

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 4 月 8 日 第 29 卷 第 7 期 (Volume 29 Number 7)



7/2021

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。



述评

- 325 基于肠道微生物对中医外感寒湿伤脾理论的初步探讨
张晨阳, 谭周进

基础研究

- 332 敲除Linc00152对丝裂霉素耐药胃癌细胞NCI-N87/MMC的化疗耐药性影响及机制
吴明东, 叶洁桐, 朱蓓蕾, 叶芳敏, 汪望月
- 340 敲减LncRNA TPT1-AS1抑制肝癌细胞侵袭及迁移
刘清秀, 汪晓梅, 吕矫健, 卢毅, 赵园, 樊晓鹏

临床研究

- 347 IFOBT与肿瘤标志物、炎症指标联合检测对结直肠进展期腺瘤发生的预测价值
王绪, 张竞宇, 郑忠青, 王涛, 朴美玉, 刘恒, 刘静, 刘文天
- 356 结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化及微生态肠内营养干预作用
金佳琪, 贾新能, 宣俊毅

文献综述

- 366 鼠李糖乳杆菌治疗肠易激综合征机制新进展
苏帅, 张智芳, 王欣, 王玉明, 王邦茂

临床实践

- 372 创伤性颅脑外伤合并急性胃功能损伤患者血清中热休克蛋白70水平的变化及意义
魏文桂, 张雪琴, 张艳景, 田野

病例报告

- 378 类鼻疽伯克霍尔德菌肝脾脓肿超声造影表现1例
高玲, 时莹瑜, 卢强

消 息

- 355 《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
365 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
382 《世界华人消化杂志》正文要求

封面故事

杨晓军, 主任医师, 兰州大学副教授, 硕士研究生导师, 甘肃省人民医院普外二科主任, 美国宾夕法尼亚大学和中国兰州大学联合培养外科学博士, 甘肃省卫生健康行业骨干人才, 青海省“昆仑英才·高端创新创业人才”项目引进人才. 专业擅长肝胆胰疾病及消化道肿瘤微创治疗. 目前担任《中国微创外科杂志》、《腹腔镜外科杂志》、《世界华人消化杂志》、《中华肝脏外科杂志电子版》编委, 还担任中国抗癌协会青年理事、中国抗癌协会胆道肿瘤专业委员会、中国抗癌协会肿瘤精准治疗专业委员会等协会委员. 近五年在 *Cancer Research*、*Cancer Letter*、*PLoS One* 等国际著名刊物发表第一作者学术论文11篇.

本期责任人

编务 王栋梅; 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 2021-04-08

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

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 7 April 8, 2021

EDITORIAL

- 325 Preliminary study on theory of spleen injury caused by exogenous cold and dampness based on intestinal microecology
Zhang CY, Tan ZJ

BASIC RESEARCH

- 332 Effect and mechanisms of LINC00152 knockdown on chemotherapy resistance in mitomycin-resistant gastric cancer NCI-N87/MMC cells
Wu MD, Ye JT, Zhu BL, Ye FM, Wang WY
- 340 Knockdown of long non-coding RNA TPT1-AS1 inhibits invasion and migration of hepatocarcinoma cells
Liu QX, Wang XM, Lv JJ, Lu Y, Zhao Y, Fan XP

CLINICAL RESEARCH

- 347 Value of combined detection of IFOBT, tumor markers, and inflammatory markers in predicting occurrence of advanced colorectal adenoma
Wang X, Zhang JY, Zheng ZQ, Wang T, Piao MY, Liu H, Liu J, Liu WT
- 356 Changes of intestinal flora and microRNA-10a expression after radical resection of colorectal cancer: Effect of microecological enteral nutrition intervention
Jin JQ, Jia XN, Xuan JY

REVIEW

- 366 Mechanism of *Lactobacillus rhamnosus* in treatment of irritable bowel syndrome
Su S, Zhang ZF, Wang X, Wang YM, Wang BM

CLINICAL PRACTICE

- 372 Significance of changes of serum heat shock protein 70 levels in patients with traumatic brain injury and acute gastrointestinal injury
Wei WG, Zhang XQ, Zhang YJ, Tian Y

CASE REPORT

- 378 Contrast-enhanced ultrasound findings in liver and spleen abscesses due to infection with *Burkholderis pseudomallei*: A case report
Gao L, Shi YY, Lu Q

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 29 Number 7 April 8, 2021

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Xiao-Jun Yang, Chief Surgeon, MD, PhD, Department of General Surgery, Gansu Provincial Hospital, No. 204 Dong-gang West Road, Chengguan District, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. yangxjmd@aliyun.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: *Dong-Mei Wang* 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 April 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.

基于肠道微生态对中医外感寒湿伤脾理论的初步探讨

张晨阳, 谭周进

张晨阳, 谭周进, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410208

张晨阳, 博士研究生, 主要从事中医药微生物生态学。

基金项目: 国家自然科学基金, No.81874460。

作者贡献分布: 本文由张晨阳完成; 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, tanzhjin@sohu.com

收稿日期: 2021-01-11

修回日期: 2021-02-01

接受日期: 2021-03-15

在线出版日期: 2021-04-08

Preliminary study on theory of spleen injury caused by exogenous cold and dampness based on intestinal microecology

Chen-Yang Zhang, Zhou-Jin Tan

Chen-Yang Zhang, 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: 2021-01-11

Revised: 2021-02-01

Accepted: 2021-03-15

Published online: 2021-04-08

Abstract

Exogenous cold and dampness is most likely to damage spleen Yang, which affects the spleen's function of governing transportation and dispersing essence. Human

intestinal flora is widely involved in the regulation of gastrointestinal digestive functions. Therefore, based on the general understanding of the correlation between intestinal microecology and the spleen in modern research, this paper discusses the response mechanism of intestinal microflora to random exposure to cold and dampness environment in the process of gastrointestinal digestive dysfunction, and suggests that intestinal microecology imbalance may be one of the mechanisms of spleen injury caused by exogenous cold and dampness in traditional Chinese medicine.

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

Key Words: Intestinal microecology; Exogenous cold and dampness; Spleen; Intestinal flora; Gastrointestinal dysfunction

Citation: Zhang CY, Tan ZJ. Preliminary study on theory of spleen injury caused by exogenous cold and dampness based on intestinal microecology. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(7): 325-331

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/325.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.325>

摘要

外感寒湿邪气最易伤脾阳, 影响脾主运化与脾的散精功能。人体肠道菌群广泛参与肠道及胃肠消化生理机能的调节。因此, 本文通过现代研究对肠道微生态与“脾”的相关性的普遍认识, 探讨机体胃肠消化功能紊乱发生的过程中肠道菌群应对寒湿环境随机暴露的响应机制, 认为肠道微生态失调可能是中医外感寒湿伤脾的形成机制之一。

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

关键词: 肠道微生态; 外感寒湿; 脾; 肠道菌群; 胃肠功能

紊乱

核心提要: 通过中医外感寒湿伤脾的致病机理的阐释, 结合肠道微生态与“脾”的相关性的现代中医的普遍认识, 探讨机体胃肠消化功能紊乱发生的过程中肠道菌群应对寒、湿以及寒湿环境随机暴露的外源应激干扰因素的响应机制。

文献来源: 张晨阳, 谭周进. 基于肠道微生态对中医外感寒湿伤脾理论的初步探讨. 世界华人消化杂志 2021; 29(7): 325-331

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/325.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i7.325>

0 引言

当今由于环境应激、抗生素滥用、高糖高脂饮食习惯、过量饮酒、精神压力过大和食品安全隐患等不同诱因, 导致胃肠疾病和内分泌及代谢异常相关的胃肠症状的发病率高达3.6%-5.3%并呈现明显的上升趋势^[1], 我国胃肠功能性疾病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)在特殊群体中发病率高达39.22%^[2], 胃肠门诊FGIDs患者的就诊率接近60%^[3]. 不同诱因的胃肠功能紊乱导致疾病的致病机制不同, 但临床缺乏针对不同诱因引起的腹泻疾病的特异性药物, 一般采用解痉止泻药物如洛哌丁胺等缓解功能性或器质性胃肠功能紊乱, 但效果因人而异^[4]. 中医由病因认识胃肠功能疾病, 分型辨证论治缓解胃肠功能不适症状, 为临床治疗不同诱因引发的胃肠功能紊乱提供诊疗方案. 外感寒湿邪气是六淫致病的常见因素之一, 寒湿共同作用最易伤脾阳, 影响脾主运化与脾的散精功能. 人体胃肠消化系统内栖居着庞大的微生物种群, 携带大量的微生物基因, 为宿主提供一系列的微生态服务(ecosystem service)^[5]. 大量研究表明^[6-8], 寒湿环境应激可以导致胃肠消化疾病并影响肠道菌群的组成分布. 因此, 本文从肠道微生态平衡的角度探讨中医外感寒湿伤脾理论的可能性机制, 期为临床寒湿应激导致的胃肠功能紊乱疾病的中医药治疗提供一定的微生态机制相关认识.

1 中医外感寒湿伤脾的致病机理

外感寒湿邪气是六淫致病的常见因素之一, 寒湿之邪皆属阴邪, 寒性凝滞收引, 湿性粘滞重浊, 最宜伤及阳气. 如《温病条辨·中焦篇》言“寒湿者, 湿与寒水之气相搏也, 盖湿水同类, 其在天之阳时为雨露, 阴时为霜雪, 在江河为水, 在土中为湿, 体本同源, 易于相合, 最损人之阳气”, 是指外感六淫之寒湿最易直接伤脾阳. 脾为中土, 喜燥恶湿; 寒湿外受最先伤及脾阳^[6], 脾失健运, “湿盛则濡泻”; 外感寒湿阻滞脾胃气机, 水液输布功

能失调, 导致清气不升、浊气不降, 则见纳差、腹满、便溏等.

《黄帝内经》对寒湿之邪致病的阐述中, 认为“三之气, 感于寒湿, 则民病身重附肿, 胸腹满”(《素问·六元正纪大论》), 是指寒湿直中脾胃, 阻滞气机, 则见濡泄、呕逆、胸腹痞满. 《内经》中“洞泄”病因病机的认识最能体现中医外感寒湿伤脾的理论. 《素问·金匱真言论》中言“...长夏善病洞泄寒中...”, 是指风寒或寒湿之邪易于伤及脾胃而生泄下之病, 长夏主气为湿, 湿为阴邪, 易于借助风气入侵机体, 就会产生寒湿克脾而出现洞泄^[6]. 因此, 中医认为外感寒湿易伤脾, 导致脾运化升清功能受损而形成痞满、腹胀、纳差和泄泻等一系列脾胃不适症状.

2 肠道微生态与中医“脾”的相关性

人体胃肠消化系统内栖居着庞大的微生物种群, 携带大量的细菌、古生菌和真菌基因^[5], 数以万计的微生物组成微生物生态系统, 不仅广泛参与肠道及胃肠消化生理机能的调节^[9], 并且可以通过水解复合碳水化合物^[10]、蛋白^[11]、短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFA)^[12]、氨基酸^[13]、胆酸^[14]等代谢产物与宿主互作, 对促进机体能量代谢和调节机体免疫等方面发挥重要功能, 对维持人体内环境的稳定发挥重要作用^[15].

中医认为“脾为中土”^[16], 一方面是指脾位于中焦“与胃以膜相连耳”(《素问·太阴阳明论》), 说明脾通过胃与水谷之土气相通, 与生化、承载和受纳相关的消化功能皆属于中医“脾”相关内容; 另一方面是指脾以中土运化万物, “四季脾旺不受邪”(《金匱要略·脏腑经络先后病脉证》), 反之脾失健运导致气机失调、气血亏虚则产生其他脏腑疾病^[17-19], 即“百病皆由脾胃衰而生也”(《脾胃论·脾胃盛衰论》).

中医以藏象思维对“脾”的认识与现代医学对肠道微生态的认识具有同构性. 其一, 中医认为“脾主运化水谷”, 但凡与胃肠消化相关的功能均划归五脏之“脾”, 胃肠相关疾病归为“脾”病. 肠道菌群不仅直接参与“水谷”消化, 并且可以通过宿主胃肠的局部互作参与胃肠消化疾病的发生发展. 中医认为脾的功能主要为消化吸收^[20,21], 消化系统疾病多以“脾”论治, 西医功能性以及炎症性胃肠病如肠易激综合征^[22]、溃疡性结肠炎^[23]和克罗恩病^[24]等胃肠消化功能异常疾病皆与中医“脾”病相关. 研究发现肠道菌群参与胃肠疾病的发生发展, 其主要原因是肠道菌群受饮食模式^[25]、生活方式^[26]以及宿主年龄^[27,28]和基因^[29]等多种因素的影响损伤胃肠黏膜屏障形态及功能^[30,31], 不仅如此, 有研究发现肠道共生菌如变形菌门等可直接产生与胃肠道疾

病相关毒力因子, 与其有关的消化道疾病包括胃肠炎, 与克罗恩病的关联尤为密切^[32]。其二, “脾胃中土”, 其他四脏疾病均与脾胃功能虚弱相关, 肠道菌群通过其代谢产物与宿主整体互作, 广泛参与各个系统疾病的发生发展。中医认为“脾为后天之本”, 脾主运化为气血生化之源, 脾胃为气机升降之枢纽维持人体物质与能量代谢, 脾为五脏之本濡养他脏, 因此有“内伤脾胃, 百病由生”(《脾胃论》)之说^[33]。肠道微生态相关研究认为人类肠道菌群为宿主发育、免疫成熟及代谢提供必要功能, 肥胖、二型糖尿病等代谢性系统疾病^[34,35], 高血压、动脉粥样硬化等心血管系统疾病^[36,37], 以及哮喘和COPD等呼吸系统疾病^[38,39]中均有肠道菌群的组成及功能的改变。因此, 现代中医逐渐认识到肠道菌群微生态可能是中医“脾”功能的重要微生物基础^[33,40,41]。

3 外感寒湿之邪伤脾与肠道微生态的相关性

中医认为, 六气“风、寒、暑、湿、燥、火”为正常自然界气候, 六气反常超出人体适应或抵抗范围则化为邪气致病, 即《素问·至真要大论》中所言“夫百病之生也, 皆生于风寒暑湿燥火, 以之化之变也”。中医认为, 六淫之邪尤其是寒湿之邪易直伤脾阳, 影响脾主运化功能。湿为阴邪, 阴长则阳消, 阴盛则阳虚。寒湿为阴邪, 寒性凝滞收引, 湿性粘滞重浊, 皆易伤人阳气。若寒湿之邪伤于外, 则气血经脉闭阻, 肌肉、筋骨、关节受损, 伤于内, 则脾胃之阳最易受损, 引起脘腹冷痛、呕吐腹泻、食欲不振等, 外感寒湿伤脾是寒湿之邪伤于内的典型表现。

中医“六气”与外环境相关, 肠道微生态相关研究表明环境应激和暴露对肠道菌群的影响在胃肠疾病中起到重要作用。有研究发现^[42], 热应激胁迫可以导致肠道菌群结构发生明显变化, 厚壁菌数量增加和拟杆菌数量减少导致肠道转录免疫相关基因差异表达; 丁酸盐产生菌仅在模拟高原极端缺氧环境生存小鼠的肠道中定殖, 以应对缺氧环境下肠道的应激作用^[43]; 肠道菌群在不同环境暴露中不断重塑以应对机体免疫反应及发育参与胃肠疾病的发生发展^[44,45]; 内毒素及微生物暴露如多种微生物相关模式识别分子(pathogen-associated molecular patterns, PAMP)可能是不同环境暴露作用的共有关键因子之一, PAMP可能是胃肠道环境保护效应的关键因素之一^[46,47]; 过氧化堆积可破坏肠道屏障、诱导肠道氧化应激和炎症反应, 氧化蛋白可改变肠道微生物区系^[48]。

3.1 外感寒邪所致肠道损伤与肠道微生态 一般认为, 不同于机体自身阳气不足或脏腑功能虚衰导致的温煦、气化功能减退而产生的内生“内寒”, 外感寒邪基本为三类, 即天之寒气、地之寒气和人之寒气。清·柯琴

在《伤寒来苏集》中记载到:“寒之伤人有三: 早晚雾露, 四时风雨, 冬春霜雨, 此天之寒气也; 幽居日广室, 砖地石阶, 大江深泽, 邃谷高山, 地之寒气也; 好饮寒泉, 喜食生冷, 酷嗜瓜果, 误服冷药, 人之寒气也。”无论“天之寒气”、“地之寒气”, 还是由于“喜食生冷、酷嗜瓜果、误食冷药”滋生的“人之寒气”, 都是来自外界, 中医学上称其为外寒, 常见于低温环境暴露引起的胃肠消化功能失调。

一般认为, 低温环境胁迫可以激活中枢及周围应激系统, 改变应激因子、胃肠激素、神经递质及脑肠肽的水平, 对胃肠黏膜屏障、脑-肠轴、胃肠动力与胃肠电活动等方面产生影响, 造成胃肠功能紊乱, 引起消化道疾病^[49]。有研究表明^[6], 冷环境模拟的外感寒湿可直中脾阳导致小鼠腹泻、肠黏膜结构损伤, 并减少肠道内乳酸菌定殖、促进肠道内大肠杆菌增殖。因此, 我们认为肠道微生物稳态可能参与低温环境胁迫引起的胃肠功能紊乱的形成。研究发现寒冷环境可以引起宿主肠道菌群多样性减少, 使*Planctomycetes*、拟杆菌门和疣微菌门类群显著减少, *Cetobacterium somerae*、*Vibrionales*类群显著增加, 并遗传性选择肠道菌群的组成结构, 并可以提高宿主对寒冷温度的适应力和体温调节能力^[7]。连续给予冰水刺激的SD大鼠肠道棒状杆菌属、拟杆菌属、曲霉菌属、布劳特氏菌属、SMB53菌属的相对丰度发生显著变化^[50]。一方面, 肠道微生物稳态失衡引起的胃肠功能障碍的可能性机制是冷刺激可以诱导小鼠胆固醇转化为胆汁酸产生, 导致肠道菌群结构的重塑, 并促进适应性产热^[51]。冷环境暴露和冷应激可引起肠上皮屏障功能损伤, 有文献报道冷应激可促进肥大细胞增殖, 导致肠道的小肠上皮细胞增值速率受损并引起小肠炎症、增加肠道通透性, 从而加重腹泻程度。另一方面, 肠道微生物稳态的平衡的维系可以提高肠道应对低温胁迫的抗性, 有研究发现果蝇肠道菌群, 尤其是肠道共生菌群中*K. michiga-nensis BDI77*菌的定殖通过精氨酸和脯氨酸代谢途径有助于提高果蝇特定抗寒相关转录蛋白基因表达, 从而维持肠道炎症相关线粒体活动^[8]。

肠道微生物群对脂肪代谢的调节功能可能是其参与低温胁迫对胃肠功能影响的重要环节之一。脂肪组织分布遍及全身, 是重要的冷暴露应答器官, 有研究发现冷暴露可以通过激活脂肪产热代谢进而缓解肥胖、糖尿病等代谢紊乱症状^[52]。冷条件暴露影响小鼠肠道菌群组成, 冷应激环境下的肠道微生物群可以调节肠道微生物群调节白色脂肪组织的褐变和棕色脂肪组织的活性以应对低温胁迫, 低温损伤肠道激活炎症因子IL-4, 菌群替代激活的M2巨噬细胞(在IL-4刺激后获得)导致酪氨酸羟化酶(儿茶酚胺生物合成途径中的一种关键酶)

表 1 外感寒湿之邪伤脾与肠道微生态的相关认识

| 外源性应激 | 中医外感邪气 | 主要的中医理论认识 | 宿主肠道微生态影响 | 参考文献 |
|-------|--------|---|---|------|
| 低温 | 寒邪 | “阴生则阳病”（《素问·阴阳应象大论》，外感寒邪，损伤脾阳，脾阳不足、脾胃虚寒，脾虚无以运化水湿；寒气客于小肠，小肠不得成聚，故后泄腹痛矣（《素问·举痛论》） | 菌群多样性下降； <i>Cetobacterium somerae</i> ↑、 <i>Vibrio cholerae</i> ↑； <i>Prevotella</i> sp. ↓、 <i>Streptococcus luteciae</i> ↓、 <i>Bacteroidetes</i> ↓、 <i>Christensenellaceae</i> ↓、 <i>Succinivibrionaceae</i> ↓、 <i>Clostridiaceae</i> ↓ | 7 |
| | | | <i>K. michiganensis</i> BD177可增加宿主耐寒能力 | 8 |
| | | | 菌群多样性改变；棒状杆菌属 ↓、拟杆菌属 ↓、曲霉属 ↑、布劳特氏菌属 ↓、SMB53菌属 ↑ | 50 |
| | | | 厚壁菌科 <i>Ruminococcaceae</i> ↑ | 53 |
| 高湿 | 湿邪 | 湿从外受，常先困脾，脾失健运，湿从内生；“湿胜则濡泄”（《素问·阴阳应象大论》）；“湿浊伤下”、“诸湿肿满皆属于脾”（《灵枢·百病始生篇》） | 多样性改变； <i>Verrucomicrobia</i> （疣微杆菌门）为高湿环境的特有菌； <i>Bilophila</i> （嗜胆菌属）↓、 <i>Blautia</i> （布劳特氏菌属）↓、 <i>Facklamia</i> （费克蓝姆氏菌属）↓、 <i>Methyloversatilis</i> （亲甲基醇菌属）↓； <i>Actinomyces</i> （放线菌属）↑、 <i>Aggregatibacter</i> （聚合菌属）↑、 <i>Alistipes</i> （另枝菌属）↑、 <i>Allobaculum</i> （别样棒菌属）↑等大肠杆菌菌落计数 ↑、乳酸杆菌菌落计数 ↑、双歧杆菌菌落计数 ↑ | 67 |
| | | | 多样性增高； <i>Bacteroides</i> 、 <i>Parabacteroides</i> 和 <i>Mucispirillum</i> 的丰度显著改变 | 59 |
| | | | 多样性增高； <i>Bacteroides</i> 、 <i>Parabacteroides</i> 和 <i>Mucispirillum</i> 的丰度显著改变 | 61 |
| 低温+高湿 | 寒湿之邪 | “三之气，感于寒湿，则民病身重附肿，胸腹满”（《素问·六元正纪大论》） | 大肠杆菌计数 ↑、乳酸杆菌计数 ↓、双歧杆菌计数 ↓ | 7 |

的表达增加, 增加去甲肾上腺素含量和脂肪褐色细胞的产热基因表达^[53], 增加产热能力以应对冷条件暴露对宿主机能的影响. 可见, 寒冷环境对机体脂质代谢起到重要作用, 胆汁酸作为胃肠调节功能的重要产物在脂类代谢过程中必不可少, 脂类代谢异常导致的胆汁酸的合成通过肠法尼甾体X受体的活性被抑制, 胆汁酸性消化不良常常表现为胃肠症状^[54-56].

3.2 外感湿邪所致肠道损伤与肠道微生态 湿为阴邪, 易阻滞气机, 损伤阳气. 水为湿之甚, 湿为水之渐, 凡阴雨连绵或大雨滂沱的天气, 均易致湿气弥漫, 如《三因极一病证方论·叙中湿论》云: “夫湿者, 在天为雨.” 湿为有形之邪, 侵犯人体, 易留滞脏腑经络, 阻碍气机的运行. 湿邪侵犯人体可使人体出现沉重、重着的症状. 《灵枢·百病始生》曰: “浊湿伤下”. “浊”, 即浑浊、秽浊不清之意. 湿邪为病, 其分泌物和排泄物的性质具有秽浊不清的特点.

高湿环境应激可以造成胃肠功能性障碍, 张六通等^[57]发现大鼠在高湿环境下胃肠及肺肾等均存在一定程度的病理学改变, 大鼠出现消瘦、呆滞、大便不成形的情况. 有研究通过对大鼠在高湿热环境下胃溃疡疾病情况的研究发现, 迷走神经的切断对恶劣环境下大鼠的胃溃疡形成有抑制作用, 说明迷走神经参与高湿热环境对胃溃疡形成的干预机制^[58]. 其机制可能是通过影响胃

肠动力、胃肠激素的分泌以及影响氧自由基代谢等影响胃肠道健康, 从而造成人的消化吸收不良、胃肠功能紊乱及炎症. 肠道微生物微生态在高湿环境下的可能会加重胃肠粘膜屏障的损伤, 人工控制的高湿度实验发现大鼠的空肠和结肠中大肠杆菌与常温常湿组的比较菌落值明显升高^[59]. 高湿环境下霉菌大量滋生, 易诱发肠道炎症以及过敏性疾病, 加重胃肠功能, 尤其是亲水性真菌、细菌在高湿环境下的生存能力大幅上升, 微生物的孢子、菌丝碎片、有害片段如内毒素、脂多糖以及挥发性有机化合物等可对粘膜及皮肤屏障产生损害^[60]. 高湿高温环境下培养的小鼠肠道16S rDNA基因测序发现菌群多样性与结构发生改变, 主要表现在*Bacteroides*、*Mucispirillum*和*Parabacteroides*相对丰度的显著改变, 并且伴随肠粘膜通透性增加, 肠粘膜免疫系统pIgR、SIgA和IgA表达降低, NLR免疫识别信号通路NOD1激活, NOD2、NF-κB、pIgR等相关基因表达增加, 导致肠周相关炎症因子增多, 加重局部炎症反应^[61].

3.3 外感寒湿所致肠道损伤与肠道微生态 《内经》言“湿盛则濡泻”, 《圣济总录·濡泄》解释为“寒客下焦, 传为濡泻, 夫脾为五脏之至阴, 其性恶寒湿, 今寒湿之气, 内客于脾, 则不能埤助胃气, 腐熟水谷. 致清浊不分, 水入肠间, 虚莫能制, 故洞泄如水, 随气而下, 谓之濡泻.” 寒湿共同作用, 寒伤脾阳, 影响脾主运化与脾的散

精功能. 脾主运化功能失常, 则见纳差、腹满、便溏、水湿停聚、肢体沉重疼痛、困倦不举; 阻滞气机, 则见濡泻、呕逆、胸腹痞满等. 中医认为, 寒邪与湿邪常联合致病, 即《医原·卷中·内伤大要论》认为: “阳虚必生内寒, 内寒必生内湿.” 寒邪客内, 阻滞气血津液的运行, 可致水湿内生从而使原来单纯的寒证变成寒湿证; 湿邪阻滞阳气日久, 使阳气损伤, 以致阳气不足, 阳虚生内寒或素体阳虚感受湿邪, 亦使单纯的湿证, 变成寒湿之证. 可见寒湿之邪更易引起脾胃功能失常.

外感寒湿邪气引起的肠道微生态及肠道损伤的机制研究较少, 有研究发现^[6], 对寒湿干预下的小鼠结肠段做细菌培养计数有显著变化, 寒湿环境干预小鼠结肠中大肠杆菌计数显著升高, 乳酸杆菌和双歧杆菌计数显著降低. 其次, 中医认为寒凉药物误用过用错用, 导致寒邪客脾、脾阳虚衰, 运化无权、脾虚生湿, 寒湿之邪困于脾胃而凝聚不散, 因此也属于外邪寒湿致病的范畴^[62]. 现代中医把抗生素滥用带来的部分副作用视为寒凉邪气, 长期的抗生素滥用最易引起反复性腹泻^[63]. 抗生素相关腹泻最常见的证候是寒湿困脾证^[64], 因此部分现代中医认为抗生素是苦寒类药物, 寒凉类药物造成的脾胃功能紊乱属于外感寒湿伤脾的范畴. 抗生素滥用过用易导致肠道菌群紊乱, 其特征是肠道微生物区系紊乱, 肠道SCFA浓度降低, 腔内碳水化合物和结肠胆汁酸积累, 水分吸收改变, 最终导致腹泻^[65]. 虽然, 中医认为感于寒湿最易损伤脾阳, 但是由于外界寒湿环境引起的肠道微生物介导的胃肠功能及损伤相关直接研究的缺乏, 中医“外感寒湿伤脾”的现代微生态机制需要我们做进一步的研究.

4 结论

中医认为人与自然是有一个有机的整体, 自然界的变化能够影响人的生理功能和病理变化, 人在长期的进化过程中也形成了适应自然气候变化的生理功能特点, 而肠道微生物在人体应对环境适应的调控过程中起到关键作用. 中医认为寒湿自然气候反常超出人体适应或抵抗范围则化为寒湿邪气, 寒湿直中脾胃, 导致纳差、腹满、便溏、水湿停聚等脾阳虚症状, 即外感寒湿伤脾. 外感寒湿损伤脾阳一般表现为卫表之气不固, 外感风寒湿, 寒湿阻遏表阳、直中脾胃、阻滞气机, 临床上常见濡泻、呕逆、胸腹痞满的寒湿困脾证, 治以解表散寒与化湿理气. 临床通过对比患者过粪便球杆菌比例发现, 居住于寒湿环境的胃肠功能紊乱患者中78.6%伴有菌群失调^[66]. 由此可见, 临床中医外感寒湿伤脾与肠道微生物稳态失衡有着密不可分的关系, 肠道微生物的相关研究可以为中医“外感寒湿伤脾”理论的现代认识提供

一定的参考价值.

如表1, 寒湿环境应激和暴露导致的肠道微生态改变可能是中医外感寒湿之邪引起的脾运化失调的内涵之一. 人体胃肠消化系统内栖居着庞大的微生物种群, 不仅参与肠道及胃肠消化生理机能的调节, 也广泛参与各种身体机能和疾病发生进程的调控. 基于肠道菌群作为一种高度复合的生态体系应对外源寒湿应激干扰因素的响应机制复杂, 虽然外源寒湿应激损伤胃肠功能并导致肠道菌群组成与多样性改变, 但寒湿共同作用伤脾阳, 影响脾主运化与脾的散精功能的系统微生物机制尚未清晰. 因此, 鉴于临床上由于现代生活方式的改变, 人们喜食寒凉之品, 寒湿应激导致的胃肠不适的情况越来越严重, 中医临床上以“寒湿伤脾”论治效果显著, 但是中医药对其发挥治疗作用的机制尚未清晰. 肠道微生态失调可能参与中医外感寒湿伤脾的形成机制的普遍认识, 从肠道菌群与机体互作层面的中医外感寒湿伤脾理论的微生物机制的研究有利于为我们中医药机制的认识与药物产品开发转化提供一定的思路与方法.

5 参考文献

- Ma C, Congly SE, Novak KL, Belletrutti PJ, Raman M, Woo M, Andrews CN, Nasser Y. Epidemiologic Burden and Treatment of Chronic Symptomatic Functional Bowel Disorders in the United States: A Nationwide Analysis. *Gastroenterology* 2021; 160: 88-98. e4 [PMID: 33010247 DOI: 10.1053/j.gastro.2020.09.041]
- Li C, Xu J, Yin D, Zhang Y, Shan D, Jiang X, Shang L. Prevalence and trigger factors of functional gastrointestinal disorders among male civil pilots in China. *Sci Rep* 2021; 11: 2021 [PMID: 33479463 DOI: 10.1038/s41598-021-81825-0]
- 贾文君, 杜锦辉. 功能性胃肠病的中西医诊治与进展. *实用中医内科杂志* 2021; 1-6
- Berens S, Schaefert R, Baumeister D, Gauss A, Eich W, Tesarz J. Does symptom activity explain psychological differences in patients with irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease? Results from a multi-center cross-sectional study. *J Psychosom Res* 2019; 126: 109836 [PMID: 31627144 DOI: 10.1016/j.jpsychores.2019.109836]
- Costello EK, Stagaman K, Dethlefsen L, Bohannan BJ, Relman DA. The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome. *Science* 2012; 336: 1255-1262 [PMID: 22674335 DOI: 10.1126/science.1224203]
- 李蓉. 基于小鼠外感寒湿模型探讨外感寒湿伤脾机制的理论及实验研究. 湖北中医药大学 2016
- Kokou F, Sasson G, Nitzan T, Doron-Faigenboim A, Harpaz S, Cnaani A, Mizrahi I. Host genetic selection for cold tolerance shapes microbiome composition and modulates its response to temperature. *Elife* 2018; 7 [PMID: 30454554 DOI: 10.7554/eLife.36398]
- Raza MF, Wang Y, Cai Z, Bai S, Yao Z, Awan UA, Zhang Z, Zheng W, Zhang H. Gut microbiota promotes host resistance to low-temperature stress by stimulating its arginine and proline metabolism pathway in adult *Bactrocera dorsalis*. *PLoS Pathog* 2020; 16: e1008441 [PMID: 32294136 DOI: 10.1371/journal.ppat.1008441]
- Pimentel M, Lembo A. Microbiome and Its Role in Irritable Bowel Syndrome. *Dig Dis Sci* 2020; 65: 829-839 [PMID: 32026278]

- DOI: 10.1007/s10620-020-06109-5]
- 10 Fu X, Liu Z, Zhu C, Mou H, Kong Q. Nondigestible carbohydrates, butyrate, and butyrate-producing bacteria. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2019; 59: S130-S152 [PMID: 30580556 DOI: 10.1080/10408398.2018.1542587]
- 11 Kärklund A, Gómez-Gallego C, Turpeinen AM, Palo-Oja OM, El-Nezami H, Kolehmainen M. Protein Supplements and Their Relation with Nutrition, Microbiota Composition and Health: Is More Protein Always Better for Sportspeople? *Nutrients* 2019; 11 [PMID: 31013719 DOI: 10.3390/nu11040829]
- 12 Melbye P, Olsson A, Hansen TH, Søndergaard HB, Bang Oturai A. Short-chain fatty acids and gut microbiota in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2019; 139: 208-219 [PMID: 30427062 DOI: 10.1111/ane.13045]
- 13 Han S, Gao J, Zhou Q, Liu S, Wen C, Yang X. Role of intestinal flora in colorectal cancer from the metabolite perspective: a systematic review. *Cancer Manag Res* 2018; 10: 199-206 [PMID: 29440929 DOI: 10.2147/CMAR.S153482]
- 14 Opyd PM, Jurgoński A, Juśkiewicz J, Fotschki B, Koza J. Comparative Effects of Native and Defatted Flaxseeds on Intestinal Enzyme Activity and Lipid Metabolism in Rats Fed a High-Fat Diet Containing Cholic Acid. *Nutrients* 2018; 10 [PMID: 30154372 DOI: 10.3390/nu10091181]
- 15 Krautkramer KA, Fan J, Bäckhed F. Gut microbial metabolites as multi-kingdom intermediates. *Nat Rev Microbiol* 2021; 19: 77-94 [PMID: 32968241 DOI: 10.1038/s41579-020-0438-4]
- 16 秦微, 王彩霞. 脾属土的文化渊源及内涵. *中华中医药杂志* 2016; 31: 2054-2056
- 17 张晨阳, 王维, 陈文慧. 基于气机失调初步探讨非酒精性脂肪肝的病机. *时珍国医国药* 2018; 29: 1148-1150
- 18 王方维, 孟静岩, 马佐英, 王邈, 何天恩. 从脾论治肺系疾病的理论探析. *天津中医药大学学报* 2016; 35: 347-350 [DOI: 10.11656/j.jissn.1673-9043.2016.05.16]
- 19 余文雯, 谢欣颖, 杨小红. 从肺脾肾论治骨质疏松症. *中医研究* 2019; 32: 1-3
- 20 徐俊. 参苓白术散对脾虚泄泻大鼠消化吸收功能的影响. *中医学报* 2020; 2: 1-4
- 21 吴璐, 赖艳, 王莹, 吴维刚, 杨华生. 基于Maillard反应从消化功能的角度探讨麦芽“炒香醒脾”作用机制. *中华中医药学刊* 2019; 37: 2905-2910 [DOI: 10.13193/j.jissn.1673-7717.2019.12.021]
- 22 李艳波, 朱永革, 罗昭琼, 蒙晓冰. 中西医结合疗法治疗肠易激综合征脾虚湿盛证疗效观察. *山西中医* 2020; 36: 30-32
- 23 郑洁, 朱莹, 高昂. 渍结宁膏穴位敷贴对溃疡性结肠炎(脾肾阳虚证)大鼠TLR4/MyD88/NF-κB信号通路的影响. *广州中医药大学学报* 2019; 36: 1593-1598 [DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2019.10.021]
- 24 王赏. 肠病安汤治疗克罗恩病脾肾阳虚证的临床疗效观察. *湖南中医药大学* 2014
- 25 Wang LJ, Yang CY, Chou WJ, Lee MJ, Chou MC, Kuo HC, Yeh YM, Lee SY, Huang LH, Li SC. Gut microbiota and dietary patterns in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2020; 29: 287-297 [PMID: 31119393 DOI: 10.1007/s00787-019-01352-2]
- 26 Haro C, García-Carpintero S, Rangel-Zúñiga OA, Alcalá-Díaz JF, Landa BB, Clemente JC, Pérez-Martínez P, López-Miranda J, Pérez-Jiménez F, Camargo A. Consumption of Two Healthy Dietary Patterns Restored Microbiota Dysbiosis in Obese Patients with Metabolic Dysfunction. *Mol Nutr Food Res* 2017; 61 [PMID: 28940737 DOI: 10.1002/mnfr.201700300]
- 27 Xi Y, Shuling N, Kunyuan T, Qiuyang Z, Hewen D, ChenCheng G, Tianhe Y, Liancheng L, Xin F. Characteristics of the intestinal flora of specific pathogen free chickens with age. *Microb Pathog* 2019; 132: 325-334 [PMID: 31082529 DOI: 10.1016/j.micpath.2019.05.014]
- 28 Korpela K, Blakstad EW, Moltu SJ, Strømmen K, Nakstad B, Rønnestad AE, Brække K, Iversen PO, Drevon CA, de Vos W. Intestinal microbiota development and gestational age in preterm neonates. *Sci Rep* 2018; 8: 2453 [PMID: 29410448 DOI: 10.1038/s41598-018-20827-x]
- 29 Dayama G, Priya S, Niccum DE, Khoruts A, Blekhan R. Interactions between the gut microbiome and host gene regulation in cystic fibrosis. *Genome Med* 2020; 12: 12 [PMID: 31992345 DOI: 10.1186/s13073-020-0710-2]
- 30 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]
- 31 Shen S, Zhao J, Dai Y, Chen F, Zhang Z, Yu J, Wang K. Methamphetamine-induced alterations in intestinal mucosal barrier function occur via the microRNA-181c/ TNF-α/tight junction axis. *Toxicol Lett* 2020; 321: 73-82 [PMID: 31862507 DOI: 10.1016/j.toxlet.2019.12.020]
- 32 Hamilton AL, Kamm MA, Ng SC, Morrison M. Proteus spp. as Putative Gastrointestinal Pathogens. *Clin Microbiol Rev* 2018; 31 [PMID: 29899011 DOI: 10.1128/CMR.00085-17]
- 33 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 [DOI: 10.3969/j.jissn.1673-7202.2020.20.012]
- 34 Sebastián Domingo JJ, Sánchez Sánchez C. From the intestinal flora to the microbiome. *Rev Esp Enferm Dig* 2018; 110: 51-56 [PMID: 29271225 DOI: 10.17235/reed.2017.4947/2017]
- 35 Ma Q, Li Y, Li P, Wang M, Wang J, Tang Z, Wang T, Luo L, Wang C, Wang T, Zhao B. Research progress in the relationship between type 2 diabetes mellitus and intestinal flora. *Biomed Pharmacother* 2019; 117: 109138 [PMID: 31247468 DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109138]
- 36 Marcelino G, Hiane PA, Freitas KC, Santana LF, Pott A, Donadon JR, Guimarães RCA. Effects of Olive Oil and Its Minor Components on Cardiovascular Diseases, Inflammation, and Gut Microbiota. *Nutrients* 2019; 11 [PMID: 31394805 DOI: 10.3390/nu11081826]
- 37 Amar J. [Host-microbiota crosstalk and cardiovascular diseases]. *Presse Med* 2018; 47: 775-779 [PMID: 29909161 DOI: 10.1016/j.lpm.2018.03.016]
- 38 Chunxi L, Haiyue L, Yanxia L, Jianbing P, Jin S. The Gut Microbiota and Respiratory Diseases: New Evidence. *J Immunol Res* 2020; 2020: 2340670 [PMID: 32802893 DOI: 10.1155/2020/2340670]
- 39 Trivedi R, Barve K. Gut microbiome a promising target for management of respiratory diseases. *Biochem J* 2020; 477: 2679-2696 [PMID: 32726437 DOI: 10.1042/BCJ20200426]
- 40 张晨阳, 刘天浩, 王维, 姚政, 易杨, 肖倩, 陈文慧. 论肠道微环境是从脾论治肝病的重要生物学基础. *中华中医药杂志* 2019; 34: 2877-2880
- 41 高丽娟, 刘立, 李龙龙, 周亚兰, 吕若琳, 周亚楠, 黄生辉. 基于微生物-肠-脑轴的脾胃为后天之本理论探讨. *时珍国医国药* 2019; 30: 1449-1450
- 42 Duan Y, Xiong D, Wang Y, Li H, Dong H, Zhang J. Toxic effects of ammonia and thermal stress on the intestinal microbiota and transcriptomic and metabolomic responses of *Litopenaeus vannamei*. *Sci Total Environ* 2021; 754: 141867 [PMID: 32898779 DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.141867]
- 43 Han N, Pan Z, Huang Z, Chang Y, Hou F, Liu G, Yang R, Bi Y. Effects of Myeloid Hif-1β Deletion on the Intestinal Microbiota in Mice under Environmental Hypoxia. *Infect Immun* 2020; 89 [PMID: 33106294 DOI: 10.1128/IAI.00474-20]
- 44 Pang M, Yao Z, Chen C, Lei X, Cheng B. Human-microorganism mutualism theory: Possible mechanisms for the delayed chronic wound healing process. *Med Hypotheses* 2020; 141: 109720 [PMID: 32298919 DOI: 10.1016/j.mehy.2020.109720]
- 45 Durack J, Christophersen CT. Human Respiratory and Gut

- Microbiomes-Do They Really Contribute to Respiratory Health? *Front Pediatr* 2020; 8: 528 [PMID: 33014929 DOI: 10.3389/fped.2020.00528]
- 46 Ma HD, Zhao ZB, Ma WT, Liu QZ, Gao CY, Li L, Wang J, Tsuneyama K, Liu B, Zhang W, Zhou Y, Gershwin ME, Lian ZX. Gut microbiota translocation promotes autoimmune cholangitis. *J Autoimmun* 2018; 95: 47-57 [PMID: 30340822 DOI: 10.1016/j.jaut.2018.09.010]
 - 47 林新豪, 郑振宇, 任霞, 杨朝威, 苏钟, 李靖. 环境暴露在过敏性疾病中的重要作用. *中华临床免疫和变态反应杂志* 2019; 13: 276-282
 - 48 Ge Y, Lin S, Li B, Yang Y, Tang X, Shi Y, Sun J, Le G. Oxidized Pork Induces Oxidative Stress and Inflammation by Altering Gut Microbiota in Mice. *Mol Nutr Food Res* 2020; 64: e1901012 [PMID: 31845486 DOI: 10.1002/mnfr.201901012]
 - 49 刘同亭, 吕倩, 韩玮, 袁静, 魏巍, 许林. 低温环境对胃肠功能的影响及改善措施. *中华消化病与影像杂志(电子版)* 2020; 10: 214-219
 - 50 林荣辉, 牛婷立, 王轩, 高璐佼, 洪洁薇, 孟繁超, 程祯祯, 杨峥, 吕晓燕, 冯前进, 杨学智, 牛欣. 寒凉刺激对大鼠肠道菌群的影响. *中华中医药杂志* 2020; 35: 128-132
 - 51 Worthmann A, John C, Rühlemann MC, Baguhl M, Heinsen FA, Schaltenberg N, Heine M, Schlein C, Evangelakos I, Mineo C, Fischer M, Dandri M, Kremoser C, Scheja L, Franke A, Shaul PW, Heeren J. Cold-induced conversion of cholesterol to bile acids in mice shapes the gut microbiome and promotes adaptive thermogenesis. *Nat Med* 2017; 23: 839-849 [PMID: 28604703 DOI: 10.1038/nm.4357]
 - 52 卢环宇, 骆文静. 低温环境在代谢性疾病防治中的转化应用. *中华疾病控制杂志* 2020; 24: 745-747+784 [DOI: 10.16462/j.cnki.zhjbkz.2020.07.001.]
 - 53 Moreno-Navarrete JM, Fernandez-Real JM. The gut microbiota modulates both browning of white adipose tissue and the activity of brown adipose tissue. *Rev Endocr Metab Disord* 2019; 20: 387-397 [PMID: 31776853 DOI: 10.1007/s11154-019-09523-x]
 - 54 Sagar NM, McFarlane M, Nwokolo C, Bardhan KD, Arasaradnam RP. Mechanisms of triglyceride metabolism in patients with bile acid diarrhea. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 6757-6763 [PMID: 27570415 DOI: 10.3748/wjg.v22.i30.6757]
 - 55 Zhan K, Zheng H, Li J, Wu H, Qin S, Luo L, Huang S. Gut Microbiota-Bile Acid Crosstalk in Diarrhea-Irritable Bowel Syndrome. *Biomed Res Int* 2020; 2020: 3828249 [PMID: 33274207 DOI: 10.1155/2020/3828249]
 - 56 Hua YL, Ma Q, Zhang XS, Jia YQ, Peng XT, Yao WL, Ji P, Hu JJ, Wei YM. Pulsatilla Decoction Can Treat the Dampness-Heat Diarrhea Rat Model by Regulating Glycerophospholipid Metabolism Based Lipidomics Approach. *Front Pharmacol* 2020; 11: 197 [PMID: 32194420 DOI: 10.3389/fphar.2020.00197]
 - 57 张六通, 梅家俊, 黄志红, 邱幸凡, 周安方, 成肇智. 外湿致病机理的实验研究. *中医杂志* 1999; 8: 496-498 [DOI: 10.13288/j.11-2166/r.1999.08.030.]
 - 58 秦明, 饶志仁, 王景杰, 赵曙光, 杨琦, 刘震雄, 王旭霞, 黄裕新. 预先膈下迷走神经切断术对高湿热应激大鼠胃黏膜损伤的影响. *胃肠病学和肝病学杂志* 2010; 19: 985-987
 - 59 王菁. 基于“脾恶湿”探讨湿因素对大鼠各肠段免疫因子和肠道菌群的影响. 北京中医药大学 2014
 - 60 王莹, 齐阳, 刘桢桢, 韩易, 王苏苏, 李桂香, 黄文. 中链甘油三酯对模拟高热高湿环境下小鼠抗疲劳的作用. *热带医学杂志* 2017; 17: 1-4
 - 61 Deng L, Xu H, Liu P, Wu S, Shi Y, Lv Y, Chen X. Prolonged exposure to high humidity and high temperature environment can aggravate influenza virus infection through intestinal flora and Nod/RIP2/NF- κ B signaling pathway. *Vet Microbiol* 2020; 251: 108896 [PMID: 33091794 DOI: 10.1016/j.vetmic.2020.108896]
 - 62 王立柱. 泄泻从湿论治探讨. *吉林中医药* 2009; 29: 196-197 [DOI: 10.13463/j.cnki.jlzyy.2009.03.006.]
 - 63 肖红岩. 基于“苦寒伤胃”的抗生素相关性腹泻的发病学初探. 山东中医药大学 2013
 - 64 王云鹏. 成人抗生素相关性腹泻的中医证候分布规律研究. 山东中医药大学 2014
 - 65 Mekonnen SA, Merenstein D, Fraser CM, Marco ML. Molecular mechanisms of probiotic prevention of antibiotic-associated diarrhea. *Curr Opin Biotechnol* 2020; 61: 226-234 [PMID: 32087535 DOI: 10.1016/j.copbio.2020.01.005]
 - 66 刘旭, 郭晓钟, 李宏宇, 赵佳钧. 寒区军人功能性腹泻患者菌群失调临床研究. *临床军医杂志* 2017; 45: 787-789 [DOI: 10.16680/j.1671-3826.2017.08.05]
 - 67 周欣芸. 高湿环境对小鼠的哮喘发展及肠道菌群影响的研究. 西南交通大学 2019

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



敲除Linc00152对丝裂霉素耐药胃癌细胞NCI-N87/MMC的化疗耐药性影响及机制

吴明东, 叶洁桐, 朱蓓蓓, 叶芳敏, 汪望月

吴明东, 叶洁桐, 朱蓓蓓, 叶芳敏, 丽水市人民医院药学部 浙江省丽水市 323000

汪望月, 浙江省人民医院消化内科 浙江省杭州市 310000

吴明东, 主要从事消化系统疾病相关的临床药学研究.

基金项目: 丽水市公益性技术应用研究计划项目, No.2019SJZC47.

作者贡献分布: 此课题由吴明东与汪望月设计; 研究过程由吴明东和叶洁桐操作完成; 研究所用试剂由吴明东和汪望月提供; 数据分析由朱蓓蓓和叶芳敏完成; 本论文写作由吴明东和汪望月完成.

通讯作者: 汪望月, 主任医师, 310000, 浙江省杭州市下城区上塘路158号 浙江省人民医院消化内科. wangwangyue2544@aliyun.com

收稿日期: 2021-01-18

修回日期: 2021-02-08

接受日期: 2021-03-15

在线出版日期: 2021-04-08

Effect and mechanisms of LINC00152 knockdown on chemotherapy resistance in mitomycin-resistant gastric cancer NCI-N87/MMC cells

Ming-Dong Wu, Jie-Tong Ye, Bei-Lei Zhu, Fang-Min Ye, Wang-Yue Wang

Ming-Dong Wu, Jie-Tong Ye, Bei-Lei Zhu, Fang-Min Ye, Department of Pharmacy, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Wang-Yue Wang, Department of Gastroenterology, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China

Supported by: Lishui Public Welfare Technology Application Research Project, No.2019SJZC47.

Corresponding author: Wang-Yue Wang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Zhejiang Provincial People's

Hospital, No.158 Shangtang Road, Xiacheng District, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China. wangwangyue2544@aliyun.com

Received: 2021-01-18

Revised: 2021-02-08

Accepted: 2021-03-15

Published online: 2021-04-08

Abstract BACKGROUND

Long intergenic noncoding RNA 152 (LINC00152) is highly expressed in gastric cancer tissues, and it can promote the proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells. However, the effects and mechanisms of LINC00152 on chemotherapy resistance in gastric cancer are not clear.

AIM

To explore the effects and related mechanisms of LINC00152 on chemotherapy resistance in human gastric cancer cell line NCI-N87.

METHODS

The expression of LINC00152 in human gastric cancer cell line NCI-N87 and mitomycin (MMC) resistant cell line NCI-N87/MMC was detected by real-time PCR. After the expression of LINC00152 in NCI-N87/MMC cells was knocked down by RNA interference method, the sensitivity of cells to MMC and cisplatin was measured by MTT assay, cell apoptosis was detected by flow cytometry, and the protein expression levels of Bcl-2, Bax, Caspase 3, and cleaved Caspase 3 were determined by Western Blot. Furthermore, the expression levels of MDR1/P-gp, Mgr1-Ag, and MRP were evaluated by real-time PCR and Western Blot.

RESULTS

The expression level of LINC00152 in NCI-N87/MMC

cells was significantly higher than that in maternal NCI-N87 cells. LINC00152 knockdown induced apoptosis and increased sensitivity to MMC and cisplatin in NCI-N87/MMC cells. LINC00152 knockdown inhibited the expression of Bcl-2 protein in NCI-N87/MMC cells, but promoted the expression of Bax protein and the activation of Caspase 3. Furthermore, LINC00152 knockdown down-regulated the mRNA and protein expression of MDR1, Mgr1-Ag, and MRP in NCI-N87/MMC cells.

CONCLUSION

Down-regulation of LINC00152 in NCI-N87/MMC cells can increase the sensitivity of cells to MMC and cisplatin, and the mechanisms may be related to the promotion of cell apoptosis by regulating apoptotic-related factors, and down-regulation of MDR1, Mgr1-Ag, and MRP.

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

Key Words: Linc00152; Gastric cancer; NCI-N87 cells; Mitomycin resistance; Cell apoptosis

Citation: Wu MD, Ye JT, Zhu BL, Ye FM, Wang WY. Effect and mechanisms of LINC00152 knockdown on chemotherapy resistance in mitomycin-resistant gastric cancer NCI-N87/MMC cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(7): 332-339

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/332.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i7.332>

摘要

背景

长基因间非编码RNA 152(long intergenic noncoding RNA 152, Linc00152)在胃癌组织中高表达, 且其能促进胃癌细胞增殖、迁移与侵袭, 而Linc00152对胃癌化疗耐药的影响和机制并不清楚。

目的

探究Linc00152对人胃癌细胞系NCI-N87化疗耐药性的影响及相关的的作用机制。

方法

实时定量荧光聚合酶链式反应(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, Real-time PCR)检测人胃癌细胞系NCI-N87及其丝裂霉素(mitomycin, MMC)耐药细胞系NCI-N87/MMC中Linc00152的表达情况。采用小分子RNA干扰技术敲除NCI-N87/MMC中Linc00152的表达后, MTT法检测细胞对MMC和顺铂的敏感性, 流式细胞术检测细胞凋亡, Western Blot检测B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cysteine aspartic acid proteinase 3, caspase3)和裂

裂的caspase3(cleaved-caspase3)的蛋白表达水平。此外, Real-time PCR和Western blot检测多药耐药蛋白1/P-糖蛋白(multidrug resistant protein 1/P-glycoprotein, MDR1/P-gp)、层粘连蛋白受体1前体抗原(P37-kDa laminin receptor-1 precursor antigen, Mgr1-Ag)以及多药耐药相关蛋白(multidrug resistance-associated protein, MRP)的表达。

结果

NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达水平明显高于其亲本细胞NCI-N87。在NCI-N87/MMC细胞中, 敲除Linc00152可诱导细胞凋亡, 并增加其对MMC和顺铂的敏感性。敲除Linc00152可抑制NCI-N87/MMC细胞中Bcl-2蛋白表达, 促进Bax蛋白表达和caspase 3的活化。此外, 敲除Linc00152还可下调NCI-N87/MMC细胞中多药耐药基因MDR1、Mgr1-Ag、MRP及其编码的蛋白的表达。

结论

下调NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达可提高细胞对MMC和顺铂的敏感性, 其机制可能与调控细胞凋亡相关因子促进凋亡, 同时下调细胞中多药耐药基因MDR1、Mgr1-Ag及MRP的表达有关。

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

关键词: Linc00152; 胃癌; NCI-N87细胞; 丝裂霉素耐药; 细胞凋亡

核心提要: 长基因间非编码RNA 152(long intergenic noncoding RNA 152, Linc00152)在丝裂霉素(mitomycin, MMC)耐药胃癌细胞系NCI-N87/MMC中高表达。敲除Linc00152可提高NCI-N87/MMC细胞对MMC和顺铂的敏感性。

文献来源: 吴明东, 叶洁桐, 朱蓓蕾, 叶芳敏, 汪望月. 敲除Linc00152对丝裂霉素耐药胃癌细胞NCI-N87/MMC的化疗耐药性影响及机制. *世界华人消化杂志* 2021; 29(7): 332-339

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/332.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i7.332>

0 引言

胃癌是临床上较为常见的一类消化系统肿瘤。近年来, 我国胃癌的发病率不仅一直居高不下, 且有攀升的趋势^[1]。目前其治疗方式依然是以手术和化疗相结合的综合治疗为主; 其中化疗是重要的治疗手段, 特别是针对手术无法根治以及胃癌晚期的患者^[2,3]。但在化疗进程中, 胃癌细胞会通过多种方式对各类化疗药物产生耐药性, 导致胃癌的化疗效果降低^[4]。因此, 深入研究胃癌细胞耐药

的分子机制, 并寻找逆转耐药性的有效靶点成为医学工作者的重要课题, 其也对提高化疗疗效具有重要意义。

肿瘤细胞的耐药性大多为获得性耐药, 产生机制复杂, 且往往表现为多因素事件, 可涉及多种机制的联合作用, 不同机制间可相互影响^[5]。目前研究已发现的耐药机制主要包括^[6-9]: 细胞膜上某些蛋白的异常表达导致药物摄入减少和/或外排增多, 从而引起细胞内有效的药物浓度降低; 如拓补异构酶 II 等的异常表达, 导致化疗药物的作用靶点在质与量上出现改变, 降低了药物的细胞毒性; 谷胱甘肽转移酶等的异常表达, 导致细胞的解毒防御功能和DNA修复功能增强; 抗凋亡和促凋亡基因的异常表达导致肿瘤细胞出现凋亡抑制等。

大量研究显示长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)虽然不具备编码蛋白质的功能, 但在包括基因表达以及染色体修饰等在内的多种生物过程中发挥着重要的作用, 其可影响肿瘤的疾病进展^[10]。长基因间非编码RNA 152(long intergenic noncoding RNA 152, Linc00152)定位于人2号染色体2p11.2, 已被证实存在多种肿瘤组织中存在异常表达^[11-13]。Zhao等^[14]的研究通过lncRNA芯片分析发现Linc00152在胃癌中高表达, 而下调Linc00152可抑制HGC-27和SGC-7901的增殖和周期G1/S转换、抑制细胞侵袭和迁移、促进细胞凋亡。但Linc00152对胃癌细胞耐药的作用尚不清晰。本研究通过小分子干扰技术下调胃癌丝裂霉素(mitomycin, MMC)耐药细胞中的Linc00152, 系统的探究了Linc00152在胃癌细胞NCI-N87中对MMC耐药的影响及其相关作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞系NCI-N87购自美国典型菌种保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)细胞库; 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自杭州四季青生物工程材料有限公司; 一加转染试剂优化培养基(I reduced serum medium modification of minimum Eagle's medium, Opti-MEM I)及洛斯维公园纪念研究所-1640 (Roswell Park Memorial Institute-1640, RPMI-1640)培养基均购自美国Gibco公司; Linc00152小分子干扰RNA(small interference RNA targeting for Linc00152, si-Linc00152)及阴性对照siRNA (siRNA for negative control, si-NC)由上海生工生物技术有限公司提供; Trizol提取试剂盒、脂质体-3000(Lipofectamine 3000)及相关转染试剂购自美国Invitrogen公司; SYBR荧光染料与Ex-Taq酶预混液(SYBR Premix Ex Taq TM)试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司; 3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2, 5-二苯基四氮唑溴盐[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium

bromide, MTT]试剂盒及异硫氰酸荧光素标记的膜联蛋白V(AnnexinV-FITC)/碘化丙啶(propidium iodide, PI)细胞凋亡检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cysteine aspartic acid proteinase 3, caspase3)、劈裂的caspase3(cleaved-caspase3)和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)一抗购自美国Abcam公司; P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)、层粘连蛋白受体1前体抗原(P37-kDa laminin receptor-1 precursor antigen, Mgr1-Ag)和多药耐药相关蛋白(multidrug resistance-associated protein, MRP)一抗购自北京博奥森生物技术有限公司; MMC购自浙江海正药业股份有限公司; 顺铂购自齐鲁制药公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及耐药细胞构建: NCI-N87细胞常规培养于含10% FBS的RPMI-1640完全培养基中, 培养条件设置为37 °C、含5% CO₂及饱和湿度。NCI-N87/MMC耐药细胞是通过向培养液中连续加入MMC来构建, 培养过程中间断性(每2-3 wk递增0.5 μg/mL)逐步提高培养液中MMC的浓度, 直至细胞在含8 μg/mL的MMC培养液中保持良好生长。MTT法检测细胞对MMC和顺铂的耐药性后, 用于后续实验。

1.2.2 细胞转染: 转染组别设置为对照组(Ctrl), 阴性对照组(si-NC)和Linc00152干扰组(si-Linc00152)。转染方法: 取对数生长期的细胞消化后接种于细胞培养皿中, 待细胞生长至约70%融合时进行转染。将si-Linc00152或si-NC加入Opti-MEM I优化培养基中, 室温静置5 min, 标记为1号液; 将Lipofectamine 3000加入Opti-MEM I优化培养基中, 室温静置5 min, 标记为2号液; 轻柔混合1号液和2号液, 置于室温继续反应25 min。分别将混合液对应加入已分好组的细胞中, 将细胞转移至培养箱中孵育6 h, 更换培养基后继续培养48 h。实验重复6次。检测转染效率并进行后续实验分析。

1.2.3 实时定量荧光聚合酶链式反应(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, Real-time PCR): 参照Trizol提取试剂盒的操作说明抽提细胞总RNA并经紫外分光光度计测定RNA的纯度和浓度。取2 μg总RNA逆转录合成互补脱氧核糖核酸(complementary deoxyribonucleic acid, cDNA)。然后根据SYBR Premix Ex Taq TM试剂盒说明书, 将引物以及cDNA和试剂盒中相关试剂组成反应体系(反应体系为20 μL), 在ABI 7400实时定量PCR系统中进行反应。反应程序设置: 94 °C 4 min, 然后进行40个PCR循环(94

表 1 引物序列

| 基因 | 引物序列 |
|-----------|--|
| Linc00152 | F: 5'-TCACTTCAGAGCCAAGGCAG-3' R: 5'-AAATGCCTACCGCCAGTTCA-3' |
| 18S rRNA | F: 5'-ACACGGACAGGATTGACAGA-3' R: 5'-GGACATCTAAGGGCATCACA-3' |
| MDR1 | F: 5'-TCGTAGGAGTGTCCGTGGAT-3' R: 5'-TCATTGGCGAGCCTGGTAG-3' |
| Mgr1-Ag | F: 5'-CGGCTTCTTGTTGTTACTG-3' R: 5'-TTGGTCACTGCCTTCTCAG-3' |
| MRP | F: 5'-CGCCTTCGCTGAGTTCCT-3' R: 5'-TCTGCGGTGCTGTTGTGG-3' |
| GAPDH | F: 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3' R: 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3' |

表 2 胃癌细胞NCI-N87对化疗药物的敏感性(IC₅₀)(μg/mL)

| 细胞 | 丝裂霉素 | 顺铂 |
|-------------|---------------------------|--------------------------|
| NCI-N87/MMC | 12.15 ± 1.04 ^a | 1.68 ± 0.31 ^a |
| NCI-N87 | 3.51 ± 0.42 | 0.47 ± 0.09 |

NCI-N87/MMC: 基于NCI-N87细胞构建的丝裂霉素耐药胃癌细胞. 与NCI-N87细胞比较, ^a*P*<0.05.

表 3 下调Linc00152可提高耐药细胞NCI-N87/MMC对化疗药物的敏感性(IC₅₀)(μg/mL)

| 组别 | 丝裂霉素 | 顺铂 |
|--------------|--------------------------|--------------------------|
| Ctrl | 12.15 ± 1.04 | 1.68 ± 0.31 |
| si-NC | 12.86 ± 1.27 | 1.57 ± 0.19 |
| si-Linc00152 | 6.18 ± 1.06 ^a | 0.72 ± 0.12 ^a |

Ctrl: 对照组; si-NC: 阴性对照组; si-Linc00152: Linc00152干扰组. 与对照组比较, ^a*P*<0.05.

℃ 30 s, 60 ℃ 30 s, 72 ℃ 40 s). 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析基因相对表达量, 其中Linc00152采用18S rRNA为内参, MDR1、Mgr1-Ag和MRP mRNA采用GAPDH为内参. 实验重复6次. 引物序列见表1.

1.2.4 化疗药物敏感性检测: 取对数生长期的细胞按照 1×10^5 mL的密度接种至96孔板中, 每孔设置三个平行孔. 待细胞贴壁生长至约80%, 换无血清培养基同步化12 h, 加入不同浓度的MMC(浓度梯度设置为0、2、4、8、16、32 μg/mL)或顺铂(cisplatin, 浓度梯度设置为0、0.01、0.1、1、10、100 μg/mL), 置于细胞培养箱中继续培养48 h, 加入20 μL的MTT试剂后继续在细胞培养箱中培养4 h, 弃去孔内液体后加入100 μL的DMSO, 振荡后采用酶标仪测定490 nm波长处的吸光度值, 计算各药物的半数抑制浓度IC₅₀, 评估细胞的耐药性. 实验重复6次. 并比较已转染si-Linc00152的NCI-N87/MMC细胞对

MMC敏感性的变化.

1.2.5 Annexin V-FITC/PI染色: 采用Annexin V/PI 双染色法流式细胞术检测细胞凋亡情况. 收集各组细胞后, 用冰PBS漂洗2次, 加入500 μL结合缓冲液重悬细胞. 避光加入Annexin V-FITC混匀后, 室温孵育15 min, 上机前5 min加入PI染液避光染色. 之后, 经流式细胞仪检测激发波长488 nm发射波长530 nm处的细胞分布情况, 并据此评估细胞的凋亡率. 实验重复6次.

1.2.6 Western blot: 加RIPA裂解细胞, 并离心收集蛋白, 之后采用BCA法进行蛋白定量并计算上样量(上样蛋白总量为60 μg). 各组上样样品中加入4倍体积的上样缓冲液, 煮沸变性. 用微量加样器上样后行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 待蓝色的溴酚蓝泳出凝胶时即可转膜. 转膜结束后, 取出聚二偏氟乙烯膜, 加5%的脱脂乳粉封闭90 min. 依据说明书要求先后加入

相应比例的一抗和二抗孵育液, 其中一抗4 °C孵育过夜, 二抗室温孵育2 h. 免疫反应结束后, 用TBST振摇洗涤PVDF膜, 10 min'3次. 转移至暗室中洒ECL化学发光液、曝光并显影. 将实验结果扫描至电脑中, 采用Image J软件对蛋白表达条带进行分析. 实验重复6次.

统计学处理 将本组研究涉及数据录入Graphpad prism 8软件中进行统计学分析, 实验结果表示为均数±标准差(mean±SD), 两组数据比较采用*t*检验; 多组间数据的比较采用单因素方差分析, 两两比较则采用Bonferroni校正检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学显著性.

2 结果

2.1 Linc00152的表达与胃癌细胞NCI-N87化疗耐药之间的关系 本实验首先检测了人胃癌细胞系NCI-N87及其MMC耐药细胞系NCI-N87/MMC对化疗药物的敏感性(表2), 结果证明NCI-N87/MMC的对MMC的耐药性显著强于NCI-N87细胞, 并对顺铂产生了交叉耐药. 同时Real-Time PCR的检测结果显示(图1A), NCI-N87/MMC中Linc00152的表达水平显著高于其亲本细胞NCI-N87, 提示Linc00152的表达可能与胃癌细胞NCI-N87的MMC耐药之间存在一定的关系.

2.2 下调Linc00152对NCI-N87/MMC化疗敏感性的影响 为进一步证明Linc00152的表达与NCI-N87化疗耐药之间的关系, 本实验采用小分子RNA干扰技术下调NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达, 并检测其化疗药物敏感性的变化. 转染效率检测如图1B所示, 相较于对照组, si-Linc00152组细胞中Linc00152的表达显著降低. MTT检测结果显示, 下调NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达后, 细胞对MMC及顺铂的敏感性明显增加($P<0.05$, 见表3).

2.3 下调Linc00152对NCI-N87/MMC细胞凋亡的影响 本实验采用流式细胞术评估了下调Linc00152对NCI-N87/MMC细胞凋亡的影响, 结果显示(图2), 相较于对照组细胞, si-Linc00152组细胞的早期凋亡率由 $(14.59 \pm 1.37)\%$ 增加至 $(38.67 \pm 3.54)\%$ ($P<0.05$); 而中晚期细胞凋亡/坏死率由 $(7.65 \pm 1.53)\%$ 增加至 $(11.97 \pm 1.69)\%$. 表明下调Linc00152可显著促进耐药细胞NCI-N87/MMC的凋亡.

2.4 下调Linc00152对细胞凋亡相关因子表达的影响 Western Blot检测(图3)结果显示, 相较于对照组, si-Linc00152组抗凋亡蛋白Bcl-2的表达显著下降, 而凋亡蛋白Bax、cleaved-caspase3的蛋白水平明显增加.

2.5 下调Linc00152对耐药相关基因表达的影响 本实验进一步检测了NCI-N87/MMC细胞中耐药相关基因的表达情况, 结果显示(图4), 相较于对照组, si-Linc00152

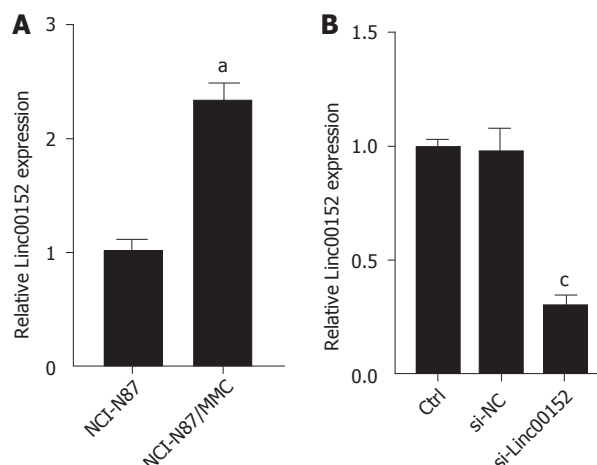


图1 Linc00152的表达情况. A: NCI-N87和NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达情况. B: 转染si-Linc00152或si-NC后NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达情况. NCI-N87/MMC: 基于NCI-N87细胞构建的丝裂霉素耐药胃癌细胞; Ctrl: 对照组; si-NC: 阴性对照组; si-Linc00152: Linc00152干扰组. 与NCI-N87细胞比较, $^*P<0.05$; 与对照组比较, $^cP<0.05$.

组MDR1、MGR1-Ag以及MRP的mRNA表达水平显著降低(图4A), 同时P-gp、MGR1-Ag以及MRP的蛋白表达水平也显著降低(图4B). 提示下调Linc00152可抑制NCI-N87/MMC细胞中耐药相关基因MDR1、MGR1-Ag、MRP及其编码的蛋白的表达.

3 讨论

研究发现, Linc00152具有癌基因样作用, 其可通过不同的信号途径调控肿瘤细胞增殖及凋亡^[15]; 在胃癌中的相关研究显示, 相较于癌旁非肿瘤组织和炎性胃粘膜组织, Linc00152在胃癌组织中高表达, 且Linc00152的高表达能促进胃癌侵袭和迁移^[14-16]. 本研究发现, Linc00152在MMC耐药的胃癌NCI-N87/MMC细胞中的表达显著高其亲本细胞NCI-N87, 而通过小分子干扰技术下调NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达可增加细胞对MMC以及顺铂的敏感性. 由此推测, 下调Linc00152可在一定程度逆转NCI-N87/MMC细胞的化疗耐药.

考虑到Linc00152对肿瘤细胞增殖及凋亡的调控作用, 本研究进一步从细胞凋亡的角度探讨了Linc00152调控NCI-N87/MMC细胞的MMC耐药的作用机制. 流式细胞术的检测结果显示, 下调Linc00152可显著促进耐药细胞NCI-N87/MMC的凋亡. 该结果提示, 下调Linc00152提高NCI-N87/MMC对MMC的敏感性可能与诱导细胞凋亡有关. Bcl-2家族是调控细胞凋亡最重要的基因, 其中抗凋亡蛋白Bcl-2可与促凋亡蛋白Bax形成异二聚体, 抑制细胞凋亡^[17,18]. 本实验的检测结果显示, 下调Linc00152可抑制NCI-N87/MMC细胞中Bcl-2的蛋白表达, 同时促进Bax的蛋白表达. caspase3则是细胞

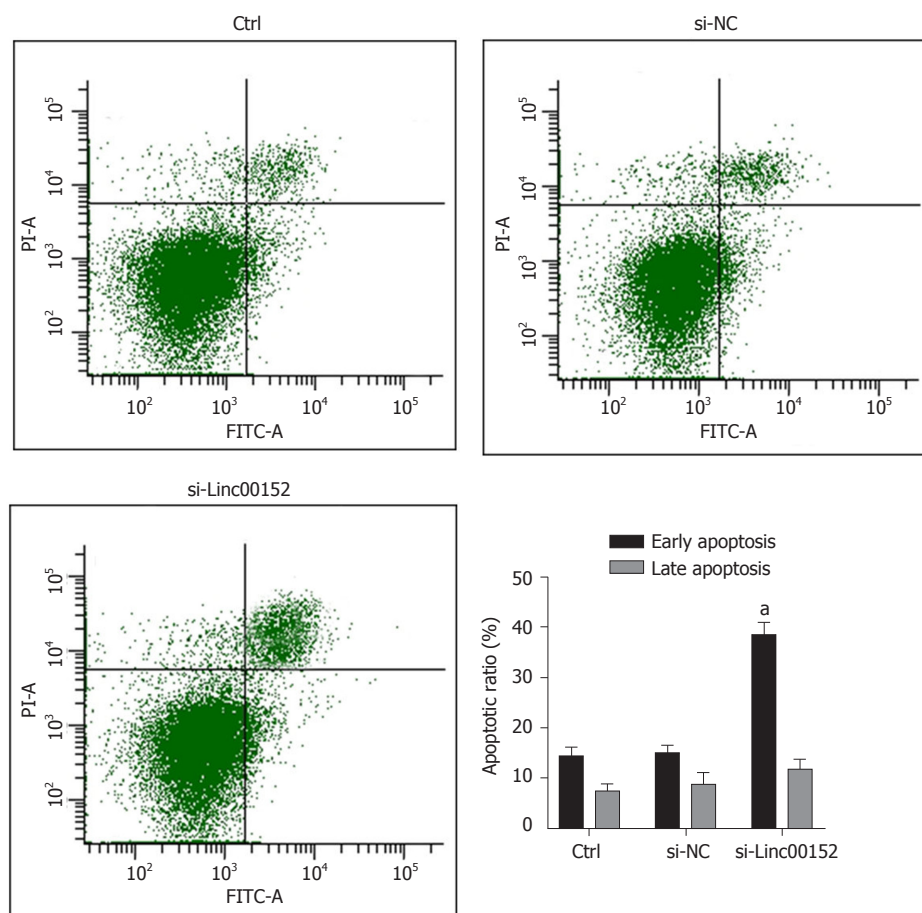


图 2 流式细胞术检测下调Linc00152对NCI-N87/MMC细胞凋亡的影响. Ctrl:对照组; si-NC: 阴性对照组; si-Linc00152: Linc00152干扰组. 与对照组比较, $P < 0.05$.

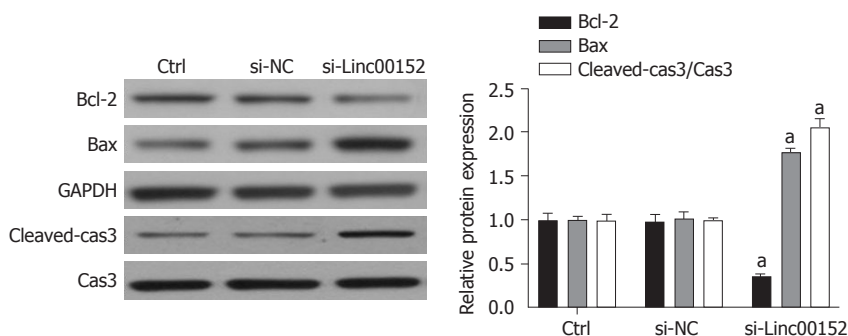


图 3 下调Linc00152对NCI-N87/MMC细胞中凋亡相关因子表达的影响. Ctrl:对照组; si-NC:阴性对照组; si-Linc00152: Linc00152干扰组. 与对照组比较, $P < 0.05$.

凋亡通路中最主要的终末剪切酶, 活化后可启动下游的级联反应, 诱发凋亡^[19]. 本实验中, 下调Linc00152可促进NCI-N87/MMC细胞的caspase3的活化. 结果表明, 下调Linc00152可通过调控凋亡相关因子的表达促进NCI-N87/MMC细胞的凋亡.

此外, 肿瘤细胞的获得性耐药性还与多药耐药相关基因的表达密切相关. MDR1基因可通过编码P-gp(一种ATP依赖性跨膜糖蛋白)主动泵出化疗药物, 降低肿瘤

细胞中有效药物浓度^[20,21]. MRP主要是促进谷胱甘肽结合药物, 进而促进化疗药物外排^[22]. MGR1-Ag实在胃癌长春新碱耐药细胞株SGC7901/VCR中筛选出的耐药相关分子, 不仅可以降低肿瘤细胞中药物浓度, 还可调控细胞凋亡^[23,24]. 本实验的检测结果表明, 下调Linc00152可抑制NCI-N87/MMC细胞中耐药相关基因MDR1、MGR1-Ag、MRP及其编码的蛋白的表达. 但是其中是否还涉及其他耐药相关的机制以及具体的分子靶点还有

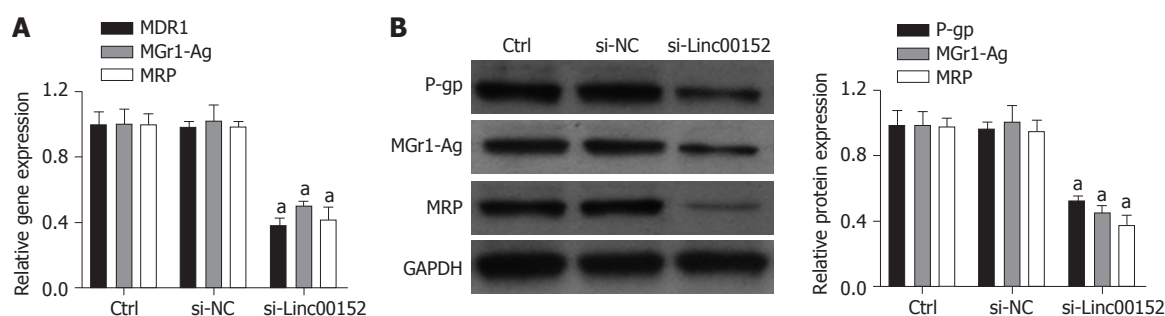


图 4 下调Linc00152对NCI-N87/MMC细胞中耐药相关基因表达的影响. A: 各组NCI-N87/MMC细胞中MDR1、MGR1-Ag和MRP的mRNA表达水平; B: 各组NCI-N87/MMC细胞中MDR1、MGR1-Ag和MRP的蛋白表达水平; Ctrl: 对照组; si-NC: 阴性对照组; si-Linc00152: Linc00152干扰组. 与对照组比较, ^a $P < 0.05$.

待进一步深入的研究. 此外, 因本研究仅采用NCI-N87/MMC细胞对靶向抑制Linc00152后发挥的逆转化疗耐药的作用进行了初步探讨, 其结果具有一定局限性, 因此, 仍需多种化疗耐药胃癌细胞以及由化疗耐药胃癌细胞构建的移植瘤动物模型来进一步验证靶向抑制Linc00152在胃癌化疗耐药中的作用.

4 结论

综上所述, 下调Linc00152可提高MMC耐药胃癌细胞NCI-N87/MMC对化疗药物MMC和顺铂的敏感性, 其作用可能与其诱导细胞凋亡以及下调多药耐药相关基因MDR1、MGR1-Ag、MRP的表达相关.

文章亮点

实验背景

胃癌化疗易产生化疗药物耐药, 而寻找并干预影响胃癌细胞化疗耐药的特异性靶点有望逆转耐药性, 使得胃癌化疗耐药患者获益.

实验动机

已有研究表明长基因间非编码RNA 152(long intergenic noncoding RNA 152, Linc00152)在胃癌组织中高表达, 且其促进胃癌恶性进展. 而目前尚不清楚Linc00152表达是否与胃癌化疗耐药具有内部联系.

实验目标

探究Linc00152表达与胃癌化疗耐药之间的关系, 研究敲除Linc00152是否能增强丝裂霉素(mitomycin, MMC)耐药胃癌细胞系NCI-N87/MMC对MMC和顺铂的敏感性, 并分析其中涉及的分子学机制.

实验方法

首先, 检测NCI-N87/MMC细胞和母本细胞NCI-N87中Linc00152的表达情况. 接着分析敲除Linc00152对

NCI-N87/MMC细胞MMC和顺铂敏感性以及细胞凋亡的影响. 最后, 分析敲除Linc00152对NCI-N87/MMC细胞中凋亡相关蛋白以及多药耐药相关蛋白及其基因表达的影响.

实验结果

Linc00152在NCI-N87/MMC细胞中高表达. 敲除NCI-N87/MMC细胞中Linc00152表达可增加其对MMC和顺铂的敏感性, 诱导细胞凋亡并下调多药耐药基因MDR1、MGR1-Ag、MRP及其编码的蛋白的表达.

实验结论

敲除Linc00152可部分逆转NCI-N87/MMC对MMC和顺铂的耐药性, 其机制可能与其诱导细胞凋亡并下调MDR1、MGR1-Ag、MRP的表达相关.

展望前景

外源性靶向敲除Linc00152可能是增强胃癌化疗耐药患者的化疗效果的潜在策略.

5 参考文献

- Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, van Grieken NC, Lordick F. Gastric cancer. *Lancet* 2020; 396: 635-648 [PMID: 32861308 DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31288-5]
- Song Z, Wu Y, Yang J, Yang D, Fang X. Progress in the treatment of advanced gastric cancer. *Tumour Biol* 2017; 39: 1010428317714626 [PMID: 28671042 DOI: 10.1177/1010428317714626]
- Johnston FM, Beckman M. Updates on Management of Gastric Cancer. *Curr Oncol Rep* 2019; 21: 67 [PMID: 31236716 DOI: 10.1007/s11912-019-0820-4]
- Nikolaou M, Pavlopoulou A, Georgakilas AG, Kyrodimos E. The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview. *Clin Exp Metastasis* 2018; 35: 309-318 [PMID: 29799080 DOI: 10.1007/s10585-018-9903-0]
- Wu Q, Yang Z, Nie Y, Shi Y, Fan D. Multi-drug resistance in cancer chemotherapeutics: mechanisms and lab approaches. *Cancer Lett* 2014; 347: 159-166 [PMID: 24657660 DOI: 10.1016/j.canlet.2014.03.013]
- Assaraf YG, Brozovic A, Gonçalves AC, Jurkovicova D, Liné A, Machuqueiro M, Saponara S, Sarmiento-Ribeiro AB, Xavier CPR, Vasconcelos MH. The multi-factorial nature of clinical

- multidrug resistance in cancer. *Drug Resist Updat* 2019; 46: 100645 [PMID: 31585396 DOI: 10.1016/j.drug.2019.100645]
- 7 Hu W, Huang XS, Wu JF, Yang L, Zheng YT, Shen YM, Li ZY, Li X. Discovery of Novel Topoisomerase II Inhibitors by Medicinal Chemistry Approaches. *J Med Chem* 2018; 61: 8947-8980 [PMID: 29870668 DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b01202]
- 8 Shimizu T, Fujii T, Sakai H. The Relationship Between Actin Cytoskeleton and Membrane Transporters in Cisplatin Resistance of Cancer Cells. *Front Cell Dev Biol* 2020; 8: 597835 [PMID: 33195280 DOI: 10.3389/fcell.2020.597835]
- 9 Marin JJ, Al-Abdulla R, Lozano E, Briz O, Bujanda L, Banales JM, Macias RI. Mechanisms of Resistance to Chemotherapy in Gastric Cancer. *Anticancer Agents Med Chem* 2016; 16: 318-334 [PMID: 26234359 DOI: 10.2174/1871520615666150803125121]
- 10 Lucere KM, O'Malley MMR, Diermeier SD. Functional Screening Techniques to Identify Long Non-Coding RNAs as Therapeutic Targets in Cancer. *Cancers (Basel)* 2020; 12 [PMID: 33317042 DOI: 10.3390/cancers12123695]
- 11 Wang S, Weng W, Chen T, Xu M, Wei P, Li J, Lu L, Wang Y. LINC00152 Promotes Tumor Progression and Predicts Poor Prognosis by Stabilizing BCL6 From Degradation in the Epithelial Ovarian Cancer. *Front Oncol* 2020; 10: 555132 [PMID: 33282727 DOI: 10.3389/fonc.2020.555132]
- 12 Wang B, Yang S, Zhao W. Long Non-Coding RNA NRAD1 and LINC00152 are Highly Expressed and Associated with Prognosis in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Oncotargets Ther* 2020; 13: 10409-10416 [PMID: 33116620 DOI: 10.2147/OTT.S251231]
- 13 Yuan ZJ, Yu C, Hu XF, He Y, Chen P, Ouyang SX. LINC00152 promotes pancreatic cancer cell proliferation, migration and invasion via targeting miR-150. *Am J Transl Res* 2020; 12: 2241-2256 [PMID: 32509216]
- 14 Zhao J, Liu Y, Zhang W, Zhou Z, Wu J, Cui P, Zhang Y, Huang G. Long non-coding RNA Linc00152 is involved in cell cycle arrest, apoptosis, epithelial to mesenchymal transition, cell migration and invasion in gastric cancer. *Cell Cycle* 2015; 14: 3112-3123 [PMID: 26237576 DOI: 10.1080/15384101.2015.1078034]
- 15 Yu Y, Yang J, Li Q, Xu B, Lian Y, Miao L. LINC00152: A pivotal oncogenic long non-coding RNA in human cancers. *Cell Prolif* 2017; 50 [PMID: 28464433 DOI: 10.1111/cpr.12349]
- 16 Pang Q, Ge J, Shao Y, Sun W, Song H, Xia T, Xiao B, Guo J. Increased expression of long intergenic non-coding RNA LINC00152 in gastric cancer and its clinical significance. *Tumour Biol* 2014; 35: 5441-5447 [PMID: 24523021 DOI: 10.1007/s13277-014-1709-3]
- 17 Senichkin VV, Pervushin NV, Zuev AP, Zhivotovsky B, Kopeina GS. Targeting Bcl-2 Family Proteins: What, Where, When? *Biochemistry (Mosc)* 2020; 85: 1210-1226 [PMID: 33202206 DOI: 10.1134/S0006297920100090]
- 18 Naumova N, Šachl R. Regulation of Cell Death by Mitochondrial Transport Systems of Calcium and Bcl-2 Proteins. *Membranes (Basel)* 2020; 10 [PMID: 33096926 DOI: 10.3390/membranes10100299]
- 19 Jiang M, Qi L, Li L, Li Y. The caspase-3/GSDME signal pathway as a switch between apoptosis and pyroptosis in cancer. *Cell Death Discov* 2020; 6: 112 [PMID: 33298876 DOI: 10.1038/s41420-020-00349-0]
- 20 Robey RW, Pluchino KM, Hall MD, Fojo AT, Bates SE, Gottesman MM. Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer. *Nat Rev Cancer* 2018; 18: 452-464 [PMID: 29643473 DOI: 10.1038/s41568-018-0005-8]
- 21 Silva R, Vilas-Boas V, Carmo H, Dinis-Oliveira RJ, Carvalho F, de Lourdes Bastos M, Remião F. Modulation of P-glycoprotein efflux pump: induction and activation as a therapeutic strategy. *Pharmacol Ther* 2015; 149: 1-123 [PMID: 25435018 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.11.013]
- 22 Li S, Li B, Wang J, Zhang D, Liu Z, Zhang Z, Zhang W, Wang Y, Bai D, Guan J, Zhang Y. Identification of Sensitivity Predictors of Neoadjuvant Chemotherapy for the Treatment of Adenocarcinoma of Gastroesophageal Junction. *Oncol Res* 2017; 25: 93-97 [PMID: 28081737 DOI: 10.3727/096504016X14719078133564]
- 23 Luo G, Wang W, Wu Q, Lu Y, Su T, Gu N, Li K, Wang J, Du R, Zhao X, Li X, Fan R, Zhang H, Nie Y, Zhou X, Shi Y, Liang J, Wang X, Fan D. MGr1-Antigen/37 kDa laminin receptor precursor promotes cellular prion protein induced multi-drug-resistance of gastric cancer. *Oncotarget* 2017; 8: 71630-71641 [PMID: 29069734 DOI: 10.18632/oncotarget.17795]
- 24 Sun L, Liu L, Liu X, Wang Y, Li M, Yao L, Yang J, Ji G, Guo C, Pan Y, Liang S, Wang B, Ding J, Zhang H, Shi Y. Gastric cancer cell adhesion to laminin enhances acquired chemotherapeutic drug resistance mediated by MGr1-Ag/37LRP. *Oncol Rep* 2014; 32: 105-114 [PMID: 24840404 DOI: 10.3892/or.2014.3184]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



敲减LncRNA TPT1-AS1抑制肝癌细胞侵袭及迁移

刘清秀, 汪晓梅, 吕娇健, 卢毅, 赵园, 樊晓鹏

刘清秀, 汪晓梅, 吕娇健, 卢毅, 赵园, 丽水市人民医院肝科感染科 浙江省丽水市 323000

樊晓鹏, 丽水市人民医院肝胆胰外科 浙江省丽水市 323000

刘清秀, 硕士, 主治医师, 主要从事肝病及感染性疾病的相关临床及科研工作。

作者贡献分布: 此课题由刘清秀与樊晓鹏设计; 研究过程由刘清秀、汪晓梅及吕娇健操作完成; 研究所用试剂由刘清秀提供; 数据分析由卢毅和赵园完成; 本论文写作由刘清秀完成。

通讯作者: 刘清秀, 硕士, 主治医师, 323000, 浙江省丽水市莲都区大众街15号丽水市人民医院肝科感染科, liuqingxiufg123@163.com

收稿日期: 2021-01-22

修回日期: 2021-02-24

接受日期: 2021-03-15

在线出版日期: 2021-04-08

Knockdown of long non-coding RNA TPT1-AS1 inhibits invasion and migration of hepatocarcinoma cells

Qing-Xiu Liu, Xiao-Mei Wang, Jiao-Jian Lv, Yi Lu, Yuan Zhao, Xiao-Peng Fan

Qing-Xiu Liu, Xiao-Mei Wang, Jiao-Jian Lv, Yi Lu, Yuan Zhao, Department of Hepatology and Infection, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Xiao-Peng Fan, Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Qing-Xiu Liu, Master of Medicine, Attending Physician, Department of Hepatology and Infection, Lishui People's Hospital, No. 15 Dazhong Street, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. liuqingxiufg123@163.com

Received: 2021-01-22

Revised: 2021-02-24

Accepted: 2021-03-15

Published online: 2021-04-08

Abstract

BACKGROUND

The long non-coding RNA (lncRNA) TPT1-AS1 has been proved to affect the migration and invasion of tumor cells by different means, but its specific role and related mechanisms in hepatic carcinoma still need further research.

AIM

To investigate the expression of TPT1-AS1 in hepatocarcinoma tissues and cell lines and explore its biological role in the invasion and migration of hepatocarcinoma cells.

METHODS

Real-time quantitative PCR was used to measure lncRNA TPT1-AS1 expression in hepatocarcinoma tissue and cell lines (Huh7, SMMC-7721, HCCLM3, and HepG2). After being transfected with small interfering RNA (siRNA-TPT1-AS1), the invasion and migration of HepG2 cells were detected by transwell assay and wound healing assay. Western blot was used to measure the epithelial-mesenchymal transition (EMT) process and the activity of the PI3K/AKT pathway.

RESULTS

TPT1-AS1 was up-regulated in hepatocarcinoma tissues and cell lines Huh7, SMMC-7721, HCCLM3, and HepG2. Transfection with siRNA-TPT1-AS1 noticeably restrained HepG2 cell invasion and migration, and suppressed the EMT process. Furthermore, TPT1-AS1 knockdown reduced MMP-9 expression and inhibited the activation of the PI3K/AKT pathway.

CONCLUSION

TPT1-AS1 is up-regulated in hepatic carcinoma. Knockdown of TPT1-AS1 inhibits the invasion and migration of HepG2 cells *via* mechanisms that may

be associated with reducing the activity of PI3K/AKT pathway and the expression of its downstream gene MMP-9, and inhibiting the EMT process.

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

Key Words: LncRNA TPT1-AS1; Hepatocarcinoma; Invasion; Migration; PI3K/AKT

Citation: Liu QX, Wang XM, Lv JJ, Lu Y, Zhao Y, Fan XP. Knockdown of long non-coding RNA TPT1-AS1 inhibits invasion and migration of hepatocarcinoma cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(7): 340-346

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/340.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i7.340>

摘要

背景

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)肿瘤蛋白翻译调节因子1-反义RNA1(tumor protein translationally controlled regulator 1-antisense RNA 1, TPT1-AS1)TPT1-AS1可通过不同的作用方式影响肿瘤的侵袭转移, 但其在肝癌中的具体作用和相关作用机制还有待进一步的实验验证。

目的

探讨lncRNA TPT1-AS1在肝癌中的表达及其对肝癌细胞侵袭迁移能力的影响。

方法

实时荧光定量PCR检测肝癌组织及肝癌细胞系(Huh7、SMMC-7721、HCCLM3和HepG2)中lncRNA TPT1-AS1的表达。靶向TPT1-AS1的小分子干扰RNA(siRNA targeted for TPT1-AS1, si-TPT1-AS1)转染后, 经Transwell实验和划痕实验检测HepG2细胞侵袭及迁移能力的变化; Western blot评估上皮-间充质转分化进程(epithelial-mesenchymal transition, EMT)以及磷酸肌醇3激酶(phosphotylinositol 3 kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, PKB/AKT)信号通路的活性。

结果

肝癌组织及肝癌细胞系(Huh7、SMMC-7721、HCCLM3和HepG2)中均可检测到lncRNA TPT1-AS1的高表达。转染siRNA-TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的侵袭及迁移, 同时抑制HepG2细胞的EMT进程。此外, 下调lncRNA TPT1-AS1可抑制MMP-9的表达及PI3K/AKT信号通路的活性。

结论

LncRNA TPT1-AS1在肝癌中高表达。敲减lncRNA TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的侵袭迁移, 其作用机制可能与下调PI3K/AKT信号通路的活性以及下

游基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)的表达, 进而抑制细胞的EMT进程有关。

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

关键词: lncRNA TPT1-AS1; 肝癌; 侵袭; 迁移; PI3K/AKT

核心提要: 长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)肿瘤蛋白翻译调节因子1-反义RNA1(tumor protein translationally controlled regulator 1-antisense RNA 1, TPT1-AS1)在肝癌中表达上调。敲除TPT1-AS1抑制HepG2细胞的EMT进程、迁移和侵袭, 并减弱其PI3K/AKT信号活性。

文献来源: 刘清秀, 汪晓梅, 吕娇健, 卢毅, 赵园, 樊晓鹏. 敲减LncRNA TPT1-AS1抑制肝癌细胞侵袭及迁移. *世界华人消化杂志* 2021; 29(7): 340-346

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/340.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i7.340>

0 引言

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类RNA转录的产物, 其转录本长度大于200 nt, 但不具备编码蛋白质的功能。LncRNA可通过多种方式影响基因的表达, 从而参与调控细胞的转分化、代谢以及增殖凋亡等生物学行为; 此外lncRNA还可调控细胞内以及细胞间复杂的信号通路, 进而影响肿瘤的发生发展进程^[1,2]。研究证实在包括胃癌、肝癌、肺癌以及乳腺癌等多类肿瘤中存在lncRNA的异常表达^[3-6]。肝癌是发病率和死亡率均高的常见恶性肿瘤之一, 其早期的诊疗手段依旧十分有限, 而lncRNA作为近年来备受关注的“明星分子”, 有望为肝癌的诊疗以及靶点药物的设计提供新的思路和方法。目前已有多项研究证实lncRNA可通过抑癌或促癌作用参与调控肝癌的发生发展。如Wu等^[7]的研究结果显示lncRNA MT1JP在肝癌组织中表达降低, 且可通过下调AKT抑制肝癌的进展。Lin等^[8]的研究结果则显示lncRNA CRNDE可通过调控miR-33a-5p/CDK6轴在肝癌中发挥促癌作用。

肿瘤蛋白翻译调节因子1-反义RNA1(tumor protein translationally controlled regulator 1-antisense RNA 1, TPT1-AS1)位于13号染色体。既往研究发现^[9-11], TPT1-AS1在胃癌、卵巢癌以及结直肠癌等恶性肿瘤中异常高表达, 并可促进上述肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭; 但考虑到lncRNA作用的复杂性, lncRNA TPT1-AS1在肝癌中的具体作用和相关作用机制尚不清楚, 还需大量的实验验证。本研究首先通过实时荧光定量PCR检测肝癌中lncRNA TPT1-AS1的表达情况, 之后利用小分子干扰

RNA下调肝癌细胞中lncRNA TPT1-AS的表达, 初步分析其对肝癌细胞侵袭及迁移能力的影响, 并通过western blot等检测手段进一步探讨其可能的作用机制, 以期为肝癌的诊疗提供潜在的靶点和一定的实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 肝癌细胞系(Huh7、SMMC-7721、HCCLM3和HepG2)及人永生化肝细胞LO2均购自中科院上海细胞库; 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、I 减血清培养基(I reduced serum medium modification of Eagle's minimal essential medium, Opti-MEM)培养基、达尔伯克氏改良伊格尔氏培养基(Dulbecco's modification of Eagle's medium, DMEM)培养基均购自美国Gibco公司; Trizol试剂、LipofectAMINE²⁰⁰⁰购自美国Invitrogen公司; 靶向TPT1-AS1的小分子干扰RNA (siRNA targeted for TPT1-AS1, si-TPT1-AS1) 及其阴性对照小分子干扰RNA (siRNA targeted for negative control sequence, si-NC)由广州锐博生物技术有限公司合成; PrimeScriptTM RT Master Mix kit及SYBR-Green PCR Master Mix kit购自TaKaRa公司; 二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; 上皮钙黏蛋白(E-cadherin)、神经-钙粘蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(vimentin)、基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)、和三磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体均购自美国Abcam公司; 磷酸肌醇3激酶(phosphotylinositol 3 kinase, PI3K)、磷酸化PI3K(phospho-PI3K, p-PI3K)抗体购自上海泊湾生物科技有限公司; 蛋白激酶B(protein kinase B, PKB/AKT)、磷酸化AKT(phospho-AKT, p-AKT)抗体购自美国Affinity Biosciences公司; 其余试剂均为国产市售分析纯。

1.2 方法

1.2.1 临床标本收集: 收集2017-12/2019-12丽水市人民医院普外科肝胆病区行肝癌切除手术患者的癌组织及其配对的癌旁正常组织。所有纳入研究的12例病例均经我院病理科确证为肝细胞癌, 配对癌旁组织中无癌细胞, 距离癌组织边缘2.0 cm以上, 且所选病例术前并未接受过放化疗和介入等治疗。本研究所有的临床标本均经患者签署知情同意书并获得丽水市人民医院伦理委员会批准。标本离体后迅速取材并并置于冻存管中放入液氮, 于-80℃超低温冰箱中保存备用。

1.2.2 细胞培养、分组及转染: 肝癌细胞系(Huh7、SMMC-7721、HCCLM3和HepG2)及人永生化肝细胞LO2均常规培养于含10% FBS的DMEM完全培养基中,

培养条件为37℃、含5%CO₂的恒温细胞培养箱, 每2 d更换培养基一次, 每4-5 d细胞生长达80%左右时经0.25%的胰酶消化传代。

取对数生长期的HepG2细胞接种至6孔板中(接种密度为 2×10^5 个/mL), 并将细胞分为空白对照组(control, Ctrl)、阴性对照组(si-NC)和转染组(si-TPT1-AS1)。待细胞生长至约70%融合时进行转染。将si-TPT1-AS1/si-NC和LipofectAMINE²⁰⁰⁰分别加入到Opti-MEM培养基中混匀, 室温孵育5 min, 然后将已经添加si-TPT1-AS1/si-NC的培养基与已经添加LipofectAMINE²⁰⁰⁰分别轻柔混合, 室温继续孵育25 min。最后将混合物分别加至预设分组的各组细胞中, 置于37℃、含5%CO₂的恒温细胞培养箱中连续培养6 h, 更换为完全细胞培养基继续培养48 h。检测转染效率并进行后续实验分析。

1.2.3 划痕实验: 取对数生长期的HepG2细胞接种至6孔板中(预先用记号笔在培养板的背面画直线作为参考线), 接种密度为 2×10^5 个/mL。依据实验分组转染si-NC或si-TPT1-AS1后, 将细胞板重新置于细胞培养箱中继续培养至细胞生长达到约90%融合。用灭菌枪头依据参考线垂直在孔底划上划痕, PBS清洗后加入完全细胞培养基继续置于培养箱中培养。分别在0 h和48 h时用倒置相差显微镜随机选取6个视野观察并采集细胞图像, 检测划痕的修复情况并衡量细胞的迁移能力。

1.2.4 Transwell实验: 预先将人工基底膜(Matrigel)基质胶解冻并用无血清的DMEM培养基按1:8的比例稀释, 之后用Matrigel胶均匀包被transwell小室的微孔膜上, 37℃孵育2 h。用无血清培养基将各组细胞制成 1×10^4 个/mL的细胞悬浮液, 然后每组细胞取100 μL细胞悬浮液分别接种至transwell小室的上室, 在下室中加入700 μL完全细胞培养基, 置于细胞培养箱中继续培养48 h。取出小室后用棉签轻柔擦除微孔膜上层的细胞, PBS清洗2次后加95%的乙醇固定微孔膜下层的细胞, 之后用体积分数为0.5%的结晶紫染液染色, PBS漂洗后, 于倒置显微镜下观察并计数穿膜细胞(每组取6个视野的均值)。

1.2.5 实时荧光定量PCR: 依据Trizol试剂盒说明书所提供的方法抽提组织或细胞总RNA, 经PrimeScriptTM RT Master Mix kit催化合成cDNA后, 采用SYBR-Green PCR Master Mix Kit经ABI PRISM 7700系统检测lncRNA TPT1-AS1的表达。lncRNA TPT1-AS1的正向引物序列为5'-AGGAGGCTATCCTTGCCCATC-3', 反向引物序列为5'-AATTGGAGGCCAGTGCTCTGAA-3'; GAPDH作为内参, 正向引物序列为5'-GCGACACCCACTCTCCA CCTTT-3'; 反向引物序列为5'-TGCTGTAGCCAAATTCG

TTGTCATA-3'. 反应参数设置: 95 °C 变性60 sec, 45个循环(94 °C 30 sec, 62 °C 45 sec). 结果采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析LncRNA TPT1-AS1的相对表达量.

1.2.6 Western blot: 各组细胞经过相应的处理后, 加RIPA裂解液于冰上裂解30 min并用橡胶刮轻柔刮取细胞蛋白. 采用BCA蛋白定量试剂盒定量后调整每组上样蛋白总量至60 μ g, 加入蛋白上样缓冲液煮沸变性后行十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)凝胶电泳. 电泳结束后采用200 mA恒电流将蛋白转移至PVDF膜. 用质量分数为5%的脱脂牛奶室温封闭膜2 h. 依据各抗体说明书的要求加入一抗4 °C 孵育过夜, 洗膜缓冲液(tris-buffered saline with tween 20, TBST)震荡洗涤5 min \times 3次; 加入对应的二抗室温孵育2 h, TBST震荡洗涤10 min \times 3次, 将含蛋白的聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜转移至暗室中利用电化学发光法显影, 定影并冲洗胶片. 所得结果采用Image J行灰度半定量分析.

统计学处理 实验数据均录入SPSS 19.0软件中行统计学分析. 计量资料以均数 \pm 标准差(mean \pm SD)表示, 两组计量资料的统计学差异分析采用 t 检验, 多组计量资料间的统计学比较采用方差分析, $P<0.05$ 表示结果有统计学差异.

2 结果

2.1 Linc RNATPT1-AS1在肝癌中的表达 实时荧光定量PCR检测结果显示(图1A和B), 在12例肝癌患者中, 相较于配对癌旁正常组织, 肝癌组织中LncRNA TPT1-AS1的表达显著升高($P = 0.036$)(图1A); 在6次独立细胞实验中, 相较于人永生化肝细胞LO2, 肝癌细胞系Huh7、SMC-7721、HCCLM3和HepG2中LncRNA TPT1-AS1的表达均出现不同程度的升高(图1B).

2.2 转染siRNA-TPT1-AS1对肝癌细胞HepG2侵袭及迁移的影响 转染效率检测如图2A所示, 在6次独立细胞实验中, 转染siRNA-TPT1-AS1之后HepG2细胞中LncRNA TPT1-AS1的表达降低至对照组的 0.38 ± 0.05 倍, 可用于后续实验.

划痕实验的结果如图2B和D所示, 在6次独立细胞实验中, Ctrl、si-NC和siRNA-TPT1-AS1组的迁移距离(μ m)分别为: 156.2 ± 9.31 、 161.3 ± 10.03 和 122.6 ± 6.47 . 同样, Transwell实验的结果显示(图2C和E), siRNA-TPT1-AS1组HepG2细胞的侵袭率显著降低至 $(73.12\pm 5.99)\%$ ($P<0.05$). 结果显示siRNA-TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的侵袭及迁移.

2.3 转染siRNA-TPT1-AS1对HepG2细胞 EMT进程的影响 Western blot的检测结果显示如图3所示, 在6次独立细

胞实验中, 转染siRNA-TPT1-AS1之后, HepG2细胞中上皮细胞标记物E-cadherin的表达显著增加($P<0.05$), 而间质细胞标记物N-cadherin和vimentin的表达明显减少($P<0.05$). 结果显示siRNA-TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的EMT进程.

2.4 转染siRNA-TPT1-AS1对PI3K/AKT信号通路活性的影响 本实验检测了细胞中PI3K/AKT信号通路的活性, 结果显示(图4), 在6次独立细胞实验中, 相对于Ctrl组, 转染siRNA-TPT1-AS1后, MMP-9、p-PI3K/PI3K和p-AKT/AKT的蛋白表达水平显著降低($P<0.05$). 说明在HepG2细胞中转染siRNA-TPT1-AS1可明显抑制PI3K/AKT信号通路的活性以及下游MMP-9的表达.

3 讨论

研究表明, LncRNA TPT1-AS1作为一个新的长链非编码RNA, 在不同的肿瘤中可通过不同的方式影响肿瘤的发生发展; 但其在肝癌中的作用尚不清楚. 本实验通过实时荧光定量PCR初步检测了肝癌中LncRNA TPT1-AS1的表达, 结果显示在肝癌组织及肝癌细胞中, LncRNA TPT1-AS1的表达均出现不同程度的升高. 这一结果提示, LncRNA TPT1-AS1可能在肝癌进展中发挥重要作用.

既往研究显示^[9-11]LncRNA TPT1-AS1可影响胃癌、卵巢癌以及结直肠癌等恶性肿瘤的转移, 本实验通过下调LncRNA TPT1-AS1的表达, 系统的研究了其对肝癌细胞HepG2侵袭及迁移能力的影响, 并进一步探讨了其作用机制. 划痕实验和Transwell细胞侵袭实验的结果显示, 转染siRNA-TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的侵袭及迁移. 上皮-间充质转分化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)与肿瘤的侵袭迁移密切相关, 如LncRNA TUG1即是通过miR-137/AKT2轴影响肝癌细胞的EMT进程, 进而促进肝癌细胞的侵袭及迁移^[12]. LncRNA HEIH则可通过miR-119a-3p影响肝癌细胞Huh7和Hep3B中vimentin、MMP-2以及MMP-3的表达, 进而调控细胞的增殖及迁移^[13]. 我们的研究发现, 转染siRNA-TPT1-AS1之后, HepG2细胞中上皮细胞标志物(E-cadherin)表达升高而间质细胞标记物(N-cadherin, vimentin)的表达则明显下降, 提示下调LncRNA TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的EMT进程.

细胞中有多条信号通路可影响肿瘤细胞的EMT进程、迁移与侵袭, 其中PI3K/Akt信号通路是一条多功能的经典信号通路, PI3K激活后磷酸化并激活AKT, 将其定位在质膜中, 进而通过AKT将信号传递到下游不同的靶点, 影响肿瘤细胞的增殖凋亡、侵袭迁移以及分化等生理过程^[14,15]. Liu等^[16]的研究显示, 在结直肠癌中, PI3K/AKT信号通路被激活后可促进核转录因

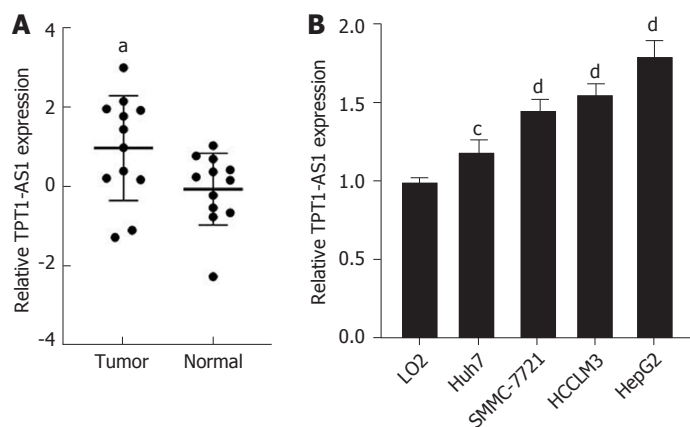


图 1 肝癌中lncRNA TPT1-AS1的表达情况. A: 肝癌组织和癌旁正常组织中lncRNA TPT1-AS1的表达水平, ^a $P < 0.05$ 与癌旁正常组织比较; B: 人永生化的肝细胞LO2和肝癌细胞系中lncRNA TPT1-AS1的表达水平, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ 与LO2细胞比较.

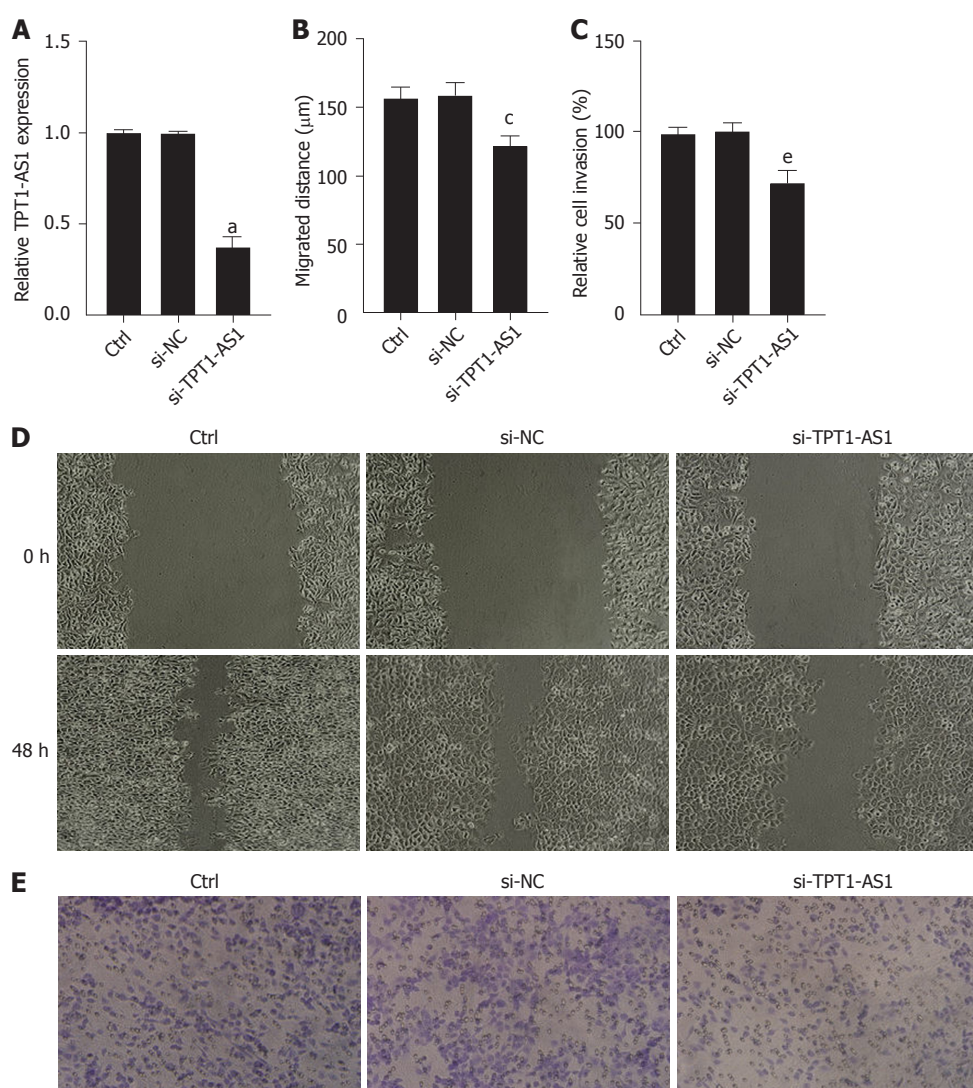


图 2 si-TPT1-AS1对HepG2细胞侵袭及迁移的影响. A: 转染效率检测, ^a $P < 0.05$ 与对照组A比较; B和D: 划痕实验检测HepG2细胞的迁移(放大倍数100×), ^c $P < 0.05$ 与对照组B比较; C和E: transwell实验检测HepG2细胞的侵袭(放大倍数200×), ^e $P < 0.05$ 与对照组C比较.

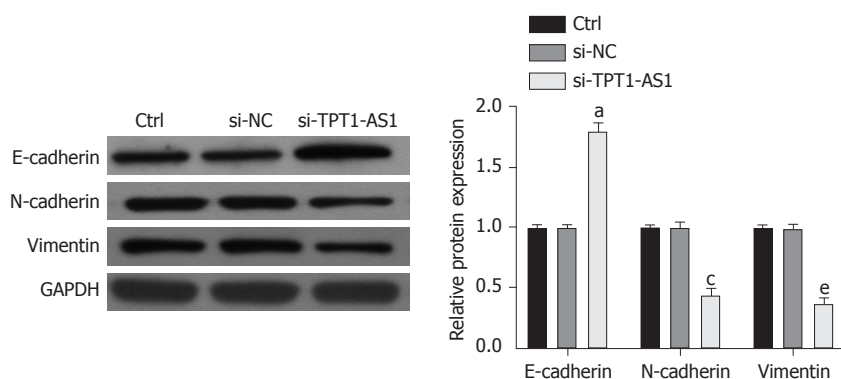


图 3 si-TPT1-AS1对HepG2细胞EMT进程的影响. ^a $P<0.05$, ^c $P<0.05$, ^e $P<0.05$ 与对照组比较.

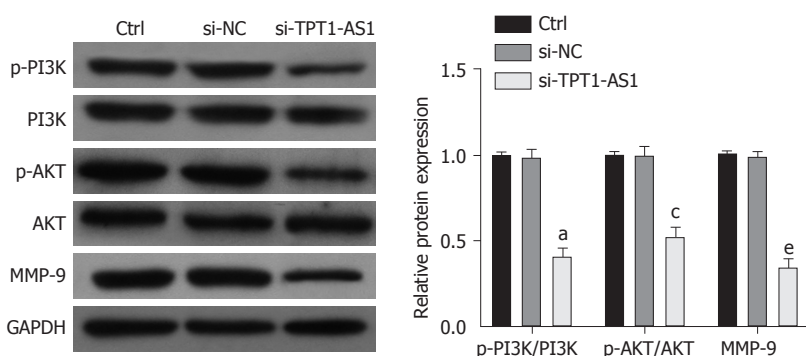


图 4 si-TPT1-AS1对HepG2细胞PI3K/AKT信号通路的影响. ^a $P<0.05$, ^c $P<0.05$, ^e $P<0.05$ 与对照组比较.

子 κ B(nuclear transcription factor kappa-B, NF- κ B)p65的活化及转位, 进而诱导EMT的发生. 在肝癌HepG2和HCCLM3细胞中, PI3K及AKT的磷酸化也是调控细胞EMT进程并影响细胞侵袭迁移的一个重要原因^[17]. 故而本研究检测了LncRNA TPT1-AS1对PI3K/AKT信号通路的影响, 结果发现, 转染siRNA-TPT1-AS1后, p-PI3K/PI3K和p-AKT/AKT的蛋白表达水平显著降低. Zhu等^[18]研究表明PI3K/AKT的抑制剂LY294002可抑制瘢痕疙瘩成纤维细胞中MMP-2与MMP-9的表达. Li等^[19]的研究也显示Bmi-1的过表达通过介导PTEN/PI3k/Akt和上调MMP-2和MMP-9的表达参与了肝细胞癌的转移和侵袭, 提示MMP-2与MMP-9可能受到PI3k/Akt信号通路调节. 本实验的检测结果也证实了在肝癌细胞HepG2中转染siRNA-TPT1-AS1可抑制MMP-9的表达. 以上结果提示下调LncRNA TPT1-AS1可能通过抑制HepG2细胞中PI3K/AKT信号通路的活性以及下游MMP-9的表达, 减少胞外基质的降解, 进而抑制细胞的EMT进程; 但是PI3K/AKT信号通路在其中的具体作用以及是否涉及其他信号通路和靶点还有待进一步深入的研究.

4 结论

综上所述, LncRNA TPT1-AS1在肝癌组织及细胞中高表

达, 敲减LncRNA TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的侵袭迁移, 其作用机制可能与抑制PI3K/AKT信号通路的活性以及下游MMP-9的表达, 进而影响细胞的EMT进程有关.

文章亮点

实验背景

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)在肝癌中可发挥抑癌或促癌作用, 其有望成为肝癌诊疗的新靶点.

实验动机

LncRNA TPT1-AS1在多种恶性肿瘤中异常高表达, 并可促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭. 但, TPT1-AS1对肝癌细胞迁移和侵袭的影响尚不清楚.

实验目标

研究TPT1-AS1对肝癌细胞迁移以及侵袭的影响, 以及潜在的机制.

实验方法

用RT-qPCR检测肝癌组织与配对的癌旁组织样本、肝癌细胞系以及肝细胞LO2中LncRNA TPT1-AS1的表达.

以HepG2细胞为研究对象, 敲除TPT1-AS1后, 检测细胞迁移、侵袭、EMT进程以及PI3K/AKT信号活性。

实验结果

分别与癌旁组织或肝细胞LO2比较, lncRNA TPT1-AS1在肝癌组织样本和肝癌细胞系中表达增高。敲除TPT1-AS1后, HepG2细胞的迁移、侵袭、EMT进程以及PI3K/AKT信号活性均降低。

实验结论

敲除TPT1-AS1能抑制肝癌细胞的迁移、侵袭、EMT进程以及PI3K/AKT信号活性。

展望前景

靶向抑制TPT1-AS1可能是潜在的肝癌的治疗策略。

5 参考文献

- 1 Renganathan A, Felley-Bosco E. Long Noncoding RNAs in Cancer and Therapeutic Potential. *Adv Exp Med Biol* 2017; 1008: 199-222 [PMID: 28815541 DOI: 10.1007/978-981-10-5203-3_7]
- 2 Peng WX, Koirala P, Mo YY. LncRNA-mediated regulation of cell signaling in cancer. *Oncogene* 2017; 36: 5661-5667 [PMID: 28604750 DOI: 10.1038/onc.2017.184]
- 3 Lim LJ, Jin Y, Yang H, Chung AYP, Goh BKP, Chow PKH, Chan CY, Blanks WK, Cheow PC, Lee SY, Lim TKH, Chong SS, Ooi LLP, Lee CG. Network of clinically-relevant lncRNAs-mRNAs associated with prognosis of hepatocellular carcinoma patients. *Sci Rep* 2020; 10: 11124 [PMID: 32636408 DOI: 10.1038/s41598-020-67742-8]
- 4 Liu Y, Sharma S, Watabe K. Roles of lncRNA in breast cancer. *Front Biosci (Schol Ed)* 2015; 7: 94-108 [PMID: 25961689]
- 5 Chen R, Li WX, Sun Y, Duan Y, Li Q, Zhang AX, Hu JL, Wang YM, Gao YD. Comprehensive Analysis of lncRNA and mRNA Expression Profiles in Lung Cancer. *Clin Lab* 2017; 63: 313-320 [PMID: 28182363 DOI: 10.7754/Clin.Lab.2016.160812]
- 6 Li Y, Ma D, Li T, Yin Y. Identification of functional long non-coding RNAs in gastric cancer by bioinformatics analysis. *Int J Exp Pathol* 2020; 101: 96-105 [PMID: 32608553 DOI: 10.1111/iep.12350]
- 7 Wu JH, Xu K, Liu JH, Du LL, Li XS, Su YM, Liu JC. LncRNA MT1JP inhibits the malignant progression of hepatocellular carcinoma through regulating AKT. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020; 24: 6647-6656 [PMID: 32633354 DOI: 10.26355/eurev_202006_21651]
- 8 Lin C, Xiang Y, Sheng J, Liu S, Cui M, Zhang X. Long non-coding RNA CRNDE promotes malignant progression of hepatocellular carcinoma through the miR-33a-5p/CDK6 axis. *J Physiol Biochem* 2020; 76: 469-481 [PMID: 32621257 DOI: 10.1007/s13105-020-00754-0]

- 9 Tang J, Huang F, Wang H, Cheng F, Pi Y, Zhao J, Li Z. Knockdown of TPT1-AS1 inhibits cell proliferation, cell cycle G1/S transition, and epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer. *Bosn J Basic Med Sci* 2021; 21: 39-46 [PMID: 32156253 DOI: 10.17305/bjbm.2020.4470]
- 10 Wu W, Gao H, Li X, Zhu Y, Peng S, Yu J, Zhan G, Wang J, Liu N, Guo X. LncRNA TPT1-AS1 promotes tumorigenesis and metastasis in epithelial ovarian cancer by inducing TPT1 expression. *Cancer Sci* 2019; 110: 1587-1598 [PMID: 30941821 DOI: 10.1111/cas.14009]
- 11 Zhang Y, Sun J, Qi Y, Wang Y, Ding Y, Wang K, Zhou Q, Wang J, Ma F, Zhang J, Guo B. Long non-coding RNA TPT1-AS1 promotes angiogenesis and metastasis of colorectal cancer through TPT1-AS1/NF90/VEGFA signaling pathway. *Aging (Albany NY)* 2020; 12: 6191-6205 [PMID: 32248186 DOI: 10.18632/aging.103016]
- 12 Li W, Ge J, Xie J, Yang J, Chen J, He T. LncRNA TUG1 Promotes Hepatocellular Carcinoma Migration and Invasion Via Targeting miR-137/AKT2 Axis. *Cancer Biother Radiopharm* 2020 [PMID: 32589479 DOI: 10.1089/cbr.2019.3297]
- 13 Wu MM, Shen WD, Zou CW, Chen HJ, Guo HM. LncRNA-HEIH suppresses hepatocellular carcinoma cell growth and metastasis by up-regulating miR-199a-3p. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020; 24: 6031-6038 [PMID: 32572917 DOI: 10.26355/eurev_202006_21497]
- 14 Xia P, Xu XY. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in cancer stem cells: from basic research to clinical application. *Am J Cancer Res* 2015; 5: 1602-1609 [PMID: 26175931]
- 15 Rahmani F, Ziaemehr A, Shahidsales S, Gharib M, Khazaei M, Ferns GA, Ryzhikov M, Avan A, Hassanian SM. Role of regulatory miRNAs of the PI3K/AKT/mTOR signaling in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *J Cell Physiol* 2020; 235: 4146-4152 [PMID: 31663122 DOI: 10.1002/jcp.29333]
- 16 Liu W, Wang S, Sun Q, Yang Z, Liu M, Tang H. DCLK1 promotes epithelial-mesenchymal transition via the PI3K/Akt/NF- κ B pathway in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2018; 142: 2068-2079 [PMID: 29277893 DOI: 10.1002/ijc.31232]
- 17 Sun C, Zhang Z, He P, Zhou Y, Xie X. Involvement of PI3K/Akt pathway in the inhibition of hepatocarcinoma cell invasion and metastasis induced by SASH1 through downregulating Shh-Gli1 signaling. *Int J Biochem Cell Biol* 2017; 89: 95-100 [PMID: 28600143 DOI: 10.1016/j.biocel.2017.06.006]
- 18 Zhu W, Wu X, Yang B, Yao X, Cui X, Xu P, Chen X. miR-188-5p regulates proliferation and invasion via PI3K/Akt/MMP-2/9 signaling in keloids. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2019; 51: 185-196 [PMID: 30668826 DOI: 10.1093/abbs/gmy165]
- 19 Li X, Yang Z, Song W, Zhou L, Li Q, Tao K, Zhou J, Wang X, Zheng Z, You N, Dou K, Li H. Overexpression of Bmi-1 contributes to the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma by increasing the expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9 and vascular endothelial growth factor via the PTEN/PI3K/Akt pathway. *Int J Oncol* 2013; 43: 793-802 [PMID: 23807724 DOI: 10.3892/ijo.2013.1992]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



IFOBT与肿瘤标志物、炎症指标联合检测对结直肠进展期腺瘤发生的预测价值

王 绪, 张竞宇, 郑忠青, 王 涛, 朴美玉, 刘 恒, 刘 静, 刘文天

王绪, 张竞宇, 郑忠青, 王涛, 朴美玉, 刘恒, 刘静, 刘文天, 天津医科大学总医院消化内科 天津市 300052

王绪, 医学硕士, 主要从事消化内科疾病诊治的相关研究。

基金项目: 天津市科委慢性病防治科技重大专项, NO. 17ZXMFSY00210.

作者贡献分布: 此课题由王绪、刘文天设计; 数据采集由王绪、张竞宇、刘恒、刘静完成; 研究操作由郑忠青、王涛、朴美玉、刘文天完成; 数据分析由王绪完成; 本论文写作由王绪、刘文天完成。

通讯作者: 刘文天, 教授, 主任医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化内科. Lwentian64@163.com

收稿日期: 2021-01-22

修回日期: 2021-02-02

接受日期: 2021-03-02

在线出版日期: 2021-04-08

Value of combined detection of IFOBT, tumor markers, and inflammatory markers in predicting occurrence of advanced colorectal adenoma

Xu Wang, Jing-Yu Zhang, Zhong-Qing Zheng, Tao Wang, Mei-Yu Piao, Heng Liu, Jing Liu, Wen-Tian Liu

Xu Wang, Jing-Yu Zhang, Zhong-Qing Zheng, Tao Wang, Mei-Yu Piao, Heng Liu, Jing Liu, Wen-Tian Liu, Department of Gastroenterology and Hepatology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Supported by: Tianjin Science and Technology Commission, Major Project of Prevention and Treatment of Chronic Disease, No. 17ZXMFSY00210.

Corresponding author: Wen-Tian Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology and Hepatology, Tianjin Medical University General Hospital, No. 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. Lwentian64@163.com

Received: 2021-01-22

Revised: 2021-02-02

Accepted: 2021-03-02

Published online: 2021-04-08

Abstract BACKGROUND

At present, there is a lack of effective, non-invasive screening tests for colorectal precancerous lesions. Identification of high-risk groups and multi-biomarker detection have become the trend of cancer and precancerous lesion screening. Inflammatory markers have been widely used in the diagnosis and prognosis of various tumors, but there are few studies on their diagnostic value in precancerous lesions.

AIM

To explore the predictive value of the general characteristics, neutrophil to lymphocyte ratio (NLR), platelet to lymphocyte ratio (PLR), CEA, CA199, and immunochemical fecal occult blood testing (IFOBT) in the occurrence of advanced colorectal adenoma.

METHODS

Two hundred and ninety-five cases of advanced colorectal adenomas confirmed by pathology and electronic colonoscopy at our hospital from 2014 to 2018 were retrospectively analyzed, and 448 cases of non-advanced adenomas in the same period were selected as a control group. The general clinical data of the patients, including basic characteristics (gender and age), living habits (smoking and drinking), and past history of disease (hypertension, coronary heart disease, diabetes), history of surgery (history of cholecystectomy or appendectomy), and laboratory examinations (NLR, PLR, CEA, CA199, and IFOBT) were collected. Measurement data were compared using *t*-test or Mann-Whitney *U* test,

and count data were compared using χ^2 test. Statistically significant variables were included in binary logistic regression analysis. ROC curve was drawn to evaluate the predictive value of related indexes in the occurrence of advanced colorectal adenoma.

RESULTS

Multivariate logistic regression analysis demonstrated that age (odds ratio [OR] = 1.047, 95% confidence interval [CI]: 1.028-1.066, $P = 0.000$), smoking (OR = 1.880, 95%CI: 1.250-2.826, $P = 0.002$), diabetes (OR = 2.073, 95%CI: 1.216-3.535, $P = 0.007$), previous cholecystectomy (OR = 9.206, 95%CI: 2.904-29.181, $P = 0.000$), IFOBT (OR = 7.681, 95%CI: 4.585-12.869, $P = 0.000$), CA199 (OR = 1.039, 95%CI: 1.018-1.059, $P = 0.000$), and NLR (OR = 1.706, 95%CI: 1.388-2.097, $P = 0.000$) were independent factors for advanced colorectal adenoma. ROC analysis showed that the areas under the ROC curves (AUCs) of IFOBT, CA199, and NLR in predicting advanced colorectal adenoma were 0.644 (95%CI: 0.602-0.686), 0.639 (95%CI: 0.598-0.679), and 0.645 (95%CI: 0.605-0.685), respectively. The optimal cutoff values for NLR and CA199 were 2.04 and 7.87 U/mL, respectively. The sensitivity and specificity of IFOBT, CA199, and NLR in predicting advanced colorectal adenoma were 34.6% and 94.2%, 53.9% and 66.1%, and 50.2% and 71.8%, respectively. The AUC of combination of the three biomarkers for the diagnosis of advanced adenoma was 0.752 (95%CI: 0.716-0.788), with a sensitivity of 52.9% and specificity of 82.8%. In the subgroup analysis, there were significant differences between the IFOBT(+) subgroup and IFOBT(-) subgroups with regard to tumor location ($P = 0.048$), diameter ($P = 0.000$), and differentiation ($P = 0.000$). There were also significant differences between the low NLR (< 2.04) subgroup and high NLR (≥ 2.04) subgroup with regard to gender ($P = 0.004$), tumor diameter ($P = 0.028$), and tumor differentiation ($P = 0.000$).

CONCLUSION

Advanced colorectal adenoma is associated with advanced age, smoking, diabetes, and previous cholecystectomy, and more attention should be paid to populations with these risk factors. IFOBT, NLR, and CA199 have appreciated diagnostic value for advanced colorectal adenoma, with the combination of all three having the highest diagnostic value.

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

Key Words: Advanced adenoma; Colorectal adenoma; Neutrophil/lymphocyte ratio; CA199; Immunochemical fecal occult blood testing

Citation: Wang X, Zhang JY, Zheng ZQ, Wang T, Piao MY, Liu H, Liu J, Liu WT. Value of combined detection of IFOBT, tumor markers, and inflammatory markers in predicting occurrence of

advanced colorectal adenoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(7): 347-355

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/347.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i7.347>

摘要

背景

目前临床缺乏对结直肠癌前病变有效的无创筛查手段, 识别高危人群和多指标联合检测已成为癌及癌前病变筛查的趋势. 多种炎症指标已广泛用于各种肿瘤的诊断及预后, 而对癌前病变诊断价值的研究较少.

目的

探讨粪便免疫潜血实验(immunochemical fecal occult blood testing, IFOBT), 肿瘤标志物(CEA、CA199), 炎症指标包括中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophil/lymphocyte ratio, NLR)、血小板/淋巴细胞比值(platelet/lymphocyte ratio, PLR)及一般临床特征对结肠进展期腺瘤息肉发生的预测价值.

方法

回顾性分析我院2014-2018年行电子结肠镜检查并经病理学证实的295例结肠进展期腺瘤病例作为观察组, 选择同期448例非进展期腺瘤病例作为对照组, 收集患者的一般临床资料包括基本特征(性别、年龄)、生活习惯(吸烟史、饮酒史)、既往史(高血压史、冠心病史、糖尿病史)、手术史(胆囊或阑尾切除史); 实验室检查(NLR、PLR、CEA、CA199、IFOBT); 进行单因素差异分析, 将有意义的结果纳入二元logistic回归分析, 绘制ROC曲线, 评估相关指标对结肠进展期腺瘤发生的预测价值.

结果

Logistic回归分析显示: 年龄(OR = 1.047, 95%CI: 1.028-1.066, $P = 0.000$)、吸烟(OR = 1.880, 95%CI: 1.250-2.826, $P = 0.002$)、糖尿病(OR = 2.073, 95%CI: 1.216-3.535, $P = 0.007$)、既往胆囊切除(OR = 9.206, 95%CI: 2.904-29.181, $P = 0.000$)、IFOBT (OR = 7.681, 95%CI: 4.585-12.869, $P = 0.000$)、CA199 (OR = 1.039, 95%CI: 1.018-1.059, $P = 0.000$)、NLR (OR = 1.706, 95%CI: 1.388-2.097, $P = 0.000$)与进展期腺瘤的发生独立相关. 对于预测进展期腺瘤的发生, IFOBT的灵敏度为34.6%, 特异度为94.2%, AUC为0.644, 95%CI: 0.602-0.686, CA199的最佳截断点为7.87 U/mL, 灵敏度为53.9%, 特异度为66.1%, AUC为0.639, 95%CI: 0.598-0.679, NLR的最佳截断点为2.04, 灵敏度为50.2%, 特异度为71.8%, AUC为0.645, 95%CI: 0.605-0.685, 当三者联合检测时其灵敏度为52.9%, 特异度为82.8%, AUC 95%CI为0.752 (0.716-0.788), 进展期腺瘤亚组分析中, IFOBT(-)和 IFOBT(+)亚组之间的腺瘤位置($P = 0.048$)、腺瘤直径($P = 0.000$)、分化级

别($P = 0.000$)差异有统计学意义, 低NLR(<2.04)和高NLR (≥ 2.04)亚组之间的性别($P = 0.004$)、腺瘤直径($P = 0.028$)、分化级别($P = 0.000$)差异有统计学意义。

结论

高龄、吸烟、糖尿病、既往胆囊切除人群更易发生结直肠进展期腺瘤, 临床需对此类人群提高重视, IFOBT、NLR、CA199对进展期腺瘤的发生具有诊断意义, 三者联合检测时其诊断效能最佳。

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

关键词: 进展期腺瘤; 结直肠腺瘤; 中性粒细胞/淋巴细胞比值; CA199; 粪便免疫潜血实验; 预测价值

核心提要: 年龄、吸烟、糖尿病、既往胆囊切除是结直肠进展期腺瘤发生的独立危险因素, 中性粒细胞/淋巴细胞比值、肿瘤标志物、粪便免疫潜血实验对结直肠进展期腺瘤具有诊断价值, 尤其三者联合检测时诊断效果最佳, 本研究结果对结直肠进展期腺瘤的无创筛查方案建立有一定的指导意义。

文献来源: 王绪, 张竞宇, 郑忠青, 王涛, 朴美玉, 刘恒, 刘静, 刘文天. IFOBT与肿瘤标志物、炎症指标联合检测对结直肠进展期腺瘤发生的预测价值. 世界华人消化杂志 2021; 29(7): 347–355

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/347.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i7.347>

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球第三大最常见的肿瘤, 同时也是第四大癌症死亡原因, 仅2012年全球就有120万的新发病例和70万的死亡病例^[1], 结直肠腺瘤被认为是CRC的前体, 在肠道中多以息肉的形式存在, 目前认为约80%的CRC是从结直肠腺瘤转变而来, “正常粘膜-腺瘤-癌”路径被认为是散发CRC的主要发展演变过程^[2], 结直肠腺瘤的发展为浸润性癌的年转化率为0.25%, 而进展期腺瘤最高可达5.7%^[3,4], 对平均风险人群的CRC筛查主要依赖于腺瘤, 特别是进展期腺瘤的检测, 研究表明结肠镜可以发现和切除癌前病变, 有效预防90%的CRC^[5,6], 但是对平均风险人群实现大规模结肠镜筛查会大大增加医疗资源的压力, 因此建立高效且节约医疗资源的进展期腺瘤筛查体系异常重要, 虽然粪便免疫潜血实验(immunochemical fecal occult blood testing, IFOBT)对CRC有较佳的灵敏度和特异度, 但对腺瘤的敏感性较低^[7], CEA、CA199为CRC相关的常见研究指标^[8,9], 但少有关于CEA、CA199与结直肠进展期腺瘤的研究, 而外周血中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophil to

lymphocyte ratio, NLR)、血小板/淋巴细胞比值(platelet to lymphocyte ratio, PLR)作为炎症观察指标, 可用来观察机体抗肿瘤与促肿瘤之间的动态平衡^[10], 本文旨在探讨临床一般特征及NLR、PLR、CEA、CA199、IFOBT与进展期腺瘤发生的相关性, 为进展期腺瘤的非侵入筛查提供有效指导。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象: 均为2014-2018年于我院行结肠镜检查并经病理学确诊的进展期腺瘤病例。其中进展期腺瘤^[3]为满足下列1条或多条定义的腺瘤: (1)腺瘤直径 ≥ 10 mm; (2)含有绒毛成分; (3)高级别上皮内瘤变。非进展腺瘤定义同时满足以下条件的腺瘤: (1)直径 <10 mm; (2)不含有绒毛成分; (3)无高级别上皮内瘤变。排除标准: (1)既往诊断为CRC或其他癌者; (2)既往因结直肠息肉、腺瘤及其他原因行结直肠手术者; (3)既往有家族性腺瘤性息肉病或炎症肠病史者; (4)因梗阻或无法耐受导致肠镜未完成者; (5)肠道准备不佳而导致肠镜视野不清晰者; 研究共纳入295例进展期腺瘤作为观察组, 另选取同期448例非进展期腺瘤作为对照组。

1.1.2 一般特征: 收集患者的一般资料, 包括性别、年龄、吸烟史(阳性定义为每天至少一支, 持续时间 ≥ 6 mo)、饮酒史(根据白酒或啤酒不同的酒精度数换算, 阳性定义为平均每天酒精摄入量 ≥ 10 mL, 持续时间 ≥ 6 mo)、既往史(至少在二级医院以上确诊的糖尿病、高血压、冠心病等)、阑尾及胆囊切除史(既往因阑尾炎或者胆囊结石等疾病行阑尾或胆囊切除术)。

1.2 方法 NLR、PLR、IFOBT、CEA、CA199: 血常规检查: 血液标本均选用EDTA-K2抗凝真空管采集, 均通过自动血液分析仪测量得出中性粒细胞计数、淋巴细胞计数及血小板计数, 计算NLR、PLR; IFOBT: 采用胶体金法, 患者留取一次清晨自然便样本进行IFOBT, IFOBT检测试剂均购自北京万华普曼公司, 由消化内科实验室按产品说明书进行检测; 肿瘤标志物(CEA、CA199): 检测均采用ARCHITECTi2000全自动发光仪和配套的试剂盒进行, 由美国雅培公司生产, 其中检测方法采用化学发光微粒子免疫, 按说明书进行操作。

统计学处理 采用SPSS 23软件对数据进行统计学分析, 其中符合正态分布的计量资料采用mean \pm SD表示, 组间比较采用独立样本 t 检验, 偏态分布的资料采用 M (P25, P75)表示, 组间比较采用Mann-Whitney U 检验, 计数资料采用率(%)表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 多因素分析采用二元logistic回归分析, 绘制进展期腺瘤的受试者工作特征(ROC)曲线, 计算灵敏度、特异度

和曲线下面积(AUC), 评价各项指标对进展期腺瘤的诊断价值, 以 $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 结直肠进展期腺瘤单因素分析 单因素分析显示观察组饮酒者、阑尾切除者占比与对照组相比差异无统计学意义(均 $P > 0.05$), 另外观察组男性、吸烟者、糖尿病患者、高血压者、冠心病者、既往胆囊切除者和IFOBT阳性人数占比显著高于对照组(均 $P < 0.05$)。观察组年龄、CEA、CA199、NLR水平显著高于对照组(均 $P < 0.05$), 而两组的PLR水平无显著差异($P > 0.05$), 具体见表1。

2.2 结直肠进展期腺瘤Logistic回归分析 把性别(女性 = 0、男性 = 1)、年龄、吸烟(吸烟 = 1、不吸烟 = 0)、糖尿病(糖尿病 = 1、无糖尿病 = 0)、高血压(高血压 = 1、无高血压 = 0)、冠心病(冠心病 = 1、无冠心病 = 0)、胆囊切除史(既往胆囊切除 = 1、无胆囊切除史 = 0)、IFOBT((+) = 1、(-) = 0)、CEA、CA199、NLR等因素纳入二元Logistic回归分析, 采用强迫进入法, 分析结果显示, 年龄(OR = 1.047, 95%CI: 1.028-1.066, $P = 0.000$)、吸烟(OR = 1.880, 95%CI: 1.250-2.826, $P = 0.002$)、糖尿病(OR = 2.073 95%CI: 1.216-3.535, $P = 0.007$)、既往胆囊切除(OR = 9.206, 95%CI: 2.904-29.181, $P = 0.000$)、IFOBT(OR = 7.681, 95%CI: 4.585-12.869, $P = 0.000$)、CA199(OR = 1.039, 95%CI: 1.018-1.059, $P = 0.000$)、NLR(OR = 1.706, 95%CI: 1.388-2.097, $P = 0.000$)与进展期腺瘤的发生独立相关, 具体见表2。

2.3 IFOBT、CA199、NLR单独及联合预测进展期腺瘤发生的ROC曲线分析 ROC曲线分析显示, IFOBT、CA199、NLR对预测结直肠进展期腺瘤发生的灵敏度分别为: 34.6%、53.9%、50.2%, 特异度分别为: 94.2%、66.1%、71.8%, 其ROC曲线下面积(AUC) 95%CI分别为: 0.644 (0.602-0.686)、0.639 (0.598-0.679)、0.645 (0.605-0.685), NLR的最佳截断点为2.04; CA199的最佳截断点为7.87 U/mL, 将IFOBT、CA199、NLR纳入Logistic回归分析评估三者联合检测的诊断效能, 当三者联合检测时其AUC (95%CI)为0.752 (0.716-0.788), 灵敏度为52.9%, 特异度为82.8%, 具体见图1, 表3。

2.4 不同临床特征进展期腺瘤中IFOBT、CA199、NLR水平的比较 根据IFOBT结果和CA199、NLR的最佳截断点可将结直肠进展期腺瘤分为IFOBT(-)亚组、IFOBT(+)亚组, 高CA199亚组(≥ 7.87 U/mL)、低CA199亚组(< 7.87 U/mL), 高NLR亚组(≥ 2.04)、低NLR亚组(< 2.04), IFOBT(-)和IFOBT(+)亚组之间的腺瘤位置($P = 0.048$)、腺瘤直径($P = 0.000$)、分化级别($P = 0.000$)

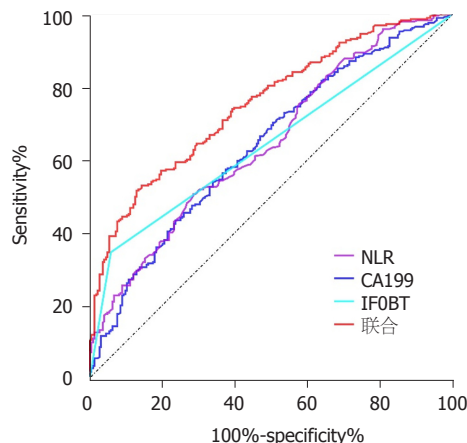


图1 中性粒细胞/淋巴细胞比值、CA199、粪便免疫潜血实验单独及联合预测结直肠进展期腺瘤发生的ROC曲线。

差异有统计学意义, 低CA199和高CA199亚组之间年龄、性别、腺瘤位置、腺瘤直径、病理类型、分化级别均无显著差异(均 $P > 0.05$), 低NLR和高NLR亚组之间的性别($P = 0.004$)、腺瘤直径($P = 0.028$)、分化级别($P = 0.000$)差异有统计学意义, 见表4。

3 讨论

CRC在我国为最常见的恶性肿瘤之一, 死亡率较高, 临床上CRC发现时多为晚期, 因此对CRC前病变的筛查就显得极为重要, 由于大多数CRC均由结直肠腺瘤演变而来, 尤其是进展期腺瘤的癌变率远高于非进展期, 所以临床对进展期腺瘤尤为重视, 目前多数文献建议从50岁开始行结肠镜检查, 平均每10年检查一次可以有效预防CRC^[11], 年龄是目前公认的进展期腺瘤危险因素之一, 且有研究^[12,13]显示进展期腺瘤发病年龄有逐渐年轻化的趋势, 考虑与年轻人群的生活饮食结构变化相关。吸烟和饮酒是许多疾病的危险因素, 本研究观察到吸烟史进展期腺瘤的独立危险因素, 考虑吸烟可通过氧化损伤造成DNA的错误编码, 促进腺瘤的发生^[14], 关于饮酒对进展期腺瘤的影响目前存在争议, 有研究^[15,16]认为饮酒可显著增加进展期腺瘤的发病风险, 且饮酒时间越长, 风险越高, 本研究未观察到两组之间饮酒史存在明显差异, 考虑本研究未对具体饮酒量分层, 因此关于饮酒与进展期腺瘤之间的关系尚需更加详细分层研究。

国外研究^[17]同样显示血糖控制不良人群的进展期腺瘤发病率明显增加, 本研究显示糖尿病是进展期腺瘤的独立危险因素, 与国外研究基本相符, 关于胆囊切除与进展期腺瘤之间关系鲜有文献报道, 本研究显示既往胆囊切除与进展期腺瘤的发生显著相关, 目前大部分研究为胆囊切除与结肠癌之间的关系, 胆囊切除与CRC之间的机制尚不十分明确, 主要认为胆囊切除后胆汁的肝肠

表 1 结直肠进展期腺瘤单因素比较

| 项目 | 观察组 <i>n</i> = 295 | 对照组 <i>n</i> = 448 | 统计值 | <i>P</i> |
|--------------|-----------------------|-----------------------|---------|----------|
| 性别 | | | | |
| 男 | 175 (59.3%) | 230 (51.3%) | 4.571 | 0.033 |
| 女 | 120 (40.7%) | 218 (48.7%) | | |
| 年龄(岁) | 62.5 ± 10.8 | 56.7 ± 11.7 | 6.923 | 0.000 |
| 吸烟史 | | | | |
| 有 | 104 (35.3%) | 106 (23.7%) | 11.792 | 0.001 |
| 无 | 191 (64.7%) | 342 (76.3%) | | |
| 饮酒史 | | | | |
| 有 | 84 (28.5%) | 132 (29.5%) | 0.084 | 0.771 |
| 无 | 211 (71.5%) | 316 (70.5%) | | |
| 糖尿病 | | | | |
| 有 | 54 (18.3%) | 36 (8.0%) | 17.621 | 0.000 |
| 无 | 241 (81.7%) | 412 (92.0%) | | |
| 高血压 | | | | |
| 有 | 121 (41.0%) | 122 (27.2%) | 15.357 | 0.000 |
| 无 | 174 (59.0%) | 326 (72.8%) | | |
| 冠心病 | | | | |
| 有 | 41 (13.9%) | 34 (7.6%) | 7.801 | 0.005 |
| 无 | 254 (86.1%) | 414 (92.4%) | | |
| 阑尾切除史 | | | | |
| 有 | 29 (9.8%) | 53 (11.8%) | 0.725 | 0.395 |
| 无 | 266 (90.2%) | 395 (88.2%) | | |
| 胆囊切除史 | | | | |
| 有 | 19 (6.4%) | 4 (0.9%) | 18.250 | 0.000 |
| 无 | 276 (93.6%) | 444 (99.1%) | | |
| IFOBT | | | | |
| (+) | 102 (34.6%) | 26 (5.8%) | 109.150 | 0.000 |
| (-) | 193 (65.4%) | 422 (94.2%) | | |
| CEA (ng/mL) | 2.40 (1.52, 3.64) | 2.05 (1.38, 3.07) | 9.301 | 0.003 |
| CA199 (U/mL) | 8.17 (4.84, 14.72) | 5.74 (3.45, 9.89) | 41.077 | 0.000 |
| NLR | 2.46 ± 1.51 | 1.77 ± 0.76 | 7.160 | 0.000 |
| PLR | 125.37 ± 53.61 | 119.51 ± 38.80 | 1.701 | 0.090 |

IFOBT: 粪便免疫潜血实验; NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值; PLR: 血小板/淋巴细胞比值.

循环增加以及肝脏合成加快, 大量胆汁酸进入肠道, 初级胆汁酸脱羟化转变为次级胆酸, 次级胆酸作为一种致癌因子反复长期作用于肠粘膜最终导致CRC的发生. 关于胆囊切除与进展期腺瘤之间的关系尚需更深入的研究来明确.

粪便潜血实验及肿瘤标志物常用于CRC的早期诊断, 其中便潜血实验有取材方便, 操作简单、快速得出结果等优点, 但是化学法粪便潜血实验因为受到食物、药物、以及患者依从性问题所以假阳性率较高^[18], 而IFOBT的原理在于检测试剂中人特异性Hb抗体可与粪便中的Hb结合, 非人Hb以及食物中的过氧化物酶无法

与之结合, 从而大大降低了潜血实验的假阳性率, 本研究显示IFOBT对诊断进展期腺瘤的敏感度为34.6%, 而特异度为94.2%, 与国外研究^[19,20]基本相符, 而单独的IFOBT对进展期腺瘤的诊断的灵敏度不佳, 常需要联合指标检测提高灵敏度, CEA、CA199作为CRC常用的辅助诊断指标, 与结直肠肿瘤的存在与严重程度密切相关^[21], 临床上多为关于CEA、CA199与CRC的研究, 而关于CEA和CA199与进展期腺瘤的研究鲜有报道, 本研究显示CEA与进展期腺瘤的发生无明显相关性, 而进展期腺瘤的CA199水平显著高于对照组, CA199作为肿瘤判断的广谱标志物, 其广泛分布于多种恶性肿瘤组织, 如

表 2 结直肠进展期腺瘤Logistic回归分析

| 项目 | B值 | SE | Wald | P | OR | 95%CI |
|-------|--------|-------|--------|-------|-------|--------------|
| 性别 | 0.281 | 0.194 | 2.103 | 0.147 | 1.324 | 0.096–1.936 |
| 年龄 | 0.045 | 0.009 | 23.805 | 0.000 | 1.047 | 1.028–1.066 |
| 吸烟史 | 0.631 | 0.208 | 9.196 | 0.002 | 1.880 | 1.250–2.826 |
| 糖尿病 | 0.729 | 0.272 | 7.170 | 0.007 | 2.073 | 1.216–3.535 |
| 高血压 | 0.304 | 0.197 | 2.387 | 0.122 | 1.355 | 0.922–1.992 |
| 冠心病 | 0.301 | 0.299 | 1.014 | 0.314 | 1.352 | 0.752–2.431 |
| 胆囊切除 | 2.220 | 0.589 | 14.224 | 0.000 | 9.206 | 2.904–29.181 |
| IFOBT | 2.039 | 0.263 | 59.958 | 0.000 | 7.681 | 4.585–12.869 |
| CEA | 0.011 | 0.048 | 0.056 | 0.813 | 1.011 | 0.920–1.112 |
| CA199 | 0.038 | 0.010 | 14.268 | 0.000 | 1.039 | 1.018–1.059 |
| NLR | -0.002 | 0.002 | 1.017 | 0.000 | 1.706 | 1.388–2.097 |

B值: 回归系数; SE: 标准误; Wald: 瓦尔德 χ^2 值; IFOBT: 粪便免疫潜血实验; NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值。

果细胞有恶性转化趋势,糖基化酶会受到激活作用,糖基结构发生改变,患者血液中CA199表达水平升高,临床上通常认为CA199对消化道肿瘤的预后有较佳的提示意义,而对消化道肿瘤诊断的灵敏度不佳。本研究发现虽然进展期腺瘤的CA199水平多数在正常值(<37 U/mL)范围之内,但其平均水平显著高于对照组,当CA199的最佳截断点为7.87 U/mL时,对进展期腺瘤诊断灵敏度为53.9%,特异度为66.1%,提示CA199对进展期腺瘤具有一定的诊断意义。

NLR和PLR作为一种全身炎症反应标志物,在多种肿瘤具有预后价值^[22,23],目前已有许多研究指出NLR、PLR与多种肿瘤的预后相关,因此NLR、PLR水平可能对进展期腺瘤的发生有一定的提示作用,Zhou^[24]等人研究指出,在健康人、腺瘤组、CRC组中其NLR水平依次递增,对于腺瘤性息肉,NLR的最佳截断点为2.14时,其敏感性和特异性水平分别为36.7%和80.9%,结果提示NLR与结直肠腺瘤的发生密切相关。炎症反应与肿瘤的发生、发展以及转移密切相关,炎症细胞可释放炎症介质、上调各种细胞因子、改变肿瘤微环境等因素,肿瘤局部的炎症反应会对肿瘤细胞增殖有促进作用。另一方面,机体在炎症反应时可释放一系列能导致机体免疫功能紊乱以及肿瘤免疫逃避的抑制性的免疫介质,NLR反映了机体炎症与肿瘤免疫状态,该指标容易获取、操作简便,是肿瘤早期筛查的热点,目前关于NLR联合肿瘤标志物筛查进展期腺瘤的研究较少,本研究发现当NLR、CA199取最佳截断点和IFOBT三者联合预测进展期腺瘤时可大大提高其诊断效能。

4 结论

综上所述,本研究中分析了一般临床特征对结直肠进

展期腺瘤的发生影响及NLR、PLR、IFOBT、CEA、CA199对进展期腺瘤的诊断意义,结果显示:(1)年龄、吸烟、糖尿病、既往胆囊切除是进展期腺瘤发生的独立危险因素;(2)单一指标检测时,NLR、CA199最佳截断点分别为2.04和7.87 U/mL时对进展期腺瘤的诊断效果最佳,其灵敏度分别为50.2%、53.9%,特异度分别为71.8%、66.1%,而IFOBT对进展期腺瘤诊断的特异度较佳而灵敏度较差;(3)采用NLR、CA199、IFOBT联合检测时可提高其对进展期腺瘤的诊断效能;(4)IFOBT结果受腺瘤直径和分化级别影响,而NLR水平受性别、腺瘤直径、分化级别的影响。

结直肠进展期腺瘤的发生是多因素参与、多阶段发展的结果,临床需对高风险人群给予足够重视,争取采取对腺瘤-癌途径的早期干预,考虑结肠镜大面积筛查成本高且人群依从性差,本研究发现IFOBT、NLR、CA199作为简便、易行、快速、经济的非侵入方法可为进展期腺瘤的筛查提供有效指导,同样作为非侵入筛查手段,炎症标志物、肿瘤标志物、粪便免疫潜血实验之间可以互相补充,提高对结直肠进展期腺瘤诊断的敏感度,本研究为单中心研究、且样本量有待丰富,因此本研究结果需更多大样本、多中心研究来更加标准化各个指标的最佳截断点,为临床提供更加科学的诊断依据。

文章亮点

实验背景

目前临床缺乏对进展期腺瘤有效的无创筛查手段,而实现进展期腺瘤早期检测及干预又极为重要,识别高危人群和多指标联合检测成为癌及癌前病变筛查的趋势,既往研究指出粪便免疫潜血实验(immunochemical fecal

表 3 粪便免疫潜血实验、CA199、中性粒细胞/淋巴细胞比值、血小板/淋巴细胞比值单指标及联合检测对结直肠癌进展期腺瘤的诊断价值

| 项目 | 灵敏度(%) | 特异度(%) | AUC | 95%CI | P |
|-------|--------|--------|-------|-------------|-------|
| IFOBT | 34.6 | 94.2 | 0.644 | 0.602–0.686 | 0.000 |
| CA199 | 53.9 | 66.1 | 0.639 | 0.598–0.679 | 0.000 |
| NLR | 50.2 | 71.8 | 0.645 | 0.605–0.685 | 0.000 |
| 联合 | 52.9 | 82.8 | 0.752 | 0.716–0.788 | 0.000 |

IFOBT、CA199、NLR三者联合; IFOBT: 粪便免疫潜血实验; NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值。

表 4 不同临床特征进展期腺瘤中粪便免疫潜血实验、CA199、中性粒细胞/淋巴细胞比值水平的比较

| 项目 | 例数 | IFOBT(–) (n = 193) | IFOBT(+) (n = 102) | P | 低CA199 (n = 136) | 高CA199 (n = 159) | P | 低NLR (n = 147) | 高NLR (n = 148) | P |
|----------|-----|-----------------------|-----------------------|-------|---------------------|---------------------|-------|-------------------|-------------------|-------|
| 年龄(岁) | | | | 0.247 | | | 0.446 | | | 0.101 |
| <50 | 32 | 17 | 15 | | 17 | 15 | | 12 | 20 | |
| 50–59 | 71 | 45 | 26 | | 36 | 35 | | 37 | 34 | |
| 60–69 | 118 | 77 | 41 | | 54 | 64 | | 67 | 51 | |
| ≥70 | 74 | 54 | 20 | | 29 | 45 | | 31 | 43 | |
| 性别 | | | | 0.384 | | | 0.581 | | | 0.004 |
| 女 | 120 | 82 | 38 | | 53 | 67 | | 72 | 48 | |
| 男 | 175 | 111 | 64 | | 83 | 92 | | 75 | 100 | |
| 腺瘤位置 | | | | 0.048 | | | 0.132 | | | 0.503 |
| 近端结肠 | 91 | 67 | 24 | | 36 | 55 | | 48 | 43 | |
| 远端结肠 | 204 | 126 | 78 | | 100 | 104 | | 99 | 105 | |
| 腺瘤直径 | | | | 0.000 | | | 0.220 | | | 0.028 |
| <10 mm | 48 | 42 | 6 | | 25 | 23 | | 28 | 20 | |
| 10–19 mm | 143 | 99 | 44 | | 70 | 73 | | 78 | 65 | |
| ≥20 mm | 104 | 52 | 52 | | 41 | 63 | | 41 | 63 | |
| 病理类型 | | | | 0.355 | | | 0.980 | | | 0.078 |
| TA | 100 | 69 | 31 | | 46 | 54 | | 57 | 43 | |
| TVA+VA | 195 | 124 | 71 | | 90 | 105 | | 90 | 105 | |
| 分化级别 | | | | 0.000 | | | 0.863 | | | 0.000 |
| 低级别 | 214 | 153 | 61 | | 98 | 116 | | 111 | 93 | |
| 高级别 | 81 | 40 | 41 | | 38 | 43 | | 36 | 55 | |

TA: 管状腺瘤; TVA: 管状绒毛状腺瘤; VA: 绒毛状腺瘤; IFOBT: 粪便免疫潜血实验; NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值。

occult blood testing, IFOBT)和肿瘤标志物对进展期腺瘤诊断价值不佳, 炎症指标如中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)、血小板/淋巴细胞比值(platelet to lymphocyte ratio, PLR)已被证实与多种肿瘤的诊断及预后相关, 而关于炎症指标对癌前病变的诊断价值研究较少。

实验目标

本文在既往研究基础上选取进展期腺瘤患者IFOBT、CEA、CA199、NLR、PLR五种指标并评估患者的一般临床特征, 旨在评估各指标对进展期腺瘤的诊断价值及识别高风险人群, 为建立合理有效的无创筛查方案提供

参考。

实验方法

通过纳入排除标准回顾性分析了295例进展期腺瘤患者数据, 通过t检验、Mann-Whitney U检验、卡方检验和Logistic回归分析评估了进展期腺瘤的独立影响因素, 通过受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线确定了IFOBT、CA199、NLR对进展期腺瘤的诊断价值。

实验结果

本研究发现年龄、吸烟、糖尿病、既往胆囊切除是进

展期腺瘤的独立危险因素, IFOBT、CA199、NLR对进展期腺瘤均有一定诊断价值, 而CEA、PLR对进展期腺瘤无诊断意义, 当IFOBT、CA199、NLR三者联合检测时可显著提高对进展期腺瘤的诊断效能。分析另外发现 IFOBT与腺瘤的位置、直径、分化级别相关, 而NLR与患者性别、腺瘤直径、分化级别相关。

实验结论

高龄、吸烟、糖尿病、既往胆囊切除人群发生进展期腺瘤的风险更高, IFOBT、CA199、NLR联合检测时对进展期腺瘤具有良好的诊断价值, 本研究结果有望为结直肠癌前病变无创筛查方案建立提供有效参考。

展望前景

本研究为单中心研究, 样本量有限, 需多中心、大样本研究来验证本研究结果, 未来需对进展期腺瘤患者进行随访, 监测指标的动态变化并评估相关指标对进展期腺瘤的复发及预后影响。

5 参考文献

- 1 Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut* 2017; 66: 683-691 [PMID: 26818619 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310912]
- 2 Mang T. [Colorectal cancer: role of imaging in screening]. *Radiologe* 2019; 59: 23-34 [PMID: 30564957 DOI: 10.1007/s00117-018-0479-0]
- 3 Winawer SJ, Zauber AG, Fletcher RH, Stillman JS, O'Brien MJ, Levin B, Smith RA, Lieberman DA, Burt RW, Levin TR, Bond JH, Brooks D, Byers T, Hyman N, Kirk L, Thorson A, Simmang C, Johnson D, Rex DK. Guidelines for colonoscopy surveillance after polypectomy: a consensus update by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer and the American Cancer Society. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 143-59; quiz 184-5 [PMID: 16737947 DOI: 10.3322/canjclin.56.3.143]
- 4 Eide TJ. Risk of colorectal cancer in adenoma-bearing individuals within a defined population. *Int J Cancer* 1986; 38: 173-176 [PMID: 3733258 DOI: 10.1002/ijc.2910380205]
- 5 Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Sternberg SS, Waye JD, Schapiro M, Bond JH, Panish JF. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1993; 329: 1977-1981 [PMID: 8247072 DOI: 10.1056/NEJM199312303292701]
- 6 Winawer SJ, Zauber AG, O'Brien MJ, Ho MN, Gottlieb L, Sternberg SS, Waye JD, Bond J, Schapiro M, Stewart ET. Randomized comparison of surveillance intervals after colonoscopic removal of newly diagnosed adenomatous polyps. The National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1993; 328: 901-906 [PMID: 8446136 DOI: 10.1056/NEJM199304013281301]
- 7 Allison JE, Sakoda LC, Levin TR, Tucker JP, Tekawa IS, Cuff T, Pauly MP, Shlager L, Palitz AM, Zhao WK, Schwartz JS, Ransohoff DF, Selby JV. Screening for colorectal neoplasms with new fecal occult blood tests: update on performance characteristics. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 1462-1470 [PMID: 17895475 DOI: 10.1093/jnci/djm150]
- 8 黄莹, 邓胜明, 张玮. 18F-FDG PET/CT及血清CEA在结直肠癌患者术后监测中的价值. *中国血液流变学杂志* 2017; 27: 459-463 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-881X.2017.04.030]

- 9 许昕, 常金, 张国庆, 刘宝军, 张艳英, 张本华. Kaplan-Meier生存曲线分析CEA、CA19-9在结直肠癌中的临床价值. *泰山医学院学报* 2017; 38: 865-867 [DOI: 10.3969/j.issn.1004-7115.2017.08.009]
- 10 彭维忠. 外周血NLR或PLR与结直肠癌预后相关性研究进展. *中国免疫学杂志* 2017; 33: 1902-1906 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2017.12.033]
- 11 Winawer SJ. Screening sigmoidoscopy: can the road to colonoscopy be less traveled? *Ann Intern Med* 2003; 139: 1034-1035 [PMID: 14678923 DOI: 10.7326/0003-4819-139-12-200312160-00013]
- 12 Lee SE, Jo HB, Kwack WG, Jeong YJ, Yoon YJ, Kang HW. Characteristics of and risk factors for colorectal neoplasms in young adults in a screening population. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 2981-2992 [PMID: 26973394 DOI: 10.3748/wjg.v22.i10.2981]
- 13 Karsenti D, Tharsis G, Burtin P, Venezia F, Tordjman G, Gillet A, Samama J, Nahon-Uzan K, Cattani P, Cavicchi M. Adenoma and advanced neoplasia detection rates increase from 45 years of age. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 447-456 [PMID: 30700941 DOI: 10.3748/wjg.v25.i4.447]
- 14 Fagunwa IO, Loughrey MB, Coleman HG. Alcohol, smoking and the risk of premalignant and malignant colorectal neoplasms. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2017; 31: 561-568 [PMID: 29195676 DOI: 10.1016/j.bpg.2017.09.012]
- 15 Shin A, Hong CW, Sohn DK, Chang Kim B, Han KS, Chang HJ, Kim J, Oh JH. Associations of cigarette smoking and alcohol consumption with advanced or multiple colorectal adenoma risks: a colonoscopy-based case-control study in Korea. *Am J Epidemiol* 2011; 174: 552-562 [PMID: 21791710 DOI: 10.1093/aje/kwr098]
- 16 Song YK, Park YS, Seon CS, Lim HJ, Son BK, Ahn SB, Jo YK, Kim SH, Jo YJ, Lee JH, Kim SC. Alcohol drinking increased the risk of advanced colorectal adenomas. *Intest Res* 2015; 13: 74-79 [PMID: 25691846 DOI: 10.5217/ir.2015.13.1.74]
- 17 Huang X, Fan Y, Zhang H, Wu J, Zhang X, Luo H. Association between serum HbA1c levels and adenomatous polyps in patients with the type 2 diabetes mellitus. *Minerva Endocrinol* 2015; 40: 163-167 [PMID: 25003225]
- 18 杨海芸, 戈之铮. 粪便隐血试验在结直肠癌早期筛查中的研究现状. *胃肠病学* 2006; 11: 376-378 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2006.06.017]
- 19 Park DI, Ryu S, Kim YH, Lee SH, Lee CK, Eun CS, Han DS. Comparison of guaiac-based and quantitative immunochemical fecal occult blood testing in a population at average risk undergoing colorectal cancer screening. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2017-2025 [PMID: 20502450 DOI: 10.1038/ajg.2010.179]
- 20 Yuan SY, Wu W, Fu J, Lang YX, Li JC, Guo Y, Wang YN, Qian JM, Li JN. Quantitative immunochemical fecal occult blood test for neoplasia in colon cancer screening. *J Dig Dis* 2019; 20: 78-82 [PMID: 30714346 DOI: 10.1111/1751-2980.12711]
- 21 Kim NH, Lee MY, Park JH, Park DI, Sohn CI, Choi K, Jung YS. Serum CEA and CA 19-9 Levels are Associated with the Presence and Severity of Colorectal Neoplasia. *Yonsei Med J* 2017; 58: 918-924 [PMID: 28792134 DOI: 10.3349/ymj.2017.58.5.918]
- 22 Paik KY, Lee IK, Lee YS, Sung NY, Kwon TS. Clinical implications of systemic inflammatory response markers as independent prognostic factors in colorectal cancer patients. *Cancer Res Treat* 2014; 46: 65-73 [PMID: 24520225 DOI: 10.4143/crt.2014.46.1.65]
- 23 Mano Y, Shirabe K, Yamashita Y, Harimoto N, Tsujita E, Takeishi K, Aishima S, Ikegami T, Yoshizumi T, Yamanaka T, Maehara Y. Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio is a predictor of survival after hepatectomy for hepatocellular carcinoma: a retrospective analysis. *Ann Surg* 2013; 258: 301-305 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-881X.2017.04.030]

[PMID: 23774313 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318297ad6b]
24 Zhou WW, Chu YP, An GY. Significant difference of
neutrophil-lymphocyte ratio between colorectal cancer,

adenomatous polyp and healthy people. *Eur Rev Med Pharmacol
Sci* 2017; 21: 5386-5391 [PMID: 29243802 DOI: 10.26355/
eurev_201712_13924]

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 •

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。

结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化及微生态肠内营养干预作用

金佳琪, 贾新能, 宣俊毅

金佳琪, 贾新能, 宣俊毅, 义乌市中心医院 浙江省义乌市 322000

金佳琪, 住院医师, 主要研究方向为胃、肠消化。

作者贡献分布: 金佳琪负责项目申报实施和文章撰写, 贾新能负责资料提供, 宣俊毅负责数据分析和评估。

通讯作者: 贾新能, 硕士, 住院医师, 322000, 浙江省义乌市江东街道江东中路699号, 义乌市中心医院内科. renqingjir@163.com

收稿日期: 2021-01-18

修回日期: 2021-02-02

接受日期: 2021-03-15

在线出版日期: 2021-04-08

Changes of intestinal flora and miR-10a expression after radical resection of colorectal cancer: Effect of microecological enteral nutrition intervention

Jia-Qi Jin, Xin-Neng Jia, Jun-Yi Xuan

Jia-Qi Jin, Xin-Neng Jia, Jun-Yi Xuan, Yiwu Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Xin-Neng Jia, Master, Resident, Department of Internal Medicine, Yiwu Central Hospital, No. 699 Middle Jiangdong Road, Jiangdong Street, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China. renqingjir@163.com

Received: 2021-01-18

Revised: 2021-02-02

Accepted: 2021-03-15

Published online: 2021-04-08

Abstract

BACKGROUND

Radical resection is an important method for the treatment of rectal cancer, but the imbalance of intestinal

flora and changes in gene expression caused by surgery are not conducive to the improvement of prognosis. It is of great value to explore the changes of intestinal flora and related gene expression after surgery for the formulation of intervention measures.

AIM

To investigate the changes in intestinal flora and microRNA-10a (miR-10a) expression after radical resection of colorectal cancer, and to analyze the effect of microecological enteral nutrition intervention.

METHODS

From July 2017 to June 2020, 107 patients with colorectal cancer undergoing radical resection at our hospital were selected as research subjects. The intestinal flora and miR-10a expression changes of patients with different intestinal flora were compared, and the relationship between the intestinal flora, miR-10a expression, and dysbacteriosis was analyzed. Microecological enteral nutrition intervention was carried out for patients with intestinal flora disorders, and the intestinal flora and miR-10a expression of patients before and after the intervention were compared. Clinical data, intestinal flora, and miR-10a expression of patients with different curative effects were compared. Factors affecting the efficacy of microecological enteral nutrition intervention were analyzed, as well as the value of intestinal flora and miR-10a expression in evaluation of efficacy of microecological enteral nutrition intervention. The correlation between the intestinal flora and the expression of miR-10a in patients with dysbacteriosis was analyzed.

RESULTS

The numbers of colonies of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *Eubacterium*, and miR-10a expression were higher

in patients with normal flora after radical resection of colorectal cancer than those in patients with dysbacteriosis degrees I and II, and in patients with dysbacteriosis degree I than in those with dysbacteriosis degree II. The number of *Enterococcus* was lower in patients with normal flora after radical resection of colorectal cancer than in those with dysbacteriosis degrees I and II, and in patients with dysbacteriosis degree I than in those with dysbacteriosis degree II ($P < 0.05$). As the numbers of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *Eubacterium*, and the expression of miR-10a decreased, and the number of *Enterococcus* increased, the risk of dysbacteriosis in patients after radical resection of colorectal cancer increased ($P < 0.05$). The numbers of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *Eubacterium* and miR-10a expression were higher and the number of *Enterococcus* was lower in patients after microecological enteral nutrition intervention than in patients before intervention ($P < 0.05$). Age, Duke stage, numbers of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* and *Eubacterium* after intervention, and miR-10a expression were all significantly correlated with the efficacy of microecological enteral nutrition intervention ($P < 0.05$). After intervention, the areas under the curves of the intestinal flora and miR-10a expression in evaluating the efficacy of microecological enteral nutrition intervention were both > 0.7 .

CONCLUSION

The intestinal flora and miR-10a expression changes after radical resection of colorectal cancer are significantly related to the occurrence of dysbacteriosis. Microecological enteral nutrition intervention can effectively regulate the intestinal flora and miR-10a expression, and the intestinal flora and miR-10a expression can be used as indicators to evaluate the intervention efficacy.

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

Key Words: Colorectal cancer; Radical resection; Intestinal flora; microRNA-10a; Microecological enteral nutrition intervention

Citation: Jin JQ, Jia XN, Xuan JY. Changes of intestinal flora and microRNA-10a expression after radical resection of colorectal cancer: Effect of microecological enteral nutrition intervention. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(7): 356-365
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/356.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i7.356>

摘要

背景

结直肠癌根治术为治疗直肠癌的重要方法,但手术引起的肠道菌群失调、基因表达变化均不利于预后改善,积极探索术后肠道菌群、相关基因表达变化情况对指导干预措施的制定具有重要指导价值。

目的

探讨结直肠癌根治术后肠道菌群、微小RNA-10a(miRNA-10a, miR-10a)表达变化情况,并分析微生态肠内营养干预的作用。

方法

选取2017-07/2020-06期间我院107例结直肠癌根治术患者作为研究对象,比较不同肠道菌群情况患者肠道菌群、miR-10a表达变化,分析肠道菌群、miR-10a表达与肠道菌群失调的关系,并对肠道菌群紊乱患者进行微生态肠内营养干预,对比干预前后患者肠道菌群、miR-10a表达,比较不同疗效患者临床资料、肠道菌群、miR-10a表达,分析微生态肠内营养干预疗效影响因素,及肠道菌群、miR-10a表达对微生态肠内营养干预疗效的评估价值,并分析肠道菌群失调患者肠道菌群与miR-10a表达的相关性。

结果

结直肠癌根治术后菌群正常患者乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均高于菌群失调I度、II度患者,菌群失调I度患者高于菌群失调II度患者,肠球菌均低于菌群失调I度、II度患者,菌群失调I度患者低于菌群失调II度患者($P < 0.05$);随着乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达降低、肠球菌菌群菌落数升高,结直肠癌根治术后肠道菌群失调发生风险升高($P < 0.05$);肠道菌群紊乱患者微生态肠内营养干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数及miR-10a均高于干预前,肠球菌菌群菌落数低于干预前($P < 0.05$);年龄、DUKE分期、干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均与微生态肠内营养干预疗效显著相关($P < 0.05$);干预后肠道菌群、miR-10a表达评估微生态肠内营养干预效果的曲线下面积(AUC)均 > 0.70 。

结论

结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化与肠道菌群失调的发生显著相关,给予微生态肠内营养干预可有效调节肠道菌群、miR-10a表达,且肠道菌群、miR-10a表达可作为评估干预效果的指标。

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

关键词: 结直肠癌; 根治术; 肠道菌群; 微小RNA-10a; 微生态肠内营养干预

核心提要: 本文重点探究结直肠癌根治术后肠道菌群、微小RNA-10a(miRNA-10a, miR-10a)表达变化情况,并分析微生态肠内营养干预的作用,旨在为结直肠癌根治术后干预措施的制定提供参考。

文献来源: 金佳琪, 贾新能, 宣俊毅. 结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化及微生态肠内营养干预作用. 世界华人消化杂志 2021; 29(7): 356-365

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/356.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.356>

0 引言

结直肠癌是消化道最常见恶性肿瘤之一, 资料显示^[1,2], 结直肠癌发病率仅次于肺癌、乳腺癌, 被称为世界第三大恶性肿瘤, 每年约有70万例结直肠癌患者死亡. 目前, 临床治疗结直肠癌患者以结直肠癌根治术为主, 放疗、化疗为辅, 手术可有效切除肿瘤病灶, 在控制肿瘤进展、延长患者生存期方面具有良好效果^[3]. 但手术操作导致患者肠道屏障受损, 易发生肠道菌群失调. 相关研究^[4,5]指出, 结直肠癌根治术后肠道菌群失调与患者预后、甚至术后肿瘤复发、发展有关, 加强相关干预非常有必要. 微生态肠内营养干预是治疗结直肠癌术后肠道菌群失调的安全、可靠方法, 同时能明显增强患者免疫功能, 抑制炎症反应^[6,7]. 此外, 微小RNA-10a(miRNA-10a, miR-10a)被证实具有调控机体固有免疫、获得性免疫的作用, 与炎症性肠病的发病密切相关, 参与肠粘膜的炎症损伤过程^[8]. 基于此, 本研究尝试探讨结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化情况, 并分析miR-10a表达与肠道菌群失调的关系, 及肠道菌群、miR-10a表达在评估微生态肠内营养干预效果方面的价值. 报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 经我院伦理委员会审批通过(审批号为S789356), 选取2017-07/2020-06我院107例结直肠癌根治术患者作为研究对象, 其中男57例, 女50例; 年龄39-78岁, 平均(61.38±8.29)岁; 侵袭深度: 63例T1-T2, 44例T3-T4; 临床分型: 49例肿块型, 35例溃疡型, 23例浸润型; DUKE分期: 68例A、B期, 39例C、D期. 其中侵袭深度、临床分型、DUKE分期均参照《中国结直肠癌诊疗规范(2017年版)》^[9]判定.

纳入标准: (1)符合结直肠癌诊断标准^[9], 并经术后病理诊断确诊; (2)原发病灶均经结直肠癌根治术切除; (3)肿瘤无远处转移; (4)术前1 mo内未服用过抗生素、微生态活菌制剂及导泻药; (5)患者知晓本研究, 已签署同意书.

排除标准: (1)合并其他原发恶性肿瘤者; (2)伴有肠道梗阻、胃穿孔等其他胃肠道疾病者; (3)自身免疫性疾病患者; (4)严重感染性疾病患者; (5)血液系统疾病患者; (6)精神疾病患者; (7)严重心脑血管疾病、肝肾功能障碍者.

1.2 方法 肠道菌群检测方法: 所有患者均于结直肠癌根治术后2 wk取中段、新鲜粪便标本, 由专业检测人员进行肠道菌群检测, 具体检测方法: 采用无菌试杯收集患者新鲜粪便1 g, 于30 min内检测, 取0.1 g新鲜粪便标本, 采用0.9 mL稀释液充分稀释, 采用10倍稀释法稀释至1000 mL, 随后采用血琼脂及麦康凯平板接种, 37 °C恒温培养48 h后分离出乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌, 采用平板计数法对菌株计数. 参照相关文献^[10]将肠道菌群情况分为菌群正常、菌群失调 I 度和菌群失调 II 度.

微生态肠内营养干预方法: 根据术后2 wk肠道菌群检测结果, 给予肠道菌群失调患者微生态肠内营养干预, 经营养管滴入肠内营养混悬液[纽迪希亚制药(无锡)有限公司, 国药准字H20010285], 速度15 mL/h, 第1 d滴入250 mL, 第2 d适当增加肠内营养混悬液滴入速度, 共入滴入500 mL, 第3 d起, 视患者耐受情况, 逐渐增加到1000-1500 mL, 共干预7 d. 干预结束后再次采集患者中段、新鲜粪便标本进行肠道菌群检测.

miR-10a检测方法: 于结直肠癌根治术后2 wk、微生态肠内营养干预后, 分别采集微生态肠内营养干预前后患者外周静脉血3 mL, 以3500 r/min转速离心处理5 min(离心半径8 cm)后取血清, 置于-70 °C冷藏室保存, 由专业检测人员统一检测, 取血清标本, 采用实时荧光聚合酶链式反应检测血清miR-10a水平, Trizol法提取心脏组织总RNA, RNA提取试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司, 取1 μL按1:50稀释, 混匀, 采用紫外分光光度仪检测RNA质量与浓度, 后以1.2%甲醛变性凝胶电泳. 根据miR-Rase 18.0版, 利用Primer 5引物设计软件对所设计的引物进行选择与确认. 以U6为内参, 逆转录引物为5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3', miR-10a上游引物、下游引物分别为5'-GCGGTAAGTGCTTCCATGTTTAGTAG-3'、5'-ATGAAGTCTGCGGATGGTG-3'. 上下游引物均购自广州锐博生物科技有限公司. 随后进行荧光聚合酶链式反应, 试剂盒购自德国Qiagen公司, 检测操作均由专业人员严格按照试剂盒说明书完成, 选取U6为内参照, 应用公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算miR-10a相对表达水平.

1.3 观察指标 (1)不同肠道菌群情况患者肠道菌群、miR-10a表达; (2)分析结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达与肠道菌群失调的关系; (3)肠道菌群紊乱患者微生态肠内营养干预前后肠道菌群、miR-10a表达; (4)不同微生态肠内营养干预疗效患者临床资料、肠道菌群、miR-10a表达, 临床资料包括性别、年龄、病程、侵袭深度、临床分型、DUKE分期, 菌群失调下降≥1度为疗效良好, <1度则为不良^[11]; (5)分析微生态

表 1 不同肠道菌群失调患者肠道菌群、miR-10a表达对比(mean ± SD)

| 肠道菌群情况 | 例数 | 肠道菌群($\times 10^8$ CFU/g) | | | | miR-10a |
|-----------|----|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | 乳杆菌 | 双歧杆菌 | 肠球菌 | 真杆菌 | |
| 菌群正常 | 45 | 8.59 ± 0.36 | 9.37 ± 0.48 | 7.92 ± 0.58 | 7.26 ± 0.54 | 0.25 ± 0.10 |
| 菌群失调 I 度 | 41 | 7.49 ± 0.56 ^a | 8.45 ± 0.41 ^a | 8.94 ± 0.55 ^a | 6.37 ± 0.32 ^a | 0.19 ± 0.08 ^a |
| 菌群失调 II 度 | 21 | 6.32 ± 0.37 ^{ab} | 7.21 ± 0.40 ^{ab} | 9.67 ± 0.61 ^{ab} | 5.29 ± 0.41 ^{ab} | 0.14 ± 0.06 ^{ab} |
| F | | 191.77 | 176.71 | 74.61 | 146.91 | 12.80 |
| P | | < 0.05 | < 0.05 | < 0.05 | < 0.05 | < 0.05 |

与菌群正常患者比较, ^a $P < 0.05$; 与菌群失调 I 度患者比较, ^b $P < 0.05$; miR-10a: 微小RNA-10a.

表 2 肠道菌群、miR-10a表达与肠道菌群失调的关系

| 因素 | β | S.E. | χ^2 | P | OR | 95%CI |
|---------|---------|------|----------|--------|------|-----------|
| 肠道菌群菌落数 | | | | | | |
| 乳杆菌 | -0.84 | 0.26 | 10.55 | < 0.05 | 0.43 | 0.30-0.63 |
| 双歧杆菌 | -0.41 | 0.13 | 10.42 | < 0.05 | 0.67 | 0.45-0.98 |
| 肠球菌 | 1.67 | 0.34 | 23.85 | < 0.05 | 5.29 | 3.13-8.94 |
| 真杆菌 | -0.63 | 0.22 | 7.88 | < 0.05 | 0.54 | 0.36-0.79 |
| miR-10a | -0.71 | 0.22 | 10.65 | < 0.05 | 0.49 | 0.27-0.89 |

赋值: 乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均以平均数为界, \leq 平均数 = 1, $>$ 平均数 = 2; miR-10a: 微小RNA-10a.

肠内营养干预疗效的影响因素; (6)分析肠道菌群、miR-10a表达对微生态肠内营养干预疗效的评估价值; (7)分析肠道菌群失调患者肠道菌群与miR-10a表达的相关性.

统计学处理 数据处理采用SPSS 22.0软件, 计数资料以例数描述, 采用 χ^2 检验, 计量资料以mean ± SD描述, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两组间比较采用SNK-q检验, 组内比较采用配对t检验, 两组间比较采用独立样本t检验, 相关性分析采用Pearson相关系数模型, 通过Logistic进行多因素回归分析, 评估效能分析采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线, 获取曲线下面积(area under the curve, AUC)、置信区间、敏感度、特异度及cut-off值, 不同评估方案间曲线下面积比较采用DeLong检验, 均采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同肠道菌群情况患者肠道菌群、miR-10a表达对比 不同肠道菌群情况患者乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 见表1.

2.2 肠道菌群、miR-10a表达与肠道菌群失调的关系 以结直肠癌根治术后是否发生肠道菌群失调为因变量(未发生 = 0, 发生 = 1), 纳入肠道菌群、miR-10a作

为自变量, 进行Logistic回归分析显示, 乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达与结直肠癌根治术后肠道菌群失调有关($P < 0.05$). 见表2.

2.3 微生态肠内营养干预前后肠道菌群、miR-10a表达与干预前相比, 微生态肠内营养干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数及miR-10a均明显升高, 肠球菌菌群菌落数明显下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 见表3.

2.4 不同疗效患者临床资料、干预后肠道菌群、miR-10a表达 不同疗效患者性别、病程、侵袭深度、临床分型、干预前乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达相比, 差异无统计学意义; 疗效良好患者年龄、DUKE分期、干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 见表4.

2.5 微生态肠内营养干预疗效影响因素 以微生态肠内营养干预疗效为因变量(赋值: 疗效良好 = 1, 疗效不佳 = 2), 将结果2.4中有差异因素纳入Logistic回归分析, 结果显示, 年龄、DUKE分期、干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均为微生态肠内营养干预疗效的影响因素($P < 0.05$). 见表5.

2.6 肠道菌群、miR-10a表达对微生态肠内营养干预效

表 3 微生态肠内营养干预前后肠道菌群、miR-10a表达对比(mean ± SD)

| 时间 | 例数 | 肠道菌群菌落数(×10 ⁸ CFU/g) | | | | miR-10a |
|----------|----|---------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 乳杆菌 | 双歧杆菌 | 肠球菌 | 真杆菌 | |
| 干预前 | 62 | 7.09 ± 0.52 | 8.03 ± 0.52 | 9.19 ± 0.65 | 6.00 ± 0.49 | 0.17 ± 0.08 |
| 干预后 | 62 | 8.65 ± 0.62 | 9.41 ± 0.49 | 8.02 ± 0.52 | 7.31 ± 0.56 | 0.29 ± 0.12 |
| <i>t</i> | | 15.18 | 15.21 | 11.07 | 13.86 | 6.55 |
| <i>P</i> | | < 0.05 | < 0.05 | < 0.05 | < 0.05 | < 0.05 |

miR-10a: 微小RNA-10a.

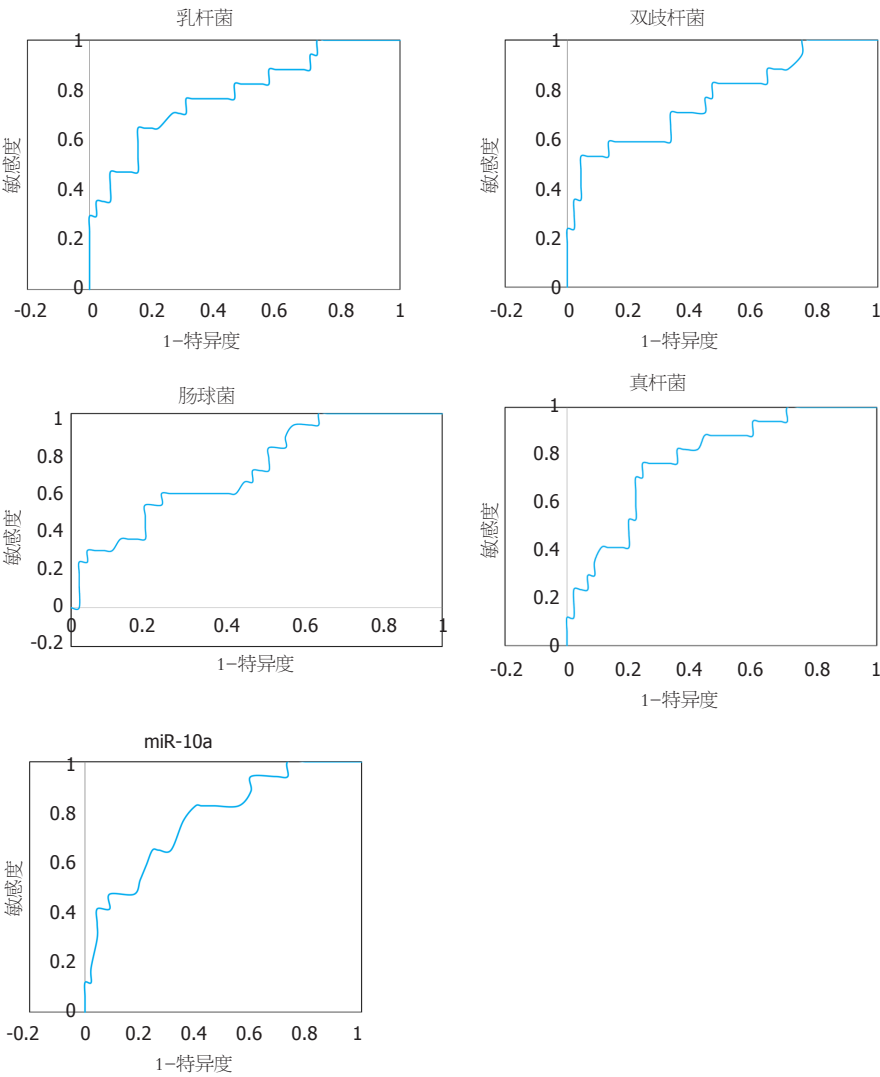


图 1 肠道菌群、miR-10a表达评估干预效果的ROC曲线.

果的评估价值. 绘制干预后肠道菌群、miR-10a表达评估微生态肠内营养干预效果的ROC曲线, 结果显示各指标评估的AUC均>0.7, 其中乳杆菌评估的AUC最大, 为0.78, 截断值下评估敏感度、特异度分别为64.71%、84.44%. 见表6、图1.

2.7 肠道菌群失调患者肠道菌群与miR-10a表达相关性
肠道菌群失调患者微生态肠内营养干预后乳杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数与miR-10a间存在正相关关系, 肠球菌菌群菌落数与miR-10a间存在负相关关系(*P* < 0.05). 见图2-5.

表 4 不同疗效患者临床资料、干预后肠道菌群、miR-10a表达对比[$(\text{mean} \pm \text{SD})/n(\%)$]

| 指标 | 疗效良好($n = 45$) | 疗效不良($n = 17$) | t/χ^2 | P |
|------------|------------------|------------------|------------|--------|
| 性别 | | | 0.08 | 0.78 |
| 男 | 23(51.11) | 8(47.06) | | |
| 女 | 22(48.89) | 9(52.94) | | |
| 年龄(岁) | | | 4.27 | < 0.05 |
| ≤ 60 | 29(64.44) | 6(35.29) | | |
| > 60 | 16(35.56) | 11(64.71) | | |
| 病程(年) | | | 0.15 | 0.70 |
| ≤ 1 | 21(46.67) | 7(41.18) | | |
| > 1 | 24(53.33) | 10(58.82) | | |
| 侵袭深度 | | | 0.69 | 0.41 |
| T1-T2 | 29(64.44) | 9(52.94) | | |
| T3-T4 | 16(35.56) | 8(47.06) | | |
| 临床分型 | | | 1.24 | 0.54 |
| 肿块型 | 23(51.11) | 6(35.29) | | |
| 溃疡型 | 12(26.67) | 6(35.29) | | |
| 浸润型 | 10(22.22) | 5(29.41) | | |
| DUKE分期 | | | 6.51 | < 0.05 |
| A、B期 | 34(75.56) | 7(41.18) | | |
| C、D期 | 11(24.44) | 10(58.82) | | |
| 肠道菌群菌落数 | | | | |
| 干预前乳杆菌 | 7.16 ± 0.49 | 6.98 ± 0.41 | 1.35 | 0.18 |
| 干预后乳杆菌 | 8.92 ± 1.02 | 7.95 ± 1.15 | 3.23 | < 0.05 |
| 干预前双歧杆菌 | 8.07 ± 0.37 | 7.96 ± 0.41 | 1.01 | 0.32 |
| 干预后双歧杆菌 | 9.58 ± 0.69 | 8.97 ± 0.74 | 3.05 | < 0.05 |
| 干预前肠球菌 | 9.05 ± 0.89 | 9.44 ± 0.82 | 1.57 | 0.12 |
| 干预后肠球菌 | 7.92 ± 0.36 | 8.28 ± 0.38 | 3.46 | < 0.05 |
| 干预前真杆菌 | 5.98 ± 0.42 | 6.12 ± 0.49 | 1.12 | 0.268 |
| 干预后真杆菌 | 7.58 ± 1.37 | 6.61 ± 1.25 | 2.55 | < 0.05 |
| 干预前miR-10a | 0.18 ± 0.08 | 0.14 ± 0.06 | 1.87 | 0.07 |
| 干预后miR-10a | 0.32 ± 0.14 | 0.21 ± 0.10 | 2.96 | < 0.05 |

miR-10a: 微小RNA-10a.

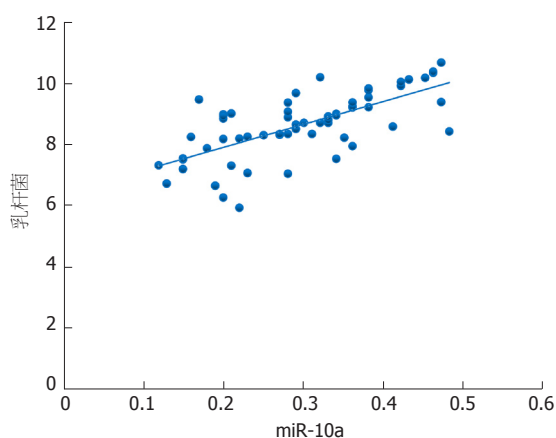


图 2 乳杆菌菌群菌落数与miR-10a相关性.

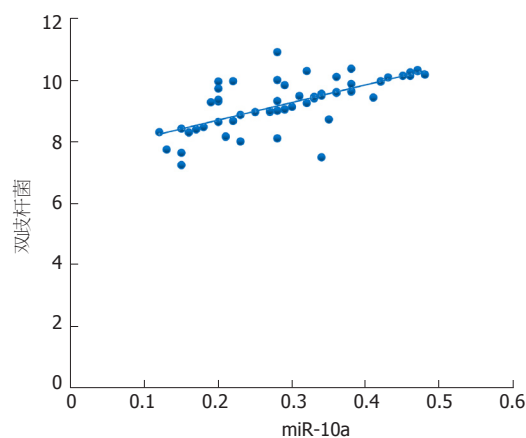


图 3 双歧杆菌菌群菌落数与miR-10a相关性.

表 5 微生态肠内营养干预疗效影响因素

| 因素 | β | <i>S.E.</i> | χ^2 | <i>P</i> | OR | 95%CI |
|------------|---------|-------------|----------|----------|------|------------|
| 年龄 | 1.66 | 0.31 | 28.13 | <0.05 | 5.26 | 3.03–9.14 |
| DUKE分期 | 1.60 | 0.37 | 18.33 | <0.05 | 4.96 | 2.79–8.79 |
| 干预后肠道菌群菌落数 | | | | | | |
| 乳酸菌 | –0.67 | 0.25 | 7.14 | <0.05 | 0.51 | 0.38–0.69 |
| 双歧杆菌 | –0.47 | 0.19 | 6.46 | <0.05 | 0.63 | 0.42–0.94 |
| 肠球菌 | 1.72 | 0.37 | 21.06 | <0.05 | 5.56 | 2.75–11.28 |
| 真杆菌 | –0.87 | 0.29 | 8.66 | <0.05 | 0.42 | 0.31–0.57 |
| 干预后miR-10a | –0.81 | 0.25 | 10.29 | <0.05 | 0.45 | 0.24–0.83 |

赋值: 年龄: ≤60岁 = 1, >60岁 = 2; DUKE分期: A、B期 = 1, C、D期 = 2; 干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达: 以平均值为界, ≤平均值 = 1, >平均值 = 2; miR-10a: 微小RNA-10a.

表 6 肠道菌群、miR-10a表达评估干预效果的价值分析

| 指标 | AUC | 95%CI | Z统计 | <i>P</i> | 截断值 | 敏感度 | 特异度 |
|------------|------|-----------|------|----------|-------------------------------|--------|--------|
| 干预后肠道菌群菌落数 | | | | | | | |
| 乳酸菌 | 0.78 | 0.66–0.88 | 4.14 | <0.05 | ≤8.31 × 10 ⁸ CFU/g | 64.71% | 84.44% |
| 双歧杆菌 | 0.76 | 0.64–0.86 | 3.59 | <0.05 | ≤8.41 × 10 ⁸ CFU/g | 52.94% | 95.56% |
| 肠球菌 | 0.71 | 0.58–0.82 | 2.94 | <0.05 | >8.07 × 10 ⁸ CFU/g | 58.82% | 75.56% |
| 真杆菌 | 0.78 | 0.66–0.88 | 4.48 | <0.05 | ≤7.04 × 10 ⁸ CFU/g | 76.47% | 75.56% |
| miR-10a | 0.77 | 0.65–0.87 | 4.12 | <0.05 | ≤0.29 | 82.35% | 60.00% |

miR-10a: 微小RNA-10a.

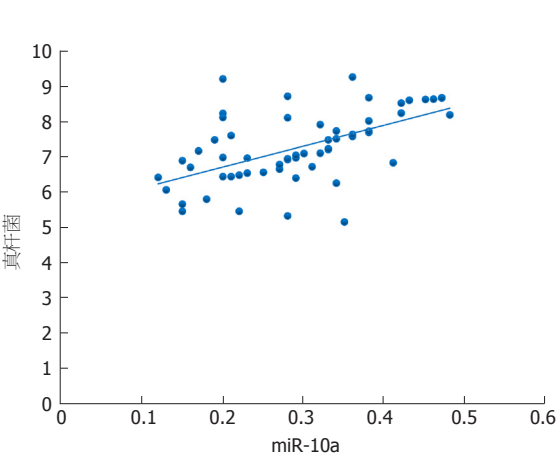


图 4 真杆菌菌群菌落数与miR-10a相关性.

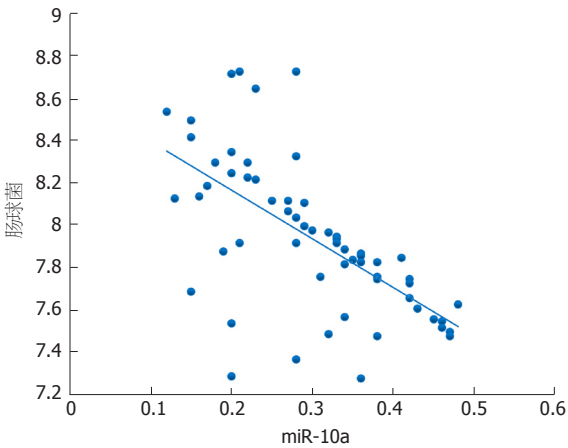


图 5 肠球菌菌群菌落数与miR-10a相关性.

3 讨论

肠道菌群是组成肠道保护屏障的重要部分, 而结直肠癌根治术围术期需进行多种准备和操作, 如术前肠道准备、手术切除肠道、禁食、术后抗生素的应用等, 均会给肠道菌群平衡带来明显影响^[12,13]. 肠道菌群失调可导致大量细菌产生肠道毒素, 加重患者局部炎症反应, 降低机体免疫功能, 也在一定程度上影响肿瘤浸润^[14,15].

本研究发现, 结直肠癌根治术后发生菌群失调患者乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数明显低于菌群正常患者, 而肠球菌则明显高于菌群正常患者, 进一步经多因素分析发现上述肠道菌群菌落数变化与结直肠癌根治术后菌群失调的发生显著相关. 肠道菌群以厌氧菌为基础, 其中乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌是组成肠道菌群的主要益生菌, 益生菌与肠上皮细胞

在特异性受体结合情况下形成一道保护屏障, 此屏障具有一定层次性, 受占位效应保护, 在阻碍肠球菌等有害菌增殖方面发挥重要作用^[16,17]. 手术等一系列操作导致乳酸杆菌、双歧杆菌等益生菌菌落数减少, 其抑制有害菌的作用减弱, 致使肠球菌菌落数增加, 最终形成肠道菌群失调^[18]. 本研究还发现, 结直肠癌根治术后发生菌群失调患者血清miR-10a表达水平明显降低, 且其水平降低可明显增加术后肠道菌群失调发生风险, 提示miR-10a表达与肠道菌群失调有关. miR-10a是定位于17号染色体短臂HOXB4与HOXB5之间的非编码RNA, 其在多种恶性肿瘤中表达降低, 如胃癌、前列腺癌^[19,20]. 新近研究指出^[21], 转移的结直肠癌细胞中miR-10a表达降低, 与肿瘤的转移和浸润呈负相关. 程海霞等^[22]研究发现, miR-10a具有介导肠道黏膜屏障功能的作用, 并指出结直肠癌患者围手术期应用益生菌可有效上调miR-10a表达. 本研究发现, 对结直肠癌根治术后发生菌群失调患者进行微生态肠内营养干预7 d后, 患者血清miR-10a均高于干预前, 与上述研究结果一致, 同时患者乳杆菌、双歧杆菌、真杆菌、肠球菌菌群菌落数均得到明显改善, 且本研究通过相关性分析发现患者干预后乳杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数与miR-10a呈正相关, 肠球菌菌群菌落数与miR-10a呈负相关. 笔者认为微生态肠内营养干预能上调血清miR-10a表达水平, miR-10a可介导肠道黏膜屏障相关蛋白表达, 从而修复、改善肠道黏膜屏障功能, 进而纠正肠道菌群失调.

从本研究结果2.4可见, 不同微生态肠内营养干预疗效患者的干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达存在明显差异, 进一步经多因素分析发现上述指标均与疗效显著相关, 据此笔者推测干预后肠道菌群、miR-10a表达可作为评估微生态肠内营养干预疗效的指标. 本研究首次采用ROC曲线分析干预后肠道菌群、miR-10a表达对微生态肠内营养干预效果的评估价值, 结果发现各指标评估干预效果的AUC均在0.7以上, 具有良好评估效能, 证实了笔者推测的正确性, 各指标中乳杆菌评估的AUC最大, 为0.78, 可为临床评估微生态肠内营养干预疗效提供更准确参考. 本研究还发现, 年龄>60岁、DUKE分期为C、D期均为微生态肠内营养干预疗效不良的危险因素, 因此对于老年、DUKE分期较高的结直肠癌患者, 临床应给予足够重视, 加强术后微生态肠内营养干预, 尽量纠正肠道菌群失调.

4 结论

综上所述, 结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化是发生肠道菌群失调的影响因素, 采用微生态肠内营养干预在改善肠道菌群、miR-10a表达方面具有良好效果, 干预后通过检测肠道菌群、miR-10a表达可辅助临床评估干预效果, 具有较高临床应用价值. 但本研究收集的病例数有限, 研究结果可能存在一定偏倚, 后续工作中仍需纳入更多病例进一步验证.

文章亮点

实验背景

结直肠癌为临床常见恶性肿瘤, 近年来其发病率逐渐升高, 本研究主要探讨直肠癌根治术后肠道菌群失调、基因表达变化, 以期获得指导术后干预的指标.

实验动机

随着直肠癌患者的增加, 直肠癌根治术随之增多, 本研究主题为探究手术引起的肠道菌群失调、基因表达变化情况, 并分析其在微生态肠内营养干预效果的关系, 以期明确肠道菌群、相关基因表达变化情况在指导干预措施制定方面的指导价值.

实验目标

本研究主要目标为分析结直肠癌根治术后肠道菌群、微小RNA-10a(microRNA-10a, miR-10a)表达变化情况, 并分析微生态肠内营养干预的作用, 旨在为结直肠癌根治术后干预措施的制定提供参考.

实验方法

本研究选取我院107例结直肠癌根治术患者, 根据其术后肠道菌群情况分组, 所有患者均于结直肠癌根治术后2 wk取中段、新鲜粪便标本及血清标本, 检测术后2周肠道菌群及血清miR-10a水平, 通过对比不同肠道菌群情况患者肠道菌群、miR-10a表达变化, 分析肠道菌群、miR-10a表达与肠道菌群失调的关系, 并对肠道菌群紊乱患者予以微生态肠内营养干预, 对比干预前后患者肠道菌群、miR-10a表达, 不同疗效患者临床资料、肠道菌群、miR-10a表达, 分析微生态肠内营养干预疗效影响因素, 通过ROC曲线分析肠道菌群、miR-10a表达对微生态肠内营养干预疗效的评估价值, 采用Pearson相关系数模型分析肠道菌群失调患者肠道菌群、miR-10a表达相关性.

实验结果

本研究通过实验达到了主要目标, 结果发现: (1)结直肠癌根治术后菌群正常患者乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均高于菌群失调 I 度、II 度患者, 菌群失调 I 度患者高于菌群失调 II 度患者, 肠球菌均低于菌群失调 I 度、II 度患者, 菌群失调 I 度患者低于菌群失调 II 度患者($P<0.05$); (2)随着乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达降低, 肠球菌菌群菌落数升高, 结直肠癌根治术后肠道菌群失调发生风险升高($P<0.05$); (3)肠道菌群紊乱患者微生态肠内营养干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数及miR-10a均高于干预前, 肠球菌菌群菌落数低于干预前($P<0.05$); (4)疗效良好患者年龄 ≤ 60 岁占比、DUKE 分期A、B期占比、干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均高于疗效不良患者, 干预后肠球菌低于疗效不良患者($P<0.05$); (5)年龄、DUKE分期、干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均与微生态肠内营养干预疗效显著相关($P<0.05$); (6)干预后肠道菌群、miR-10a表达评估微生态肠内营养干预效果的曲线下面积(AUC)均 >0.7 , 其中乳酸杆菌评估的AUC最大, 为0.784, 截断值下评估敏感度、特异度分别为64.71%、84.44%; (7)肠道菌群失调患者微生态肠内营养干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数与miR-10a呈正相关, 肠球菌菌群菌落数与miR-10a呈负相关($P<0.05$).

实验结论

结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化是发生肠道菌群失调的影响因素, 采用微生态肠内营养干预在改善肠道菌群、miR-10a表达方面具有良好效果.

展望前景

本研究收集的病例数有限, 研究结果可能存在一定偏倚, 后续工作中仍需纳入更多病例进一步验证. 未来我们将探究检测肠道菌群、miR-10a表达在辅助临床评估干预效果方面的价值, 可通过设计对比试验进行探讨.

5 参考文献

- 1 Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet* 2019; 394: 1467-1480 [PMID: 31631858 DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32319-0]
- 2 高乐, 于树青, 杨继春, 马峻岭, 詹思延, 孙凤. 全球结直肠癌筛查指南的质量评价. *北京大学学报(医学版)* 2019; 51: 548-555 [DOI: 10.19723/j.issn.1671-167X.2019.03.026]
- 3 陈治宇. 围手术期化疗在局部晚期结直肠癌中的应用. *中华胃肠外科杂志* 2019; 22: 387-391 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2019.04.014]

- 4 余莉, 李红, 王思平. 老年结直肠癌患者肠道菌群变化与机体免疫炎症营养相关性. *中国微生态学杂志* 2020; 32: 404-409+414 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202004006]
- 5 王纯, 陈东风, 魏艳玲. 肠道菌群对结直肠癌发生、发展和诊疗影响的研究进展. *胃肠病学* 2019; 24: 62-64 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2019.01.015]
- 6 刘杰锋, 何苗, 曾心雨, 龚煜靖. 老年结直肠癌患者术后早期微生态肠内营养对肠道菌群及免疫功能的影响. *中华老年医学杂志* 2020; 39: 435-438 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2020.04.015]
- 7 杨国林, 赵登秋. 微生态肠内营养对结直肠癌患者术后肠道菌群、免疫功能和并发症的影响. *中国初级卫生保健* 2018; 32: 83-85
- 8 王剑. 外泌体miR-10a对结直肠癌转移微环境中成纤维细胞的作用与机制研究. *华北理工大学* 2019 [DOI: 10.27108/d.cnki.ghelu.2019.000048]
- 9 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]
- 10 郭建萍, 王华. 结直肠癌患者手术前后血清PCT, ADPN和IL-6水平变化及其与肠道菌群失调的相关性. *中国微生态学杂志* 2020; 32: 794-797+804 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202007010]
- 11 高睿, 薄元恺, 姜文雅. 粪便细菌涂片对腹泻型肠易激综合征抗菌药物治疗的参考价值. *胃肠病学* 2020; 25: 101-103 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2020.02.007]
- 12 Han S, Gao J, Zhou Q, Liu S, Wen C, Yang X. Role of intestinal flora in colorectal cancer from the metabolite perspective: a systematic review. *Cancer Manag Res* 2018; 10: 199-206 [PMID: 29440929 DOI: 10.2147/CMAR.S153482]
- 13 Xu Q, Xu P, Cen Y, Li W. Effects of preoperative oral administration of glucose solution combined with postoperative probiotics on inflammation and intestinal barrier function in patients after colorectal cancer surgery. *Oncol Lett* 2019; 18: 694-698 [PMID: 31289543 DOI: 10.3892/ol.2019.10336]
- 14 袁保, 马朝群. 肠道菌群在结直肠癌中的研究进展. *肿瘤研究与临床* 2019; 31: 425-428 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2019.06.017]
- 15 张威, 姜可伟. 肠道菌群在结直肠癌发生发展及治疗中的作用. *中华胃肠外科杂志* 2020; 23: 516-520 [DOI: 10.3760/cma.j.cn.441530-20190820-00314]
- 16 Reis SAD, da Conceição LL, Peluzio MDCG. Intestinal microbiota and colorectal cancer: changes in the intestinal microenvironment and their relation to the disease. *J Med Microbiol* 2019; 68: 1391-1407 [PMID: 31424382 DOI: 10.1099/jmm.0.001049]
- 17 唐源淋, 陈烨. 肠道菌群失衡与肝硬化分级及预后的关系. *现代消化及介入诊疗* 2019; 24: 11-15
- 18 王家欢, 吴艳烈. 腹腔镜手术联合微生态制剂对结直肠癌患者肠道菌群和肠道屏障功能的影响. *中国微生态学杂志* 2020; 32: 298-301+305
- 19 吴江, 阿里木江·阿不都热合曼, 庞澜, 朱勇荷, 马秀英, 陈鹏, 张荔霜, 岳跃明. 抑癌因子miR-10a抑制Tiam1表达对胃癌细胞凋亡和迁移的影响. *现代生物医学进展* 2020; 20: 2830-2837+2867
- 20 Mu H, Xiang L, Li S, Rao D, Wang S, Yu K. MiR-10a functions as a tumor suppressor in prostate cancer via targeting KDM4A. *J Cell Biochem* 2019; 120: 4987-4997 [PMID: 30302800 DOI: 10.1002/jcb.27774]
- 21 Wang J, Liu Y, Li Y, Zheng X, Gan J, Wan Z, Zhang J, Liu Y, Wang Y, Hu W, Li Y, Liu Y. Exosomal-miR-10a derived from colorectal cancer cells suppresses migration of human lung fibroblasts, and expression of IL-6, IL-8 and IL-1 β . *Mol Med Rep* 2021; 23: 1 [PMID: 33236127 DOI: 10.3892/mmr.2020.11723]

22 程海霞, 刘涛, 张静, 贾增增, 徐月姣, 范国权, 何若冲. 结直肠癌围手术期应用益生菌对微小RNA-10a表达的影响

响. 中华实验外科杂志 2019; 36: 366 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2019.02.057]

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》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

鼠李糖乳杆菌治疗肠易激综合征机制新进展

苏帅, 张智芳, 王欣, 王玉明, 王邦茂

苏帅, 王欣, 王玉明, 王邦茂, 天津医科大学总医院消化内科 天津市 300052

张智芳, 天津市西青医院神经内科 天津市 300380

苏帅, 主治医师, 主要从事肠易激综合征治疗机制方面的研究.

基金项目: 国家自然科学基金, No.81570489.

作者贡献分布: 本综述写作由苏帅、张智芳及王欣完成; 王玉明及王邦茂审校.

通讯作者: 苏帅, 主治医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化内科. sushuai6h6@163.com

收稿日期: 2021-01-23

修回日期: 2021-02-19

接受日期: 2021-03-15

在线出版日期: 2021-04-08

Mechanism of *Lactobacillus rhamnosus* in treatment of irritable bowel syndrome

Shuai Su, Zhi-Fang Zhang, Xin Wang, Yu-Ming Wang, Bang-Mao Wang

Shuai Su, Xin Wang, Yu-Ming Wang, Bang-Mao Wang, Department of Gastroenterology and Hepatology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Zhi-Fang Zhang, Department of Neurology, Tianjin Xiqing Hospital, Tianjin 300380, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81570489.

Corresponding author: Shuai Su, Attending Physician, Department of Gastroenterology and Hepatology, Tianjin Medical University General Hospital, No. 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. sushuai6h6@163.com

Received: 2021-01-23

Revised: 2021-02-19

Accepted: 2021-03-15

Published online: 2021-04-08

Abstract

Irritable bowel syndrome (IBS) is a clinically common functional gastrointestinal disease, which affects the quality of life of patients. Therefore, it is of great significance to explore effective treatment methods for IBS. Probiotics can improve the symptoms of IBS patients and their quality of life. *Lactobacillus rhamnosus* is one of the most studied probiotics and has attracted much attention. *Lactobacillus rhamnosus* has been used to treat IBS, and much progress has been made in recent years. *Lactobacillus rhamnosus* can improve the symptoms of IBS by regulating the imbalance of the intestinal flora, protecting the intestinal barrier function, exerting anti-inflammatory activity, regulating the intestinal immunity, improving visceral hypersensitivity, and inhibiting bacteria. This review aims to elucidate the possible mechanism of *Lactobacillus rhamnosus* in the treatment of IBS.

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

Key Words: Irritable bowel syndrome; *Lactobacillus rhamnosus*; Probiotics; Treatment mechanism

Citation: Su S, Zhang ZF, Wang X, Wang YM, Wang BM. Mechanism of *Lactobacillus rhamnosus* in treatment of irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(7): 366-371

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/366.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.366>

摘要

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是临床上常见的功能性胃肠病, 其会影响患者的生活质量. 因此探寻IBS的有效治疗方法具有重要意义. 益生菌可改善IBS患者的症状并提高其生活质量, 其中备受关注的是鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus* GG, LGG). LGG是目前被研究最多的益生菌之一. LGG已

经在临床上被用来治疗IBS, 且近年来LGG治疗IBS机制不断有新的进展. LGG可通过调节肠道菌群失调、保护肠道屏障功能、抗炎、调节肠道免疫、改善内脏高敏感和抑菌来发挥作用从而改善IBS症状. 本文就LGG治疗IBS的可能机制作一综述.

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

关键词: 鼠李糖乳杆菌; 肠易激综合征; 益生菌; 治疗机制

核心提要: 鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus* GG, LGG)具有耐胆汁、胃酸能力及良好的胃肠道定植能力, 且安全性高. LGG可通过调节肠道菌群失调、保护肠道屏障功能、抗炎、调节肠道免疫、改善内脏高敏感和抑菌等机制改善肠易激综合征症状.

文献来源: 苏帅, 张智芳, 王欣, 王玉明, 王邦茂. 鼠李糖乳杆菌治疗肠易激综合征机制新进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(7): 366-371

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/366.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i7.366>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是最常见的功能性胃肠病之一, 其在全球的患病率为5%-15%^[1]. 我国普通人群IBS总体患病率为1.4%-11.5%, 然而仅25%的IBS患者到医院就诊^[2]. 我国最新专家共识意见定义IBS: 以腹痛、腹胀或腹部不适为主要症状, 与排便相关或伴随排便习惯如频率和(或)粪便性状改变, 通过临床常规检查, 尚无法发现能解释这些症状的器质性疾病^[2]. IBS虽然不会危及生命, 但它却是影响患者生活质量最常见的病因之一^[3]. 因此探寻IBS的有效治疗方法具有重要意义. 关于IBS的治疗方法有很多, 其中益生菌对改善IBS症状具有一定疗效且相对安全^[4]. 鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus* GG, LGG)是当今世界上最著名、被研究最多的益生菌菌株之一. LGG有其自身的优势以及特点, 其在治疗肠易激综合征方面不断有新的进展. 本文将对LGG及其治疗IBS的可能机制进行简述.

1 鼠李糖乳杆菌介绍

鼠李糖乳杆菌(LGG)属于厚壁菌门、芽孢杆菌纲、乳杆菌目、乳杆菌科、乳杆菌属. LGG是由美国教授Barry Goldin和Sherwood Gorbach在上世纪80年代从健康人的肠道中分离获得的一种乳酸杆菌. “GG”即取自Barry Goldin和Sherwood Gorbach两位教授的姓氏首字母, 故称为LGG. 1985年4月17日两位教授为LGG申请了专利. LGG最初由美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)命名为嗜酸乳杆菌GG株,

专利号为53103(ATCC53103), 后被重新分类为鼠李糖乳杆菌.

LGG是第三代益生菌, 本身不带有致病性、产毒素及耐药性基因. 目前LGG(ATCC53103)的基因组序列已被解码^[5]; LGG基因组测序和分析发现LGG存在spaCBA-srtC1基因岛可以编码SpaC, SpaB和SpaA菌毛蛋白, LGG菌毛能使其在宿主胃肠道长时间定植以及稳定的存在, 亦可参与信号转导以及生物膜的形成等^[6]. 近些年研究发现^[7-11]LGG所分泌的多肽或蛋白很多, 其被认为是发挥益生作用的主要活性成分, 其中备受关注的主要包括Msp1/p75、Msp2/p40和HM0539等.

LGG具有一些其它益生菌所不具备的功能, 具有其独特的优势. 首先, LGG对胆汁和胃酸的耐受性比较好, 这使得其被服用后能够稳定地发挥益生作用^[12]. 其次, LGG菌毛使其对胃肠道环境的定植能力优于其它益生菌菌株. 再次, LGG在最终产品中的稳定性非常好, 可以长期保持较高的活菌数. 最后, LGG发酵过程中只产生乳酸, 对人体无副作用, 安全性比较好.

2 鼠李糖乳杆菌治疗肠易激综合征的机制

肠易激综合征发病率近年来逐渐上升, 显著影响着人们的生活质量, 因此探讨IBS发病机制具有重要意义. 但是目前IBS病理生理机制不明, 故目前尚缺乏特异性的药物进行治疗, 而益生菌的应用为IBS的临床治疗提供了新思路. 临床上治疗IBS常用的益生菌很多, LGG是其中一种. 由于LGG有其独特的优势, 用其来治疗IBS成为临床研究的热点之一. 曾有研究对PubMed数据库所发表的13项荟萃分析、3项系统评价和15项随机对照试验进行评估后得出结论: LGG用于治疗儿童IBS证据充分^[13].

目前LGG治疗IBS具体机制仍然不明. 研究普遍认为IBS的发病与肠道菌群、肠道屏障功能、肠道免疫功能和内脏敏感性等多种因素有关, 近年来关于LGG对上述多种因素的研究不断有新的进展. 本综述将从6个方面对LGG辅助治疗IBS的机制进行探讨.

2.1 调节肠道菌群失调 IBS患者存在肠道菌群失调. 研究发现IBS患者肠道菌群在种类和数量上与健康人比较存在明显差异, 如IBS患者粪便中乳酸菌属和双歧杆菌数量下降, 而球形梭菌、多形拟杆菌和绿脓杆菌等增加, 且患者腹胀症状与上述菌群变化相关^[14]. 研究发现LGG占总乳酸杆菌的比例具有个体差异, 而且其所占比例可能与肠道本来的乳酸杆菌数量有关^[15], 当乳酸杆菌数量以及比例下降, 可能引起菌群失调. 所以可通过外源性补充LGG增加肠道内有益菌(比如双歧杆菌和乳酸杆菌)的数量从而改善IBS. 随机对照研究表明补充混合益生菌(包括LGG、嗜酸乳杆菌、乳双歧杆菌、长双歧

杆菌、短双歧杆菌及嗜热链球菌)治疗IBS患者4 wk, 粪便中乳酸杆菌、双歧杆菌计数明显增加, 肠道菌群恢复正常, IBS患者的症状得到缓解^[16]. 另有研究发现给予IBS患者补充益生菌(LGG, LC705, 费氏丙酸杆菌)数周, 在治疗结束时对IBS患者进行评分, 治疗后IBS患者评分比治疗前明显降低, 且不适症状减轻, 肠道菌群失调进一步改善^[17]. 深入研究发现^[18]LGG可以减少抗生素对肠道菌群的影响: 学龄前儿童经常因各种原因应用青霉素而引起肠道菌群变化, 但摄入LGG后可以减轻青霉素对肠道菌群的影响. 以上研究说明LGG可以调节肠道菌群失调.

LGG调节肠道菌群有其自身独特优势. 与其他菌株相比(如乳酸菌LC705), LGG在胃肠道定植持续时间更长, 相对浓度更高, 这使其能够更稳定地调节肠道菌群^[6]. 研究发现LGG之所以具有稳定的肠道定植能力, 主要依赖于菌毛, 菌毛是类似伞状菌的附属物, 而这一结构使其具有良好的粘附能力^[19]. 目前研究发现LGG中SpaCBA菌毛在粘附粘液中起关键作用, 肠粘液层是LGG在人体定植的首要选择^[20]. 降结肠是LGG倾向于定植的部位^[21]. 深入研究发现LGG在成年人肠道的粘附率明显高于儿童, 主要是因为成年人的肠道环境更为成熟, 更适合LGG粘附, 这样能使其更稳定的调节肠道菌群.

2.2 保护肠道屏障功能 肠道屏障功能对人体具有非常重要的功能, 可以防止有害物质穿过肠粘膜进入体内组织、器官和血液循环. 当发生IBS时, 电镜下发现肠黏膜上皮部分细胞间隙明显增宽, 细胞间可见桥粒样结构, 有绒毛断裂现象, 说明肠道屏障功能受损. 当肠道屏障功能受损, 肠道内细菌、病毒、寄生虫可以直接通过肠上皮细胞进一步危害人体. 益生菌可通过保护上皮细胞间的紧密连接作用, 促进肠道黏蛋白的分泌, 增强黏膜的屏障作用.

益生菌LGG同样具有保护肠上皮屏障的功能^[22]. (1)LGG可通过增加肠黏蛋白的表达来增强肠上皮屏障功能. LGG分泌产生的P40能够将LS174T细胞和小鼠结肠上皮细胞中EGFR反式激活, 从而促进肠黏蛋白的产生保护肠上皮屏障功能^[23]. LGG来源的可溶性蛋白HM0539同样能够通过增强肠黏蛋白的表达来保护肠上皮屏障功能^[24]. (2)LGG可通过增加紧密连接蛋白表达水平来增强肠上皮屏障功能. 腹泻型IBS存在肠黏膜通透性增加, 紧密连接蛋白Claudin-4、Occludin、ZO-1表达会明显下降, 肠道屏障功能随之下降, 但是经过LGG干预后, 紧密连接蛋白表达水平可明显增加, 且结肠黏膜中干扰素和白介素-4的表达水平明显降低, 最终改善肠道屏障功能^[25]. Orlando等^[26]同样发现LGG可以增加紧密连接蛋白的表达, 此研究首先用胃蛋白酶-胰蛋白酶

-PTG诱导大鼠肠粘膜的损伤, 随后发现损伤后的肠粘膜会出现肠细胞间紧密连接(tight junctions, TJs)蛋白和粘附连接(adheren junctions, AJs)蛋白表达减少; 进一步给予大鼠LGG饮食, 发现LGG可以阻止TJs蛋白和AJs蛋白表达减少, 进而保护大鼠肠粘膜免受损伤. (3)LGG可通过其他机制来增强肠上皮屏障功能. Henry等^[27]发现使用鼠李糖乳杆菌预处理上皮细胞, 可使其免受出血型大肠埃希菌的侵害, 其原因是LGG可加固肠黏膜屏障, 帮助肠上皮层抵御致病菌入侵. 进一步研究发现LGG对肠道屏障功能保护作用需要菌毛粘附蛋白SpaC的参与^[28].

2.3 抗炎作用 IBS的发病可能与促炎性细胞因子和炎症抑制因子之间的失衡有关. IBS患者回肠末端、空肠和结肠的肥大细胞数量增多和功能异常, 并且CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺的T淋巴细胞的数量也明显增多.

LGG可能具有抗炎作用. 首先, LGG通过影响NF- κ B途径来发挥抗炎作用. Yang等^[29]应用婴儿沙门氏菌诱导猪的肠道出现炎症, 随后外源性补充LGG后发现其可上调T-bet、激活STAT3通路和下调CCL2通路减轻肠道炎症; 该研究团队进一步发现LGG之所以能够在沙门氏菌感染的猪模型中发挥抗炎作用, 主要是因为其通过抑制NF- κ B途径来减少在肠道中NLRP6介导的炎症小体^[30]. 另有研究发现^[31]幼年大鼠摄入二氧化钛纳米粒子(titanium dioxide nanoparticles, TiO₂ NPs)可引起结肠上皮组织炎症性损伤, 口服LGG可以通过下调NF- κ B的表达改善幼鼠结肠损伤. 不仅LGG能够通过影响NF- κ B途径发挥抗炎作用, LGG部分结构成分同样可以影响NF- κ B途径发挥抗炎作用. 研究发现^[32]LGG的部分成分[表层蛋白(surface layer protein, SLP); 基因组DNA(gDNA); 未甲基化的胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤的寡脱氧核苷酸(CpG-ODN)]可以抑制LPS所诱导的TLR/MAPK/NF- κ B信号传导通路的激活, 减少炎症因子TNF- α 和IL-6的产生, 对上皮细胞有抗炎作用. 其次, LGG通过影响肠上皮自噬作用来发挥抗炎作用. LGG可以通过促进表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的激活和Akt的磷酸化, 进而抑制沙门氏菌所导致的猪结肠炎模型中的上皮自噬作用, 从而抑制肠上皮细胞死亡^[33], 说明LGG可以恢复自噬相关的肠上皮屏障功能进而减少炎症并控制感染. 另外, 研究发现^[34]LGG和嗜酸乳杆菌的上清液通过抑制人单核细胞THP-1中MMP-9基因的表达, 增加金属蛋白酶组织抑制因子TIMP-1的表达和减少CD147表达, 从而使炎症因子的活性下降, 同样说明LGG具有抗炎作用.

2.4 调节肠道免疫 IBS患者结肠黏膜免疫系统被激活, 大量免疫细胞浸润, 炎症细胞因子释放. PI-IBS患者肠黏膜活检中肥大细胞、淋巴细胞等免疫细胞数量增加,

细胞因子产生增多, 以上说明膜免疫可能参与了IBS的发生. LGG及其上清液均具有调节肠道免疫的功能. 首先LGG具有调节肠道免疫的功能: (1)动物试验研究: Shen等^[35]将从LGG分泌的p40喂养野生型小鼠, 小鼠出生后第2-21天伴随早期IgA的产生, p40同时能够调节T细胞的分化, 这些发现揭示了p40在新生小鼠肠道功能的成熟和先天免疫方面可发挥作用. 另外, LGG通过调节TLR表达和抑制MAPK和NF- κ B信号传导通路减少炎症因子, 从而对LPS诱导的猪IEC具有免疫调节作用, 这证实了LGG具有调节肠道免疫的功能^[36]. (2)临床试验研究: Sindhu等^[37]发现124名轮状病毒感染的儿童出现腹泻后给予LGG治疗, 患儿IgG的水平显著增加, 肠粘膜通透性显著改善, 以上证明LGG可能参与了免疫调节. 其次, LGG上清液中的成分可能具有调节肠道免疫的功能. 研究表明LGG上清液可激活DC的因子进一步诱导T细胞具有Th1调节表型, 表明了LGG来源的可溶性介质能够调节获得性免疫细胞^[38].

LGG之所以具有调节肠道免疫的功能, 可能与其具有免疫效应的关键物质-脂磷壁酸(lipoteichoic acid, LTA)相关. 研究发现^[39]LTA是乳酸杆菌与宿主相互作用的重要的分子之一, 并且是抗炎和免疫调节作用的关键因素. 因此目前猜测LGG能够调节肠道免疫的功能需要LTA的参与, 但是这需进一步的研究来证实. LGG上清液能够调节免疫, 也可能有LGG代谢分泌产物的参与, 但这也需要进一步的研究证实.

2.5 改善内脏高敏感 IBS患者内脏敏感性异常涉及肠道局部、脑-肠轴等多个层面. 目前普遍认为内脏敏感性异常是IBS的主要病理生理学机制. IBS与内脏高敏感密切相关, 腹泻为主的IBS患者对直肠扩张试验的耐受性明显低于对照组^[40]. 研究表明^[41]肥大细胞在IBS内脏高敏感中发挥重要作用, 肥大细胞活化脱颗粒释放5-HT、组胺等, 使内脏感觉神经纤维致敏, 导致肠道运动功能异常. 目前普遍认为5-HT参与了调节肠道运动功能. Buhner等^[42]对76例IBS患者结肠黏膜活检发现, 黏膜肥大细胞数目和上清液中5-HT、组胺含量明显高于对照组.

LGG可以通过改善内脏敏感性进一步改善IBS症状. 动物实验发现给予大鼠LGG和/或益生元聚葡萄糖/半乳糖低聚糖(PDX/GOS)可以通过改善结肠敏感性进一步改善内脏痛觉过敏, 这可能与大脑中神经递质水平的变化有关^[43]. 我们研究发现^[44]LGG上清液可以上调PI-IBS大鼠结肠黏膜SERT的表达, 同时改善大鼠内脏敏感性从而进一步改善IBS. 另外, 关于LGG的临床研究发现了相同的结论: LGG治疗肠易激综合征患儿, 不仅可以改善内脏高敏感, 同时还可以改善患儿的疼痛频率和强

度^[45]; LGG治疗急性胃肠炎患儿可以通过改善内脏高敏感性从而改善腹痛, 并且可以缩短腹泻持续时间^[46].

2.6 抑菌作用 感染后IBS是IBS患者中一种重要类型. 被肠道病毒、细菌或寄生虫感染的患者, 在病原体已被清除及黏膜炎性反应消退后仍可发生IBS样症状, 提示病原微生物感染可能在某些类型的IBS中发挥作用. 益生菌可以用来治疗感染后IBS. 虽然益生菌治疗感染后IBS具体机制不清楚, 但是目前认为可能作用机制如下: (1)益生菌能够黏附在肠黏膜上皮细胞与肠道其他细菌竞争营养物质和空间, 同时加强黏膜屏障, 并阻止病原体入侵. (2)由益生菌产生的有机酸及细菌素可以抑制致病菌的生长, 降低感染后的炎症反应.

LGG除了通过上述机制发挥抑菌作用, 还具有其自身特点的抑菌机制. Petrova等^[47]研究筛选了LGG的基因组序列中两个基因(*LGG_RS_02780*和*LGG_RS_02750*), 它们编码的凝集素样蛋白有N末端保守的L型凝集素结构域, 因此被命名为凝集素样蛋白质1(galectin-like protein 1, Llp1)和凝集素样蛋白质2(galectin-like protein 2, Llp2). Llp1和Llp2具有显著的抑制各种病原体生物膜形成的活性, 包括临床沙门氏菌和尿路病原体大肠杆菌等, 从而达到抑菌作用.

3 结论

本文通过对LGG治疗IBS的可能机制进行了回顾总结. 益生菌LGG在体外实验、动物实验以及临床试验中被证明治疗IBS有效, 其作用机制与调节肠道菌群失调、保护肠道屏障功能、抗炎、调节肠道免疫、改善内脏高敏感和抑菌等有关. 但上述机制仍有很多未能明确. 例如, LGG通过何种具体机制在体内发挥用来治疗IBS并不清楚; LGG代谢产物在治疗IBS过程中是否发挥了重要作用仍需要进一步的研究. 同时临床上应用LGG治疗IBS的研究需要进一步完善, 例如LGG的疗程及剂量仍需进一步确定, 从而为临床安全使用LGG治疗IBS提供更多循证医学证据.

4 参考文献

- Gendi R, Jahan N. Pharmacological and Non-pharmacological Treatments of Irritable Bowel Syndrome and Their Impact on the Quality of Life: A Literature Review. *Cureus* 2020; 12: e9324 [PMID: 32850202 DOI: 10.7759/cureus.9324]
- 中华医学会消化病学分会胃肠功能性疾病协作组, 中华医学会消化病学分会胃肠动力组. 2020年中国肠易激综合征专家共识意见. *中华消化杂志* 2020; 40: 803-818 [DOI:10.3760/cma.j.cn311367-20201116-00660]
- Niewinna K, Zielińska A, Fichna J. Recent advances in the pharmacological management of constipation predominant irritable bowel syndrome. *Expert Opin Pharmacother* 2020; 21: 73-84 [PMID: 31724881 DOI: 10.1097/YCO.0000000000000628]
- Sun JR, Kong CF, Qu XK, Deng C, Lou YN, Jia LQ. Efficacy and safety of probiotics in irritable bowel syndrome: A systematic

- review and meta-analysis. *Saudi J Gastroenterol* 2020; 26: 66-77 [PMID: 31898645 DOI: 10.4103/sjg.SJG_384_19]
- 5 Kankainen M, Paulin L, Tynkkynen S, von Ossowski I, Reunanen J, Partanen P, Satokari R, Vesterlund S, Hendrickx AP, Lebeer S, De Keersmaecker SC, Vanderleyden J, Härmäläinen T, Laukkanen S, Salovuori N, Ritari J, Alatalo E, Korpela R, Mattila-Sandholm T, Lassig A, Hatakka K, Kinnunen KT, Karjalainen H, Saxelin M, Laakso K, Surakka A, Palva A, Salusjärvi T, Auvinen P, de Vos WM. Comparative genomic analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG reveals pili containing a human- mucus binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 17193-17198 [PMID: 19805152 DOI: 10.1073/pnas.0908876106]
- 6 Capurso L. Thirty Years of *Lactobacillus rhamnosus* GG: A Review. *J Clin Gastroenterol* 2019; 53 Suppl 1: S1-S41 [PMID: 30741841 DOI: 10.1097/MCG.0000000000001170]
- 7 Yan F, Cao H, Cover TL, Whitehead R, Washington MK, Polk DB. Soluble proteins produced by probiotic bacteria regulate intestinal epithelial cell survival and growth. *Gastroenterology* 2007; 132: 562-575 [PMID: 17258729 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.11.022]
- 8 Yang L, Higginbotham JN, Liu L, Zhao G, Acra SA, Peek RM Jr, Polk DB, Li H, Yan F. Production of a Functional Factor, p40, by *Lactobacillus rhamnosus* GG Is Promoted by Intestinal Epithelial Cell-Secreted Extracellular Vesicles. *Infect Immun* 2019; 87 [PMID: 31010817 DOI: 10.1128/IAI.00113-19]
- 9 张汉运, 高杰, 何肖龙, 龚泽龙, 万宇, 胡彤彤, 李煜彬, 曹虹. 鼠李糖乳杆菌效应蛋白HM0539增强小鼠对大肠杆菌O157: H7肠道感染的抵抗力. 南方医科大学学报 2020; 40: 211-218 [DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2020.02.20]
- 10 Shen X, Liu L, Peek RM, Acra SA, Moore DJ, Wilson KT, He F, Polk DB, Yan F. Supplementation of p40, a *Lactobacillus rhamnosus* GG-derived protein, in early life promotes epidermal growth factor receptor-dependent intestinal development and long-term health outcomes. *Mucosal Immunol* 2018; 11: 1316-1328 [PMID: 29875401 DOI: 10.1038/s41385-018-0034-3]
- 11 Li Y, Yang S, Lun J, Gao J, Gao X, Gong Z, Wan Y, He X, Cao H. Inhibitory Effects of the *Lactobacillus rhamnosus* GG Effector Protein HM0539 on Inflammatory Response Through the TLR4/MyD88/NF- κ B Axis. *Front Immunol* 2020; 11: 551449 [PMID: 33123130 DOI: 10.3389/fimmu.2020.551449]
- 12 李慧英. 鼠李糖乳杆菌(LGG)的功能特性及其应用前景. 临床医药文献电子杂志 2017; 50: 9889-9891 [DOI: 10.3877/j.issn.2095-8242.2017.50.135]
- 13 Szajewska H, Hojsak I. Health benefits of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium animalis* subspecies lactis BB-12 in children. *Postgrad Med* 2020; 132: 441-451 [PMID: 32059116 DOI: 10.1080/00325481.2020.1731214]
- 14 Shukla R, Ghoshal U, Dhole TN, Ghoshal UC. Fecal Microbiota in Patients with Irritable Bowel Syndrome Compared with Healthy Controls Using Real-Time Polymerase Chain Reaction: An Evidence of Dysbiosis. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 2953-2962 [PMID: 25784074 DOI: 10.1007/s10620-015-3607-y]
- 15 Chen L, Li H, Li J, Chen Y, Yang Y. *Lactobacillus rhamnosus* GG treatment improves intestinal permeability and modulates microbiota dysbiosis in an experimental model of sepsis. *Int J Mol Med* 2019; 43: 1139-1148 [PMID: 30628657 DOI: 10.3892/ijmm.2019.4050]
- 16 Yoon H, Park YS, Lee DH, Seo JG, Shin CM, Kim N. Effect of administering a multi-species probiotic mixture on the changes in fecal microbiota and symptoms of irritable bowel syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Biochem Nutr* 2015; 57: 129-134 [PMID: 26388670 DOI: 10.3164/jcbn.15-14]
- 17 Sansotta N, Peroni DG, Romano S, Rugiano A, Vuilleumier P, Baviera G; Italian Society of Pediatric Allergy, Immunology (SIAIP), Microbiota Committee, Italy. The good bugs: the use of probiotics in pediatrics. *Curr Opin Pediatr* 2019; 31: 661-669 [PMID: 31356353 DOI: 10.1097/MOP.0000000000000808]
- 18 Korpela K, Salonen A, Virta LJ, Kumpu M, Kekkonen RA, de Vos WM. *Lactobacillus rhamnosus* GG Intake Modifies Preschool Children's Intestinal Microbiota, Alleviates Penicillin-Associated Changes, and Reduces Antibiotic Use. *PLoS One* 2016; 11: e0154012 [PMID: 27111772 DOI: 10.1371/journal.pone.0154012]
- 19 Pagnini C, Corleto VD, Martorelli M, Lanini C, D'Ambra G, Di Giulio E, Delle Fave G. Mucosal adhesion and anti-inflammatory effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the human colonic mucosa: A proof-of-concept study. *World J Gastroenterol* 2018; 24: 4652-4662 [PMID: 30416313 DOI: 10.3748/wjg.v24.i41.4652]
- 20 Lebeer S, Claes I, Tytgat HL, Verhoeven TL, Marien E, von Ossowski I, Reunanen J, Palva A, Vos WM, Keersmaecker SC, Vanderleyden J. Functional analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG pili in relation to adhesion and immunomodulatory interactions with intestinal epithelial cells. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78: 185-193 [PMID: 22020518 DOI: 10.1128/AEM.06192-11]
- 21 Alander M, Korpela R, Saxelin M, Vilpponen-Salmela T, Mattila-Sandholm T, von Wright A. Recovery of *Lactobacillus rhamnosus* GG from human colonic biopsies. *Lett Appl Microbiol* 1997; 24: 361-364 [PMID: 9172443 DOI: 10.1046/j.1472-765x.1997.00140.x]
- 22 Darby TM, Naudin CR, Luo L, Jones RM. *Lactobacillus rhamnosus* GG-induced Expression of Leptin in the Intestine Orchestrates Epithelial Cell Proliferation. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2020; 9: 627-639 [PMID: 31874255 DOI: 10.1016/j.jcmgh.2019.12.004]
- 23 Wang L, Cao H, Liu L, Wang B, Walker WA, Acra SA, Yan F. Activation of epidermal growth factor receptor mediates mucin production stimulated by p40, a *Lactobacillus rhamnosus* GG-derived protein. *J Biol Chem* 2014; 289: 20234-20244 [PMID: 24895124 DOI: 10.1074/jbc.M114.553800]
- 24 Gao J, Li Y, Wan Y, Hu T, Liu L, Yang S, Gong Z, Zeng Q, Wei Y, Yang W, Zeng Z, He X, Huang SH, Cao H. A Novel Postbiotic From *Lactobacillus rhamnosus* GG With a Beneficial Effect on Intestinal Barrier Function. *Front Microbiol* 2019; 10: 477 [PMID: 30923519 DOI: 10.3389/fmicb.2019.00477]
- 25 Han X, Lee A, Huang S, Gao J, Spence JR, Owyang C. *Lactobacillus rhamnosus* GG prevents epithelial barrier dysfunction induced by interferon-gamma and fecal supernatants from irritable bowel syndrome patients in human intestinal enteroids and colonoids. *Gut Microbes* 2019; 10: 59-76 [PMID: 30040527 DOI: 10.1080/19490976.2018.1479625]
- 26 Orlando A, Linsalata M, Bianco G, Notarnicola M, D'Attoma B, Scavo MP, Tafaro A, Russo F. *Lactobacillus rhamnosus* GG Protects the Epithelial Barrier of Wistar Rats from the Pepsin-Trypsin-Digested Gliadin (PTG)-Induced Enteropathy. *Nutrients* 2018; 10 [PMID: 30405050 DOI: 10.3390/nu10111698]
- 27 Johnson-Henry KC, Donato KA, Shen-Tu G, Gordanpour M, Sherman PM. *Lactobacillus rhamnosus* strain GG prevents enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7-induced changes in epithelial barrier function. *Infect Immun* 2008; 76: 1340-1348 [PMID: 18227169 DOI: 10.1128/IAI.00778-07]
- 28 Ardita CS, Mercante JW, Kwon YM, Luo L, Crawford ME, Powell DN, Jones RM, Neish AS. Epithelial adhesion mediated by piliin SpaC is required for *Lactobacillus rhamnosus* GG-induced cellular responses. *Appl Environ Microbiol* 2014; 80: 5068-5077 [PMID: 24928883 DOI: 10.1128/AEM.01039-14]
- 29 Yang GY, Yu J, Su JH, Jiao LG, Liu X, Zhu YH. Oral Administration of *Lactobacillus rhamnosus* GG Ameliorates Salmonella Infantis-Induced Inflammation in a Pig Model via

- Activation of the IL-22BP/IL-22/STAT3 Pathway. *Front Cell Infect Microbiol* 2017; 7: 323 [PMID: 28770173 DOI: 10.3389/fcimb.2017.00323]
- 30 Yu J, Zhu YH, Yang GY, Zhang W, Zhou D, Su JH, Wang JF. Anti-inflammatory capacity of Lactobacillus rhamnosus GG in monophasic variant Salmonella infected piglets is correlated with impeding NLRP6-mediated host inflammatory responses. *Vet Microbiol* 2017; 210: 91-100 [PMID: 29103703 DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.08.008]
 - 31 Zhao Y, Tang Y, Chen L, Lv S, Liu S, Nie P, Aguilar ZP, Xu H. Restraining the TiO₂ nanoparticles-induced intestinal inflammation mediated by gut microbiota in juvenile rats via ingestion of Lactobacillus rhamnosus GG. *Ecotoxicol Environ Saf* 2020; 206: 111393 [PMID: 33010597 DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111393]
 - 32 Qi SR, Cui YJ, Liu JX, Luo X, Wang HF. Lactobacillus rhamnosus GG components, SLP, gDNA and CpG, exert protective effects on mouse macrophages upon lipopolysaccharide challenge. *Lett Appl Microbiol* 2020; 70: 118-127 [PMID: 31782817 DOI: 10.1111/lam.13255]
 - 33 Zhang W, Zhu YH, Yang GY, Liu X, Xia B, Hu X, Su JH, Wang JF. Lactobacillus rhamnosus GG Affects Microbiota and Suppresses Autophagy in the Intestines of Pigs Challenged with Salmonella Infantis. *Front Microbiol* 2017; 8: 2705 [PMID: 29403451 DOI: 10.3389/fmicb.2017.02705]
 - 34 Maghsood F, Mirshafiey A, Farahani MM, Modarressi MH, Jafari P, Motevaseli E. Dual Effects of Cell Free Supernatants from Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus rhamnosus GG in Regulation of MMP-9 by Up-Regulating TIMP-1 and Down-Regulating CD147 in PMADifferentiated THP-1 Cells. *Cell J* 2018; 19: 559-568 [PMID: 29105390 DOI: 10.22074/cellj.2018.4447]
 - 35 Shen X, Liu L, Peek RM, Acra SA, Moore DJ, Wilson KT, He F, Polk DB, Yan F. Supplementation of p40, a Lactobacillus rhamnosus GG-derived protein, in early life promotes epidermal growth factor receptor-dependent intestinal development and long-term health outcomes. *Mucosal Immunol* 2018; 11: 1316-1328 [PMID: 29875401 DOI: 10.1038/s41385-018-0034-3]
 - 36 Gao K, Wang C, Liu L, Dou X, Liu J, Yuan L, Zhang W, Wang H. Immunomodulation and signaling mechanism of Lactobacillus rhamnosus GG and its components on porcine intestinal epithelial cells stimulated by lipopolysaccharide. *J Microbiol Immunol Infect* 2017; 50: 700-713 [PMID: 26055689 DOI: 10.1016/j.jmii.2015.05.002]
 - 37 Sindhu KN, Sowmyanarayanan TV, Paul A, Babji S, Ajampur SS, Priyadarshini S, Sarkar R, Balasubramanian KA, Wanke CA, Ward HD, Kang G. Immune response and intestinal permeability in children with acute gastroenteritis treated with Lactobacillus rhamnosus GG: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis* 2014; 58: 1107-1115 [PMID: 24501384 DOI: 10.1093/cid/ciu065]
 - 38 Ludwig IS, Broere F, Manurung S, Lambers TT, van der Zee R, van Eden W. Lactobacillus rhamnosus GG-Derived Soluble Mediators Modulate Adaptive Immune Cells. *Front Immunol* 2018; 9: 1546 [PMID: 30042761 DOI: 10.3389/fimmu.2018.01546]
 - 39 Claes IJ, Segers ME, Verhoeven TL, Dusselier M, Sels BF, De Keersmaecker SC, Vanderleyden J, Lebeer S. Lipoteichoic acid is an important microbe-associated molecular pattern of Lactobacillus rhamnosus GG. *Microb Cell Fact* 2012; 11: 161 [PMID: 23241240 DOI: 10.1186/1475-2859-11-161]
 - 40 Zuo XL, Li YQ, Shi L, Lv GP, Kuang RG, Lu XF, Li JM, Desmond PV. Visceral hypersensitivity following cold water intake in subjects with irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol* 2006; 41: 311-317 [PMID: 16741609 DOI: 10.1007/s00535-005-1766-x]
 - 41 Ortiz-Lucas M, Saz-Peiró P, Sebastián-Domingo JJ. Irritable bowel syndrome immune hypothesis. Part one: the role of lymphocytes and mast cells. *Rev Esp Enferm Dig* 2010; 102: 637-647 [PMID: 21142384 DOI: 10.4321/s1130-01082010001100004]
 - 42 Buhner S, Li Q, Vignali S, Barbara G, De Giorgio R, Stanghellini V, Cremon C, Zeller F, Langer R, Daniel H, Michel K, Schemann M. Activation of human enteric neurons by supernatants of colonic biopsy specimens from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2009; 137: 1425-1434 [PMID: 19596012 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.07.005]
 - 43 Kannampalli P, Pochiraju S, Chichlowski M, Berg BM, Rudolph C, Bruckert M, Miranda A, Sengupta JN. Probiotic Lactobacillus rhamnosus GG (LGG) and prebiotic prevent neonatal inflammation-induced visceral hypersensitivity in adult rats. *Neurogastroenterol Motil* 2014; 26: 1694-1704 [PMID: 25298006 DOI: 10.1111/nmo.12450]
 - 44 Cao YN, Feng LJ, Liu YY, Jiang K, Zhang MJ, Gu YX, Wang BM, Gao J, Wang ZL, Wang YM. Effect of Lactobacillus rhamnosus GG supernatant on serotonin transporter expression in rats with post-infectious irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2018; 24: 338-350 [PMID: 29391756 DOI: 10.3748/wjg.v24.i3.338]
 - 45 Horvath A, Dziechciarz P, Szajewska H. Meta-analysis: Lactobacillus rhamnosus GG for abdominal pain-related functional gastrointestinal disorders in childhood. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 1302-1310 [PMID: 21507030 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04665.x]
 - 46 Szajewska H, Skórka A, Ruszczyński M, Gieruszczak-Białek D. Meta-analysis: Lactobacillus GG for treating acute gastroenteritis in children--updated analysis of randomised controlled trials. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 467-476 [PMID: 23841880 DOI: 10.1111/apt.12403]
 - 47 Petrova MI, Imholz NC, Verhoeven TL, Balzarini J, Van Damme EJ, Schols D, Vanderleyden J, Lebeer S. Lectin-Like Molecules of Lactobacillus rhamnosus GG Inhibit Pathogenic Escherichia coli and Salmonella Biofilm Formation. *PLoS One* 2016; 11: e0161337 [PMID: 27537843 DOI: 10.1371/journal.pone.0161337]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



创伤性颅脑外伤合并急性胃肠功能损伤患者血清中热休克蛋白70水平的变化及意义

魏文桂, 张雪琴, 张艳景, 田野

魏文桂, 张雪琴, 张艳景, 田野, 天津医科大学总医院神经外科 天津市 300052

魏文桂, 本科, 主管护师, 主要研究方向为神经外科.

作者贡献分布: 此课题由魏文桂, 张雪琴, 张艳景及田野设计; 研究过程由魏文桂, 张雪琴, 张艳景, 田野操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张雪琴, 张艳景, 田野提供; 数据分析由魏文桂完成; 本论文写作由魏文桂, 田野完成.

通讯作者: 田野, 博士研究生, 主治医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院神经外科. tianye030710@163.com

收稿日期: 2021-01-08

修回日期: 2021-01-19

接受日期: 2021-03-15

在线出版日期: 2021-04-08

Significance of changes of serum heat shock protein 70 levels in patients with traumatic brain injury and acute gastrointestinal injury

Wen-Gui Wei, Xue-Qin Zhang, Yan-Jing Zhang, Ye Tian

Wen-Gui Wei, Xue-Qin Zhang, Yan-Jing Zhang, Ye Tian, Department of Neurosurgery, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Corresponding author: Ye Tian, Doctoral Candidate, Attending Physician, Department of Neurosurgery, Tianjin Medical University General Hospital, No. 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. tianye030710@163.com

Received: 2021-01-08

Revised: 2021-01-19

Accepted: 2021-03-15

Published online: 2021-04-08

Abstract

BACKGROUND

At present, most researchers believe that serum heat

shock protein 70 (HSP70) has a high sensitivity when gastrointestinal function is damaged and it is a sensitive indicator of early intestinal ischemia. However, there are few studies on the role of serum HSP70 in the evaluation of gastrointestinal function in patients with traumatic brain injury (TBI), which is worthy of further study.

AIM

To explore the significance of changes of serum heat shock protein 70 (HSP70) levels in patients with TBI combined with acute gastrointestinal injury (AGI).

METHODS

A total of 133 patients with TBI and AGI who were treated and hospitalized at the intensive care unit of Tianjin Medical University General Hospital from March 2019 to October 2020 were selected as the research subjects. According to the modified Glasgow coma scoring method combined with the clinical classification criteria of traumatic brain injury, the study subjects were divided into three groups: 63 cases of mild type, 32 cases of moderate type, and 38 cases of severe type. According to the AGI grading standard, the study subjects were divided into 68 cases of grade I AGI, 37 cases of grade II, 17 cases of grade III, and 11 cases of grade IV. Another 50 patients with no history of TBI and basic diseases of various systems who underwent routine physical examination at our hospital were selected as a control group. Serum HSP70 levels were compared between patients with different brain trauma types and different AGI grades and the control group. The correlation of serum HSP70 levels of TBI patients with AGI and the degree with brain injury and AGI grades was analyzed. The performance of serum HSP70 levels in the diagnosis of TBI with AGI was evaluated.

RESULTS

On the day of admission, as the degree of brain injury worsened, serum HSP70 level gradually increased,

and HSP70 levels of various types were significantly higher than those in the control group. As the AGI grade increased, serum HSP70 level also gradually increased. And the HSP70 levels of each grade were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). On the 3rd day of admission, serum HSP70 levels of each type were significantly lower than the values on the day of admission, but the values were still higher than those in the control group. And serum HSP70 level of each grade was significantly lower than the value on the day of admission, but the value was still significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis indicated that serum HSP70 levels were significantly positively correlated with the degree of brain injury and AGI grades in patients with TBI and AGI ($r_s = 0.802$ and 0.836 , respectively, $P < 0.01$). ROC curve analysis showed that the accuracy of serum HSP70 in the diagnosis of TBI combined with AGI was relatively high, with an AUC of 0.803 and $95\% \text{ CI}$ of $0.720-0.872$. When the best cutoff value was 258.50 ng/L , the sensitivity was 80.94% , the specificity was 87.93% , and the Youden index was 0.501 .

CONCLUSION

Serum HSP70 in patients with TBI combined with AGI is significantly up-regulated, which may be related to the progression of the disease and has high diagnostic value for TBI combined with AGI.

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

Key Words: Traumatic brain injury; Gastrointestinal function; Acute injury; Heat shock protein 70; Disease progression; Diagnostic efficacy

Citation: Wei WG, Zhang XQ, Zhang YJ, Tian Y. Significance of changes of serum heat shock protein 70 levels in patients with traumatic brain injury and acute gastrointestinal injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(7): 372-377
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/372.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i7.372>

摘要

背景

目前多数研究者们认为在胃肠功能受损时, 血清HSP70具有较高的敏感性, 为早期肠缺血的敏感指标, 但血清中热休克蛋白70(HSP70)在创伤性颅脑外伤(trumatic head injury, TBI)患者的胃肠功能评估中的研究较少, 值得进一步研究。

目的

探究TBI合并急性胃肠功能损伤(acute gastrointestinal impairment, AGI)患者HSP70水平的变化及意义。

方法

选取2019-03/2020-10期间天津医科大学总医院重症

监护病房就诊并住院的TBI合并AGI患者133例作为研究对象, 按照改良Glasgow昏迷评分法并结合创伤性颅脑损伤临床分型标准, 将研究对象分为轻型63例, 中型32例, 重型38例; 按照AGI分级标准, 将研究对象分为AGI I级68例, AGI II级37例, AGI III级17例, AGI IV级11例。另选取50例于我院进行常规体检的无颅脑外伤病史、各系统基础疾病者作为对照组。比较不同脑外伤程度及不同AGI分级患者与对照组血清中HSP70水平, 并分析TBI合并AGI患者血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级的相关性, 同时分析其单独诊断TBI合并AGI的诊断效能。

结果

入院当天, 随着脑损伤程度的加重, 血清HSP70水平也逐渐升高, 且各型HSP70水平均显著高于对照组患者, 而随着AGI分级的提高, 血清HSP70水平也逐渐升高, 且各分级HSP70水平均显著高于对照组患者, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 入院第3天, 各型血清HSP70水平较入院当天数值明显降低, 但数值仍高于对照组患者, 而各分级血清HSP70水平较入院当天数值明显降低, 但数值仍高于对照组患者, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); Pearson检验发现, TBI合并AGI患者血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级均呈显著正相关($r_s = 0.802$ 、 0.836 , $P < 0.01$); ROC曲线显示, 血清HSP70诊断TBI合并AGI的试验准确性较高, AUC为 0.803 , $95\% \text{ CI}$ 为 $0.720-0.872$ 。当最佳截断值为 258.50 ng/L 时, 敏感度为 80.94% , 特异度为 87.93% , 约登指数为 0.501 。

结论

HSP70在TBI合并AGI患者血清中的表达显著上调, 可能与疾病发展进程有关, 对TBI合并AGI有较高的诊断价值。

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

关键词: 创伤性颅脑外伤; 胃肠功能; 急性损伤; 热休克蛋白70; 疾病发展进程; 诊断效能

核心提要: 现阶段常用于评价胃肠功能障碍的标准为急性胃肠功能损伤(acute gastrointestinal impairment, AGI)分级标准, 但评价医生的主观因素对此分级标准的结果有很大的影响, 而本文选取血清中热休克蛋白70(HSP70)这一生物标志物来反应创伤性颅脑外伤(trumatic head injury, TBI)合并AGI患者疾病进程, 这为临床治疗提供一定的参考依据。

文献来源: 魏文桂, 张雪琴, 张艳景, 田野. 创伤性颅脑外伤合并急性胃肠功能损伤患者血清中热休克蛋白70水平的变化及意义. *世界华人消化杂志* 2021; 29(7): 372-377

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/372.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i7.372>

0 引言

创伤性颅脑外伤(trumatic brain injury, TBI)在临床中属于较为常见的一种脑外伤, 随着我国交通事业的快速发展及城市流动人口的增多, 其患病率日益增加^[1]。既往研究发现^[2], 当机体遭受严重创伤、颅脑损伤等危及情况时, 会诱发胃肠等脏器部位血管收缩, 使胃肠局部血流减少, 致使胃肠道成为极易受损的靶器官, 也更容易继发贯穿性的多器官功能衰竭, 对患者今后的康复带来诸多不利。现阶段临床多以急性胃肠损伤(acute gastrointestinal injury, AGI)分级标准评价胃肠功能障碍, 但考虑到此分级标准主要依靠临床医生, 受主观因素影响较大, 故而探究更为客观的生物标志物对TBI患者发生AGI的早期诊断和病情评估有重要意义^[3,4]。热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)在HSPs家族中是最为重要、功能最多、应激反应中最敏感的成员, 既往多用于判断心力衰竭和细菌性肺炎患者的预后^[5,6], 而近年来随着研究的深入, 人们发现HSP70可发挥多种应激保护作用促使组织从应激中恢复, 在保护胃肠道黏膜, 预防应激性溃疡方面起着举足轻重的作用^[7]。然而, 目前关于血清HSP70的这种变化是否与TBI继发AGI的病变状态相关尚不明确, 为此, 本研究通过探讨血清HSP70在TBI合并AGI患者外周血中的表达, 以期为临床预防 and 针对性治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2019-03/-2020-10期间天津医科大学总医院重症监护病房就诊并住院的TBI合并AGI患者133例作为研究对象, 男73例, 女60例, 年龄20-65(39.85±8.61)岁, 按照改良Glasgow昏迷评分法并结合创伤性颅脑损伤临床分型标准, 将研究对象分为轻型(指单纯性脑震荡伴有或无颅骨骨折)63例, 中型(指轻度脑挫裂伤或无颅骨骨折及蛛网膜下腔出血, 无脑受压者)32例, 重型(指广泛颅骨骨折, 广泛脑挫裂伤及脑干损伤或颅内血肿)38例; 按照急性肠胃损伤(acute gastrointestinal injury, AGI)分级标准, 将研究对象分为AGI I级(有发生胃肠功能不全或衰竭的风险)68例, AGI II级(胃肠功能障碍)37例, AGI III级(胃肠功能衰竭)17例, AGI IV级(胃肠功能衰竭伴有远隔器官功能障碍)11例。另选取50例于我院进行常规体检的无颅脑外伤病史、各系统基础疾病者作为对照组, 男27例, 女23例, 年龄20-63(39.17±8.44)岁。本研究由我院医学伦理委员会审批且批准。

1.1.1 诊断标准: 经全面的体格检查和头颅X线平片、头颅CT或头颅磁共振等检测诊断为颅脑外伤, 包括有^[8]: (1)头皮伤: 挫伤, 裂伤, 头皮血肿; (2)火器性颅脑开放伤;

(3)脑损伤: 原发性脑损伤, 继发性脑损伤; (4)颅骨骨折: 颅盖骨折, 颅底骨折。急性胃肠功能损伤诊断符合2012年欧洲重症医学会发布的相关定义^[9]。

1.1.2 纳入标准: (1)年龄>18岁; (2)近1个月内未持续应用抗生素、微生态制剂、激素等药物; (3)无合并消化系统基础疾病或者直接损伤; (4)病例资料完整, 患者及家属均自愿参加并签署知情同意书。

1.1.3 排除标准: (1)近7天内接受过外科手术或输注血液制品者; (2)入院前已经存在其他系统感染性疾病者; (3)近3个月内参加其他临床实验者; (4)存在免疫缺陷疾病病史、器官移植病史或长期应用免疫抑制剂者; (5)存在意识或精神障碍者; (6)因感染中毒、灼伤、失血、脱水、缺氧等其他影响因素所引起的急性胃肠功能损伤。

1.1.4 剔除标准: (1)自动出院或中途退出研究, 或不愿配合医护人员完成本次试验者; (2)已进入试验但发现患者不符合本研究纳入标准或其符合排除标准。

1.2 方法 所有研究对象入院当天抽取2 mL空腹血, 对照组患者于门诊体检时留取外周血标本, 均常温下20 min凝固, 离心收集血清, 用酶联免疫吸附法检测血清HSP70水平, 试剂盒(济南来宝医疗器械有限公司生产)检测, 酶标仪选用济南来宝医疗器械有限公司生产的博科BIOBASE-EL10A酶标仪。将标本和样本在各待测孔放置, 根据操作要求滴度试剂, 使用内源性过氧化物酶进行室温封闭1 h后, 再次洗涤样本拍干, 向每个样孔中加入50 μ L的终止液, 孔中颜色由蓝色变为黄色, 并使用波长为450 nm的酶标仪在30 min内测定吸光度(OD)值, 通过测绘OD标准曲线, 计算样本和标本浓度^[10]。这一过程中若样孔的颜色为绿色或颜色变化不均匀, 轻轻敲打板以确保充分混合。

统计学处理 利用SPSS 20.0软件分析, 年龄、PDCD5等计量资料经正态性检验符合正态性分布, 以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用LSD-*t*检验。性别等计数资料采用率(%)表示, 应用 χ^2 检验分析。对TBI合并AGI患者血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级的相关关系检验采用person相关分析, 绘制ROC评价血清HSP70对TBI继发AGI的诊断效能, $P < 0.05$ 时具统计学意义。

2 结果

2.1 不同脑外伤程度的TBI合并AGI患者和对照组血清HSP70水平比较 入院当天, 随着脑损伤程度的加重, 血清HSP70水平也逐渐升高, 且各型HSP70水平均显著高于对照组患者, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 入院第3天, 各型血清HSP70水平较入院当天数值明显降低, 但数值仍高于对照组患者, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

见表1.

2.2 不同AGI分级TBI合并AGI和对照组血清HSP70水平比较 入院当天, 随着AGI分级的提高, 血清HSP70水平也逐渐升高, 且各分级HSP70水平均显著高于对照组患者, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 入院第3天, 各分级血清HSP70水平较入院当天数值明显降低, 但数值仍高于对照组患者, 差异均有统计学意义($P<0.05$). 见表2.

2.3 TBI合并AGI血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级的关系 Pearson检验发现, TBI合并AGI患者血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级均呈显著正相关($r_s = 0.802、0.836, P<0.01$).

2.4 血清HSP70水平对TBI合并AGI患者的诊断价值 ROC曲线显示, 血清HSP70诊断TBI合并AGI的试验准确性较高, AUC为0.803, 95%CI为0.720-0.872. 当最佳截断值为258.50 ng/L时, 敏感度为80.94%, 特异度为87.93%, 约登指数为0.501. 见图1.

3 讨论

胃肠功能障碍系TBI后合并缺氧、代谢性酸中毒、细菌感染、休克等造成胃肠道缺血再灌注、炎症介质、黏膜功能障碍等诱发的并发症, 其不单会诱发消化吸收障碍, 营养不良, 还会加重已存在的炎症免疫紊乱, 是TBI患者病情加重或恶化的重要标志之一^[11,12]. 现阶段有关TBI后AGI的发生仍然了解不多, 更是缺乏反映TBI合并AGI严重程度的敏感性指标^[13], 故此, 应寻找早期合适的TBI合并AGI监测指标, 以反映其疾病严重程度及预后.

本研究结果显示, 轻度TBI患者入院血清HSP70水平较健康正常者明显偏高, 分析原因可能是轻度TBI患者在临床表现上虽未表现出明显的胃肠道症状, 但由于应激状态、炎症反应、血流重新分布等多种因素互相作用, 胃肠黏膜层已经开始出现缺血缺氧状态, 这就导致胃肠黏膜受到应激原刺激而迅速诱导HSP70的合成, 表现为循环内HSP70水平升高, 在损伤早期即具有提示作用^[14]. 而中、重度TBI患者多处于休克及大量毒素存在的情况, 而内毒素、细菌移位进入血液循环导致炎症反应加剧甚至失控, 再加之胃肠黏膜长期处于缺血缺氧状态, 发生再灌注损伤, 继而导致已受损的胃肠黏膜进一步遭到破坏, 肠黏膜绒毛组织内的HSP70大量表达并持续释放入血, 并启动后续的免疫反应, 进一步加重病情^[15]. 故此, 随着TBI病情的加重, 血清HSP70水平也呈不断升高趋势. 另外, 本研究也发现, 随着AGI分级的提高, 血清HSP70水平也逐渐升高, 且各分级HSP70水平均显著高于对照组患者, 提示当HSP70水平升高时, 缺血损害已侵及肠黏膜肌层. 本研究也进一步对入院第3天

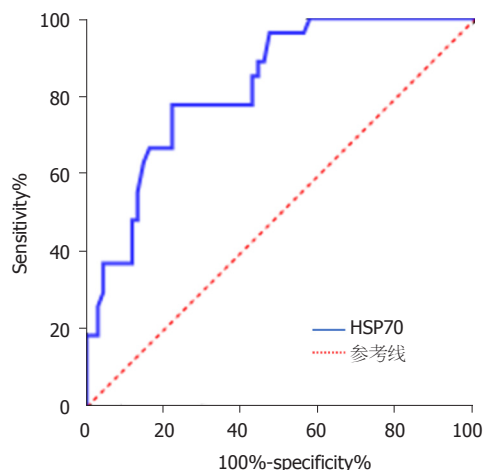


图1 ROC曲线分析.

时各组血清HSP70水平进行检测, 发现各组入院第3天时的血清HSP70水平较入院当天均有所下降, 这也提示了HSP70水平与TBI患者疾病进程和胃肠功能障碍程度有关, 经过住院治疗, 其胃肠功能损伤较前均有所好转.

HSP70是热休克蛋白家族中的一员, 普遍存在于内质网、细胞质及细胞核中, 能感知细胞内炎症和凋亡信号变化, 并对此做出反应, 进一步起到维持细胞内环境的稳态及稳定细胞膜结构的作用^[16-18]. 余文雯等^[17]研究显示HSP70可能通过抑制细胞凋亡和炎症反应, 对机体各器官发挥保护作用. 曾志刚等人^[19]同样也表明, HSP70在高温、化学刺激等应激情况下可大量表达, 且能够促进多种因素导致的胃肠道黏膜细胞损伤的恢复. 杨海娜等人^[20]就通过对130例重症肺炎患者进行研究发现, 血清HSP70与可用来诊断及评估重症肺炎合并胃肠功能障碍的预后情况. 但是, 血清HSP70在判断TBI合并AGI的严重程度中的效果仍不明确. 进一步, 我们分析了HSP70与TBI合并AGI的相关性, 结果发现, TBI合并AGI患者血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级均呈显著正相关($r_s = 0.802、0.836, P<0.01$), 同时本研究拟合血清HSP70诊断TBI合并AGI的ROC曲线发现, 血清HSP70诊断TBI患者并发AGI的AUC为0.803, 95%CI为0.720-0.872. 当最佳截断值为258.50 ng/L时, 敏感度为80.94%, 特异度为87.93%. 这一结果提示血清HSP70可作为肠道损伤的实时监测指标, 观察其变化趋势, 可能助于TBI合并AGI患者预后的判断.

4 结论

综上所述, HSP70在TBI合并AGI患者血清中的表达显著上调, 可能与疾病发展进程有关, 对TBI合并AGI有较高的诊断价值, 为临床TBI合并AGI的防治提供了新的研究方向和思路. 然而, 本研究仍存在一些不足之处, 如单

表 1 不同程度脑外伤的TBI合并AGI和对照组血清HSP70水平比较(mean ± SD)

| 项目 | 例数 | HSP70 (ng/L) | | <i>t</i> | <i>P</i> 值 |
|------------|----|----------------|----------------|----------|------------|
| | | 入院当天 | 入院第3天 | | |
| 轻型 | 63 | 184.58 ± 21.31 | 135.40 ± 14.19 | 15.247 | 0.000 |
| 中型 | 32 | 236.79 ± 25.66 | 192.58 ± 20.36 | 7.635 | 0.000 |
| 重型 | 38 | 302.53 ± 31.87 | 243.63 ± 25.05 | 8.957 | 0.000 |
| 对照组 | 50 | 117.68 ± 20.50 | — | | |
| <i>F</i> 值 | | 8.456 | 8.152 | | |
| <i>P</i> 值 | | 0.000 | 0.000 | | |

TBI: 创伤性颅脑外伤; AGI: 急性胃肠损伤; HSP70: 热休克蛋白70.

表 2 不同AGI分级TBI合并AGI和对照组血清HSP70水平比较(mean ± SD)

| 项目 | 例数 | HSP70 (ng/L) | | <i>t</i> | <i>P</i> 值 |
|------------|----|----------------|----------------|----------|------------|
| | | 入院当天 | 入院第3天 | | |
| AGI I级 | 68 | 170.70 ± 17.22 | 129.50 ± 14.27 | 15.191 | 0.000 |
| AGI II级 | 37 | 245.20 ± 25.84 | 201.28 ± 21.98 | 7.875 | 0.000 |
| AGI III级 | 17 | 283.51 ± 29.48 | 249.14 ± 29.26 | 3.412 | 0.002 |
| AGI IV级 | 11 | 317.34 ± 32.30 | 260.79 ± 33.29 | 4.044 | 0.001 |
| 对照组 | 50 | 117.68 ± 20.50 | — | | |
| <i>F</i> 值 | | 8.456 | 8.152 | | |
| <i>P</i> 值 | | 0.000 | 0.000 | | |

TBI: 创伤性颅脑外伤; AGI: 急性胃肠损伤; HSP70: 热休克蛋白70.

中心回顾研究、样本量有限、未继续长期随访以及继续进行调节机制的研究等, 因此尚需后续进一步更大样本量、设计严谨的多中心研究推广该结论, 以期TBI合并AGI患者的临床治疗提供一定的参考依据。

文章亮点

实验背景

创伤性颅脑外伤(traumatic head injury, TBI)在目前对世界范围的各个国家来说都是一个重要的公共问题, 而此类患者普遍危重病评分值低、严重感染、休克等均增加了急性胃肠功能损伤(acute gastrointestinal impairment, AGI)发生的风险. 近年来, 人们对胃肠黏膜屏障, 免疫功能等也有了进一步深入的了解, 胃肠功能的损害在脑外伤所致的全身炎症反应综合征、脓毒症或器官功能衰竭的连续发生发展中占据的重要地位也逐渐被重视。

实验动机

现阶段评价胃肠功能障碍的标准多受评价医生的主观因素的影响, 且有关TBI患者肠胃功能评价标准更是缺乏, 因此, 应寻找更客观的生物学指标提供依据。

实验目标

探讨血清中热休克蛋白70(HSP70)对TBI的病情严重程度和胃肠功能损伤程度的反映情况, 并且探讨其对TBI患者合并AGI的诊断价值。

实验方法

选取符合入选标准的133例TBI合并AGI患者, 按照改良Glasgow昏迷评分法并结合创伤性颅脑损伤临床分型标准, 将研究对象分为轻型63例, 中型32例, 重型38例; 按照AGI分级标准, 将研究对象分为AGI I级68例, AGI II级37例, AGI III级17例, AGI IV级11例. 另选取50例健康体检作为对照组. 比较不同脑外伤程度及不同AGI分级患者与对照组血清中HSP70水平, 并分析TBI合并AGI患者血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级的相关性, 同时分析其单独诊断TBI合并AGI的诊断效能。

实验结果

血清HSP70在TBI合并AGI患者血清中的表达显著上调, 可能与疾病发展进程有关, 对TBI合并AGI有较高的诊断价值。

实验结论

血清HSP70可作为肠道损伤的实时监测指标, 观察其变化趋势, 可能助于TBI合并AGI诊断及预后的判断。

展望前景

我们下一步的工作方向可能分为几个方面: (1)下一步准备扩大样本容量, 继续进行调节机制的研究; (2)深入研究具体细胞信号通路及药物防治; (3)仅提供指示性方向, 而且血清HSP70预测TBI合并AGI患者预后的临床价值也需要进一步研究探讨。

5 参考文献

- 任艳晶, 郝占寅, 陈艳红. 126例车祸伤存活患者创伤后成长状况及相关因素调查分析. 解放军预防医学杂志 2017; 35: 1279-1281
- Inoue H, Hasegawa S, Kajimoto M, Matsushige T, Ichijima T. Traumatic head injury mimicking acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Pediatr Int* 2014; 56: e58-e61 [PMID: 25336011 DOI: 10.1111/ped.12411.]
- 黎宁君, 隋明亮, 吴长江, 胡贤著, 朱团结. 严重创伤患者早期肠黏膜屏障功能检测的临床意义. 吉林医学 2017; 38: 1437-1440
- 张秉欣, 吴建浓, 冯丹丹, 蒋昭清. 重症患者肠屏障功能检测指标的研究进展. 浙江医学 2017; 39: 1127-1130 [DOI: 10.12056/j.isn.1006-2785.2017.39.13.2017-1143]
- 郭秋霞. 老年心力衰竭合并细菌性肺炎患者血清氨基末端脑钠肽原、热休克蛋白、降钙素原水平的变化及意义. 中国老年学杂志 2017; 15: 85-87 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2017.15.033]
- Roberts JL, Tavallai M, Nourbakhsh A, Fidanza A, Cruz-Luna T, Smith E, Siembida P, Plamondon P, Cycon KA, Doern CD, Booth L, Dent P. GRP78/Dna K Is a Target for Nexavar/Stivarga/Votrient in the Treatment of Human Malignancies, Viral Infections and Bacterial Diseases. *J Cell Physiol* 2015; 230: 2552-2578 [PMID: 25858032 DOI: 10.1002/jcp.25014]
- 杨波, 杜利君, 魏剑林, 郭运芬, 赵佳. 幽门螺杆菌细胞毒素相关蛋白A、热休克蛋白60和细胞空泡毒素与慢性胃炎患者胃粘膜病理变化的关系. 解放军预防医学杂志 2018; 36: 832-835
- 景红. 重症TBI患者的临床数据及生理学特征的临床应用价值. 基因组学与应用生物学 2019; 38: 462-470
- 马晓春. 欧洲危重病学会(2012)急性胃肠损伤共识解读. 临床外科杂志 2013; 21: 159-161 [DOI:10.3969/j.issn.1005-6483.2013.03.003]
- 娜日罕, 周红, 董莉. 热休克蛋白70检测在急性心肌梗死诊断及治疗中的意义. 中华老年心脑血管病杂志 2019; 21: 1054-1057 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-0126.2019.10.012]
- 葛唱, 王怀立, 范晓蕾, 陈晓昕, 李海英. 肠脂肪酸结合蛋白在脑外伤合并胃肠功能损伤患儿血清中的变化及意义. 中国小儿急救医学 2019; 13: 113-117 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2019.02.008]
- 邵雪非, 程世翔, 涂悦, 张赛. Ghrelin对大鼠创伤性脑损伤后胃肠功能的影响. 中华创伤杂志 2018; 34: 370-376 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-8050.2018.04.014]
- 包龙, 徐峰, 凌伟华, 丁礼. 创伤性颅脑损伤患者: 急性胃肠损伤与营养支持-基于欧洲危重病医学会关于急性胃肠损伤定义及处理指南的思考. 中国急救医学 2013; 33: 793-796 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2013.9.007]
- Fei G, Guo C, Sun HS, Feng ZP. Chronic hypoxia stress-induced differential modulation of heat-shock protein 70 and presynaptic proteins. *J Neurochem* 2007; 100: 50-61 [PMID: 17227434 DOI: 10.1111/j.1471-4159.2006.04194.x]
- 社会博, 张立民, 靳国印. 内毒素休克引起多器官损伤发病机制研究进展[J]. 河北北方学院学报(自然科学版) 2019; 35: 46-51 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-1492.2019.06.019]
- Tsai YC, Lam KK, Peng YJ, Lee YM, Yang CY, Tsai YJ, Yen MH, Cheng PY. Heat shock protein 70 and AMP-activated protein kinase contribute to 17-DMAG-dependent protection against heat stroke. *J Cell Mol Med* 2016; 20: 1889-1897 [PMID: 27241357 DOI: 10.1111/jcmm.12881]
- Zaiter SS, Huo Y, Tiew FY, Gestwicki JE, McAlpine SR. Designing de Novo Small Molecules That Control Heat Shock Protein 70 (Hsp70) and Heat Shock Organizing Protein (HOP) within the Chaperone Protein-Folding Machinery. *J Med Chem* 2019; 62: 742-761 [PMID: 30507174 DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01436]
- 余文雯, 鲍秀琦, 孙华, 张丹. 热休克蛋白70对神经炎症的调节作用. 药学报 2015; 50: 945-950 [DOI: 10.16438/j.0513-4870.2015.08.016]
- 曾志刚, 张红艳. 热休克蛋白70对严重烧伤等应激状态下胃肠黏膜的保护机制. 广东医学 2013; 34: 1626-1628 [DOI: 10.13820/j.cnki.gdyx.2013.10.041]
- 杨海娜, 秦超, 叶艳. 热休克蛋白70和肠型脂肪酸结合蛋白在重症肺炎合并胃肠功能障碍患者血清中的表达及其意义. 武汉大学学报(医学版) 2020; 41: 151-155 [DOI: 10.14188/j.1671-8852.2018.1092]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



类鼻疽伯克霍尔德菌肝脾脓肿超声造影表现1例

高 玲, 时莹瑜, 卢 强

高玲, 时莹瑜, 卢强, 四川大学华西医院超声医学科 四川省成都市 610041

高玲, 硕士在读, 研究方向为超声诊断方向.

作者贡献分布: 此课题由高玲、卢强设计; 数据收集及研究过程由高玲、时莹瑜、卢强操作完成; 数据分析由高玲、卢强完成; 本论文写作由高玲完成.

通讯作者: 卢强, 教授, 610041, 四川省成都市国学巷37号, 四川大学华西医院超声医学科. luqiang@scu.edu.cn

收稿日期: 2021-01-18

修回日期: 2021-02-06

接受日期: 2021-03-15

在线出版日期: 2021-04-08

Contrast-enhanced ultrasound findings of liver and spleen abscesses due to infection with *Burkholderia pseudomallei*: A case report

Ling Gao, Ying-Yu Shi, Qiang Lu

Ling Gao, Ying-Yu Shi, Qiang Lu, Department of Medical Ultrasound, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, 610041, Sichuan Province, China

Corresponding author: Qiang Lu, Professor, West China Hospital of Sichuan University, No. 37 Guoxue Lane, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. luqiang@scu.edu.cn

Received: 2021-01-18

Revised: 2021-02-06

Accepted: 2021-03-15

Published online: 2021-04-08

Abstract

BACKGROUND

Burkholderia pseudomallei is the pathogen of melioidosis. It is generally resistant to commonly used antibiotics.

Burkholderia pseudomallei infection is usually severe, with a high mortality rate. Moreover, the clinical manifestations are diverse, leading to a difficult diagnosis. Most of the cases are accompanied by multiple purulent lesions, and ultrasonography can play an important role in the detection and evaluation of abscesses.

CASE SUMMARY

The patient was from Hainan Province, an epidemic area of *Burkholderia pseudomallei* infection. He had a history of diabetes and had suffered from a fever for half a month. Routine ultrasonography revealed multiple mixed lesions in the liver and spleen. The mass has multiple septations with characteristic radial arrangement. On contrast-enhanced ultrasound, thick ring hyperenhancement was demonstrated in the arterial phase. Enhancement of the septations can also be observed with irregular flaky non-enhanced area inside. The patient was diagnosed as having *Burkholderia pseudomallei* infection by blood culture. After anti-infective treatment based on drug sensitivity, the lesions were significantly reduced.

CONCLUSION

We have reported a case of liver and spleen abscesses due to infection with *Burkholderia pseudomallei*, which was confirmed by blood culture. Routine ultrasonography revealed multiple mixed lesions in the liver and spleen. On contrast-enhanced ultrasound, thick ring hyperenhancement was demonstrated in the arterial phase, while slightly low enhancement in the portal phase and parenchymal phase and the characteristics of radial arrangement were consistent with the reported typical CT findings. Contrast-enhanced ultrasound could help ascertain necrotic area of the abscesses. The recognition of the purulent nature by conventional and contrast-enhanced ultrasound, and the feature of radial septations could assist in ultrasound diagnosis of melioidosis abscess in non-endemic areas.

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

Key Words: *Burkholderia pseudomallei*; Melioidosis; Ultrasound; Contrast-enhanced ultrasound

Citation: Gao L, Shi YY, Lu Q. Contrast-enhanced ultrasound findings in liver and spleen abscesses due to infection with *Burkholderia pseudomallei*: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(7): 378-382

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/378.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i7.378>

摘要

背景

类鼻疽伯克霍尔德菌(*Burkholderia pseudomallei*)是类鼻疽病(Melioidosis)的病原菌,对常用抗生素普遍耐药,感染后病情较重,病死率较高,临床表现多样化,诊断困难,多数伴有多处化脓性病灶,超声造影检查在脓肿的评估中可起重要作用。

病例简介

本例患者来自海南省,为该病菌流行地区,患有糖尿病,因发热半月就诊,常规超声检查发现肝脾内多发分隔囊性占位,团块内分隔较多,呈放射状排列;造影后动脉期周边呈厚环状高增强,分隔可见强化,门脉期及实质期呈稍低增强,内可见片状无增强区,通过血培养诊断为类鼻疽伯克霍尔德菌感染。根据药敏抗感染治疗后病灶明显缩小。

结论

本文报道了一例经血培养证实为类鼻疽伯克霍尔德菌感染引起肝脾脓肿的病例,其超声造影表现具有一定的特征性,表现为肝、脾多发分隔囊性占位,动脉期周边厚环状高增强,内部分隔呈高增强,门脉期、实质期呈稍低增强,且其内部分隔呈放射状排列,这一特征符合该病的CT表现“项链征”。此外,超声造影可明确脓肿内坏死范围。超声造影检查可作为类鼻疽病肝、脾脓肿的筛查手段,有助于辅助非流行地区的超声诊断。

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

关键词: 类鼻疽伯克霍尔德菌; 类鼻疽病; 超声; 超声造影

核心提要: 类鼻疽病常见于热带地区,临床表现多样化,非流行地区诊断极具挑战性。超声造影声像图显示肝、脾多发分隔囊性占位,周边厚环状高增强,内部分隔增强且呈放射状排列,结合疫区生活史及危险因素等有助于临床诊断。

文献来源: 高玲, 时莹瑜, 卢强. 类鼻疽伯克霍尔德菌肝脾脓肿超声造影表现1例. *世界华人消化杂志* 2021; 29(7): 378-382

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/378.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i7.378>

0 引言

类鼻疽病是人类与动物共患疾病,主要见于热带地区,临床表现多样化,多伴有多处化脓性病灶,缺乏特异性,与其他常见疾病如肺炎和登革热相似,非流行地区的类鼻疽病的诊断极具挑战性。影像学检查有助于该病的诊断,其中CT报道较多,超声造影检查报道较少。现将我院1例类鼻疽伯克霍尔德菌引起的肝脾脓肿超声表现报道如下。

1 病例简介

患者男性,49岁,建筑业工人,长期居住于海南省万宁市,入院前半月无明显诱因出现发热(最高体温39.8℃,间歇热)、乏力、头晕、纳差,就诊于海南省某医院,给与抗生素治疗4d(头孢类,具体不详),自觉症状缓解,但体温控制不佳,遂于2020-11-14就诊于我院急诊科。否认肝炎、结核或其他传染病史,否认糖尿病史。入院时体温39.2℃,脉搏102次/分,呼吸20次/分,血压109/65 mmHg,心率101次/分。血常规:白细胞计数(WBC) $7.70 \times 10^9/L$,中性粒细胞核粒细胞百分率(NEUT%) 87.7%,淋巴细胞绝对值 $0.27 \times 10^9/L$,单核细胞绝对值 $0.66 \times 10^9/L$ 。生化检查:碱性磷酸酶172 IU/L,谷氨酰转氨酶166 IU/L,白蛋白31.3 g/L,降钙素原0.78 ng/mL, C-反应蛋白(CRP) 241.00 mg/L,血沉82.0 mm/h,葡萄糖16.40 mmol/L,糖化血红蛋白A1c 10.3%,后连续几日空腹血糖均大于8.6 mmol/L。甲胎蛋白、异常凝血酶原正常范围。疟原虫、肝包虫、血吸虫抗体阴性,真菌检查阴性,结核感染T细胞斑点试验阴性。急诊增强CT发现肝内多发稍低密度结节及肿块影,较大者位于右肝,大小约7.0 cm×6.7 cm,其内密度欠均匀,可见多发分隔,囊壁及分隔可见强化,周围见水肿带包绕。脾脏上极见直径约0.9 cm稍低密度结节。左肺尖见大小约1.4 cm×1.0 cm实性结节,边界清楚,怀疑炎性结节或肿瘤性病变等。2020-11-17的超声造影检查(图1)发现肝内多个分隔囊性团块,较大位于右肝,大小约9.9 cm×7.5 cm,边界较清楚,形态欠规则,分隔较多,呈放射状排列,囊性部分主要位于外周,透声差,彩色多普勒示分隔上可见分支状血流信号。经外周静脉注入超声造影剂声诺维后,动脉期团块周边呈厚环状高增强,内部分隔呈高增强,门脉期及实质期呈稍低增强,囊性成分未见增强,考虑肝脓肿伴部分坏死。脾脏内散在分

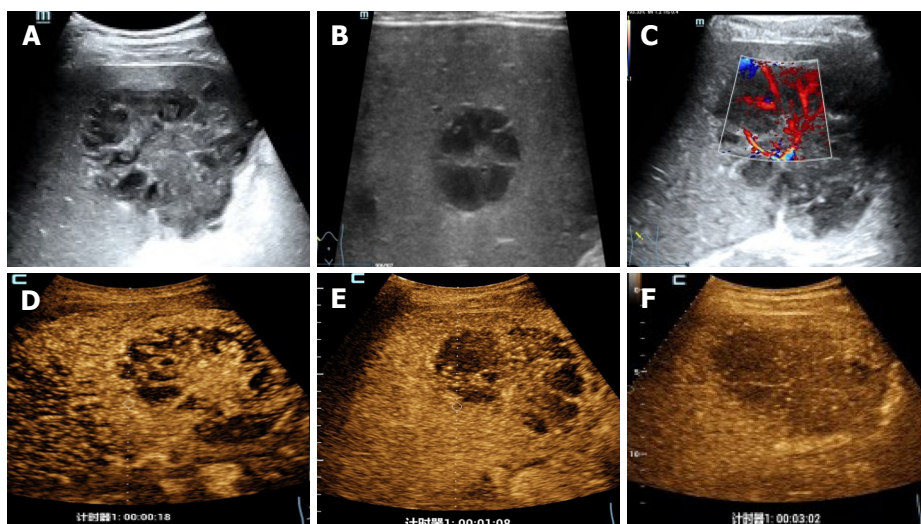


图 1 肝脏超声图像. A: 常规超声显示右肝分隔囊性占位, 分隔较多, 呈放射状排列(项链征); B: 高频超声结果; C: 分隔上可见树枝状血流信号; D: 超声造影动脉期呈周边厚环状高增强, 内部分隔呈高增强, 囊性部分未见增强; E: 门脉期分隔呈低增强; F: 实质期图像.

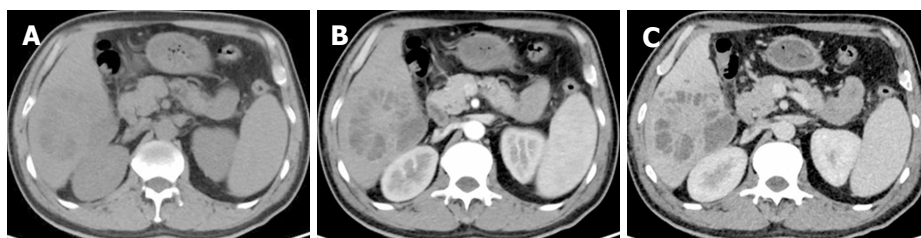


图 2 腹部CT图像. A: CT平扫右肝病灶呈“蜂窝状”, 内较多分隔, 排列呈放射状(钻石征); 增强扫描动脉期及门脉期(B、C)囊壁及分隔可见强化.

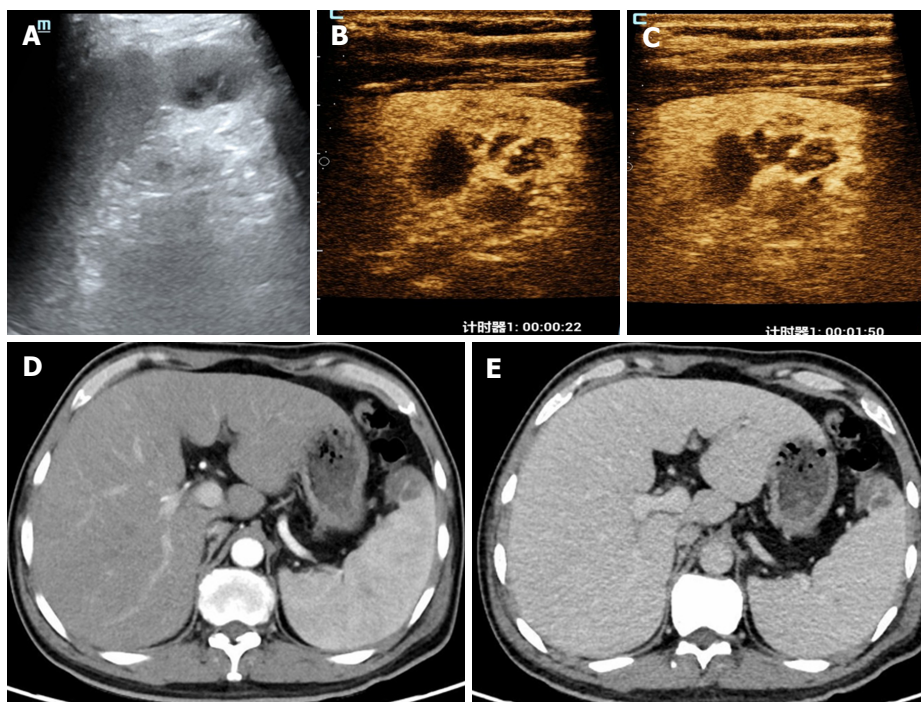


图 3 脾脏图像. A: 常规超声显示脾脏上极分隔囊性占位; 超声造影动脉期及静脉期(B、C)分隔可见增强, 囊性成分未见增强; 增强CT动脉期及静脉期(D、E)囊壁及分隔可见强化.

布类似回声结节, 较大者位于上极, 直径约1.0 cm, 动脉期及静脉期增强方式与肝脏病变类似。根据患者的临床表现, 实验室和影像检查, 考虑感染性病变, 转入感染科继续治疗, 早期给予头孢曲松抗感染治疗, 患者体温下降, 但发热反复发作。(图2, 3)。

2 最终诊断

2020-11-23经血培养确定为类鼻疽伯克霍尔德菌感染, 考虑肺、肝、脾占位为感染所致多处脓肿, 2020-12-02行超声引导下肝占位穿刺活检, 术后病理报告为炎性病变。

3 治疗

药敏试验对头孢他啶、左氧氟沙星、美洛培南、复方新诺明敏感, 2020-11-23开始使用美罗培南1000 mg q8h+左氧氟沙星0.5 g qd静脉滴注14 d, 2020-11-28患者体温开始降为正常, 血常规检查阴性, 症状明显缓解。2020-12-8改为口服头孢他啶+左氧氟沙星抗感染, 于2020-12-12出院, 继续口服药物治疗。

4 结果和随访 治疗效果和术后随访

2020-12-30, 来院复查, 常规超声示右肝查见两个囊实混合回声团, 较大者位于右肝下份, 较入院时明显缩小, 大小约4.6 cm×3.3 cm, 内见斑片状强回声, 未见血流信号。脾脏内病灶消失。

5 讨论

类鼻疽伯克霍尔德菌(*Burkholderia pseudomallei*)是革兰氏阴性杆菌, 是类鼻疽病(Melioidosis)的病原菌, 被世界卫生组织列为B类生物恐怖制剂, 该细菌存在于土壤和水中, 广泛分布于东南亚和北澳大利亚, 我国感染病例主要来自海南、广东、广西等地^[1-3]。在类鼻疽病流行地区, 年发病率高达每10万人 50例^[1]。主要是通过接触含有致病菌的水和土壤, 经破损皮肤而感染。类鼻疽伯克霍尔德菌感染后潜伏期1-21 d, 危险因素包括糖尿病、过度饮酒、慢性肾脏疾病、恶性肿瘤等, 多数起病急, 急性败血症是其最严重的类型, 病情凶险, 病死率高达10%-40%^[4-7]。该病的诊断金标准是从临床标本中培养出类鼻疽伯克霍尔德菌^[8], 但培养时间较长, 可能延误治疗, 因此其影像诊断也十分重要。类鼻疽病最常见的临床表现是肺炎(36%), 其次是软组织脓肿(33%), 脓肿常见部位依次为皮下、肝脏、脾脏和肺部, 也有前列腺和腮腺脓肿的个案报道。该病多为单器官受累, 部分表现为多器官受累; 多器官受累的病例中, 多发脓肿比单发脓肿更常见, 通常呈离散分布^[9,10]。类鼻疽病所致的肝、脾脓肿具有一些特征性影像学表现, 包括脓肿离散分

布, 大小不等, 脓肿内部呈多间隔, 分隔呈放射状排列, Apisarnthanarak等人^[11]将CT的这一特征命名为“项链征”, 并指出这一特征是预测类鼻疽肝脓肿的最强预测因子, 而其它非类鼻疽病所致的肝脾脓肿多表现为“蜂窝状”^[10,12]。超声同样可以观察到这些影像学特征。

6 结论

类鼻疽伯克霍尔德菌引起的类鼻疽病, 病死率较高, 临床表现多样化, 诊断困难。本例患者常年居住于海南, 并患有糖尿病, 超声检查及CT均发现肝、脾多发、散在、大小不等的脓肿, 多分隔, 呈放射状排列, 最后通过血培养出类鼻疽伯克霍尔德菌而确诊。值得注意的是, 本例患者超声造影表现为动脉期周边呈厚环状高增强, 内部分隔呈高增强, 门脉、实质期呈稍低增强, 有助于脓肿的诊断, 加上脓肿分隔的放射状排列, 肝脾多发, 患者来自疫区, 患有糖尿病, 具有较强的临床辅助诊断价值, 同时可明确脓肿内坏死范围, 有助于进一步治疗方案的制订。超声造影检查方便、快捷, 可作为类鼻疽病肝、脾脓肿的筛查手段, 有助于辅助非流行地区的超声诊断。

7 参考文献

- Wiersinga WJ, Currie BJ, Peacock SJ. Melioidosis. *N Engl J Med* 2012; 367: 1035-1044. [PMID: 22970946 DOI: 10.1056/NEJMra1204699]
- Limmathurotsakul D, Golding N, Dance DA, Messina JP, Pigott DM, Moyes CL, Rolim DB, Bertherat E, Day NP, Peacock SJ, Hay SI. Predicted global distribution of *Burkholderia pseudomallei* and burden of melioidosis. *Nat Microbiol* 2016; 1: 15008 [PMID: 27571754 DOI: 10.1038/nmicrobiol.2015.8]
- 蒋忠军, 宋阳, 陆振芳. 我国类鼻疽研究的历史与现状. *热带医学杂志* 2002; 2: 176-180.
- 匡慧慧, 沈定霞, 郑维, 张有江. 类鼻疽伯克霍尔德菌引起败血症伴肝脓肿一例并文献复习. *中华检验医学杂志* 2013; 36: 931-932
- Currie BJ, Ward L, Cheng AC. The epidemiology and clinical spectrum of melioidosis: 540 cases from the 20 year Darwin prospective study. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4: e900. [PMID: 21152057 DOI: 10.1371/journal.pntd.0000900]
- Wiersinga WJ, Virk HS, Torres AG, Currie BJ, Peacock SJ, Dance DAB, Limmathurotsakul D. Melioidosis. *Nat Rev Dis Primers* 2018; 4: 17107 [PMID: 29388572 DOI: 10.1038/nrdp.2017.107]
- Domthong P, Chaisuksant S, Sawanyawisuth K. What clinical factors are associated with mortality in septicemic melioidosis? A report from an endemic area. *J Infect Dev Ctries* 2016; 10: 404-409. [PMID: 27131004 DOI: 10.3855/jidc.6455]
- Fairley L, Smith S, Maisrikrod S, Henning L. Systematic review and meta-analysis of diagnostic tests for diagnosis of melioidosis. *Acta Trop* 2021; 214: 105784. [PMID: 33296681 DOI: 10.1016/j.actatropica.2020.105784]
- Kingsley PV, Leader M, Nagodawithana NS, Tipre M, Sathikumar N. Melioidosis in Malaysia: A Review of Case Reports. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10: e0005182. [PMID: 28005910 DOI: 10.1371/journal.pntd.0005182]
- Ong SCL, Alemam MMM, Zakaria NA, Abdul Halim NA. Honeycomb and necklace signs in liver abscesses secondary to melioidosis. *BMJ Case Rep* 2017; 2017. [PMID: 29054959 DOI: 10.1136/bcr-2017-222342]

- 11 Apisarnthanarak P, Thairatananon A, Muangsomboon K, Lu DS, Mundy LM, Apisarnthanarak A. Computed tomography characteristics of hepatic and splenic abscesses associated with melioidosis: a 7-year study. *J Med Imaging Radiat Oncol* 2011; 55: 176-182. [PMID: 21501407 DOI: 10.1111/j.1754-9485.2011.02248.x]
- 12 Popescu A, Sporea I, Şirli R, Dănilă M, Mare R, Grădinaru Taşcău O, Moga T. Does Contrast Enhanced Ultrasound improve the management of liver abscesses? A single centre experience. *Med Ultrason* 2015; 17: 451-455. [PMID: 26649338 DOI: 10.11152/mu.2013.2066.174.deu]

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》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) 致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

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

