

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2021 年 4 月 28 日      第 29 卷      第 8 期      (Volume 29 Number 8)**



**8 / 2021**

ISSN 1009-3079



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



### 述评

- 383 钾离子竞争性酸阻滞剂在酸相关疾病中的应用  
牛春燕, 罗晓春

### 基础研究

- 389 miR-484通过靶向SIRT1介导细胞凋亡参与非酒精性脂肪肝性肝病损伤  
贾银钊, 枚巧娟, 张勇
- 398 藤梨根提取物通过调控miR-192-5p/ARPP19轴影响结直肠癌细胞的增殖和凋亡  
徐万苏, 柯飞, 许怡, 郑艺

### 临床研究

- 407 京都胃炎分类在基层医院胃癌筛查中的应用  
刘晓明, 唐翔宇, 徐舒佳
- 413 善胃系列方分阶段辨治胃癌前病变的临床疗效观察  
张月林, 苗嘉萌, 张泽, 袁红霞

### 文献综述

- 421 胰腺癌细胞外吉西他滨耐药机制的研究进展  
顾宗廷, 李宗泽, 王成锋

### 临床实践

- 435 酪酸梭菌活菌片对结直肠癌术后FOLFOX4方案化疗肠道菌群平衡、毒副反应及免疫炎症指标的影响  
王沁, 龚黎明, 郑惠

### 病例报告

- 443 以肝占位为首发表现的非霍奇金淋巴瘤1例  
徐国峰, 刘威, 陈华

## 消 息

- 397 《世界华人消化杂志》参考文献要求  
412 《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯  
434 《世界华人消化杂志》栏目设置  
448 《世界华人消化杂志》正文要求

## 封面故事

孙文兵, 主任医师, 教授, 首都医科大学附属北京朝阳医院西院肝胆胰脾外科. 从事肝胆胰脾疾病的医疗、教学、科研工作35年. 发表SCI论文43篇, 国内期刊论文300余篇. 获全军科技进步二等奖和全军医疗成果二等奖各一项, 全军科技进步三等奖一项. 2002年被解放军总后勤部评为科技新星, 2009年被评为首批北京市卫生系统高层次技术人才, 2016年获北京市二级教授和“名医”称号.

## 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 吴云晓健; 最终清样审核总编辑 马连生

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2021-04-28

原刊名 新消化病学杂志

## 期刊名称

世界华人消化杂志

## 国际标准连续出版物号

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

## 主编

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

## 编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

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

## 编辑部

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjgnet@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

## 出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

## 制作

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

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

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

## 特别声明

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

## 定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



## Contents

Volume 29 Number 8 April 28, 2021

### EDITORIAL

- 383 Application of potassium competitive acid blockers in acid-related diseases  
*Niu CY, Luo XC*

### BASIC RESEARCH

- 389 MiR-484 participates in non-alcoholic fatty liver injury by targeting SIRT1 to mediate cell apoptosis  
*Jia YZ, Mei QJ, Zhang Y*
- 398 Radix Actinidiae extract affects proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells by regulating miR-192-5p/ARPP19  
*Xu WS, Ke F, Xu Y, Zheng Y*

### CLINICAL RESEARCH

- 407 Application of Kyoto Classification of Gastritis to gastric cancer screening in a primary hospital  
*Liu XM, Tang XY, Xu SJ*
- 413 Clinical curative effect of Shanwei series decoction in treating gastric precancerous lesions  
*Zhang YL, Miao JM, Zhang Z, Yuan HX*

### REVIEW

- 421 Advances in research of extracellular mechanisms underlying gemcitabine resistance in pancreatic cancer  
*Gu ZT, Li ZZ, Wang CF*

### CLINICAL PRACTICE

- 435 Effects of live *Clostridium butyricum* tablets on intestinal flora balance, toxic and side effects, and immune inflammatory indexes in colorectal cancer patients on postoperative FOLFOX4 chemotherapy  
*Wang Q, Gong LM, Zheng H*

### CASE REPORT

- 443 Non-Hodgkin's lymphoma with hepatic space occupying lesion as first manifestation: A case report  
*Xu GF, Liu W, Chen H*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 29 Number 8 April 28, 2021

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Wen-Bing Sun, Chief Physician, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Chaoyang Hospital Affiliated to Capital Medical University West Campus, No.5 Jingyuan Road, Shijingshan District, Beijing 200043, China. cyhswb@qq.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: *Yun-Xiaojuan Wu* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993  
**Renamed** on January 25, 1998  
**Publication date** April 28, 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: [wjgnet@wjgnet.com](mailto:wjgnet@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](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<https://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

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

### 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.

# 钾离子竞争性酸阻滞剂在酸相关疾病中的应用

牛春燕, 罗晓春

**牛春燕**, 南京市溧水区人民医院(东南大学附属中大医院溧水分院)消化内科 江苏省南京市 211200

**罗晓春**, 厦门大学附属翔安医院内镜中心 福建省厦门市 361101

牛春燕, 教授, 主任医师, 研究方向为肝病、酸相关疾病、功能性胃肠病.

**作者贡献分布:** 罗晓春负责收集、整理文献; 牛春燕完成手稿撰写并负责审校.

**通讯作者:** 牛春燕, 教授, 主任医师, 211200, 江苏省南京市溧水区崇文路86号, 南京市溧水区人民医院(东南大学附属中大医院溧水分院)消化内科. nchy69@163.com

**收稿日期:** 2021-01-21

**修回日期:** 2021-02-23

**接受日期:** 2021-03-15

**在线出版日期:** 2021-04-28

## Application of potassium competitive acid blockers in acid-related diseases

Chun-Yan Niu, Xiao-Chun Luo

**Chun-Yan Niu**, Department of Gastroenterology, Nanjing Lishui People's Hospital (Zhongda Hospital Lishui Branch, Southeast University), Nanjing 211200, Jiangsu Province, China

**Xiao-Chun Luo**, Endoscopy Center, Xiang'an Hospital, Xiamen University, Xiamen 361101, Fujian Province, China

**Corresponding author:** Professor, Chief Physician, Chun-Yan Niu, Department of Gastroenterology, Nanjing Lishui People's Hospital (Zhongda Hospital Lishui Branch, Southeast University), No. 86 Chongwen Road, Lishui District, Nanjing 211200, Jiangsu Province, China. nchy69@163.com

**Received:** 2021-01-21

**Revised:** 2021-02-23

**Accepted:** 2021-03-15

**Published online:** 2021-04-28

## Abstract

Acid-related diseases (ARDs) are common chronic

diseases of the digestive system. Proton pump inhibitors (PPIs) have become the first-line drugs for the treatment of acid-related diseases. However, PPIs display some limitations in clinical application, such as short half-life, slow action, insufficient acid inhibition, pharmacological effects affected by CYP2C19 gene polymorphism, and nocturnal acid breakthrough, which lead to insufficient symptom remission of ARDs, as well as refractoriness, relapse, and even direct decline in health-related quality of life and increased economic burden. Potassium competitive acid blockers (P-CABs) are a class of novel anti-secretory drugs, which can overcome the limitations of traditional PPIs and show satisfactory acid inhibition effect and safety in clinical application. They may become a new strategy to solve the unsatisfied medical needs in the treatment of ARDs, but their potential adverse reactions remain to be monitored. In this article, we review the challenges in the treatment of acid-related diseases, and the advantages and prospects of P-CABs in the prevention and treatment of ARDs.

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

**Key Words:** Acid-related disorders; Proton pump inhibitors; Novel anti-secretory drugs; Potassium-competitive acid blockers

**Citation:** Niu CY, Luo XC. Application of potassium competitive acid blockers in acid-related diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(8): 383-388

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/383.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.383>

## 摘要

酸相关疾病是一类消化系统中的常见慢性疾病. 质子泵抑制剂现已成为治疗酸相关疾病的一线用药, 然而临床应用中逐渐显现出一些局限性, 如半衰期短、起效较慢、抑酸不充分、药理作用受CYP2C19

基因多态性影响、夜间酸突破等, 导致分酸相关疾病患者的症状不能获得充分缓解, 以及难治、复发、直接的健康相关生活质量下降和经济负担增大。钾离子竞争性酸阻滞剂是一种新型抗分泌药, 能够克服传统质子泵抑制剂的多种局限性, 在临床应用中显示出更好的抑酸效应和安全性, 可能成为解决酸相关疾病治疗中未满足的医疗需求的新策略, 但也需要继续观察潜在的不良反应。本文综述了酸相关疾病治疗中面临的挑战, 以及钾离子竞争性酸阻滞剂在酸相关疾病预防和治疗中的优势和前景。

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

关键词: 酸相关疾病; 质子泵抑制剂; 新型抗分泌药物; 钾离子竞争性酸阻滞剂

**核心提要:** 质子泵抑制剂为治疗酸相关疾病(acid related diseases, ARDs)的传统一线药物, 但在临床应用过程中仍有一部分患者的疗效、生活质量和满意度欠佳, 这与 ARDs的个体间异质性、传统抑酸药物的药理学特性、以及患者的依从性等有关。新型钾离子竞争性酸阻滞剂直接阻断质子泵的K<sup>+</sup>交换通道, 克服了传统抑酸药物的局限性, 在抑酸强度、作用持续时间、缓解症状速度、疗效维持时间、预防复发和并发症方面具有优越的特征, 为ARDs治疗中临床未满足的需求治疗提供了新的选择。

**文献来源:** 牛春燕, 罗晓春. 钾离子竞争性酸阻滞剂在酸相关疾病中的应用. 世界华人消化杂志 2021; 29(8): 383-388

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/383.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.383>

## 0 引言

酸相关疾病(acid-related disorders, ARDs)指与胃酸或胃酸分泌相关的一类疾病, 包括胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)、消化性溃疡、幽门螺杆菌感染相关疾病、阿司匹林和非甾体类抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)相关胃十二指肠不良事件, 以及上消化道出血<sup>[1,2]</sup>。近年来随着内镜粘膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)的开展, ESD术后并发症(如上消化道出血和人工溃疡)趋于增多, 少见的有Zollinger-Ellison综合征。

ARDs无论在发病机制、临床表现或是疗效方面均存在较大异质性, 而且对抑酸程度、抑酸持续时间、疗程以及疗效的判断标准不同。比如, 胃溃疡和十二指肠溃疡的治愈标准为胃内pH≥4, 糜烂性食管炎(erosive esophagitis, EE)的治愈标准为胃内pH≥3, 上消化道出血的治愈标准为胃内pH≥6<sup>[1,2]</sup>。自从H<sub>2</sub>受体拮抗剂

(histamine-2 receptor antagonists, H<sub>2</sub>RAs)和质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)问世以来, ARDs得到了很好的治疗。但H<sub>2</sub>RAs很快就显示出许多不足, 包括作用时间相对较短、餐后胃酸分泌抑制不完全、抗分泌作用下降, 以及治疗后反跳性胃酸高分泌。PPIs已成为ARDs的一线治疗药物, 然而, 仍有相当数量的患者对抑酸药物的应答不良, 不能达到理想疗效, 严重影响生活质量和疾病预后。PPIs在药理学上存在一些局限性: (1)传统的PPIs为延迟释放剂型<sup>[3,4]</sup>, 需要3-5 d时间才能达到充分药理作用(起效慢), 需要餐前给药, 在酸性条件下很容易失活(酸不稳定性); (2)需要在壁细胞的分泌小管内转化为其活性形式(需要酸激活)<sup>[5,6]</sup>; (3)血浆半衰期为60-90 min (半衰期短), 而胃质子泵的半衰期为50 h, 每天约有三分之一被新的生物合成所取代, 这样, 在夜间合成的新质子泵不能暴露于PPIs中, 即使每天服用PPIs两次, 仍有低量酸分泌持续存在(夜间酸突破nocturnal acid breakthrough, NAB)<sup>[5]</sup>, 因此, 对夜间酸分泌控制差; (4)生物利用度低; 代谢受CYP2C19基因多态性影响; (5)此外, PPIs还可以通过抑制胃酸分泌或抑制药物代谢相关酶而干扰其他药物的代谢和效应<sup>[7]</sup>。这些局限性成为制约PPIs在ARDs中疗效的重要因素, 使ARDs的治疗面临诸多挑战: 现有的抑酸药物起效较慢, 不能快速缓解症状和产生持久疗效; 夜间酸分泌尚缺乏有效控制方案; CYP2C19基因多态性导致患者个体间药代动力学的巨大异质性; 维持症状长期缓解尚未达到理想状态。进一步导致医疗费用上升、患者满意度和生活质量下降等社会经济负担。因此, 亟待更多新型治疗方案以供选择。

## 1 新型抗分泌药钾离子竞争性酸阻滞剂: 酸相关疾病治疗的新选择

新型抗分泌药钾离子竞争性酸阻滞剂(potassium-competitive acid blockers, P-CABs)是一类吡咯衍生物, 直接阻断质子泵的K<sup>+</sup>交换通道, 理论上属于PPIs, 但无需转换为活性形式, 具有一种非常快速、竞争性强、可逆的酸分泌抑制作用, 不需要酸活化, 在酸性条件下稳定, 能迅速提高胃内pH值, 而且从质子泵缓慢解离, 因此不仅迅速起效、缓解症状, 而且由于半衰期较PPIs延长, 可保持持续、稳定的抗分泌作用。第一代P-CAB(revaprazan, YH1885)在韩国和印度上市后, 发现疗效并不优于奥美拉唑和埃索美拉唑, 后来的P-CABs linaprazan(AZD0865)、soraprazan、CS526、YH4808也因未显示出优越性, 并且引起转氨酶升高, 因此被停止研发<sup>[3]</sup>。沃诺拉赞(Vonoprazan)是一种新型P-CABs, 于2015年在日本首先上市。与传统PPIs和其他P-CABs比较, 抗分泌活性不依赖CYP2C19基因型<sup>[8]</sup>, 具有更迅



速、强大和持久的酸抑制作用, 几乎没有NAB<sup>[9]</sup>, 个体间药代动力学差异微小<sup>[10]</sup>. 已被用于治疗胃和十二指肠溃疡、反流性食管炎以及预防低剂量阿司匹林或非甾体抗炎药相关的胃和十二指肠溃疡复发<sup>[11]</sup>.

## 2 沃诺拉赞在酸相关疾病中的应用

**2.1 沃诺拉赞与胃食管反流病** 胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)属于由多种发病机制引起的动力障碍性疾病, 动力障碍主要包括食管下括约肌功能不全和功能障碍、食管清除异常以及高达40%的胃排空延迟, 所有这些功能障碍都可导致食管粘膜长时间暴露于酸性胃内容物<sup>[12]</sup>, 从而引起黏膜损害. PPIs已成为GERD治疗最常用处方药. 然而, 在一日2次的PPIs剂量下, 仍有20%-40%的PPI-难治性GERD患者表现为持续的烧心和/或反流或者持续的夜间症状, 以及20%-40%的高级别(C/D级) EE和非糜烂性反流病(NERD)失败率、30%的维持治疗复发率<sup>[13]</sup>; 另外, PPIs对餐后烧心、GERD并发症及食管外症状并非十分有效<sup>[14]</sup>. 沃诺拉赞的8 wk RE治愈率接近100%, 沃诺拉赞(20 mg 1次/日)与兰索拉唑(30 mg 1次/日)在A/B级食管炎疗效无差异, 但在治愈高级别食管炎(C/D级)和预防C/D级食管炎复发、食管炎总体症状缓解、食管炎症状缓解速度以及难治性GERD方面, 均优于传统PPIs, 在CYP2C19快代谢型者中具有持续优势, PPI-耐药食管炎治愈率高达87.5%<sup>[15-18]</sup>. 一项长期研究显示, 沃诺拉赞可以保持症状长期缓解, 复发率较低, 一个月和一年时维持症状缓解率为89%和81.6%<sup>[19]</sup>. 一项基于自评式问卷(FSSG)的最新研究显示, 沃诺拉赞对EE、NERD、PPI-耐药GERD的初始治疗和维持治疗均有效, 明显改善患者烧心症状和满意度, 24 wk时各组缓解率分别为38.9%、45%及30%<sup>[20]</sup>, 即在提高生活质量方面具有显著效果. PPI-耐药EE患者应用沃诺拉赞后, 胃pH>4时间百分比显著增加, 从26.5%增加到78.0%, 食管pH<4的时间百分比降低, 此外, 酸清除时间和反流事件的总数, 包括酸和近端反流事件均显著减少, 表明沃诺拉赞是PPI-耐药RE患者的有效选择<sup>[16,21]</sup>. 沃诺拉赞还可以改善与GERD伴随的上腹部疼痛、餐后疼痛、便秘和腹泻<sup>[22]</sup>.

**2.2 沃诺拉赞与幽门螺旋杆菌感染** 幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与酸相关疾病尤其是消化性溃疡相关, 与胃恶性肿瘤密切相关. 目前*H. pylori*的全球整体根除率正在下降, 主要原因在于抗生素耐药逐渐增多和胃酸抑制不足. 理想根除方案需具备两个条件: 有效根除率>90%, 以及安全性<sup>[23]</sup>. 提高胃内pH值可使细菌进入生长期, 对抗生素如阿莫西林和克拉霉素的敏感性增加, 因此控制胃内特别是夜间pH、延长的

抑酸时间, 对保持联合抗菌的杀菌活性至关重要, 以沃诺拉赞为基础的根除方案在根除率、耐受性和不良反应方面优于传统PPIs<sup>[24]</sup>. 一项小型研究发现, 沃诺拉赞(20 mg bid)+阿莫西林(500 mg tid)二联治疗作为一线和二联方案, 对*H. pylori*的根除率分别达到95%和90%, 无需使用第二种抗菌药, 如克拉霉素<sup>[25]</sup>, 提示这种优化的双重疗法(剂量、给药次数和持续时间)可以作为一种简单、可靠和有效的一线根除治疗方案, 提高*H. pylori*的总体根除率<sup>[26]</sup>. 高剂量PPI和阿莫西林双重治疗的基本机制是, *H. pylori*对阿莫西林的耐药率非常低, 在胃pH值较高(>6)时对*H. pylori*的杀菌作用会增强. pH>6时细菌进入复制状态, 对阿莫西林敏感性增加<sup>[27]</sup>. 沃诺拉赞在根除克拉霉素耐药*H. pylori*菌株时优于传统PPIs<sup>[28]</sup>, 这为克服克拉霉素耐药、提高*H. pylori*根除率提供了有前景的选择. 另外, 沃诺拉赞、阿莫西林和克拉霉素均经CYP3A4代谢, 因此联合给药可能导致清除延迟<sup>[6]</sup>, 从而延长血浆滞留时间、延长药物持效时间. 以沃诺拉赞为基础的三联方案也显示出高达98%的*H. pylori*根除率<sup>[29]</sup>. 美国和欧洲正在进行基于沃诺拉赞的二联方案和三联方案治疗*H. pylori*感染的3期临床试验<sup>[30]</sup>, 如果有效性和安全性得到证实, 那么将为*H. pylori*根除提供新的方案, 同时在减少抗生素使用和降低抗生素耐药、降低医疗成本、提高*H. pylori*根除率方面做出很大贡献.

**2.3 沃诺拉赞与NSAIDs相关性胃十二指肠损伤** NSAIDs是应用最广泛的药物之一, 每天有超过3000万人服用NSAIDs, 30%-50%的NSAIDs使用者表现为内镜下黏膜损伤及消化性溃疡, 上消化道并发症的风险增加3-5倍<sup>[31]</sup>. 胃酸可能是NSAIDs诱发黏膜损伤的必要条件, 即pH依赖性, 酸性损伤程度取决于NSAIDs局部作用导致的胃酸反弥散程度<sup>[32]</sup>. 在胃酸分泌增加的患者中, NSAIDs引起的胃黏膜损害加重, 而胃内pH越高, 黏膜损伤的范围、程度以及可能性就越低. NSAIDs和类固醇激素还可导致*H. pylori*感染及增加消化性溃疡出血风险<sup>[33]</sup>. 很大一部分患者需要持续服用NSAIDs, 随着时间推移, 即使同步联合PPIs治疗, 也会失去保护作用. 胃溃疡和十二指肠溃疡的治疗要求为胃内pH≥4, 沃诺拉赞因延长的酸分泌控制时间, 保持胃内的高pH, 有望提供更好的黏膜保护作用, 在阿司匹林和NSAIDs相关溃疡的复发以及NSAIDs相关溃疡的二级预防中显示出有效性和安全性<sup>[34,35]</sup>, 但尚有待于NSAIDs相关溃疡的一级预防临床数据. *H. pylori*感染和高危患者使用NSAIDs是消化性溃疡的两个主要危险因素, 因此, 能够真正24 h胃酸控制, 从而提供更好黏膜保护和NSAIDs相关溃疡一级预防, 以及提高*H. pylori*根除率是*H. pylori*感染和NSAIDs相关溃疡未满足的临床需求. 沃诺拉赞对于长



期低剂量阿司匹林应用者复发性溃疡预防的疗效和安全性正在临床III期研究评估中<sup>[29]</sup>。

**2.4 沃诺拉赞与ESD术后溃疡和上消化道出血** 术后溃疡和消化道出血是ESD最常见并发症, ESD后胃溃疡愈合通常需要8 wk, 但也取决于病变大小、位置、*H. pylori*感染和胃萎缩程度。目前PPIs是预防ESD后出血和治愈溃疡的常用药物, 但对于最有效的治疗方案尚存争议。沃诺拉赞为ESD后人工溃疡提供了更快速有效的治疗, 在治疗的前2周内, 沃诺拉赞比PPIs更有效地治疗*H. pylori*阳性ESD诱发的胃溃疡患者, 4 wk溃疡愈合率显著高于其他PPIs<sup>[7]</sup>。一项回顾和前瞻性研究及一项Meta分析研究表明, 沃诺拉赞可预防和减少ESD后出血(包括迟发性出血), 并促进溃疡愈合, 机制可能与ESD期间高胃pH值有关<sup>[36]</sup>, 当延长疗程至8 wk或联合黏膜保护剂时, 疗效更为显著<sup>[37]</sup>。沃诺拉赞还能有效预防使用持续抗血栓治疗(抗血小板药物如低剂量阿司匹林, 西洛他唑等; 抗凝药物如华法林或直接口服抗凝剂)患者的ESD术后出血<sup>[38]</sup>。持续的胃内pH>6, 可促进血小板聚集、血栓形成和稳定性, 对上消化道出血有益。出血性胃十二指肠溃疡时纤溶活性增强, 而胃酸抑制可降低其活性。多个指南认为大剂量静脉注射PPIs可降低近期出血, 并有可能减少内镜治疗的需要。然而, 传统的PPIs作为胃保护剂难以达到长时间维持胃液pH≥6, 所提供的抑酸时间、抑酸效应尚未达到最佳, 尤其是对高危患者, 如: 高龄(>65岁, 特别是>70岁), 有消化性溃疡病史, 病情危重, *H. pylori*感染, 同时使用2种或以上NSAIDs, 使用其他类型胃损伤药物<sup>[32]</sup>。口服沃诺拉赞的药效学特性可达到与静脉注射PPIs相同或更好的效果, 可能满足上消化道出血管理中未满足的需求。一项系统综述和荟萃分析结果表明, PPIs和H<sub>2</sub>RAs治疗可显著降低食管静脉曲张套扎术患者的出血率, 但抑酸治疗组和未接受抑酸治疗组之间死亡率、溃疡、胸痛、吞咽困难和吞咽困难的发生率以及住院时间没有显著差异<sup>[39]</sup>, 提示PPIs和H<sub>2</sub>RAs在改善这类患者预后方面尚存不足。目前尚未见P-CABs应用于静脉曲张性上消化道出血的临床研究。鉴于P-CABs在ARDs中的应用, 可能具有潜在应用前景。P-CABs能否达到快速治愈任何溃疡及其并发症的出血, 并防止远期溃疡复发, 提供长时间抑酸, 改善预后(如减少再出血、输血、外科手术的需求, 降低死亡率), 能否在静脉曲张性上消化道出血治疗中提供新的选择, 需要进一步研究和观察。

### 3 沃诺拉赞的不足和不良反应

**3.1 不足** P-CABs耐药的NERD确实存在, 可能与弱酸反流或功能性烧心有关<sup>[15,40]</sup>。最近一项系统性分析显示,

以沃诺拉赞为基础的三联方案的优势仅在一线*H. pylori*根除方案中明显, 在二线方案中则不优于传统PPIs<sup>[28]</sup>。另一项最新Meta-analysis指出, 沃诺拉赞仅在根除克拉霉素耐药*H. pylori*菌株时优于传统PPI, 但在根除克拉霉素敏感*H. pylori*菌株时与传统PPIs疗效相似<sup>[41]</sup>。现有的2项研究比较了沃诺拉赞和PPIs对胃溃疡和十二指肠溃疡的疗效, 结果未显示出统计学差异<sup>[42,43]</sup>, 可能与病例选择的偏倚以及病例数量较少有关, 尚有待于进一步研究。

**3.2 不良反应** 已报道的沃诺拉赞治疗引起的不良事件包括鼻咽炎、腹泻、便秘、上呼吸道感染、跌倒、胃肠炎和湿疹<sup>[11]</sup>, 星尘状胃粘膜<sup>[44]</sup>, 出血性小肠结肠炎<sup>[45]</sup>, 这需要进一步观察并且引起重视。几乎所有与PPIs相关的不良反应都发生在长期治疗的患者中, 通过定期评估患者对抑酸治疗的需求, 尽可能缩短治疗时间, 可以消除或大大降低不良后果的风险。任何新的治疗方法都可能导致过度使用和滥用, P-CABs也不例外, 应当重视。评估沃诺拉赞(10 mg或20 mg)对治愈后EE 5年维持治疗的安全性研究正在日本进行<sup>[46]</sup>。

## 4 结论

综上所述, 沃诺拉赞因其特殊的化学结构和药理学特性, 在酸相关疾病的治疗中显示出等同于或优于传统PPIs的抗分泌疗效, 为ARDs治疗面临的挑战提供了新的选择, 尤其是对于PPIs难治性酸相关疾病或PPIs未满足的临床需求, 但因临床应用时间并非很长, 远期疗效和安全性、耐受性仍有待于进一步观察。

## 5 参考文献

- Hunt RH, Scarpignato C. Potent Acid Suppression with PPIs and P-CABs: What's New? *Curr Treat Options Gastroenterol* 2018; 16: 570-590 [PMID: 30361857 DOI: 10.1007/s11938-018-0206-y]
- Savarino V, Dulbecco P, de Bortoli N, Ottonello A, Savarino E. The appropriate use of proton pump inhibitors (PPIs): Need for a reappraisal. *Eur J Intern Med* 2017; 37: 19-24 [PMID: 27784575 DOI: 10.1016/j.ejim.2016.10.007]
- Scarpignato C, Hunt RH. The potential role of potassium-competitive acid blockers in the treatment of gastroesophageal reflux disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2019; 35: 344-355 [PMID: 31045597 DOI: 10.1097/MOG.0000000000000543]
- Scarpignato C, Hong M, Wu JCY, Lottrup C, Lazarescu A, Stein E, Hunt RH. Pharmacologic treatment of GERD: Where we are now, and where are we going? *Ann N Y Acad Sci* 2020; 1482: 193-212 [PMID: 32935346 DOI: 10.1111/nyas.14473]
- Savarino E, Martinucci I, Furnari M, Romana C, Pellegatta G, Moscatelli A, Bodini G, Marabotto E, Savarino V, de Bortoli N, Blandizzi C. Vonoprazan for treatment of gastroesophageal reflux: pharmacodynamic and pharmacokinetic considerations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2016; 12: 1333-1341 [PMID: 27428571 DOI: 10.1080/17425255.2016.1214714]
- Martinucci I, Blandizzi C, Bodini G, Marabotto E, Savarino V, Marchi S, de Bortoli N, Savarino E. Vonoprazan fumarate

- for the management of acid-related diseases. *Expert Opin Pharmacother* 2017; 18: 1145-1152 [PMID: 28657473 DOI: 10.1080/14656566.2017.1346087]
- 7 Marabotto E, Ziola S, Savarino V, Giannini EG, Furnari M, Bodini G, Zingone F, Ghisa M, Barberio B, Zentilin P, Savarino E. Vonoprazan Fumarate for the Treatment of Gastric Ulcers: A Short Review on Emerging Data. *Clin Exp Gastroenterol* 2020; 13: 99-104 [PMID: 32346304 DOI: 10.2147/CEG.S228352]
  - 8 Kagami T, Sahara S, Ichikawa H, Uotani T, Yamade M, Sugimoto M, Hamaya Y, Iwaizumi M, Osawa S, Sugimoto K, Miyajima H, Furuta T. Potent acid inhibition by vonoprazan in comparison with esomeprazole, with reference to CYP2C19 genotype. *Aliment Pharmacol Ther* 2016; 43: 1048-1059 [PMID: 26991399 DOI: 10.1111/apt.13588]
  - 9 Echizen H. The First-in-Class Potassium-Competitive Acid Blocker, Vonoprazan Fumarate: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Considerations. *Clin Pharmacokinet* 2016; 55: 409-418 [PMID: 26369775 DOI: 10.1007/s40262-015-0326-7]
  - 10 Otake K, Sakurai Y, Nishida H, Fukui H, Tagawa Y, Yamasaki H, Karashima M, Otsuka K, Inatomi N. Characteristics of the Novel Potassium-Competitive Acid Blocker Vonoprazan Fumarate (TAK-438). *Adv Ther* 2016; 33: 1140-1157 [PMID: 27287852 DOI: 10.1007/s12325-016-0345-2]
  - 11 Oshima T, Miwa H. Potent Potassium-competitive Acid Blockers: A New Era for the Treatment of Acid-related Diseases. *J Neurogastroenterol Motil* 2018; 24: 334-344 [PMID: 29739175 DOI: 10.5056/jnm18029]
  - 12 Hungin APS, Molloy-Bland M, Scarpignato C. Revisiting Montreal: New Insights into Symptoms and Their Causes, and Implications for the Future of GERD. *Am J Gastroenterol* 2019; 114: 414-421 [PMID: 30323266 DOI: 10.1038/s41395-018-0287-1]
  - 13 Fass R. Proton pump inhibitor failure—what are the therapeutic options? *Am J Gastroenterol* 2009; 104 Suppl 2: S33-S38 [PMID: 19262545 DOI: 10.1038/ajg.2009.50]
  - 14 Shibli F, Kitayama Y, Fass R. Novel Therapies for Gastroesophageal Reflux Disease: Beyond Proton Pump Inhibitors. *Curr Gastroenterol Rep* 2020; 22: 16 [PMID: 32185589 DOI: 10.1007/s11894-020-0753-y]
  - 15 Ashida K, Iwakiri K, Hiramatsu N, Sakurai Y, Hori T, Kudou K, Nishimura A, Umegaki E. Maintenance for healed erosive esophagitis: Phase III comparison of vonoprazan with lansoprazole. *World J Gastroenterol* 2018; 24: 1550-1561 [PMID: 29662293 DOI: 10.3748/wjg.v24.i14.1550]
  - 16 Tanabe T, Hoshino S, Kawami N, Hoshikawa Y, Hanada Y, Takenouchi N, Goto O, Kaise M, Iwakiri K. Efficacy of long-term maintenance therapy with 10-mg vonoprazan for proton pump inhibitor-resistant reflux esophagitis. *Esophagus* 2019; 16: 377-381 [PMID: 31119492 DOI: 10.1007/s10388-019-00676-x]
  - 17 Graham DY, Dore MP. Update on the Use of Vonoprazan: A Competitive Acid Blocker. *Gastroenterology* 2018; 154: 462-466 [PMID: 29337157 DOI: 10.1053/j.gastro.2018.01.018]
  - 18 Oshima T, Arai E, Taki M, Kondo T, Tomita T, Fukui H, Watari J, Miwa H. Randomised clinical trial: vonoprazan versus lansoprazole for the initial relief of heartburn in patients with erosive oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2019; 49: 140-146 [PMID: 30589965 DOI: 10.1111/apt.15062]
  - 19 Shinozaki S, Osawa H, Kobayashi Y, Sakamoto H, Hayashi Y, Miura Y, Kawarai Lefor A, Yamamoto H. Long-term outcomes of patients with symptomatic gastroesophageal reflux disease treated with vonoprazan. *Scand J Gastroenterol* 2018; 53: 897-904 [PMID: 30056768 DOI: 10.1080/00365521.2018.1486883]
  - 20 Gotoh Y, Ishibashi E, Honda S, Nakaya T, Noguchi C, Kagawa K, Murakami K. Efficacy of vonoprazan for initial and maintenance therapy in reflux esophagitis, nonerosive esophagitis, and proton pump inhibitor-resistant gastroesophageal reflux disease. *Medicine (Baltimore)* 2020; 99: e19520 [PMID: 32176102 DOI: 10.1097/MD.00000000000019520]
  - 21 Yamashita H, Kanamori A, Kano C, Hashimura H, Matsumoto K, Tsujimae M, Yoshizaki T, Momose K, Obata D, Eguchi T, Fujita M, Okada A. The Effects of Switching to Vonoprazan, a Novel Potassium-Competitive Acid Blocker, on Gastric Acidity and Reflux Patterns in Patients with Erosive Esophagitis Refractory to Proton Pump Inhibitors. *Digestion* 2017; 96: 52-59 [PMID: 28662503 DOI: 10.1159/000478255]
  - 22 Shinozaki S, Osawa H, Hayashi Y, Sakamoto H, Miura Y, Lefor AK, Yamamoto H. Vonoprazan treatment improves gastrointestinal symptoms in patients with gastroesophageal reflux disease. *Kaohsiung J Med Sci* 2017; 33: 616-622 [PMID: 29132551 DOI: 10.1016/j.kjms.2017.07.004]
  - 23 Matysiak-Budnik T, Fabiani B, Hennequin C, Thieblemont C, Malamut G, Cadiot G, Bouché O, Ruskoné-Fourmestraux A. Gastrointestinal lymphomas: French Intergroup clinical practice recommendations for diagnosis, treatment and follow-up (SNFGE, FFCG, GERCOR, UNICANCER, SFGD, SFED, SFRO, SFH). *Dig Liver Dis* 2018; 50: 124-131 [PMID: 29301732 DOI: 10.1016/j.dld.2017.12.006]
  - 24 Gatta L, Scarpignato C. Editorial: Helicobacter pylori resistance and sequential therapy—authors' reply. *Aliment Pharmacol Ther* 2018; 48: 96-97 [PMID: 29882988 DOI: 10.1111/apt.14676]
  - 25 Furuta T, Yamade M, Kagami T, Uotani T, Suzuki T, Higuchi T, Tani S, Hamaya Y, Iwaizumi M, Miyajima H, Umemura K, Osawa S, Sugimoto K. Dual Therapy with Vonoprazan and Amoxicillin Is as Effective as Triple Therapy with Vonoprazan, Amoxicillin and Clarithromycin for Eradication of Helicobacter pylori. *Digestion* 2020; 101: 743-751 [PMID: 31434101 DOI: 10.1159/000502287]
  - 26 Graham DY, Lu H, Shiotani A. Vonoprazan-containing Helicobacter pylori triple therapies contribution to global antimicrobial resistance. *J Gastroenterol Hepatol* 2020 [PMID: 32918832 DOI: 10.1111/jgh.15252]
  - 27 Furuta T, Graham DY. Pharmacologic aspects of eradication therapy for Helicobacter pylori Infection. *Gastroenterol Clin North Am* 2010; 39: 465-480 [PMID: 20951912 DOI: 10.1016/j.gtc.2010.08.007]
  - 28 Dong SQ, Singh TP, Wei X, Yao H, Wang HL. Review: A Japanese population-based meta-analysis of vonoprazan versus PPI for Helicobacter pylori eradication therapy: Is superiority an illusion? *Helicobacter* 2017; 22 [PMID: 28884937 DOI: 10.1111/hel.12438]
  - 29 Murakami K, Sakurai Y, Shiino M, Funao N, Nishimura A, Asaka M. Vonoprazan, a novel potassium-competitive acid blocker, as a component of first-line and second-line triple therapy for Helicobacter pylori eradication: a phase III, randomised, double-blind study. *Gut* 2016; 65: 1439-1446 [PMID: 26935876 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-311304]
  - 30 Saleem N, Howden CW. Update on the Management of Helicobacter pylori Infection. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2020; 1-12 [PMID: 32837180 DOI: 10.1007/s11938-020-00300-3]
  - 31 Dubois RW, Melmed GY, Henning JM, Laine L. Guidelines for the appropriate use of non-steroidal anti-inflammatory drugs, cyclo-oxygenase-2-specific inhibitors and proton pump inhibitors in patients requiring chronic anti-inflammatory therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 197-208 [PMID: 14723611 DOI: 10.1111/j.0269-2813.2004.01834.x]
  - 32 García-Rayado G, Navarro M, Lanás A. NSAID induced gastrointestinal damage and designing GI-sparing NSAIDs. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2018; 11: 1031-1043 [PMID: 30139288 DOI: 10.1080/17512433.2018.1516143]
  - 33 Venerito M, Schneider C, Costanzo R, Breja R, Röhl FW, Malfertheiner P. Contribution of Helicobacter pylori infection to the risk of peptic ulcer bleeding in patients on nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antiplatelet agents, anticoagulants,

- corticosteroids and selective serotonin reuptake inhibitors. *Aliment Pharmacol Ther* 2018; 47: 1464-1471 [PMID: 29655196 DOI: 10.1111/apt.14652]
- 34 Kawai T, Oda K, Funao N, Nishimura A, Matsumoto Y, Mizokami Y, Ashida K, Sugano K. Vonoprazan prevents low-dose aspirin-associated ulcer recurrence: randomised phase 3 study. *Gut* 2018; 67: 1033-1041 [PMID: 29196436 DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314852]
  - 35 Mizokami Y, Oda K, Funao N, Nishimura A, Soen S, Kawai T, Ashida K, Sugano K. Vonoprazan prevents ulcer recurrence during long-term NSAID therapy: randomised, lansoprazole-controlled non-inferiority and single-blind extension study. *Gut* 2018; 67: 1042-1051 [PMID: 28988197 DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314010]
  - 36 Suto D, Yoshida M, Otake T, Ichiishi E, Sato K, Murata K, Ebinuma H, Odaira H, Suzuki Y, Kohgo Y. Effects of vonoprazan on gastric PH and clinical course after gastric ESD: A retrospective and prospective study. *Ann Med Surg (Lond)* 2020; 60: 27-30 [PMID: 33101669 DOI: 10.1016/j.amsu.2020.10.002]
  - 37 Jiang X, Li J, Xie J, Liang Z, Wan N, Jiang J, Zhang T, Wu Y. Histamine2-Receptor Antagonists, Proton Pump Inhibitors, or Potassium-Competitive Acid Blockers Preventing Delayed Bleeding After Endoscopic Submucosal Dissection: A Meta-Analysis. *Front Pharmacol* 2019; 10: 1055 [PMID: 31607912 DOI: 10.3389/fphar.2019.01055]
  - 38 Yoshii S, Yamada T, Yamaguchi S, Hayashi Y, Nakahara M, Shibukawa N, Yamamoto M, Ishihara R, Kinoshita K, Egawa S, Tsujii Y, Iijima H, Takehara T. Efficacy of vonoprazan for the prevention of bleeding after gastric endoscopic submucosal dissection with continuous use of antiplatelet agents. *Endosc Int Open* 2020; 8: E481-E487 [PMID: 32258369 DOI: 10.1055/a-1067-4380]
  - 39 Zhu J, Qi X, Yu H, Su C, Guo X. Acid suppression in patients treated with endoscopic therapy for the management of gastroesophageal varices: a systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2018; 12: 617-624 [PMID: 29564926 DOI: 10.1080/17474124.2018.1456918]
  - 40 Kawami N, Hoshino S, Hoshikawa Y, Takenouchi N, Umezawa M, Hanada Y, Kaise M, Iwakiri K. Pathogenesis of Potassium-Competitive Acid Blocker-Resistant Non-Erosive Reflux Disease. *Digestion* 2018; 98: 194-200 [PMID: 29870976 DOI: 10.1159/000488530]
  - 41 Li M, Oshima T, Horikawa T, Tozawa K, Tomita T, Fukui H, Watari J, Miwa H. Systematic review with meta-analysis: Vonoprazan, a potent acid blocker, is superior to proton-pump inhibitors for eradication of clarithromycin-resistant strains of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2018; 23: e12495 [PMID: 29873436 DOI: 10.1111/hel.12495]
  - 42 Ichida T, Ueyama S, Eto T, Kusano F, Sakai Y. Randomized Controlled Trial Comparing the Effects of Vonoprazan Plus Rebamipide and Esomeprazole Plus Rebamipide on Gastric Ulcer Healing Induced by Endoscopic Submucosal Dissection. *Intern Med* 2019; 58: 159-166 [PMID: 30210115 DOI: 10.2169/internalmedicine.1146-18]
  - 43 Miwa H, Uedo N, Watari J, Mori Y, Sakurai Y, Takanami Y, Nishimura A, Tatsumi T, Sakaki N. Randomised clinical trial: efficacy and safety of vonoprazan vs. lansoprazole in patients with gastric or duodenal ulcers - results from two phase 3, non-inferiority randomised controlled trials. *Aliment Pharmacol Ther* 2017; 45: 240-252 [PMID: 27891632 DOI: 10.1111/apt.13876]
  - 44 Yoshizaki T, Morisawa T, Fujinami M, Matsuda T, Katayama N, Inoue K, Matsumoto M, Ikeoka S, Takagi M, Sako T, Momose K, Noda M, Eguchi T, Okada A. Propensity score matching analysis: incidence and risk factors for "stardust" gastric mucosa, a novel gastric finding potentially induced by vonoprazan. *Aliment Pharmacol Ther* 2021; 53: 94-102 [PMID: 33159407 DOI: 10.1111/apt.16151]
  - 45 Kambara H, Hosohata K, Nakatsuji T, Ueno S, Oyama S, Inada A, Niinomi I, Wakabayashi T, Iwanaga K. Safety profile of vonoprazan compared with proton pump inhibitors: insight from a pharmacovigilance study. *Pharmazie* 2020; 75: 527-530 [PMID: 33305731 DOI: 10.1691/ph.2020.0604]
  - 46 Vonoprazan study in patients with erosive esophagitis to evaluate long-term safety. (assessed 5 May 2018). Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02679508>

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁





# miR-484通过靶向SIRT1介导细胞凋亡参与非酒精性脂肪肝病损伤

贾银钊, 枚巧娟, 张勇

贾银钊, 张勇, 武汉协和医院肝胆外科 湖北省武汉市 430022

枚巧娟, 华中科技大学同济医学院生殖研究健康所 湖北省武汉市 430030

张勇, 主任医师, 研究方向为非酒精性脂肪肝病及缺血再灌注损伤机制。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目, No. 81570566.

作者贡献分布: 张勇与贾银钊对此文所作贡献均等; 此课题由张勇与贾银钊设计; 研究过程由张勇、贾银钊、枚巧娟操作完成; 数据分析由贾银钊、枚巧娟完成; 本论文写作由张勇、贾银钊完成。

通讯作者: 张勇, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市江汉区解放大道1277号, 武汉协和医院肝胆外科. mailzhangyong@126.com

收稿日期: 2021-01-21

修回日期: 2021-02-25

接受日期: 2021-03-15

在线出版日期: 2021-04-28

## MiR-484 participates in non-alcoholic fatty liver injury by targeting SIRT1 to mediate cell apoptosis

Yin-Zhao Jia, Qiao-Juan Mei, Yong Zhang

Yin-Zhao Jia, Yong Zhang, Department of Hepatobiliary Surgery, Wuhan Union Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Qiao-Juan Mei, Institute of Reproductive Health, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81570566.

Corresponding author: Yong Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Wuhan Union Hospital, No. 1277 Jiefang Avenue, Jiangnan District, Wuhan 430022, Hubei Province, China. mailzhangyong@126.com

Received: 2021-01-21

Revised: 2021-02-25

Accepted: 2021-03-15

Published online: 2021-04-28

## Abstract BACKGROUND

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become a major health threat that is seriously underestimated. Although the pathogenesis of NAFLD is complex, more and more evidence shows that microRNAs (miRNAs) play an important role in regulating the occurrence and development of NAFLD. Whether miR-484 is involved in the occurrence and development of NAFLD remains to be clarified.

## AIM

To explore the mechanism of miR-484 in the damage of liver steatosis.

## METHODS

A mouse model of NAFLD was established by feeding mice a high-fat diet, and the expression levels of miR-484 and SIRT1 in liver tissues were measured by RT-qPCR and Western blot. A miR-484 knockout NAFLD mouse model was constructed, the degree of steatosis and apoptosis were detected by oil red O staining, HE staining, and TUNEL staining, and the levels of serum ALT and AST were detected. In addition, a cell model of NAFLD was constructed through free fatty acid exposure. The dual luciferase reporter gene assay was first used to verify the direct targeting relationship between miR-484 and SIRT1, then an SIRT1 overexpression model was constructed by transfection with pc-DNA and pc-DNA SIRT1. Oil red O staining was used to detect lipid accumulation and flow cytometry was used to detect cell



apoptosis.

## RESULTS

In the mouse model of NAFLD, the expression of miR-484 was significantly up-regulated, while the expression of SIRT1 was decreased. The degree of steatosis was reduced and serum ALT and AST levels were significantly reduced in miR-484 knockout mice. In the cell model of NAFLD, miR-484 can directly target SIRT1. In addition, overexpression of SIRT1 significantly decreased the rate of apoptosis and alleviated lipid accumulation in liver cells

## CONCLUSION

MiR-484 regulates cell apoptosis by targeting SIRT1 and aggravates lipid accumulation in liver cells, which suggests that miR-484 may be a therapeutic target for NAFLD.

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

**Key Words:** Non-alcoholic fatty liver disease; MiR-484; NAD-dependent deacetylase Sirtuin-1; Steatosis; Apoptosis

**Citation:** Jia YZ, Mei QJ, Zhang Y. MiR-484 participates in non-alcoholic fatty liver injury by targeting SIRT1 to mediate cell apoptosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(8): 389-397

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/389.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.389>

## 摘要

### 背景

目前非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)已经成为被严重低估的重大健康威胁。尽管NAFLD发病机理复杂,但是越来越多的证据表明microRNAs (miRNAs)在调控NAFLD的发生和发展中起着重要的作用。其中,miR-484是否参与NAFLD发生和发展仍有待阐明。

### 目的

研究miR-484参与肝脏脂肪变性的损伤作用机制。

### 方法

通过喂养高脂饲料建立小鼠高脂模型,采用RT-qPCR和Western blot方法测定肝组织中miR-484和SIRT1的mRNA和蛋白水平,再次构建miR-484基因敲除NAFLD小鼠模型,检测小鼠血清ALT、AST、TG、TC变化水平,通过油红O染色、HE染色和TUNEL染色检测脂肪变性程度和细胞凋亡水平。此外,通过游离脂肪酸构建NAFLD细胞模型,采用双荧光素酶报告基因实验验证miR-484和SIRT1的直接靶向关系;通过转染pc-DNA和pc-DNA SIRT1构建SIRT1过表达模型,通过油红O染色检测脂质积累和流式细胞学检测

细胞凋亡水平。

## 结果

在NAFLD小鼠模型中,miR-484表达明显上调,而SIRT1表达下降;敲除miR-484后小鼠脂肪变性程度减轻,血清ALT和AST明显降低。在NAFLD细胞模型中,miR-484能够通过直接靶向SIRT1,过表达SIRT1显著降低细胞凋亡率,减轻肝细胞脂质积累。

## 结论

miR-484通过靶向SIRT1调控细胞凋亡,加重肝细胞脂质积累,表明miR-484可能是NAFLD的治疗靶标。

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

**关键词:** 非酒精性脂肪肝病疾病; miR-484; NAD-依赖性去乙酰化酶Sirtuin-1;脂肪变性;细胞凋亡

**核心提要:** 近年来,miR-484在调控肿瘤缺氧微环境(肺癌、乳腺癌、结直肠癌、胃癌、肝癌、胰腺癌等)中发挥重要作用,但目前对miR-484是否参与NAFLD损伤作用机制国内外均尚无相关研究报道。本研究通过建立小鼠和细胞高脂模型发现:miR-484通过下调SIRT1表达,诱导细胞凋亡加重非酒精性脂肪肝病损伤。降低miR-484表达或者上调SIRT1表达能够通过抑制细胞凋亡减轻非酒精性脂肪肝病损伤,为预防或治疗NAFLD损伤提供新的靶点。

**文献来源:** 贾银钊, 枚巧娟, 张勇. miR-484通过靶向SIRT1介导细胞凋亡参与非酒精性脂肪肝病损伤. *世界华人消化杂志* 2021; 29(8): 389-397

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/389.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.389>

## 0 引言

当前中国脂肪肝的发病率正以每年0.594%的速度上升,最新数据显示已有20%的中国人患有脂肪肝<sup>[1]</sup>。脂肪肝已经成为被严重低估的重大健康威胁。非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是我国脂肪肝最主要的病理类型,也是全球患病人数最多的肝脏慢性疾病。NAFLD在引起肝功能严重受损的同时,部分患者还可进一步发展为纤维化、肝硬化,甚至可直接演变成肝癌<sup>[2,3]</sup>。尽管目前对NAFLD的研究很多,但是其病因及分子作用机制尚不清楚,胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)<sup>[4]</sup>、氧化应激<sup>[5]</sup>与脂质过氧化物<sup>[6,7]</sup>可能是其病因的关键因素,其他因素如瘦素<sup>[8]</sup>、脂联素<sup>[9]</sup>、抵抗素、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)<sup>[10]</sup>等多种脂肪因子参与NAFLD的形成、炎症改变和纤维化过程。一直以来,NAFLD发病机制是基于“二次打击”理论,

但随着近几年研究的深入进一步揭示NAFLD发生的许多分子途径, 导致其发生机制仍处于争论中。

微小RNAs (microRNA, miRNA, miR)为19-24个核苷酸之间的内源性短链非编码RNA, 通过与靶mRNA的3'-非翻译区(3'-UTR)结合, 在基因沉默和翻译抑制中发挥作用, 调控多种生物学功能。前期已有研究证实miR-484在癌前病变到癌症的过程中是一个关键的调节因子<sup>[11-13]</sup>。然而, miR-484是否参与非酒精性脂肪肝病肝病的损伤过程及机制尚不清楚。

NAD<sup>+</sup>依赖的组蛋白去乙酰化酶Sirtuin 1 (SIRT1)参与许多细胞的生理功能, 包括肝脂代谢、线粒体功能、肝糖异生、胰岛素分泌和脂肪细胞成熟。SIRT1是控制肝脏脂质代谢的主要调控因子<sup>[14]</sup>。尽管已有研究报告肝脏特异性SIRT1的缺失会促进肝脂肪变性<sup>[15,16]</sup>, 但尚不清楚miR-484是否通过靶向SIRT1来调节NAFLD中的脂肪蓄积。因此, 本研究旨在探讨miR-484在NAFLD中对SIRT1的作用和潜在的调节机制, 将为NAFLD的诊断和治疗提供参考。结果报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** SPF级C57/BL小鼠(购自湖北省实验动物研究中心, 许可证号: SCXK(鄂)-2015-0018, 6-8周龄); miR-484基因敲除鼠(购买于南京大学-南京生物医药研究院, 品系编号: T000103); 人正常肝脏细胞(LO2细胞系)(购自中国武汉普诺赛生命科技公司); DMEM 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶、青霉素和链霉素(美国Gibco公司); Trizol试剂、逆转录试剂盒、SYBR Green PCR Master Mix试剂盒、双荧光素酶报告试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司); miR-484 mimic、inhibitor与阴性对照mimic control、inhibitor control(广州锐博生物有限公司); 引物合成、PGL3-CMV-LUC-SIRT1 3'UTR突变型和野生型质粒构建、pc-DNA、pc-DNA SIRT1(吉满生物科技(上海)有限公司合成); Lipofectamine™3000(美国Invitrogen公司); SDS-PAGE试剂盒、ECL发光液、BCA蛋白定量试剂盒和RIPA蛋白裂解液(碧云天生物技术公司); PVDF膜(美国Abcam公司); ALT、AST、TG、TC试剂盒(南京建成生物工程研究所); TUNEL试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司); 油红O染色剂、油酸(O1383)、棕榈酸(P5585)(美国Sigma公司); 膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(annexin V-FITC)和碘化丙啶(propidium iodide, PI) (安迪福诺生物科技(武汉)有限公司); 高纯度质粒小提中量试剂盒(DP107) (TIANGEN公司); SIRT1抗体、 $\beta$ -ACTIN抗体及二抗(美国CST公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物分组及动物模型:** 取SPF级6-8周龄雄性野生

型(WT组)和miR-484敲除型(KO组)C57/BL小鼠各40只, 体重28-32 g之间, 置于恒温(25 °C), 湿度为70%的动物房适应性喂养1 wk后, 将各组小鼠随机分为正常对照组(NC组)和高脂饮食组(HF组), 分别给予普通饲料和高脂饲料(基础饲料、2%胆固醇、15%猪油)喂养16 wk后, 造模结束后取眼眶静脉丛采血, 留取肝脏, 一部分甲醛固定, 另一部分液氮速冻后于-80 °C保存。血清获取方法: 血液室温静置4 h后, 2500 rpm/min, 离心10 min, 得到的上清液即为血清, 分装后放置-80 °C备用。

**1.2.2 LO2细胞培养:** 将冻存的2代LO2细胞复苏, 接种于含10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素的DMEM培养液中, 在37 °C、5% CO<sub>2</sub>恒温培养箱中培养。根据细胞的生长情况, 用含0.25%胰蛋白酶的EDTA消化液进行传代培养, 取第4-7代的LO2细胞用于后续试验。

**1.2.3 LO2脂肪变性造模:** 将呈对数生长期的细胞转接种入6孔板中, 6孔板中提前置入多聚赖氨酸包被的无菌盖玻片1片, 培养24 h后, 用移液器去除培养液, 更换为含有0.4 Mm棕榈酸和0.2 Mm油酸的游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)DMEM培养液继续培养, FFA干预24 h后用于后续实验<sup>[17]</sup>。

**1.2.4 细胞转染和分组:** 转染前1 d将LO2细胞接种到6孔板中, 接种密度为 $2 \times 10^5$ 个/孔, 放置于37 °C培养箱内继续培养, 待细胞生长密度达40%-50%时, 分别将miR-484 mimic(M组)、mimic control(MC组)、miR-484 inhibitor(I组)、inhibitor control(IC组)、pcDNA SIRT1(overexpression, OE组)和pcDNA(overexpression normal control, OE-NC组)转染至LO2细胞, 转染操作步骤严格参照Lipofectamine 3000转染试剂说明书进行, 转染后的细胞继续放置于37 °C培养箱中培养, 转染持续8-10 h后更换含FFA培养基干预24 h后, 用于后续实验。

**1.2.5 HE染色:** 取各组肝组织石蜡包埋切片、脱蜡至水、苏木素染细胞核、伊红染细胞质、脱水封片, 用显微镜观察各组肝组织结构。

**1.2.6 油红O染色:** 油红染色步骤如下: (1)固定: 将冰冻切片复温干燥10 min; 细胞爬片4%多聚甲醛固定10 min, PBS充分洗涤; (2)染色: 油红工作液孵育10-15 min; 细胞爬片破膜10-15 min, PBS漂洗3次, 5 min/次, 随后以60%异丙醇浸洗约15 s, 入油红O工作液染色10 min; (3)分化: 75%酒精分化2 s, 水洗1 min; 细胞爬片用60%异丙醇分化至间质清晰后用蒸馏水洗涤; (4)复染细胞核: Harris苏木素复染1 min左右, 蒸馏水冲洗, 1%的盐酸酒精分化数秒, 蒸馏水冲洗, 氨水返蓝, 流水冲洗; (5)封片: 用纸巾吸去周边水分, 甘油明胶封片。

**1.2.7 TUNEL染色:** 上述各组肝组织切片染色步骤: 脱蜡至水, 蛋白酶K修复, 破膜通透, 孵育tunel反应液, 孵育

表 1 RT-qPCR相关引物序列如下

Primer	Sequence 5'-3'
miR-484-F	GCGTCAGGCTCAGTCCCCT
miR-484-R	AGTGCAGGGTCCGAGGTATT
miR-484-RT	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACATCGGG
U6-F	CTCGTTCTCGGCAGCACA
U6-R	AACGCTTCACGAATTTGCGT
U6-RT	AACGCTTCACGAATTTGCGT
mou-SIRT1-F	CAGGTTGCAGGAATCCAAA
mou-SIRT1-R	CAAATCAGGCAAGATGCTGT
mou-β-actin-F	AAGTGCTTCTAGGCGGACTGTT
mou-β-actin-R	TTTCTGCGCAAGTTAGGTTTTG
has-SIRT1-F	CCAGAACATAGACACGCTGGAAC
has-SIRT1-R	CTCCTCGTACAGCTTCACAGTCA
hsa-β-actin-F	TCACCCACACTGTGCCATCTACG
hsa-β-actin-R	CAGCGGAACCGCTCATTGCCAATG

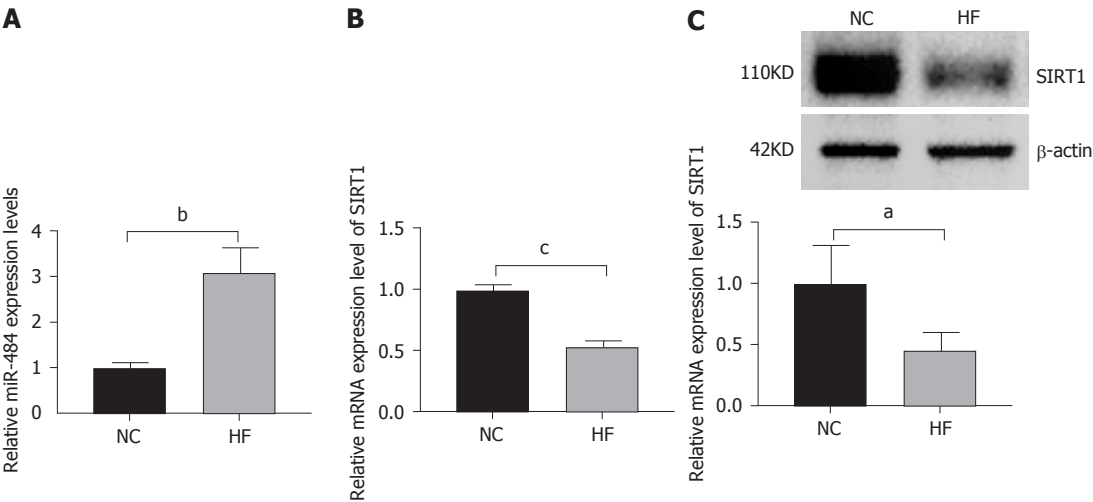


图 1 高脂暴露对miR-484和SIRT1的表达影响. A: 高脂组小鼠肝组织miR-484 mRNA表达较对照组明显上调; B: 高脂组小鼠肝组织SIRT1 mRNA表达较对照组明显下调; C: 高脂组小鼠肝组织SIRT1蛋白表达较对照组明显下调( $P<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ,  $^cP<0.001$ ).

POD反应液, DAB显色, 苏木素染核, 脱水封片, 镜检拍照.

1.2.8 流式细胞学: 通过流式细胞术检测细胞凋亡: (1)收集上清: 收集培养液于流式管中(有少量悬浮细胞); (2)收集细胞: 六孔板中的细胞用PBS洗涤一次, 加入1 mL 0.25%胰酶消化细胞, 待细胞变圆且有部分细胞悬浮, 即加入培养基终止消化. 用移液枪轻轻吹打细胞, 使细胞悬浮. 收集于流式管中, 1500 rpm离心5 min, 弃上清; (3)PBS洗涤细胞: 加入3 mL 4 °C预冷的PBS完全重悬细胞, 1500 rpm离心5 min, 弃上清. 沉淀用300  $\mu$ L的Binding Buffer重悬; (4)荧光标记: 加入5  $\mu$ L Annexin V-FITC混匀后, 加入5  $\mu$ L Propidium Iodide, 混匀. 室温下避光反应5-15 min; (5)于1 h内上机检测: Annexin V-FITC的绿色荧光通过FITC通道(FL1)检测, PI红色荧光通过PI通道(FL2)

检测. 流式细胞仪参数如下: 激发波长Ex = 488 nm, 发射波长Em = 530 nm.

1.2.9 RT-qPCR: 采用Trizol试剂提取各组肝组织和细胞中总RNA, 使用Nanodrop超微量核酸蛋白检测仪测定所提RNA的浓度和纯度. 各组按照逆转录试剂盒说明书进行操作, 使用RT-qPCR法检测miR-484和SIRT1基因的表达, 使用软件分析检测样本的CT值, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值反映相对表达水平. 相关引物序列见表1

1.2.10 Western Blot: 测定组织和细胞蛋白上清中SIRT1、 $\beta$ -actin的蛋白表达量:取适量对数生长期的LO2细胞和适量大小肝组织(约80 mg), RIPA裂解后采用BCA法进行蛋白定量, 高温变性离心后取上清进行蛋白上样(蛋白量约50  $\mu$ g). 按照Western Blot实验常规操作流



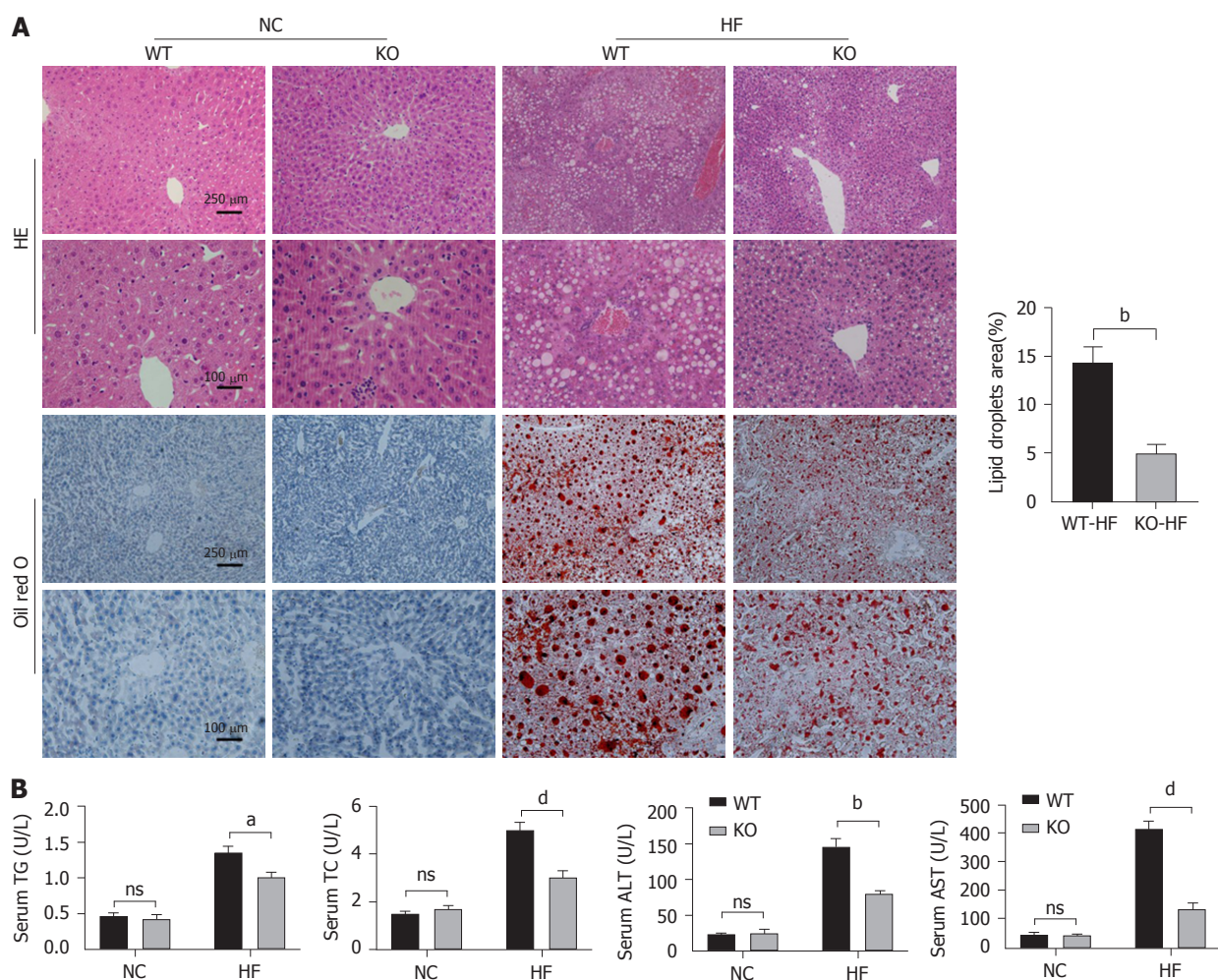


图 2 miR-484的表达对脂肪变性的影响. A: HE染色和油红O染色检测各组肝组织脂滴积累情况; B: 各组间小鼠血清中ALT和AST表达差异 ( $^bP<0.01$ ,  $^dP<0.0001$ ).

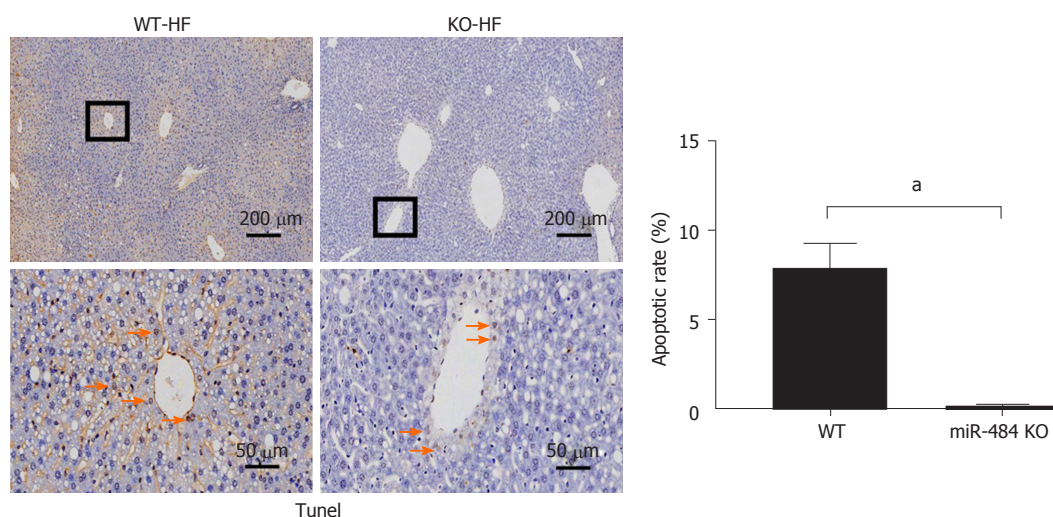


图 3 敲除miR-484的表达对高脂暴露下肝细胞凋亡的影响. TUNEL染色显示KO-HF组小鼠肝脏组织中凋亡细胞明显减轻( $P<0.05$ ).

程进行. Image J分析目的条带的灰度值, 以目的条带灰度值与 $\beta$ -actin灰度值的比值表示目的蛋白的表达.

**统计学处理** 实验数据采用GraphPad Prism 8.0版软件进行分析, 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 组间采用



单因素方差分析比较, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 高脂暴露对miR-484和SIRT1的表达影响** 与NC组相比, HF组肝组织中miR-484表达显著升高, SIRT1的mRNA和蛋白表达均显著降低( $P<0.05$ ), 见图1。这表明高脂暴露诱导肝组织miR-484的表达增加, 伴随SIRT1的表达下调。

**2.2 miR-484的表达对脂肪变性的影响** 与NC组相比, HF组小鼠肝脏脂滴形成明显增高; 与WT-HF组相比, KO-HF组小鼠肝脏中脂滴积累明显减少( $P<0.05$ ), 见图2A。HF组小鼠血清TC和TG含量明显高于NC组, KO-HF组小鼠血清中TC和TG含量较WT-HF组明显降低, 见图2B。此外, 与NC组相比, HF组小鼠血清ALT和AST明显增高; 与WT-HF组相比, KO-HF组小鼠血清中ALT和AST明显减少( $P<0.05$ ), 见图2B。这一结果提示miR-484不仅能够抑制肝脏脂肪蓄积, 同时减轻肝细胞损伤。

**2.3 敲除miR-484的表达对高脂暴露下肝细胞凋亡的影响** 与WT-NC组相比, WT-HF组细胞凋亡明显, 与WT-HF组相比, KO-HF组细胞凋亡显著减轻, 见图3。这一结果提示, miR-484可促进高脂暴露下的细胞凋亡。

**2.4 miR-484直接调控SIRT1** 运用miRanda数据库预测到miR-484与SIRT1 3'UTR存在结合位点, 见图4A。双荧光素酶活性检测结果显示, 与MC组相比, M组WT-SIRT1细胞中萤光素酶活性显著降低, MUT-SIRT1细胞中萤光素酶活性不受影响, 见图4B。与MC组相比, M组细胞中SIRT1表达明显显著降低; 与IC组相比, I组细胞中SIRT1表达明显升高, 见图4C。上述结果提示, miR-484可靶向调控SIRT1。

**2.5 过表达SIRT1能够减轻肝细胞脂肪变性** 与HF+pcDNA组相比, HF+pcDNA-SIRT1组LO2细胞中SIRT1的蛋白表达显著升高, 细胞的凋亡率显著降低( $P<0.05$ ), 见图5。这一结果提示SIRT1可能通过降低细胞凋亡减轻肝细胞脂肪变性。

## 3 讨论

NAFLD因其患病率高, 发病机理复杂加之缺乏标准的治疗方法, 目前已成为当今全球第一大肝脏疾病<sup>[18]</sup>。虽然对其诊治和发病机制的研究很多年, 但是有效药物和治疗方案仍处于探索阶段<sup>[19]</sup>。目前已有研究证明NAFLD存在表达失调现象<sup>[20]</sup>, 而且miRNA被视为质稳态和健康的关键调节因子, 在调控肝脏脂肪酸和胆固醇合成中具有潜在的病理作用<sup>[21]</sup>, 所以miRNAs在NAFLD中具有作为诊断和预后水平的生物标志物的前景价值。因此在本研究中, 我们首次发现NAFLD中miR-484的异常表达, 并通

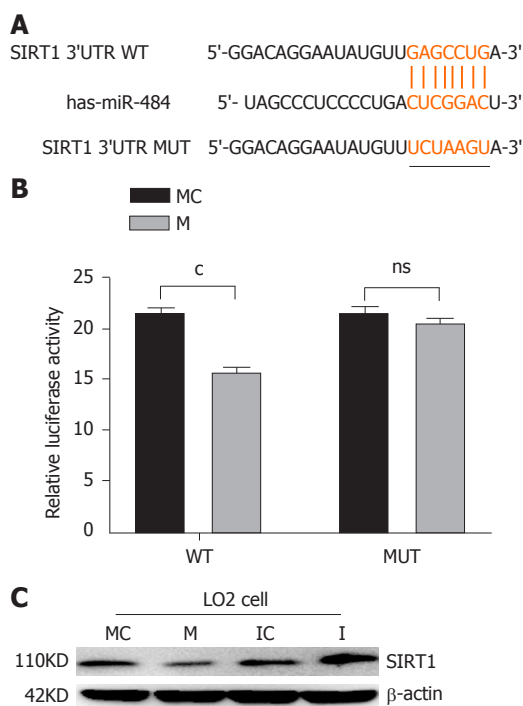


图4 miR-484直接调控SIRT1。A: miR-484与SIRT1 3'UTR存在结合位点(字体红色标注者为结合位点, 下划线者为突变位点); B: 双荧光素酶活性检测结果( $P<0.001$ ); C: miR-484过表达组(M组)和敲低组(I组)中SIRT1蛋白表达差异。

过靶向SIRT1研究miR-484在NAFLD中脂质积累的调节。

目前研究已证实miR-484参与调控肿瘤发生与发展, 被视为是癌前病变的关键触发器<sup>[22,23]</sup>。值得注意的是, miR-484可以通过靶向Fis1表达, 调节线粒体形态从而改变细胞凋亡<sup>[24]</sup>。Li等<sup>[25]</sup>证实miR-484通过抑制Apaf-1和凋亡相关蛋白表达促进非小细胞肺癌的发生。Liu研究<sup>[26]</sup>认为miR-484通过抑制Caspase-3和Caspase-9表达保护大鼠心肌细胞免受缺血再灌注损伤。然而, 其他学者<sup>[27]</sup>提出miR-484在胃癌中通过CCL-18/PI3K/AKT促进细胞凋亡, 从而发挥抗癌作用。Li等<sup>[28]</sup>揭示长链非编码RNA LINC00339能够通过靶向miR-484加重阿霉素诱导的心肌细胞凋亡。本研究构建了体内和体外高脂损伤模型, 发现高脂暴露下miR-484表达异常升高, 深入研究发现, 抑制miR-484能够减轻细胞凋亡, 这与后者研究结果相一致。这是国内外首次揭示在非酒精性脂肪肝病中miR-484与细胞凋亡的相关性, 为miR-484在NAFLD中的功能研究和机制探索奠定了基础, 推进了miR-484在肝脏疾病中潜在的治疗价值的进一步深入研究。本研究通过双荧光素酶报告基因实验进一步验证miR-484能够直接负调控SIRT1, 揭示了靶向SIRT1为miR-484在肝脏细胞中的调控网络之一。

SIRT1是一种依赖于NAD<sup>+</sup>的去乙酰化酶, 在氧化和毒性应激下调节细胞凋亡, 被视为调节代谢稳态的关键

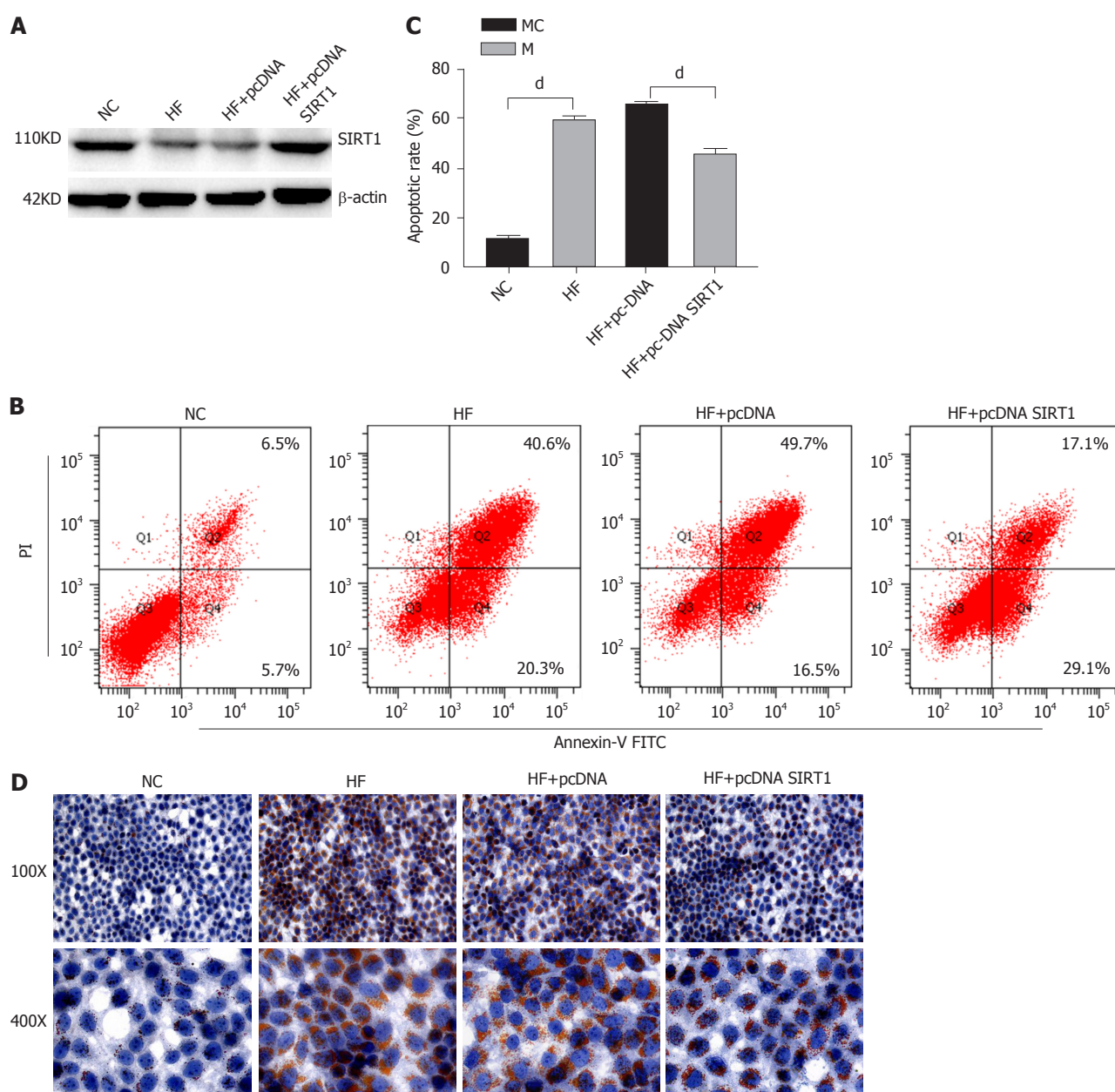


图 5 过表达SIRT1能够减轻肝细胞脂肪变性: A: 不同处理方式对LO2细胞中SIRT1蛋白表达的影响; B、C: 通过流式细胞学检测不同处理方式对LO2细胞凋亡的影响; D: 通过油红O染色检测不同处理方式对LO2细胞脂滴积累的影响。

代谢传感器。已有研究证实SIRT1可以直接调控脂肪代谢相关基因(如sterol regulatory element binding proteins, SREBPs、FASN和ACC)表达的增加<sup>[29]</sup>。值得注意的是, SIRT1能够抑制脂肪生成, 增加脂类分解, 刺激三酰甘油脂肪酶基因转录, 激活相关的过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 调节叉头盒子1的脱乙酰作用, 加快体内脂解作用<sup>[30-32]</sup>。本研究通过细胞油红O染色实验证实过表达SIRT1能够降低细胞凋亡同时伴随LO2脂滴蓄积程度降低。已有研究证实SIRT1能够通过下调p53表达对高脂诱导的肝细胞凋亡产生保护作用<sup>[32]</sup>。本研究结果与前者一致: 过表达SIRT1能够减轻高脂暴露下细胞凋亡严重程度。以上研究结果说明SIRT1参与细胞的凋亡过程, 为研

究SIRT1参与NAFLD损伤作用机制提供参考依据。

## 4 结论

综上所述, miR-484能够加重肝细胞脂肪变性过程, 其机制与靶向SIRT1有关, 靶向miR-484/SIRT1可能将来新的NAFLD治疗方法。

## 文章亮点

## 实验背景

近年来, miR-484在调控肿瘤缺氧微环境(肺癌、乳腺癌、结直肠癌、胃癌、肝癌、胰腺癌等)中发挥重要作

用,但目前对miR-484是否参与NAFLD损伤作用机制国内外均尚无相关研究报道。

## 实验动机

本研究旨在研究miR-484在高脂暴露下对肝细胞凋亡影响,并探讨其分子作用机制,为预防或治疗NAFLD损伤提供新的靶点。

## 实验目标

探讨miR-484通过SIRT1介导细胞凋亡参与NAFLD损伤机制,为临床治疗或诊断NAFLD提供科研依据。

## 实验方法

首先,我们采用野生组(WT组)、miR-484敲除组(miR-484 KO组)小鼠进行高脂造模,通过RT-qPCR和Western blot实验验证miR-484对下游分子SIRT1的表达影响。此外,用一定浓度的游离脂肪酸建立NAFLD细胞模型,随机分成miR-484 mimic(M组)、miR-484 mimic NC(MC组)、miR-484 inhibitor(I组)、miR-484 inhibitor NC(IC组)、pcDNA SIRT1组、pcDNA组,采用油红O染色法分析脂滴积累情况,流式细胞学分析细胞凋亡,Western blot检测LO2细胞SIRT1蛋白表达,双荧光素酶报告基因检测实验验证miR-484与SIRT1的靶向关系。

## 实验结果

本研究通过建立小鼠和细胞高脂模型发现:miR-484通过下调SIRT1表达,诱导细胞凋亡加重非酒精性脂肪肝病损伤。降低miR-484表达或者上调SIRT1表达能够通过抑制细胞凋亡减轻非酒精性脂肪肝病损伤。

## 实验结论

肝脏细胞在高脂暴露下通过促进miR-484表达上调,导致下游分子SIRT1表达下调,进一步加速细胞凋亡,加重非酒精性脂肪肝病损伤作用。

## 展望前景

本研究通过体内及体外实验共同验证miR-484在高脂暴露下抑制SIRT1表达,通过促进细胞凋亡,后期还需要进一步研究高脂暴露下如何促进miR-484表达上调,明确miR-484上游调控分子,以更清晰的展示非酒精性脂肪肝病损伤作用机制,也为治疗非酒精性脂肪肝病提供理论依据。

## 5 参考文献

- 1 Tanaka N, Kimura T, Fujimori N, Nagaya T, Komatsu M, Tanaka E. Current status, problems, and perspectives of non-alcoholic fatty liver disease research. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 163-177 [PMID: 30670907 DOI: 10.3748/wjg.v25.i2.163]

- 2 Fang YL, Chen H, Wang CL, Liang L. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescence: From "two hit theory" to "multiple hit model". *World J Gastroenterol* 2018; 24: 2974-2983 [PMID: 30038464 DOI: 10.3748/wjg.v24.i27.2974]
- 3 Issa D, Patel V, Sanyal AJ. Future therapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2018; 38 Suppl 1: 56-63 [PMID: 29427492 DOI: 10.1111/liv.13676]
- 4 Utzschneider KM, Kahn SE, Polidori DC. Hepatic Insulin Extraction in NAFLD Is Related to Insulin Resistance Rather Than Liver Fat Content. *J Clin Endocrinol Metab* 2019; 104: 1855-1865 [PMID: 30566676 DOI: 10.1210/je.2018-01808]
- 5 Satapati S, Kucejova B, Duarte JA, Fletcher JA, Reynolds L, Sunny NE, He T, Nair LA, Livingston KA, Fu X, Merritt ME, Sherry AD, Malloy CR, Shelton JM, Lambert J, Parks EJ, Corbin I, Magnuson MA, Browning JD, Burgess SC. Mitochondrial metabolism mediates oxidative stress and inflammation in fatty liver. *J Clin Invest* 2015; 125: 4447-4462 [PMID: 26571396 DOI: 10.1172/JCI82204]
- 6 Ore A, Akinloye OA. Oxidative Stress and Antioxidant Biomarkers in Clinical and Experimental Models of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Medicina (Kaunas)* 2019; 55 [PMID: 30682878 DOI: 10.3390/medicina55020026]
- 7 Zhao T, Wu K, Hogstrand C, Xu YH, Chen GH, Wei CC, Luo Z. Lipophagy mediated carbohydrate-induced changes of lipid metabolism via oxidative stress, endoplasmic reticulum (ER) stress and ChREBP/PPAR $\gamma$  pathways. *Cell Mol Life Sci* 2020; 77: 1987-2003 [PMID: 31392349 DOI: 10.1007/s00018-019-03263-6]
- 8 徐丹, 黄晓东, 罗和生, 袁静萍, 张姮, 吴杰. 一种新的瘦素抵抗机制:非酒精性脂肪肝病瘦素/PI3-K/Akt信号通路的激活缺陷. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3095-3100 [DOI: 10.11569/wjcd.v20.i32.3095]
- 9 张炜, 朱丽群, 蒋小猛, 曹亮, 程兆明, 徐岷. 非酒精性脂肪肝病脂联素基因-4522位点的单核苷酸多态性. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1660-1663 [DOI: 10.11569/wjcd.v21.i17.1660]
- 10 许腊梅, 孙丹莉, 张予蜀, 张振玉, 李翠翠. 紧密连接蛋白Occludin在非酒精性脂肪肝病大鼠肠上皮细胞中的表达及其与TNF- $\alpha$ 的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 981-986 [DOI: 10.11569/wjcd.v18.i10.981]
- 11 Wang S, Wang W, Han X, Wang Y, Ge Y, Tan Z. Dysregulation of miR484-TUSC5 axis takes part in the progression of hepatocellular carcinoma. *J Biochem* 2019; 166: 271-279 [PMID: 31157375 DOI: 10.1093/jb/mvz034]
- 12 Lechel A, Gougelet A. Early HCC treatment: a future strategy against interferon/miR-484 axis to revert precancerous lesions? *Gut* 2016; 65: 1073-1074 [PMID: 26944073 DOI: 10.1136/gutjnl-2016-311446]
- 13 Qiu L, Huang Y, Li Z, Dong X, Chen G, Xu H, Zeng Y, Cai Z, Liu X, Liu J. Circular RNA profiling identifies circADAMT513 as a miR-484 sponge which suppresses cell proliferation in hepatocellular carcinoma. *Mol Oncol* 2019; 13: 441-455 [PMID: 30537115 DOI: 10.1002/1878-0261.12424]
- 14 Khan SA, Sathyanarayan A, Mashek MT, Ong KT, Wollaston-Hayden EE, Mashek DG. ATGL-catalyzed lipolysis regulates SIRT1 to control PGC-1 $\alpha$ /PPAR- $\alpha$  signaling. *Diabetes* 2015; 64: 418-426 [PMID: 25614670 DOI: 10.2337/db14-0325]
- 15 Purushotham A, Schug TT, Xu Q, Surapureddi S, Guo X, Li X. Hepatocyte-specific deletion of SIRT1 alters fatty acid metabolism and results in hepatic steatosis and inflammation. *Cell Metab* 2009; 9: 327-338 [PMID: 19356714 DOI: 10.1016/j.cmet.2009.02.006]
- 16 Li Y, Wong K, Giles A, Jiang J, Lee JW, Adams AC, Kharitononkov A, Yang Q, Gao B, Guarente L, Zang M. Hepatic SIRT1 attenuates hepatic steatosis and controls energy balance in mice by inducing fibroblast growth factor 21. *Gastroenterology* 2014; 146: 539-49.e7 [PMID: 24184811 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.10.059]



- 17 Li T, Xian WJ, Gao Y, Jiang S, Yu QH, Zheng QC, Zhang Y. Higd1a Protects Cells from Lipotoxicity under High-Fat Exposure. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 2019: 6051262 [PMID: 31089410 DOI: 10.1155/2019/6051262]
- 18 Neuschwander-Tetri BA. Non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Med* 2017; 15: 45 [PMID: 28241825 DOI: 10.1186/s12916-017-0806-8]
- 19 叶俊钊, 钟碧慧. 非酒精性脂肪性肝病的研究历程与展望. *世界华人消化杂志* 2017; 25: 3094-3103 [DOI: 10.11569/wjcd.v25.i35.3094]
- 20 Tessitore A, Ciciarelli G, Del Vecchio F, Gaggiano A, Verzella D, Fischietti M, Mastroiaco V, Vetusch A, Sferri R, Barnabei R, Capece D, Zazzaroni F, Alesse E. MicroRNA expression analysis in high fat diet-induced NAFLD-NASH-HCC progression: study on C57BL/6J mice. *BMC Cancer* 2016; 16: 3 [PMID: 26728044 DOI: 10.1186/s12885-015-2007-1]
- 21 Sedgeman LR, Michell DL, Vickers KC. Integrative roles of microRNAs in lipid metabolism and dyslipidemia. *Curr Opin Lipidol* 2019; 30: 165-171 [PMID: 30985366 DOI: 10.1097/MOL.0000000000000603]
- 22 Lee D, Tang W, Dorsey TH, Ambs S. miR-484 is associated with disease recurrence and promotes migration in prostate cancer. *Biosci Rep* 2020; 40 [PMID: 32338277 DOI: 10.1042/BSR20191028]
- 23 Hu Y, Xie H, Liu Y, Liu W, Liu M, Tang H. Correction to: miR-484 suppresses proliferation and epithelial-mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SMAD2 in cervical cancer cells. *Cancer Cell Int* 2020; 20: 318 [PMID: 32694940 DOI: 10.1186/s12935-020-01375-9]
- 24 Wang K, Long B, Jiao JQ, Wang JX, Liu JP, Li Q, Li PF. miR-484 regulates mitochondrial network through targeting Fis1. *Nat Commun* 2012; 3: 781 [PMID: 22510686 DOI: 10.1038/ncomms1770]
- 25 Li T, Ding ZL, Zheng YL, Wang W. MiR-484 promotes non-small-cell lung cancer (NSCLC) progression through inhibiting Apaf-1 associated with the suppression of apoptosis. *Biomed Pharmacother* 2017; 96: 153-164 [PMID: 28982084 DOI: 10.1016/j.biopha.2017.09.102]
- 26 Liu H, Li S, Jiang W, Li Y. MiR-484 Protects Rat Myocardial Cells from Ischemia-Reperfusion Injury by Inhibiting Caspase-3 and Caspase-9 during Apoptosis. *Korean Circ J* 2020; 50: 250-263 [PMID: 31845557 DOI: 10.4070/kcj.2019.0107]
- 27 Liu J, Li SM. MiR-484 suppressed proliferation, migration, invasion and induced apoptosis of gastric cancer via targeting CCL-18. *Int J Exp Pathol* 2020; 101: 203-214 [PMID: 32985776 DOI: 10.1111/iep.12366]
- 28 Li J, Li L, Li X, Wu S. Long noncoding RNA LINC00339 aggravates doxorubicin-induced cardiomyocyte apoptosis by targeting MiR-484. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 503: 3038-3043 [PMID: 30170730 DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.08.090]
- 29 Wu T, Liu YH, Fu YC, Liu XM, Zhou XH. Direct evidence of sirtuin downregulation in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients. *Ann Clin Lab Sci* 2014; 44: 410-418 [PMID: 25361925]
- 30 Colak Y, Yesil A, Mutlu HH, Caklili OT, Ulasoglu C, Senates E, Takir M, Kostek O, Yilmaz Y, Yilmaz Enc F, Tuncer I. A potential treatment of non-alcoholic fatty liver disease with SIRT1 activators. *J Gastrointest Liver Dis* 2014; 23: 311-319 [PMID: 25267960 DOI: 10.15403/jgld.2014.1121.233.yck]
- 31 Chakrabarti P, English T, Karki S, Qiang L, Tao R, Kim J, Luo Z, Farmer SR, Kandror KV. SIRT1 controls lipolysis in adipocytes via FOXO1-mediated expression of ATGL. *J Lipid Res* 2011; 52: 1693-1701 [PMID: 21743036 DOI: 10.1194/jlr.M014647]
- 32 Wang H, Qiang L, Farmer SR. Identification of a domain within peroxisome proliferator-activated receptor gamma regulating expression of a group of genes containing fibroblast growth factor 21 that are selectively repressed by SIRT1 in adipocytes. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 188-200 [PMID: 17954559 DOI: 10.1128/MCB.00992-07]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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



# 藤梨根提取物通过调控miR-192-5p/ARPP19轴影响结肠癌细胞的增殖和凋亡

徐万苏, 柯飞, 许怡, 郑艺

徐万苏, 衢州市人民医院肿瘤放疗科 浙江省衢州市 324000

柯飞, 衢州市人民医院病理科 浙江省衢州市 324000

许怡, 郑艺, 衢州市人民医院消毒供应中心 浙江省衢州市 324000

徐万苏, 主治医师, 研究方向为肿瘤学.

作者贡献分布: 本文由徐万苏、柯飞、许怡、郑艺统计并撰写; 徐万苏审阅.

通讯作者: 徐万苏, 本科, 主治医师, 324000, 浙江省衢州市柯城区钟楼底2号衢州市人民医院肿瘤放疗科. xws121987@163.com

收稿日期: 2021-01-23

修回日期: 2021-03-01

接受日期: 2021-03-27

在线出版日期: 2021-04-28

## Radix Actinidiae extract affects proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells by regulating miR-192-5p/ARPP19

Wan-Su Xu, Fei Ke, Yi Xu, Yi Zheng

Wan-Su Xu, Department of Oncology Radiotherapy, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China

Fei Ke, Department of Pathology, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China

Yi Xu, Yi Zheng, Sterilization Supplying Center, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Wan-Su Xu, Bachelor, Attending Doctor, Department of Oncology Radiotherapy, Quzhou People's Hospital, No. 2 Zhongludi, Kecheng District, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China. xws121987@163.com

Received: 2021-01-23

Revised: 2021-03-01

Accepted: 2021-03-27

Published online: 2021-04-28

## Abstract BACKGROUND

Radix Actinidiae extract (RAE) can inhibit the proliferation of gastric cancer, lung cancer, and other tumor cells, and has appreciated anti-tumor effects, but it is unknown whether it affects the malignant phenotype of colorectal cancer cells. The expression of miR-192-5p is reduced in colorectal cancer tissues, and its low expression is related to clinicopathological characteristics such as tumor size. Thus, it can be used as a potential biomarker for the diagnosis and treatment of colorectal cancer. StarBase bioinformatics software predicts that cAMP-regulated phosphoprotein 19 (ARPP19) may be a target gene of miR-192-5p. This study hypothesized that RAE can affect the proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells by regulating the miR-192-5p/ARPP19 axis.

## AIM

To investigate the effects and mechanism of RAE on proliferation and apoptosis of colorectal cancer SW480 cells.

## METHODS

After SW480 cells were treated with RAE, cell proliferation was detected by MTT assay, apoptosis was detected by flow cytometry, and the protein expression levels of Cyclin D1, cleaved Caspase-3, and ARPP19 were detected by Western blot. The expression of miR-192-5p and ARPP19 mRNA in cells was detected by RT-qPCR. miR-192-5p mimic or ARPP19 small interfering RNA was transfected into SW480 cells, and then the above methods were used to observe the effects of over-expressing miR-192-5p or inhibiting ARPP19 on cell proliferation, apoptosis, and the protein expression of

CyclinD1 and cleaved Caspase-3 in SW480 cells. The regulatory relationship between miR-192-5p and ARPP19 was verified by the dual luciferase reporter gene assay.

## RESULTS

RAE decreased the survival rate of SW480 cells and the expression of ARPP19 mRNA and protein ( $P < 0.05$ ), but increased the apoptosis rate of SW480 cells and the expression of cleaved Caspase-3 protein and miR-192-5p ( $P < 0.05$ ). Over-expressing miR-192-5p or inhibiting ARPP19 expression could decrease the survival rate of SW480 cells and the expression of CyclinD1 protein ( $P < 0.05$ ), but increase the apoptosis rate of SW480 cells and the expression of cleaved Caspase-3 protein ( $P < 0.05$ ). miR-192-5p negatively regulated the expression of ARPP19 in SW480 cells. Inhibiting miR-192-5p reversed the effects of RAE on proliferation, apoptosis, and the protein expression of CyclinD1 and cleaved Caspase-3 in SW480 cells. Inhibiting ARPP19 reversed the effects of inhibiting miR-192-5p on proliferation, apoptosis, and the protein expression of CyclinD1 and cleaved Caspase-3 of SW480 cells treated with RAE.

## CONCLUSION

RAE inhibits the proliferation of colorectal cancer SW480 cells and promotes apoptosis, and its mechanism of action is related to the regulation of the miR-192-5p/ARPP19 axis.

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

**Key Words:** Colorectal cancer; Radix Actinidiae extract; miR-192-5p; cAMP-regulated phosphoprotein 19; Cell proliferation; Apoptosis

**Citation:** Xu WS, Ke F, Xu Y, Zheng Y. Radix Actinidiae extract affects proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells by regulating miR-192-5p/ARPP19. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(8): 398-406

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/398.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.398>

## 摘要

### 背景

藤梨根提取物(rattan root extract, RRE)可抑制胃癌、肺癌等肿瘤细胞增殖,具有一定抗肿瘤作用,但其是否影响结直肠癌细胞的恶性表型还未知。miR-192-5p在结直肠癌组织中表达降低,且其低表达与肿瘤大小等临床病理特征相关,可作为结直肠癌诊治的潜在生物学标志物。StarBase生物信息学软件预测显示,环腺苷酸调节的磷酸化蛋白19(cAMP-regulated phosphoprotein 19, ARPP19)可能是miR-192-5p的靶基因。本研究假设RRE可通过调控miR-192-5p/ARPP19轴影响结直肠癌细胞增殖和凋亡。

## 目的

探讨RRE对结直肠癌SW480细胞增殖和凋亡的影响及作用机制。

## 方法

RRE干预SW480细胞后,MTT检测细胞增殖,流式细胞术检测细胞凋亡,蛋白质印迹法检测细胞中CyclinD1、C-caspase-3和ARPP19蛋白水平,RT-qPCR检测细胞中miR-192-5p和ARPP19 mRNA水平。转染miR-192-5p模拟物或ARPP19小干扰RNA至SW480细胞,上述相同方法观察过表达miR-192-5p或抑制ARPP19表达对SW480细胞增殖、凋亡及CyclinD1和C-caspase-3蛋白表达的影响。双荧光素酶报告基因实验验证miR-192-5p和ARPP19调控关系。

## 结果

RRE可降低SW480细胞存活率及ARPP19 mRNA和蛋白的表达( $P < 0.05$ ),增加SW480细胞凋亡率及C-caspase-3蛋白和miR-192-5p的表达( $P < 0.05$ )。过表达miR-192-5p或抑制ARPP19表达均可降低SW480细胞存活率及CyclinD1蛋白表达( $P < 0.05$ ),而提高SW480细胞凋亡率及C-caspase-3蛋白表达( $P < 0.05$ )。miR-192-5p在SW480细胞中靶向负调控ARPP19表达。抑制miR-192-5p表达可逆转RRE对SW480细胞增殖、凋亡及CyclinD1和C-caspase-3蛋白表达的影响。抑制ARPP19表达可逆转抑制miR-192-5p表达对RRE处理的SW480细胞增殖、凋亡及CyclinD1和C-caspase-3蛋白表达的影响。

## 结论

RRE可有效抑制结直肠癌SW480细胞增殖,促进细胞凋亡,其作用机制与调miR-192-5p/ARPP19轴有关。

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

**关键词:** 结直肠癌; 藤梨根提取物; miR-192-5p; 环腺苷酸调节的磷酸化蛋白19; 细胞增殖; 凋亡

**核心提要:** 藤梨根提取物可降低结直肠癌SW480细胞的增殖能力,并诱导细胞凋亡,其可能通过上调miR-192-5p进而抑制ARPP19的表达发挥作用。

**文献来源:** 徐万苏, 柯飞, 许怡, 郑艺. 藤梨根提取物通过调控miR-192-5p/ARPP19轴影响结直肠癌细胞的增殖和凋亡. *世界华人消化杂志* 2021; 29(8): 398-406

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/398.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.398>

## 0 引言

结直肠癌是常见的恶性肿瘤,发病率在所有恶性肿瘤中

排名第三位, 死亡率居第四位严重威胁人类生命健康<sup>[1,2]</sup>. 目前, 结直肠癌的发病机制尚未明确且缺乏有效的治疗药物, 探讨其发生发展的分子机制, 并寻找用于治疗该肿瘤的药物和分子靶点具有积极意义. 藤梨根是猕猴桃科猕猴桃属软枣猕猴桃的根, 具有清热利湿、祛风除痹、解毒消肿、止血的功效. 近年来研究显示, 藤梨根提取物(rattan root extract, RRE)具有抗肿瘤功效, 是肿瘤治疗的潜在药物. 党辉等<sup>[3]</sup>研究显示, RRE可通过干预胃癌SGC7901细胞周期和凋亡抑制SGC7901细胞的增殖, 发挥抗肿瘤作用. 孙雪飞等<sup>[4]</sup>研究显示, RRE可通过阻滞细胞周期和诱导细胞凋亡抑制人肺癌A549细胞生长. 目前, RRE是否发挥抗结肠癌的作用还未知. 微小RNA (microRNA, miRNA)可调控其靶基因的表达, 参与细胞的生长、分化、凋亡等生命过程, 可作为肿瘤治疗的分子靶点<sup>[5]</sup>. 研究显示, miR-192-5p在结直肠癌组织和细胞系中表达降低, 与肿瘤大小等临床病理特征相关, 是结直肠癌诊治的潜在生物学标志物<sup>[6,7]</sup>. StarBase生物信息学软件预测显示, 环腺苷酸调节的磷酸化蛋白19 (cAMP-regulated phosphoprotein 19, ARPP19)可能是miR-192-5p的靶基因. ARPP19可通过抑制蛋白磷酸酶2A来调节有丝分裂, 其高表达可能与肿瘤细胞的恶性行为有关<sup>[8]</sup>. 因此, 本研究以结直肠癌SW480细胞为研究对象, miR-192-5p/ARPP19轴为切入点, 探讨了RRE对SW480细胞增殖和凋亡及可能的分子机制, 以期对结直肠癌的治疗提供新途径.

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 RRE制备: 藤梨根(河南中医药大学第一附属医院中药房)干燥后, 粉碎, 过200目筛. 准确称取500 g藤梨根粉, 加入2000 mL正丁醇, 60 °C回流24 h, 过滤. 滤渣再次回流, 将两次滤液合并, 旋转蒸发回收正丁醇至膏状, 真空干燥后研磨至粉末. 经检测提取物(RRE)主要成分为三萜类化合物.

1.1.2 细胞和试剂: SW480细胞系, 中国科学院上海细胞库; 胎牛血清(FBS)、RPMI 1640培养基和四甲基噻唑蓝(MTT), 北京索莱宝; Lipofectamine™ 2000试剂盒, 美国Invitrogen公司; 鼠抗人细胞周期蛋白D1(CyclinD1)和活化的半胱天冬酶-3(C-caspase-3)抗体, 美国Santa Cruz公司; 重组人cAMP调节蛋白(ARPP19)抗体, 南京莱富赛生物科技有限公司; PCR引物、miR-192-5p模拟物(mimics)和抑制剂(anti-miR-192-5p)及对照序列miR-NC和anti-miR-NC、ARPP19小干扰RNA(si-ARPP19)及乱序无意义阴性序列(si-NC), 上海吉凯基因公司; Trizol试剂和逆转录试剂盒和PCR试剂盒, 日本TAKARA公司;

Annexin V-FITC/PI细胞凋亡试剂盒, 二喹啉甲酸(BCA)蛋白检测试剂盒和双荧光素酶活性检测试剂盒, 上海碧云天.

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染: SW480细胞复苏后, 用含10% FBS的RPMI 1640培养基培养. 调整对数生长期的SW480细胞浓度为 $2.5 \times 10^4$ 个/mL, 以2.5 mL/孔接种于6孔板中. 采用Lipofectamine™ 2000脂质体法, 分别转染miR-192-5p mimics、miR-NC、anti-miR-192-5p、anti-miR-NC、si-ARPP19、si-NC、anti-miR-192-5p与si-ARPP19、anti-miR-192-5p与si-NC. 转染12 h, 更换培养基, 再培养24 h, 收集细胞备用.

1.2.2 细胞分组: 未转染的SW480细胞分为对照组(NC组)和不同剂量RRE组, 其中NC组细胞正常培养; RRE组细胞分别用含50、100、200、400  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[3]</sup> RRE的培养基培养24 h. 转染miR-192-5p、miR-NC、si-ARPP19、si-NC的SW480细胞用不含RRE的培养基培养24 h, 分别记为miR-192-5p组、miR-NC组、si-ARPP19、si-NC组. 转染anti-miR-192-5p、anti-miR-NC、共转染anti-miR-192-5p与si-ARPP19、anti-miR-192-5p与si-NC的SW480细胞均用含200  $\mu\text{g/mL}$  RRE的培养基培养24 h, 分别记为, RRE+anti-miR-192-5p组、RRE+anti-miR-NC组、RRE+anti-miR-192-5p+si-ARPP19组、RRE+anti-miR-192-5p+si-NC组.

1.2.3 MTT检测细胞增殖: 调整细胞浓度为 $1.0 \times 10^5$ 个/mL, 以200  $\mu\text{L}$ /孔接种于96孔板中. 按1.3.2分组处理, 培养后, 加20  $\mu\text{L}$  MTT (5 mg/mL). 再孵育4 h, 弃培养基, 加150  $\mu\text{L}$ 二甲基亚砜, 酶标仪490 nm测吸光度值(A). 存活率(%) =  $A_{\text{实验组}}/A_{\text{对照组}} \times 100\%$ .

1.2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡: 调整细胞浓度为 $1.0 \times 10^5$ 个/mL, 以1.0 mL/孔接种于24孔板中. 按1.3.2分组处理, 培养后, 收集细胞, 参照Annexin V-FITC/PI试剂盒说明书, 用流式细胞仪检测细胞凋亡.

1.2.5 RT-qPCR检测细胞中miR-192-5p和ARPP19 mRNA水平: 细胞接种和处理同1.3.4, 培养结束后, Trizol试剂提取总RNA, 逆转录为cDNA, 行PCR扩增. 引物序列: miR-192-5p上游5'-GCCGCGGTACGTCGAGCAA-3', 下游5'-CCGTAGCCGAAGTAAAGTA-3'; ARPP19上游5'-GCCTGGAGGTTTCAGATTTCTTA-3', 下游5'-CACCAGTGACCTCCGTCTTAT-3'; GAPDH上游5'-GCTGGCGCTGAGTACGTCGTGGAGT-3', 下游5'-CACAGTCTTCTGGGTGGCA GTGA-3'; U6上游5'-TGTCCTAGCTGAAACGACAC-3', 下游5'-CCGTAAAGCTGCCCCG CTGACGC-3'.  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算miR-192-5p相对于内参U6、ARPP19 mRNA相对于内参



GAPDH的表达水平。

1.2.6 Western Blot法检测ARPP19、CyclinD1和C-caspase-3蛋白表达水平: 细胞接种和处理同1.2.4, 培养结束后, RIPA试剂提取细胞中总蛋白, 经BCA法定量、10% SDS-PAGE电泳、转膜、5%脱脂奶粉封闭后, 分别加ARPP19(稀释度1:500)、CyclinD1(稀释度1:600)、C-caspase-3(稀释度1:400)一抗体, 4℃孵育过夜。加山羊抗兔二抗(稀释度1:2000), 室温孵育1 h。加化学发光试剂, 避光显影后曝光拍照。

1.2.7 双荧光素酶报告基因实验: 调整对数生长期的SW480细胞浓度为 $2.5 \times 10^4$ 个/mL, 以2.5 mL/孔接种于6孔板中。采用Lipofectamine™ 2000脂质体法, 分别共转染WT-ARPP19与miR-192-5p mimic或miR-NC、MUT-ARPP19与miR-192-5p mimic或miR-NC。转染12 h, 更换培养基, 再培养24 h, 收集细胞。参照双荧光素酶活性检测试剂盒操作说明, 检测荧光素酶活性。

**统计学处理** SPSS 22.0软件分析实验数据。符合正态分布的计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示。两组间比较用独立样本 $t$ 检验; 多组间比较用单因素方差分析, 进一步两两比较采用SNK- $q$ 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 RRE对结直肠癌SW480细胞增殖的影响 与NC组比较, 不同浓度(50、100、200、400  $\mu\text{g/mL}$ )的RRE作用SW480细胞后, 细胞存活率降低( $P < 0.05$ )。由于200  $\mu\text{g/mL}$ 的RRE对SW480细胞抑制率接近50%, 因此选择RRE浓度为200  $\mu\text{g/mL}$ 进行后续实验。见表1。

2.2 RRE对结直肠癌SW480细胞凋亡的影响 与NC组比较, 200  $\mu\text{g/mL}$  RRE作用SW480细胞后, 细胞凋亡率、C-caspase-3蛋白表达升高( $P < 0.05$ )。见图1、表2。

2.3 RRE对结直肠癌SW480细胞miR-192-5p和ARPP19表达的影响 与NC组比较, 200  $\mu\text{g/mL}$  RRE作用SW480细胞后, 细胞中miR-192-5p表达升高( $P < 0.05$ ), ARPP19 mRNA和蛋白的表达降低( $P < 0.05$ )。见图2、表3。

2.4 miR-192-5p过表达对结直肠癌SW480细胞增殖和凋亡的影响 与miR-NC组比较, miR-192-5p组SW480细胞中miR-192-5p表达升高( $P < 0.05$ ), 细胞存活率、CyclinD1蛋白表达降低( $P < 0.05$ ), 凋亡率、C-caspase-3蛋白表达升高( $P < 0.05$ )。见图3和表4。

2.5 抑制ARPP19表达对结直肠癌SW480细胞增殖和凋亡的影响 与si-NC组比较, si-ARPP19组SW480细胞中ARPP19蛋白表达降低( $P < 0.05$ ), 细胞存活率、CyclinD1蛋白表达降低( $P < 0.05$ ), 凋亡率、C-caspase-3蛋白表达升高( $P < 0.05$ )。见图4、表5。

表1 MTT法检测不同浓度藤梨根提取物对SW480细胞增殖的影响( $\text{mean} \pm \text{SD}$ ,  $n = 9$ )

组别	存活率(%)
NC组	100.00 $\pm$ 10.57
RRE	50 $\mu\text{g/mL}$ 90.13 $\pm$ 9.02 <sup>a</sup>
	100 $\mu\text{g/mL}$ 76.02 $\pm$ 7.61 <sup>a</sup>
	200 $\mu\text{g/mL}$ 51.13 $\pm$ 5.10 <sup>a</sup>
	400 $\mu\text{g/mL}$ 30.04 $\pm$ 4.02 <sup>a</sup>
$F$	125.276
$P$	0.000

与NC组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ , RRE: 藤梨根提取物。

表2 藤梨根提取物对SW480细胞凋亡的影响( $\text{mean} \pm \text{SD}$ ,  $n = 9$ )

组别	C-caspase-3	凋亡率(%)
NC	0.35 $\pm$ 0.04	8.43 $\pm$ 0.85
200 $\mu\text{g/mL}$ RRE	0.86 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	25.76 $\pm$ 2.55 <sup>a</sup>
$t$	15.535	19.342
$P$	0.000	0.000

与NC组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ , RRE: 藤梨根提取物。

2.6 miR-192-5p负调控ARPP19表达 ARPP19的3'UTR与miR-192-5p的连续结合位点见图5A。SW480细胞中共转染miR-192-5p mimics与WT-ARPP19后荧光素酶活性降低( $0.29 \pm 0.03$ 比 $1.00 \pm 0.11$ ,  $t = 18.681$ ,  $P < 0.05$ ), 而共转染miR-192-5p mimics与MUT-ARPP19后荧光素酶活性无显著变化( $1.07 \pm 0.12$ 比 $1.06 \pm 0.10$ ,  $t = 0.192$ ,  $P = 0.850$ ), 说明miR-192-5p可与ARPP19的3'UTR靶向结合。与miR-NC组比较, miR-192-5p组SW480细胞中ARPP19蛋白水平降低( $0.42 \pm 0.04$ 比 $1.04 \pm 0.11$ ,  $t = 15.891$ ,  $P < 0.05$ ), 而与anti-miR-NC组比较, anti-miR-192-5p组SW480细胞中ARPP19蛋白水平升高( $1.25 \pm 0.13$ 比 $1.02 \pm 0.12$ ,  $t = 3.900$ ,  $P < 0.05$ ), 进一步说明miR-192-5p靶向负调控ARPP19表达。见图5。

2.7 抑制miR-192-5p可逆转RRE对结直肠癌SW480细胞增殖和凋亡的影响 与RRE+anti-miR-NC组比较, RRE+anti-miR-192-5p组SW480细胞存活率、CyclinD1蛋白表达升高( $P < 0.05$ ), 凋亡率、C-caspase-3蛋白表达降低( $P < 0.05$ )。见图6和表6。

2.8 抑制ARPP19可以逆转抑制miR-192-5p对RRE处理的结直肠癌SW480细胞增殖和凋亡的影响 与RRE+anti-miR-192-5p+si-NC组比较, RRE+anti-miR-192-5p+si-ARPP19组SW480细胞存活率、CyclinD1蛋白表达降低( $P < 0.05$ ), 凋亡率、C-caspase-3蛋白表达升高

表 3 藤梨根提取物对SW480细胞中miR-192-5p和ARPP19表达的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	miR-192-5p	ARPP19 mRNA	ARPP19蛋白
NC	1.00 ± 0.11	1.02 ± 0.12	1.05 ± 0.13
200 μg/mL RRE	3.24 ± 0.32 <sup>a</sup>	0.34 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.04 <sup>a</sup>
<i>t</i>	19.859	16.492	14.337
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000

与NC组比较, <sup>a</sup>*P*<0.05, RRE: 藤梨根提取物.

表 4 miR-192-5p过表达对SW480细胞增殖和凋亡的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	miR-192-5p	CyclinD1	C-caspase-3	存活率(%)	凋亡率(%)
miR-NC	1.00 ± 0.12	0.86 ± 0.09	0.38 ± 0.04	100.24 ± 10.02	8.38 ± 0.84
miR-192-5p	2.96 ± 0.29 <sup>a</sup>	0.32 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.99 ± 0.10 <sup>a</sup>	62.19 ± 6.22 <sup>a</sup>	22.16 ± 2.21 <sup>a</sup>
<i>t</i>	18.735	17.076	16.991	9.679	17.485
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与NC组比较, <sup>a</sup>*P*<0.05.

表 5 抑制ARPP19表达对SW480细胞增殖和凋亡的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	ARPP19	CyclinD1	C-caspase-3	存活率(%)	凋亡率(%)
si-NC	1.08 ± 0.11	0.86 ± 0.09	0.37 ± 0.04	100.89 ± 10.08	8.40 ± 0.84
si-ARPP19	0.42 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.33 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.95 ± 0.10 <sup>a</sup>	53.07 ± 5.31 <sup>a</sup>	27.43 ± 2.75 <sup>a</sup>
<i>t</i>	16.916	16.760	16.155	12.592	19.854
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与si-NC组比较, <sup>a</sup>*P*<0.05.

表 6 抑制miR-192-5p可逆转藤梨根提取物对SW480细胞增殖和凋亡的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	miR-192-5p	CyclinD1	C-caspase-3	存活率(%)	凋亡率(%)
RRE+anti-miR-NC	1.00 ± 0.12	0.38 ± 0.04	0.88 ± 0.09	51.86 ± 5.18	25.69 ± 2.56
RRE+anti-miR-192-5p	0.45 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.77 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.42 ± 0.04 <sup>a</sup>	89.33 ± 8.93 <sup>a</sup>	12.66 ± 1.26 <sup>a</sup>
<i>t</i>	12.692	13.081	14.012	10.889	13.700
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与RRE+anti-miR-NC组比较, <sup>a</sup>*P*<0.05, RRE: 藤梨根提取物.

(*P*<0.05). 见图7和表7.

### 3 讨论

结直肠癌的治疗通常辅助化疗、放疗等治疗, 但化疗药物通常存在较大的副作用, 且疗效不佳<sup>[9]</sup>. 近年来, 中药及其活性成分因毒副作用小、药效强, 其在肿瘤治疗中的作用备受关注. RRE是从中药藤梨根提取而来, 研究显示, RRE可能通过胃癌SGC-7901细胞Bcl-2蛋白水平的表达促进SGC-7901细胞凋亡<sup>[10]</sup>; RRE可通过抑制

PI3K/Akt通路的激活抑制人肺癌细胞A549增殖. 这说明RRE具有抗肿瘤的作用. Caspase级联反应参与调控细胞凋亡, 而caspase-3是caspase级联反应的关键调控蛋白, 其活化后剪切下游分子, 进而诱导细胞凋亡<sup>[11]</sup>. 本研究显示, RRE作用SW480细胞后, 细胞存活率降低, 而凋亡率及细胞中C-caspase-3蛋白表达升高, 表明RRE可能通过调控caspase级联反应来抑制SW480细胞增殖及促进细胞凋亡, 发挥抗结直肠癌作用.

miR-192-5p是一种miRNA, 参与多种肿瘤的发生发

表 7 抑制ARPP19可以逆转抑制miR-192-5p对藤梨根提取物处理的SW480细胞增殖和凋亡的影响(mean  $\pm$  SD,  $n = 9$ )

组别	ARPP19	CyclinD1	C-caspase-3	存活率(%)	凋亡率(%)
RRE+anti-miR-192-5p+si-NC	0.98 $\pm$ 0.10	0.78 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	0.40 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	90.02 $\pm$ 9.01 <sup>a</sup>	12.53 $\pm$ 1.25 <sup>a</sup>
RRE+anti-miR-192-5p+si-ARPP19	0.52 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.46 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.75 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	62.39 $\pm$ 6.24 <sup>a</sup>	23.68 $\pm$ 2.37 <sup>a</sup>
<i>t</i>	12.343	10.176	11.739	7.563	12.484
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与RRE+anti-miR-192-5p+si-NC组比较, <sup>a</sup>*P* < 0.05, RRE: 藤梨根提取物。

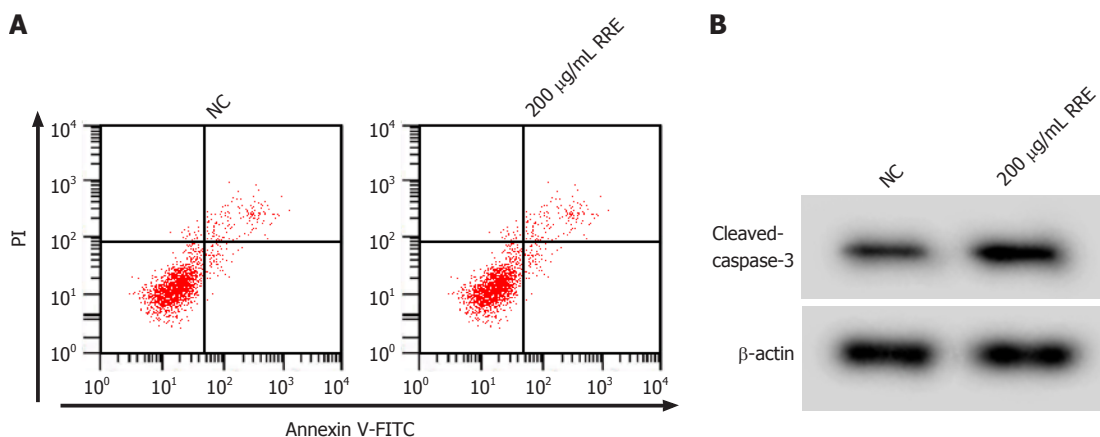


图 1 藤梨根提取物(rattan root extract, RRE)对SW480细胞凋亡的影响. A: 流式细胞仪检测RRE对SW480细胞凋亡的影响; B: RRE对SW480细胞中C-caspase-3蛋白表达的影响。

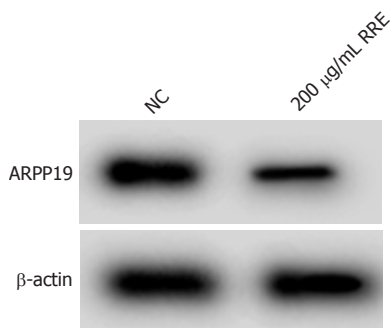


图 2 藤梨根提取物对SW480细胞中ARPP19蛋白表达的影响。

展. Zhu等<sup>[12]</sup>研究显示, miR-192-5p在肝癌组织中表达降低, 过表达miR-192-5p通过靶向甲状腺激素受体相互作用因子13对肝癌细胞增殖、迁移和侵袭发挥抑制作用, 而对其上皮-间质转化起促进作用, 为肝癌的治疗提供了新的作用靶点. Zou等<sup>[13]</sup>研究显示, miR-192-5p在胰腺癌组织和患者血清表达上调, 血清miR-192-5p可用于胰腺癌的早期诊断. 这说明miR-192-5p在不同肿瘤中发挥的作用不同, 即可作为抑癌基因抑制肿瘤发展进程, 又可作为促癌基因促进肿瘤发展进程. 吴巍芸等<sup>[14]</sup>研究显示, 过表达miR-192可抑制结直肠癌SW480细胞的迁移和侵袭. 本研究显示, 转染miR-192-5p mimics对阻碍

SW480细胞增殖, 并加剧其凋亡, 提示miR-192-5p在结直肠癌中起抑癌基因作用, 其可能是结直肠癌治疗的分子靶点. Jin等<sup>[15]</sup>研究显示, 姜黄素可通过上调miR-192-5p表达减弱非小细胞肺癌细胞的增殖能力及促进细胞凋亡. 本研究显示, RRE可促进结直肠癌SW480细胞中miR-192-5p表达, 抑制miR-192-5p表达逆转了RRE对SW480细胞增殖、凋亡及CyclinD1和C-caspase-3蛋白表达的影响, 说明RRE通过上调细胞中miR-192-5p表达发挥抗结直肠癌作用。

为了进一步探讨RRE通过上调细胞中miR-192-5p表达发挥抗结直肠癌作用的机制, 本研究还证实了miR-192-5p在SW480细胞中靶向负调控ARPP19表达. 研究显示, 甲状腺乳头状癌细胞中ARPP19表达升高, 上调miR-26a通过靶向抑制ARPP19阻碍甲状腺乳头状癌细胞增殖<sup>[16]</sup>; ARPP19表达水平与肝细胞癌肿瘤大小成正比, 抑制ARPP19表达可降低肝细胞癌细胞HepG2和SMMC-7721的生长速率<sup>[17]</sup>; 抑制miR-320表达通过上调ARPP19促进乳腺癌MCF-7细胞的生长<sup>[18]</sup>. 目前, ARPP19在结直肠癌中发挥的作用还未知. 本研究显示, 抑制ARPP19表达可抑制结直肠癌细胞增殖, 并促进细胞凋亡, 说明ARPP19作为促癌基因参与结直肠癌的发生发展, 抑制其表达可有效缓解结直肠癌的发展进程,



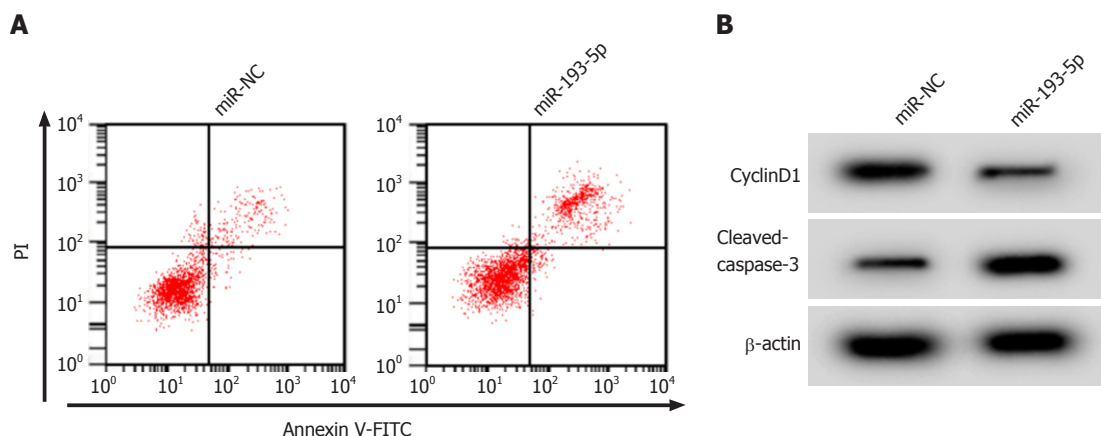


图 3 miR-192-5p过表达后SW480细胞凋亡及CyclinD1、C-caspase-3蛋白表达。A: 流式细胞仪检测细胞miR-192-5p过表达后SW480细胞凋亡; B: Western blot检测miR-192-5p过表达后SW480细胞中CyclinD1、C-caspase-3蛋白表达。

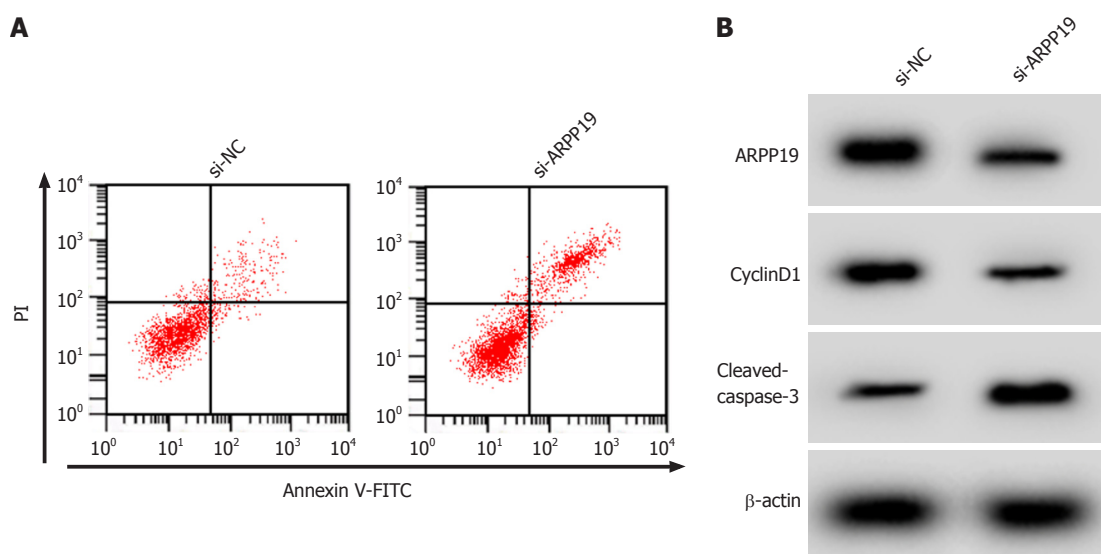


图 4 抑制ARPP19表达后SW480细胞凋亡及细胞中ARPP19、CyclinD1、C-caspase-3蛋白表达。A: 流式细胞仪检测抑制ARPP19表达后SW480细胞凋亡; B: Western blot检测抑制ARPP19表达后SW480细胞中ARPP19、CyclinD1、C-caspase-3蛋白表达。

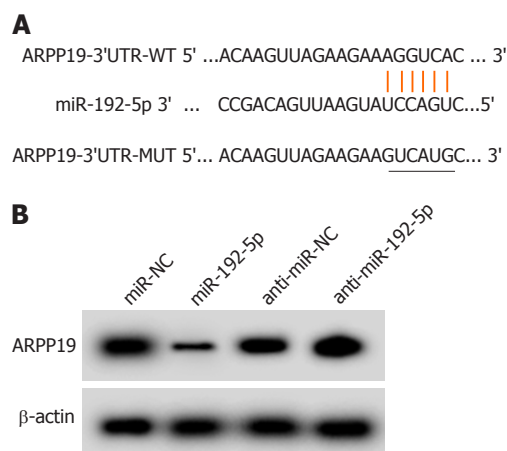


图 5 miR-192-5p靶向调控ARPP19的表达。A: 通过TargetScan对miR-192-5p和ARPP19结合进行预测示意图; B: Western blot检测ARPP19蛋白的表达。

对改善患者预后有积极帮助。本研究还显示, RRE可抑制结直肠癌SW480细胞中ARPP19表达, 抑制ARPP19表达可逆转抑制miR-192-5p表达对RRE处理的SW480细胞增殖、凋亡及CyclinD1和C-caspase-3蛋白表达的影响, 进一步说明RRE通过上调细胞中miR-192-5p表达, 进而下调ARPP19表达发挥抗结直肠癌作用。

#### 4 结论

综上, RRE可阻碍结直肠癌SW480细胞增殖, 而诱导其凋亡, 作用机制可能与调控miR-192-5p/ARPP19轴有关, 具有治疗结直肠癌的潜在价值。本研究接下来将通过动物实验进一步探讨RRE对体内结肠癌肿瘤生长和转移的影响及其他作用机制, 以期为其用于临床治疗提供实验依据。

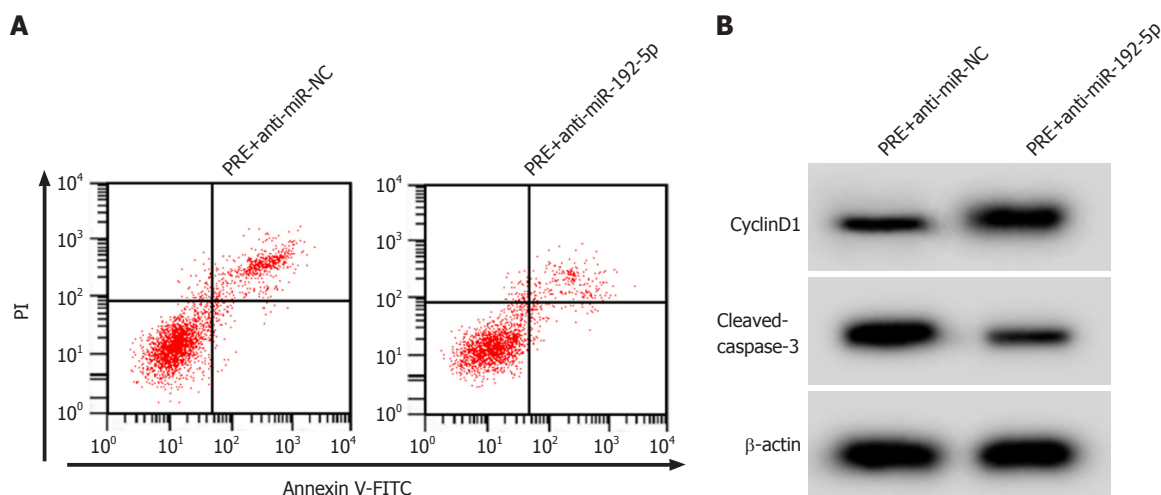


图 6 抑制miR-192-5p可逆转RRE对SW480细胞增殖和凋亡的影响。A: 流式细胞仪检测抑制miR-192-5p对RRE处理的SW480细胞凋亡的影响; B: Western blot检测抑制miR-192-5p对RRE处理的SW480细胞中CyclinD1、C-caspase-3蛋白表达的影响。

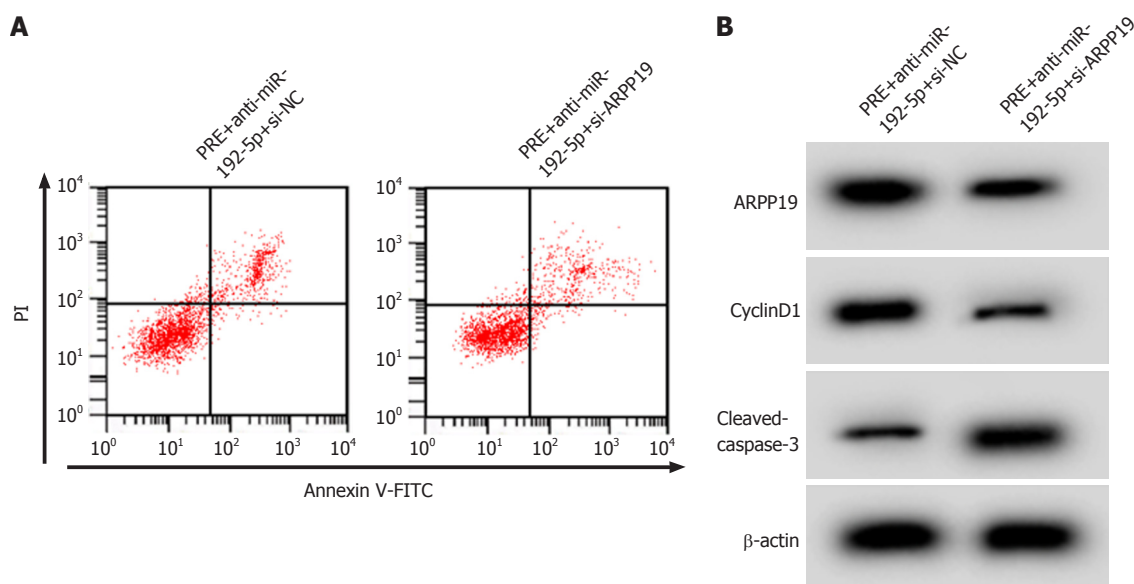


图 7 抑制ARPP19可以逆转抑制miR-192-5p对藤梨根提取物(rattan root extract, RRE)处理的SW480细胞增殖和凋亡的影响。A: 流式细胞仪检测抑制ARPP19和miR-192-5p对RRE处理的SW480细胞凋亡的影响; B: Western blot检测抑制ARPP19和miR-192-5p对RRE处理的SW480细胞中ARPP19、CyclinD1、C-caspase-3蛋白表达的影响。

## 文章亮点

### 实验背景

结直肠癌的发病机制尚未明确, 且缺乏有效的治疗药物。藤梨根提取物(rattan root extract, RRE)具有一定抗胃癌和肺癌作用, 但其是否影响结直肠癌发生发展还未知。本研究探究RRE对结直肠癌细胞增殖和凋亡的影响及可能机制, 以期为结直肠癌的治疗提供新途径。

### 实验动机

本研究的主题是RRE是否影响结直肠癌细胞增殖和凋亡及其能否调控miR-192-5p/ARPP19轴发挥作用, 目前

是为了探究RRE是否发挥抗结直肠癌作用及其可能的作用机制。

### 实验目标

本研究的主要目标是探讨RRE是否具有抗结直肠癌作用及其可能的作用机制, 通过体外细胞实验明确RRE可能通过调控miR-192-5p/ARPP19轴抑制结直肠癌细胞增殖, 并促进细胞凋亡, 以期为其用于结直肠癌的治疗提供一定的实验依据。

### 实验方法

本研究采用MTT检测细胞增殖, 流式细胞术检测细胞

凋亡, 蛋白质印迹法检测细胞中CyclinD1、C-caspase-3和ARPP19蛋白水平, RT-qPCR检测细胞中miR-192-5p和ARPP19 mRNA水平。双荧光素酶报告基因实验验证miR-192-5p和ARPP19靶向调控关系。

### 实验结果

本研究结果表明RRE可抑制结直肠癌细胞增殖, 并促进其凋亡, 在一定程度上发挥抗结直肠癌作用。同时, RRE促进结直肠癌细胞中miR-192-5p表达而抑制ARPP19表达。过表达miR-192-5p或抑制ARPP19均可降低结直肠癌细胞的增殖能力, 并促进细胞凋亡, 且miR-192-5p靶向负调控ARPP19。

### 实验结论

本研究首次发现RRE可抑制结直肠癌细胞增殖, 并加剧细胞凋亡, 其作用机制可能与调控miR-192-5p/ARPP19轴有关, 具有治疗结直肠癌的潜在价值。

### 展望前景

本研究存在不足之处, 仅在体外细胞层面进行了探究, 尚未通过动物实验在体内探究RRE的抗结直肠癌作用, 接下来将通过裸鼠移植瘤实验进一步在体内验证RRE对结直肠癌发生发展的影响及潜在机制, 以期对结直肠癌的治疗提供新途径。

## 5 参考文献

- 1 郑晓芳, 刘坤祥. 结直肠癌应用他汀类药物作用机制的研究进展. 现代肿瘤医学 2017; 25: 3716-3719 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2017.22.042]
- 2 王雅坤, 王晰程(综述), 沈琳. 结直肠癌脑转移的临床特征及诊断治疗. 中国肿瘤临床 2016; 43: 962-966 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2016.21.811]
- 3 党辉, 牟宗玲, 宋锐, 王涛, 关徐涛, 高萍. 藤梨根提取物对人胃癌SGC7901细胞增殖抑制的影响. 中国老年学杂志 2017; 37: 786-788 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2017.04.003]
- 4 孙雪飞, 裴艳涛, 杨国涛, 尹秋伟, 吴铭生. 藤梨根提取物对肺癌A549细胞凋亡及细胞周期的影响. 中国老年学杂志 2011; 31: 4001-4004 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2011.20.059]
- 5 Mao Y, Liu R, Zhou H, Yin S, Zhao Q, Ding X, Wang H. Transcriptome analysis of miRNA-lncRNA-mRNA interactions in the malignant transformation process of gastric cancer initiation. *Cancer Gene Ther* 2017; 24: 267-275 [PMID: 28524153

- DOI: 10.1038/cgt.2017.14]
- 6 Zhao H, Chen J, Chen J, Kong X, Zhu H, Zhang Y, Dong H, Wang J, Ren Q, Wang Q, Chen S, Deng Z, Chen Z, Cui Q, Zheng J, Lu J, Wang S, Tan J. miR-192/215-5p act as tumor suppressors and link Crohn's disease and colorectal cancer by targeting common metabolic pathways: An integrated informatics analysis and experimental study. *J Cell Physiol* 2019; 234: 21060-21075 [PMID: 31020657 DOI: 10.1002/jcp.28709]
- 7 Chiang Y, Song Y, Wang Z, Liu Z, Gao P, Liang J, Zhu J, Xing C, Xu H. microRNA-192, -194 and -215 are frequently downregulated in colorectal cancer. *Exp Ther Med* 2012; 3: 560-566 [PMID: 22969930 DOI: 10.3892/etm.2011.436]
- 8 Gharbi-Ayachi A, Labbé JC, Burgess A, Vigneron S, Strub JM, Brioudes E, Van-Dorsselaer A, Castro A, Lorca T. The substrate of Greatwall kinase, Arpp19, controls mitosis by inhibiting protein phosphatase 2A. *Science* 2010; 330: 1673-1677 [PMID: 21164014 DOI: 10.1126/science.1197048]
- 9 王安华. 志苓胶囊联合FOLFOX6方案治疗老年晚期结直肠癌疗效及对患者免疫功能的影响. 中国药物与临床 2018; 18: 1334-1335 [DOI: 10.11655/zgywylc2018.08.029]
- 10 白吉庆, 王小平, 叶峥嵘. 藤梨根提取物对人胃癌SGC-7901细胞凋亡及Bcl-2的影响. 陕西中医学院学报 2012; 35: 59-61
- 11 江流芳, 劳雅琴, 马庆华, 赵宗权. 维生素D受体对高糖环境下足细胞凋亡及Caspase-3活化水平的影响及机制. 中国老年学杂志 2018; 38: 2482-2485 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2018.10.071]
- 12 Zhu MX, Wei CY, Zhang PF, Gao DM, Chen J, Zhao Y, Dong SS, Liu BB. Elevated TRIP13 drives the AKT/mTOR pathway to induce the progression of hepatocellular carcinoma via interacting with ACTN4. *J Exp Clin Cancer Res* 2019; 38: 409 [PMID: 31533816 DOI: 10.1186/s13046-019-1401-y]
- 13 Zou X, Wei J, Huang Z, Zhou X, Lu Z, Zhu W, Miao Y. Identification of a six-miRNA panel in serum benefiting pancreatic cancer diagnosis. *Cancer Med* 2019; 8: 2810-2822 [PMID: 31006985 DOI: 10.1002/cam4.2145]
- 14 吴巍芸, 梁坚, 叶石才, 周宇. MiR-192对结直肠癌细胞ZEB2表达及迁移和侵袭的影响. 肿瘤 2016; 34: 13-18 [DOI: 10.3781/j.issn.1000-7431.2014.01.003]
- 15 Jin H, Qiao F, Wang Y, Xu Y, Shang Y. Curcumin inhibits cell proliferation and induces apoptosis of human non-small cell lung cancer cells through the upregulation of miR-192-5p and suppression of PI3K/Akt signaling pathway. *Oncol Rep* 2015; 34: 2782-2789 [PMID: 26351877 DOI: 10.3892/or.2015.4258]
- 16 Gong Y, Wu W, Zou X, Liu F, Wei T, Zhu J. MiR-26a inhibits thyroid cancer cell proliferation by targeting ARPP19. *Am J Cancer Res* 2018; 8: 1030-1039 [PMID: 30034940]
- 17 Song H, Pan J, Liu Y, Wen H, Wang L, Cui J, Liu Y, Hu B, Yao Z, Ji G. Increased ARPP-19 expression is associated with hepatocellular carcinoma. *Int J Mol Sci* 2014; 16: 178-192 [PMID: 25547487 DOI: 10.3390/ijms16010178]
- 18 Lü M, Ding K, Zhang G, Yin M, Yao G, Tian H, Lian J, Liu L, Liang M, Zhu T, Sun F. MicroRNA-320a sensitizes tamoxifen-resistant breast cancer cells to tamoxifen by targeting ARPP-19 and ERRγ. *Sci Rep* 2015; 5: 8735 [PMID: 25736597 DOI: 10.1038/srep08735]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁





## 京都胃炎分类在基层医院胃癌筛查中的应用

刘晓明, 唐翔宇, 徐舒佳

刘晓明, 唐翔宇, 徐舒佳, 深圳市蛇口人民医院消化内科 广东省深圳市 510001

刘晓明, 主治医师, 主要从事消化道早癌内镜诊治的研究。

**基金项目:** 深圳市南山区技术研发和创意设计项目专项资金教育(卫生)科技项目, NO.2020061.

**作者贡献分布:** 本研究主要由刘晓明设计、数据分析及文章写作, 研究过程由唐翔宇搜集、整理内镜资料, 徐舒佳搜集、整理临床资料。

**通讯作者:** 刘晓明, 主治医师, 510001, 深圳市南山区工业七路36号, 深圳市蛇口人民医院, 104477350@qq.com

**收稿日期:** 2021-01-07

**修回日期:** 2021-02-04

**接受日期:** 2021-03-27

**在线出版日期:** 2021-04-28

### Application of Kyoto Classification of Gastritis to gastric cancer screening in a primary hospital

Xiao-Ming Liu, Xiang-Yu Tang, Shu-Jia Xu

**Xiao-Ming Liu, Xiang-Yu Tang, Shu-Jia Xu,** Department of Gastroenterology, Shekou People's Hospital, Shenzhen 510001, Guangdong Province, China

**Supported by:** Shenzhen Nanshan District Technology Research and Development and Creative Design Project of Capital Education Science and Technology Project (Health), No. 2020061.

**Corresponding author:** Xiao-Ming Liu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Shenzhen Shekou, No. 36 Industrial Seven Road, Nanshan District, Shenzhen 510001, Guangdong Province, China. 104477350 @qq.com

**Received:** 2021-01-07

**Revised:** 2021-02-04

**Accepted:** 2021-03-27

**Published online:** 2021-04-28

### Abstract

#### BACKGROUND

Gastric cancer is a common malignant digestive system tumor in China, and its prognosis is closely related to the early diagnosis and treatment. The rate of early gastric cancer is less than 10% in China, which is far less than those in Japan (70%) and Korea (50%). Standardization of gastroscopic diagnosis and finding gastric cancer screening program suitable for China are of great significance.

#### AIM

To explore the clinical value of Kyoto Classification of Gastritis in gastric cancer screening in primary hospitals.

#### METHODS

The Kyoto Classification of Gastritis was used to retrospectively analyze the data of patients who visited Shekou People's Hospital of Shenzhen for digestive symptoms from September 2019 to November 2020 and met the new system for gastric cancer screening requirements. All patients were divided into three groups according to the grading results of the Kyoto Classification of Gastritis: Low-score group (< 2 points), medium-score group ( $\geq 2$  points but < 4 points), and high-score group ( $\geq 4$  points). A comparative analysis was performed on the detection of gastric cancer among the three groups.

#### RESULTS

A total of 1383 patients were included in this study, including 918 (66.4%) in the low-score group, 290 (20.9%) in the medium-score group, and 175 (12.7%) in the high-score group. The total detection rate of gastric cancer was 3.54% (49/1383). There were significant differences in the detection rates of gastric cancer between any two of the three groups ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

The Kyoto Classification of Gastritis can significantly improve the detection rate of early gastric cancer and gastric cancer.

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

**Key Words:** Gastric cancer; Kyoto Classification of Gastritis; Early gastric cancer

**Citation:** Liu XM, Tang XY, Xu SJ. Application of Kyoto Classification of Gastritis to gastric cancer screening in a primary hospital. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(8): 407-412

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/407.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.407>

## 摘要

### 背景

胃癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤,其预后与诊治时机密切相关,我国早期胃癌的发病率小于10%,远远低于日本(70%)和韩国(50%)。规范胃镜诊断标准,探索适合我国国情的胃癌筛查方案迫在眉睫。

### 目的

探讨京都胃炎分类标准在基层医院消化内科就诊患者的临床应用价值。

### 方法

采用京都胃炎分类标准对2019-09/2020-11间因消化系统症状在深圳市蛇口人民医院就诊,依据《中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案2017年,上海)》确定纳入研究对象,并依据京都胃炎分类评分将纳入患者分为3组,即低分组(小于2分)、中分组( $\geq 2$ 分,  $< 4$ 分)、高分组( $\geq 4$ 分),对3组患者的胃癌检出情况进行分析。

### 结果

共1383例患者纳入本研究,低分组共918例;中分组共290例;高分组175例。3组患者间的胃癌、早期胃癌检出率两两对比,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 结论

采用京都胃炎分类评分,可提高基层医院就诊人群中早期胃癌、胃癌的检出率。

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

**关键词:** 胃癌; 京都胃炎分类; 早期胃癌

**核心提要:** 胃癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤,其预后与诊治时机密切相关,我国早期胃癌的发病率小于10%,

远远低于日本(70%)和韩国(50%)。本研究发现依据京都胃炎分类规范胃镜诊断,可显著提高我国胃癌、早期胃癌检出率。

**文献来源:** 刘晓明, 唐翔宇, 徐舒佳. 京都胃炎分类在基层医院胃癌筛查中的应用. *世界华人消化杂志* 2021; 29(8): 407-412

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/407.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.407>

## 0 引言

胃癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤,威胁民众的健康,且疾病负担重,是国家癌症防治的重点<sup>[1]</sup>。

胃癌的预后与诊治时机密切相关,进展期胃癌5年生存率小于30%<sup>[2]</sup>,早期胃癌的5年生存率大于90%,甚至可以达到治愈<sup>[3]</sup>,然而,我国早期胃癌的发病率小于10%,远远低于日本(70%)和韩国(50%)<sup>[4]</sup>。

胃镜是发现胃癌的有效手段,2013年第85届日本消化内镜学会制定《京都胃炎分类》,规范胃炎内镜表现的记录,评价胃癌风险,中文版于2018年我国出版<sup>[5]</sup>,近期,日本学者研究证实其可明显提高普通白光胃镜早期胃癌的检出率<sup>[6]</sup>。其是否适用于我国临床工作,目前相关研究甚少。本研究旨在采用京都胃炎分类,客观记录白光胃镜下的胃黏膜表现,依据京都胃炎分类标准评分,对因消化系统症状在深圳市蛇口人民医院就诊,并且符合本研究纳入标准的患者资料进行回顾性分析,旨在探讨京都胃炎分类在基层医院就诊人群中胃癌筛查的应用价值。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2019-09/2020-11期间因消化系统症状如腹痛、腹胀、腹部不适、恶心、呕吐、呕血、黑便、早饱、嗝气、反酸、烧心等在我院完成胃镜检查并在胃镜下留取活组织检查,其中早期胃癌病例经内镜内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)术后标本病理证实,胃癌病例均经外科手术标本病理证实。纳入标准:依据《中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案2017年,上海)》确定本研究纳入对象,即年龄 $\geq 40$ 岁,且符合下列任一条者:胃癌高发地区人群;幽门螺杆菌感染者;既往患有慢性萎缩性胃炎、胃溃疡、胃息肉、肥厚性胃炎、恶性贫血等胃的癌前疾病;胃癌患者一级亲属;存在胃癌其他风险因素(如摄入高盐、腌制饮食、吸烟、重度饮酒等)<sup>[7]</sup>。

排除标准:严重心肝肾等重要脏器功能障碍无法耐受胃镜检查者;既往因胃部肿瘤接受过胃部手术者(包括外科手术、ESD、内镜下粘膜切除术(endoscopic

mucosal resection, EMR); 有出血倾向不能活检者<sup>[8]</sup>. 本研究入组研究对象均知情同意, 并且经我院伦理委员会审核批准.

1.2 方法 本研究所有病例均由从事胃镜年限超过5年, 胃镜单独操作例数超过1000例的高年资医师操作, 并由2名以上熟练掌握京都胃炎分类内镜评分的消化内镜医师进行审核, 所用设备为奥林巴斯290系统及奥林巴斯290胃镜.

1.2.1 白光内镜下京都胃炎分类的观察要点及评分方法: 依据《京都胃炎分类》标准(表1), 客观记录白光内镜下胃黏膜表现包括: 萎缩程度、肠上皮化生、皱襞肿大、鸡皮样改变、弥漫性发红, 依据轻重程度赋予不同分值, 并计算总分(图1).

1.2.2 相关指标定义: 早期胃癌包括高级别上皮内瘤变、黏膜内癌、黏膜下层浸润癌; 未分化癌包括印戒细胞癌、低分化腺癌.

**统计学处理** 使用SPSS 17.0进行统计分析, 计量资料采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 计数资料采用百分比表示, 3组间比较采用 $\chi^2$ 检验进行两两比较,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 一般情况 本研究最终共纳入患者1383例, 女性594例, 男性789例, 中位年龄54岁(40-76岁); 依据京都胃炎分类标准, 记录评分结果, 参照Toyoshima等研究<sup>[6]</sup>, 分为3组: 评分 $<2$ 分为低分组共918例(66.38%);  $2 \leq$ 评分 $<4$ 分为中分组共290例(20.97%); 评分 $\geq 4$ 分为高分组175例(12.65%).

### 2.2 病变检出情况

2.2.1 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染情况: 低分组(评分 $<2$ )共918例, *H. pylori*阳性病例64例(6.97%), 发现胃癌1例, *H. pylori*阴性; 中分组( $2 \leq$ 评分 $<4$ )共290例, *H. pylori*阳性病例163例(56.21%), 共发现胃癌16例, 7例(46.67%)*H. pylori*阳性, 其中早期胃癌1例, 为*H. pylori*除菌后病例; 高分组(评分 $\geq 4$ )共175例, *H. pylori*阳性病例140例(80.00%), 共发现胃癌32例, 26例(81.25%)*H. pylori*阳性, 其中早期胃癌4例, *H. pylori*均为阳性. 3组患者间的*H. pylori*阳性检出率两两对比, 中、高分组明显高于低分组, 并且, 低分与中分组间、中分与高分组间、低分与高分组间 $\chi^2$ 分别为350.08、516.36、27.22, *H. pylori*阳性病例检出率差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ ).

2.2.2 癌前疾病检出情况: 低分组(评分 $<2$ )共918例, 检出胃黏膜肠上皮化生28例(3.05%), 萎缩性胃炎71例(7.73%); 中分组( $2 \leq$ 评分 $<4$ )共290例, 检出胃黏膜肠上皮化生113例(38.97%), 萎缩性胃炎121例(41.72%);

表1 京都胃炎分类评分表

变量	分值
萎缩	
C0-C1	0
C2-C3	1
O1-OP	2
肠化	
无	0
胃窦	1
胃窦、胃体	2
弥漫性发红	
无	0
轻度(部分RAC+)	1
高度	2
皱襞肿大	
无	0
有	1
鸡皮样改变	
无	0
有	1
总分	0-8

高分组(评分 $\geq 4$ )共175例, 检出胃黏膜肠上皮化生148例(84.57%), 萎缩性胃炎158例(90.29%). 3组患者间的胃黏膜肠上皮化生检出率两两对比, 中、高分组明显高于低分组, 并且, 低分与中分组间、中分与高分组间、低分与高分组间 $\chi^2$ 分别为275.73、723.04、92.19, 胃黏膜肠上皮化生检出率差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 3组患者间的萎缩性胃炎检出率两两对比, 中、高分组明显高于低分组, 并且, 低分与中分组间、中分与高分组间、低分与高分组间 $\chi^2$ 分别为190.46、604.79、107.24, 萎缩性胃炎检出率差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ ).

2.2.3 胃癌检出情况: 所有1383例患者中检出胃癌49例, 胃癌检出率为3.54%(49/1383); 各组的胃癌检出率分别为0.11%(1/918)、5.52%(16/290)、18.29%(32/175), 3组患者间的胃癌检出率两两对比, 中、高分组明显高于低分组, 并且, 低分与中分组间、中分与高分组间、低分与高分组间 $\chi^2$ 分别为46.42、19.22、165.85, 胃癌检出率差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ ). 其中早期胃癌5例(高级别上皮内瘤变2例, 黏膜内癌3例), 早期胃癌占所有检出胃癌的10.20%(5/49), 低分组、中分组、高分组早期胃癌检出率分别为0%(0/918)、0.34%(1/290)、2.29%(4/175), 3组患者间的早期胃癌检出率两两对比, 低分与中分组间、中分与高分组间、低分与高分组间 $\chi^2$ 分别为3.17、3.86、21.06, 低分组与高分组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ). 本研究中, 就胃癌分化类型、



表 2 京都胃炎分类评分分组后的胃癌检出情况(例)

评分分组	总例数	分期		分化类型		胃癌发生部位			
		早期胃癌	进展期胃癌	未分化型	分化型	胃食管连接处	胃体	胃角	胃窦
低分组	918	0	1(0.11%)	0	1(0.11%)	0	0	0	1(0.11%)
中分组	290	1(0.34%)	15(5.17%)	7(2.41%)	9(3.10%)	0	2(0.69%)	1(0.34%)	13(4.48%)
高分组	175	4(2.29%)	28(16.00%)	10(5.71%)	22(12.57%)	2(1.14%)	6(3.43%)	4(2.29%)	20(11.43%)
合计	1383	5(0.36%)	44(3.18%)	17(1.23%)	32(2.31%)	2(0.14%)	8(0.58%)	5(2.73%)	34(19.43%)

表 3 京都胃炎分类评分分组后的胃癌检出率统计分析结果

评分分组	总例数	胃癌	$\chi^2$	P值	早期胃癌	$\chi^2$	P值
低分组	918	1(0.11%)	46.42 <sup>a</sup>	<sup>a</sup> P<0.05	0	3.17 <sup>d</sup>	<sup>d</sup> P<0.05
中分组	290	16(5.52%)	19.22 <sup>b</sup>	<sup>b</sup> P<0.05	1(0.34%)	3.86 <sup>e</sup>	
高分组	175	32(18.29%)	165.85 <sup>c</sup>	<sup>c</sup> P<0.05	4(2.29%)	21.06 <sup>f</sup>	<sup>f</sup> P<0.05
合计	1383	49(3.54%)			5(0.36%)		

胃癌: a为低分与中分组对比; b为中分与高分组对比; c为高分与低分组对比;早期胃癌: d为低分与中分组对比; e为中分与高分组对比; f为高分与低分组对比。

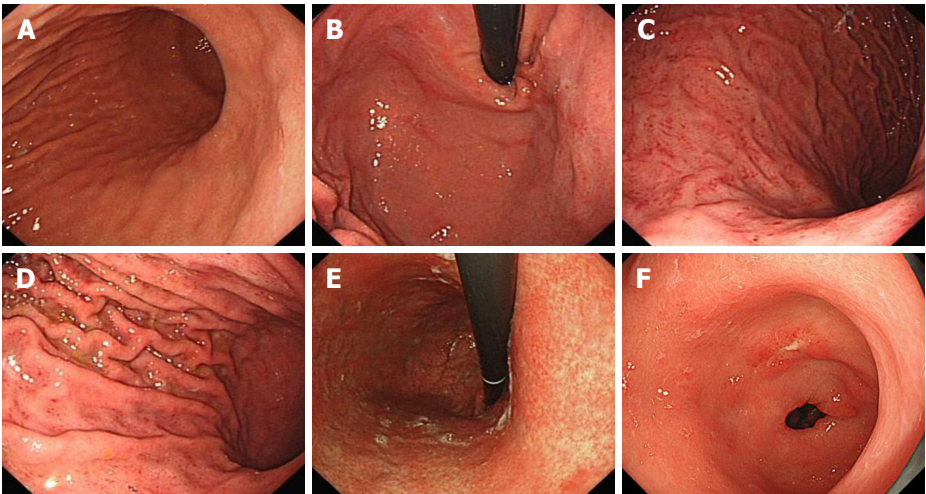


图 1 京都胃炎分类内镜表现评分. A: 正常胃黏膜(评分0); B: 胃底轻度发红(评分1); C: 胃底、体弥漫性发红(评分2); D: 胃体大弯皱襞肿大(评分1); E: 胃体小弯萎缩范围近贲门C3(评分1); F: 胃窦小弯侧高级别上皮内瘤变。

发生部位依据京都胃炎分类评分分组后, 部分组例数为较少, 考虑到研究结果的可信程度, 未进行统计学分析(表2、3)。

### 3 讨论

胃癌是我国常见恶性肿瘤之一, 每年胃癌新发病例67.9万例, 死亡病例49.8万例, 分别约占全球的42.6%、45.0%<sup>[9]</sup>。胃癌早发现、早诊断、早治疗对提高胃癌生存率, 降低医疗支出起到至关重要的作用, 然而, 我国目前仍面临人口基数大, 医疗资源分布不均的现状, 因此, 探索一种高效可行的早期胃癌筛查方案迫在眉睫。

本研究依据《中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案2017年, 上海)》确定纳入研究对象, 并结合日本《京都胃炎分类》客观记录白光胃镜下表现, 将弥漫性发红、皱襞肿大、鸡皮样改变、萎缩、肠化共5项指标赋予不同的权重分值, 计算总分, 依据日本Toyoshima等研究<sup>[6]</sup>结果进行分组。本研究通过组间两两比较分析, 中分组、高分组H. pylori阳性率、萎缩性胃炎、胃黏膜肠上皮化生及胃癌检出率明显高于低分组, 并且, 3组间两两比较差异具有统计学意义(P<0.05), 这与日本学者研究结果一致<sup>[6]</sup>, 与湛黄威<sup>[10]</sup>和Sugimoto等<sup>[11]</sup>的研究结果相符。众所周知, H. pylori感染、萎缩性胃炎、胃

黏膜肠上皮化生与胃癌发生密切相关, 本研究结果提示京都胃炎分类评分标准有助于发现癌前疾病. 其中早期胃癌检出率高分组显著高于低分组, 差异具有统计学意义, 进一步提示, 《京都胃炎分类》评分 $\geq 4$ 分人群行放大胃镜精查, 有助于提高早期胃癌的检出率. 本研究结果中, 虽然就分化类型的统计分析未见统计学差异, 但仍发现, 本研究所发现早期胃癌均为分化型, 且绝大部分评分为高分组, 提示京都胃炎分类对分化型早期胃癌具有较高的筛查价值, 可能对未分化型早期胃癌检出价值有限, 其原因为该分类标准主要针对胃镜下萎缩、肠化的评分, 萎缩、肠化背景下的胃黏膜更易发生肠型胃癌相关, 然而, 对于低分组人群胃镜检查应更关注未分型癌的可能, 该结论可能需要更大样本的多中心、前瞻性研究加以佐证.

#### 4 结论

基于上述研究结果, 采用京都胃炎分类规范我国内镜诊断, 有助提高肠型胃癌的检出率. 评分高分组患者建议胃镜精查, 可提高早期胃癌检出率, 从而提高生存率, 降低病死率, 节约医疗支出; 对于评分低分组、中分组患者可结合《中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案2017年, 上海)》提出的新型胃癌筛查评分系统, 筛选高危人群, 并建立适合的随访机制, 进而制定符合我国国情的高效胃癌筛查方案.

#### 文章亮点

#### 实验背景

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 严重威胁国民的健康, 我国每年胃癌新发病例67.9万例, 死亡病例49.8万例, 分别约占全球的42.6%、45.0%. 我国是全球幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)高感染地区, *H. pylori*已被WHO的国际癌症研究机构列为人类胃癌第I类致癌原, 《京都胃炎分类》, 规范胃炎内镜表现的记录, 中文版已于2018年我国出版<sup>[10]</sup>, 近期国外文献证实其可提高普通白光胃镜对*H. pylori*感染胃黏膜的诊断, 以及提高早期胃癌的检出率.

#### 实验动机

胃镜检查是发现胃癌的有效途径, 胃癌的预后与诊治时机密切相关, 进展期胃癌的5年生存率低于30%, 早期胃癌的5年生存率可超过90%, 甚至达到治愈. 我国早期胃癌的诊治率低于10%, 远低于日本(70%)和韩国(50%). 本研究旨在依据京都胃炎分类标准规范胃镜诊断, 提高我国胃癌及早期胃癌的诊断率.

#### 实验目标

本研究最终结果证实依据京都胃炎分类标准分组后, 中、高分组的幽门螺杆菌感染率、胃癌及早期胃癌检出率均显著高于低分组, 为进一步全面推广该分类标准提供一定的依据.

#### 实验方法

本研究依据《中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案2017年, 上海)》确定纳入研究对象, 依据京都胃炎分类标准并参照国外Meta分析结果进行分组, 确定低分、中分、高分组进行统计学分析, 分析3组研究对象*H. pylori*感染率、萎缩性胃炎、胃黏膜肠上皮化生、胃癌及早期胃癌检出率.

#### 实验结果

共1383例患者纳入本研究, 低分组共918例; 中分组共290例; 高分组175例. 3组患者间的*H. pylori*感染率、胃癌癌前疾病、胃癌、早期胃癌检出率两两对比, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ).

#### 实验结论

采用京都胃炎分类评分有助于*H. pylori*阳性胃黏膜的诊断, 可提高基层医院就诊人群中癌前疾病、早期胃癌、胃癌的检出率.

#### 展望前景

期待更大样本量的前瞻性研究结果, 对本研究结果进一步加以佐证.

#### 5 参考文献

- 左婷婷, 郑荣寿, 曾红梅, 张思维, 陈万青. 中国胃癌流行病学现状. 中国肿瘤临床 2017; 44: 52-58
- Sumiyama K. Past and current trends in endoscopic diagnosis for early stage gastric cancer in Japan. *Gastric Cancer* 2017; 20: 20-27 [PMID: 27734273 DOI: 10.1007/s10120-016-0659-4]
- Ren W, Yu J, Zhang ZM, Song YK, Li YH, Wang L. Missed diagnosis of early gastric cancer or high-grade intraepithelial neoplasia. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2092-2096 [PMID: 23599630 DOI: 10.3748/wjg.v19.i13.2092]
- 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 曾红梅, 邹小农, 陈茹, 顾秀琪, 魏文强, 赫捷. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析. 中华肿瘤杂志 2019; 41: 19-28
- 加藤元嗣, 井上和彦, 村上和成, 镰田智有. 京都胃炎分类(吴永友, 李锐译). 沈阳: 辽宁科学技术出版社 2018; 27-31
- Toyoshima O, Nishizawa T, Koike K. Endoscopic Kyoto classification of *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer risk diagnosis. *World J Gastroenterol* 2020; 26: 466-477 [PMID: 32089624 DOI: 10.3748/wjg.v26.i5.466]
- 国家消化系统疾病临床医学研究中心, 中华医学会消化内镜学分会中华医学会健康管理学分会, 中国医师协会内镜医师分会消化内镜专业委员会. 中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案2017年, 上海). 中华消化内镜杂志 2018; 35: 77-88

- 8 倪栋琼, 吕宾, 包海标, 金海峰, 赵晶, 徐毅, 黄宣. 不同血清学危险分层方法在人群早期胃癌筛查中的比较研究. 中华内科杂志 2019; 58: 294-300
- 9 Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115-132 [PMID: 26808342 DOI: 10.3322/caac.21338]
- 10 湛黄威, 伦伟健, 熊婷, 梁晓燕, 黄鹤, 贾柳萍. 京都胃炎分类在白  
光胃镜下直接判断幽门螺杆菌感染中的应用价值. 新医学 2019; 50: 457-462
- 11 Sugimoto M, Ban H, Ichikawa H, Sahara S, Otsuka T, Inatomi O, Bamba S, Furuta T, Andoh A. Efficacy of the Kyoto Classification of Gastritis in Identifying Patients at High Risk for Gastric Cancer. *Intern Med* 2017; 56: 579-586 [PMID: 28321054 DOI: 10.2169/internalmedicine.56.7775]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



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

## • 消息 •

## 书 讯

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

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

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



# 善胃系列方分阶段辨治胃癌前病变的临床疗效观察

张月林, 苗嘉萌, 张泽, 袁红霞

张月林, 苗嘉萌, 天津中医药大学研究生学院 天津市 301617

张泽, 贵州中医药大学研究生院 贵州省贵阳市 550312

袁红霞, 天津中医药大学管理学院 天津市 301617

张月林, 天津中医药大学硕士研究生, 中医内科学方向.

**基金项目:** 天津市科委项目, 基于“虚实夹杂”理论探索胃癌前病变精准诊断与分阶段辨治的中西医协作方案研究, No.17ZXMFSY00110.

**作者贡献分布:** 此课题由张月林、苗嘉萌、张泽、袁红霞设计; 研究过程由张月林、苗嘉萌、张泽、袁红霞及相关医护人员操作完成; 研究所用试剂、药品及分析工具由张月林、苗嘉萌提供; 数据分析由张月林、苗嘉萌完成; 本论文写作由张月林、苗嘉萌完成.

**通讯作者:** 袁红霞, 教授, 301617, 天津市静海区鄱阳湖路10号, 天津中医药大学管理学院. yhx1877@163.com

**收稿日期:** 2021-01-20

**修回日期:** 2021-02-06

**接受日期:** 2021-04-02

**在线出版日期:** 2021-04-28

## Clinical curative effect of Shanwei series decoction in treating gastric precancerous lesions

Yue-Lin Zhang, Jia-Meng Miao, Ze Zhang, Hong-Xia Yuan

**Yue-Lin Zhang, Jia-Meng Miao,** Post-Graduate Collage of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

**Ze Zhang,** Post-Graduate Collage of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550312, Guizhou Province, China

**Hong-Xia Yuan,** Collage of Management of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

**Supported by:** Tianjin Science and Technology Commission Project, No.17ZXMFSY00110.

**Corresponding author:** Hong-Xia Yuan, Professor, Collage of Management of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine,

No. 10 Poyanghu Road, Jinghai District, Tianjin 301617, China. yhx1877@163.com

**Received:** 2021-01-20

**Revised:** 2021-02-06

**Accepted:** 2021-04-02

**Published online:** 2021-04-28

## Abstract

### BACKGROUND

Gastroscopy and targeted biopsy techniques have advantages in the early and accurate diagnosis of gastric precancerous lesions. Although traditional Chinese medicine has a definite effect, it is mostly based on subjective symptoms and lacks of objective and scientific basis. This study combined gastroscopy precision examination technology with TCM staging and differentiation, to explore the correlation between TCM syndromes of different stages of gastric precancerous lesions and gastroscopic pathology.

### AIM

To explore the clinical effectiveness of Shanwei series decoction in treating PLGC, and to provide new ideas for the clinical treatment of PLGC.

### METHODS

One hundred and fifty patients with PLGC were treated clinically and divided into three groups (three phases) according to their disease stages and TCM syndrome differentiation criteria, with 50 cases in each group; each group was stratified and randomly divided into either a treatment group or a control group with 25 cases each. The three-phase treatment groups were treated with Shanwei Nos. I, II, and III prescriptions, and the control groups were treated with Weifuchun combined with folic acid. The medication cycle was 24 weeks. Gastroscopy and pathology scores, serum pepsinogen results, efficacy, and safety of each group before and after

treatment were compared.

## RESULTS

After 24 weeks of treatment, the efficacy of gastroscopy in the three-stage treatment group was higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ); there were statistical differences in different dimensions in the comparison between the groups in the same period. The comparison between the groups before and after the three-stage treatment showed that the differences in the total pathological score, inflammation, and dysplasia were statistically significant ( $P < 0.05$ ). After treatment, the PG I value of each group increased to different degrees, while during the same period, the difference between the two groups was not significant ( $P > 0.05$ ). The results of self-control before and after treatment in each group were statistically different ( $P < 0.05$ ). Before treatment, there was no statistically significant difference in PG I /PG II among the three groups ( $P > 0.05$ ). After treatment, the PG I /PG II of each group increased to varying degrees, and there were statistical differences between the early and late groups ( $P < 0.05$ ); the differences of each group before and after treatment were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Treatment in each treatment group had a significant effect in improving the positive rate of serum pepsinogen ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

Shanwei series decoction have clinical effects for patients with PLGC at different stages, which can reduce pathological changes to varying degrees, improve TCM symptoms, and reduce recurrence rates. Our results prove the necessity of treating PLGC by stage and syndrome differentiation. The further research and popularization of this prescription have positive significance for the clinical treatment of PLGC.

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

**Key Words:** Gastric precancerous lesions; ShanWei series decoction; Traditional Chinese medicine; Clinical trials

**Citation:** Zhang YL, Miao JM, Zhang Z, Yuan HX. Clinical curative effect of Shanwei series decoction in treating gastric precancerous lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(8): 413-420  
**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/413.htm>  
**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.413>

## 摘要

### 背景

胃镜及靶向活检技术对胃癌前病变(precancerous lesion of gastric cancer, PLGC)早期精确诊断有优势; 中医药治疗虽疗效确切, 但多基于主观症状, 缺少客观依据。本文结合胃镜精检技术与中医分期辨治, 探

讨PLGC不同分期中医证候与胃镜病理的相关性。

## 目的

探究善胃系列方分阶段治疗PLGC的临床有效性, 为PLGC的中医药临床治疗提供新的思路。

## 方法

临床收治150例PLGC患者, 按其疾病分期与中医辨证分型标准分为三组(三期), 每组50例, 分层随机分为治疗组与对照组各25例。三期治疗组分别予以治疗量的善胃 I、II、III号方, 对照组予以胃复春联合叶酸治疗。服药周期24 wk。从治疗前后各组的胃镜及病理积分、血清胃蛋白酶原结果、疗效分析及安全性指标进行比较。

## 结果

经治24 wk后, 三期治疗组胃镜下显效率均高于对照组( $P < 0.05$ ); 同期组间对比, 在不同维度存在统计学差异。三期治疗前后组间比较, 在病理总积分、炎症、异型增生三方面差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。治疗后各组PG I值均有不同程度的升高; 但同期两组组间比较, 差异不具有显著性。各组治疗前后自身对照, 结果均具有统计学差异( $P < 0.05$ )。治疗前, 三组PG I /PG II结果组间比较, 差异无统计学意义, 治疗后, 各组PG I /PG II结果不同程度升高, 早期组、后期组存在统计学差异( $P < 0.05$ ), 各组治疗前后自身比较, 差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。各治疗组改善血清胃蛋白酶原阳性率效果显著( $P < 0.05$ )。

## 结论

善胃系列方针对不同阶段的PLGC患者有临床疗效, 可不同程度的减轻病理改变, 改善中医证候, 降低复发率。证实了分阶段合辨证论治PLGC的必要性, 该方的进一步研究及推广应用对临床治疗PLGC有积极意义。

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

**关键词:** 胃癌前病变; 善胃系列方; 中医药; 临床试验

**核心提要:** 近年来, 中医药逐渐成为治疗胃癌前病变的重要手段, 但多从主观症状入手, 缺乏科学性依据, 本文基于胃镜精检技术与中医分阶段辨治相结合, 探究善胃系列方的临床疗效, 为中医分阶段辨治胃癌前病变探索客观化临床依据。

**文献来源:** 张月林, 苗嘉萌, 张泽, 袁红霞. 善胃系列方分阶段辨治胃癌前病变的临床疗效观察. *世界华人消化杂志* 2021; 29(8): 413-420

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/413.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.413>

## 0 引言

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是指以胃黏膜的慢性炎症和固有腺体萎缩为病理改变, 为胃部疾病炎-癌转换中重要的一环<sup>[1]</sup>。胃癌前病变(precancerous lesion of gastric cancer, PLGC)是一种具有恶性转化倾向的胃黏膜病理改变, 包括肠上皮化生(metaplasia, IM)和异型增生(Dys), 异型增生, 又称上皮内变(neoplasia, IN)<sup>[2]</sup>。PLGC常在慢性萎缩性胃炎的基础上发展变化而来, 因此CAG与PLGC均是目前公认的胃癌前期状态。由慢性浅表性胃炎→胃黏膜萎缩→肠上皮化生→异型增生→胃癌的发病模式已得到学术界广泛认可<sup>[3-6]</sup>。

袁红霞<sup>[7-10]</sup>提出PLGC中医症候演变理论, 根据正、邪、虚、实的相互关性, 将本病分为三期分阶段论治, 并创立了对应的善胃 I、II、III方。袁红霞临床结合患者症状与胃镜病理诊断, 以分期论治理论为指导, 应用善胃系列方治疗PLGC收效显著。此外, 根据前期实验研究, 善胃 I 号方<sup>[7]</sup>可通过抑制NHE1蛋白在胃黏膜的表达, 降低PCNA的表达, 调节细胞的分裂周期, 抑制细胞增殖; 同时能降低胃液pH值, 有效维持胃内酸性环境, 保持胃内环境的稳定<sup>[11]</sup>; 还能促使Bax蛋白的表达, 降低Bcl-2蛋白的表达, 在一定程度上诱导增殖细胞的凋亡<sup>[12]</sup>。从而有效抑制PLGC的细胞增殖与扩散, 起到阻断或逆转PLGC进展的作用; 善胃 II 号方能提高胃黏膜组织中P16蛋白含量、抑制rasP21蛋白的活性, 提示善胃 II 号方可能存在调控抑癌基因及原癌基因的靶点; 同时, 善胃 II 号方可能具有逆转胃黏膜肠化或异型增生的作用, 抑制胃黏膜过度增殖, 防止细胞失控性生长的作用<sup>[9]</sup>。善胃III号方可能通过调控Bcl-2蛋白的表达, 促进Bax蛋白的生成, 预防和抑制肿瘤细胞增殖与扩散, 从而起到阻断或逆转PLGC进展的目的<sup>[8,13]</sup>。善胃 I、II、III方均能在不同程度上降低PLGC患者胃黏膜的EGF、EGFR、TGF- $\alpha$ 的表达水平<sup>[14,15]</sup>, 从而起到阻断或逆转PLGC进展的作用。在前期实验和临床研究的基础上, 本研究通过分期分组, 以胃镜及病理结果、临床症状改善情况、胃蛋白酶原的表达情况等为观察指标, 从更全面、更科学的角度评价善胃系列方的临床疗效, 为PLGC的中医药临床治疗提供新的思路。

## 1 材料和方法

1.1 材料 收录2018-01/2019-06就诊于天津中医药大学附属保康医院、天津市南开医院消化科、名中医工作室确诊为PLGC的患者。本研究为多中心临床试验, 考虑研究病例纳入、研究周期、经费等问题, 结合“优效性临床试验”要求, 最终确定纳入受试者150例。受试者按中医辨证分型与疾病分期标准分为三组(三期), 每组50例,

运用SPSS 22.0统计软件, 按照病例分配数及1:1分配比例生成随机数字分组表, 按预期病例数进行分配, 其中治疗组25例, 对照组25例。该表由独立于本研究的研究人员进行妥善保管, 临床研究者负责试验过程中申请随机号。临床医生根据随机号发放受试药物(药物号与随机号统一), 准确记录患者的随机号。

本研究基于天津市科委课题, 立项已经专家论证, 并通过天津市南开医院伦理委员会审查(批件号: B2017-231-7)。

1.1.1 诊断标准: 主要从临床症状、胃镜、病理三方面联合诊断。以消化道内镜病理组织检查为诊断金标准, 将5个组织变量(黏膜炎症、活动度、萎缩、肠化生、异型增生)分别量化为4个等级(无、轻、中、重度)进行考量。

1.1.2 中医四诊信息采集: 采集患者临床信息, 基本内容包括: 一般情况; 西医内镜、病理检查; 中医四诊, 其中有关中医症候描述共计120项; 中医诊断。调查人员均为中医内科学脾胃病专业研究生, 且经过统一培训, 指导患者填写PLGC中医门诊问卷, 收集信息, 最终在两名主治以上职称中医师指导下诊断中医证型。

1.1.3 中医诊断分期分型: 各证型确诊标准为: 具备至少三项主症, 舌脉基本符合; 具备主症两项和次症至少两项, 舌脉基本符合; 以上条件具备任意一条即可。

PLGC分期: 袁红霞在前期临床实践基础上, 总结出本病病证演变规律, 将PLGC分为三期: 早期病性属实属热, 病机关键为血瘀热毒, 胃镜(病理)表现为炎症细胞浸润, 腺体萎缩及伴轻度肠化/异型增生病变程度较轻; 中期病性属虚实错杂, 病机关键为阴虚有热, 胃镜(病理)常表现为腺体萎缩及伴中度肠化/异型增生病变; 后期病程迁延, 病情发展, 瘀热留滞日久, 耗伤正气, 因实致虚, 以虚为主, 病机关键为气阴两虚夹瘀, 胃镜(病理)常表现为腺体萎缩及伴重度肠化/异型增生病变。即为: 热毒血瘀型(早期)、阴虚内热型(中期)、气阴两虚型(后期)。

1.1.4 纳入及排除标准: 纳入标准: 符合上述PLGC诊断标准者; 年龄在30岁-75岁之间, 性别不限。依从性好, 签署知情同意书。排除标准: 合并消化道溃疡, 药物性食管炎等消化道器质性疾病者; 可能伴有其他对试验药物有禁忌或影响疗效观察的疾病者; 具有严重的原发性疾病或其他影响生存的重大疾病者; 妊娠和哺乳期妇女。精神或法律认定的残疾患者; 怀疑或确有酗酒、药物滥用史; 依据研究人员的专业判断, 具有降低入组可能性的不确定因素或使入组复杂化的其他病变, 如工作环境经常变动等易造成失访情况者; 已知对该类药物或其组成成份过敏及过敏体质者。



表 1 各组患者胃镜疗效评价( $n=25$ )

	痊愈	显效	有效	无效
早期治疗组	11(45.8%) <sup>a</sup>	7(29.2%)	4(16.7%)	2(8.3%)
早期对照组	0(0) <sup>a</sup>	7(29.2%)	12(50.0%)	5(20.8%)
中期治疗组	13(54.2%) <sup>a</sup>	6(25.0%)	4(16.7%)	2(8.3%)
中期对照组	0(0) <sup>a</sup>	6(26.1%)	14(60.9%)	5(21.7%)
后期治疗组	11(45.8%) <sup>a</sup>	7(29.2%)	3(12.5%)	3(12.5%)
后期对照组	0(0) <sup>a</sup>	6(26.1%)	13(56.5%)	6(26.1%)

治疗后, 各治疗组与对照组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ . 总有效率 = (痊愈人数+显效人数+有效人数)/总人数.

1.1.5 剔除及脱落标准: 剔除标准: 未按照标准服药或服用其他影响疗效评价者; 发生严重并发症或特殊情况不宜继续接受试验者. 脱落标准: 自行退出试验者.

1.2 方法 本研究分组主要依据中医证型, 以胃镜、病理作为参考, 以探究PLGC病理分级与中医证候的相关性.

1.2.1 治疗组: (1)早期组: 予善胃 I 号方(丹参20 g, 三棱10 g, 莪术15 g, 片姜黄10 g, 土鳖虫10 g, 半枝莲30 g, 白花蛇舌草30 g); (2)中期组: 予善胃 II 号方(天花粉20 g, 玉竹20 g, 女贞子15 g, 墨旱莲30 g, 芍药15 g, 重楼10 g, 蒲公英30 g, 夏枯草30 g); (3)后期组: 予善胃 III 号方(白人参5 g, 太子参20 g, 黄精20 g, 生黄芪30 g, 石斛10 g, 鳖甲10 g, 玄参15 g, 莪术20 g, 仙鹤草30 g). 日1剂, 分早晚各一次服用, 每次100-200 mL. (药物制备: 本研究所用善胃系列方中药颗粒剂统一委托四川新绿色药业科技发展有限公司制备).

1.2.2 对照组: 各期对照组分别予以胃复春片联合叶酸片治疗. 胃复春片(胡庆余堂药厂生产)每次4片, 每日三次; 叶酸片5 mg/次, 3次/日. 服法: 饭前口服, 温水送服. 两种药物服药间隔30 min. 疗程共计24 wk. 受试者纳入本次研究观察前, 必须停用其他治疗慢性胃炎的药物1 mo. 研究期间不得长期合并服用可能对本次治疗有影响的药物.

1.2.3 评价指标: (1)一般资料; (2)胃镜积分、病理积分、血清蛋白酶原检测、症状积分、安全性检测(入组前4 wk内记录一次, 治疗24 wk后记录一次), 开始治疗后第7、14、28、56、84、112、140、168天分别对受试者的中医证候、不良反应、合并用药等进行记录; (3)症状学疗效评价标准: 以胃痛、胃痞、嘈杂为主要观察指标, 从4个维度进行积分统计, 以打嗝暖气、烧心反酸、口渴咽干、纳呆食少、大便情况(便干、便溏、便黏、正常便)为次要观察指标. 统计得分: ①临床痊愈: 主要症状、体征消失或基本消失, 疗效指数 $\geq 95\%$ ; ②显效: 主要症状、体征明显改善,  $70\% \leq$  疗效指数  $< 95\%$ ; ③有效: 主要症状、体征明显好转,  $30\% \leq$  疗效指数  $< 70\%$ ;

④无效: 主要症状、体征无明显改善, 甚或加重, 疗效指数  $< 30\%$ . 总有效率 = (痊愈人数+显效人数+有效人数)/总人数(注: 尼莫地平法计算: 疗效指数 = [(治疗前积分-治疗后积分)/治疗前积分]  $\times 100\%$ ).

**统计学处理** 使用SPSS 22.0统计软件进行数据处理. 计数资料采用 $\chi^2$ 检验. 计量资料符合正态分布的采用 $t$ 检验, 用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 描述; 不符合正态分布的用非参数检验. 等级资料用秩和检验.  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

各期各组受试者的性别、年龄、病程分布结果均无统计学意义, 具有可比性.

2.1 胃镜疗效评价 同期两组患者比较, 各期治疗组临床痊愈率及总有效率均优于对照组( $P<0.05$ ), 说明治疗组药物可明显改善患者中医临床症状, 见表1.

2.2 病理积分比较 病理积分各期各组比较结果差异不同(按中医证候分组), 三期治疗组前后自身比较均具有统计学意义( $P<0.05$ ), 分别见表2-4. 治疗前后病理图片见图1.

2.3 PG I、PG I/PG II 结果比较 本试验使用双抗体夹心免疫检测法检测血清PG I、PG II的水平. 各期各组组间比较PG I水平均升高( $P<0.05$ ); PG I/PG II水平各期各组治疗前后自身比较有统计学差异( $P<0.05$ ), 治疗后治疗组与对照组比较有统计学意义( $P<0.05$ ), 见表5. 各治疗组治疗前后PG I/PG II结果阳性率比较, 治疗后治疗组和对照组比较有统计学意义( $P<0.05$ ), 见表6.

2.4 中医症状疗效比较 中医症状疗效比较治疗组优于对照组( $P<0.05$ ), 同期各组自身比较( $P<0.05$ ), 见表7.

2.5 治疗全程疗效比较 (1)早期组治疗前和治疗后第7天疗效, 治疗组与对照组疗效无明显差别; 治疗后第14、28、56、84、112、140、168天, 疗效差别明显, 治疗组疗效较对照组明显. 总体观察治疗组曲线下下降趋势较对照组明显. (2)中期组治疗前和治疗后第7天疗效, 治疗组

表 2 早期组治疗前后病理积分比较(分, mean  $\pm$  SD)

	治疗前		治疗后	
	早期治疗组	早期对照组	早期治疗组	早期对照组
病理总积分	11.32 $\pm$ 2.25 <sup>ab</sup>	11.48 $\pm$ 2.31	7.34 $\pm$ 2.01 <sup>ab</sup>	10.22 $\pm$ 2.64
炎症	4.15 $\pm$ 0.94 <sup>ab</sup>	4.61 $\pm$ 0.87	2.56 $\pm$ 0.88 <sup>ab</sup>	3.87 $\pm$ 0.91
活动度	3.11 $\pm$ 0.68 <sup>b</sup>	3.08 $\pm$ 0.71	2.07 $\pm$ 0.84 <sup>b</sup>	2.48 $\pm$ 0.89
萎缩	1.87 $\pm$ 0.77 <sup>b</sup>	1.79 $\pm$ 0.75	1.12 $\pm$ 0.67 <sup>b</sup>	1.24 $\pm$ 0.65
肠化生	1.94 $\pm$ 1.07 <sup>b</sup>	1.91 $\pm$ 0.89	1.27 $\pm$ 0.78 <sup>b</sup>	1.47 $\pm$ 0.86
异型增生	1.12 $\pm$ 0.61 <sup>ab</sup>	1.04 $\pm$ 0.41	0.11 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>	0.85 $\pm$ 0.55

各治疗组和对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 各治疗组前后自身比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ .

表 3 中期组治疗前后病理积分比较(分, mean  $\pm$  SD)

	治疗前		治疗后	
	中期治疗组	中期对照组	中期治疗组	中期对照组
病理总积分	12.12 $\pm$ 2.87 <sup>ab</sup>	12.18 $\pm$ 2.59	7.21 $\pm$ 2.24 <sup>ab</sup>	9.85 $\pm$ 2.11
炎症	4.54 $\pm$ 0.89 <sup>ab</sup>	4.84 $\pm$ 0.97	2.77 $\pm$ 0.84 <sup>ab</sup>	3.97 $\pm$ 0.91
活动度	3.44 $\pm$ 0.71 <sup>ab</sup>	3.61 $\pm$ 0.84	1.77 $\pm$ 0.67 <sup>ab</sup>	3.08 $\pm$ 0.81
萎缩	2.07 $\pm$ 0.68 <sup>b</sup>	1.94 $\pm$ 0.61	1.34 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>	1.55 $\pm$ 0.69
肠化生	2.31 $\pm$ 1.02 <sup>b</sup>	2.24 $\pm$ 1.10	1.14 $\pm$ 0.87 <sup>b</sup>	1.22 $\pm$ 0.94
异型增生	1.34 $\pm$ 0.61 <sup>ab</sup>	1.31 $\pm$ 0.55	0.12 $\pm$ 0.27 <sup>ab</sup>	0.91 $\pm$ 0.66

各治疗组和对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 各治疗组前后自身比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ .

表 4 后期组治疗前后病理积分比较(分, mean  $\pm$  SD)

	治疗前		治疗后	
	后期治疗组	后期对照组	后期治疗组	后期对照组
病理总积分	11.12 $\pm$ 2.54 <sup>ab</sup>	10.98 $\pm$ 2.42	7.41 $\pm$ 2.11 <sup>ab</sup>	9.91 $\pm$ 2.26
炎症	4.63 $\pm$ 0.94 <sup>b</sup>	4.47 $\pm$ 0.87	2.77 $\pm$ 0.77 <sup>b</sup>	2.98 $\pm$ 0.79
活动度	3.54 $\pm$ 0.86 <sup>ab</sup>	3.51 $\pm$ 0.85	1.87 $\pm$ 0.97 <sup>ab</sup>	3.18 $\pm$ 0.83
萎缩	2.14 $\pm$ 0.74 <sup>ab</sup>	1.97 $\pm$ 0.74	1.04 $\pm$ 0.82 <sup>ab</sup>	1.47 $\pm$ 0.57
肠化生	2.42 $\pm$ 1.13 <sup>b</sup>	2.35 $\pm$ 1.21	1.25 $\pm$ 0.98 <sup>b</sup>	1.31 $\pm$ 0.88
异型增生	1.41 $\pm$ 0.72 <sup>ab</sup>	1.45 $\pm$ 0.65	0.22 $\pm$ 0.35 <sup>ab</sup>	0.95 $\pm$ 0.74

各治疗组和对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 各治疗组前后自身比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ .

与对照组疗效无明显差别; 治疗后第14、28、56、84、112、140、168天, 疗效差别明显, 观察组疗效较对照组明显. 总体观察治疗组曲线下下降趋势较对照组明显. (3) 中期组治疗前和治疗后第7、14天疗效, 善胃Ⅲ号方与胃复春联合叶酸组疗效无明显差别, 疗效相当; 治疗后第28、56、84、112、140、168天, 疗效差别明显, 观察组疗效较对照组明显. 总体观察治疗组曲线下下降趋势较对照组明显. 见图2.

2.6 安全性观察 患者在服药期间, 无一例出现过敏反应, 后期治疗组与对照组有1人出现轻度偏头痛及腹泻, 未

做处理, 后自行缓解. 两组患者治疗前后血、尿、便常规、心电图、肝肾功能检查均未出现明显异常.

### 3 讨论

PLGC病因病机复杂, 病程较长, 缠绵不愈, 癌变率高达2%-7.3%<sup>[6]</sup>, 严重影响了患者的工作和生存质量, 也给患者带来了巨大的精神压力和经济负担. 如何延缓PLGC的病理学进展、逆转胃黏膜萎缩、预防其向胃癌发展成为临床治疗本病的重点和难点<sup>[17]</sup>.

目前普遍认为, PLGC的病因主要包括感受外邪、

表 5 各组治疗前后PG I、PG I /PG II 结果(mean ± SD)

	PG I (μg/L)		PG I /PG II	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
早期治疗组	48.61 ± 12.94	58.78 ± 14.51 <sup>ab</sup>	4.67 ± 1.67	5.68 ± 1.57 <sup>ab</sup>
早期对照组	49.11 ± 11.74	56.74 ± 13.94 <sup>a</sup>	4.61 ± 1.84	5.35 ± 1.56 <sup>a</sup>
中期治疗组	50.15 ± 12.64	59.61 ± 12.54 <sup>a</sup>	4.57 ± 1.54	5.77 ± 1.49 <sup>a</sup>
中期对照组	49.44 ± 12.51	57.44 ± 14.67 <sup>a</sup>	4.48 ± 1.61	5.24 ± 1.62 <sup>a</sup>
后期治疗组	47.66 ± 14.31	58.14 ± 12.68 <sup>ab</sup>	4.58 ± 1.63	5.64 ± 1.62 <sup>ab</sup>
后期对照组	47.51 ± 12.64	56.11 ± 13.64 <sup>a</sup>	4.41 ± 1.67	5.11 ± 1.44 <sup>a</sup>

各期各组治疗前后比较, <sup>a</sup>*P*<0.05; 治疗后治疗组与对照组比较, <sup>b</sup>*P*<0.05.

表 6 治疗前后PG I /PG II 阳性检出率情况(*n* = 25)

	治疗前		治疗后	
	阳性	阴性	阳性	阴性
早期治疗组	6	18	3 <sup>a</sup>	21 <sup>a</sup>
早期对照组	7	17	6	18
中期治疗组	6	18	4 <sup>a</sup>	20 <sup>a</sup>
中期对照组	6	17	5	18
后期治疗组	8	16	5 <sup>a</sup>	19 <sup>a</sup>
后期对照组	6	17	5	18

阳性标准为: PG I < 70 μg/L且PG I /PG II < 3. 各治疗组前后自身比较, <sup>a</sup>*P*<0.05.

表 7 中医症状疗效比较(*n* = 50)

痊愈		显效	有效	无效	显效率
早期治疗组	8(33.3%)	10(41.2%)	6(25%)	0(0)	18(74.5%) <sup>ab</sup>
早期对照组	2(8.3%)	7(29.2%)	13(54.2%)	3(12.5%)	9(37.5%) <sup>a</sup>
中期治疗组	9(37.5%)	10(41.7%)	5(20.8%)	0(0)	19(79.2%) <sup>ab</sup>
中期对照组	0(0)	6(26.1%)	14(60.9%)	3(13.0%)	6(26.1%) <sup>a</sup>
后期治疗组	8(33.3%)	10(41.7%)	6(25%)	0(0)	18(75.0%) <sup>ab</sup>
后期对照组	0(0)	7(30.4%)	13(56.5%)	4(17.4%)	7(30.4%) <sup>a</sup>

各期各组治疗前后自身比较, <sup>a</sup>*P*<0.05; 治疗组与对照组比较, <sup>b</sup>*P*<0.05.

饮食不节(洁)、情志失调、禀赋不足等, 主要的病理产物为热毒、痰湿、气滞、瘀血等, 发病关键在于病理产物互结积聚中焦, 致使脾胃失养、胃络受损, 进而诱发胃黏膜肿胀、组织增生而发为本病. 疾病属性为本虚标实, 本虚以脾胃气虚和/或阴虚为主, 标实则有热毒、痰湿、气滞、血瘀等, 且多呈夹杂之势. 在PLGC中医药治疗上, 医家学者多以辨证分型为基础, 以基本方对症加减治疗, 目前尚未有分阶段与辨证论治结合的报道出现, 缺少对本病进展过程的线性认识. 袁教授认为PLGC的演变规律为: 早期以血瘀热毒为主, 胃镜显示有炎症细胞浸润, 肠化和/或异型增生程度较轻; 中期以阴虚内

热为主, 胃镜提示萎缩性胃炎, 伴轻、中度肠化和/或异型增生; 后期以气阴两虚为主, 多夹瘀, 胃镜提示腺体萎缩及肠化和/或异型增生程度较重. 并总结运用善胃系列方分期论治PLGC在临床上取得了确切的疗效. 通过研究结果可以看出, 善胃系列方在改善患者病理总积分和异型增生较对照组(胃复春合叶酸)效果显著, 说明善胃系列方分阶段合辨证论治PLGC较单纯辨证治疗PLGC效果显著. 善胃 I、II 号分别针对早、中期组在缓解炎症方面均较对照组显效良好; 善胃 II、III 号分别对中、后期组活动度方面较对照组疗效显著, 差异均具有统计学意义(*P*<0.05), 这与PLGC的病情演变规律恰相



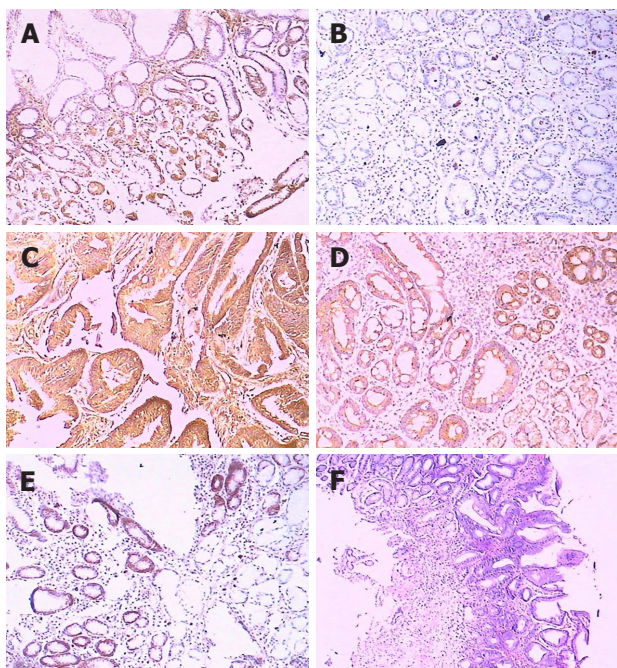


图1 食管黏膜病理图. A, B: 早期组治疗前、后; C, D: 中期组治疗前、后; E, F: 后期组治疗前、后.

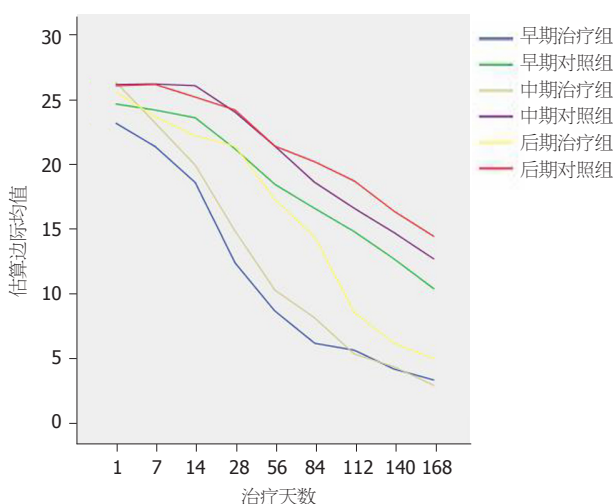


图2 治疗后各组症候积分趋势图.

一致, 证明了善胃系列方分期辨治PLGC的有效性. 但在肠化生方面治疗组与对照组比较无明显差异, 但均有改善, 可能仍需加大样本量, 进行深入研究.

善胃I号由丹参、三棱、莪术、片姜黄、土鳖虫、半枝莲、白花蛇舌草组成, 能活血化瘀, 清热解毒而不伤正, 消肿散结, 驱邪而固本, 可有效预防胃癌的发生; 善胃II号由天花粉、玉竹、女贞子、墨旱莲、芍药、重楼、蒲公英、夏枯草组成, 方中重用甘润之药, 滋养胃阴以治其本“虚”, 又有活血化瘀药以清其“实”, 同时佐以辛苦寒之夏枯草, 清热散结, 如此则虚实同调, 补泻兼施, 养阴清热而不伤正, 扶正以驱邪; 善胃III号由白人

参、太子参、黄精、生黄芪、石斛、鳖甲、玄参、莪术、仙鹤草组成, 用药以益气养阴而补“本虚”, 又兼活血解毒、清热消痈以治“标实”, 补虚为主, 泻实为辅, 虚实并调, 标本兼顾.

胃蛋白酶原(pepsinogen, PG)是胃蛋白酶的前体<sup>[18]</sup>, 根据其生化性质和免疫原性将其分成胃蛋白酶原I (PG I) 和胃蛋白酶原II (PG II) 两型, PG水平反映了不同部位胃黏膜的形态和功能: PG I 是检测胃泌酸腺细胞功能的指针, 胃酸分泌增多PG I 升高, 分泌减少或胃黏膜腺体萎缩PG I 降低; PG II 与胃底黏膜病变的相关性较大(相对于胃窦黏膜), 其升高与胃底腺管萎缩、胃上皮化生或假幽门腺化生、异型增生有关; PG I / II 比值进行性降低与胃黏膜萎缩进展相关. 因此, 联合测定PG I 和PG II 比值可起到胃底腺黏膜“血清学活检”的作用<sup>[19]</sup>. 通过其血清测量值的不同, 在各胃部疾病中均有不同程度的改变, 为临床提供可靠的诊断价值. 本次研究发现, 患者入组时的PG I、PG I / PG II 结果均有不同程度下降, 阳性率分别为24.11%和35.13%, 略高于文献报道血清胃蛋白酶降低趋势, 提示黏膜腺体分泌功能下降. 部分样本阳性率差异不显著, 可能是与样本量少, 病变情况局限有关, 后期可加大样本量, 将血清PG作为PLGC随诊的一个辅助检测指标, 可控性较强.

## 4 结论

综上所述, 充分证实了运用善胃系列方分期分型论治PLGC有显著的临床疗效, 可不同程度的减轻病理改变, 改善中医症候, 降低复发率, 值得进一步研究及推广应用. 分阶段合辨证论治PLGC在临床诊疗中有一定的必要性和可行性, 但仍需大量的临床及实验研究.

## 文章亮点

### 实验背景

胃癌前病变(precancerous lesion of gastric cancer, PLGC)是临床上常见的消化系统疾病, 中西医结合治疗时目前的发展趋势, 但没有形成西医精准诊断和中医分阶段治疗的协作方案. 通过二者结合, 探索它们之间的相关性, 为临床诊疗提供客观依据.

### 实验动机

通过现代医学精准诊断技术与中医分阶段治疗相结合, 探究善胃系列方治疗PLGC的临床有效性, 以探究分阶段辨治PLGC的必要性, 同时为临床诊疗提供参考.

### 实验目标

通过结合胃镜精检技术, 运用善胃系列方分阶段辨治

PLGC, 发现其较单纯治疗效果好, 这为临床医师诊治PLGC提供了新的思路和方法。

## 实验方法

临床收治150例PLGC患者, 按其疾病分期和中医辨证分型标准, 分层随机分为治疗组和对照组各25人, 分别予善胃系列方、胃复春联合叶酸治疗24 wk。从治疗前后的相关指标比较其疗效。目前未见其他类似报道, 有创新性。

## 实验结果

经治24 wk后, 三期治疗组内镜下显效率均高于对照组( $P<0.05$ ); 同期组间对比, 在不同维度存在统计学差异。三期治疗前后组间比较, 在病理总积分、炎症、异型增生三方面差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。治疗后各组PG I值均有不同程度的升高。各组治疗前后自身对照, 结果均具有统计学差异( $P<0.05$ )。治疗前, 三组PG I / PG II结果组间比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 治疗后, 各组PG I / PG II结果不同程度升高, 早期组、后期组存在统计学差异( $P<0.05$ ), 各组治疗前后自身比较, 差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。各治疗组改善血清胃蛋白酶原阳性率效果显著( $P<0.05$ )。

## 实验结论

善胃系列方针对不同阶段的PLGC患者有临床疗效, 证实了分阶段合辨证论治PLGC的必要性和可行性。

## 展望前景

分阶段合辨证论治PLGC具有积极意义, 善胃系列方分阶段辨治PLGC有临床疗效, 我们下一步的方向是将该方进一步研究及推广应用。

## 5 参考文献

- 1 李春颖. 中医药治疗慢性萎缩性胃炎的研究进展. 临床医学研究与实践 2020; 5: 192-193+196 [DOI: 10.19347/j.cnki.2096-1413.202031068]
- 2 夏聪, 杨泉楠, 许军, 黄山, 吴伟旋, 林沅琦. 大学生亚健康评定量表的测评及应用分析. 重庆医学2018; 47: 1012-1015 [DOI:

- 10.3969/j.issn.1671-8348.2018.08.002]
- 3 张声生, 唐旭东, 黄穗平, 卞立群. 慢性胃炎中医诊疗专家共识意见(2017). 中华中医药杂志 2017; 32: 3060-3064
- 4 张声生, 李乾构, 唐旭东, 王萍, 李振华. 慢性萎缩性胃炎中医诊疗共识意见. 中医杂志2010; 51: 749-753
- 5 李军祥, 陈詒, 吕宾, 王彦刚. 慢性萎缩性胃炎中西医结合诊疗共识意见(2017年). 中国中西医结合消化杂志 2018; 26: 121-131
- 6 张声生. 中医治疗慢性萎缩性胃炎及胃癌前病变的思路. 江苏中医药 2007; 8: 3-4
- 7 韩慧, 袁红霞. 善胃 I 号方对血瘀热毒型胃癌前病变PCNA的影响. 辽宁中医杂志 2013; 40: 87-88 [DOI: 10.13192/j.ljtcn.2013.01.93.hanh.028]
- 8 杜昕. 善胃 III 号方对气阴两虚型胃癌前病变大鼠胃黏膜rasp21和血管内皮抑素表达的影响. 中华中医药学会脾胃病分会. 中华中医药学会脾胃病分会第二十四次全国脾胃病学术交流会论文集汇编. 中华中医药学会脾胃病分会: 中华中医药学会 2012; 204-208
- 9 唐丽明, 高世全, 施伟东, 李东华, 袁红霞. 善胃 II 号方对大鼠胃癌前病变的抑制作用及其机制研究. 时珍国医国药 2010; 21: 1453-1455 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2010.06.075]
- 10 袁红霞, 唐丽明, 赵强, 袁红梅, 王洪俊, 王学. 善胃系列方治疗胃癌前期病变的临床及基础研究. 中国中西医结合消化杂志 2006; 4: 222-226 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-038X.2006.04.004]
- 11 刘清君, 刘彩梅, 袁红霞, 施伟东, 宋宁. 善胃 I 号方对胃癌前病变大鼠胃黏膜NHE1蛋白及胃内pH值的影响. 中国现代中药 2009; 11: 34-36 [DOI: 10.13313/j.issn.1673-4890.2009.09.004]
- 12 袁红霞, 刘彩梅, 刘清君, 施伟东, 史业骞. 善胃 I 号方对胃癌前病变大鼠胃黏膜Bcl-2和Bax蛋白表达的影响. 中国现代中药 2009; 11: 36-38 [DOI: 10.13313/j.issn.1673-4890.2009.09.002]
- 13 刘清君, 刘彩梅, 袁红霞, 施伟东, 梁新生. 善胃 III 号方对胃癌前病变大鼠胃黏膜Bcl-2和Bax蛋白表达的影响. 汕头大学医学院学报2009; 22: 133-134+137+126
- 14 杨幼新, 袁红霞, 代二庆, 赵强, 马艳. 慢性萎缩性胃炎胃癌前病变中医证型与 EGF、EGFR、TGF- $\alpha$  表达的相关性初探. 上海中医药杂志 2008; 7: 5-7 [DOI: 10.16305/j.1007-1334.2008.07.005]
- 15 代二庆, 赵占考, 袁红霞, 任万英, 李华. 善胃 I - III 号方治疗慢性萎缩性胃炎胃癌前病变的临床研究. 中医药学刊 2004; 04: 606-607 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-7717.2004.04.017]
- 16 Li WQ, Zhang JY, Ma JL, Li ZX, Zhang L, Zhang Y, Guo Y, Zhou T, Li JY, Shen L, Liu WD, Han ZX, Blot WJ, Gail MH, Pan KF, You WC. Effects of Helicobacter pylori treatment and vitamin and garlic supplementation on gastric cancer incidence and mortality: follow-up of a randomized intervention trial. BMJ 2019; 366: l5016 [PMID: 31511230 DOI: 10.1136/bmj.l5016]
- 17 Ford AC, Forman D, Hunt RH, Yuan Y, Moayyedi P. Helicobacter pylori eradication therapy to prevent gastric cancer in healthy asymptomatic infected individuals: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. BMJ 2014; 348: g3174 [PMID: 24846275 DOI: 10.1136/bmj.g3174]
- 18 李紫昕. 益气化痰解毒方治疗萎缩性胃炎伴癌前病变临床研究. 广州中医药大学 2017
- 19 周陆艳. 血清胃蛋白酶原I、II在慢性萎缩性胃炎筛查中的应用价值分析. 现代诊断与治疗 2015; 26: 4484-4485

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



## 胰腺癌细胞外吉西他滨耐药机制的研究进展

顾宗廷, 李宗泽, 王成锋

顾宗廷, 李宗泽, 王成锋, 国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室/胰胃外科 北京市 100021

顾宗廷, 主治医师, 在读博士, 主要从事胰腺癌的基础及临床研究.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目, No. 81972314; 中国医学科学院医学与健康科技创新工程, No. 2016-I2M-1-001.

作者贡献分布: 本文综述由顾宗廷与李宗泽共同完成; 王成锋修改及审校.

通讯作者: 王成锋, 主任医师, 教授, 100021, 北京市朝阳区潘家园南里17号, 国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室/胰胃外科. wangchengfeng62@163.com

收稿日期: 2021-02-05

修回日期: 2021-03-13

接受日期: 2021-03-26

在线出版日期: 2021-04-28

### Advances in research of extracellular mechanisms underlying gemcitabine resistance in pancreatic cancer

Zong-Ting Gu, Zong-Ze Li, Cheng-feng Wang

Zong-Ting Gu, Zong-Ze Li, Cheng-Feng Wang, State Key Laboratory of Molecular Oncology & Department of Pancreatic and Gastric Surgery, National Cancer Center/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81972314; CAMS Innovation Fund for Medical Sciences, No. 2016-I2M-1-001.

Corresponding author: Cheng-Feng Wang, Chief physician, Professor, State Key Laboratory of Molecular Oncology & Department of Pancreatic and Gastric Surgery, National Cancer Center/ Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, No. 17 Panjiayuan Nanli, Chaoyang District, Beijing

100021, China. wangchengfeng62@163.com

Received: 2021-02-05

Revised: 2021-03-13

Accepted: 2021-03-26

Published online: 2021-04-28

### Abstract

Pancreatic cancer is a solid malignant tumor with the worst prognosis worldwide, and about 90% of cases are pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). Although surgical resection is the only potential way to cure PDAC, the overall survival rate after surgery is still not optimistic. Consequently, gemcitabine (GEM)-based chemotherapy is still one of the most important treatment options for PDAC. However, the survival improvement by GEM monotherapy for advanced PDAC is very limited, and GEM resistance is the key reason. The mechanism underlying gemcitabine resistance is complex and still unclear in PDAC. The extensive and dense fibrous mesenchyme in the tumor microenvironment (TME) is an important feature of PDAC. More and more evidence has shown that TME is not only an active participant in tumor growth and spread, but also a contributor to the induction of GEM resistance. This article will review the recent advances in the understanding of the cellular and molecular mechanisms underlying GEM resistance in PDAC, and discuss potential GEM chemosensitization strategies, in order to improve the effective rate of chemotherapy and the outcome.

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

Key Words: Pancreatic cancer; Pancreatic ductal adenocarcinoma; Gemcitabine; Tumor microenvironment;



## Chemoresistance

**Citation:** Gu ZT, Li ZZ, Wang CF. Advances in research of extracellular mechanisms underlying gemcitabine resistance in pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(8): 421-434  
**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/421.htm>  
**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.421>

## 摘要

胰腺癌是预后最差的实体恶性肿瘤, 其中约90%是胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC). 尽管手术切除是唯一可能治愈PDAC的手段, 但术后总体生存率不容乐观. 因此, 以吉西他滨(gemcitabine, GEM)为基础的化疗仍是PDAC最重要的治疗选择之一. 然而, GEM单药治疗晚期PDAC的生存期改善十分有限, 其关键原因在于GEM耐药. GEM耐药的机制复杂且不明确. 肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中广泛而致密的纤维间质是PDAC的重要特征. 越来越多的证据显示, 纤维化TME不仅是肿瘤生长、扩散的积极参与者, 更是诱导GEM耐药的贡献者. 本文将重点从PDAC细胞外途径对GEM化疗耐药的主要细胞和分子机制研究进展进行综述, 讨论潜在的GEM化疗增敏策略, 以期提高化疗有效率, 改善PDAC的总体预后.

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

**关键词:** 胰腺癌; 胰腺导管腺癌; 吉西他滨; 肿瘤微环境; 化疗耐药

**核心提要:** 吉西他滨(gemcitabine, GEM)耐药是影响胰腺癌化疗疗效的关键原因. GEM耐药的机制复杂且不明确, 近年来细胞外调控机制的研究取得众多新进展, 这将为GEM化疗增敏策略提供了新的潜在靶点, 对进一步提高化疗有效率, 改善胰腺癌的预后具有重要意义.

**文献来源:** 顾宗廷, 李宗泽, 王成峰. 胰腺癌细胞外吉西他滨耐药机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2021; 29(8): 421-434  
**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/421.htm>  
**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.421>

## 0 前言

胰腺癌是目前人类预后最差的实体恶性肿瘤, 其中约90%是胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC). 在中国, PDAC的5年生存率仅为7.2%, 且无明显改善趋势<sup>[1]</sup>. 尽管手术切除是唯一可能治愈PDAC的手段, 但术后5年生存率也仅为10%-25%, 且有手术指征的患者仅占15%-20%<sup>[2]</sup>. 因此, 化疗仍是PDAC最重要的治疗选择之一. 改良FOLFIRINOX方案(奥沙利铂、伊

立替康、5-FU和亚叶酸钙)对PDAC的疗效已证实优于吉西他滨(gemcitabine, GEM), 但更高的毒性作用发生率限制了其应用<sup>[3]</sup>. 因此, GEM仍是目前PDAC化疗的基石. GEM是一种脱氧胞苷核苷类似物, 可作为竞争性底物掺入DNA链并终止其复制, 最终导致细胞死亡<sup>[4]</sup>. 然而, GEM单药治疗晚期PDAC的中位无进展生存期仅为3.7个月<sup>[5]</sup>, GEM耐药是其中的关键原因. 与其他恶性肿瘤相比, 广泛而致密的纤维间质是PDAC的重要特征, PDAC细胞周围的增生结缔组织约占肿瘤总体积的90%, 严重扭曲了正常的胰腺结构<sup>[6]</sup>. 增生结缔组织主要由间质细胞成分、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、血管和淋巴管组成, 共同构建成肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)(图1). PDAC细胞与TME之间的相互作用是刺激广泛纤维增生的主要原因<sup>[7]</sup>. TME不仅是PDAC生长、扩散的积极参与者, 更是诱导GEM耐药的贡献者<sup>[8]</sup>. TME通过ECM的物理屏障作用和改变细胞外信号调节激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)、丝/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine protein kinases, Akt)、转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)等通路活化状态, 影响PDAC细胞中相关基因的表达, 诱导GEM抵抗<sup>[9]</sup>. 因此, PDAC细胞外途径并非孤立事件, 而是与PDAC细胞共同促进GEM耐药的发生. 本文将重点从PDAC细胞外途径讨论GEM化疗耐药的主要细胞和分子机制研究进展(表1). 细胞外TME各组分与PDAC细胞间相互作用机制的进一步研究, 有助于发现GEM耐药的潜在治疗靶点, 为化疗增敏和改善PDAC总体预后提供新的策略.

## 1 GEM与乏氧

纤维结缔组织增生和供血血管减少削弱了PDAC的组织灌注, 造成了乏氧的TME<sup>[10]</sup>(图1). 低氧通过缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )介导上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、糖酵解通路的活化, 导致GEM耐药<sup>[11,12]</sup>. 体外试验亦证实, 下调HIF-1 $\alpha$ 可增加GEM的敏感性<sup>[11,13]</sup>. 另外, 低氧也可通过Akt/Notch1信号通路增强GEM诱导的细胞干性并促进化疗抵抗<sup>[14]</sup>. 因此, 缺氧赋予肿瘤组织对GEM的抵抗力. 但遗憾的是, 一项关于GEM联合靶向低氧TME的细胞毒性药(TH-302)治疗晚期PDAC的III期临床试验(NCT01746979)结果并未显示出总生存期(overall survival, OS)的统计学差异<sup>[15]</sup>. PDAC自身及所属TME的异质性增加了缺氧诱发GEM耐药机制的复杂性, 这可能是临床试验失败的原因之一. 酸中毒是TME的另一重要特征. HIF-1 $\alpha$ 介导的糖酵解乳酸生成和碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA)介导的碳酸生成, 是PDAC细

胞外 $H^+$ 的主要来源<sup>[16]</sup>。一项最新的研究显示, 缺氧诱导HIF-1 $\alpha$ 通过上调CA9的表达, 介导PDAC糖酵解增加和细胞内、外pH的变化, 增加GEM抵抗。相反, 沉默或抑制CA9则可逆转这一过程<sup>[17]</sup>。此外, 酸性TME也可能通过诱导EMT介导GEM抵抗<sup>[18]</sup>。因此, 靶向改变细胞外pH值有望成为GEM增敏的新策略。另外, TME应激也参与了细胞代谢的重塑, 但其代谢影响与GEM耐药的直接关系仍待进一步明确<sup>[19]</sup>。

## 2 GEM与ECM

PDAC的TME中存在大量致密的基质成分(图1), 一方面致密的纤维组织压迫肿瘤组织内的血管, 阻止GEM进入组织, 另一方面基质成分与PDAC细胞间相互作用, 共同促进了GEM耐药。

**2.1 胶原蛋白** PDAC的基质主要由I型胶原蛋白组成, 其正常亚型是一种可被胶原酶降解的异型三聚体, 但PDAC细胞可分泌特有的同型三聚体, 后者对所有胶原溶解性基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)均具有抗性<sup>[20]</sup>。临床前研究证实, 基质胶原蛋白可形成物理屏障影响GEM渗透和治疗反应<sup>[8]</sup>。此外, 胶原蛋白通过上调PDAC中膜型1-基质金属蛋白酶(membrane type 1-matrix metalloproteinase, MT1-MMP)的表达, 增加ERK1/2磷酸化, 并进一步上调高迁移率蛋白A2(high mobility group A2, HMGA2)的表达<sup>[21]</sup>。HMGA2是DNA碱基末端连接修复机制的一部分, 可从DNA中去除小的受损碱基, 并具有嘌呤/嘧啶裂解酶活性, 可削弱GEM在富含胶原的TME中的作用<sup>[22]</sup>。另外, HMGA2过表达还促进PDAC细胞组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HATs)上调, 增加组蛋白H3K9和H3K27乙酰化, 促进染色质松弛和最终的DNA修复, 介导GEM抗性<sup>[23]</sup>。由此可见, 靶向MT1-MMP/HMGA2/HATs信号通路可能是新的GEM增敏策略。遗憾的是, 针对MMPs广谱抑制剂的所有临床试验, 与单独使用GEM相比均未显示临床优势, 缺乏选择性地MMPs抑制剂一度被认为是试验失败的原因之一<sup>[24]</sup>。但有趣的是, 一项最新的研究显示, MMP1组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases 1, TIMP1)可通过激活PI3K/Akt促生存信号通路参与GEM抵抗, 下调TIMP1表达则可逆转这一过程<sup>[25]</sup>。因此, PDAC基质胶原蛋白在GEM耐药机制中可能发挥双重作用, 同时也提示TIMP1可能是潜在的GEM增敏靶点。

**2.2 透明质酸** 透明质酸(hyaluronic acid, HA)是一种非硫酸化糖胺聚糖, 组织中HA在生理状态下受到合成和降解动态平衡的调节<sup>[9]</sup>。HA在PDAC基质成分中含量最高, HA高表达是PDAC患者的独立预后因素, 并在

GEM抵抗中发挥关键作用<sup>[26]</sup>。高吸水特性的HA累积导致肿瘤中的间质液压力(interstitial fluid pressure, IFP)显著增加, 后者限制了对流, 从而降低了灌注血管的溶质通量, 并最终导致肿瘤的低灌注, 这是GEM抵抗的流体力学机制<sup>[27]</sup>。除此之外, HA与CD44等细胞表面受体结合, 通过酪氨酸激酶受体诱导的重要信号通路介导化疗抵抗, 下调CD44可逆转GEM耐药<sup>[28]</sup>。另外, HA-CD44轴亦可通过增加肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)标记分子Nanog的磷酸化, 促进多药耐药蛋白1(multidrug resistance protein 1, MDR1)的上调, 增加GEM外排, 或通过 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)的Wnt信号通路诱导EMT, 介导GEM耐药<sup>[29,30]</sup>。因此, 靶向HA-CD44信号轴可能是有希望的GEM增敏策略。对此, 一项最新的研究设计了一种靶向CD44的新型纳米GEM载药脂质体, 并在体外实验中证实了疗效<sup>[31]</sup>。PEGPH20是一种新型聚乙二醇重组透明质酸酶, 能够有效清除基质HA, 且在PDAC动物模型中可有效增敏GEM<sup>[32]</sup>。目前, PEGPH20联合GEM治疗晚期PDAC的部分临床试验(NCT01839487, NCT02715804)已获得积极的结果<sup>[33,34]</sup>。遗憾的是, 最近一项有关转移性PDAC的III期临床试验(HALO 109-301)则提示, PEGPH20联合GEM并未显示额外的优势, 且毒副作用明显增加<sup>[35]</sup>。值得一提的是, 最近两项研究表明, 动态增强(dynamic contrast-enhanced, DCE)-MRI可用于识别肿瘤微血管的灌注变化<sup>[36]</sup>, SPECT/CT可用于识别新型荧光分子标记的HA-CD44肿瘤细胞<sup>[37]</sup>, 这便为PDAC靶向HA治疗反应评价提供了可能。

**2.3 层粘连蛋白** 层粘连蛋白(laminin, LN)是肿瘤ECM组成蛋白中的另一关键成分, 其与整联蛋白结合组成PDAC细胞黏附分子, 并与不良预后显著相关<sup>[38]</sup>。PDAC细胞与LN的粘附以及随后信号通路的激活参与了GEM抵抗。局灶性粘附激酶(focal adhesion kinase, FAK)是ECM向细胞传递信号的关键细胞内分子, LN通过诱导FAK/Akt磷酸化, 促进生存蛋白(survivin)的表达, 抵抗GEM诱导的细胞毒性和凋亡<sup>[39]</sup>。另外, 一项最近的异种移植模型研究显示, PDAC细胞分泌的组织转谷氨酰胺酶2(transglutaminase 2, TG2)可刺激间质肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)分泌LN-1, 进而增加GEM抵抗, 下调TG2则可逆转这一趋势<sup>[40]</sup>。除了诱导LN分泌构成基质物理屏障之外, TG2也可通过激活细胞内FAK/PI3K/Akt和NF- $\kappa$ B促生存通路参与GEM抵抗<sup>[41]</sup>。因此, TG2/LN/FAK可能是GEM增敏的潜在靶点, 但由于缺少特异性抑制剂, 目前相关的研究仍十分有限。

**2.4 纤连蛋白** 纤连蛋白(fibronectin, FN)也是ECM的主要组成成分之一, 可与PDAC细胞表面的黏附受体整联蛋白结合, 参与细胞内外的信号传递, 并在GEM抵抗中



发挥重要作用<sup>[42]</sup>。FN除了与其他基质蛋白一样参与形成基质物理屏障之外, 还可通过诱导ERK1/2磷酸化抵抗GEM诱导的细胞凋亡, 介导GEM耐药。体外抑制ERK则可恢复GEM的敏感性<sup>[43]</sup>。因此, 靶向FN/ERK有望成为PDAC克服GEM耐药的潜在策略。

**2.5 细胞因子和趋化因子** 细胞因子和趋化因子是PDAC细胞与ECM之间的调节介质, 同样在GEM抵抗中发挥关键作用。其中, 结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)可介导间质纤维形成并在PDAC中过表达<sup>[44]</sup>。CTGF还可通过诱导细胞凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)磷酸化, 直接抑制caspase-3/7/9介导的凋亡小体形成, 参与GEM抵抗<sup>[45]</sup>。体外和异种模型研究表明, 靶向抑制CTGF(FG-3019)或XIAP(AZD5582)可通过诱导PDAC凋亡进一步逆转GEM耐药<sup>[45,46]</sup>。因此, CTGF/XIAP轴是抗GEM耐药的潜在靶点。目前, 靶向阻断CTGF的单克隆抗体(pamrevlumab)联合GEM治疗局部晚期PDAC的新辅助方案正在进行临床试验(NCT02210559), 初步结果显示联合方案可增加R0切除率且耐受性良好<sup>[47]</sup>。此外, 转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )也在PDAC中过表达, 其通过经典的TGF- $\beta$ /ALK5/Smad2/3信号通路诱导CYR61表达, 后者负调控核糖转运蛋白hENT1和hCNT3, 增加吉西他滨的细胞摄取。最新的多项研究证实, PDAC中TGF- $\beta$ 信号的激活或CYR61的上调促进了GEM耐药, 靶向抑制TGF- $\beta$ /CYR61则可实现GEM增敏<sup>[48-50]</sup>。另外, TGF- $\beta$ 还通过调控VAV1基因甲基化来促进EMT并介导GEM耐药, 靶向抑制TGF- $\beta$ /VAV1轴则可显著增强GEM的疗效<sup>[51]</sup>。因此, 靶向TGF- $\beta$ /CYR61/VAV1也是GEM增敏的潜在策略。

众所周知, 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)和血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)通路在癌症的发生发展中具有关键作用, 其表达与不良预后密切相关<sup>[52]</sup>。其中, EGFR是生长因子受体酪氨酸激酶ErbB的家族成员, 可在40%-60%的PDAC中表达。临床前研究显示, GEM可通过激活HAb18G(CD147)/EGFR/STAT3促生存信号通路, 诱导PDAC对GEM获得性耐药<sup>[53,54]</sup>。靶向抑制HAb18G(CD147)或EGFR/STAT3信号则可逆转GEM抗性<sup>[54,55]</sup>。因此, HAb18G(CD147)/EGFR/STAT3轴是克服GEM耐药的潜在靶点。遗憾的是, EGFR-酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs)联合GEM较GEM单药治疗可切除或晚期PDAC的临床试验均未显示无病生存期(disease-free survival, DFS)或OS的改善<sup>[56-58]</sup>。VEGFR-TKIs联合GEM的III期临床试验(NCT00471146)也宣告失败<sup>[59]</sup>。TKIs诱导的细胞快速反

馈代偿机制可能是试验失败的原因之一<sup>[60]</sup>。

此外, 胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)与其受体IGF-1R的结合可激活PI3K/Akt/mTOR、MEK/ERK通路, 促进PDAC增殖并诱导GEM耐药<sup>[61]</sup>。靶向抑制IGF-1R可增强GEM在PDAC异种移植物的抗肿瘤效果<sup>[62]</sup>。目前, 人源IGF-1R单克隆抗体已经在几种癌症中应用, 但针对转移性PDAC联合GEM治疗的III期临床试验(NCT01231347)并未取得成功<sup>[63]</sup>。令人振奋的是, 最近一项针对进展期PDAC的I/II期临床试验(NCT00769483)显示, IGF-1R抑制剂联合GEM+EGFR-TKIs较GEM+EGFR-TKIs可显著改善OS<sup>[64]</sup>。另外, 血小板衍生生长因子-D(platelet-derived growth factor-D, PDGF-D)是诱导PDAC间质纤维化和IFP递增并参与GEM耐药的关键因子, 这一过程可能是通过PI3K/Akt、mTOR、NF- $\kappa$ B、ERK、MAPK、Notch通路触发EMT实现的<sup>[65]</sup>。虽然PDGFR抑制剂联合GEM在临床前研究中可显示疗效<sup>[66]</sup>, 但遗憾的是, 最近完成的临床试验均宣告失败<sup>[67-69]</sup>。

除了细胞因子之外, 趋化因子配体(CXC ligand, CXCL)与其受体(CXC chemokine receptor, CXCR)结合通过PDAC间质细胞的旁分泌和癌细胞自分泌信号传导参与GEM抵抗, 其中一个关键的轴心是CXCL12/CXCR4<sup>[70]</sup>。CXCR4是细胞表面G蛋白偶联受体家族成员, 其在PDAC中高表达且与不良预后密切相关<sup>[71]</sup>。CXCL12/CXCR4轴可激活FAK、ERK和Akt促生存通路, 增强 $\beta$ -catenin和NF- $\kappa$ B的转录活性, 促进Survivin的表达, 诱导GEM耐药<sup>[72]</sup>。临床前研究显示, CXCR4拮抗剂可显著增强GEM的疗效<sup>[72-74]</sup>。近年来, 不断有新的CXCR通路被揭示, 并且相关通路的体外抑制亦显示了类似的效果<sup>[75,76]</sup>。可以预见, 靶向CXCR将是未来GEM增敏研究的热点之一。

### 3 GEM与间质细胞

间质细胞是TME的重要成员(图1), 其通过直接细胞间接触和细胞旁分泌(ECM蛋白)途径与PDAC细胞相互作用, 共同参与GEM耐药。

**3.1 胰腺星状细胞和CAFs** 胰腺星状细胞(pancreatic stellate cells, PSCs)是PDAC中最重要间质细胞成分之一, 其可被TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、IL-1、IL-2、IL-10和PDGF激活从静止的表型转变成CAFs, 后者通过分泌ECM蛋白构建纤维化间质和乏氧的TME, 促进GEM耐药<sup>[77,78]</sup>。PSCs除了参与构建GEM耐药的物理屏障之外, 还可通过与PDAC细胞直接接触和旁分泌细胞因子途径诱导GEM抗性。体外共培养研究证实, PSCs可通过增加PDAC细胞Hes1(Notch信号通路组成部分)的表达激活



Notch信号通路, 后者通过增强EMT和CSCs表型诱导GEM耐药。当抑制Hes1基因表达或Notch通路时, PSCs诱导的化疗耐药被有效地逆转<sup>[79]</sup>。因此, 靶向Hes1/Notch信号通路可能是逆转GEM耐药的策略之一。体外三维(three-dimensional, 3D)共培养研究显示, PSCs可通过分泌肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)与PDAC细胞受体酪氨酸激酶c-Met结合并诱导其磷酸化, 后者通过PI3K/Akt/mTOR促生存通路的激活诱导GEM抗性<sup>[80]</sup>。临床前c-Met靶向抑制剂联合GEM可显著增强其疗效<sup>[80,81]</sup>, I期临床试验(NCT00874042)亦证实两者联合应用有良好的安全性和耐受性<sup>[82]</sup>。因此, 靶向抑制HGF/c-Met通路将是有可能的GEM增敏策略。此外, PSCs分泌的骨膜蛋白(Periostin)赋予GEM抵抗力, 沉默其表达可逆转GEM抗性, 这一过程可能与GEM诱导凋亡的抑制有关<sup>[83]</sup>。最近一项研究显示, PSCs可通过分泌脱氧胞苷(deoxycytidine, dC)保护PDAC免受GEM的毒性, 但具体机制仍不清楚, 可能与GEM细胞内代谢的脱氧胞苷激酶(deoxycytidine kinase, dCK)竞争作用有关<sup>[84]</sup>。因此, Periostin或基质dC也可能是GEM增敏的潜在靶点。在PDAC中, CAFs主要来源于PSCs的活化, 少部分由静止的成纤维细胞、间充质干细胞或肿瘤细胞EMT衍生而来<sup>[85]</sup>。以 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)、成纤维细胞活化蛋白(fibroblast activation protein, FAP)和成纤维细胞特异性蛋白1(fibroblast specific protein 1, FSP1)表达为特征表型的活化CAF对GEM天然耐药, 并可通过多种机制诱导获得性耐药<sup>[86]</sup>。遗憾的是, 转基因小鼠模型研究显示, 靶向耗竭 $\alpha$ -SMA表型的CAF并未增加GEM对PDAC的疗效, 但却上调了细胞毒性T淋巴细胞相关抗原-4(cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4, CTLA-4)的表达, 且靶向CTLA-4的抗体疗法可提高整体生存率<sup>[87]</sup>。有趣的是, 最近的一项研究亦显示, 预先GEM处理可促进程序性细胞死亡蛋白-1(programmed death-1, PD-1)的表达, 并随后对联合PD-1免疫疗法敏感<sup>[88]</sup>。因此, GEM可能通过重塑PDAC的TME增加了免疫靶点的表达, 联合免疫疗法可能是GEM耐药二线治疗的潜在策略。尽管在临床前模型中, 靶向抑制FAP可提高化疗疗效<sup>[89]</sup>, 但较早的一项II期临床试验却显示, FAP抑制剂与GEM联合对转移性PDAC的疗效改善仍十分有限<sup>[90]</sup>。此外, Hedgehog(HH)信号通路及其配体之一Sonic Hedgehog(SHH)是CAF活化的有效调节因子, 参与PDAC的增殖和损伤修复, 但其在诱导GEM耐药中的作用仍存有争议<sup>[24]</sup>。尽管临床前研究显示, 小分子抑制剂阻断SHH通路可提高GEM敏感性<sup>[91,92]</sup>, 但随后与GEM联合治疗晚期PDAC的II期临床试验却均告失败<sup>[93,94]</sup>。另外, 基因组分析表明, 白

细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)等炎症介质在耐GEM的CAF中过表达且耐药性与IL-6水平呈正相关<sup>[95]</sup>, 这提示CAF诱导的GEM抗性可能有促炎症通路的参与<sup>[96]</sup>。有趣的是, 一项表征CAF的3D共培养研究揭示了在PDAC中两种 $\alpha$ -SMA、IL-6表达程度高低不同且作用相反的CAF亚型存在, 该研究强调了间质CAF的异质性<sup>[97]</sup>, 这也可能是上述临床试验失败的原因之一<sup>[86]</sup>。最近一项研究显示, 耐GEM的CAF细胞外囊泡即外泌体(exosomes)的释放显著增加, 这些外泌体通过激活间充质转录因子Snail, 促进EMT并最终诱导GEM抗性<sup>[98]</sup>。其中, 外泌体中的miRNA-106b可能在这一过程中起重要作用<sup>[99]</sup>。用外泌体释放抑制剂或miRNA-106b抑制剂处理耐GEM的CAF显著降低了共培养的PDAC细胞存活率<sup>[98,99]</sup>, 这表明外泌体可能是克服GEM耐药的潜在靶点。

**3.2 CSCs** CSCs是PDAC中一类具有干细胞特征的特殊细胞群, 维持肿瘤的形成和生长。CSCs在GEM耐药中的作用逐渐引发关注, 但确切的细胞和分子机制尚未完全阐明<sup>[100]</sup>。体外研究显示, CSCs可通过EMT表型转化逃避GEM细胞毒性作用<sup>[101]</sup>。HOX转录反义RNA(HOX transcript antisense RNA, HOTAIR)是一类由GEM诱导CSCs产生的长非编码RNA(long non-coding RNAs, lncRNA), 其可通过促进增殖和抑制凋亡, 诱导GEM抗性<sup>[102]</sup>。最近一项研究亦显示, CSCs可上调非编码微小RNA(microRNA, miRNA)中的miR-210表达并增加外泌体miR-210的释放, 进一步通过PI3K/Akt/mTOR促生存通路活化, 促进PDAC细胞的GEM抵抗<sup>[103]</sup>。因此, 靶向CSCs及相关非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)有望成为新的GEM增敏策略。

## 4 免疫细胞

炎症细胞浸润和免疫抑制是PDAC的特征之一<sup>[104]</sup>, 参与的免疫细胞包括肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)、肿瘤相关嗜中性粒细胞(tumor-associated neutrophils, TANs)、骨髓来源抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)、肿瘤浸润T淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TILs)和血小板(platelets, PLTs)(图1)。PDAC中的免疫细胞并非GEM耐药的孤立观察者, 而是这一过程的重要参与者。

**4.1 TAMs** 消除凋亡细胞是TAMs最重要的功能之一, M2型极化的TAMs可通过激活转录因子STAT3直接增强CSCs的肿瘤起始能力<sup>[105]</sup>, 并通过下调caspase-3通路活化抑制GEM诱导的细胞凋亡<sup>[106]</sup>, 促进GEM抵抗。体外试验显示, 靶向抑制集落刺激因子-1受体(colony stimulating factor-1 receptor, CSF-1R)或趋化因子(CC基

表 1 PDAC细胞外GEM耐药的潜在靶点和机制

潜在靶点	耐药机制	临床试验	文献
Hypoxia/HIF-1 $\alpha$	诱导EMT; 增加Glycolysis, 提高dCTP水平; 活化Akt/Notch1通路, 诱导CSCs表型	NCT01746979	[11-15]
CA9/Acidosis	增加Glycolysis, 改变细胞内、外PH; 诱导EMT		[17,18]
MT1-MMP/HMGA2/HATs	基质物理屏障; 增加H3K9、H3K27乙酰化, 修复受损DNA		[8,21-24]
TIMP1	活化PI3K/Akt促生存通路		[25]
HA/CD44	增加IFP; 上调MDR1表达; 诱导EMT	NCT01839487; NCT02715804; HALO109-301	[27-35]
TG2/LN/FAK	基质物理屏障; 活化PI3K/Akt、NF- $\kappa$ B促生存通路		[39-41]
FN/ERK	基质物理屏障; 活化ERK通路, 抑制Apoptosis		[43]
CTGF/XIAP	抑制Caspase-3/7/9介导的凋亡小体形成	NCT02210559	[45-47]
TGF- $\beta$ /CYR61/AV1	TGF- $\beta$ /ALK5/Smad2/3通路活化, 下调 hENT1、hCNT3表达; 诱导EMT		[48-51]
HAb18G/EGFR/STAT3	活化EGFR/STAT3促生存通路	CONKO005; ISRCTN96397434; NCT00471146	[53-59]
IGF-1R	活化PI3K/Akt/mTOR、MEK/ERK促生存通路	NCT00769483; NCT01231347	[61-64]
PDGFR	增加IFP; 活化PI3K/Akt、mTOR、NF- $\kappa$ B、ERK、MAPK、Notch通路诱导EMT	BAYPAN	[65-69]
CXCL12/CXCR4	活化FAK、ERK、Akt促生存通路, 上调Survivin的表达		[72-74]
Hes1/Notch	基质物理屏障; 活化Notch通路, 诱导 EMT和CSCs表型		[77-79]
HGF/c-Met	活化PI3K/Akt/mTOR促生存通路	NCT00874042	[80-82]
Periostin	抑制Apoptosis		[83]
dC	细胞内dCK竞争作用		[84]
$\alpha$ -SMA-CAFs	增加Hypoxia; 诱导EMT和CSCs表型; 基质物理屏障		[86,87]
FAP-CAFs	重塑ECM, 基质物理屏障		[89,90]
SHH	活化HH促生存通路	NCT01064622; NCT01088815	[91-94]
IL-6	活化促炎症通路		[95,96]
Exosome	激活Snail, 诱导EMT		[98,99]
CSCs/ncRNA	诱导EMT; 抑制Apoptosis; 活化PI3K/Akt/mTOR促生存通路		[101-103]
TAMs/STAT3	活化STAT3, 诱导 CSCs表型; 抑制Apoptosis; 上调CDA表达; M2型极化		[105-112]
GM-CSF	活化MAPK、NF- $\kappa$ B促生存通路, 促MDSCs的分化	ISRCTN4382138	[120,122]
PD-1/L1, CTLA-4	抑制CTLs毒性作用		[126,127]
HEATR1/Nrf2	负性调控Akt促生存通路, 活化效应CTLs; 负性调控下游抗氧化和细胞保护基因转录		[128,129]
ADP-P2Y12	上调Slug、ZEB1的表达; 诱导EMT; 下调hENT1、CDA的表达; 活化EGFR通路	NCT02404363	[133-135]

Hypoxia: 低氧; HIF-1 $\alpha$ : 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ ; EMT: 上皮-间充质转化; Glycolysis: 糖酵解; dCTP: 三磷酸脱氧胞苷; CSCs: 肿瘤干细胞; CA9: 碳酸酐酶-9; Acidosis: 酸中毒; MT1-MMP: 膜型1-基质金属蛋白酶; HMGA2: 高迁移率族蛋白A2; HATs: 组蛋白乙酰转移酶; TIMP1: 基质金属蛋白酶1组织抑制剂; HA: 透明质酸; IFP: 间质液压力; MDR1: 多药耐药蛋白1; TG2: 组织转谷氨酰胺酶2; LN: 层粘连蛋白; FAK: 局灶性粘附激酶; FN: 纤连蛋白; ERK: 细胞外信号调节激酶; Apoptosis: 细胞凋亡; CTGF: 结缔组织生长因子; XIAP: 细胞凋亡抑制蛋白; TGF- $\beta$ : 转化生长因子- $\beta$ ; CYR61: 富半胱氨酸蛋白61; VAV1: VAV1基因; hENT1: 平衡核苷转运体1; hCNT3: 浓缩核苷转运体3; HAb18G: 即CD147, 一类免疫球蛋白超家族黏附分子; EGFR: 表皮生长因子受体; STAT3: 信号传导与转录激活因子3; IGF-1R: 胰岛素样生长因子-1受体; PDGFR: 血小板衍生生长因子受体; CXCL12: 趋化因子配体12; CXCR4: 趋化因子受体4; Hes1: Notch信号通路组成蛋白; HGF: 肝细胞生长因子; c-Met: 一类受体酪氨酸激酶; Periostin: 骨膜蛋白; dC: 脱氧胞苷; dCK: 脱氧胞苷激酶;  $\alpha$ -SMA:  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白; CAFs: 肿瘤相关成纤维细胞; FAP: 成纤维细胞活化蛋白; ECM: 细胞外基质; HH: Hedgehog通路; SHH: Hedgehog通路配体之一; IL-6: 白细胞介素-6; Exosome: 外泌体; ncRNA: 非编码RNA; TAMs: 肿瘤相关巨噬细胞; CDA: 胞苷脱氨酶; GM-CSF: 粒细胞巨噬细胞集落刺激因子; MDSCs: 骨髓来源抑制细胞; PD-1/L1: 程序性细胞死亡蛋白-1/配体; CTLA-4: 细胞毒性T淋巴细胞相关抗原-4; CTLs: 细胞毒性T淋巴细胞; HEATR1: HEAT重复序列的蛋白1; Nrf2: 核因子E2相关因子2; ADP: 二磷酸腺苷; P2Y12: 一类以ADP为配体的G蛋白偶联受体。

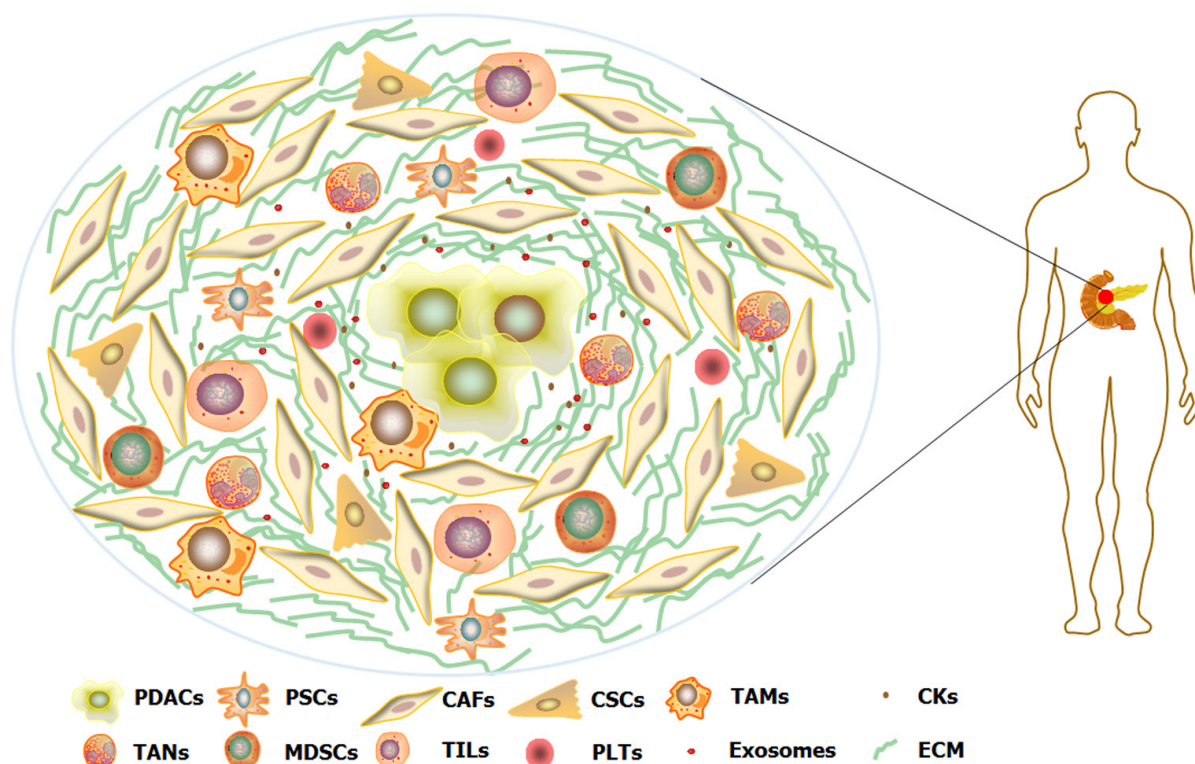


图 1 PDAC细胞与细胞外TME各组分的关系。PDACs: 胰腺导管腺癌细胞; PSCs: 胰腺星状细胞; CAFs: 肿瘤相关成纤维细胞; CSCs: 肿瘤干细胞; TAMs: 肿瘤相关巨噬细胞; CKs: 细胞因子/趋化因子; TANs: 肿瘤相关嗜中性粒细胞; MDSCs: 骨髓来源抑制细胞; TILs: 肿瘤浸润T淋巴细胞; PLTs: 血小板; Exosomes: 外泌体; ECM: 细胞外基质。

序)受体2(C-C motif chemokine receptor 2, CCR2)可选择性清除TAMs, 进一步提高GEM的疗效<sup>[105,106]</sup>。此外, 活化的STAT3还可通过上调胞苷脱氨酶(cytidine deaminase, CDA; 一种可将GEM由活性形式代谢为非活性的酶)的表达和基质重塑促进GEM耐药<sup>[106,107]</sup>。动物模型研究显示, 联合STAT3靶向抑制剂可明显提高GEM的疗效<sup>[107]</sup>。因此, 靶向TAMs/STAT3可能是有潜力的GEM增敏策略<sup>[108,109]</sup>。值得关注的是, TAMs具有高度可塑性, 既可以极化成致瘤且对化疗耐药的M2型, 也可以极化成抗癌且对化疗敏感的M1型<sup>[110]</sup>。因此, TAMs定向转化将是除TAMs耗竭之外另一重要的GEM增敏路径<sup>[111,112]</sup>。

4.2 TANs与MDSCs TANs是炎症和免疫状态的关键调节剂, 在PDAC的发生发展中起重要作用<sup>[113]</sup>。同TAMs类似, TANs亦可由TME中不同的趋化因子诱导极化成抗癌(N1)或促瘤(N2)表型<sup>[114]</sup>。尽管TANs的数量和比例是包括PDAC在内的实体肿瘤公认的预后生物标志物<sup>[115]</sup>, 但TANs与GEM耐药的关系目前仍知之甚少。尽管如此, TANs的可塑性研究已逐渐成为热点领域之一<sup>[116]</sup>, 并可能成为GEM增敏的潜在靶点。MDSCs是源自骨髓祖细胞的异质免疫细胞群, 以粒细胞样MDSCs(granulocytic myeloid de-rived suppressor cells, G-MDSCs)亚型在肿瘤中分布最为广泛<sup>[117]</sup>, 其可通过抑制T细胞免疫和促进血

管生成加速肿瘤进展<sup>[118]</sup>。因此, MDSCs又被称为抑制T细胞的嗜中性粒细胞。同样, 循环中的MDSCs水平已证实与PDAC的不良预后密切相关<sup>[119]</sup>。一项最近的体外研究显示, GEM通过诱导MAPK信号通路的活化和NF- $\kappa$ B启动子活性, 进一步增加与KRAS突变相关的主要细胞因子-粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)的释放, 进而增强PDAC中MDSCs的分化并促进其耐药。用抗体靶向中和GM-CSF可以有效降低MDSCs的比例, 并有助于T细胞功能的恢复, 逆转GEM耐药<sup>[120]</sup>。但值得注意的是, GM-CSF还可通过刺激树突状细胞来诱导或激活抗肿瘤T细胞免疫, 并基于这一原理设计了GM-CSF基因转染的胰腺肿瘤疫苗(GVAX)<sup>[121]</sup>, 这表明GM-CSF在PDAC的TME中可能发挥双向的作用。这或许是一项针对GM-CSF+端粒酶疫苗GV1001联合/不联合GEM治疗晚期PDAC的III期临床试验(ISRCTN4382138)失败的原因之一<sup>[122]</sup>。遗憾的是, 由于缺乏特异性的表型标志, 目前还无法有效的区分TANs和MDSCs, 因此相关研究之间的可比性和可靠性尚待进一步确认<sup>[116,117]</sup>。

4.3 TILs TILs包含细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTLs)、辅助T细胞(helper T cell, Th)、调节T细胞(regulatory T cells, Tregs)等多种亚型, 是参与抗



肿瘤免疫和调控免疫检查点的关键介质。其中, PD-1和CTLA-4是TILs备受关注的抑制性免疫检查点受体, 可负性调控其抗肿瘤免疫<sup>[123]</sup>。研究证实, CTLs的高浸润水平与PDAC良好预后呈正相关<sup>[124]</sup>, 这也是目前免疫检查点靶向阻断治疗的理论基础。遗憾的是, 目前针对PD-1/L1和CTLA-4免疫检查点的单一抑制剂疗法均未显示对PDAC有效<sup>[125]</sup>。一项新的异种模型研究表明, GEM可通过诱导T细胞免疫增加对PD-1和CTLA-4抑制剂的敏感性, GEM联合免疫检查点抑制剂可提高PDAC的生存率<sup>[126]</sup>, 但实际疗效仍需临床试验进一步验证<sup>[127]</sup>。此外, HEAT重复序列的蛋白1(HEAT repeat-containing protein 1, HEATR1)可负性调控Akt信号通路诱导效应CTLs发挥抗肿瘤免疫效应, 但其在PDAC中普遍下调且与GEM耐药密切相关<sup>[128]</sup>。一项最新的研究显示, HEATR1下调还能通过激活核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid-2-related factor 2, Nrf2)信号传导, 后者进一步促进其下游抗氧化和细胞保护性基因的转录, 最终导致GEM耐药<sup>[128,129]</sup>。因此, HEATR1/Nrf2可能是GEM化疗增敏的潜在靶点。

**4.4 PLTs 血液高凝和静脉血栓栓塞(venous thromboembolism, VTE)风险是PDAC的特征之一, 这提示PDAC发生发展与PLTs密切相关<sup>[130]</sup>。PDAC细胞可以诱导PLTs活化和聚集, PDGF有助于肿瘤进展和GEM耐药<sup>[131-134]</sup>。对具有缺氧特征TME的PDAC, 二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)是重要的PLT激动剂。最近, 靶向PLT的ADP-P2Y<sub>12</sub>受体逐渐引发了研究人员的兴趣<sup>[135]</sup>。P2Y<sub>12</sub>属于嘌呤能P2(purinergic receptor P2)G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs), ADP与P2Y<sub>12</sub>受体结合可激活PLT, 进一步上调EMT相关转录因子Slug、ZEB1的表达, 并下调GEM转运蛋白hENT1和GEM代谢酶CDA的表达, 诱导GEM耐药<sup>[133,134]</sup>。临床前研究证实, ADP-P2Y<sub>12</sub>轴抑制剂(ticagrelor)联合GEM治疗PDAC有明显的协同作用, 但单一使用则未显示疗效<sup>[134]</sup>。最近, 一项氯吡格雷(P2Y<sub>12</sub>抑制剂)联合GEM治疗PDAC的临床试验(NCT02404363)正在进行, 结果令人期待。此外, 由于P2Y<sub>12</sub>-EGFR的信号串扰, 抑制P2Y<sub>12</sub>信号还可显著增强抗EGFR治疗的疗效<sup>[134]</sup>, 但具体机制尚不明确, 这提示P2Y<sub>12</sub>抑制剂+GEM联合EGFR-TKIs可能是治疗PDAC的潜在策略。**

## 5 结论

随着研究的不断深入, 以结缔组织广泛增生为特征的PDAC细胞外TME在GEM耐药中的关键作用逐渐被揭示(表1)。但遗憾的是, 针对TME相关分子途径的靶向治疗并未取得令人满意的结果, 甚至基质的物理屏障作用

也受到质疑<sup>[136]</sup>。其中, 关键的原因包括: PDAC自身及所属TME的异质性; TME成分可能的双向作用; 缺乏有效的选择性抑制剂, 以及替代代偿途径的快速上调。此外, 目前多数的研究证据均来自体外试验模型, PDAC细胞与TME间复杂生物学行为仍不能在临床前模型中完全重现, 这一原因同样不可忽视<sup>[137]</sup>。因此, 要提高GEM化疗有效率, 改善PDAC的总体预后, 上述原因都将是未来迫切解决的关键问题。值得关注的是, GEM对TME重塑作用的深入研究也有望指导多靶点的联合治疗, 最终可能改变未来PDAC的治疗格局。

## 6 参考文献

- Zeng H, Chen W, Zheng R, Zhang S, Ji JS, Zou X, Xia C, Sun K, Yang Z, Li H, Wang N, Han R, Liu S, Li H, Mu H, He Y, Xu Y, Fu Z, Zhou Y, Jiang J, Yang Y, Chen J, Wei K, Fan D, Wang J, Fu F, Zhao D, Song G, Chen J, Jiang C, Zhou X, Gu X, Jin F, Li Q, Li Y, Wu T, Yan C, Dong J, Hua Z, Baade P, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Changing cancer survival in China during 2003-15: a pooled analysis of 17 population-based cancer registries. *Lancet Glob Health* 2018; 6: e555-e567 [PMID: 29653628 DOI: 10.1016/S2214-109X(18)30127-X]
- Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, Shroff RT. Pancreatic cancer. *Lancet* 2020; 395: 2008-2020 [PMID: 32593337 DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30974-0]
- Conroy T, Hammel P, Hebbar M, Ben Abdelghani M, Wei AC, Raoul JL, Choné L, Francois E, Artru P, Biagi JJ, Lecomte T, Assenat E, Faroux R, Ychou M, Volet J, Sauvanet A, Breysacher G, Di Fiore F, Cripps C, Kavan P, Texereau P, Bouhier-Leporrier K, Khemissa-Akouz F, Legoux JL, Juzyna B, Gourgou S, O'Callaghan CJ, Jouffroy-Zeller C, Rat P, Malka D, Castan F, Bachet JB; Canadian Cancer Trials Group and the Unicancer-GI-PRODIGE Group. FOLFIRINOX or Gemcitabine as Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer. *N Engl J Med* 2018; 379: 2395-2406 [PMID: 30575490 DOI: 10.1056/NEJMoa1809775]
- Saif MW, Lee Y, Kim R. Harnessing gemcitabine metabolism: a step towards personalized medicine for pancreatic cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2012; 4: 341-346 [PMID: 23118809 DOI: 10.1177/1758834012453755]
- Von Hoff DD, Ervin T, Arena FP, Chiorean EG, Infante J, Moore M, Seay T, Tjulandin SA, Ma WW, Saleh MN, Harris M, Reni M, Dowden S, Laheru D, Bahary N, Ramanathan RK, Taberner J, Hidalgo M, Goldstein D, Van Cutsem E, Wei X, Iglesias J, Renschler MF. Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *N Engl J Med* 2013; 369: 1691-1703 [PMID: 24131140 DOI: 10.1056/NEJMoa1304369]
- Apte MV, Park S, Phillips PA, Santucci N, Goldstein D, Kumar RK, Ramm GA, Buchler M, Friess H, McCarroll JA, Keogh G, Merrett N, Pirola R, Wilson JS. Desmoplastic reaction in pancreatic cancer: role of pancreatic stellate cells. *Pancreas* 2004; 29: 179-187 [PMID: 15367883 DOI: 10.1097/00006676-200410000-00002]
- Neesse A, Algül H, Tuveson DA, Gress TM. Stromal biology and therapy in pancreatic cancer: a changing paradigm. *Gut* 2015; 64: 1476-1484 [PMID: 25994217 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-309304]
- Neesse A, Bauer CA, Öhlund D, Lauth M, Buchholz M, Michl P, Tuveson DA, Gress TM. Stromal biology and therapy in pancreatic cancer: ready for clinical translation? *Gut* 2019; 68: 159-171 [PMID: 30177543 DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316451]
- Liang C, Shi S, Meng Q, Liang D, Ji S, Zhang B, Qin Y, Xu J, Ni Q,

- Yu X. Complex roles of the stroma in the intrinsic resistance to gemcitabine in pancreatic cancer: where we are and where we are going. *Exp Mol Med* 2017; 49: e406 [PMID: 29611542 DOI: 10.1038/emmm.2017.255]
- 10 Lohse I, Lourenco C, Ibrahimov E, Pintilie M, Tsao MS, Hedley DW. Assessment of hypoxia in the stroma of patient-derived pancreatic tumor xenografts. *Cancers (Basel)* 2014; 6: 459-471 [PMID: 24577243 DOI: 10.3390/cancers6010459]
  - 11 Wang R, Cheng L, Xia J, Wang Z, Wu Q, Wang Z. Gemcitabine resistance is associated with epithelial-mesenchymal transition and induction of HIF-1 $\alpha$  in pancreatic cancer cells. *Curr Cancer Drug Targets* 2014; 14: 407-417 [PMID: 24575976 DOI: 10.2174/1568009614666140226114015]
  - 12 Shukla SK, Purohit V, Mehla K, Gunda V, Chaika NV, Vernucci E, King RJ, Abrego J, Goode GD, Dasgupta A, Illies AL, Gebregiorgis T, Dai B, Augustine JJ, Murthy D, Attri KS, Mashadova O, Grandgenett PM, Powers R, Ly QP, Lazenby AJ, Grem JL, Yu F, Matés JM, Asara JM, Kim JW, Hankins JH, Weekes C, Hollingsworth MA, Serkova NJ, Sasson AR, Fleming JB, Oliveto JM, Lyssiotis CA, Cantley LC, Berim L, Singh PK. MUC1 and HIF-1 $\alpha$  Signaling Crosstalk Induces Anabolic Glucose Metabolism to Impart Gemcitabine Resistance to Pancreatic Cancer. *Cancer Cell* 2017; 32: 71-87.e7 [PMID: 28697344 DOI: 10.1016/j.ccell.2017.06.004]
  - 13 Hou XF, Li S, Wu C, Li K, Xu SN, Wang JF. Effects of obatoclax combined with gemcitabine on the biological activity of pancreatic cancer cells under hypoxic conditions. *Mol Med Rep* 2018; 18: 495-501 [PMID: 29749486 DOI: 10.3892/mmr.2018.8932]
  - 14 Zhang Z, Han H, Rong Y, Zhu K, Zhu Z, Tang Z, Xiong C, Tao J. Hypoxia potentiates gemcitabine-induced stemness in pancreatic cancer cells through AKT/Notch1 signaling. *J Exp Clin Cancer Res* 2018; 37: 291 [PMID: 30486896 DOI: 10.1186/s13046-018-0972-3]
  - 15 Cutsem EV, Lenz HJ, Furuse J, Tabernero J, Heinemann V, Ioka T, Bazin I, Ueno M, Csösz T, Wasan H, Melichar B, Karasek P, Macarulla TM, Guillen C, Kalinka-Warchoła E, Horvath Z, Prenen H, Schlichting M, Ibrahim A, Bendell JC. MAESTRO: A randomized, double-blind phase III study of evofosfamide (Evo) in combination with gemcitabine (Gem) in previously untreated patients (pts) with metastatic or locally advanced unresectable pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). *J Clin Oncol* 2016; 34(15 suppl): 4007-4007 [DOI: 10.1200/JCO.2016.34.15\_suppl.4007]
  - 16 Corbet C, Feron O. Tumour acidosis: from the passenger to the driver's seat. *Nat Rev Cancer* 2017; 17: 577-593 [PMID: 28912578 DOI: 10.1038/nrc.2017.77]
  - 17 McDonald PC, Chafe SC, Brown WS, Saberi S, Swayampakula M, Venkateswaran G, Nemirovsky O, Gillespie JA, Karasinska JM, Kalloger SE, Supuran CT, Schaeffer DF, Bashashati A, Shah SP, Topham JT, Yapp DT, Li J, Renouf DJ, Stanger BZ, Dedhar S. Regulation of pH by Carbonic Anhydrase 9 Mediates Survival of Pancreatic Cancer Cells With Activated KRAS in Response to Hypoxia. *Gastroenterology* 2019; 157: 823-837 [PMID: 31078621 DOI: 10.1053/j.gastro.2019.05.004]
  - 18 Riemann A, Rauschner M, Gießelmann M, Reime S, Haupt V, Thews O. Extracellular Acidosis Modulates the Expression of Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) Markers and Adhesion of Epithelial and Tumor Cells. *Neoplasia* 2019; 21: 450-458 [PMID: 30953950 DOI: 10.1016/j.neo.2019.03.004]
  - 19 Qin C, Yang G, Yang J, Ren B, Wang H, Chen G, Zhao F, You L, Wang W, Zhao Y. Metabolism of pancreatic cancer: paving the way to better anticancer strategies. *Mol Cancer* 2020; 19: 50 [PMID: 32122374 DOI: 10.1186/s12943-020-01169-7]
  - 20 Makareeva E, Han S, Vera JC, Sackett DL, Holmbeck K, Phillips CL, Visse R, Nagase H, Leikin S. Carcinomas contain a matrix metalloproteinase-resistant isoform of type I collagen exerting selective support to invasion. *Cancer Res* 2010; 70: 4366-4374 [PMID: 20460529 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4057]
  - 21 Dangi-Garimella S, Krantz SB, Barron MR, Shields MA, Heiferman MJ, Grippo PJ, Bentrem DJ, Munshi HG. Three-dimensional collagen I promotes gemcitabine resistance in pancreatic cancer through MT1-MMP-mediated expression of HMGA2. *Cancer Res* 2011; 71: 1019-1028 [PMID: 21148071 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1855]
  - 22 Summer H, Li O, Bao Q, Zhan L, Peter S, Sathiyathan P, Henderson D, Klonisch T, Goodman SD, Dröge P. HMGA2 exhibits dRP/AP site cleavage activity and protects cancer cells from DNA-damage-induced cytotoxicity during chemotherapy. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: 4371-4384 [PMID: 19465398 DOI: 10.1093/nar/gkp375]
  - 23 Dangi-Garimella S, Sahai V, Ebine K, Kumar K, Munshi HG. Three-dimensional collagen I promotes gemcitabine resistance in vitro in pancreatic cancer cells through HMGA2-dependent histone acetyltransferase expression. *PLoS One* 2013; 8: e64566 [PMID: 23696899 DOI: 10.1371/journal.pone.0064566]
  - 24 Ho WJ, Jaffee EM, Zheng L. The tumour microenvironment in pancreatic cancer - clinical challenges and opportunities. *Nat Rev Clin Oncol* 2020; 17: 527-540 [PMID: 32398706 DOI: 10.1038/s41571-020-0363-5]
  - 25 D'Costa Z, Jones K, Azad A, van Stiphout R, Lim SY, Gomes AL, Kinchesh P, Smart SC, Gillies McKenna W, Buffa FM, Sansom OJ, Muschel RJ, O'Neill E, Fokas E. Gemcitabine-Induced TIMP1 Attenuates Therapy Response and Promotes Tumor Growth and Liver Metastasis in Pancreatic Cancer. *Cancer Res* 2017; 77: 5952-5962 [PMID: 28765154 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2833]
  - 26 Nakazawa H, Yoshihara S, Kudo D, Morohashi H, Kakizaki I, Kon A, Takagaki K, Sasaki M. 4-methylumbelliferone, a hyaluronan synthase suppressor, enhances the anticancer activity of gemcitabine in human pancreatic cancer cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006; 57: 165-170 [PMID: 16341905 DOI: 10.1007/s00280-005-0016-5]
  - 27 Provenzano PP, Hingorani SR. Hyaluronan, fluid pressure, and stromal resistance in pancreas cancer. *Br J Cancer* 2013; 108: 1-8 [PMID: 23299539 DOI: 10.1038/bjc.2012.569]
  - 28 Zhao S, Chen C, Chang K, Karnad A, Jagirdar J, Kumar AP, Freeman JW. CD44 Expression Level and Isoform Contributes to Pancreatic Cancer Cell Plasticity, Invasiveness, and Response to Therapy. *Clin Cancer Res* 2016; 22: 5592-5604 [PMID: 27267855 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-3115]
  - 29 Hong SP, Wen J, Bang S, Park S, Song SY. CD44-positive cells are responsible for gemcitabine resistance in pancreatic cancer cells. *Int J Cancer* 2009; 125: 2323-2331 [PMID: 19598259 DOI: 10.1002/ijc.24573]
  - 30 Skandalis SS, Karalis TT, Chatzopoulos A, Karamanos NK. Hyaluronan-CD44 axis orchestrates cancer stem cell functions. *Cell Signal* 2019; 63: 109377 [PMID: 31362044 DOI: 10.1016/j.cellsig.2019.109377]
  - 31 Serri C, Quagliarriello V, Iaffaioli RV, Fusco S, Botti G, Mayol L, Biondi M. Combination therapy for the treatment of pancreatic cancer through hyaluronic acid-decorated nanoparticles loaded with quercetin and gemcitabine: A preliminary in vitro study. *J Cell Physiol* 2019; 234: 4959-4969 [PMID: 30334571 DOI: 10.1002/jcp.27297]
  - 32 Wong KM, Horton KJ, Coveler AL, Hingorani SR, Harris WP. Targeting the Tumor Stroma: the Biology and Clinical Development of Pegylated Recombinant Human Hyaluronidase (PEGPH20). *Curr Oncol Rep* 2017; 19: 47 [PMID: 28589527 DOI: 10.1007/s11912-017-0608-3]
  - 33 Thompson B, Lee J, Clift R, Taverna D, Garrovillo S, Blouw B, Kang D, Thompson C, Maneval D. PO-262 Remodelling of

- the tumour microenvironment by pegvorhyaluronidase alfa (PEGPH20): a novel, first-in-class biologic that enzymatically degrades tumour hyaluronan (HA) to improve anti-tumour efficacy. *ESMO Open* 2018; 3(Suppl 2): A329-A330 [DOI: 10.1136/esmoopen-2018-EACR25.777]
- 34 Hingorani SR, Zheng L, Bullock AJ, Seery TE, Harris WP, Sigal DS, Braiteh F, Ritch PS, Zalupski MM, Bahary N, Oberstein PE, Wang-Gillam A, Wu W, Chondros D, Jiang P, Khelifa S, Pu J, Aldrich C, Hendifar AE. HALO 202: Randomized Phase II Study of PEGPH20 Plus Nab-Paclitaxel/Gemcitabine Versus Nab-Paclitaxel/Gemcitabine in Patients With Untreated, Metastatic Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2018; 36: 359-366 [PMID: 29232172 DOI: 10.1200/JCO.2017.74.9564]
- 35 Van Cutsem E, Tempero MA, Sigal D, Oh DY, Fazio N, Macarulla T, Hitre E, Hammel P, Hendifar AE, Bates SE, Li CP, Hingorani SR, de la Fouchardiere C, Kasi A, Heinemann V, Maraveyas A, Bahary N, Layos L, Sahai V, Zheng L, Lacy J, Park JO, Portales F, Oberstein P, Wu W, Chondros D, Bullock AJ; HALO 109-301 Investigators. Randomized Phase III Trial of Pegvorhyaluronidase Alfa With Nab-Paclitaxel Plus Gemcitabine for Patients With Hyaluronan-High Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2020; 38: 3185-3194 [PMID: 32706635 DOI: 10.1200/JCO.20.00590]
- 36 Cao J, Pickup S, Clendenin C, Blouw B, Choi H, Kang D, Rosen M, O'Dwyer PJ, Zhou R. Dynamic Contrast-enhanced MRI Detects Responses to Stroma-directed Therapy in Mouse Models of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2019; 25: 2314-2322 [PMID: 30587546 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-2276]
- 37 Dubey RD, Klippstein R, Wang JT, Hodgins N, Mei KC, Sosabowski J, Hider RC, Abbate V, Gupta PN, Al-Jamal KT. Novel Hyaluronic Acid Conjugates for Dual Nuclear Imaging and Therapy in CD44-Expressing Tumors in Mice In Vivo. *Nanotheranostics* 2017; 1: 59-79 [PMID: 29071179 DOI: 10.7150/ntno.17896]
- 38 Takahashi S, Hasebe T, Oda T, Sasaki S, Kinoshita T, Konishi M, Ochiai T, Ochiai A. Cytoplasmic expression of laminin gamma2 chain correlates with postoperative hepatic metastasis and poor prognosis in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer* 2002; 94: 1894-1901 [PMID: 11920553 DOI: 10.1002/cncr.10395]
- 39 Huanwen W, Zhiyong L, Xiaohua S, Xinyu R, Kai W, Tonghua L. Intrinsic chemoresistance to gemcitabine is associated with constitutive and laminin-induced phosphorylation of FAK in pancreatic cancer cell lines. *Mol Cancer* 2009; 8: 125 [PMID: 20021699 DOI: 10.1186/1476-4598-8-125]
- 40 Lee J, Yakubov B, Ivan C, Jones DR, Caperell-Grant A, Fishel M, Cardenas H, Matei D. Tissue Transglutaminase Activates Cancer-Associated Fibroblasts and Contributes to Gemcitabine Resistance in Pancreatic Cancer. *Neoplasia* 2016; 18: 689-698 [PMID: 27792935 DOI: 10.1016/j.neo.2016.09.003]
- 41 Verma A, Mehta K. Tissue transglutaminase-mediated chemoresistance in cancer cells. *Drug Resist Updat* 2007; 10: 144-151 [PMID: 17662645 DOI: 10.1016/j.drug.2007.06.002]
- 42 Topalovski M, Brekken RA. Matrix control of pancreatic cancer: New insights into fibronectin signaling. *Cancer Lett* 2016; 381: 252-258 [PMID: 26742464 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.12.027]
- 43 Amrutkar M, Aasrum M, Verbeke CS, Gladhaug IP. Secretion of fibronectin by human pancreatic stellate cells promotes chemoresistance to gemcitabine in pancreatic cancer cells. *BMC Cancer* 2019; 19: 596 [PMID: 31208372 DOI: 10.1186/s12885-019-5803-1]
- 44 Wenger C, Ellenrieder V, Alber B, Lacher U, Menke A, Hameister H, Wilda M, Iwamura T, Beger HG, Adler G, Gress TM. Expression and differential regulation of connective tissue growth factor in pancreatic cancer cells. *Oncogene* 1999; 18: 1073-1080 [PMID: 10023684 DOI: 10.1038/sj.onc.1202395]
- 45 Neesee A, Frese KK, Bapiro TE, Nakagawa T, Sternlicht MD, Seeley TW, Pilarsky C, Jodrell DI, Spong SM, Tuveson DA. CTGF antagonism with mAb FG-3019 enhances chemotherapy response without increasing drug delivery in murine ductal pancreas cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110: 12325-12330 [PMID: 23836645 DOI: 10.1073/pnas.1300415110]
- 46 Moon JH, Shin JS, Hong SW, Jung SA, Hwang IY, Kim JH, Choi EK, Ha SH, Kim JS, Kim KM, Hong DW, Kim D, Kim YS, Kim JE, Kim KP, Hong YS, Choi EK, Lee JS, Hattersley M, Jin DH, Kim TW. A novel small-molecule IAP antagonist, AZD5582, draws Mcl-1 down-regulation for induction of apoptosis through targeting of cIAP1 and XIAP in human pancreatic cancer. *Oncotarget* 2015; 6: 26895-26908 [PMID: 26314849 DOI: 10.18632/oncotarget.4822]
- 47 Picozzi V, Alseidi A, Winter J, Pishvaian M, Mody K, Glaspy J, Larson T, Matrana M, Carney M, Porter S, Kouchakji E, Rocha F, Carrier E. Gemcitabine/nab-paclitaxel with pamrevlumab: a novel drug combination and trial design for the treatment of locally advanced pancreatic cancer. *ESMO Open* 2020; 5 [PMID: 32817130 DOI: 10.1200/JCO.2017.35.4\_suppl.365]
- 48 Hesler RA, Huang JJ, Starr MD, Treboschi VM, Bernanke AG, Nixon AB, McCall SJ, White RR, Blobe GC. TGF- $\beta$ -induced stromal CYR61 promotes resistance to gemcitabine in pancreatic ductal adenocarcinoma through downregulation of the nucleoside transporters hENT1 and hCNT3. *Carcinogenesis* 2016; 37: 1041-1051 [PMID: 27604902 DOI: 10.1093/carcin/bgw093]
- 49 Xian G, Zhao J, Qin C, Zhang Z, Lin Y, Su Z. Simvastatin attenuates macrophage-mediated gemcitabine resistance of pancreatic ductal adenocarcinoma by regulating the TGF- $\beta$ 1/Gli-1 axis. *Cancer Lett* 2017; 385: 65-74 [PMID: 27840243 DOI: 10.1016/j.canlet.2016.11.006]
- 50 Pei Y, Chen L, Huang Y, Wang J, Feng J, Xu M, Chen Y, Song Q, Jiang G, Gu X, Zhang Q, Gao X, Chen J. Sequential Targeting TGF- $\beta$  Signaling and KRAS Mutation Increases Therapeutic Efficacy in Pancreatic Cancer. *Small* 2019; 15: e1900631 [PMID: 31033217 DOI: 10.1002/smll.201900631]
- 51 Huang PH, Lu PJ, Ding LY, Chu PC, Hsu WY, Chen CS, Tsao CC, Chen BH, Lee CT, Shan YS, Chen CS. TGF $\beta$  promotes mesenchymal phenotype of pancreatic cancer cells, in part, through epigenetic activation of VAV1. *Oncogene* 2017; 36: 2202-2214 [PMID: 27893715 DOI: 10.1038/nc.2016.378]
- 52 Tortora G, Ciardiello F, Gasparini G. Combined targeting of EGFR-dependent and VEGF-dependent pathways: rationale, preclinical studies and clinical applications. *Nat Clin Pract Oncol* 2008; 5: 521-530 [PMID: 18594498 DOI: 10.1038/ncponc1161]
- 53 Dosch AR, Dai X, Reyzer ML, Mehra S, Srinivasan S, Willabee BA, Kwon D, Kashikar N, Caprioli R, Merchant NB, Nagathihalli NS. Combined Src/EGFR Inhibition Targets STAT3 Signaling and Induces Stromal Remodeling to Improve Survival in Pancreatic Cancer. *Mol Cancer Res* 2020; 18: 623-631 [PMID: 31949002 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-19-0741]
- 54 Xu BQ, Fu ZG, Meng Y, Wu XQ, Wu B, Xu L, Jiang JL, Li L, Chen ZN. Gemcitabine enhances cell invasion via activating HAb18G/CD147-EGFR-pSTAT3 signaling. *Oncotarget* 2016; 7: 62177-62193 [PMID: 27556697 DOI: 10.18632/oncotarget.11405]
- 55 Venkatasubbarao K, Peterson L, Zhao S, Hill P, Cao L, Zhou Q, Nawrocki ST, Freeman JW. Inhibiting signal transducer and activator of transcription-3 increases response to gemcitabine and delays progression of pancreatic cancer. *Mol Cancer* 2013; 12: 104 [PMID: 24025152 DOI: 10.1186/1476-4598-12-104]
- 56 Sinn M, Bahra M, Liersch T, Gellert K, Messmann H, Bechstein W, Waldschmidt D, Jacobasch L, Wilhelm M, Rau BM, Grützmann R, Weinmann A, Maschmeyer G, Pelzer U, Stieler



- JM, Striefler JK, Ghadimi M, Bischoff S, Dörken B, Oettle H, Riess H. CONKO-005: Adjuvant Chemotherapy With Gemcitabine Plus Erlotinib Versus Gemcitabine Alone in Patients After R0 Resection of Pancreatic Cancer: A Multicenter Randomized Phase III Trial. *J Clin Oncol* 2017; 35: 3330-3337 [PMID: 28817370 DOI: 10.1200/JCO.2017.72.6463]
- 57 Evans TRJ, Van Cutsem E, Moore MJ, Bazin IS, Rosemurgy A, Bodoky G, Deplanque G, Harrison M, Melichar B, Pezet D, Elekes A, Rock E, Lin C, Strauss L, O'Dwyer PJ. Phase 2 placebo-controlled, double-blind trial of dasatinib added to gemcitabine for patients with locally-advanced pancreatic cancer. *Ann Oncol* 2017; 28: 354-361 [PMID: 27998964 DOI: 10.1093/annonc/mdw607]
- 58 Middleton G, Palmer DH, Greenhalf W, Ghaneh P, Jackson R, Cox T, Evans A, Shaw VE, Wadsley J, Valle JW, Propper D, Wasan H, Falk S, Cunningham D, Coxon F, Ross P, Madhusudan S, Wadd N, Corrie P, Hickish T, Costello E, Campbell F, Rawcliffe C, Neoptolemos JP. Vandetanib plus gemcitabine versus placebo plus gemcitabine in locally advanced or metastatic pancreatic carcinoma (ViP): a prospective, randomised, double-blind, multicentre phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2017; 18: 486-499 [PMID: 28259610 DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30084-0]
- 59 Kindler HL, Ioka T, Richel DJ, Bennouna J, Létourneau R, Okusaka T, Funakoshi A, Furuse J, Park YS, Ohkawa S, Springett GM, Wasan HS, Trask PC, Bycott P, Ricart AD, Kim S, Van Cutsem E. Axitinib plus gemcitabine versus placebo plus gemcitabine in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma: a double-blind randomised phase 3 study. *Lancet Oncol* 2011; 12: 256-262 [PMID: 21306953 DOI: 10.1016/S1470-2045(11)70004-3]
- 60 Lakkakula BVKS, Farran B, Lakkakula S, Peela S, Yarla NS, Bramhachari PV, Kamal MA, Saddala MS, Nagaraju GP. Small molecule tyrosine kinase inhibitors and pancreatic cancer-Trials and troubles. *Semin Cancer Biol* 2019; 56: 149-167 [PMID: 30314681 DOI: 10.1016/j.semcancer.2018.09.011]
- 61 Steelman LS, Chappell WH, Abrams SL, Kempf RC, Long J, Laidler P, Mijatovic S, Maksimovic-Ivanic D, Stivala F, Mazzarino MC, Donia M, Fagone P, Malaponte G, Nicoletti F, Libra M, Milella M, Tafuri A, Bonati A, Bäsecke J, Cocco L, Evangelisti C, Martelli AM, Montalto G, Cervello M, McCubrey JA. Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging. *Aging (Albany NY)* 2011; 3: 192-222 [PMID: 21422497 DOI: 10.18632/aging.100296]
- 62 Camblin AJ, Pace EA, Adams S, Curley MD, Rimkunas V, Nie L, Tan G, Bloom T, Iadevaia S, Baum J, Minx C, Czibere A, Louis CU, Drummond DC, Nielsen UB, Schoeberl B, Pipas JM, Straubinger RM, Askoxylakis V, Lugovskoy AA. Dual Inhibition of IGF-1R and ErbB3 Enhances the Activity of Gemcitabine and Nab-Paclitaxel in Preclinical Models of Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res* 2018; 24: 2873-2885 [PMID: 29549161 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2262]
- 63 Fuchs CS, Azevedo S, Okusaka T, Van Laethem JL, Lipton LR, Riess H, Szczylik C, Moore MJ, Peeters M, Bodoky G, Ikeda M, Melichar B, Nemecek R, Ohkawa S, Świeboda-Sadlej A, Tjulandin SA, Van Cutsem E, Loberg R, Haddad V, Gansert JL, Bach BA, Carrato A. A phase 3 randomized, double-blind, placebo-controlled trial of ganitumab or placebo in combination with gemcitabine as first-line therapy for metastatic adenocarcinoma of the pancreas: the GAMMA trial. *Ann Oncol* 2015; 26: 921-927 [PMID: 25609246 DOI: 10.1093/annonc/mdv027]
- 64 Abdel-Wahab R, Varadhachary GR, Bhosale PR, Wang X, Fogelman DR, Shroff RT, Overman MJ, Wolff RA, Javle M. Randomized, phase I/II study of gemcitabine plus IGF-1R antagonist (MK-0646) versus gemcitabine plus erlotinib with and without MK-0646 for advanced pancreatic adenocarcinoma. *J Hemtol Oncol* 2018; 11: 71 [PMID: 29843755 DOI: 10.1186/s13045-018-0616-2]
- 65 Wu Q, Hou X, Xia J, Qian X, Miele L, Sarkar FH, Wang Z. Emerging roles of PDGF-D in EMT progression during tumorigenesis. *Cancer Treat Rev* 2013; 39: 640-646 [PMID: 23261166 DOI: 10.1016/j.ctrv.2012.11.006]
- 66 Kozono S, Ohuchida K, Eguchi D, Ikenaga N, Fujiwara K, Cui L, Mizumoto K, Tanaka M. Pirfenidone inhibits pancreatic cancer desmoplasia by regulating stellate cells. *Cancer Res* 2013; 73: 2345-2356 [PMID: 23348422 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3180]
- 67 Gonçalves A, Gilibert M, François E, Dahan L, Perrier H, Lamy R, Re D, Largillier R, Gasmi M, Tchiknavorian X, Esterni B, Genre D, Moureau-Zabotto L, Giovannini M, Seitz JF, Delpero JR, Turrini O, Viens P, Raoul JL. BAYPAN study: a double-blind phase III randomized trial comparing gemcitabine plus sorafenib and gemcitabine plus placebo in patients with advanced pancreatic cancer. *Ann Oncol* 2012; 23: 2799-2805 [PMID: 22771827 DOI: 10.1093/annonc/mds135]
- 68 Moss RA, Moore D, Mulcahy MF, Nahum K, Saraiya B, Eddy S, Kleber M, Poplin EA. A Multi-institutional Phase 2 Study of Imatinib Mesylate and Gemcitabine for First-Line Treatment of Advanced Pancreatic Cancer. *Gastrointest Cancer Res* 2012; 5: 77-83 [PMID: 22888387]
- 69 Kindler HL, Wroblewski K, Wallace JA, Hall MJ, Locker G, Nattam S, Agamah E, Stadler WM, Vokes EE. Gemcitabine plus sorafenib in patients with advanced pancreatic cancer: a phase II trial of the University of Chicago Phase II Consortium. *Invest New Drugs* 2012; 30: 382-386 [PMID: 20803052 DOI: 10.1007/s10637-010-9526-z]
- 70 Sleightholm RL, Neilsen BK, Li J, Steele MM, Singh RK, Hollingsworth MA, Oupicky D. Emerging roles of the CXCL12/CXCR4 axis in pancreatic cancer progression and therapy. *Pharmacol Ther* 2017; 179: 158-170 [PMID: 28549596 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.05.012]
- 71 Maréchal R, Demetter P, Nagy N, Berton A, Decaestecker C, Polus M, Closset J, Devière J, Salmon I, Van Laethem JL. High expression of CXCR4 may predict poor survival in resected pancreatic adenocarcinoma. *Br J Cancer* 2009; 100: 1444-1451 [PMID: 19352387 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605020]
- 72 Singh S, Srivastava SK, Bhardwaj A, Owen LB, Singh AP. CXCL12-CXCR4 signalling axis confers gemcitabine resistance to pancreatic cancer cells: a novel target for therapy. *Br J Cancer* 2010; 103: 1671-1679 [PMID: 21045835 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605968]
- 73 Morimoto M, Matsuo Y, Koide S, Tsuboi K, Shamoto T, Sato T, Saito K, Takahashi H, Takeyama H. Enhancement of the CXCL12/CXCR4 axis due to acquisition of gemcitabine resistance in pancreatic cancer: effect of CXCR4 antagonists. *BMC Cancer* 2016; 16: 305 [PMID: 27175473 DOI: 10.1186/s12885-016-2340-z]
- 74 Costa MJ, Kudaravalli J, Ma JT, Ho WH, Delaria K, Holz C, Stauffer A, Chunyk AG, Zong Q, Blasi E, Buetow B, Tran TT, Lindquist K, Dorywalska M, Rajpal A, Shelton DL, Strop P, Liu SH. Optimal design, anti-tumour efficacy and tolerability of anti-CXCR4 antibody drug conjugates. *Sci Rep* 2019; 9: 2443 [PMID: 30792442 DOI: 10.1038/s41598-019-38745-x]
- 75 Lee S, Heinrich EL, Li L, Lu J, Choi AH, Levy RA, Wagner JE, Yip ML, Vaidehi N, Kim J. CCR9-mediated signaling through  $\beta$ -catenin and identification of a novel CCR9 antagonist. *Mol Oncol* 2015; 9: 1599-1611 [PMID: 26003048 DOI: 10.1016/j.molonc.2015.04.012]
- 76 Timaner M, Letko-Khait N, Kotsofruk R, Benguigui M, Beyar-Katz O, Rachman-Tzemah C, Raviv Z, Bronshtein T, Machluf

- M, Shaked Y. Therapy-Educated Mesenchymal Stem Cells Enrich for Tumor-Initiating Cells. *Cancer Res* 2018; 78: 1253-1265 [PMID: 29301792 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1547]
- 77 Nielsen MF, Mortensen MB, Detlefsen S. Key players in pancreatic cancer-stroma interaction: Cancer-associated fibroblasts, endothelial and inflammatory cells. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 2678-2700 [PMID: 26973408 DOI: 10.3748/wjg.v22.i9.2678]
- 78 Liu SL, Cao SG, Li Y, Sun B, Chen D, Wang DS, Zhou YB. Pancreatic stellate cells facilitate pancreatic cancer cell viability and invasion. *Oncol Lett* 2019; 17: 2057-2062 [PMID: 30675272 DOI: 10.3892/ol.2018.9816]
- 79 Cao F, Li J, Sun H, Liu S, Cui Y, Li F. HES 1 is essential for chemoresistance induced by stellate cells and is associated with poor prognosis in pancreatic cancer. *Oncol Rep* 2015; 33: 1883-1889 [PMID: 25672829 DOI: 10.3892/or.2015.3789]
- 80 Firuzi O, Che PP, El Hassouni B, Buijs M, Coppola S, Löhr M, Funel N, Heuchel R, Carnevale I, Schmidt T, Mantini G, Avan A, Saso L, Peters GJ, Giovannetti E. Role of c-MET Inhibitors in Overcoming Drug Resistance in Spheroid Models of Primary Human Pancreatic Cancer and Stellate Cells. *Cancers (Basel)* 2019; 11 [PMID: 31072019 DOI: 10.3390/cancers11050638]
- 81 Xu Z, Pang TCY, Liu AC, Pothula SP, Mekapogu AR, Perera CJ, Murakami T, Goldstein D, Pirola RC, Wilson JS, Apte MV. Targeting the HGF/c-MET pathway in advanced pancreatic cancer: a key element of treatment that limits primary tumour growth and eliminates metastasis. *Br J Cancer* 2020; 122: 1486-1495 [PMID: 32203220 DOI: 10.1038/s41416-020-0782-1]
- 82 Pant S, Saleh M, Bendell J, Infante JR, Jones S, Kurkjian CD, Moore KM, Kazakin J, Abbadessa G, Wang Y, Chen Y, Schwartz B, Camacho LH. A phase I dose escalation study of oral c-MET inhibitor tivantinib (ARQ 197) in combination with gemcitabine in patients with solid tumors. *Ann Oncol* 2014; 25: 1416-1421 [PMID: 24737778 DOI: 10.1093/annonc/mdu157]
- 83 Liu Y, Li F, Gao F, Xing L, Qin P, Liang X, Zhang J, Qiao X, Lin L, Zhao Q, Du L. Perioestin promotes the chemotherapy resistance to gemcitabine in pancreatic cancer. *Tumour Biol* 2016; 37: 15283-15291 [PMID: 27696296 DOI: 10.1007/s13277-016-5321-6]
- 84 Dalin S, Sullivan MR, Lau AN, Grauman-Boss B, Mueller HS, Kreidl E, Fenoglio S, Luengo A, Lees JA, Vander Heiden MG, Lauffenburger DA, Hemann MT. Deoxycytidine Release from Pancreatic Stellate Cells Promotes Gemcitabine Resistance. *Cancer Res* 2019; 79: 5723-5733 [PMID: 31484670 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-0960]
- 85 Nair N, Calle AS, Zahra MH, Prieto-Vila M, Oo AKK, Hurley L, Vaidyanath A, Seno A, Masuda J, Iwasaki Y, Tanaka H, Kasai T, Seno M. A cancer stem cell model as the point of origin of cancer-associated fibroblasts in tumor microenvironment. *Sci Rep* 2017; 7: 6838 [PMID: 28754894 DOI: 10.1038/s41598-017-07144-5]
- 86 Huang H, Brekken RA. Recent advances in understanding cancer-associated fibroblasts in pancreatic cancer. *Am J Physiol Cell Physiol* 2020; 319: C233-C243 [PMID: 32432930 DOI: 10.1152/ajpcell.00079.2020]
- 87 Özdemir BC, Pentcheva-Hoang T, Carstens JL, Zheng X, Wu CC, Simpson TR, Laklai H, Sugimoto H, Kahlert C, Novitskiy SV, De Jesus-Acosta A, Sharma P, Heidari P, Mahmood U, Chin L, Moses HL, Weaver VM, Maitra A, Allison JP, LeBleu VS, Kalluri R. Depletion of Carcinoma-Associated Fibroblasts and Fibrosis Induces Immunosuppression and Accelerates Pancreas Cancer with Reduced Survival. *Cancer Cell* 2015; 28: 831-833 [PMID: 28843279 DOI: 10.1016/j.ccell.2015.11.002]
- 88 Principe DR, Narbutis M, Kumar S, Park A, Viswakarma N, Dorman MJ, Kamath SD, Grippo PJ, Fishel ML, Hwang RF, Thummuri D, Underwood PW, Munshi HG, Trevino JG, Rana A. Long-Term Gemcitabine Treatment Reshapes the Pancreatic Tumor Microenvironment and Sensitizes Murine Carcinoma to Combination Immunotherapy. *Cancer Res* 2020; 80: 3101-3115 [PMID: 32238357 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-2959]
- 89 Li M, Li M, Yin T, Shi H, Wen Y, Zhang B, Chen M, Xu G, Ren K, Wei Y. Targeting of cancer-associated fibroblasts enhances the efficacy of cancer chemotherapy by regulating the tumor microenvironment. *Mol Med Rep* 2016; 13: 2476-2484 [PMID: 26846566 DOI: 10.3892/mmr.2016.4868]
- 90 Nugent FW, Cunningham C, Barve MA, Fisher W, Patel H, Meiri E, Oza YV, Yang Z, Jurkowski EC, Uprichard MJ. Phase 2 study of talabostat/gemcitabine in Stage IV pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 4616-4616 [DOI: 10.1200/jco.2007.25.18\_suppl.4616]
- 91 Chun SG, Zhou W, Yee NS. Combined targeting of histone deacetylases and hedgehog signaling enhances cytotoxicity in pancreatic cancer. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 1328-1339 [PMID: 19421011 DOI: 10.4161/cbt.8.14.8633]
- 92 Khan MA, Srivastava SK, Zubair H, Patel GK, Arora S, Khushman M, Carter JE, Gorman GS, Singh S, Singh AP. Co-targeting of CXCR4 and hedgehog pathways disrupts tumor-stromal crosstalk and improves chemotherapeutic efficacy in pancreatic cancer. *J Biol Chem* 2020; 295: 8413-8424 [PMID: 32358063 DOI: 10.1074/jbc.RA119.011748]
- 93 Catenacci DV, Junttila MR, Karrison T, Bahary N, Horiba MN, Nattam SR, Marsh R, Wallace J, Kozloff M, Rajdev L, Cohen D, Wade J, Sleckman B, Lenz HJ, Stiff P, Kumar P, Xu P, Henderson L, Takebe N, Salgia R, Wang X, Stadler WM, de Sauvage FJ, Kindler HL. Randomized Phase Ib/II Study of Gemcitabine Plus Placebo or Vismodegib, a Hedgehog Pathway Inhibitor, in Patients With Metastatic Pancreatic Cancer. *J Clin Oncol* 2015; 33: 4284-4292 [PMID: 26527777 DOI: 10.1200/JCO.2015.62.8719]
- 94 De Jesus-Acosta A, Sugar EA, O'Dwyer PJ, Ramanathan RK, Von Hoff DD, Rasheed Z, Zheng L, Begum A, Anders R, Maitra A, McAllister F, Rajeshkumar NV, Yabuuchi S, de Wilde RF, Batukbhai B, Sahin I, Laheru DA. Phase 2 study of vismodegib, a hedgehog inhibitor, combined with gemcitabine and nab-paclitaxel in patients with untreated metastatic pancreatic adenocarcinoma. *Br J Cancer* 2020; 122: 498-505 [PMID: 31857726 DOI: 10.1038/s41416-019-0683-3]
- 95 Neumann CCM, von Hörschelmann E, Reutzel-Selke A, Seidel E, Sauer IM, Pratschke J, Bahra M, Schmuck RB. Tumor-stromal cross-talk modulating the therapeutic response in pancreatic cancer. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2018; 17: 461-472 [PMID: 30243879 DOI: 10.1016/j.hbpd.2018.09.004]
- 96 Toste PA, Nguyen AH, Kadera BE, Duong M, Wu N, Gawlas I, Tran LM, Bikhchandani M, Li L, Patel SG, Dawson DW, Donahue TR. Chemotherapy-Induced Inflammatory Gene Signature and Protumorigenic Phenotype in Pancreatic CAFs via Stress-Associated MAPK. *Mol Cancer Res* 2016; 14: 437-447 [PMID: 26979711 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-15-0348]
- 97 Öhlund D, Handly-Santana A, Biffi G, Elyada E, Almeida AS, Ponz-Sarvise M, Corbo V, Oni TE, Hearn SA, Lee EJ, Chio II, Hwang CI, Tiriac H, Baker LA, Engle DD, Feig C, Kultti A, Egeblad M, Fearon DT, Crawford JM, Clevers H, Park Y, Tuveson DA. Distinct populations of inflammatory fibroblasts and myofibroblasts in pancreatic cancer. *J Exp Med* 2017; 214: 579-596 [PMID: 28232471 DOI: 10.1084/jem.20162024]
- 98 Richards KE, Zeleniak AE, Fishel ML, Wu J, Littlepage LE, Hill R. Cancer-associated fibroblast exosomes regulate survival and proliferation of pancreatic cancer cells. *Oncogene* 2017; 36: 1770-1778 [PMID: 27669441 DOI: 10.1038/ncr.2016.353]
- 99 Fang Y, Zhou W, Rong Y, Kuang T, Xu X, Wu W, Wang D, Lou W. Exosomal miRNA-106b from cancer-associated fibroblast promotes gemcitabine resistance in pancreatic cancer. *Exp Cell Res* 2019; 383: 111543 [PMID: 31374207 DOI: 10.1016/

- j.yexcr.2019.111543]
- 100 Gzil A, Zarębska I, Bursiewicz W, Antosik P, Grzanka D, Szyłberg Ł. Markers of pancreatic cancer stem cells and their clinical and therapeutic implications. *Mol Biol Rep* 2019; 46: 6629-6645 [PMID: 31486978 DOI: 10.1007/s11033-019-05058-1]
  - 101 Yin T, Wei H, Gou S, Shi P, Yang Z, Zhao G, Wang C. Cancer stem-like cells enriched in Panc-1 spheres possess increased migration ability and resistance to gemcitabine. *Int J Mol Sci* 2011; 12: 1595-1604 [PMID: 21673909 DOI: 10.3390/ijms12031595]
  - 102 Wang L, Dong P, Wang W, Huang M, Tian B. Gemcitabine treatment causes resistance and malignancy of pancreatic cancer stem-like cells via induction of lncRNA HOTAIR. *Exp Ther Med* 2017; 14: 4773-4780 [PMID: 29201179 DOI: 10.3892/etm.2017.5151]
  - 103 Yang Z, Zhao N, Cui J, Wu H, Xiong J, Peng T. Exosomes derived from cancer stem cells of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells enhance drug resistance by delivering miR-210. *Cell Oncol (Dordr)* 2020; 43: 123-136 [PMID: 31713003 DOI: 10.1007/s13402-019-00476-6]
  - 104 Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010; 140: 883-899 [PMID: 20303878 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.025]
  - 105 Mitchem JB, Brennan DJ, Knolhoff BL, Belt BA, Zhu Y, Sanford DE, Belaygorod L, Carpenter D, Collins L, Piwnica-Worms D, Hewitt S, Udupi GM, Gallagher WM, Wegner C, West BL, Wang-Gillam A, Goedegebuure P, Linehan DC, DeNardo DG. Targeting tumor-infiltrating macrophages decreases tumor-initiating cells, relieves immunosuppression, and improves chemotherapeutic responses. *Cancer Res* 2013; 73: 1128-1141 [PMID: 23221383 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2731]
  - 106 Weizman N, Krelm Y, Shabtay-Orbach A, Amit M, Binenbaum Y, Wong RJ, Gil Z. Macrophages mediate gemcitabine resistance of pancreatic adenocarcinoma by upregulating cytidine deaminase. *Oncogene* 2014; 33: 3812-3819 [PMID: 23995783 DOI: 10.1038/onc.2013.357]
  - 107 Nagathihalli NS, Castellanos JA, Shi C, Beesetty Y, Reyzer ML, Caprioli R, Chen X, Walsh AJ, Skala MC, Moses HL, Merchant NB. Signal Transducer and Activator of Transcription 3, Mediated Remodeling of the Tumor Microenvironment Results in Enhanced Tumor Drug Delivery in a Mouse Model of Pancreatic Cancer. *Gastroenterology* 2015; 149: 1932-1943.e9 [PMID: 26255562 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.07.058]
  - 108 Beltraminelli T, De Palma M. Biology and therapeutic targeting of tumour-associated macrophages. *J Pathol* 2020; 250: 573-592 [PMID: 32086811 DOI: 10.1002/path.5403]
  - 109 Zou S, Tong Q, Liu B, Huang W, Tian Y, Fu X. Targeting STAT3 in Cancer Immunotherapy. *Mol Cancer* 2020; 19: 145 [PMID: 32972405 DOI: 10.1186/s12943-020-01258-7]
  - 110 Ireland L, Santos A, Ahmed MS, Rainer C, Nielsen SR, Quaranta V, Weyer-Czernilofsky U, Engle DD, Perez-Mancera PA, Coupland SE, Taktak A, Bogenrieder T, Tuveson DA, Campbell F, Schmid MC, Mielgo A. Chemoresistance in Pancreatic Cancer Is Driven by Stroma-Derived Insulin-Like Growth Factors. *Cancer Res* 2016; 76: 6851-6863 [PMID: 27742686 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1201]
  - 111 Bulle A, Dekervel J, Deschuttere L, Nittner D, Libbrecht L, Janky R, Plaisance S, Topal B, Coosemans A, Lambrechts D, Van Cutsem E, Verslype C, van Pelt J. Gemcitabine Recruits M2-Type Tumor-Associated Macrophages into the Stroma of Pancreatic Cancer. *Transl Oncol* 2020; 13: 100743 [PMID: 32145636 DOI: 10.1016/j.tranon.2020.01.004]
  - 112 Yao L, Wang M, Niu Z, Liu Q, Gao X, Zhou L, Liao Q, Zhao Y. Interleukin-27 inhibits malignant behaviors of pancreatic cancer cells by targeting M2 polarized tumor associated macrophages. *Cytokine* 2017; 89: 194-200 [PMID: 26868086 DOI: 10.1016/j.cyto.2015.12.003]
  - 113 Lianyuan T, Gang L, Ming T, Dianrong X, Chunhui Y, Zhaolai M, Bin J. Tumor associated neutrophils promote the metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Biol Ther* 2020; 21: 937-945 [PMID: 32835587 DOI: 10.1080/15384047.2020.1807250]
  - 114 Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, Worthen GS, Albelda SM. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN. *Cancer Cell* 2009; 16: 183-194 [PMID: 19732719 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.06.017]
  - 115 Shen M, Hu P, Donskov F, Wang G, Liu Q, Du J. Tumor-associated neutrophils as a new prognostic factor in cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014; 9: e98259 [PMID: 24906014 DOI: 10.1371/journal.pone.0098259]
  - 116 Moses K, Brandau S. Human neutrophils: Their role in cancer and relation to myeloid-derived suppressor cells. *Semin Immunol* 2016; 28: 187-196 [PMID: 27067179 DOI: 10.1016/j.smim.2016.03.018]
  - 117 Bergenfelz C, Leandersson K. The Generation and Identity of Human Myeloid-Derived Suppressor Cells. *Front Oncol* 2020; 10: 109 [PMID: 32117758 DOI: 10.3389/fonc.2020.00109]
  - 118 Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 162-174 [PMID: 19197294 DOI: 10.1038/nri2506]
  - 119 Gabitass RF, Annels NE, Stocken DD, Pandha HA, Middleton GW. Elevated myeloid-derived suppressor cells in pancreatic, esophageal and gastric cancer are an independent prognostic factor and are associated with significant elevation of the Th2 cytokine interleukin-13. *Cancer Immunol Immunother* 2011; 60: 1419-1430 [PMID: 21644036 DOI: 10.1007/s00262-011-1028-0]
  - 120 Takeuchi S, Baghdadi M, Tsuchikawa T, Wada H, Nakamura T, Abe H, Nakanishi S, Usui Y, Higuchi K, Takahashi M, Inoko K, Sato S, Takano H, Shichinohe T, Seino K, Hirano S. Chemotherapy-Derived Inflammatory Responses Accelerate the Formation of Immunosuppressive Myeloid Cells in the Tissue Microenvironment of Human Pancreatic Cancer. *Cancer Res* 2015; 75: 2629-2640 [PMID: 25952647 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-2921]
  - 121 Nemunaitis J. Vaccines in cancer: GVAX, a GM-CSF gene vaccine. *Expert Rev Vaccines* 2005; 4: 259-274 [PMID: 16026242 DOI: 10.1586/14760584.4.3.259]
  - 122 Middleton G, Silcocks P, Cox T, Valle J, Wadsley J, Propper D, Coxon F, Ross P, Madhusudan S, Roques T, Cunningham D, Falk S, Wadd N, Harrison M, Corrie P, Iveson T, Robinson A, McAdam K, Eatock M, Evans J, Archer C, Hickish T, Garcia-Alonso A, Nicolson M, Steward W, Anthony A, Greenhalf W, Shaw V, Costello E, Naisbitt D, Rawcliffe C, Nanson G, Neoptolemos J. Gemcitabine and capecitabine with or without telomerase peptide vaccine GV1001 in patients with locally advanced or metastatic pancreatic cancer (TeloVac): An open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(8): 829-840 [PMID: 24954781 DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70236-0]
  - 123 Zhou Q, Tao X, Xia S, Guo F, Pan C, Xiang H, Shang D. T Lymphocytes: A Promising Immunotherapeutic Target for Pancreatitis and Pancreatic Cancer? *Front Oncol* 2020; 10: 382 [PMID: 32266154 DOI: 10.3389/fonc.2020.00382]
  - 124 Ino Y, Yamazaki-Itoh R, Shimada K, Iwasaki M, Kosuge T, Kanai Y, Hiraoka N. Immune cell infiltration as an indicator of the immune microenvironment of pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2013; 108: 914-923 [PMID: 23385730 DOI: 10.1158/1538-7445.TUMIMM2012-B75]
  - 125 Gong J, Hendifar A, Tuli R, Chuang J, Cho M, Chung V, Li D, Salgia R. Combination systemic therapies with immune checkpoint inhibitors in pancreatic cancer: overcoming resistance to single-agent checkpoint blockade. *Clin Transl Med* 2018; 7: 32 [PMID: 30294755 DOI: 10.1186/s40169-018-0210-9]



- 126 Winograd R, Byrne KT, Evans RA, Odorizzi PM, Meyer AR, Bajor DL, Clendenin C, Stanger BZ, Furth EE, Wherry EJ, Vonderheide RH. Induction of T-cell Immunity Overcomes Complete Resistance to PD-1 and CTLA-4 Blockade and Improves Survival in Pancreatic Carcinoma. *Cancer Immunol Res* 2015; 3: 399-411 [PMID: 25678581 DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0215]
- 127 Kamath SD, Kalyan A, Kircher S, Nimeiri H, Fought AJ, Benson A 3rd, Mulcahy M. Ipilimumab and Gemcitabine for Advanced Pancreatic Cancer: A Phase Ib Study. *Oncologist* 2020; 25: e808-e815 [PMID: 31740568 DOI: 10.1634/theoncologist.2019-0473]
- 128 Liu T, Fang Y, Zhang H, Deng M, Gao B, Niu N, Yu J, Lee S, Kim J, Qin B, Xie F, Evans D, Wang L, Lou W, Lou Z. HEATR1 Negatively Regulates Akt to Help Sensitize Pancreatic Cancer Cells to Chemotherapy. *Cancer Res* 2016; 76: 572-581 [PMID: 26676747 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0671]
- 129 Zhou Y, Wang K, Zhou Y, Li T, Yang M, Wang R, Chen Y, Cao M, Hu R. HEATR1 deficiency promotes pancreatic cancer proliferation and gemcitabine resistance by up-regulating Nrf2 signaling. *Redox Biol* 2020; 29: 101390 [PMID: 31785531 DOI: 10.1016/j.redox.2019.101390]
- 130 Delluc A, Rousseau A, Delluc C, Le Moigne E, Le Gal G, Mottier D, Van Dreden P, Lacut K. Venous thromboembolism in patients with pancreatic cancer: implications of circulating tissue factor. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2011; 22: 295-300 [PMID: 21372691 DOI: 10.1097/MBC.0b013e32834512f4]
- 131 Kopp HG, Placke T, Salih HR. Platelet-derived transforming growth factor-beta down-regulates NKG2D thereby inhibiting natural killer cell antitumor reactivity. *Cancer Res* 2009; 69: 7775-7783 [PMID: 19738039 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2123]
- 132 Battinelli EM, Markens BA, Italiano JE Jr. Release of angiogenesis regulatory proteins from platelet alpha granules: modulation of physiologic and pathologic angiogenesis. *Blood* 2011; 118: 1359-1369 [PMID: 21680800 DOI: 10.1182/blood-2011-02-334524]
- 133 Elaskalani O, Falasca M, Moran N, Berndt MC, Metharom P. The Role of Platelet-Derived ADP and ATP in Promoting Pancreatic Cancer Cell Survival and Gemcitabine Resistance. *Cancers (Basel)* 2017; 9 [PMID: 29064388 DOI: 10.3390/cancers9100142]
- 134 Elaskalani O, Domenichini A, Abdol Razak NB, E Dye D, Falasca M, Metharom P. Antiplatelet Drug Ticagrelor Enhances Chemotherapeutic Efficacy by Targeting the Novel P2Y12-AKT Pathway in Pancreatic Cancer Cells. *Cancers (Basel)* 2020; 12 [PMID: 31968611 DOI: 10.3390/cancers12010250]
- 135 Ballerini P, Dovizio M, Bruno A, Tacconelli S, Patrignani P. P2Y<sub>12</sub> Receptors in Tumorigenesis and Metastasis. *Front Pharmacol* 2018; 9: 66 [PMID: 29456511 DOI: 10.3389/fphar.2018.00066]
- 136 Ramu I, Buchholz SM, Patzak MS, Goetze RG, Singh SK, Richards FM, Jodrell DI, Sipos B, Ströbel P, Ellenrieder V, Hessmann E, Neesse A. SPARC dependent collagen deposition and gemcitabine delivery in a genetically engineered mouse model of pancreas cancer. *EBioMedicine* 2019; 48: 161-168 [PMID: 31597597 DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.09.024]
- 137 Frappart PO, Hofmann TG. Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC) Organoids: The Shining Light at the End of the Tunnel for Drug Response Prediction and Personalized Medicine. *Cancers (Basel)* 2020; 12 [PMID: 32987786 DOI: 10.3390/cancers12102750]

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》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 文献综述, 研究快报, 临床实践, 病例报告, 会议跟踪. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

# 酪酸梭菌活菌片对结直肠癌术后FOLFOX4方案化疗肠道菌群平衡、毒副反应及免疫炎症指标的影响

王沁, 龚黎明, 郑惠

王沁, 金华市第二医院检验科 浙江省金华市 321000

龚黎明, 郑惠, 兰溪市人民医院检验科 浙江省兰溪市 321100

王沁, 主管检验师, 研究方向为临床检验医学, 微生物, 临床生化, 临床免疫, 临床血液学.

**作者贡献分布:** 此课题由王沁设计; 研究过程由王沁, 龚黎明操作完成; 数据分析由王沁, 郑惠完成; 本论文写作由王沁完成.

**通讯作者:** 王沁, 主管检验师, 321000, 浙江省金华市婺城区方岩街158号, 浙江省金华市第二医院检验科. thhpfh@163.com

收稿日期: 2021-01-20

修回日期: 2021-02-24

接受日期: 2021-03-15

在线出版日期: 2021-04-28

## Effects of live *Clostridium butyricum* tablets on intestinal flora balance, toxic and side effects, and immune inflammatory indexes in colorectal cancer patients on postoperative FOLFOX4 chemotherapy

Qin Wang, Li-Ming Gong, Hui Zheng

Qin Wang, Clinical Laboratory of Jinhua Second Hospital, Jinhua 321000, Zhejiang Province, China

Li-Ming Gong, Hui Zheng, Clinical Laboratory of Lanxi People's Hospital, Lanxi 321100, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Qin Wang, Chief Inspector, Clinical Laboratory of Jinhua Second Hospital, No. 158 Fangyan Street, Wucheng District, Jinhua 321000, Zhejiang Province, China. thhpfh@163.com

Received: 2021-01-20

Revised: 2021-02-24

Accepted: 2021-03-15

Published online: 2021-04-28

## Abstract

### BACKGROUND

Postoperative chemotherapy with FOLFOX4 regimen in patients with colorectal cancer destroys the normal digestion and metabolism of the body and reduces the immune capacity while removing and inhibiting cancer cells. As a beneficial bacterium, *Clostridium butyricum* can regulate the intestinal flora and enhance the immune function of the body, and can therefore be used to regulate the adverse reactions caused by chemotherapy to some extent.

### AIM

To investigate the effect of live *Clostridium butyricum* tablets on intestinal flora balance, toxic and side effects, and immune inflammatory indexes in colorectal cancer patients on postoperative FOLFOX4 chemotherapy.

### METHODS

From April 2017 to May 2020, 92 postoperative colorectal cancer patients treated at our hospital were selected and divided into a study group ( $n = 46$ ) and a control group ( $n = 46$ ) using simple randomization method. Both groups received FOLFOX4 chemotherapy after surgery, and the study group additionally received live *Clostridium butyricum* tablets. Each cycle of treatment was 2 weeks, and the treatment lasted for 8 weeks. Serum tumor markers [carbohydrate antigen 724 (CA724), carbohydrate antigen 199 (CA199), and carcinoembryonic antigen (CEA)], immune function indexes ( $CD4^+$  T cells,  $CD8^+$  T cells, and  $CD4^+/CD8^+$  ratio), inflammatory response indexes [tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), C-reactive protein (CRP), and interleukin-6 (IL-6)], intestinal flora indicators (*Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus*, and *Bifidobacterium*), and intestinal mucosal barrier function indicators [D-lactic acid

and fecal secretory immunoglobulin A (S-IgA)] were compared between the two groups before treatment and after 8 weeks of treatment. The incidence of side effects during treatment in the two groups was calculated.

## RESULTS

After 8 weeks of treatment, serum CA724, CA199, and CEA levels were significantly lower in the study group than in the control group ( $P < 0.05$ );  $CD4^+$  T cells and  $CD4^+/CD8^+$  ratio were significantly higher and  $CD8^+$  T cells were significantly lower than those of the control group ( $P < 0.05$ ); serum levels of TNF- $\alpha$ , CRP, and IL-6 were significantly lower than those of the control group ( $P < 0.05$ ); the numbers of *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus*, and *Bifidobacterium* were significantly higher and the number of *Escherichia coli* were significantly lower than those of the control group ( $P < 0.05$ ); and plasma D lactic acid level was significantly lower and fecal S-IgA level was significantly higher than those of the control group ( $P < 0.05$ ). The incidence of nausea and vomiting, numbness, leukopenia, and abnormal liver function in the study group was significantly lower than that of the control group ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

Live *Clostridium butyricum* tablets can correct intestinal flora disorders, repair the damaged intestinal mucosal barrier function, help regulate the immune inflammatory response, reduce the level of serum tumor markers, and reduce toxic and side effects in colorectal cancer patients on postoperative FOLFOX4 chemotherapy.

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

**Key Words:** Live *Clostridium butyricum* tablets; FOLFOX4 chemotherapy; Colorectal cancer; Intestinal flora; Toxic and side effects; Immune inflammation

**Citation:** Wang Q, Gong LM, Zheng H. Effects of live *Clostridium butyricum* tablets on intestinal flora balance, toxic and side effects, and immune inflammatory indexes in colorectal cancer patients on postoperative FOLFOX4 chemotherapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(8): 435-442

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/435.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.435>

## 摘要

### 背景

结直肠癌术后亚叶酸钙+氟尿嘧啶+奥沙利铂(folinate 5-fluorouracil oxaliplatin, FOLFOX4)方案的化疗在清除和抑制癌细胞的同时,也破坏了身体正常的消化代谢,降低了免疫能力。酪酸梭菌作为有益菌,可以调节肠道菌群系统,增强机体免疫功能,因此从某种程

度上可以用来调节化疗带来的负反应。

## 目的

探讨酪酸梭菌活菌片对结直肠癌术后FOLFOX4方案化疗肠道菌群平衡、毒副反应及免疫炎症指标的影响。

## 方法

选取2017-04/2020-05我院结直肠癌术后患者92例,简单随机化法分为研究组( $n = 46$ )、对照组( $n = 46$ )。对照组术后予以FOLFOX4方案化疗,研究组在对照组基础上予以酪酸梭菌活菌片,1个疗程为2 wk,持续治疗8 wk。比较两组治疗前、治疗8 wk后血清肿瘤标志物[糖类抗原724(carbohydrate antigen, CA724)、糖类抗原199(carbohydrate antigen 199, CA199)、癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)]、免疫功能指标( $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ )、炎症反应指标[肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白细胞介素-6(interleukin, IL-6)]、肠道菌群指标(粪肠球菌、大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌)、肠黏膜屏障功能指标[D乳酸、粪便分泌型免疫球蛋白A(S-IgA)]水平,统计两组治疗期间毒副反应发生率。

## 结果

研究组治疗8 wk后:血清CA724、CA199、CEA水平低于对照组( $P < 0.05$ );血清 $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 水平高于对照组,  $CD8^+$ 水平低于对照组( $P < 0.05$ );血清TNF- $\alpha$ 、CRP、IL-6水平低于对照组( $P < 0.05$ );粪肠球菌、乳酸杆菌、双歧杆菌数量高于对照组,大肠杆菌数量低于对照组( $P < 0.05$ );血浆D乳酸水平低于对照组,粪便S-IgA水平高于对照组( $P < 0.05$ );恶心呕吐、肢端麻木、白细胞减少、肝功能异常发生率低于对照组( $P < 0.05$ )。

## 结论

酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化疗通过纠正肠道菌群紊乱,修复受损肠黏膜屏障功能,有助于调节结直肠癌术后患者免疫炎症反应,降低血清肿瘤标志物水平,减少毒副反应。

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

**关键词:** 酪酸梭菌活菌片; FOLFOX4方案化疗; 结直肠癌; 肠道菌群; 毒副反应; 免疫炎症

**核心提要:** 酪酸梭菌活菌片通过外源性补充益生菌,刺激肠道局部免疫反应,增强机体抗感染能力,从而减轻炎症反应。进一步研究还发现,还能有效降低化疗后的恶心呕吐、肢端麻木、白细胞减少、肝功能异常发生率。



**文献来源:** 王沁, 龚黎明, 郑惠. 酪酸梭菌活菌片对结直肠癌术后FOLFOX4方案化疗肠道菌群平衡、毒副反应及免疫炎症指标的影响. 世界华人消化杂志 2021; 29(8): 435-442

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/435.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.435>

## 0 引言

流行病学调查显示, 结直肠癌发病率居我国全身恶性肿瘤的第4位, 并随生活水平提高、饮食结构改变逐渐增长与年轻化<sup>[1,2]</sup>. 手术切除是结直肠癌主要治疗手段, 但II-III期患者手术切除后仍存在较大复发或转移风险, 故术后实施辅助化疗十分必要<sup>[3]</sup>. 然而相关研究显示<sup>[4,5]</sup>, 结直肠癌手术可破坏正常肠道菌群, 诱导肠道菌群易位, 进而增加术后全身炎症反应综合征发生率, 且化疗药物在杀伤肿瘤细胞的同时会对正常组织细胞造成不同程度损害, 进而增加毒副反应发生率. 有学者指出, 酪酸梭菌活菌片属益生菌, 可直接补充因化疗或手术所致机体欠缺的生理细菌, 调节肠道菌群系统, 增强机体免疫功能<sup>[6,7]</sup>, 但关于其与FOLFOX4方案化疗联合对结直肠癌免疫炎症、肠道菌群的影响缺乏相关研究. 基于此, 本研究首次尝试分析酪酸梭菌活菌片联合亚叶酸钙+氟尿嘧啶+奥沙利铂(folinat 5-fluorouracil oxaliplatin, FOLFOX4)方案化疗对结直肠癌术后肠道菌群平衡、毒副反应及免疫炎症指标的影响.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2017-04/2020-05我院结直肠癌术后患者92例, 纳入标准: (1)结直肠癌诊断标准均参照《2016 USPSTF建议声明: 结直肠癌筛查》<sup>[8]</sup>, 并均经肠镜、腹部CT或病理组织学检查确诊; (2)均符合手术适应证; (3)预计生存期>3 mo; 排除标准: (1)存在手术禁忌证者; (2)合并原发性慢性肠炎、炎症性肠病及肠易激综合征等疾病者; (3)伴有急性肠梗阻、穿孔者; (4)术中发现肿瘤广泛转移、浸润, 无法实施手术切除者; (5)近4 wk内有微生态制剂、免疫抑制剂等药物使用史者; (6)合并肝肾等其他重要脏器器质性功能损害者; (7)处于妊娠期、产褥期或哺乳期等特殊时期者; (8)患有慢性炎症感染性疾病者; (9)意识不清或精神欠佳者. 简单随机化法分为研究组( $n = 46$ )、对照组( $n = 46$ ). 本研究经我院医学伦理委员会批准, 所有研究对象均签署知情同意书.

**1.2 方法** 两组均实施手术治疗, 术后均密切观察患者生命体征, 并予以营养支持、抗感染、镇痛等对症处理.

**1.2.1 对照组:** 根据患者病情恢复情况在术后14 d内采用FOLFOX4方案化疗治疗, 即d1, 静脉滴注奥沙利铂(正大天晴药业集团股份有限公司, 国药准字H20143263, 规格: 50 mg)85 mg/m<sup>2</sup>, 时间为120 min;

d1-2, 静脉滴注亚叶酸钙[江苏奥赛康药业有限公司, 国药准字H20060197, 规格: 100 mg(按亚叶酸计)]200 mg/m<sup>2</sup>, 时间为120 min, 静脉滴注完毕后, 静脉注射5-氟尿嘧啶(吉林通化茂祥制药有限公司, 国药准字H22023469, 规格: 10 mL: 0.25g)400 mg/m<sup>2</sup>, 后改为静脉滴注600 mg/m<sup>2</sup>, 时间为4 h.

**1.2.2 研究组:** 在对照组基础上术后第1 d起口服酪酸梭菌活菌片(青岛东海药业有限公司, 国药准字S20040083, 规格: 每片350 mg, 含酪酸梭菌活菌片数不低于 $1.5 \times 10^7$  CFU/g), 700 mg/次, 3次/d. 两组均以2 wk为1个疗程, 持续治疗8 wk.

**1.2.3 检测方法:** (1)空腹取9 mL肘静脉血: ①通过流式细胞仪检测CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>水平, 严格参照常州必达生物科技有限公司提供的仪器说明书操作; ②加入8%高氯酸(2 mL)混匀, 采用酶学分光光度法测定血浆D乳酸, 严格参照上海必优生物科技有限公司提供的试剂盒说明书操作; ③1000×g离心15 min(离心半径8 cm), 分离取血清, 置于-20 °C低温保存, 利用酶联免疫吸附试验检测血清糖类抗原724(carbohydrate antigen 724, CA724)、糖类抗原199(carbohydrate antigen 199, CA199)、癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(interleukin, IL-6)水平, 运用免疫比浊法测定血清C反应蛋白(CRP)水平, 严格参照南京泽维尔生物科技有限公司提供的试剂盒说明书操作. (2)取0.5 g新鲜粪便, 添加生理盐水(0.9%), 持续稀释10倍至 $10^{-9}$ , 分别取0.5 mL  $10^{-1}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-9}$ 稀释液, 对粪肠球菌、大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌进行培养, 分别接种于羊血平板培养基、兰琼脂平板培养基、MRS营养琼脂平板培养基与BS血琼脂平板培养基, 其中粪肠球菌、大肠杆菌放置于35 °C孵箱培养1 d, 乳酸杆菌、双歧杆菌以抽气换气培养法培养2 d, 计算每克粪便湿重中菌落形成单位(CFU)的对数值<sup>[9]</sup>. (3)取新鲜粪便0.5 g, 根据1:3比例稀释混匀生理盐水, 2500 r/min离心15 min, 去上清液过滤, 运用透射比浊法测定粪便分泌型免疫球蛋白A(S-IgA)水平, 严格参照上海名典生物工程有限公司提供的试剂盒说明书进行操作.

**1.3 观察指标** (1)比较两组一般资料; (2)比较两组治疗前、治疗8 wk后血清肿瘤标志物, 即CA724、CA199、CEA水平; (3)比较两组治疗前、治疗8 wk后免疫功能指标, 即CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>水平; (4)比较两组治疗前、治疗8 wk后血清炎症反应指标, 即TNF- $\alpha$ 、CRP、IL-6水平; (5)比较两组治疗前、治疗8 wk后肠道菌群指标, 包括粪肠球菌、大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌

数量; (6)比较两组治疗前、治疗8周后肠道屏障功能指标, 即血浆D乳酸、粪便S-IgA水平; (7)统计两组毒副反应, 包括恶心呕吐、肢端麻木、白细胞减少、肝功能异常、血小板减少。

**统计学处理** 采用SPSS22.0统计学软件处理数据, 计量资料采取巴特利(Bartlett)方差齐性检验与科尔莫戈罗夫-斯米尔诺夫(Kolmogorov-Smirnov)正态性检验, 均确认具备方差齐性且近似服从正态分布, 以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 描述,  $t$ 检验, 计数资料用 $n(\%)$ 表示、 $\chi^2$ 检验。  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般资料** 两组性别、年龄、体质量指数、病程、肿瘤部位、Dukes分期、分化程度、手术方式比较, 差异无统计学意义, 见表1。

**2.2 血清肿瘤标志物水平** 两组治疗前血清CA724、CA199、CEA水平相比, 差异无统计学意义; 两组治疗8 wk后血清CA724、CA199、CEA水平较治疗前降低, 且研究组低于对照组( $P < 0.05$ )。见表2。

**2.3 免疫功能指标** 两组治疗前 $\text{CD4}^+$ 、 $\text{CD8}^+$ 、 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ 水平相比, 差异无统计学意义; 研究组治疗8 wk后 $\text{CD4}^+$ 、 $\text{CD8}^+$ 、 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ 水平与治疗前相比, 差异无统计学意义, 研究组治疗8 wk后 $\text{CD4}^+$ 、 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ 水平高于对照组,  $\text{CD8}^+$ 水平低于对照组( $P < 0.05$ )。见表3。

**2.4 血清炎症反应指标** 两组治疗前血清TNF- $\alpha$ 、CRP、IL-6水平相比, 差异无统计学意义; 两组治疗8 wk后血清TNF- $\alpha$ 、CRP、IL-6水平较治疗前降低, 且研究组低于对照组( $P < 0.05$ )。见表4。

**2.5 肠道菌群指标** 两组治疗前粪肠球菌、大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌数量相比, 差异无统计学意义; 两组治疗8 wk后粪肠球菌、乳酸杆菌、双歧杆菌数量较治疗前提高, 且研究组高于对照组, 大肠杆菌数量较治疗前降低, 且研究组低于对照组( $P < 0.05$ )。见表5。

**2.6 肠道屏障功能指标** 两组治疗前血浆D乳酸、粪便S-IgA水平相比, 差异无统计学意义; 两组治疗8 wk后血浆D乳酸水平较治疗前降低, 且研究组低于对照组, 粪便S-IgA水平较治疗前提高, 且研究组高于对照组( $P < 0.05$ )。见表6。

**2.7 毒副反应** 研究组恶心呕吐、肢端麻木、白细胞减少、肝功能异常发生率低于对照组( $P < 0.05$ ); 两组血小板减少发生率相比, 差异无统计学意义。见表7。

## 3 讨论

FOLFOX4方案化疗是结直肠癌术后常用化疗方案, 可有效抑制机体癌细胞增殖、浸润、转移, 减轻患者临床

症状, 延长患者生存周期<sup>[10]</sup>, 但其易引发恶心呕吐、肝功能异常、免疫功能低下等毒副反应, 影响患者生存质量。因此, 如何增强结直肠癌术后化疗患者抗肿瘤免疫应答水平、降低毒副反应发生率是目前临床亟需解决的问题。

CA724、CA199、CEA是临床常用肿瘤标志物, 其在结直肠癌患者中过度表达, 与疗效、肿瘤临床分期、复发存在相关性<sup>[11-13]</sup>。迪米拉·阿里根等<sup>[14]</sup>研究发现, 在XELOX方案化疗治疗的同时联合双歧杆菌三联活菌, 能有效降低结直肠癌术后肿瘤标志物水平, 增强化疗抗肿瘤疗效。在此基础上, 本研究首次于结直肠癌术后采用酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化疗治疗, 结果显示, 二者联合能有效减少患者血清CA724、CA199、CEA水平, 这可能是由于二者联合能发挥良好协同增效减毒作用, 刺激T淋巴细胞和B淋巴细胞成熟, 双向调节免疫应答, 增强免疫系统功能, 抑制肿瘤细胞生长, 诱导肿瘤细胞凋亡, 从而降低血清肿瘤标志物水平, 实现抗肿瘤作用。

同时, 有学者指出<sup>[15,16]</sup>, 结直肠癌术后大肠杆菌数量明显增加, 双歧杆菌与大肠杆菌比例下调, 易破坏肠道原有肠黏膜生物屏障功能, 明显改变肠道通透性, 而肠黏膜屏障损坏则会进一步加重原有肠道微生态紊乱, 最终形成恶性循环, 加重患者病情。血浆D乳酸、粪便S-IgA是评估肠道黏膜屏障功能常用指标, 其中血浆D乳酸是肠道固有细菌代谢物, 随肠道黏膜屏障损伤程度加重, 其含量明显增加<sup>[17]</sup>; 粪便S-IgA是肠黏膜主要免疫球蛋白, 也是肠黏膜防御的重要组成部分<sup>[18]</sup>。另外, 一项大鼠实验表明<sup>[19]</sup>, 高剂量复合益生菌可增加肠道乳杆菌、双歧杆菌含量, 调节肠道菌群。本研究数据表明, 酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化疗对纠正结直肠癌术后患者肠道菌群紊乱、修复受损肠黏膜屏障功能具有一定积极效应, 与李灼非等<sup>[20]</sup>研究相似, 这可能是由于酪酸梭菌活菌片剂量大, 可提供充足有益菌, 有效防止致病菌繁殖, 恢复肠道菌群平衡, 并可促进酪酸分解, 分泌抗氧化、抗癌化合物短链脂肪酸, 为肠道黏膜修复提供能量<sup>[21]</sup>, 与FOLFOX4方案化疗联合, 通过生物夺氧功能, 不仅能降低肠道定植部位氧浓度, 调节厌氧菌群生长环境, 维持肠道菌群平衡, 还能改善肠道通透性, 抑制D乳酸渗透入血及S-IgA流失, 从而有效保护肠道黏膜屏障功能。

受手术治疗创伤、术中失血及麻醉等因素影响, 结直肠癌患者术后处于应激状态, 可能影响细胞免疫功能, 引发继发性免疫功能缺陷, 加之结直肠癌患者肠道菌群紊乱, 肠道黏膜屏障功能损害, 进一步抑制机体免疫应答<sup>[22,23]</sup>。本研究通过对比研究可知, 研究组治疗

表 1 两组一般资料比较

一般资料	研究组( <i>n</i> = 46)	对照组( <i>n</i> = 46)	<i>u/t/χ<sup>2</sup></i>	<i>P</i>
性别(男/女)	25/21	28/18	0.401	0.527
年龄(岁)	43.89 ± 8.25	44.21 ± 10.48	0.163	0.871
体质量指数(kg/m <sup>2</sup> )	21.46 ± 2.03	20.72 ± 3.18	1.330	0.187
病程(mo)	4.72 ± 2.54	5.33 ± 4.21	0.841	0.403
肿瘤部位				
结肠	31(67.39)	34(73.91)	0.472	0.492
直肠	15(32.61)	12(26.09)		
手术方式				
腹腔镜手术	33(71.74)	35(76.09)	0.226	0.635
开腹手术	13(28.26)	11(23.91)		
Dukes分期				
A期	15(32.61)	18(39.13)	0.605	0.546
B期	26(56.52)	24(52.17)		
C期	5(10.87)	4(8.70)		
分化程度				
中分化	17(36.96)	14(30.43)	0.438	0.508
高分化	29(63.04)	32(69.57)		

表 2 两组血清肿瘤标志物水平比较(mean ± SD)

时间	组别	例数	CA724(U/mL)	CA199(U/mL)	CEA(μg/L)
治疗前	研究组	46	9.86 ± 3.21	57.26 ± 19.34	12.73 ± 4.28
	对照组	46	10.02 ± 2.83	59.05 ± 21.40	13.42 ± 4.69
	<i>t</i>		0.254	0.421	0.737
	<i>P</i>		0.800	0.675	0.463
治疗8 wk后	研究组	46	4.70 ± 1.18 <sup>a</sup>	22.43 ± 8.02 <sup>a</sup>	6.09 ± 2.12 <sup>a</sup>
	对照组	46	6.19 ± 1.40 <sup>a</sup>	26.15 ± 9.36 <sup>a</sup>	8.16 ± 2.57 <sup>a</sup>
	<i>t</i>		5.519	2.047	4.214
	<i>P</i>		< 0.001	0.044	< 0.001

<sup>a</sup>*P* < 0.05, 与本组治疗前相比.

表 3 两组免疫功能指标比较(mean ± SD)

时间	组别	例数	CD4 <sup>+</sup> (%)	CD8 <sup>+</sup> (%)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
治疗前	研究组	46	32.09 ± 2.70	25.83 ± 2.37	1.24 ± 0.29
	对照组	46	31.57 ± 3.18	26.42 ± 2.59	1.19 ± 0.25
	<i>t</i>		0.845	1.140	0.886
	<i>P</i>		0.400	0.257	0.378
治疗8 wk后	研究组	46	30.84 ± 2.26	27.06 ± 2.84	1.14 ± 0.21
	对照组	46	25.96 ± 2.52 <sup>a</sup>	29.91 ± 3.13 <sup>a</sup>	0.87 ± 0.16 <sup>a</sup>
	<i>t</i>		9.778	4.574	6.936
	<i>P</i>		< 0.001	< 0.001	< 0.001

<sup>a</sup>*P* < 0.05, 与本组治疗前相比.

8 wk后CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>水平高于对照组, CD8<sup>+</sup>水平低于对照组, 提示酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化

疗能有效调节结直肠癌术后患者免疫功能, 结合既往研究<sup>[24]</sup>分析可能与酪酸梭菌活菌片能纠正肠道菌群紊



表 4 两组血清炎症反应指标比较(mean ± SD)

时间	组别	例数	TNF- $\alpha$ (ng/L)	CRP(mg/L)	IL-6(ng/L)
治疗前	研究组	46	33.78 ± 3.58	81.48 ± 16.15	197.35 ± 41.21
	对照组	46	34.64 ± 3.70	83.92 ± 17.69	202.58 ± 44.37
	<i>t</i>		1.133	0.691	0.586
	<i>P</i>		0.260	0.491	0.560
治疗8 wk后	研究组	46	15.82 ± 2.64 <sup>a</sup>	23.94 ± 9.24 <sup>a</sup>	71.74 ± 14.05 <sup>a</sup>
	对照组	46	23.05 ± 3.29 <sup>a</sup>	41.25 ± 11.16 <sup>a</sup>	90.27 ± 18.83 <sup>a</sup>
	<i>t</i>		11.625	8.103	5.349
	<i>P</i>		< 0.001	< 0.001	< 0.001

<sup>a</sup>*P* < 0.05, 与本组治疗前相比.

表 5 两组肠道菌群指标比较(mean ± SD, lg CFU/g)

时间	组别	例数	粪肠球菌	大肠杆菌	乳酸杆菌	双歧杆菌
治疗前	研究组	46	6.42 ± 0.59	10.38 ± 0.95	6.19 ± 0.52	7.68 ± 0.57
	对照组	46	6.26 ± 0.47	10.71 ± 0.84	6.06 ± 0.47	7.55 ± 0.49
	<i>t</i>		1.439	1.765	1.258	1.173
	<i>P</i>		0.154	0.081	0.212	0.244
治疗8 wk后	研究组	46	8.35 ± 0.72 <sup>a</sup>	8.41 ± 0.58 <sup>a</sup>	7.58 ± 0.70 <sup>a</sup>	9.35 ± 0.74 <sup>a</sup>
	对照组	46	7.08 ± 0.61 <sup>a</sup>	9.15 ± 0.70 <sup>a</sup>	6.81 ± 0.61 <sup>a</sup>	8.29 ± 0.65 <sup>a</sup>
	<i>t</i>		9.128	5.521	5.625	7.299
	<i>P</i>		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

<sup>a</sup>*P* < 0.05, 与本组治疗前相比.

表 6 两组肠道屏障功能指标比较(mean ± SD)

组别	例数	D乳酸( $\mu$ g/mL)		粪便S-IgA(g/L)	
		治疗前	治疗8 wk后	治疗前	治疗8 wk后
研究组	46	11.24 ± 2.51	5.29 ± 0.95 <sup>a</sup>	1.09 ± 0.27	1.65 ± 0.43 <sup>a</sup>
对照组	46	11.83 ± 2.83	7.57 ± 1.34 <sup>a</sup>	1.13 ± 0.30	1.32 ± 0.36 <sup>a</sup>
<i>t</i>		1.058	9.414	0.672	3.991
<i>P</i>		0.293	< 0.001	0.503	< 0.001

<sup>a</sup>*P* < 0.05, 与本组治疗前相比.表 7 两组毒副反应比较*n*(%)

组别	例数	恶心呕吐	肢端麻木	血小板减少	白细胞减少	肝功能异常
研究组	46	10(21.74)	7(15.22)	13(28.26)	8(17.39)	6(13.04)
对照组	46	21(45.65)	16(34.78)	19(41.30)	18(39.13)	15(32.61)
$\chi^2$		5.887	4.696	1.725	5.361	4.998
<i>P</i>		0.015	0.030	0.189	0.021	0.025

乱, 维持肠黏膜屏障功能完整性有关. 同时, 结直肠癌患者大肠杆菌等致病菌异常增殖, 会释放大量的内毒素及细菌毒素, 刺激肝巨噬细胞及其他相关炎症细胞, 进而

持续分泌TNF- $\alpha$ 、CRP、IL-6等炎症因子, 提高感染并发症发生率<sup>[25]</sup>. 本研究数据表明, 酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化疗在降低结直肠癌术后患者炎症反应

方面优于单纯FOLFOX4方案化疗治疗, 这可能是由于酪酸梭菌活菌片通过外源性补充双歧杆菌、乳酸杆菌等益生菌, 减少肠内细菌和内毒素移位, 抑制炎症因子分泌, 与FOLFOX4方案化疗联合, 可激活吞噬细胞活性, 刺激肠道局部免疫反应, 增强机体抗感染能力, 从而减轻炎症反应。进一步研究还发现, 酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化疗能有效降低恶心呕吐、肢端麻木、白细胞减少、肝功能异常发生率, 可能与酪酸梭菌活菌片能保护神经细胞, 减轻神经系统毒性, 调节免疫炎症反应有关。

#### 4 结论

综上可知, 酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化疗通过纠正肠道菌群紊乱, 修复受损肠黏膜屏障功能, 有助于调节结直肠癌术后患者免疫炎症反应, 降低血清肿瘤标志物水平, 减少毒副反应。但本研究也存在一定不足, 如涉及样本量较小, 所得结论仅是初步的; 未探讨其他益生菌是否有类似作用; 缺少肠道菌群测序等, 应进一步扩大样本量, 采取多中心、深层次研究方法从微生物组学角度进行深度且全面分析, 以便为研究结果提供理论与数据支撑。

#### 文章亮点

#### 实验背景

结直肠癌患者一旦进入中晚期, 除了手术治疗外, 还需要化疗药物进行术后的辅助治疗, 化疗药物对身体免疫系统的破坏是比较明显的, 且本身结直肠癌患者的消化功能也较差, 因此能够增强肠道的吸收, 进而增强机体免疫的辅助治疗就显得尤为重要。

#### 实验动机

本研究从化疗药物对身体的影响和结直肠癌患者肠道吸收能力较差的角度出发, 拟减轻化疗对身体免疫系统的破坏, 同时能够增强肠道的吸收能力, 保证机体能够正常运转, 对结直肠癌患者的术后的恢复起到积极的作用。

#### 实验目标

本研究旨在利用酪酸梭菌活菌片中有益菌改善肠道微生态条件改善由于结直肠癌的影响较差的肠道吸收功能, 同时改善由于化疗药物的影响而造成的免疫功能的下降, 为结直肠癌术后治疗提供有益于机体健康, 毒副作用小的微生物疗法。

#### 实验方法

本研究主要采用了用药后对各个指标检测、观察和分

析的方法, 通过对肠道菌群的检测, 和对免疫相关指标的分析, 从微环境和蛋白分子水平来判断酪酸梭菌活菌片对术后患者的作用效果。

#### 实验结果

治疗后, 与对照组相比, 研究组的血清CA724、CA199、CEA、CD8<sup>+</sup>、TNF- $\alpha$ 、CRP、IL-6水平、大肠杆菌数量、血浆D乳酸水平更低, CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>水平、粪肠球菌、乳酸杆菌、双歧杆菌数量、粪便S-IgA水平更高。研究组的不良事件发生率低于对照组。

#### 实验结论

酪酸梭菌活菌片改善了结直肠癌患者肠道菌群的结构, 增加了有益菌群的数量, 降低了炎症因子的表达, 促进了免疫功能的提升且无毒副作用, 为进一步改善患者的生活质量提供了一种健康价廉的高效治疗方案。

#### 展望前景

本研究样本仅限于我院收集的, 多为本地区及周围的人群, 数量相对较少, 是否能够涵盖更广的人群还有待于进一步收集更多更广的样本量。肠道菌群较为复杂多样, 其他相关菌群是否有影响没有探讨, 后续将采用高通量测序等技术从微生物组学角度进行全面的分析, 为研究结果提供更可靠的理论与数据支撑。

#### 5 参考文献

- 1 冷霞, 刘菲, 杨志文, 朱康健, 史玉雪, 余祖红, 陈卫昌. 外周血甲甲基化胞裂蛋白9基因甲基化检测在结直肠癌和腺瘤诊断中的临床意义. 中华消化杂志 2018; 38: 405-407 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2018.06.009]
- 2 Patel SG, Ahnen DJ. Colorectal Cancer in the Young. *Curr Gastroenterol Rep* 2018; 20: 15 [PMID: 29616330 DOI: 10.1007/s11894-018-0618-9]
- 3 杨帆, 宋纯, 杜涛, 韩俊毅. 结肠癌根治术后患者胸腺肽静滴辅助FOLFOX4方案化疗前后外周血单个核细胞中Treg比例表达观察. 山东医药 2018; 58: 70-72 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.40.020]
- 4 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 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202003012]
- 5 缪娟, 陶玉华, 顾小侠, 沈水杰. 济生散联合术后辅助化疗对II期结直肠癌的疗效及对肠道菌群的影响. 中国肿瘤外科杂志 2019; 11: 346-349 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-4136.2019.05.010]
- 6 程海霞, 贾增增, 徐月姣, 范国权, 何若冲. 益生菌应用于结直肠癌三级预防中的研究进展. 中华实验外科杂志 2018; 35: 1373-1375 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2018.07.064]
- 7 Górka A, Przysupski D, Niemczura MJ, Kulbacka J. Probiotic Bacteria: A Promising Tool in Cancer Prevention and Therapy. *Curr Microbiol* 2019; 76: 939-949 [PMID: 30949803 DOI: 10.1007/s00284-019-01679-8]
- 8 US Preventive Services Task Force, Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ, Davidson KW, Epling JW Jr, García FAR, Gillman MW, Harper DM, Kemper AR, Krist AH, Kurth AE, Landefeld CS, Mangione CM, Owens DK, Phillips WR, Phipps MG, Pignone MP, Siu AL. Screening for Colorectal

- Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA* 2016; 315: 2564-2575 [PMID: 27304597 DOI: 10.1001/jama.2016.5989.]
- 9 戴安友. 双歧三联活菌胶囊对结直肠癌术后肠道菌群及肠黏膜通透性的影响. *中国微生态学杂志* 2016; 28: 425-428 [DOI:10.13381/j.cnki.cjm.201604013]
- 10 高宗跃, 周晓丽. XELOX与FOLFOX4治疗方案对老年转移性结直肠癌序贯化疗的效果. *中国老年学杂志* 2018; 38: 3641-3643 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2018.15.024]
- 11 Gao Y, Wang J, Zhou Y, Sheng S, Qian SY, Huo X. Evaluation of Serum CEA, CA19-9, CA72-4, CA125 and Ferritin as Diagnostic Markers and Factors of Clinical Parameters for Colorectal Cancer. *Sci Rep* 2018; 8: 2732 [PMID: 29426902 DOI: 10.1038/s41598-018-21048-y]
- 12 Sun ZQ, Ma S, Zhou QB, Yang SX, Chang Y, Zeng XY, Ren WG, Han FH, Xie X, Zeng FY, Sun XT, Wang GX, Li Z, Zhang ZY, Song JM, Liu JB, Yuan WT. Prognostic value of lymph node metastasis in patients with T1-stage colorectal cancer from multiple centers in China. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 8582-8590 [PMID: 29358866 DOI: 10.3748/wjg.v23.i48.8582]
- 13 张鑫东, 葛晓蕾, 刘省存, 郑维清, 沈彤. 血清CA199和CEA对结直肠癌转移和预后预测的价值. *中华疾病控制杂志* 2018; 22: 57-61 [DOI: 10.16462/j.cnki.zhjbkz.2018.01.013]
- 14 迪米拉·阿里根, 帕尔哈提·阿布都热衣木, 张丽博. 双歧杆菌三联活菌辅助XELOX方案对结直肠癌术后抗肿瘤免疫应答和肿瘤标志物的影响. *中国临床研究* 2019; 32: 516-519 [DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2019.04.020]
- 15 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]
- 16 Wong SH, Yu J. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019; 16: 690-704 [PMID: 31554963 DOI: 10.1038/s41575-019-0209-8]
- 17 郭云童, 刘炜, 黄河. 腹腔镜与开腹结直肠癌手术对肠道屏障功能影响的比较研究. *中华临床营养杂志* 2020; 28: 27-31 [DOI: 10.3760/cma.j.cn115822-20190114-00003]
- 18 董建华, 程先硕, 杨之斌, 栗明, 余昆. 双歧杆菌三联活菌胶囊联合奥沙利铂对结直肠癌术后的疗效及对肠道菌群与免疫功能的影响. *西部医学* 2019; 31: 403-407 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2019.03.016]
- 19 孙昕, 加勒哈斯别克·塞力克, 王艳明, 吴禹澈, 新华·那比. 乳源性复合益生菌对2型糖尿病大鼠GLP-1的影响及调控机制. *中国微生态学杂志* 2020; 32: 384-391 [DOI:10.13381/j.cnki.cjm.202004003]
- 20 李灼非, 邓兴明, 李粤, 吕国庆. 益生菌对结肠癌化疗及术后肠道菌群变化的影响以及与免疫功能下降的关系的研究. *贵州医药* 2018; 42: 1478-1480 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2018.12.036]
- 21 韦德芳. 酪酸梭菌肠球菌三联活菌片联合莫沙必利治疗便秘型肠易激综合征的临床疗效观察. *国际消化病杂志* 2018; 38: 344-347 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2018.05.015]
- 22 Temraz S, Nassar F, Nasr R, Charafeddine M, Mukherji D, Shamseddine A. Gut Microbiome: A Promising Biomarker for Immunotherapy in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci* 2019; 20: 4155 [PMID: 31450712 DOI: 10.3390/ijms20174155]
- 23 陈高瀚, 金冬春. 腹腔镜根治术对老年结直肠癌患者应激反应、炎症反应和细胞免疫功能的影响. *中国老年学杂志* 2020; 40: 1177-1180 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2020.06.019]
- 24 王木勇, 唐灵辉, 吴青梅. 酪酸梭菌活菌片口服联合早期肠内营养支持对腹腔镜结肠癌根治术后患者肠道功能的影响. *岭南急诊医学杂志* 2020; 25: 490-492 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-301X.2020.05.018]
- 25 Lucas C, Barnich N, Nguyen HT. Microbiota, Inflammation and Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci* 2017; 18 [PMID: 28632155 DOI: 10.3390/ijms18061310]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁





# 以肝占位为首发表现的非霍奇金淋巴瘤1例

徐国峰, 刘威, 陈华

**徐国峰, 刘威**, 赣南医学院第一附属医院消化内科 江西省赣州市 341000

**陈华**, 赣州市人民医院核医学科PET/CT影像中心 江西省赣州市 341000

徐国峰, 主治医师, 主要从事消化系统疾病方面的研究.

**作者贡献分布:** 徐国峰负责论文书写; 刘威负责收集病例资料; 陈华负责提供PET/CT影像学图片资料.

**通讯作者:** 徐国峰, 主治医师, 341000, 江西省赣州市章贡区金岭大道128号, 赣南医学院第一附属医院消化内科. xugf2019@gmu.edu.cn

**收稿日期:** 2021-01-28

**修回日期:** 2021-02-17

**接受日期:** 2021-03-15

**在线出版日期:** 2021-04-28

## Non-Hodgkin's lymphoma with hepatic space occupying lesion as first manifestation: A case report

Guo-Feng Xu, Wei Liu, Hua Chen

**Guo-Feng Xu, Wei Liu**, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China

**Hua Chen**, PET/CT Imaging Center of Nuclear Medicine Department, Ganzhou People's Hospital, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China

**Corresponding author:** Guo-Feng Xu, Attending Doctor, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China. xugf2019@gmu.edu.cn

**Received:** 2021-01-28

**Revised:** 2021-02-17

**Accepted:** 2021-03-15

**Published online:** 2021-04-28

## Abstract

### BACKGROUND

Lymphoma originating from lymph nodes and lymphoid

tissue, is one of the earliest discovered hematological malignancies.

### CASE SUMMARY

The main manifestations of the disease in our patient were lymphadenopathy and extranodal organ involvement, accompanied by fever, emaciation, and other systemic symptoms.

### CONCLUSION

A case of non-Hodgkin's lymphoma with hepatic space occupying lesion as the first manifestation is reported.

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

**Key Words:** Lymphoma; Hepatic space occupying lesion; First manifestation

**Citation:** Xu GF, Liu W, Chen H. Non-Hodgkin's lymphoma with hepatic space occupying lesion as first manifestation: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(8): 443-448

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/443.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.443>

## 摘要

### 背景

淋巴瘤起源于淋巴结和淋巴组织, 是最早发现的血液系统恶性肿瘤之一.

### 病例简介

该病主要以淋巴结肿大及淋巴结外脏器受累为主要表现, 同时合并发热、消瘦等全身症状表现.

### 结论

现报道以肝占位为首发表现的非霍奇金淋巴瘤1例.

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

**关键词:** 淋巴瘤; 肝占位; 首表现

**核心提要:** 淋巴瘤常常以高热或各系统脏器症状为主要表现, 累及消化系统主要以回肠及胃常见, 该患者起病时无发热表现, 以肝占位为首发症状, 易漏诊。

**文献来源:** 徐国峰, 刘威, 陈华. 以肝占位为首表现的非霍奇金淋巴瘤1例. 世界华人消化杂志 2021; 29(8): 443–448

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/443.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i8.443>

## 0 引言

淋巴瘤起源于淋巴结和淋巴组织, 按组织病理学改变, 可分为霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤。无痛性进行性淋巴结肿大或局部肿块是淋巴瘤共同的临床表现。其次为淋巴结外器官受累, 因受压迫或浸润的脏器不同, 引起的症状也不同。累及消化系统主要以回肠及胃常见, 肝占位合并腹水表现较为少见。现将我院1例以肝占位为首发症状的非霍奇金淋巴瘤病例报道如下。

## 1 病例简介

患者男性, 57岁, 主诉“反复腹痛3年, 再发7 d”。患者缘于3年前无明显诱因出现上腹部隐痛, 持续约20 min可稍缓解, 进食后加重, 与体位及活动无关, 无向其他部位放射。无恶心、呕吐, 无呕血、解黑便, 无腹泻, 无发热、盗汗, 无胸闷、胸痛, 无咳嗽、咯血。患者未重视, 曾反复就诊于当地诊所, 诊断为胃炎, 予以药物治疗, 具体用药不详。症状反复发作。7 d前上述症状再发, 性质同前, 无恶心、呕吐, 无呕血、解黑便, 无腹泻, 无发热、盗汗, 无胸闷、胸痛, 无咳嗽、咯血, 患者未重视遂到当地县医院就诊, 行腹部CT: 肝占位, 建议转上级医院继续治疗。遂于2020-12-25入我院消化内科。患者无肝炎病史, 无饮酒史。入院查体: T36.6 °C, P94次/分, R20次/分, BP154/94 mmHg。腹部膨隆, 腹肌软, 上腹压痛, 无反跳痛, 肝脏肋下未触及, 脾脏肋下未触及, 移动性浊音阳性, 肠鸣音正常, 双侧肾区无叩痛。入院后完善检查, 血常规: 白细胞 $8.44 \times 10^9/L$ , 红细胞 $4.41 \times 10^{12}/L$ , 血小板 $391 \times 10^9/L$ , 中性粒细胞比率64.9%, 淋巴细胞比率13.7%; 血生化: 谷草转氨酶55 U/L, 白蛋白36.1 g/L, 总胆红素20.2  $\mu\text{mol/L}$ , 碱性磷酸酶133 U/L, 乳酸脱氢酶1467 U/L, 尿酸607  $\mu\text{mol/L}$ , 肌酸激酶、肌酸激酶同工酶正常, 肾功能、电解质正常; 乙肝五项提示乙肝表面抗原、乙肝e抗体、乙肝核心抗体阳性。肿瘤全套提示CA125 2135 U/mL, CA153 51.4 U/mL, CA199 52.5 U/mL, 神经元特异性烯醇化酶35.6 ng/mL, 甲胎蛋白、癌胚抗原、肿瘤相关抗原72-4、前列腺特异性抗原、非小细胞肺

癌相关抗原、胃泌素释放肽前体均正常。2020-12-26胸部CT: 双肺感染/左肺上叶微小结节, 左肺上叶小钙化灶, 双侧胸膜增厚, 左侧胸腔积液; 所示腹腔积液, 腹膜增厚; 2020-12-27腹部增强CT: 腹膜及网膜弥漫不规则增厚/强化, 考虑腹膜转移瘤可能; 肝多发占位, 考虑转移瘤可能(图1); 胃幽门区胃壁可疑增厚, 建议结合内镜检查; 腹膜后(左肾上极水平)稍大淋巴结显示; 十二指肠降段憩室。2020-12-28胃镜: 出血糜烂性胃炎, 胃窦/胃体为主; 2020-12-29肠镜: 直肠多发息肉; 2020-12-30病理提示增生性息肉。入院后予以对症支持治疗, 为进一步明确诊断, 行腹腔穿刺腹水化验。2020-12-30腹水脱落细胞学检查: 镜下见大量淋巴细胞及间皮细胞; 2020-12-31腹水常规示黄色浑浊液体, 细胞总数 $8363 \times 10^6/L$ , 白细胞 $3363 \times 10^6/L$ , 红细胞 $5000 \times 10^6/L$ , 单个核细胞 $3289 \times 10^6/L$ , 单个核细胞百分比97.8%, 李凡它试验阳性(图2)。2020-12-31腹水生化: 总蛋白33.1 g/L, 乳酸脱氢酶2330 U/L, 腺苷脱氨酶69 U/L, 葡萄糖3.53 mmol/L。2021-1-2腹水生化: 总蛋白21.3 g/L, 乳酸脱氢酶1868 U/L, 腺苷脱氨酶68 U/L, 葡萄糖4.46 mmol/L。2021-1-4腹水细胞蜡块: 镜下见淋巴细胞及间皮细胞。2021-1-5腹水常规: 黄色浑浊液体, 细胞总数 $6504 \times 10^6/L$ , 白细胞 $3504 \times 10^6/L$ , 红细胞 $3000 \times 10^6/L$ , 单个核细胞 $3382 \times 10^6/L$ , 单个核细胞百分比96.6%, 李凡它试验阳性。2021-1-5腹水脱落细胞学检查: 镜下见大量淋巴细胞, 较多量巨嗜细胞, 少量间皮细胞及中性粒细胞, 未见明显异型细胞。2021-1-4患者外院完善PET/CT检查: 肝包膜、腹膜、网膜、肠系膜广泛弥漫增厚, FDG代谢异常增高, 需考虑肿瘤和结核性病变, 以恶性肿瘤转移可能, 建议腹股沟区淋巴结穿刺活检; 密度稍高的腹水(假性粘液瘤?); 肝脏多发稍低密度结节影, FDG代谢异常增高, 多考虑转移瘤; 胸骨左旁/膈上、下、腹膜后、双侧腹股沟多发淋巴结肿大, FDG代谢异常增高; 左肺上叶多发结节状、索条状影, 考虑良性病灶; 纵隔4组、5组、7组、10组炎性小淋巴结; 颅脑未见占位及异常放射性浓聚; 全身其他骨骼及关节形态、密度及放射性分布未见明显异常。2021-1-7右侧腹股沟淋巴结恶性肿瘤, 建议切除送检(图3)。为进一步明确诊断, 请肿瘤科、胃肠外科、病理科、影像科、肝胆外科、呼吸科、血液科行扩大会诊。经讨论后一致行右侧腹股沟淋巴结切除, 送病理。2021-1-14病理: 右侧腹股沟淋巴结考虑为非霍奇金淋巴瘤(图4)。2021-1-18病理: (右腹股沟淋巴结)送检淋巴结结构破坏, 可见中等大小的细胞弥漫浸润, 其中可见少量多核的大细胞, 肿瘤细胞胞浆中等, 淡红染至半透亮, 细胞核较大, 约为组织细胞核大小, 核膜可见, 可见小核仁, 可见较多肿瘤细胞凋亡及核碎片, 核分裂可见, 结

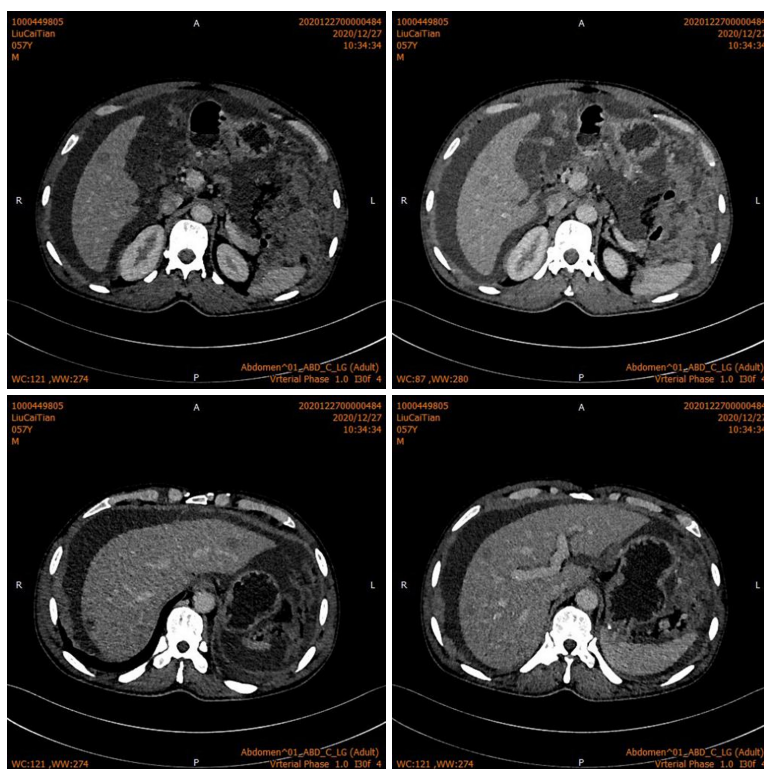


图 1 患者腹部CT结果提示肝多发占位.

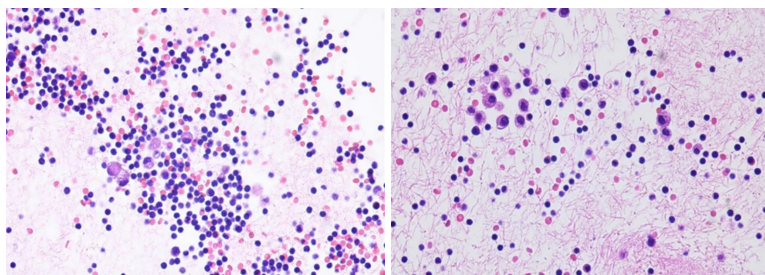


图 2 腹水脱落细胞学结果.

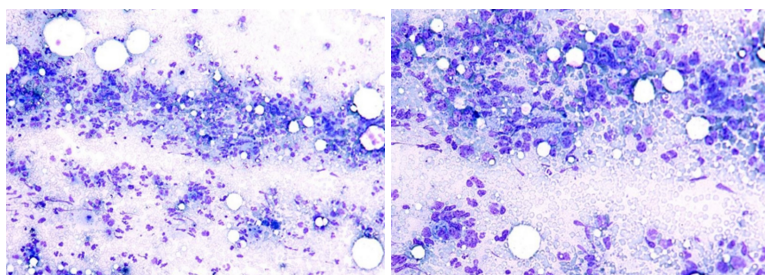


图 3 患者右侧腹股沟淋巴结穿刺活检结果.

合形态及免疫组化符合伴有BCL-2、BCL-6和C-myc表达的高级别B细胞淋巴瘤, 建议行分子学检测(图5). 免疫组化: 2100394-A02#: CD20(-)、CD79a弱阳(+), PAX-5(+), Bcl-2(部分膜+), Bcl-6(+), CD10(+), CD21(-), CD23(膜+), C-myc约70%(+), MUM-1(-), CyclinD1 (散在+), CXCL-13(-), CD5(-), CD7(-)

), CD43(-), Ki-67(约95%+), CD3(-), CD19(+), CD99(+), CD31(+), TDT(-), CD34(-), CD117(-), CD15(-), MPO(-).

## 2 最终诊断

非霍奇金淋巴瘤、腹腔积液、胸腔积液、肺部感染、



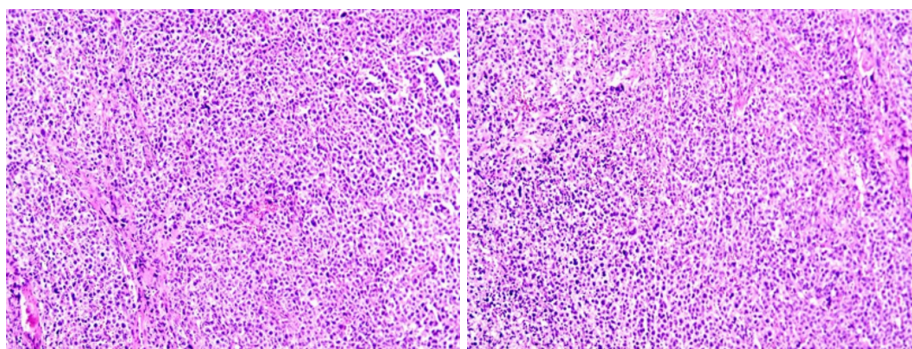


图 4 患者右侧腹股沟淋巴结切除后活检结果.

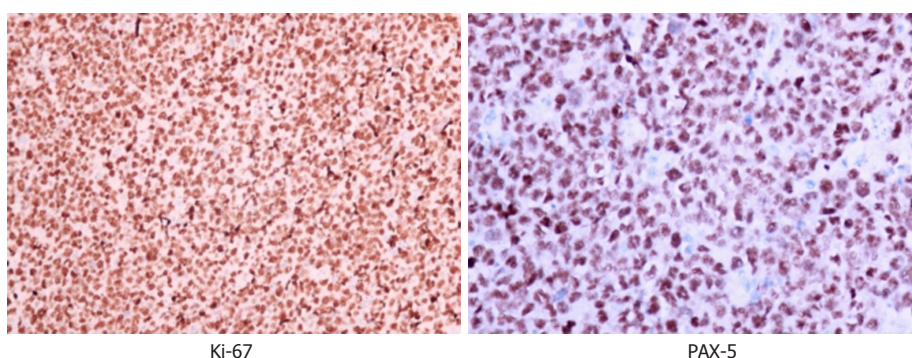


图 5 患者右侧腹股沟淋巴结免疫组化结果.

直肠息肉、糜烂性胃炎.

### 3 治疗

该患者病理考虑淋巴瘤后转入肿瘤科拟行进一步治疗. 然而, 在等待免疫组化的期间, 患者及家属要求放弃治疗, 自动出院.

### 4 结果和随访

经电话随访, 该患者已于出院后1 mo内死亡.

### 5 讨论

淋巴瘤起源于发生突变的单个淋巴细胞, 其发生大多与免疫应答过程中淋巴细胞增殖分化产生的某种免疫细胞恶变有关, 是免疫系统的恶性肿瘤. 非霍奇金淋巴瘤是一组具有不同组织学特点和起病部位的淋巴瘤, 易发生早期远处扩散. 男性较女性常见, 淋巴结、扁桃体、脾及骨髓是最容易受累及的部位. 常常以高热或各系统脏器症状为主要表现<sup>[1]</sup>. 在消化系统中, 以回肠及胃较为常见. 本病以肝脏累及为首表现, 较少见.

该患者行CT检查提示肝脏及腹膜多发转移瘤, 仅提示腹膜后稍大淋巴结显示. 说明常规影像学检查有时难以发现淋巴结病灶. PET/CT可以显示淋巴瘤病灶及

部位, 必要时需考虑PET/CT检查<sup>[2]</sup>. 肝转移瘤常见的原发灶来源如肺部、胃肠道, 经过CT及胃肠镜检查, 均未发现阳性病灶, 此时应考虑更多的原发灶来源. 患者腹膜有转移, 但腹水脱落细胞学多次检查均未能找到癌细胞, 说明腹水脱落细胞学检查阳性率低, 腹膜活检或许更为直接有效. 最后外院行PET/CT提示腹股沟淋巴结肿大, 建议行穿刺活检. 说明前期体格检查对淋巴结肿大遗漏或者忽视. 我科行穿刺活检后, 病理结果提示淋巴结恶性肿瘤, 此时, 该病的诊断才有了进一步的头绪. 最后, 经多学科会诊, 将淋巴结切除送检, 病理结果才最终显示为非霍奇金淋巴瘤(图6).

### 6 结论

(1)本例患者入院后按肝占位查因完善相关检查, 体检时对浅表淋巴结肿大遗漏. 在临床中, 仔细全面的体格检查尤为重要, 作为临床医生的一项基本功, 仔细的问诊及体格检查水平, 仍然要不断地提高; (2)常规无创性影像学检查及有创内窥镜检查均未能发现原发病灶时, 可以考虑PET-CT检查; (3)腹水脱落细胞检查阳性率较低, 必要时腹膜活检. 腹膜活检有超声引导下穿刺活检、CT引导下穿刺活检以及腹腔镜下穿刺活检. 其中, 以腹腔镜下穿刺活检或者内镜下NOTES术穿刺活检结

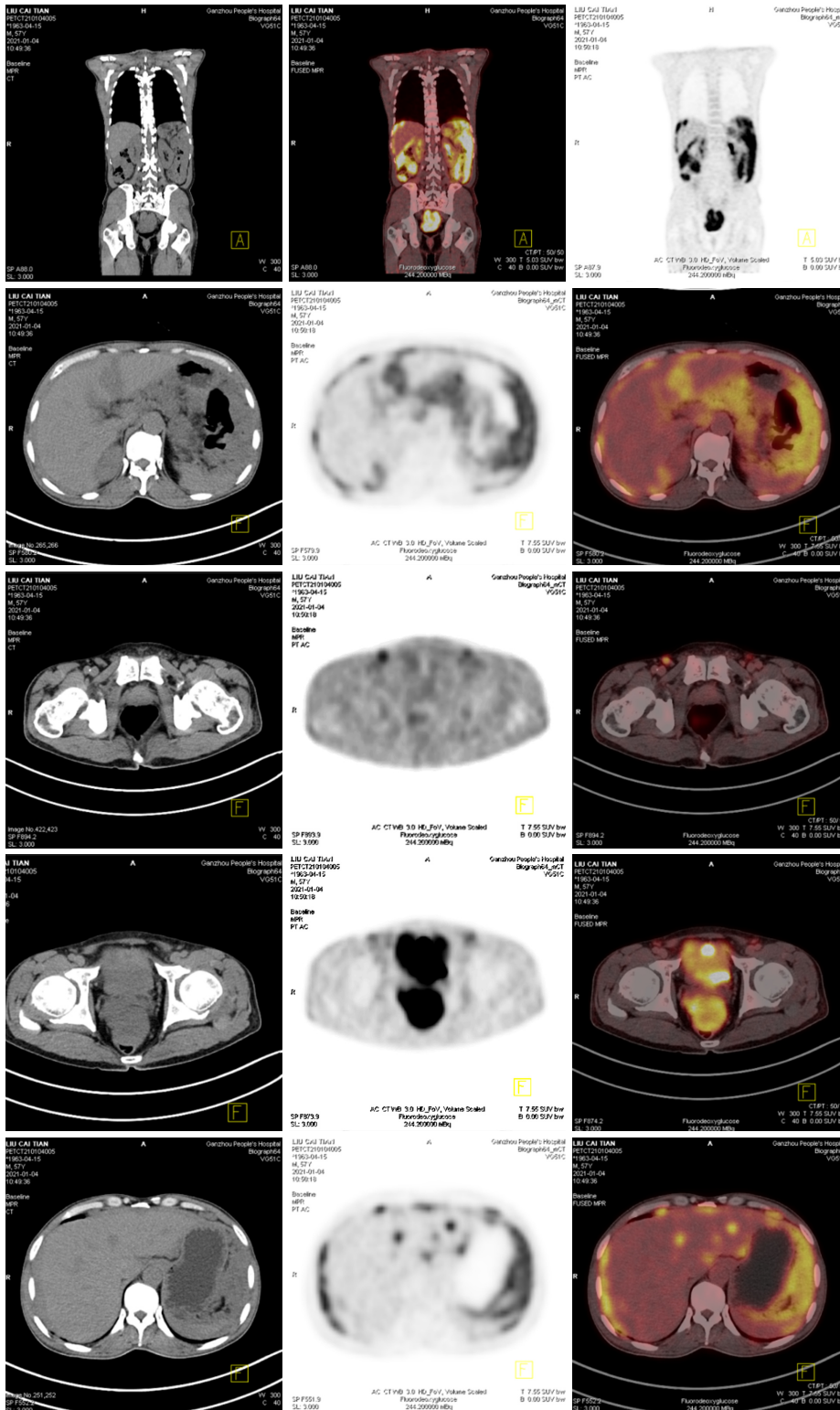


图 6 患者PET/CT结果提示肝包膜、腹膜、网膜、肠系膜广泛增厚, 肝脏多发低密度结节影, 双侧腹股沟淋巴结肿大, FDG代谢异常增高。

果更为有效<sup>[3]</sup>; (4)患者体表发现淋巴结肿大, 体表淋巴结活检相对更简易, 因此选择淋巴结活检。由于针吸穿刺所取组织太少, 不利于淋巴瘤的完整诊断。故本案例前期行淋巴结穿刺活检未能确诊。如发现淋巴结肿大,

建议完整切除送活检, 更利于疾病的诊断。

## 7 参考文献

- 林果为, 王吉耀, 葛均波. 实用内科学(下册). 第15版. 北京: 人民

卫生出版社 2017; 1793-1808

- 2 Perry C, Herishanu Y, Metzger U, Bairey O, Ruchlemer R, Trejo L, Naparstek E, Sapir EE, Polliack A. Diagnostic accuracy of PET/CT in patients with extranodal marginal zone MALT lymphoma. *Eur J Haematol* 2007; 79: 205-209 [PMID: 17662066]

DOI: 10.1111/j.1600-0609.2007.00895.x]

- 3 沈文拥, 吴涛, 唐静, 卢丹萍, 魏莎, 刘爱民. 腹腔镜和经胃的自然腔道内镜手术在不明原因腹水诊断中的临床应用比较. *中国内镜杂志* 2017; 23: 56-60 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-1989.2017.01.011]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》正文要求

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



## 1 投稿总则

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

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

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

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

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

1.6 出版 《世界华人消化杂志》由Baishideng Publishing Group (BPG)编辑和出版. BPG联系地址如下: 7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto: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](mailto:wcjd@wjgnet.com)

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任王金磊, 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](mailto:j.l.wang@wjgnet.com)

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

<http://www.wjgnet.com>

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

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

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

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

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

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

## 2 手稿要求

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

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

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

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

2.4 计量单位 手稿应采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量, 如30 kDa改为*Mr* 30000或30 kDa (*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>* (*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u (小写正体). 计量单位在+、-及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *Mr*明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸应改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸应改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物用mmol/L; 胆红素、蛋白结合碘、肌酐、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸用μmol/L; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 国际代号应规范标识, 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5

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

2.5 统计学符号 统计学符号包括: (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写*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<sup>a</sup>*P*<0.05或<sup>b</sup>*P*<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用<sup>c</sup>*P*<0.05和<sup>d</sup>*P*<0.01; 第三套为<sup>e</sup>*P*<0.05和<sup>f</sup>*P*<0.01等.

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

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

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

### 3 手稿全文中文格式

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

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

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

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

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所



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

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

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

传真: 0351-4086337

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

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

#### 0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

#### 1 材料和方法

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

#### 2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

#### 3 讨论

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

A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用<sup>a</sup> $P<0.05$ 或<sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则用<sup>c</sup> $P<0.05$ 和<sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ 和<sup>f</sup> $P<0.01$ .  $P$ 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 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达.

志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

#### 4 参考文献

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

#### 4 手稿英文摘要书写要求

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

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;

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

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

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

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

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

## 5 手稿写作格式实例

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

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

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

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

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

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

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



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



ISSN 1009-3079

