3]. 且晚期结肠癌患者病情严重, 单纯依赖化疗疗

表 4 两组免疫功能比较(mean \pm SD, %)

时间	组别	例数	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺
治疗前	观察组	52	54.20 \pm 4.37	41.25 \pm 4.40	28.15 \pm 3.20
	对照组	52	54.41 \pm 5.23	40.96 \pm 4.72	28.30 \pm 3.16
	<i>t</i>		0.222	0.324	0.241
	<i>P</i>		0.825	0.747	0.810
治疗2个疗程后	观察组	52	62.27 \pm 7.19 ^a	48.04 \pm 5.11 ^a	25.47 \pm 3.34 ^a
	对照组	52	55.10 \pm 5.48	41.03 \pm 4.69	28.69 \pm 3.08
	<i>t</i>		5.719	7.288	5.111
	<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

与同组治疗前相比, ^a*P*<0.05。

效欠佳^[4]。近年来中医药辅助化疗治疗恶性肿瘤在临床得到广泛应用, 被证实具有增效减毒效果^[5]。但中医药种类丰富多样, 如何配伍辅助化疗能提高晚期结肠癌的疗效尚不明确。本研究前期小样本量的预实验采用自拟解毒抗癌汤剂联合化疗取得满意效果, 但仍有待临床的大样本量的进一步验证。鉴于此本研究从免疫功能、血清肿瘤标志物、安全性等角度, 全面探讨自拟解毒抗癌汤剂联合化疗的应用价值, 报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 一般资料: 选取我院2017-01/2019-01收治的晚期结肠癌患者104例作为研究对象, 按照随机数字表法分组, 各52例, 两组年龄46-78岁。组间性别、年龄、体质指数、TNM分期、分化程度、合并疾病等资料均衡可比(*P*>0.05), 见表1。本研究经我院伦理委员会审核通过, 患者对本研究知情, 自愿签署知情同意书。

1.1.2 纳入、排除标准: (1)纳入标准: 西医符合结肠癌诊断标准^[6]; 中医符合气阴两虚标准^[7], 症见胃脘痞闷、乏力、纳差、舌红、口干、便溏、苔黄、脉沉缓; 肿瘤T分期III、IV期; 拒绝接受手术治疗或不能手术治疗者; Karnofsky功能状态(karnofsky performance status, KPS)评分 \geq 65分; 预计生存期>3 mo; 入组前3 mo内无放化疗等抗癌治疗史; 丧失手术机会或不能耐受手术、不愿接受手术治疗者; (2)排除标准: 严重胃溃疡者; 胃出血者; 合并急性感染类疾病者; 存在相关药物过敏史者; 心肝肾肺功能严重不全者; 完全性肠梗阻者; 未完成治疗者。

1.2 方法

1.2.1 对照组: 给予XELOX方案化疗。奥沙利铂(Sanofi-Aventis France, 批准文号H20171064) 130 mg/m², 与500 mL葡萄糖注射液混合后静滴2 h, d 1, 有糖尿病患者将葡萄糖注射液换为生理盐水; 卡培他滨(Roche Pharma (Schweiz) Ltd., 批准文号H20140839) 1000 mg/m², 早晚

餐后0.5 h, 温水吞服, 2次/d, d 1-14, 21 d为一个疗程, 共2个疗程。

1.2.2 观察组: 在对照组基础上给予自拟解毒抗癌汤剂, 组方炙黄芪30 g、白花蛇舌草9 g、半枝莲15 g、焦三仙各30 g、半边莲20 g、薏苡仁30 g、西洋参8 g、浙贝6 g、莪术9 g、白术15 g、苦参10 g、木香8 g、甘草6 g, 由我院中药室统一煎制, 300 mL/剂, 1剂/d, 早晚分2次温服。从化疗第1 d开始给药, 21 d为一个疗程, 共2个疗程。

1.2.3 疗效评定: 于治疗前、治疗2个疗程后分别行CT及或MRI检查, 应用GE1.5 T Excite III超导型和8通道胸膜联合体表线圈, 采用精细标注图像, 勾画肿瘤所有层面^[6,8], 参照实体瘤疗效评判标准^[9], 完全缓解(complete Response, CR): 病灶消失, 维持4 wk以上; 部分缓解(partial response, PR): 病灶减少 \geq 50%, 维持4 wk以上; 稳定(stable disease, SD): 病灶减少<50%或增大<25%, 无新发病灶, 维持4 wk以上; 进展(progressive disease, PD): 病灶增大 \geq 25%。采用CT及或MRI检测病灶治疗前后大小变化, 总有效率=(CR+PR+SD)/总例数 \times 100%。

1.2.4 检测方法: (1)主要试剂、仪器: 癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)试剂盒(天津博奥赛斯); 糖类抗原199 (Carbohydrate antigen199, CA199)试剂盒(深圳市新产业生物医学工程股份有限公司); 胸苷激酶1 (Thymidine kinase 1, TK1)试剂盒(北京万联达信科公司); 转化生长因子- β (Transforming growth factor- β , TGF- β)、白介素-17 (Interleukin-17, IL-17)试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司); 肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor - α , TNF- α)试剂盒(上海康朗生物科技有限公司); 电化学自动免疫分析仪(罗氏2010); 酶标仪(美国BIO-RAD550); 流式细胞仪(用Beckman Coulter公司XL型)。(2)检测方法: 治疗前后分别采集患者清晨肘部静脉血5 mL, 3000 r/min, 15 cm半径离心10 min, 采用电化学发光免疫分析法检测血清CEA、CA199, 采用酶联免疫吸附法检测血清TK1、TGF- β 、TNF- α 、IL-17, 采用流式细

表 5 两组炎症因子比较(mean ± SD, ng/L)

时间	组别	例数	TGF-β	TNF-α	IL-17
治疗前	观察组	52	1793.24 ± 311.52	331.18 ± 40.67	54.26 ± 8.21
	对照组	52	1796.47 ± 325.51	329.56 ± 41.15	54.51 ± 8.09
	<i>t</i>		0.052	0.202	0.156
	<i>P</i>		0.959	0.840	0.876
治疗2个疗程后	观察组	52	1321.77 ± 204.20 ^a	208.63 ± 36.59 ^a	35.20 ± 5.23 ^a
	对照组	52	1581.39 ± 216.34 ^a	285.44 ± 42.28 ^a	46.01 ± 6.35 ^a
	<i>t</i>		6.293	9.906	9.476
	<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

与同组治疗前相比, ^a*P*<0.05. TGF-β: 炎症因子[转化生长因子-β]; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IL-17: 白介素-17.

表 6 两组疼痛程度、生存质量比较(mean ± SD, 分)

组别	例数	VAS		KPS	
		治疗前	治疗2个疗程后	治疗前	治疗2个疗程后
观察组	52	6.17 ± 1.34	4.10 ± 0.83 ^a	72.32 ± 3.06	80.27 ± 3.71 ^a
对照组	52	6.14 ± 1.29	5.08 ± 1.02 ^a	72.45 ± 3.19	75.60 ± 3.34 ^a
<i>t</i>		0.116	5.374	0.212	6.746
<i>P</i>		0.908	<0.001	0.833	<0.001

与同组治疗前相比, ^a*P*<0.05. VAS: 视觉模拟评分法; KPS: Karnofsky功能状态.

表 7 两组肝肾功能比较(mean ± SD)

时间	组别	例数	ALT (U/L)	AST (U/L)	Cr (mmol/L)	BUN (mmol/L)
治疗前	观察组	47	43.10 ± 6.23	45.52 ± 7.71	113.28 ± 15.18	7.19 ± 1.20
	对照组	40	44.24 ± 7.19	46.17 ± 7.23	111.86 ± 17.35	7.08 ± 1.33
	<i>t</i>		0.792	0.403	0.407	0.405
	<i>P</i>		0.430	0.688	0.685	0.686
治疗2个疗程后	观察组	47	46.79 ± 7.63	48.20 ± 9.67	120.92 ± 20.19	7.75 ± 1.56
	对照组	40	45.62 ± 8.08	49.68 ± 10.03	118.46 ± 18.71	7.64 ± 1.41
	<i>t</i>		0.694	0.699	0.586	0.343
	<i>P</i>		0.490	0.486	0.560	0.733

ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 冬氨酸氨基转移酶; Cr: 肌酐; BUN: 尿素氮.

胞仪检测CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺水平.

观察指标: (1)比较两组总有效率; (2)比较两组治疗前后血清肿瘤标志物: CEA、TK1、CA199水平; (3)比较两组治疗前后T淋巴细胞亚群: CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺水平; (4)比较两组治疗前后炎症因子: TGF-β、TNF-α、IL-17水平; (5)比较两组治疗前后疼痛视觉模拟评分法(visual analogue scale, VAS)、KPS评分, 其中VAS评分范围0-10分, 分值越低, 疼痛越轻; KPS评分最高分100分, 分值越高, 生活质量越高; (6)比较两组不良反应.

统计学处理 采用SPSS 22.0统计学软件处理数

据, 计量资料以(mean ± SD)表示、*t*检验, 计数资料用*n*(%)表示、 χ^2 检验. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 治疗效果 观察组总有效率高于对照组(*P*<0.05), 见表2、图1.

2.2 血清肿瘤标志物 治疗前, 两组血清CEA、TK1、CA199相比, 差异无统计学意义(*P*>0.05); 治疗2个疗程后, 两组血清CEA、TK1、CA199低于治疗前, 观察组低于对照组(*P*<0.05), 见表3.

表 8 两组不良反应比较 n (%)

组别	例数	白细胞下降	神经毒性	胃肠不适	血小板降低
观察组	52	12 (23.08)	10 (19.23)	21 (40.38)	4 (7.69)
对照组	52	30 (57.69)	21 (40.38)	37 (71.15)	6 (11.54)
χ^2		12.940	5.561	9.979	0.443
P		<0.001	0.018	<0.001	0.506

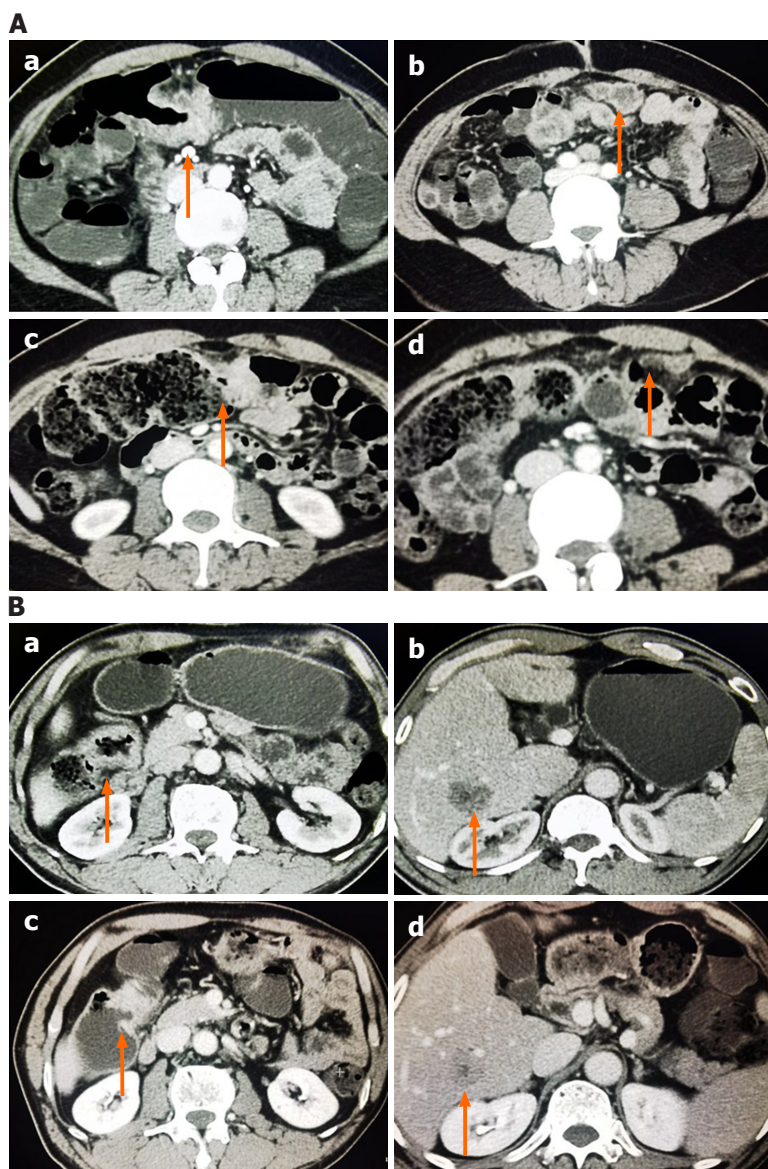


图 1 不同疗效患者治疗前后肿瘤病灶影像学。A: PR患者(横结肠癌伴腹腔、网膜转移)治疗前(a、b)、治疗2个疗程后(c、d)肿瘤病灶(箭头所示), 全腹部CT门脉期; B: SD患者(升结肠癌伴肝转移)治疗前(a、b)、治疗2个疗程后(c、d)肿瘤病灶(箭头所示), 全腹部CT门脉期。

2.3 免疫功能 两组治疗前 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 相比, 差异无统计学意义($P>0.05$); 观察组治疗2个疗程后 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 高于治疗前及对照组, $CD8^+$ 低于治疗前及对照组($P<0.05$), 见表4。

2.4 炎症因子 治疗前, 两组血清TGF- β 、TNF- α 、IL-17相比, 差异无统计学意义($P>0.05$); 治疗2个疗程后, 两组

血清TGF- β 、TNF- α 、IL-17低于治疗前, 观察组低于对照组($P<0.05$), 见表5。

2.5 疼痛程度、生存质量 两组治疗前VAS、KPS评分相比, 差异无统计学意义($P>0.05$); 两组治疗2个疗程后VAS评分低于治疗前, 观察组低于对照组, KPS高于治疗前, 观察组高于对照组($P<0.05$), 见表6。

2.6 肝肾功能 两组治疗前血清ALT、AST、Cr、BUN差异无统计学意义($P>0.05$); 两组治疗2个疗程后血清ALT、AST、Cr、BUN略高于治疗前, 但差异无统计学意义($P>0.05$), 且观察组治疗2个疗程后血清ALT、AST、Cr、BUN与对照组差异无统计学意义($P>0.05$), 见表7。

2.7 不良反应 观察组白细胞下降、神经毒性、胃肠不适发生率低于对照组($P<0.05$); 两组血小板降低相比, 差异无统计学意义($P>0.05$), 见表8。

3 讨论

3.1 XELOX方案治疗效果 XELOX方案中奥沙利铂系二氨环己烷的铂类化合物, 为第3代铂类抗癌药, 能作用于DNA, 形成交叉联结, 拮抗癌细胞复制和转录; 卡培他滨口服后经肠黏膜迅速吸收, 并依次在羧基酯酶、胞苷脱氨酶、胸苷磷酸化酶作用下, 催化为氟尿嘧啶, 阻止脱氧尿苷酸甲基化转变为脱氧胸苷酸, 干扰DNA的合成, 从而与奥沙利铂协同发挥抗癌效应^[10,11]。但长期临床工作经验及既往报道发现^[12], 单一应用XELOX方案患者临床缓解率和总有效率较低, 故考虑联合用药。

3.2 自拟解毒抗癌汤剂辅助治疗的效果 中医学中, 结肠癌属于“下痢”、“肠癖”等范畴, 多因脾胃失于健运, 化生湿毒邪积聚于内, 造成气滞血瘀, 瘀久化热, 又加重湿热积聚, 形成恶性循环, 积滞而成有形之肿块, 且湿热郁而化火, 则耗气伤津, 日久则气虚、阴虚, 导致正气虚弱, 易于发病, 故治疗的关键在于益气养阴、健脾化湿。本研究采用自拟的自拟解毒抗癌汤剂, 结果显示, 观察组治疗2个疗程后总有效率、KPS评分高于对照组, VAS评分低于对照组, 提示自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌, 具有良好的抗癌作用, 并能减轻患者疼痛, 提高患者生活质量。自拟解毒抗癌汤剂组方中炙黄芪、白术主大补中气, 重在益气生津, 西洋参重在养阴补气、清热生津, 共为君药; 白花蛇舌草、半枝莲、薏苡仁、浙贝健脾利湿、燥湿利水、清热解毒、消肿止痛、解毒抗癌, 共为臣药; 莪术、焦三仙、木香破积、健脾行气, 为佐药, 配伍使用防止苦寒之品太过伤及脾胃, 还可鼓舞正气, 甘草为使, 调和调药, 全方配伍, 攻补兼施, 标本兼治, 可共奏益气养阴、解毒抗癌、健脾化湿之效。现代医学认为, 自拟解毒抗癌汤剂组方含有氨基酸、黄酮、二萜、生物碱等多种成分, 具有抗病毒、抗肿瘤、免疫调节、保护胃黏膜、升高白细胞、抗炎、保护神经系统、促进胃肠蠕动等多种作用, 能从多靶点、多途径发挥作用, 辅助化疗, 能起到协同作用, 故能获得满意效果^[13-15]。CEA、TK1、CA199是血清肿瘤标志物, 在结直肠癌中水平显著升高, 监测其

水平对疗效具有较高的评估价值。本研究显示自拟解毒抗癌汤剂联合化疗能降低CEA、TK1、CA199水平, 增强疗效。

3.3 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗对T细胞亚群的影响 近年来肿瘤免疫生物治疗已被公认为除手术切除、放化疗之外的重要抗癌手段, 极具应用前景和意义。2018年诺贝尔生理学或医学奖授予免疫负调控治疗肿瘤的研究成果, 将肿瘤免疫治疗的作用推向新的高度, 因此如何改善癌症患者免疫功能成为恶性肿瘤领域研究的一个热点。根据以往研究, 细胞免疫功能在恶性肿瘤的发生、发展过程中发挥着重要作用, 总T淋巴细胞、CD3⁺、CD4⁺显著低于健康人群, CD8⁺高于健康人群^[16]。本研究显示, 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗可提高结肠癌患者CD3⁺、CD4⁺, 降低CD8⁺, 改善患者T细胞免疫功能。吴涛等^[17]研究以健脾化湿等为原则, 治疗结直肠癌、胃癌等消化道肿瘤, 发现患者CD3⁺、CD4⁺较治疗前升高, 本研究观点与之相似。自拟解毒抗癌汤剂联合化疗改善机体免疫功能的机制可能与自拟解毒抗癌汤剂的抗癌、免疫调节等多靶点功效有关。同时本研究还发现, 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗能降低白细胞下降、神经毒性、胃肠不适发生率, 减轻化疗的不良反应。

3.4 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗对炎症指标的影响 炎症反应与肿瘤发生、进展的关系已被以往大量研究所证实, 多种炎症因子能通过诱导基因突变、改变基因状态、促进血管生成、增强细胞增殖、促进上皮-间质化等途径发促癌作用^[18,19]。其中IL-17能通过结合受体, 激活免疫防御、补体系统, 诱导TNF- α 、白介素-6等炎症因子产生, 参与炎症反应。在肠黏膜表面, 富集了大量可分泌IL-17的细胞, 当局部微环境发生改变后, IL-17能将淋巴细胞、趋化蛋白靶向至黏膜表面, 并能通过白介素-6, 激活Stat3途径, 介导血管新生, 为癌细胞生长提供营养^[20,21]。TGF- β 在结肠癌组织中呈高表达, 与肿瘤分期、分化程度、血管内皮生长因子密切相关^[22]。本研究显示, 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗能降低TGF- β 、TNF- β 、IL-17表达, 抑制机体炎症反应, 有利于改善局部微环境, 抑制肿瘤的恶性生物学行为。本研究不足之处在于, 仍未阐明自拟解毒抗癌汤剂联合化疗抗炎作用的分子水平的详细机制, 有待后续基础实验基因靶向技术的进一步验证。

4 结论

自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌, 具有良好的抗癌作用, 并能减轻患者疼痛, 提高患者生活质量, 改善患者T细胞免疫功能, 抑制机体炎症反应, 降低不良反应发生率。

文章亮点

实验背景

我国结肠癌发病率、死亡率在全部恶性肿瘤中均位居第5位, 且发病率、死亡率仍保持上升趋势, 极大危害患者生命健康, 系统性全身治疗是最主要的治疗手段, 但全身化疗往往疗效不尽如人意, 且伴随着较为明显的毒副反应。

实验动机

化疗成为晚期结肠癌主要治疗手段之一, XELOX方案具有一定的效果, 但可诱发胃肠系统、骨髓等毒副反应, 影响患者治疗依从性, 近年来中医药辅助化疗被证实具有增效减毒效果, 但中医药种类丰富多样, 如何配伍辅助化疗能提高晚期结肠癌的疗效尚不明确。

实验目标

自拟解毒抗癌汤剂联合XELOX方案治疗晚期结肠癌患者, 从临床效果、血清肿瘤标志物、免疫功能、不良反应等观察, 探讨应用价值及安全性。

实验方法

本研究纳入确诊为晚期结肠癌的患者。随机分为观察组和对照组。观察组采用自拟解毒抗癌汤剂联合XELOX方案治疗, 对照组采用XELOX方案治疗。本研究观察临床总有效率以及CEA、TK1、CA19-9、TGF- β 、TNF- α 、IL-17、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、肌酐、尿素氮、T细胞免疫功能、VAS和KPS和等参数的变化进行评价。

实验结果

两组患者分别接受两个周期的治疗后, 观察组的临床总有效率明显高于对照组, 观察组血清CEA、TK1、CA199、TGF- β 、TNF- α 、IL-17、CD8⁺水平低于对照组; 观察组CD3⁺、CD4⁺水平高于对照组; VAS评分及KPS评分均显著优于对照组; 观察组ALT、AST、Cr、BUN水平与对照组水平无统计学差异; 观察组不良事件包括白细胞减少神经毒性和胃肠道毒性显著降低。

实验结论

自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌, 具有良好的抗癌作用, 并能减轻患者疼痛, 提高患者生活质量, 改善患者T细胞免疫功能, 抑制机体炎症反应, 降低不良反应发生率。

展望前景

本研究显示, 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗能降低晚期

结肠癌TGF- β 、TNF- α 、IL-17表达, 抑制机体炎症反应, 有利于改善局部微环境, 抑制肿瘤的恶性生物学行为。本研究不足之处在于, 仍未阐明自拟解毒抗癌汤剂联合化疗抗炎作用的分子水平的详细机制, 有待后续基础实验基因靶向技术的进一步验证。

5 参考文献

- 1 国家卫生计生委医政医管局, 中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2017年版). 中华胃肠外科杂志 2018; 21: 92-106 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2018.04.001]
- 2 Yu Y, Fang Y, Shen Z, Wang Y, Yan M, Cao H, Liu Y, Wang X, Cui Y, Liu F, Chen W, Li W, Li Q, Jiang H, Sun Y, Liu T. Oxaliplatin plus Capecitabine in the Perioperative Treatment of Locally Advanced Gastric Adenocarcinoma in Combination with D2 Gastrectomy: NEO-CLASSIC Study. *Oncologist* 2019; 24: 1311-e989 [PMID: 31239311 DOI: 10.1634/theoncologist.2019-0416]
- 3 Kim ST, Oh SY, Lee J, Kang JH, Lee HW, Lee MA, Sohn BS, Hong JH, Park YS, Park JO, Lim HY. Capecitabine plus Oxaliplatin as a Second-Line Therapy for Advanced Biliary Tract Cancers: A Multicenter, Open-Label, Phase II Trial. *J Cancer* 2019; 10: 6185-6190 [PMID: 31772650 DOI: 10.7150/jca.37610]
- 4 Zheng S, Zhou Y, Sun Y, Wang Z, Lu Y. A two centers study of postoperative adjuvant chemotherapy with S-1 versus SOX/XELOX regimens for gastric cancer after D2 resection: a cohort study. *Cancer Chemother Pharmacol* 2019; 84: 819-827 [PMID: 31388724 DOI: 10.1007/s00280-019-03911-5]
- 5 张恬, 聂克. 止呕中药防治化疗性恶心呕吐与其抗炎作用研究. 山东中医杂志 2018; 37: 611-614 [DOI: 10.16295/j.cnki.0257-358x.2018.07.023]
- 6 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局, 中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2015版). 中华消化外科杂志 2015; 14: 783-799 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2015.10.001]
- 7 中华人民共和国中医药行业标准. 中医病证诊断疗效标准. 中国中医药出版社 2017: 50-54
- 8 中华医学会放射学分会医学影像大数据与人工智能工作委员会, 中华医学会放射学分会腹部学组, 中华医学会放射学分会磁共振学组. 结直肠癌CT和MRI标注专家共识(2020). 中华放射学杂志 2021; 55: 111-116 [DOI: 10.3760/cma.j.cn112149-20200706-00894]
- 9 唐智勇, 靳忠民, 朱广庆. SWE定量分析在乳腺癌辅助化疗疗效评估中的应用及其与肿瘤血红蛋白的相关性. 河北医科大学学报 2018; 39: 193-197 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-3205.2018.02.017]
- 10 Maiello E, Di Maggio G, Cordio S, Ciniere S, Giuliani F, Piscanti S, Rinaldi A, Febbraro A, Latiano TP, Aieta M, Rossi A, Rizzi D, Di Maio M, Colucci G, Bordonaro R. Bevacizumab in Combination With Either FOLFOX-4 or XELOX-2 in First-line Treatment of Patients With Metastatic Colorectal Cancer: A Multicenter Randomized Phase II Trial of the Gruppo Oncologico dell'Italia Meridionale (GOIM 2802). *Clin Colorectal Cancer* 2020; 19: 109-115 [PMID: 32089455 DOI: 10.1016/j.clcc.2020.01.003]
- 11 Ruzzo A, Graziano F, Galli F, Galli F, Rulli E, Lonardi S, Ronzoni M, Massidda B, Zagonel V, Pella N, Mucciariini C, Labianca R, Ionta MT, Bagaloni I, Veltri E, Sozzi P, Barni S, Ricci V, Foltran L, Nicolini M, Biondi E, Bramati A, Turci D, Lazzarelli S, Verusio C, Bergamo F, Sobrero A, Frontini L, Magnani M. Author Correction: Sex-Related Differences in Impact on Safety of Pharmacogenetic Profile for Colon Cancer Patients Treated with FOLFOX-4 or XELOX Adjuvant Chemotherapy. *Sci Rep* 2020; 10: 1918 [PMID: 32005869 DOI: 10.1038/s41598-020-58486-6]
- 12 李程, 应伟. 复方苦参注射液联合XELOX方案对晚期结肠癌患者疗效及免疫功能的影响. 标记免疫分析与临床 2019; 26: 318-

- 321 [DOI: 10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2019.02.033]
- 13 Qian Y, Xiong Y, Feng D, Wu Y, Zhang X, Chen L, Gu M. Coix Seed Extract Enhances the Anti-Pancreatic Cancer Efficacy of Gemcitabine through Regulating ABCB1- and ABCG2-Mediated Drug Efflux: A Bioluminescent Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Study. *Int J Mol Sci* 2019; 20 [PMID: 31652737 DOI: 10.3390/ijms20215250]
- 14 浦飞飞, 陈凤霞, 夏平. 白花蛇舌草抗肿瘤化学成分和作用机制的研究进展. *癌症进展* 2019; 17: 1985-1988, 1996 [DOI: 10.11877/j.issn.1672-1535.2019.17.17.01]
- 15 Chang HL, Kuo YH, Wu LH, Chang CM, Cheng KJ, Tyan YC, Lee CH. The extracts of Astragalus membranaceus overcome tumor immune tolerance by inhibition of tumor programmed cell death protein ligand-1 expression. *Int J Med Sci* 2020; 17: 939-945 [PMID: 32308547 DOI: 10.7150/ijms.42978]
- 16 庞连胜, 赵万春. 外周血淋巴细胞免疫表型检验在恶性肿瘤患者细胞免疫功能评价中的应用价值. *国际免疫学杂志* 2019; 42: 280-284 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4394.2019.03.010]
- 17 吴涛, 艾兰·塔拉干. 健脾生血法对恶性消化道肿瘤化疗后骨髓抑制及免疫功能的影响. *贵州医药* 2018; 42: 698-700 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2018.06.024]
- 18 Feng H, Ying R, Chai T, Chen H, Ju H. The association between IL-17 gene variants and risk of colorectal cancer in a Chinese population: A case-control study. *Biosci Rep* 2019; 39 [PMID: 31682719 DOI: 10.1042/BSR20190013]
- 19 Chen Y, Yang Z, Wu D, Min Z, Quan Y. Upregulation of interleukin-17F in colorectal cancer promotes tumor invasion by inducing epithelial-mesenchymal transition. *Oncol Rep* 2019; 42: 1141-1148 [PMID: 31322258 DOI: 10.3892/or.2019.7220]
- 20 Chen J, Ye X, Pitmon E, Lu M, Wan J, Jellison ER, Adler AJ, Vella AT, Wang K. IL-17 inhibits CXCL9/10-mediated recruitment of CD8⁺ cytotoxic T cells and regulatory T cells to colorectal tumors. *J Immunother Cancer* 2019; 7: 324 [PMID: 31775909 DOI: 10.1186/s40425-019-0757-z]
- 21 Callejas BE, Mendoza-Rodríguez MG, Villamar-Cruz O, Reyes-Martínez S, Sánchez-Barrera CA, Rodríguez-Sosa M, Delgado-Buenrostro NL, Martínez-Saucedo D, Chirino YI, León-Cabrera SA, Pérez-Plasencia C, Vaca-Paniagua F, Arias-Romero LE, Terrazas LI. Helminth-derived molecules inhibit colitis-associated colon cancer development through NF- κ B and STAT3 regulation. *Int J Cancer* 2019; 145: 3126-3139 [PMID: 31407335 DOI: 10.1002/ijc.32626]
- 22 刘烨, 高志海, 安麟. 结肠癌组织中转化生长因子- β 1和缺氧诱导因子-1 α 及血管内皮生长因子的表达及临床意义. *中国慢性病预防与控制* 2019; 27: 352-355 [DOI: 10.16386/j.cjpcd.issn.1004-6194.2019.05.008]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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.

胶体金法检测粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin在大肠癌患者中的表达变化及临床意义分析

楼何飞, 马春梅, 傅英芝, 张术

楼何飞, 马春梅, 傅英芝, 磐安县中医院检验科 浙江省金华市 322300

张术, 杭州市第二人民医院 浙江省杭州市 310015

楼何飞, 主管技师, 研究方向为临床医学检验技术.

作者贡献分布: 此课题由楼何飞、张术设计; 研究过程由楼何飞、马春梅、傅英芝操作完成; 本论文写作由楼何飞完成.

通讯作者: 张术, 主任医师, 310015, 浙江省杭州市拱墅区温州路126号, 杭州市第二人民医院消化科. modong044@163.com

收稿日期: 2021-02-05

修回日期: 2021-03-25

接受日期: 2021-05-11

在线出版日期: 2021-06-08

Detection of TU M2PK, COX-2, and Vimentin expression in stool by colloidal gold method in patients with colorectal cancer and its clinical significance

He-Fei Lou, Chun-Mei Ma, Ying-Zhi Fu, Shu Zhang

He-Fei Lou, Chun-Mei Ma, Ying-Zhi Fu, Clinical Laboratory of Pan'an Traditional Chinese Medical Hospital, Jinhua 322300, Zhejiang Province, China

Shu Zhang, The Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310015, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Shu Zhang, Chief Physician, The Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, No. 126 Wenzhou Road, Gongshu District, Hangzhou 310015, Zhejiang Province, China. modong044@163.com

Received: 2021-02-05

Revised: 2021-03-25

Accepted: 2021-05-11

Published online: 2021-06-08

Abstract

BACKGROUND

Colorectal cancer is often diagnosed at middle or late stage, which brings great difficulties to the treatment and postoperative recoverys. How to find the lesion at the early stage of the disease is the key to treatment. Colloidal gold method is a rapid, simple, accurate, and economical method for the early diagnosis of colorectal cancer. Combined with the changes of related factors in feces at the early stage of disease, it provides a basis for the early diagnosis of colorectal cancer.

AIM

To detect tumor M2 pyruvate kinase (TU M2PK), cyclooxygenase-2 (COX-2), and Vimentin expression in feces of patients with colorectal cancer by colloidal gold method and analyze its clinical significance.

METHODS

From January 2013 to January 2017, 124 patients with colorectal cancer diagnosed at our hospital were selected as an observation group, and 41 patients with negative colonoscopy during the same period were selected as a control group. The positive rates of TU M2PK, COX-2, and Vimentin between the two groups and patients with different pathological characteristics were compared, and factors related to the survival of patients with colorectal cancer were analyzed.

RESULTS

The positive expression rates of TU M2PK, COX-2, and Vimentin in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The positive expression of TU M2PK, COX-2, and Vimentin in patients with colorectal cancer were significantly different among patients with different Dukes stages and tumor

differentiation degrees ($P < 0.05$). There were statistically significant differences in the 1-year survival of patients with different Dukes stages, degrees of differentiation, and TU M2PK, COX-2, and Vimentin expression ($P < 0.05$). After incorporating Cox regression analysis and adjusting for other confounding factors, the hazard ratio (HR) was 3.774 for Dukes stage B, 4.433 for stage C, and 5.536 for stage D. The HR value was 0.414 for moderate differentiation and 0.295 for high differentiation; . The HR value was 5.006 for TU M2PK expression, 4.997 for COX-2 expression, and 4.671 for Vimentin expression. The 1-year survival rate of patients with positive expression of TU M2PK, COX-2, and Vimentin was significantly lower than that of patients with negative expression ($P < 0.05$).

CONCLUSION

TU M2PK, COX-2, and Vimentin are abnormally expressed in the stool of patients with colorectal cancer. The detection of the above indicators by colloidal gold method has potential application value in screening for colorectal cancer and assessing the survival of patients.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colloidal gold method; Stool; Tumor M2 pyruvate kinase; Cyclooxygenase-2; Vimentin; Colorectal cancer

Citation: Lou HF, Ma CM, Fu YZ, Zhang S. Detection of TU M2PK, COX-2, and Vimentin expression in stool by colloidal gold method in patients with colorectal cancer and its clinical significance. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(11): 601-608

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/601.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i11.601>

摘要

背景

大肠癌一经发现大多都进入到中晚期, 给治疗和术后恢复带来极大的困难. 如何能在发病早期的不明显阶段发现病灶成为治疗的关键. 胶体金法目前属于快速、简单、准确、经济的诊断方法, 结合发病初期粪便中相关因子水平的变化, 为大肠癌早期确诊提供依据.

目的

探讨胶体金法检测粪便中肿瘤M2型丙酮酸激酶(tumor M2-pyruvate kinase, TU M2PK)、环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、波形蛋白(Vimentin)在大肠癌患者中的表达及临床意义.

方法

选取2013-01/2017-01我院124例大肠癌患者作为观察组, 同期41例结肠镜检查阴性者作为对照组. 对比两组及不同病理特征患者TU M2PK、COX-2、

Vimentin阳性率, 分析大肠癌患者生存情况相关因素.

结果

观察组TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率均高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 大肠癌患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达在Dukes分期、分化程度方面相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 不同Dukes分期、分化程度、TU M2PK、COX-2、Vimentin表达患者1年生存情况相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 纳入Cox回归分析, 调整其他混杂因素后, Dukes分期B期HR值为3.774; C期HR值为4.433; D期HR值为5.536; 分化程度中分化HR值为0.414; 高分化HR值为0.295; TU M2PK表达HR值为5.006; COX-2表达HR值为4.997; Vimentin表达HR值为4.671; TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达患者1年生存率低于阴性患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$).

结论

大肠癌患者粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin异常表达, 胶体金法检测上述指标对筛查大肠癌及评估患者生存情况具有潜在应用价值.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 胶体金法; 粪便; 肿瘤M2型丙酮酸激酶; 环氧化酶-2; 波形蛋白; 大肠癌

核心提要: 通过胶体金的方法对大肠癌患者粪便中的肿瘤M2型丙酮酸激酶(tumor M2-pyruvate kinase, TU M2PK)、环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、波形蛋白(Vimentin)进行快速、方便的检测, 通过其中含量的变化判断发生大肠癌风险的情况, 对评估患者的患病程度和生存情况提供依据.

文献来源: 楼何飞, 马春梅, 傅英芝, 张术. 胶体金法检测粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin在大肠癌患者中的表达变化及临床意义分析. *世界华人消化杂志* 2021; 29(11): 601-608

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/601.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i11.601>

0 引言

大肠癌是全世界范围内最常见恶性肿瘤之一, 据世界卫生组织报道, 此疾病是男性第3位, 女性第2位的常见恶性肿瘤^[1]. 大肠癌早期缺乏特异性症状, 多数患者发现时已进展至中晚期, 而早发现、早确诊、早治疗是改善患者预后的关键环节. 有研究显示, 一次性筛查可将筛查群体大肠癌累积病死率降低10%以上^[2]. 目前结肠镜检查及组织病理学检查是临床诊断大肠癌“金标准”, 但此疾

病早期无症状或症状不明显, 如何通过简单、患者易接受的手段筛查高危群体是当前急需解决问题之一. 肿瘤M2型丙酮酸激酶(tumor M2 pyruvate kinase, TU M2PK)是丙酮酸激酶同工酶主要成员, 正常情况其以四聚体形式存在, 但在恶性细胞中可转化成二聚体, 参与肿瘤的发生发展过程^[3]; 波形蛋白(Vimentin)是一种重要细胞骨架蛋白, 主要在中胚层起源细胞内表达, 主要功能是维持细胞完整性、影响细胞迁移、黏附等过程^[4]; 环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)是一种双功能酶, 具环氧化酶及过氧化氢酶活性. 近年相继有研究表明, TU M2PK、COX-2、Vimentin在肺癌、胃肠道恶性肿瘤中异常表达, 但其对大肠癌筛查价值如何鲜见报道^[5,6]. 本研究尝试分析胶体金法检测大肠癌患者粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin表达及临床意义, 为临床完善大肠癌诊疗机制提供参考. 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-01/2017-01我院124例大肠癌患者作为观察组, 同期41例结肠镜检查阴性者作为对照组. 纳入标准: 经结肠镜检查及组织病理学诊断确诊; 首次确诊, 入组前未经相关治疗; 原发性大肠癌; 对照组体健, 无恶性肿瘤相关疾病; 患者、家属知情理解, 签署同意书. 排除标准: 合并其他恶性肿瘤疾病者; 终末期患者; 有精神、认知功能缺陷者; 不耐受结肠镜检查者. 观察组男73例, 女51例, 年龄43-79岁, 平均(66.38±5.11)岁, 有大肠癌家族史13例, 不良生活习惯: 喜肉食37例, 喜油炸31例, 吸烟58例. 对照组男22例, 女19例, 年龄41-78岁, 平均(65.29±5.30)岁, 有大肠癌家族史3例, 不良生活习惯: 喜肉食10例, 喜油炸8例, 吸烟20例. 两组性别、年龄、有大肠癌家族史、不良生活习惯基础资料均衡可比($P>0.05$). 本研究经本院医学伦理委员会审批通过.

1.2 方法 采用上海将来实业股份有限公司胶体金法试剂盒检测粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin表达. 采用粪便样本独立收集容器采集新鲜粪便样本约5 g, 加稀释液, 振荡, 静置10 min, 再次振荡, 肉眼确认收集装置凹槽内无样本残留, 取稀释管, 采用吸管吸取样本稀释液, 垂直滴加4滴样本于试纸圆形样本孔中, 等待5 min, 确认结果; 结果判断: 视线垂直观察结果显示区测试线, 与质控线对照, 若测试线清晰可见, 即为阳性; 若测试线较弱, 保存图像, 与试剂盒附带正常人质控线阈值图像对比, 测试线较阈值图像深则为阳性; 若仅有质控, 无测试线, 则为阴性.

1.3 观察指标 (1)对比两组TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达; (2)对比不同病理特征患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率; (3)统计大肠癌

患者1年生存情况; (4)Cox回归分析大肠癌患者生存情况; (5)生存曲线分析.

统计学处理 采用统计学软件SPSS 25.0处理数据, 计数资料以例数描述, 采用 χ^2 检验; COX回归模型分析预后生存情况; Kaplan-Meier生存曲线分析TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达与患者死亡的关系, 采用Log-Rank检验. 均采用双侧检验, $\alpha=0.05$.

2 结果

2.1 两组TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达 观察组TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率均高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$). 见表1.

2.2 不同病理特征患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率 大肠癌患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达在Dukes分期、分化程度方面相比, 差异有统计学意义($P<0.05$), 在性别、年龄、病灶部位、组织学类型及病灶大小方面相比, 差异无统计学意义($P>0.05$). 见表2.

2.3 大肠癌患者生存情况 不同Dukes分期、分化程度、TU M2PK、COX-2、Vimentin表达患者1年生存情况相比, 差异有统计学意义($P<0.05$). 见表3.

2.4 大肠癌患者生存情况Cox回归分析 纳入Cox回归分析, 调整其他混杂因素后, Dukes分期B期HR值为3.774(95%CI为2.079-6.852), 表示B期患者在某时刻死亡的危险度是A期患者的3.774倍; C期HR值为4.433(95%CI为2.525-7.782), 表示C期患者在某时刻死亡的危险度是A期患者的4.433倍; D期HR值为5.536(95%CI为3.124-9.812), 表示D期患者在某时刻死亡的危险度是A期患者的5.536倍; 分化程度中分化HR值为0.414(95%CI为0.245-0.698), 表示中分化患者在某时刻死亡的危险度是低分化患者的0.414倍; 高分化HR值为0.295(95%CI为0.215-0.404), 表示高分化患者在某时刻死亡的危险度是低分化患者的0.295倍; TU M2PK表达HR值为5.006(95%CI为2.741-9.142), 表示阳性患者在某时刻死亡的危险度是阴性患者的5.006倍, COX-2表达HR值为4.997(95%CI为3.025-8.256), 表示阳性患者在某时刻死亡的危险度是阴性患者的4.997倍; Vimentin表达HR值为4.671(95%CI为2.857-7.637), 表示阳性患者在某时刻死亡的危险度是阴性患者的4.671倍. 见表4.

2.5 生存曲线 TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达患者1年生存率低于阴性患者, 差异有统计学意义($\chi^2=4.338, 5.070, 9.968, P<0.05$). 见图1.

3 讨论

大肠癌是我国常见恶性肿瘤之一, 也是近三十年发病率

表 1 两组TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达对比[n(%)]

组别	例数	TU M2PK	COX-2	Vimentin
观察组	124	80(64.52)	77(62.09)	71(57.26)
对照组	41	6(14.63)	6(14.63)	3(7.32)
t		30.722	27.765	31.069
P		<0.001	<0.001	<0.001

TU M2PK: 肿瘤M2型丙酮酸激酶; COX-2: 环氧化酶-2; Vimentin: 波形蛋白.

表 2 不同病理特征患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率对比

临床参数	例数	TU M2PK(n = 80)	χ^2/P	COX-2(n = 77)	χ^2/P	Vimentin(n = 71)	χ^2/P
性别							
男	73	45(61.64)	0.440/0.507	43(58.90)	0.769/0.381	40(54.79)	0.640/0.424
女	51	35(68.63)		34(66.67)		31(60.78)	
年龄							
< 65岁	50	28(56.00)	2.654/0.103	32(64.00)	0.129/0.720	29(58.00)	0.019/0.891
≥65岁	74	52(70.27)		45(60.81)		42(56.78)	
病灶位置							
结肠	77	54(70.13)	2.797/0.095	50(64.94)	0.695/0.404	45(58.44)	0.116/0.733
直肠	47	26(55.32)		27(57.45)		26(55.32)	
Dukes分期							
A+B	68	36(52.94)	8.812/0.003	36(52.94)	5.363/0.021	33(48.53)	4.688/0.030
C+D	56	44(78.57)		41(73.21)		38(67.86)	
分化程度							
高、中	81	47(58.02)	4.300/0.038	42(51.85)	10.416/0.001	39(48.15)	7.921/0.005
低	43	33(76.74)		35(81.40)		32(74.42)	
组织学类型							
腺癌	101	67(66.34)	0.788/0.375	63(62.38)	0.018/0.893	59(58.42)	0.298/0.585
粘液腺癌	23	13(56.52)		14(60.87)		12(52.17)	
病灶大小							
< 5 cm	82	51(62.20)	0.570/0.450	54(65.85)	1.452/0.228	43(52.44)	2.297/0.130
≥5 cm	42	29(69.05)		23(54.76)		28(66.67)	

TU M2PK: 肿瘤M2型丙酮酸激酶; COX-2: 环氧化酶-2; Vimentin: 波形蛋白.

增加最快肿瘤之一, 而如何加强大肠癌筛查, 做到早发现、早治疗是当前急需解决问题之一^[7]. 近年基于分子生物学快速发展, 此技术已逐渐成为大肠癌诊断的一项新型无创检测技术, 且有研究表明, 与常规粪便隐血试验对比, 具更高敏感性及特异性, 但哪种指标更具有应用价值尚无定论^[8].

目前有关大肠癌的研究较多, 如: 张鑫东等^[9]提出常见肿瘤标志物糖类抗原199、癌胚抗原表达与直肠癌转移关系密切, 但根据研究结果不难发现, 其预测预后的敏感度、特异度一般. TU M2PK主要分布在细胞内部, 但随细胞转化、肿瘤坏死等可被释放入体液, 并以无活性二聚体形式存在, 因此, 可在体液内检测到TU M2PK表达, 且有研究发现, U M2PK在消化道肿瘤患者

外周血及粪便内高表达, 与肿瘤发生发展密切相关, 且其已被明确作为外周血、粪便内的肿瘤生物标志物^[10]. Vimentin是中间丝结合蛋白家族主要成员, 有研究显示, 其对应基因启动子的甲基化与其表达异常关系密切, 此特征与癌前病变、大肠肿瘤等发生有关^[11]. Vimentin在粪便内检测敏感性高, 作为大肠癌筛查分子标志物具良好检测性能, 是首次应用粪便DNA甲基化作为大肠癌诊断性检测的靶基因. 本研究采用胶体金法检测大肠癌患者粪便中TU M2PK、Vimentin表达情况, 结果发现, 二者阳性表达率分别为64.52%、57.26%, 均存在一定漏诊、误诊情况, 仍需继续完善检测机制. 此外, 正常情况COX-2在体内维持相对稳定状态, 参与前列腺素生成及维持机体正常功能, 但出现炎症反应及发生

表 3 大肠癌患者生存情况

临床参数	例数	1年生存情况		χ^2	<i>P</i>
		生存(<i>n</i> = 108)	死亡(<i>n</i> = 16)		
性别					
男	73	64(87.67)	9(12.33)	0.052	0.819
女	51	44(86.27)	7(13.73)		
年龄					
< 65岁	50	45(90.00)	5(10.00)	0.628	0.428
≥65岁	74	63(85.14)	11(14.86)		
病灶位置					
结肠	77	67(87.01)	10(12.99)	0.001	0.972
直肠	47	41(87.23)	6(12.77)		
Dukes分期					
A+B	68	66(97.06)	2(2.94)	13.297	< 0.001
C+D	56	42(75.00)	14(25.00)		
分化程度					
高、中	81	78(96.30)	3(3.70)	17.590	< 0.001
低	43	30(69.77)	13(30.23)		
组织学类型					
腺癌	101	88(87.13)	13(12.87)	0.001	0.982
粘液腺癌	23	20(86.96)	3(13.04)		
病灶大小					
< 5 cm	82	71(86.59)	11(13.41)	0.056	0.812
≥5 cm	42	37(88.10)	5(11.90)		
TU M2PK					
阳性	80	66(82.50)	14(17.50)	4.239	0.040
阴性	44	42(95.45)	2(4.55)		
COX-2					
阳性	77	63(81.82)	14(18.18)	5.037	0.025
阴性	47	45(95.74)	2(4.26)		
Vimentin					
阳性	71	56(78.87)	15(21.13)	9.996	0.002
阴性	53	52(98.11)	1(1.89)		

TU M2PK: 肿瘤M2型丙酮酸激酶; COX-2: 环氧化酶-2; Vimentin: 波形蛋白.

肿瘤时, 其表达显著升高^[12]. 现有研究显示, COX-2在正常分化组织中几乎无表达, 但在结直肠癌等多种恶性肿瘤组织内呈特异性表达^[13]. 本研究也发现, 观察组粪便中COX-2阳性表达率62.09%高于对照组($P < 0.05$). 结合学者张翔、Lin等^[14,15]研究分析, 主要是因COX-2能参与细胞增殖、侵袭及抑制细胞凋亡等过程, 具原癌基因活性, 通过抑制CyclinD1等靶基因表达致细胞停滞在G0/G1期继而妨碍细胞进入DNA合成期及有丝分裂期, 阻断分化过程. 上述研究说明, TU M2PK、COX-2、Vimentin可能共同参与大肠癌发生过程, 或可互为补充为临床筛查大肠癌提供新视角.

本研究对不同病理特征患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率探讨发现, 随大肠癌Dukes分期升高,

分化能力降低, 上述指标阳性表达率升高($P < 0.05$), 反映TU M2PK、COX-2、Vimentin可能同时参与大肠癌发展过程. 此特征亦符合TU M2PK、COX-2、Vimentin病理生理作用, 均参与、影响细胞分裂过程, 或可为临床评价大肠癌病情、患者生存情况提供参考^[16,17]. 但还有研究指出^[18], 大肠癌患者预后转归与病灶位置、组织学类型等多种因素有关, 是多过程、多因素共同作用的结果. 本研究对比1年期不同生存情况患者一般资料未发现上述特征, 继续Cox回归分析显示, 粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率每升高1个单位患者病死风险均增加4.6倍以上, 客观说明TU M2PK、COX-2、Vimentin是大肠癌发生发展的独立危险因素. 进一步Kaplan-Meier分析显示, TU M2PK、COX-2、Vimentin阳

表 4 大肠癌患者生存情况Cox回归分析

因素	β	<i>S.E.</i>	<i>Wald</i> χ^2	<i>P</i>	HR	95%CI
Dukes分期						
B	1.328	0.312	18.123	< 0.05	3.774	2.079–6.852
C	1.489	0.313	22.632	< 0.05	4.433	2.525–7.782
D	1.711	0.314	29.705	< 0.05	5.536	3.124–9.812
分化程度						
中	–0.883	0.251	12.376	< 0.05	0.414	0.245–0.698
高	–1.222	0.314	15.139	< 0.05	0.295	0.215–0.404
TU M2PK表达	1.611	0.309	27.168	< 0.05	5.006	2.741–9.142
COX-2表达	1.609	0.341	22.262	< 0.05	4.997	3.025–8.256
Vimentin表达	1.541	0.325	22.494	< 0.05	4.671	2.857–7.637

赋值: Dukes分期: A = 1, B = 2, C = 3, D = 4; 分化程度: 低分化 = 1, 中分化 = 2, 高分化 = 3; TU M2PK、COX-2、Vimentin表达: 阴性 = 0, 阳性 = 1. TU M2PK: 肿瘤M2型丙酮酸激酶; COX-2: 环氧化酶-2; Vimentin: 波形蛋白.

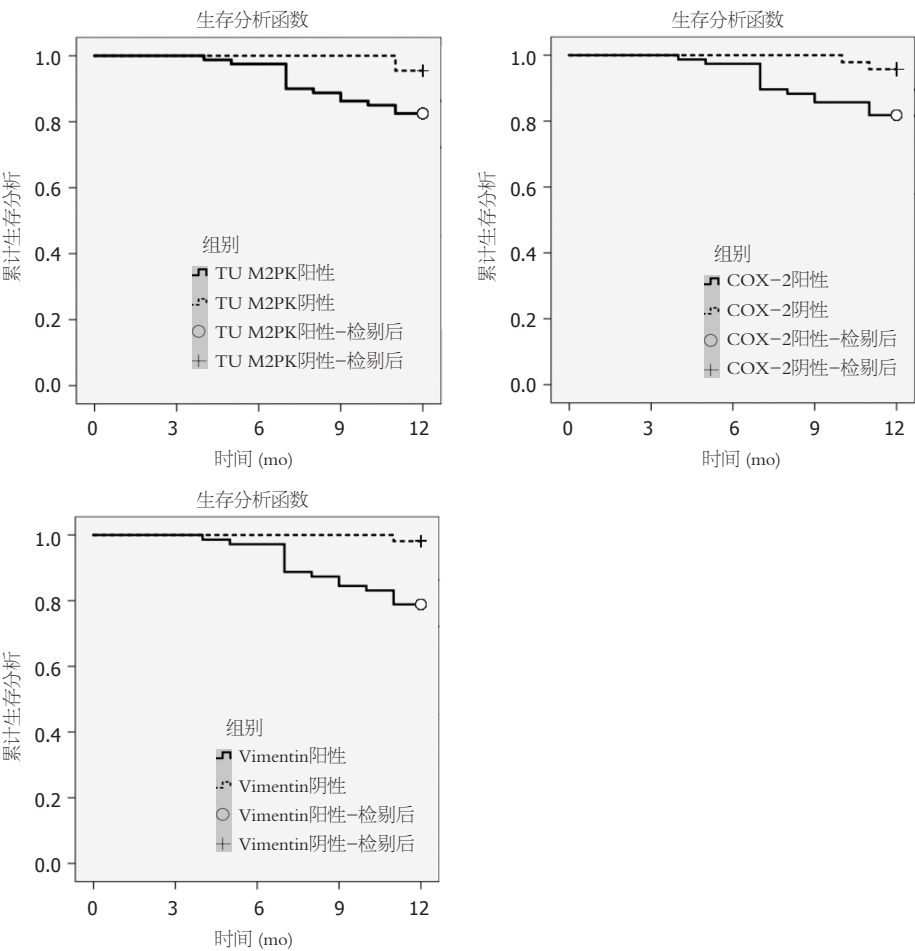


图 1 生存曲线. TU M2PK: 肿瘤M2型丙酮酸激酶; COX-2: 环氧化酶-2; Vimentin: 波形蛋白.

性表达患者1年生存率低于阴性患者($P<0.05$), 证实TU M2PK、COX-2、Vimentin表达水平与患者生存情况关系密切. 但本研究不足之处在于随访时间较短, 在阐明大肠癌患者生存情况与TU M2PK、COX-2、Vimentin

间关系层面可能缺乏客观性, 仍需后期继续探究.

4 结论

综上所述, 大肠癌患者粪便中TU M2PK、COX-2、

Vimentin异常表达, 胶体金法检测上述指标对筛查大肠癌及评估患者生存情况具有潜在应用价值。

文章亮点

实验背景

由于人们不良的饮食习惯和家族遗传等原因, 大肠癌的发病率呈逐年上升趋势。而且大肠癌发病早期症状不明显, 极易发展恶化。目前对于大肠癌的检测主要依靠结肠镜和病理学, 鉴于方法较繁琐且有创伤风险, 自愿接受检测的意愿不强烈。

实验动机

鉴于大肠癌检测手段的局限性和体内检测的微创风险, 体外检测不仅可以实现无创, 而且还能为检测双方带来方便, 提高高危人群的检测意识和积极性。粪便是反映大肠状态最直接、最灵敏的产物。作为体外检测主流方法之一的胶体金具有操作方便、检测效率高、检测成本低的特点。

实验目标

本研究的目标是用无创的胶体金体外检测方法探索大肠癌患者粪便中肿瘤M2型丙酮酸激酶(tumor M2-pyruvate kinase, TU M2PK)、环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、波形蛋白(Vimentin)等相关因子含量的变化与其患病程度以及生存健康之间的关系, 以期能够为疾病的早发现、早治疗提供相关依据。

实验方法

本研究采用胶体金检测粪便中相关因子含量的方法, 通过观察和随访判断患者的身体状况和恢复情况, 最后用统计学回归分析打方法分析粪便中与大肠癌患者病情关系密切的相关因子情况。

实验结果

大肠癌患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率均高于阴性对照组, 且不同Dukes分期、分化程度、TU M2PK、COX-2、Vimentin表达患者1年生存情况相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达患者1年生存率低于阴性患者。

实验结论

粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin的表达情况对大肠癌患者的生存期、Dukes分期、分化程度均有显著的影响, 为大肠癌的早期、快速诊断提供一定的借鉴意义。

展望前景

本研究虽然提供了快速检测大肠癌患者病情的方法, 但是也存在病例数不够多、随访时间较短等问题, 仍需后期继续收集病例数, 增加随访时间等深入探究, 在3个检测指标的基础上继续深入挖掘, 发现更多更灵敏的检测指标。

参考文献

- Zorzi M, Cavestro GM, Guzzinati S, Dal Maso L, Rugge M; AIRTUM Working Group. Decline in the incidence of colorectal cancer and the associated mortality in young Italian adults. *Gut* 2020; 69: 1902-1903 [PMID: 31843788 DOI: 10.1136/gutjnl-2019-320406]
- 陈万青, 李霓, 兰平, 陈宏达, 杜灵彬, 孙凤, 黎国威, 何晓生, 王乐, 李子一, 朱陈, 卢明, 曹毛毛, 孙殿钦, 何思怡, 李贺, 杨卓煜. 中国结直肠癌筛查与早诊早治指南(2020, 北京). *中国肿瘤* 2021; 30: 1-28 [DOI: 10.3760/cma.j.cn112152-20210105-00010]
- Yuan Q, Yu H, Chen J, Song X, Sun L. Knockdown of pyruvate kinase type M2 suppresses tumor survival and invasion in osteosarcoma cells both in vitro and in vivo. *Exp Cell Res* 2018; 362: 209-216 [PMID: 29155364 DOI: 10.1016/j.yexcr.2017.11.020]
- 李国伟, 李海洋. 波形蛋白的生物学功能及相关病理的研究进展. *医学综述* 2018; 24: 1273-1278 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2018.07.005]
- 桂永燕. 环氧化酶-2基因在食管上皮癌变中的表达及其临床意义的研究进展. *实用癌症杂志* 2020; 35: 693-694 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5930.2020.04.047]
- 李明, 谭诗云. siRNA介导COX-2基因沉默对大肠癌LoVo细胞侵袭及上皮间质转化的影响. *胃肠病学和肝病杂志* 2018; 27: 1363-1366 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2018.12.008]
- 蔡慧, 徐光寰, 王珏, 王辉菁, 高淑娜, 丁一波, 杜琰. 上海市原卢湾区2004-2011年消化系统常见肿瘤的发病和死亡趋势分析. *中国临床医学* 2018; 25: 542-548 [DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20171118]
- 舒密. 间期大肠癌临床和分子学特征的研究进展. *医学研究生学报* 2018; 31: 1005-1008 [DOI: 10.16571/j.cnki.1008-8199.2018.09.022]
- 张鑫东, 葛晓蕾, 刘省存, 郑维清, 沈彤. 血清CA199和CEA对结直肠癌转移和预后预测的价值. *中华疾病控制杂志* 2018; 22: 57-61 [DOI: 10.16462/j.cnki.zhjbkz.2018.01.013]
- Bandara IA, Baltatzis M, Sanyal S, Siriwardena AK. Evaluation of tumor M2-pyruvate kinase (Tumor M2-PK) as a biomarker for pancreatic cancer. *World J Surg Oncol* 2018; 16: 56 [PMID: 29540198 DOI: 10.1186/s12957-018-1360-3]
- Liu SQ, Xu CY, Wu WH, Fu ZH, He SW, Qin MB, Huang JA. Sphingosine kinase 1 promotes the metastasis of colorectal cancer by inducing the epithelial-mesenchymal transition mediated by the FAK/AKT/MMPs axis. *Int J Oncol* 2019; 54: 41-52 [PMID: 30365116 DOI: 10.3892/ijo.2018.4607]
- 马家驰, 赵晓丹, 开建波, 郭庆金, 龚珍强, 杜剑波, 陈晓昌. 前列腺素E2和环氧化酶2在结直肠癌组织中的表达及其临床意义. *中华普通外科杂志* 2018; 33: 322-325 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-631X.2018.04.014]
- 孙鹏, 权继传, 关旭, 郁雷, 刘正, 姜争, 王贵玉, 王锡山. 环氧化酶-2与结直肠癌的关系及其为靶点的治疗进展. *肿瘤学杂志* 2019; 25: 1031-1036 [DOI: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.12.B002]
- 张翔, 杨觅, 胡静, 李丽, 史炯, 刘宝瑞, 钱晓萍. 结直肠癌中C-MET、COX-2、MSS、Ki-67的表达及其与预后的相关性分析. *解放军预防医学杂志* 2018; 36: 598-601 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2018.08.006]
- Lin YM, Lu CC, Hsiang YP, Pi SC, Chen CI, Cheng KC, Pan

- HL, Chien PH, Chen YJ. c-Met inhibition is required for the celecoxib-attenuated stemness property of human colorectal cancer cells. *J Cell Physiol* 2019; 234: 10336-10344 [PMID: 30480806 DOI: 10.1002/jcp.27701]
- 16 李婷, 李赞. 过表达NDRG1通过调控Wnt/ β -catenin信号通路促进滋养层细胞上皮-间质转化. *现代妇产科进展* 2019; 28: 666-671 [DOI: 10.13283/j.cnki.xdfckjz.2019.09.004]
- 17 Tomay F, Marinelli A, Leoni V, Caccia C, Matros A, Mock HP, Tonelli C, Petroni K. Purple corn extract induces long-lasting reprogramming and M2 phenotypic switch of adipose tissue macrophages in obese mice. *J Transl Med* 2019; 17: 237 [PMID: 31337415 DOI: 10.1186/s12967-019-1972-6]
- 18 张杭, 孙戈, 郑阔, 孟荣贵, 郝立强, 刘连杰, 楼征, 高显华, 张卫. 直肠癌新辅助化疗后病理完全缓解患者预后的危险因素分析. *中华胃肠外科杂志* 2020; 23: 305-311 [DOI: 10.3760/cma.jcn.441530-20191227-00528]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表, 同时保护作者与《世界华人消化杂志》的合法权益, 本刊对修回稿要求如下。

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部。

2 稿件修改

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

3 版权

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

SAP早期预防性使用抗生素治疗的研究进展

何林, 孙昀

何林, 孙昀, 安徽医科大学第二附属医院重症医学(一)科 安徽省合肥市 230601

何林, 研究生, 研究方向主要为重症急性胰腺炎的临床与基础研究.

基金项目: 安徽医科大学第二附属医院临床研究培育计划项目, No.2020LCZD08.

作者贡献分布: 本文综述由何林完成; 孙昀审校.

通讯作者: 孙昀, 副教授, 主任医师, 230601, 安徽省合肥市蜀山区芙蓉路678号, 安徽医科大学第二附属医院重症医学(一)科. sunyun15@163.com

收稿日期: 2021-03-03

修回日期: 2021-04-07

接受日期: 2021-05-11

在线出版日期: 2021-06-08

Advances in research of early use of prophylactic antibiotics in severe acute pancreatitis

Lin He, Yun Sun

Lin He, Yun Sun, Department of Critical Care Medicine, the Second Affiliated Hospital, Hefei 230601, Anhui Province, China

Supported by: Clinical Research Cultivation Program of The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, No.2020LCZD08.

Corresponding author: Yun Sun, Associate Professor, Chief Physician, Department of Critical Care Medicine, the Second Affiliated Hospital, Anhui Medical University, No. 678 Furong Road, Hefei 230601, Anhui Province, China. sunyun15@163.com

Received: 2021-03-03

Revised: 2021-04-07

Accepted: 2021-05-11

Published online: 2021-06-08

Abstract

Severe acute pancreatitis (SAP) is a common critical

digestive system disease with high mortality, which can lead to multiple organ failure. SAP is often accompanied by massive necrosis of the pancreas, which is prone to secondary infection. Infected pancreatic necrosis is associated with an increased mortality of SAP. Whether early prophylactic use of antibiotics in the treatment of SAP can reduce the incidence of secondary infection is still controversial. This paper reviews the research progress of prophylactic use of antibiotics in the treatment of secondary infection of SAP in recent years.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Antibiotics; Secondary infection; Prevention

Citation: He L, Sun Y. Advances in research of early use of prophylactic antibiotics in severe acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(11): 609-614

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/609.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.609>

摘要

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是临床常见的消化系统危重症, 可导致多器官功能衰竭, 死亡率高. SAP常伴胰腺大面积坏死, 易继发感染. 胰腺坏死部位感染与SAP死亡率增加相关. 早期预防性使用抗生素治疗SAP是否可降低SAP继发感染的发生率仍存在争论, 笔者综述了近年来预防性使用抗生素治疗SAP继发感染的相关研究进展.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 重症急性胰腺炎; 抗生素; 继发感染; 预防

核心提要:重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是一类严重危害人类健康的疾病. 近年来积极的液体复苏及脏器功能支持技术的运用使得SAP早期死亡率明显下降. 但后期如出现继发感染, 死亡率仍可高达20%-40%. 进一步认识SAP继发感染的发生机制及探讨有效的感染预防及治疗手段是当前的研究热点. 对于SAP早期预防性抗生素治疗是否可以降低继发感染的发生率及死亡率, 至今尚没有完全统一的意见. 相关研究的还存在者各种缺陷, 临床上需要多中心、大样本的前瞻性研究或基于大数据分析真实世界的研究等来进一步阐明.

文献来源: 何林, 孙昀. SAP早期预防性使用抗生素治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(11): 609-614

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/609.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i11.609>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是指多种病因引起的胰酶激活, 继以胰腺局部炎症反应为主要特征, 伴或不伴有其他器官功能改变的疾病, 是消化系统常见的危重疾病. 近年来, 由于胆石症、高脂血症及饮酒人群增加, AP发病率呈增高趋势^[1]. 根据国际AP专题研讨会最新修订的AP分级和分类系统^[2], AP按严重程度分为3级, 分别为轻症、中重症和重症. 其中, 重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)多伴持续性器官衰竭(>48 h)及合并单个或多个局部并发症, 其死亡率可高达20%-40%^[3]. 从胰腺病理角度AP又分为间质水肿性胰腺炎和坏死性胰腺炎^[2]. 前者表现为炎性水肿, 临床症状较轻, 常在一周内治愈, 很少继发感染; 坏死性胰腺炎则表现为胰腺和/或胰周组织坏死, 可演变为SAP, 发生胰腺、胰周组织感染的机率约30%^[4]. 感染性坏死与SAP的死亡率密切相关^[5], 因此如何预防SAP感染发生并从而改善疾病预后成为临床医生迫切希望解决的问题. 我们回顾了近些年的相关文献, 对SAP继发感染发生病因及机制、预防性使用抗生素的疗效、抗生素选择及SAP继发感染预测与早期识别等进行综述.

1 SAP继发感染的病因及发生机制

SAP继发感染可分为胰腺感染及非胰腺感染, 胰腺感染主要见于感染性胰腺坏死, 包括胰腺及胰周组织. 而非胰腺感染主要包括肺炎、菌血症、中心静脉导管感染、尿路感染和胆管炎等.

SAP继发感染发生的具体病因及机制尚不明确. 在疾病早期, 通常在疾病的第1-2周, 胰腺损伤及各种胰酶激活所致的炎症可引发细胞因子级联激活, 临床表现为全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response

syndrome, SIRS), 严重的SIRS可能导致随后的代偿性抗炎反应综合征(compensatory anti-inflammatory response syndrome, CARS), 增加了感染的风险^[2]. 后期以持续器官衰竭或伴局部并发症(急性胰周液体积聚, 胰腺假性囊肿, 急性坏死积聚和包裹性坏死)的出现为特征, 多见于中重症急性胰腺炎(moderately severe acute pancreatitis, MSAP)或SAP患者中. 此时, 胰腺和胰周坏死组织感染的风险增加^[6].

当前研究普遍认为SAP患者胰腺/胰周感染与肠道菌群移位有关^[7,8], 即肠道内细菌或其产物通过受损的肠道屏障进入其他器官或循环系统的过程^[9]. 关于肠道细菌移位的作用途径有几种不同观点, 包括经血源性、经腹膜、经腹水、经淋巴源性移位以及经结肠壁移位并通过反流进入胰管等^[10], 而肠道屏障功能受损是上述途径的共同通道. 目前对于肠道屏障功能受损的发生机制的认识集中在以下几点. 首先, 肠道生态屏障被破坏: 多种胃肠道多肽分泌, 损伤Cajal间充质细胞, 导致受损的肠运动神经元减少, 肠运动因此减弱, 进而导致肠道细菌过度生长. 此外, 肠道机械屏障受损: SAP患者由于大量体液丢失以及在第三间隙积聚, 有效循环血量不足, 在机体神经体液调节作用下, 肠血管收缩, 肠管血供急剧减少. 肠黏膜缺血缺氧可导致活性氧代谢产物的增加, 引发肠黏膜氧化应激反应, 继而导致肠上皮细胞凋亡、肠黏膜损伤、肠黏膜层变薄、紧密连接蛋白表达减少以及毛细血管通透性增加^[11]. 最后, 肠道免疫屏障受损: 分泌型免疫球蛋白A减少, 肠道抵抗定植的能力降低^[9]. 上述三种屏障中任何一种受损都可能导致细菌移位. 另外一种可能的机制为肠道菌群紊乱, 肠道细菌或内毒素进入肠系膜淋巴结, 并通过淋巴系统向远处播散^[12].

发生胰腺外感染的SAP患者往往病情更重、病程更长, 大多接受机械通气、留置导尿管、动静脉穿刺置管、肾脏替代治疗、腹腔穿刺引流等有创或介入治疗, 以及坏死组织清除手术治疗. SAP患者早期SIRS可能造成随后的CARS, 使得机体出现免疫功能不全, 上述治疗操作无疑将增大机体发生医源性暴露感染的概率. 最近的一项研究^[13]发现, 发生过菌血症及胰腺感染性坏死的病例通常菌血症先于感染性坏死出现, 胰腺外感染对胰腺/胰周感染有一定的预测作用. 另外, 相当数量发生胰腺感染的患者其病原菌和早期发生菌血症时所进行血培养的病原菌一致^[6,14].

2 SAP早期预防性使用抗生素治疗的争议

关于早期预防性使用抗生素治疗SAP仍存在争议^[15]. 近年来的较多研究^[14,16-20]认为预防性使用抗生素治疗SAP不能降低患者继发胰腺或胰周感染的发生率及死亡. 然

而部分研究存在着局限性, 如给予抗生素的种类、剂量及开始给药时间不同、试验组与对照组患者的病情严重程度存在差异、样本较少或未使用双盲的方法等^[16,17]。一项来自在北美和欧洲多中心前瞻性随机对照试验(randomized controlled trial RCT)研究^[14]通过将入院120小时内确诊为坏死性胰腺炎且增强CT证实胰腺30%以上坏死的患者纳入试验, 并排除已确诊胰腺或胰周感染及已接受试验药物的患者, 在双盲的情况下随机分为试验组及对照组, 在出现症状5 d内分别给予相同剂量美罗培南或安慰剂治疗, 持续7-21 d, 并观察症状出现42 d内的临床结果。其结果表明与安慰剂相比, 预防性使用美罗培南并不能降低胰腺或胰周感染发生率及推迟胰腺或胰周感染的发生时间, 与患者死亡率也没有明显的相关性, 而胰腺外感染的发生率有所降低(美罗培南组和安慰剂组分别有32%和48%患者出现胰腺外感染)。近期一项基于日本全国数据库患者的回顾性队列研究^[18]通过比较入院后两天内预防性使用碳青霉烯类药物(预防组)和未使用预防性药物(对照组)SAP患者在临床结果上的差异发现: 与对照组相比, 预防性使用抗生素在降低死亡率、感染的发生率及手术治疗的需方面无明显, 并且住院第三天后口服万古霉素比例更高; 预防性使用抗生素可能增加医院获得性感染的风险。该研究为一项观察性研究, 样本未随机化, 预防性组患者年龄较大, 病情较预防组更重, 使用机械通气、升压药及持续血液透析等治疗措施比例更高。这可能造成结果的差异。

同时, 当前也不乏一些研究^[16,21-27]认为早期预防性使用抗生素能给SAP患者带来益处, 尤其是对于伴有胰腺坏死面积大于30%或伴多器官功能衰竭的亚群^[16,21]。最近一项对随机对照试验的荟萃分析^[22]表明使用抗生素可显著降低非胰腺感染的发生率, 包括肺炎、尿路感染、血培养阳性、真菌感染等。该研究纳入了11项随机对照试验中747名患者, 其中包括4项多中心随机对照试验及7项单中心随机对照试验。亚胺培南的预防使用疗效也被部分研究肯定^[23,24], 近些年几项对随机对照试验的荟萃分析表明, 预防性使用抗生素减少胰腺、胰周感染的发生率及死亡率^[25-27]。然而, 当前仍缺乏高质量的RCT研究证明预防性使用抗生素能降低SAP感染的发生率及死亡率, 对于SAP患者预防性使用抗生素的益处缺乏说服力。

基于上述研究等形成的各国及各学术组织形成的相关指南在预防性使用抗生素控制SAP继发感染的问题上也并非形成统一一致的推荐意见。2019年世界急诊外科协会(World Society Emergency Surgery WSES)重症急性胰腺炎管理指南^[28]认为SAP患者预防性使用抗生素不能降低病死率或改善病情, 因此不推荐所有SAP患

者常规预防性使用抗生素。美国胃肠病学会在急性胰腺炎早期处理指南^[29]中也不建议预防性使用抗生素治疗。预测可能为重症或坏死性胰腺炎, 然而其推荐的证据质量不高, 表明仍缺乏有效的证据证明预防性使用抗生素对于SAP患者没有益处。然而国内外指南中也明确了一些可以使用抗生素的一些指征。日本近年的急性胰腺炎诊疗指南^[30]则指出: 对重症以及坏死性胰腺炎患者, 在早期(发病72 h之内)预防性使用抗生素可能有助于提高患者预后。我国2019年急性胰腺炎诊疗指南^[31]同样认为对于MSAP及SAP患者, 不建议常规使用预防性抗菌药物, 但对于特定SAP亚群如伴有广泛胰腺坏死(坏死面积>30%-50%)及持续器官功能衰竭的患者, 预防性抗菌药物的应用可能有益, 仍需进一步研究来验证。

SAP患者真菌感染发生率近年来呈上升趋势, 而真菌感染与疾病的严重程度及预后相关^[32]。有研究表明, 早期诊断和正确治疗AP患者的真菌感染可以改善预后^[33]。然而目前多数AP诊疗指南并不推荐常规预防性抗真菌治疗^[28,30,31], 只有在临床上无法用细菌感染来解释发热等表现时, 高度怀疑真菌感染时, 可经验性应用抗真菌药, 同时进行血液或体液真菌培养。但2016年美国感染病学会(Industrial Designer Society of America, IDSA)侵袭性念珠菌病指南则建议, 对于有念珠菌感染高危因素的腹腔感染, 其中包括坏死性胰腺炎患者, 可预防性抗真菌治疗^[34]。

综上, 近年来多数研究及据此基础之上形成的指南及共识不支持预防性使用抗生素, 同时也存在一些研究认为SAP患者在预防性使用抗生素治疗中能获得收益, 对于伴有广泛胰腺坏死的SAP的亚组, 指南的意见存在分歧。当前SAP早期预防性使用抗生素治疗的研究大多还存在有局限性, 针对SAP预防性使用抗生素的争议, 还有待更多细致、严格的、高质量临床研究来解决。

3 SAP继发感染病原学特点及抗生素的选择

胰腺感染在SAP继发感染最为多见^[35], 其最常见的致病菌是肠道细菌, 革兰氏阴性细菌如大肠杆菌更为多见, 其次为厌氧菌及真菌, 革兰氏阳性细菌见于粪肠球菌^[36]。胰腺外感染则主要见于肺部感染, 在ICU发生率为23%。先前的研究^[37]报道腹部外感染最常见的病原菌是铜绿假单胞菌, 而近几年的研究则报道肺炎克雷伯菌变得比铜绿假单胞菌更为常见^[30]。

如上, SAP患者继发感染致病菌主要为革兰阴性菌和厌氧菌, 而胰腺感染通常继发于组织坏死, 在缺乏血液供应的情况下抗生素很难在局部形成有效的浓度。使用抗菌药物需遵循“降阶梯”策略, 选择抗菌谱为针对革兰阴性菌和厌氧菌为主、脂溶性强、可有效通过血胰屏障的药物^[31]。多项研究表明, 碳青霉烯类及喹诺酮

类抗生素在感染性胰腺坏死中具有较好的组织渗透性和杀菌性能^[36,38]。对于真菌感染, 如果之前没有接触过唑类药物或没有抗唑类念珠菌属定植, 建议使用药物为棘白菌素或氟康唑^[34]。

4 SAP继发感染的预测及早期识别

由于当前预防性使用抗生素的观点未获得临床的一致认可, 那么如何尽早识别感染从而避免抗感染治疗的延误也是当前临床关注的热点问题。

美国胃肠病学会2013年AP诊疗指南中建议: 对于住院7-10 d后病情持续加重或无改善的SAP患者, 应考虑感染性坏死^[39]。这类患者建议行增强CT检查, 如果增强CT上发现胰腺或胰周有游离气体形成, 则证实发生感染性坏死, 应给与抗生素治疗。然而, 只有大约一半伴有感染性坏死的患者有游离气体产生^[2,40,41]。当增强CT对感染性坏死的诊断无法定论时, 可在CT引导下进行细针穿刺(fine needle aspiration, FNA)并行革兰氏染色及培养, 以指导抗生素合理使用, 其灵敏度高达79%左右。尽管如此, 假阴性发生率为12-25%^[40,42]。在第一次FNA结果阴性后, 仍然、或再次高度怀疑感染, 可再行FNA。如果在多次增强CT和FNA检查未证实感染性坏死, 但感染的临床症状仍持续存在, “疑似”感染性坏死应视为“证实”感染性坏死, 可经验性抗感染治疗。

目前, C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、降钙素原(procalcitonin, PCT)等实验室指标被提出用于预测急性胰腺炎继发感染。近期的一项回顾性研究报道: 入院后48小时内红细胞比容(hematocrit, HCT)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、PCT和CRP的最高水平是IPN的独立因素, 在入院后48 h内, 用这4个参数联合诊断可准确预测坏死性胰腺炎继发IPN的发生。而Rodriguez等^[42]则在研究中声明CRP和白细胞计数(white blood cell, WBC)值与AP的早期感染无关, 因此CRP和WBC不应作为抗生素使用决策的生物标志物。PCT作为用于早期预测和识别感染性胰腺坏死的生物标志物被研究者更多的研究者认可^[43,44]。当前正在进行的RCT研究^[36]也旨在证明, 基于PCT的算法来指导AP抗生素治疗的启动、持续和中止将导致抗生素的使用减少, 而不会对结果产生不利影响。

5 展望

由于对SAP早期病理生理机制的认识不断深入, 以及液体复苏、器官功能支持保护及营养支持治疗等技术的广泛应用, SAP急性炎症反应期死亡率已明显下降。但如何进一步降低感染期并发症发生率及死亡率仍是今后相当长时期内临床和基础研究关注的重点。从前文的

综述可以看出, 尽管大多数研究不支持预防性使用抗生素, 仍有部分研究认为预防性使用抗生素对治疗有益, 国内外的指南或共识也有明确提出可以使用抗生素的指征如重症及坏死性胰腺炎, 尤其是伴有广泛胰腺坏死的亚群。相关研究还存在各种缺陷, 临床上需要多中心、大样本的前瞻性研究或基于大数据分析真实世界的研究等来进一步阐明。

当前的研究多把SAP当作一个群体进行研究, 不同病因如酒精性胰腺炎、高脂血症性、创伤性胰腺炎及胆源性胰腺炎, 其诱发胰腺炎的机制不同, 疾病的病理过程、严重程度及发生感染的可能存在差异, 对某一病因引起的SAP给与预防性抗生素治疗并分析对于疾病预后的影响也是临床今后研究方向。另外, 当前预防性使用抗生素相关研究多是在发病之初给药, 因此得出了较多阴性结论, 而在出现感染证据之时给药往往又导致感染难以控制。如何在两者之间寻找到一个合适的节点应用抗生素能在有效控制或避免感染的同时减少因抗生素的过度使用而导致细菌耐药及真菌感染的发生也是临床需进一步探讨的话题。最后, 当前研究的终点更多的是继发感染的发生率及死亡率等指标。临床还可纳入更多更细致的研究终点指标, 或可观察到预防性使用抗生素所带来的不一样的结论。

6 参考文献

- 1 Lee PJ, Papachristou GI. New insights into acute pancreatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019; 16: 479-496 [PMID: 31138897 DOI: 10.1038/s41575-019-0158-2]
- 2 Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, Tsotos GG, Vege SS; Acute Pancreatitis Classification Working Group. Classification of acute pancreatitis—2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* 2013; 62: 102-111 [PMID: 23100216 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302779]
- 3 Boxhoorn L, Voermans RP, Bouwense SA, Bruno MJ, Verdonk RC, Boermeester MA, van Santvoort HC, Besselink MG. Acute pancreatitis. *Lancet* 2020; 396: 726-734 [PMID: 32891214 DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31310-6]
- 4 Soullountsi V, Schizodimos T. Use of antibiotics in acute pancreatitis: ten major concerns. *Scand J Gastroenterol* 2020; 55: 1211-1218 [PMID: 32805137 DOI: 10.1080/00365521.2020.1804995]
- 5 Werge M, Novovic S, Schmidt PN, Gluud LL. Infection increases mortality in necrotizing pancreatitis: A systematic review and meta-analysis. *Pancreatol* 2016; 16: 698-707 [PMID: 27449605 DOI: 10.1016/j.pan.2016.07.0042009;7:1247-1251]
- 6 Besselink MG, van Santvoort HC, Boermeester MA, Nieuwenhuijs VB, van Goor H, Dejong CH, Schaapherder AF, Gooszen HG; Dutch Acute Pancreatitis Study Group. Timing and impact of infections in acute pancreatitis. *Br J Surg* 2009; 96: 267-273 [PMID: 19125434 DOI: 10.1002/bjs.6447]
- 7 Liu H, Li W, Wang X, Li J, Yu W. Early gut mucosal dysfunction in patients with acute pancreatitis. *Pancreas* 2008; 36: 192-196 [PMID: 18376312 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31815a399f]
- 8 Fishman JE, Levy G, Alli V, Zheng X, Mole DJ, Deitch EA. The intestinal mucus layer is a critical component of the gut barrier that is damaged during acute pancreatitis. *Shock* 2014; 42: 264-

- 270 [PMID: 24978882 DOI: 10.1097/shk.000000000000209]
- 9 Liu J, Huang L, Luo M, Xia X. Bacterial translocation in acute pancreatitis. *Crit Rev Microbiol* 2019; 45: 539-547 [PMID: 31851854 DOI: 10.1080/1040841X.2019.1621795]
- 10 Widdison AL, Karanjia ND, Reber HA. Routes of spread of pathogens into the pancreas in a feline model of acute pancreatitis. *Gut* 1994; 35: 1306-1310 [PMID: 7959243 DOI: 10.1136/gut.35.9.1306]
- 11 Ozacmak VH, Sayan H, Arslan SO, Altaner S, Aktas RG. Protective effect of melatonin on contractile activity and oxidative injury induced by ischemia and reperfusion of rat ileum. *Life Sci* 2005; 76: 1575-1588 [PMID: 15680167 DOI: 10.1016/j.lfs.2004.08.031]
- 12 Li XY, He C, Zhu Y, Lu NH. Role of gut microbiota on intestinal barrier function in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2020; 26: 2187-2193 [PMID: 32476785 DOI: 10.3748/wjg.v26.i18.2187]
- 13 Pando E, Alberti P, Hidalgo J, Vidal L, Dopazo C, Caralt M, Blanco L, Gómez-Gavara C, Bilbao I, Balsells J, Charco R. The role of extra-pancreatic infections in the prediction of severity and local complications in acute pancreatitis. *Pancreatol* 2018; 18: 486-493 [PMID: 29802078 DOI: 10.1016/j.pan.2018.05.481]
- 14 Dellinger EP, Tellado JM, Soto NE, Ashley SW, Barie PS, Dugernier T, Imrie CW, Johnson CD, Knaebel HP, Laterre PF, Maravi-Poma E, Kissler JJ, Sanchez-Garcia M, Utzolano S. Early antibiotic treatment for severe acute necrotizing pancreatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Ann Surg* 2007; 245: 674-683 [PMID: 17457158 DOI: 10.1097/01.sla.0000250414.09255.84]
- 15 Mourad MM, Evans R, Kalidindi V, Navaratnam R, Dvorkin L, Bramhall SR. Prophylactic antibiotics in acute pancreatitis: endless debate. *Ann R Coll Surg Engl* 2017; 99: 107-112 [PMID: 27917667 DOI: 10.1308/rcsann.2016.0355.]
- 16 Isenmann R, Rünzi M, Kron M, Kahl S, Kraus D, Jung N, Maier L, Malfertheiner P, Goebell H, Beger HG; German Antibiotics in Severe Acute Pancreatitis Study Group. Prophylactic antibiotic treatment in patients with predicted severe acute pancreatitis: a placebo-controlled, double-blind trial. *Gastroenterology* 2004; 126: 997-1004 [PMID: 15057739 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.12.050]
- 17 Xue P, Deng LH, Zhang ZD, Yang XN, Wan MH, Song B, Xia Q. Effect of antibiotic prophylaxis on acute necrotizing pancreatitis: results of a randomized controlled trial. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 736-742 [PMID: 19220676 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05758.x]
- 18 Nakaharai K, Morita K, Jo T, Matsui H, Fushimi K, Yasunaga H. Early prophylactic antibiotics for severe acute pancreatitis: A population-based cohort study using a nationwide database in Japan. *J Infect Chemother* 2018; 24: 753-758 [PMID: 29909051 DOI: 10.1016/j.jiac.2018.05.009]
- 19 Chatila AT, Bilal M, Guturu P. Evaluation and management of acute pancreatitis. *World J Clin Cases* 2019; 7: 1006-1020 [PMID: 31123673 DOI: 10.12998/wjcc.v7.i9.1006]
- 20 Faghih M, Fan C, Singh VK. New Advances in the Treatment of Acute Pancreatitis. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2019; 17: 146-160 [PMID: 30701454 DOI: 10.1007/s11938-019-00223-8]
- 21 Jiang K, Huang W, Yang XN, Xia Q. Present and future of prophylactic antibiotics for severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 279-284 [PMID: 22294832 DOI: 10.3748/wjg.v18.i3.279]
- 22 Ding N, Sun YH, Wen LM, Wang JH, Yang JH, Cheng K, Lin H, Chen QL. Assessment of prophylactic antibiotics administration for acute pancreatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Chin Med J (Engl)* 2020; 133: 212-220 [PMID: 31929369 DOI: 10.1097/CM9.0000000000000603]
- 23 Røkke O, Harbitz TB, Liljedal J, Pettersen T, Fetvedt T, Heen LØ, Skreden K, Viste A. Early treatment of severe pancreatitis with imipenem: a prospective randomized clinical trial. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 771-776 [PMID: 17506001 DOI: 10.1080/00365520601173855]
- 24 Nordback I, Sand J, Saaristo R, Paajanen H. Early treatment with antibiotics reduces the need for surgery in acute necrotizing pancreatitis—a single-center randomized study. *J Gastrointest Surg* 2001; 5: 113-8; discussion 118-20 [PMID: 11331472 DOI: 10.1016/s1091-255x(01)80021-4]
- 25 Yao L, Huang X, Li Y, Shi R, Zhang G. Prophylactic antibiotics reduce pancreatic necrosis in acute necrotizing pancreatitis: a meta-analysis of randomized trials. *Dig Surg* 2010; 27: 442-449 [PMID: 21071945 DOI: 10.1159/000318780]
- 26 Ukai T, Shikata S, Inoue M, Noguchi Y, Igarashi H, Isaji S, Mayumi T, Yoshida M, Takemura YC. Early prophylactic antibiotics administration for acute necrotizing pancreatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2015; 22: 316-321 [PMID: 25678060 DOI: 10.1002/jhbp.221]
- 27 Lim CL, Lee W, Liew YX, Tang SS, Chlebicki MP, Kwa AL. Role of antibiotic prophylaxis in necrotizing pancreatitis: a meta-analysis. *J Gastrointest Surg* 2015; 19: 480-491 [PMID: 25608671 DOI: 10.1007/s11605-014-2662-6]
- 28 Leppäniemi A, Tolonen M, Tarasconi A, Segovia-Lohse H, Gamberini E, Kirkpatrick AW, Ball CG, Parry N, Sartelli M, Wolbrink D, van Goor H, Baiocchi G, Ansaloni L, Biffl W, Coccolini F, Di Saverio S, Kluger Y, Moore E, Catena F. 2019 WSES guidelines for the management of severe acute pancreatitis. *World J Emerg Surg* 2019; 14: 27 [PMID: 31210778 DOI: 10.1186/s13017-019-0247-0]
- 29 Crockett SD, Wani S, Gardner TB, Falck-Ytter Y, Barkun AN; American Gastroenterological Association Institute Clinical Guidelines Committee. American Gastroenterological Association Institute Guideline on Initial Management of Acute Pancreatitis. *Gastroenterology* 2018; 154: 1096-1101 [PMID: 29409760 DOI: 10.1053/j.gastro.2018.01.032]
- 30 Yokoe M, Takada T, Mayumi T, Yoshida M, Isaji S, Wada K, Itoi T, Sata N, Gabata T, Igarashi H, Kataoka K, Hirota M, Kadoya M, Kitamura N, Kimura Y, Kiriyaama S, Shirai K, Hattori T, Takeda K, Takeyama Y, Hirota M, Sekimoto M, Shikata S, Arata S, Hirata K. Japanese guidelines for the management of acute pancreatitis: Japanese Guidelines 2015. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2015; 22: 405-432 [PMID: 25973947 DOI: 10.1002/jhbp.259]
- 31 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组, 中华胰腺病杂志编辑委员会, 中华消化杂志编辑委员会等. 中国急性胰腺炎诊治指南(2019年, 沈阳). *中华消化杂志* 2019; 11: 721-730
- 32 Moka P, Goswami P, Kapil A, Kess I, Sreenivas V, Saraya A. Impact of Antibiotic-Resistant Bacterial and Fungal Infections in Outcome of Acute Pancreatitis. *Pancreas* 2018; 47: 489-494 [PMID: 29517630 DOI: 10.1097/MPA.0000000000001019]
- 33 Kochhar R, Ahammed SK, Chakrabarti A, Ray P, Sinha SK, Dutta U, Wig JD, Singh K. Prevalence and outcome of fungal infection in patients with severe acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 743-747 [PMID: 19220667 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05712.x]
- 34 Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, Reboli AC, Schuster MG, Vazquez JA, Walsh TJ, Zaoutis TE, Sobel JD. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2016; 62: e1-50 [PMID: 26679628 DOI: 10.1093/cid/civ933]
- 35 De Waele JJ, Rello J, Anzueto A, Moreno R, Lipman J, Sakr Y, Pickkers P, Leone M, Ferguson A, Oud L, Vincent JL; EPIC II Investigators. Infections and use of antibiotics in patients admitted for severe acute pancreatitis: data from the EPIC II study. *Surg Infect (Larchmt)* 2014; 15: 394-398 [PMID: 24819027 DOI: 10.1089/sur.2012.228]
- 36 Mowbray NG, Ben-Ismael B, Hammada M, Shingler G, Al-Sarireh B. The microbiology of infected pancreatic necrosis.

- Hepatobiliary Pancreat Dis Int 2018; 17: 456-460 [PMID: 30197163 DOI: 10.1016/j.hbpd.2018.08.007]
- 37 Xue P, Deng LH, Zhang ZD, Yang XN, Wan MH, Song B, Xia Q. Infectious complications in patients with severe acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2748-2753 [PMID: 19104931 DOI: 10.1007/s10620-008-0668-1]
- 38 Schubert S, Dalhoff A. Activity of moxifloxacin, imipenem, and ertapenem against *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, and *Bacteroides fragilis* in monocultures and mixed cultures in an in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model simulating concentrations in the human pancreas. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 6434-6436 [PMID: 23070164 DOI: 10.1128/AAC.00872-12]
- 39 Tenner S, Baillie J, DeWitt J, Vege SS; American College of Gastroenterology. American College of Gastroenterology guideline: management of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1400-15; 1416 [PMID: 23896955 DOI: 10.1038/ajg.2013.218]
- 40 van Baal MC, Bollen TL, Bakker OJ, van Goor H, Boermeester MA, Dejong CH, Gooszen HG, van der Harst E, van Eijck CH, van Santvoort HC, Besselink MG; Dutch Pancreatitis Study Group. The role of routine fine-needle aspiration in the diagnosis of infected necrotizing pancreatitis. *Surgery* 2014; 155: 442-448 [PMID: 24287142 DOI: 10.1016/j.surg.2013.10.001]
- 41 van Grinsven J, van Brunschot S, van Baal MC, Besselink MG, Fockens P, van Goor H, van Santvoort HC, Bollen TL; Dutch Pancreatitis Study Group. Natural History of Gas Configurations and Encapsulation in Necrotic Collections During Necrotizing Pancreatitis. *J Gastrointest Surg* 2018; 22: 1557-1564 [PMID: 29752684 DOI: 10.1007/s11605-018-3792-z]
- 42 Rodriguez JR, Razo AO, Targarona J, Thayer SP, Rattner DW, Warshaw AL, Fernández-del Castillo C. Debridement and closed packing for sterile or infected necrotizing pancreatitis: insights into indications and outcomes in 167 patients. *Ann Surg* 2008; 247: 294-299 [PMID: 18216536 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31815b6976]
- 43 Pármiczky A, Lantos T, Tóth EM, Szakács Z, Gódi S, Hágendorn R, Illés D, Koncz B, Márta K, Mikó A, Mosztbacher D, Németh BC, Pécsi D, Szabó A, Szűcs Á, Varjú P, Szentesi A, Darvasi E, Erőss B, Izbéki F, Gajdán L, Halász A, Vincze Á, Szabó I, Pár G, Bajor J, Sarlós P, Czimmer J, Hamvas J, Takács T, Szepes Z, Czákó L, Varga M, Novák J, Bod B, Szepes A, Sümegi J, Papp M, Góg C, Török I, Huang W, Xia Q, Xue P, Li W, Chen W, Shirinskaya NV, Poluektov VL, Shirinskaya AV, Hegyi PJ, Bátorvsky M, Rodriguez-Oballe JA, Salas IM, Lopez-Diaz J, Dominguez-Munoz JE, Molero X, Pando E, Ruiz-Rebollo ML, Burgueño-Gómez B, Chang YT, Chang MC, Sud A, Moore D, Sutton R, Gougol A, Papachristou GI, Susak YM, Tiuliukin IO, Gomes AP, Oliveira MJ, Aparício DJ, Tantau M, Kurti F, Kovacheva-Slavova M, Stecher SS, Mayerle J, Poropat G, Das K, Marino MV, Capurso G, Malecka-Panas E, Zatorski H, Gasiorowska A, Fabisiak N, Ceranowicz P, Kuśnierz-Cabala B, Carvalho JR, Fernandes SR, Chang JH, Choi EK, Han J, Bertilsson S, Jumaa H, Sandblom G, Kacar S, Baltatzis M, Varabei AV, Yesly V, Chooklin S, Kozachenko A, Veligotsky N, Hegyi P; Hungarian Pancreatic Study Group. Antibiotic therapy in acute pancreatitis: From global overuse to evidence based recommendations. *Pancreatology* 2019; 19: 488-499 [PMID: 31068256 DOI: 10.1016/j.pan.2019.04.003]
- 44 Mofidi R, Suttie SA, Patil PV, Ogston S, Parks RW. The value of procalcitonin at predicting the severity of acute pancreatitis and development of infected pancreatic necrosis: systematic review. *Surgery* 2009; 146: 72-81 [PMID: 19541012 DOI: 10.1016/j.surg.2009.02.013]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……,研究^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6,7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊:序号,作者(列出全体作者)。文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页。

基于肠道微生态探源《黄帝内经》泄泻五脏论

李玉丽, 谭周进

李玉丽, 谭周进, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410208

李玉丽, 博士研究生, 主要从事方剂配伍的微生物生态学机理探究.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目, No. 81874460.

作者贡献分布: 本文综述由李玉丽完成; 谭周进审校.

通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市岳麓区学士路300号, 湖南中医药大学. tanzhjin@sohu.com

收稿日期: 2021-04-01

修回日期: 2021-04-10

接受日期: 2021-04-22

在线出版日期: 2021-06-08

Discussion on the theory of treating diarrhea from five viscera in Huangdi Neijing based on intestinal microecology

Yu-Li Li, Zhou-Jin Tan

Yu-Li Li, Zhou-Jin Tan, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81874460.

Corresponding author: Zhou-Jin Tan, Professor, Hunan University of Chinese Medicine, No. 300 Xueshi Road, Hanpu Science and Education Park, Changsha 410208, Hunan Province, China. tanzhjin@sohu.com

Received: 2021-04-01

Revised: 2021-04-10

Accepted: 2021-04-22

Published online: 2021-06-08

Abstract

Diarrhea is a common digestive tract disease that

seriously affects the quality of life of patients. With the development of microecology, the relationship between diarrhea and intestinal microecological disorder has been widely recognized. The elaboration of diarrhea in Huangdi Neijing involves etiology, pathogenesis, clinical manifestation, and treatment, and especially, it pioneered the theory of treating diarrhea from five viscera. Intestinal flora is a "forgotten organ", and dysbacteriosis is an important mechanism of diarrhea. The theory of treating diarrhea from five viscera in Huangdi Neijing embodies the whole concept of TCM theory, which is highly consistent with the connotation of intestinal microecological imbalance. This paper systematically collected the literature on intestinal flora related to the five viscera in recent five years. The general introduction of diarrhea treatment from Huangdi Neijing and the microecological mechanism of treating diarrhea from spleen, kidney, liver, heart, and lung were analyzed and expounded. We conclude that the dynamic balance of intestinal flora is the main characteristic of the coordination of functions of the five viscera, and the dysfunction of the five viscera can lead to the disorder of intestinal flora. The research results of intestinal flora will become a key scientific fulcrum to explore the connotation of the theory of treating diarrhea from five viscera in Huangdi Neijing in the future.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Diarrhea; Intestinal flora; Huangdi Neijing; Five viscera; Traditional Chinese medicine

Citation: Li YL, Tan ZJ. Discussion on the theory of treating diarrhea from five viscera in Huangdi Neijing based on intestinal microecology. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(11): 615-620
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/615.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.615>

摘要

泄泻是一种常见的消化道疾病,严重影响了患者的生活质量。随着微生物学发展,泄泻与肠道微生态失调的联系已得到广泛认可。中医经典《黄帝内经》中的泄泻相关论述涉及病因病机、临床表现与治疗诸方面,尤其是开创了从五脏论治泄泻之先河。肠道菌群是一个“被遗忘的器官”,菌群失调是泄泻发病的重要机制。《黄帝内经》泄泻五脏论体现了中医理论的整体观念,与肠道微生态失调内涵高度一致。结合共同的认知基础,本文系统整理了近5年文献中与五脏相关肠道菌群研究的文献,从《黄帝内经》论治泄泻总概论、以及泄泻从脾、肾、肝、心、肺五脏论治的微生物机制进行分析阐述。研究发现肠道菌群的动态平衡是五脏功能协调的主要特征表现,五脏功能失调又皆能引起肠道菌群紊乱。肠道菌群研究成果将成为未来探究《黄帝内经》泄泻五脏论理论内涵的一个关键的科学支点。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 泄泻; 肠道菌群; 《黄帝内经》; 五脏; 中医

核心提要: 近年来研究已证实了中医与肠道微生态的密切联系。《黄帝内经》从五脏论治泄泻的理论切合临床实际,为中医辨证论治泄泻奠定了坚实的基础。因此,聚焦肠道菌群阐明《黄帝内经》泄泻五脏论的科学机制具有重要的意义。

文献来源: 李玉丽, 谭周进. 基于肠道微生态探源《黄帝内经》泄泻五脏论. 世界华人消化杂志 2021; 29(11): 615-620

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/615.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i11.615>

0 引言

《黄帝内经》(以下简称《内经》)是中华民族第一部中医理论经典,包括《黄帝内经素问》(以下简称《素问》)和《灵枢经》(以下简称《灵枢》)各八十一篇。《内经》对泄泻虽无专篇讨论,但有关内容却散见于29篇中,其中已涉及了泄泻的名称、分类、病因、病机、病位、临床表现等各个方面,后世对泄泻的认识也多以书中基本观点为指导思想,其中关于泄泻五脏论的阐述对现代临床仍有重要的指导意义。然而泄泻五脏论的内涵仍难以现代医学所理解,从而极大地阻碍了该中医理论现代化发展。人体五脏六腑与肠道微生态在生理病理上相互作用和影响的认识与中医脏腑学说基本一致^[1]。甚至有学者提出“藏象”是古人对“人菌共生”现象的隐喻表述,可朴素地理解为(粪便中的)肠道菌群

以“(脏)脏”的方式“藏(音cang)”在人体(肠道)这个“(形)象”中,形成了传统中医的藏象学说和脏腑理论^[2]。结合中医学与微生物学理论存在共同的认知基础,本研究以中医脏腑理论为源,以肠道微生态研究为证,创新性地提出从肠道菌群的视角探源《内经》泄泻五脏论的思想内涵。

1 《内经》论治泄泻总概论

《内经》从多方面对泄泻的病因病机进行了描述。有从外邪而论,分湿、寒、热、风,如《素问·阴阳应象大论篇》^[3]：“湿胜则濡泻”，湿为阴邪，易伤脾阳，运化失职，而致泄泻。《灵枢·邪气藏府病形》^[4]：“冬日重感于寒即泄，当脐而痛”，寒为阴邪，寒盛直中胃肠则致泄泻。《灵枢·百病始生》^[4]：“多热则溲出糜”，热为阳邪，其性急速，湿热蕴结，下注大肠而成泄泻。《素问·阴阳应象大论篇》^[3]：“春伤于风，夏生飧泄”，风气通于肝，感于风则肝气盛，肝旺乘脾，脾失健运，则水谷部分而成泄泻。又或从饮食立论，如《素问·太阴阳明论篇》^[3]：“饮食不节起居不时者……下为飧泄，久为肠澼”，饮食不节也是引起泄泻的重要因素之一。又或从情志立论，如《素问·举痛论篇》^[3]：“怒则气逆，甚则呕血及飧泄”，烦恼郁怒，肝气不舒，横逆克脾，脾失健运而为泄泻，情志失调也是泄泻的重要诱因。另有从五运六气的变化认识泄泻，如《素问·气交变大论篇》^[3]：“岁水不及，湿乃大行……民病腹满身重，濡泄寒痰流水”，天地四时五运六气各有偏颇，人易随之而病，这些认识都为后世医家治泄之法提供了依据。

《内经》从五脏论治泄泻的思想，对现代临床治疗本病更具有重要的指导意义。第一，泄泻从“脾”论，脾主运化水谷津液，脾虚失运，水谷并走肠间而为泄泻，如《素问·藏气法时论篇》^[3]：“脾病者……虚则腹满肠鸣，飧泄食不化”。第二，泄泻从“肝”论，肝失疏泄，横逆克伐脾土，运化失常而致泄泻，如《素问·举痛论篇》^[3]：“怒则气逆，甚则呕血及飧泄”。第三，泄泻从“肾”论，肾为胃之关，肾阳衰微，关门失守，可致泄泻，如《灵枢·邪气藏府病形》^[4]：“肾脉……小甚为洞泄”。第四，泄泻从“肺”论，肺络大肠，肺气虚弱，大肠主津失司，腑气失于固摄，以致泄泻，如《灵枢·邪气藏府病形》^[4]：“肺脉……小甚为泄”。第五，泄泻从“心”论，心络小肠，可助其泌别，若小肠泌别清浊功能失司，清浊混杂而下可现泄泻之证，如《素问·举痛论篇》^[3]：“寒气客于小肠，小肠不得成聚，故后泄腹痛矣。”《内经》以“五脏”统论泄泻的思想为后世立论分析泄泻奠定了良好的理论基础，其理论内涵仍值得现代研究者深入探究。

2 泄泻从“五脏”立论的肠道微生态学机制

近年来,随着肠道微生态学的发展,肠道菌群与中医脏腑之间的密切联系受到越来越多的关注。人体是一个以五脏为核心的整体,五脏六腑经络相连,生理相关,病理相及。肠道菌群作为人体内特殊的“器官”,常从多个方面如能量代谢、短链脂肪酸、肝-肠轴、脑-肠轴等途径影响机体健康。五脏与肠道菌群的联系见图1。

2.1 泄泻从“脾”论 人体五脏中,“脾”与肠道菌群最为相关。脾主运化,其化生的气血精微可濡养五脏六腑,故为五脏之本。正常肠道菌群可产生各种酶,参与食物消化和新陈代谢^[5],与脾的生理功能相通,肠道菌群故被称为西医理论的“后天之本”^[6]。脾胃生化气血,滋养肌肉皮毛,充实卫气,增强正气抗病御邪的能力。肠道菌群的定植及发育对肠道免疫系统的发育、激活、功能调节以及全身免疫系统发挥重要作用^[7]。脾主升清,脾气可将水谷精微上输心、肺以及头目,并通过心肺化生气血,以营养全身,而“脾气”体现的主要是肠道菌群的综合作用^[8]。脾与胃通过经脉相互络属构成表里关系。胃的幽门与肠道相连,负责接受胃内容物并消化吸收,其正常生理功能是由肠道菌群实现的。脾升胃降,脾胃为气机升降之枢纽,维持精微物质的传输。脾胃升清降浊的功能与肠道菌群参与吸收、消化食物,转化为人所需要的营养物质濡养全身,满足人体正常需要的作用基本一致。肠道菌群的部位在肠道,功能属脾胃^[9]。

脾胃虚弱是泄泻的常见病机。《素问·藏气法时论篇》^[13]：“脾病者……虚则腹满肠鸣，飧泄食不化”，《素问·脉要精微论篇》载^[3]：“胃脉……虚则泄”。脾胃亏虚，纳运失司，水谷不化，合污而下，即可发生泄泻。《素问·刺热篇》^[13]：“脾热病者……腹满泄”。脾为湿土，脾热易与湿邪相合，脾之湿热下注肠道则大便溏泄。多项研究证实肠道菌群紊乱是中医脾胃失衡的现代病理基础。肠道细菌总数、乳酸菌、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、梭菌属(*Clostridium*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、*Parabacteroides*、拟普雷沃菌属(*Alloprevotella*)和幽门螺杆菌(*Helicobacter*)相对丰度显著变化是脾虚泄泻肠道菌群特征^[10,11]。进一步研究发现脾虚泄泻大鼠肠道黏膜层变薄，菌群代谢产物短链脂肪酸水平降低^[12]。外邪伤脾也是不容忽视的泄泻病因病机。《素问·五常政大论篇》^[13]：“其病飧泄，邪伤脾也”。此处言及脾运失常，肌肉不充，卫外失固，外邪伤脏导致机体抗病防御功能下降而发泄泻。临床研究证实温中健脾方黄芪健中汤可使腹泻患者脾虚证候减轻，双歧杆菌属(*Bifidobacteria*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)和乳杆菌属(*Lactobacillus*)相对丰度升高，T淋巴细胞含量

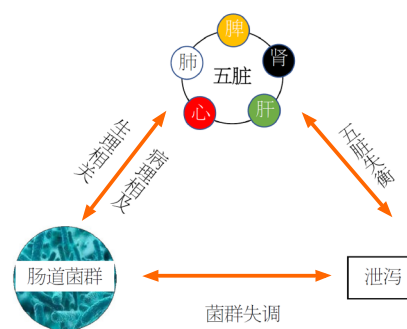


图1 五脏与肠道菌群的联系。

的变化为 $CD4^+$ 、 $CD3^+$ 水平及 $CD4^+/CD8^+$ 水平升高,而 $CD8^+$ 水平降低^[13]。这从反面验证了脾虚机体肠道菌群结构发生了改变,免疫力下降。复健脾运、调整肠道菌群则可治疗泄泻,如健脾方药七味白术散、和调健脾汤可增加有益菌水平,降低病原菌水平而使脾运复健,菌群失调复衡而泄泻得愈^[14,15]。肠道是中医脾胃实现功能的主要部位,肠道菌群失调是脾运失司的病理表现,可将肠道菌群紊乱看作中医从“脾”论治泄泻的现代生物学基础。

2.2 泄泻从“心”论 《灵枢·经脉》载^[4]：“心手少阴之脉，起于心中……络小肠。”心与小肠通过经脉相互联系,生理功能相互影响,从而直接影响肠道菌群结构和功能。现代研究证实了心与小肠来源于同一胚层,早期胚胎发育中产生的神经脊,一部分进入了中枢神经系统,另一部分变成肠神经系统^[16]。又《素问·五藏生成篇》^[3]：“诸血者，皆属于心。”中医认为心主血液的生成和运行,这与解剖学的心脏的生理功能相似。心主血,心气可以推动血液运行以输送营养物质于全身各脏腑。脾胃化生的水谷精微注入脉中,需要经过心火作用化为赤色血液。心阳虚衰则脾胃化源不足,气血亏虚则肠菌失养。心是一身血液运行的枢纽。肝藏血,是贮藏和调节血液的重要脏腑。因此,心还可通过影响脾、肝等间接影响肠道菌群。另一方面,《内经》中对心的认知超越了现代医学有关认识,如《素问·灵兰秘典论篇》^[3]：“心者，君主之官也，神明出焉。”心主导机体精神情志活动,亦与现代神经系统生理功能一致^[17]。同时研究发现中枢神经系统和肠道神经系统通过肠道菌群相互对话^[18]。肠道菌群参与重要中枢神经递质的传递与合成,如*Bifidobacterium infantis*影响大脑和肠神经系统内中药的神经递质5-羟色胺的传递^[19]。中医学的“心”包涵了现代医学的“脑”的部分功能,故中医“心与小肠相表里”与现代医学提出的“脑-肠轴”理论是相通的^[20]。

《素问·举痛论篇》^[3]曰：“寒气客于小肠，小肠不得成聚，故后泄腹痛矣。”外邪伤及小肠，致其泌别清浊功能失常，则清浊不分，水液归于糟粕，水谷混杂而出

现泄泻. 肠道菌群紊乱, 小肠“受盛化物”功能丧失, 吸收不当, 精微不生. 包括小肠细菌过度生长在内的肠道微生态失衡是腹泻型肠易激综合征关键的发病机制^[21]. 远端肠道内菌群移位进入小肠, 引起小肠内厌氧菌过度孳生而表现为营养吸收不良、腹泻、腹胀等症状^[22]. 随着“心与小肠相表里”科学认知的深入, “心理肠胃学”概念逐渐被提出, 并且被应用于肠胃疾病的临床实践^[23]. 如腹泻型肠易激综合征的发生与心理因素密切相关, 现代医学认为其是以神经内分泌-免疫系统为中介, 受社会心理因素刺激而触发的心身疾病. 肠道菌群、黏膜免疫和肠道神经系统形成互作网络, 构成神经系统疾病相关的肠功能失调的病理生理学基础^[24]. 另一方面, 现代“菌心学说”认为失调的肠道菌群会破坏胃肠道黏膜获取碳源、氮源等营养物质, 通过迷走神经和神经内分泌传递给大脑, 大脑解读信号从而实施动作^[25]. 因此, 在“心与小肠相表里”的启发下, 甚至可以提出“人心即菌群”、“菌群即人心”的新认知^[2]. 由此可见, 肠道菌群紊乱与心与小肠功能失常的发生发展存在着双向影响作用, 肠道菌群可成为从“心”论治泄泻研究的新切入点.

2.3 泄泻从“肝”论 肝主疏泄, 通过敷布条达人体脏腑气血阴阳, 使人体各种功能状态趋于和谐平衡^[26]. 肝主藏血, 阴血能柔肝而制约肝刚急之性, 使肝气升发正常, 不至出现肝气亢逆犯脾. 肝与脾功能相关, 脾又与肠道菌群联系密切, 因此, 肝肠相关也是有理可推. 其实现代研究已证实肝脏与肠道并非相互独立的两个器官, 它们在胚胎阶段均起源于前肠, 通过门静脉相互关联. 同时二者通过代谢、免疫和神经内分泌系统交互作用, 实现密切的功能协作^[27]. 肝脏与肠道在结构及功能上直接相互作用和影响, “肠-肝轴”的概念由此而生^[28]. 现代研究发现肝脏作为免疫中枢, 富集了大量免疫细胞和肠道菌群分泌的内毒素, 肝脏功能无疑与肠道关系紧密^[29]. 胆附于肝, 二者互为表里, 肝脏分泌胆汁储存于胆囊, 胆汁排泄到肠道, 影响营养物质代谢及肠道微生物组成^[30]. 胆汁的重要组成成分胆汁酸可直接调节肠道菌群组成, 也可以抑制肠道细菌过度生长和易位, 维持肠黏膜和肠内环境的正常稳定^[31].

研究肠道菌群与“肝”的关系是探讨从“肝”治疗泄泻的新视角. 《素问·至真要大论篇》^[3]: “厥阴之胜……胃脘当心而痛, 上支两胁, 肠鸣飧泄”, 肝胆失疏, 不能疏土健脾胃, 对脾胃之气的调节紊乱, 脾不升清, 精微下泻则飧泄^[32]. 疏肝调肝立法选方可改善泄泻机体的肠道菌群失调状态, 如改变拟杆菌门、变形菌门、螺旋体门、疣微菌门以及艾克曼菌属(*Akkermansia*)和严格梭菌属(*Clostridium sensu stricto* 1)

等的相对丰度^[33,34], 此反面证实了当肠道菌群稳态被破坏而发生泄泻时, 调“肝”诊治具有重要的意义.

2.4 泄泻从“肺”论 肺主气司呼吸, 肺气宣发肃降推动和调节全身水液的输布和排泄. 《灵枢·经脉》曰^[4]: “肺手太阴之脉……下络大肠”, 肺络大肠, 大肠为“传导之官”, 传导糟粕. 肺气肃降, 气机流畅, 才能保证大肠通降, 使得人体水谷传导有序, 气血津液化源充足. 现代医学研究证实肺与大肠均由原肠结构分化发育而来^[35], 相同的结构来源势必决定了肺肠功能与病理的关系密切. 肺病可导致肠道菌群变化, 如《素问·咳论篇》中记载^[3]: “肺咳不已, 则大肠受之, 大肠咳状, 咳而遗失”; 《灵枢·邪气脏腑病形》^[4]: “肺脉……小甚为泄”. 肺气虚损, 宣发肃降失司, 通调水道功能障碍, 代谢的水液不走膀胱而直走大肠, 大肠失于固摄, 吸收水液障碍, 清浊不分, 与糟粕俱下而成泄泻; 抑或肺气亏虚, 子病及母, 伤及脾气则运化失常引起泄泻. 研究发现的肺病患者肺部与肠道呈现了相似的微生物种群变化就是肺病及肠的生动体现^[36]. 肠病也可影响及肺, 如《素问·痹论篇》曰^[3]: “肠痹者, 数饮而出不得, 中气喘争, 时发飧泄.” 邪在大肠, 能上冲胸中, 影响肺的宣发肃降, 肠病及肺, 引起肺脏病证. 肺部微生态与肠道微生态存在一定的相关性, 研究发现溃疡性结肠炎大鼠的肠道微生态改变可伴随出现呼吸道微生态的同步变化^[37]. 另一个支持肺肠相关的重要理论是共同黏膜反应认为黏膜部位收到抗原刺激后, 淋巴细胞会迁移至其他黏膜部位, 对远端的免疫反应产生影响^[38]. 研究通过对高氧下鼠肺肠灌洗液相关炎症因子的研究发现肺肠之间在黏膜免疫上具有同步性^[39]. 肺肠微生态学上的菌群对应规律性变化可能是肺肠传变的机制之一, 这些结论证实了中医的肺肠理论恰与现代研究提出的肺-肠轴的理念相对应. 泄泻发生发展与脾关系密切, 中医五行理论认为脾属土, 肺属金, 金土相生, 故肺亦可通过影响脾的功能间接调控肠道菌群变化. 肠道菌群是现代阐述从“肺”论治泄泻理论的桥梁.

2.5 泄泻从“肾”论 肾藏禀受于父母的先天之精, 先天肾精的强弱对后天生发育至关重要. 肠道菌群的形成始于胚胎期, 从生命伊始即不断影响着生命进程, 怀孕和哺乳期母体肠道微生物群变化会影响婴幼儿肠道微生物群的变化, 并决定新生儿的适应性免疫^[40]. 肠道菌群和肾精均源于先天胎元, 在多个维度影响后天生长期^[41], 二者所阐释的人体基本生命规律相似. 因此, 有学者提出肾精和肠道菌群是中西医界对机体内精微物质的不同解读^[42]. “肾主水”, 调节全身水液代谢, 而大肠主津、小肠主液亦赖肾气的推动和肾阳的气化. 水液代谢障碍会引起肠黏膜上一种负责水液传输的跨

膜蛋白表达异常,从而引起粪便含水量异常^[43]。肾司二便,肾阳充足,开阖有度,二便得以正常排泄。肾脏失调,引发水液代谢紊乱,肠道功能失常引起的泄泻,中医常用“利小便以实大便”之法。目前很多研究证实了肠-肾存在的密切联系,提出了“肠-肾轴”理论、“肠肾综合征”概念。近期研究发现健康人肾脏中存在细菌定植,并且健康人与肾癌患者肾脏定植的细菌具有显著差异^[44]。Yoshifuji等^[45]研究发现部分肾切除法建立的肾衰竭大鼠模型出现了菌群失调,具体表现为拟杆菌(*Bacteroides*)和普氏杆菌(*Prevotella*)数量较多,乳酸杆菌(*Lactobacillus*)减少明显,而补充乳酸杆菌可以防止肾脏损伤和肠道菌群变化。陈雪莉等从“肠-肾轴”理论探究清肾颗粒的组方机制发现其既可调节肠道菌群,又可降低炎症因子水平,保护肠黏膜屏障^[46]。中医理论认为肾为先天之本,脾为后天之本,后天与先天相互资助,相互促进,脾与胃肠密切联系,故脾是肾肠相关有力的间接证据。

《素问·气交变大论篇》^[3]：“肾水受邪……病腹满溏泄肠鸣”。肾阳虚衰,火不暖土,虚寒内生,脾失温养,肾为胃之关,关门失守,下焦不固,则大便倾下如水,倾泻无度,如门户之洞开,势迫不禁。研究发现温补肾阳对泄泻机体的肠道菌群结构影响显著,如改变变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、韦荣球菌属(*Veillonococcus*)、支原体属(*Mycoplasma*)和Pleaverella的相对丰度^[47],这是肾肠相关理论的实际体现。

3 结论

现代对泄泻的认识虽已取得长足的进展,但无不是在继承《内经》有关泄泻理论的基础上进行的补充和完善。《内经》泄泻五脏论从整体状态审视了泄泻病机,“五脏皆能令人泄,非独脾也”。泄泻病位在肠道,肠道正常功能的恢复依赖于脾气运化、胃气通降、肝气疏泄、肺气肃降、肾气固摄等脏腑平衡。作为生命科学重要的分支,微生态学中与中医基础理论存在很多相似点。肠道菌群是一个“虚拟的器官”,参与人体营养、免疫、代谢等整体生命活动。正常生理情况下,肠道菌群以一定的种类、丰度、比例组合,保持着一种相互依存、相互制约的动态平衡,共同维持肠道微生态内环境稳定。若生理性细菌被大量肠道致病菌替代则会引起肠道菌群失调,表现为肠道菌群在种类、丰度、比例、定位和生物学特性上的变化。相关研究已经发现五脏六腑生理功能失常与肠道菌群失调具有统一性。脾失健运、心失濡养、肾失固摄、肺失宣降、肝失疏泄会引起整体阴阳气血变化,皆能导致不同程度的肠道菌群失调。调节五脏整体平衡有利于恢复肠道菌群动态平衡。因此,聚焦

肠道菌群阐明《内经》泄泻五脏论的科学机制具有重要的意义。然而,目前关于泄泻五脏论与肠道菌群相关的研究尚处于初级阶段,仍需要更多基础和临床研究成果支持以进一步阐明中医经典理论的科学内涵,促进其现代临床的应用。

4 参考文献

- 1 焦巨英,胡凤林,刘建均,姜妮,尚东. 从肠道菌群探析急性胰腺炎证候演变. 世界科学技术-中医药现代化 2020; 22: 753-758
- 2 张成岗,巩文静,李志慧,高大文,高艳. 基于肠道菌群和菌心学说探讨中医现代化发展新思路. 中华中医药杂志 2020; 35: 4304-4307
- 3 王冰撰注(唐). 黄帝内经素问(鲁兆麟主校). 沈阳: 辽宁科学技术出版社: 1997: 10, 11, 21, 30, 31, 42, 52, 54, 63, 64, 65, 71, 118, 120, 125, 148
- 4 王冰撰注(唐). 灵枢经(彭建中点校). 沈阳: 辽宁科学技术出版社: 1997: 5, 6, 11, 12, 43
- 5 Valdes AM, Walter J, Segal E, Spector TD. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ* 2018; 361: k2179 [PMID: 29899036 DOI: 10.1136/bmj.k2179]
- 6 王文炎,梁凤霞. 基于脾胃理论探讨“肠道微生物菌群为后天之本”. 世界中医药 2020; 15: 3062-3064
- 7 Pei X, Xiao Z, Liu L, Wang G, Tao W, Wang M, Zou J, Leng D. Effects of dietary zinc oxide nanoparticles supplementation on growth performance, zinc status, intestinal morphology, microflora population, and immune response in weaned pigs. *J Sci Food Agric* 2019; 99: 1366-1374 [PMID: 30094852 DOI: 10.1002/jsfa.9312]
- 8 Greenwood MT. Dysbiosis, Spleen Qi, Phlegm, and Complex Difficulties. *Med Acupunct* 2017; 29: 128-137 [PMID: 28736589 DOI: 10.1089/acu.2017.1226]
- 9 巩静,陈广,王定坤,陆付耳. 从脾胃论治糖尿病与肠道菌群的关系. 中国中西医结合杂志 2016; 36: 484-487
- 10 Shi X, Li N, Li J, Yang Q, Kan M, Qu X. Effect of qiwei baizhu powder on the intestinal flora of the splenoasthenic diarrhea mice. *Indian J Pharmaceutical Sci* 2021; 82: 1818-1825 [DOI: 10.36468/pharmaceutical-sciences.710]
- 11 Shi K, Qu L, Lin X, Xie Y, Tu J, Liu X, Zhou Z, Cao G, Li S, Liu Y. Deep-Fried Atractylodis Rhizoma Protects against Spleen Deficiency-Induced Diarrhea through Regulating Intestinal Inflammatory Response and Gut Microbiota. *Int J Mol Sci* 2019; 21 [PMID: 31878055 DOI: 10.3390/ijms21010124]
- 12 Sun S, Yang Y, Lin X, Chen P, Ye L, Zeng L, Ye Q, Yang X, Ceng J, Shan J, Xie L, Jiang M, Luo F, Chen X. Qiwei baizhu Decoction Treats Diarrheal Juvenile Rats by Modulating the Gut Microbiota, Short-Chain Fatty Acids, and the Mucus Barrier. *Evid Based Complement Alternat Med* 2021; 2021: 8873294 [PMID: 33531924 DOI: 10.1155/2021/8873294]
- 13 Zhong QJ, Ye JL, Tang N, Shao X. Effect of intestinal perfusion of Huangqi Jianzhong decoction on intestinal flora, mucosal function, and expression of inflammatory factors in patients with antibiotic-associated diarrhea. *World Chin J Dig* 2020; 28: 92-99 [DOI: 10.11569/wcjd.v28.i3.92]
- 14 Hui H, Wu Y, Zheng T, Zhou S, Tan Z. Bacterial Characteristics in Intestinal Contents of Antibiotic-Associated Diarrhea Mice Treated with Qiwei baizhu Powder. *Med Sci Monit* 2020; 26: e921771 [PMID: 32398636 DOI: 10.12659/MSM.921771]
- 15 Li X, Wu Y, Xu Z, Chen J, Li Y, Xing H, Zhang X, Yuan J. Effects of Hetiao Jianpi Decoction on Intestinal Injury and Repair in Rats with Antibiotic-Associated Diarrhea. *Med Sci Monit* 2020; 26: e921745 [PMID: 32062668 DOI: 10.12659/MSM.921745]
- 16 郭宗耀,刘芸,高玉萍,彭岭,张秋雁,李杰. “心与小肠相表里”理论的源流与发展. 中医杂志 2017; 58: 96-99

- 17 张挺, 李其忠, 陈慧娟, 张少军. “心”的中西医学比较研究. 上海中医药大学学报 2002; 16: 10-13
- 18 Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol* 2015; 28: 203-209 [PMID: 25830558]
- 19 Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Kiely B, Cryan JF, Dinan TG. Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression. *Neuroscience* 2010; 170: 1179-1188 [PMID: 20696216 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2010.08.005]
- 20 王世荣, 岳寿松. 微生物学与中医“心与小肠相表里”新论. 中国微生态学杂志 2018; 30: 847-848
- 21 Ghoshal UC, Nehra A, Mathur A, Rai S. A meta-analysis on small intestinal bacterial overgrowth in patients with different subtypes of irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2020; 35: 922-931 [PMID: 31750966 DOI: 10.1111/jgh.14938]
- 22 冯文林, 伍海涛. 从中医小肠腑理论谈小肠在肠易激综合征发病中的作用. 时珍国医国药 2019; 30: 661-662
- 23 徐天成, 裴丽霞, 陈璐, 易越, 谢天琪, 辛陈, 顾冬梅, 孙建华. 心与小肠相表里的微生态学基础-兼论IBS的发病要素. 中国微生态学杂志 2019; 31: 601-604
- 24 Pellegrini C, Antonioli L, Colucci R, Blandizzi C, Fornai M. Interplay among gut microbiota, intestinal mucosal barrier and enteric neuro-immune system: a common path to neurodegenerative diseases? *Acta Neuropathol* 2018; 136: 345-361 [PMID: 29797112 DOI: 10.1007/s00401-018-1856-5]
- 25 Zhang C. The Gut Flora-Centric Theory Based on the New Medical Hypothesis of “Hunger Sensation Comes from Gut Flora”: A New Model for Understanding the Etiology of Chronic Diseases in Human Beings. *Austin Intern Med* 2018; 3: 1030
- 26 王鑫杏, 陈家旭, 刘燕. 《黄帝内经》肝日敷和理论探微. 中医杂志 2015; 56: 366-368
- 27 Kho ZY, Lal SK. The Human Gut Microbiome - A Potential Controller of Wellness and Disease. *Front Microbiol* 2018; 9: 1835 [PMID: 30154767 DOI: 10.3389/fmicb.2018.01835]
- 28 Marshall JC. The gut as a potential trigger of exercise-induced inflammatory responses. *Can J Physiol Pharmacol* 1998; 76: 479-484 [PMID: 9839072 DOI: 10.1139/cjpp-76-5-479]
- 29 Heymann F, Tacke F. Immunology in the liver--from homeostasis to disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016; 13: 88-110 [PMID: 26758786 DOI: 10.1038/nrgastro.2015.200]
- 30 于东林, 王义国, 张磊. “胆主消化”中医文献源流探析. 中医杂志 2014; 55: 1256-1257
- 31 Parséus A, Sommer N, Sommer F, Caesar R, Molinaro A, Ståhlman M, Greiner TU, Perkins R, Bäckhed F. Microbiota-induced obesity requires farnesoid X receptor. *Gut* 2017; 66: 429-437 [PMID: 26740296 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310283]
- 32 曾雅雯. 基于《黄帝内经》和丹溪学说探讨肝脏疾病的发病观. 中医研究 2021; 34: 6-9
- 33 彭思颖, 刘晓, 秦昆明, 谢莉, 孙戡平, 金俊杰, 杨超, 蔡宝昌. 基于 16S rRNA测序技术研究痛泻要方调节腹泻型肠易激综合征模型大鼠肠道菌群的作用机制(英文). 南京中医药大学学报 2020; 36: 641-646
- 34 Li J, Cui H, Cai Y, Lin J, Song X, Zhou Z, Xiong W, Zhou H, Bian Y, Wang L. Tong-Xie-Yao-Fang Regulates 5-HT Level in Diarrhea Predominant Irritable Bowel Syndrome Through Gut Microbiota Modulation. *Front Pharmacol* 2018; 9: 1110 [PMID: 30323765 DOI: 10.3389/fphar.2018.01110]
- 35 Harding R, Hooper SB. Regulation of lung expansion and lung growth before birth. *J Appl Physiol* (1985) 1996; 81: 209-224 [PMID: 8828667 DOI: 10.1152/jappl.1996.81.1.209]
- 36 Rastall RA. Bacteria in the gut: friends and foes and how to alter the balance. *J Nutr* 2004; 134: 2022S-2026S [PMID: 15284393 DOI: 10.1093/jn/134.8.2022S]
- 37 郑秀丽, 杨宇, 王宝家, 唐洪屈, 周新颖. 从溃疡性结肠炎大鼠呼吸与肠道微生态同步动态变化探讨“肺与大肠相表里”. 世界中医药 2014; 9: 418-421
- 38 Wang J, Li F, Tian Z. Role of microbiota on lung homeostasis and diseases. *Sci China Life Sci* 2017; 60: 1407-1415 [PMID: 29019144 DOI: 10.1007/s11427-017-9151-1]
- 39 韩俊阁, 刘晓燕, 张刘扛, 郭霞珍. “肺与大肠相表里”机理的研究-高氧刺激对肺肠黏膜免疫因子含量表达的影响. 世界中医药 2015; 10: 80-82+85
- 40 Nyangahu DD, Lennard KS, Brown BP, Darby MG, Wendoh JM, Havyarimana E, Smith P, Butcher J, Stintzi A, Mulder N, Horsnell W, Jaspan HB. Disruption of maternal gut microbiota during gestation alters offspring microbiota and immunity. *Microbiome* 2018; 6: 124 [PMID: 29981583 DOI: 10.1186/s40168-018-0511-7]
- 41 李娟娟, 王凤云, 唐旭东, 吕林. 肠道菌群失调与功能性消化不良的相关性研究. 中国中西医结合消化杂志 2019; 27: 77-81
- 42 丰雪, 耿少辉, 刘豫蒙, 程凤, 安富竹, 杨丽萍. 论肠道菌群与中医肾精的相关性. 中华中医药杂志 2021; 36: 780-783
- 43 成西, 马淑然, 邱莎, 王雪娇, 张和韩. 中医脾主运化水液理论与水通道蛋白的关系发微. 环球中医药 2016; 9: 1215-1216
- 44 Heidler S, Lusuardi L, Madersbacher S, Freibauer C. The Microbiome in Benign Renal Tissue and in Renal Cell Carcinoma. *Urol Int* 2020; 104: 247-252 [PMID: 31715602 DOI: 10.1159/000504029]
- 45 Yoshifuji A, Wakino S, Irie J, Tajima T, Hasegawa K, Kanda T, Tokuyama H, Hayashi K, Itoh H. Gut *Lactobacillus* protects against the progression of renal damage by modulating the gut environment in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2016; 31: 401-412 [PMID: 26487672 DOI: 10.1093/ndt/gfv353]
- 46 陈雪莉, 吕勇. 基于“肠—肾轴”理论探析清肾颗粒对慢性肾衰竭的预防作用机制. 陕西中医药大学学报 2021; 44: 77-80
- 47 Liu JX, Wang YL, Li Y, Zou DX, Wang DF, Ma XR, Song HX, Yang WP, Wang HN. Experimental study on the effect of Sishen Wan on intestinal flora in rats with diarrhea-type irritable bowel syndrome. *Yaoxue Xuebao* 2019; 54: 670-677 [DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0920]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



1 投稿总则

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

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

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

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

1.5 收录 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(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:
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-3991568

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

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任王金磊, 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

E-mail: j.l.wang@wjgnet.com

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

<http://www.wjgnet.com>

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

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

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

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

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

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

2 手稿要求

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

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

2.3 外文字符 手稿应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射应缩写为iv, 肌肉注射为im, 腹腔注射为ip, 皮下注射为sc, 脑室注射为icv, 动脉注射为ia, 口服为po, 灌胃为ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm (应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或PH, *H. pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或T, Vmax不能写成Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示, 包括生物学中拉丁学名的属名与种名(包括亚属、亚种、变种), 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang (命名者勿划横线); 常

数K; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验, 概率*P*和相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*), 例如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), *n*-butyl acetate (醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide (N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol (邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline (3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine (右旋苯丙胺), *l*-dopa (左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid (对氨基水杨酸); 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*, *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m* (质量), *V* (体积), *F* (力), *p* (压力), *W* (功), *v* (速度), *Q* (热量), *E* (电场强度), *S* (面积), *t* (时间), *z* (酶活性, kat), *t* (摄氏温度, °C), *D* (吸收剂量, Gy), *A* (放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c* (浓度, mol/L), *j* (体积分数, mL/L), *w* (质量分数, mg/g), *b* (质量摩尔浓度, mol/g), *l* (长度), *b* (宽度), *h* (高度), *d* (厚度), *R* (半径), *D* (直径), *T*_{max}, *C*_{max}, *V*_d, *T*_{1/2} *CI*等; 基因符号, 通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物, 用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 手稿应采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量, 如30 kDa改为*Mr* 30000或30 kDa (*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r* (*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u (小写正体). 计量单位在+、-及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/ml应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *Mr*明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸应改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸应改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物用mmol/L; 胆红素、蛋白结合碘、肌酐、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸用μmol/L; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 国际代号应规范标识, 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5

周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位 IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 1×10^{-3} g与 5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月应为15 d; 15克应为15 g; 10%福尔马林应为40 g/L甲醛; 95%酒精应为950 mL/L乙醇; 5% CO₂应为50 mL/L CO₂; 1:1000肾上腺素应为1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg应改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖应改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)应用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 统计学符号包括: (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写*ν*; (6)样本数用英文小写*n*; (7)概率用英文斜体大写*P*. 在统计学处理中, 在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用^a*P*<0.05或^b*P*<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用^c*P*<0.05和^d*P*<0.01; 第三套为^e*P*<0.05和^f*P*<0.01等.

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

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

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

3 手稿全文中文格式

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

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

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

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

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所

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

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

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

传真: 0351-4086337

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

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

0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法

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

2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论

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

A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用^a $P<0.05$ 或^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则用^c $P<0.05$ 和^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$ 和^f $P<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达.

志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献

本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号, 如马连生^[1]报告……, 研究^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献^[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊引用格式为: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍引用格式为: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

4 手稿英文摘要书写要求

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

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;

首字母大写; 双名之间用半字线“-”分开; 多作者时姓名间加逗号。格式如: “马连生”的汉语拼写法为“Lian-Sheng Ma”。

4.3 单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码, 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

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

4.5 通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

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

5 手稿写作格式实例

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

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

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

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

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

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

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



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

