

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2023 年 4 月 28 日 第 31 卷 第 8 期 (Volume 31 Number 8)



8 / 2023

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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



文献综述

- 299 HBV慢性感染诱导的染色体超倍化及靶向治疗策略

施旭佳, 尧晨光, 李涵砾, 魏艳红, 胡康洪

基础研究

- 307 长链非编码RNA PVT1诱导直肠癌细胞增殖、抑制凋亡并通过上调Atg5诱导其自噬

朱渊东, 刘海源, 雷鑫明, 彭雪强

临床研究

- 316 代谢相关脂肪性肝病基于中国居民膳食指南的个体化干预研究

贺登花, 张勇湛, 徐亮, 张颖, 裴佳佳, 闫忠芳

- 326 微生态制剂联合二甲双胍在T2DM伴IBS中的应用效果分析

陈秀梅, 雷旭伟, 吴筱芬

临床实践

- 334 芍药苷通过调控巨噬细胞活性抗幽门螺杆菌作用及其机制研究

徐微, 徐建光, 何雪云, 林小花

- 340 国产内镜新光学染色技术对直径小于2 cm结直肠息肉病变的临床应用价值

岳倩茹, 林芳

消 息

- 315 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
325 《代谢相关脂肪性肝病肝外并发症》书讯
333 《世界华人消化杂志》正文要求
346 《世界华人消化杂志》修回稿须知

封面故事

朱传武, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 苏州市第五人民医院(苏州大学附属传染病医院)感染、肝病科。江苏省肝病临床重点专科、苏州市传染病重点学科、苏州市肝炎重点专科学术带头人。主要从事各类肝病、感染病的临床、教学和科研工作。在国家、省、市级肝病和感染病学学会、协会担任一定的学术职务。主持国家自然科学基金、省级和市级科研课题20余项, 获得20余项省、市级科技奖励, 在国内外学术期刊发表论文140余篇, 其中SCI论文40篇。

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 郭旭; 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 2023-04-28

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)

共同主编

党双锁, 博士, 教授, 研究员, 主任医师, 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

郭晓钟, 博士, 教授, 110840, 辽宁省沈阳市, 北部战区总医院消化内科

霍丽娟, 博士, 主任医师, 030001, 山西省太原市, 山西医科大学第一医院消化内科

江学良, 博士, 教授, 250001, 山东省济南市, 山东中医药大学第二附属医院消化中心

田艳涛, 博士, 教授, 主任医师, 100021, 北京市, 国

家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院胰胃外科

王小众, 博士, 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, 博士, 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, 博士, 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](https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm)

编辑部

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室
电话: +86-10-85381901

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

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

特别声明

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

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



Contents

Volume 31 Number 8 April 28, 2023

REVIEW

- 299 Chromosome hyperploidy induced by chronic hepatitis B virus infection and its targeted therapeutic strategy
Shi XJ, Yao CG, Li HL, Wei YH, Hu KH

BASIC RESEARCH

- 307 Long non-coding RNA PVT1 induces proliferation, inhibits apoptosis, and induces autophagy by up-regulating Atg5 in rectal cancer cells
Zhu YD, Liu HY, Lei XM, Peng XQ

CLINICAL RESEARCH

- 316 Individualized intervention for metabolic fatty liver disease based on Dietary Guidelines for Chinese Residents
He DH, Zhang YZ, Xu L, Zhang Y, Pei JJ, Yan ZF
- 326 Therapeutic effects of microecological agents combined with metformin in type 2 diabetes mellitus with irritable bowel syndrome
Chen XM, Lei XW, Wu XF

CLINICAL PRACTICE

- 334 Paeoniflorin exhibits anti-*Helicobacter pylori* activity by regulating macrophage activity
Xu W, Xu JG, He XY, Lin XH
- 340 Diagnostic value of a novel endoscopic optical staining technique for colorectal polyps less than 2 cm in diameter
Yue QR, Lin F

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 31 Number 8 April 28, 2023

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Chuan-Wu Zhu, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, The Fifth People's Hospital of Suzhou (The Affiliated Infectious Diseases Hospital of Soochow University), No. 10 Guangqian Road, Xiangcheng District, Suzhou 215131, Jiangsu Province, China. zhuchw@126.com

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*

Review Editor: *Yan-Liang Zhang*

Production Editor: *Yan-Liang Zhang*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Xu Guo*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date April 28, 2023

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

CO-EDITORS-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

Xiao-Zhong Guo, Professor, Department of Gastroenterology, North Theater General Hospital, Shenyang 110840, Liaoning Province, China

Li-Juan Huo, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

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

Yan-Tao Tian, Professor, Chief Physician, National Cancer Center/Department of Pancreatic and Gastric Surgery, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing

100021, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Jin-Lei Wang, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381901

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2023 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.

HBV慢性感染诱导的染色体超倍化及靶向治疗策略

施旭佳, 尧晨光, 李涵涿, 魏艳红, 胡康洪

施旭佳, 尧晨光, 李涵涿, 魏艳红, 胡康洪, 湖北工业大学中德生物医学中心; 教育部及国家外专局细胞调控与分子药理学“111”创新引智基地; 湖北省/教育部工业发酵省部共建协同创新中心 湖北省武汉市 430068

施旭佳, 硕士研究生, 研究方向为分子病毒学及生物信息学.

基金项目: 2022年湖北省科技厅重点研发计划立项项目, No. 2022BCA018.

作者贡献分布: 此课题由胡康洪、施旭佳共同设计; 论文写作由施旭佳及胡康洪完成; 论文审阅及修改由施旭佳、尧晨光、李涵涿及魏艳红完成.

通讯作者: 胡康洪, 二级教授, 430068, 湖北省武汉市洪山区南李路28号, 湖北工业大学中德生物医学中心. hukh@hbut.edu.cn

收稿日期: 2023-03-05

修回日期: 2023-03-29

接受日期: 2023-04-24

在线出版日期: 2023-04-28

Chromosome hyperploidy induced by chronic hepatitis B virus infection and its targeted therapeutic strategy

Xu-Jia Shi, Chen-Guang Yao, Han-Luo Li, Yan-Hong Wei, Kang-Hong Hu

Xu-Jia Shi, Chen-Guang Yao, Han-Luo Li, Yan-Hong Wei, Kang-Hong Hu, Sino-German Biomedical Center; National “111” Center for Cellular Regulation and Molecular Pharmaceutics; Cooperative Innovation Center of Industrial Fermentation (Ministry of Education & Hubei Province), Hubei University of Technology, Wuhan 430068, Hubei Province, China

Supported by: Key R&D Project of Hubei Province (Social Development) in 2022, No. 2022BCA018.

Corresponding author: Kang-Hong Hu, Professor, Sino-German Biomedical Center, Hubei University of Technology, No. 28 Nanli Road, Hongshan District, Wuhan 430068, Hubei Province, China. hukh@hbut.edu.cn

Received: 2023-03-05

Revised: 2023-03-29

Accepted: 2023-04-24

Published online: 2023-04-28

Abstract

Chronic hepatitis B virus (HBV) infection induces chromosomal hyperploidy (including aneuploidy and polyploidy) and chromosomal instability in hepatocytes, which is one of the main causes of primary hepatocellular carcinoma (HCC). Although hepatocytes can regulate polyploidization of chromosomes under normal conditions, it is difficult to regulate hyperploidy caused by HBV infection and thus carcinogenesis. Studies have shown that HBV can cause dysregulation of many signal pathways such as PLK1/PRC1, and induce chromosome hyperploidy and malignant transformation of hepatocytes. Herein we review the mechanism of HBV infection-induced chromosomal hyperploidy of hepatocytes to cause hepatocarcinogenesis and the advances in research of drugs targeting chromosomal hyperploidy.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B virus; HBV; Chronic hepatitis B infection; Polyploidy; Aneuploidy; Hyperploidy; HCC

Citation: Shi XJ, Yao CG, Li HL, Wei YH, Hu KH. Chromosome hyperploidy induced by chronic hepatitis B virus infection and its targeted therapeutic strategy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(8): 299-306

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/299.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v31.i8.299>

摘要

慢性乙型肝炎病毒感染(chronic hepatitis B infection, CHB)诱导肝细胞的染色体超倍化(包括非整倍化和多倍化)及染色体不稳定性,是导致原发性肝细胞癌(primary hepatocytic carcinoma, HCC)发生的主要原因之一。尽管肝细胞对于正常条件下染色体复制的多倍

体化具有调节作用, 但对于CHB引起的超倍化难以调节从而致癌. 研究表明, 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)使得多条信号途径如PLK1/PRC1失调, 诱导肝细胞染色体超倍化并发生恶性转化. 本论文综述了HBV感染诱导肝细胞染色体超倍化导致肝癌发生的机制以及靶向染色体超倍化药物研究的最新进展.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 乙型肝炎病毒; 慢性乙型肝炎病毒感染; 多倍体; 非整倍化; 超倍化; 原发性肝细胞癌

核心提要: 本文综述了乙型肝炎病毒通过上调Polo样激酶1/蛋白调节因子1和细胞周期蛋白E1以及介导细胞融合, 导致了肝细胞染色体成倍增加或非成倍增加, 引起染色体不稳定性及细胞周期紊乱, 从而促进肝细胞的致癌转化.

文献来源: 施旭佳, 尧晨光, 李涵涵, 魏艳红, 胡康洪. HBV慢性感染诱导的染色体超倍化及靶向治疗策略. 世界华人消化杂志 2023; 31(8): 299–306

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/299.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i8.299>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)是嗜肝病毒科的DNA病毒成员之一, 其特异性感染肝脏, 从而诱发慢性肝炎(chronic hepatitis B, CHB)、肝硬化及肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC), 全球约50%的HCC患者感染HBV^[1].

既往研究表明, HBV可通过基因整合或突变引起宿主细胞有丝分裂异常, 染色体数目成倍或非成倍增加, 这种现象被称为染色体超倍化. 染色体数目成倍增加的现象称为多倍化, 而非成倍增加的现象称为非整倍化. HBV诱导的超倍化、染色体不稳定性(chromosomal instability, CIN)、抑制免疫微环境及端粒破坏等途径是HCC形成的重要因素(图1)^[2-4]. 高度CIN会使细胞死亡, 然而, 在多种肿瘤细胞中, CIN导致的突变累积、拷贝数变异等活动使细胞适应不利环境, 驱动癌症发生^[5,6]和转移^[7], 并导致肿瘤患者预后不良与化疗抵抗^[8,9]. 此外, 近乎一半的CIN可由细胞分裂过程中染色体出现的超倍化(即多倍化和/或非整倍化)通过染色体错误分离或畸变等途径诱导产生^[10].

一个完整的细胞周期分为G0、G1、S、G2、M期, 其中G1、S和G2期又称为有丝分裂间期, 主要为有丝分裂M期储备充足的核酸和蛋白质来复制基因组. 当胞质分裂阻滞或M期被截断时, 细胞会停滞在间期或M期从

而产生多倍体细胞^[11,12]. 有丝分裂过程中还会发生纺锤体装配检查点缺陷、内聚缺陷、Merotelic附着, 中心体扩增等错误产生超倍化、DNA损伤与CIN等事件, 均有助于肿瘤的发生和发展^[13].

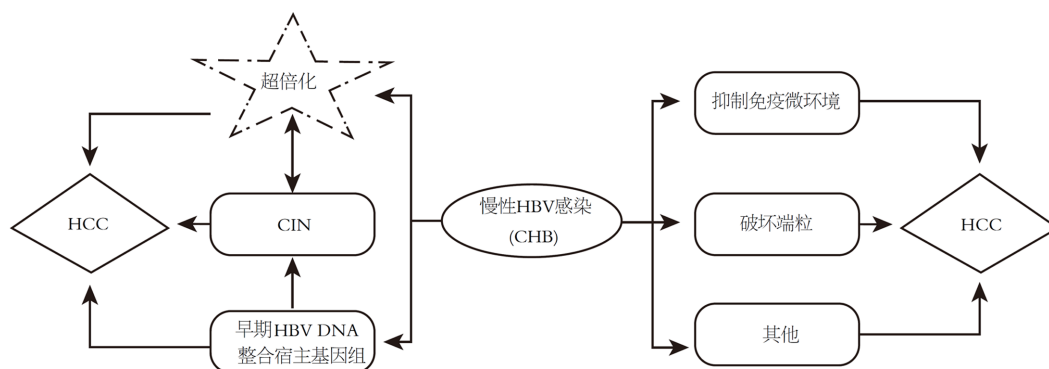
在正常肝细胞中, 多倍体细胞如四倍体或八倍体约占25%, 这样的多倍体化与终末分化和衰老相关^[14]. 多倍体细胞的有丝分裂有两种形式, 一种是多极分裂产生多个非整倍体细胞, 另一种是双极分裂产生两个多倍体细胞, 产生的多倍体细胞还会进一步分裂产生多倍体细胞或非整倍体细胞. 正常肝细胞的多倍体化是一种复杂的、有序的生理过程, 受到多种因素的调控, 包括细胞周期调控因子、细胞信号通路、肿瘤抑制基因等. 在这种调控下, 细胞可以进行有序的多倍化, 而不会导致HCC^[13-18]. 部分肝切除术、黄曲霉素、代谢过载或辐射等也能诱导肝细胞多倍体比例的上升^[14]. 在HBV与HCV感染相关肝炎、肝纤维化、肝硬化及肝癌中也发现肝细胞的倍性改变, 表现为多倍体化或非整倍体化, 受病毒对细胞的影响, 这些多倍体化或非整倍体化难以经细胞调控而修复从而发生致癌级联反应^[19,20].

因此, 以上证据表明, HBV与超倍化及CIN具有高度相关性, 超倍化可能作为HBV诱导HCC的一条额外途径.

1 慢性HBV感染诱导肝细胞染色体超倍化及致癌转化的途径

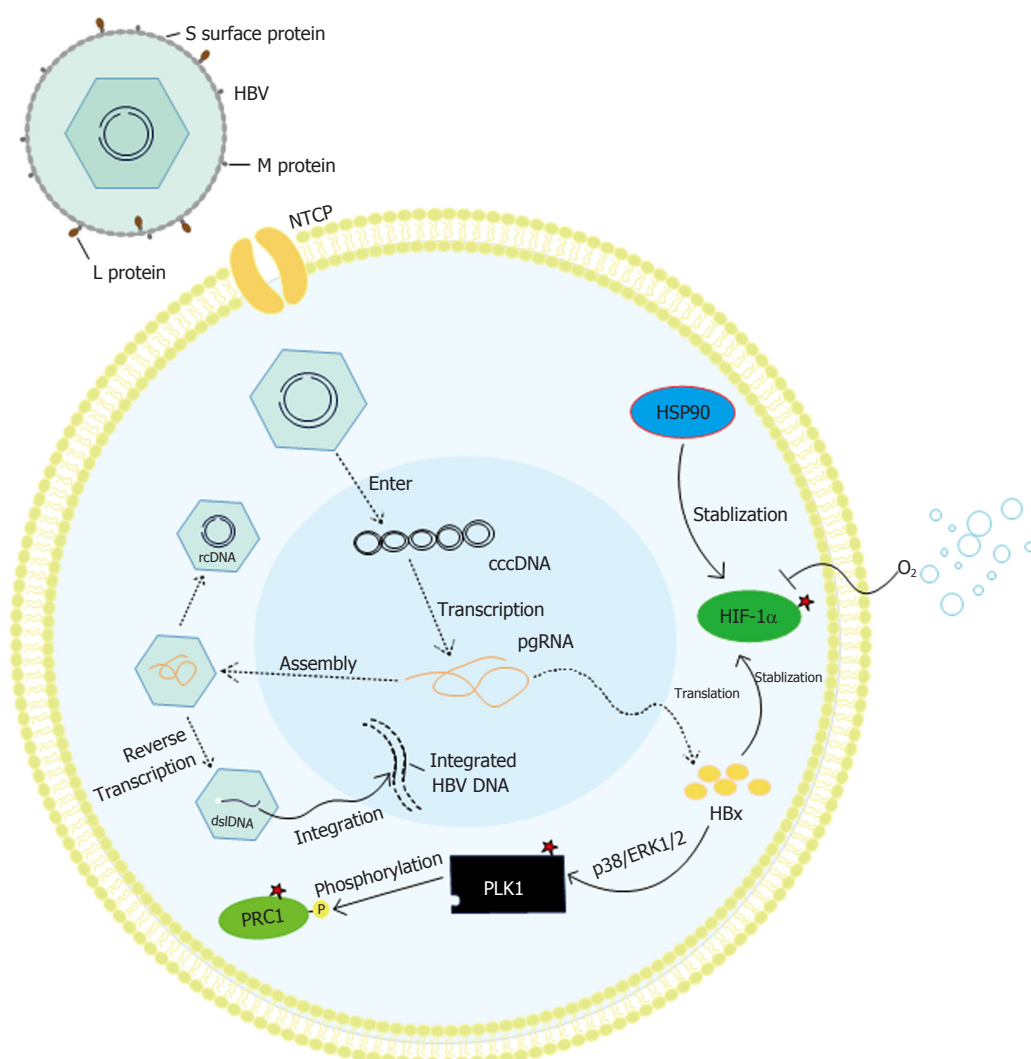
1.1 HBV上调Polo样激酶1 Polo样激酶1(polo-like kinase 1, PLK1)是有丝分裂和非有丝分裂过程中的重要调节因子之一, 在多种癌症中高表达, 其可调节包括中心体成熟、姐妹染色单体分离、纺锤体组装、有丝分裂退出、DNA复制、DNA损伤反应、G2 DNA损伤检查点恢复、染色体动力学和微管动力学等多个环节^[21,22], 因此其功能障碍可能促进癌症发生发展并与预后不良相关^[22-24].

HBV表达的HBx蛋白有多种生物学功能, 包括参与解除对细胞周期检查点的调控、激活/抑制细胞凋亡、提高糖异生水平、激活主要代谢信号通路、表观遗传调控等^[25,26]. 在HBx转基因小鼠中, HBx能通过p38和ERK1/2途径上调PLK1(图2), 诱导细胞周期检查点破坏, 导致肝细胞多倍化、双核性减少、DNA损伤累及和炎症, 从而促进致癌转化(同时HCC祖细胞标记物Ly6D表达上升)^[27]. 另外, 值得注意的是, 有研究显示^[28], 在表达HBx的4pX-1细胞系中, HBx介导的多倍化可能与致癌转化无直接关系, 在此过程中, PLK1诱导的DNA损伤累及才是致癌转化的关键. 免疫共沉淀分析其可能是通过下调ZNF198和SUZ12, 从而增强HBV复制、DNA损伤及



DOI: 10.11569/wjcd.v31.i8.299 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 1 CHB导致肝癌简易机制图. HBV感染可直接通过病毒蛋白抑制免疫微环境、破坏端粒和超倍化等途径促进HCC的发生发展, 也可通过早期HBV DNA整合宿主基因组和或诱导CIN等途径促进HCC的进展, 同时, CIN可作为超倍化诱因, 而超倍化也可诱导CIN. HBV: 乙型肝炎病毒; CHB: 慢性乙型肝炎病毒感染; CIN: 染色体不稳定性; HCC: 肝细胞癌.



DOI: 10.11569/wjcd.v31.i8.299 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 2 HBV感染导致超倍化机制示意图. HBV病毒颗粒通过其肝脏特异性受体NTCP进入细胞后, 其基因组可以转化为cccDNA从而转录pgRNA作为翻译模板, 得到包括HBx在内的病毒蛋白质, 进而上调PLK1、PRC1及CCNE1, 诱导超倍化产生; 病毒基因组也可整合入宿主基因组中, 通过前述各途径诱导超倍化, 超倍化包括非整倍体化和多倍体化. HSP90和HIF-1 α 可促进癌细胞中非整倍体化诱导的细胞耐药及存活. 红色星号标记为直接诱导超倍化的蛋白靶标. HBV: 乙型肝炎病毒; NTCP: 钠牛磺胆酸共转运多肽; cccDNA: 乙肝病毒共价闭合环状DNA; rcDNA: 松弛环状DNA; dsDNA: 双链线性DNA; pgRNA: 前基因组RNA; HBx: 乙肝病毒X蛋白; PLK1: Polo样激酶1; PRC1: 蛋白调节因子1; CCNE1: 细胞周期蛋白E1; HSP90: 热激蛋白90; HIF-1 α : 缺氧诱导因子-1 α ; ERK1/2: 细胞外调节蛋白激酶1/2.

表 1 迄今已报道的针对超倍化相关的部分小分子抑制剂及其靶点

作用靶点	抑制剂	参考文献
PLK1	TAK-960	[47]
	BI-2536	[48]
	GSK461364	[48]
	Volasertib	[49]
	Rigosertib	[50]
HSET/KifC1	CW069	[52]
	AZ82	[53]
	SR31527	[54]
PRC1	-	-
HSP90	17-AAG	[58]
	Geldanamycin derivatives	[58]
	XL188	[58]
cccDNA	CRISPR/Cas gene editing	[65]
	CRISPR/Cas base editing	[65]
	Artificial transcription factor	[66]

PLK1: Polo样激酶1; HSET/KifC1: 驱动蛋白家族成员C1; PRC1: 蛋白调节因子1; HSP90: 热激蛋白90; cccDNA: 乙肝病毒共价闭环环状DNA。

调节p53活性, 促进转化^[29]。另一项研究也提出^[30], 70%的HBV慢性感染患者体内LHBS阳性肝细胞的细胞核大小及超倍化水平均显著高于LHBS阴性肝细胞, 可能是由LHBS反式激活PLK1, 从而破坏G2/M检查点, 诱导胞质分裂失败, 但LHBS具体如何上调PLK1的机制尚不明晰。二倍体细胞胞质分裂失败应产生四倍体/多倍体, 但该研究显示大多数LHBS阳性肝细胞染色体数为51条-70条(非整倍体), 可能的解释为LHBS阳性细胞的多倍体化伴随着异常的多极分裂, 这最终导致超倍体产生^[30]。

PLK1可以调节有丝分裂后期胞质分裂蛋白调节因子(protein regulator of cytokinesis 1, PRC1)的激活(图2)^[12], PRC1是与CIN相关性排名第二的基因^[31], 通过稳定纺锤体中间区结构来稳定促进胞质分裂, 其过表达与敲低均可引起细胞分裂异常^[12], 进一步促进非整倍体、肿瘤发生和不良临床患者结果^[32-37]。由此可见, PLK1是HBV相关超倍化诱导致癌转化过程中的关键蛋白, 但HBV到底是通过怎样的相互作用来控制PLK1还尚不清楚。

1.2 HBV DNA与宿主染色体的整合并上调CCNE1 作为一种DNA病毒, HBV可以通过其双链线性DNA(dsl DNA)将基因整合到宿主染色体(图2), 在约80%-90%的HBV感染的HCC患者肝癌细胞中发现HBV DNA与宿主细胞染色体整合现象^[38,39]。HBV DNA整合到宿主基因组的位置存在随机性, 但在HCC中, HBV DNA与宿主细胞基因整合位点主要富集在CpG岛(与DNA甲基化有关)、端粒及一些DNA易突变或重排的基因组区域^[40]。

细胞周期蛋白E1(cyclin E1)细胞周期的G1和S期

发挥作用, 促进细胞周期顺利完成S期, 编码cyclin E1的CCNE1基因座被观察到在许多类型的癌细胞中扩增, 而HBV基因能整合在CCNE1基因附近, 并通过病毒本身的增强子使CCNE1过表达(约32倍), 从而诱导肝细胞超倍化, 选择性诱导肝脏细胞CIN和DNA双链断裂(DBS)诱导肝细胞癌变^[41,42]。此外, CCNE1还可通过过度激活PLK1等因子来破坏细胞分裂的动力学^[41]。

1.3 HBV的L和S蛋白具有促进多细胞融合的潜力 在一些病毒诱导作用下, 宿主细胞会发生融合现象, 从而产生多倍体细胞。HCV和HPV含有细胞融合诱导蛋白(HCV的E1、E2蛋白, HPV的E5蛋白)导致合胞体形成并诱导细胞多倍体化^[43,44]。值得一提的是, 细胞融合过程如HPV介导的细胞融合包括细胞质膜与核膜的融合, 质膜融合后通常会形成双核多倍体细胞, 这些细胞大多会死亡, 只有少部分细胞发生核膜融合变为单核多倍体细胞, 这些细胞具有不稳定的基因组和基因表达, 最终容易发展成为癌细胞^[44]。

有研究表明, HBV的L(preS1)和S蛋白是HBV能够发生膜融合从而进入细胞的关键因素^[45]。ERp57蛋白能促进HBV表面S蛋白交叉链二硫键构象变化, 导致preS1中融合肽的暴露, 激活HBV的膜融合能力^[45]。更重要的是, L、S蛋白在胞内和胞外均可介导细胞融合, 且这种融合不依赖于与HBV感染受体牛磺胆酸钠共转运肽(NTCP)相互作用和胞吞作用^[45]。有研究表示^[10], 在HCC肝组织和慢性乙肝肝炎中有更高的ERp57的表达, 且与不良预后有关。

2 靶向HBV相关超倍化药物研究进展

目前, 肝癌化疗药物主要有索拉非尼、阿替利珠单抗、贝伐珠单抗等, 但由于耐药、肿瘤异质性等问题的存在, 这些化疗药物的治疗效果对部分患者仍不理想。对于CHB诱导的超倍化相关HCC, 抑制HBV大表面蛋白(HBV large surface protein, LHBs)、HBx和宿主PLK1、PRC1的表达以及使低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1, HIF-1 α)失稳可能是治疗HCC的有效策略(表1)。

PLK1和PRC1为胞质分裂关键调节因子, 降低PLK1和PRC1的表达或抑制其活性可以抑制肿瘤的生长^[46]。PLK1在多种癌细胞中特异性高表达, 目前, 已开发出一些直接靶向PLK1的小分子抑制剂如TAK-960、BI-2536、GSK461364^[47,48]、Volasertib^[49]和Rigosertib^[50]。这些分子抑制剂已经被证明可以单独或联合其他药物抑制多种肿瘤^[49-51]。此外, 由于PLK1致中心体扩增的特点^[6], 癌细胞通过中心体聚集而诱导细胞发生非整倍化, 因此一系列破坏细胞中心体异常聚集的药物也值得我们关注^[13], 如HSET/Kifc1抑制剂CW069、AZ82和SR31527^[52-54]。

PRC1参与纺锤体中间区的形成及平衡着丝粒张力, 这决定了其在细胞分裂、染色体不稳定性及肿瘤异质性中存在的重要作用^[12]。遗憾的是, 目前仅有一些PRC1上游靶点的抑制剂, 如CBXs, BMI-1和RING1B的抑制剂^[55], 尚没有直接靶向PRC1的药物。PRC1在多种癌症中异常表达并与预后相关, 因此其还可作为预后相关生物标志物^[56]。

非整倍体细胞对毒性应激和代谢应激类化合物更敏感, 因此这类化合物可应用于HBV相关非整倍体导致的HCC^[13,57], 如HSP90抑制剂17-AAG、格尔德霉素衍生物和XL888^[58]或HSF1抑制剂, 从而加剧非整倍体蛋白折叠障碍^[59]。抑制HSP90的药物同时还能诱导HIF-1 α 降解^[60], 抑制HIF-1 α 蛋白水平可以降低高倍体细胞^[61]与肿瘤细胞非整倍体耐药性^[62,63]。非整倍体细胞还表现出神经鞘脂代谢失调, 导致促凋亡脂质神经酰胺水平升高, 使得增加神经酰胺水平的药物如神经酰胺类似物DL-PDMP对非整倍体细胞的毒性大于二倍体细胞, 促进非整倍体细胞凋亡^[13,64]。

清除HBV cccDNA是治疗HBV感染相关HCC的终极目标。鉴于cccDNA的致密超螺旋微染色体结构, 其很难从患者体内被清除, 现阶段的治疗策略主要为利用核苷(酸)类似物抑制HBV DNA复制或利用干扰素免疫抑制HBV DNA复制, 但这两种策略清除cccDNA的周期中位数约34年, 存在cccDNA整合至宿主基因组、病毒耐药或患者依从性差等问题。目前, 一些直接或间接靶向cccDNA的方法正在开发, 如基于CRISPR的基因编辑直

接降解cccDNA, 碱基编辑直接靶向cccDNA引发其甲基化、突变及降解^[65], 人工转录因子靶向HBV增强子 I 抑制其转录和复制^[66]。

HBV基因组与宿主细胞染色体整合后, HBV转录可逃避免疫监视从而长期潜伏在宿主体内, 为治疗HBV相关HCC带来了极大的挑战。HBV整合机制极具争议, 六种可能的模型被提出, 包括松弛环状DNA介导的单链缺口模型、直接重复序列介导的整合模型、“滚入”模型、部分序列同源模型、基于细胞酶介导的非同源末端连接和微同源性介导的末端连接^[67]。更加深入和清晰地解析cccDNA整合机制有助于开发未来针对HBV相关HCC的新疗法。

3 结论

流式细胞术和单细胞测序均证实正常肝组织中存在一定比例的多倍体肝细胞^[68], HBV感染进一步导致肝细胞的多倍化或非整倍化, 从而诱导广泛的染色体不稳定性及肿瘤的发生及转移。此外, 一些研究表明在化学诱导的肝细胞向HCC转化过程中, 细胞倍性减少, 可能是由于二倍体细胞而非多倍体细胞对隐性突变或有毒物质的保护更少^[7], 而在HBV感染的肝细胞, 倍性更倾向非整倍体变化。非整倍体化在土拨鼠肝炎病毒所致的土拨鼠肝癌细胞中也有发现^[32]。产生这种差异的可能解释是, HBV感染诱导肝细胞细胞周期或胞质分裂调节相关蛋白的失调^[67], 从而导致肝细胞染色体超倍化和肝癌的发生。

HBV可通过多种途径使PLK1及PRC1失调从而诱导超倍化。目前, 它们的一些抑制剂已经进入开发阶段。此外, p53也在多种病毒介导的肿瘤转化中发挥重要的作用^[69,70]。p53的存在与激活可以防止细胞周期异常, 进而控制细胞倍性和染色体不稳定性^[71]。尽管HBV感染初期导致的非整倍体可能并不影响p53功能, 但在HBV相关多倍体肝癌细胞中p53失活, 这提示了p53与HBV相关超倍化有着密切的联系^[41,72]。近来, 两种p53功能恢复剂的出现使细胞检查功能的恢复成为可能, 包括三氧化二砷和更为低毒的酒石酸锑钾^[73,74]。

HBV与超倍化及CIN之间的关联可能还不止如此, 生物信息学分析发现与CIN相关性最强的TPX1基因^[31]在HBV相关HCC中表达上调, 其上调可导致多核性及多倍化^[75], 参与HCC发生发展, 可以用作独立预后基因之一^[76,77]。

4 参考文献

- de Martel C, Maucourt-Boulch D, Plummer M, Franceschi S. World-wide relative contribution of hepatitis B and C viruses in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2015; 62: 1190-1200 [PMID: 26146815 DOI: 10.1002/hep.27969]

- 2 Jiang Y, Han Q, Zhao H, Zhang J. The Mechanisms of HBV-Induced Hepatocellular Carcinoma. *J Hepatocell Carcinoma* 2021; 8: 435-450 [PMID: 34046368 DOI: 10.2147/JHC.S307962]
- 3 Zhao LH, Liu X, Yan HX, Li WY, Zeng X, Yang Y, Zhao J, Liu SP, Zhuang XH, Lin C, Qin CJ, Zhao Y, Pan ZY, Huang G, Liu H, Zhang J, Wang RY, Yang Y, Wen W, Lv GS, Zhang HL, Wu H, Huang S, Wang MD, Tang L, Cao HZ, Wang L, Lee TL, Jiang H, Tan YX, Yuan SX, Hou GJ, Tao QF, Xu QG, Zhang XQ, Wu MC, Xu X, Wang J, Yang HM, Zhou WP, Wang HY. Genomic and oncogenic preference of HBV integration in hepatocellular carcinoma. *Nat Commun* 2016; 7: 12992 [PMID: 27703150 DOI: 10.1038/ncomms12992]
- 4 El Idrissi M, Hervieu V, Merle P, Mortreux F, Wattel E. Cause-specific telomere factors deregulation in hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2013; 32: 64 [PMID: 24020493 DOI: 10.1186/1756-9966-32-64]
- 5 Pino MS, Chung DC. The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology* 2010; 138: 2059-2072 [PMID: 20420946 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.12.065]
- 6 Gheghiani L, Wang L, Zhang Y, Moore XTR, Zhang J, Smith SC, Tian Y, Wang L, Turner K, Jackson-Cook CK, Mukhopadhyay ND, Fu Z. PLK1 Induces Chromosomal Instability and Overrides Cell-Cycle Checkpoints to Drive Tumorigenesis. *Cancer Res* 2021; 81: 1293-1307 [PMID: 33376114 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-20-1377]
- 7 Bakhom SF, Ngo B, Laughney AM, Cavallo JA, Murphy CJ, Ly P, Shah P, Sriram RK, Watkins TBK, Taunk NK, Duran M, Pauli C, Shaw C, Chadalavada K, Rajasekhar VK, Genovese G, Venkatesan S, Birkbak NJ, McGranahan N, Lundquist M, LaPlant Q, Healey JH, Elemento O, Chung CH, Lee NY, Imielenski M, Nanjangud G, Pe'er D, Cleveland DW, Powell SN, Lammerding J, Swanton C, Cantley LC. Chromosomal instability drives metastasis through a cytosolic DNA response. *Nature* 2018; 553: 467-472 [PMID: 29342134 DOI: 10.1038/nature25432]
- 8 Bakhom SF, Cantley LC. The Multifaceted Role of Chromosomal Instability in Cancer and Its Microenvironment. *Cell* 2018; 174: 1347-1360 [PMID: 30193109 DOI: 10.1016/j.cell.2018.08.027]
- 9 Sansregret L, Vanhaesebroeck B, Swanton C. Determinants and clinical implications of chromosomal instability in cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2018; 15: 139-150 [PMID: 29297505 DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.198]
- 10 Liu M, Du L, He Z, Yan L, Shi Y, Shang J, Tang H. Increased ERp57 Expression in HBV-Related Hepatocellular Carcinoma: Possible Correlation and Prognosis. *Biomed Res Int* 2017; 2017: 1252647 [PMID: 28373975 DOI: 10.1155/2017/1252647]
- 11 Gjelsvik KJ, Besen-McNally R, Losick VP. Solving the Polyploid Mystery in Health and Disease. *Trends Genet* 2019; 35: 6-14 [PMID: 30470486 DOI: 10.1016/j.tig.2018.10.005]
- 12 Li J, Dallmayer M, Kirchner T, Musa J, Grünwald TGP. PRC1: Linking Cytokinesis, Chromosomal Instability, and Cancer Evolution. *Trends Cancer* 2018; 4: 59-73 [PMID: 29413422 DOI: 10.1016/j.trecan.2017.11.002]
- 13 Levine MS, Holland AJ. The impact of mitotic errors on cell proliferation and tumorigenesis. *Genes Dev* 2018; 32: 620-638 [PMID: 29802124 DOI: 10.1101/gad.314351.118]
- 14 Celton-Morizur S, Desdouets C. Polyploidization of liver cells. *Adv Exp Med Biol* 2010; 676: 123-135 [PMID: 20687473 DOI: 10.1007/978-1-4419-6199-0_8]
- 15 Zhao JZ, Ye Q, Wang L, Lee SC. Centrosome amplification in cancer and cancer-associated human diseases. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2021; 1876: 188566 [PMID: 33992724 DOI: 10.1016/j.bbcan.2021.188566]
- 16 Brinkley BR. Managing the centrosome numbers game: from chaos to stability in cancer cell division. *Trends Cell Biol* 2001; 11: 18-21 [PMID: 11146294 DOI: 10.1016/S0962-8924(00)001872-9]
- 17 Kwon M, Godinho SA, Chandhok NS, Ganem NJ, Azioune A, Thery M, Pellman D. Mechanisms to suppress multipolar divisions in cancer cells with extra centrosomes. *Genes Dev* 2008; 22: 2189-2203 [PMID: 18662975 DOI: 10.1101/gad.1700908]
- 18 Donne R, Sangouard F, Celton-Morizur S, Desdouets C. Hepatocyte Polyploidy: Driver or Gatekeeper of Chronic Liver Diseases. *Cancers (Basel)* 2021; 13 [PMID: 34680300 DOI: 10.3390/cancers13205151]
- 19 Koike Y, Kamijyo K, Suzuki Y, Kiyosawa K, Nagata A, Furuta S, Nagata T. DNA content of hepatocytes in various stages of liver cirrhosis. *Liver* 1985; 5: 156-161 [PMID: 2995752 DOI: 10.1111/j.1600-0676.1985.tb00231.x]
- 20 Toyoda H, Bregerie O, Vallet A, Nalpas B, Pivert G, Brechot C, Desdouets C. Changes to hepatocyte ploidy and binuclearity profiles during human chronic viral hepatitis. *Gut* 2005; 54: 297-302 [PMID: 15647198 DOI: 10.1136/gut.2004.043893]
- 21 Zitouni S, Nabais C, Jana SC, Guerrero A, Bettencourt-Dias M. Polo-like kinases: structural variations lead to multiple functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15: 433-452 [PMID: 24954208 DOI: 10.1038/nrm3819]
- 22 Liu Z, Sun Q, Wang X. PLK1, A Potential Target for Cancer Therapy. *Transl Oncol* 2017; 10: 22-32 [PMID: 27888710 DOI: 10.1016/j.tranon.2016.10.003]
- 23 Ramani P, Nash R, Sowa-Avugrah E, Rogers C. High levels of polo-like kinase 1 and phosphorylated translationally controlled tumor protein indicate poor prognosis in neuroblastomas. *J Neurooncol* 2015; 125: 103-111 [PMID: 26318737 DOI: 10.1007/s11060-015-1900-4]
- 24 Iliaki S, Beyaert R, Afonina IS. Polo-like kinase 1 (PLK1) signaling in cancer and beyond. *Biochem Pharmacol* 2021; 193: 114747 [PMID: 34454931 DOI: 10.1016/j.bcp.2021.114747]
- 25 Slagle BL, Bouchard MJ. Role of HBx in hepatitis B virus persistence and its therapeutic implications. *Curr Opin Virol* 2018; 30: 32-38 [PMID: 29454995 DOI: 10.1016/j.coviro.2018.01.007]
- 26 Sartorius K, An P, Winkler C, Chuturgoon A, Li X, Makarova J, Kramvis A. The Epigenetic Modulation of Cancer and Immune Pathways in Hepatitis B Virus-Associated Hepatocellular Carcinoma: The Influence of HBx and miRNA Dysregulation. *Front Immunol* 2021; 12: 661204 [PMID: 33995383 DOI: 10.3389/fimmu.2021.661204]
- 27 Ahodantin J, Bou-Nader M, Cordier C, Mégret J, Soussan P, Desdouets C, Kremsdorf D. Hepatitis B virus X protein promotes DNA damage propagation through disruption of liver polyploidization and enhances hepatocellular carcinoma initiation. *Oncogene* 2019; 38: 2645-2657 [PMID: 30538294 DOI: 10.1038/s41388-018-0607-3]
- 28 Studach LL, Rakotomalala L, Wang WH, Hullinger RL, Cairo S, Buendia MA, Andrisani OM. Polo-like kinase 1 inhibition suppresses hepatitis B virus X protein-induced transformation in an in vitro model of liver cancer progression. *Hepatology* 2009; 50: 414-423 [PMID: 19472310 DOI: 10.1002/hep.22996]
- 29 Wang WH, Studach LL, Andrisani OM. Proteins ZNF198 and SUZ12 are down-regulated in hepatitis B virus (HBV) X protein-mediated hepatocyte transformation and in HBV replication. *Hepatology* 2011; 53: 1137-1147 [PMID: 21480320 DOI: 10.1002/hep.24163]
- 30 Li TN, Wu YJ, Tsai HW, Sun CP, Wu YH, Wu HL, Pei YN, Lu KY, Yen TT, Chang CW, Chan HL, Tao MH, Liou JY, Chang MD, Su IJ, Wang LH. Intrahepatic hepatitis B virus large surface antigen induces hepatocyte hyperploidy via failure of cytokinesis. *J Pathol* 2018; 245: 502-513 [PMID: 29862509 DOI: 10.1002/path.5102]
- 31 Carter SL, Eklund AC, Kohane IS, Harris LN, Szallasi Z. A signature of chromosomal instability inferred from gene expression profiles predicts clinical outcome in multiple human cancers. *Nat Genet* 2006; 38: 1043-1048 [PMID: 16921376 DOI: 10.1038/ng1861]
- 32 Dewhurst SM, McGranahan N, Burrell RA, Rowan AJ, Grönroos

- E, Endesfelder D, Joshi T, Mouradov D, Gibbs P, Ward RL, Hawkins NJ, Szallasi Z, Sieber OM, Swanton C. Tolerance of whole-genome doubling propagates chromosomal instability and accelerates cancer genome evolution. *Cancer Discov* 2014; 4: 175-185 [PMID: 24436049 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-0285]
- 33 Ganem NJ, Cornils H, Chiu SY, O'Rourke KP, Arnaud J, Yimlamai D, Théry M, Camargo FD, Pellman D. Cytokinesis failure triggers hippo tumor suppressor pathway activation. *Cell* 2014; 158: 833-848 [PMID: 25126788 DOI: 10.1016/j.cell.2014.06.029]
- 34 Vassilev A, Lee CY, Vassilev B, Zhu W, Ormanoglu P, Martin SE, DePamphilis ML. Identification of genes that are essential to restrict genome duplication to once per cell division. *Oncotarget* 2016; 7: 34956-34976 [PMID: 27144335 DOI: 10.18632/oncotarget.9008]
- 35 Zheng S, Cherniack AD, Dewal N, Moffitt RA, Danilova L, Murray BA, Lerario AM, Else T, Knijnenburg TA, Ciriello G, Kim S, Assie G, Morozova O, Akbani R, Shih J, Hoadley KA, Choueiri TK, Waldmann J, Mete O, Robertson AG, Wu HT, Raphael BJ, Shao L, Meyerson M, Demeure MJ, Beuschlein F, Gill AJ, Sidhu SB, Almeida MQ, Fragoso MCBV, Cope LM, Kebebew E, Habra MA, Whitsett TG, Bussey KJ, Rainey WE, Asa SL, Bertherat J, Fassnacht M, Wheeler DA; Cancer Genome Atlas Research Network, Hammer GD, Giordano TJ, Verhaak RGW. Comprehensive Pan-Genomic Characterization of Adrenocortical Carcinoma. *Cancer Cell* 2016; 29: 723-736 [PMID: 27165744 DOI: 10.1016/j.ccell.2016.04.002]
- 36 Zack TI, Schumacher SE, Carter SL, Cherniack AD, Saksena G, Tabak B, Lawrence MS, Zhsng CZ, Wala J, Mermel CH, Sougnez C, Gabriel SB, Hernandez B, Shen H, Laird PW, Getz G, Meyerson M, Beroukheim R. Pan-cancer patterns of somatic copy number alteration. *Nat Genet* 2013; 45: 1134-1140 [PMID: 24071852 DOI: 10.1038/ng.2760]
- 37 Kuznetsova AY, Seget K, Moeller GK, de Pagter MS, de Roos JA, Dürrbaum M, Kuffer C, Müller S, Zaman GJ, Kloosterman WP, Storchová Z. Chromosomal instability, tolerance of mitotic errors and multidrug resistance are promoted by tetraploidization in human cells. *Cell Cycle* 2015; 14: 2810-2820 [PMID: 26151317 DOI: 10.1080/15384101.2015.1068482]
- 38 Bréchet C, Gozuacik D, Murakami Y, Paterlini-Bréchet P. Molecular bases for the development of hepatitis B virus (HBV)-related hepatocellular carcinoma (HCC). *Semin Cancer Biol* 2000; 10: 211-231 [PMID: 10936070 DOI: 10.1006/scbi.2000.0321]
- 39 Minami M, Daimon Y, Mori K, Takashima H, Nakajima T, Itoh Y, Okanoue T. Hepatitis B virus-related insertional mutagenesis in chronic hepatitis B patients as an early drastic genetic change leading to hepatocarcinogenesis. *Oncogene* 2005; 24: 4340-4348 [PMID: 15806150 DOI: 10.1038/sj.onc.1208628]
- 40 Hino O, Ohtake K, Rogler CE. Features of two hepatitis B virus (HBV) DNA integrations suggest mechanisms of HBV integration. *J Virol* 1989; 63: 2638-2643 [PMID: 2542576 DOI: 10.1128/JVI.63.6.2638-2643.1989]
- 41 Aziz K, Limzwerwala JF, Sturmlechner I, Hurley E, Zhang C, Jeganathan KB, Nelson G, Bronk S, Fierro Velasco RO, van Deursen EJ, O'Brien DR, Kocher JA, Youssef SA, van Ree JH, de Bruin A, van den Bos H, Spierings DCJ, Fojier F, van de Sluis B, Roberts LR, Gores GJ, Li H, van Deursen JM. Ccn1 Overexpression Causes Chromosome Instability in Liver Cells and Liver Tumor Development in Mice. *Gastroenterology* 2019; 157: 210-226.e12 [PMID: 30878468 DOI: 10.1053/j.gastro.2019.03.016]
- 42 Chu C, Geng Y, Zhou Y, Sicinski P. Cyclin E in normal physiology and disease states. *Trends Cell Biol* 2021; 31: 732-746 [PMID: 34052101 DOI: 10.1016/j.tcb.2021.05.001]
- 43 Herbein G, Nehme Z. Polyploid Giant Cancer Cells, a Hallmark of Oncoviruses and a New Therapeutic Challenge. *Front Oncol* 2020; 10: 567116 [PMID: 33154944 DOI: 10.3389/fonc.2020.567116]
- 44 Gao P, Zheng J. Oncogenic virus-mediated cell fusion: new insights into initiation and progression of oncogenic viruses-related cancers. *Cancer Lett* 2011; 303: 1-8 [PMID: 21306823 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.12.021]
- 45 Pérez-Vargas J, Teppa E, Amirache F, Boson B, Pereira de Oliveira R, Combet C, Böckmann A, Fusil F, Freitas N, Carbone A, Cosset FL. A fusion peptide in preS1 and the human protein disulfide isomerase ERp57 are involved in hepatitis B virus membrane fusion process. *Elife* 2021; 10 [PMID: 34190687 DOI: 10.7554/eLife.64507]
- 46 Ugras S, Brill E, Jacobsen A, Hafner M, Socci ND, Decarolis PL, Khanin R, O'Connor R, Mihailovic A, Taylor BS, Sheridan R, Gimble JM, Viale A, Crago A, Antonescu CR, Sander C, Tuschl T, Singer S. Small RNA sequencing and functional characterization reveals MicroRNA-143 tumor suppressor activity in liposarcoma. *Cancer Res* 2011; 71: 5659-5669 [PMID: 21693658 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0890]
- 47 Schöffski P. Polo-like kinase (PLK) inhibitors in preclinical and early clinical development in oncology. *Oncologist* 2009; 14: 559-570 [PMID: 19474163 DOI: 10.1634/theoncologist.2009-0010]
- 48 Nie Z, Feher V, Natalia S, McBride C, Kiryanov A, Jones B, Lam B, Liu Y, Kaldor S, Stafford J, Hikami K, Uchiyama N, Kawamoto T, Hikichi Y, Matsumoto S, Amano N, Zhang L, Hosfield D, Skene R, Zou H, Cao X, Ichikawa T. Discovery of TAK-960: an orally available small molecule inhibitor of polo-like kinase 1 (PLK1). *Bioorg Med Chem Lett* 2013; 23: 3662-3666 [PMID: 23664874 DOI: 10.1016/j.bmcl.2013.02.083]
- 49 Cortes J, Podoltsev N, Kantarjian H, Borthakur G, Zeidan AM, Stahl M, Taube T, Fagan N, Rajeswari S, Uy GL. Phase 1 dose escalation trial of volasertib in combination with decitabine in patients with acute myeloid leukemia. *Int J Hematol* 2021; 113: 92-99 [PMID: 32951163 DOI: 10.1007/s12185-020-02994-8]
- 50 Bowles DW, Diamond JR, Lam ET, Weekes CD, Astling DP, Anderson RT, Leong S, Gore L, Varella-Garcia M, Vogler BW, Keysar SB, Freas E, Aisner DL, Ren C, Tan AC, Wilhelm F, Maniar M, Eckhardt SG, Messersmith WA, Jimeno A. Phase I study of oral rigosertib (ON 01910.Na), a dual inhibitor of the PI3K and Plk1 pathways, in adult patients with advanced solid malignancies. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 1656-1665 [PMID: 24493827 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2506]
- 51 Weiss GJ, Jameson G, Von Hoff DD, Valsasina B, Davite C, Di Giulio C, Fiorentini F, Alzani R, Carpinelli P, Di Sanzo A, Galvani A, Isacchi A, Ramanathan RK. Phase I dose escalation study of NMS-1286937, an orally available Polo-Like Kinase 1 inhibitor, in patients with advanced or metastatic solid tumors. *Invest New Drugs* 2018; 36: 85-95 [PMID: 28726132 DOI: 10.1007/s10637-017-0491-7]
- 52 Sekino Y, Oue N, Koike Y, Shigematsu Y, Sakamoto N, Sentani K, Teishima J, Shiota M, Matsubara A, Yasui W. KIFC1 Inhibitor CW069 Induces Apoptosis and Reverses Resistance to Docetaxel in Prostate Cancer. *J Clin Med* 2019; 8 [PMID: 30744126 DOI: 10.3390/jcm8020225]
- 53 Parvin A, Hao SL, Tan FQ, Yang WX. Inhibition of kinesin motor protein KIFC1 by AZ82 induces multipolar mitosis and apoptosis in prostate cancer cell. *Gene* 2020; 760: 144989 [PMID: 32717307 DOI: 10.1016/j.gene.2020.144989]
- 54 Zhang W, Zhai L, Wang Y, Boohaker RJ, Lu W, Gupta VV, Padmalayam I, Bostwick RJ, White EL, Ross LJ, Maddry J, Ananthan S, Augelli-Szafran CE, Suto MJ, Xu B, Li R, Li Y. Discovery of a novel inhibitor of kinesin-like protein KIFC1. *Biochem J* 2016; 473: 1027-1035 [PMID: 26846349 DOI: 10.1042/BJ20150992]
- 55 Itoh Y, Takada Y, Yamashita Y, Suzuki T. Recent progress on small molecules targeting epigenetic complexes. *Curr Opin Chem Biol* 2022; 67: 102130 [PMID: 35240380 DOI: 10.1016/j.cbpa.2022.102130]

- 56 Chen J, Rajasekaran M, Xia H, Zhang X, Kong SN, Sekar K, Seshachalam VP, Deivasigamani A, Goh BK, Ooi LL, Hong W, Hui KM. The microtubule-associated protein PRC1 promotes early recurrence of hepatocellular carcinoma in association with the Wnt/ β -catenin signalling pathway. *Gut* 2016; 65: 1522-1534 [PMID: 26941395 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310625]
- 57 Zhou L, Jilderda LJ, Foijer F. Exploiting aneuploidy-imposed stresses and coping mechanisms to battle cancer. *Open Biol* 2020; 10: 200148 [PMID: 32873156 DOI: 10.1098/rsob.200148]
- 58 Lu X, Wang L, Ruden DM. Hsp90 inhibitors and the reduction of anti-cancer drug resistance by non-genetic and genetic mechanisms. *Pharmaceuticals (Basel)* 2012; 5: 890-898 [PMID: 24280696 DOI: 10.3390/ph5090890]
- 59 Chen Y, Chen J, Loo A, Jaeger S, Bagdasarian L, Yu J, Chung F, Korn J, Ruddy D, Guo R, McLaughlin ME, Feng F, Zhu P, Stegmeier F, Pagliarini R, Porter D, Zhou W. Targeting HSF1 sensitizes cancer cells to HSP90 inhibition. *Oncotarget* 2013; 4: 816-829 [PMID: 23615731 DOI: 10.18632/oncotarget.991]
- 60 Rashid M, Zadeh LR, Baradaran B, Molavi O, Ghesmati Z, Sabzichi M, Ramezani F. Up-down regulation of HIF-1 α in cancer progression. *Gene* 2021; 798: 145796 [PMID: 34175393 DOI: 10.1016/j.gene.2021.145796]
- 61 Qi J, You T, Pan T, Wang Q, Zhu L, Han Y. Downregulation of hypoxia-inducible factor-1 α contributes to impaired megakaryopoiesis in immune thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 2017; 117: 1875-1886 [PMID: 28771276 DOI: 10.1160/TH17-03-0155]
- 62 Simões-Sousa S, Littler S, Thompson SL, Minshall P, Whalley H, Bakker B, Belkot K, Moralli D, Bronder D, Tighe A, Spierings DCJ, Bah N, Graham J, Nelson L, Green CM, Foijer F, Townsend PA, Taylor SS. The p38 α Stress Kinase Suppresses Aneuploidy Tolerance by Inhibiting Hif-1 α . *Cell Rep* 2018; 25: 749-760.e6 [PMID: 30332653 DOI: 10.1016/j.celrep.2018.09.060]
- 63 Li S, Yang Y, Ding X, Yang M, She S, Peng H, Xu X, Ran X, Li S, Hu P, Hu H, Zhang D, Ren H. LHBs can elevate the expression of MDR1 through HIF-1 α in patients with CHB infection: a comparative proteomic study. *Oncotarget* 2017; 8: 4549-4562 [PMID: 27999186 DOI: 10.18632/oncotarget.13941]
- 64 Tang YC, Yuwen H, Wang K, Bruno PM, Bullock K, Deik A, Santaguida S, Trakala M, Pfau SJ, Zhong N, Huang T, Wang L, Clish CB, Hemann MT, Amon A. Aneuploid Cell Survival Relies upon Sphingolipid Homeostasis. *Cancer Res* 2017; 77: 5272-5286 [PMID: 28775166 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-0049]
- 65 Maepa MB, Bloom K, Ely A, Arbuthnot P. Hepatitis B virus: promising drug targets and therapeutic implications. *Expert Opin Ther Targets* 2021; 25: 451-466 [PMID: 33843412 DOI: 10.1080/14728222.2021.1915990]
- 66 Luo W, Wang J, Xu D, Bai H, Zhang Y, Zhang Y, Li X. Engineered zinc-finger transcription factors inhibit the replication and transcription of HBV in vitro and in vivo. *Int J Mol Med* 2018; 41: 2169-2176 [PMID: 29344646 DOI: 10.3892/ijmm.2018.3396]
- 67 Bousali M, Papatheodoridis G, Paraskevis D, Karamitros T. Hepatitis B Virus DNA Integration, Chronic Infections and Hepatocellular Carcinoma. *Microorganisms* 2021; 9 [PMID: 34442866 DOI: 10.3390/microorganisms9081787]
- 68 Knouse KA, Wu J, Whittaker CA, Amon A. Single cell sequencing reveals low levels of aneuploidy across mammalian tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: 13409-13414 [PMID: 25197050 DOI: 10.1073/pnas.1415287111]
- 69 Levrero M, Zucman-Rossi J. Mechanisms of HBV-induced hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2016; 64: S84-S101 [PMID: 27084040 DOI: 10.1016/j.jhep.2016.02.021]
- 70 Marur S, D'Souza G, Westra WH, Forastiere AA. HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. *Lancet Oncol* 2010; 11: 781-789 [PMID: 20451455 DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70017-6]
- 71 Kasthuber ER, Lowe SW. Putting p53 in Context. *Cell* 2017; 170: 1062-1078 [PMID: 28886379 DOI: 10.1016/j.cell.2017.08.028]
- 72 Sladky VC, Knapp K, Szabo TG, Braun VZ, Bongiovanni L, van den Bos H, Spierings DC, Westendorp B, Curinha A, Stojakovic T, Schamagl H, Timelthaler G, Tsuchia K, Pinter M, Semmler G, Foijer F, de Bruin A, Reiberger T, Rohr-Udilova N, Villunger A. PIDDosome-induced p53-dependent ploidy restriction facilitates hepatocarcinogenesis. *EMBO Rep* 2020; 21: e50893 [PMID: 33225610 DOI: 10.15252/embr.202050893]
- 73 Tang Y, Song H, Wang Z, Xiao S, Xiang X, Zhan H, Wu L, Wu J, Xing Y, Tan Y, Liang Y, Yan N, Li Y, Li J, Wu J, Zheng D, Jia Y, Chen Z, Li Y, Zhang Q, Zhang J, Zeng H, Tao W, Liu F, Wu Y, Lu M. Repurposing antiparasitic antimoniols to noncovalently rescue temperature-sensitive p53 mutations. *Cell Rep* 2022; 39: 110622 [PMID: 35417717 DOI: 10.1016/j.celrep.2022.110622]
- 74 Chen S, Wu JL, Liang Y, Tang YG, Song HX, Wu LL, Xing YF, Yan N, Li YT, Wang ZY, Xiao SJ, Lu X, Chen SJ, Lu M. Arsenic Trioxide Rescues Structural p53 Mutations through a Cryptic Allosteric Site. *Cancer Cell* 2021; 39: 225-239.e8 [PMID: 33357454 DOI: 10.1016/j.ccell.2020.11.013]
- 75 Hsu CW, Chen YC, Su HH, Huang GJ, Shu CW, Wu TT, Pan HW. Targeting TPX2 Suppresses the Tumorigenesis of Hepatocellular Carcinoma Cells Resulting in Arrested Mitotic Phase Progression and Increased Genomic Instability. *J Cancer* 2017; 8: 1378-1394 [PMID: 28638452 DOI: 10.7150/jca.17478]
- 76 Zeng XC, Zhang L, Liao WJ, Ao L, Lin ZM, Kang W, Chen WN, Lin X. Screening and Identification of Potential Biomarkers in Hepatitis B Virus-Related Hepatocellular Carcinoma by Bioinformatics Analysis. *Front Genet* 2020; 11: 555537 [PMID: 33193629 DOI: 10.3389/fgene.2020.555537]
- 77 Zhang J, Liu X, Zhou W, Lu S, Wu C, Wu Z, Liu R, Li X, Wu J, Liu Y, Guo S, Jia S, Zhang X, Wang M. Identification of Key Genes Associated With the Process of Hepatitis B Inflammation and Cancer Transformation by Integrated Bioinformatics Analysis. *Front Genet* 2021; 12: 654517 [PMID: 34539726 DOI: 10.3389/fgene.2021.654517]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



长链非编码RNA PVT1诱导直肠癌细胞增殖、抑制凋亡并通过上调Atg5诱导其自噬

朱渊东, 刘海源, 雷鑫明, 彭雪强

朱渊东, 义乌市中心医院肛肠外科 浙江省金华市 322000

刘海源, 义乌市中心医院肛肠外科 浙江省金华市 322000

雷鑫明, 衢州市人民医院消化内科 浙江省衢州市 324000

彭雪强, 中国医科大学 辽宁省沈阳市 110000

朱渊东, 副主任医师, 研究方向为结肠癌.

基金项目: 义乌市科研计划项目, No. 20-3-165.

作者贡献分布: 此研究由朱渊东、刘海源、雷鑫明及彭雪强设计; 研究过程由朱渊东、刘海源、雷鑫明及彭雪强操作完成; 数据分析和写作由朱渊东、雷鑫明完成.

通讯作者: 雷鑫明, 主治医师, 324000, 浙江省衢州市智慧新城润江大道100号, 衢州市人民医院消化内科. 1542620591@qq.com

收稿日期: 2022-11-24

修回日期: 2023-01-15

接受日期: 2023-04-23

在线出版日期: 2023-04-28

Long non-coding RNA PVT1 induces proliferation, inhibits apoptosis, and induces autophagy by up-regulating Atg5 in rectal cancer cells

Yuan-Dong Zhu, Hai-Yuan Liu, Xin-Ming Lei, Xue-Qiang Peng

Yuan-Dong Zhu, Department of Anorectal Surgery, Yiwu Central Hospital, Jinhua 322000, Zhejiang Province, China

Hai-Yuan Liu, Department of Anorectal Surgery, Yiwu Central Hospital, Jinhua 322000, Zhejiang Province, China

Xin-Ming Lei, Department of Gastroenterology, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China

Xue-Qiang Peng, China Medical University, Shenyang 110000, Liaoning Province, China

Supported by: Yiwu Scientific Research Program, No. 20-3-165.

Corresponding author: Xin-Ming Lei, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Quzhou People's Hospital, No. 100 Minjiang Avenue, Wisdom New Town, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China. 1542620591@qq.com

Received: 2022-11-24

Revised: 2023-01-15

Accepted: 2023-04-23

Published online: 2023-04-28

Abstract BACKGROUND

As a long noncoding RNA (lncRNA), PVT1 has been proved to play a role in promoting cancer in many tumors, but there are few reports on its impact on the biological behavior of rectal cancer. Therefore, this study investigated the expression of lncRNA PVT1 in rectal cancer and its relationship with prognosis, as well as its effect on rectal cancer cell autophagy, proliferation, and apoptosis, so as to provide a reliable target for treatment of rectal cancer.

AIM

To investigate the expression of lncRNA PVT1 in rectal cancer and its effects on autophagy and proliferation of rectal cancer cells.

METHODS

The expression data of lncRNA PVT1 in 92 rectal cancer samples and 318 healthy control samples were obtained from the GEPIA database, and the expression levels of lncRNA PVT1 in rectal cancer cell lines SW837, HR8348, SW1463, and FHC were detected by quantitative real-time PCR. The relationship between the expression level of lncRNA PVT1 and the prognosis of rectal cancer was analyzed using the R packages (survival and survminer) based on the TCGA database. Overexpression of lncRNA

PVT1 was then induced in SW837 and HR8348 cells. Transwell assay, CCK-8 assay, and flow cytometry were used to analyze the changes of cell invasion, proliferation, and apoptosis. Western blot analysis was performed to detect the expression of LC3-II/LC3-I, immunofluorescence was used to analyze the change of LC3 expression, and transmission electron microscopy was used to determine the change of autophagosomes. After co-transfection with si-Atg5, the changes of rectal cancer cell autophagy were analyzed.

RESULTS

The expression of lncRNA PVT1 in rectal cancer tissues and cells increased significantly. The expression of lncRNA PVT1 was related to the prognosis of rectal cancer. Overexpression of lncRNA PVT1 activated autophagy of rectal cancer cells and induced tumor cell proliferation, invasion, and apoptosis inhibition ($P < 0.05$).

CONCLUSION

lncRNA PVT1 is highly expressed in rectal cancer tissues and cells, and is significantly related to the prognosis of rectal cancer. Overexpression of lncRNA PVT1 induces rectal cancer cell proliferation and invasion, and inhibits their apoptosis. lncRNA PVT1 participates in the regulation of rectal cancer cell autophagy by regulating the expression of Atg5, which may be involved in the occurrence and development of rectal cancer.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Rectal cancer; lncRNA PVT1; Proliferation and apoptosis; Autophagy; Atg5

Citation: Zhu YD, Liu HY, Lei XM, Peng XQ. Long non-coding RNA PVT1 induces proliferation, inhibits apoptosis, and induces autophagy by up-regulating Atg5 in rectal cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(8): 307-315
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/307.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i8.307>

摘要

背景

lncRNA PVT1基因作为lncRNAs的一种, 已经被证实多种肿瘤中发挥促癌作用, 但对于该基因在直肠癌中的生物学行为报道较少, 因此, 本研究在结合国内外研究的基础上, 探讨lncRNA PVT1在直肠癌中表达以及与预后的关系, 以及对直肠癌自噬的调控机制和增殖凋亡的影响, 为直肠癌的靶向治疗提供可靠的靶点。

目的

探究lncRNA PVT1在直肠癌组织中的表达及对直肠癌细胞自噬和增殖侵袭的影响。

方法

通过TCGA数据库获得92例直肠癌, 318例健康样本的

lncRNA PVT1表达水平, 并且通过定量实时PCR检测直肠癌细胞SW837, HR8348, SW1463和FHC中lncRNA PVT1表达水平。通过R语言包(survival, survminer)分析TCGA数据库分析lncRNA PVT1表达高低与直肠癌预后的关系。过表达SW837, HR8348中的lncRNA PVT1。利用transwell, CCK-8试剂盒、流式细胞实验分析其侵袭, 增殖能力及凋亡的改变。然后Western blot实验分析LC3-II/LC3-I的表达, 免疫荧光实验分析LC3荧光斑点的改变, 透射电镜分析形态学判断自噬小体的改变。之后共转染si-Atg5分析直肠癌细胞自噬水平的变化。

结果

lncRNA PVT1在直肠癌组织和细胞中表达都显著增加。并且lncRNA PVT1的表达与直肠癌预后相关, 过表达lncRNA PVT1后激活直肠癌自噬和诱导肿瘤细胞增殖, 侵袭并且抑制其凋亡($P < 0.05$)。

结论

lncRNA PVT1在直肠癌组织和细胞中均高表达, 且与其预后显著相关, 过表达lncRNA PVT1诱导直肠癌细胞增殖, 侵袭并抑制其凋亡。lncRNA PVT1通过调控Atg5的表达参与直肠癌自噬水平的调控, 其可能参与直肠癌的发生发展。

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 直肠癌; lncRNA PVT1; 增殖和凋亡; 自噬; 自噬相关5同源物

核心提要: lncRNA PVT1基因作为lncRNAs的一种, 已经被证实多种肿瘤中发挥促癌作用, 但对于该基因在直肠癌中的生物学行为报道较少, 因此, 本研究在结合国内外研究的基础上, 探讨lncRNA PVT1在直肠癌中表达以及与预后的关系, 以及对直肠癌自噬的调控机制和增殖凋亡的影响, 为直肠癌的靶向治疗提供可靠的靶点。统计分析结果显示lncRNA PVT1在直肠癌组织和细胞中表达都显著增加。并且lncRNA PVT1的表达与直肠癌预后相关, 过表达lncRNA PVT1后激活直肠癌自噬和诱导肿瘤细胞增殖, 侵袭并且抑制其凋亡。

文献来源: 朱渊东, 刘海源, 雷鑫明, 彭雪强. 长链非编码RNA PVT1诱导直肠癌细胞增殖、抑制凋亡并通过上调Atg5诱导其自噬. *世界华人消化杂志* 2023; 31(8): 307-315

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/307.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i8.307>

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常见的恶性肿瘤之一, 其死亡率较高。且大多数患者确诊CRC时已经处于

中晚期, 已失去手术机会. 对于此类的患者多采用靶向治疗联合放化疗的方法, 因此, 寻找合适的生物学靶点显得尤为重要^[1,2].

长链非编码RNA(lncRNAs)被定义为具有200个核苷酸的大小和有部分蛋白质编码的潜力的非编码RNA, 在肿瘤形成和进展中发挥重要作用^[3]. lncRNA在多个水平上调节基因表达, 包括通过转录前调控, 以及通过与miRNA, mRNA或蛋白质相互作用来进行转录后调控^[4,5].

目前已经证实的是lncRNAs参与结直肠恶性肿瘤的发展^[6], 例如, lncRNA H19与结直肠癌的预后显著相关, 并在进一步的研究中发现其通过诱导肿瘤上皮间质化过程促进肿瘤转移^[7]. 另外lncRNA MALAT1通过诱导癌基因DCPIA表达促进大肠癌的肿瘤生长和转移^[8]. lncRNA CASC2通过“海绵效应”下调miR-18a表达从而抑制CRC细胞增殖和肿瘤生长^[9]. lncRNA CPS1-IT1通过使调控HIF-1 α 诱导的自噬, 从而抑制结直肠癌的EMT和转移^[10], 总之以往的研究证实, lncRNAs可以参与结肠癌细胞的增殖, 凋亡, 侵袭转移, 自噬等许多过程从而在结直肠癌的发生发展中发挥重要作用.

lncRNA PVT1基因作为lncRNAs的一种, 已经被证实多种肿瘤中发挥促癌作用, 但对于该基因在直肠癌中的生物学行为报道较少, 因此, 本研究在结合国内外研究的基础上, 经义乌市中心医院伦理委员会审批(批号: K2020-IRB-037), 探讨lncRNA PVT1在直肠癌中表达以及与预后的关系, 以及对直肠癌自噬的调控机制和增殖凋亡的影响, 为直肠癌的靶向治疗提供可靠的靶点.

1 材料和方法

1.1 材料 TCGA数据库: 从TCGA数据库获得92例直肠癌和318例健康正常样本. R语言包(survival, survminer)用于分析来源于TCGA数据库lncRNA PVT1的表达与预后的关系.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染: 三种直肠癌细胞系(SW837, HR8348和SW1463)和正常人结肠直肠上皮细胞系(FHC)购自中国科学院细胞库(中国, 上海). 所有细胞用含有10%胎儿DMEM培养基(Gibco, USA)中培养的牛血清中, 在5%CO₂在37℃培养. 从GenePharma(上海)购买特异性靶向pcDNA3.1-PVT1和阴性对照pcDNA3.1使用Lipofectamine 3000 Reagents(Invitrogen)将这些质粒转染到SW837和HR8348细胞系中. siRNA由中国上海Genepharm合成. si-Atg5的RNA序列: si-Atg5#, 5'-GAUCACAAGCAACUCUGGAUGGGAU-3'. si-NC#, 5'-UUCUCCGAACU-GUCACGUTT-3'.

1.2.2 Transwell实验: 使用带有Matrigel(BD)的24孔

Transwell板检测过表达lncRNA PVT1后SW837, HR8348细胞的侵袭能力. 将无血清培养基中的细胞(1×10^5)铺在顶室中. 将含10%FBS的高葡萄糖Dulbecco改良的Eagle培养基(DMEM)添加到底部腔室中. 孵育24 h后, 将膜用PBS洗涤, 后4%多聚甲醛固定, 并用0.1%结晶紫溶液染色. 每个实验重复三次.

1.2.3 细胞克隆实验: pcDNA3.1-PVT1转染的SW837和HR8348细胞后, 分别接种在六孔板里, 每空接种200个肿瘤细胞. 继续培养2 wk后, 4%多聚甲醛固定20 min后, 并用0.1%结晶紫溶液染色. 每个实验重复三次.

1.2.4 CCK-8法测定细胞增殖能力: 通过CCK-8细胞增殖测定法定量细胞增殖. 将细胞以每孔($2-4 \times 10^3$)个细胞的密度接种在96孔板中(第0天)后继续培养(24、48、72) h, 分别加入10% CCK-8溶液. 然后, 将10 μ L CCK-8溶液加入每个孔中, 并将细胞在37℃、50 mL/L CO₂下再保持1 h-2 h. 用酶标仪(Bio Tek Synergy2美国)测量450 nm处的吸光度.

1.2.5 流式细胞术: 转染后48 h, 通过胰蛋白酶消化收获pcDNA3.1-PVT1转染的SW837和HR8348细胞. 根据生产商的操作步骤, 使用FITC Annexin V细胞凋亡检测试剂盒(BD Biosciences)对FITC-Annexin V和碘化丙啶进行了双重染色后, 通过流式细胞仪(FACScan BD Biosciences)进行细胞凋亡分析. 所有样品均一式三份测定.

1.2.6 实时定量PCR: 根据制造商的实验步骤, 使用TRIZOL试剂(Invitrogen)从组织或培养的细胞中提取总RNA. 对于qRT-PCR, 使用逆转录试剂盒(中国, 大连, Takara)将RNA反转录为cDNA. 使用SYBR Premix Ex Taq(Takara)进行实时PCR分析. 将结果标准化为GAPDH的表达. 在ABI 7500(ABI美国)上进行qRT-PCR测定, 并用该仪器收集数据. 分析我们的qRT-PCR结果并相对于阈值循环(CT)值进行表达, 然后转换为倍数变化. 每个样品进行三次重复分析. qRT-PCR用于引物序列: lncRNA PVT1的正向5'-TGAGAACTGTCCTTACGTGACC -3'和反向5'-AGAGCACCAAGACTGGCTCT-3'; ATG3正向引物: 5'-ACTGATGCTGGCGGTGAAGATG-3'; 反向引物: 5'-GTGCTCAACTGTATAA GGCTGCC-3'; ATG5正向引物: 5'-TGTGCTTCGAGATGTGTGGTT-3'; 反向引物: 5'-ACCAACGTCAAATAGCTGACT-3'; ATG7正向引物: 5'-GATCCGGGGATTCTTTTCACG-3'; 反向引物: 5'-CAGCAATGTAAGACCAGTCAAGT-3'; ATG9正向引物: 5'-CGTGTGGGAAGGACAG-3'; 反向引物: 5'-GGCGCTTTCTCCACTC-3'; ATG10 5-3'-ATGGATTTCAGCTCGAGAGGTCAGCGAT-3'反向引物: 5'-CAGTCCTCAGTCCCACAGGGA-TGTAG-3'; ATG12正向引物: 5'-TTGTGGCCTCAGAACAGTTG-3'; 反

向引物: 5'-GAGAGTTCCAACCTTCTTGGTCTG-3'; ATG14正向引物: 5'-ACCAGCATTAGCATCACG-3'; 反向引物: 5'-AGGTCCTTGGGTTGTTTT-3'; Beclin-1正向引物: 5'-GGATCAGGAGGAAGC-3'; 反向引物: 5'-GATGTGGAAGGTTGC-3'; GAPDH正向引物: 5'-CCTGGTATGACA-ACGAATTTG-3'; 反向引物: 5'-CAGTGAGGGTCTCTCTCTTCC-3'.

1.2.7 蛋白质印迹: 蛋白质印迹分析, 约30 μ g变性的目的蛋白通过SDS-聚丙烯酰胺凝胶中分离并转移到PVDF膜上. 然后在室温下用5%BSA将膜封闭2 h, 将膜与稀释的抗体在PBS中于4 $^{\circ}$ C孵育过夜. 将膜用TBST(含0.5% Tween 20的PBS)洗涤3次, 每次10 min, 然后在室温下用过氧化物酶偶联的山羊抗兔二抗(CST)再次孵育1 h. 再次用TBST清洗膜3次, 每次10 min, 最后通过ECL发光液通过Tanon-5200仪器进行显色. 相应抗体: LC3B(CST #3868), Atg5(CST #12994), β -actin(proteintech #66009-1-Ig)

1.2.8 免疫荧光: 对于免疫荧光实验, 首先将在6孔板中的玻片上培养的细胞固定在4%多聚甲醛室温下10 min, 然后用5% Triton透膜20 min. 并用5%BSA在室温下封闭30 min, 添加第一抗体(过夜, 4 $^{\circ}$ C)和荧光第二抗体(2 h, 室温). 最后, 使用DAPI用于染色细胞核. 而且在使用不同试剂的步骤之间, 将载玻片上的细胞用PBS中洗涤3次, 每次10 min. 使用抗萃灭剂封片后, 用共聚焦激光扫描显微镜(日本Nikon A1)观察载玻片. 在该实验中, 使用的抗体: LC3(CST, 1:100)的抗体和荧光二抗FITC(CST, 1:100).

1.2.9 透射电镜实验: 首收集适量培养细胞离心后迅速用2.5%戊二醛固定细胞2 h. 然后样品用乙醇脱水, 并包埋在树脂中. 通过金刚石刀切割超薄切片后, 将切片安装在铜网上, 用乙酸铀酰和柠檬酸双重染色. 样品的观察和拍照通过透射电子显微镜(H7605日本).

统计学处理 所有统计分析均使用SPSS 17软件(美国SPSS)进行. 使用Student's *t*检验估计两组之间差异的显著性, 所有结果均报告为mean $\pm$ SD. $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义.

2 结果

2.1 LncRNA PVT1在TCGA数据库和直肠癌细胞中显著上调 为了分析lncRNA PVT1在直肠癌细胞中的功能, 我们首先明确其表达水平. 我们发现, 在与TCGA数据库中与318个正常组织相比, 92例直肠癌细胞组织lncRNA PVT1显著水平上调(图1A). 同时我们进一步确认SW837, HR8348、SW1463和FHC中lncRNA PVT1表达, 结果显示lncRNA PVT1在直肠癌细胞中表达同样也显著上调(图1B). 通过预后分析显示lncRNA PVT1表达水平与其预后负性相关(图1C), 我们进一步通过过表达lncRNA

PVT1在SW837, HR8348的表达进行下一步功能实验.

2.2 过表达lncRNA PVT1诱导直肠癌细胞侵袭和克隆形成 通过转染过表达质粒成功过表达lncRNA PVT1在SW837, HR8348细胞中(图2A和B), 上述细胞用于后续实验. Transwell实验显示, 过表达lncRNA PVT1显著增加其侵袭能力(图2C). 我们进一步通过克隆实验证实过表达lncRNA PVT1显著诱导SW837, HR8348细胞克隆形成(图2D). 这些实验表明过表达lncRNA PVT1调控直肠癌细胞侵袭和克隆形成能力.

2.3 过表达lncRNA PVT1诱导直肠癌细胞增殖并抑制其凋亡 过表达lncRNA PVT1的SW837, HR8348细胞中, CCK8实验显示: 过表达lncRNA PVT1细胞增殖能力显著增加($P < 0.05$;图3A和B). 流式细胞术结果显示: 相比于NC组, lncRNA PVT1过表达组细胞凋亡显著降低($P < 0.05$; 图3C和D).

2.4 过表达lncRNA PVT1诱导直肠癌细胞自噬 自噬在结肠癌的作用已经被广泛证实^[11,12], 为了探究lncRNA PVT1对直肠癌细胞(SW837)自噬水平的调控, 通过western blot实验检测lncRNA PVT1直肠癌细胞LC3II/LC3-I的相对表达. 结果显示: 与NC组相比, lncRNA PVT1组LC3-II/LC3-I的表达显著增加(图4A), 通过免疫荧光共聚焦发现lncRNA PVT1显著诱导LC3荧光斑点的比例(图4B). 最后透射电镜用于检测过表达lncRNA PVT1自噬小体或自噬溶酶体水平在亚细胞器水平评估lncRNA PVT1对自噬的调控(图4C). 因此, lncRNA PVT1诱导直肠癌自噬, 可能参与直肠癌的发生发展.

2.5 过表达lncRNA PVT1通过上调Atg5诱导自噬 自噬是真核生物高度保守的自我调控的过程, 其发生依赖于自噬相关基因(Atgs)不断激活形成自噬小体并且与溶酶体融合形成自噬溶酶体的过程^[12]. 为了探究lncRNA PVT1诱导自噬的机制, 首先使用qRT-PCR检测过表达lncRNA PVT1直肠癌细胞(SW837)中主要的自噬相关基因表达变化. 结果显示在Atg3, Atg5, Atg7, Atg9, Atg10, Atg12, Atg14和Beclin1的自噬相关基因中, PVT1显著诱导了Atg5 mRNA的表达(图5A). 在过表达lncRNA PVT1的直肠癌细胞(SW837)中检测Atg5 蛋白表达的变化, 显示Atg5显著表达上调(图5B). 最后在直肠癌细胞(SW837)中转染pcDNA3.1-PVT1 与si-Atg5, 运用WB检测LC3评估其自噬水平的改变(图5C), 证实lncRNA PVT1通过Atg5调控直肠癌自噬.

3 讨论

长链非编码RNA(lncRNA)在结直肠癌领域中已被广泛研究^[13-15], 常见的基因有SOX2OT^[16], MIR17HG^[17], GLCC1^[18], MALAT1^[19]. 有研究表明^[16]SOX2OT的表达上

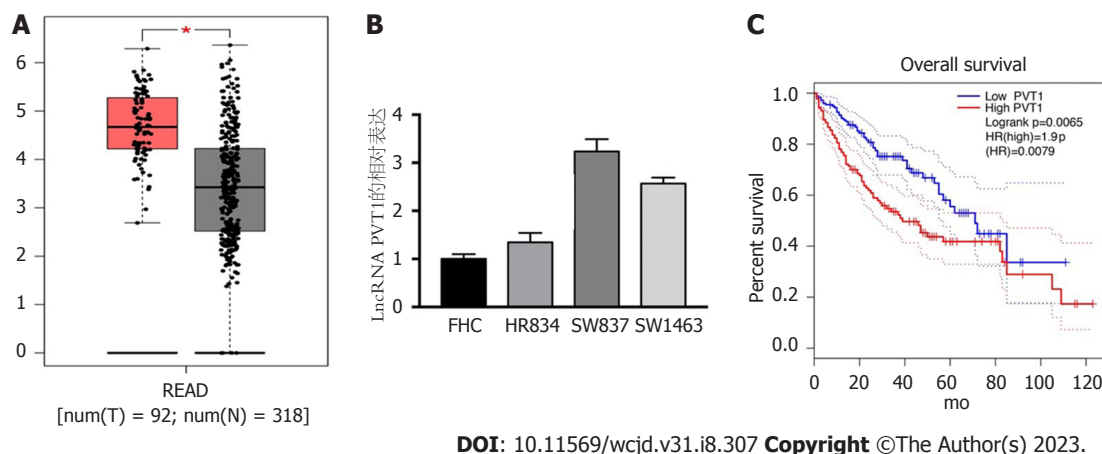


图 1 lncRNA PVT1在TCGA数据库中及直肠癌细胞系中的表达. A: TCGA数据库直肠癌组织和正常组织中lncRNA PVT1的表达; B: lncRNA PVT1在直肠癌细胞系中的表达($P<0.05$); C: lncRNA PVT1表达水平与直肠癌的预后的关系($P<0.05$).

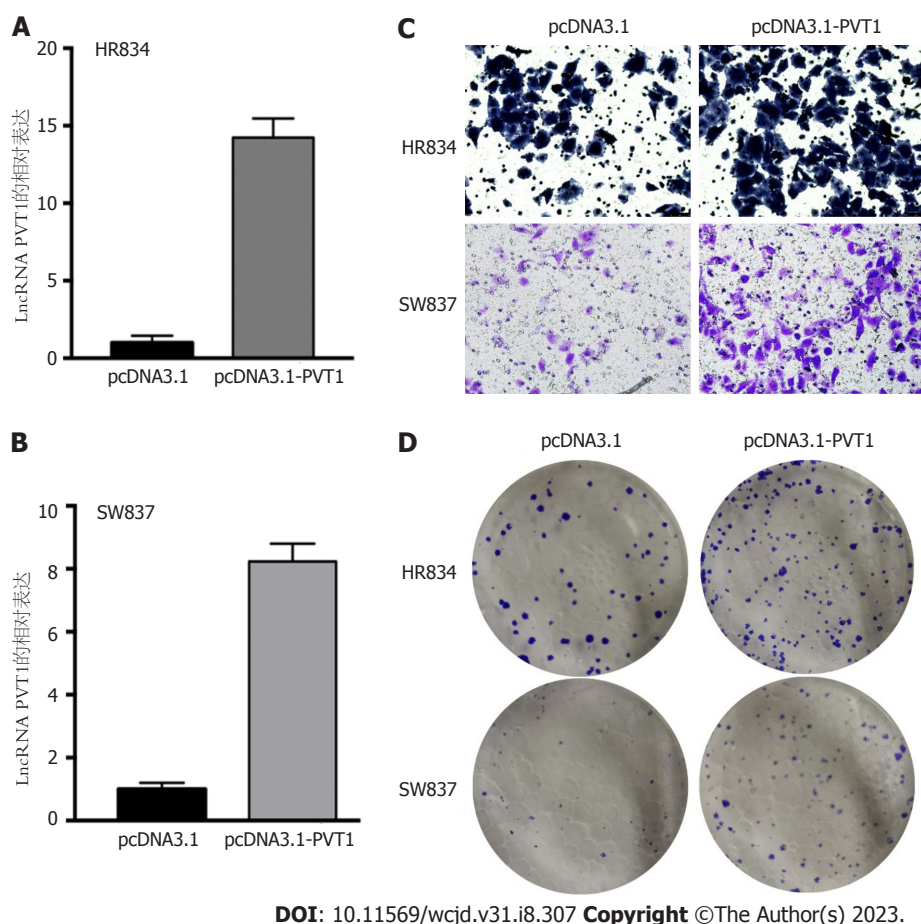


图 2 lncRNA PVT1对直肠癌细胞侵袭能力的影响. A, B: lncRNA PVT1在SW837, HR834中过表达的效率($P<0.05$); C: lncRNA PVT1过表达后细胞侵袭能力的改变; D: lncRNA PVT1过表达后细胞克隆形成的改变.

调可以促进直肠癌的细胞增殖、侵袭等恶性生物学行为. MIR17HG在直肠癌中可以调控miR-17-5p表达进而促进大肠癌的发生发展^[17]. GLCC1可以通过稳定c-Myc进而发挥促进结直肠癌变和肿瘤细胞代谢^[18]. MALAT1可以诱导结直肠癌细胞自噬进而促进细胞增殖并抑制

细胞凋亡, 其机制通过抑制结肠直肠癌中miR-101对自噬的负性调控作用^[8].

自噬在正常和肿瘤细胞中起着维持细胞稳态和适应力关键作用^[12,20]. 自噬的每个步骤都受特定自噬复合物的控制, 这些自噬复合物的活性直接或间接受到

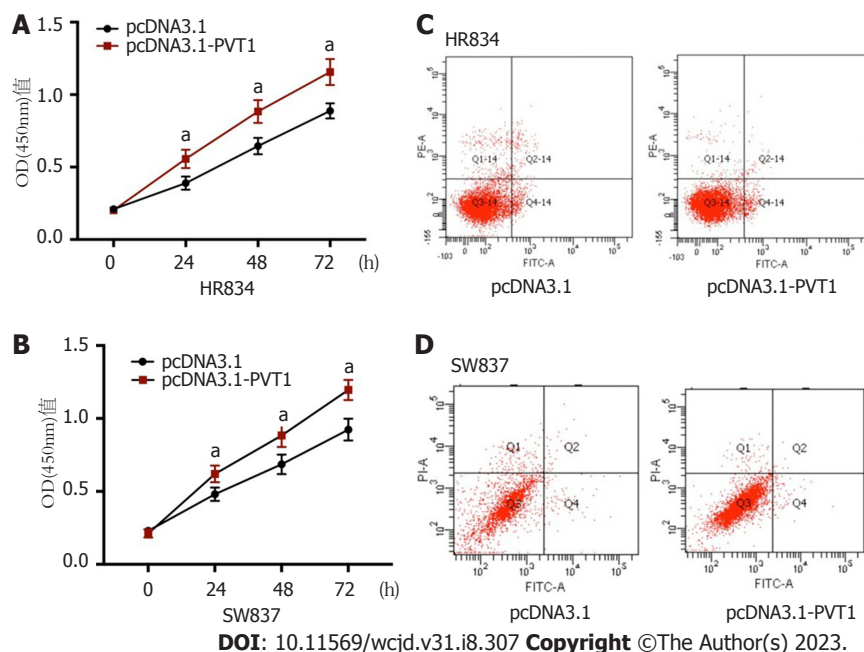


图 3 lncRNA PVT1过表达对直肠癌增殖和凋亡的影响. A, B: 过表达lncRNA PVT1后CCK8检测细胞增殖($P<0.05$); C, D: 过表达lncRNA PVT1后流式细胞仪检测细胞周期分布和凋亡.

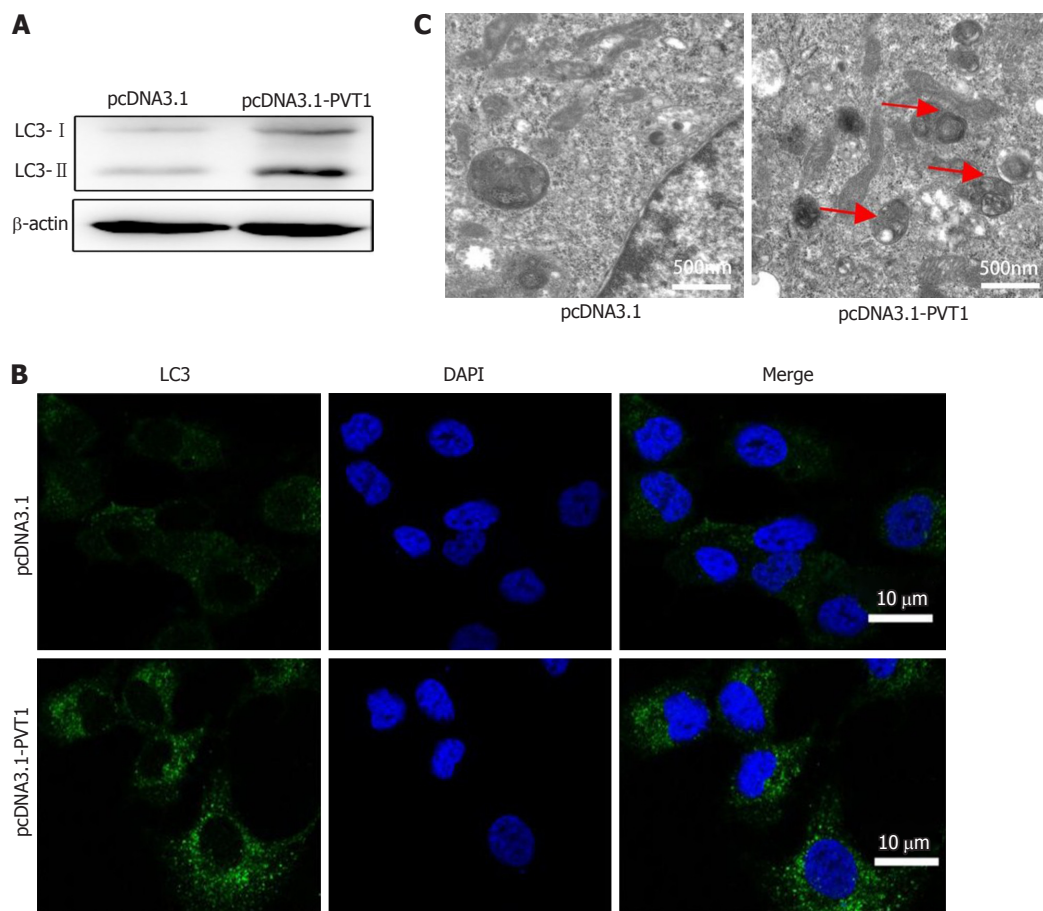


图 4 过表达lncRNA PVT1表达诱导直肠癌细胞自噬. A: western blot实验检测过表达lncRNA PVT1后LC3-II/LC3-I的相对表达; B: 免疫荧光检测过表达lncRNA PVT1后LC3荧光斑点改变(10 μm); C: 透射电镜检测过表达lncRNA PVT1后自噬小体改变, 红色箭头: 自噬小体或自噬溶酶体(500 nm).

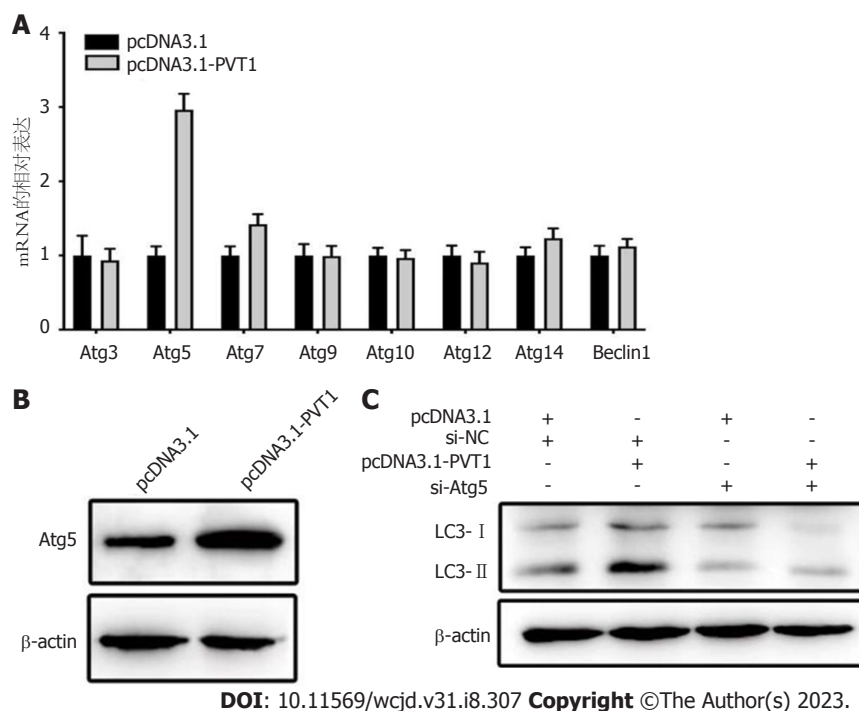


图 5 过表达lncRNA PVT1通过上调Atg5诱导自噬。A: 过表达lncRNA PVT1直肠癌细胞中主要的自噬相关基因表达; B: 过表达lncRNA PVT1后Atg5蛋白的表达; C: pcDNA3.1-PVT1与si-Atg5共转染后LC3-II/LC3-I的表达。

应激信号通路的调控^[20]。目前多项研究已经证实自噬在肿瘤细胞的恶性生物学行为中发挥重要作用^[20]。尤其是在肿瘤生长期间, 包括CRC在内的各种肿瘤细胞都将自噬作为重要的营养来源^[20,21]。值得注意的是肿瘤细胞中异常表达的LncRNAs广泛参与肿瘤自噬水平的调控, 并且在肿瘤细胞抵御各种不利因素如低氧、饥饿、化疗药物等发挥重要作用^[22]。关于lncRNA SNHG6的研究证实其可能在CRC细胞中ceRNA调控miR-26a-5p间接诱导ULK1介导的自噬促进化学抗性^[23]等。Lnc RNA PVT1基因已经被证实多种肿瘤中发挥促癌作用^[24], 例如lncRNA PVT1通过激活KAT2A乙酰转移酶和稳定HIF-1α从而诱导鼻咽癌恶性生物学行为并诱发放射的抵抗性^[24]。在宫颈癌中lncRNA PVT1通过激活NF-κB途径抑制miR-16的作用, 最终促进宫颈癌细胞的细胞增殖并抑制细胞凋亡^[25]。然后目前对于lncRNA PVT1在直肠癌中的作用尚不明确。因此本研究在结合国内外研究的基础上, 探讨lncRNA PVT1在直肠癌中表达以及与预后的关系, 以及对直肠癌自噬的调控机制和增殖凋亡的影响。

本研究首先通过TCGA数据库获得直肠癌的lncRNA PVT表达情况, 显示在肿瘤细胞中lncRNA PVT显著上调。之后在直肠癌细胞系中证实了lncRNA PVT在直肠癌细胞中表达同样显著增加。通过R语言包(survival, survminer)进行预后分析显示lncRNA PVT1的表达水平与直肠癌预后显著相关($P<0.05$)。随后在直肠癌细胞中过表达lncRNA PVT1, 分别通过transwell实验, 细胞克隆

实验, 流式实验, 细胞增殖实验分析lncRNA PVT1对直肠癌细胞增殖, 凋亡的影响。结果显示, 过表达lncRNA PVT1后激活直肠癌自噬和诱导肿瘤细胞增殖, 侵袭并且抑制其凋亡($P<0.05$)。之后通过WB, 免疫荧光和电镜实验分析了过表达lncRNA PVT1对直肠癌细胞自噬影响。结果显示WB显示LC3-II/LC3-I比例上调, 免疫荧光结果显示LC3荧光斑点显著增加, 电镜结构显示自噬小体显著增加。提示过表达lncRNA PVT1显著诱导直肠癌细胞自噬水平。为了探究lncRNA PVT1调控自噬的具体机制, PCR结果显示lncRNA PVT1诱导Atg5 mRNA上调。进一步通过western blot证实过表达lncRNA PVT1显著诱导Atg5蛋白水平上调, 然后共转染pcDNA3.1-PVT1与si-Atg5质粒, western blot显示lncRNA PVT1在Atg5干扰组自噬水平无明显改变。因此证实lncRNA PVT1可以通过Atg5调控直肠癌细胞自噬水平。

本研究的不足之处在于, 本研究通过对于数据库数据分析lncRNA PVT1的表达与预后的关联性, 并未搜集单位直肠癌术后标本进行分析, 结论说服力尚不足; 另外本研究中实验室培养三种直肠癌细胞系(SW837, HR8348和SW1463)只能代表部分直肠癌细胞的情况, 得到的结论有以偏概全的可能, 因此希望今后有更多对于直肠癌手术后标本、以及更多直肠癌细胞系进行分析。

4 结论

综上所述, lncRNA PVT1在直肠癌组织和细胞中显著表

达上调, 而且高表达的lncRNA PVT1与肿瘤细胞的细胞分裂周期和自噬显著相关. 细胞实验水平证实lncRNA PVT1促进直肠癌细胞增殖, 抑制其凋亡等恶性生物学行为. 同时也证实lncRNA PVT1诱导直肠癌细胞自噬通过上调Atg5, 这些表明lncRNA PVT1作为在直肠癌的发生发展中具有重要意义, 而且有望成直肠癌有效的治疗靶点.

文章亮点

实验背景

lncRNA PVT1基因作为lncRNAs的一种, 已经被证实多种肿瘤中发挥促癌作用, 但对于该基因在直肠癌中的生物学行为报道较少.

实验动机

本研究在结合国内外研究的基础上, 探讨lncRNA PVT1在直肠癌中表达以及与预后的关系, 以及对直肠癌自噬的调控机制和增殖凋亡的影响, 为直肠癌的靶向治疗提供可靠的靶点.

实验目标

探究lncRNA PVT1在直肠癌组织中的表达及对直肠癌细胞自噬和增殖侵袭的影响.

实验方法

通过TCGA数据库获得92例直肠癌, 318例健康样本的lncRNA PVT1表达水平, 并且通过定量实时PCR检测直肠癌细胞SW837, HR8348, SW1463和FHC中lncRNA PVT1表达水平. 通过R语言包(survival, survminer)分析TCGA数据库分析lncRNA PVT1表达高低与直肠癌预后的关系. 过表达SW837, HR8348中的lncRNA PVT1. 利用transwell, CCK-8试剂盒、流式细胞实验分析其侵袭, 增殖能力及凋亡的改变. 然后Western blot实验分析LC3-II/LC3-I的表达, 免疫荧光实验分析LC3荧光斑点的改变, 透射电镜分析形态学判断自噬小体的改变. 之后共转染si-Atg5分析直肠癌细胞自噬水平的变化.

实验结果

lncRNA PVT1在直肠癌组织和细胞中表达都显著增加. 并且lncRNA PVT1的表达直肠癌预后相关, 过表达lncRNA PVT1后激活直肠癌自噬和诱导肿瘤细胞增殖, 侵袭并且抑制其凋亡($P<0.05$).

实验结论

lncRNA PVT1在直肠癌组织和细胞中显著表达上调, 而且高表达的lncRNA PVT1与肿瘤细胞的细胞分裂周期和

自噬显著相关. 细胞实验水平证实lncRNA PVT1促进直肠癌细胞增殖, 抑制其凋亡等恶性生物学行为. 同时也证实lncRNA PVT1诱导直肠癌细胞自噬通过上调Atg5, 这些表明lncRNA PVT1作为在直肠癌的发生发展中具有重要意义, 而且有望成直肠癌有效的治疗靶点.

展望前景

希望今后有更多对于直肠癌手术后标本、以及更多直肠癌细胞系进行分析.

参考文献

- Wang H. MicroRNAs and Apoptosis in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci* 2020; 21 [PMID: 32731413 DOI: 10.3390/ijms21155353]
- Venugopal A, Stoffel EM. Colorectal Cancer in Young Adults. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2019; 17: 89-98 [PMID: 30712157 DOI: 10.1007/s11912-019-0756-8]
- Peng HX, Yang L, He BS, Pan YQ, Ying HQ, Sun HL, Lin K, Hu XX, Xu T, Wang SK. Combination of preoperative NLR, PLR and CEA could increase the diagnostic efficacy for I-III stage CRC. *J Clin Lab Anal* 2017; 31 [PMID: 27686880 DOI: 10.1002/jcla.22075]
- Riddihough G. A very focused function for lncRNAs. *Science* 2017; 355: 35-37 [PMID: 28059744 DOI: 10.1126/science.355.6320.35-k]
- Mohanty V, Gökmen-Polar Y, Badve S, Janga SC. Role of lncRNAs in health and disease-size and shape matter. *Brief Funct Genomics* 2015; 14: 115-129 [PMID: 25212482 DOI: 10.1093/bfpg/elu034]
- Zhu Y, Gu L, Lin X, Cui K, Liu C, Lu B, Zhou F, Zhao Q, Shen H, Li Y. LINC00265 promotes colorectal tumorigenesis via ZMIZ2 and USP7-mediated stabilization of β -catenin. *Cell Death Differ* 2020; 27: 1316-1327 [PMID: 31527801 DOI: 10.1038/s41418-019-0417-3]
- Liang WC, Fu WM, Wong CW, Wang Y, Wang WM, Hu GX, Zhang L, Xiao LJ, Wan DC, Zhang JF, Wayne MM. The lncRNA H19 promotes epithelial to mesenchymal transition by functioning as miRNA sponges in colorectal cancer. *Oncotarget* 2015; 6: 22513-22525 [PMID: 26068968 DOI: 10.18632/oncotarget.4154]
- Wu C, Zhu X, Tao K, Liu W, Ruan T, Wan W, Zhang C, Zhang W. MALAT1 promotes the colorectal cancer malignancy by increasing DCPIA expression and miR203 downregulation. *Mol Carcinog* 2018; 57: 1421-1431 [PMID: 29964337 DOI: 10.1002/mc.22868]
- Li J, Ma X, Chakravarti D, Shalapour S, DePinho RA. Genetic and biological hallmarks of colorectal cancer. *Genes Dev* 2021; 35: 787-820 [PMID: 34074695 DOI: 10.1101/gad.348226.120]
- Zhang W, Yuan W, Song J, Wang S, Gu X. lncRNA CPS1-IT1 suppresses EMT and metastasis of colorectal cancer by inhibiting hypoxia-induced autophagy through inactivation of HIF-1 α . *Biochimie* 2018; 144: 21-27 [PMID: 29017924 DOI: 10.1016/j.biochi.2017.10.002]
- Kosumi K, Masugi Y, Yang J, Qian ZR, Kim SA, Li W, Shi Y, da Silva A, Hamada T, Liu L, Gu M, Twombly TS, Cao Y, Barbic DA, Noshio K, Baba H, Garrett WS, Meyerhardt JA, Giovannucci EL, Chan AT, Fuchs CS, Ogino S, Nishihara R. Tumor SQSTM1 (p62) expression and T cells in colorectal cancer. *Oncoimmunology* 2017; 6: e1284720 [PMID: 28405513 DOI: 10.1080/2162402X.2017.1284720]
- Savini M, Wang MC. Does Autophagy Promote Longevity? It Depends. *Cell* 2019; 177: 221-222 [PMID: 30951663 DOI: 10.1016/j.cell.2019.03.021]
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN

- Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021; 71: 209-249 [PMID: 33538338 DOI: 10.3322/caac.21660]
- 14 Zhu XT, Yuan JH, Zhu TT, Li YY, Cheng XY. Long noncoding RNA gypican 3 (GPC3) antisense transcript 1 promotes hepatocellular carcinoma progression via epigenetically activating GPC3. *FEBS J* 2016; 283: 3739-3754 [PMID: 27573079 DOI: 10.1111/febs.13839]
 - 15 Bhan A, Soleimani M, Mandal SS. Long Noncoding RNA and Cancer: A New Paradigm. *Cancer Res* 2017; 77: 3965-3981 [PMID: 28701486 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2634]
 - 16 Liu S, Xu B, Yan D. Enhanced expression of long non-coding RNA Sox2ot promoted cell proliferation and motility in colorectal cancer. *Minerva Med* 2016; 107: 279-286 [PMID: 27353770]
 - 17 Xu J, Meng Q, Li X, Yang H, Xu J, Gao N, Sun H, Wu S, Familiari G, Relucenti M, Zhu H, Wu J, Chen R. Long Noncoding RNA MIR17HG Promotes Colorectal Cancer Progression via miR-17-5p. *Cancer Res* 2019; 79: 4882-4895 [PMID: 31409641 DOI: 10.1158/0008-5472]
 - 18 Tang J, Yan T, Bao Y, Shen C, Yu C, Zhu X, Tian X, Guo F, Liang Q, Liu Q, Zhong M, Chen J, Ge Z, Li X, Chen X, Cui Y, Chen Y, Zou W, Chen H, Hong J, Fang JY. LncRNA GLCC1 promotes colorectal carcinogenesis and glucose metabolism by stabilizing c-Myc. *Nat Commun* 2019; 10: 3499 [PMID: 31375671 DOI: 10.1038/s41467-019-11447-8]
 - 19 Si Y, Yang Z, Ge Q, Yu L, Yao M, Sun X, Ren Z, Ding C. Long non-coding RNA Malat1 activated autophagy, hence promoting cell proliferation and inhibiting apoptosis by sponging miR-101 in colorectal cancer. *Cell Mol Biol Lett* 2019; 24: 50 [PMID: 31372165 DOI: 10.1186/s11658-019-0175-8]
 - 20 Poillet-Perez L, Xie X, Zhan L, Yang Y, Sharp DW, Hu ZS, Su X, Maganti A, Jiang C, Lu W, Zheng H, Bosenberg MW, Mehnert JM, Guo JY, Lattime E, Rabinowitz JD, White E. Autophagy maintains tumour growth through circulating arginine. *Nature* 2018; 563: 569-573 [PMID: 30429607 DOI: 10.1038/s41586-018-0697-7]
 - 21 Wang Z, Jin J. LncRNA SLCO4A1-AS1 promotes colorectal cancer cell proliferation by enhancing autophagy via miR-508-3p/PARD3 axis. *Aging (Albany NY)* 2019; 11: 4876-4889 [PMID: 31308265 DOI: 10.18632/aging.102081]
 - 22 Frankel LB, Lubas M, Lund AH. Emerging connections between RNA and autophagy. *Autophagy* 2017; 13: 3-23 [PMID: 27715443 DOI: 10.1080/15548627.2016.1222992]
 - 23 Wang X, Lan Z, He J, Lai Q, Yao X, Li Q, Liu Y, Lai H, Gu C, Yan Q, Fang Y, Zhang Y, Li A, Liu S. LncRNA SNHG6 promotes chemoresistance through ULK1-induced autophagy by sponging miR-26a-5p in colorectal cancer cells. *Cancer Cell Int* 2019; 19: 234 [PMID: 31516391 DOI: 10.1186/s12935-019-0951-6]
 - 24 Zhang L, Mao J. Long-Chain Noncoding RNA PVT1 Gene Polymorphisms Are Associated with the Risk and Prognosis of Colorectal Cancer in the Han Chinese Population. *Genet Test Mol Biomarkers* 2019; 23: 728-736 [PMID: 31509024 DOI: 10.1089/gtmb.2019.0078]
 - 25 Wang C, Zou H, Yang H, Wang L, Chu H, Jiao J, Wang Y, Chen A. Long non-coding RNA plasmacytoma variant translocation 1 gene promotes the development of cervical cancer via the NF- κ B pathway. *Mol Med Rep* 2019; 20: 2433-2440 [PMID: 31322217 DOI: 10.3892/mmr.2019.10479]

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 © 2023 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

代谢相关脂肪性肝病基于中国居民膳食指南的个体化干预研究

贺登花, 张勇湛, 徐亮, 张颖, 裴佳佳, 闫忠芳

贺登花, 张勇湛, 张颖, 裴佳佳, 天津市第二人民医院营养科 天津市 300192

徐亮, 天津市第二人民医院肝病科 天津市 300192

闫忠芳, 天津市安定医院营养科 天津市 300222

贺登花, 主治医师, 主要研究方向为临床营养.

基金项目: 天津市卫生健康科技项目, No. RC-20038.

作者贡献分布: 此课题由贺登花、闫忠芳及张勇湛设计; 实施过程由贺登花、张勇湛、徐亮、张颖及裴佳佳完成; 病例入组由徐亮、贺登花及张勇湛完成; 数据收集由贺登花、张颖、裴佳佳及张勇湛完成; 数据分析及论文撰写由贺登花完成; 论文指导和定稿由闫忠芳、张勇湛及徐亮完成.

通讯作者: 闫忠芳, 主任医师, 300222, 天津市河西区柳林路13号, 天津市安定医院. yzffzy@126.com

收稿日期: 2023-02-20

修回日期: 2023-03-23

接受日期: 2023-04-24

在线出版日期: 2023-04-28

Individualized intervention for patients with metabolic fatty liver disease based on Dietary Guidelines for Chinese Residents

Deng-Hua He, Yong-Zhan Zhang, Liang Xu, Ying Zhang, Jia-Jia Pei, Zhong-Fang Yan

Deng-Hua He, Yong-Zhan Zhang, Ying Zhang, Jia-Jia Pei, Department of Clinical Nutrition, Tianjin Second People's Hospital, Tianjin 300192, China

Liang Xu, Third Department of Hepatology, Tianjin Second People's Hospital, Tianjin 300192, China

Zhong-Fang Yan, Department of Clinical Nutrition, Tianjin An Ding Hospital, Tianjin 300222, China

Supported by: Science and Technology Project of Tianjin Health,

No. RC-20038.

Corresponding author: Zhong-Fang Yan, Chief Physician, Department of Clinical Nutrition, Tianjin An Ding Hospital, No. 13 Liulin Road, Hexi District, Tianjin 300222, China. yzffzy@126.com

Received: 2023-02-20

Revised: 2023-03-23

Accepted: 2023-04-24

Published online: 2023-04-28

Abstract BACKGROUND

Metabolic associated fatty liver disease (MAFLD) is widely prevalent. Poor dietary and living habits are closely related to the development of MAFLD. Diet and exercise intervention is one of the important measures for the prevention and treatment of MAFLD, but the intervention strategies are still inconclusive, and further research is still required.

AIM

To explore the effect of individualized intervention through limited energy balanced diet and exercise on MAFLD.

METHODS

MAFLD patients were divided into either an intervention group or a control group according to whether they received individualized diet and exercise intervention or not. At the time of enrollment (T0), the anthropometric information and laboratory indicators of the patients were collected, and the general information, family history, dietary and living habits, and food frequency of the patients were collected by questionnaire survey. Individualized diet and exercise intervention was executed in the intervention group, while routine health education without individualized intervention was executed in the control group. We collected the above parameters after 6 mo (T1) for the second time, and then compared their differences between

T0 and T1.

RESULTS

Among 127 MAFLD patients included, those with daily travelling by car accounted for 62.99%, and those preferring sedentary lifestyle (>8 h/d), heavy flavor food, and extra meal accounted for 48.82%, $>50\%$, and 37.01%, respectively. Five main factors were extracted after factor analysis, including "fungus and vegetable", "grain and milk", "meat and egg", "aquatic", and "snack". The upper quintile (Q5) of the "meat and egg" factor could increase the risk of high triglyceride (odds ratio [OR] = 5.60, 95% confidence interval [CI]: 1.41-22.24) and high cholesterol (OR = 6.45, 95%CI: 1.51-27.63) compared with the lower quintile (Q1); the middle quintile (Q3) of the "aquatic" factor could also increase the risk of high cholesterol (OR = 4.54, 95%CI: 1.10-18.78). The differences in anthropometric information and laboratory test indicators (except glycosylated hemoglobin in the control group) between T0 and T1 were statistically significant ($P < 0.05$) both in the intervention group and in the control group.

CONCLUSION

Individualized dietary and exercise intervention based on the Dietary Guidelines for Chinese Residents can help MAFLD patients reduce body weight, body mass index, waist circumference, visceral fat area, body fat ratio, etc. and improve their glucose and lipid metabolism effectively.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Calorie restriction diet; Aerobic exercise; Resistance exercise; Metabolic associated fatty liver disease; Dietary Guidelines for Chinese Residents

Citation: He DH, Zhang YZ, Xu L, Zhang Y, Pei JJ, Yan ZF. Individualized intervention for patients with metabolic fatty liver disease based on Dietary Guidelines for Chinese Residents. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(8): 316-325
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/316.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i8.316>

摘要

背景

代谢相关脂肪性肝病(metabolic associated fatty liver disease, MAFLD)在全球范围内广泛流行, 不良的饮食生活习惯与其发生发展密切相关, 通过饮食运动及生活方式干预是防治MAFLD的重要措施之一, 但目前关于MAFLD的饮食运动及生活方式的干预策略尚无定论, 其方式方法仍需要进一步研究。

目的

基于中国居民膳食指南为MAFLD患者制定个体化膳食及运动处方, 探索个体化限制能量平衡膳食联合运

动指导的干预方式对改善MAFLD的作用。

方法

根据是否接受个体化饮食运动干预分为干预组和对照组, 分别在入组时(T0)收集患者的人体测量指标、实验室检测指标, 通过问卷调查了解患者的一般信息、家族史、膳食及生活习惯、食物频率等, 根据患者实际情况给予干预组患者个体化膳食处方和运动处方, 对照组给予常规健康宣教, 6 mo后(T1)再次收集患者的资料, 比较干预前后人体测量指标和实验室检测指标的变化。

结果

127例MAFLD患者(对照组32例, 干预组95例)中, 汽车出行者占62.99%, 久坐者(>8 h/d)占48.82%, 饮食口味重者占比 $>50\%$, 爱加餐者占37.01%; 食物因子分析提取五个主因子, 分别解释为“菌蔬”因子、“粮乳”因子、“肉蛋”因子、“水产”因子和“零食”因子, 其中“肉蛋”因子的上五分位(Q5)可使高甘油三酯和高胆固醇的危险性分别增加为其下五分位(Q1)的5.60倍(95%CI: 1.41-22.24)和6.45倍(95%CI: 1.51-27.63); 水产因子的中五分位(Q3)可使高胆固醇的危险性增加为其Q1的4.54倍(95%CI: 1.10-18.78); 干预组和对照组的人体测量指标和实验室检测指标(除对照组的糖化血红蛋白)在干预前后的差异均有统计学意义($P < 0.05$), 且两组指标的变化差值间的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

结论

基于中国居民膳食指南个体化制定膳食及运动干预方案有助于降低MAFLD患者的体重、体质指数、腰围、内脏脂肪面积、体脂比等人体测量指标, 可有效改善患者糖脂代谢状况。

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 限制能量平衡膳食; 有氧运动; 抗阻运动; 代谢相关脂肪性肝病; 中国居民膳食指南

核心提要: 代谢相关脂肪性肝病(metabolic associated fatty liver disease, MAFLD)中不良膳食及生活习惯占比较高, 基于中国居民膳食指南制定个体化的膳食及运动干预处方有助于降低MAFLD患者的体重、体质指数、腰围、内脏脂肪面积、体脂比等人体测量指标, 并有效改善患者糖脂代谢状况。

文献来源: 贺登花, 张勇湛, 徐亮, 张颖, 裴佳佳, 闫忠芳. 代谢相关脂肪性肝病基于中国居民膳食指南的个体化干预研究. *世界华人消化杂志* 2023; 31(8): 316-325

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/316.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i8.316>

0 引言

既往研究表明, 膳食结构不合理、膳食能量过高及久坐少动等不良饮食及生活习惯与代谢相关脂肪性肝病(metabolic associated fatty liver disease, MAFLD)^[1]发病率的不断增高密切相关^[2,3]。而合理的膳食结构, 如地中海饮食、控制高血压饮食(dietary approaches to stop hypertension, DASH)等优质膳食模式可改善肝脏脂肪变性并提高胰岛素敏感性^[4,5], 通过控制饮食、联合抗阻运动和有氧运动来减轻体重也可较好地改善MAFLD^[6-8]。本研究以中国居民膳食指南为基础, 结合MAFLD的疾病代谢特点, 为MAFLD患者制定个体化膳食及运动处方, 探索个体化限制能量平衡膳食联合运动指导的干预方式对改善MAFLD的作用, 为MAFLD及相关代谢紊乱的防治提供思路和科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2020-11/2023-01于天津市第二人民医院诊治并行人体成分分析检查的MAFLD患者, 排除患有肝性脑病、严重感染、肾病综合征、恶性肿瘤、甲状腺功能异常、严重精神疾病及长期卧床等疾病的患者, 共纳入127例(男性112例, 女性15例)MAFLD患者, 按照其是否接受个体化饮食运动干预分为干预组(95例)和对照组(32例), 分别在入组时(T0)和6 mo后(T1)收集相应研究数据。本研究经天津市第二人民医院伦理委员会审批通过。

1.2 方法 分别在T0和T1时收集患者的人体测量资料和实验室检测资料: (1)人体测量: 晨起空腹测量患者身高、体重(SHENGYUAN超声波体重秤HGM-700), 并计算体质指数(body mass index, BMI), $BMI = \text{体重(kg)} / \text{身高}^2(\text{m}^2)$; BIA法测定人体成分(InBody S10, 韩国), 患者晨起空腹, 测量前停止剧烈活动, 脱鞋袜并静躺5分钟后开始测量, 测量过程中保持安静、均匀呼吸, 测量结束后记录患者的腰围(waist circumference, WC)、上臂围(arm circumference, AC)、上臂肌围(arm muscle circumference, AMC)、骨骼肌含量(muscle weight, Mw)、蛋白质含量(protein weight, Pw)、体脂肪含量(fat weight, Fw)、体脂比(body fat ratio, BFR)、内脏脂肪面积(visceral fat area, VFA)及静息代谢率(resting metabolic rate, RMR)等指标; (2)实验室检测: 患者晨起空腹采血, 测定丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, CRE)、尿酸(uric acid, UA)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、

高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)等生化指标; 测定空腹血糖(fasting blood-glucose, FBG)、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)、糖化血红蛋白(glycated hemoglobin, HbA1C)等糖代谢指标。

1.3 问卷调查 在T0时发放调查问卷, 了解患者的一般情况, 为个体化膳食及运动处方的制定提供参考。主要包括: (1)个人基本信息: 姓名、性别、出生日期、民族、婚姻状况、文化程度、职业等; (2)既往史及家族史: 超重或肥胖、高血压、糖尿病、高脂血症等常见慢性疾病; (3)生活方式及行为习惯: 吸烟、饮酒、身体活动、饮食习惯等; (4)膳食调查: 食物频率及24 h膳食回顾; 调查内容包括11大类(41小类)食物: 主食类(精米面、其它谷类、油炸面食、薯类杂豆)、大豆及其制品(大豆、非发酵豆制品、发酵豆制品)、蔬菜类(鲜豆类、瓜茄类、块根类、茎叶类、酱腌菜类)、菌藻类(蘑菇类、非蘑菇食用菌、海藻类)、水果类(柑橘类、瓜类、核仁果类、浆果类、热带水果类)、乳类(液态奶、酸奶、奶粉、奶酪)、肉类(畜肉、禽肉、内脏类、烟熏肉)、水产类(鱼类、虾类、蟹类、软体动物)、蛋类(鲜蛋、加工蛋)、零食类(糕点、坚果、油炸膨化、蜜饯果脯、糖果巧克力)、饮料类(鲜榨果蔬汁、碳酸饮料、其它含糖饮料)。

1.4 膳食干预处方 (1)干预组: 根据患者的性别、年龄、身高、体力活动水平, 结合患者的饮食习惯及生化指标情况, 参考中国居民膳食指南建议, 制定个体化的限制能量平衡膳食(calorie restrict diet, CRD)处方。①确定目标能量: 能量 = 实际体重 $\times$ (20-25) kcal/kg $\cdot$ d $\times$ 70%。②确定供能比例: 碳水化合物占50%-55%, 脂肪占20%-30%, 蛋白质占15%-20%。③合理分配至一日三餐及加餐。④提供一周能量食谱及食物交换表, 同类等能量食物可替换; (2)对照组: 常规健康宣教, 发放宣传折页等, 无个体化膳食干预措施。

1.5 运动干预处方 (1)干预组: 结合患者平时的体力活动水平及运动喜好, 制定个体化中等强度有氧运动+抗阻运动处方: ①有氧运动: 运动项目可选择快走、慢跑、游泳、健身操、球类运动等; 运动时间以3次-5次/wk, 30 min-45 min/次, 根据自身耐受情况调整为宜; 每日运动量应至少达到3-4个运动单位(消耗90 kcal能量为1个运动单位); 运动强度以中等强度为主, 在身体能够耐受的前提下达到60%最大耗氧量, 即有效心率 = 170-年龄。②抗阻运动: 运动项目可选择直立提拉、过头推举、仰卧起坐、深蹲起、平板支撑等; 运动时间为3次-5次/wk, 20 min-30 min/次, 循序渐进; (2)对照组: 常规健康宣教, 发放宣传折页等, 无个体化运动干预措施。

1.6 诊断标准

1.6.1 MAFLD的诊断: 采用2020年国际专家共识^[1], 即

MAFLD的诊断基于肝脏脂肪积聚(肝细胞脂肪变性)的组织学(肝活检)、影像学及血液生物标志物证据, (本研究以腹部超声检查结果为基础, 具备以下异常表现2项以上者可诊断为脂肪肝: (1)肝脏近场回声增强, 远场回声减弱; (2)肝脏实质回声致密, 强于肾脏实质; (3)肝内血管和胆道结构显示不清^[9]. 同时满足以下三项条件之一: (1)超重/肥胖: 亚洲人群BMI $>23\text{ kg/m}^2$; (2)2型糖尿病: 糖尿病典型症状(多饮、多尿、多食及体重下降)加上随机血糖 $\geq 11.1\text{ mmol/L}$ 或加上空腹血糖 $\geq 7.0\text{ mmol/L}$ 或加上糖负荷后2 h血糖 $\geq 11.1\text{ mmol/L}$; (3)代谢功能障碍(以下代谢风险因素至少存在两项): ①腰围: 男性WC $\geq 90\text{ cm}$, 女性WC $\geq 85\text{ cm}$. ②血压: BP $\geq 130/85\text{ mmHg}$ 或接受特异性药物治疗. ③血浆甘油三酯: TG $\geq 150\text{ mg/dL}$ (1.7 mmol/L)或接受特异性药物治疗. ④血浆高密度脂蛋白-胆固醇: 男性HDL-C $<40\text{ mg/dL}$ (1.0 mmol/L)及女性HDL-C $<50\text{ mg/dL}$ (1.3 mmol/L), 或接受特异性药物治疗. ⑤糖尿病前期: 空腹血糖为 100 mg/dL - 125 mg/dL (5.6 mmol/L - 6.9 mmol/L)或餐后2 h血糖为 140 mg/dL - 199 mg/dL (7.8 mmol/L - 11.0 mmol/L)或糖化血红蛋白为 5.7% - 6.4% (39 mmol/L - 47 mmol/L). ⑥稳态模型评估-胰岛素抵抗指数: HOMA-IR ≥ 2.5 . ⑦血浆超敏C反应蛋白水平: CRP $>2\text{ mg/L}$).

1.6.2 代谢异常的二分类定义: ①高尿酸: 否 = 0, UA $<357\text{ }\mu\text{mol/L}$; 是 = 1, UA $\geq 357\text{ }\mu\text{mol/L}$. ②高血糖: 否 = 0, FBG $<6.10\text{ mmol/L}$; 是 = 1, FBG $\geq 6.10\text{ mmol/L}$. ③高甘油三酯: 否 = 0, TG $<1.70\text{ mmol/L}$; 是 = 1, TG $\geq 1.70\text{ mmol/L}$. ④高胆固醇: 否 = 0, TC $<5.18\text{ mmol/L}$; 是 = 1, TC $\geq 5.18\text{ mmol/L}$. ⑤低HDL-C: 否 = 0, HDL-C ≥ 1.00 ; 是 = 1, HDL-C $<1.00\text{ mmol/L}$. ⑥高LDL: 否 = 0, LDL-C $<3.36\text{ mmol/L}$; 是 = 1, LDL-C $\geq 3.36\text{ mmol/L}$.

统计学处理 连续变量用均数 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示, 两组间比较采用 t 检验; 分类变量用 $n(\%)$ 表示, 组间比较采用Mann-Whitney U 检验; 通过主成分因子分析法(最大正交旋转)提取膳食主因子, 将因子载荷 ≥ 0.300 者作为解释该主因子的食物种类; Logistic回归分别分析不同膳食主因子与各代谢异常之间的关系; 干预前(T0)后(T1)比较采用配对 t 检验, 对照组和干预组干预前后差值(T1-T0)的组间比较采用 t 检验. 数据分析均通过IBM SPSS Statistics 26.0完成, 以 $P<0.05$ (双侧)作为显著性标准.

2 结果

2.1 研究对象的一般特征及生活饮食习惯 本研究

共入组127例MAFLD患者, 平均年龄为 $34.02\text{ 岁}\pm 6.72\text{ 岁}$, 其中男性112例, 占88.19%. 研究对象中具有高血压家族的患者占51.97%($n=66$), 正在经历被动吸烟的患者占40.94%($n=52$), 以汽车为主要出行方式的患者占62.99%($n=80$), 每天久坐 $>8\text{ h}$ 的患者占48.82%($n=62$), 喜欢甜食、辣食、烧烤食物、煎炸食物及腌熏食物的患者分别占56.70%($n=72$)、60.63%($n=77$)、62.20%($n=79$)、57.48%($n=73$)及49.61%($n=63$), 有加餐习惯的患者占37.01%($n=47$). 根据患者是否愿意接受干预分为对照组($n=32$)和干预组($n=95$), 分析结果显示, 两组患者在一般特征及生活饮食习惯中的分布差异无统计学意义, 详见表1.

2.2 研究对象膳食频率的因子分析 将11类(41小类)食物的分别纳入因子分析后, KMO统计量 = 0.540, 变量间具有一定的偏相关性; Bartlett球形检验结果为 $\chi^2 = 75.60$, $P = 0.034$, 拒绝各变量间相互独立的假设, 各变量间具有一定的相关性, 可做因子分析. 经过最大正交旋转提取出五个主因子, 其总方差贡献率为59.69%, 各类食物在主因子中的因子载荷详情如表2, 将因子载荷 ≥ 0.300 者作为解释该主因子的食物种类. 因子1包括菌藻类、蔬菜类、水果类和豆制品类, 其方差贡献率为15.49%; 因子2包括乳类、粮谷类、水果类和饮料类, 其方差贡献率为12.80%; 因子3包括肉类和蛋类, 其方差贡献率为12.17%; 因子4包括水产类和豆制品类, 其方差贡献率为10.08%; 因子5包括零食类和水果类, 其方差贡献率为9.15%. 五个主因子可分别解释为“菌蔬”因子、“粮乳”因子、“肉蛋”因子、“水产”因子和“零食”因子.

2.3 膳食主因子与代谢异常之间的关系 分别以是否高尿酸、高血糖、高甘油三酯、高胆固醇、低HDL-C及高LDL-C为因变量, 以五个主因子的因子得分为自变量进行Logistic回归分析, 同时调整性别、年龄并做卡方趋势检验(P for trend), 不同食物主因子时各因变量的比值比(odds ratio, OR)和95%可信区间(95% confidence interval, 95%CI)如表3. 结果显示, “肉蛋”因子的Q5可使高甘油三酯和高胆固醇的危险性分别增加为Q1的5.60倍(OR = 5.60, 95%CI: 1.41-22.24; $P<0.05$)和6.45倍(OR = 6.45, 95%CI: 1.51-27.63; $P<0.05$); “水产”因子的Q3可使高胆固醇的危险性增加为Q1的4.54倍(OR = 4.54, 95%CI: 1.10-18.78; $P<0.05$).

2.4 干预组和对照组各指标在干预前(T0)后(T1)的变化比较 T0时分别对干预组和对照组的人体测量指标及生化检测指标进行 t 检验, 结果显示两组患者在各检测指标的分布差异均无统计学意义. 对干预组和对照组在T0和T1时的指标分别进行配对 t 检验, 除对照组的HbA1C

表 1 研究对象的一般特征及生活饮食习惯[mean ± SD, n(%)]

		合计(n = 127)	对照组(n = 32)	干预组(n = 95)	P
身高(cm)		171.96 ± 7.79	172.33 ± 4.37	171.84 ± 8.66	0.681
年龄(岁)		34.02 ± 6.72	33.87 ± 7.83	34.08 ± 6.39	0.890
性别	男性	112(88.19)	30(93.75)	82(86.32)	0.262
	超重或肥胖	29(22.83)	6(18.75)	23(24.21)	0.526
家族史	高血压	66(51.97)	15(46.88)	51(53.68)	0.507
	糖尿病	30(23.62)	5(15.63)	25(26.32)	0.220
	高血脂	30(23.62)	9(28.13)	21(22.11)	0.490
吸烟饮酒	被动吸烟	52(40.94)	14(43.75)	38(40.00)	0.823
	主动吸烟	28(22.05)	11(34.38)	17(17.89)	0.055
	饮酒	27(21.26)	8(25.00)	19(20.00)	0.551
体力活动	出行方式(汽车)	80(62.99)	17(53.13)	63(66.32)	0.124
	家务劳动(几乎不)	38(29.92)	8(25.00)	30(31.58)	0.800
	体育锻炼(几乎不)	32(25.20)	9(28.13)	23(24.21)	0.333
	久坐(>8 h/d)	62(48.82)	13(40.63)	49(51.58)	0.378
	睡眠不足(<6 h/d)	14(11.02)	6(18.75)	8(8.42)	0.108
饮食喜好	甜食	72(56.70)	19(59.38)	53(55.79)	0.724
	辣食	77(60.63)	17(53.13)	60(63.16)	0.317
	烧烤食物	79(62.20)	18(56.25)	61(64.21)	0.424
	煎炸食物	73(57.48)	19(59.38)	54(56.84)	0.803
	腌熏食物	63(49.61)	16(50.00)	47(49.47)	0.959
	不吃早餐	11(8.66)	5(15.63)	6(6.32)	0.328
就餐习惯	外出就餐	26(20.47)	8(25.0)	19(20.00)	0.545
	加餐	47(37.01)	13(40.63)	34(35.79)	0.650

表 2 研究对象膳食模式的因子分析

食物种类	菌蔬因子	粮乳因子	肉蛋因子	水产因子	零食因子
菌藻类	0.702	0.069	-0.025	0.080	0.045
蔬菜类	0.594	0.051	0.246	-0.073	-0.165
饮料类	-0.503	0.311	0.278	-0.136	0.000
乳类	-0.148	0.743	0.025	0.070	-0.083
粮谷类	0.167	0.736	-0.134	0.041	0.061
水果类	0.441	0.463	0.085	-0.288	0.344
肉类	-0.102	0.015	0.828	-0.092	-0.026
蛋类	0.230	-0.130	0.685	0.184	0.183
水产类	0.000	0.031	0.008	0.853	0.161
豆制品类	0.309	0.158	0.086	0.459	-0.523
零食类	0.018	0.060	0.131	0.239	0.783
方差贡献率(%)	15.49	12.80	12.17	10.08	9.15
累计方差贡献率(%)	15.49	28.30	40.47	50.55	59.69

因子分析提取五个主因子, 分别解释为“菌蔬”因子、“粮乳”因子、“肉蛋”因子、“水产”因子和“零食”因子。

在干预前后的变化差异无统计学意义外, 对照组和干预组的其它指标在干预前后的变化差异均有统计学意义($P<0.05$)。分别对各指标的组间变化差值(T1-T0)进行 t 检验, 除TBIL和HDL-C变化差值的分布差异无统计学意义

外, 其它指标变化差值的分布差异均有统计学意义($P<0.05$), 其中干预组各指标的变化差值均小于0, 对照组各指标(除ALT、AST和TBIL外)的变化差值均大于0, 详见表4。

表 3 膳食主因子与代谢异常之间的关系

		Q1	Q3	Q5	P for trend
因子1	高尿酸	1.00	2.67(0.36, 19.52)	4.37(0.52, 36.73)	0.852
	高血糖	1.00	0.71(0.04, 12.26)	0.13(0.01, 2.61)	0.642
	高甘油三酯	1.00	1.86(0.48, 7.28)	3.13(0.77, 12.73)	0.900
	高胆固醇	1.00	0.93(0.23, 3.67)	0.33(0.08, 1.43)	0.857
	低HDL-C	1.00	4.18(0.58, 30.14)	3.89(0.57, 26.50)	0.346
因子2	高LDL-C	1.00	0.59(0.15, 2.38)	0.22(0.05, 1.02)	0.525
	高尿酸	1.00	1.55(0.32, 7.50)	7.45(1.10, 50.27)	0.186
	高血糖	1.00	0.26(0.01, 5.75)	0.63(0.04, 11.14)	0.107
	高甘油三酯	1.00	3.69(0.94, 14.47)	0.83(0.22, 3.07)	0.803
	高胆固醇	1.00	0.90(0.24, 3.32)	2.70(0.70, 10.41)	0.237
因子3	低HDL-C	1.00	1.22(0.20, 7.50)	0.92(0.14, 6.11)	0.468
	高LDL-C	1.00	2.03(0.49, 8.35)	3.10(0.78, 12.30)	0.591
	高尿酸	1.00	0.85(0.17, 4.35)	0.39(0.08, 1.92)	0.598
	高血糖	1.00	1.87(0.18, 19.08)	0.91(0.08, 12.80)	0.630
	高甘油三酯	1.00	2.09(0.56, 7.82)	5.60(1.41, 22.24) ^a	0.348
因子4	高胆固醇	1.00	1.53(0.36, 6.47)	6.45(1.51, 27.63) ^a	0.112
	低HDL-C	1.00	0.91(0.14, 6.04)	0.71(0.10, 5.01)	0.731
	高LDL-C	1.00	1.57(0.37, 6.71)	1.59(0.37, 6.71)	0.319
	高尿酸	1.00	0.17(0.02, 1.24)	0.38(0.05, 2.77)	0.435
	高血糖	1.00	0.11(0.02, 1.58)	0.14(0.01, 2.45)	0.021
因子5	高甘油三酯	1.00	1.01(0.28, 3.71)	1.03(0.28, 3.74)	0.232
	高胆固醇	1.00	4.54(1.10, 18.78) ^a	1.54(0.39, 6.10)	0.033
	低HDL-C	1.00	0.51(0.09, 2.79)	0.17(0.03, 1.18)	0.562
	高LDL-C	1.00	2.94(0.76, 11.41)	0.80(0.21, 3.07)	0.235
	高尿酸	1.00	0.09(0.01, 1.72)	0.86(0.10, 7.15)	0.146
因子5	高血糖	1.00	1.37(0.22, 6.78)	1.51(0.34, 7.12)	0.022
	高甘油三酯	1.00	2.62(0.64, 10.79)	0.36(0.09, 1.39)	0.348
	高胆固醇	1.00	1.67(0.37, 7.56)	1.23(0.31, 4.82)	0.346
	低HDL-C	1.00	0.60(0.07, 4.90)	1.60(0.28, 9.19)	0.262
	高LDL-C	1.00	1.28(0.28, 5.80)	0.59(0.13, 2.69)	0.755

^a $P<0.05$. Q1、Q3和Q5分别为各主因子得分的下五分位、中五分位及上五分位. HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇.

3 讨论

MAFLD在全球广泛流行, 其发病机制和影响因素尚无定论, 基因遗传、久坐不动、西式高能饮食及肠道菌群作用的共同作用都会影响到代谢紊乱的发生发展^[10]. 本研究结果显示, 127例MAFLD患者中, 62.9%的患者以汽车为主要出行方式看, 48.82%的患者每天久坐>8 h, 超半数的患者比较喜欢甜食、辣食、烧烤食物、煎炸食物及腌熏食物等口味较重的食物等, 说明有较高比例MAFLD患者存在不良的膳食及生活习惯. 而印度的一项研究中^[11], 约35%的非酒精性脂肪肝患者久坐不动, 35%的患者喜好油炸食品, 51%的患者喜欢辛辣食品, 比例低于本研究结果, 这可能与不同地区居民本身的生活习惯、饮食文化有关.

在MAFLD患者中进行包含11类(41小类)食物的

膳食调查, 对结果进行因子分析获得了五个主因子, 分别解释为“菌蔬”因子、“粮乳”因子、“肉蛋”因子、“水产”因子和“零食”因子, 其中“肉蛋”因子的Q5可使高甘油三酯和高胆固醇的危险性分别增加为Q1的5.60倍($P<0.05$)和6.45倍($P<0.05$); 水产因子的Q3可使高胆固醇的危险性增加为Q1的4.54倍($P<0.05$).

“菌蔬”因子主要包括菌藻类、蔬菜类、水果类和豆制品类, 有研究表明这些食物有助于改善MAFLD^[12], 其保护作用可能通过类胡萝卜素、菌菇多糖、 ω -3-多不饱和脂肪酸、类黄酮、异硫氰酸酯、萜类化合物、姜黄素和白藜芦醇等天然植物化合物对MAFLD的干扰作用来实现^[13,14]. 日本的一项研究表明^[15], 水果或蔬菜摄入量与MAFLD相关脂代谢无关, 并认为不需要为了预防MAFLD限制能量而限制水果的摄入量. 美国一项横断

表 4 对照组和干预组各指标在干预前后的变化比较

	对照组			干预组			T1-T0		
	T0	T1	P	T0	T1	P	对照组	干预组	P
体重(kg)	87.54 ± 11.78	89.93 ± 12.78	<0.001	86.27 ± 16.04	81.64 ± 14.49	<0.001	2.39 ± 3.49	-4.62 ± 3.99	<0.001
BMI(kg/m ²)	29.43 ± 3.67	30.27 ± 3.98	<0.001	29.09 ± 3.88	27.51 ± 3.46	<0.001	0.83 ± 1.18	-1.57 ± 1.33	<0.001
WC(cm)	102.34 ± 11.17	104.03 ± 0.95	<0.001	99.63 ± 11.96	95.26 ± 10.83	<0.001	1.69 ± 4.62	-4.37 ± 5.05	<0.001
AC(cm)	35.48 ± 3.19	35.96 ± 3.02	<0.001	34.64 ± 3.07	33.43 ± 2.69	<0.001	0.48 ± 1.09	-1.21 ± 1.27	<0.001
AMC(cm)	30.31 ± 2.47	30.69 ± 2.23	<0.001	29.46 ± 2.26	28.71 ± 2.03	<0.001	0.38 ± 0.77	-0.76 ± 0.98	<0.001
Mw(kg)	33.17 ± 4.05	33.88 ± 4.34	<0.001	32.82 ± 6.24	32.06 ± 5.92	<0.001	0.71 ± 1.07	-0.76 ± 1.21	<0.001
Pw(kg)	11.67 ± 1.35	11.89 ± 1.43	<0.001	11.55 ± 2.06	11.28 ± 1.96	<0.001	0.22 ± 0.37	-0.26 ± 0.41	<0.001
Fw(kg)	28.66 ± 7.72	29.88 ± 8.42	<0.001	27.94 ± 8.54	24.56 ± 7.33	<0.001	1.23 ± 3.59	-3.38 ± 3.54	<0.001
BFR(%)	32.32 ± 5.87	32.80 ± 5.97	<0.001	32.03 ± 6.19	29.80 ± 5.99	<0.001	0.48 ± 2.77	-2.23 ± 2.80	<0.001
VFA(cm ²)	130.31 ± 41.55	134.93 ± 43.25	<0.001	123.45 ± 42.23	107.76 ± 36.75	<0.001	4.62 ± 19.85	-15.69 ± 17.73	<0.001
RMR(kcal/d)	1641.84 ± 143.89	1666.78 ± 154.10	<0.001	1629.92 ± 225.02	1603.13 ± 214.45	<0.001	24.94 ± 36.41	-26.79 ± 42.47	<0.001
ALT(U/L)	63.22 ± 46.63	55.16 ± 38.91	0.001	80.82 ± 49.34	45.07 ± 33.33	<0.001	-8.07 ± 40.19	-35.75 ± 43.78	0.002
AST(U/L)	35.65 ± 22.73	30.14 ± 16.08	<0.001	41.48 ± 21.07	27.76 ± 16.57	<0.001	-5.51 ± 18.32	-13.72 ± 20.08	0.037
TBIL(μmol/L)	16.16 ± 6.73	15.63 ± 6.70	0.009	16.97 ± 6.82	16.67 ± 6.08	<0.001	-5.25 ± 7.01	-3.04 ± 5.24	0.851
BUN(mmol/L)	4.86 ± 1.22	5.07 ± 0.95	0.016	4.87 ± 1.03	4.64 ± 1.10	<0.001	0.15 ± 1.15	-0.23 ± 0.90	0.142
CRE(μmol/L)	71.17 ± 12.12	72.06 ± 11.84	<0.001	73.05 ± 12.23	71.53 ± 14.26	<0.001	0.03 ± 7.11	-1.61 ± 9.06	0.356
UA(μmol/L)	401.82 ± 89.63	419.05 ± 101.83	<0.001	424.50 ± 90.46	403.37 ± 98.83	<0.001	13.30 ± 74.72	-21.13 ± 66.38	0.018
TC(mmol/L)	4.89 ± 0.85	4.99 ± 0.89	<0.001	5.20 ± 1.11	4.85 ± 0.94	<0.001	0.05 ± 0.72	-0.37 ± 0.73	0.007
TG(mmol/L)	1.74 ± 0.98	2.07 ± 1.49	<0.001	2.36 ± 2.70	1.91 ± 2.24	<0.001	0.33 ± 0.90	-0.47 ± 1.29	0.002
HDL-C(mmol/L)	1.29 ± 0.28	1.34 ± 0.28	<0.001	1.29 ± 0.28	1.29 ± 0.27	<0.001	0.03 ± 0.22	-0.01 ± 0.31	0.508
LDL-C(mmol/L)	2.89 ± 0.66	2.97 ± 0.66	<0.001	3.11 ± 0.87	2.89 ± 0.72	<0.001	0.06 ± 0.59	-0.24 ± 0.59	0.021
FBG(mmol/L)	5.95 ± 1.07	6.19 ± 1.22	<0.001	5.88 ± 0.74	5.63 ± 0.55	<0.001	0.20 ± 0.71	-0.26 ± 0.66	0.001
FINS(μIU/mL)	19.21 ± 11.98	21.68 ± 10.81	<0.001	22.73 ± 13.60	17.19 ± 8.47	<0.001	1.84 ± 9.63	-5.61 ± 10.57	0.003
HbA1C(%)	5.51 ± 0.31	5.66 ± 0.35	0.085	5.78 ± 0.91	5.41 ± 0.18	0.015	0.10 ± 0.23	-0.18 ± 0.24	0.032

T0: 入组时; T1: 6 mo后; T1-T0: 干预前后差值; BMI: 体质指数; WC: 腰围; AC: 上臂围; AMC: 上臂肌围; Mw: 骨骼肌含量; Pw: 蛋白质含量; Fw: 体脂肪含量; BFR: 体脂率; VFA: 内脏脂肪面积; RMR: 静息代谢率; ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 天冬氨酸转氨酶; TBIL: 总胆红素; BUN: 尿素氮; CRE: 肌酐; UA: 尿酸; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇; FBG: 空腹血糖; FINS: 空腹胰岛素; HbA1C: 糖化血红蛋白。干预组T0与对照组T0的组间。

面研究认为^[16], 淀粉类蔬菜(如马铃薯等)摄入量增加与肝脏脂肪变性(OR = 1.11)和晚期肝纤维化(OR = 1.39)的风险增加有关, 但深色蔬菜的摄入量则呈现负相关作用(OR = 0.89), 因此提倡在膳食中应以深色蔬菜替代淀粉类蔬菜。本研究并未观察到“菌蔬”因子对MAFLD相关代谢异常的保护作用, 这可能与食物类别划分较粗有关, 需进一步研究。而“肉蛋”因子则与高甘油三酯和高胆固醇的危险性增高有关, 以往研究表明大量加工食品、红肉的膳食模式可显著增加MAFLD的患病风险^[17], 有研究认为这可能与其中含有的硝酸盐有关, 但对比蔬菜水果中的硝酸盐和肉类及加工肉类中的硝酸盐对MAFLD的影响发现, 前者并不增加MAFLD的风险, 但肉类和加工肉制品的硝酸盐含量则与MAFLD的发生呈正相关(OR = 1.34)^[18]。一般认为水产品尤其是深海鱼类富含多不饱和脂肪酸而对人体的脂质代谢有益, 但本研究中的“水产”因子可能与高胆固醇的风险增加有

关, 这可能与水产品易于富集镉、铅、汞等重金属有关, 镉、铅、汞等重金属混合物进入人体后可促进氧化应激及细胞炎症反应, 从而导致脂质代谢改变^[19]。

由于食物种类繁多, 其中所含营养素对人体的作用机制错综复杂, 人们将视角逐渐从单一食物或营养素对疾病的作用转至整体膳食模式对疾病的作用之上。如地中海膳食模式^[20]、得舒膳食模式^[21]等健康膳食模式均可降低MAFLD及相关代谢异常发生的风险。目前, 针对MAFLD的宏量营养素摄入量并未达成共识, 因此, 根据不同患者的膳食及生活习惯、疾病营养状况进行个体化的指导是比较理想的干预方式^[22]。根据我国居民的饮食文化及国情, 中国居民膳食指南建议我国居民以平衡膳食为基础以保持健康的饮食及生活习惯, 无论是哪种膳食模式, 针对NAFLD患者的干预都应建立在控制总摄入能量的基础上, 增加总消耗能量, 形成负能量平衡的状态, 从而改善机体脂质、糖的代谢^[22]。《非酒精性脂

肪性肝病防治指南(2018年更新版)》^[23]推荐限制能量平衡膳食模式CRD, 该膳食模式即在中国居民膳食指南推荐的平衡膳食上限制总能量, 本研究即采用CRD的膳食模式联合运动指导对MAFLD患者进行干预。

本研究中, 干预组的体重、BMI、WC、VFA、BFR等人体测量指标及TC、TG、HDL-C、LDL-C、FBG、FINS、HbA1C等糖脂代谢指标均下降, 而对照组则并无降低。一方面与未给予个体化膳食运动指导有关; 另一方面, 入组时根据患者是否愿意接受个体化干预进行分组, 对照组的患者在通过饮食运动改善疾病状况的意愿上不如干预组强烈。既往研究表明^[24], CRD膳食可降低MAFLD患者体重, 并改善ALT及AST, 与本研究结果一致, 但该研究中CRD膳食对肝脂肪代谢、血糖、胰岛素的影响无统计学意义, 这与本研究结果存在差异。这可能提示有氧运动+抗阻运动的干预在改善糖脂代谢中起了关键性作用, 饮食和运动可交互影响血脂、血糖代谢, 因此联合膳食与运动干预MAFLD可能效果更佳^[25]。研究表明^[8,26], 有氧运动和抗阻运动可降低肝内TG, 并降低体重, 改善MAFLD相关的代谢。目前的治疗指南一般建议定期进行体育锻炼, 但也有研究认为将日常身体活动(即非运动活动产热)纳入生活方式治疗方案的策略可能是一种更接地气、更易坚持且有效的方案^[27]。总之, 关于MAFLD的饮食运动及生活方式干预仍需要进一步研究, 对我国MAFLD患者而言, 基于中国居民膳食指南的个体化膳食及运动干预可能是目前较好的选择之一。

4 结论

综上所述, MAFLD患者中不良的饮食及生活习惯占比较高, 膳食不均衡(如“肉蛋”因子)可增加MAFLD相关的代谢异常, 基于中国居民膳食指南个体化制定膳食及运动方案有助于降低MAFLD患者的体重、BMI、WC、VFA、BFR等人体测量指标, 可有效改善患者糖脂代谢状况。

文章亮点

实验背景

代谢相关脂肪性肝病(metabolic associated fatty liver disease, MAFLD)的发生发展与膳食结构不合理及久坐少动等不良习惯密切相关, 通过优化膳食结构、联合抗阻运动和有氧运动的干预方式可较好地改善MAFLD。中国居民膳食指南膳食提倡平衡膳食更适合中国人群, 以此为基础再结合MAFLD的代谢特点为MAFLD患者制定个体化膳食及运动干预处方可能在MAFLD的防治中会非常关键。

实验动机

目前针对MAFLD的饮食运动干预方案尚未统一, 相关研究需进一步开展。本研究以中国居民膳食指南为基础, 结合MAFLD的代谢特点, 为MAFLD患者制定个体化膳食及运动处方, 探索个体化限制能量平衡膳食联合运动指导的干预方式对改善MAFLD的作用, 为MAFLD及相关代谢紊乱的防治提供思路和科学依据。

实验目标

通过制定个体化膳食和运动干预处方对MAFLD患者进行干预, 观察干预措施对MAFLD患者的干预效果。

实验方法

通过问卷调查、人体测量及实验室检测收集MAFLD患者的相关信息, 通过因子分析了解MAFLD患者的膳食主因子并分析其与MAFLD相关代谢异常之间的关系; 干预组给予个体化膳食和运动干预, 对照组仅给予常规健康教育宣教, 对比分析干预组和对照组在干预措施实施前后的变化。

实验结果

从MAFLD患者的食物因子分析提取出五个主因子, 可分别解释为“菌蔬”因子、“粮乳”因子、“肉蛋”因子、“水产”因子和“零食”因子, 其中“肉蛋”因子可使高甘油三酯和高胆固醇的危险性分别增加5.60倍和6.45倍, “水产”因子可使高胆固醇的危险性增加4.54倍; 干预组和对照组的人体测量指标和实验室检测指标(除对照组的糖化血红蛋白)在干预前后的差异均有统计学意义, 且两组指标的变化差值间的差异有统计学意义($P < 0.05$), 但干预组的差值 > 0 , 对照组的差值 < 0 。

实验结论

基于中国居民膳食指南制定个体化限制能量平衡膳食并联合有氧运动和无氧运动的干预方法可有效改善MAFLD患者的体重、体质指数、腰围、内脏脂肪面积、体脂率及糖脂代谢指标。

展望前景

基于中国居民膳食指南制定个体化膳食和运动干预措施可改善MAFLD, 应在MAFLD的防治中继续推广和应用, 同时中国居民膳食指南适用性广泛、易于实施, 我们可以进一步探索其在其它代谢相关疾病的防治及干预中的价值。

5 参考文献

- 1 Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, Anstee QM, Targher G,

- Romero-Gomez M, Zelber-Sagi S, Wai-Sun Wong V, Dufour JF, Schattenberg JM, Kawaguchi T, Arrese M, Valenti L, Shiha G, Tiribelli C, Yki-Järvinen H, Fan JG, Grønbaek H, Yilmaz Y, Cortez-Pinto H, Oliveira CP, Bedossa P, Adams LA, Zheng MH, Fouad Y, Chan WK, Mendez-Sanchez N, Ahn SH, Castera L, Bugianesi E, Ratzu V, George J. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J Hepatol* 2020; 73: 202-209 [PMID: 32278004 DOI: 10.1016/j.jhep.2020.03.039]
- 2 Yang CQ, Shu L, Wang S, Wang JJ, Zhou Y, Xuan YJ, Wang SF. Dietary Patterns Modulate the Risk of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Chinese Adults. *Nutrients* 2015; 7: 4778-4791 [PMID: 26083112 DOI: 10.3390/nu7064778]
- 3 Jia Q, Xia Y, Zhang Q, Wu H, Du H, Liu L, Wang C, Shi H, Guo X, Liu X, Li C, Sun S, Wang X, Zhao H, Song K, Huang G, Wu Y, Cui N, Niu K. Dietary patterns are associated with prevalence of fatty liver disease in adults. *Eur J Clin Nutr* 2015; 69: 914-921 [PMID: 25649235 DOI: 10.1038/ejcn.2014.297]
- 4 Papamiliadous ES, Roberts SK, Nicoll AJ, Ryan MC, Itsiopoulos C, Salim A, Tierney AC. A randomised controlled trial of a Mediterranean Dietary Intervention for Adults with Non Alcoholic Fatty Liver Disease (MEDINA): study protocol. *BMC Gastroenterol* 2016; 16: 14 [PMID: 26831892 DOI: 10.1186/s12876-016-0426-3]
- 5 Watzinger C, Nonnenmacher T, Grafetstätter M, Sowah SA, Ulrich CM, Kauczor HU, Kaaks R, Schübel R, Nattenmüller J, Kühn T. Dietary Factors in Relation to Liver Fat Content: A Cross-sectional Study. *Nutrients* 2020; 12: 825 [PMID: 32244908 DOI: 10.3390/nu12030825]
- 6 Hannah WJ, Harrison SA. Effect of Weight Loss, Diet, Exercise, and Bariatric Surgery on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Liver Dis* 2016; 20: 339-350 [PMID: 27063273 DOI: 10.1016/j.cld.2015.10.008]
- 7 O'Gorman P, Naimimohasses S, Monaghan A, Kennedy M, Melo AM, Ni FD, Doherty DG, Beddy P, Finn SP, Moore JB, Gormley J, Norris S. Improvement in histological endpoints of MAFLD following a 12-week aerobic exercise intervention. *Aliment Pharmacol Ther* 2020; 52: 1387-1398 [PMID: 32717123 DOI: 10.1111/apt.15989]
- 8 贾国瑜, 韩涛, 高磊, 王璐, 王少程, 杨莉, 张洁, 管玥琰, 闫娜娜, 余红艳, 肖慧娟, 邱卓生. 有氧运动和抗阻运动改善非酒精性脂肪肝的随机对照研究. *中华肝脏病杂志* 2018; 26: 34-41 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.01.009]
- 9 Wong VW, Chan WK, Chitturi S, Chawla Y, Dan YY, Duseja A, Fan J, Goh KL, Hamaguchi M, Hashimoto E, Kim SU, Lesmana LA, Lin YC, Liu CJ, Ni YH, Sollano J, Wong SK, Wong GL, Chan HL, Farrell G. Asia-Pacific Working Party on Non-alcoholic Fatty Liver Disease guidelines 2017-Part 1: Definition, risk factors and assessment. *J Gastroenterol Hepatol* 2018; 33: 70-85 [PMID: 28670712 DOI: 10.1111/jgh.13857]
- 10 Zaiou M, Amrani R, Rihn B, Hajri T. Dietary Patterns Influence Target Gene Expression through Emerging Epigenetic Mechanisms in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Biomedicine* 2021; 9: 1256 [PMID: 34572442 DOI: 10.3390/biomedicine9091256]
- 11 Singh SP, Singh A, Misra D, Misra B, Pati GK, Panigrahi MK, Kar SK, Bhuyan P, Pattnaik K, Meher C, Agrawal O, Rout N, Swain M, Aich P. Risk Factors Associated With Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Indians: A Case-Control Study. *J Clin Exp Hepatol* 2015; 5: 295-302 [PMID: 26900270 DOI: 10.1016/j.jceh.2015.09.001]
- 12 Li H, Wang X, Ye M, Zhang S, Zhang Q, Meng G, Liu L, Wu H, Gu Y, Wang Y, Zhang T, Sun S, Wang X, Zhou M, Jia Q, Song K, Wang Y, Niu K. Does a high intake of green leafy vegetables protect from NAFLD? Evidence from a large population study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2021; 31: 1691-1701 [PMID: 33838994 DOI: 10.1016/j.numecd.2021.01.009]
- 13 Pan MH, Lai CS, Tsai ML, Ho CT. Chemoprevention of nonalcoholic fatty liver disease by dietary natural compounds. *Mol Nutr Food Res* 2014; 58: 147-171 [PMID: 24302567 DOI: 10.1002/mnfr.201300522]
- 14 Eilam Y, Pintel N, Khattib H, Shagug N, Taha R, Avni D. Regulation of Cholesterol Metabolism by Phytochemicals Derived from Algae and Edible Mushrooms in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci* 2022; 23: 13667 [PMID: 36430146 DOI: 10.3390/ijms232213667]
- 15 Tajima R, Kimura T, Enomoto A, Saito A, Kobayashi S, Masuda K, Iida K. No association between fruits or vegetables and non-alcoholic fatty liver disease in middle-aged men and women. *Nutrition* 2019; 61: 119-124 [PMID: 30710884 DOI: 10.1016/j.nut.2018.10.016]
- 16 Li X, Zhang T, Li H, Zhou Z, Li M, Zeng X, Yang H, Zhang M, Huang Y, Zhu Y, Zhang Z, Ma Y, Yang W. Associations between intake of starchy and non-starchy vegetables and risk of hepatic steatosis and fibrosis. *Hepatol Int* 2022; 16: 846-857 [PMID: 35727501 DOI: 10.1007/s12072-022-10368-x]
- 17 Hassani ZS, Mansoori A, Hosseinzadeh M. Relationship between dietary patterns and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2021; 36: 1470-1478 [PMID: 33269500 DOI: 10.1111/jgh.15363]
- 18 Mirmiran P, Teymoori F, Farhadnejad H, Mokhtari E, Salehi-Sahlabadi A. Nitrate containing vegetables and dietary nitrate and nonalcoholic fatty liver disease: a case control study. *Nutr J* 2023; 22: 3 [PMID: 36627671 DOI: 10.1186/s12937-023-00834-z]
- 19 Nguyen HD, Kim MS. Cadmium, lead, and mercury mixtures interact with non-alcoholic fatty liver diseases. *Environ Pollut* 2022; 309: 119780 [PMID: 35841990 DOI: 10.1016/j.envpol.2022.119780]
- 20 Entezari MR, Talenezhad N, Mirzavandi F, Rahimpour S, Mozaffari-Khosravi H, Fallahzadeh H, Hosseinzadeh M. Mediterranean dietary pattern and non-alcoholic fatty liver diseases: a case-control study. *J Nutr Sci* 2021; 10: e55 [PMID: 34367629 DOI: 10.1017/jns.2021.43]
- 21 Doustmohammadian A, Clark C, Maadi M, Motamed N, Sobhrakshankhah E, Ajdarkosh H, Mansourian MR, Esfandiyari S, Hanjani NA, Nikkhoo M, Zamani F. Favorable association between Mediterranean diet (MeD) and DASH with NAFLD among Iranian adults of the Amol Cohort Study (AmolCS). *Sci Rep* 2022; 12: 2131 [PMID: 35136128 DOI: 10.1038/s41598-022-06035-8]
- 22 Ristic-Medic D, Bajerska J, Vucic V. Crosstalk between dietary patterns, obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2022; 28: 3314-3333 [PMID: 36158263 DOI: 10.3748/wjg.v28.i27.3314]
- 23 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组; 中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018 更新版). *中华肝脏病杂志* 2018; 26: 195-203 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.03.008]
- 24 Asghari S, Asghari-Jafarabadi M, Somi MH, Ghavami SM, Rafraf M. Comparison of Calorie-Restricted Diet and Resveratrol Supplementation on Anthropometric Indices, Metabolic Parameters, and Serum Sirtuin-1 Levels in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Am Coll Nutr* 2018; 37: 223-233 [PMID: 29313746 DOI: 10.1080/07315724.2017.1392264]
- 25 Curci R, Bianco A, Franco I, Campanella A, Mirizzi A, Bonfiglio C, Sorino P, Fucilli F, Di Giovanni G, Giampaolo N, Pesole PL, Osella AR. The Effect of Low Glycemic Index Mediterranean Diet and Combined Exercise Program on Metabolic-Associated Fatty Liver Disease: A Joint Modeling Approach. *J Clin Med* 2022; 11: 4339 [PMID: 35893431 DOI: 10.3390/jcm11154339]
- 26 Słomko J, Zalewska M, Niemiro W, Kujawski S, Słupski M, Januszko-Giergielewicz B, Zawadka-Kunikowska M, Newton J, Hodges L, Kubica J, Zalewski P. Evidence-Based Aerobic Exercise Training in Metabolic-Associated Fatty Liver Disease:

Systematic Review with Meta-Analysis. *J Clin Med* 2021; 10: 1659
[PMID: 33924482 DOI: 10.3390/jcm10081659]

27 von Loeffelholz C, Roth J, Coldewey SM, Birkenfeld AL.

The Role of Physical Activity in Nonalcoholic and Metabolic
Dysfunction Associated Fatty Liver Disease. *Biomedicines* 2021; 9:
1853 [PMID: 34944668 DOI: 10.3390/biomedicines9121853]

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 © 2023 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 消息 •

书 讯



本刊讯 由池肇春教授等主编的《代谢相关脂肪性肝病肝外并发症》已由天津科学技术出版社出版发行。

本书的出版为国内首创, 填补了国内有关这方面的空白, 拓宽了对《代谢相关脂肪性肝病》认识的高度和深度。《代谢相关脂肪性肝病肝外并发症》分总论和各论两部分。1-4章为总论, 分别介绍代谢相关脂肪性肝病肝外并发症研究现状与进展, 包括发病风险、发病机制和治疗近展; 脂肪代谢生物化学和分子生物学; 代谢相关脂肪性肝病肝外并发症免疫学; 肠道微生物生态失衡与代谢相关脂肪性肝病肝外并发症。5-18章为各论, 分别介绍代谢相关脂肪性肝病肝外并发症与机体各系统疾病的相关性。可为消化科、肝病科、内分泌代谢科、普外科、肿瘤科、影像科、其他相关科临床医师和从事MAFLD研究的人员学习和参考。

全书71万余字, 精装、图文并茂。每册定价188元, 可根据购书数量给予优惠, 欢迎选购。购书联系电话022-23332390(发行部何老师)。

微生态制剂联合二甲双胍在T2DM伴IBS中的应用效果分析

陈秀梅, 雷旭伟, 吴筱芬

陈秀梅, 雷旭伟, 吴筱芬, 浙江省丽水市莲都区丽水市第二人民医院
浙江省丽水市 323000

陈秀梅, 本科学历, 主管药师, 研究方向为药物应用.

作者贡献分布: 陈秀梅负责课题的设计和撰写; 陈秀梅、雷旭伟负责操作的完成; 吴筱芬负责仪器、试剂的提供.

通讯作者: 陈秀梅, 本科, 323000, 浙江省丽水市莲都区北环路69号, 浙江省丽水市莲都区丽水市第二人民医院. xiannai975559@163.com

收稿日期: 2023-02-22

修回日期: 2023-03-30

接受日期: 2023-04-24

在线出版日期: 2023-04-28

Therapeutic effects of microecological agents combined with metformin in type 2 diabetes mellitus with irritable bowel syndrome

Xiu-Mei Chen, Xu-Wei Lei, Xiao-Fen Wu

Xiu-Mei Chen, Xu-Wei Lei, Xiao-Fen Wu, The Second People's Hospital of Lishui, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Xiu-Mei Chen, Bachelor Degree, The Second People's Hospital of Lishui, No. 69 Beihuan Road, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. xiannai975559@163.com

Received: 2023-02-22

Revised: 2023-03-30

Accepted: 2023-04-24

Published online: 2023-04-28

Abstract

BACKGROUND

In recent years, the role of intestinal flora in the occurrence and progression of irritable bowel syndrome (IBS) has been gradually recognized, and, as recommended agents

for the treatment of IBS, probiotics, which can promote intestinal motility and correct and maintain the balance of flora, have been proven effective in the treatment of gastrointestinal diseases.

AIM

To investigate the therapeutic effects of microecological agents combined with metformin in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) with IBS and their modulatory effect on the intestinal flora and the Toll-like receptor 4 (TLR4)/myeloid differentiation factor 88 (MyD88)/nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway.

METHODS

Two hundred patients with T2DM with IBS treated at our hospital from August 2018 to August 2022 were selected and randomly divided into either a control group or an observation group, with 100 cases in each group. The control group was treated with metformin alone, and the observation group was treated with microecological agents combined with metformin. Intestinal sensitivity, intestinal flora (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Escherichia coli*, and *Enterococcus faecalis*), short-chain fatty acids (SCFAs), blood glucose levels [fasting blood glucose (FBG), glycosylated hemoglobin (HbA1c), and 2-hour postprandial glucose (2hPG)], and serum levels of TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway-related proteins were compared between the two groups before and after treatment. The incidence of adverse effects was recorded.

RESULTS

After 4 wk and 8 wk of treatment, the numbers of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* were higher, and the numbers of *E. coli* and *Enterococcus faecalis*, intestinal sensitivity, and serum MyD88, TLR4, and NF- κ Bp65 levels were lower in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). After 8 wk of treatment, the levels of butyric acid and total SCFAs were higher, and the levels of FBG, HbA1c, and 2hPG were

lower in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). The incidence of adverse reactions did not differ significantly between the observation group (9.00%) and the control group (14.00%).

CONCLUSION

Microecological agents combined with metformin can effectively reduce intestinal sensitivity, alleviate gastro-intestinal symptoms, and enhance glucose control in patients with T2DM with IBS, which may be related to their ability to correct flora dysbiosis, regulate intestinal flora metabolites, and modulate the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway by increasing the abundance of probiotics.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Microecological agents; Type 2 diabetes; Metformin; Irritable bowel syndrome; Intestinal flora

Citation: Chen XM, Lei XW, Wu XF. Therapeutic effects of microecological agents combined with metformin in type 2 diabetes mellitus with irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(8): 326-333
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/326.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i8.326>

摘要

背景

近年来, 肠道菌群在肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)发生、进展中的作用逐渐被认可, 而益生菌是IBS治疗的推荐药物, 可促进肠道蠕动, 纠正、维持菌群平衡, 在治疗胃肠道疾病中的疗效已得到证实。

目的

探讨微生态制剂联合二甲双胍在2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)伴IBS患者中的应用效果及对肠道菌群、Toll样受体4(Toll-like receptor, TLR4)/髓样分化因子88(myeloid differentiation factor, MyD88)/核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路的调节作用。

方法

选取2018-08/2022-08丽水市第二人民医院T2DM伴IBS患者200例, 随机分为两组, 每组100例, 对照组采取二甲双胍治疗, 观察组采取微生态制剂联合二甲双胍治疗。比较两组治疗前后肠道敏感度、肠道菌群(乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠杆菌、粪肠球菌)、肠道菌群代谢产物短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFAs)、血糖水平[空腹血糖(fasting blood glucose, FPG)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c)、餐后2 h血糖(2-hour postprandial blood glucose, 2hPG)]及TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路相关

蛋白, 并统计不良反应发生情况。

结果

治疗4 wk、8 wk后观察组乳酸杆菌、双歧杆菌高于对照组, 大肠杆菌、粪肠球菌数量、肠道敏感度及血清MyD88、TLR4、NF- κ Bp65水平低于对照组($P < 0.05$); 治疗8 wk后, 观察组丁酸、总SCFAs含量高于对照组, FPG、HbA1c、2hPG水平低于对照组($P < 0.05$); 观察组不良反应发生率9.00%与对照组14.00%比较, 无显著差异。

结论

双歧杆菌三联活菌胶囊联合二甲双胍能有效降低T2DM伴IBS患者肠道敏感度, 减轻胃肠道症状, 强化控糖效果, 考虑可能与其可通过提高益生菌丰度而纠正菌群失调、调节肠道菌群代谢产物、调控TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路有关。

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 微生态制剂; 2型糖尿病; 二甲双胍; 肠易激综合征; 肠道菌群

核心提要: 肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者常见症状, 而肠道菌群在IBS发生和发展中发挥重要作用, 鉴于此, 本研究尝试采用益生菌对IBS患者肠道菌群进行调节, 以进一步降低IBS对T2DM患者的危害。

文献来源: 陈秀梅, 雷旭伟, 吴筱芬. 微生态制剂联合二甲双胍在T2DM伴IBS中的应用效果分析. *世界华人消化杂志* 2023; 31(8): 326-333

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/326.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i8.326>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种间歇或持续发作的肠道功能紊乱性疾病, 主要以腹泻症状为主。研究报道^[1], IBS患者血糖异常比例明显高于普通人群, 另有研究认为^[2,3], 随着2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)病情发展, 早期患者进食后胰岛素分泌高峰延迟, 极易造成胃排空延迟, 诱发肠易激综合征, 进一步加重病情, 对患者身心造成严重不良影响。近年来, 肠道菌群在IBS发生、发展中的作用逐渐被认可, 2017年《益生菌儿科临床应用循证指南》提出, 益生菌是IBS治疗的推荐药物^[4,5]。双歧三联活菌胶囊是临床较为常用的益生菌, 可促进肠道蠕动, 纠正并维持菌群平衡, 已广泛应用于胃肠道疾病的治疗^[6,7]。鉴于此, 本研究将双歧三联活菌与临床常用降糖药物二甲双胍应用于

T2DM伴IBS患者, 并从肠道敏感度、肠道菌群、肠道菌群代谢产物、血糖水平、Toll样受体4(Toll-like receptor, TLR4)/髓样分化因子88(myeloid differentiation factor, MyD88)/核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路及安全性等层面进行全面系统分析, 以期减轻T2DM伴IBS患者临床症状, 提高其生活质量水平提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 经医院伦理委员会审批(审批号: NG86758)后, 选取2018-08/2022-08丽水市第二人民医院T2DM伴IBS患者200例作为研究对象, 男95例, 女105例; 年龄28-73岁, 平均(50.05 $\pm$ 9.11)岁。

纳入标准: (1)纳入: 有T2DM史, 结合临床症状, 经隐血试验+大便常规、结肠镜等检查明确诊断为腹泻型IBS; 无器质性肠道疾病; 无严重的肝肾疾病、恶性肿瘤; 知情本研究, 签订同意书; (2)排除: 近期有服用精神类药物、激素、其它特殊药物史者; 近期有重大手术史者; 合并精神疾病、心理疾病及认知功能障碍者; 未在试验期坚持规律用药者; 相关药物过敏者。

1.2 方法 两组均给予常规对症支持治疗, 如调整饮食, 定时定量进食, 避免不易消化及辛辣刺激食物, 选择合适运动方式, 并维持酸碱和水电解质平衡, 饭前口服促胃肠动力药物。

对照组: 口服二甲双胍(昆山培力药品有限公司, 国药准字H32021473, 规格0.5 g $\times$ 36片), 1片/次, 2次/d。

观察组: 上述基础上采用双歧杆菌三联活菌胶囊(上海上药信谊药厂有限公司, 国药准字S10950032, 规格0.21 g $\times$ 24粒)治疗, 饭后30 min温水口服, 3粒/次, 2次/d。两组均连续观察8 wk。

1.3 观察指标 (1)一般资料: 统计两组年龄、性别、体质指数(body mass index, BMI)、IBS病程、合并症; (2)肠道敏感度变化情况: 治疗前后评估患者肠道敏感度, 包括腹痛(0-7分)、腹胀(0-6分)及腹泻(0-7分)评分, ①其中腹痛评分: 包括腹痛和发作频率两部分内容, 前者通过疼痛视觉模拟量表评估, 共0-10分, 其评分0分计为1分, 1-3分计为2分, 4-6分计为3分, 9-10分计为4分; 后者0次计为0分, 1-2次计为1分, 3-4次计为2分, $\geq$ 5次计为3分, 二者之和0-7分即为腹痛评分。②腹胀评分: 包括腹胀程度和发作频率两部分内容, 前者0分为无腹胀, 1分为排便或排气后腹胀缓解, 2分为排便或排气后腹胀部分缓解; 3分为排便或排气后腹胀无缓解; 每周发作0次为0分, $<$ 3次为1分, 3-5次为2分, $>$ 5次为3分, 二者之和0-6分即为腹胀评分。③腹泻评分: 包括排便次数、性状、排便感觉3部分内容, 其中每日排便次数1-2次为0分, 3-4次为1分, 5-6次为2分, $\geq$ 7次为3分, 粪便正常成型为0分, 基

本成型为1分, 糊状为2分, 稀便为3分, 排便正常为0分, 坠胀感为1分, 3者之和0-7分即为腹泻评分, 评分越高, 患者腹痛、腹胀、腹泻越严重, 提示肠道敏感度越高; (3)肠道菌群指标: 分别于治疗前后不同时间点采集患者0.5 g新鲜大便, 0.9%生理盐水稀释, 接种于培养基, 分别将乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠杆菌及粪肠球菌接种于适宜培养基平板, 35 $^{\circ}$ C孵箱内乳酸杆菌、双歧杆菌培养48 h, 大肠杆菌、粪肠球菌培养24 h, 观察菌落形成数量; (4)肠道菌群代谢产物: 治疗前后采集患者新鲜大便, 采用100 μ L异丙醇/乙腈/水(2:5:3 V/V/V)复溶后, 离心取上清液, 基于气相色谱-飞行时间质谱联用技术(GC-TOF/MS)的高通量绝对定量检测短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFAs)含量, 准确记录检测结果; (5)血糖水平: 分别于治疗前、治疗4 wk、8 wk后采集清晨空腹静脉血, 经过离心(3000 r/min, 10 min)处理后采用罗氏Modular全自动生化分析仪测定血糖指标[空腹血糖(fasting blood glucose, FPG)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c)及餐后2 h血糖(2-hour postprandial blood glucose, 2hPG)]水平变化情况; (6)TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路: 治疗前、治疗4 wk、8 wk后采用酶联免疫吸附法测定血清MyD88、TLR4、NF- κ Bp65水平变化, 南京建成生物工程研究所提供检测所用试剂盒, 严格按试剂盒说明操作; (7)不良反应: 包括头晕、头痛、皮疹、心悸等。

统计学处理 采用SPSS 23.0分析数据, 计量资料(mean $\pm$ SD)表示, t 检验, 计数资料 n (%)表示, χ^2 检验或Fisher精确检验, 多组间比较行单因素方差分析, 两两比较采用LSD- t 检验, $P<0.05$ 即差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较 如表1所示, 两组性别、年龄、IBS病程、BMI、合并症等有关资料相比, 差异无统计学意义。

2.2 两组肠道敏感度变化情况 如表2所示, 治疗前, 两组肠道敏感度相比, 无显著差异; 治疗4 wk、8 wk后两组腹痛、腹胀、腹泻评分均较治疗前明显改善, 且观察组低于对照组($P<0.05$)。

2.3 两组肠道菌群变化情况 如表3所示, 治疗前, 两组乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠杆菌及粪肠球菌数量相比, 无显著差异; 治疗4 wk、8 wk后两组乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠杆菌及粪肠球菌数量均较治疗前明显改善, 且观察组乳酸杆菌、双歧杆菌高于对照组, 大肠杆菌、粪肠球菌数量低于对照组($P<0.05$)。

2.4 两组肠道菌群代谢产物变化情况 如表4所示, 治疗前, 两组肠道菌群代谢产物SCFAs相比, 无显著差异; 治疗8 wk后, 观察组丁酸、总SCFAs含量均高于治疗前、

表 1 两组一般资料比较

组别	男/女	年龄(岁)	IBS病程(月)	BMI(kg/m ²)			合并症	
				<18.5	18.5-24.0	> 24.0	高血压	高血脂
观察组	46/54	48.90 ± 8.47	5.15 ± 1.17	18(18.00)	29(29.00)	53(53.00)	28(28.00)	35(35.00)
对照组	49/51	51.19 ± 9.36	4.87 ± 1.56	16(16.00)	27(27.00)	57(57.00)	25(25.00)	38(38.00)
<i>t</i> / <i>χ</i> ²	0.181	1.814	1.436		0.335		0.231	0.194
<i>P</i>	0.671	0.071	0.153		0.846		0.631	0.660

BMI: 体质指数; IBS: 肠易激综合征.

表 2 两组肠道敏感度变化情况(mean ± SD, 分)

项目	组别	<i>n</i>	治疗前	治疗4 wk后	治疗8 wk后	<i>F</i>	<i>P</i>
腹痛	观察组	100	6.00 ± 0.28	2.52 ± 1.00 ^a	1.00 ± 0.36 ^a	1631.656	<0.001
	对照组	100	5.96 ± 0.32	4.11 ± 1.32 ^a	3.21 ± 1.03 ^a	202.963	<0.001
	<i>t</i>		0.941	9.601	20.255		
	<i>P</i>		0.348	<0.001	<0.001		
腹胀	观察组	100	4.69 ± 1.12	2.00 ± 0.79 ^a	1.32 ± 0.48 ^a	451.785	<0.001
	对照组	100	5.00 ± 1.43	3.69 ± 0.87 ^a	2.89 ± 0.56 ^a	109.267	<0.001
	<i>t</i>		1.708	14.381	21.286		
	<i>P</i>		0.090	<0.001	<0.001		
腹泻	观察组	100	5.23 ± 1.28	3.02 ± 0.69 ^a	1.01 ± 0.35 ^a	597.510	0.081
	对照组	100	4.97 ± 1.10	4.01 ± 0.76 ^a	2.72 ± 0.69 ^a	168.931	<0.001
	<i>t</i>		1.541	9.644	22.102		
	<i>P</i>		0.125	<0.001	<0.001		

与同组治疗前相比, ^a*P*<0.05.

表 3 两组肠道菌群变化情况(mean ± SD, lgCFU/g)

项目	组别	<i>n</i>	治疗前	治疗4 wk后	治疗8 wk后	<i>F</i>	<i>P</i>
双歧杆菌	观察组	100	6.83 ± 1.26	8.76 ± 1.52 ^a	8.98 ± 0.68 ^a	96.273	<0.001
	对照组	100	7.08 ± 1.04	7.85 ± 1.00 ^a	8.12 ± 0.73 ^a	33.417	<0.001
	<i>t</i>		1.530	5.002	8.620		
	<i>P</i>		0.128	<0.001	<0.001		
乳酸杆菌	观察组	100	4.95 ± 0.94	6.74 ± 0.89 ^a	7.92 ± 1.44 ^a	178.932	<0.001
	对照组	100	5.15 ± 0.96	5.87 ± 1.10 ^a	6.71 ± 1.27 ^a	48.840	<0.001
	<i>t</i>		1.489	6.149	6.302		
	<i>P</i>		0.138	<0.001	<0.001		
大肠杆菌	观察组	100	9.52 ± 0.56	8.65 ± 0.45 ^a	8.04 ± 0.31 ^a	271.104	<0.001
	对照组	100	9.64 ± 0.65	9.23 ± 0.52 ^a	9.15 ± 0.33 ^a	25.854	<0.001
	<i>t</i>		1.399	8.434	24.516		
	<i>P</i>		0.164	<0.001	<0.001		
粪肠球菌	观察组	100	8.42 ± 0.64	7.87 ± 0.38 ^a	7.37 ± 0.42 ^a	113.294	<0.001
	对照组	100	8.58 ± 0.70	8.32 ± 0.29 ^a	8.00 ± 0.41 ^a	34.115	<0.001
	<i>t</i>		1.687	9.414	10.734		
	<i>P</i>		0.093	<0.001	<0.001		

与同组治疗前相比, ^a*P*<0.05.

表 4 两组肠道菌群代谢产物变化情况(mean ± SD, ug/g)

项目	组别	n	乙酸	丙酸	丁酸	异丁酸	戊酸	异戊酸	总SCFAs
治疗前	观察组	100	1187.65 ± 547.68	705.32 ± 259.52	732.25 ± 189.65	80.65 ± 23.69	120.32 ± 53.28	75.32 ± 23.24	2901.51 ± 563.85
	对照组	100	1196.74 ± 612.58	697.58 ± 221.36	721.58 ± 245.97	84.20 ± 31.28	116.74 ± 48.49	78.10 ± 28.10	2894.94 ± 512.37
	t		0.111	0.227	0.344	0.905	0.497	0.762	0.086
	P		0.912	0.821	0.732	0.367	0.620	0.447	0.931
治疗8 wk后	观察组	100	1318.58 ± 612.62	752.25 ± 310.28	975.62 ± 212.58 ^a	82.10 ± 35.98	131.02 ± 62.78	73.44 ± 32.77	3333.01 ± 647.28 ^a
	对照组	100	1256.85 ± 512.38	712.32 ± 257.29	715.32 ± 228.65	85.33 ± 41.00	114.85 ± 56.58	77.00 ± 30.12	2961.67 ± 533.17
	t		0.773	0.991	8.338	0.592	1.913	0.800	4.428
	P		0.441	0.323	<0.001	0.554	0.057	0.425	<0.001

与同组治疗前相比, ^aP<0.05.

表 5 两组血糖水平变化情况(mean ± SD)

项目	组别	n	治疗前	治疗4 wk后	治疗8 wk后	F	P
FPG(mmol/L)	观察组	100	9.78 ± 1.13	8.11 ± 0.97 ^a	6.16 ± 0.82 ^a	340.734	<0.001
	对照组	100	9.84 ± 1.02	8.32 ± 0.83 ^a	7.32 ± 0.91 ^a	188.879	<0.001
	t		0.394	1.645	9.470		
	P		0.694	0.102	<0.001		
HbA1c(%)	观察组	100	9.17 ± 0.71	8.22 ± 0.64 ^a	7.11 ± 0.75 ^a	216.034	<0.001
	对照组	100	9.25 ± 0.78	8.33 ± 0.72 ^a	8.03 ± 0.71 ^a	74.339	<0.001
	t		0.759	1.142	8.908		
	P		0.449	0.255	<0.001		
2hPG(mmol/L)	观察组	100	13.26 ± 2.12	11.51 ± 1.54 ^a	8.57 ± 1.13 ^a	206.942	0.081
	对照组	100	13.21 ± 2.10	11.85 ± 1.65 ^a	9.92 ± 1.25 ^a	94.299	<0.001
	t		0.618	1.506	8.012		
	P		0.867	0.134	<0.001		

FPG: 空腹血糖; HbA1c: 糖化血红蛋白; 2hPG: 餐后2 h血糖; 与同组治疗前相比, ^aP<0.05.

对照组($P<0.05$); 治疗8 wk后两组乙酸、丙酸、异丁酸、戊酸、异戊酸含量及对照组的丁酸、总SCFAs均与治疗前相比, 无显著差异.

2.5 两组血糖水平变化 如表5所示, 治疗前, 两组血糖水平相比, 无显著差异; 治疗4 wk、8 wk后, 两组FPG、HbA1c、2hPG水平均低于治疗前, 且治疗8 wk后观察组低于对照组($P<0.05$); 治疗4 wk后两组上述指标比较, 无显著差异.

2.6 两组血清MyD88、TLR4、NF-κBp65水平变化 如表6所示, 治疗前, 两组血清MyD88、TLR4、NF-κBp65水平相比, 无显著差异; 治疗4 wk、8 wk后, 两组血清MyD88、TLR4、NF-κBp65水平均低于治疗前, 且观察组较对照组降低更为明显($P<0.05$).

2.7 两组不良反应变化 如表7所示, 观察组、对照组不良反应发生率分别为9.00%、14.00%, 两组经统计学分析比较, 无显著差异.

3 讨论

腹泻型是IBS的主要类型之一, 全球范围内总发病率高达20%, 主要表现为腹泻、腹痛、排便次数增加等^[8]. 目前, 已有研究证实, 肠黏膜功能障碍和肠道菌群紊乱是IBS发病的主要机制^[9], 另有研究报道^[10], T2DM患者易有肠道不适症状, 且菌群失衡严重. 同时, 临床实践发现, T2DM合并IBS患者, 临床症状更为严重, 治疗难度显著增加.

双歧杆菌三联活菌胶囊是临床常用的微生态制剂, 主要由乳酸杆菌、双歧杆菌、粪肠球菌构成, 口服后能直接大量补充肠道有益菌, 并可在肠道内定植、生长及繁殖, 形成一种“肠道菌膜”屏障, 利用竞争性作用对肠道致病菌繁殖进行抑制, 从而达到调节肠道菌群, 恢复肠道微生态等作用, 对改善腹胀、腹痛、腹部不适等症状, 降低肠道敏感度具有重要作用^[11,12]. 研究认为^[13], 在机体营养物质吸收与转化中, 肠道微生态承担着重要

表 6 两组血清MyD88、TLR4、NF- κ Bp65水平(mean $\pm$ SD, ng/L)

项目	组别	n	治疗前	治疗4 wk后	治疗8 wk后	F	P
MyD88	观察组	100	0.55 $\pm$ 0.20	0.38 $\pm$ 0.10 ^a	0.18 $\pm$ 0.02 ^a	204.167	<0.001
	对照组	100	0.57 $\pm$ 0.23	0.45 $\pm$ 0.08 ^a	0.24 $\pm$ 0.03 ^a	139.037	<0.001
	t		0.656	5.466	16.641		
	P		0.513	<0.001	<0.001		
TLR4	观察组	100	0.69 $\pm$ 0.28	0.43 $\pm$ 0.12 ^a	0.21 $\pm$ 0.02 ^a	185.837	<0.001
	对照组	100	0.63 $\pm$ 0.21	0.51 $\pm$ 0.11 ^a	0.28 $\pm$ 0.01 ^a	168.561	<0.001
	t		1.714	4.914	31.305		
	P		0.088	<0.001	<0.001		
NF- κ Bp65	观察组	100	0.60 $\pm$ 0.18	0.36 $\pm$ 0.15 ^a	0.20 $\pm$ 0.01 ^a	221.091	<0.001
	对照组	100	0.63 $\pm$ 0.22	0.42 $\pm$ 0.13 ^a	0.26 $\pm$ 0.02 ^a	157.230	<0.001
	t		1.055	3.023	26.833		
	P		0.293	0.003	<0.001		

TLR4、MyD88、NF- κ B: 信号通路; 与同组治疗前相比, ^aP<0.05。

表 7 两组不良反应变化n(%)

组别	n	头晕	头痛	皮疹	心悸	发生率
观察组	100	2(2.00)	3(3.00)	1(1.00)	3(3.00)	9(9.00)
对照组	100	5(5.00)	4(4.00)	2(2.00)	3(3.00)	14(14.00)
χ^2						1.228
P						0.268

角色, 是机体代谢动态平衡的有利保障。同时, 一项前瞻性研究显示, 肠道菌群失衡即细菌数量、种类、分布改变, 偏离正常结构, 易引导相关疾病走向^[14]。另有研究发现^[15], 双歧杆菌乳杆菌三联活菌片可有效调节便秘型肠易激综合征患者肠道菌群, 保护其胃肠道屏障功能, 减轻病情严重程度。本研究将双歧杆菌三联活菌胶囊应用于T2DM合并IBS患者, 相比对照组, 观察组肠道菌群数量得到明显改善, 进一步证实双歧杆菌三联活菌制剂对调节患者肠道菌群、改善肠道内环境的有效性, 这可能也是患者肠道敏感度降低的重要原因。

研究认为, 肠道微生物及其代谢产物含量变化与胰岛素抵抗、高血糖状态等T2DM表现及症状密切相关, 并在T2DM慢性微炎症等病理机制中有着重要作用^[16]。另有研究发现, 肠道菌群代谢产物内SCFAs、毒素、吲哚、次级胆汁酸等可通过参与胰高糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)分泌调控而起到调节血糖的作用^[17]。本研究显示, 治疗8 wk后, 观察组丁酸、总SCFAs含量均明显高于对照组, FPG、HbA1c、2hPG水平低于对照组(P<0.05), 可见在口服常规抗糖药物二甲双胍的同时配合使用微生物制剂可进一步提高降糖效果。分析原因可能在于, 双歧杆菌可代谢产生SCFAs(尤其是丁酸的产生), 提高SCFAs菌群丰度, SCFAs生产场所

主要在人体大肠, 由肠道内细菌酵解多糖产生, 与相应受体结合后可促进GLP-1分泌, 发挥一定的血糖调节作用。

近年来, 大量研究表明^[18], 微炎症反应是IBS潜在的机制之一。IBS的微炎症反应与TLR4信号通路的关系逐渐成为研究热点, 一般情况下, 在结肠上TLR4呈低表达, 但在IBS患者中的表达远高于正常组^[19,20]。同时, 研究发现, TLR4属于脂多糖(LPS)应答的重要受体, 可通过MyD88信号途径激活NF- κ B, 进一步诱导肠上皮细胞释放大量促炎细胞因子, 加重炎症反应^[21,22], 而对于IBS患者, 炎症细胞因子会显著增加其肠黏膜敏感性^[23]。同时, 以往研究已证实^[24], 炎症因子能经过多种途径对胰岛B细胞结构产生影响, 使得胰岛B细胞功能障碍, 严重者破坏胰岛素受体机制, 抑制胰岛素功能, 引起胰岛素抵抗, 加重病情。鉴于此, 本研究通过TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路这一靶点进一步分析, 结果显示, 治疗后观察组血清MyD88、TLR4、NF- κ Bp65水平低于对照组(P<0.05)。结果表明, 双歧杆菌三联活菌胶囊可降低TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路相关蛋白水平, 可能是其对T2DM合并IBS患者发挥疗效的重要机制之一, 具体作用机制还需进一步探究和证实。另外, 从安全方面分析, 微生态制剂是临床用药中相对安全的一类药物, 目前暂

未见微生态制剂引起严重毒副反应的报道. 本研究也显示, 两组不良反应比较, 无明显差异, 可见双歧杆菌三联活菌胶囊与二甲双胍作为联合用药方案应用于T2DM伴IBS患者具有一定安全性, 可减少其他用药带来的胃肠道反应.

4 结论

综上, 双歧杆菌三联活菌胶囊联合二甲双胍可有效降低T2DM伴IBS患者肠道敏感度, 减轻胃肠道症状, 强化控糖效果, 考虑可能与其可通过提高益生菌丰度而纠正菌群失调、调节肠道菌群代谢产物、调控TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路有关. 但本研究仍存不足, 如双歧杆菌三联活菌胶囊对肠道菌群的远期调节作用如何暂未可知, 今后还需延长随访时间, 进一步探究治疗结束后病患的肠道菌群变化情况, 以为该方案的应用提供更加科学、全面的试验数据.

文章亮点

实验背景

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)早期患者进食后胰岛素分泌高峰延迟, 极易造成胃排空延迟, 诱发肠易激综合征, 造成腹泻, 进一步加重病情, 对患者身心造成严重不良影响. 使用安全、价低、高效的治疗药物是治疗的关键.

实验动机

T2DM患者易有肠道不适症状, 且菌群失衡严重, 易发生肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS). 该类患者不仅需要改善肠道菌群, 还需重视T2DM的治疗. 双歧三联活菌胶囊可促进肠道蠕动, 纠正并维持菌群平衡, 二甲双胍则是降低血糖的常规药物.

实验目标

以双歧杆菌三联活菌为主的微生态制剂能够有效改善肠道功能, 减轻腹泻, 同时联合T2DM的常用药物二甲双胍进行治疗, 既能从源头改善T2DM的病情, 又能直接对紊乱的肠道菌群进行调节.

实验方法

本研究选取特定患者, 采用对照的方法, 通过观察、评分、检测相关指标比较两组的统计学差异, 体外进行肠道菌落检测, 体内进行血糖等检测, 保证方法的科学性和有效性.

实验结果

治疗4 wk、8 wk后, 两组腹痛、腹胀、腹泻评分均较

治疗前明显改善, 且观察组低于对照组; 观察组乳酸杆菌、双歧杆菌、丁酸、总SCFAs含量高于对照组, 大肠杆菌、粪肠球菌数量、空腹血糖、糖化血红蛋白、餐后2h血糖水平、髓样分化因子88、Toll样受体4/核因子- κ Bp65水平低于对照组.

实验结论

双歧杆菌三联活菌胶囊联合二甲双胍可有效降低T2DM伴IBS患者肠道敏感度, 减轻胃肠道症状, 强化控糖效果, 可能与TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路有关.

展望前景

双歧杆菌三联活菌胶囊联合二甲双胍对改善T2DM伴IBS患者的症状疗效显著, 但是对IBS患者的远期调节作用还需延长随访时间, 进一步观察病患的肠道菌群变化情况.

5 参考文献

- Javadekar NS, Oka GA, Joshi AS, Vaste P, Tamane S, Lawate PS. Prevalence of irritable bowel syndrome and metabolic syndrome among young adults in an annual health check-up setting. *JGH Open* 2021; 5: 1148-1153 [PMID: 34622000 DOI: 10.1002/jgh3.12639]
- Xu W, Zhang Z, Lu Y, Li M, Li J, Tao W. Traditional Chinese medicine Tongxie Yaofang treating irritable bowel syndrome with diarrhea and type 2 diabetes mellitus in rats with liver-depression and spleen-deficiency: A preliminary study. *Front Nutr* 2022; 9: 968930 [PMID: 36438735 DOI: 10.3389/fnut.2022.968930]
- Yang G, Wei J, Liu P, Zhang Q, Tian Y, Hou G, Meng L, Xin Y, Jiang X. Role of the gut microbiota in type 2 diabetes and related diseases. *Metabolism* 2021; 117: 154712 [PMID: 33497712 DOI: 10.1016/j.metabol.2021.154712]
- 郑俊佳, 黄彬, 张竞超, 龙莎. 益生菌联合奥替溴铵治疗腹泻型肠易激综合征有效性与安全性的meta分析. *现代消化及介入诊疗* 2021; 26: 25-31 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2021.01.006]
- 中华预防医学会微生态学分会儿科学组. 益生菌儿科临床应用循证指南. *中国实用儿科杂志* 2017; 32: 81-90 [DOI: 10.19538/j.ek2017020601]
- Qian L, Huang J, Qin H. Probiotics and dietary intervention modulate the colonic mucosa-associated microbiota in high-fat diet populations. *Turk J Gastroenterol* 2020; 31: 295-304 [PMID: 32412900 DOI: 10.5152/tjg.2020.19013]
- Huang M, Chen Z, Lang C, Chen J, Yang B, Xue L, Zhang Y. Efficacy of mesalazine in combination with bifid triple viable capsules on ulcerative colitis and the resultant effect on the inflammatory factors. *Pak J Pharm Sci* 2018; 31: 2891-2895 [PMID: 30630805 DOI: 10.1186/s12876-021-01887-2]
- Ford AC, Sperber AD, Corsetti M, Camilleri M. Irritable bowel syndrome. *Lancet* 2020; 396: 1675-1688 [PMID: 33049223 DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31548-8]
- Radovanovic-Dinic B, Tesic-Rajkovic S, Grgov S, Petrovic G, Zivkovic V. Irritable bowel syndrome - from etiopathogenesis to therapy. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2018; 162: 1-9 [PMID: 29358788 DOI: 10.5507/bp.2017.057]
- Hu R, Yuan Y, Liu C, Zhou J, Ji L, Jiang G. New insights into the links between anti-diabetes drugs and gut microbiota. *Endocr Connect* 2021; 10: R36-R42 [PMID: 33338029 DOI: 10.1530/EC-20-0431]

- 11 汪永华, 杨会, 乔昭君, 张颖. 双歧杆菌三联活菌散联合保肝治疗对乙型肝炎肝硬化肠道菌群及血清内毒素水平的影响. 现代消化及介入诊疗 2021; 26: 748-751 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2021.06.020]
- 12 Kim SK, Guevarra RB, Kim YT, Kwon J, Kim H, Cho JH, Kim HB, Lee JH. Role of Probiotics in Human Gut Microbiome-Associated Diseases. *J Microbiol Biotechnol* 2019; 29: 1335-1340 [PMID: 31434172 DOI: 10.4014/jmb.1906.06064]
- 13 刘文莉, 王沁, 李汉群, 张红霞. 香橘丸联合双歧杆菌三联活菌治疗儿童胃肠功能性消化不良的临床研究. 现代药物与临床 2021; 36: 1624-1627 [DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.08.014]
- 14 孙倩, 王政力, 刘晓晨, 李艳春, 贺雨, 艾青, 李禄全. 广谱抗生素疗程对极低出生体重儿粪便肠道菌群和短链脂肪酸影响的前瞻性研究. 中国当代儿科杂志 2021; 23: 1008-1014 [DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2107103]
- 15 程燕红, 蒋宝玲, 张文娟. 双歧杆菌乳杆菌三联活菌片联合莫沙必利对便秘型肠易激综合征的疗效观察. 贵州医药 2022; 46: 77-78 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2022.01.038]
- 16 Sharma B, Kumar A, Sharma U, Pal D, Prashar S. The Potential Role of Gut Microbiota in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus via Epigenetics and Inflammasome. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2022; 22: 1331-1343 [PMID: 35362379 DOI: 10.2174/1871530322666220331152809]
- 17 Gilbert MP, Pratley RE. GLP-1 Analogs and DPP-4 Inhibitors in Type 2 Diabetes Therapy: Review of Head-to-Head Clinical Trials. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020; 11: 178 [PMID: 32308645 DOI: 10.3389/fendo.2020.00178]
- 18 Ng QX, Soh AYS, Loke W, Lim DY, Yeo WS. The role of inflammation in irritable bowel syndrome (IBS). *J Inflamm Res* 2018; 11: 345-349 [PMID: 30288077 DOI: 10.2147/JIR.S174982]
- 19 储浩然, 王宇, 仝理, 吴生兵, 吴立斌, 李难, 程红亮. 艾灸对腹泻型肠易激综合征大鼠结肠TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路的影响. 针刺研究 2020; 45: 633-639 [DOI: 10.13702/j.1000-0607.190950]
- 20 鲍璐璐. TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路在腹泻型肠易激综合征中的作用及机制研究. 安徽: 安徽医科大学 2019 [DOI: 10.27001/d.cnki.gtjyu.2019.000055]
- 21 Xi M, Zhao P, Li F, Bao H, Ding S, Ji L, Yan J. MicroRNA-16 inhibits the TLR4/NF- κ B pathway and maintains tight junction integrity in irritable bowel syndrome with diarrhea. *J Biol Chem* 2022; 298: 102461 [PMID: 36067883 DOI: 10.1016/j.jbc.2022.102461]
- 22 Zhou HH, Zhang YM, Zhang SP, Xu QX, Tian YQ, Li P, Cao D, Zheng YQ. Suppression of PTRF Alleviates Post-Infectious Irritable Bowel Syndrome via Downregulation of the TLR4 Pathway in Rats. *Front Pharmacol* 2021; 12: 724410 [PMID: 34690766 DOI: 10.3389/fphar.2021.724410]
- 23 魏晓松, 石志敏, 董燕, 梁健, 郝丽君, 刘丽. 东坦针法联合双歧杆菌乳杆菌三联活菌片治疗腹泻型肠易激综合征的疗效及对肠道微生态的影响. 中国中西医结合消化杂志 2021; 29: 170-174 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-038X.2021.03.03]
- 24 Halim M, Halim A. The effects of inflammation, aging and oxidative stress on the pathogenesis of diabetes mellitus (type 2 diabetes). *Diabetes Metab Syndr* 2019; 13: 1165-1172 [PMID: 31336460 DOI: 10.1016/j.dsx.2019.01.040]

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 © 2023 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/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴. (5) 致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

芍药苷通过调控巨噬细胞活性抗幽门螺杆菌作用及其机制研究

徐微, 徐建光, 何雪云, 林小花

徐微, 徐建光, 何雪云, 林小花, 衢州市人民医院(衢州四省边际中心医院)消化内科 浙江省衢州市 324000

徐微, 主治医师, 主要从事消化内科。

作者贡献分布: 徐微负责论文的设计、实施和撰写; 徐建光、何雪云负责提供试剂盒仪器; 林小花负责数据分析。

通讯作者: 徐微, 本科, 主治医师, 324000, 衢州市柯城区闽江大道100号, 衢州市人民医院(衢州四省边际中心医院)消化内科. 627944856@qq.com

收稿日期: 2022-11-14

修回日期: 2023-02-17

接受日期: 2023-04-23

在线出版日期: 2023-04-28

Paeoniflorin exhibits anti-*Helicobacter pylori* activity by regulating macrophage activity

Wei Xu, Jian-Guang Xu, Xue-Yue He, Xiao-Hua Lin

Wei Xu, Jian-Guang Xu, Xue-Yue He, Xiao-Hua Lin, Department of Gastroenterology, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Wei Xu, Bachelor, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Quzhou People's Hospital, No. 100 Minjiang Avenue, Kecheng District, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China. 627944856@qq.com

Received: 2022-11-14

Revised: 2023-02-17

Accepted: 2023-04-23

Published online: 2023-04-28

Abstract

BACKGROUND

Helicobacter pylori (*H. pylori*) often causes gastritis, gastric ulcer, and other stomach diseases. At present, there are many drugs available to kill *H. pylori*, but they are mainly

Western medicines, not suitable for long-term use, and often associated with relapse. Traditional Chinese medicines have few side effects, but their mechanism of action is not completely clear.

AIM

To analyze the anti-*H. pylori* activity and mechanisms of action of paeoniflorin (PF).

METHODS

Six Kunming mice and four New Zealand rabbits were selected to prepare PF-containing serum. Mouse peritoneal macrophages were collected and divided into a study group, a control group, and a blank group. The study group was supplemented with 5% drug-containing serum, and the control group was supplemented with drug-free serum. Both groups were treated with *H. pylori* 11637, and the cells was collected 6 h after treatment. The contents of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), interleukin-1 β (IL-1 β), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in macrophages of each group were detected by ELISA. The expression of heat shock protein 70 (HSP70), inducible nitric oxide synthase (iNOS), Toll-like receptor-2 (TLR2), and Toll-like receptor-4 (TLR4) was detected by Western blot analysis. The relative mRNA expression of HSP70, TLR2, and TLR4 in mouse macrophages was detected by quantitative polymerase chain reaction.

RESULTS

The contents of MCP-1, IL-1 β , and TNF- α in the control group were significantly higher than those in the blank group, and the contents of MCP-1, IL-1 β , and TNF- α in the study group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). The protein expression of iNOS, TLR4, and TLR2 in macrophages of the control group was significantly higher than that in the blank group, and the expression of iNOS, TLR4, and TLR2 in the macrophages of the study group was significantly lower than that in the control group

($P < 0.05$). The relative expression of TLR4 and TLR2 mRNA in macrophages of the control group was higher than that of the blank group, and the relative expression of TLR4 and TLR2 mRNA in the macrophages of the study group was lower than that of the control group ($P < 0.05$). The expression of HSP70 mRNA and protein in macrophages of the control group was higher than that of the blank group, and the expression of HSP70 mRNA and protein in macrophages of the study group was lower than that of the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Paeoniflorin can inhibit the secretion of inflammatory cytokines and HSP70 by macrophages by regulating their activity. The anti-inflammatory effect may be related to the inhibition of the TLR2/4 signaling pathway.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Macrophage; *Helicobacter pylori* infection; Paeoniflorin; Inflammatory factor

Citation: Xu W, Xu JG, He XY, Lin XH. Paeoniflorin exhibits anti-*Helicobacter pylori* activity by regulating macrophage activity. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(8): 334-339

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/334.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i8.334>

摘要

背景

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)容易造成胃炎、胃溃疡等胃部疾病, 目前有很多杀灭*H. pylori*的药物, 多以西药为主, 不宜长期服用, 且易复发. 中药灭菌副作用小, 但是作用机制并不完全清楚.

目的

分析芍药苷(paeoniflorin, PF)通过调控巨噬细胞活性抗*H. pylori*作用及相关机制.

方法

选取昆明小鼠6只, 新西兰家兔4只, 制备含PF血清, 提取小鼠腹腔巨噬细胞, 含药血清作用于小鼠腹腔巨噬细胞, 实验组加入5%含药血清, 对照组加入无药血清, 各组同时在加入*H. pylori* 11637, 含药血清在作用6 h后收集细胞. ELISA法检测各组小鼠巨噬细胞的单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、白介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)含量, Western-Blot检测热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、Toll样受体2(toll-like receptor-2, TLR2)及Toll样受体4(toll-like receptor-4, TLR4)蛋白表达, 荧光定量多聚合

酶链式反应检测小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA、TLR2 mRNA及TLR4 mRNA相对表达.

结果

对照组小鼠MCP-1、IL-1 β 及TNF- α 含量较空白组升高, 实验组小鼠MCP-1、IL-1 β 及TNF- α 含量较对照组降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 对照组巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达较空白组升高; 实验组巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达较对照组降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 对照组小鼠巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA相对表达量较空白组升高, 实验组小鼠巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA相对表达量较对照组降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 对照组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达较空白组升高, 实验组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达较对照组降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$).

结论

芍药苷经过调节巨噬细胞活性起到抗*H. pylori*感染作用, 可抑制巨噬细胞分泌炎症因子与HSP70应激因子, 其抗炎作用可能和抑制巨噬细胞TLR2/4信号通路有关.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 巨噬细胞; 幽门螺杆菌感染; 芍药苷; 炎症因子

核心提要: 芍药苷能够激活小鼠体内的巨噬细胞调节免疫, 巨噬细胞的Toll样受体2/4信号通路被激活, 对侵入体内的幽门螺杆菌进行清除.

文献来源: 徐微, 徐建光, 何雪云, 林小花. 芍药苷通过调控巨噬细胞活性抗幽门螺杆菌作用及其机制研究. *世界华人消化杂志* 2023; 31(8): 334-339

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/334.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i8.334>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)为一种微需氧、螺旋状革兰阴性菌, 多定植于机体胃肠道内, Warren与Marshall在1983年首次从胃内分离中. 流行病学研究表明*H. pylori*感染了世界范围内一半以上的人口. 目前已知发病率的高低与社会经济水平, 人口密集程度, 公共卫生条件以及水源供应有较密切的关系. 中国及大多数发展中国家人群*H. pylori*感染因地区有所不同. 低达20%, 高达90%, 人群中总感染率高于发达国家. 临床研究已经明确, *H. pylori*的长期慢性感染为人们发生胃癌、消化性溃疡、慢性活动性胃炎及黏膜相关淋巴瘤

织淋巴瘤等疾病主要因素^[1,2]。当前, 临床对预防*H. pylori*相关胃十二指肠疾病主要疗法为根除*H. pylori*, 西医的三联治疗, 如BAM、OAC等一度使临床患者*H. pylori*根除率达90%以上^[3], 但近些年来, 由于患者对西药耐药率的升高、治疗依从性差及药物不良反应等, 使*H. pylori*根除率明显降低, 因此, 临床急需一些新的治疗方案。当前, 随着中医学在临床的广泛应用, 中药有对患者耐药性低、不良发应小及不引起肠道菌群失调等特点, 这说明在对*H. pylori*感染的治疗方案中医药有一定优势^[4]。芍药苷(paeoniflorin, PF)为单萜类糖苷化合物, 是传统中药芍药主要成分, 有免疫调节、抗炎、抗血小板聚集及抗氧化等影响^[5]。有研究显示, PF可经过对TLR2信号路径抑制来降低巨噬细胞活化^[6]。因此, 本研究经过分析PF通过调控巨噬细胞活性抗*H. pylori*作用及相关机制, 为临床患者诊疗提供一些借鉴。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物: 昆明小鼠6只, 雌雄各半, 体重22 g-26 g; 新西兰家兔4只, 雌雄各半, 体重2.0 kg-2.6 kg, 均购自上海斯莱克实验动物公司。常规饲养3 d后开始实验, 室温维持22 ℃-26 ℃, 相对湿度55%-65%, 昼夜循环, 保持12 h光照, 小鼠灌胃、添加饲料及换水等均有专人进行。

1.1.2 实验药物、试剂: 芍药苷(南京广润生物公司), 兔抗TLR2多克隆抗体(美国EMD Millipore公司), 兔抗诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、Toll样受体4(toll-like receptor-4, TLR4)多克隆抗体(美国Abcam公司), 人单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)试剂盒(北京瑞博奥生物公司), 白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)(美国RD Systems公司)。

1.2 方法 (1)确定实验剂量。急毒实验14 d, 设置药物梯度浓度, 分别为(10, 30, 50, 70, 90) mg/kg, 确定安全的给药剂量EC₅₀, 以EC₅₀进行动物实验; (2)制备含药血清, 家兔实验前禁食12 h, 依据人和动物剂量转换, 药物组灌胃家兔26 mg/kg的PF药液, 对照组家兔灌胃等剂量生理盐水, 共灌胃3次, 首次和第二次灌药间隔20 h, 第二次和第三次灌药间隔4 h。末次给药后2 h在无菌条件下心脏采血, 室温下静置3 h, 离心机3000 rpm离心15 min, 血清分离, 在同种条件下将药物血清摇匀, 于56 ℃下水浴灭活20 min, 保存备用; (3)提取小鼠腹腔巨噬细胞, 无菌淀粉肉汤2 mL注入至小鼠腹腔内, 1次/d, 共注射3 d。末次注射后小鼠脱颈椎处死, 在75%乙醇内浸泡5 min。小鼠取出后酒精沥干, 在无菌纱布上仰卧放置。在下腹皮肤处剪一小口, 在将全部腹部皮肤剪开, 暴露腹壁。采用针

管吸出3 mL至4 mL的腹腔液, 离心机离心后上清去除。DMEM高糖培养基(含10%胎牛血清、1%双抗)培养, 放置与37 ℃、50 mL/L CO₂、饱和湿度二氧化碳培养箱内; (4)含药血清作用于小鼠腹腔巨噬细胞, 实验组加入5%含药血清, 对照组加入无药血清, 各组同时在加入*H. pylori* 11637, 每组小鼠腹腔内巨噬细胞达到4 $\times$ 10⁶。含药血清在作用6 h后收集细胞。未经*H. pylori* 11637作用的巨噬细胞作为空白组。

1.3 观察指标 (1)采集样品, 小鼠所分离腹腔巨噬细胞注入培养皿内, 在加入培养基(含10%胎牛血清)培养。在细胞贴壁后将上清和细胞碎片吸走, 实验组在加入含药血清、培养基(含10%胎牛血清)与*H. pylori* 11637培养上清, 含药血清作用6 h后采用2 $\times$ 10⁶个细胞用于各项检测; (2)采集巨噬细胞培养的上清液, ELISA法检测各组小鼠MCP-1、IL-1 β 、TNF- α 含量, 具体步骤依据试剂盒说明书进行; (3)Western-Blot检测热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)、iNOS、Toll样受体2(toll-like receptor-2, TLR2)及TLR4蛋白表达, 细胞研磨, 经组织裂解上样电泳, 起始电压80 V, 溴酚蓝染料前缘进入分离胶上缘后电压提升至100 V, 溴酚蓝泳出分离胶下缘电泳结束。半干电转移仪于PVDF膜内行蛋白质电转移, 恒流30 mA, 连续90 min。PVDF膜取出5% TBST脱脂奶粉封闭, 震荡60 min。结束封闭TNS-T漂洗液洗膜10 min, 3次, 膜转移至杂交袋, 加入适量漂洗液稀释抗体, 封口后4 ℃下孵育过夜; TBST漂洗液洗膜10 min, 3次, 加入漂洗液稀释辣根过氧化物酶标记二抗, 震荡60 min。PVDF膜放置在ECL显色液内震荡温育5 min, 暗室下曝光、显影及定影。清水冲洗以后, 晾干扫描, IPP软件对扫描图像目的条带行灰度分析; (4)检测小鼠细胞HSP70 mRNA、TLR2 mRNA及TLR4 mRNA表达, Trizol法提取小鼠细胞总RNA行RT-PCR扩增, HSP70上游引物5'-GATTGAGATGATTTTGGAG-3', 下游引物5'-GTATGTAAAGTATATGATTG-3', 扩增片段是482 bp; TLR2上游引物5'-GCTCCAGGAATTCCTCGGTA-3', 下游引物5'-GAGTCCTGCATGCTAGCTAG-3', 扩增片段为389 bp; TLR4上游引物5'-GAATTGCGGATGTAGTACG-3', 下游引物5'-GTTGTACTGTACTAGGTGCT-3', 扩增片段531 bp; 内参 β -actin上游引物5'-CTTGATCGTACGTAGCCTGA-3', 下游引物5'-GTGTAGTGTACTGTTCATGCA-3', 扩增片段482 bp。PCR反应条件: 94 ℃下45 s, 55 ℃下50 s, 72 ℃下75 s, 在40次循环以后获取核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B) mRNA、MyD88 mRNA及TLR4 mRNA循环阈值(Ct), 使用 $\Delta\Delta$ Ct($\Delta\Delta$ Ct = Ct目的基因- Δ Ct内参基因)分析, 算出2^{- $\Delta\Delta$ Ct}目的基因相对表达量。

统计学处理 采用SPSS 19.0统计软件进行数据分

析, 计量资料(mean±SD)表示, *t*检验, 计数资料采用 $n(\%)$ 表示, χ^2 检验, 多组间比较用单因素方差分析, 两两比较用LSD-*t*检验, $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PF的有效浓度的确定 通过有效浓度曲线得出, PF对于家兔的EC₅₀为45 mg/mL。

2.2 各组小鼠巨噬细胞上清液内MCP-1、IL-1 β 及TNF- α 含量 对照组小鼠MCP-1、IL-1 β 及TNF- α 含量较空白组升高, 实验组小鼠MCP-1、IL-1 β 及TNF- α 含量较对照组降低, 差异均有统计学意义($P<0.05$), 详见表1。

2.3 各组小鼠巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达 对照组巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达较空白组升高; 实验组巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达较对照组降低, 差异有统计学意义($P<0.05$), 详见表2, 图1。

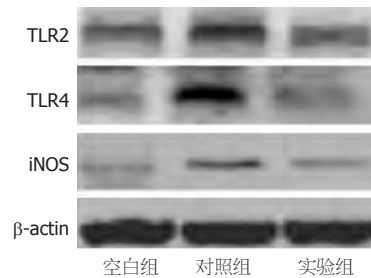
2.4 各组小鼠巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA相对表达量 对照组小鼠巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA相对表达量较空白组升高, 实验组小鼠巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA相对表达量较对照组降低, 差异有统计学意义($P<0.05$), 详见表3。

2.5 各组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达 对照组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达较空白组升高, 实验组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达较对照组降低, 差异有统计学意义($P<0.05$), 详见表4, 图2。

3 讨论

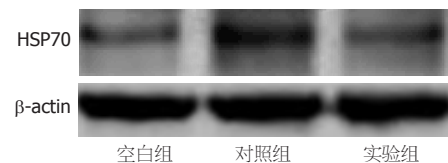
机体感染*H. pylori*后, 抵抗*H. pylori*感染天然屏障为体内固有免疫, 胃组织内树突状细胞、巨噬细胞等固有免疫细胞经过分泌IL-18等细胞因子, 将免疫细胞激活并分泌炎症介质, 从而起到抗感染的作用^[7,8]。*H. pylori*感染胃组织内巨噬细胞后, 炎症组织局部巨噬细胞经浸润、增生、激活同时分泌TNF- α 等细胞因子, 将入侵微生物杀伤并将淋巴细胞活化。同时TNF- α 协同诱导巨噬细胞形成NO, 导致DNA受损引起宿主细胞凋亡^[9-11]。

长期以来西药治疗*H. pylori*感染取得了较好疗效, 但对于*H. pylori*清除仍有一定困难, 患者在停药后易复发。目前, 在临床上*H. pylori*对于抗生素, 尤其是甲硝唑、克拉霉素等原发耐药率普遍升高, 这严重影响了常用根治方案的治疗效果。PF有多重生物学功效, 包含抗风湿、神经保护、诱导肿瘤细胞凋亡、加速肝细胞再生等, 由于其毒副作用较小而在临床广泛使用。近些年来, 相关研究显示PF还可下调IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等细胞因子活性, 发挥广泛抗炎影响^[12]。本文研究显示, 实验组



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i8.334 Copyright ©The Author(s) 2023.

图1 各组巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达。iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; TLR4: Toll样受体4; TLR2: Toll样受体2; β -actin: β -肌动蛋白。



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i8.334 Copyright ©The Author(s) 2023.

图2 各组小鼠巨噬细胞HSP70蛋白表达。HSP70: 热休克蛋白70; β -actin: β -肌动蛋白。

小鼠MCP-1、IL-1 β 及TNF- α 含量较对照组降低, 差异均有统计学意义, 和上述研究结果一致。

TLR4与TLR2为Toll样受体, 为I型跨膜受体蛋白, 多在抗原提呈细胞内表达, 激活以后可将MyD88通路启动, 对IRAKs家族招募并结合TRAF6, 将NF- κ B活化^[13]。NF- κ B是Rel家族转录因子, 一般指p65和p50所构成同源二聚体, 在静息时结合抑制蛋白I κ B存在细胞质内, 在外界刺激后和I κ B解离并进入到细胞核中, 进而释放MCP-1、TNF- α 及IL-1 β 等促炎细胞因子。另外, TLR4还能够经过TRIF路径将IRF3激活, 行信号转导将炎症反应启动^[14]。本文研究显示, 实验组巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA及蛋白表达较对照组降低, 差异有统计学意义, 说明PF对*H. pylori*感染的治疗, 有巨噬细胞的参与, 且这一抗炎作用可能和TLR2/4通路有关。

HSP70为热休克蛋白家族内主要成员之一, 其分子量约为70 kD。正常细胞内HSP70水平比较低, 但在应激情况其含量会显著提升。对于机体胃肠道来讲, *H. pylori*感染为长期慢性应激, 一般会造成胃黏膜内HSP70高表达。通常HSP70多位于胞浆中, 若受到热休克刺激细胞核内HSP70含量会快速升高, 仅有少量存在于胞浆内, 细胞在恢复阶段时细胞核中HSP70则会消失, 而胞浆内依然有低水平的HSP70表达, 对细胞内HSP70细胞检测可反映其胃炎进展情况^[15]。实验组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达较对照组降低, 差异有统计学意义, 说明PF可调控巨噬细胞分泌HSP70, 降低*H. pylori*对胃黏膜

表 1 各组小鼠巨噬细胞上清液内MCP-1、IL-1β及TNF-α含量($n = 2 \times 10^6$, mean $\pm$ SD)

组别	MCP-1(ng/L)	IL-1β(ng/L)	TNF-α(ng/L)
空白组	316.94 $\pm$ 20.87	218.47 $\pm$ 25.13	397.52 $\pm$ 30.68
对照组	829.47 $\pm$ 19.53 ^a	489.57 $\pm$ 26.21 ^a	746.59 $\pm$ 32.15 ^a
实验组	433.79 $\pm$ 21.50 ^b	302.46 $\pm$ 25.42 ^b	503.67 $\pm$ 31.64 ^b

^a $P < 0.05$, 与空白组对比; ^b $P < 0.05$, 与对照组对比. MCP-1: 单核细胞趋化蛋白1; IL-1β: 白介素1β; TNF-α: 肿瘤坏死因子α.

表 2 各组小鼠巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达对比($n = 2 \times 10^6$, mean $\pm$ SD)

组别	iNOS蛋白	TLR4蛋白	TLR2蛋白
空白组	0.41 $\pm$ 0.05	0.35 $\pm$ 0.06	0.39 $\pm$ 0.05
对照组	0.61 $\pm$ 0.06 ^a	0.79 $\pm$ 0.07 ^a	0.60 $\pm$ 0.06 ^a
实验组	0.52 $\pm$ 0.05 ^b	0.48 $\pm$ 0.05 ^b	0.45 $\pm$ 0.05 ^b

^a $P < 0.05$, 与空白组对比; ^b $P < 0.05$, 与对照组对比. iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; TLR4: Toll样受体4; TLR2: Toll样受体2.

表 3 各组小鼠巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA相对表达量($n = 2 \times 10^6$, mean $\pm$ SD)

组别	TLR2 mRNA	TLR4 mRNA
空白组	1.13 $\pm$ 0.10	1.09 $\pm$ 0.11
对照组	4.25 $\pm$ 0.13 ^a	4.02 $\pm$ 0.12 ^a
实验组	2.08 $\pm$ 0.12 ^b	2.03 $\pm$ 0.13 ^b

^a $P < 0.05$, 与空白组对比; ^b $P < 0.05$, 与对照组对比. TLR4: Toll样受体4; TLR2: Toll样受体2.

表 4 各组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达($n = 2 \times 10^6$, mean $\pm$ SD)

组别	HSP70 mRNA	HSP70蛋白
空白组	0.31 $\pm$ 0.04	0.41 $\pm$ 0.07
对照组	1.62 $\pm$ 0.05 ^a	2.09 $\pm$ 0.06 ^a
实验组	0.40 $\pm$ 0.04 ^b	0.68 $\pm$ 0.06 ^b

^a $P < 0.05$, 与空白组对比; ^b $P < 0.05$, 与对照组对比. HSP70: 热休克蛋白70.

刺激作用.

4 结论

综上所述, 芍药苷经过调节巨噬细胞活性起到抗*H. pylori*感染作用, 可抑制巨噬细胞分泌炎症因子与HSP70应激因子, 其抗炎作用可能和抑制巨噬细胞TLR2/4信号通路有关.

文章亮点

实验背景

中国有的地区感染幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的人群高达90%, 容易引起胃癌、消化性溃疡、

慢性活动性胃炎及黏膜相关淋巴组织淋巴瘤等胃部疾病. 西药治疗效果显著, 但是易反复, 且长期服用副作用明显.

实验动机

目前, *H. pylori*感染治疗药物主要是四联疗法. 相当一部分人并不适合其中的抗生素治疗, 因此疗效欠佳. 芍药苷治疗*H. pylori*, 作为中成药, 不仅副作用下, 而且适用于更广泛的人群.

实验目标

芍药苷的重要特性在治疗*H. pylori*中发挥了不错的疗效, 但是具体发挥作用的机制并不清楚, 本研究从巨噬细胞

的调控入手, 分析芍药苷抗*H. pylori*的作用及相关机制。

实验方法

通过小鼠动物模型, 采用Western Blot和荧光定量PCR的方法对巨噬细胞相关的免疫指标进行检测, 观察*H. pylori*的数量, 分析相关信号通路的相互影响, 判断芍药苷对*H. pylori*的影响。

实验结果

与对照组相比, 经过芍药苷处理的小鼠的单核细胞趋化蛋白1、白介素1 β 、肿瘤坏死因子含量、巨噬细胞诱导型一氧化氮合酶、Toll样受体4(toll-like receptor-4, TLR4)、Toll样受体2(toll-like receptor-2, TLR2)、热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)mRNA及蛋白表达均较低。

实验结论

芍药苷通过调节巨噬细胞分泌炎症因子、HSP70应激因子以及TLR2/4信号通路, 调节巨噬细胞活性, 对*H. pylori*的感染起到积极的治疗作用。

展望前景

本研究从巨噬细胞中发现了芍药苷对*H. pylori*杀灭的机理, 但是是否还有其他相关作用机制还需进一步研究。

5 参考文献

- 董启超, 梁晖, 胡聪, 林旭, 林智文. 脾多肽对幽门螺杆菌脂多糖诱导RAW264.7巨噬细胞TNF- α 、IL-1 β 、IL-6及IL-17的作用. 海南医学 2018; 4: 1-3 [DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2018.01.001]
- 肖玲巧, 王超, 谢成元, 刘硕, 陈国栋, 李杰, 余敏君, 赵兰华, 韩亮, 张艳. 幽门螺杆菌Tip α 蛋白激活NLRP3炎性小体诱导THP-1细胞分泌IL-1 β 和IL-18. 中国人兽共患病学报 2017; 33: 1071-1076
- 张万岱. 中医药治疗幽门螺杆菌感染的研究现状和展望. 中华中

- 医药学会脾胃病分会全国脾胃病学术交流会 2011
- 张冰, 贾兰芳, 王艳玲. 布拉氏酵母菌散联合四联疗法根除幽门螺杆菌的疗效及对血清炎症因子水平的影响. 中国地方病防治杂志 2017; 4: 220-220
- 李新玉, 邵云侠, 王坤, 吴永贵. 芍药苷减轻糖尿病小鼠肾脏炎症与JAK2/STAT3信号通路的关系. 安徽医科大学学报 2018; 53: 205-208
- Shao YX, Xu XX, Li YY, Qi XM, Wang K, Wu YG, Meng XM. Paeniflorin inhibits high glucose-induced macrophage activation through TLR2-dependent signal pathways. J Ethnopharmacol 2016; 193: 377-386 [PMID: 27566204 DOI: 10.1016/j.jep.2016.08.035]
- Beceiro S, Radin JN, Chaturvedi R, Piazzuelo MB, Horvarth DJ, Cortado H, Gu Y, Dixon B, Gu C, Lange I, Koomoa DL, Wilson KT, Algood HM, Partida-Sánchez S. TRPM2 ion channels regulate macrophage polarization and gastric inflammation during *Helicobacter pylori* infection. Mucosal Immunol 2017; 10: 493-507 [PMID: 27435104 DOI: 10.1038/mi.2016.60]
- Kita M, Yokota K, Kageyama C, Take S, Goto K, Kawahara Y, Matsushita O, Okada H. DEC205 mediates local and systemic immune responses to *Helicobacter pylori* infection in humans. Oncotarget 2018; 9: 15828-15835 [PMID: 29662609 DOI: 10.18632/oncotarget.24574]
- 刘成勇, 夏云玲, 彭琼, 李娟, 张雯. MIF mRNA在胃窦胃癌组织中的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系. 现代生物医学进展 2017; 17: 2965-2968
- Kim TJ, Kim ER, Chang DK, Kim YH, Baek SY, Kim K, Hong SN. *Helicobacter pylori* infection is an independent risk factor of early and advanced colorectal neoplasm. Helicobacter 2017; 22 [PMID: 28124492 DOI: 10.1111/hel.12377]
- 刘畅, 张正利, 朱梅萍. Th17细胞介导的免疫应答在幽门螺旋杆菌相关性疾病中的作用机制. 免疫学杂志 2017; 2: 84-88
- Wang P, Wang W, Shi Q, Zhao L, Mei F, Li C, Zuo T, He X. Paeniflorin ameliorates acute necrotizing pancreatitis and pancreatitis-induced acute renal injury. Mol Med Rep 2016; 14: 1123-1131 [PMID: 27279569 DOI: 10.3892/mmr.2016.5351]
- 曹梦媛, 刘琳, 李慧艳, 党彤, 贾彦彬. MIF基因多态性与幽门螺杆菌感染及非贲门胃癌关系的研究. 胃肠病学和肝病杂志 2017; 26: 693-696
- 方洁, 陈佳音, 郝雯颖, 张萍萍, 干冬梅. 桥本氏甲状腺炎伴Hp感染患儿血清IL-17与APN水平及TLR蛋白表达的影响. 中华医院感染学杂志 2017; 11: 208-211
- 何森, 计高荣, 熊旭东, 沈晓红, 周钱梅. 炎调方对巨噬细胞中HSP70表达及其效应的影响. 上海中医药大学学报 2017; 19: 79-83

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



国产内镜新光学染色技术对直径小于2 cm结直肠息肉病变的临床应用价值

岳倩茹, 林芳

岳倩茹, 林芳, 杭州市第九人民医院 浙江省杭州市 311200

岳倩茹, 本科, 主管护师, 研究方向为内镜学.

作者贡献分布: 岳倩茹负责此课题的设计、操作和论文撰写; 林芳辅助操作和数据分析.

通讯作者: 岳倩茹, 本科, 主管护师, 311200, 浙江省杭州市萧山区育才东苑43栋, 杭州市第九人民医院. za93971979@163.com

收稿日期: 2022-12-12

修回日期: 2023-02-06

接受日期: 2023-04-24

在线出版日期: 2023-04-28

Diagnostic value of a novel endoscopic optical staining technique for colorectal polyps less than 2 cm in diameter

Qian-Ru Yue, Fang Lin

Qian-Ru Yue, Fang Lin, Hangzhou Ninth People's Hospital, Hangzhou 311200, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Qian-Ru Yue, Bachelor, Nurse-in-Charge, Hangzhou Ninth People's Hospital, No. 43 Yucai Dongyuan, Xiaoshan District, Hangzhou 311200, Zhejiang Province, China. za93971979@163.com

Received: 2022-12-12

Revised: 2023-02-06

Accepted: 2023-04-24

Published online: 2023-04-28

Abstract

BACKGROUND

The detection and treatment of early and small colorectal polyps are the key to preventing colorectal cancer. Spectral

focused imaging (SFI) and variable intelligent staining technology (VIST), a novel optical staining technology of domestic endoscop, have high clinical value in the setting of adjuvant therapy.

AIM

To investigate the diagnostic value of SFI and VIST for colorectal polyps less than 2 cm in diameter.

METHODS

A total of 200 cases of colorectal polyps diagnosed at our hospital from January 2022 to October 2022 were selected. White light mode and SFI and VIST technology were used to observe the morphology of intestinal polyps, glandular duct opening type, and capillary morphology, and resolution scoring was made. Using pathological diagnosis as the golden standard, the diagnostic value of the novel optical staining technique for colorectal polyps less than 2 cm in diameter was evaluated.

RESULTS

There were 78 (38%) type 1, 114 (55%) type 2, and 16 (8%) type 3 polypoid lesions. Pathological results showed that there were 76 non-adenomatous polyps (37%) and 132 adenomatous polyps (64%). Compared with white light mode, the diagnostic sensitivity, specificity, and accuracy of the novel optical staining mode were significantly higher ($P < 0.05$). The sensitivity and specificity of the novel optical staining mode for adenomatous polyps with diameters smaller than 1 cm and 1 cm to 2 cm were 92.69% and 92.21%, and 86.34 and 91.40%, respectively, and the accuracy was 90.60% and 92.02%, respectively. For colorectal polyp lesions with different diameters, the Kappa values between the diagnosis results based on conventional white light mode and novel staining technology and pathological diagnosis were 0.789 and 0.831, respectively.

CONCLUSION

Compared with the conventional white light mode of colonoscopy, the detection rate for colorectal polyps and the success rate for diagnosis of adenomatous polyps can be improved by the novel optical staining technique of domestic endoscopy. The novel optical staining technique is of high value in the observation and diagnosis of colorectal adenomatous polyps with a diameter less than 2 cm.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: New optical staining technology; Adenomatous colorectal polyps; Colonoscopy

Citation: Yue QR, Lin F. Diagnostic value of a novel endoscopic optical staining technique for colorectal polyps less than 2 cm in diameter. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(8): 340-346

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/340.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i8.340>

摘要

背景

发现并治疗早期较小的结直肠息肉是预防结直肠癌的关键, 国产内镜新光学染色技术-聚谱成像及新电复合染色成像在辅助治疗中具有较高的临床价值。

目的

探讨国产内镜新光学染色技术-聚谱成像(spectral focused imaging, SFI)及光电复合染色成像(variable intelligent staining technology, VIST)对于直径小于2 cm的结直肠息肉的诊断价值。

方法

选取2022-01/2022-10期间, 在我院诊断的结直肠息肉患者200例, 采用白光模式观察诊断和国产新光学染色技术(SFI和VIST技术)观察, 观察肠息肉的形态、腺管开口类型、毛细血管形态, 并进行清晰度评分, 最后与病理诊断相对比, 评判国产内镜新光学染色技术的诊断价值。

结果

1型的结直肠息肉样病变为78个(38%), 2型为114个(55%), 3型为16个(8%)。病理学结果显示, 非腺瘤型息肉为76个(37%), 腺瘤型息肉为132个(64%)。与肠镜白光模式诊断相比, 新光学染色模式诊断的灵敏度、特异度和准确率均更高($P<0.05$)。新光学染色模式下诊断直径小于1 cm和1 cm-2 cm腺瘤型息肉的灵敏度分别92.69%和92.21%, 特异度分别为86.34和91.40%, 准确率分别为90.60%和92.02%; 对于不同直径的结直肠息肉病变, 采用结肠镜常规白光模式和国产内镜新染色技术模式诊断结果与病理诊断间的一致性Kappa值分别为0.789和0.831。

结论

国产内镜新光学染色技术对结直肠息肉的检出率和对腺瘤型息肉的诊断成功率较结肠镜常规白光模式有所提升, 在观察和诊断直径小于2 cm的结直肠腺瘤型息肉的诊断与鉴别诊断中价值较高, 适合在临床使用中推广。

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 国产同镜新光学染色技术; 腺瘤型结直肠息肉; 结肠镜

核心提要: 国产内镜新光学染色技术-聚谱成像及新电复合染色成像能够提高直径小于2 cm的结直肠腺瘤型息肉的检出率和成功率。

文献来源: 岳倩茹, 林芳. 国产内镜新光学染色技术对直径小于2 cm结直肠息肉病变的临床应用价值. *世界华人消化杂志* 2023; 31(8): 340-346

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/340.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i8.340>

0 引言

据统计, 大肠癌(colorectal cancer, CRC)仍然是全球癌症死亡的主要原因, 其中50%-70%的CRC是由“腺瘤-癌”途径发展而来的。因此早期发现和治疗 CRC, 特别是内镜下切除高危腺瘤, 可以有效阻止其癌变过程, 降低CRC的发病率及死亡率^[1,2]。而早期肠镜下发现和诊断腺瘤型息肉, 并选择正确的肠镜下切除的方式, 有效地切除腺瘤, 并减少腺瘤组织残留, 是治疗和减少腺瘤型大肠息肉复发的关键。

一直以来, 进口的奥林巴斯内镜以及其所推广的窄带成像技术(narrow-band imaging, NBA)为镜下诊断和鉴别腺瘤型和非腺瘤型结直肠息肉提供重要依据^[3,4]。王义等^[5]使用奥林巴斯消化内镜对结肠息肉进行观察, 其研究结果认为, 对于诊断腺瘤性结直肠息肉的灵敏度为92.59%、特异度为90.48%。因此, 不少医院专家将进口奥林巴斯内镜和窄光谱成像技术(narrow band imaging, NBI)技术当成为诊断结直肠腺瘤样息肉的“金标准”。然而, 随着我国大力发展国产消化内镜技术, 以国产开立为代表的国产消化内镜崛起。特别是开立内窥镜以及所开发的新光学染色技术-聚谱成像(spectral focused imaging, SFI)及光电复合染色成像(variable intelligent staining technology, VIST)。其具有四波LED光源, 可使用白光模式进行常规观察, 而SFI模式对比常规白光模式, 方便显示黏膜浅层血管, 可适用在中远距离下快速、大范围进行病灶筛查。VIST模式能清晰而准备地显示浅层

黏膜血管和中层黏膜血管, 适用于在近距离进行病灶的精确观察, 有助于消化道早期病变的检出。

现认为, 肠镜下观察息肉样病变, 受到肠镜视野、清晰度、操作熟练度等多种因素的制约, 2 cm以下的肠息肉样病变较容易遗漏。同时, 由于肠息肉病灶的大小跟癌变发生率之间有相变性, 直径小于1 cm的息肉癌变发生率低, 故本次研究拟分析国产肠镜以及其使用的新光电染色技术在直径小于1 cm和1 cm-2 cm的结肠息肉样病灶诊断中的效能, 并为进一步提升结直肠癌的早期诊断率提供一定的参考依据。同时, 以此来验证国产消化内镜以及其使用的新光学染色技术的适用性和准备率, 是否值得临床进一步推广。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2022-01/2022-05在我院胃肠镜中心就治的结直肠息肉患者200例作为此次研究对象, 其中男女性患者各100例, 年龄在(22-80)岁, 平均年龄为(52±12)岁。累计共检出肠息肉样病变208个。此次研究纳入标准为: (1)已完成结肠镜SFI和VIST技术检查和病理切片诊断者; (2)年龄在18-80岁; (3)患者及家属知晓本研究并完成签署知情同意书。此次研究排除对象: (1)有炎症性肠病变(如克罗恩病和溃疡性结肠炎); (2)肠道准备差, 肠道清洁度评分低于6分者; (3)有严重的心肺功能不全疾病者; (4)存在结肠镜检查和治疗相关禁忌症者。此次研究经台州市黄岩区中医院伦理委员会审批。

1.2 方法

1.2.1 检测方法: 本次研究采用使用国产开立HD-550型内镜图像处理设备(深圳开立生物医疗科技股份有限公司生产)进行内镜检查。

术前准备嘱受检者检查前3 d行少渣少纤维素清淡饮食, 检查前日22:00后禁食, 检查前1天下午16:00口服复方聚乙二醇电解质散(和爽)1袋+1000 mL温开水, 检查前一晚晚餐进半流质饮食, 20:00后禁食, 检查前日23:00-00:00口服复方聚乙二醇电解质散(和爽)2袋+2000 mL温开水, 检查前2小时服用西甲硅油30 mL+100 mL温开水, 要求服药后排便直至排出黄色或无色清水便, 检查前充分告知受检者麻醉风险及肠镜检查可能会遇到的如肠道出血、穿孔等风险, 受检者表示理解并同意检查。检查体位为左侧卧位, 双膝贴近腹部。使用普通白光模式肠镜进镜到未段回肠, 退镜时仔细观察肠腔黏膜, 发现疑似肠息肉样病灶后, 使用利多卡因胶浆加灭菌注射用水冲洗肠腔表面, 分别使用常规白光模式和SFI、VIST组合模式观察病灶, 无采用白光模式观察诊断和国产新光学染色技术(SFI和VIST技术)观察, 观察肠息肉的形态、腺管开口类型、毛细血管形态, 并进行清晰

度评分, 最后与病理诊断相对比。

1.2.2 结果评估: 所有病例均由同一名经验丰富的内镜医师, 在不明确病理检查结果的前提下, 分别进行观察和评估。发现息肉样病灶后, 先进行白光诊断, 诊断为非腺瘤样息肉或腺瘤样息肉, 再用SFI模式+VIST模式再观察, 因开立内镜未确立国际结直肠病变分型标准, 而VIST技术与NBI技术相似, 因此, 采用NBI国际结直肠病变内镜分型对腺瘤型息肉与非腺瘤型息肉进行鉴别, 再进行一次诊断, 同样诊断为非腺瘤样息肉或腺瘤样息肉, 最后肠镜下切除组织, 送病理学检查。以病理学检查为最终结果的“金标准”。最后再来评估国产内镜普通白光模式和新染色技术对结直肠息肉的诊断价值。

1.2.3 评价标准: 内镜图像清晰度评分标准: 1分, 图像完全辨识不清; 2分, 图像模糊仅可见; 3分, 图像比较清晰; 4分, 图像非常清晰。息肉样病灶粘膜腺管开口的分型标准采取工藤进英的Pit分型法^[5], 即I型和II型的病灶腺管开口定为非腺瘤型, 将III S、III L、IV经及V型的病灶腺管的开口定为腺瘤型。病灶粘膜表面毛细血管形态结构的分型标准采取佐野宁的CP分型法^[6], I型定为非腺瘤型, II和III型定为腺瘤型。最终诊断依据切除后组织送检病理学检查结果。

统计学处理 使用SPSS 22.0软件分析数据, 使用率(%)表示计数资料, 采用Wilcoxon秩和检验为等级资料分析, 采用 χ^2 检验作为组间比较, 采用一致性Kappa检验分析国产消化内镜的新光学染色技术(SFI和VIST)在结肠腺瘤型息肉和非腺瘤型息肉的诊断与鉴别诊断价值, $P<0.05$ 表示组间差异具有统计学的意义。

2 结果

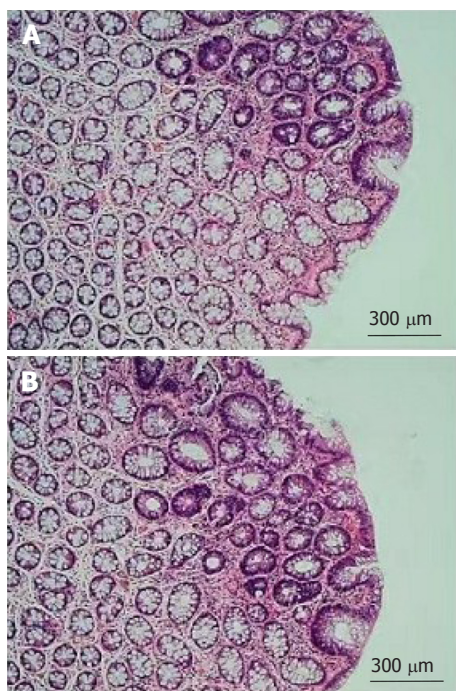
2.1 结肠息肉位置、治疗情况和病理诊断结果 90例共检出肠息肉样病变208个, 其中位于直肠的有45个(21.6%), 位于乙状结肠61个(29.4%), 位于降结肠的有32个(15.7%), 位于横结肠的有26处(12.7%), 位于升结肠的35个(16.7%), 位于回盲部9个(3.9%)。病灶直径为(0.3-2.0) cm, 平均直径为(0.85±0.3) cm。见图1。切除组织病理诊断结果: 非腺瘤型息肉76个(37%), 其中增生性息肉30个, 炎症性息肉46个; 腺瘤型息肉有132个(63%), 其中管状腺瘤110个, 绒毛状腺瘤20个, 锯齿状腺瘤2个。见图2。根据大肠息肉病变大小及镜下分型情况, 行肠镜下EMR术的有168个(80.7%), 行圈套器冷切除术90处(19.3%)。

2.2 常规白光模式与SFI、VIST模式图像清晰度比较 国产内镜SFI+VIST模式下图像的病灶腺管开口类型、病灶表面微血管以及病灶轮廓形态的图像清晰度评分均高于普通白光模式组, 其组间差异具有统计学的意义。



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i8.340 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 1 肠息肉样病变.



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i8.340 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 2 病理HE染色. A: 非腺瘤型息肉; B: 腺瘤型息肉.

($P<0.05$)(见表1).

2.3 常规白光模式下和SFI/VIST模式下诊断腺瘤型、非腺瘤型息肉分型同病理诊断结果比较 见表2和3.

90例患者共检出结肠息肉样病变208个, 病灶直径为(0.1-2.0) cm, 平均直径为(0.85±0.35) cm, 使用常规白光模式, 诊断出非腺瘤型息肉76例, 腺瘤型息肉132例, 但其中有5例腺瘤型息肉误诊为非腺瘤样息肉, 而3例非腺瘤型息肉误诊为腺瘤型息肉. 同样, 使用SFI/VIST模式诊断, 参考进口奥林巴斯结肠镜NBI技术下国际结

肠直肠病分型, 结果提示1型的结肠息肉样病变为78个(38%), 2型为114个(55%), 3型为16个(8%), 不同分型的病变间的形态学特征差异无统计学意义. 病理学检查结果显示, 非腺瘤型息肉为76个(37%), 腺瘤型息肉为132个(64%), 其中4例2、3型误诊为1型, 有2例2、3型误诊为1型. 肠镜白光模式下诊断结直肠腺瘤型息肉的灵敏度81.62%, 特异度81.73%, 准确率81.89%, 与病理切片检查的结果一致性的Kappa值为0.621. 新光学染色模式下诊断结直肠腺瘤型息肉的灵敏度92.72%, 特异度89.32%, 准确率91.49%, 与病理切除检查结果一致性的Kappa值为0.821. 2种方法间差异有统计学意义($P<0.05$).

2.4 镜下肠息肉样组织的形态学分析 国产肠镜SFI/VIST模式下观察病灶, 不同的镜下分型之间形态学差异性无统计学意义(表4).

2.5 国产结肠SFI/VIST模式观察诊断不同大小的结直肠息肉效能比较 将结直肠息肉分为直径<1 cm和直径在1 cm-2 cm之间组(表5).

进一步分组分析显示, 国产肠镜新光学染色模式下诊断直径小于1 cm腺瘤型息肉的灵敏度分别92.69%, 特异度分别为86.34和, 准确率为90.60%, 与病理诊断的Kappa值为0.791; 直径在(1-2) cm组, 灵敏度为92.21%, 特异度分别为91.40%, 准确率分别为92.02%, 与病理诊断的Kappa值为0.828.

2.6 误诊原因分析 此次研究中, 新光学染色模式下, 有4个腺瘤型息肉误诊为非腺瘤型, 有2个非腺瘤型息肉误诊为腺瘤型. 此次误诊的主要原因分析, 在患者肠道准备较差的情况下, SFI模式为中远距离观察模式, 观察病灶的腺管开口有微血管显示不清, 而在VIST模式为近距离模式, 但在此模式下, 粪水显示为深色, 对腺管和微血管形态的观察造成明显的干扰, 导致误诊的发生.

3 讨论

大肠癌是当前我国较常规的消化道肿瘤, 仅次于胃癌, 而且随着我国人民生活水平的提高, 饮食结构的改变, 大肠癌的发病率逐年升高. 大肠癌发生于多种因素相关, 但目前最明确的是腺瘤型结直肠息肉, 只要给予足够的生长时间, 有很大的机率发展成大肠癌. 因此, 不少专家将1 cm以上的腺瘤型结直肠息肉定义为癌前病变. 因此, 早期肠镜下发现和彻底切除肠息肉样病灶, 可有效地降低大肠癌发病风险. 因此, 如何更好地发现结直肠息肉, 如何在病理切片报告之前即消化内镜下更加准确地诊断腺瘤型息肉, 关系到肠镜下切除方式的选择和病灶切除的完整和彻底性.

常规白光模式下, 受消化内镜光学限制, 发现和诊断腺瘤型肠息肉存在一定的误诊率, 日本奥林巴

表 1 结肠镜SFI+VIST模式图像与常规白光模式图像清晰度比较(n)

检查方法	病变轮廓				腺管开口类型				微血管开态			
	1分	2分	3分	4分	1分	2分	3分	4分	1分	2分	3分	4分
常规白光模式	8	20	74	106	16	32	102	58	18	26	96	68
SFI+VIST模式	0	6	24	178	4	14	50	140	0	8	34	166
Z值	5.35				5.65				6.89			
P值	P<0.05				P<0.05				P<0.05			

SFI: 聚谱成像; VIST: 光电复合染色成像.

表 2 SFI+VIST模式参考NBI模式的镜下分型与病理学检查结果比较

分型	病理学检查结果			
	非腺瘤型息肉	管状腺瘤	绒毛状腺瘤	锯齿状腺瘤
1型(n = 78)	76	2	0	0
2型(n = 114)	4	110	6	0
3型(n = 16)	0	0	14	2

SFI: 聚谱成像; VIST: 光电复合染色成像; NBI: 窄光谱成像技术.

表 3 SFI+VIST模式诊断结直肠息肉的效能

方法	病理诊断		合计
	腺瘤型息肉	非腺瘤型息肉	
白光模式	132	76	208
腺瘤型	108	14	122
非腺瘤型	24	62	86
SFI+VIST模式	132	76	208
腺瘤型	122	8	130
非腺瘤型	10	68	79

SFI: 聚谱成像; VIST: 光电复合染色成像.

表 4 不同分型肠息肉样病变之间形态特征分析

镜下分型	平坦	侧向发育	亚蒂	带蒂
1型(n = 78)	36	28	12	2
2型(n = 114)	52	36	20	6
3型(n = 16)	8	6	2	0
χ^2 值	1.007			
P值	0.987			

结肠镜采用NBI以及NBI技术下国际结肠直肠癌(NBI international colorectal endoscopic, NICE)分型, 作为肠镜光学染色的标准, 在临床上广泛使用, 以提高肠镜下病灶的发现率和确诊率. 而近几年, 随着我国大力发展国产医疗器械, 以开立HD550为代表的国产消化内镜蓬勃发展. 开立HD550使用国产新光学染色技术, 即VIST、SFI.

其特点为: SFI, 图像具有高亮度、高结构对比度和高颜色对比度的特点、接近自然色调, 不改变组织黏膜、黏液及粪液等色调、SFI模式下对于胃肠道炎症、溃疡、萎缩, 甚至早癌, 相较于普通白光模式, 更容易识别; VIST技术的优越性在于保证照明亮度及图像对比度, 415 nm附近波段光谱占比高, 有利于凸显浅层黏膜血管,

表 5 SFI+VIST模式对直径<1 cm和直径在1 cm-2 cm之间组结直肠息肉样病变诊断的价值分析

息肉直径	SFI+VIST模式	病理切片诊断		合计
		腺瘤型息肉	非腺瘤型息肉	
直径<1 cm	腺瘤型息肉	50	4	54
	非腺瘤型息肉	4	26	30
	合计	54	30	84
直径在1-2 cm	腺瘤型息肉	72	4	76
	非腺瘤型息肉	6	42	48
	合计	78	46	124

SFI: 聚谱成像; VIST: 光电复合染色成像。

加入中心540 nm的绿光, 浅层微血管与中层血管颜色对比度显著提升、更易区分, 病灶的边界更清晰。其临床应用特点为VIST染色模式在保证图像亮度的情况下, 具有更高的血管对比度特点, 浅层血管层棕褐色, 中层血管呈青绿色, 更适于在近距离下近景进行病灶的观察。

本研究使用回顾性研究的方法, 选择2022-01/2022-05在我院胃肠镜中心就治的结直肠息肉患者200例作为此次研究对象, 其中男女性患者各100例, 年龄在(22-80)岁, 平均年龄为(52±12)岁。累计共检出肠息肉样病变208个。上述病例均采用使用国产开立HD-550型内镜图像处理设备(深圳开立生物医疗科技股份有限公司生产)进行内镜诊疗, 所有病例均由同一经验丰富的内镜医师, 在不明确病理检查结果的前提下, 分别使用常规白光模式和SFI/VIST模式进行观察和评估。先作出白光模式诊断, 再作出光学染色模式诊断, 再切除病灶送病理学检查。通过比较两种诊断的灵敏度、特异度和准确率, 再与病理结果作比较。使用SPSS 22.0软件分析数据, 采用Wilcoxon秩和检验为等级资料分析, 采用 χ^2 检验作为组间比较, 采用一致性Kappa检验分析国产消化内镜的新光学染色技术(SFI和VIST)在结肠腺瘤型息肉和非腺瘤型息肉的诊断与鉴别诊断价值。最后得出结论, 国产肠镜使用的新光学染色技术在结直肠腺瘤型息肉的诊断和鉴别诊断上, 优于使用单纯的常规白光模式, 有利于在病理学诊断之前明确结直肠息肉的性质, 从而指导临床选择更优的肠镜下切除方式彻底切除病灶。因此国产消化内镜使用新光学染色技术(SFI和VIST)值得临床进一步推广。

4 结论

同时, 本研究分析了新光学染色模式下产生误诊的原因, 即肠道准备不充分, 造成结直肠息肉样病灶的误诊。指导临床提高肠道准备的充分性, 减少误诊事件发生。

文章亮点

实验背景

大肠癌仍是发病率和致死率均较高的消化道肿瘤, 而结直肠息肉被发现是大肠癌发病前期的预兆。因此, 及早发现结直肠息肉, 并进行有效治疗是降低患癌风险的有效手段。

实验动机

大肠癌由于发现偏晚期较多, 往往治疗比较困难。早期病灶较小, 现有的肠镜检查设备不易察觉, 而以新光学染色技术-聚谱成像(spectral focused imaging, SFI)/光电复合染色成像(variable intelligent staining technology, VIST)在诊断微小息肉方面具有独特的优势。

实验目标

观察并分析SFI/VIST成像对直径小于2 cm的结直肠息肉的诊断特异性和敏感性等指标, 从而判断新光学染色技术对于癌症早期诊断的临床价值。

实验方法

通过图像清晰度的评分、肿瘤类型鉴定的准确度等方式评价新光学染色技术-聚谱成像及光电复合染色成像诊断直径小于2 cm的结直肠息肉的诊断优势。

实验结果

与普通白光模式组相比, 国产内镜SFI/VIST模式下图像的病灶腺管开口类型、病灶表面微血管以及病灶轮廓形态的图像清晰度评分, 准确度, 灵敏度, Kappa值均更高。

实验结论

国产内镜SFI/VIST在诊断准备充分的条件下, 能够更准

确地识别直径小于2 cm的结直肠息肉, 对于早期发现肠癌病灶具有较高的临床价值。

展望前景

国产内镜SFI/VIST诊断直径小于2 cm的结直肠息肉虽然具有较高的诊断价值, 但是病理诊断仍是金标准, 对医生的技术要求和专业能力也有一定的要求, 对于更微小的病灶的诊断仍需进一步研究。

5 参考文献

- 1 Yu L, Li N, Zhang XM, Wang T, Chen W. Analysis of 234 cases of colorectal polyps treated by endoscopic mucosal resection. *World J Clin Cases* 2020; 8: 5180-5187 [PMID: 33269254 DOI: 10.12998/wjcc.v8.i21.5180]
- 2 Ni DQ, Lu YP, Liu XQ, Gao LY, Huang X. Underwater vs

conventional endoscopic mucosal resection in treatment of colorectal polyps: A meta-analysis. *World J Clin Cases* 2020; 8: 4826-4837 [PMID: 33195650 DOI: 10.12998/wjcc.v8.i20.4826]

- 3 赵莹, 聂继盛. 结直肠息肉临床病理研究分析. *中国药物与床* 2018; 18: 526-527 [DOI: 10.11655/zgywylc2018.04.008]
- 4 Chen XQ, Mao JY, Li WB, Li J, Yang H, Qian JM, Li JN. Association between CYP24A1 polymorphisms and the risk of colonic polyps and colon cancer in a Chinese population. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 5179-5186 [PMID: 28811712 DOI: 10.3748/wjg.v23.i28.5179]
- 5 王义, 崔旭, 臧建华, 徐丹, 吕冬月. 高清不放大窄带成像内镜对大肠隆起性病变的鉴别诊断作用. *中华消化病与影像杂志: 电子版* 2014; 4: 62 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-2015.2014.02.003]
- 6 Toyoshima O, Nishizawa T, Yoshida S, Watanabe H, Odawara N, Sakitani K, Arano T, Takiyama H, Kobayashi H, Kogure H, Fujishiro M. Brown slits for colorectal adenoma crypts on conventional magnifying endoscopy with narrow band imaging using the X1 system. *World J Gastroenterol* 2022; 28: 2748-2757 [PMID: 35979159 DOI: 10.3748/wjg.v28.i24.2748]

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 © 2023 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

1 投稿总则

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

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

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

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

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

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

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-3991568

1.7 生产 《世界华人消化杂志》由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作. 公司联系地址如下:

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任王金磊, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

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

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

<http://www.wjgnet.com>

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

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

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

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

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

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

2 手稿要求

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

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

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

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

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

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

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

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995关于出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字. 如1000-1500 kg. 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密密度, 例如6347意指6000分之一的精密密度. 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.

2.8 医学伦理问题及知情同意 (1)以人为研究对象的伦理、知情同意陈述: 当论文的主体是以人为研究对象时, 作者应说明其遵循的程序是否符合负责人体试验委员会(单位性的、地区性的或国家性的)所制订的伦理学标准, 以及是否获得了研究对象或其监护人的知情同意. 请提供伦理委员会批准文件(批准文号著录于手稿中)和知情同意书的PDF版本; (2)以动物为研究对象的伦理陈述: 所有研究人员需提倡人道地进行动物实验, 必须严格遵守动物实验的各项伦理条例. 请提供伦理委员会批准文件(批准文号著录于手稿中)的PDF版本. 注意: 以上两个伦理批准文件上必须有机构公章和签发日期.

2.9 关于图片或者表的引用 手稿中所有图片或者表的引用必须严格遵照BPG出版物引用图片或者表的政策. BPG出版物引用图与表的政策如下: (1)获取许可. 如果作者提交的手稿中引用了一张或者多张已发表的图片或者表, 或者拥有版权的图片和表, 作者必须提供之前的出版商或者版权拥有者出具的图片或者表可被再次发表的许可文件; (2)正确标注引用文献来源和版权. 举例如: Figure 1 Histopathological examination by hematoxylin-eosin staining (200×). A: Control group; B: Model group; C: Pioglitazone hydrochloride group; D: Chinese herbal medicine group. Citation: Yang JM, Sun Y, Wang M, Zhang XL, Zhang SJ, Gao YS, Chen L, Wu MY,

Zhou L, Zhou YM, Wang Y, Zheng FJ, Li YH. Regulatory effect of a Chinese herbal medicine formula on non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 5105-5119. Copyright ©The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. 如果作者未按照上述要求对已发表或受版权保护的图片或表格进行合理引用, 则将面临被BPG撤稿, 甚至被追究法律责任。

3 手稿全文中文格式

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

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

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

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

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

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

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

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 关键词 作者应在关键词列表中提供3-10个关键词, 来反映论文中的核心内容。请尽量使用美国国立医学图书馆编辑的最新版Index Medicus中医学主题词表(MeSH)内所列的词。必要时可采用惯用的自由词。每个关键词之间用“;”分隔。格式如: 肠道菌群; 急性胰腺炎; 慢性胰腺炎; 自身免疫性胰腺炎。每个英文关键词第一个字母大写。每个关键词之间用“;”分隔。

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

0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法

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

2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论

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

解分别叙述, 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。
A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G:…。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用^a $P<0.05$ 或^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则用^c $P<0.05$ 和^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$ 和^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献

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

4 手稿英文摘要书写要求

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

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;

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

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

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

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

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

4.7 关键词 作者应在关键词列表中提供3-10个关键词, 来反映论文中的核心内容。每个关键词之间用“;”分隔。格式如: 肠道菌群; 急性胰腺炎; 慢性胰腺炎; 自身免疫性胰腺炎。每个英文关键词第一个字母大写。每个关键词之间用“;”分隔。

5 手稿写作格式实例

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

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

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

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

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

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

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



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



ISSN 1009-3079

